

การประยุกต์ใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *Bacillus subtilis* LB23 และ
Bacillus velezensis LB24 ที่มีสมบัติต้านจุลินทรีย์และต้านออกซิเดชันใน
ผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด

APPLICATION OF EXOPOLYSACCHARIDES PRODUCED FROM
BACILLUS SUBTILIS LB23 AND *BACILLUS VELEZENSIS* LB24 WITH
ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES IN SOUS - VIDE
RESTRUCTURED BEEF

กมลชนก พิกุลทอง

Kamonchanok Pikulthong

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2564

KMITL - 2021-AG-M-031-339

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**APPLICATION OF EXOPOLYSACCHARIDES PRODUCED FROM
BACILLUS SUBTILIS LB23 AND *BACILLUS VELEZENSIS* LB24 WITH
ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES IN SOUS - VIDE
RESTRUCTURED BEEF**



KAMONCHANOK PIKULTHONG

**A THESIS SUBMITTED IN PARTILFULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN ANIMAL SCINCE
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

2021

KMITL-2021-AG-M-031-339

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2021

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRAB

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การประยุกต์ใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก <i>Bacillus subtilis</i> LB23 และ <i>Bacillus velezensis</i> LB24 ที่มีสมบัติด้านจุลินทรีย์และด้านออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้งรูปซู-วิด
นักศึกษา	นางสาวกมลชนก พิกุลทอง
รหัสประจำตัว	61604032
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สัตวศาสตร์
พ.ศ.	2564
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.สุสดี ตั้งวัชรินทร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รศ.ดร.ศุภลักษณ์ สรภักดี

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ศึกษาสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์และด้านการเกิดออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ (Exopolysaccharide; EPS) ที่ผลิตจาก *Bacillus* 2 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* LB23 และ *B. velezensis* LB24 ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 3 ระดับ คือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, 0.25 และ 0.31 ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคและแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้งรูปซู-วิด โดยหลังจากการซู-วิดแล้วทำการเติมสารละลายเชื้อ *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* และแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกในตัวอย่างให้เชื้อเริ่มต้นมีความเข้มข้น 10^3 cfu/g พบว่าตัวอย่างเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเหล่านี้ได้มากที่สุด โดยมีปริมาณแบคทีเรียลดลงมากที่สุด อัตราการเจริญของแบคทีเรียสูงสุดมีค่าน้อยที่สุด และระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์มีค่ามากที่สุด ($P < 0.05$) และศึกษาการต้านการเกิดออกซิเดชันของสารสกัดจากเนื้อโคที่เติม EPS ทั้ง 2 ชนิด พบว่า การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) และการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical scavenging) กลุ่มตัวอย่างที่เติม EPS LB23 มีความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันในสารสกัดจากเนื้อโคได้ดีกว่ากลุ่มที่

เติม EPS LB24 ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ และสมบัติทางเคมีและกายภาพของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ที่ผลิตจาก *Bacillus subtilis* LB23 ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 3 ระดับ คือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, 0.25 และ 0.31 ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้งรูปซู-วีด ที่ทำการเก็บรักษาระยะเวลา 12 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสพบว่ากลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31 มีปริมาณของแบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic bacteria) และแบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิสูง (Thermophilic bacteria) ต่ำที่สุด ($P < 0.05$)

ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ และสมบัติทางเคมีและกายภาพของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ที่ผลิตจาก *Bacillus subtilis* LB23 ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้งรูปซู-วีด ที่ทำการเก็บรักษาระยะเวลาเป็นเวลา 49 วัน ที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียสพบว่ากลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31 สามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง และแบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิสูง แบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ แบคทีเรียไม่ใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง สปอร์ของแบคทีเรียใช้อากาศ สปอร์ของแบคทีเรียไม่ใช้อากาศ แบคทีเรียกรดแลคติก ยีสต์ และรา ($P < 0.05$) โดยเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลางในผลิตภัณฑ์พบว่า กลุ่มตัวอย่างที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 สามารถยืดอายุในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้มากกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) โดยเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลางในผลิตภัณฑ์ ที่อุณหภูมิเก็บรักษา 12 องศาเซลเซียส พบว่าผลิตภัณฑ์กลุ่มควบคุมเริ่มเสื่อมเสียที่ระยะเวลา 35 แต่ผลิตภัณฑ์กลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 เสียที่ระยะเวลา 49 วัน ส่วนผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส การเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 เริ่มเสื่อมเสียที่ระยะเวลา 49 วัน นอกจากนี้ยังช่วยลดค่าการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์ ค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างการให้ความร้อนโดยการซู-วีด และค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างการย่าง ในผลิตภัณฑ์ได้สูงสุด และพบว่ากลุ่มที่เติม EPS มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าสี (CIE; L^* , a^* และ b^*) ค่าความสดใส (Chroma) และค่าองศาของสี (Hue angle), ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม และค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อ ใกล้เคียงกันกับกลุ่มควบคุม การวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า EPS ที่ผลิตจาก *Bacillus subtilis* LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีศักยภาพในการต้านจุลินทรีย์และด้านการเกิดออกซิเดชัน สามารถประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ และสามารถยืดอายุในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้งรูปซู-วีด ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Thesis Application of Exopolysaccharide Produced from *Bacillus subtilis* LB23 and *Bacillus velezensis* LB24 with Antimicrobial and Antioxidant Properties in Sous-Vide Restructured Beef

Student Ms. Kamonchanok Pikulthong

Student ID 61604032

Degree Master of Science

Program Animal Science

Year 2021

Thesis Advisor Assoc. Prof. Dr. Pussadee Tangwacharin

Thesis Co-advisor Assoc. Prof. Dr. Supaluk Sorapukdee

ABSTRACT

The aim of this research was to study anti-pathogenic bacterial and anti-lactic acid bacterial activity of exopolysaccharide (EPS) produced from *Bacillus subtilis* LB23 and *Bacillus velezensis* LB24 at concentrations 0.18%, 0.25% and 0.31% in sous-vide restructured beef. Antimicrobial properties were studied, samples were inoculated with *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and lactic acid bacteria at 10^3 cfu/g initial concentration. Antioxidation study of EPS in beef extracts showed that DPPH and Superoxide radical scavenging with EPS LB23 had better antioxidation ability in beef extract than those added to EPS LB24 ($P < 0.05$). The results showed that the growth of these bacteria were inhibited by 0.31% LB23-EPS sample. The reduced these bacterial counts, the maximum specific growth rate, and the generation time of these bacterial were the highest, lowest, and highest, respectively, in 0.31% LB23-EPS sample ($P < 0.05$). Antimicrobial activity was studied, and the chemical and physical properties of exopolysaccharide produced from *Bacillus subtilis* LB23 at three different concentrations at 0.18%,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ III อ่างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.25 and 0.31% in sous - vide restructured beef. The short-term storage for 12 days at 4 °C showed that EPS LB23 group at concentration 0.31% contained the quantity of Mesophilic aerobic bacteria and Thermophilic aerobic bacteria lowest ($P < 0.05$)

