สมบัติการต้านการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากมะขามป้อมและการประยุกต์ใช้

ANTIBACTERIAL PROPERTY OF EMBLICA FRUIT (*PHYLLANTHUS EMBLICA* L.) AND ITS APPLICATION

นางสาว ศรัณยา วรรณสมบูรณ์

นางสาว สาริสา ภัทรดิษย์กร

นางสาว อนุสา วงษ์ศิลป์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIBACTERIAL PROPERTY OF EMBLICA FRUIT

(*PHYLLANTHUS EMBLICA* L.) AND ITS APPLICATION

Miss SARANYA WANNASOMBOON

Miss SARISSA PATRADISAKORN

Miss ANUSA WONGSIL

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN BIOTECHNOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	สมบัติการต้านการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากมะขามป้อมและการประยุกต์ใช้ Antibacterial property of emblica fruit (*Phyllanthus emblica* L.) and its application
ชื่อนักศึกษา	นางสาวศรัณยา วรรณสมบูรณ์ นางสาวสาริสา ภัทรดิษย์กร นางสาวอนุสา วงษ์ศิลป์
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์	วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์
กรรมการ	รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ	สุรีย์ นานาสมบัติ
กรรมการ	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล	สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)

ประธานสาขาวิชาชีววิทยา

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	สมบัติการต้านการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากมะขามป้อมและการประยุกต์ใช้	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวศรัณยา	วรรณสมบูรณ์
	นางสาวสาริสา	ภัทรดิษย์กร
	นางสาวอนุสา	วงษ์ศิลป์
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต	
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ	
ปีการศึกษา	2553	
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ	

บทคัดย่อ

ในการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากมะขามป้อม (ร้อยละ 0.25 – 2.0) ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูบดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในเนื้อหมูบดขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัดจากมะขามป้อม สารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 มีผลช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนจุลินทรีย์ไซโครโทรฟและจำนวน *Pseudomonas* ในเนื้อหมูบดได้ดีที่สุดเมื่อเก็บรักษาครบ 12 วัน เชื้อดังกล่าวในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 มีอัตราการรอดชีวิตเหลือเพียงร้อยละ 23.27, 136.43 และ 2.06 ตามลำดับ เนื้อหมูบดยังคงมีลักษณะปรากฏยอมรับได้มีค่าพีเอชเท่ากับ 5.52 ซึ่งไม่เหมือนเนื้อหมูบดชุดควบคุมที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากมะขามป้อมมีลักษณะปรากฏที่แสดงถึงการเน่าเสีย เช่น เนื้อเละยุ่ย มีสีเขียวและมีกลิ่นเหม็นเน่าหลังจากเก็บรักษาครบ 12 วัน นอกจากนี้การเติมสารสกัดจากมะขามที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ยังมีประสิทธิภาพในการชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ดีที่สุดโดยสามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของค่า Thiobarbituric reactive substance (TBARS) ในเนื้อหมูบดแช่เย็นระหว่างการเก็บรักษาได้ดี ต่อมาได้นำเนื้อหมูบดแช่เย็นที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมร้อยละ 2.0 มาทำเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมูบดปรุงรสพบว่าผู้ทดสอบชิมบางคนในจำนวน 12 คนไม่สามารถตรวจจับกลิ่นรสของมะขามป้อมที่เติมลงไปได้เนื่องจากไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังจากที่นำเนื้อหมูบดปรุงรสที่ผลิตจากเนื้อหมูบดแช่เย็นที่เติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดจากมะขามป้อมร้อยละ 2.0 กับเนื้อหมูบดปรุงรสที่ผลิตจากเนื้อหมูบดสดมาทดสอบความแตกต่างทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Duo – trio test

คำสำคัญ : มะขามป้อม เนื้อหมูบด เชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas fluorescens* สารต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antibacterial property of emblica fruit (*Phyllanthus emblica* L.) and its Application
Student	Miss Saranya Wannasomboon
	Miss Sarissa Patradisakorn
	Miss Anusa Wongsil
Degree	Bachelor of Science
Major program	Biotechnology
Academic Year	2010
Advisor	Assoc.Prof.Dr. suree Nanasombat

ABTRACT

The effect of *Phyllanthus emblica* extract (0.25 – 2.0%) on inhibition of microbial growth and lipid oxidation in ground pork during chill storage at 4 °C was studied. It was found that capability to inhibit microbial growth in ground pork depended on concentration of *P. emblica* extract added. The *P. emblica* extract at 2.0% was the most effective to decrease the number of total bacteria, total psychotrophic bacteria and *Pseudomonas* in ground pork. After 12-day storage, total bacteria, total psychrotrophic bacteria and *Pseudomonas* in ground pork samples added with 2.0% *P. emblica* extract had survival rate of 23.27%, 136.43% and 2.06%, respectively, while these ground pork samples had acceptable appearance with 5.52 pH value. Differently, the control samples, ground pork samples without *P. emblica* extract added exhibited deterioration characteristics with soft lexture, green color surface and stinky odor after 12 days of storage. Moreover, addition of 2.0% *P. emblica* extract was the most effective to delay lipid oxidation by slowing down the increasing of thiobarbituric reactive substance (TBARS) value of chilled ground pork during storage. Then, the chilled ground pork with 2.0% *P. emblica* extract was used to produce seasoned ground pork product. Some of 12 taste panels could not detect flavor of *P. emblica* added in the product. After duo-trio testing, no significant difference

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

was found between the seasoned ground pork samples made from chilled ground pork with 2.0% *P. emblica* extract and those made from fresh ground pork without the *P. emblica* extract.

Keywords : *Phyllanthus emblica* L., ground pork, *Pseudomonas fluorescens,* antioxidant

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ และ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล อาจารย์ผู้ให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทางรวมทั้งการแก้ปัญหาและเอาใจใส่คณะผู้จัดทำมาโดยตลอดการดำเนินงานโครงงานพิเศษ

ขอขอบคุณอาจารย์ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ที่ให้ความกรุณาช่วยถ่ายทอดความรู้ประสบการณ์ต่างๆทั้งในและนอกวิชาเรียนแก่ลูกศิษย์ รวมทั้งคุณพยอม เกียรติกำจร คุณอนิทัต ทองจันทร์ และคุณพงศักษ์ดิ์ ประสานศักดิ์ นักวิทยาศาสตร์ที่ให้คำปรึกษาและอำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งขอขอบคุณเพื่อนๆทุกคนที่เป็นกำลังใจให้กันเสมอมา

ท้ายสุดขอขอบพระคุณคุณพ่อคุณแม่ของคณะผู้จัดทำที่ให้การสนับสนุนอย่างเต็มที่ทั้งกำลังกาย กำลังใจและกำลังทรัพย์มาโดยตลอด

นางสาวศรัณยา วรรณสมบูรณ์

นางสาวสาริสา ภัทรดิษย์กร

นางสาวอนุสา วงษ์ศิลป์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	VIII
สารบัญรูป	XI
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญ/ที่มาของโครงงาน	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงาน	2
1.3 ขอบเขตของโครงงาน	3
1.4 ขั้นตอนในการดำเนินงาน	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	5
2.1 ความหมายของเนื้อสัตว์	5
2.2 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อสัตว์	6
2.3 คุณภาพของเนื้อสัตว์	10
2.4 การเสื่อมเสียของเนื้อหมู	18
2.5 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (Chemistry of lipid oxidation)	23
2.6 ลักษณะการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อหมู	31
2.7 การถนอมรักษาเนื้อสัตว์	33
2.8 คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารฟีนอลิกในอาหาร (Antioxidant properties of food phenolics)	36
2.9 คุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดผลไม้	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

เรื่อง	หน้า
2.10 ผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง (มะขามป้อม)	42
2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	44
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	46
3.1 อุปกรณ์	46
3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย	47
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	55
4.1 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูบด	55
4.2 การใช้ประโยชน์ของเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมในการทำผลิตภัณฑ์เนื้อหมูบดปรุงรส	63
4.3 วิจารณ์ผลการทดลอง	65
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	73
เอกสารอ้างอิง	74
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ และการเตรียมสารเคมี	79
ภาคผนวก ข เครื่องมือ	86
ภาคผนวก ค การคำนวณ	92
ภาคผนวก ง ผลการทดลอง	98
ภาคผนวก จ แบบทดสอบความแตกต่างทางประสาทสัมผัส	114

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ปริมาณวิตามินบี 1 บี 2 และไนอะซิน ที่พบในเนื้อสัตว์ (มิลลิกรัมเนื้อสด100 กรัม)	8
2.2 ส่วนประกอบปริมาณแร่ธาตุในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (มิลลิกรัมเนื้อสด100กรัม)	9
2.3 ปริมาณคาร์โบไฮเดรทในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์	10
2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของอาหารประเภทเนื้อสัตว์ เนื้อดิบ สี ปริมาณไมโอโกลบิน ในเนื้อสัตว์และปัจจัยสำคัญอื่นๆ ที่มีผลต่อคุณภาพของเนื้อสัตว์	15
2.5 คุณค่าทางโภชนาการของมะขามป้อม	43
4.1 ผลของการเปลี่ยนแปลงค่าสีในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 วัน	62
4.2 คุณภาพทางเคมีของเนื้อหมูบดปรุงรส	64
4.3 ผลการทดสอบความแตกต่างทางประสาทสัมผัสโดยวิธี Duo – trio test ระหว่างเนื้อหมูบดปรุงรสชุดควบคุมที่ผลิตจากเนื้อหมูบดสดที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชันใดๆ และเนื้อหมูบดปรุงรสที่ผลิตจากเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3 และ 7 วัน	64
4.4 น้ำหนักที่สูญเสียไปหลังการทำให้สุกของเนื้อหมูบดปรุงรสชุดควบคุมที่ผลิตจากเนื้อหมูบดสดที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชันใดๆ และเนื้อหมูบดปรุงรสที่ผลิตจากเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3 และ 7 วัน	65
ค.1 ค่าคงที่ของปริมาตรตัวอย่างที่จ่ายลงบน segment ที่นับโคโลนีทั้งสองด้านโดยจ่ายแบบ exponential	96
ง.1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมด (ซ้ำที่ 1)	99
ง.2 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมด (ซ้ำที่ 2)	99
ง.3 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมด (ซ้ำที่ 3)	99
ง.4 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมด (เฉลี่ย)	100
ง.5 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ *Pseudomonas* (ซ้ำที่ 1)	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ง.6 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ *Pseudomonas* (ซ้ำที่ 2)	100
ง.7 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ *Pseudomonas* (ซ้ำที่ 3)	101
ง.8 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ *Pseudomonas* (เฉลี่ย)	101
ง.9 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรฟ (ซ้ำที่ 1)	101
ง.10 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรฟ (ซ้ำที่ 2)	102
ง.11 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรฟ (ซ้ำที่ 3)	102
ง.12 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรฟ (เฉลี่ย)	102
ง.13 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช ในเนื้อหมูบดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (เฉลี่ย)	107
ง.14 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการต้านออกซิเดชันของไขมัน ในเนื้อหมูบดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (เฉลี่ย)	108
ง.15 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน	109
ง.16 การเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 วัน	110
ง.17 การเปลี่ยนแปลงค่าสีในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 วัน	111
ง.18 การเปลี่ยนแปลงค่าสีในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 วัน	112
ง.19 การเปลี่ยนแปลงค่าสีในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน	113
ง.20 คุณภาพทางเคมีของเนื้อหมูบดปรุงรสซ้ำที่ 1	114
ง.21 คุณภาพทางเคมีของเนื้อหมูบดปรุงรสซ้ำที่ 2	114

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ง.22 คุณภาพทางเคมีของเนื้อหมูบดปรุงรสซ้ำที่ 3	114
ง.23 ตาราง paired – difference และ duo – trio ซึ่งบ่งบอกจำนวนของผู้ตัดสินที่ตอบถูกน้อยที่สุดที่ทำให้ยอมรับว่าตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ	117

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อ	11
2.2 ออกซิเดชันและออกซิเจเนชั่นของไมโอโกลบิน	12
2.3 โรคและความเสียหายที่เกิดจาก reactive oxygen species	36
2.4 บทบาทในการป้องกันโรคที่เกิดจาก reactive oxygen species ของสารฟีนอลิก	37
2.5 แบบแผนทั่วไปในการเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว (RH) และผลจากการเสื่อมคุณภาพของอาหาร	39
2.6 มะขามป้อม	42
4.1 อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมด (รูป a) อัตราการรอดชีวิตของซูโดโมแนส (รูป b) และอัตราการรอดชีวิตของไซโครโทรฟ (รูป c) ในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม,ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	57
4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม ที่ความเข้มข้นต่างๆระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	59
4.3 ผลของสารสกัดของจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการต้านออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูบดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	60
ค.1 แผ่น disposable Cling-On™ ซึ่งใช้ทาบโดยตรงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ	93
ค.2 การวาง counting grid ทาบกับจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีขึ้น โดยให้จุดเริ่มต้นอยู่ที่ตำแหน่ง 12 นาฬิกา	94
ค.3 การเจริญของจุลินทรีย์บนจานเพาะเชื้อที่จ่ายตัวอย่างด้วยเครื่อง Automated Spiral Plater	94
ง.1 อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมดซ้ำที่ 1 (รูป a)	103
อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมดซ้ำที่ 2 (รูป b)	103
และอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมดซ้ำที่ 3 (รูป c)	103

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
ง.2 อัตราการรอดชีวิตของ *Pseudomonas* ซ้ำที่ 1 (a)	104
อัตราการรอดชีวิตของ *Pseudomonas* ซ้ำที่ 2 (b)	104
และอัตราการรอดชีวิตของ *Pseudomonas* ซ้ำที่ 3 (c)	104
ง.3 อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรพซ้ำที่ 1(a)	105
อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรพซ้ำที่ 2(b)	105
และอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรพซ้ำที่ 3(c)	105
ง.4 อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมด (รูป a)	106
อัตราการรอดชีวิตของซูโดโมแนส (รูป b)	106
และอัตราการรอดชีวิตของไซโครโทรฟ (รูป c)	106
ง.5 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช ในเนื้อหมูบดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	107
ง.6 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการต้านออกซิเดชัน ของไขมันในเนื้อหมูบดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	108

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญ/ที่มาของโครงงานพิเศษ

มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* Linn.) เป็นผลไม้ที่มีอยู่ในหลายประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มะขามป้อมเป็นไม้ผลัดใบซึ่งมีขนาดปานกลางถึงใหญ่ เป็นผลไม้ที่มีปริมาณวิตามินซีสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับผลไม้ชนิดอื่นๆ คือให้วิตามินซี 1 กรัมต่อน้ำผลไม้ 100 มิลลิลิตร มะขามป้อมสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งผลแห้ง ผลสด เมล็ด ใบ ราก เปลือกไม้ และดอก ในสมัยโบราณมีการนำมะขามป้อมมาใช้เป็นยา เช่น ยาสมุนไพรของจีนและธิเบต ยาโบราณของอินเดียที่ใช้ในการรักษาโรคหลายชนิด (Scartezzini และ Speroni, 2000) มะขามป้อมมีสมบัติต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี มีรายงานว่ามะขามป้อมมีกิจกรรมในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 13.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและค่า MBC เท่ากับ 13.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Mayachiew และ Devahastin, 2008) กนิษฐาและคณะ (2551) ได้ทำการศึกษากิจกรรมการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านของไทยทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ พิลังกาสา มะกอกน้ำ มะขวิด มะขามป้อม มะดันและมะเฟือง พบว่ามะดัน มะขามป้อมและมะกอกน้ำ มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้กว้างที่สุด โดยเฉพาะสารสกัดจากมะขามป้อมสามารถยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 2.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและยังพบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดอีกด้วย นอกจากนี้ยังมีรายงานอีกว่ามะขามป้อมมีคุณสมบัติในการป้องกันโรคเบาหวาน บำรุงรักษาตับ รักษาโรคหัวใจ โรคโลหิตจางและโรคอื่นๆ ช่วยสร้างภูมิคุ้มกัน ช่วยบรรเทาอาการไข้ บรรเทาปวด ปกป้องเซลล์ ป้องกันโรคกระเพาะ ช่วยให้ความจำดีขึ้น รวมถึงลดระดับคลอเลสเทอรอลอีกด้วย (Khan, 2009)

เนื้อหมูแช่เย็นเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่เก็บไว้ได้ไม่นานมักจะเกิดการเน่าเสียโดยจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียของเนื้อสัตว์แช่เย็นได้แก่ จุลินทรีย์ไซโครโทรฟ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ชอบเจริญที่อุณหภูมิต่ำ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญจะอยู่ในช่วง 10-15 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่แนะนำสำหรับเพาะเลี้ยงให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตคืออุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่าและสามารถสร้างโคโลนีให้เห็นได้ภายใน 7-10 วัน (Jay และคณะ, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีรายงานการพบแบคทีเรียไซโครโทรฟในเนื้อสัตว์แช่เย็น แบคทีเรียที่พบได้แก่ *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Brochothix*, *Salmonella* และอื่นๆ โดยเฉพาะ *Pseudomonas* spp. (Warriss, 2000) ซึ่งพบได้ในเนื้อทุกประเภทที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ เนื้อที่เน่าเสียโดยทั่วไปจะมีลักษณะเป็นเมือก และมีกลิ่นที่ผิดปกติและจะสลายโปรตีนหรือเมแทบอไลซ์ได้กรดอะมิโนซึ่งทำให้เกิดกลิ่นที่ไม่ดี (Feiner, 2006) นอกจากนี้ไขมันในเนื้อจะเกิดออกซิเดชันอีกด้วย อาหารประเภทเนื้อสัตว์มีไขมันที่ไม่อิ่มตัวโดยเฉพาะฟอสโฟลิปิดซึ่งประกอบไปด้วยกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวในอัตราส่วนที่สูงที่สุด และยังมีสาร prooxidant ซึ่งมีแนวโน้มที่จะเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ง่าย (Monahan, 2000)

ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องหาวิธีการที่สามารถชะลอการเสื่อมคุณภาพของเนื้อหมูบดแช่เย็น ซึ่งในปัจจุบันผู้บริโภคนิยมบริโภคอาหารที่ใช้วิธีการถนอมอาหารแบบธรรมชาติกันมากขึ้นการใช้สารธรรมชาติในการยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์เนื้อแช่เย็นเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถใช้ชะลอการเสื่อมคุณภาพได้ ดังการรายงานของ Sáyago-Ayerdi และคณะ (2009) ได้รายงานว่าใยอาหารจากองุ่นมีประสิทธิภาพในการต้านการออกซิเดชันของไขมันได้ดีโดยความสามารถในการต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่ใช้ นอกจากนี้ Naveena และคณะ (2008) พบว่าสารสกัดจากเปลือกทับทิมสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันในพายไก่ที่ปรุงสุกได้ดีกว่า BHT แต่ยังไม่เคยมีการนำมะขามป้อมมาใช้ในการยืดอายุการเก็บอาหาร ดังนั้นน่าสนใจที่จะทดลองนำมะขามป้อมมาใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อหมูบดแช่เย็นเพื่อประโยชน์และความปลอดภัยของผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากมะขามป้อมต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เน่าเสียและกระบวนการต้านออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูบดแช่เย็น

1.2.2 เพื่อประยุกต์ใช้เนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมโดยนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมูบดปรุงรส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ทดลองหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดจากมะขามป้อมในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เน่าเสีย จากนั้นจึงนำสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมนี้ไปทดลองเติมลงในเนื้อหมูบดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์

1.4 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

การดำเนินงานวิจัยมีขั้นตอนดังนี้

1.4.1 การเตรียมสารสกัดจากมะขามป้อมสดด้วยเมทานอล

นำมะขามป้อมสดมาล้างให้สะอาดแล้วนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆจากนั้นนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze dry และนำไปบดให้เป็นผงละเอียด นำไปเก็บจนกว่าจะนำมาทดลอง จากนั้นชั่งตัวอย่างผงมะขามป้อมแล้วผสมกับเมทานอล นำไปเขย่าในเครื่องเขย่าแล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง แล้วนำไประเหยเพื่อเอาเมทานอลออกโดยเครื่อง Rotary evaporator จนได้สารสกัดเข้มข้นทิ้งไว้ให้แห้งและนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

1.4.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เขี่ยเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* DMST 20076 ลงในหลอดอาหาร NB จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นำเชื้อที่เจริญในอาหาร NB ถ่ายลงในอาหาร NA จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิตามเดิม เมื่อได้เชื้อที่บริสุทธิ์แล้วทำการเขี่ยเชื้อใส่ลงในอาหาร NB แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาตามเดิม จากนั้นนำเชื้อที่เจริญในอาหารเหลวทุกหลอดไปปั่นเหวี่ยงและเก็บไว้ใช้ในขั้นต่อไป

1.4.3 การศึกษาผลของความเข้มข้นสารสกัดมะขามป้อมในการยืดอายุการเก็บเนื้อหมูบดที่อุณหภูมิต่ำ

ทำการผลิตหมูบดและทำการแบ่งเนื้อหมูบดออกเป็น 6 ชุดเท่าๆกัน ชุดที่ 1 ไม่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม (ชุดควบคุม) ชุดที่ 2 เติมบิวทิเลเตดไฮดรอกซีโทลูอีน (butylated hydroxytoluene, BHT) ชุดที่ 3 เติมสารสกัดจากมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 0.25 ชุดที่ 4 เติมสารสกัดมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0 ชุดที่ 5 เติมสารสกัดมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และชุดที่ 6 เติมสารสกัดมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 จากนั้นในแต่ละชุดทำการแบ่งเนื้อหมูบดออกเป็น 3 ส่วนโดยเติมสารแขวนลอยของ *Pseudomonas fluorescens* ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทุกตัวอย่างและทำการวัดค่า pH ค่า TBARS และวัดสี ในทุกๆตัวอย่างของการเก็บรักษา โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

1.4.4 การนำสารสกัดมะขามป้อมมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์หมูบดปรุงรส

เมื่อได้ความเข้มข้นของสารสกัดจากมะขามป้อมที่เหมาะสมต่อยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อหมูบดแล้วนำมาเป็นส่วนประกอบในการผลิตเนื้อหมูบดปรุงรส จากนั้นทำการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและทดสอบความแตกต่างทางประสาทสัมผัส

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทำให้ทราบถึงผลของการใช้สารสกัดจากมะขามป้อมในการยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อหมูบดในแง่ของการป้องกันการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เน่าเสียเพื่อให้ผลิตภัณฑ์เก็บได้นานและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ความหมายของเนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์หมายถึงเนื้อเยื่อจากสัตว์ซึ่งสามารถใช้บริโภคเป็นอาหารได้รวมถึงผลิตภัณฑ์แปรรูปต่างๆโดยใช้เนื้อเยื่อเหล่านี้ ส่วนใหญ่มนุษย์จะได้เนื้อจากสัตว์เลี้ยงต่างๆและสัตว์น้ำซึ่งมีหลายชนิดหลายสายพันธุ์ด้วยกัน ดังนั้นเพื่อแยกแยะให้เห็นข้อแตกต่างที่ชัดเจนขึ้นเราจึงแบ่งเนื้อสัตว์ทั้งหมดออกได้เป็น 4 ประเภทใหญ่ๆ ตามแหล่งที่มาดังนี้

1. เนื้อแดง (Red meat) หมายถึงเนื้อเยื่อที่ได้จากโค กระบือ สุกร และแกะ รวมถึง แพะ ม้า ลามะ อูฐ กวาง และกระต่าย แต่จะจำกัดอยู่ในเฉพาะเป็นประเทศๆไปเท่านั้นไม่ครอบคลุมไปทุกประเทศเหมือนในสัตว์ 4 ชนิดแรก

2. เนื้อสัตว์ปีก (Poultry meat) หมายถึงเนื้อจากสัตว์ปีกที่มนุษย์นำมาเลี้ยงเพื่อบริโภค ได้แก่ ไก่ เป็ด ไก่งวง ห่าน และไก่ต๊อก เป็นต้น

3. เนื้อจากสัตว์น้ำ (sea food) หมายถึงเนื้อสัตว์จากสัตว์ที่อาศัยในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม ซึ่งส่วนใหญ่ก็จะเป็นปลา กุ้ง หอย ปู และสัตว์น้ำอื่นๆ

4. เนื้อสัตว์ป่า (Game meat) คือเนื้อจากสัตว์ป่าทุกชนิดที่มนุษย์ล่ามาเพื่อบริโภคหรือเพื่อเป็นกีฬาพักผ่อน

ตามปกติแล้วการที่จะกล่าวถึงเนื้อสัตว์นั้นก็ย่อมจะหมายความถึงกล้ามเนื้อที่ได้จากสัตว์ โดยเฉพาะจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยเป็นส่วนของเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle) ที่มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีที่เกิดขึ้นภายหลังจากสัตว์ตายแล้ว ซึ่งเนื้อสัตว์ประกอบไปด้วยเนื้อเยื่ออื่นๆอีกหลายอย่างรวมอยู่ด้วยกัน เช่น ประสาท ไขมัน และเส้นเลือด แต่กล้ามเนื้อก็เป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ในปริมาณสูงสุด ดังนั้นสมบัติทางเคมีหรือทางกายภาพของเนื้อตลอดจนเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่อยู่ด้วยกันและเกี่ยวข้องกันจึงมีความสำคัญมากต่อการนำเอาเนื้อสัตว์ไปเป็นอาหารเนื่องจากกล้ามเนื้อเป็นอวัยวะที่มีโครงร่างจำเพาะและทำหน้าที่หลักในการเคลื่อนไหวร่างกายของสัตว์ ดังนั้นการที่เราจะนำเอากล้ามเนื้อมาเป็นอาหารจึงจำเป็นที่จะต้องทำความเข้าใจถึงลักษณะตลอดจนสมบัติของมันอย่างเพียงพอจึงจะสามารถนำเอามาทำให้สุกและปรุงรสเป็นอาหารได้อย่างถูกต้องตามรสนิยมและความต้องการของมนุษย์ได้อย่างสมบูรณ์ ตัวอย่างเช่น กล้ามเนื้อบางก้อนในร่างกายสัตว์ จะมีคุณภาพและปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสูง ทั้งนี้ก็เพราะเหตุว่ามันต้องทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้าที่เฉพาะอย่างที่ค่อนข้างหนักและติดต่อกันเป็นเวลานานอยู่เสมอๆดังนั้นเมื่อนำไปปรุงอาหาร มันจึงเหนียวกว่ากล้ามเนื้อก้อนอื่นๆแต่เมื่อพิจารณาถึงรสชาติ ความชุ่มฉ่ำแล้วกลับไม่ปรากฏว่าด้อยกว่ากล้ามเนื้อก้อนอื่นๆเลย ดังนั้นถ้าเรามีความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับกล้ามเนื้อก้อนนี้มาก่อนจะช่วยให้เราสามารถพิจารณานำเอาวิธีการปรุงรสที่ถูกต้องมาใช้กับเนื้อก้อนนี้ได้อย่างเหมาะสมที่สุดทำให้เกิดความน่ารับประทาน (ชัยณรงค์, 2529)

2.2 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อสัตว์

2.2.1 โปรตีน

โปรตีนในเนื้อสัตว์เป็นองค์ประกอบหลักของเนื้อสัตว์และเนื่องจากส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อสัตว์จะคล้ายคลึงกันกับส่วนประกอบของเนื้อเยื่อในร่างกายมนุษย์มาก ดังนั้นมันจึงถูกย่อยได้ง่ายและถูกดูดซึมเอาไปใช้ในร่างกายได้ในอัตราที่เร็วกว่าและในปริมาณที่มากกว่าอาหารชนิดอื่นๆ เนื้อสัตว์มีโปรตีนที่มีคุณภาพสูงและนอกจากนั้นยังมีอาหารแร่ธาตุอยู่ในปริมาณสูงตลอดจนเป็นแหล่งของวิตามินบีจำเป็น (Essential B vitamins) โดยเฉพาะอย่างยิ่งวิตามินบี 12 ซึ่งในวัสดุอาหารชนิดอื่นมักจะขาดแคลน สำหรับความหมายของโปรตีนคุณภาพสูงนั้นก็คือโปรตีนที่มีกรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acids) ทุกตัวอยู่ในโปรตีนนั้นครบถ้วน โปรตีนคุณภาพสูงนี้เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับมนุษย์ที่ต้องการเพื่อให้ร่างกายได้เจริญเติบโตอย่างพอเพียงมีการพัฒนาในด้านสมองอย่างสมบูรณ์แบบ โปรตีนในเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่จะได้จากกล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันทั้งนี้โดยปริมาณมากที่สุดนั้นจะอยู่ในเส้นใยย่อย (Myofibril) ซึ่งเป็นเส้นใยขนาดเล็กมากที่อัดอยู่ในเซลล์หรือที่เรียกว่าเส้นใยกล้ามเนื้อ (Muscle fiber) โปรตีนเหล่านี้จึงเรียกชื่อรวมว่าโปรตีนเส้นใยย่อย (Myofibrillar protein) กลุ่มของโปรตีนที่มีจำนวนมากถัดไปเรียกว่า โปรตีนซาร์โคปลาสมิก (Sarcoplasmic protein) ซึ่งก็หมายถึงโปรตีนที่ห่อหุ้มรอบๆเส้นใยย่อยภายในเส้นใยกล้ามเนื้อนั้นเอง โปรตีนในกลุ่มนี้จะประกอบไปด้วย สารย่อยต่างๆของกล้ามเนื้อและไมโอโกลบิน (Myoglobin) กลุ่มโปรตีนในปริมาณมากถัดไปอีกก็คือกลุ่มโปรตีนจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งก็จะประกอบไปด้วยคลอลาเจน (Collagen) เป็นส่วนใหญ่โดยมีอิลาสติน (Elastin) รวมอยู่ด้วยในปริมาณต่ำ ถึงแม้ว่าในกล้ามเนื้อดิบนั้นจะมีโปรตีนอยู่ประมาณ 18-22 เปอร์เซ็นต์ แต่ปริมาณนี้อาจปรวนแปรได้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ชนิดต่างๆทั้งนี้ก็เพราะปริมาณไขมันที่มีอยู่เป็นตัวแปรสำคัญ แต่อย่างไรก็ตามนับได้ว่าเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์สามารถให้ปริมาณโปรตีนแก่มนุษย์ได้ตามปริมาณที่ต้องการค่อนข้างสูง ดังที่แนะนำไว้โดย US Food and Nutrition Board ของสภาการวิจัยแห่งชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการใช้

สหรัฐอเมริกา ซึ่งแนะนำไว้สำหรับคนที่อยู่ในวัยหนุ่มสาวว่าต้องการโปรตีน 56 กรัมต่อวันนั้น เนื่องจากคนเราไม่สามารถเก็บรักษาโปรตีนไว้เป็นปริมาณมากๆแล้วจึงค่อยดึงออกมาใช้ทีละวันๆ ได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องบริโภคโปรตีนเข้าไปทุกวันและในที่นี้ถ้าพิจารณาจากเนื้อสัตว์ที่บริโภค 100 กรัมต่อวัน ซึ่งเท่ากับว่าได้รับโปรตีน 45-55 เปอร์เซ็นต์ ของความต้องการต่อวันนั่นเอง (สัญชัย, 2550)

นอกเหนือไปจากที่เนื้อและผลิตภัณฑ์สามารถให้โปรตีนแก่มนุษย์แล้ว โปรตีนจากเนื้อสัตว์เหล่านี้ยังนับได้ว่าเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพสูงอีกด้วย โปรตีนคุณภาพสูงหมายถึงโปรตีนที่มีกรดอะมิโนจำเป็นครบถ้วนและยังมีคุณสมบัติถูกย่อยได้สูงและร่างกายสามารถดูดซึมเอาไปใช้ประโยชน์ได้ง่ายอีกด้วย กรดอะมิโนจำเป็นได้แก่ ไอโซลิวซีน (Isoleucine) ลิวซีน (Leucine) ไลซีน (Lysine) เมทไทโอนีน (Methionine) ฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine) ทรีโอนีน (Threonine) ทริปโตเฟน (Tryptophan) และวาลีน (Valine)

นอกเหนือไปจากโปรตีนเนื้อสัตว์ยังมีพวก Nonprotein nitrogenous compound ได้แก่ กรดอะมิโนอิสระ, Simple peptide, Amine, Amide และ Creatine ซึ่งแม้ว่าสารเหล่านี้จะไม่ได้มีส่วนสำคัญต่อคุณค่าทางอาหารโดยตรงก็ตามแต่สารเหล่านี้ยังเป็นแหล่งของไนโตรเจนที่ร่างกายสามารถจะนำมาประกอบในการสังเคราะห์กรดอะมิโนและโปรตีนได้เองด้วย (ชัยณรงค์, 2529)

2.2.2 ไขมัน

ไขมันในตัวสัตว์โดยทั่วๆไปแล้วถือว่าเป็นพวกที่มีปริมาณแปรปรวนมากที่สุดเพราะปริมาณไขมันจะขึ้นอยู่กับส่วนตัดเนื้อมาจากส่วนใดของซากหรือปริมาณไขมันห่อหุ้มซาก ไขมันทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานของสัตว์นอกจากนี้ยังเพิ่มรสชาติแก่เนื้อในกรณีปริมาณไขมันแทรกในกล้ามเนื้อสันนอก ไขมันในตัวสัตว์จะรวมกันเป็นกลุ่มเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) ซึ่งเนื้อเยื่อไขมันนี้ประกอบไปด้วย โมโน ไดหรือไตรกลีเซอไรด์ แต่ส่วนใหญ่จะเป็นไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) สำหรับส่วนประกอบของไขมันที่เกี่ยวข้องได้แก่ ไตรกลีเซอรอล ฟอสโฟลิปิด คลอเรสเตอรอล และวิตามินละลายในไขมันอีกจำนวนหนึ่ง (ชัยณรงค์, 2529)

กรดไขมันในไตรกลีเซอรอลของเนื้อสัตว์นั้นส่วนใหญ่จะเป็นประเภทอิ่มตัว โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าจะเปรียบเทียบกับไขมันจากพืช ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของน้ำมันทั้งนี้เพราะมีอัตราส่วนของกรดไขมันอิ่มตัวอยู่ในปริมาณที่สูงนั่นเอง ในไขมันของเนื้อสัตว์นั้นเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีอยู่ในปริมาณสูงมากกว่านั้นก็จะเป็นพวกกรดไขมันอิ่มตัว ซึ่งได้แก่ กรดปาล์มมิติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(palmitic) และสเตียริก (stearic) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าไขมันของเนื้อสัตว์และไขมันสัตว์นั้นเป็นประเภทไขมันอิ่มตัว ส่วนไขมันจากพืชซึ่งก็คือน้ำมันพืชเป็นประเภทไม่อิ่มตัวซึ่งผู้สูงอายุจะวิตกในเรื่องไขมันอุดตันในเส้นเลือด ซึ่งเกิดจากการบริโภคอาหารที่มีคลอเลสเตอรอล (cholesterol) และกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) สูงซึ่งแพทย์มักจะแนะนำให้เว้นการบริโภคไขมันจากเนื้อสัตว์ แต่ให้บริโภคไขมันจากพืชแทน (ชัยณรงค์, 2529)

2.2.3 วิตามิน (vitamin)

เนื้อสัตว์เป็นแหล่งอาหารที่มีวิตามินบีรวม (B-complex) มากที่สุดโดยเฉพาะอย่างยิ่งไทเอมีน (thiamine) ไรโบฟลาวิน (riboflavin) ไนอะซิน (niacin) วิตามินบี 6 และวิตามินบี 12 ปริมาณวิตามินบีที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อสัตว์จะมีปริมาณแตกต่างกันไป มีผลเนื่องมาจากปัจจัยหลายประการ เช่น ชนิดสัตว์ อายุ ความสมบูรณ์ของตัวสัตว์ ตลอดจนลักษณะอาหารที่สัตว์ได้รับในสุกรจะได้รับวิตามินบี 1 (ไทเอมีน) มากกว่าโค กระบือ ถึง 10 เท่าแต่โค กระบือ แพะ และแกะ ซึ่งเป็นสัตว์กระเพาะรวม (ruminant) สามารถสร้างวิตามินบีได้เอง อายุของสัตว์มีอิทธิพลต่อปริมาณวิตามินบีที่เห็นได้ชัดคือเนื้อลูกโคจะมีวิตามินสูงกว่าเนื้อโคอายุปกติและปริมาณวิตามินบีในสุกรจะแตกต่างกันตามชนิดของอาหารที่ได้รับ แต่สัตว์สี่กระเพาะจะมีวิตามินบีค่อนข้างคงที่ไม่ขึ้นกับชนิดของอาหารเพราะกลไกการสร้างวิตามินบีมาจากจุลินทรีย์ภายในตัวสัตว์นั่นเอง (ชัยณรงค์, 2529)

ตารางที่ 2.1 ปริมาณวิตามินบี 1 บี 2 และไนอะซิน ที่พบในเนื้อสัตว์ (มิลลิกรัมเนื้อสด100 กรัม)

ชนิดของเนื้อ	วิตามินบี 1	วิตามินบี 2	ไนอะซิน
เนื้อวัว	0.06	0.13	3.6
เนื้อหมู	0.76	0.18	4.1
เนื้อแกะ	0.15	0.20	4.7
เนื้อลูกวัว	0.14	0.25	6.4

ที่มา : ชัยณรงค์ (2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.4 แร่ธาตุ

เนื้อสัตว์เป็นแหล่งแร่ธาตุที่ดี ซึ่งแร่ธาตุสำคัญในเนื้อสัตว์ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก โซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม ทองแดง เป็นต้น แต่แร่ธาตุเหล่านี้พบทั่วไปที่เนื้อเยื่อต่างๆ โดยเฉพาะหัวใจ ตับ ไต เนื้อ มีปริมาณแร่ธาตุสูงกว่า แร่ธาตุเหล่านี้จะมีการสูญเสียน้อยมากขณะทำให้เนื้อสุก แร่ธาตุมีผลต่อความแข็งแรงและการเจริญของกระดูกอีกทั้งยังเป็นส่วนประกอบของฮีโมโกลบินทำให้ระบบประสาททำงานตามปกติเป็นต้น (ชัยณรงค์, 2529)

ตารางที่ 2.2 ส่วนประกอบปริมาณแร่ธาตุในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (มิลลิกรัมเนื้อสด100กรัม)

แร่ธาตุ	เนื้อโค	เนื้อลูกโค	เนื้อสุกร	เนื้อแกะ
แคลเซียม	10.7	8.5	7.3	8.2
ฟอสฟอรัส	181	261	269	214
เหล็ก	2.8	2.9	2.3	1.2
โซเดียม	51.6	66.3	71.8	82.9
โพแทสเซียม	398	475	485	130
แมกนีเซียม	19.8	21.4	28	24.1

ที่มา : ดัดแปลงจาก (ชัยณรงค์, 2529)

2.2.5 คาร์โบไฮเดรท (carbohydrate)

ในเนื้อสัตว์มีคาร์โบไฮเดรทต่ำมากเพียง 1 % หรือน้อยกว่า ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของไกลโคเจน (glycogen) ในตับส่วนกล้ามเนื้อมีบ้าง นอกจากนี้ยังมีกรดแลคติค (lactic acid) จะพบมากหลังจากที่สัตว์ตายแล้ว (ชัยณรงค์, 2529)

ตารางที่ 2.3 ปริมาณคาร์โบไฮเดรทในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์	**คาร์โบไฮเดรท (%)**
กล้ามเนื้อ	0 – 0.9
สัตว์ปีก	0 – 0.1
ตับ	10 – 17
ไส้กรอก	0.2 – 3.9

ที่มา : ชัยณรงค์ (2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.6 น้ำ (Water)

น้ำนับเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเนื้อสัตว์ น้ำในเนื้อสัตว์มีผลต่อคุณภาพการบริโภคของเนื้อสัตว์ เช่น รสชาติ (taste) ความนุ่ม (tenderness) ความชุ่มฉ่ำ (juiciness) สี (color) และยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดกับเนื้อสัตว์ในการเก็บเนื้อในอุณหภูมิแช่เย็น (chilling) แช่แข็ง (frozen) และกระบวนการแปรรูป (processing) (ชัยณรงค์, 2529)

2.3 คุณภาพของเนื้อสัตว์

ผู้บริโภคหรือผู้ประกอบการเกี่ยวกับการใช้เนื้อ เพื่อนำไปแปรรูปทำผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ควรทราบถึงสิ่งต่างๆที่มีผลกระทบต่อคุณภาพของอาหารหรือผลิตภัณฑ์ที่ต้องการและสิ่งสำคัญต้องคำนึงถึงสิ่งแรกคือคุณภาพของวัตถุดิบที่จะใช้เพราะเป็นสิ่งที่บ่งบอกว่าคุณภาพของผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะดีหรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่ใช้คือผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะดีไม่ได้ถ้าวัตถุดิบมีคุณภาพด้อย

2.3.1 คุณสมบัติต่างๆ ที่เป็นส่วนประกอบให้เนื้อมีคุณภาพเป็นที่พึงประสงค์

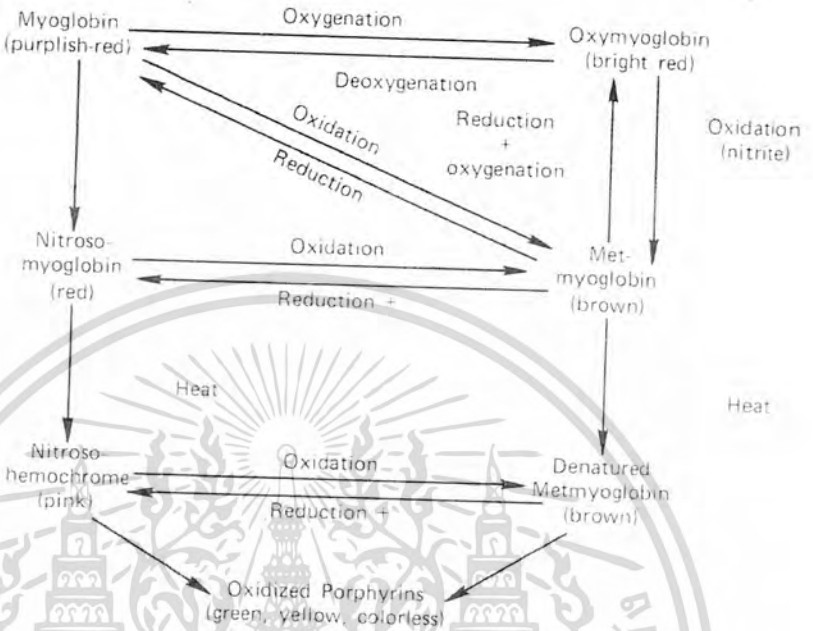
2.3.1.1 สี

สีเป็นคุณภาพประสาทสัมผัสแรกที่ผู้บริโภคใช้ในการตัดสินคุณภาพของเนื้อที่วางจำหน่าย แม้ว่าบางครั้งสีแดงสดของเนื้อที่ผู้บริโภคต้องการนั้นจะมิได้เกี่ยวข้องโดยตรงกับความสดหรือความนุ่มของเนื้อ สีแดงสดของเนื้อมีความเสถียรต่ำเมื่อเก็บไว้ 2-3 วันในตู้เย็นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลคล้ำซึ่งไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (Salisbury และ Crampton, 1960)

สีในเนื้อสดเกิดขึ้นจากปริมาณไมโอโกลบินและออกซิเจนในอากาศ ปกติกล้ามเนื้อจะมีสีแดงอมชมพู (Purple-red) แต่เมื่อถูกชำแหละและตัดเป็นชิ้นๆ เนื้อจะถูกอากาศทำให้เนื้อมีสีชมพูสด (Bright-pink) เนื่องจากออกซิเจนเข้าทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบินเกิดเป็นสารออกซิไมโอโกลบิน (Oxymyoglobin) ขึ้นแต่เนื้อบริเวณที่วางบนพื้นเขียงไม้ ซึ่งจะขาดหรือไม่มีออกซิเจนจะเกิดเป็นสารเมทไมโอโกลบิน (Metmyoglobin) ขึ้นทำให้เนื้อมีสีน้ำตาล ดังรูปที่ 2.1 จะอธิบายถึงสีของเนื้อเมื่อได้รับความร้อนในการนำไปทำให้สุกหรือนำไปใช้ประกอบอาหาร พบว่าเนื้อมีสีน้ำตาลอมเทา (Grey-brown) เนื่องจากสารเมทไมโอโกลบินถูกทำให้เสียสภาพไปและในที่สุดเมื่อเนื้อถูกวางทิ้งไว้นานๆเนื้อจะขาดออกซิเจนทำให้สารให้สีเกิดเป็นสารออกซิไดส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพรไพริน (Oxidised prophyrins) มีสีเขียวเหลืองอ่อนๆ สีของเนื้อในช่วงนี้แสดงให้ทราบว่าคุณภาพของเนื้อไม่ดีและไม่เหมาะต่อการนำไปบริโภค (Salisbury และ Crampton, 1960)



รูปที่ 2.1 การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อ

ที่มา : Robert (1978)

ส่วนทางด้านการแปรรูปผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ซึ่งต้องรักษาสีแดงของเนื้อไว้เพื่อให้สะดุดตาผู้บริโภค พบว่าสามารถทำได้โดยใช้สารไนตริกออกไซด์จากสารประกอบพวกไนเตรทหรือไนไตรท์ของเกลือโซเดียมหรือโพแทสเซียมช่วยทำให้เนื้อสัตว์มีสีแดงเข้มซึ่งจะเปลี่ยนเป็นสารที่มีสีชมพูเรื่อๆ (Light pink) เมื่อนำไปทำให้สุกโดยการใช้ความร้อนหรือรมควัน (Salisbury และ Crampton, 1960)

ก.) คุณสมบัติทางเคมีของไมโอโกลบิน

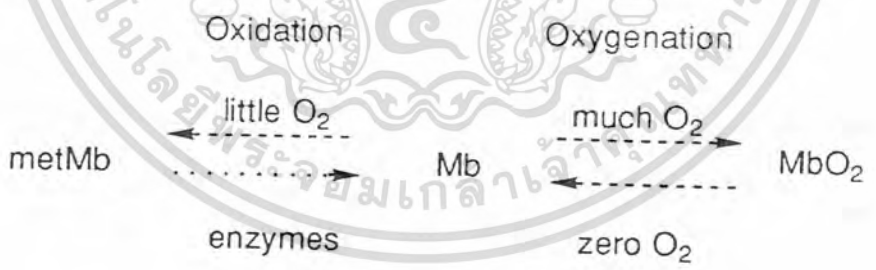
ไมโอโกลบินคือสารประกอบที่สามารถละลายน้ำได้เป็นส่วนประกอบของโปรตีน (globin) ที่มี pyrrole complex ที่เรียกว่า ฮีม ซึ่งในฮีมจะประกอบไปด้วยอะตอมของเหล็ก ซึ่งมีแนวโน้มที่จะเกิดการเปลี่ยนสภาพของ oxidation state ระหว่าง Fe^{+2} และ Fe^{+3} กิจกรรมทางกายภาพของไมโอโกลบินในกล้ามเนื้อประกอบด้วยสิ่งสำคัญในการขนส่งออกซิเจนจากกระแสเลือด (เป็นที่ซึ่งออกซิเจนถูกขนส่งโดยฮีโมโกลบิน) ไปยังจุดที่มีกิจกรรมภายในกล้ามเนื้อของสัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากกล้ามเนื้อตาย คุณสมบัติในการขนส่งออกซิเจนของไมโอโกลบินนี้ยังคงมีความสำคัญสำหรับการรักษาสภาพของความเป็นสีแดงสด (เคมีของเม็ดสีในเลือดซึ่งก็คือฮีไมโอโกลบินนั้นคล้ายกับเคมีของไมโอโกลบิน) อย่างไรก็ตามตั้งแต่การกำจัดเลือดของซากสัตว์ในการฆ่าสัตว์ และแนวโน้มของการเก็บรักษาในหลอดเลือดโดยส่วนใหญ่จะสัมพันธ์กับไมโอโกลบิน (Miller, 2000)

ไมโอโกลบินสามารถจับหรือปล่อยออกซิเจนเฉพาะเมื่อเหล็กของฮีมซึ่งอยู่ในรูป Fe^{+2} โมเลกุลไมโอโกลบินอาจจะมีอยู่ในรูปของ oxygenated คือมีการจับกันอย่างหลวมๆของโมเลกุลออกซิเจนหรืออยู่ในรูป unoxygenated ที่ไม่ได้จับกับโมเลกุลของออกซิเจน สีของเนื้อที่มีไมโอโกลบินในรูปที่มีการจับกับออกซิเจนจะมีสีแดงสดเหมือนผลเชอรี่สุกแต่ในเวลาต่อมาสีจะเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้มถ้าเหล็กถูกออกซิไดส์กลายเป็น Fe^{+3} สารประกอบเชิงซ้อนของฮีมจะอยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำสีก็จะเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาลและไม่จับอยู่กับออกซิเจน ซึ่งไมโอโกลบินในรูปที่ถูกออกซิไดส์นี้คือเมทไมโอโกลบิน (metmyoglobin) (Miller, 2000)

การออกซิเดชันของไมโอโกลบินให้กลายเป็นเมทไมโอโกลบิน ซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่อมีความเข้มข้นของออกซิเจนต่ำ ส่วนไมโอโกลบินในรูปออกซิเจเนตจะเกิดขึ้นโดยง่ายถ้ามีออกซิเจนมากและถูกเปลี่ยนไปเป็นรูป unoxygenated (รีดิวส์ไมโอโกลบิน) เมื่อขาดออกซิเจนปฏิกิริยานี้ผันกลับได้ตามการเปลี่ยนแปลงที่เหมาะสมของปริมาณออกซิเจน ดังรูปที่ 2.2 (Miller, 2000)



รูปที่ 2.2 ออกซิเดชันและออกซิเจเนชั่นของไมโอโกลบิน

ที่มา : Miller (2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของการเปลี่ยนแปลงทางเคมีคือจะทำให้สีของเนื้อสัตว์มีสีแดงสดของออกซิไมโอโกลบินนานเท่าที่มีออกซิเจนอยู่ปริมาณมากที่ผิวของเนื้อ การขจัดออกซิเจนออกหมด เช่นในการบรรจุเนื้อแบบสุญญากาศทำให้มีการเปลี่ยนไมโอโกลบินไปอยู่ในรูปรีดิวส์ (unoxygenated form) ซึ่งสามารถเปลี่ยนกลับไปเป็นสีแดงสดของออกซิไมโอโกลบินทันทีที่เปิดบรรจุภัณฑ์ออกและเนื้อได้รับออกซิเจนอีกครั้ง (Miller, 2000)

ในเนื้อหรือผลิตภัณฑ์เนื้อที่ไม่ได้การบรรจุแบบสุญญากาศ ปัจจัยอื่นจะทำงานซึ่งจะทำให้ออกซิเจนถูกใช้ไปจนหมดโดยออกซิเจนจะค่อยๆถูกขจัดออกไปจากระบบ สิ่งที่สำคัญที่สุดคือกิจกรรมเมแทบอลิซึมที่เหลืออยู่ของกล้ามเนื้อของตัวสัตว์เองและเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ที่อาจมีอยู่ โดยกิจกรรมเมแทบอลิกเกิดขึ้นภายในชิ้นเนื้อส่วนเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์เกิดขึ้นที่ผิวเนื้อซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่ของจุลินทรีย์ ยกเว้นเมื่อเนื้อและจุลินทรีย์กระจายทั่ว จุลินทรีย์สามารถเจริญและสามารถใช้ออกซิเจนที่ผสมอยู่ในเนื้อรวมทั้งที่ผิวของเนื้อ ในเหตุการณ์นี้ออกซิเจนจะถูกทำให้ลดลงที่บริเวณส่วนกลางขณะที่อากาศที่ผิวหน้ายังเหลืออยู่ ดังนั้นจึงมีความแตกต่างของความเข้มข้นของออกซิเจนระหว่างเนื้อส่วนกลางและที่ผิวภายนอกที่ระยะที่ต่ำกว่าผิวหน้าของเนื้อจะเป็นบริเวณที่มีความเข้มข้นของออกซิเจนต่ำ คือที่ซึ่งไมโอโกลบินถูกออกซิไดส์เป็นเมทไมโอโกลบินทำให้เกิดชั้นของเนื้อที่มีสีน้ำตาลอยู่ภายใต้ผิวของเนื้อที่มีสีแดงในที่สุดชั้นของเมทไมโอโกลบินจะหนาจนปรากฏเป็นสีน้ำตาลที่ชัดเจนและมีกลิ่นไม่สด (Miller, 2000)

ในการบรรจุในสภาพสุญญากาศจะบรรจุเนื้อสดหรือผลิตภัณฑ์เนื้อจะบรรจุภายใต้ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์สูง ซึ่งจะช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาการหืนแบบออกซิเดทีฟ (oxidative rancidity) และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามในการบรรจุเนื้อสดความเข้มข้นของออกซิเจนในอากาศผสมจะต้องไม่ต่ำกว่าร้อยละ 10 เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากการเกิดเมทไมโอโกลบิน (Miller, 2000)

สีของเนื้อเป็นส่วนสำคัญมากในการมองเห็น ซึ่งเป็นปัจจัยที่เป็นผลกระทบต่อคุณภาพของเนื้อ คือมันจะอยู่ภายในส่วนประกอบของเส้นใยกล้ามเนื้อ การมองเห็นสีของเนื้อเป็นผลจากการที่โปรตีนที่ประกอบด้วยเม็ดสีดูดซับหรือสะท้อนแสง ไมโอโกลบินเป็นสารประกอบหลักในเนื้อที่ประกอบด้วยเม็ดสี สภาพออกซิเดทีฟของวงแหวนฮีมภายในไมโอโกลบินและสิ่งที่จับกับลิแกนด์ (ligand) ของไมโอโกลบินมีผลต่อสีของเนื้อ ปริมาณของไมโอโกลบินที่อยู่ภายในกล้ามเนื้อขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ หน้าที่ของกล้ามเนื้อที่อยู่ในตัวสัตว์และอายุของสัตว์ สภาพของเหล็กภายในวงแหวน phorforin ของไมโอโกลบิน (Fe^{+2} หรือเฟอรัส; Fe^{+3} หรือเฟอริก) และสารประกอบที่จับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับไมโอโกลบินลิแกนด์ส่วนใหญ่มีผลมาจากสภาวะการเก็บรักษาของเนื้อ (Hudson และ Gordon, 1994)

สีของเนื้อสัตว์จากสัตว์ต่างชนิดกันจะมีปริมาณไมโอโกลบิลต่างกันเมื่อปริมาณไมโอโกลบินในเนื้อเพิ่มขึ้นความเข้มของสีจะเพิ่มขึ้นตั้งแต่สีขาวหรือชมพูไปจนถึงสีแดงเข้มมาก ปริมาณไมโอโกลบินในเนื้อวัวสูงกว่าในเนื้อหมูหรือเนื้อสัตว์ปีกซึ่งมีสีอ่อนกว่า อย่างไรก็ตาม กล้ามเนื้อของสัตว์ชนิดเดียวกันและกล้ามเนื้อของสัตว์จากซากสัตว์ชิ้นเดียวกันสามารถมีสีของเนื้อที่แตกต่างกันได้ กล้ามเนื้อแต่ละส่วนที่มีปริมาณไมโอโกลบินผันแปรแตกต่างกันขึ้นอยู่กับบทบาทหน้าที่ด้านสรีระของกล้ามเนื้อ ส่วนของกล้ามเนื้อที่ถูกใช้งานมาก เช่นกล้ามเนื้อขาในไก่และสัตว์ชนิดอื่นจะมีปริมาณไมโอโกลบินสูงกว่าเนื่องจากมีความต้องการไมโอโกลบินเพื่อการเก็บรักษาและขนส่งออกซิเจนในกล้ามเนื้อ ปริมาณไมโอโกลบินจะเพิ่มขึ้นตามอายุของสัตว์ที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นเนื้อของสัตว์ที่แก่กว่าจะมีสีเข้มกว่าเนื้อของสัตว์ที่มีอายุน้อยกว่า ตัวอย่างเช่น เนื้อลูกวัวจะมีสีชมพูอมน้ำตาล ขณะที่เนื้อวัวจากวัวที่มีอายุ 3 ปีขึ้นไปจะมีสีแดงสดความเข้มของสีแดงที่เพิ่มขึ้นของเนื้อวัวมีสาเหตุจากปริมาณไมโอโกลบินที่สูงขึ้น ดังตารางที่ 2.4 ดังนั้นสีของกล้ามเนื้อสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งบอกถึงการโตเต็มวัย (maturity) ของสัตว์และคุณภาพของเนื้อสัตว์แต่ละชนิด ไมโอโกลบินเป็นเม็ดสีหลักที่มีอยู่ในเนื้อโดยมีปริมาณร้อยละ 50-80 ของเม็ดสีทั้งหมด และฮีโมโกลบินเป็นเม็ดสีหลักที่มีในเลือดซึ่งสามารถทำให้เกิดสีของเนื้อได้ สภาวะในระหว่างการฆ่าสัตว์และการขจัดเลือดออกอย่างเหมาะสมมีอิทธิพลในการกำหนดปริมาณฮีโมโกลบิน ปริมาณฮีโมโกลบินที่สูงทำให้เนื้อมีสีเข้มส่วนเม็ดสีชนิดอื่นๆ ไซโตโครม (cytochrome) คะตะเลสและฟลาวิน (flavin) มีอยู่ภายในกล้ามเนื้อสามารถมีผลต่อสีของเนื้อได้แต่มีผลน้อยมาก (Hudson และ Gordon, 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของอาหารประเภทเนื้อสัตว์ เนื้อดิบ สี ปริมาณไมโอโกลบินในเนื้อสัตว์ และปัจจัยสำคัญอื่นๆ ที่มีผลต่อคุณภาพของเนื้อสัตว์

ชนิดของอาหารประเภทเนื้อสัตว์	อายุของสัตว์	ปริมาณไมโอโกลบิน	การมองเห็นสีของเนื้อสัตว์	ปัจจัยหลักที่มีอิทธิพลต่อคุณภาพในชนิดของเนื้อสัตว์
เนื้อวัว	12 วัน	0.7	ชมพูอมน้ำตาล สีสด	ความนุ่มของเนื้อ
	3 ปี	4.6	สีแดงเชอรี่ถึงสีแดงเข้ม	ความชุ่มน้ำและกลิ่นรส
	มากกว่า 10 ปี	16-20		
เนื้อแกะ	ลูกแกะ	2.5	สีแดงสว่างถึงสีแดง	กลิ่นรส ความชุ่มน้ำและความนุ่มของเนื้อ
เนื้อสัตว์ปีก	8 สัปดาห์	0.4	สีแดงอ่อน	กลิ่นรส ความชุ่มน้ำและความนุ่มของเนื้อ
	26 สัปดาห์	1.12		
	26 สัปดาห์	1.5		
เนื้อปลาแต่ละชนิด		5.3-24.4	สีแดงอ่อนถึงสีแดงเข้ม	กลิ่นรส ความชุ่มน้ำและความนุ่มของเนื้อ
เนื้อไก่งวง	14 สัปดาห์ (ตัวเมีย)	0.37	สีแดงอ่อน	กลิ่นรส ความชุ่มน้ำและลักษณะเนื้อสัมผัส
	14 สัปดาห์ (ตัวผู้)	0.37		
	24 สัปดาห์ (ตัวเมีย)	1.0		
	24 สัปดาห์ (ตัวผู้)	1.5		
เนื้อหมู	5 เดือน	0.3	สีชมพูอมเทา	กลิ่นรส ความชุ่มน้ำและความนุ่มของเนื้อ
เนื้อสัตว์ปีกชีด (Poultry white meat)	8 สัปดาห์	0.01	สีเทาอ่อน	กลิ่นรส ความชุ่มน้ำและความนุ่มของเนื้อ
	26 สัปดาห์	0.08		
	26 สัปดาห์	0.1		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของอาหารประเภทเนื้อสัตว์ เนื้อดิบ สี ปริมาณไมโอโกลบินในเนื้อสัตว์ และปัจจัยสำคัญอื่นๆ ที่มีผลต่อคุณภาพของเนื้อสัตว์ (ต่อ)

ชนิดของอาหารประเภทเนื้อสัตว์	อายุของสัตว์	ปริมาณไมโอโกลบิน	การมองเห็นสีของเนื้อสัตว์	ปัจจัยหลักที่มีอิทธิพลต่อคุณภาพในชนิดของเนื้อสัตว์
เนื้อไก่งวงซีด	14 สัปดาห์ (ตัวเมีย)	0.12	สีแดงอ่อน	กลิ่นรส ความชุ่มน้ำ และความนุ่มของเนื้อ
	14 สัปดาห์ (ตัวผู้)	0.12		
	24 สัปดาห์ (ตัวเมีย)	0.25		
	24 สัปดาห์ (ตัวผู้)	0.37		
เนื้อปลาชีดแต่ละชนิด		0.3-1.0	สีเทาอ่อน	กลิ่นรส ความชุ่มน้ำ และลักษณะเนื้อสัมผัส

ที่มา : Hudson และ Gordon (1994)

2.3.1.2 ความสามารถของการอุ้มน้ำ

เนื้อมีความสามารถในการอุ้มน้ำแตกต่างกันเห็นได้จากการตัดเส้นใยเนื้อตามยาว จะพบว่าเนื้อบางชนิดจะมีน้ำคงอยู่ เนื้อบางชนิดแห้งและมีน้ำน้อย สิ่งที่เป็นปัจจัยสำคัญต่อความสามารถของการอุ้มน้ำของเนื้อคือสภาพความเป็นกรดด่างของเนื้อนั่นเอง เนื้อในสภาพปกติจะมีพีเอชประมาณ 6.8-7.0 ซึ่งในสภาพนี้โมเลกุลของโปรตีนในเนื้อจะมีความเป็นประจุสูง ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อจะมีค่าไม่เท่ากันในระหว่างมัดกล้ามเนื้อที่แตกต่างกันหรือในสัตว์ต่างชนิดกัน นักวิจัยในยุโรปเชื่อกันว่าเนื้อสุกรจะมีความสามารถอุ้มน้ำได้สูงสุด รองลงมาคือเนื้อโคและเนื้อไก่มีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำสุด (Salisbury และ Crampton, 1960)

2.3.1.3 การกระจายของไขมันในเนื้อ

เนื้อที่มีคุณภาพดีควรมีไขมันกระจายในเนื้ออย่างสม่ำเสมอ ไขมันที่กระจายอยู่ในเนื้อเกิดจากการสะสมของไขมันที่พอกพูนแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชั้นใน (Perimysium) ที่ห่อหุ้มระหว่างมัดกล้ามเนื้อแต่ละมัด สัตว์ที่ออกแรงน้อยและได้รับอาหารดีจะทำให้ปริมาณไขมันกระจายเพิ่มมากขึ้นในเนื้อ เซลล์ไขมันจะสะสมเพิ่มเมื่อสัตว์มีอายุมากขึ้นทำให้กล้ามเนื้อโตขึ้น เพราะมีไขมันแทรกอยู่มาก ปริมาณไขมันที่กระจายแทรกอยู่ในเนื้อทำให้เนื้อมีรสชาติ กลิ่นรสดี เมื่อนำไปทำให้สุกจะไม่หดตัวมาก มีรสชาติ และความชุ่มฉ่ำดี (ชัยณรงค์, 2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1.4 ความชุ่มน้ำ (Juiciness)

ความชุ่มน้ำของเนื้อสัตว์จัดได้ว่าเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อความน่ารับประทานของเนื้อโดยที่ความชุ่มน้ำจะเป็นความรู้สึกที่ประสาทสัมผัสในปากได้รับจากการที่ของเหลวถูกบีบและกดดันออกมาจากก้อนเนื้อที่กำลังบดอยู่ในปาก ส่วนของเหลวที่ออกมาเป็นซีรัม (Serum) และไขมันจะไปทำให้เกิดการกระตุ้นให้น้ำลายไหล เนื้อสัตว์ที่มีอายุน้อยจะทำให้ความรู้สึกที่มีความชุ่มน้ำสูงกว่าเนื้อสัตว์ที่มีอายุมากมีไขมันแทรกสูงก็จะมีผลทำให้ความชุ่มน้ำของเนื้อเพิ่มขึ้นได้ (Salisbury และ Crampton, 1960)

2.3.1.5 ความนุ่มของเนื้อสัตว์ (Tenderness)

ความนุ่มของเนื้อเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อความน่ารับประทานมากที่สุด สิ่งที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อคือเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน สัดส่วนของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีอยู่ในโครงสร้างของชิ้นเนื้อเป็นผลให้เนื้อมีความนุ่มแตกต่างกัน เนื้อที่ตัดมาจากส่วนขาซึ่งเป็นอวัยวะที่ต้องออกแรงมากจะมีสัดส่วนของอีพีไมเซียมผสมกับเอ็นจำนวนมาก ทำให้เนื้อจากส่วนนี้มีความนุ่มน้อยกว่าเนื้อตำแหน่งอื่นๆ เช่น เนื้อสัน ปริมาณตัวเชื่อมระหว่างกันภายในโมเลกุล (Intermolecular crosslink) ของโปรตีนคลอลาเจน เนื้อจากสัตว์ที่มีอายุมากจะมีความเหนียวเพิ่มขึ้น เนื่องจากปริมาณตัวเชื่อมระหว่างกันภายในโมเลกุลของโปรตีนคอลลาเจนมีมากขึ้น (ชัยณรงค์, 2529)

มีคำกล่าวกันว่าการเลี้ยงสัตว์โดยการทำการจัดการให้ดีและให้อาหารสัตว์อย่างถูกต้องเหมาะสมกับชนิดของสัตว์ สามารถควบคุมความนุ่มของเนื้อได้และความนุ่มของเนื้อนี้อาจถ่ายทอดสู่ลูกหลานได้มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้สาเหตุที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่ทำให้เนื้อสัตว์มีความนุ่มลดลงคือการเกิดการหดเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ (ชัยณรงค์, 2529)

2.3.1.6 กลิ่นและรสชาติ

กลิ่นเป็นปัจจัยที่สำคัญยิ่งประการหนึ่งของรสชาติเนื้อสัตว์สดๆมีกลิ่นอ่อนมากและรสชาติจะออกไปทางเค็มๆ เกิดขึ้นจากน้ำและส่วนของเลือดที่มีอยู่ในเนื้อ แต่อย่างไรก็ตามรสชาติที่แท้จริงของเนื้อสัตว์ที่มนุษย์รู้จักนั้นจะปรากฏออกมาได้เมื่อนำเนื้อนั้นไปทำให้สุก ทั้งนี้เพราะความร้อนจะเป็นตัวทำให้สารประเภทกลิ่นบางอย่างระเหยออกมาและกลิ่นนี้เองเป็นตัวกลางในการกระตุ้นต่อมรับรสให้เกิดความรู้สึกอยากรับประทานขึ้นมา ในการต้มเนื้อและการย่างเนื้อให้สุกจะมีผลให้สารเคมีระเหยได้ส่งกลิ่นกระจายออกมาแตกต่างกัน พบว่าเนื้อสัตว์ที่สุกจะให้กลิ่นและรสชาติเฉพาะของเนื้อสุกมีผลสืบเนื่องมาจากสารตั้งต้นที่ละลายอยู่ในน้ำและไขมันของเนื้อสัตว์ซึ่งเมื่อได้รับความร้อนระดับหนึ่งก็จะปล่อยสารเคมีระเหยได้ให้กระจายกลิ่นฟุ้งออกมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อสัตว์ที่มีคุณภาพดีต้องไม่มีกลิ่นผิดปกติในเนื้ออยู่ ได้แก่กลิ่นของเพศ (Sex odour) กลิ่นอาหาร กลิ่นอะซีโตน (Acetone flavour) ที่เกิดจากปฏิกิริยาการทำลายของไขมันสะสมในร่างกายที่มากเกินไปและกลิ่นที่เนื้อดูดกลิ่นมาจากสภาพแวดล้อมภายนอก (Salisbury และ Crampton, 1960)

2.4 การเสื่อมเสียของเนื้อหมู

การเสื่อมเสียของเนื้อหมูเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นแบบต่อเนื่อง เริ่มตั้งแต่การชำแหละและการตัดแต่งซาก การเติมสารหมัก (Curing agents) ตลอดจนการแปรรูป การเสื่อมเสียจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ ดังนั้นเนื้อที่นำมาใช้แปรรูปเพื่อทำผลิตภัณฑ์จึงไม่ควรมีสิ่งแสดงให้เห็นถึงความเสื่อมเสียของรสชาติและลักษณะปรากฏต่างๆ เกิดขึ้นเพราะในการใช้สารเคมีเพื่อหมักเนื้อและการใช้ความร้อนในการแปรรูปไม่สามารถกลบเกลื่อนความเสื่อมเสียที่เกิดขึ้นในวัตถุดิบที่ใช้และเมื่อเนื้อผ่านการแปรรูปต้องพยายามลดขอบเขตของปริมาณการเสื่อมเสียให้เกิดน้อยที่สุดเมื่อนำไปผ่านขบวนการแปรรูปแล้วจะได้เกิดผลิตภัณฑ์ที่มีอายุการเก็บรักษานานเพิ่มขึ้น การเสื่อมสภาพของเนื้อหมูแบ่งได้เป็น 4 รูปแบบ ได้แก่การเสื่อมสภาพทางกายภาพ การเสื่อมสภาพทางเคมี การเสื่อมสภาพทาง จุลชีววิทยาและการเสื่อมสภาพทางปฏิกิริยาออกซิเดชัน (เยาวลักษณ์, 2536)

2.4.1 การเสื่อมสภาพทางกายภาพ

การเสื่อมสภาพทางกายภาพ หมายถึงการเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ที่สามารถเห็นลักษณะการเปลี่ยนแปลงได้ด้วยตาแบ่งได้เป็น

2.4.1.1 การเหม็นหืน เกิดขึ้นได้เนื่องจากปฏิกิริยาของเอนไซม์จากแบคทีเรียและจากปฏิกิริยาของการออกซิไดซ์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว เอนไซม์จากแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เกิดการเหม็นหืน ได้แก่ เอนไซม์ไลเปส (lipase) จะย่อยโมเลกุลของไขมันให้แตกออกเป็นกรดไขมันอิสระและเอนไซม์ออกซิเดส (oxidase) จะเข้าทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับกรดไขมันในองค์ประกอบที่เป็นไขมันในเนื้อสัตว์ทำให้เกิดสารที่มีกลิ่นและรสชาติผิดปกติไป

จุลินทรีย์เป็นสาเหตุใหญ่ประการหนึ่งที่ทำให้เกิดการเหม็นหืนได้แก่ แบคทีเรียตระกูล *Pseudomonas* และ *Achromobacter* แต่ไม่ค่อยสำคัญมากนักในเนื้อเพราะพวกกรดไขมันอิสระที่ถูกปลดปล่อยออกมาโดย Hydrolytic cleavage ของไขมันจะยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หลายๆ ชนิดโดยเฉพาะสารพวกเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นระหว่างการออกซิเดชันของกรดไขมันจะเป็นพิษอย่างยิ่งกับจุลินทรีย์ แต่การเหม็นหืนที่เกิดขึ้นในเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่จะมีผลมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่มีผลเนื่องจากการที่ออกซิเจนเข้าทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการใช้

สาเหตุเนื่องจากปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่ในภาชนะบรรจุ อุณหภูมิระหว่างการเก็บรักษา แสงสว่าง และสารเร่งปฏิกิริยา ซึ่งได้แก่ เกลือ ก๊าซโอโซน สารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (เยาวลักษณ์, 2536)

2.4.1.2 การเหม็นเน่า เกิดขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียพวก *Proteus* และ *Clostridium perfringens* เจริญอยู่ในเนื้อสัตว์และสามารถสร้างเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายโปรตีน ทำให้เกิดสารที่ทำให้เนื้อมีกลิ่นเหม็นเน่าขึ้น ได้แก่ ไฮโดรเจนซัลไฟด์, Mercaptans indole, แอมโมเนีย, Maine และอื่นๆ

2.4.1.3 การเกิดแก๊สและรสเปรี้ยว การย่อยสลายสารพวกคาร์โบไฮเดรตในเนื้อสัตว์ของพวกแบคทีเรียประเภทที่ไม่ต้องการอากาศ (Anaerobic bacteria) เช่น Lactic acid bacteria ชนิดต่างๆ เป็นผลให้เกิดกรดอินทรีย์ต่างๆเกิดขึ้น ทำให้เนื้อมีค่าพีเอชลดลงและเกิดแก๊สขึ้นในเวลาเดียวกัน

2.4.1.4 ผิวหน้าเป็นเมือก มีสาเหตุเนื่องจากแบคทีเรีย *Pseudomonas* และ *Achromobacter* พบในเนื้อสัตว์ที่แขวนไว้ในห้องเย็นที่มีความชื้นสูง แต่ถ้ามีความชื้นต่ำในห้องเย็นจะพบพวก *Micrococue* หรือยีสต์

เนื้อที่มีการปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียหรือยีสต์หรือทั้ง 2 อย่างในปริมาณมากๆ จะเห็นเป็นเมือกสีขาวๆหรือสีเหลืองเกิดขึ้นบนผิวหน้าของชิ้นเนื้อ เมือกดังกล่าวเป็นสารที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นในเซลล์ ไม่สามารถย่อยสลายได้เกิดสะสมในเซลล์ แต่เมื่อปริมาณของจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นจนสามารถเห็นเป็นโคโลนีด้วยตาเปล่าได้จะปรากฏให้เห็นเป็นเมือกเกิดขึ้น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่บรรจุแบบสุญญากาศมักจะไม่พบการเน่าเสียในลักษณะนี้เพราะการปนเปื้อนของแบคทีเรียประเภทที่ไม่ต้องการอากาศในธรรมชาติมีน้อยกว่าแบคทีเรียประเภทที่ต้องการอากาศและแบคทีเรียประเภทที่ไม่ต้องการอากาศ โดยปกติจะผลิตกรดอินทรีย์ขึ้นระหว่างการเจริญเติบโตปริมาณกรดที่เกิดขึ้นจากแบคทีเรียเหล่านี้จะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพวกแบคทีเรียประเภทที่ต้องการอากาศด้วย แต่ถ้าผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาในสภาพสุญญากาศมีการปนเปื้อนจากแบคทีเรียประเภทที่ไม่ต้องการอากาศขึ้นและการเก็บรักษาไว้ชั่วระยะเวลาหนึ่งก็อาจเกิดการเน่าเสียได้ ที่สังเกตเห็นได้จะเป็นเมือกสีขาวคล้ายน้ำนมในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุแบบธรรมดา เมือกของแบคทีเรียจะปรากฏเห็นเป็นรูปของเม็ดลูกปัดเล็กๆละเอียดแตะดูจะเป็นยางเหนียวและมีกลิ่นเหม็นบางครั้งมองเห็นคล้ายกับยีสต์

2.4.1.5 การเกิดสีต่างๆ บนผิวหน้าของชิ้นเนื้อและผลิตภัณฑ์ เนื่องจากแบคทีเรียที่ปนเปื้อนอยู่สามารถสร้างรงควัตถุที่มีสีเกิดขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโต ทำให้มองเห็นเป็นจุดสีต่างๆเกิดขึ้นบนผิวหน้า เช่น จุดสีแดง อาจมีสาเหตุจาก *Serratia marcescens* จุดสีเหลืองจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียพวก *Pseudomonas syncyanea* และจุดสีน้ำเงินแกมเขียวกับดำแกมน้ำตาลจากแบคทีเรียพวก *Chromobacterium livdum* (เยาวลักษณ์, 2536)

2.4.2 การเสื่อมเสียสภาพทางเคมี

ตัวอย่างของการเสื่อมเสียทางเคมีคือการเสียของเนื้อที่เก็บในสภาวะไม่มีอากาศเกิดขึ้นอย่างช้าๆหลังจากความหนาแน่นสูงสุดของแบคทีเรียเกิดขึ้น การเก็บรักษาเนื้อในถุงสุญญากาศที่อุณหภูมิ -1 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บ 12-14 สัปดาห์ แต่ในระหว่างช่วงเวลานี้ก็เกิดกลิ่นนมเนยนั้นทำให้เนื้อไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค กลิ่นรสนี้เกิดจากการสร้างตัวของกรดไขมันเป็นสายสั้นๆ รวมถึงกรดอะซิติก โพรพิโอนิกและไอโซบิวทิริก นอกจากนี้ยังพบการสะสมเอมีนในเนื้อที่อยู่ในถุงสุญญากาศ เนื่องจากปฏิกิริยาของแบคทีเรียด้วย ซึ่งสารทั้งสองกลุ่มนี้ได้จากการแตกตัวของกรดอะมิโน จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพและเคมีของเนื้อสดแช่เย็นที่อุณหภูมิตู้เย็น สรุปได้ว่า การเสียของเนื้อสดแช่เย็นเพิ่มขึ้นเมื่อความสามารถไฮเดรชันของโปรตีนในกล้ามเนื้อที่เพิ่มขึ้นและจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นในผิวหน้าเนื้อประมาณ 10 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตรเพิ่มเป็น 100 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตรเท่านั้น เมื่อเสียเนื่องจากมวลแบคทีเรียน้อยจึงมีปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องกับเนื้อต่ำ ส่วนการเสียที่เกี่ยวข้องกับลักษณะทางกายภาพและเมทาบอลิซึมของแบคทีเรียนั้นคือองค์ประกอบของเนื้อสัตว์ที่เป็นสับสเตรทที่ใช้ในการเจริญของแบคทีเรียและผลกระทบจากการกระทำของแบคทีเรียซึ่งที่ชี้ได้ว่าการเสียที่เกิดขึ้นเป็นแบบใดและเกิดขึ้นช่วงใด

2.4.3 การเสื่อมเสียสภาพทางจุลชีววิทยา

กล้ามเนื้อสัตว์โดยปกติปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ แต่เมื่อสัตว์ถูกฆ่าเพื่อนำมาใช้เป็นอาหารโดยผ่านขั้นตอนการฆ่าและชำแหละ เช่นการใช้มีดเชือดคอ การถลกหนัง การใช้ใบเลื่อยแบ่งครึ่งซาก การใช้น้ำล้างเลือด การเคลื่อนย้ายซาก การแช่เย็นซากและการตัดชิ้นเนื้อ ทำให้เนื้อมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เกิดขึ้นซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการเสื่อมเสียและการเน่าเสียของเนื้อสัตว์ (เยาวลักษณ์, 2536)

2.4.4 การเสื่อมจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation)

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นการเสียปฏิกิริยาทางเคมีที่สำคัญและพบบ่อยในอาหารประเภทไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบซึ่งเป็นข้อจำกัดที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีอายุการเก็บสั้นลง การเกิดออกซิเดชันขึ้นในกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ปัจจัยที่มีส่วนในการทำให้ออกซิเดชันเกิดเร็วขึ้นหรือช้าลงขึ้นอยู่กับชนิดของกรดไขมัน แสง อุณหภูมิ ออกซิเจน โลหะ เอนไซม์และรังสี เป็นต้น (ศิวาพร, 2546)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4.1 กลไกการเกิดออกซิเดชัน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันและไขมันมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหารมาก เนื่องจากเป็นสาเหตุให้เกิดกลิ่นเหม็นหืนขึ้นและเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้เองหรือออโตออกซิเดชัน (Hamilton, 1994) โดยปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นที่พันธะคู่ของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวยิ่งถ้ามีพันธะคู่มาก ปฏิกิริยาออกซิเดชันจะยิ่งเกิดขึ้นได้เร็วมากอีกด้วย ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบลูกโซ่ของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวกับออกซิเจนและอนุมูลอิสระเกิดเป็นสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) สารเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้จะสลายเป็นสารที่มีโมเลกุลเล็กๆที่ทำให้มีกลิ่นเหม็นหืนและเกิดเป็นอนุมูลอิสระที่เริ่มต้นของปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไปอีกด้วย โดยกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันและไขมันในอาหารสามารถแบ่งออกเป็นขั้นต่างๆได้ 3 ขั้นตอนและมีรายละเอียดดังนี้

- ขั้นเริ่มต้น (initiation)
- ขั้นต่อเนื่อง (propagation)
- ขั้นสุดท้าย (termination)

ปกติโมเลกุลของไขมันจะประกอบด้วยกลีเซอรอลที่จับกับกรดไขมัน 3 โมเลกุลและชนิดของกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบจะเป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดคุณสมบัติหรือคุณภาพของไขมันนั้นๆ กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวจะถูกออกซิไดซ์ง่ายกว่า

-ปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น

ปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้นเป็นขั้นที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างกรดไขมันไม่อิ่มตัวกับออกซิเจนโดยมีความร้อน แสง รังสี อิออนของโลหะหรือฮีมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเริ่มต้น ดังกล่าวอาจเกิดขึ้นโดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจนเพียงแค่มีตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น แสง อุณหภูมิ หรืออนุมูลโลหะ เป็นต้น ก็เพียงพอที่จะทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ (ศิวาพร, 2546)

-ปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่อง

ปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่องเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาขั้นต้นทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกไซด์ (peroxide radical) และอนุมูลเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้จะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวทำให้เกิดสารเปอร์ออกไซด์และอนุมูลอิสระขึ้น ซึ่งสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้สามารถเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้ถ้าหากมีแสง ความร้อนหรือโลหะเป็นตัวเร่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นก็จะทำให้เกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนใหม่เกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกไซด์ขึ้นอีกและปฏิกิริยานี้จะเกิดต่อเนื่องแบบเดิมไปเรื่อยๆแบบลูกโซ่ (Hamilton, 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-ปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย

ปฏิกิริยาขั้นสุดท้ายเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระเกิดขึ้นเกิดการรวมตัวในรูปต่างๆทำให้เกิดสารที่มีความคงตัวและทำให้ปฏิกิริยาสิ้นสุดลงไม่เกิดปฏิกิริยาต่อไปในระหว่างที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นนั้นคุณภาพของไขมันหรือน้ำมันจะค่อยๆ เสื่อมลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น การเสื่อมเสียของอาหารลักษณะแบบการหืนเป็นปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของไขมันและน้ำมันเป็นสาเหตุให้มีกลิ่นผิดปกติและสมบัติทั้งทางเคมีและกายภาพเปลี่ยนแปลงไป

2.4.4.2 การเสียของอาหารประเภทน้ำมัน ไขมัน และอาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ

การเสียที่สำคัญของผลิตภัณฑ์อาหารประเภทที่มีไขมันและน้ำมันเป็นส่วนประกอบได้แก่

ก.) การเกิดไฮโดรไลซีส (Hydrolysis)

การเกิดไฮโดรไลซีสเป็นปฏิกิริยาการย่อยสลายของน้ำมันหรือไขมันทำให้เกิดกลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระ โดยปฏิกิริยาจะเกิดเร็วขึ้นถ้ามีน้ำหรือเอนไซม์อยู่ด้วยหรืออยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงหรือความชื้นสูง เช่นการทอดอาหารที่มีความชื้นสูง สำหรับปัญหาการเสียเนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสนี้ไม่สามารถแก้ไขได้ด้วยการใช้วัตถุกันหืนแต่อาจแก้ไขได้ด้วยการใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพดีและกระบวนการแปรรูปที่เหมาะสม (ศิวาพร, 2546)