Study of antimicrobial activity and the chemical and physical properties of exopolysaccharide produced from *Bacillus subtilis* LB23 sous - vide restructured beef at 4 and 12 °C, the storage of EPS LB23 was found to slow down Psychrophilic aerobic bacteria, Mesophilic aerobic bacteria, Thermophilic aerobic bacteria, Lactic acid bacteria, Mesophilic anaerobic bacteria, Anaerobic bacterial spore, Aerobic bacterial spore, and yeast mold ($P < 0.05$). Compared to the Mesophilic aerobic bacteria in the product, it was found that 0.31% LB23-EPS sample were able to extend the shelf life of the product more than the control group ($P < 0.05$). At the storage temperature of 12 °C, the control group will expire at 35 day, but LB23-EPS group will expire at 49 day. The products were stored at 4 °C, deterioration of the control group and 0.31% LB23-EPS group from a derogatory term for 49 day. Decrease the value of Thiobarbituric acid method, Sous - vide loss, Purge loss and Grilling loss. In the products. It was found that the EPS group had pH, color (CIE; L *, a * and b *), chroma and Hue angle, Texture profile analysis and Shear force through like to the control group. This research shows that EPS produced from *Bacillus subtilis* LB23 has antimicrobial and anti-oxidation potential. Able to apply and extend shelf life of ready-to-cook restructured beef products.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ประสบความสำเร็จได้ด้วยดีโดยได้รับความกรุณาจากท่าน รศ.ดร.ศุสดี ตั้งวัชรินทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.ศุภลักษณ์ สรภักดี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ร่วมที่ท่านได้กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัยอย่างยิ่ง จึงก่อให้เกิดความสำเร็จตามเป้าหมายได้เป็นอย่างดี และ ผศ.ดร. ปุณณานิ สัมภาวะผล ผู้ให้ความอนุเคราะห์สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์จากท่านและขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณ ผศ.ดร. ศิริพร เรียบร้อย คิม ผศ.ดร. อัจฉรา เลขานุกุล และ รศ.ดร. รณชัย สิทธิไกรพงษ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและข้อชี้แนะจนสามารถทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้

นอกจากนี้ข้าพเจ้าขอขอบคุณ คุณณทัฬห วิจิตโรทัย คุณจรรยา คงฤทธิ คุณสุภาพรรณ ศฤงฆาร และ คุณจันทร์เพ็ญ เอื้อสกุลรุ่งเรือง นักวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยให้คำชี้แนะ ความช่วยเหลือต่างๆ และถ่ายทอดความรู้ในการใช้เครื่องมือ รวมทั้งวิธีวิเคราะห์คุณภาพทางด้านต่างๆ แก่ข้าพเจ้า

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ บิศา มารดา และครอบครัวของข้าพเจ้า ที่คอยเป็นกำลังใจให้คำปรึกษาและรวมถึงการสนับสนุนทางด้านต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อน และบุคคลต่างๆ ในคณะเทคโนโลยีการเกษตรที่คอยช่วยเหลือ และคอยเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าเสมอมา

สุดท้ายนี้คุณงานความดีที่เกิดจากการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับ บิศา มารดา ครูอาจารย์ ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่าน และประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบให้แก่ผู้ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไปในอนาคต

กมลชนก พิกุลทอง

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	X
สารบัญภาพ.....	XII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	3
1.3 สมมุติฐานของการศึกษา.....	3
1.4 ขอบเขตของการศึกษา.....	3
1.5 ขั้นตอนของการศึกษา.....	4
1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น.....	4
1.7 ข้อจำกัดในการศึกษา.....	4
1.8 คำจำกัดความ.....	4
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 เนื้อ โค.....	5
2.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อ โค.....	5
2.1.2 ลักษณะทางกายภาพของเนื้อ โค.....	6
2.2 เนื้อขึ้นรูปใหม่.....	8
2.2.1 ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์พร้อมปรุง.....	10
2.2.2 เทคนิค Sous vide.....	11
2.3 การเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เนื้อ โคขึ้นรูปชุวีด.....	12
2.3.1 การเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์.....	12
2.3.2 มาตรฐานผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์พร้อมปรุง.....	15
2.3.3 กระบวนการยับยั้งจุลินทรีย์.....	15
2.4 การเสื่อมเสียเนื่องจากการออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์เนื้อ โคขึ้นรูปชุวีด.....	19
2.4.1 การเสื่อมเสียเนื่องจากการออกซิเดชัน.....	19
2.4.2 กลไกการเกิดออกซิเดชันของไขมัน.....	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ VI อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
2.4.3 สารด้านการเกิดออกซิเดชันของไขมัน	20
2.4.4 วิเคราะห์การด้านการเกิดออกซิเดชันของไขมัน	23
2.5 เอกโซโพลิแซคคาไรด์	26
2.5.1 กระบวนการผลิตและสังเคราะห์ Exopolysaccharide	27
2.5.2 การประยุกต์ใช้ Exopolysaccharide ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์	31
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	34
3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี	34
3.2 วัสดุ-อุปกรณ์ และเครื่องมือ.....	36
3.3 ขอบเขตการทดลอง.....	37
3.4 การทดลองที่ 1 ศึกษากิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชัน ของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก <i>B. subtilis</i> LB23 และ <i>B. velezensis</i> LB24 ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซิวัด.....	41
3.4.1 ผลิตและสกัดเอกโซโพลิแซคคาไรด์	41
3.4.2 ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ใน ผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซิวัด	42
3.4.3 ศึกษาคุณสมบัติการด้านการเกิดออกซิเดชันของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ จากสารสกัดน้ำจากเนื้อโค	45
3.4.4 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	46
3.5 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของกิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์ ของเอกโซโพลิ แซคคาไรด์ที่ได้รับการคัดเลือก ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซิวัดในระหว่างการ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	47
3.5.1 ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ ในผลิตภัณฑ์เนื้อ โคชิ้นรูปซิวัด	47
3.5.2 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพ	49
3.5.3 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	50

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
3.6 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นที่ได้รับคัดเลือก ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชูวิด ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส.....	51
3.6.1 ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชูวิด.....	51
3.6.2 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพ.....	53
3.6.3 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	54
บทที่ 4 ผลการดำเนินการวิจัย.....	55
4.1 การทดลองที่ 1 ศึกษากิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก <i>B. subtilis</i> LB23 และ <i>B. velezensis</i> LB24 ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชูวิด.....	55
4.1.1 ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชูวิด.....	55
4.1.2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านการเกิดออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์จากสารสกัดน้ำจากเนื้อโค.....	62
4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของกิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์ ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ได้รับการคัดเลือก ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชูวิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	65
4.2.1 ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชูวิด.....	65
4.2.2 คุณภาพทางเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชูวิดที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจาก <i>Bacillus subtilis</i> LB23.....	68
4.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นที่ได้รับคัดเลือก ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชูวิด ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส.....	77
4.3.1 ผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่มีสมบัติต้านจุลินทรีย์ต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชูวิด.....	77
4.3.2 คุณภาพทางเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชูวิดที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจาก <i>Bacillus subtilis</i> LB23.....	85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ VIII อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	96
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	96
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	97
บรรณานุกรม.....	98
ภาคผนวก.....	109
ภาคผนวก ก.....	110
ภาคผนวก ข.....	112
ประวัติผู้วิจัย.....	117



สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อสัตว์	6
2.2	แสดงอายุการเก็บรักษา และปริมาณเชื้อ Lactic acid bacteria และ <i>Pseudomonas</i> spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อสุวีด	15
2.3	จุลินทรีย์ที่ผลิต Exopolysaccharide ที่เป็นที่ยอมรับทางการแพทย์	29
2.4	ความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันของ EPS	31
3.1	อัตราส่วนของส่วนผสมในการผลิตเนื้อโคจิ้นรูปสุวีด.....	42
3.2	อัตราส่วนของสารสกัดน้ำจากเนื้อโค.....	45
3.3	อัตราส่วนของส่วนผสมในการผลิตเนื้อโคจิ้นรูปสุวีด.....	47
3.4	อัตราส่วนของส่วนผสมในการผลิตเนื้อโคจิ้นรูปสุวีด.....	51
4.1	ระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงอายุของผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้นรูปสุวีด (ชั่วโมง) ที่ผ่านการเติม สารละลายเชื้อก่อโรคและแบคทีเรียกรดแลคติก.....	61
4.2	การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้นรูปสุวีด.....	67
4.3	คุณภาพทางเคมี – กายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้นรูปสุวีดตลอดระยะเวลาในการ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	71
4.4	คุณภาพทางเคมี – กายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้นรูปสุวีดตลอดระยะเวลาใน การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากผ่านการย่าง.....	72
4.5	ปริมาณจุลินทรีย์ที่เจริญในผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้นรูปสุวีดในระหว่างเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส.....	80
4.6	คุณภาพทางเคมี – กายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้นรูปสุวีดตลอดระยะเวลาใน การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส.....	90
4.7	คุณภาพทางเคมี – กายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้นรูปสุวีดตลอดระยะเวลาใน การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส หลังจากการย่าง.....	91

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ X อ่างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ปฏิกิริยาของ transglutaminase การถ่ายโอน Acyl และการเชื่อมขวางของ Gln และ Lys ที่ตกค้างในโปรตีนหรือเปปไทด์ Deamidation	8
2.2	ปริมาณของจุลินทรีย์ต่อระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อโคชิ้นรูปซุกวีด ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C และ 25 °C	14
2.3	ขั้นตอนการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย	16
2.4	สารต้านจุลินทรีย์มีผลยับยั้งการสังเคราะห์ไรโบโซมโปรตีน	17
2.5	กลไกการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์	18
2.6	ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน	20
2.7	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของอนุมูล DPPH กับสารต้านอนุมูลอิสระ (AH)	23
2.8	ค่า TBARS ของอุณหภูมิที่แตกต่างกันในการซุกวีด ที่ส่งผลต่อการออกซิเดชันในเนื้อแกะซุกวีด	25
2.9	ผลค่า TBARS (mg MDA / กิโลกรัม) ของแพตตี้เนื้อโคปรุงสุกระหว่างการเก็บรักษา	25
2.10	Pathway anabolism ของกลูโคสในแบคทีเรียแกรมลบ	27
2.11	ระบบ Catabolic ในการสังเคราะห์น้ำตาลนิวคลีโอไทด์	28
2.12	การต้านจุลินทรีย์ของ EPS ที่ความเข้มข้น 50 มก./มล.	30
2.13	ผลของปฏิกิริยา thiobarbituric-acid ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเนื้อโค เก็บรักษา 0-12 วัน ที่อุณหภูมิ 4 °C	32
2.14	การเจริญของ <i>Latilactobacillus sakei</i> CRL1407 ในผลิตภัณฑ์เนื้อแผ่นในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ	33
4.1	การเจริญเติบโตของ <i>Salmonella</i> spp. (log cfu /กรัม.) ต่อระยะเวลาในการเก็บรักษา 12 วันและการเจริญของแบคทีเรียลดลงหลังสัมผัส EPS.....	56
4.2	การเจริญเติบโตของ <i>S. aureus</i> (log cfu /กรัม.) ต่อระยะเวลาในการเก็บรักษา 12 วันและการเจริญของแบคทีเรียลดลงหลังสัมผัส EPS.....	58
4.3	การเจริญเติบโตของ <i>L. monocytogenes</i> (log cfu /กรัม.) ต่อระยะเวลาในการเก็บรักษา 12 วันและการเจริญของแบคทีเรียลดลงหลังสัมผัส EPS.....	59
4.4	การเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลกติก (log cfu /กรัม.) ต่อระยะเวลาในการเก็บรักษา 12 วันและการเจริญของแบคทีเรียลดลงหลังสัมผัส EPS.....	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ XI อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
4.5	การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) ในสารสกัดจากเนื้อ โคลิ.....	63
4.6	การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical scavenging) ในสารสกัดจากเนื้อ โคลิ.....	64
4.7	ค่าการสูญเสียไน้ระหว่างการชุกวีด (Sous-vide loss, %) ของผลิตภัณฑ์เนื้อ โคลิขึ้นรูปชุกวีด.....	69
4.8	ปริมาณแบคทีเรียใช้อากาศในการเจริญที่อุณหภูมิปานกลางในผลิตภัณฑ์เนื้อ โคลิขึ้นรูปชุกวีดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส.....	78
4.9	ค่าการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันของผลิตภัณฑ์เนื้อ โคลิขึ้นรูปชุกวีดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส.....	86
4.10	ค่าการสูญเสียไน้ระหว่างการชุกวีด (Sous-vide loss, %) ของผลิตภัณฑ์เนื้อ โคลิขึ้นรูปชุกวีด.....	88

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

จากการคาดการณ์ของสำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร การผลิตเนื้อโคของประเทศต่างๆ มีอัตราการการผลิตมีอัตราเพิ่มขึ้นโดยในปี 2563 มีค่าการประมาณการผลิตเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 2.06 ตามความต้องการของตลาดภายในประเทศที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2563) มีการนำความรู้ทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเข้ามาใช้ในกระบวนการผลิตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของผลผลิต และลดต้นทุนในการผลิตเนื้อโค ทำให้ผู้ผลิตต้องพัฒนากลยุทธ์ เช่นการใช้ประโยชน์จากชิ้นส่วนที่มีมูลค่าต่ำ หรือเศษเนื้อจากการชำแหละ มาทำให้มีมูลค่าสูงขึ้น (Sorapukdee and Tangwatcharin, 2018) อย่างเช่น การทำเนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด คือการนำเนื้อชิ้นเล็ก ๆ ประกอบเข้าด้วยกันโดยใช้โปรตีนจากธรรมชาติผสานให้ติดกันเป็นเนื้อก้อนใหม่ การขึ้นรูปใหม่ นอกจากจะเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับเศษเนื้อให้มีราคาสูงขึ้นแล้ว ยังนับว่าเป็นอีกหนึ่งวิธีการที่ช่วยปรับปรุงความนุ่มของเนื้อสัตว์อีกด้วย (Gadekar *et al.* 2015) การให้ความร้อนโดยการซู-วิดในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการคงตัวด้วยความร้อน ทำให้คอลลาเจนเกิดการละลายตัว และยังสามารถช่วยลดปัญหาเรื่องความไม่สม่ำเสมอของสีเนื้อ และความนุ่มเนื้อจากลักษณะเส้นใยกล้ามเนื้อที่แตกต่างกัน ได้อีกด้วย (Baldwin, 2012) นอกจากนั้นการใช้ความร้อนในการซู-วิดที่อุณหภูมิต่ำ 50-60°C เป็นระยะเวลานาน (low-temperature long-time cooking) ช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความนุ่มและลักษณะที่ดีมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความร้อนสูง (Hernandez *et al.* 2018) นอกจากนั้นผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด ยังสามารถตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบัน เรื่องความสะดวกสบายในการเตรียมอาหาร เนื่องจากมีการให้ความร้อนเบื้องต้นทำให้ลดระยะเวลาในการเตรียมวัตถุดิบปรุงอาหาร แต่ถึงแม้ว่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจะผ่านการให้ความร้อนเบื้องต้น ก็ยังประสบปัญหาการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ซึ่งส่งผลต่ออายุในการเก็บรักษา Becker *et al.* (2015) รายงานว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำอาจมีแบคทีเรียบางชนิดสามารถรอดชีวิตได้ เช่น *Salmonella* spp. , *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* และ *Lactobacillus* spp. ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อความปลอดภัยและการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Karyotisa *et al.* 2017)

ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์จึงมีการเติมวัตถุกันเสียลงในผลิตภัณฑ์เพื่อยืดอายุในการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ สารที่นิยมใช้ส่วนมากเป็นสารเคมีหรือสารสังเคราะห์ ซึ่งมีอันตรายมากกว่า สารสกัดจากธรรมชาติ มีการศึกษาสารต้านจุลินทรีย์ที่สกัดจากสารสกัดธรรมชาติจากหลากหลาย

แหล่ง สารสกัดจากแบคทีเรียก็เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจ เพราะมีต้นทุนในการผลิตต่ำ และเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถผลิตได้ครั้งละเป็นจำนวนมาก เอกโซโพลีแซคคาไรด์ (Exopolysaccharide ; EPS) คือ โพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ในขณะที่มีการเจริญและขับออกมาออกเซลล์ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ (Kumar *et al.* 2006) Matloub *et al.* (2019) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคของ intracellular polysaccharide และ extracellular polysaccharide ที่ผลิตจาก *Bacillus subtilis* พบว่า extracellular polysaccharide สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคได้ดีกว่า intracellular polysaccharide โดยเฉพาะเชื้อ *Salmonella Typhimurium*, *S. aureus* และ *Escherichia coli* นอกจากนี้ Trabelsi *et al.* (2018) พบว่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์สามารถต้านออกซิเดชัน และยังช่วยเรื่องคุณสมบัติการคงตัวของอิมัลชันในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเนื้อโคด้วย ซึ่งในการศึกษาเชื้อ *B. subtilis* LB23 และ *B. velezensis* LB24 ที่ได้นำมาศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการทดสอบกิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์ด้วยการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *Lactobacillus plantarum* และ *Lactococcus lactis* และการต้านออกซิเดชันมาในเบื้องต้นแล้ว พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่จะยับยั้งแบคทีเรียดังกล่าวได้คือที่ความเข้มข้น 0.0625% (มุสตี ตังวัชรินทร์, ยังไม่มีการเผยแพร่ข้อมูล) ทั้งนี้ EPS ที่ผลิตจาก *B. subtilis* ได้รับการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (FDA) ให้เป็นเชื้อที่ได้รับ Generally Recognized as Safe (GRAS) โดยสารผลิตจาก *B. subtilis* สามารถนำมาใช้ในการแปรรูปอาหารได้ เช่น ใช้เป็นสารช่วยให้อิมัลชันมีความคงตัว และใช้เป็นสารต้านจุลินทรีย์หรือสารกันบูด เป็นต้น (FDA, 2018) และได้รับการตรวจสอบจากหน่วยงานความปลอดภัยอาหารแห่งสหภาพยุโรป (EFSA) ว่าสารที่ผลิตจาก *B. subtilis* มีความปลอดภัยที่ใช้เป็นวัตถุเจือปนในอาหารได้ (มกอช. 2558)

ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงศึกษาเกี่ยวกับการนำเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *B. subtilis* LB23 และ *B. velezensis* LB24 มาทดสอบคุณสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์และต้านการเกิดออกซิเดชัน ต่ออายุในการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขึ้นรูปซู-วิด

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

- 1.2.1 เพื่อศึกษากิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชัน ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ที่ผลิตจาก *B. subtilis* LB23 และ *B. velezensis* LB24 ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด
- 1.2.2 เพื่อศึกษาผลของกิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์ ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ได้รับการคัดเลือกในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- 1.2.3 เพื่อศึกษาผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นที่ได้รับการคัดเลือก ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส

1.3 สมมติฐานของการศึกษา

- 1.3.1 เพื่อคัดเลือกเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *B. subtilis* LB23 และ *B. velezensis* LB24 จากกิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชัน ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด
- 1.3.2 เพื่อทราบถึงกิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์ ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ได้รับการคัดเลือก และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีกายภาพในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- 1.3.3 เพื่อทราบถึงผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นที่ได้รับการคัดเลือก ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส

1.4 ขอบเขตการวิจัย

การทดลองที่ 1 คัดเลือกเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *B. subtilis* LB23 และ *B. velezensis* LB24 จากกิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชัน ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด

การทดลองที่ 2 ศึกษากิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์ ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ได้รับการคัดเลือก และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีกายภาพในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นที่ได้รับการคัดเลือก ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส

1.5 ขั้นตอนการศึกษา

ศึกษากิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชัน ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *B. subtilis* LB23 และ *B. velezensis* LB24 ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด เพื่อคัดเลือกเอกโซโพลีแซคคาไรด์จากแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันได้ดีที่สุด จากนั้นศึกษากิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ได้รับการคัดเลือกที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีกายภาพในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสระยะเวลา 12 วัน และศึกษาผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นที่ได้รับการคัดเลือก ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 49 วัน

1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น

การศึกษาวิจัยเรื่องกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด เป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ (laboratory scale) เท่านั้น

1.7 ข้อจำกัดของการศึกษา

การนำเอกโซโพลีแซคคาไรด์มาประยุกต์ใช้ตลอดจนการผลิตผลิตภัณฑ์ผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดเป็นการศึกษาและประเมินภายในห้องปฏิบัติการ (laboratory scale) เท่านั้น หากมีการนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรม (commercial scale) ควรมีการทวนสอบคุณภาพต่อไป

1.8 คำจำกัดความที่ใช้ในการศึกษา

1.8.1 ผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด คือ การนำเศษเนื้อโคมาขึ้นรูปใหม่ ซึ่งประกอบด้วย น้ำเย็น โซเดียมคาซิเนต เอนไซม์ทรานกลูตามิเนส จากนั้นทำการขึ้นรูปใหม่โดยใช้ปลีอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร แข็งและแข็ง สไลด์เป็นชิ้นหนา 1.5 เซนติเมตร บรรจุแบบสุญญากาศ ในบรรจุภัณฑ์มาริเน็ต แล้วทำการให้ความร้อนด้วยวิธีการซู-วิดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง 20 นาที โดยวัดจากอุณหภูมิใจกลาง จากนั้นลดอุณหภูมิลง แล้วทำการเปลี่ยนบรรจุภัณฑ์ใหม่ แบบสุญญากาศ ก่อนการเก็บรักษา

1.8.2 เอกโซโพลีแซคคาไรด์ คือ โพลีเมอร์ที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตที่ผลิตจากจุลินทรีย์โดยกระบวนการหมักและขับออกมาภายนอกเซลล์ ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ และต้านออกซิเดชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เนื้อโคไทย

เนื้อโคที่มีอยู่ในประเทศมีความแตกต่างกัน เนื่องจากพันธุ์และระบบการผลิต ทำให้คุณภาพเนื้อที่ได้มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความต้องการของตลาดและผู้บริโภค (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ. 2548) ความนุ่มของเนื้อโคมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการ ได้แก่ อายุ เพศ อัตราการเกิดไกลโคลิซิส ปริมาณของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในมัดกล้ามเนื้อ ความยาวของซาร์โคเมอร์ (sarcomere length) สภาพการยืดหดตัวของกล้ามเนื้อ การสลายตัวของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อหลังการฆ่า (proteolysis post-slaughter) อิทธิพลของเอนไซม์ proteinases และปัจจัยด้านไขมันแทรกในเนื้อ โดยปัจจัยที่มีผลโดยตรงต่อ ความนุ่มของเนื้อ คือ ปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ที่สะสมในเนื้อซึ่งส่วนมากจะเป็นคอลลาเจน (collagen effect) และ โปรตีนจากเส้นใยกล้ามเนื้อ (วัชรวิทย์ มีหนองใหญ่. 2557)