ข.) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation)

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นการเสียจากปฏิกิริยาทางเคมีที่สำคัญและพบบ่อยที่สุดในอาหารประเภทน้ำมันและไขมัน เป็นข้อจำกัดที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่กล่าวมีอายุการเก็บสั้นลง การเกิดออกซิเดชันขึ้นในกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น ปัจจัยที่มีส่วนในการทำให้ออกซิเดชันเกิดเร็วขึ้นหรือช้าลงขึ้นอยู่กับชนิดของกรดไขมัน แสง อุณหภูมิ ออกซิเจน โลหะ เอนไซม์และรังสี เป็นต้น (ศิวาพร, 2546)

ค.) ปฏิกิริยาการรีเวอร์ชัน (Revertion)

ปฏิกิริยาการรีเวอร์ชัน เป็นปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดกลิ่นคล้ายสี (painty odor) หรือกลิ่นคล้ายหญ้า (geassy odor) โดยมากจะเกิดกับน้ำมันถั่วเหลือง สำหรับกลไกในการเกิดปฏิกิริยานี้ยังไม่พบสาเหตุที่แน่ชัด แต่สันนิษฐานว่าอาจเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิกที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมัน (ศิวาพร, 2546)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง.) การเกิดโพลีเมอไรเซชัน (Polymerization)

การเกิดโพลีเมอไรเซชันเป็นปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดมีการจับตัวกันระหว่างกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยจะเกิดขึ้นเมื่อไขมันหรือน้ำมันได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูงๆ เป็นเวลานานๆ เช่น ในน้ำมันพืชที่ใช้ในการทอด เป็นต้น (ศิวาพร, 2546)

2.5 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (Chemistry of lipid oxidation)

ออกซิเดชันของไขมัน คือกระบวนการที่โมเลกุลของออกซิเจนทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัวทำให้เกิดสารเปอร์ออกไซด์ของไขมัน (lipid peroxide) ขณะที่ปฏิกิริยาโดยตรงของไขมันกับออกซิเจนคือ "spin-forbidden" เพราะว่าสถานะพื้นฐานของไขมันคือ Singlet multiplicity ในขณะที่ออกซิเจนคือ triplet multiplicity อย่างไรก็ตาม spin restriction สามารถถูกควบคุมได้โดยตัวเริ่มต้นหรือตัวแปรเริ่มต้น เช่น อุณหภูมิ สรีรวิทยาของการรีดักชันของออกซิเจนให้กลายเป็นน้ำ photosensitizers รังสี singlet oxygen สารประกอบเชิงซ้อนของ oxygen- transition กับโลหะหรือถูกควบคุมได้โดยตัวเร่งที่เป็นเอนไซม์ที่เหมือนกับ lipoxygenase เป็นที่ทราบกันดีว่ากระบวนการออกซิเดชันของไขมันดำเนินไปได้โดยอาศัยกลไกของปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระซึ่งได้แก่ขั้นตอนเริ่มต้น (initiation) ขั้นตอนต่อเนื่อง propagation/branching และขั้นตอนสิ้นสุด (termination stage) (Monahan, 2000)

Initiation $LH + Initiator \rightarrow L^{\cdot}$

Propagation $L^{\cdot} + O_2 \rightarrow LOO^{\cdot}$

$L^{\cdot\cdot} + LH \rightarrow LOOH + L^{\cdot}$

Branching $LOOH \rightarrow LO^{\cdot} + OH^{\cdot}$

$2LOOH \rightarrow LOO^{\cdot} + LO^{\cdot} + H_2O$

Termination $LOO^{\cdot} + LOO^{\cdot} \rightarrow LOOL + O_2$

$LOO^{\cdot} + L^{\cdot} \rightarrow LOOL$

$L^{\cdot} + L^{\cdot} \rightarrow LL$

$L^{\cdot} (LOO^{\cdot}, LO^{\cdot}, OH^{\cdot}) + AH \rightarrow LH(LOOH, LOH, H2O) + A^{\cdot}$

ขั้นตอนเริ่มต้น (Initation) ของปฏิกิริยาลูกโซ่จะเริ่มขึ้นเมื่อไฮโดรเจนอะตอมถูกดึงออกจากโมเลกุลของไขมัน (LH) ทำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระของไขมัน (lipid radical หรือ $L^{\cdot}$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอน Propagation เกิดขึ้นเมื่ออนุมูลอิสระของไขมัน ($L^{\cdot}$) ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของออกซิเจน กลายเป็นอนุมูลเปอร์ออกซีของไขมัน (lipid peroxy radical หรือ $LOO^{\cdot}$) จากนั้นอนุมูลเปอร์ออกซีจะดึงไฮโดรเจนอะตอมออกจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวอีกโมเลกุลหนึ่งและเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ดำเนินต่อไปในขั้น Propagation โดยไฮโดรเปอร์ออกไซด์ของไขมัน (lipid hydroperoxides หรือ LOOH) จะแตกตัวกลายเป็นอนุมูลอัลคอซิล (alkoxyl หรือ $LO^{\cdot}$) และอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radicals หรือ $OH^{\cdot}$) ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไปได้และนำเข้าไปสู่การเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่แตกแขนง (chain branching) ขั้นตอนสิ้นสุด (Termination) เกิดจากปฏิกิริยาที่อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของผลิตภัณฑ์ที่จะไม่เป็นตัวเริ่มต้นและไม่ทำให้ปฏิกิริยาดำเนินไปได้ (noninitiating และ nonpropagating products) แอนติออกซิแดนท์ (chain breaking antioxidant หรือ AH) เป็นสารที่ช่วยยุติปฏิกริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระโดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระและทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่สามารถเกิดปฏิกิริยาได้น้อย (less reactive products) (Monahan, 2000)

2.5.1 การเริ่มต้นปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (Initiator of Lipid oxidation)

กระบวนการออกซิเดชันของไขมันที่เกี่ยวข้องกับออกซิเจนที่อยู่ในสถานะปกติ (ground state oxygen) จะดำเนินไปอย่างช้าๆ โดยไม่ต้องใช้ตัวเริ่มต้นปฏิกิริยา (initiator) มีหลายวิธีที่จะเอาชนะข้อจำกัดของการ spin (the spin restriction) และการยอมให้ออกซิเจนทำปฏิกิริยากับไขมันและสารตั้งต้นทางชีวภาพอื่นๆ ตัวเริ่มต้นปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในกล้ามเนื้อ ได้แก่ singlet oxygen อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide radical) อนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) อนุมูลเฟอริล (ferryl radical) อนุมูลเพอเฟอริล (perferryl radical) ferrous – dioxygen – ferric และ hydrogen peroxide – activated metmyoglobin (Monahan, 2000)

2.5.2 กระบวนการรีดักชันของออกซิเจนในขั้นต่อมา (Consecutive One – Electron Reduction of O_2)

กระบวนการรีดักชันอย่างต่อเนื่องของออกซิเจนโดยการให้อิเล็กตรอน 1 ตัวแก่น้ำ เป็นผลให้มีการสร้างสารตัวกลาง 3 ตัว ได้แก่ซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) และอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) (Monahan, 2000)

$$O_2 + e \rightarrow O_2^{\cdot-}$$

$$O_2^{\cdot-} + e + 2H^{+} \rightarrow H_2O_2$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$H_2O_2 + e + H^+ \rightarrow OH^{\cdot} + H_2O$$

$$OH^{\cdot} + e + H^+ \rightarrow H_2O$$

ในอาหารเนื้อ superoxide ($O_2^{\cdot-}$) สามารถเกิดขึ้นได้จากระบบขนส่งอิเล็กตรอนในเยื่อหุ้มเซล์ การออกซิเดชันของออกซีไมโอโกลบิน (oxmyoglobin) ไปเป็นเมทไมโอโกลบิน (metmyogobin) กิจกรรมของเอมไซม์ออกซิเดส (oxidase) การกระตุ้นลิวโคไซด์ (leukocytes) ที่พบในระบบร่างแหของเลือดในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อหรือเกิดกระบวนการออกซิเดชันของกรดแอสคอบิกและสารประกอบรีดิวส์ซิ่ง (reducing component) อื่นๆ โดยเหล็ก การที่ $O_2^{\cdot-}$ สูญเสียประจุบวกจะ ทำให้เกิดอนุมูลเปอร์ไฮดรอกซิล (perhydroxyl radical, $HO_2^{\cdot}$) ซึ่งจะเคลื่อนที่เข้าสู่เยื่อหุ้มที่ประกอบด้วยไขมันซึ่งเป็นการเริ่มกระบวนการออกซิเดชันของไขมัน อย่างไรก็ตามขึ้นอยู่กับค่า pKa ภายใต้สภาวะทางสรีรวิทยามีเท่ากับ 4.8 อนุมูลออกซิเจนที่ถูกกระตุ้นนี้มีอยู่ในสถานะประจุเป็นลบซึ่งทำให้อนุมูลนี้ถูกขัดขวาง แม้ว่าในความเป็นจริงจะมีสัดส่วนของซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide) ปริมาณมากที่พบในรูปแบบที่เป็นประจุ (protonated form) ที่ระดับพีเอชของกล้ามเนื้อหลังฆ่า (postmortem pH) เท่ากับ (5.5 – 6.0) มากกว่าที่ระดับพีเอชปกติของร่างกายสัตว์ แต่ก็ยังไม่เชื่อว่าซุปเปอร์ออกไซด์จะมีผลโดยตรงในการทำให้เกิดการเริ่มต้นกระบวนการเปอร์ออกซิเดชันของไขมันในเยื่อหุ้ม (Monahan, 2000)

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นสารทุติยภูมิของปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนและเกิดขึ้นจากทั้งปฏิกิริยา dismutation ที่มีและไม่มีเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) เป็นตัวเร่ง นอกจากนี้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถถูกสร้างขึ้นโดยตรงจากเอนไซม์ เช่นอัลดีไฮด์ออกซิเดส (aldehyde oxidase) และกลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) หรือออโตออกซิเดชันของฟลาวิน (flavins) ไทออล (thiols) และฟีนอลลีเอท (phenoleate) ในสภาพไม่มีไอออนของโลหะหนัก รังสีพลังงานสูงหรืออุณหภูมิสูง ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะทำปฏิกิริยาได้จำกัด อย่างไรก็ตามการที่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้อิเล็กตรอน 1 ตัวจะทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาได้สูงการแตกตัวของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็น OH^- และ $OH^{\cdot}$ จะเกิดขึ้นในสภาพที่มี Fe^{2+} ทำให้เกิดปฏิกิริยาฟีตอน (fenton reaction) ดังนี้ (Monahan, 2000)

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^{\cdot}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การมีอยู่ของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อหลังจากสัตว์ตายและการมีอยู่ของ transition metal ซึ่งช่วยส่งเสริมให้เกิดการแตกตัวไปเป็นอนุมูลไฮดรอกซิล ($OH^{\cdot}$ radical) ทำให้อนุมูลไฮดรอกซิลนี้เป็นตัวเริ่มต้นปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในอาหารเนื้อ อนุมูลไฮดรอกซิลยังสามารถถูกสร้างขึ้นในระบบการปล่อยซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide – generating system) ในสภาพที่มีเกลือของเหล็กหรือเกลือของทองแดงโดยกลไกฮาเบอร์ – วิส (Haber – Weiss mechanism) ดังนี้ (Monahan, 2000)

$$Fe^{3+} + O_2^{\cdot-} \rightarrow Fe^{2+} + O_2$$

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\cdot} + OH^{-}$$

$$\text{Net} : O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH^{\cdot} + OH^{-}$$

2.5.3 การสร้างซิงเก็ตออกซิเจน (Singlet oxygen) ในสถานะกระตุ้น (excite state)

ออกซิเจนจะเปลี่ยนจาก triplet ground state ($^3\sum_g$) ไปเป็น singlet state โดยการใช้พลังงาน singlet oxygen ประกอบด้วย 2 สภาวะกระตุ้นและอีกหนึ่งสภาวะที่ต่ำกว่าซึ่งก็คือ $^1\Delta_g$ state ที่มีเสถียรภาพเพียงพอในการเข้าร่วมในปฏิกิริยาโดย singlet oxygen จะชอบไฟฟ้า (electrophilic) และจะทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนอิเล็กตรอนมาก ในความเป็นจริง singlet oxygen จะทำปฏิกิริยากับกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) ได้เร็วกว่า triplet oxygen อย่างน้อย 1450 ครั้ง การเริ่มต้นกระบวนการออกซิเดชันของไขมัน โดย singlet oxygen จะแตกต่างจากกระบวนออกซิเดชันที่ถูกเริ่มต้นปฏิกิริยาโดยอาศัยอนุมูลอิสระ (free radical) เนื่องจากเกี่ยวข้องกับ direct addition reaction ในอาหาร การสร้าง singlet oxygen เกี่ยวข้องกับแสงและสารที่ว่องไวต่อแสง (photosensitizer) ส่วนในเนื้อสัตว์องค์ประกอบที่มีฮีมาโตพอไฟริน (hematoporphyrins) เช่น ไมโอโกลบิน (myoglobin) สามารถทำปฏิกิริยากับสารที่ว่องไวต่อแสงและปล่อย singlet oxygen ออกมา มีผู้แนะนำว่า singlet oxygen สามารถถูกสร้างได้จากอนุมูลเปอร์ออกซีของไขมันที่ไม่ได้สัดส่วน ตัวจับ singlet oxygen ช่วยชะลอกระบวนการออกซิเดชันของไขมันที่เกิดจากการเร่งของแสงในเนื้อหมูและไก่งวง (Monahan, 2000)

2.5.4 Oxygen – Transition Metal Complexes

จำนวนของสารประกอบเชิงซ้อนที่เกี่ยวข้องกับออกซิเจนและ transition metal ได้ถูกเสนอในฐานะที่เป็นตัวเริ่มต้นปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งได้แก่ อนุมูลเฟอริล (ferryl radical)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุมูลเปอร์เฟอริล (perferryl radical) สารประกอบเชิงซ้อนของเฟอรัส – ไดออกซิเจน – เฟอริก อนุมูลพอไพรินแคทอิออน (porphyrin cation radical) (Monahan, 2000)

ก.) อนุมูลเฟอริล ($FeOH^{3+}$ หรือ FeO^{2+}) อนุมูลอิสระชนิดนี้มี oxidation number เท่ากับ 4 ได้ถูกเสนอให้เป็นผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาระหว่าง Fe^{2+} และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ดังนี้ (Monahan, 2000)

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow FeO^{2+} + H_2O$$

อย่างไรก็ตามจากการทดลอง spin – trapping ได้พบว่าอนุมูลไฮดรอกซิล ($OH^{\cdot}$) ถูกสร้างโดยปฏิกิริยาระหว่างเหล็ก – EDTA ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เพื่อที่จะทำให้ทฤษฎีอนุมูลเฟอริล (ferryl radical theory) และทฤษฎีอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical theory) เข้ากันได้ ได้มีผู้แนะนำว่าผลิตภัณฑ์ตัวแรกของปฏิกิริยาระหว่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับ Fe^{2+}- EDTA อาจจะเป็นอนุมูลเฟอริลซึ่งต่อมาเกิดการสลายตัวได้เป็น $OH^{\cdot}$ ดังสมการต่อไปนี้ (Monahan, 2000)

$$Fe^{2+} - EDTA + H_2O_2 \rightarrow \text{intermediate species (possibly ferryl)} \rightarrow OH^{\cdot} + OH^{-}$$

ข.) อนุมูลเปอร์เฟอริล (Perferryl radical) ได้มีผู้เสนอเกี่ยวกับบทบาทของอนุมูลเปอร์เฟอริล ($Fe^{2+} - O_2 \longleftrightarrow Fe^{3+} - O_2$) ที่พวกเขาเรียกว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่ถูกชักนำโดยเอนไซม์ (enzymically induced lipid peroxidation) ปฏิกิริยานี้ต้องการ NADPH และเหล็กที่จะไปคีเลท (chelate) เพื่อเร่งปฏิกิริยาที่จะเกิดผ่านกระบวนการ ADP – perferryl ion – catalyzed abstraction ของหมู่เมทิลีนไฮโดรเจน (methylene hydrogen) ออกจากกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยขั้นตอนการใช้เอนไซม์ในปฏิกิริยาถูกเสนอว่า คือปฏิกิริยารีดักชั่นที่ถูกเร่งโดยเอนไซม์ NADPH – cytochrome P -450 reductase เพื่อเปลี่ยน $X - Fe^{3+}$ ไปเป็น $X - Fe^{2+}$ (เมื่อ X คือ iron chelator เช่น ADP หรือ ATP) ตามลำดับของปฏิกิริยาต่อไปนี้ (Monahan, 2000)

$$X - Fe^{3+} + \tfrac{1}{2}\, NADPH \rightarrow X - Fe^{2+} + \tfrac{1}{2}\, NADP+ + \tfrac{1}{2}\, H^{+}$$

$$X - Fe^{2+} + O_2 \rightarrow X - Fe^{2+} - O_2$$

$$X - Fe^{2+} - O_2 \rightarrow X\text{-}\, Fe^{3+} - O_2^{\cdot -}$$

$$X - Fe^{3+} - O_2^{\cdot -} + LH + H^{+} \rightarrow X - Fe^{3+} + L^{\cdot} + H_2O_2$$

$$L^{\cdot} + O_2 \rightarrow LOO^{\cdot}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการสนับสนุนเพื่อยืนยันว่า NADPH – cytochrome P – 450 reductase มีส่วนร่วมในการเริ่มต้นปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันนั้น แอนติบอดี (antibody) จะเพิ่มจำนวนขึ้นเพื่อไปยับยั้งปฏิกิริยาไมโครโซมอลเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (microsomal lipid peroxidation) ที่ถูกชักนำโดย NADPH และ ADP – Fe^{3+} อย่างไรก็ตามกิจกรรมการเร่งที่ต่ำของ purified NADPH – cytochrome P – 450 reductase ในระบบไลโปโซม (liposome) ที่มี EDTA – Fe^{+} หรือ cytochrome P -450 และการส่งเสริมปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมันได้นำไปสู่ข้อเสนอแนะที่ว่าสารประกอบอื่นอาจมีส่วนร่วมในการเกิดปฏิกิริยาไมโครโซมอลเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Monahan, 2000)

ค.) สารประกอบเชิงซ้อนของเฟอรัส – ไดออกซิเจน – เฟอริก (Ferrous – Dioxygen – Ferric complex) จากการสังเกตระบบเยื่อหุ้มที่มีอัตราการเริ่มต้นของปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันเพิ่มขึ้นในสภาพที่มี Fe^{2+} และมี Fe^{3+} อยู่ด้วย สิ่งนี้ทำให้มีผู้เสนอว่า สารประกอบเชิงซ้อนของเฟอรัส – ไดออกซิเจน – เฟอริก (Fe^{2+} - O_2 – Fe^{3+}) เป็นตัวเริ่มต้นของกระบวนการออกซิเดชัน สารประกอบเชิงซ้อนนี้เกิดมาจากเฟอริกอิออน (ferric ions) ในสภาพที่มีตัวรีดิวซ์ เช่น NADPH ซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion) แอสคอร์เบต (ascorbate) หรือสารประกอบไทออล (thiol compounds) หรือไม่ก็อาจเกิดมาจากเฟอรัสอิออน (ferrous ions) ในสภาพที่มีตัวออกซิไดซ์ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อย่างไรก็ตามข้อเสนอนี้ยังคงมีข้อสงสัยต่อไปหลังจากการสังเกตที่พบว่าอิออนโลหะอื่นๆ เช่น Pb^{2+} สามารถแทนที่ Fe^{3+} ในการกระตุ้นปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชัน (Fe^{2+} - dependent peroxidation) (Monahan, 2000)

ง.) เมทไมโอโกลบินที่ถูกกระตุ้นด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen Peroxide – Activated Metmyoglobin) ได้มีผู้เสนอกลไกในขั้นตอนการเริ่มต้น (initiation) และขั้นตอน propagation ของกระบวนการออกซิเดชันของไขมันในระบบกล้ามเนื้อ โดยไมโอโกลบินที่ถูกกระตุ้นด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ลำดับของเหตุการณ์ที่ถูกเสนอขึ้นมีดังนี้ (Monahan, 2000)

1) การเกิดกระบวนการออโตออกซิเดชัน (autoxidation) และการกระตุ้นออกซิเจนของออกซีไมโอโกลบิน (oxymyoglobin) ให้เปลี่ยนไปเป็นเมทไมโอโกลบิน (metmyoglobin) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

2) การกระตุ้นเมทไมโอโกลบินโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำให้เกิดการสร้าง heme – associated ferryl species ที่เรียกว่า อนุมูลพอไฟรินแคทอิออน (porphyrin cation radical) ซึ่งเหล็กมีค่า oxidation number เท่ากับ 4 (P^{+} - Fe^{IV} = O)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) การเริ่มกระบวนการเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน โดยอนุมูลพอไฟรินแคทอิออน โดยกระบวนการรีดักชัน (two – electron reductase) ของตัวเร่งปฏิกิริยา

$$P\text{–}Fe^{II} = O_2 \rightarrow P - Fe^{III} + O_2^{\cdot-}$$

$$O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

$$P - Fe^{III} + H_2O_2 \rightarrow P^+ \text{-} Fe^{IV} = O + H_2O$$

$$P^+ \text{-} Fe^{IV} = O + LH \rightarrow P = Fe^{IV} = O + L^{\cdot} + H^+$$

เมื่อ $P - Fe^{II} = O_2$ หมายถึง ออกซีไมโฮโกลบิน $P - Fe^{III}$ หมายถึง เมทไมโอโกลบินและ $P^+ - Fe^{IV} = O$ หมายถึง อนุมูลพอไพรินแคทอิออน ก่อนหน้านี้มีหลักฐานสนับสนุนการค้นพบกลไกนี้ ฮีโมโกลบินและโดยเฉพาะไมโอโกลบินมีอยู่มากในกล้ามเนื้อ กระบวนการออโตออกซิเดชันของออกซีไมโอโกลิบน และออกซีไมโอโกลบิน จะนำไปสู่การสร้างเมทฮีโมโกลบินและเมทไมโอโกลบิน ตามลำดับ และ superoxides anions ($O_2^{\cdot-}$) กระบวนการดิสมิวเทชัน (dismutation) และโปรโตเนชัน (protonation) ของ $O_2^{\cdot-}$ ทำให้เกิดการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ปฏิกิริยาระหว่างไมโอโกลบินและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ถูกแสดงให้เห็นว่าทำให้เกิด ferryl – type species ซึ่งสามารถเร่งปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Monahan, 2000)

นอกจากบทบาทที่มีศักยภาพของ transition metal ในฐานะของตัวเริ่มต้นกระบวนออกซิเดชันของไขมันแล้ว transition metal สามารถทำหน้าที่ในการดำเนินปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันต่อไปหลังจากที่ได้เริ่มต้นขึ้นหลังมีผู้สังเกตว่าการศึกษาหลายๆการศึกษาเกี่ยวกับศักยภาพของตัวเริ่มต้นปฏิกิริยาออกซิเดชันใช้ระบบที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ถูกสร้างขึ้นก่อน (performed hydroperoxide) ในระบบเช่นนั้นที่กระบวนการออกซิเดชันได้เริ่มขึ้นแล้วซึ่งตัวเริ่มปฏิกิริยาที่สนใจอาจทำหน้าที่เพียงช่วยส่งเสริมการสลายตัวของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของไขมัน ตัวอย่างเช่น ในการศึกษาซึ่งเหล็กที่มีฮีมและเหล็กที่ไม่มีฮีมได้รับการตรวจสอบในฐานะของตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันนี้ สารประกอบเหล่านี้มีแนวโน้มที่จะทำหน้าที่โดยเร่งการสลายตัวของเปอร์ออกไซด์ที่มีอยู่แล้ว (Monahan, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.5 ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีเอนไซม์เป็นตัวเริ่มต้นปฏิกิริยา (Enzyme – Initiated Lipid Oxidation)

วิธีการในการกระทำของไลพอคซีจีเนส (lipoxygenase) แตกต่างจากวิธีในการทำปฏิกิริยาของตัวเริ่มต้นปฏิกิริยาที่ไม่ใช่เอนไซม์ (nonenzymic initiator) ของกระบวนการออกซิเดชันของไขมันที่ระยะเริ่มต้น ตัวเริ่มต้นปฏิกิริยาที่เป็นเอนไซม์ไลพอคซีจีเนสนี้เกี่ยวข้องในกระบวนการออกซิเดชันของกรดไขมันในระบบ 1 – cis, 4 – cis pentadiene การดึงเมทิลลีนไฮโดรเจน (methylene hydrogen) ออก การสร้าง conjugated diene การรับออกซิเจนเข้าไป กระบวนการรีดักชันของอนุมูลเปอร์ออกซีที่ถูกสร้างขึ้นและการเติมโปรตอนก่อนที่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะถูกปล่อยออกมาจากบริเวณกระตุ้น การเริ่มต้นปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันโดยเอนไซม์ที่คล้ายไลพอคซีจีเนสต้องการเอนไซม์ที่ถูกกระตุ้นโดย perform hydroperoxides และต้องมีกรดไขมันอยู่ในรูปอิสระ (Monahan, 2000)

2.5.6 อาหารประเภทกล้ามเนื้อซึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับการเกิดกระบวนการออกซิเดชัน

อาหารประเภทกล้ามเนื้อโดยในความเป็นจริงจะมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวและโพรออกซิแดนท์ (proxidant) เป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีแนวโน้มที่จะเกิดกระบวนการออกซิเดชันของไขมันในส่วนที่เป็นไขมันในกล้ามเนื้อซึ่งเป็นฟอสโฟลิปิดที่มีขั้วประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวในอัตราส่วนสูงที่สุดและได้รับการพิสูจน์แล้วว่า ไขมันส่วนนี้ (ซึ่งต่างกับส่วนของไขมันที่มีคุณสมบัติเป็นกลาง) เป็นสารประกอบหลักที่เกี่ยวข้องในการเกิดออกซิเดชันของไขมันในอาหารประเภทกล้ามเนื้อ ดังนั้นอาหารประเภทกล้ามเนื้อที่มีไขมันต่ำจะไวต่อการเกิดออกซิเดชันของไขมันเพราะปฏิกิริยารีดักชันของไขมันสะท้อนให้เห็นว่า มีการเกิดรีดักชันของไตรกลีเซอไรด์เป็นหลัก ในขณะที่ส่วนที่เป็นฟอสโฟลิปิดจะมีผลน้อย (Monahan, 2000)

อาหารประเภทไขมันประกอบด้วยส่วนประกอบที่สามารถเริ่มต้นปฏิกิริยาหรือส่งเสริมการเกิดกระบวนการออกซิเดชันของไขมันได้ เหล็กที่มีฮีม (heme iron) ได้ถูกเสนอให้เป็นตัวเริ่มต้นปฏิกิริยา (initiator) และตัวส่งเสริมปฏิกิริยา (promoter) ของกระบวนการออกซิเดชันของไขมันในเนื้อดิบและเมทไมโอโกลบินที่ถูกกระตุ้นด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ถูกแสดงให้เห็นว่ามีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเกิดออกซิเดชันของไขมันในระบบจำลอง นอกจากนี้ส่วนของเหล็กที่มีฮีมยังเป็นส่วนที่มีเหล็กที่ละลายได้อยู่มากที่สุด ซึ่งเป็นส่วนประกอบในเนื้อวัว เนื้อแกะ และเนื้อไก่ และเชื่อว่าความไวต่อการเกิดการออกซิไดซ์ที่ต่างกันของเนื้อจากสัตว์ต่างชนิดกันเป็นผลมาจากปริมาณเหล็กที่มีฮีม ในทางตรงกันข้ามมีผู้รายงานว่าออกซิเดชันของไขมันที่ถูกชักนำโดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมทไมโอโกลบินที่ถูกกระตุ้นด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในระบบกล้ามเนื้อของไก่งวงนั้นถูกยับยั้งโดยสารสกัดไซโทโซลิก (cytosolic extract) ของกล้ามเนื้อ ในขณะที่ออกซิเดชันของไขมันที่ถูกชักนำโดย $FeCl_3$/แอสคอร์เบท (ascorbate) ไม่ถูกยับยั้ง ผู้เขียนได้สรุปว่าเหล็กที่จับตัวกับสารคีเลตที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (low molecular chelates) มีแนวโน้มที่จะเป็นตัวส่งเสริมให้เกิดกระบวนการออกซิเดชันของไขมันในกล้ามเนื้อ การปล่อยเหล็กออกจากเฟอริสทิน (ferritin) ได้ถูกแสดงให้เห็นเมื่อมีตัวรีดิวซ์อยู่หรือหลังจากการชรา (ageing) ตัวเร่งที่ปราศจากเหล็กในระบบรีดอกซ์แบบไม่ใช้เอนไซม์และแบบใช้เอนไซม์ได้ถูกเสนอให้เป็นตัวเริ่มต้นปฏิกิริยาหลักๆของกระบวนการออกซิเดชันของไขมันในนอาหารประเภทกล้ามเนื้อ (Monahan, 2000)

2.6 ลักษณะการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อหมู

แบคทีเรียมักเจริญบนผิวหน้าเนื้อ แต่ก็เป็นไปได้ที่มันจะเจริญอยู่ข้างในเนื้อ มีหลายกลไกบ่งบอกถึงการเจริญของแบคทีเรียลึกลงไปในซากเนื้อ เช่น แบคทีเรียจากลำไส้อาจแพร่กระจายในเนื้อเยื่อของซากสัตว์ระหว่างการฆ่าหรือแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับผิวหน้าของซาก ซึ่งสามารถแทรกเข้าสู่เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อที่ลึกลงไปได้ กลไกที่ชัดเจนที่สุดคือแบคทีเรียเข้าสู่เนื้อเยื่อทางบาดแผล ซึ่งแบคทีเรียที่ปนเปื้อนได้ต้องมีเซลล์เริ่มต้นอย่างน้อยหลายร้อยเซลล์ต่อกรัม ถ้ากำจัดไม่หมดหลังจากที่สัตว์ตายไปแล้ว 1 ชั่วโมงแบคทีเรียที่รอดนั้นจะเจริญต่อไป

แบคทีเรียหลักของการเน่าเสียคือแบคทีเรียสายพันธุ์ทั่วไปที่พบและเจริญอย่างรวดเร็วภายใต้สภาวะของเนื้อสัตว์ขณะนั้น เช่น ที่อุณหภูมิแช่เย็นพวกซูโดโมแนสเจริญได้ดีซึ่งเป็นสายพันธุ์หลักของการเน่าเสียในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิน้อยกว่าหรือเท่ากับ 20 องศาเซลเซียส ส่วนสภาวะที่ไม่มีอากาศพวกแลคโตบาซิลัสเจริญได้ดีกว่า

2.6.1 แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสัตว์

แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อวัวและหมูที่แช่แข็งได้แก่ *B.thermosphacta*, *Carnobacterium* spp., *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp. และ *Pseudomonas* spp. ซึ่งจะทำให้เนื้อมีข้อบกพร่องคือมีกลิ่นรสผิดปกติและเกิดการเปลี่ยนแปลงของสี ดังนี้

2.6.1.1 กลิ่นรสผิดปกติ

กลิ่นรสผิดปกติ เช่น รสหวานและคล้ายผลไม้ กลิ่นเน่าบูด กลิ่นกำมะถัน กลิ่นเนยแข็งเป็นลักษณะของเนื้อที่เก็บรักษาแบบมีอากาศซึ่งเกิดจาก *Pseudomonas* spp. โดยเฉพาะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น และห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา

Ps. fragi จะผลิตสาร ethyl ester ขึ้นพร้อมกันในระยะแรกของการทำให้เน่าเสีย *Enterobacteriaceae* สร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ *Pseudomonas* spp. สร้างไดเมทิลซัลไฟด์ ส่วนกลิ่นเนยแข็งเกิดจากสาร acetoin/diacetyl และ 3 – methylbutanol ที่สร้างโดย *Enterobacteriaceae, B. thermosphacta* และ *Lactobacillus* spp.

กลิ่นผิดปกติของเนื้อที่บรรจุในที่ที่มีออกซิเจนสูงจะมีลักษณะเฉพาะคือมีกลิ่นเนยแข็งและมีกลิ่นเหม็นหืน ที่ความดันบรรยากาศนี้จะมีแบคทีเรียชนิดต่างๆ เช่น *Pseudomonas* spp., *B. thermosphacta* และแบคทีเรียที่สร้างกรด ซึ่งจะสามารถเจริญเติบโตและทำให้แบคทีเรียเน่าเสียได้ การที่มีออกซิเจนจะเป็นการเพิ่มความสามารถในการทำให้เน่าเสียของ *B. thermosphacta* และแบคทีเรียที่สร้างกรด เนื่องจากแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้จะสร้างผลิตภัณฑ์สุดท้าย เช่น acetoin และ acetic acid

กลิ่นผิดปกติของเนื้อที่เก็บรักษาแบบสุญญากาศ พบว่าการเน่าเสียจะน้อยกว่าเก็บรักษาเนื้อแบบมีอากาศการเน่าเสียจะมีลักษณะเฉพาะคือ บูดและเปรี้ยว ตัวอย่างของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียแบบนี้ได้แก่ แบคทีเรียที่สร้างกรดและผลิตภัณฑ์ของกรดแลคติกและกรดอะซิติก สารประกอบซัลเฟอร์ยังอาจจะเป็นตัวทำให้เกิดกลิ่นผิดปกติ ในระหว่างการเก็บรักษาเนื้อจะมีการใช้กลูโคสจนหมด การเปลี่ยนแปลงกระบวนการเมตาบอลิกที่เนื่องมาจากการใช้กลูโคสจนหมดจะนำไปสู่การสร้างผลิตภัณฑ์สุดท้าย เช่น กรดอะซิติกและไฮโดรเจนซัลไฟด์ใน *Lactobacillus* spp. ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ

2.6.1.2 การเปลี่ยนแปลงของสี

ไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียจะเปลี่ยนสีของกล้ามเนื้อเป็นสีเขียว ไฮโดรเจนซัลไฟด์ผลิตจาก cysteine และการทำให้เกิดปฏิกิริยาของปริมาณกลูโคสที่จำกัด *Lactobacillus sake* สร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ แต่ต้องมีกลูโคสและออกซิเจนในปริมาณจำกัดเท่านั้น การเกิดสีเขียวจะเกิดในเนื้อที่มี pH สูง แต่ก็อาจจะเกิดในเนื้อที่มี pH ปกติได้ด้วยเช่นกัน (Borch และคณะ, 1996)

2.6.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์จัดได้ว่าเป็นอาหารที่ดีที่สุดต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งนี้เนื่องจากสาเหตุคือ

2.6.2.1 ความชื้น

ความชื้นของเนื้อโดยทั่วไปมีประมาณร้อยละ 50-57 หรือ Aw ประมาณ 0.99 ขึ้นไป ซึ่งเป็นความชื้นที่จุลินทรีย์ทุกชนิดสามารถเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี ทั้งนี้เพราะแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถเจริญเติบโตได้ดีในที่มีความชื้นร้อยละ 18 หรือมากกว่า หรือที่ Aw 0.75 หรือมากกว่าและเชื้อราสามารถเจริญได้ดีที่ความชื้นร้อยละ 0.3 หรือมากกว่า หรือที่ Aw 0.75 หรือมากกว่า

2.6.2.2 สารอาหารในเนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์เป็นแหล่งอาหารที่ให้ธาตุอาหารพวกไนโตรเจน แร่ธาตุและวิตามินที่อุดมสมบูรณ์ จึงเหมาะแก่การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และมีสารอาหารพวกคาร์โบไฮเดรตที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ เช่นกลูโคสในน้ำเลือดที่เหลือค้างอยู่ตามเซลล์ต่างๆ

2.6.2.3 ค่าพีเอช

เนื้อสัตว์มีค่าพีเอชประมาณ 5-7 เหมาะแก่การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

2.6.2.4 คุณสมบัติทางฟิสิกส์ของเนื้อสัตว์

ลักษณะโดยทั่วไปของเนื้อเยื่อมีช่องว่างและโพรงอากาศมากมายที่ทำให้จุลินทรีย์สามารถอาศัยอยู่ได้ (เยาวลักษณ์, 2536)

2.7 การถนอมรักษาเนื้อสัตว์

เมื่อทราบว่าการเสื่อมเสียสภาพของเนื้อมีหลายสาเหตุ ดังนั้นจึงควรมีการถนอมรักษาเพื่อช่วยชะลอการเน่าเสีย โดยการถนอมรักษาเนื้อสัตว์ที่มีประสิทธิภาพควรเริ่มตั้งแต่การมีสุขาภิบาลที่ดี เพื่อช่วยลดปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ เนื้อสัตว์เป็นอาหารที่เสื่อมเสียได้ง่าย เพราะมีความชื้นสูง มี pH ปานกลางและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ซึ่งเหมาะสมสำหรับเป็นอาหารที่ดีของจุลินทรีย์ การควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสด ทำได้โดยการทำความสะอาดวัสดุอุปกรณ์ที่ต้องใช้ในการฆ่า การชำแหละและการแต่งซากทุกครั้งที่ปฏิบัติงานเสร็จต้องล้างด้วยน้ำผสมคลอรีน ซึ่งก็เป็นวิธีที่ช่วยถนอมรักษาเนื้อส่วนหนึ่ง (มีนา, 2546)

2.7.1 สารถนอมอาหารจากธรรมชาติ

สำหรับสารถนอมอาหารนั้นได้มีการเริ่มใช้มาตั้งแต่สมัยโบราณและเป็นลักษณะภูมิปัญญาชาวบ้านด้วยทั้งสิ้น โดยเฉพาะการใช้เกลือและน้ำตาล เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากบางครั้งอาหารที่มีอยู่ไม่สามารถบริโภคให้หมดในคราวเดียวได้หรือบางครั้งอาจต้องการจะเก็บอาหารนั้นไว้บริโภคนอกฤดูกาล ฉะนั้นเพื่อให้สามารถเก็บอาหารได้เป็นระยะเวลานาน จึงได้มีการเก็บถนอมอาหาร โดยอาศัยกรรมวิธีการแปรรูปอาหารต่างๆ เช่น กรรมวิธีการแปรรูปที่อาจใช้เป็นกรรมวิธีที่ใช้ความร้อน ความเย็น รังสีหรือการทำให้แห้งเป็นต้น แต่ผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิดไม่เหมาะที่จะเก็บถนอมด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีที่กล่าววัตถุกันเสียจึงเข้ามามีบทบาทสำคัญ ปัจจุบันความต้องการใช้สารถนอมอาหารในอุตสาหกรรมอาหารได้เพิ่มขึ้นเรื่อยๆเนื่องจากสารถนอมอาหารมีประโยชน์ต่อวงการอุตสาหกรรมอาหารหลายประการเช่น สารถนอมอาหารจะมีส่วนช่วยในการถนอมหรือยืดอายุในการเก็บของอาหาร ช่วยป้องกันการเสื่อมเสียของอาหาร เป็นต้น (ศิวาพร, 2535) การที่จะสามารถเก็บถนอมอาหารไว้เป็นระยะเวลานานได้ โดยที่อาหารมีคุณภาพไม่เปลี่ยนแปลงหรือเกิดการเน่าเสียนั้นอาจทำได้โดยอาศัยวิธีการทางฟิสิกส์ เช่น การใช้ความร้อนหรือความเย็นเข้าช่วยหรือใช้วิธีการลดปริมาณน้ำในอาหารหรือใช้รังสีหรืออาจจะใช้สารเคมีประเภทวัตถุกันเสียก็ได้ (ศิวาพร, 2535)

2.7.1.1 การใช้วัตถุกันเสียเป็นวัตถุเจือปนอาหาร

การใช้วัตถุกันเสียเป็นวัตถุเจือปนอาหารเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยลดการเน่าเสียของอาหารที่เกิดจากจุลินทรีย์ เนื่องจากการเน่าเสียของอาหารส่วนใหญ่มักจะมีสาเหตุจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับอาหาร อาหารนั้นนอกจากจะเป็นอาหารสำหรับมนุษย์แล้วในขณะเดียวกันก็เป็นอาหารตามธรรมชาติของจุลินทรีย์ด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารที่มีคุณค่าทางอาหารครบมีความชื้นและความเป็นกรดด่างพอเหมาะ ฉะนั้นการใช้วัตถุกันเสียในอาหาร จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อช่วยในการชะงักการเจริญเติบโตหรือทำลายจุลินทรีย์เหล่านั้นเพื่อช่วยให้เก็บอาหารได้นานขึ้น สำหรับการใช้วัตถุกันเสียในอาหารนั้นอาจทำได้โดยการใส่ลงไปกับอาหารโดยตรงในขณะแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารนั้นหรืออาจทำให้อยู่ในรูปของสารละลายก่อนแล้วค่อยใส่ลงไป ตัวอย่างเช่น ในผลิตภัณฑ์ผลไม้ต่างๆ หรืออาจใช้วิธีพ่นหรือเคลือบบนผิวอาหารและก่อนการใช้วัตถุกันเสียทุกครั้งควรจะต้องมีการศึกษาถึงชนิดและปริมาณที่กฎหมายอนุญาตให้ใช้เสียก่อน (ศิวาพร, 2535)

2.7.1.2 กลไกของวัตถุกันเสียในการช่วยยืดอายุการเก็บของอาหาร

วัตถุกันเสียจะช่วยยืดอายุการเก็บของอาหารได้โดยการไปควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หรือไปทำลายส่วนใดส่วนหนึ่งหรือทุกส่วนของเซลล์ของจุลินทรีย์ วัตถุกันเสียที่ใช้จะไปมีผลต่อสิ่งต่างๆดังนี้

ก.) ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ วัตถุกันเสียที่ใช้อาจมีผลทำให้ความสามารถในการให้อาหารแทรกซึมผ่านผนังเซลล์เสียไป หรือมีการเกิดการฉีกขาดที่ผนังเซลล์เกิดขึ้นซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้จุลินทรีย์ตายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.) การทำงานของเอนไซม์ วัตถุกันเสียที่ใช้จะไปชะงักหรือทำให้ประสิทธิภาพของเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์เสียไป ทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หยุดชะงักหรือตายได้

ค.) กลไกด้านพันธุกรรม วัตถุกันเสียที่ใช้จะไปทำลายหรือมีผลต่อสารที่มีความสำคัญในด้านพันธุกรรม เช่น ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ ทำให้ขบวนการแบ่งเซลล์หยุดชะงักหรือผิดปกติไป ซึ่งเป็นวิธีการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาได้ (ศิวาพร, 2535)

2.7.1.3 วัตถุกันเสียที่นิยมใช้ในอาหาร

ก.) กรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์และอนุพันธุ์ที่นิยมใช้เป็นวัตถุกันเสียรวมถึงกรดอะซิตริก กรดเบนโซอิก กรดโพพิออนิก กรดซอร์บิก เกลือของกรดชนิดต่างๆที่กล่าวมาแล้วและพาราเบนส์ เป็นต้น สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารที่นิยมใช้มักเป็นอาหารที่เห็นกรดสูง เช่นเครื่องดื่มชนิดต่างๆ แยม และเยลลี่เป็นต้น เพราะกรดเหล่านี้จะมีประสิทธิภาพสูงในรูปที่ไม่แตกตัว (ศิวาพร, 2535)

ข.) เกลือซัลไฟต์และซัลเฟอร์ไดออกไซด์

เกลือซัลไฟต์และซัลเฟอร์ไดออกไซด์เป็นวัตถุกันเสียที่มีการรู้จักใช้กันมาตั้งแต่สมัยโบราณแล้ว ส่วนใหญ่ใช้ในผลิตภัณฑ์ประเภทผักและผลไม้แห้ง เครื่องดื่มต่างๆรวมทั้งไวน์และน้ำหวานเป็นต้น เมื่อเกลือซัลไฟต์และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ละลายน้ำจะได้กรดซัลฟูริกเกิดขึ้น ซึ่งจะมีประสิทธิภาพในการช่วยทำลายหรือชะงักการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (ศิวาพร, 2535)

ค.) สารประกอบไนไตรต์และไนเตรต

การใช้สารประกอบไนไตรต์และไนเตรตในอาหารนั้น ส่วนใหญ่มักจะใช้เพื่อช่วยให้มีการเกิดสีในผลิตภัณฑ์เนื้อ แต่พบว่าการใช้สารประกอบดังกล่าวสามารถช่วยชะลอการเจริญเติบโตของ *Clostridium botulinum* และการสร้างสารพิษของเชื้อดังกล่าวในผลิตภัณฑ์เนื้อและปลาลงได้ แต่ไม่สามารถป้องกันการงอกของสปอร์ได้ ประสิทธิภาพของสารประกอบนี้จะดีที่สภาวะความเป็นกรด-ด่างต่ำ เพราะประสิทธิภาพจะขึ้นกับปริมาณกรดไนตรัสที่มีอยู่ (ศิวาพร, 2535)

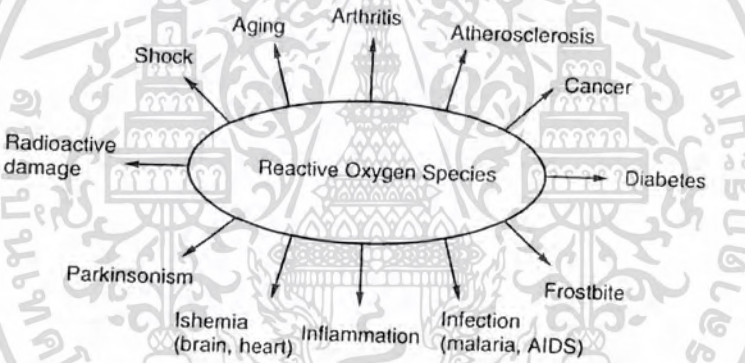
ง.) เอททีลีนและโพรไพลีนออกไซด์

เอททีลีนและโพรไพลีนออกไซด์ เป็นวัตถุกันเสียประเภทที่เป็นแก๊ส นิยมใช้กับผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นต่ำ เช่นพวกธัญพืชและเครื่องเทศต่างๆเป็นต้น มีประสิทธิภาพในการช่วยทำลายยีสต์ รา และแบคทีเรียได้ดี (ศิวาพร, 2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารฟีนอลิกในอาหาร (Antioxidant properties of food phenolics)

สารต้านอนุมูลอิสระจะชะลอหรือป้องกันการเกิดกฏิกิริยาออกซิเดชันอย่างเห็นได้ชัด เมื่อมีอยู่ในอาหารหรือในร่างกายเพียงเล็กน้อย โรงงานผลิตอาหารจะใช้สารต้านอนุมูลอิสระชนิดที่ใช้ได้ในอาหารซึ่งโดยส่วนใหญ่เป็นสารประกอบฟีนอลิกจากธรรมชาติเพื่อป้องกันการเสื่อมคุณภาพของผลิตภัณฑ์และยังคงคุณค่าทางโภชนาการไว้ได้ สารต้านอนุมูลอิสระยังได้รับความสนใจจากผู้เชี่ยวชาญทางด้านสุขภาพอีกด้วย เพราะสารนี้จะไปช่วยปกป้องการต่อต้านการทำลายตัวเองของร่างกายซึ่งมีสาเหตุมาจาก reactive oxygen species (ROS) รวมทั้ง reactive nitrogen species (RNS) และ reactive chlorine species (RCS) ซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดโรคเมื่อร่างกายเสื่อมสภาพ แสดงดังรูปที่ 2.3 (Shahidi และ Naczk, 2004)



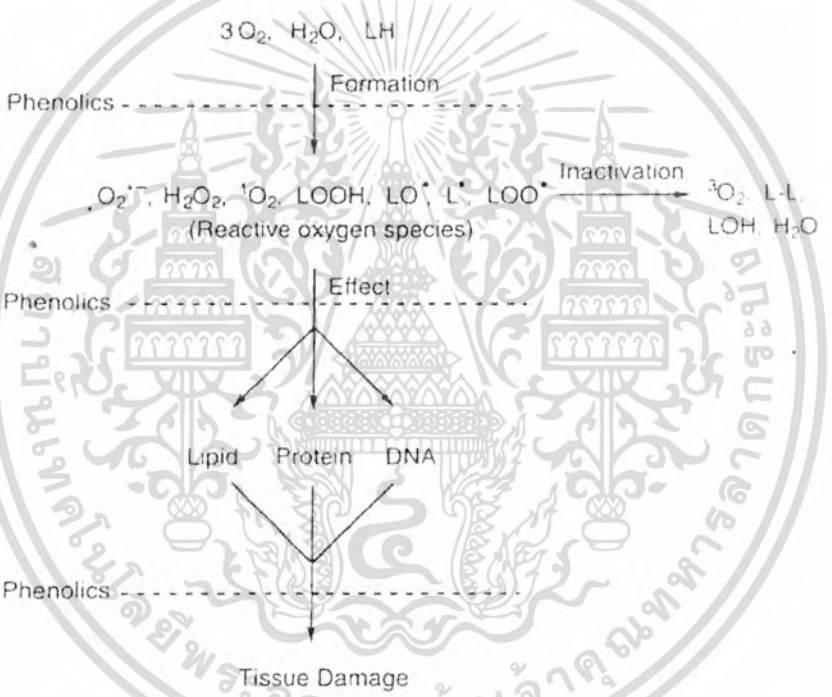
รูปที่ 2.3 โรคและความเสียหายที่เกิดจาก reactive oxygen species

ที่มา : Shahidi และ Naczk (2004)

สารต้านอนุมูลอิสระจะทำงานในขั้นตอนที่ต่างกันในลำดับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกี่ยวข้องกับโมเลกุลไขมันซึ่งอาจจะไปลดปริมาณออกซิเจน ยับยั้ง singlet oxygen ป้องกันปฏิกิริยาลูกโซ่ลำดับแรกในขั้น initiation โดยการกำจัดอนุมูลเริ่มต้น เช่นอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radicals) จับกับตัวเร่งที่เป็นไอออนของโลหะหนัก ทำลายผลิตภัณฑ์ตัวแรกของปฏิกิริยาออกซิเดชันให้อยู่ในรูป nonradical species และทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่ในการป้องกันการดึงไฮโดรเจนออกจากสารตั้งต้นอย่างต่อเนื่อง (Shahidi และ Naczk, 2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่มาจากแหล่งอาหารรวมถึงสารประกอบฟีนอลิก กลไกที่เกิดจากการใช้สารต้านอนุมูลอิสระนี้ผันแปรขึ้นอยู่กับลักษณะองค์ประกอบอาหารรวมทั้งส่วนประกอบที่พบในปริมาณน้อย นอกจากนี้ประโยชน์ต่อสุขภาพในการบริโภคอาหารที่มาจากพืชเกี่ยวข้องกับการมีสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีความสัมพันธ์กับการต่อต้านความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ มะเร็ง และต้อกระจก รวมถึงโรคอื่นๆที่เกิดจากการเสื่อมสภาพของร่างกาย ซึ่งการต่อต้านนี้จะสำเร็จได้โดยการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน การเกิดพันธะข้ามของโปรตีน (protein cross linking) และการผ่าเหล่าของ DNA (DNA mutation) และการยืดระยะการทำลายเนื้อเยื่อที่ช้าลง แสดงดังรูปที่ 2.4 (Shahidi และ Naczk, 2004)



รูปที่ 2.4 บทบาทในการป้องกันโรคที่เกิดจาก reactive oxygen species ของสารฟีนอลิก

ที่มา : Shahidi และ Naczk (2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถึงแม้ว่าสารประกอบฟีนอลิกและอนุพันธ์ของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน (autoxidation) แต่ปัจจุบันมีสารประกอบฟีนอลิกเพียงสองสามชนิดเท่านั้นที่อนุญาตให้ใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสำหรับอาหาร ข้อพิจารณาหลักในการยอมรับสารต้านออกซิเดชันนี้ ได้แก่กิจกรรมความเป็นพิษหรือความสามารถในการก่อให้เกิดมะเร็ง ได้มีการศึกษาสารต้านอนุมูลอสระฟีนอลิกที่ได้รับการรับรองอย่างกว้างขวางแต่ความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์เสื่อมสภาพนั้นยังคงไม่ชัดเจน (Shahidi และ Naczk, 2004)

กระบวนการของปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน (autoxidation) ของไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsatursated lipid) ในอาหารล้วนมีสาเหตุจากปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ (a free radical chain reaction) ซึ่งโดยปกติแล้วปฏิกิริยาจะเริ่มเมื่อไขมันได้รับแสง ความร้อน รังสี ไอออนของโลหะหนัก หรือตัวเร่งการจับกันระหว่างโลหะกับโปรตีน (metalloprotein catalysts) เอนไซม์ไลพอคซีจีเนส (lipoxygenase) สามารถเริ่มปฏิกิริยาออกซิเดชันได้อีกด้วย วิถีการเกิดกระบวนการออโตออกซิเดชันประกอบด้วย ขั้นตอนเริ่มต้น (initiation) ซึ่งการผลิตอนุมูลิสระของไขมัน (lipid free radicals) ขั้นตอน propagation และขั้นตอน terminal ซึ่งมีการผลิต nonradical แสดงดังปฏิกิริยา (1) – (4) แบบแผนโดยทั่วไปสำหรับการเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว (RH) และผลที่เกิดขึ้นในการเสื่อมคุณภาพของอาหาร แสดงดังรูปที่ 2.5 (Shahidi และ Naczk, 2004)

Initiation $RH \rightarrow R^{\cdot} + H^{\cdot}$ (1)

Propagation $R\cdot + O_2 \rightarrow ROO^{\cdot}$ (2)

$ROO^{\cdot} + RH \rightarrow R^{\cdot} + ROOH$ (3)

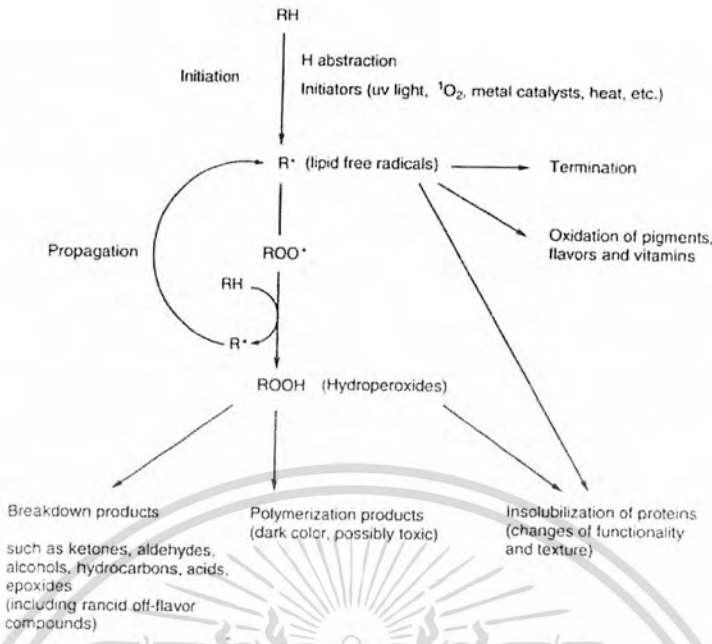
Termination

$R^{\cdot} + R^{\cdot}$

$R^{\cdot} + ROO^{\cdot}$ } nonradical product (4)

$ROO^{\cdot} + ROO^{\cdot}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 แบบแผนทั่วไปในการเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันของไขมันซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว (RH) และผลจากการเสื่อมคุณภาพของอาหาร

ที่มา : Shahidi และ Naczk (2004)

2.8.1 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารฟีนอลิก (Mechanism of action of phenolic antioxidants)

การศึกษาด้านพลังงานจลน์ของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเริ่มแรกกระทำโดย Boland และ ten – Have ซึ่งได้เสนอไว้ดังปฏิกิริยาที่ (5) และ (6) สำหรับตัวยุติอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสารประกอบฟีนอลิก (AH) จะไปขัดขวางการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน โดยการให้อะตอมไฮโดรเจนกับอนุมูลของไขมัน (lipid radicals) อย่างรวดเร็ว แสดงดังปฏิกิริยาที่ (5) และ (6) โดยในปฏิกิริยาที่ (6) จะเกิดแข่งกับปฏิกิริยาลูกโซ่ในขั้น propagation ในปฏิกิริยาที่ (3) และ (9) (Shahidi และ Naczk, 2004)

$$ROO^{\cdot} + AH \rightarrow ROOH + A^{\cdot} \quad (5)$$

$$RO^{\cdot} + AH \rightarrow ROH + A^{\cdot} \quad (6)$$

$$ROO^{\cdot} + A \rightarrow ROOH \quad (7)$$

$$RO^{\cdot} + A \rightarrow ROA \quad (8)$$

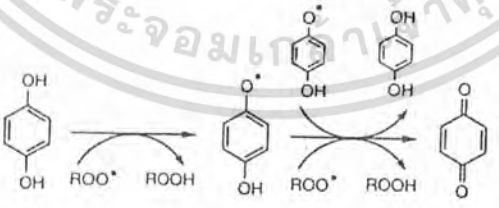
$$RO^{\cdot} + RH \rightarrow ROOH + R^{\cdot} \quad (9)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยาเหล่านี้เป็นปฏิกิริยาคายพลังงานโดยธรรมชาติ พลังงานกระตุ้นจะเพิ่มขึ้นเมื่อพลังงานการสลายพันธะ A – H และ R – H เพิ่มขึ้น ดังนั้นประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระ (AH) จะเพิ่มขึ้นเมื่อความแข็งแรงของพันธะ A – H ลดลง อนุมูลฟีนอกซี (phenoxy radical) จะต้องไม่เป็นตัวเริ่มต้นปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระตัวใหม่หรือไม่ทำให้เกิดการออกซิเดชันอย่างรวดเร็วโดยปฏิกิริยาลูกโซ่ ในเรื่องนี้สารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลิกเป็นตัวให้ไฮโดรเจนอะตอมหรืออิเล็กตรอนที่ยอดเยี่ยม นอกจากนี้ยังมีอนุมูลตัวกลาง (radical intermediate) ที่ค่อนข้างเสถียรเนื่องจาก resonance delocalization และการที่ไม่มีจุดที่เหมาะสมสำหรับการเข้ากระทำโดยโมเลกุลของออกซิเจน (Shahidi และ Naczk, 2004)

ในร่างกายอนุมูลอิสระอาจเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคและการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อ เช่น ปอด หัวใจ ระบบหลอดเลือดหัวใจ ไต ตับ ตา ผิวหนัง กล้ามเนื้อ และสมอง รวมทั้งกระบวนการเกี่ยวกับการชรา oxidants และ radicals เป็นที่ทราบกันดีว่าเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคเหล่านี้ แต่ปกติตามธรรมชาติในร่างกายของแต่ละคนจะมีเอนไซม์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตามอายุและคนแต่ละคนที่เจ็บป่วยด้วยโรคบางชนิด สารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายก็อาจต้องการสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกที่ได้จากอาหารมาช่วย เพื่อรักษาความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ (Shahidi และ Naczk, 2004)

อนุมูลฟีนอกซีซึ่งถูกสร้างขึ้นมาจากปฏิกิริยาของฟีนอลและอนุมูลของไขมันจะถูกทำให้เสถียรโดยให้อิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยววงนอกสุดที่อยู่รอบๆวงแหวนอะโรมาติก ซึ่งแสดงได้โดยไอโซเมอร์ของพันธะวาเลนซ์ในปฏิกิริยาที่ (10) (Shahidi และ Naczk, 2004)



(10)

อย่างไรก็ตามสารต้านอนุมูลอิสระที่อยู่ในรูปฟีนอลนั้นไม่ทำงาน การแทนที่ของไฮโดรเจนอะตอมในตำแหน่ง ortho และ para ด้วยหมู่แอลคิล (alkyl group) ช่วยเพิ่มความหนาแน่นของอิเล็กตรอนของหมู่ไฮดรอกซิล (OH) โดยผลในด้าน inductive และดังนั้นจึงช่วยส่งเสริมให้อยู่ในรูปที่ทำงานที่พร้อมเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลของไขมัน การเข้าแทนที่ของตำแหน่ง para ให้กับหมู่เอทิลหรือหมู่ n – butyl แทนที่จะเป็นหมู่เมทิลจะช่วยปรับปรุงกิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นสารประกอบฟีนอลิก อย่างไรก็ตามการที่ในตำแหน่งนี้มีหมู่อัลคิลลูกโซ่หรือแตกแขนงจะช่วยทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลง (Shahidi และ Naczk, 2004)

เสถียรภาพของอนุมูลฟีนอกซีจะเพิ่มขึ้นโดยหมู่ต่างๆที่สำคัญที่ตำแหน่ง ortho ดังเช่นใน 2, 6 – di – tertiary – butyl, 4 – methoxyphenol หรือ butylated hydroxyanisole (BHA) และหมู่ที่เข้าแทนที่จะไปช่วยเพิ่ม steric hindrance ในบริเวณตำแหน่งของอนุมูลอิสระ ต่อจากนั้นจะไปลดอัตราเร็วของขั้น propagation ที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งแสดงในปฏิกิริยาที่ (11) ถึง (13) ซึ่งเกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระของสารต้านออกซิเดชัน (Shahidi และ Naczk, 2004)

$$A^{\cdot} + O2 \rightarrow AOO^{\cdot} \quad (11)$$

$$AOO^{\cdot} + RH \rightarrow AOOH + R^{\cdot} \quad (12)$$

$$A^{\cdot} + RH \rightarrow AH + R^{\cdot} \quad (13)$$

2.9 คุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดผลไม้

สารต้านอนุมูลอิสระคือสารที่มีหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในที่นี้รวมถึงสารที่สามารถยับยั้งและควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจึงช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบเซลล์ สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติ เช่น กรดอะมิโน กรดแอสคอร์บิก แคโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน โทโคฟีนอยด์ เป็นต้น โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระแบ่งเป็น 5 ประเภทใหญ่ๆ ดังนี้

2.9.1 Primary antioxidant

สารในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ ได้แก่สารประกอบฟีนอลิค ทำหน้าที่หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชันของมัน นอกจากนี้ยังรวมถึงสารโทโคฟีรอลธรรมชาติและสังเคราะห์ (Natural and synthetic tocopherol) alkyl, gallate, BHA, BHT, TBHQ และอื่นๆ ซึ่งสารในกลุ่มดังกล่าวทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเลคตรอน

2.9.2 Oxygen scavenger

สารในกลุ่มนี้ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก หรือวิตามินซี เป็นต้น สารในกลุ่มนี้เข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจน จึงเป็นการช่วยกำจัดออกซิเจนในระบบปิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.3 Secondary antioxidant

สารในกลุ่มได้แก่ dilaury thiopropionate และ thiopropionic acid ทำหน้าที่สลายโมเลกุลของ lipid hydroperoxide ให้เป็นสารที่มีความเสถียร

2.9.4 Enzymic antioxidant

สารในกลุ่มนี้ได้แก่ เอนไซม์ต่างๆ ซึ่งแบ่งเป็น primary antioxidant enzyme และ auxiliary antioxidant enzyme สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่กำจัดออกซิเจนหรืออนุพันธ์ของออกซิเจน โดยเฉพาะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

2.9.5 Chelating agent หรือ sequestrant

สารในกลุ่มนี้ เช่น กรดซิตริค กรดอะมิโน เป็นต้น สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ไปจับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก และทองแดง ซึ่งไอออนเหล่านี้เป็นไอออนที่ส่งเสริมและเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียร (ปรียา, 2550)

2.10 ผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง (มะขามป้อม)

รูปที่ 2.6 มะขามป้อม

ที่มา : นิรนาม (http://www.stou.ac.th/Schools/Shs/thaimedical/herb/new/makampom1.jpg)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มะขามป้อมมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Phyllanthus emblica* Linn. อยู่ในวงศ์ EUPHORBIACEAE มะขามป้อมเป็นพรรณไม้ยืนต้น สูง 7-15 เมตร ลำต้นมีเปลือกเรียบเกลี้ยง ใบเดี่ยวเรียงชิดติดกัน คล้ายขนนก ปลายใบยาวรีมีสีเขียวแก่ ยาวประมาณ 1 เซนตริเมตร ออกดอกเป็นช่อสีเหลืองอมเขียว ผลมีรูปร่างกลม ผิวเกลี้ยง มีรสฝาด ภายในมีเมล็ดสีน้ำตาลอยู่ 6 เมล็ด คุณค่าทางยาสมุนไพร รากแห้งของมะขามป้อม ใช้ต้มดื่มแก้ร้อนใน แก้ท้องเสีย แก้โรคเรื้อน ลดความดันโลหิต รากสด ของมะขามป้อม นำมาพอกแผลเมื่อโดนตะขาบกัดสามารถแก้พิษได้ เปลือกลำต้นมะขามป้อม ใช้เปลือกแห้งบดเป็นผงโรยบาดแผลหรือต้มน้ำแก้โรคบิดและฟกช้ำ ปมก้านใช้เป็นน้ำยาบ้วนปาก แก้ปวดฟัน ผลมะขามป้อมสดใช้รับประทานเป็นผลไม้ แก้กระหายน้ำได้ดี นอกจากนี้ยังเป็นยา บำรุง แก้หวัด แก้ไอ ละลายเสมหะ ขับปัสสาวะ เป็นยาระบาย รักษาคอตีบ รักษาเลือดออกตาม ไรฟัน ผลมะขามป้อมแห้งนำมาบดชงน้ำร้อนแบบชาแก้ท้องเสีย โรคหนองในบำรุงธาตุ รักษาโรค บิด ใช้ล้างตาแก้ตาแดง เยื่อบุอักเสบ แก้ตกเลือด ใช้เป็นยาล้างตา หรือจะผสมกับน้ำสนิมเหล็ก แก้โรคดีซ่าน โลหิตจาง เมล็ดนำมาเผาไฟจนกลายเป็นเถ้าผสมกับน้ำมันพืชทาแก้ตุ่มคัน มะขามป้อมมีรสชาติถึง 5 รส คือ เปรี้ยว หวาน เผ็ดร้อน ขมฝาด ในมะขามป้อม 1 ผล จะมีวิตามินซี สูงถึง 700-100 มิลลิกรัม (กนิษฐา และคณะ, 2551)

ตารางที่ 2.5 คุณค่าทางโภชนาการของมะขามป้อม

ชนิดของสารอาหาร	ปริมาณ(ในส่วนที่รับประมานได้ 100 กรัม)	
พลังงาน	62	แคลอรี่
โปรตีน	0.3	กรัม
ไขมัน	0.1	กรัม
คาร์โบไฮเดรต	14.9	กรัม
แคลเซียม	18	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	4	มิลลิกรัม
เหล็ก	0.5	มิลลิกรัม
เบต้าแคโรทีน	21	ไมโครกรัม
วิตามินบี 1	0.02	มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	20	มิลลิกรัม
ไนอะซีน	0.8	มิลลิกรัม
วิตามินซี	19	มิลลิกรัม

ที่มา : ปรียา (2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Naveena และคณะ (2008)ได้ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากน้ำทับทิม สารสกัดจากเปลือกทับทิมและ BHT ในพายไก่ที่ปรุงสุก ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ทรีตเมนต์ คือ ชุดควบคุม (ไม่เติมสารสกัด) เติมน้ำทับทิม 10 มิลลิกรัมต่อเนื้อ 100 กรัม เติมสารสกัดจากเปลือกทับทิม 10 มิลลิกรัมต่อเนื้อ 100 กรัม และเติม BHT 10 มิลลิกรัมต่อเนื้อ 100 กรัม นำพายไปทำให้สุกแล้วเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน จะพบว่าปริมาณฟีนอลทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญและค่า TBARS ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าสารสกัดจากเปลือกทับทิมสามารถยับยั้งการออกซิเดชันของไขมันในพายไก่ที่ปรุงสุกมากกว่า BHT น้ำทับทิมและสารสกัดจากเปลือกทับทิมที่ระดับ 10 มิลลิกรัมต่อเนื้อ 100 กรัม เป็นปริมาณที่เพียงพอสำหรับการป้องกันการออกซีเดทีฟในพายไก่เป็นเวลานาน ซึ่งดีกว่าการใช้สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์โดยทั่วไป เช่น BHT

Suja และคณะ (2005)ได้ทำการสกัดงาด้วยเมทานอลได้เป็นสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์ทางคุณภาพและปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระจะแสดงโดย reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC) โดยในการศึกษานี้ได้นำสารสกัดงามาทำให้บริสุทธิ์โดยการแยกด้วยประจุไฟฟ้า ซึ่งจะทำให้ได้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าและมีกิจกรรมที่ดีกว่า การประเมินกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระใช้วิธี β – carotene bleaching, linoleic acid peroxidation และการวิเคราะห์การกำจัดอนุมูลอิสระ 2,2 –diphenyl –l –pricrl hydrazyl radical (DPPH) ผลแสดงว่า สารสกัดหยาบที่ระดับ 100 และ 200 ppm จะได้มีประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับ butylated hydroxyl toluene (BHT) ที่ 200 ppm แต่สารสกัดบริสุทธิ์จะมีกิจกรรมที่ดีกว่าที่ระดับ 5, 10, 50, 100 และ 200 ppm

Sanchez และคณะ (2005)ได้ทำการศึกษาผลของใยอาหารต้านอนุมูลอิสระในองุ่น (GADF) เพื่อป้องกันการออกซิเดชันในเนื้อปลา เพื่อศึกษาความคงตัวของไขมันระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็งเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าหลังจากการเติม GADF จะทำให้การออกซิเดชันไขมันจะล่าช้ามากในกล้ามเนื้อปลาทูน่าบด ระหว่าง 3 เดือนแรกของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็ง

Sebranek และคณะ (2005)ได้ทำการศึกษาการเปรียบเทียบสารสกัดโรสแมรี่จากธรรมชาติ กับ BHT และ BHA ของผลการต้านอนุมูลอิสระในไส้กรอกหมู พบว่าสารสกัดโรสแมรี่จะมีผลในการต้านอนุมูลอิสระในไส้กรอกหมูที่แช่เยือกแข็งและที่อุณหภูมิตู้เย็น โดยจะวัดการออกซิเดชันของไขมันด้วยวิธี TBARS และจะวัดค่าสีและคะแนนทางคุณภาพประสาทสัมผัส สำหรับไส้กรอกที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการใช้

อุณหภูมิตู้เย็น อย่างไรก็ตามสารสกัดโรสแมรี่จะมีประสิทธิภาพมากกว่า BHA และ BHT สำหรับการป้องกันการเพิ่มขึ้นของค่า TBARS หรือ ทำให้ไส้กรอกหมูดิบแช่แข็งมีความเป็นสีแดงลดลง

กนิษฐา และคณะ (2551) ได้ศึกษากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย ได้แก่ พิลังกาสา (*Ardisia polycephala Wall.*) มะกอกน้ำ (Elaeocarpus *hygrophilus Kurz.*) มะขวิด (*Limonia acidissima Linn.*) มะขามป้อม (*Phyllamphus emblica Linn.*) มะดัน (*Garcinia schomburgkiana Pierrec.*) และมะเฟือง (*Averrhoa carambola Linn.*) ด้วยเมททานอล และนำสารสกัดมาหาฤทธิ์มาต้านแบคทีเรียและยีสต์ พบว่า สารสกัดจากมะกอกน้ำ มะขามป้อม และมะดันที่มีการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี และสารสกัดจากมะดันมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้กว้างที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากมะขามป้อมและมะกอกน้ำ แบคทีเรียที่ถูกยับยั้งจากมะดันได้ดีที่สุดคือ *Listeria monocytogenes* และ*Salmonella Typhimurium* ส่วนแบคทีเรียที่ไวต่อสารสกัดจากมะขามป้อมมากที่สุดคือ *Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococus aureus* ส่วนยีสต์ที่ถูกยับยั้งจากสารสกัดจากมะดันคือ *Rhodotorula glutimis* และการศึกษาถึงกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารสกัดจากมะขามป้อมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดจากพิลังกาสา มะกอกน้ำ มะดัน มะเฟืองและมะขวิด เมื่อวัดจากวิธี DPPH และวิธี FRAP

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* L.) ได้รับจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพฯ จังหวัดนครราชสีมา โรงเรียนบ้านหนองประโยชน์ จังหวัดฉะเชิงเทรา และตัวแทนจำหน่ายสมุนไพรเจริญสุขโอสถ จังหวัดนครปฐม และส่วนผสมที่ใช้ในการผลิตเนื้อหมูบดปรุงรสได้แก่ เนื้อหมู มันหมู น้ำตาลทราย ซีอิ๊วขาว ซอสปรุงรส เกลือ นมสด น้ำมันหอย กระเทียม พริกไทยบด น้ำมันมะกอกและแป้งมัน

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อในการดำเนินงานได้แก่ Nutrient agar, Nutrient broth, Plate Count Agar (PCA; Bacto™ บริษัท Becton, Dickinson and company ประเทศฝรั่งเศส) *Pseudomonas* Isolation Agar (PIA; Difco™ บริษัท Becton, Dickinson and company ประเทศฝรั่งเศส) และสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (Bacto™ บริษัท Becton, Dickinson and company ประเทศฝรั่งเศส)

3.1.3 เชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ *Pseudomonas fluorescens* DMST 20076 ได้มาจากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (DMST Culture Collection : Medical Microbial Culture Collection, Department of Medical Science, Ministry of Public Health, Thailand)

3.1.4 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เมทานอล (j.T.Baker บริษัท Baker analyzed ประเทศสหรัฐอเมริกา) สารละลายกรดไทโอบาบิทูริก (2-thiobarbituric acid,TBA;Fluka ประเทศเยอรมนี) ปิโตรเลียมอีเทอร์ สารละลายกรดซัลฟูริก สารออกซิเดชันสังเคราะห์บิวทิเลเตดไฮดรอกซีโทลูอีน (butylated hydroxytoluene, BHT) โซเดียมไฮดรอกไซด์ กรดบอริก และกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (AnalaR NORMAPUR, European conformity ประเทศฝรั่งเศส)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เครื่องทำแห้งด้วยความเย็น (freeze dry; Heto รุ่น 3000 บริษัท ไซแอนติฟิคโปรโมชั่นจำกัด ประเทศไทย) เครื่องจ่ายตัวอย่างลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้ออัตโนมัติ (Automated Spiral plater รุ่น Autoplate 4000 บริษัท Spiral Biotech ประเทศสหรัฐอเมริกา) ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow; BossTach รุ่น VT-90 บริษัท BossTech ประเทศไทย จำกัด) ตู้บ่มเชื้อ (Memmert บริษัท Memmert Gmblt+co.KG ประเทศญี่ปุ่น) หม้อนึ่งอัดไอ (autoclave; ToMy รุ่น ES-315 บริษัท ToMy kogyo ประเทศญี่ปุ่น) เครื่องระเหยสุญญากาศ(Rotary evaporator; BÜCHI รุ่น V-500 บริษัท BÜCHI ประเทศสวิสเซอร์แลนด์) เครื่องตีป่น (Stomacher, Masticator รุ่น V220 บริษัท IUL Instruments Masticator) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Shimadzu รุ่น UV-1601 บริษัท SHIMADZU CORPORATION ประเทศญี่ปุ่น) ชุดอุปกรณ์เครื่องกลั่น เครื่องสกัดไขมัน(Soxhlet Apparatus; BÜCHI รุ่น 810 บริษัท BÜCHI ประเทศสวิสเซอร์แลนด์) เครื่องวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน(Gerhardt; Kjeldatberm บริษัท Sciencetific promotion ประเทศเยอรมนี) เครื่องวัดพีเอช (Testo รุ่น 205 ประเทศเยอรมนี) เครื่องวัดสี (Minolta รุ่น CR-300 ประเทศญี่ปุ่น) เครื่องวัด a_w (AquaLAB รุ่น 3TE ประเทศสหรัฐอเมริการ) และเครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์ต่างๆ ที่จำเป็น

3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การศึกษาผลการใช้สารสกัดจากมะขามป้อมต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูบด

3.2.1.1 การเตรียมสารสกัดจากมะขามป้อมด้วยเมทานอล

นำมะขามป้อมสดมาล้างให้สะอาดแล้วนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆเพื่อแยกเมล็ดออก จากนั้นนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze dry (รุ่น LABCONCO, BIO.31/02) เป็นเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง และนำไปบดให้เป็นผงละเอียด จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทดลอง ในการเตรียมสารสกัดหยาบทำได้โดย ชั่งตัวอย่างผงมะขามป้อม 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมเมทานอลลงไปปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าในเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 จากนั้นนำสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดที่กรองได้ไประเหยเพื่อเอาเมทานอลออกโดยเครื่องระเหยสุญญากาศ จนได้สารสกัดเข้มข้นทิ้งไว้ให้แห้งและนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อจะนำมาทดสอบชั่งสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 1.0 1.5 และ 2.0 ไว้ใช้ในขั้นต่อไป

3.2.1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

การเตรียมเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* DMST 20076 เตรียมได้โดยเขี่ยเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* จากหลอดทนความเย็นที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ลงในหลอดอาหาร NB จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจากอาหาร NB ลงในอาหาร NA slant นำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาเช่นเดียวกับข้างต้น แล้วทำการถ่ายเชื้อจาก NA slant ลงในอาหาร NA นำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาตามเดิม จากนั้นทำการเขี่ยเชื้อชนิดนี้ใส่ลงในอาหาร NB แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาตามเดิม จากนั้นทำการแยกเซลล์ออกจากอาหาร NB โดยนำเชื้อที่เจริญแล้วในอาหาร NB ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสทิ้งไป แล้วทำการล้างเซลล์โดยเติมสารละลายเปปโตนที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสทิ้งไป เป็นการสิ้นสุดการล้างเซลล์ 1 ครั้ง จากนั้นทำการล้างเซลล์ตามวิธีเดียวกันอีก 1 ครั้ง นำเซลล์ที่ได้มาทำให้เป็นสารแขวนลอยเซลล์ โดยเติมสารละลายเปปโตนที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำสารแขวนลอยนี้มาปรับความขุ่นให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland standard เบอร์ 2 จะได้เชื้อเริ่มต้นที่มีความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร ซึ่งนำไปใช้ในขั้นต่อไป

3.2.1.3 การศึกษาผลของความเข้มข้นสารสกัดมะขามป้อมในการยืดอายุการเก็บเนื้อหมูบดที่อุณหภูมิต่ำ

ทำการผลิตเนื้อหมูบดที่ประกอบด้วย เนื้อหมูร้อยละ 80 มันหมูร้อยละ 20 ซึ่งมีวิธีการทำได้ดังนี้ นำเนื้อหมูและมันหมูมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นนำมาบดให้เข้ากันด้วยเครื่องบด เมื่อได้เนื้อหมูบดแล้ว นำมาแบ่งออกเป็น 6 ชุดเท่าๆกัน ชุดที่ 1 ไม่เติมสารสกัดมะขามป้อม (ชุดควบคุม) ชุดที่ 2 เติมสารออกซิเดชันสังเคราะห์บิวทิเลเตดไฮดรอกซีโทลูอีน (butylated hydroxytoluene, BHT) ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 ชุดที่ 3 เติมสารสกัดมะขามป้อมร้อยละ 0.25 ชุดที่ 4 เติมสารสกัดมะขามป้อมร้อยละ 1.0 ชุดที่ 5 เติมสารสกัดมะขามป้อมร้อยละ 1.5 และชุดที่ 6 เติมสารสกัดมะขามป้อมร้อยละ 2.0 จากนั้นนำเนื้อหมูบดแต่ละชุดมาเติมสารแขวนลอยของ *Pseudomonas fluorescens* ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.2.1.2 ปริมาณ 10 ไมโครลิตร ต่อเนื้อหมูบด 25 กรัม จะได้ความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นของเซลล์ *Pseudomonas fluorescens* ในเนื้อหมูบดเท่ากับ 10^7 CFU ต่อกรัม นำตัวอย่างเนื้อหมูบดทั้งหมดไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน จากนั้นทำการสุ่มตัวอย่างในวันที่ 0, 1, 3, 7 และ 12 วัน ของการเก็บรักษา เพื่อนำมาวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนจุลินทรีย์ไซโครโทรฟ และจำนวนจุลินทรีย์ *Pseudomonas fluorescens* พร้อมทั้งวิเคราะห์หาค่า TBARS ทำการวัดค่า pH และวัดสี โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ซึ่งรายละเอียดของวิธีการวิเคราะห์ทั้งหมดมีดังนี้

ก) การวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนจุลินทรีย์ไซโครโทรฟ และจำนวนจุลินทรีย์ *Pseudomonas fluorescens*

ทำการวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนจุลินทรีย์ไซโครโทรฟและจำนวนจุลินทรีย์ *Pseudomonas fluorescens* ด้วยเทคนิค Spiral plating ดังนี้ ขั้นแรกจะชั่งตัวอย่างเนื้อหมูบดปริมาณ 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ใส่ตัวอย่างลงในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ แล้วเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ทำการตีป่นโดยเครื่องตีป่น เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาทำการเจือจางจนกระทั่งได้ระดับความเจือจาง 10^{-4} จากนั้นจ่ายตัวอย่างที่เจือจางแล้วด้วยเครื่องจ่ายตัวอย่างลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้ออัตโนมัติ (Spiral plater) สำหรับการตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จะจ่ายตัวอย่างลงบนจานอาหาร plate count agar (PCA) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนการตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ไซโครโทรฟ จะจ่ายตัวอย่างลงบนจานอาหาร PCA เช่นเดียวกัน แต่จะนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน และการตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ *Pseudomonas fluorescens* จ่ายตัวอย่างลงบนจานอาหาร *Pseudomonas* isolation agar (PIA) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อบ่มจนครบระยะเวลาตามกำหนดแล้ว ทำการตรวจนับจำนวนโคโลนี และคำนวณหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนจุลินทรีย์ไซโครโทรฟ และจำนวนจุลินทรีย์ *Pseudomonas fluorescens* ในตัวอย่างที่วิเคราะห์ โดยคำนวณในรูป CFU ต่อกรัมของตัวอย่าง

ข) วิธีวิเคราะห์หาค่าไทโอบาบิทูริก

การหาค่ากรดไทโอบาบิทูริก (Thiobarbituric acid number) ทำได้โดย ชั่งเนื้อหมูบด 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในถุงพลาสติก ทำการตีป่นให้เป็นเนื้อเดียวกันเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเทลงในฟลาสก์สำหรับกลั่น แล้วล้างถุงตีป่นด้วยน้ำอีก 47.5 มิลลิลิตร เทลงในฟลาสก์สำหรับกลั่นและเติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 4 โมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เพื่อให้มีค่าพีเอช 1.5 เติมลูกแก้วเล็กน้อยเพื่อป้องกันการเกิดฟองอากาศ ให้ความร้อนกับฟลาสก์เพื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลั่น โดยจะเก็บสารละลายที่ได้จากการกลั่น 50 มิลลิลิตรภายในเวลา 10 นาทีหลังจากที่สารในฟลาสก์เริ่มเดือด จากนั้นปิเปตสารละลายที่ได้จากการกลั่นมา 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีฝาปิด เติมสาร TBA 5 มิลลิลิตร เตรียมได้โดยชั่งสาร TBA 0.2883 กรัม ใส่ในสารละลายกรดแอซิติกความเข้มข้นร้อยละ 90 ปิดฝาแล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 35 นาที การเตรียมแบลงค์ (blank) มีวิธีการเตรียมเหมือนกันเพียงแต่ใช้น้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตรแทนสารละลายที่ได้จากการกลั่น จากนั้นนำหลอดทดลองมาทำให้เย็นในน้ำเย็นเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (D) ที่ 538 นาโนเมตร