2.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อโค

โดยทั่วไป เนื้อสัตว์ประกอบด้วยน้ำ ไขมัน โปรตีน แร่ธาตุ และคาร์โบไฮเดรต ดังแสดงในตารางที่ 2.1 โปรตีนมีองค์ประกอบที่มีปริมาณรองลงมาจากน้ำคิดเป็นสัดส่วนประมาณร้อยละ 20 – 22 ปริมาณโปรตีนกำหนดคุณภาพของวัตถุดิบเนื้อสัตว์ โปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนประมาณ 20 ชนิด โปรตีนประมาณ 65% ในร่างกายของสัตว์เป็นโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ (myofibrillar protein) ซึ่งเป็นโปรตีนหลักในเนื้อสัตว์ ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการยึดและการหดตัวของกล้ามเนื้อ โดยมีโปรตีนที่สำคัญก็คือ แอคตินและไมโอซิน (กรมปศุสัตว์. 2553) โปรตีนเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue protein) พบประมาณ 30% เป็นโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำ และเป็นส่วนประกอบของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ทำหน้าที่เกี่ยวกับการส่งการเคลื่อนไหวการหดตัวของโปรตีนเส้นใยย่อยไปยังโครงร่างของร่างกาย ทำให้โปรตีนกลุ่มนี้มีความเหนียวและแข็งแรงมาก เช่น คอลลาเจน และ อิลาสติน (collagen, elastin) และกลุ่มสุดท้ายคือ ซาร์โคพลาสซึมิก (sarcoplasmic protein) พบประมาณ 5% เป็นโปรตีนละลายน้ำได้ ทำหน้าที่เกี่ยวกับการผลิตพลังงาน โปรตีนที่สำคัญในกลุ่มนี้ได้แก่ ไมโอโกลบิน (myoglobin) ฮีโมโกลบิน (hemoglobin) (Heinz and Hautzinger. 2007)

ไขมัน องค์ประกอบของไขมันจะกระจายตัวอยู่ในมัดกล้ามเนื้อและบริเวณชั้นใต้ผิวหนัง ซึ่งสามารถแบ่งตามลักษณะต่างๆ ได้คือ ไขมันภายในมัดกล้ามเนื้อ (intramuscular fat หรือ marbling) อยู่ในชั้นเพอริไมเซียมของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน จะเห็นได้ว่าแทรกอยู่ในมัดกล้ามเนื้อสังเกตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยตาเปล่า มีลักษณะเป็นเส้นเล็กๆ จะกระจายภายในชั้นเนื้อ โดยประโยชน์ของไขมันแทรกได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น ไขมันที่อยู่ระหว่างมัดกล้ามเนื้อ (intermuscular fat) พบที่ชั้นอิมิโม่เซียมของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ซึ่งจะอยู่บริเวณรอบนอกของมัดกล้ามเนื้อ และไขมันใต้ผิวหนัง (subcutaneous fat) พบได้ที่เนื้อชั้นอิมิโม่เซียมของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โดยไขมันชั้นนี้มีหน้าที่ในการป้องกันการสูญเสียความร้อนออกจากร่างกาย (เขาวลักษณะ สุรพันธ์พิชญ์. 2536)

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อสัตว์

ชนิดเนื้อ	โปรตีน (%)	ไขมัน (%)	น้ำ (%)	เถ้า (%)	แคลอรี/100 กรัม
เนื้อวัว เนื้อแดง (beef, lean)	22.3	1.8	75.0	1.2	116
ซากโค (Beef carcass)	16.5	28.0	54.7	0.8	323
เนื้อลูกวัว เนื้อแดง (veal, lean)	21.3	0.8	76.4	1.2	98
ไขมันแข็ง (subcutaneous fat)	17.5	22.0	60.0	0.9	854

ที่มา: คัดแปลงจาก Heinz and Hautzinger. (2007)

คาร์โบไฮเดรต ในเนื้อสัตว์จะพบอยู่เพียง 1 เปอร์เซ็นต์ หรือต่ำกว่านั้น ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของ glycogen และ lactic acid (สัญญา จตุรสิทธิ์ธา. 2550)

แร่ธาตุ ถ้าวัวเนื้อสัตว์นี้อุดมไปด้วยแร่ธาตุต่างๆ ได้แก่ แคลเซียม (Ca) ฟอสฟอรัส (P) เหล็ก (Fe) โซเดียม (Na) โพแทสเซียม (K) และ แมกนีเซียม (Mg) ดังตารางที่ 2 โดยในเนื้อสัตว์ถือได้ว่าเป็นแหล่งที่ดีของธาตุฟอสฟอรัสและเหล็กแต่ให้แคลเซียมในปริมาณที่ต่ำมาก เมื่อให้ความร้อนแก่เนื้อสัตว์เพื่อทำให้สุกนั้น แร่ธาตุส่วนใหญ่โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุเหล็กจะยังคงอยู่เกือบครบถ้วนตามจำนวนเดิม (ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529)

วิตามิน ในเนื้อสัตว์จะมีวิตามินบีคอมเพลกซ์ วิตามินที่สามารถละลายได้ในน้ำมากซึ่งจะพบอยู่ในส่วนของเนื้อแดง แต่จะมีวิตามินซีต่ำมาก ซึ่งปัจจัยของวิตามินในเนื้อสัตว์จะมีหลายประการ เช่น ชนิดสัตว์ อายุ ความอ้วน และลักษณะการให้อาหาร รวมทั้งชิ้นส่วนของซากก็จะมีวิตามินที่ไม่เหมือนกัน (ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529)

2.1.2 ลักษณะทางกายภาพของเนื้อโค

เนื้อโคจัดอยู่ในประเภทของเนื้อแดง (red meat) เนื้อโคเป็นประเภทกล้ามเนื้อลาย ปัจจัยที่มีผลต่อเนื้อสัมผัสได้แก่ ซาร์โคเมียร์ (sarcomere length) การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนภายหลังสัตว์ตาย ปริมาณและชนิดของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน รวมไปถึงปริมาณของไขมันแทรกซึ่งมีผลต่อความนุ่มของเนื้อ ไขมันจะมีความนุ่มกว่าส่วนของกล้ามเนื้อ เมื่อนำมาปรุงให้สุกและรับประทานจะทำให้ได้ความรู้สึกชุ่มฉ่ำไม่เหนียวขณะเคี้ยว โปรตีนจะเปลี่ยนแปลงภายหลังจากการฆ่า เกิดจากการที่

กล้ามเนื้อแข็งและเกร็งตัว มีสาเหตุมาจากซาร์โคเมียร์เกิดการหดตัว ทำให้เนื้อเกิดความเหนียวขึ้น

ไม่ทราบว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่ถ้าซาร์โคเมียร์ยึดตัวจะทำให้นุ่ม ซึ่งการยึดและหดของกล้ามเนื้อขึ้นอยู่กับแอกติน (actin) ซึ่งการยึดและหดตัวของแอกตินขึ้นอยู่กับพลังงานในรูป ATP ที่ได้มาจากกระบวนการหายใจนำออกซิเจนเข้าสู่ร่างกาย เมื่อสัตว์ถูกฆ่าทำให้ไม่มีออกซิเจนเข้ามาสร้าง ATP ส่งผลให้แอกตินหดตัวจับติดกับไมโอซิน (myosin) ทำให้เกิดความเหนียวขึ้น (McCormick, 1994)