TBA no. (มิลลิกรัมของ malonaldehyde ต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง) = 7.8D

ค) การวัดค่าพีเอช

ทำการวัดค่าพีเอชของเนื้อหมูบด โดยใช้เครื่องวัดพีเอช Testo 205 โดยทำการวัดตัวอย่างตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

ง) การวัดสี

ทำการวัดสีของเนื้อหมูบด โดยใช้เครื่องวัดสี Konica Minolta รุ่น CR – 300 โดยวัดค่าสีด้วยระบบ CIE ค่าสีที่วัดได้แสดงในรูปของค่า L*, a* และ b* ซึ่งค่า L* บ่งบอกถึงความสว่าง a* บ่งบอกถึงสีแดง (+) หรือสีเขียว (-) และค่า b* บ่งบอกถึงสีเหลือง (+) หรือสีน้ำเงิน (-)

3.2.2 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

การทดลองในข้อ 3.2.1.3 วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) และนำผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Duncan Multiple Range Test

3.2.3 การผลิตเนื้อหมูบดปรุงรสจากเนื้อหมูบดแช่เย็นที่ผสมสารสกัดจากมะขามป้อม

3.2.2.1 การเตรียมผลิตภัณฑ์เนื้อหมูบดปรุงรส

ในการทดลองนี้ได้เตรียมเนื้อหมูบดปรุงรส โดยมีจุดประสงค์เพื่อเปรียบเทียบเนื้อหมูบดปรุงรสที่ผลิตจากเนื้อหมูบดที่ไม่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม (ชุดควบคุม) และเนื้อหมูบดปรุงรสที่ผลิตโดยใช้เนื้อหมูบดแช่เย็นที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ซึ่งได้คัดเลือกจากผลการทดลองข้อ 3.2.1 ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3 และ 7 วัน เนื้อหมูบดปรุงรสมีส่วนผสมดังนี้ เนื้อหมูบดหรือเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมร้อยละ 87.97 น้ำตาลทรายร้อยละ 0.44 ซีอิ๊วขาวร้อยละ 4.10 ซอสปรุงรสร้อยละ 0.88 เกลือร้อยละ 0.15 นมสดร้อยละ 1.47 น้ำมันหอยร้อยละ 2.35 กระเทียมพริกไทยบดร้อยละ 1.47 น้ำมันมะกอกร้อยละ 0.95 และแป้งมันร้อยละ 0.59 ในการผลิตจะผสมส่วนผสมทุกชนิดให้เข้ากันดีด้วยเครื่องปั่นผสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(kitchen aid รุ่น 5-K-5SS) จากนั้นนำเนื้อหมูบดปรุงรสที่ผลิตโดยใช้เนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่แต่ละช่วงเวลามาทดสอบความแตกต่าง (difference testing) กับเนื้อหมูบดปรุงรสที่ผลิตจากเนื้อหมูที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากมะขามป้อมด้วยวิธี Duo-trio test นอกจากนี้ยังได้วิเคราะห์หา cooking loss และคุณภาพโดยทั่วไปทางเคมีของหมูบดปรุงรสที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากมะขามป้อม (ชุดควบคุม) และหมูปรุงรสที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม โดยวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น ค่า a_w ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และค่า pH รายละเอียดของการใช้วิเคราะห์มีดังนี้

3.2.2.2 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส (Sensory Evalution)

การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธีการทดสอบความแตกต่าง (difference testing) ด้วยวิธี Duo-trio test ซึ่งเป็นการทดสอบหาความแตกต่างทางประสาทสัมผัส ในการทดสอบจะให้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝนมาก่อนจำนวน 12 คน ทำการประเมินผลิตภัณฑ์ 3 ตัวอย่าง โดยจะมีตัวอย่างหนึ่งเป็นตัวอย่างควบคุมที่ใส่รหัสเป็น “R” ส่วนอีก 2 ตัวอย่างให้ใส่รหัสเป็นตัวเลข 3 หลัก หลังจากนั้นผู้ทดสอบชิมจะถูกถามว่าตัวอย่างใดใน 2 ตัวอย่างที่เหมือนกับตัวอย่างควบคุม “R” ก่อนที่จะเสิร์ฟตัวอย่างให้กับผู้ทดสอบชิมและผู้ทำการทดลองจะทำการเตรียมตัวอย่างดังนี้ เนื้อหมูบดหรือเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมร้อยละ 87.97 น้ำตาลทรายร้อยละ 0.44 ซีอิ๊วขาวร้อยละ 4.10 ซอสปรุงรสร้อยละ 0.88 เกลือร้อยละ 0.15 นมสดร้อยละ 1.47 น้ำมันหอยร้อยละ 2.35 กระเทียมพริกไทยบดร้อยละ 1.47 น้ำมันมะกอกร้อยละ 0.95 และแป้งมันร้อยละ 0.59 จากนั้นชั่งให้ได้น้ำหนักประมาณ 15 กรัมต่อชิ้น ทำให้มีลักษณะเป็นชิ้นกลมแบนโดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางคือ 5 ซม. และความหนาขนาด 1 ซม. จากนั้นนำไปทอดโดยใช้น้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิ 160-170 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 10 นาทีหรือจนกว่าเนื้อหมูจะสุก จากนั้นนำเนื้อหมูที่สุกแล้วไปวางในถาดโฟมและนำไปเสิร์ฟให้แก่ผู้ทดสอบชิม

3.2.2.3 การวิเคราะห์หาค่า cooking loss

การวิเคราะห์หาค่า cooking loss ทำได้โดยนำเนื้อหมูปรุงรสมาชั่งน้ำหนักก่อนทอด จากนั้นนำเนื้อหมูปรุงรสที่ชั่งหาน้ำหนักก่อนทอดแล้วนำมาทอดในกระทะที่มีอุณหภูมิของน้ำมันเท่ากับ 160-170 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 10 นาที หรือจนกว่าเนื้อหมูจะสุก ทิ้งให้สะเด็ดน้ำมันแล้วนำไปชั่งหาน้ำหนักหลังทอด จากนั้นคำนวณหาร้อยละของการสูญเสียน้ำหนักหลังจากการทำให้สุก (% cooking loss) ตามสูตรดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{cooking loss (ร้อยละ)} = [(W_b - W_a)/W_b] \times 100$$

เมื่อ W_b คือน้ำหนักของหมูบดปรุงรสก่อนการทำให้สุก

W_a คือน้ำหนักของเนื้อหมูบดปรุงรสหลังการทำให้สุก

3.2.2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในเนื้อหมูบดปรุงรสทำตามวิธีของ AOAC ดังนี้ ชั่งตัวอย่าง 3 กรัม ใส่ลงใน extraction thimble ปิดด้านบนด้วยสำลีปราศจากไขมันนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 97-100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำ thimble ดังกล่าวใส่ลงใน soxhlet tube ประกอบเข้ากับ condenser และฟลาสก์ที่สะอาดและทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้วเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) ลงไปให้มากเกินพอ ปรับระดับความร้อนให้กับ soxhlet tube จนอีเทอร์ระเหยเป็นไอและควบแน่นหยดลงบนตัวอย่างอย่างต่อเนื่องกันเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำฟลาสก์ที่มีสารที่สกัดได้ไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งจนได้น้ำหนักคงที่ น้ำหนักของฟลาสก์ที่เพิ่มขึ้นเป็นน้ำหนักของไขมันในตัวอย่าง (crude fat) คำนวณหาน้ำหนักของไขมันในตัวอย่างเนื้อหมูบดตามสมการดังนี้

$$\text{ร้อยละของปริมาณไขมัน (crude fat) ในอาหาร} = \frac{[(B-A)\times 100]}{W}$$

เมื่อ A คือน้ำหนักของฟลาสก์ที่รองรับ

B คือน้ำหนักของฟลาสก์ + น้ำหนักของ crude fat

W คือน้ำหนักของตัวอย่างอาหาร

3.2.2.5 การวิเคราะห์โปรตีน

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในเนื้อหมูบดปรุงรสทำตามวิธีของ AOAC ดังนี้ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ใน Kjeldahl digestion flask จากนั้นเติม catalyst mixture 8 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร จากนั้นให้ความร้อนจนสารละลายเป็นสีเขียวแล้วให้ความร้อนต่อไปอีก 1 ชั่วโมง แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปใน Kjeldahl flask 30 มิลลิลิตร พร้อมทั้งเติมสารป้องกันการเดือดรุนแรง เช่น เศษกระเบื้อง แล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ลงใน Kjeldahl flask ทำการกลั่นเก็บแอมโมเนียในกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่กลั่นได้ (distillate) 300 มิลลิลิตรหลังจากนั้นล้างผนังของ receiver และปลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

condenser ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นทำการไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล ทำการทดลองแบบเดิมอีกครั้งโดยไม่มีตัวอย่าง (blank) เติมสารเคมีต่างๆ เช่นเดียวกันทำการย่อย กลั่นเก็บสารละลายที่กลั่นได้ 300 มิลลิลิตรแล้วไตเตรทกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล และจดปริมาตรไว้ จากนั้นหาปริมาณสารละลายกรด ซัลฟูริกที่ใช้ของตัวอย่างโดยนำไปลบจากปริมาณสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ไปของ blank จะได้ค่าที่แท้จริงเพื่อนำไปคำนวณโดยที่ 0.1 ml ของ NH_2SO_4 ทำปฏิกิริยาพอดีกับ 0.0014 g Nitrogen หรือคำนวณตามสูตร

$$\text{โปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{0.0014 \times A \times (B-C) \times 100 \times 6.25}{0.1 \times D}$$

เมื่อ A คือ normality ของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

B คือ ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัลที่ใช้ในการไตเตรทสารตัวอย่าง

C คือ ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัลที่ใช้ในการไตเตรทแบลงค์

D คือ น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (กรัม)

3.2.2.6 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

การวิเคราะห์หารปริมาณความชื้น ทำได้โดยการนำ moisture can ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งหาปริมาณน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นทำการตักตัวอย่างมา 1 กรัม ใส่ลง moisture can แล้วนำไปชั่งหาปริมาณน้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาหาปริมาณความชื้นตามสมการดังนี้

$$\text{ปริมาณความชื้น(ร้อยละ)} = [100(A-B)]/C$$

เมื่อ A คือ น้ำหนัก moisture can กับน้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบ

B คือ น้ำหนัก moisture can กับน้ำหนักของตัวอย่างหลังอบ

C คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.7 การวัดค่า a_w และค่า pH

ทำการวัดค่า a_w โดยเครื่องวัด a_w โดยหั่นตัวอย่างหมูปรุงรส 3 กรัม แล้วบดให้ละเอียด ใส่ในตลับวัด นำไปเข้าเครื่องวัดแล้วรอให้เครื่องอ่านค่า (สังเกตจากลูกศรที่แสดงบนเครื่องครบทุกตัวอย่าง) และการวัดค่า pH โดยใช้เครื่องวัดพีเอช testo รุ่น 205 โดยใช้ตัวอย่างในการวิเคราะห์ประมาณ 10 กรัม จากนั้นจุ่มโพรพลงไปในตัวอย่าง แล้วรอให้เครื่องอ่านค่าจะดังติ๊ด ได้ค่า pH (ทำการวัดตัวอย่าง ละ 2 ซ้ำ)

3.2.4 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

นำผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำ มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้ analysis variance (ANOVA) และ Duncan's multiple range test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาดของข้อมูลแต่ละทรีตเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SPSS version 15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของไขมัน ในเนื้อหมูบด

4.1.1 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อหมูบดระหว่างการเก็บรักษา

จากการศึกษาผลของสารสกัดมะขามป้อมต่อการยับยั้งการเจริญของจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อหมูบดที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 12 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการสุ่มตัวอย่างเนื้อหมูบดมาตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ในวันที่ 0, 1, 3, 7 และ 12 วัน พบว่าหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 2.0 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ขณะที่เนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และร้อยละ 1.0 รวมทั้งเนื้อหมูบดที่เติม BHT มีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเล็กน้อยหลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 วัน ก่อนที่จะลดจำนวนลงเรื่อยๆ (รูปที่ 4.1a) และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน พบว่าหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมที่ความเข้มข้นสูง (ร้อยละ 1.5-2.0) จะสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้มากกว่าหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมที่ความเข้มข้นน้อยกว่า (ร้อยละ 0.25-1.0) โดยพบว่าหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 2.0 มีการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์มากที่สุดคือมีอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์น้อยที่สุด (ร้อยละ 29-36) เมื่อเปรียบเทียบกับหมูบดชุดควบคุมและหมูบดที่เติม BHT พบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์เท่ากับจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น (7.0×10^7 CFU ต่อกรัม)

4.1.2 การเปลี่ยนแปลงของจำนวน *Pseudomonas* ในเนื้อหมูบดระหว่างการเก็บรักษา

จากการศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากมะขามป้อมในการยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas* โดยทำการเปรียบเทียบกับเนื้อหมูบดที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากมะขามป้อมและสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์คือ BHT ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วัน โดยในแต่ละทรีตเมนต์มีการเติมเชื้อ *Pseudomonas* 10^7 CFU ต่อกรัม พบว่าหลังจากเก็บรักษาเนื้อหมูบดเป็นเวลา 1 วัน จำนวน *Pseudomonas* ในเนื้อหมูบดทุกชุดมีอัตราการรอดชีวิตลดลงอย่างรวดเร็ว (ลดลง 0.44-1.07 log CFU ต่อกรัม) และหลังจากนั้นจำนวน *Pseudomonas* ในเนื้อหมูบดทุกชุดการทดลองลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งเก็บรักษาครบ 12 วัน (รูปที่ 4.1b) นอกจากนี้เมื่อ

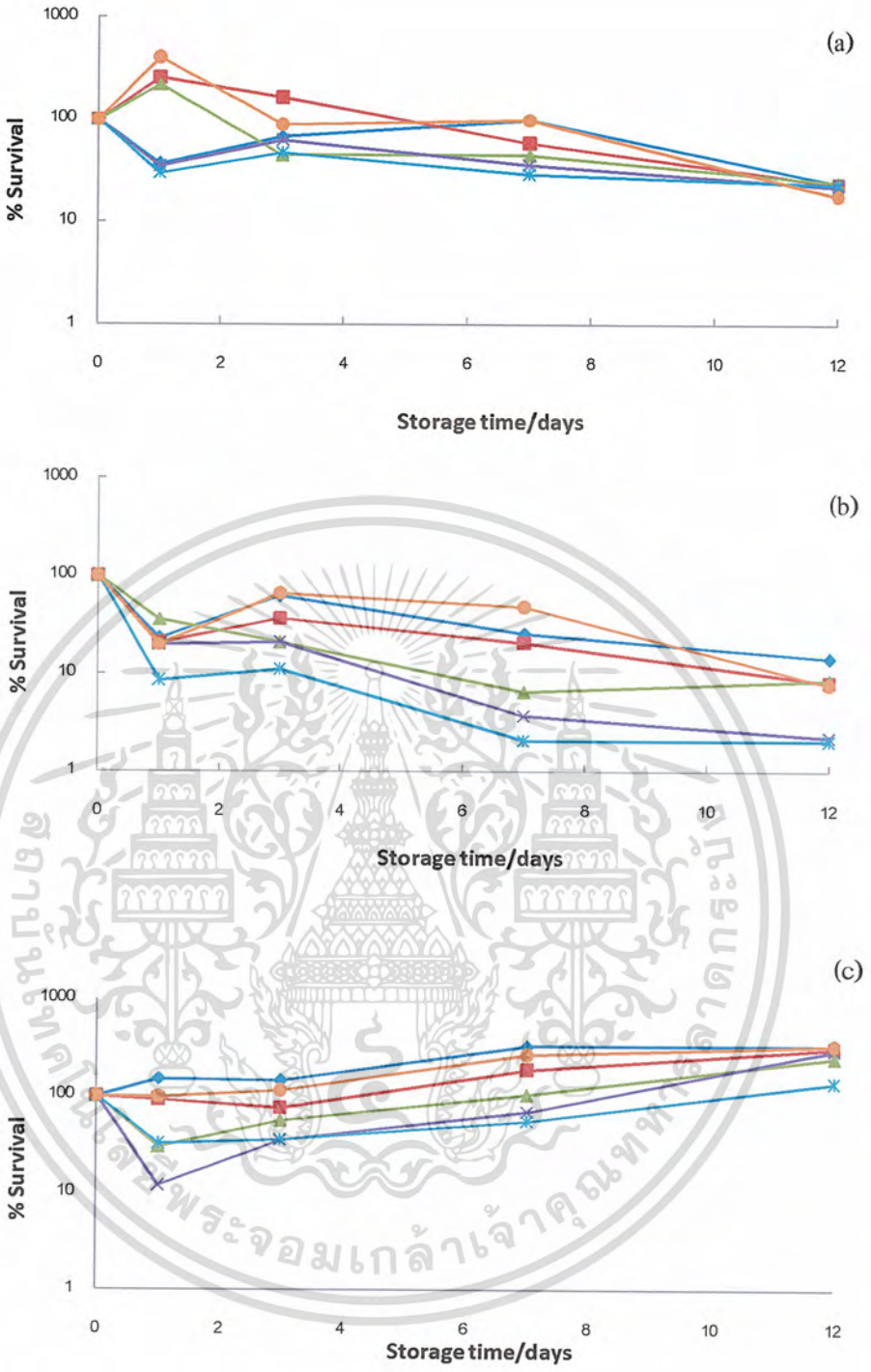
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิจารณาเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ทุกระดับความเข้มข้น พบว่าเมื่อเก็บรักษาครบ 12 วัน อัตราการรอดชีวิตของ *Pseudomonas* ในเนื้อหมูบดน้อยที่สุด (ร้อยละ 2.06-8.67) เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อหมูบดชุดควบคุม ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิตของ *Pseudomonas* มากที่สุด (ร้อยละ 14.5) และเมื่อพิจารณาถึงผลของระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากมะขามป้อมที่เติม พบว่าเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นสูงสามารถยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas* ได้ดีกว่า คือพบว่าเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 สามารถยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas* ได้ดีที่สุด เนื่องจากมีการลดจำนวนของ *Pseudomonas* มากที่สุดถึง 1.65 log CFUต่อกรัม หรือมีอัตราการรอดชีวิตน้อยที่สุด (ร้อยละ 2.06)

4.1.3 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ไซโครโทรฟในเนื้อหมูบดระหว่างการเก็บรักษา

จากการศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นแตกต่างกันคือความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 1.0, 1.5 และ 2.0 ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ไซโครโทรฟระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน โดยทำการเปรียบเทียบกับเนื้อหมูบดที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากมะขามป้อม (ชุดควบคุม) และสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์คือ BHT ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 พบว่าจุลินทรีย์ไซโครโทรฟในเนื้อหมูบดชุดที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากมะขามป้อม (ชุดควบคุม) และชุดที่เติม BHT มีอัตราการรอดชีวิตเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาโดยเฉพาะเนื้อหมูบดชุดควบคุมมีการเจริญของจุลินทรีย์ไซโครโทรฟมากที่สุด หลังจากเก็บรักษาครบ 12 วัน โดยเพิ่มขึ้น 0.51 log CFU ต่อกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อเริ่มต้น 1.4×10^7 CFU ต่อกรัม ส่วนเนื้อหมูบดชุดที่เติม BHT พบว่าเมื่อเก็บรักษาครบ 1 วัน จำนวนจุลินทรีย์ไซโครโทรฟลดลงเล็กน้อย หลังจากนั้นจึงเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.1c) ในทางตรงกันข้ามเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมมีจำนวนจุลินทรีย์ไซโครโทรฟลดลง โดยเฉพาะเนื้อหมูบดชุดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 2.0 มีอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรฟลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากเก็บรักษาครบ 1 วันและเมื่อเก็บรักษาครบ 7 วัน อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรฟลดลงเหลือร้อยละ 54.78-68.36 โดยเฉพาะเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 มีจำนวนจุลินทรีย์ไซโครโทรฟลดลง 0.27 log CFU ต่อกรัม ซึ่งลดลงมากกว่าจำนวนจุลินทรีย์ไซโครโทรฟในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อเก็บรักษาครบ 12 วัน พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ไซโครโทรฟในเนื้อหมูบดทุกชุดมีจำนวนเพิ่มขึ้น 0.13-0.51 log CFU ต่อกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนจุลินทรีย์ไซโครโทรฟเริ่มต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมด (รูป a) อัตราการรอดชีวิตของซูโดโมแนส (รูป b) และอัตราการรอดชีวิตของไซโครโทรฟ (รูป c) ในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส : สัญลักษณ์ ◆ ,control; ■ , 0.25%PE; △ , 1.0%PE; ✖ , 1.5%PE; ✱ , 2.0%PE และ ● , 0.02%BHT

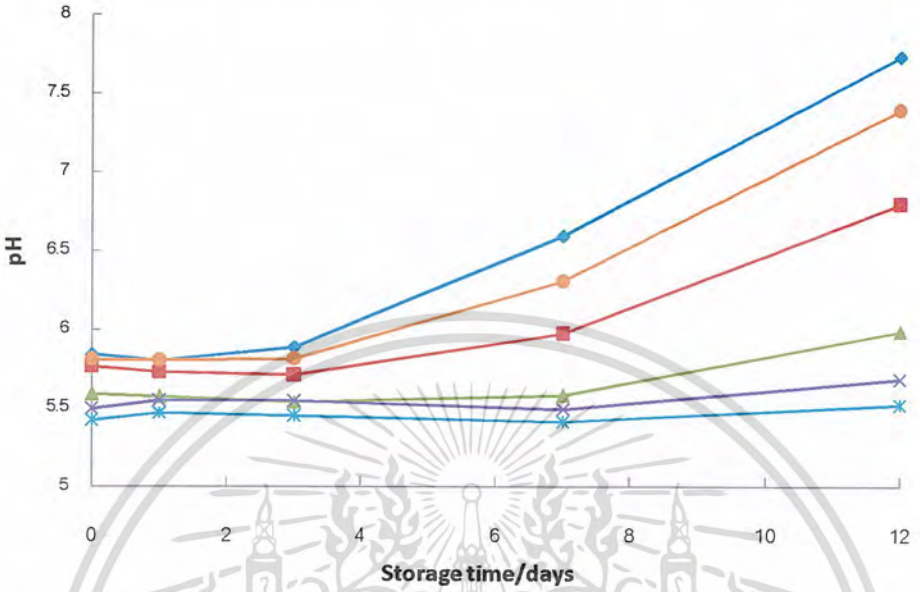
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.4 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในเนื้อหมูบดระหว่างการเก็บรักษา

จากการพิจารณาการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 1.0, 1.5 และ 2.0 ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 วัน เปรียบเทียบกับเนื้อหมูบดที่เติมสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์คือ BHT และเนื้อหมูบดชุดควบคุมที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชันใดๆ ผลการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชในเนื้อหมูบดระหว่างการเก็บรักษาแสดงดังรูปที่ 4.2 พบว่า ในวันแรกของการเก็บรักษาค่าพีเอชของเนื้อหมูบดชุดควบคุมและเนื้อหมูบดที่เติม BHT มีค่าพีเอชสูงที่สุดเท่ากับ 5.84 และ 5.81 ตามลำดับ ส่วนค่าพีเอชของเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 1.0, 1.5 และ 2.0 มีค่าพีเอชต่ำกว่า ซึ่งค่าพีเอชของเนื้อหมูที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมต่ำลงตามความเข้มข้นของสารสกัดจากมะขามป้อมที่เพิ่มขึ้น คือมีค่าพีเอชเท่ากับ 5.76, 5.59, 5.50 และ 5.43 ตามลำดับ โดยในช่วงการเก็บรักษา 0 - 3 วัน พบว่าเนื้อหมูบดชุดควบคุม เนื้อหมูบดที่เติม BHT และเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ทุกระดับความเข้มข้นมีค่าพีเอชค่อนข้างคงที่ แต่หลังจากวันที่ 3 ของการเก็บรักษาพบว่าค่าพีเอชเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยเฉพาะเนื้อหมูบดชุดควบคุมและเนื้อหมูบดที่เติม BHT มีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นมากที่สุด ซึ่งมีระดับพีเอชเป็นกลางคือเท่ากับ 7.73 และ 7.40 ตามลำดับ หลังจากเก็บรักษาครบ 12 วัน และเมื่อพิจารณาค่าพีเอชของเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่าการเติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 2.0 ช่วยรักษาระดับพีเอชให้ยังคงอยู่ในระดับต่ำได้ดีที่สุด คือหลังเก็บรักษา 7 วัน มีค่าพีเอช 5.49 และ 5.42 เมื่อเก็บรักษาครบ 12 วัน มีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเป็น 5.68 และ 5.52 ตามลำดับ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่าพีเอชนี้เพิ่มขึ้นน้อยกว่าค่าพีเอชของเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ 1.0 ซึ่งเพิ่มขึ้นเป็น 6.8 และ 6.0 หลังจากเก็บรักษาครบ 12 วันตามลำดับ การที่เนื้อหมูบดชุดควบคุม เนื้อหมูบดที่เติม BHT และเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 0.25 มีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นถึงระดับค่อนข้างเป็นกลางนี้มีความสัมพันธ์กับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดซึ่งมีจำนวนสูงมาก ซึ่งสามารถบ่งชี้ได้ว่าเนื้อหมูบดเกิดการเน่าเสีย ซึ่งจะสังเกตได้จากลักษณะปรากฏของเนื้อหมูบด คือเกิดกลิ่นเหม็นเน่า ผิวของเนื้อหมูกลายเป็นสีเขียวและมีลักษณะเนื้อเละยุ่ย ส่วนเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0 มีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นเล็กน้อยคือมีค่าเท่ากับ 6.0 ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 12 วัน สัมพันธ์กับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและลักษณะภายนอกที่ปรากฏคือ เริ่มมีกลิ่นเหม็นเน่าเนื้อหมูเริ่มกลายเป็นสีเขียวและเนื้อสัมผัสเริ่มเละ ส่วนเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 2.0 มีค่าพีเอชค่อนข้างคงที่เท่ากับ 5.68 และ 5.52 ตามลำดับ ซึ่งสัมพันธ์กับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและลักษณะภายนอกที่ปรากฏคือเนื้อหมูยังคงมีลักษณะใกล้เคียงกับเนื้อหมูสด ไม่มีกลิ่นเหม็นเน่า เนื้อหมูไม่กลายเป็นสีเขียวและเนื้อสัมผัสไม่เละยุ่ย



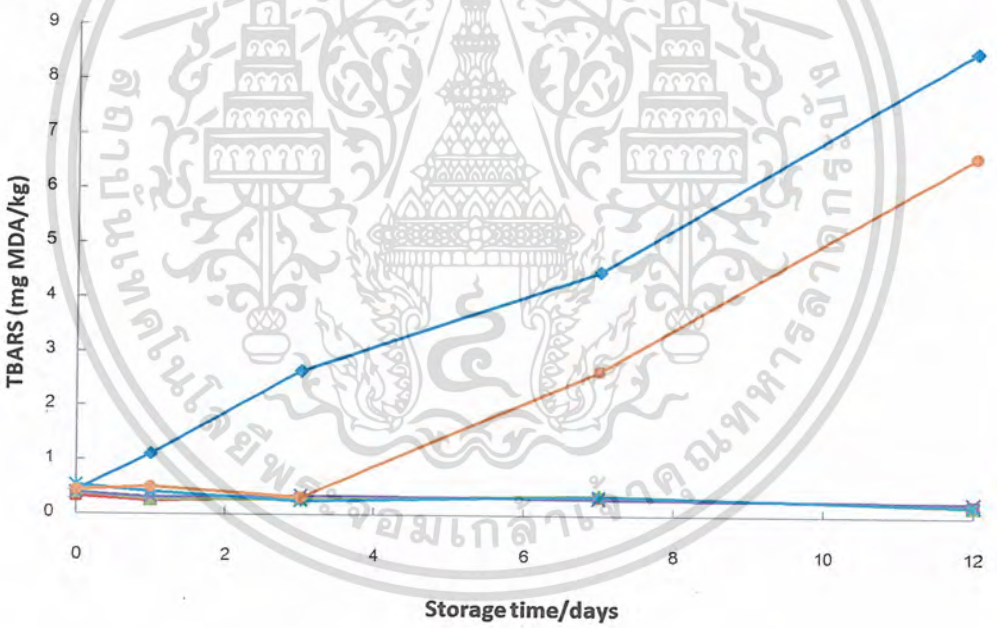
รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส : สัญลักษณ์ ◆, control; ■, 0.25%PE; △, 1.0%PE; ✖, 1.5%PE; ✱, 2.0%PE และ ●, 0.02%BHT

4.1.5 การเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ในเนื้อหมูบด

จากการศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 1.0, 1.5 และ 2.0 ต่อการต้านออกซิเดชันไขมันในเนื้อหมูบดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 วัน เปรียบเทียบกับสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์คือ BHT และเนื้อหมูบดที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชันใดๆ ได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.3 จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเนื้อหมูบดชุดควบคุมมีค่า TBARS สูงขึ้นเรื่อยๆตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาโดยมีค่า TBARS ที่ระยะเวลาเริ่มต้นของการเก็บรักษาเท่ากับ 0.44 mg MDA/kg และเมื่อเก็บรักษาจนครบ 12 วัน ค่า TBARS เพิ่มขึ้นเป็น 8.73 mg MDA/kg โดยค่า TBARS ของเนื้อหมูบดชุดควบคุมมีค่าสูงกว่าค่า TBARS ของเนื้อหมูบดที่เติม BHT และเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ทุกระดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นที่ระยะเวลาของการเก็บรักษาตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 12 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อพิจารณาเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม ที่แต่ละระดับความเข้มข้น พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ค่า TBARS มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาและที่แต่ละช่วงเวลาของการเก็บรักษาไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างค่า TBARS ของเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่แต่ละระดับความเข้มข้นและเมื่อเก็บรักษาจนครบ 12 วัน พบว่าค่า TBARS ของเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมทุกระดับความเข้มข้นมีค่า TBARS ค่อนข้างต่ำ (0.20 – 0.26 mg MDA/kg) และเมื่อพิจารณาค่า TBARS ของเนื้อหมูบดที่เติม BHT พบว่ามีค่าเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในช่วง 0 -3 วัน ของการเก็บรักษา (0.46 – 0.32 mg MDA/kg) เช่นเดียวกับเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม และหลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 -12 วัน ค่า TBARS ของเนื้อหมูบดชุดควบคุมและเนื้อหมูบดที่เติม BHT สูงขึ้นมากกว่าค่า TBARS ของเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



รูปที่4.3 ผลของสารสกัดของจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆต่อการต้านออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูบดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส : สัญลักษณ์ ◆ , control; ■ , 0.25%PE; ▲ , 1.0%PE; ✖ ,1.5%PE; ● , 2.0%PE และ ● , 0.02%BHT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณค่าสีในเนื้อหมูบดระหว่างการเก็บรักษา

จากการพิจารณาการเปลี่ยนแปลงค่าสีของเนื้อหมูบดในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วัน (ตารางที่ 4.1) พบว่าค่าความสว่าง (L^*) ของเนื้อหมูบดทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยหลังจากเก็บรักษา 1 วัน หลังจากนั้นค่าความสว่างมีแนวโน้มลดลง เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเนื้อหมูที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 2.0 มีค่าความสว่างสูงกว่าเนื้อหมูบดชุดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ทุกช่วงเวลาของการเก็บรักษา ($P<0.05$) และเมื่อเก็บรักษาจนครบ 12 วัน พบว่าค่าความสว่างของเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 มีค่าความสว่างเท่ากับ 71.11 ซึ่งสูงที่สุด

เมื่อพิจารณาค่าสีแดง (a^*) พบว่าที่ระยะเวลาเริ่มต้นของการเก็บรักษาเนื้อหมูบดชุดควบคุม เนื้อหมูที่เติมสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (BHT) และเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 0.25 มีค่า a^* ใกล้เคียงกันในช่วง 8.54-8.62 ซึ่งมีค่ามากกว่าค่า a^* ของเนื้อหมูบดชุดอื่น แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อระยะเวลาเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่าค่า a^* ของเนื้อหมูบดทุกชุดมีค่าลดลงเรื่อยๆ เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาเนื้อหมูบดที่ไม่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม เนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มีการเปลี่ยนแปลงค่า a^* ในระหว่างการเก็บรักษามากที่สุดจาก 8.56, 7.78 และ 6.82 เป็น 5.98, 4.74 และ 4.33 ตามลำดับ แต่ค่า a^* ของเนื้อหมูบดทุกทรีตเมนต์ที่เก็บรักษาจนถึงวันที่ 12 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

เมื่อพิจารณาค่าสีเหลือง (b^*) พบว่าที่ระยะเวลาของการเก็บรักษาเริ่มต้น เนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0-2.0 มีค่า b^* ใกล้เคียงกัน (9.4-10.6) ซึ่งมีค่าสูงกว่าค่า b^* ของเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และเนื้อหมูที่เติมสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (BHT) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นผลปรากฏว่าเมื่อเก็บรักษาจนกระทั่งครบ 12 วัน ค่า b^* ของเนื้อหมูบดทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นและเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 1.0, 1.5 และ 2.0 มีค่า b^* อยู่ระหว่าง 10.19-10.68 ซึ่งสูงกว่าค่า b^* ของเนื้อบดชุดควบคุม เนื้อหมูบดที่เติม BHT และเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 0.25 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ผลของการเปลี่ยนแปลงค่าสีในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ทรีตเมนต์	ค่าสี[a] ± SD				
	0 วัน	1 วัน	3 วัน	7 วัน	12 วัน
L* **- value**					
Control[b]	66.27±2.62D	66.52±2.95D	67.23±3.05D	64.93±4.15D	66.64±4.03D
0.25% PE[c]	66.53±3.00CD	67.83±3.98CD	68.81±1.13CD	66.27±4.46CD	66.06±3.14CD
1.0% PE[d]	68.48±1.07BC	70.3±2.35BC	69.14±2.71BC	69.43±3.24BC	68.18±3.88BC
1.5% PE[e]	70.42±1.05AB	71.13±1.17AB	71.25±1.22AB	71.04±1.53AB	70.04±2.50AB
2.0% PE[f]	71.70±2.70A	74.36±1.70A	72.09±3.85A	70.91±4.10A	71.11±2.53A
0.02%BHT[g]	65.85±2.90D	67.36±2.43D	66.82±3.28D	63.98±4.42D	63.97±5.03D
a* **- value**					
control	8.56±1.45ABC	8.31±0.96ABC	5.51±2.00ABC	4.23±0.26ABC	5.98±2.32ABC
0.25% PE	8.54±1.16A	9.12±1.75AB	8.26±1.92ABC	5.43±1.31AD	6.81±2.86ACD
1.0% PE	7.78±0.90ABCD	7.21±0.90ABCD	6.72±1.41BCD	3.53±0.60BCD	4.74±1.80BCD
1.5% PE	6.82±0.87ACD	6.72±0.81ACD	5.95±1.64BCD	3.97±0.61CD	4.33±1.15CD
2.0% PE	6.01±1.53AD	4.99±1.23ABD	5.83±2.83BCD	4.11±1.22D	4.48±1.97CD
0.02%BHT	8.62±1.82AB	8.81±1.55AB	6.54±0.80ABC	5.42±0.74ABD	6.71±2.96ABCD
b* **- value**					
control	6.98±0.27BC	7.73±0.73BC	6.98±1.03BC	8.14±2.45BC	8.87±2.27BC
0.25% PE	8.16±0.90B	8.53±1.87B	8.24±1.71B	8.6±0.34B	8.65±0.86B
1.0% PE	9.40±1.31A	9.91±1.00A	9.52±1.35A	10.47±0.94A	10.19±2.10A
1.5% PE	9.83±1.54A	10.4±1.04A	9.91±1.75A	10.1±1.49A	10.45±1.97A
2.0% PE	10.60±1.74A	10.81±1.70A	10.70±2.57A	10.31±2.21A	10.68±0.64A
0.02%BHT	6.79±0.63C	7.82±1.15C	6.66±1.45C	6.69±1.08C	7.05±1.76C

[a]ค่าเฉลี่ยผลการทดลอง 3 ซ้ำ

[b]**control** คือตัวอย่างเนื้อหมูบดชุดควบคุมซึ่งไม่เติมสารสกัดใดๆ

[c]**0.25% PE** คือตัวอย่างเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 0.25

[d]**1.0%PE**คือตัวอย่างเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 1.0

[e]**1.5%PE** คือตัวอย่างเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 1.5

[f]**2.0%PE** คือตัวอย่างเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 2.0

[g]**0.02%BHT** คือตัวอย่างเนื้อหมูบดที่เติมสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ความเข้มข้นร้อยละ 0.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การใช้ประโยชน์ของเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมในการทำผลิตภัณฑ์เนื้อหมูบดปรุงรส

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากมะขามป้อมต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูบดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยืดอายุการเก็บเนื้อหมูบดแช่เย็น ดังนั้นจึงได้ทดลองนำเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3 และ 7 วัน มาผลิตเป็นเนื้อหมูบดปรุงรสเปรียบเทียบกับเนื้อหมูบดปรุงรสชุดควบคุมซึ่งผลิตจากเนื้อหมูบดสดที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชันใดๆ โดยได้วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของเนื้อหมูบดชุดควบคุมและเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 2.0 พบว่าเนื้อหมูบดปรุงรสชุดควบคุมมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 13.29 ปริมาณไขมันร้อยละ 110.73 และค่าพีเอชเท่ากับ 5.67 ซึ่งมีค่ามากกว่าปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมันและค่าพีเอชของเนื้อหมูบดปรุงรสที่ผลิตจากเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละ 10.48 ร้อยละ 102.37 และ 5.58 ตามลำดับ แต่มีปริมาณความชื้นร้อยละ 53.35 ซึ่งน้อยกว่าและมีค่า a_w เท่ากัน (a_w 0.97) ดังตารางที่ 4.2 (ปริมาณไขมันอาจมีความคลาดเคลื่อนเนื่องจากอาจระเหยตัวทำละลายไม่หมด) จากนั้นจึงได้ทดสอบความแตกต่างทางประสาทสัมผัสของเนื้อหมูบดปรุงรสที่ผลิตจากเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับเนื้อหมูบดปรุงรสที่ผลิตจากเนื้อหมูบดที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากมะขามป้อมด้วยวิธี Duo-trio test โดยใช้ผู้ทดสอบชิม 12 คน นำผลการทดสอบชิมมาเปรียบเทียบกับตารางของ Roessler และคณะ (1978) ซึ่งเป็นตารางที่บ่งบอกถึงจำนวนผู้ทดสอบชิมจำนวนน้อยที่สุดที่ตอบถูกที่จะทำให้สรุปได้ว่าตัวอย่างหมูบดปรุงรสชุดควบคุมและตัวอย่างเนื้อหมูบดปรุงรสที่ผลิตจากเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ที่ทดสอบนั้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจากผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3 พบว่าไม่มีความแตกต่างทางประสาทสัมผัสอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ระหว่างเนื้อหมูบดปรุงรสชุดควบคุมและเนื้อหมูบดปรุงรสที่ผลิตจากเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0, 3 และ 7 วัน นั่นคือผู้ทดสอบชิมไม่สามารถตรวจจับกลิ่นรสของสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ที่เติมลงในเนื้อหมูบดปรุงรสได้ ดังนั้นกลิ่นรสของสารสกัดจากมะขามป้อมที่มีในเนื้อหมูบดแช่เย็นที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 2.0 จึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่น่าจะเป็นปัญหาที่จะมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมูที่ผลิตขึ้นจากเนื้อหมูบดแช่เย็นที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมไม่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค ดังนั้นสารสกัดจากมะขามป้อมจึงเป็นสารธรรมชาติอาจนำมาประยุกต์ใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพในการยืดอายุการเก็บเนื้อหมูบดแช่เย็น

ตารางที่ 4.2 คุณภาพทางเคมีของเนื้อหมูบดปรุงรส

สมบัติทางเคมี[a]	ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ ± SD	
	หมูบดปรุงรสที่ไม่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม	หมูบดปรุงรสที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0
ปริมาณโปรตีน(%)	13.29±2.81	10.48±2.53
ปริมาณไขมัน(%)	110.73±13.80	102.37±2.67
ปริมาณความชื้น(%)	53.35±4.62	57.53±1.15
ค่า a_w (25°C)	0.97±0.01	0.97±0.001
ค่า pH	5.67±0.04	5.58±0.01

[a] ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบความแตกต่างทางประสาทสัมผัสโดยวิธี Duo – trio test ระหว่างเนื้อหมูบดปรุงรสชุดควบคุมที่ผลิตจากเนื้อหมูบดสดที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชันใดๆ และเนื้อหมูบดปรุงรสที่ผลิตจากเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3 และ 7 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (4°C) ของเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ที่นำมาใช้ (วัน)	Duo –Trio test	
	ผู้ทดสอบชิมที่ตอบถูก	Significant level
0	5	NS[a]
3	4	NS
7	8	NS

[a] NS หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 น้ำหนักที่สูญเสียไปหลังการทำให้สุกของเนื้อหมูบดปรุงรสชุดควบคุมที่ผลิตจากเนื้อหมูบดสดที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชันใดๆ และเนื้อหมูบดปรุงรสที่ผลิตจากเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3 และ 7 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (4°C) ของเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ที่นำมาใช้ (วัน)	การสูญเสียหลังการทำให้สุก (ร้อยละ)	
	หมูบดชุดควบคุม	หมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมร้อยละ 2.0
0	5.44	9.70
3	4.21	7.26
7	4.26	6.31

4.3 วิจารณ์ผลการทดลอง

4.3.1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อหมูบดระหว่างการเก็บรักษา

การที่เนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี รวมทั้ง *Pseudomonas* และจุลินทรีย์ไซโครโทรฟทั้งหมด โดยเฉพาะเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.5-2.0 อาจเนื่องมาจากในมะขามป้อมมีสารต้านจุลินทรีย์ ซึ่งกนิษฐา และคณะ (2551) ได้ทำการศึกษากิจกรรมการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านของไทย ทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ พิลังกาสา มะกอกน้ำ มะขวิด มะขามป้อม มะดัน และมะเฟือง พบว่า มะดัน มะขามป้อม และมะกอกน้ำ มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้กว้างที่สุด โดยเฉพาะมะขามป้อมสามารถยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 2.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ Mayachiew และ Devahastin (2007) ได้ทำการศึกษากิจกรรมการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* โดยสารสกัดจากมะขามป้อมและสารสกัดจากข่า พบว่าค่า MIC ของสารสกัดหยาบจากมะขามป้อมและสารสกัดจากข่าเท่ากับ 13.97 และ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 13.97 และ 2.34 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ Mehmood และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาส่วนประกอบของสารสกัดหยาบของมะขามป้อม พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมที่สกัดด้วยปิโตรเลียม คลอโรฟอร์ม เอทิล แอซิเตท และน้ำ ประกอบด้วย อัลคาลอยด์ (alkaloids) แทนนิน (tannins) เทอร์พีน (terpenes) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สเตอรอล (sterols) และซาโพนิน (saponins) และได้ทำการศึกษาคุณสมบัติทางยาของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดจากมะขามป้อมต่ออาการท้องร่วง พบว่าสารสกัดหยาบจากมะขามป้อมมีฤทธิ์ยับยั้งอาการท้องร่วงได้และพบว่าสารสกัดมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้นจะสามารถตอบสนองต่ออาการท้องร่วงได้ดี

การที่เนื้อหมูบดทุกตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้นของการเก็บรักษามีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดรวมทั้งจุลินทรีย์ไซโครโทรฟสูงถึง 10^7 CFU ต่อกรัม อาจเป็นเพราะจุลินทรีย์ที่ติดอยู่กับอุปกรณ์ เช่น มีด เขียง ภาชนะที่ใส่ หรือจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อม ซึ่ง Jay และคณะ (2005) ได้กล่าวว่าแหล่งของการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์อันดับแรกมาจากขั้นตอนการฆ่าสัตว์โดยมีการปนเปื้อนจากสิ่งต่างๆ ได้แก่ มีด หนังสัตว์ กระเพาะหรือลำไส้ของสัตว์ มือของผู้ปฏิบัติการ ภาชนะที่ใส่ รวมทั้งสิ่งแวดล้อมรอบๆตัวสัตว์ และต่อมน้ำเหลือง สำหรับชนิดของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ Samelis (2006) ได้กล่าวว่าแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียโดยทั่วไปที่พบในเนื้อสัตว์ ได้แก่ *Pseudomonas*, *Acinetobacter* หรือ *Moraxella*, *Psychrobacter*, *Aeromonas*, *Shewanella putrefaciens*, *Enterobacteriaceae*, *Brochothrix thermosphacta*, *Micrococcaceae*, *Clostridium* และ *lactic acid bacteria* ซึ่งแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากที่สุดคือ *Pseudomonas* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อน จำนวนเริ่มต้นของจุลินทรีย์ที่ทำให้เน่าเสีย เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่ออายุการเก็บของเนื้อสดและเนื้อสัตว์ปีกสด ตัวอย่างเช่น ที่ผิวของซากวัวอาจมีจำนวนจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญอยู่ในช่วง 10^1 ถึง 10^7 CFU ต่อตารางเซนติเมตร แต่ปกติมักจะมีน้อยกว่า 10^4 CFU ต่อตารางเซนติเมตร ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียไซโครโทรฟ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ทำการเติมแบคทีเรีย *Pseudomonas* ซึ่งเป็นแบคทีเรียประเภทไซโครโทรฟ เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดนี้ของสารสกัดจากมะขามป้อม แบคทีเรียไซโครโทรฟ คือแบคทีเรียที่ชอบเจริญที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 10-15 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่แนะนำสำหรับเพาะเลี้ยงให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตคือที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่าและสามารถสร้างโคโลนีให้เห็นได้ภายใน 7-10 วัน (Jay และคณะ, 2005) ดังเช่นจากผลการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ไซโครโทรฟในเนื้อหมูบดชุดควบคุมและในเนื้อหมูบดที่เติมสารออกซิเดชันสังเคราะห์ (BHT) เพิ่มจำนวนมากขึ้น อาจเนื่องมาจากจุลินทรีย์เหล่านี้ไม่ได้เผชิญกับสารยับยั้งดังเช่นในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม จึงทำให้สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อยๆที่อุณหภูมิแช่เย็นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ในทางตรงกันข้ามเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมจะมีการลดจำนวนลงของจุลินทรีย์ไซโครโทรฟและจุลินทรีย์ *Pseudomonas* ในช่วงแรกหลังจากเก็บรักษาครบ 1 วัน และหลังจากนั้นจุลินทรีย์ไซโครโทรฟค่อยๆเพิ่มจำนวนขึ้น การที่เป็นเช่นนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาจเป็นไปได้ว่าจุลินทรีย์มีการปรับตัวจากสภาพที่มีสารยับยั้ง แต่จุลินทรีย์ *Pseudomonas* ค่อยๆ ลดจำนวนลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากมะขามป้อมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas* ได้ดี แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ไซโครโทรฟทุกชนิดที่ปนเปื้อนในเนื้อหมูบดได้ ซึ่งอาจมีอยู่หลายชนิด Jay และคณะ (2005) กล่าวว่าแบคทีเรียสกุลที่สำคัญเป็นแบคทีเรียไซโครโทรฟ ได้แก่ *Acinetobacter, Aeromonas, Enterobacter, Shewanella, Enterococcus, Pseudomonas, Brochothrix, Vibrio,Carnobacterium* และอื่นๆ

จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อหมูบดแช่เย็นได้นานถึง 7 วัน โดยที่ไม่เน่าเสีย ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อหมูบดที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากมะขามป้อมพบว่าสามารถเก็บรักษาได้เพียง 3 วัน เท่านั้น ซึ่งจะเริ่มมีการเน่าเสียคือมีลักษณะสีซีดลงเริ่มมีกลิ่นเหม็นและลักษณะสัมผัสของเนื้อหมูบดเปลี่ยนไปดังนั้นการเติมสารสกัดจากมะขามป้อมสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานกว่าเนื้อหมูบดที่ไม่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมอย่างน้อย 4 วัน

4.3.2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชของเนื้อหมูบดต่อการเก็บรักษาของเนื้อหมูบด

การที่ค่าพีเอชเริ่มต้นของเนื้อหมูบดชุดควบคุมซึ่งไม่ได้เติมสารสกัดจากมะขามป้อมมีค่าเป็นกรดเล็กน้อย (พีเอช 5.84) Jay และคณะ (2005) ได้กล่าวว่า เนื้อสัตว์ที่เหนื่อยก่อนฆ่าจะเกิดการเน่าเสียเร็วกว่าเนื้อสัตว์ที่ได้รับการพักผ่อนอย่างเพียงพอก่อนฆ่า ซึ่งสิ่งที่เกิดขึ้นนี้เป็นผลโดยตรงที่เกี่ยวข้องกับค่าพีเอชสุดท้ายของเนื้อสัตว์ หลังจากที่ผ่านระยะการเกร็งตัว (rigor mortis) โดยสมบูรณ์ ในกรณีของสัตว์ที่พักผ่อนอย่างเพียงพอก่อนฆ่า ไกลโคเจนในกล้ามเนื้อซึ่งปกติมีอยู่ประมาณร้อยละ 1 จะเปลี่ยนไปเป็นกรดแลกติกซึ่งมีผลโดยตรงต่อการลดลงของค่าพีเอชจาก 7.4 เหลือ 5.6 Callow (1949) ได้รายงานว่าค่าพีเอชต่ำสุดและสูงสุดของเนื้อหมูเท่ากับ 5.3 และ 6.9 ตามลำดับ และ Briskey (1964) ได้รายงานว่า ค่าพีเอชของเนื้อหมูบดอาจมีค่าต่ำถึง 5.0 Jay และคณะ (2005) ได้กล่าวว่า เนื้อวัวและเนื้อสัตว์ชนิดอื่นๆ เมื่อเริ่มเกิดการเน่าเสียค่าพีเอชของเนื้อจะสูงขึ้นขณะเดียวกันแบคทีเรียจะเพิ่มจำนวนมากขึ้น และมีการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการจับกับน้ำของโปรตีนในเนื้อสัตว์ ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงอื่นๆ ในเนื้อวัวบดเมื่อเกิดการเน่าเสียค่าพีเอชอาจสูงขึ้นถึง 8.5 ถึงแม้ว่าที่เวลาของการเริ่มต้นของการเน่าเสีย อาจพบว่าค่าพีเอชของเนื้อโดยเฉลี่ยอยู่ที่ 6.5 การที่ค่าพีเอชของเนื้อสดแช่เย็นค่อยๆ เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นขณะที่เนื้อหมูเกิดการเน่าเสียอาจเป็นไปได้ว่า มีผลิตภัณฑ์บางอย่างเกิดขึ้นจากการย่อยสลายองค์ประกอบของเนื้อสัตว์ ซึ่งอาจมีผลทำให้ค่าพีเอชของเนื้อหมูบดเพิ่มขึ้น Samelis (2006) ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กล่าวว่า กลูโคสซึ่งพบในกล้ามเนื้อเป็นสารประกอบชนิดแรกที่แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียส่วนใหญ่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน เนื่องจากมีมวลโมเลกุลต่ำตามด้วยการใช้กรดอะมิโน ซึ่งพบว่าหลังจากที่กลูโคสในเนื้อถูกใช้ไปหมดแล้ว เนื้อจะมีค่าพีเอชประมาณ 5.5 ถึง 5.8 จากนั้นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย คือ *Pseudomonas* และพวกแบคทีเรียแกรมบวกจะใช้กรดอะมิโนเป็นผลให้เกิดการสร้างสารประกอบซัลไฟด์ที่ระเหยได้ เอสเทอร์และเอมีน จึงเป็นสาเหตุทำให้เนื้อเกิดการเน่าเสีย Vatten และ Shetty (2003) กล่าวว่าสารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติเป็นกรดจึงมีค่าพีเอชที่ต่ำและนอกจากจะแสดงคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันได้อย่างดีเยี่ยมแล้ว ยังแสดงคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ได้อีกด้วย ดังนั้นการที่เนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมมีค่าพีเอชต่ำกว่าเนื้อหมูชุดควบคุม เนื่องมาจากสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีคุณสมบัติเป็นกรดสามารถต้านทานการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเน่าเสียและมีกลิ่นเหม็นหืน จึงเป็นเหตุผลของการที่เนื้อหมูที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม ยังคงมีสภาพสด ไม่มีกลิ่นเหม็นเน่าและมีค่าพีเอชต่ำค่อนข้างคงที่เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น

4.3.3 สมบัติการต้านออกซิเดชันในเนื้อหมูบดของสารสกัดจากมะขามป้อม

จากการที่เนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 – 2.0 มีผลในการต้านออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูบดได้ดี โดยค่า TBARS เปลี่ยนแปลงเล็กน้อยนั้นอาจเป็นเพราะผลของสารสำคัญที่มีอยู่ในมะขามป้อม ดังเช่นการวิจัยของ Luo และคณะ (2009) ซึ่งได้ทำการจำแนกและศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบทางชีวภาพที่พบในมะขามป้อมโดยนำมะขามป้อมอบแห้งมาสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 แล้วแยกเอาเฉพาะส่วนที่เป็น ethyl acetate มาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี silica gel column และ thin layer chromatography พบสารสำคัญ 6 ชนิด ได้แก่ กรดซินนามิก (cinnamic acid) ควอซีทีน (quercetin) 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล (5-hydroxymethylfurfural) กรดแกลลิก (gallic acid) β-ดอลโคสเตอรอล (β-daucosterol) และกรดอีลาจิก (ellagic acid) พบว่า กรดแกลลิกและกรดอีลาจิก มีกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.18 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า TEAC เท่ากับ 3.19 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อวิเคราะห์โดยวิธี DPPH และ ABTS ตามลำดับ โดยสารสำคัญเหล่านี้ที่พบในมะขามป้อมอาจเป็นสารที่มีสมบัติในการต้านออกซิเดชันได้ดี Hayes และคณะ (2009) ได้ศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของลูติน (lutein) เซซามอล (sesamol) กรดอีลาจิก และสารสกัดจากใบมะกอกโดยใช้วิธี DPPH พบว่ากรดอีลาจิกมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.002 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังคาดว่าเป็นผลมาจากกิจกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในมะขามป้อมอีกด้วย ซึ่งจากการศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านของไทย โดยกนิษฐาและคณะ (2551) พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 4,200 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด รองลงมาเป็นพิลังกาสา มะกอกน้ำ มะดัน มะเฟือง และมะขวิด ซึ่งสัมพันธ์กับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดมีค่า E_{50} เท่ากับ 501.71 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH และมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 4.86 มิลลิโมลต่อลิตร นอกจากนี้ Liu และคณะ (2008) ได้ทำการจำแนกและศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในมะขามป้อมโดยการแยกและทำบริสุทธิ์ด้วยวิธี Sephadex LH-20 chromatography และ reverse-phase HPLC ตามลำดับ พบสารสำคัญ 6 ชนิด ได้แก่ เจอรานีอิน (geraniin) ควอซีทิน-3-β-กลูโคไพราโนไซด์ (quercetin 3-β-glucopyranoside) แคมเฟอรอล-3-β-กลูโคไพราโนไซด์ (kaempferol 3-β-glucopyranoside) ไอโซคอริลาจิน (isocorilagin) ควอซิทิน และแคมเฟอรอล พบว่าสารประกอบในมะขามป้อมทั้ง 6 ชนิด มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูง ในบรรดาสารประกอบทั้ง 6 ชนิดนี้ พบว่าเจอรานีอินมีกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.7 ไมโครโมลาร์และ 65.7 ไมโครโมลาร์เมื่อวิเคราะห์โดยวิธี DPPH และวิธี lipid peroxidation ตามลำดับ โดย Lin และคณะ(2008) ได้ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเจอรานีอินที่แยกได้จากลูกใต้ใบ *(Phyllanthus urinaria)* พบว่า geraniin มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.27 ไมโครโมลาร์ที่พีเอช 7.9 และ 0.92 ไมโครโมลาร์ที่พีเอช 4.5 ซึ่งมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของ BHT และกรดแอสคอบิกถึง 14.5 และ 10.3 เท่าที่พีเอช 7.9 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์โดยวิธี DPPH การที่สารสกัดจากมะขามป้อมมีผลในการต้านออกซิเดชันในเนื้อหมูบด อาจเป็นเพราะฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสำคัญที่เป็นส่วนประกอบในมะขามป้อมดังกล่าว ซึ่งมีผลชะลอการเพิ่มขึ้นของค่า TBARS ในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม Kaur และ Kapoor (2001) ได้กล่าวถึงคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก เนื่องจากฟีนอลิกมีคุณสมบัติในการรีดอกซ์ คือทำหน้าที่เป็น reducing agents เป็นตัวให้ไฮโดรเจนและเป็นตัวยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ โดยสารประกอบโพลีฟีนอลจะแสดงคุณสมบัติในการต้านอนุมูลิสระได้ 2 ทาง โดยทางแรกเมื่อสารตั้งต้นที่ถูกออกซิไดซ์มีความเข้มข้นต่ำ โดยจะไปชะลอหรือป้องกันการเกิดกระบวนการออกซิเดชันระหว่างอนุมูลอิสระกับสารตั้งต้น ทางที่สองโดยการทำให้ อนุมูลอิสระเกิดความเสถียร ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟีนอลิกนอกจากจะทำหน้าที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจนแล้ว ยังสามารถเป็น chelator ในการรวมตัวกับอิออนของโลหะ เพื่อช่วยป้องกันการเข้าจับของอนุมูลอิสระได้อีกด้วย ในทางตรงกันข้ามกับเนื้อหมูบดชุดควบคุมที่มีการเพิ่มขึ้นของค่า TBARS อย่างรวดเร็ว Calkins และ Hodgen (2007) กล่าวว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในเนื้อสัตว์ ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของฟอสโฟลิปิด ปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ความเข้มข้นของอิออนโลหะ ออกซิเจน เกลือ และสารโปรออกซิแดนท์อื่นๆ เปอร์ออกไซด์ถูกสร้างขึ้นจากกลไกของปฏิกิริยาลูกโซ่ระหว่างกรดไขมันไม่อิ่มตัวในเนื้อสัตว์กับออกซิเจน ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันสามารถพบได้หลายรูปแบบ ได้แก่ อัลดีไฮด์ (aldehyde) แลคโตน (lactones) ไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) ฟูแรน (furans) และคีโตน ketones ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นรสผิดปกติ เช่น เกิดกลิ่นเหม็นหืน

4.3.4 การเปลี่ยนแปลงค่าสีในเนื้อหมูบดระหว่างการเก็บรักษา

การที่พบว่าค่า a^* (ค่าสีแดง) ในเนื้อหมูบดชุดควบคุม เนื้อหมูบดที่เติมสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (BHT) และเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด (ร้อยละ 0.25) มีค่าความเป็นสีแดงสูงกว่าเนื้อหมูบดชุดอื่นที่ระยะเวลาเริ่มต้นของการเก็บรักษา ซึ่งค่าความเป็นสีแดงนี้อาจเกี่ยวข้องกับเม็ดสีที่อยู่ในเนื้อหมู ซึ่งก็คือไมโอโกลบิน (myoglobin) ไมโอโกลบินเป็นโปรตีนที่ประกอบด้วยโปรตีนรูปร่างกลม ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 153 ชนิด (มีน้ำหนักโมเลกุล 17,000 กรัมต่อโมล) โปรตีนเป็นที่อยู่ของโครงสร้างของวงแหวน porphyrin อยู่ภายในกลุ่มของโมเลกุลโปรตีน เมื่อนำเนื้อหมูบดมาบดด้วยเครื่องบดจึงทำให้ออกซิเจนผสมลงไปในเนื้อหมูบด ทำให้เนื้อหมูบดที่เวลาเริ่มต้นของการเก็บรักษามีค่าสีแดงสูงที่สุด ซึ่งอาจเป็นเพราะเม็ดสีไมโอโกลบินได้รับออกซิเจนจึงเปลี่ยนสภาพเป็นออกซีไมโอโกลบิน (oxymyoglobin) ซึ่งมีสีแดงสด (Young และ West, 1999) ในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0, 1.5 และ 2.0 มีค่าความเป็นสีแดงต่ำกว่า อาจเนื่องมาจากการเติมสารสกัดจากมะขามป้อมลงไปจึงทำให้ค่าความเป็นสีแดงลดลง และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นค่าสีแดงในเนื้อหมูบดทุกตัวอย่างค่อยๆลดลง อาจเนื่องมาจากไมโอโกลบินสามารถจับหรือปล่อยออกซิเจนเฉพาะเมื่อเหล็กของฮีมซึ่งอยู่ในรูป Fe^{+2} โมเลกุลไมโอโกลบินเช่นนี้อาจจะมีอยู่ในรูปของ oxygenated คือมีการจับกันอย่างหลวมๆของโมเลกุลออกซิเจน หรืออยู่ในรูป unoxygenated ที่ไม่ได้จับกับโมเลกุลของออกซิเจน สีของเนื้อที่มีไมโอโกลบินในรูปที่มีการจับกับออกซิเจนจะมีสีแดงสดเหมือนผลเชอรี่สุก แต่ในเวลาต่อมาสีจะเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้มถ้าเหล็กถูกออกซิไดส์กลายเป็น Fe^{+3} สารประกอบเชิงซ้อนของฮีมจะอยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ สีก็จะเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาลและไม่จับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อยู่กับออกซิเจน ซึ่งไมโอโกลบินในรูปที่ถูกออกซิไดส์นี้ คือเมทไมโอโกลบิน (metmyoglobin) (Miller, 2000)

ส่วนค่า b^*-value (ค่าสีเหลือง) พบว่าเนื้อหมูบดชุดควบคุม เนื้อหมูบดที่เติมสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (BHT) และเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดร้อยละ 0.25 มีค่าความเป็นสีเหลืองใกล้เคียงกันซึ่งในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0, 1.5 และ 2.0 จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดจากมะขามป้อมมากขึ้นจะมีผลต่อค่าความเป็นสีเหลือง ซึ่งจะทำให้ค่าความเป็นสีเหลืองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และในเนื้อหมูบดที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากมะขามป้อม เนื้อหมูบดที่เติม BHT จะพบว่าค่าความเป็นสีเหลืองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นด้วยตลอดระยะการเก็บรักษาด้วยเช่นกันแต่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งค่าความสีเหลืองที่เกิดขึ้นส่วนหนึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการเติมสารสกัดจากมะขามป้อมลงไปในเนื้อหมูบด ซึ่งทำให้เกิดการผสมกันระหว่างสีของสารสกัดจากมะขามป้อม (สีเขียว) กับเม็ดสีไมโอโกลบินในเนื้อหมูบดทำให้สีแดงของเนื้อหมูบดจางลง (ค่า b* สูงขึ้น) โดยพบว่าค่า b* จะสูงที่สุดในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0

ส่วนค่า L^*-value (ค่าความสว่าง) พบว่าในเนื้อหมูบดทุกชุดการทดลองมีค่า L^* เริ่มต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และพบว่าค่า L^* ของเนื้อหมูบดชุดควบคุม เนื้อหมูบดที่เติม BHT และเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 ลดลงเล็กน้อยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ส่วนเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น พบว่ามีค่าความสว่างสูงกว่าค่าความสว่างของเนื้อหมูบดชุดควบคุม เนื้อหมูบดที่เติม BHT และเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 โดยเฉพาะเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 มีความสว่างมากที่สุด การที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากในมะขามป้อมมีสารแทนนินสูง ดังการรายงานของ Akhund และคณะ (2010) ได้กล่าวว่าในผลมะขามป้อมจะประกอบไปด้วยสารจากธรรมชาติ และวิตามินซี ซึ่งการมีวิตามินซีและแร่ธาตุนี้จะประกอบไปด้วย แคลเซียม เหล็ก ฟอสฟอรัส แคโรทีน ไทอะมีน ไรโบฟลาวิน ไนอะซิน วิตามินซี และแทนนิน ในสารธรรมชาตินี้อาจมีส่วนช่วยส่งเสริมค่าความสว่าง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Luciano และคณะ (2009) ที่ได้ศึกษาเรื่องสารแทนนินในการพัฒนาความสามารถในการคงสภาพสีของเนื้อแกะ โดยพบว่าการเติมแทนนินจากพืชที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรียกว่า quebracho (*Aspidosperma quebracho*) ในอาหารที่ให้แกะกินมีผลช่วยปรับปรุงความคงตัวของสีเนื้อแกะสดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิของการแช่เย็น

จากความสำเร็จในการประยุกต์ใช้สารสกัดจากมะขามป้อมเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และต้านออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูบดแช่เย็นนี้ อาจเป็นผลมาจากสารสำคัญที่มีอยู่ในมะขามป้อมดังกล่าวซึ่งจะช่วยในการถนอมอาหาร นักวิจัยท่านอื่นก็ได้ประสบความสำเร็จเช่นกันในการประยุกต์ใช้สารสกัดที่ได้จากผลไม้ชนิดอื่น ในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อ ดังเช่นการรายงานของ Blastida และคณะ (2009) ได้ทำการศึกษาผลของการเติม condensed tannins ที่ได้จากการสกัดผลไม้ carob เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูปรุงสุกระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็ง พบว่าสารสกัดจากผลไม้ carob สามารถช่วยลดการเปลี่ยนแปลงของไขมันในเนื้อหมูปรุงสุกที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น และอุณหภูมิแช่แข็งได้เป็นผลสำเร็จ นอกจากนี้ Sáyago-Ayerdi และคณะ (2009) ได้ศึกษาผลของการเติมใยอาหารจากองุ่น (ร้อยละ 0.5-2.0) ต่อการต้านออกซิเดชันของไขมันในแฮมเบอร์เกอร์ไก่ดิบและแฮมเบอร์เกอร์ไก่ที่ปรุงสุก ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 0, 3, 5 และ 13 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งผลที่ได้คือ ใยอาหารจากองุ่นมีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันของไขมันได้ดี โดยความสามารถในการต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่ใช้ นอกจากนี้ Ganhão และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากผลไม้ได้แก่ ต้นสตรอเบอรี่ (Arbutus unedo L., AU), common hawthorns (Crataegus monogyna L., CM), dog roses (Rosa canina L., RC) และ elm-leaf blackberries (Rubus ulmifolius Schott., RU) ต่อการออกซิเดชันของโปรตีนในแฮมเบอร์เกอร์ปรุงสุกที่เติมสารสกัดจากผลไม้ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 วัน พบว่าในระหว่างการเก็บรักษา แฮมเบอร์เกอร์ชุดควบคุมซึ่งไม่ได้เติมสารสกัดจากผลไม้มีการเพิ่มขึ้นอย่างมากของโปรตีนคาร์บอนิล (protein carbonyls) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อโดยปฏิกิริยาออกซิเดทีฟ ส่วนตัวอย่างที่เติมสารสกัดจากผลไม้มีผลช่วยลดการเกิดโปรตีนคาร์บอนิล (protein carbonyls) อย่างมีนัยสำคัญและช่วยยับยั้งการเสื่อมสภาพของสีในเนื้อและลักษณะเนื้อสัมผัสในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาผลของสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25-2.0 ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูบดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัดจากมะขามป้อมที่เติม โดยสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในเนื้อหมูบดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสได้ดีที่สุด โดยจุลินทรีย์ทุกชนิดที่ตรวจสอบลดจำนวนลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา เมื่อเก็บรักษาเนื้อหมูบดแช่เย็นเป็นเวลา 12 วัน จุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อหมูบดมีการรอดชีวิตน้อยที่สุด (ร้อยละ 23.27) เช่นเดียวกับจุลินทรีย์ไซโครโทรฟ และ *Pseudomonas* ซึ่งลดจำนวนลงมากที่สุด (ร้อยละ 2.06) ซึ่งสอดคล้องกับค่าพีเอชที่มีระดับต่ำ นอกจากนี้ยังช่วยรักษาค่าสีของเนื้อหมูบดให้คงความสดไม่แสดงออกถึงการเน่าเสีย และมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมันได้ โดยมีค่า TBARS ในระดับต่ำ จากนั้นทำการทดสอบความแตกต่างทางประสาทสัมผัสของเนื้อหมูบดปรุงรสที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 พบว่าผู้ทดสอบชิมไม่สามารถตรวจจับกลิ่นรสของสารสกัดจากมะขามป้อมที่เติมลงในเนื้อหมูบดปรุงรสได้ ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีประสิทธิภาพในการยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อหมูบด โดยสามารถใช้แทนสารเคมีสังเคราะห์ที่ใช้ในการยืดอายุอาหารเพื่อประโยชน์และความปลอดภัยของผู้บริโภคได้ ในการวิจัยครั้งนี้พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.0 สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อหมูบดได้อย่างน้อย 4 วัน เมื่อเทียบกับชุดควบคุมซึ่งอาจเป็นเวลาที่น้อยเกินไป ดังนั้นหากต้องการยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อหมูบดแช่เย็นเป็นเวลาที่มากขึ้น อาจใช้สารสกัดจากมะขามป้อมร่วมกับวิธีการถนอมอาหารวิธีอื่น เช่น ใช้ร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศหรือการเติมน้ำมันหอมระเหยลงบนแผ่นฟิล์มที่ใช้บรรจุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนิษฐา ขันฮะ จิราพร พันธ์อิ่ม และ จุฑาทิพย์ จิตรเอียด. (2551). กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย. โครงงานพิเศษสาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ

ชัยณรงค์ คันธพนิต. (2529). วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช. กรุงเทพฯ

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. (2539). วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ชั้นสูง. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ

นิรนาม. มะขามป้อม. http:// www.stou.ac.th/Schools/Shs/thaimedical/herb/new/makampom1.jpg

มีนา ชูโชติ. (2546). การใช้สารต่อต้านอนุมูลอิสระเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อหมูสด. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ปรียา ไตรรัตน์ณรงค์. (2550). คัมภีร์แพทย์สมุนไพร ผลไม้ สมุนไพรและพืชผักสมุนไพร. ครั้งที่ 6. สำนักพิมพ์ One World. กรุงเทพฯ

เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์. (2536). เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. ครั้งที่2. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ

ศิวาพร ศิวเวชช. (2535). วัตถุเจือปนอาหาร. เล่ม1. สำนักศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม. กรุงเทพฯ.

ศิวาพร ศิวเวชช. (2546). วัตถุเจือปนอาหาร. เล่ม1. สำนักศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม. กรุงเทพฯ.

สัญชัย จตุรสิทธา. (2550). การจัดการเนื้อสัตว์. ครั้งที่ 4. โรงพิมพ์มิ่งเมือง. เชียงใหม่.

สุรีย์ นานาสมบัติ. (2553). ปฏิบัติจุลชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแปรรูปอาหาร. สาขาวิชาชีววิทยา. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ

Akhund, S., Suhail, M., Rani, I., Memon, F., & Abro, H. (2010). Fruit borne mycoflora of Amla (*Phyllanthus emblica* L.). *Pakistan Journal of Botany., 42(6)*, 4229-4233.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bastida, S., Sanchez – Muniz, F. J., Olivero, R., Perez – Ollesros, L., Ruiz – Roso, B., & Jimenez – Colmenoro, F. (2009). Antioxidant activity of carob fruit extracts in cooked pork meat systems during chilled and frozen storage. *Food Chemistry, 116* , 748 - 754.

Borch, E., Kant-Muermans, M. L., & Blixt, Y. (1996). Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *Food Microbiology*, *33*, 103-120.

Briskey, E. J. (1964). Etiological status and associated studies of pale, soft, exudative porcine musculature. *Advances in Food Research. 13*, 89 – 178.

Calkins, C. R., & Hodgen, J. M. (2007). A fresh look at meat flavor. *Meat Science, 77,* 63 - 80.

Callow, E. H. (1949). Science in imported meat industry. *Journal of The Royal Sanitary Institute*, *69*, 35 - 39.

Feiner, G. (2006). *Meat products handbook practical science and technology.* (1st ed.). Boca Raton : CRC Press LLC. (Chapter 39).

Ganhão, R., Morcuende, D., & Estévez, M. (2010). Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: influence on colour and texture deterioration during chill storage. *Meat Science*, *85*, 402-409.

Hamilton, R.J. (1994). The chemistry of rancidity in food. In J.C. Allen, & R.J. Hamilton (Eds.), *Rancidity in foods* (pp. 1-21). London: Chapman and Hall.

Hayes, J. E., Stepanyan, V., Allen, P., O'Gragy, M. N., O'Brien, N. M., & Kerry, J. P. (2009). The effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on lipid oxidation and oxymyoglobin oxidation in bovine and porcine muscle model systems. *Meat Science*, *83,* 201 - 208.

Hudson, B. J. F., & Gordon, M. H. (1994). Evaluation of oxidative rancidity. In J. C. Allen, & R. J. Hamiton (Eds.), *Rancidity in foods* (pp. 194 - 196). New York : Blackie academic & Professional.

Jay, I. M., loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). *Modern food microbiology*. (7th ed). New York : Springer Science + Business Media, Inc.

Kaur, C., & Kapoor, H. C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, *36*, 703 - 725.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Khan, K. H. (2009). Role of *Emblica officinalis* in medicine – A Review. *Botany Research International, 2(4)*, 218-228.

Lin, S – Y., Wang, C – C., Lu, Y – L., Wu, W – C., & Hou, W – C. (2008). Antioxidant, anti – semicarbarzide – sensitive amide oxidase, and anti – hypertensive activities of geraniin isolated from *Phyllanthus urinaria. Food and Chemical Toxicology, 46,* 2485 – 2492.

Liu, X., Cui, C., Zhao, M., Wang, J., Luo, W., Yang, B., & Jiang, Y. (2008). Identification of phenolics in fruit of emblica (*Phyllanthus emblica* L.) and their antioxidant activities. *Food Chemistry, 109,* 909 – 915.

Luciano, G., Monahan, F. J., Vasta, V., Biondi, L., Lanza, M., & Priolo, A. (2009). Dietary tannins improve lamb meat colour stability. *Meat* science, *81*, 120-125.

Luo, W., Zhao, M., Yang, B., Shen, G., & Rao, G. (2009). Identification of bioactive compounds in *Phyllanthus emblica* L. fruit and their free radical scavenging activities. *Food Chemistry, 114,* 499 – 504.

Mayachiew, P., & Devahastin, S. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *LWT- Food Science and Technology, 41*, 115 – 1159.

Mehmood, M. H., Siddigi, H. S., & Gilani, A. H. (2011). The antidiarrheal and spasmolytic activities of *Phyllanthus emblica* are mediated through dual blockade of muscarinic receptor and ca^{2+} channels. *Journal of Ethnopharmacology, 133,* 856-865.

Miller, R. K., (2000). Factors affecting the quality of raw meat . In J. Kerry, & D. Leaward (Eds.), *Meat Processing* (pp. 27 - 57). Cambridge : Woodhead Publishing Limited.

Monahan, J. F. (2000). Oxidation of lipids in muscle foods : fundamental and applied concerns. In E. Decker, C. Faustman, & C. J. Lopez – Bote (Eds.), *Antioxidants in muscle foods* (pp. 3 – 23). New York : John Wiley & Sons Inc.

Naveena, B. M., Sen, A. R., Vaithiyanathan, S., Babja, Y. & Kondaiah, N. (2008). Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. *Meat Science*, *80*, 1304-1308.

Robert, C.H. (1978). *Meat, poultry and seafood technology*. New Jersey, U.S.A.: Prentice-Hall.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Roessler, E. B., Panborn, R.M., Sidel, J. L., & Stone, H. (1978). Expand statistical table for estimating significance in paired – preference, paired – difference, duo – trio and triangle tests. *Journal of Food Science, 43*, 940 – 943.

Salisbusy, G.W., & Crampton, E.W. (1960). *The science of meat and meat products*. London: Freeman.

Samelis, J. (2006). Managing microbial spoilage in the meat industry. In C. Blackburn, & W. De (Eds.) *Food spoilage microorganism* (pp. 213-286). Cambridge, England : Woodhead Publishing Limited.

Sanchez-Alonso, I., Jimenez-Escrig, A., Saura-Calixto, F., & Borderıa, A. J. (2005). Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies. *Food Chemistry, 101*, 372-378.

Sáyago - Ayerdi, S. G., Brenes, A. & Goni, I. (2009). Effect of grape antioxidant dietary fiber on the lipid oxidation of raw and cooked chicken hamburgers. *LWT - Food Science and Technology, 42,* 971-976.

Scartezzini, P., & Speroni, E. (2000). Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *Journal of Ethnopharmacology, 71*, 23-43.

Sebranek, J. G., Sewalt, V. J. H., Robbins, K. L., & House, T. A. (2005). Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage, *Meat Science, 69*, 289–296

Shahidi, F., & Naczk, M. (2004). *Phenolics in food and nutraceuticals.* (1st ed.). Boca Raton: CRC Press LLC, (Chapter 8).

Suja, P. K., Jayalekshmy, A., & Arumughan, C. (2005). Antioxidant activity of sesame cake extract. *Food Chemistry*, *91*, 213-219.

Vattem, D. A., & Shetty, K. (2003). Ellagic acid production and phenolic antioxidant activity in cranberry pomace (*Vaccinium macrocarpon*) mediated by *Lentinus edodes* using a solid – state system. *Process Biochemistry, 39,* 367 – 379.