สีของเนื้อ โคมมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาตลอดกระบวนการจัดการของเนื้อ โคมจนถึงมือผู้บริโภค ซึ่งถือว่าเป็นเกณฑ์ที่สำคัญในการตัดสินใจเลือกซื้อของผู้บริโภค (Kamenik *et al.* 2014) ซึ่งจะแตกต่างกันตามประเภทของเนื้อ โคม เพศ และอายุ โดยมีผลมาจากรงควัตถุไมโอโกลบิน (myoglobin pigment) ในกล้ามเนื้อของเนื้อ โคม โดยปริมาณของไมโอโกลบิน พบมากที่สุด ในกล้ามเนื้อส่วนที่เป็นเนื้อแดง เนื้อเมื่อสัมผัสกับอากาศจะทำให้เนื้อเป็นสีชมพูสด เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างออกซิเจนกับไมโอโกลบิน ทำให้เกิดเป็นสารออกซิไมโอโกลบิน (oxymyoglobin) (เขวาลักษณ์ สุรพันธ์พิสุทธิ์, 2536) โดยปริมาณไมโอโกลบินจะส่งผลต่อสีเนื้อ เนื้อโคมจะมีปริมาณไมโอโกลบินมากกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่น นอกจากนี้เนื้อโคมที่มีอายุแตกต่างกันจะมีปริมาณไมโอโกลบินในเนื้อแตกต่างกัน ซึ่งในสัตว์ที่มีอายุมากจะมีสีเนื้อที่เข้มกว่าสัตว์อายุน้อย (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2549)

การสูญเสียเนื้อหลังจากการปรุงสุก (cooking loss) การสูญเสียเนื้อหนักหลังจากการปรุงสุก โดยให้ความร้อนจะมีความสัมพันธ์กับโปรตีนในเนื้อสัตว์ เนื่องจากภายในเส้นใยโปรตีนของเซลล์กล้ามเนื้อมีน้ำเป็นองค์ประกอบ เมื่อเนื้อสัตว์ได้รับความร้อนจะทำให้เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติ (denatured protein) โดยความร้อนจะทำลายพันธะของเซลล์กล้ามเนื้อ ที่ทำหน้าที่ยึดเกาะโครงสร้างโมเลกุล การให้ความร้อนที่มีอุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลาานต่อเนื่องจะยิ่งทำให้เกิดการสูญเสียเนื้อมากยิ่งขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้เกิดการสูญเสียสภาพของโปรตีนไมโอไฟบริลลามากขึ้น (Triyannanto and Lee, 2015) ซึ่งโปรตีนในเนื้อสัตว์จะเกิดการเสียหายเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 57 – 75 องศาเซลเซียส (นิธิยา รัตนานนท์, 2554) เมื่อโปรตีนหดตัวจะทำให้เนื้อที่อยู่ภายในโครงสร้างโมเลกุลหลุดออกมาส่งผลให้เนื้อแห้งและมีน้ำหนักน้อยลงระหว่างการทำให้สุกโดยผ่านความร้อน

ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อบอบได้ถึงคุณสมบัติของโปรตีนที่มีความสามารถในการกักเก็บน้ำไว้ในโครงสร้างของกล้ามเนื้อ ซึ่งน้ำเป็นองค์ประกอบหลักภายในเนื้อสัตว์ ความสามารถในการอุ้มน้ำมีความสัมพันธ์กับโปรตีนในเนื้อสัตว์ ลักษณะเนื้อสัมผัส การสูญเสียเนื้อหนักของเนื้อหลังจากการแปรรูป ค่าความเป็นกรด-ด่าง ความนุ่มของเนื้อและความชุ่มฉ่ำของเนื้อ (เขวาลักษณ์ สุรพันธ์พิสุทธิ์, 2536) โมเลกุลในโปรตีนกล้ามเนื้อเป็นสารที่มีความเป็นประจุสูงส่งผลให้จับ โมเลกุลของน้ำไว้ได้อย่างดีด้วยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) ทำให้เนื้อสามารถอุ้มน้ำได้ ดังนั้นน้ำส่วนนี้จะไม่ไหลออกมาตราบใดที่โปรตีนไม่

เกิดการเสียหายไป เช่น การให้ความร้อนกับโปรตีน หรือ การปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง เป็นต้น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

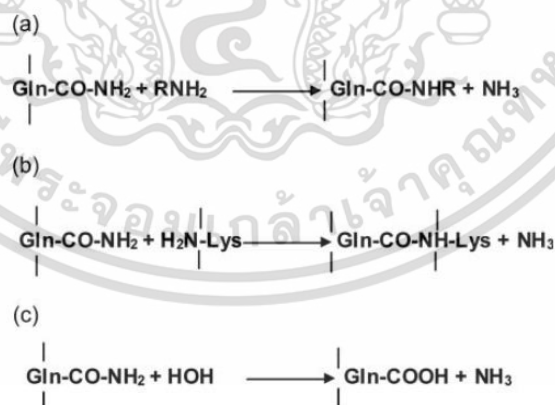
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้พันธะไฮโดรเจนที่ทำหน้าที่ยึดเกาะของโครงสร้างถูกทำลาย (Asalyng *et al.* 2003) ทำให้ค่าประจุบวกและประจุลบมีปริมาณเท่ากัน เรียกสภาวะนี้ว่า isoelectric point (pI) ทำให้น้ำที่อยู่ในโปรตีนกลั่นเนื้อหลุดออกมาได้อย่างอิสระ ทำให้ค่าความเป็นกรดต่างของเนื้ออยู่ที่ประมาณ 5.0 เมื่อเนื้อสัมผัสสภาพในการจับน้ำต่ำลงส่งผลให้เกิดการสูญเสียความชื้นสูงทำให้น้ำหนักลดลง (กรมปศุสัตว์, 2553)

2.2 เนื้อขึ้นรูปใหม่ (reformed หรือ restructured meat)

เนื้อขึ้นรูปใหม่ หรือเนื้อปรับโครงสร้าง คือการนำชิ้นเนื้อหรือเศษเนื้อจากการตัดแต่งมาขึ้นรูปประกอบเป็น ชิ้นเนื้อ เป็นสเต็ก หรือแฮม เทคนิคการขึ้นรูปใหม่ของเนื้อมีมาตั้งแต่ ค.ศ. 1950 โดยจะใช้เอนไซม์ในการผสมเนื้อเข้าด้วยกัน โดยโปรตีน myofibrillar ที่ถูกสกัดภายในเนื้อและบนพื้นผิวหน้าของเนื้อจะกลายเป็นเจลเมื่อได้รับความร้อนในกระบวนการปรุงสุก เจลนี้เป็นสารยึดเกาะที่มีประสิทธิภาพมากของน้ำและไขมัน เกิดการผสมชิ้นเนื้อเข้าด้วยกันและการเก็บน้ำและไขมันในระหว่างการปรุงอาหาร

เอนไซม์ทรานกลูตามิเนสสามารถเร่งการเชื่อมต่อนี้ระหว่างพันธะโคเวเลนต์ของกรดอะมิโนกลูตามินของสายเพปไทด์ หรือโปรตีน และสารประกอบเอมีน ทำให้โปรตีนเกิดเจลที่มีความแข็งแรง และมีความคงตัวต่อความร้อน (Motoki *et al.* 1986) นอกจากนี้โปรตีนในสภาพของอิมัลชัน แบบน้ำมันในน้ำ ก็สามารถเกิด เจลได้ดี แม้ว่าจะมีน้ำตาลหรือเกลือผสม โดยที่เจلدังกล่าวจะไม่ถูกทำลาย



โดยสารที่มีสมบัติทำให้โปรตีน สูญเสียสภาพธรรมชาติด้วยสมบัติต่างๆ (Santhi *et al.* 2017 and Motoki and Seguro. 1998)