Warriss, P. D. (2000). *Meat science an Introductory text.* (1st ed.). New York : CABI Publising. (Chapter 9).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Young, O. A., & West, J. (1999). Meat color. In Y. H. Hoi, W. K. Nip, R.W. Rogers, & O. A. Young (Eds.), *Meat Science and applications* (pp. 39 - 66). New York : Marcel Dekker Inc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ และการเตรียมสารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

Plate count agar (PCA)

ส่วนประกอบ

Tryptone	5	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Dextrose	1	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิตร

วิธีเตรียม Plate count agar (PCA)

ผสมส่วนผสมทุกชนิดในน้ำกลั่น ให้ความร้อนพร้อมทั้งคนจนวุ้นละลาย บรรจุใส่ขวด นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พีเอชสุดท้าย 7.0±0.2

Nutrient broth (NB)

ส่วนประกอบ

Beef extract	3	กรัม
peptone	5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม Plate count agar (PCA)

ผสมส่วนผสมทุกชนิดในน้ำกลั่น บรรจุใส่หลอดทดลอง นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พีเอชสุดท้าย 7.0±0.2

Nutrient Agar (NA)

ส่วนประกอบ

Beef extract	3	กรัม
peptone	5	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีเตรียม Nutrient Agar (NA)

ผสมส่วนผสมทุกชนิดในน้ำกลั่น ให้ความร้อนพร้อมทั้งคนจนวุ้นละลาย บรรจุใส่ขวด นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พีเอชสุดท้าย 7.0±0.2

Pseudomonas Isolation Agar (PIA)

ส่วนประกอบ

Pseudomonas Isolation Agar	45	กรัม
glycerol	20	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม Pseudomonas Isolation Agar (PIA)

ผสม Pseudomonas Isolation Agar ลงในขวดน้ำกลั่น จากนั้นปิเปตกลีเซอรอลลงไป ผสมให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พีเอชสุดท้าย 7.0±0.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารเคมี

สารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1

ส่วนประกอบ

Peptone	1	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีเตรียมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1

ชั่งเปปโตน 1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร บรรจุลงขวด นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 4 โมลาร์

ส่วนประกอบ

สารละลายกรดไฮโดรคลอริก : ความเข้มข้น 37 % w/w

น้ำหนักโมเลกุล 36.46 g/mol

ความหนาแน่น 1.18 kg/L

วิธีเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 4 โมลาร์

1.หาจำนวนโมลของกรดไฮโดรคลอริก

สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 100 กรัม ประกอบด้วยกรดไฮโดรคลอริก 37 กรัม

จะได้ 100 g/1.18 g/ml = 37 g/36.46 g/mol

84.75 ml = 1.015 mol

ดังนั้น สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 84.75 มิลลิลิตร ประกอบด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1.015 โมล

2. หาความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก

สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 84.75 มิลลิลิตร ประกอบด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1.015 โมล

ถ้าสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1000 มิลลิลิตร

จะประกอบด้วยกรดไฮโดรคลอริก = (1000×1.105)/84.75

= 11.976 โมล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.หาปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริก

ถ้าต้องการสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 4 โมลาร์ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร สามารถหาได้จาก

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$11.976 \times V_1 = 4 \times 1000$$

$$V_1 = 334 \text{ ml}$$

ตวงกรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 334 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร

สารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 90

<u>ส่วนประกอบ</u>

สารละลายกรดอะซิติก : ความเข้มข้น 100 % w/w

น้ำหนักโมเลกุล 60.05 g/mol

ความหนาแน่น 1.05 kg/L

<u>วิธีเตรียมสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 90</u>

1.หาจำนวนโมลของกรดอะซิติก

สารละลายกรดอะซิติก 100 กรัม ประกอบด้วยกรดอะซิติก 100 กรัม

จะได้ 100 g/1.05g/ml = 37 g/60.05 g/mol

95.24 ml = 1.665 mol

ดังนั้น สารละลายกรดอะซิติก 95.24 มิลลิลิตร ประกอบด้วยกรดอะซิติก 1.665 โมล

2.หาความเข้มข้นของกรดอะซิติก

สารละลายกรดอะซิติก 95.24 มิลลิลิตร ประกอบด้วยกรดอะซิติก 1.665 โมล

ถ้าสารละลายกรดอะซิติก 1000 มิลลิลิตร จะประกอบด้วยกรดอะซิติก = (1000×1.665)/95.24

= 17.48 โมล

3.หาปริมาตรของกรดอะซิติก

ถ้าต้องการสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 90 ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร สามารถหาได้จาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$17.84 \times V_1 = 15.3747 \times 1000$$

$$V_1 = 900 \text{ ml}$$

ตวงกรดอะซิติกปริมาตร 900 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร

Thiobarbituric acid (TBA) solution

ส่วนประกอบ

Thiobarbituric acid	0.2883	กรัม
กรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 90 ปริมตร	100	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม Thiobarbituric acid (TBA) solution

ชั่ง Thiobarbituric acid 0.2883 กรัม ผสมกับกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 90 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

สารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

ส่วนประกอบ

สารละลายกรดซัลฟิวริก : ความเข้มข้น 96.0 % w/w

น้ำหนักโมเลกุล 98.08 g/mol

ความหนาแน่น 1.84 kg/L

วิธีเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

1.หาจำนวนโมลของกรดซัลฟิวริก

สารละลายกรดซัลฟิวริก 100 กรัม ประกอบด้วยกรดซัลฟิวริก 96.0 กรัม

จะได้ 100 g/1.84g/ml = 37 g/98.08 g/mol

54.3478 ml = 0.9788 mol

ดังนั้น สารละลายกรดซัลฟิวริก 54.3478 มิลลิลิตร ประกอบด้วยกรดซัลฟิวริก 0.9788 โมล

2.หาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก

สารละลายกรดซัลฟิวริก 54.3478 มิลลิลิตร ประกอบด้วยกรดซัลฟิวริก 0.9788 โมล

ถ้าสารละลายกรดซัลฟิวริก 1000 มิลลิลิตร

จะประกอบด้วยกรดซัลฟิวริก = (1000×0.9788)/54.3478

= 18.0099 โมล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.หาปริมาตรของกรดซัลฟิวริก

ถ้าต้องการสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร สามารถหาได้จาก 1 นอร์มัล มีค่าเท่ากับ 2 เท่าของโมลาร์

ดังนั้น กรดซัลฟิวริก 18 โมลาร์ จะมีค่าเท่ากับ 36 นอร์มัล

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

$$36 \times V_1 = 0.1 \times 1000$$

$$V_1 = 2.78 \text{ ml}$$

ตวงกรดซัลฟิวริกปริมาตร 2.78 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร

สารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2

ส่วนประกอบ

สารละลายกรดบอริก	20	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีเตรียมสารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2

ตวงกรดบอริกปริมาตร 20 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40

ส่วนประกอบ

โซเดียมไฮดรอกไซด์	400	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 400 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

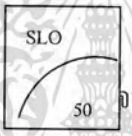
ภาคผนวก ข

เครื่องมือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์โดยใช้เครื่องจ่ายตัวอย่างลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้ออัตโนมัติ (Automated Spiral Plater รุ่น Autoplate 4000)

<u>วิธีการใช้เครื่อง Spiral Plater ในการวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค Spiral Plating</u>

1. เปิดสวิทซ์เครื่อง Autoplate
2. เปิดสวิทซ์ของปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) ความดันจะต้องอยู่ที่ระดับ 15-20 inches (380-510 mm.)Hg
3. วางอ่างของเหลวที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (อาจนำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave หรือ rinse ด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ (10% bleach solution หรือ 70% ethanol แล้วปิดฝาไว้) ทางซ้ายของแท่นหมุนตามลำดับดังนี้ จากขวาไปซ้ายคือ อ่างน้ำยาฆ่าเชื้อ (disinfectant) อ่างน้ำที่ 1 (water atstion 1) อ่างน้ำที่ 2 (water atstion 2) จากนั้นเทน้ำกลั่นปลอดเชื้อลงในอ่างน้ำที่ 1 และอ่างน้ำที่ 2 ส่วนอ่างน้ำยาฆ่าเชื้อให้เติมโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 5% ลงไปจนเต็ม
4. ตั้งโหมดการจ่ายตัวอย่างโดยกดปุ่ม 

สำหรับการจ่าย 50 ไมโครลิตรต่อจานและกดปุ่ม 100 มิลลิเมตร สำหรับการใช้จานเพาะเชื้อขนาด 100 มิลลิเมตร
5. กดปุ่ม CLEAN
6. กดปุ่ม MIN เพื่อที่จะเลือกให้จ่ายตัวอย่างลงบนจานเพียง 1 จาน หรือกดปุ่ม MAX เพื่อให้จ่ายตัวอย่างลงบนจานมากกว่า 1 จาน (จ่ายได้อย่างต่อเนื่องมากที่สุด 5 จาน)
7. เติมสารละลาย crystal violet ความเข้มข้นร้อยละ 0.7 ปริมาตร 3-4 มิลลิลิตรลงในถ้วยใส่ตัวอย่าง วางถ้วยที่หลุมด้านซ้ายมือหลังสุดของที่วางถ้วยใส่ตัวอย่าง ตำแหน่งนี้เป็นตำแหน่งที่ตัวอย่างจะถูกดูดขึ้นไป
8. กดปุ่ม FILL เพื่อให้เข็มจ่าย ดูดตัวอย่างขึ้นไป
9. วางจานอาหารเลี้ยงเชื้อลงบนแท่นหมุน ใช้ปากกาขีด 1 เส้น ตรงกลางขอบจานเพื่อให้ทราบตำแหน่งเริ่มต้นของ spiral line
10. เปิดฝาจานออกแล้วกดปุ่ม PLATE ตรวจสอบจุดเริ่มต้นของ spiral line กับเส้นที่ขีดไว้ที่ขอบจาน ให้สังเกตวงกลมตามรอยจ่ายที่ผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ ระยะระหว่างขอบนอกของจานไปยังวงกลมควรห่างกันอย่างสม่ำเสมอ
11. กดปุ่ม CLEAN เพื่อทำความสะอาดหัวเข็มจ่ายตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. ทำซ้ำในขั้นตอนที่ 7-11 เมื่อจ่ายเพื่อการวิเคราะห์จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (กดปุ่ม FILL ⟶ วางจานอาหาร ⟶ขีดตำแหน่งเริ่มต้น ⟶เปิดฝาจานออก ⟶กดปุ่ม PLATE ⟶กดปุ่ม CLEAN)
13. ก่อนปิดเครื่อง ถ้าจ่ายตัวอย่างที่มีเศษชิ้นส่วน ให้กดปุ่ม EXPEL เพื่อไล่ตัวอย่างที่ค้างอยู่ออก ก่อนกดปุ่ม POWER CLEAN (ไฟที่ปุ่มทั้งสองจะติด) จากนั้นกดปุ่ม CLEAN เข็มจ่าย (stylus) จะถูกฆ่าเชื้อ syringe จะดันน้ำยาฆ่าเชื้อเข้าและออกจากท่อ แบคทีเรียที่ยากต่อการทำลายจะถูกขจัดออก
14. กดปิดสวิทซ์เครื่อง Autoplate และสวิทซ์ Vacuum

2. การวัดค่าพีเอช

<u>วิธีการใช้เครื่องวัดพีเอช (testo 205)</u>

1. ดึงเครื่องออกจาก Storage Cap อย่างระมัดระวัง (มือซ้ายจับ Storage Cap ไว้ มือขวาค่อยๆ ดึงเครื่องมือออก ใช้นิ้วชี้และนิ้วกลางประคองเครื่องไว้ ง้างปลาย Storage Cap เล็กน้อยเพื่อดันเครื่องขึ้นมาจับอย่างระมัดระวัง
2. กดปุ่ม ON (กดแล้วปล่อยทันทีเพื่อเปิดเครื่อง)
3. ทำการ Calibrate โดยกดปุ่ม Cal เครื่องจะบอกให้ Calibrate ที่ pH 4 ได้ (ตัวอักษร Cal ที่หน้าปัดจะกระพริบ) จุ่ม Probe ลงใน Buffer pH 4 (อย่าให้ Probe สัมผัสกับภาชนะที่ใส่ Buffer) รอจนค่านิ่ง กดปุ่ม Cal อีกครั้ง (ตัวอักษร "Auto" จะกระพริบ รอเสียงสัญญาณดังติ๊ด แสดงว่าเครื่อง Calibrate เสร็จแล้ว) ล้าง Probe ด้วยน้ำกลั่น เช็ดด้วยกระดาษทิชชู่
4. ทำการ Calibrate ที่ค่า pH 7 ต่อไป โดยจุ่ม Probe ลงใน Buffer pH 7 รอจนค่านิ่ง กดปุ่ม Cal อีกครั้ง ตัวอักษร "Auto" จะกระพริบ รอสัญญาณดังติ๊ด เมื่อการ Calibrate เสร็จสิ้น เครื่องจะแสดงปริมาณ Gradient และ offset value ที่หน้าปัด (หน่วยมิลลิโวลต์) จากนั้นล้าง Probe ด้วยน้ำกลั่น เช็ดด้วยกระดาษทิชชู่
5. เปลี่ยนไปสู่โหมดการวัด โดยกดปุ่ม Cal อีกครั้ง (ตัวอักษร "Auto Hold" จะกระพริบ) จึงทำการวัดค่า pH ของตัวอย่างได้
6. จุ่ม Probe ลงในตัวอย่างรอสัญญาณดังติ๊ด บันทึกค่า pH และอุณหภูมิที่วัดได้ เมื่อวัดเสร็จแล้วก่อนจะวัดตัวอย่างต่อไป ล้าง Probe ให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น ซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. เมื่อจะวัด pH ของตัวอย่างถัดไป ให้จุ่ม Probe ลงในตัวอย่างแล้วกดปุ่ม ON HOLD อีกครั้ง เพื่อให้เครื่องทำการวัด pH ของตัวอย่าง รอสัญญาณดังติ๊ด บันทึกค่า pH และอุณหภูมิที่วัดได้

8. เมื่อเลิกใช้เครื่องมือให้ปิดเครื่องโดยกดปุ่ม ON HOLD ค้างไว้สัก 2-3 นาที จนตัวเลขที่หน้าปัดหายไป

9. ทำความสะอาด Probe โดยล้างด้วยน้ำสบู่เจืองจาง ที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส (ห้ามใช้น้ำยาทำความสะอาดที่แรงเกินไป) ตามด้วยการล้างด้วยน้ำกลั่น เช็ดเครื่องให้สะอาดด้วยผ้าที่สะอาดหรือกระดาษทิชชู่ชุบน้ำพอหมาดๆ ห้ามถู

10. เสียบหัว Probe ลงใน Storage Cap ที่มี Electrolyte gel (สีส้ม) อยู่ โดยเสียบเครื่องเข้าทางขวาของ Storage Cap

<u>หมายเหตุ</u> : หัว Probe ต้องจุ่มลงใน Electrolyte gel ขณะปิดเครื่องต้องรักษาให้ Electrolyte gel ให้สะอาดอยู่เสมอ ถ้า Probe อยู่นอก Electrolyte gel เป็นเวลานาน จะต้องจุ่มหัว Probe ลงใน Electrolyte gel เป็นเวลาประมาณ 12 ชั่วโมง เพื่อ regenerate

3.การวัดสี

<u>วิธีการตั้งค่า</u>

1. เปิดสวิทซ์ POWER

2. กด INDEX SET แสดงเมนูของฟังก์ชัน ใช้ Y/N เพื่อเปลี่ยนการตั้งค่า

- เลือก “Print” กด Y เป็นการพิมพ์อัตโนมัติหลังจากการวัดแต่ละครั้ง

- เลือก “ Color Space” กด N เมื่อใช้ colour space เดิม

3. กด Scroll key (⟲)

-เลือก “Data Protect” กด Y เป็นการไม่เก็บค่าที่วัดได้หลังจากมีการวัด 300 ครั้ง

-เลือก “Multi Measyre” กด Y เป็นการวัด 3 ครั้งแล้วนำค่ามาเฉลี่ย

-เลือก “Auto select” กด Y เพื่อให้ตัวประมวลผลข้อมูลจะเลือกช่วงปรับแต่งให้ใกล้เคียงกับวัตถุที่จะวัดเพื่ออ้างอิง

-เลือก “Light Source” CIE Illuminate C กดคีย์เคอร์เซอร์เลื่อน (◄——— / ———►)

4. เมื่อตั้งค่าได้ตามต้องการแล้วกด ENTER

วิธีการ Calibrate เครื่องวัดสีของมินอลต้า รุ่น CR-300

1. เปิดสวิทซ์ POWER

2. กดปุ่ม Calibrate หน้าจอแสดงข้อมูล Yxz ที่ได้กำหนดไว้ครั้งล่าสุด ถ้าไม่มีการปรับก่อนหน้านี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก็จะไม่มีข้อมูลแสดง

3. ใช้ปุ่มเลื่อนเคอร์เซอร์ (◄——/——►) และตัวเลขในการกำหนดค่าการปรับในฟังก์ชัน "ch00"

4. ถ้ายังไม่ได้กำหนดค่าช่วงสี Yxz ให้กดปุ่ม Color Space Select ซ้ำจนกระทั่งปรากฏช่วงสี Yxz

5. กำหนดข้อมูลการปรับ (ตามที่ได้แสดงในฝาครอบด้านในแผ่น White calibrate plate) โดยปรับตำแหน่งให้ตรงกับค่าที่จะใส่ โดยเลื่อนไปที่ระบบสี $L^*a^*b^*$

6. เมื่อค่า $L^*a^*b^*$ ตรงกับแหล่งกำเนิดแสงแล้ว นำหัววัดวางบนพื้นที่ผิวสีขาวมาตรฐานแผ่น (White calibrate plate)

7. กดปุ่ม measure บนเครื่องประมวลผลข้อมูล หลังจากที่มีไฟ READY บนหัววัดปรากฏขึ้น และทำการวัด 3 ครั้งติดกัน เพื่อความถูกต้องของข้อมูล (ต้องแน่ใจว่าไม่ได้เคลื่อนหัววัดในขณะที่ทำการวัด)

8. จากนั้นประมาณ 5 วินาที อักษร "CAL" ก็จะถูกรบกวนด้วย "END" กับภาพขวามือ เป็นการเสร็จการCalibrate เรียบร้อยแล้ว

9. ปิด POWER เมื่อหน้าจออยู่ในโหมดการวัดเท่านั้นถ้าไม่อยู่ให้กด BREAK จนอยู่ในโหมดการวัด

4. การวัดค่า a_w ของตัวอย่าง

<u>วิธีการใช้เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (Water Activity : a_w Serie 3TE)</u>

1.การเปิดเครื่อง

- เสียบปลั๊ก และกดปุ่มสวิทซ์เปิดซึ่งอยู่ด้านหลังเครื่อง (แนะนำให้ใช้ปลั๊กที่มีการต่อสายดิน)
- เพื่อให้ผลการวัดมีประสิทธิภาพสูงสุดควรทำการวอร์มเครื่องไว้เป็นเวลาประมาณ 30 นาที

2.การเตรียมตัวอย่าง

- ปริมาณของตัวอย่างที่ใช้ไม่ควรเกินครึ่งหนึ่งของภาชนะบรรจุ (ปริมาตรประมาณ 7 มิลลิลิตร) ห้ามเติมตัวอย่างจนเต็มหรือล้นภาชนะบรรจุ
- ปริมาณตัวอย่างที่ใช้น้อยที่สุด ควรให้ครอบคลุมพื้นที่ของก้นภาชนะบรรจุ (ปริมาณเท่ากับฝาภาชนะบรรจุ)
- ตรวจสอบให้แน่ชัดว่าที่ขอบริมและด้านนอกของภาชนะบรรจุสะอาด
- ตรวจสอบให้แน่ชัดว่าตัวอย่างที่เตรียมไว้มีอุณหภูมิสูงเกนกว่า 4 องศาเซลเซียส กับอุณหภูมิของ chamber

3.การวัดค่า a_w ของตัวอย่าง

- ใส่ภาชนะบรรจุลงไปในล้นชักใส่ตัวอย่าง ปิดลิ้นชักด้วยความระมัดระวัง เพื่อไม่ให้ตัวอย่างหก
- หมุนปุ่มของลิ้นชักจากตำแหน่ง OPEN/LOAD ไปยังตำแหน่ง READ เครื่องจะเริ่มทำการวัดค่า a_w

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เครื่องจะแสดงผลของค่า a_w ที่อ่านได้ครั้งแรก เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 40 วินาที

- เมื่อเครื่องทำการวัดค่า a_w เสร็จเรียบร้อย จะมีสัญญาณเตือน (ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการตั้งโปรแกรมสัญญาณเตือน)

- ที่หน้าจอ LCD ของเครื่องจะแสดงค่า a_w ที่อ่านได้ค่าสุดท้าย พร้อมทั้งอุณหภูมิของตัวอย่าง

4.การตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่อง

- ควรตรวจสอบประสิทธภาพ และความสะอาดของเครื่องทุกวัน (ทุกครั้งที่มีการใช้)

- ใช้สารละลายมาตรฐานและน้ำกลั่นในการปรับเครื่อง

5.ข้อควรระวัง

- ควรป้องกันไม่ให้เครื่องเกิดการปนเปื้อนและถูกทำลาย ห้ามเติมตัวอย่างจนเต็มหรือล้นออกนอกภาชนะบรรจุ

- ห้ามแยกหรือเคลื่อนย้ายเครื่อง ในขณะที่มีตัวอย่างอยู่ในลิ้นชักของเครื่อง

- ควรปิดปุ่มพาวเวอร์ และถอดปลั๊กของเครื่องก่อนการเคลื่อนย้ายเครื่อง

6.ข้อความที่แสดงความผิดพลาดและปัญหาที่เกิดขึ้น

- ถ้าอุณหภูมิของตัวอย่างสูงกว่าอุณหภูมิของเครื่องมากกว่า 4 องศาเซลเซียส จะมีผลให้การทำงานของเซ็นเซอร์ของเครื่องอ่านค่าคลาดเคลื่อนได้

- ถ้าตัวอย่างมีค่า a_w ต่ำกว่า 0.100 จะมีผลทำให้เครื่องอ่านค่าคลาดเคลื่อนได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

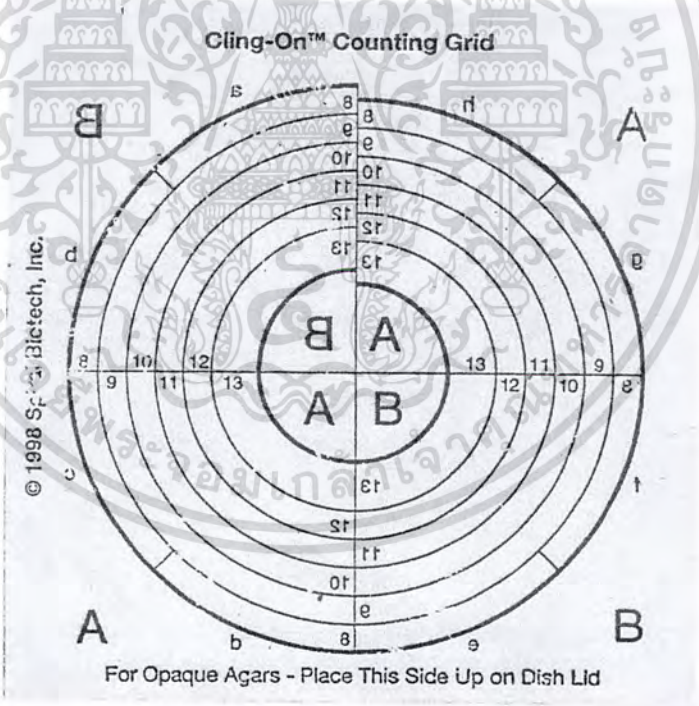
การคำนวณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การตรวจนับจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค spiral plater

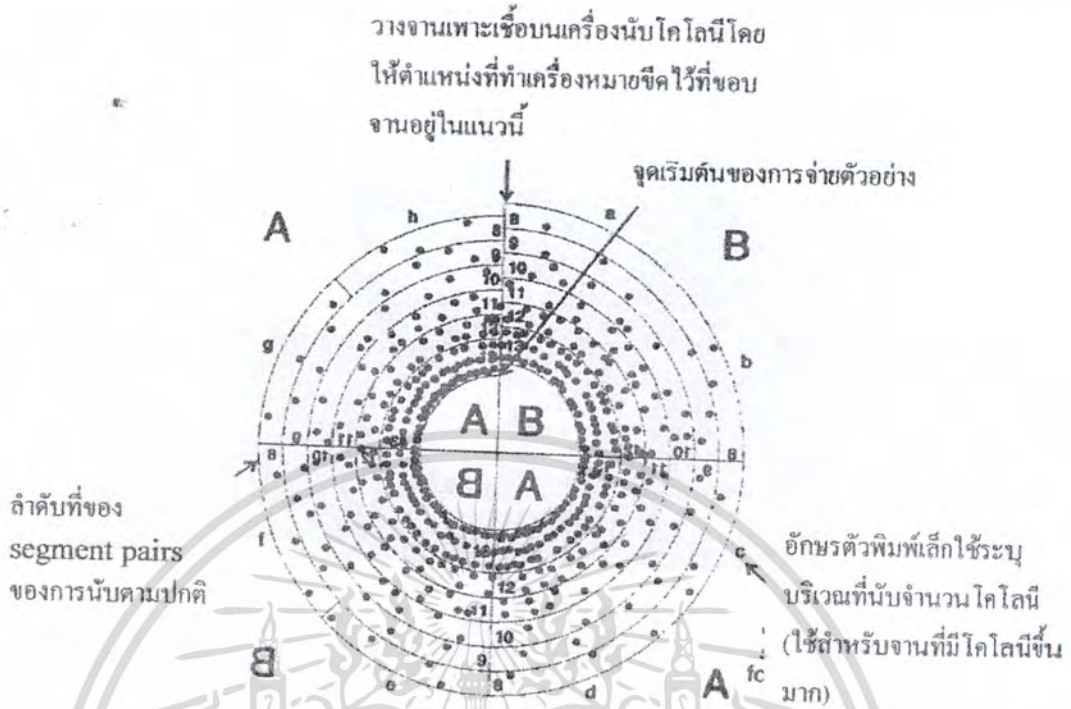
การตรวจนับจุลินทรีย์บนจานอาหารที่จ่ายตัวอย่างด้วยเครื่อง spiral plater ทำได้โดยวิธีที่ง่าย โคโลนีที่ขึ้นวงนอก (outer region) ของจานเป็นโคโลนีเดี่ยวที่แยกกันอย่างชัดเจน นำจำนวนโคโลนีที่นับได้หารด้วยปริมาตรของตัวอย่างที่กระจายอยู่ในบริเวณที่นับ ควรใช้เวลาในการบ่มอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเหมาะสมเพื่อให้นับจำนวนโคโลนีได้โดยที่โคโลนีไม่ใหญ่จนเกินไป

ในการนับจำนวนจุลินทรีย์ด้วยมือ (manual counting) ต้องใช้ spiral grid ในการทาบจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่จะนับ counting grid มีอยู่ 3 แบบคือ 1) disposable Cling-On™ ซึ่งใช้ทาบโดยตรงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังรูปที่ ค.1 2) spiral grid ชนิดที่ทำด้วยแก้ว 3) spiral grid ชนิดที่ทำด้วยพลาสติก ก่อนนับให้วางจานอาหารเลี้ยงเชื้อคว่ำลงบนเครื่องวัดโคโลนีโดยให้จุดที่ทำเครื่องหมายเริ่มต้นไว้อยู่ในตำแหน่ง 12 นาฬิกา วางแผ่น spiral grid ทาบกับจานให้ส่วนที่อยู่ในสุดอยู่ในsegment ที่ 13 อยู่ตรงกลางจานเพาะเชื้อ ดังรูปที่ ค.2 และ ค.3



รูปที่ ค.1 แผ่น disposable Cling-On™ ซึ่งใช้ทาบโดยตรงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค.2 การวาง counting grid ทาบกับจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีขึ้นโดยให้จุดเริ่มต้นอยู่ที่ตำแหน่ง 12 นาฬิกา

ที่มา: สุรีย์, 2553

รูปที่ ค.3 การเจริญของจุลินทรีย์บนจานเพาะเชื้อที่จ่ายตัวอย่างด้วยเครื่อง Automated Spiral Plater

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณหาจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/ml)

1.เริ่มนับจำนวนโคโลนีที่วงนอกสุด (out segment เบอร์ 8 สำหรับจานอาหารขนาด 100 มิลลิเมตร และ segment เบอร์ 1 สำหรับจานอาหารขนาด 150 มิลลิเมตร) โดยนับใน quadrant A หรือ quadrant B อย่างใดอย่างหนึ่ง นับจากข้างนอกเข้ามาข้างในจนกระทั่งได้อย่างน้อย 20 โคโลนี ถ้าในวงนอกสุดยังได้ไม่ถึง 20 โคโลนี ให้นับใน segment ที่ติดกันถัดเข้ามาจนกระทั่งได้อย่างน้อย 20 โคโลนี โดยนับโคโลนีที่ขึ้นทุกโคโลนีใน segment สุดท้ายนั้น

หมายเหตุ : ไม่ต้องนับโคโลนีที่อยู่นอกวงที่ให้นับ (grid marking)

2.นับจำนวนโคโลนีใน segment เดียวกันในด้านทแยงมุมตรงข้ามที่อยู่ใน quadrant เดียวกัน เช่นถ้านับใน quadrant A ด้านบนก็ต้องนับใน quadrant A ด้านล่างฝั่งทแยงมุม หรือถ้านับใน quadrant B ก็ต้องนับทั้งสองด้านเช่นเดียวกัน

หมายเหตุ : ถ้านับจำนวนโคโลนี segment ที่ 8-13 น้อยกว่า 20 โคโลนี ให้นับโคโลนีทั้งหมดในจาน

3.บวกจำนวนโคโลนีทั้งสองด้านเข้าด้วยกัน (ควรได้อย่างน้อย 40 โคโลนี ถ้าไม่ได้ให้นับทั้งจาน) แล้วหารด้วยค่าคงที่ของปริมาตร (volume constant ในตารางที่ ค.1) ตัวอย่างที่จ่ายลงบนจานครอบคลุมถึง segment สุดท้ายที่นับ จากนั้นคูณด้วย 1000 แล้วคูณด้วย dilution factor

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.1 ค่าคงที่ของปริมาตรตัวอย่างที่จ่ายลงบน segment ที่นับโคโลนีทั้งสองด้านโดยจ่ายแบบ exponential

Segment Pair	50 µl Setting		100 µl Setting	
	100 mm Plate µl Deposited	150 mm Plate µl Deposited	100 mm Plate µl Deposited	150 mm Plate µl Deposited
1	-	0.043	-	0.086
2	-	0.115	-	0.230
3	-	0.234	-	0.468
4	-	0.431	-	0.862
5	-	0.757	-	1.514
6	-	1.295	-	2.590
7	-	2.136	-	4.272
8	1.214	3.350	2.428	6.700
9	2.968	5.103	5.936	10.206
10	5.500	7.636	11.000	15.272
11	9.157	11.292	18.314	22.584
12	14.482	16.618	28.964	33.236
13	25.015	27.150	50.030	54.300
ทั้ง Plate	50.030	54.300	100.060	108.600

ที่มา: สุรีย์, 2553

ตัวอย่างการคำนวณ

<u>ตัวอย่างที่ 1</u> ถ้านับใน segment 8, 9 และ 10 ทั้งสองด้านของจานขนาด 100 มม. ได้ 28 และ 32 โคโลนีตามลำดับ กรณีที่ตัวอย่างไม่ได้ผ่านการเจือจาง คำนวณหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU ต่อมิลลิลิตร) ได้ดังนี้

$$(28+32)/5.500\ \mu l = 10.9 \times 1000 = 1.09 \times 10^4 \text{ CFU ต่อมิลลิลิตร}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ้าตัวอย่างผ่านการเจือจางมา 10 เท่า หรือเป็นตัวอย่างที่เจือจางที่ระดับ 10^{-1} ดังนั้นจึงต้องคูณอีก 10 ดังนี้

$$1.09 \times 10^{3} \times 10 = 1.09 \times 10^{4} \text{ CFU ต่อมิลลิลิตร}$$

<u>ตัวอย่างที่ 2</u> ถ้านับใน segment 8 ทั้งสองด้านของจานขนาด 100 มม. ได้ 28 และ 20 โคโลนีตามลำดับ กรณีที่ตัวอย่างไม่ได้ผ่านการเจือจาง คำนวณหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU ต่อมิลลิลิตร) ได้ดังนี้

$$(28+20)/1.214 \times 1000 = 3.9 \times 10^{4} \text{ CFU ต่อมิลลิลิตร}$$

ถ้าตัวอย่างผ่านการเจือจางมา 1000 เท่า หรือเป็นตัวอย่างที่เจือจางที่ระดับ 10^{-3} ดังนั้นจึงต้องคูณอีก 10^{3} ดังนี้

$$3.95 \times 10^{4} \times 10^{3} = 3.95 \times 10^{7} \text{ CFU ต่อมิลลิลิตร}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมด (ซ้ำที่ 1)

จำนวนวันที่ทำการสุ่มตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์					
	ชุดควบคุม	0.25% PE	1.0% PE	1.5% PE	2.0% PE	BHT
0	100	100	100	100	100	100
1	26.59	322	283.6	22.56	30.08	521
3	45.79	195	38.86	58.82	53.78	94.5
7	29.83	19.53	34.74	13.31	12.39	30.88
12	14.11	18.48	17.05	19.32	21.72	9.2

ตารางที่ ง.2 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมด (ซ้ำที่ 2)

จำนวนวันที่ทำการสุ่มตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์					
	ชุดควบคุม	0.25% PE	1.0% PE	1.5% PE	2.0% PE	BHT
0	100	100	100	100	100	100
1	33.5	111.8	51.8	97.5	42.6	149.3
3	88.4	118.9	85.3	42.6	48.7	106.7
7	70.1	64	57.9	42.6	36.5	94.5
12	64	48.7	64	36.5	39.6	51.8

ตารางที่ ง.3 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมด (ซ้ำที่ 3)

จำนวนวันที่ทำการสุ่มตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์					
	ชุดควบคุม	0.25% PE	1.0% PE	1.5% PE	2.0% PE	BHT
0	100	100	100	100	100	100
1	96	90	47	66	25	84
3	174	101	62	107	25	94
7	470	254	96	147	111	431
12	49.21	33.52	38.82	30.39	23.72	40.39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.4 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมด (เฉลี่ย)

จำนวนวันที่ทำการสุ่มตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์					
	ชุดควบคุม	0.25% PE	1.0% PE	1.5% PE	2.0% PE	BHT
0	100±0.00AB	100±0.00AB	100±0.00AB	100±0.00AB	100±0.00AB	100±0.00A
1	37±38.24AB	254±28.17AB	218±135.24AB	35±37.63AB	30±9.06AB	400±235.72A
3	68±65.30AB	163±49.91AB	45±23.22AB	63±33.50AB	47±15.36AB	90±7.20AB
7	100±243.34AB	59±124.53AB	45±30.93AB	36±70.27AB	29±51.40AB	100±215.10AB
12	24.1±25.62AB	23.36±15.11AB	24.63±23.50AB	22.27±8.70AB	23.27±9.80B	18±22.05AB

ตารางที่ ง.5 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ *Pseudomonas* (ซ้ำที่ 1)

จำนวนวันที่ทำการสุ่มตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์					
	ชุดควบคุม	0.25% PE	1.0% PE	1.5% PE	2.0% PE	BHT
0	100	100	100	100	100	100
1	51.36	30.16	51.36	43.2	25.76	51.36
3	60.24	65.44	51.68	70.32	47.12	112
7	19.76	14.4	7.44	4	3.72	200
12	21.6	15.52	36.88	7.75	4.64	18.64

ตารางที่ ง.6 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ *Pseudomonas* (ซ้ำที่ 2)

จำนวนวันที่ทำการสุ่มตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์					
	ชุดควบคุม	0.25% PE	1.0% PE	1.5% PE	2.0% PE	BHT
0	100	100	100	100	100	100
1	81.5	115	273	96.5	21.3	57.9
3	72.6	41.1	43.8	63	19.1	27.4
7	36.9	27.4	13.4	7.26	6.4	23.2
12	28.7	34.2	16.4	11.5	7.1	28.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.7 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ *Pseudomonas* (ซ้ำที่ 3)

จำนวนวันที่ทำการสุ่มตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์					
	ชุดควบคุม	0.25% PE	1.0% PE	1.5% PE	2.0% PE	BHT
0	100	100	100	100	100	100
1	10.5	7.7	5.7	6.8	3.6	9.5
3	63.9	32.7	12.9	6.7	3.6	65.5
7	26.2	21.3	6	3.4	1.3	21.3
12	11.39	3.54	1.98	1.82	0.93	3.05

ตารางที่ ง.8 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ *Pseudomonas* (เฉลี่ย)

จำนวนวันที่ทำการสุ่มตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์					
	ชุดควบคุม	0.25% PE	1.0% PE	1.5% PE	2.0% PE	BHT
0	100±0.00A	100±0.00A	100±0.00A	100±0.00A	100±0.00A	100±0.00A
1	23±35.63B	20.7±56.60B	36±142.98B	20±45.11B	8.5±11.72B	20±26.26B
3	62.9±28.33BC	37±17.00C	21±20.50BC	21±34.81BC	11±22.05BC	66±42.37BC
7	25.9±8.66CD	20.7±6.50CD	6.6±3.92CD	3.7±2.07CD	2.1±2.55CD	48.1±102.63CD
12	14.5±33.88D	8.15±38.37D	8.67±70.20D	2.25±41.95D	2.06±38.43D	7.74±53.18D

ตารางที่ ง.9 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรฟ (ซ้ำที่ 1)

จำนวนวันที่ทำการสุ่มตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์					
	ชุดควบคุม	0.25% PE	1.0% PE	1.5% PE	2.0% PE	BHT
0	100	100	100	100	100	100
1	140	79.7	22.4	7.8	41.25	109.7
3	95.7	54	55.25	40.8	46.3	115.9
7	114	49.42	47.5	21.13	19.18	44.36
12	177	147.5	119.5	130.4	47.8	165.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.10 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรฟ (ซ้ำที่ 2)

จำนวนวันที่ทำการสุ่มตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์					
	ชุดควบคุม	0.25% PE	1.0% PE	1.5% PE	2.0% PE	BHT
0	100	100	100	100	100	100
1	172.83	116.66	43.08	18.76	18.14	83.08
3	306.17	100	42.09	17.28	13.33	84.48
7	696.29	417.28	195.06	148	114.69	644.44
12	717.28	558.02	449.38	335.8	133.33	598.76

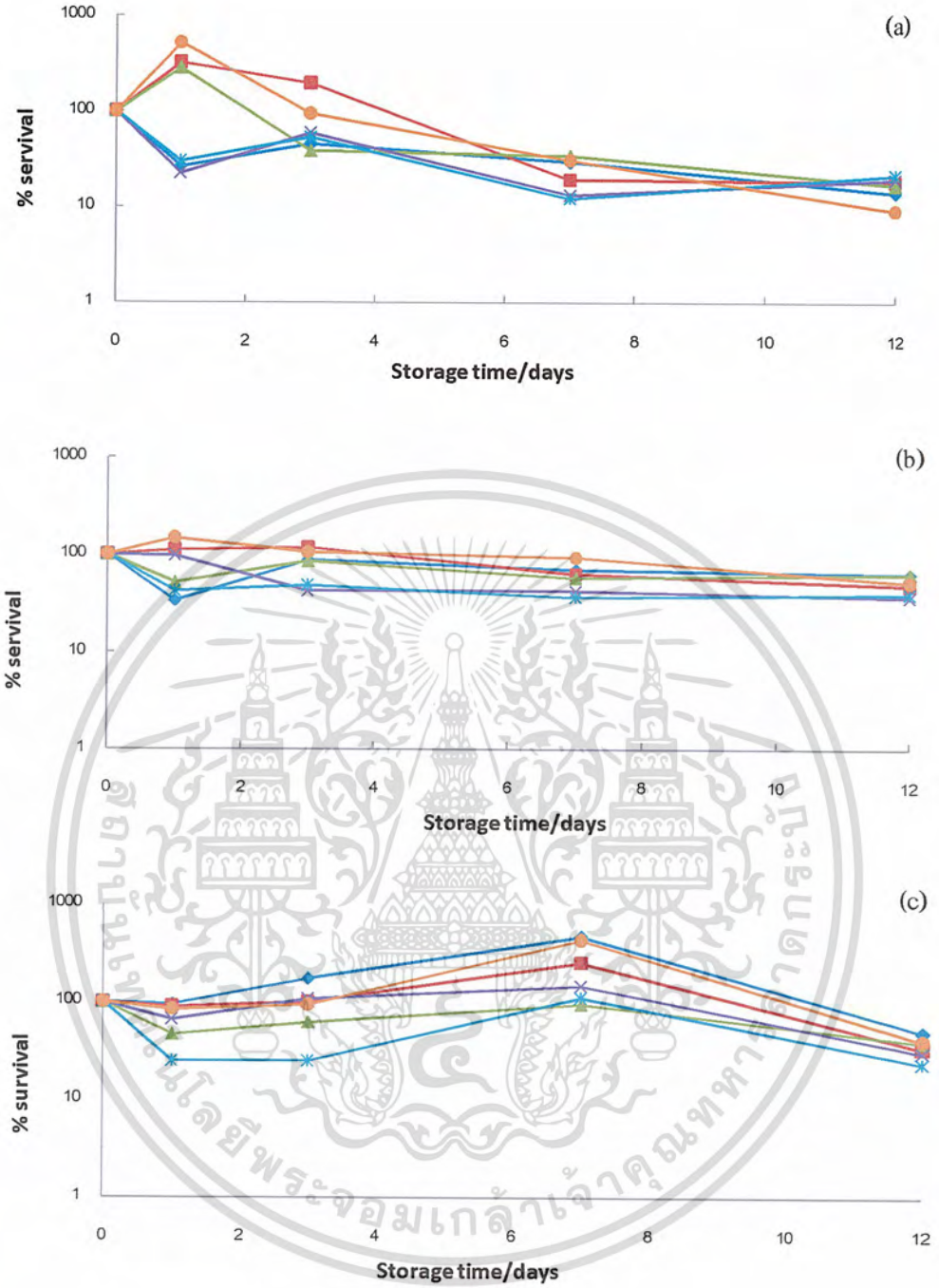
ตารางที่ ง.11 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรฟ (ซ้ำที่ 3)

จำนวนวันที่ทำการสุ่มตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์					
	ชุดควบคุม	0.25% PE	1.0% PE	1.5% PE	2.0% PE	BHT
0	100	100	100	100	100	100
1	166.26	105.22	41.14	18.33	17.5	77.55
3	139.56	118.2	71.23	34.83	23.66	128.64
7	648.06	394.42	190.53	135.92	106.8	589.8
12	418.69	582.52	468.44	791.26	413.83	597.08

ตารางที่ ง.12 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรฟ (เฉลี่ย)

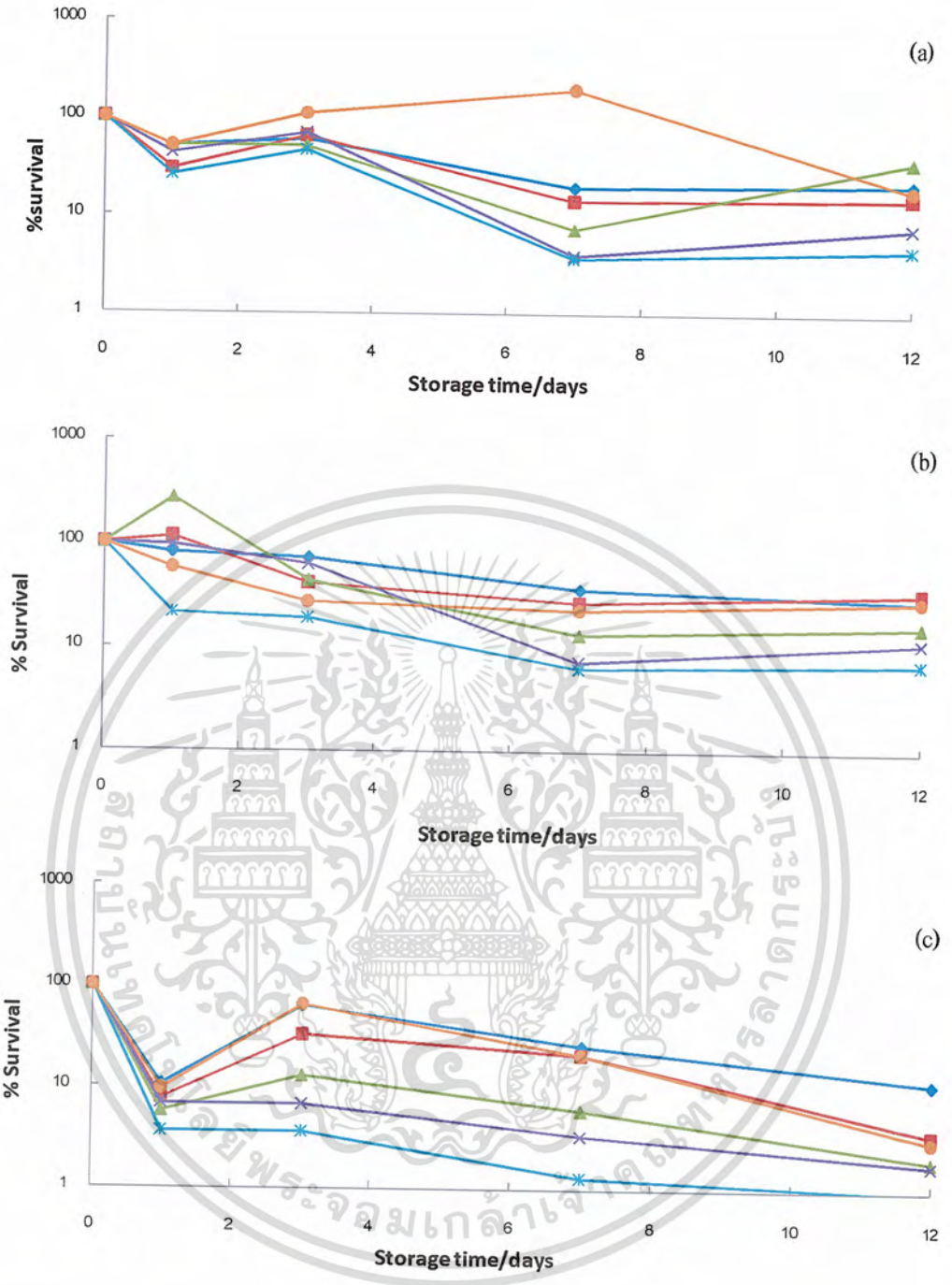
จำนวนวันที่ทำการสุ่มตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของจุลินทรีย์					
	ชุดควบคุม	0.25% PE	1.0% PE	1.5% PE	2.0% PE	BHT
0	100±0.00AC	100±0.00ABC	100±0.00BC	100±0.00BC	100±0.00C	100±0.00ABC
1	151.43±17.37AC	91.43±18.92ABC	30.07±11.42BC	12±6.21BC	32.21±13.33C	97.86±17.20ABC
3	145±111.04AC	75.71±33.08ABC	55.93±14.60BC	35.14±12.23BC	35.5±16.86C	114.60±22.73ABC
7	331.43±323.17AB	187.85±206.10ABC	103.6±83.92BC	68.36±70.02BC	54.78±53.01BC	267.14±331.81AB
12	328.5±270.64A	312.14±244.40ABC	251.43±196.20ABC	299.28±338.22ABC	136.43±191.47AC	333.57±249.54AB