ภาพที่ 2.1 ปฏิกิริยาของ transglutaminase (TGase) (a) การถ่ายโอน Acyl, (b) การเชื่อมขวางของ Gln และ Lys ที่ตกค้างในโปรตีนหรือเปปไทด์ (c) Deamidation

ที่มา: Santhi *et al.* (2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยาของเอนไซม์ทรานกลูตามิเนสในเนื้อสัตว์ ดังภาพที่ 2.1

1. เร่งปฏิกิริยาการย้ายหมู่เอซิดระหว่างหมู่แอมมาคาร์บอกซิเอไมด์ ของกรดอะมิโนกลูตามีน เกิดเป็น โปรตีนรูปแบบใหม่ที่สายเปปไทด์ยาวขึ้น
2. เกิดการเชื่อมขวางด้วยพันธะโควาเลนต์ระหว่างกลูตามีนและไลซีน
3. เร่งปฏิกิริยาการแยกหมู่เอมีนของโปรตีนที่มีอนุมูลของกลูตามีน

โซเดียมคลอไรด์เกิดจากการปรับปรุงความสามารถในการละลายน้ำของเคซีน โดยการใช้ด่างเพื่อทำให้เกิดอนุพันธ์ของเคซีน โดยโซเดียมคลอไรด์เกิดจากการปรับปรุงความสามารถในการละลายน้ำของเคซีนด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งโซเดียมคลอไรด์เป็นสารตั้งต้นของโปรตีนที่ไม่ใช่เนื้อสัตว์ที่ใช้เสริมการทำงานของเอนไซม์ทรานกลูตามิเนส เนื่องจากช่วยการสร้างพันธะโควาเลนต์เชื่อมข้ามกับโมเลกุลของโปรตีนจากเนื้อสัตว์ (Kuraishi *et al.* 1997 ; Pietrasik *et al.* 2007) Colmenero *et al.* (2005) รายงานว่าโซเดียมคลอไรด์ที่เติมในผลิตภัณฑ์ทำให้โครงข่ายของเจลกระชับขึ้น และเพิ่มความสามารถในการจับกับน้ำและไขมัน ได้ดีมากกว่าการใช้เอนไซม์ทรานกลูตามิเนสเพียงอย่างเดียวในผลิตภัณฑ์ Serrano *et al.* (2004) รายงานว่า เอนไซม์ทรานกลูตามิเนสร้อยละ 0.7% และโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 3 ที่เติมลงในผลิตภัณฑ์สเต็กเนื้อโคจืดรูปใหม่ใหม่ ช่วยลดการสูญเสียน้ำในระหว่างการเก็บรักษา ช่วยลดการสูญเสียน้ำหลังจากการปรุงสุก และยังช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับได้ Muguruma *et al.* (2546) ทำการผลิตไส้กรอกไก่ที่ผสมเอนไซม์ทรานกลูตามิเนสและโซเดียมคลอไรด์ จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเชื่อมโยงระหว่างเอนไซม์ทรานกลูตามิเนสและโซเดียมคลอไรด์ ทำผลิตภัณฑ์มีความเสถียรทางความร้อนที่ดีขึ้น และมีคุณสมบัติในการทำให้เป็นอิมัลชันด้วยเนื้อสัมผัสที่ดีขึ้นแม้จะมีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.05% ก็ตาม

ผลิตภัณฑ์เนื้อจืดรูปใหม่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ เนื่องจากเพิ่มความสะดวกสบายในการเตรียมเนื้อสัตว์ และเนื้อสัตว์ยังมีความชุ่มฉ่ำและรสชาติที่ดีขึ้น นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์เนื้อจืดรูปใหม่สามารถตอบสนองความต้องการของกลุ่มผู้บริโภคที่รักสุขภาพ แต่ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่ผ่านการจืดรูปใหม่มักเกิดการออกซิเดชันของไขมันอย่างรวดเร็วในระหว่างการเก็บรักษาซึ่งทำให้สีและรสชาติแย่ลง รวมถึงเกิดการสูญเสียการอุ้มน้ำและแรงเหวี่ยงจากการปรุงอาหารสูงขึ้น (Gadekar *et al.* 2015) โดย Sun. (2009) รายงานว่าการใช้เนื้อที่มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสูงและมีการเติมเจลาตินหรือเจลแคลเซียม (Algin/Calcium gel) ลงในเนื้อที่มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสูงเพื่อช่วยลดต้นทุนการผลิตและเพิ่มเนื้อสัมผัส นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์เนื้อจืดรูปใหม่โดยทั่วไปจะยึดจับกันโดยอาศัยการเชื่อมต่อกันระหว่างโปรตีนไมโอไฟบริลที่สกัดได้จากโปรตีนเนื้อสัตว์เมื่อมีการเติมเกลือฟอสเฟต และแรงทางกลร่วมด้วย (Acton. 1972) และจากการทดลองของ Sen and Karim. (2003)

พบว่าเนื้อจืดรูปใหม่ขนาดความหนา 2-3 เซนติเมตร มีค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษา

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(purge loss, %) ลดลง นอกจากนี้ Gurikar *et al.* (2014) รายงานว่าเนื้อหมูชิ้นรูปใหม่ ความหนา 2-3 เซนติเมตรและให้ความร้อนเป็นเวลา 50 นาที ให้ผลผลิตสูงขึ้น (89.31%) แต่มีค่าแรงเหวี่ยงลดลง นอกจากนี้วัตถุดิบหรือส่วนผสมต่าง ๆ ยังมีบทบาทสำคัญในการผลิตเนื้อชิ้นรูป โดยการใช้เอนไซม์ทรานกลูตามิเนส (MTGase) 0.1% ร่วมกับเกลือ 3% ให้ผลลัพท์ที่ดีในการยึดเกาะ และการใช้เอนไซม์ MTGase 0.05-0.01% ร่วมกับโซเดียมเคซิเนต 0.5-0.1% และแช่เย็นเป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าการยึดเกาะของชิ้นเนื้อดีขึ้น (Gadekar *et al.* 2015)

Akamiltath *et al.* (1990) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการเกิดการออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์เนื้อชิ้นรูป เนื้อโค เนื้อหมู และ ไก่กวาง โดยเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เนื้อโค เนื้อหมู และ ไก่กวาง เกิดการออกซิเดชันของไขมันและการเปลี่ยนสีที่ระยะเวลา 16, 8 และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ การเปลี่ยนแปลงของสีของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เกิดขึ้นเร็วกว่าการเกิดออกซิเดชันของไขมัน ฟอสเฟตมีประสิทธิภาพ ในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันช่วยยืดอายุการเก็บรักษา ในเนื้อโค 4 สัปดาห์ หมู 8 สัปดาห์ และ ไก่กวาง 6 สัปดาห์ และใช้ tertiary butylhydroquinone ซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชัน พบว่าสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูได้แต่ไม่สามารถยับยั้งการเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อได้ บ่งชี้ว่าการเปลี่ยนสีและการเกิดออกซิเดชันของไขมันมีความสัมพันธ์กันและอาจเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของเม็ดสี

Nehal *et al.* (2019) กล่าวว่าคุณภาพด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เนื้อชิ้นรูป ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลักๆ คือจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นในผลิตภัณฑ์ และอุณหภูมิในการเก็บรักษา โดยส่วนมากเนื้อชิ้นรูปจะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แต่ยังคงพบการเจริญของจุลินทรีย์พวกไซโครโทโรฟิกันเช่น *Alcaligenes* spp., *Flavobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Micrococcus* spp., *Moraxella-Acinetohacter* spp. และ *Pseudomonas* spp. เป็นต้น การนำเนื้อชิ้นรูปใหม่ไปผ่านกระบวนการให้ความร้อนจะช่วยลดการเจริญของแบคทีเรียลงได้ เช่น *Salmonella* Thompson, *Salmonella* Tyghimurium, *Salmonella* Enteritidis และ *Staphylococcus aureus* แต่ก็ยังพบการรอดชีวิตของ *Streptococcus faecalis*