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



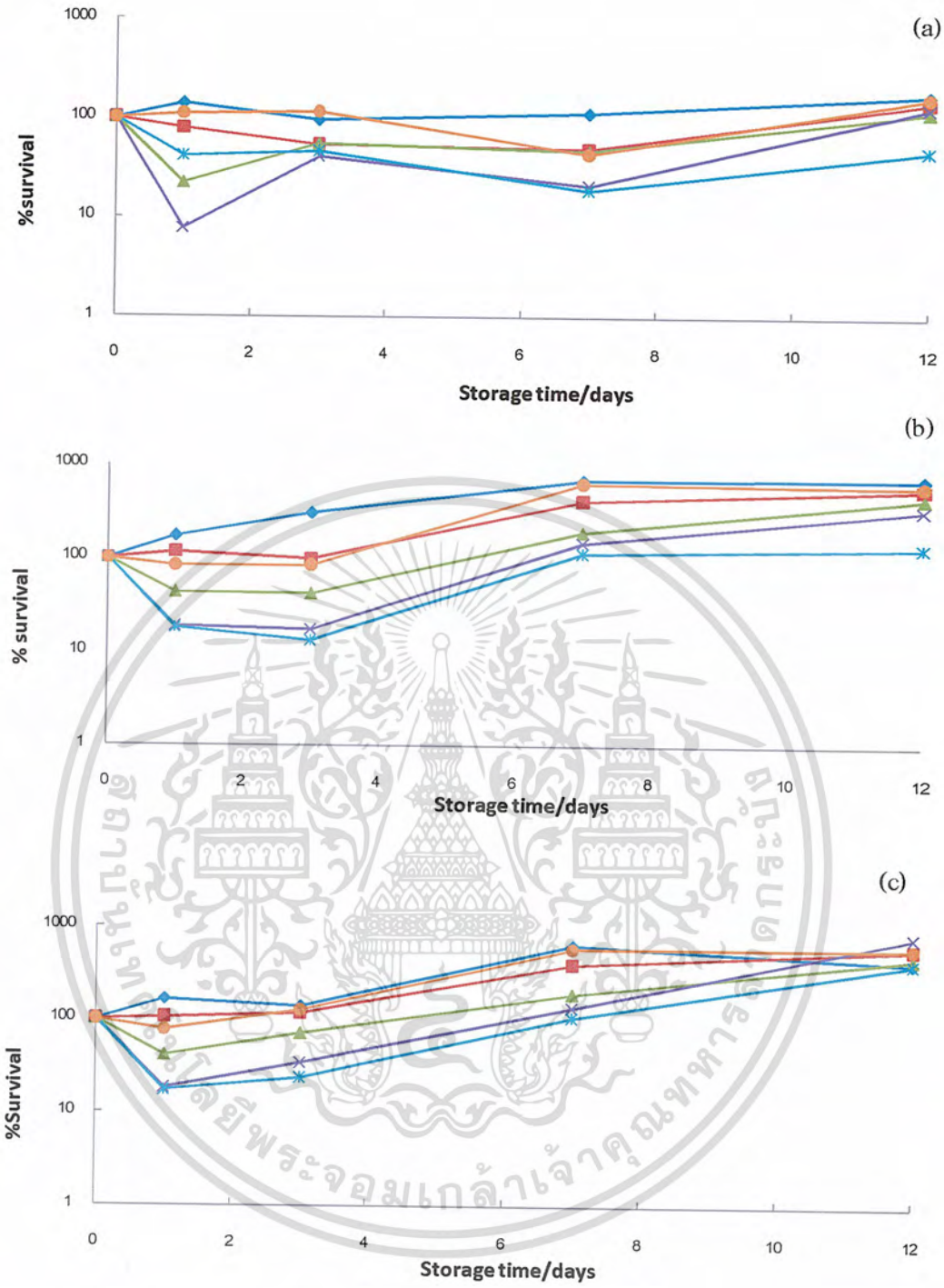
รูปที่ ง.1 อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมดซ้ำที่ 1 (รูป a) อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมดซ้ำที่ 2 (รูป b) และอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมดซ้ำที่ 3 (รูป c) : สัญลักษณ์ ◆ , control; ■ , 0.25%PE; ▲ , 1.0%PE; ✖ ,1.5%PE; ✹ , 2.0%PE และ ● , 0.02%BHT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



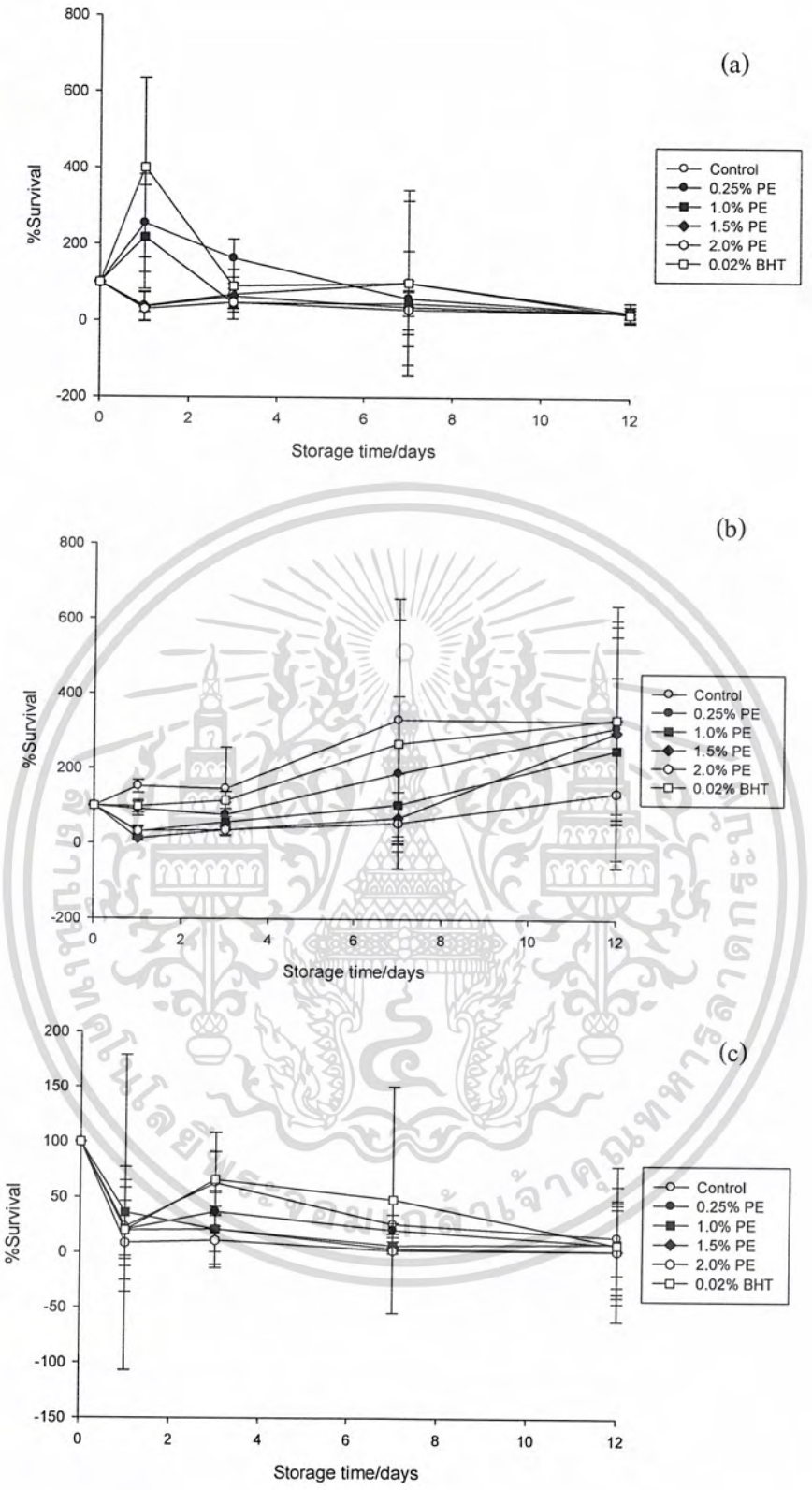
รูปที่ ง.2 อัตราการรอดชีวิตของ *Pseudomonas* ซ้ำที่ 1 (a) อัตราการรอดชีวิตของ *Pseudomonas* ซ้ำที่ 2 (b) และอัตราการรอดชีวิตของ *Pseudomonas* ซ้ำที่ 3 (c)) : สัญลักษณ์ ◆ , control; ■ , 0.25%PE; ✖ , 1.0%PE; ✱ ,1.5%PE; △ , 2.0%PE และ ● , 0.02%BHT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ง.3 อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรพซ้ำที่ 1(a) อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรพซ้ำที่ 2(b) และอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ไซโครโทรพซ้ำที่ 3(c) : สัญลักษณ์ ◆, control; ■ , 0.25%PE; ▲ , 1.0%PE; ✖ ,1.5%PE; ✹ , 2.0%PE และ ● , 0.02%BHT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

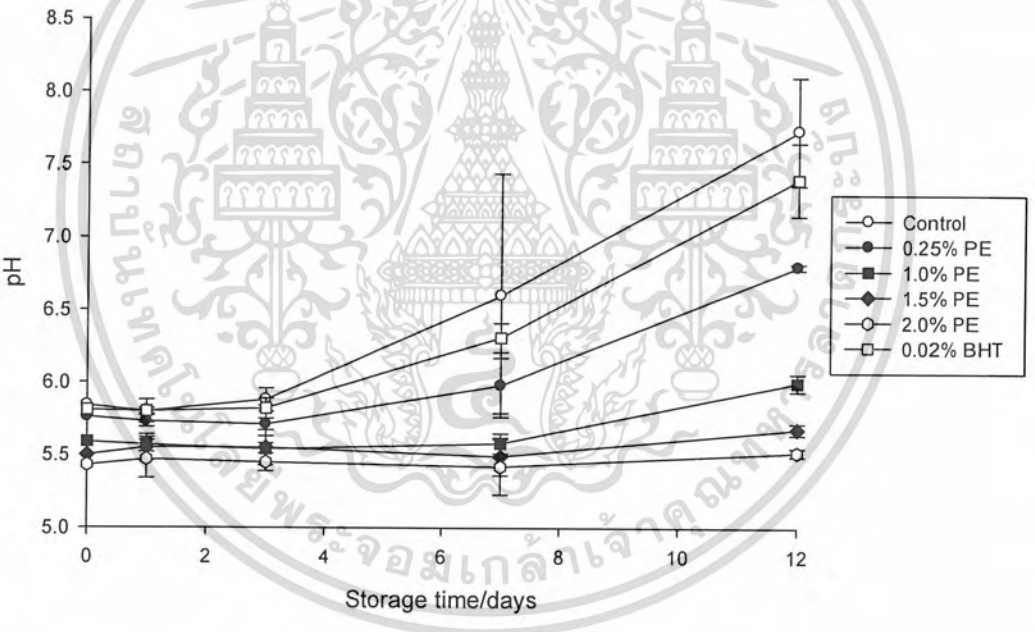


รูปที่ ง.4 อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งหมด (รูป a) อัตราการรอดชีวิตของซูโดโมแนส (รูป b) และอัตราการรอดชีวิตของไซโครโทรฟ (รูป c) ในเนื้อหมูบดในการเก็บรักษาที่ 0,1,3,7 และ 12 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.13 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในเนื้อหมูบดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (เฉลี่ย)

ทรีตเมนต์	ค่าพีเอช[a] ± SD				
	0 วัน	1 วัน	3 วัน	7 วัน	12 วัน
Control	5.84±0.08AC	5.80±0.08AC	5.88±0.08AC	6.60±0.84AB	7.73±0.37A
0.25% PE	5.76±0.09C	5.73±0.04C	5.71±0.13C	5.98±0.19BC	6.80±0.02AC
1.0% PE	5.59±0.08CD	5.57±0.05CD	5.54±0.09CD	5.58±0.07BD	6.00±0.06AD
1.5% PE	5.50±0.09CDE	5.55±0.09CDE	5.55±0.12CDE	5.49±0.13BDE	5.68±0.04ADE
2.0% PE	5.43±0.08CE	5.47±0.13CE	5.45±0.06CE	5.42±0.19BE	5.52±0.03AE
BHT	5.81±0.09BC	5.80±0.02BC	5.82±0.07BC	6.31±0.14B	7.40±0.25AB



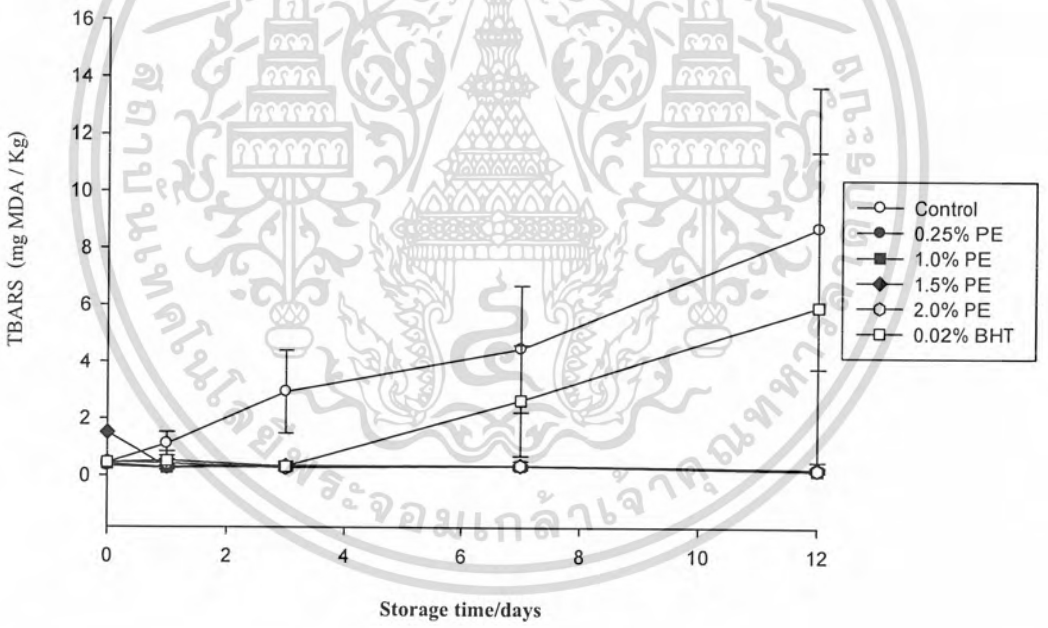
รูปที่ ง.5 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในเนื้อหมูบดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.14 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการต้านออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูบด ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (เฉลี่ย)

ทรีตเมนต์	ค่า TBARS (mg MDA/kg)[a] ± SD				
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 7	วันที่ 12
Control	0.44±0.16AC	1.11±0.42AC	2.94±1.45AC	4.46±2.23AC	8.73±4.94BC
0.25% PE	0.33±0.11A	0.26±0.07A	0.32±0.12A	0.34±0.08A	0.23±0.06AB
1.0% PE	0.41±0.15A	0.27±0.07A	0.29±0.11A	0.35±0.07A	0.20±0.06AB
1.5% PE	1.51±02.01A	0.30±0.03A	0.34±0.15A	0.36±0.15A	0.26±0.08AB
2.0% PE	0.48±0.26A	0.42±0.15A	0.26±0.11A	0.36±0.05A	0.22±0.04AB
BHT	0.46±0.20AB	0.52±0.33AB	0.32±0.11AB	2.65±1.95AB	5.96±5.45B

[a]ค่า TBARS = $OD_{538} \times 7.8$



รูปที่ ง.6 ผลของสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการต้านออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูบด ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.15 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน

ทรีตเมนต์	ซ้ำที่	ค่าพีเอช				
		0 วัน	1 วัน	3 วัน	7 วัน	12 วัน
Control	1	5.833	5.867	5.810	6.183	7.740
	2	5.937	5.840	5.983	7.563	8.100
	3	5.763	5.707	5.873	6.043	7.360
	เฉลี่ย	5.844	5.804	5.889	6.597	7.733
0.25%PE	1	5.770	5.777	5.857	5.760	6.820
	2	5.857	5.727	5.607	6.147	6.803
	3	5.673	5.697	5.677	6.027	6.770
	เฉลี่ย	5.767	5.733	5.713	5.978	6.798
1.0%PE	1	5.583	5.600	5.620	5.577	6.023
	2	5.680	5.607	5.437	5.660	6.027
	3	5.510	5.517	5.560	5.513	5.917
	เฉลี่ย	5.591	5.574	5.539	5.583	5.989
1.5%PE	1	5.547	5.587	5.687	5.520	5.690
	2	5.553	5.620	5.467	5.613	5.647
	3	5.393	5.447	5.487	5.350	5.727
	เฉลี่ย	5.498	5.551	5.547	5.494	5.688
2.0%PE	1	5.440	5.470	5.517	5.340	5.523
	2	5.507	5.603	5.403	5.640	5.550
	3	5.333	5.347	5.440	5.267	5.497
	เฉลี่ย	5.427	5.473	5.453	5.416	5.523
BHT	1	5.760	5.790	5.897	6.143	7.400
	2	5.920	5.833	5.777	6.410	7.643
	3	5.760	5.800	5.777	6.373	7.150
	เฉลี่ย	5.813	5.808	5.817	6.309	7.398

Control คือ ตัวอย่างหมูบดชุดควบคุมซึ่งไม่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.16 การเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 วัน

ทรีตเมนต์	ซ้ำที่	0 วัน		1 วัน		3 วัน		7 วัน		12 วัน	
		OD_{538}	TBARS[a] (mg MDA/kg)	OD_{538}	TBARS[a] (mg MDA/kg)	OD_{538}	TBARS[a] (mg MDA/kg)	OD_{538}	TBARS[a] (mg MDA/kg)	OD_{538}	TBARS[a] (mg MDA/kg)
Control	1	0.036	0.281	0.088	0.689	0.191	1.492	0.287	2.236	0.483	3.765
	2	0.078	0.606	0.196	1.531	0.562	4.381	0.858	6.690	1.749	13.642
	3	0.057	0.445	0.142	1.110	0.377	2.938	0.572	4.464	1.126	8.783
	เฉลี่ย	0.057	0.444	0.142	1.110	0.377	2.937	0.572	4.463	1.119	8.730
0.25%	1	0.028	0.221	0.025	0.195	0.025	0.195	0.033	0.255	0.020	0.159
	2	0.057	0.445	0.043	0.333	0.056	0.434	0.055	0.426	0.038	0.294
	3	0.043	0.333	0.034	0.265	0.040	0.315	0.044	0.341	0.031	0.239
	เฉลี่ย	0.043	0.333	0.034	0.264	0.040	0.315	0.044	0.341	0.030	0.231
1.0%	1	0.032	0.250	0.027	0.211	0.022	0.174	0.036	0.278	0.017	0.135
	2	0.071	0.551	0.044	0.341	0.051	0.400	0.054	0.421	0.034	0.265
	3	0.053	0.416	0.035	0.276	0.037	0.289	0.047	0.364	0.026	0.203
	เฉลี่ย	0.052	0.406	0.035	0.276	0.037	0.288	0.045	0.354	0.026	0.201
1.5%	1	0.033	0.260	0.035	0.270	0.025	0.192	0.027	0.208	0.023	0.177
	2	0.491	3.833	0.042	0.330	0.062	0.484	0.067	0.520	0.043	0.335
	3	0.057	0.447	0.039	0.304	0.044	0.341	0.047	0.364	0.033	0.257
	เฉลี่ย	0.194	1.513	0.039	0.302	0.043	0.339	0.045	0.354	0.033	0.257
2.0%	1	0.028	0.221	0.035	0.273	0.019	0.146	0.040	0.309	0.022	0.174
	2	0.095	0.741	0.073	0.569	0.047	0.369	0.052	0.403	0.033	0.257
	3	0.062	0.484	0.054	0.424	0.033	0.257	0.049	0.385	0.028	0.216
	เฉลี่ย	0.062	0.482	0.054	0.422	0.033	0.257	0.047	0.366	0.028	0.216
BHT	1	0.034	0.268	0.024	0.190	0.027	0.213	0.090	0.702	0.277	0.216
	2	0.084	0.658	0.109	0.853	0.055	0.426	0.590	4.602	1.417	11.050
	3	0.060	0.465	0.067	0.520	0.041	0.322	0.340	2.655	0.849	6.625
	เฉลี่ย	0.059	0.464	0.067	0.521	0.041	0.321	0.340	2.653	0.848	6.612

[a]ค่า TBARS = $OD_{538} \times 7.8$

ตารางที่ ง.17 การเปลี่ยนแปลงค่าสีในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 วัน

ทรีตเมนต์	ค่าสี*						ค่าสี*						ค่าสี*					
	ซ้ำที่	0 วัน	1 วัน	3 วัน	7 วัน	12 วัน	ซ้ำที่	0 วัน	1 วัน	3 วัน	7 วัน	12 วัน	ซ้ำที่	0 วัน	1 วัน	3 วัน	7 วัน	12 วัน
*L**-value																		
control	1	70.41	71.76	70.67	68.83	69.57	1	67.67	68.93	67.72	64.01	67.70	1	64.68	64.78	62.38	63.27	66.63
	2	67.29	68.45	71.33	69.52	70.04	2	66.14	63.12	66.38	65.84	67.52	2	60.95	62.69	66.48	62.07	59.79
	3	68.22	69.60	69.21	69.79	68.96	3	66.43	61.83	66.85	63.00	69.93	3	64.73	67.63	64.11	58.08	59.68
	เฉลี่ย	68.64	69.93	70.40	69.38	69.52	เฉลี่ย	66.74	64.62	66.98	64.28	68.38	เฉลี่ย	63.45	65.03	64.32	61.14	62.03
PE1	1	71.23	71.98	71.82	70.01	70.64	1	65.68	65.31	66.68	62.44	64.03	1	63.76	71.86	66.97	67.30	65.04
	2	69.68	71.26	68.32	71.17	68.93	2	63.65	63.03	66.04	60.44	62.30	2	66.56	67.70	67.15	65.25	65.92
	3	69.09	71.84	70.14	71.10	67.43	3	64.53	62.86	71.07	62.65	61.94	3	64.65	64.66	71.18	66.16	68.41
	เฉลี่ย	70.00	71.69	70.09	70.76	69.00	เฉลี่ย	64.62	63.73	67.93	61.84	62.75	เฉลี่ย	64.99	68.07	68.43	66.23	66.45
PE4	1	70.07	73.06	70.19	71.01	71.48	1	66.82	67.56	68.47	64.53	63.74	1	69.05	70.61	71.52	70.42	71.25
	2	68.42	72.70	70	72.21	71.98	2	66.95	67.64	69.05	68.59	62.39	2	67.99	69.78	69.84	71.57	67.48
	3	69.34	72.49	70.36	72.22	70.99	3	68.01	68.28	60.66	64.10	65.57	3	69.71	71.32	72.19	70.26	68.75
	เฉลี่ย	69.27	72.51	70.18	71.81	71.48	เฉลี่ย	67.26	67.82	66.06	65.74	63.90	เฉลี่ย	68.91	70.57	71.18	70.75	69.16
PE6	1	71.23	72.45	71.44	73.15	72.54	1	69.00	69.60	70.12	68.13	66.25	1	71.64	72.09	72.90	71.76	70.42
	2	70.84	72.37	71.48	72.12	71.69	2	69.97	70.28	70.22	68.69	68.40	2	70.83	70.07	71.60	71.58	71.13
	3	71.86	72.14	71.85	72.03	72.04	3	68.82	70.03	69.36	71.36	67.14	3	69.61	71.21	72.35	70.58	70.76
	เฉลี่ย	71.31	72.32	71.59	72.43	72.09	เฉลี่ย	69.26	69.97	69.90	69.39	67.26	เฉลี่ย	70.69	71.12	72.28	71.30	70.77
PE8	1	72.58	71.96	73.76	73.22	71.87	1	69.69	70.46	67.52	66.48	67.77	1	73.34	75.46	74.83	73.46	72.95
	2	71.98	74.20	71.82	73.07	72.37	2	68.36	77.13	68.39	65.77	69.57	2	74.64	75.25	75.83	73.41	72.63
	3	72.14	79.72	74.22	72.70	72.01	3	68.33	69.65	67.46	66.31	67.36	3	74.33	75.51	75.00	73.83	73.50
	เฉลี่ย	72.23	75.29	73.26	72.99	72.08	เฉลี่ย	68.79	72.41	67.79	66.18	68.23	เฉลี่ย	74.10	75.40	75.22	73.56	73.02
BHT	1	69.58	70.05	69.32	69.50	68.94	1	63.94	67.73	63.37	60.67	63.74	1	62.75	69.90	64.93	62.36	58.67
	2	69.43	71.10	70.22	69.44	67.43	2	63.71	61.10	68.76	60.84	66.03	2	68.53	66.07	64.95	62.88	55.43
	3	67.78	71.66	72.10	68.32	69.92	3	61.90	62.75	64.59	61.75	63.55	3	65.11	65.95	63.18	60.13	62.08
	เฉลี่ย	68.93	70.93	70.54	69.08	68.76	เฉลี่ย	63.18	63.86	65.57	61.08	64.44	เฉลี่ย	65.46	67.30	64.35	61.79	58.72

[1]* คือค่าเฉลี่ยผลการทดลอง 3 ซ้ำ, control คือตัวอย่างหมูบดชุดควบคุมซึ่งไม่เติมสารสกัดมะขามป้อม, 0.25%PE คือตัวอย่างหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 1.0%PE คือตัวอย่างหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 1.0, 1.5%PE คือตัวอย่างหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 1.5, 2.0%PE คือตัวอย่างหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 2.0, BHT คือตัวอย่างหมูบดที่เติมสาร BHT

ตารางที่ ง.18 การเปลี่ยนแปลงค่าสีในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 วัน

ทรีตเมนต์	ค่าสี*						ค่าสี*						ค่าสี*					
	ซ้ำที่	0 วัน	1 วัน	3 วัน	7 วัน	12 วัน	ซ้ำที่	0 วัน	1 วัน	3 วัน	7 วัน	12 วัน	ซ้ำที่	0 วัน	1 วัน	3 วัน	7 วัน	12 วัน
*a**-value																		
control	1	7.92	8.61	7.38	4.28	8.63	1	9.89	7.86	3.10	4.05	6.57	1	6.86	7.51	6.95	4.58	2.06
	2	9.67	8.75	7.21	4.13	6.82	2	10.46	8.76	2.56	4.10	8.36	2	7.78	7.61	5.16	5.18	4.15
	3	8.18	9.01	7.16	4.07	6.17	3	9.68	10.25	4.38	3.89	7.40	3	6.66	6.50	5.78	3.81	3.73
	เฉลี่ย	8.59	8.79	7.25	4.16	7.20	เฉลี่ย	10.01	8.95	3.34	4.01	7.44	เฉลี่ย	7.10	7.20	5.96	4.52	3.31
PE1	1	7.67	8.76	8.47	5.27	6.87	1	9.44	10.43	11.26	4.07	10.32	1	7.29	5.92	6.89	5.87	3.71
	2	9.64	9.03	9.06	5.85	6.25	2	9.84	10.99	9.00	4.40	10.92	2	6.98	7.42	6.58	7.41	3.99
	3	8.63	8.71	8.46	4.94	8.23	3	9.72	11.59	9.60	4.04	7.32	3	7.77	9.30	5.05	7.10	3.78
	เฉลี่ย	8.64	8.83	8.66	5.35	7.11	เฉลี่ย	9.66	11.00	9.95	4.17	9.52	เฉลี่ย	7.34	7.54	6.17	6.79	3.82
PE4	1	7.69	7.12	7.33	4.48	3.54	1	8.63	7.87	9.13	2.97	7.67	1	6.85	6.57	5.63	3.39	2.37
	2	7.97	6.84	7.15	4.03	3.35	2	8.93	8.01	7.47	3.39	5.44	2	7.28	6.58	5.33	3.28	3.36
	3	7.64	7.21	6.66	3.97	6.47	3	8.55	8.65	7.28	4.09	6.94	3	6.56	6.10	4.60	2.23	3.60
	เฉลี่ย	7.76	7.05	7.04	4.16	4.45	เฉลี่ย	8.70	8.17	7.96	3.48	6.68	เฉลี่ย	6.89	6.41	5.18	2.96	3.11
PE6	1	6.49	7.34	5.98	5.06	4.31	1	7.98	6.70	7.78	3.67	5.10	1	6.01	5.52	4.07	3.80	3.30
	2	7.11	7.11	6.18	4.24	3.89	2	7.53	6.81	7.03	3.81	6.11	2	6.06	5.40	4.35	3.42	2.62
	3	6.39	7.55	5.82	4.75	4.98	3	7.80	7.62	7.92	3.53	5.19	3	6.08	6.47	4.47	3.50	3.57
	เฉลี่ย	6.66	7.33	5.99	4.68	4.39	เฉลี่ย	7.77	7.04	7.57	3.67	5.46	เฉลี่ย	6.05	5.79	4.29	3.57	3.16
PE8	1	5.85	6.51	4.86	3.33	4.02	1	6.76	6.20	9.67	4.54	5.90	1	4.74	3.65	4.43	3.06	2.40
	2	6.45	5.80	5.17	3.71	4.57	2	7.94	5.99	7.60	6.37	8.34	2	3.56	3.66	3.13	3.03	2.60
	3	6.01	3.33	4.67	3.59	4.87	3	7.81	6.11	9.77	5.67	5.16	3	5.04	3.67	3.20	3.78	2.53
	เฉลี่ย	6.10	5.21	4.90	3.54	4.48	เฉลี่ย	7.50	6.10	9.01	5.52	6.46	เฉลี่ย	4.44	3.66	3.58	3.29	2.51
BHT	1	9.72	9.20	7.18	4.69	7.65	1	9.16	10.24	5.61	2.88	9.07	1	7.73	7.87	7.27	9.35	3.11
	2	9.81	8.18	7.70	5.73	8.09	2	10.27	11.02	4.77	5.11	6.00	2	4.84	7.55	6.86	4.46	3.39
	3	10.15	6.61	6.17	6.20	8.56	3	8.93	10.55	6.52	5.89	11.14	3	7.07	8.10	6.88	4.49	3.43
	เฉลี่ย	9.89	7.99	7.01	5.54	8.10	เฉลี่ย	9.45	10.60	5.63	4.62	8.73	เฉลี่ย	6.54	7.84	7.00	6.10	3.31

* คือค่าเฉลี่ยผลการทดลอง 3 ซ้ำ, control คือตัวอย่างหมูบดชุดควบคุมซึ่งไม่เติมสารสกัดมะขามป้อม, 0.25%PE คือตัวอย่างหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 1.0%PE คือตัวอย่างหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 1.0, 1.5%PE คือตัวอย่างหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 1.5, 2.0%PE คือตัวอย่างหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 2.0, BHT คือตัวอย่างหมูบดที่เติมสาร BHT

ตารางที่ ง.19 การเปลี่ยนแปลงค่าสีในเนื้อหมูบดที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน

ทรีตเมนต์	ค่าสี*						ค่าสี*						ค่าสี*					
	ซ้ำที่	0 วัน	1 วัน	3 วัน	7 วัน	12 วัน	ซ้ำที่	0 วัน	1 วัน	3 วัน	7 วัน	12 วัน	ซ้ำที่	0 วัน	1 วัน	3 วัน	7 วัน	12 วัน
*b**-value																		
control	1	7.05	7.34	6.19	7.13	7.34	1	6.91	8.25	6.22	10.69	13.04	1	7.64	8.50	8.05	6.05	11.07
	2	6.93	7.56	5.88	7.30	7.27	2	6.74	6.55	5.83	10.66	9.43	2	6.61	8.25	8.16	5.80	6.37
	3	6.71	6.99	7.73	7.24	6.89	3	6.67	7.24	6.55	11.46	11.88	3	7.64	8.99	8.29	7.04	6.54
	เฉลี่ย	6.89	7.29	6.60	7.22	7.16	เฉลี่ย	6.77	7.34	6.20	10.93	11.45	เฉลี่ย	7.29	8.58	8.16	6.29	8.00
PE1	1	7.89	9.16	7.85	7.41	7.41	1	8.08	6.80	7.59	8.24	8.84	1	9.20	10.06	10.80	10.65	11.88
	2	7.62	9.04	6.60	8.06	8.23	2	7.12	5.86	7.56	7.97	7.36	2	9.35	10.21	9.48	8.79	7.37
	3	7.57	9.33	6.67	10.16	7.45	3	7.65	6.60	7.28	8.71	10.61	3	9.07	9.74	10.35	7.52	8.78
	เฉลี่ย	7.69	9.17	7.04	8.54	7.69	เฉลี่ย	7.61	6.42	7.47	8.30	8.93	เฉลี่ย	9.20	10.00	10.21	8.98	9.34
PE4	1	9.58	9.54	8.31	10.20	8.78	1	8.64	9.24	8.61	8.96	12.47	1	10.97	10.93	12.01	11.21	10.21
	2	9.50	9.33	8.61	12.63	9.12	2	8.51	9.57	8.92	11.66	12.78	2	10.76	11.10	10.08	10.39	7.88
	3	7.76	9.88	8.79	11.81	9.55	3	8.04	8.55	9.26	8.57	12.59	3	10.95	11.07	11.17	8.86	8.38
	เฉลี่ย	8.94	9.58	8.57	11.54	9.15	เฉลี่ย	8.39	9.12	8.93	9.73	12.61	เฉลี่ย	10.89	11.03	11.08	10.15	8.82
PE6	1	8.60	10.41	9.49	9.11	8.49	1	9.32	9.22	7.88	9.05	13.30	1	12.50	12.38	10.95	11.89	10.02
	2	8.86	9.81	10.08	9.35	9.76	2	8.42	9.68	8.67	9.25	12.38	2	10.57	11.84	11.72	11.92	9.66
	3	9.09	10.14	9.42	9.10	7.61	3	9.39	9.71	8.35	9.65	11.98	3	11.79	10.47	12.67	11.67	10.88
	เฉลี่ย	8.85	10.12	9.66	9.18	8.62	เฉลี่ย	9.04	9.53	8.30	9.31	12.55	เฉลี่ย	11.62	11.56	11.78	11.82	10.18
PE8	1	10.18	10.38	10.21	10.00	10.49	1	9.69	9.73	8.67	8.20	12.22	1	13.09	12.40	14.61	11.97	11.91
	2	9.62	10.32	9.72	9.40	10.36	2	9.08	10.68	8.90	8.65	8.46	2	11.17	12.91	13.27	13.07	10.62
	3	9.96	7.81	9.71	9.50	9.01	3	9.13	10.02	8.37	8.72	12.14	3	13.52	12.90	12.86	13.34	10.93
	เฉลี่ย	9.92	9.50	9.88	9.63	9.95	เฉลี่ย	9.30	10.20	8.64	8.52	10.94	เฉลี่ย	12.59	12.73	13.58	12.79	11.15
BHT	1	6.99	8.37	5.74	4.69	6.83	1	5.78	5.89	5.40	7.19	8.48	1	7.43	8.58	8.48	7.53	6.77
	2	6.44	7.41	6.52	5.75	6.53	2	6.67	6.72	5.61	7.62	11.04	2	5.47	8.33	8.89	7.96	3.06
	3	8.57	8.53	6.71	5.88	7.42	3	5.83	7.07	5.23	6.85	7.18	3	8.03	9.52	7.40	6.74	6.21
	เฉลี่ย	7.33	8.10	6.32	5.44	6.92	เฉลี่ย	6.09	6.56	5.41	7.22	8.90	เฉลี่ย	6.97	8.81	8.25	7.41	5.34

*คือค่าเฉลี่ยผลการทดลอง 3 ซ้ำ, control คือตัวอย่างหมูบดชุดควบคุมซึ่งไม่เติมสารสกัดมะขามป้อม, 0.25%PE คือตัวอย่างหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 1.0%PE คือตัวอย่างหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 1.0, 1.5%PE คือตัวอย่างหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 1.5, 2.0%PE คือตัวอย่างหมูบดที่เติมสารสกัดมะขามป้อมความเข้มข้นร้อยละ 2.0, BHT คือตัวอย่างหมูบดที่เติมสาร BHT

ตารางที่ ง.20 คุณภาพทางเคมีของเนื้อหมูบดปรุงรสซ้ำที่ 1

สมบัติทางเคมี ± SD	ชนิดของผลิตภัณฑ์	
	หมูบดปรุงรสที่ไม่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม	หมูบดปรุงรสที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0
ปริมาณโปรตีน(%)	16.47	13.35
ปริมาณไขมัน(%)	126.67	99.54
ปริมาณความชื้น(%)	48.81	57.46
ค่า a_w (25°C)	0.960	0.974
ค่า pH	5.72	5.57

ตารางที่ ง.21 คุณภาพทางเคมีของเนื้อหมูบดปรุงรสซ้ำที่ 2

สมบัติทางเคมี ± SD	ชนิดของผลิตภัณฑ์	
	หมูบดปรุงรสที่ไม่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม	หมูบดปรุงรสที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0
ปริมาณโปรตีน(%)	11.10	8.54
ปริมาณไขมัน(%)	102.74	102.75
ปริมาณความชื้น(%)	58.06	58.72
ค่า a_w (25°C)	0.981	0.971
ค่า pH	5.67	5.60

ตารางที่ ง.22 คุณภาพทางเคมีของเนื้อหมูบดปรุงรสซ้ำที่ 3

สมบัติทางเคมี ± SD	ชนิดของผลิตภัณฑ์	
	หมูบดปรุงรสที่ไม่เติมสารสกัดจากมะขามป้อม	หมูบดปรุงรสที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0
ปริมาณโปรตีน(%)	12.30	9.56
ปริมาณไขมัน(%)	102.79	104.84
ปริมาณความชื้น(%)	53.17	56.42
ค่า a_w (25°C)	0.991	0.973
ค่า pH	5.63	5.57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

แบบทดสอบความแตกต่างทางประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบรายงานการทดสอบ

วิธีการเปรียบเทียบตัวอย่างคู่กับตัวอย่างมาตรฐาน

ชื่อผู้ตัดสิน..... วันที่.....

ผลิตภัณฑ์เนื้อหมูบดปรุงรส

คำแนะนำ - ในถาดที่เสนอให้ท่านมีตัวอย่างมาตรฐาน R และตัวอย่างในรหัสอีก 2 ตัวอย่าง ซึ่งมีตัวอย่างหนึ่งที่แตกต่างจากตัวอย่าง R

- กรุณาชิมตัวอย่างตามลำดับที่เสนอและเขียนวงกลมตัวอย่างที่เหมือนกับตัวอย่าง R บ้วนปากระหว่างชิมแต่ละตัวอย่าง

R ....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.23 ตาราง paired – difference และ duo – trio ซึ่งบ่งบอกจำนวนของผู้ตัดสินที่ตอบถูกน้อยที่สุดที่ทำให้ยอมรับว่าตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

No. of trials (n)	Probability levels						
	0.05	0.04	0.03	0.02	0.01	0.005	0.001
7	7	7	7	7	7		
8	7	7	8	8	8	8	
9	8	8	8	8	9	9	
10	9	9	9	9	10	10	10
11	9	9	10	10	10	11	11
12	10	10	10	10	11	11	12
13	10	11	11	11	12	12	13
14	11	11	11	12	12	13	13
15	12	12	12	12	13	13	14
16	12	12	13	13	14	14	15
17	13	13	13	14	14	15	16
18	13	14	14	14	15	15	16
19	14	14	15	15	15	16	17
20	15	15	15	16	16	17	18
21	15	15	16	16	17	17	18
22	16	16	16	17	17	18	19
23	16	17	17	17	18	19	20
24	17	17	18	18	19	19	20
25	18	18	18	19	19	20	21
26	18	18	19	19	20	20	22
27	19	19	19	20	20	21	22
28	19	20	20	20	21	22	23
29	20	20	21	21	22	22	24
30	20	21	21	22	22	23	24
31	21	21	22	22	23	24	25
32	22	22	22	23	24	24	26
33	22	23	23	23	24	25	26
34	23	23	23	24	25	25	27
35	23	24	24	25	25	26	27
36	24	24	25	25	26	27	28
37	24	25	25	26	26	27	29
38	25	25	26	26	27	28	29
39	26	26	26	27	28	28	30
40	26	27	27	27	28	29	30
41	27	27	27	28	29	30	31
42	27	28	28	29	29	30	32
43	28	28	29	29	30	31	32
44	28	29	29	30	31	31	33
45	29	29	30	30	31	32	34
46	30	30	30	31	32	33	34
47	30	30	31	31	32	33	35
48	31	31	31	32	33	34	36
49	31	32	32	33	34	34	36
50	32	32	33	33	34	35	37
60	37	38	38	39	40	41	43
70	43	43	44	45	46	47	49
80	48	49	49	50	51	52	55
90	54	54	55	56	57	58	61
100	59	60	60	61	63	64	66

ที่มา : Roessler และคณะ (1978)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้