2.2.1 ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์พร้อมปรุง

อาหารพร้อมปรุง หมายถึงอาหารที่ได้จัดเตรียมส่วนประกอบต่างๆ บรรจุไว้ในหน่วยภาชนะที่พร้อมจำหน่ายโดยตรงต่อผู้บริโภค เพื่อนำไปปรุงเป็นอาหารชนิดใดชนิดหนึ่งโดยเฉพาะ อาหารพร้อมปรุงทั่วไปเป็นอาหารที่ยังไม่ผ่านการแปรรูป เพียงแต่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนเบื้องต้น เพื่อความสะดวกแก่การประกอบอาหารของผู้บริโภค (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานนท์. 2562)

2.2.2 เทคนิค Sous vide

เทคนิคซู-วิดเป็นการประยุกต์ใช้ความร้อนในระดับการพาสเจอร์ไรส์ กับวัตถุดิบสด หรืออาหารกึ่งสุกกึ่งดิบ ในภาชนะบรรจุที่ทนความร้อนภายใต้สภาพสุญญากาศ (Szerman *et al.* 2008) ก่อนจะนำไปผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำและเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิแช่เย็น 0-3 องศาเซลเซียส ซึ่งภายใต้สภาวะดังกล่าวสามารถเก็บรักษาได้ 3-5 สัปดาห์ และต้องนำไปผ่านการให้ความร้อนอีกครั้งสำหรับการบริโภค (Vaudagn *et al.* 2002) การผลิตอาหารด้วยเทคนิคซู-วิดจะให้ผลดีในเรื่องของรสชาติการเพิ่มความนุ่มและความชื้น การคงคุณภาพด้านสี ลดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ และทำให้อายุการเก็บ รักษาเพิ่มขึ้น (Armstrong *et al.* 2000)

Szerman *et al.* (2008) ได้อธิบายเกี่ยวกับข้อดีของการผลิตอาหารด้วยเทคนิคซู-วิดโดยเปรียบเทียบกับการผลิตโดยการให้ความร้อนโดยปกติ พบว่า กระบวนการซู-วิดเนื้อจะอยู่ในบรรจุภัณฑ์ซึ่งช่วยป้องกันการระเหยของน้ำในเนื้อ และช่วยเรื่องกลิ่นรส ระหว่างการให้ความร้อนในสภาวะที่มีออกซิเจนระดับต่ำในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ จะช่วยยับยั้งการเปลี่ยนแปลงจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่นำไปสู่การเปลี่ยนแปลง กลิ่นรสที่ผิดปกติของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเก็บรักษา

อย่างไรก็ตามวิธีการซู-วิดสามารถทำให้แบคทีเรียที่เจริญในอาหารลดลง แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้ มีผลทำให้อาหารที่ไม่ได้บริโภคทันทีจำเป็นต้องแช่เย็นอย่างรวดเร็วเพื่อป้องกันการเจริญของแบคทีเรีย (Roldán *et al.* 2014) นอกจากนี้การพาสเจอไรซ์ยังช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ทนทานต่อความร้อนต่ำ เช่น แบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์ ยีสต์และรา ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านประสาทสัมผัสและคุณค่าของอาหารน้อยที่สุด (วิลโลว์ ไร้ง สาดทอง, 2546) อย่างไรก็ตามแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในอาหารที่ผ่านการปรุงสุกด้วยวิธีการซู-วิดและบรรจุแบบสุญญากาศ คือ แบคทีเรียที่สร้างสปอร์และสามารถทนทานต่อความร้อนหรือทนสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนรวมถึง *Clostridium botulinum* ซึ่งเจริญได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 3.3-45 องศาเซลเซียส และแบคทีเรียที่เจริญได้ในอาหารบรรจุสุญญากาศ คือ *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* ซึ่งเจริญได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 4-52.3 องศาเซลเซียส ส่วนแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดสปอร์และทนต่อสภาวะออกซิเจนต่ำ (anaerobes) ได้แก่ *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* และแบคทีเรียที่ก่อโรค เช่น *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* และ *Listeria spp.* โดยที่แบคทีเรียสองชนิดสามารถทนต่อสภาวะแช่เย็น คือ *Listeria spp.* และ *Y. enterocolitica* ซึ่งสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำสุด -1.5 องศาเซลเซียส จากการศึกษาของ Baldwin. (2012) และ Francois. (2013) รายงานว่าข้อกำหนดด้านกฎระเบียบและมาตรฐานด้านความปลอดภัยในอาหารของประเทศโคลัมเบีย คืออาหารที่ปรุงด้วยอุณหภูมิที่ไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส ต้องแช่เย็นภายใน 6 ชั่วโมง เพื่อป้องกันการเจริญของสปอร์แบคทีเรีย และ Díaz *et al.* (2008) ได้ให้คำแนะนำเพิ่มเติมคือ ควรลดอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 3 องศาเซลเซียส ภายใน 2 ชั่วโมงหลังการให้ความร้อน ซึ่งอาหารที่ผ่านการพาสเจอไรซ์ต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 3 องศาเซลเซียส จะช่วยป้องกันการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อสัตว์ปรุงสุกด้วยวิธีการชู-วิด นอกจากนี้แบคทีเรียแลคติกอาจเป็นสาเหตุหลักของการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ปรุงสุกด้วยวิธีการชู-วิด โดยจะสร้างกลิ่นไม่พึงประสงค์และในสถานะไม่มีอากาศ ซึ่งอาจทำให้ผลิตภัณฑ์บวมขึ้นหรือเปลี่ยนสีของเนื้อแม้ว่าจะเก็บรักษาในสถานะแช่เย็น Francois. (2013) รายงานว่าอาหารทุกชนิดควรตรวจพบแบคทีเรียไม่ควรเกิน $7.0 \log \text{ cfu/g}$ และวัตถุประสงค์หลักของการพาสเจอร์ไรซ์อาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ คือการทำลายจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งเวลาและอุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรซ์อาหารขึ้นอยู่กับความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ที่ต้องการทำลายและความไวต่อความร้อนของผลิตภัณฑ์ (วิไล รัตนาทอง. 2546)

นอกจากนี้ Baldwin. (2012) รายงานว่าวิธีการชู-วิดจะทำให้เส้นใยกล้ามเนื้อเกิดการหดตัวมากขึ้น โดยโปรตีนไมโอไฟบริลลาที่ประกอบด้วยไมโอซิน และแอคตินซึ่งจะเริ่มหดตัวประมาณ 65-70% ที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียส และหดตัวเพิ่มขึ้นที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส มีผลทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำและการขยายตัวของไมโอไฟบริลลดลงประมาณ 80% เมื่อเปรียบเทียบกับ การให้ความร้อนแก่เนื้อสัตว์ที่อุณหภูมิระหว่าง 40 และ 60 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส ทำให้เส้นใยกล้ามเนื้อเกิดการหดตัวและสูญเสียน้ำระหว่างปรุงสุกสูงขึ้น และเมื่ออุณหภูมิในการชู-วิดสูงขึ้นจะทำให้การสูญเสียน้ำและการหดตัวเพิ่มขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้ Byrne. (1986) รายงานว่ากระบวนการทำให้สุกตามด้วยการทำให้เย็นในการผลิตอาหาร เช่น เนื้ออบ หรือที่เรียกว่า ผลิตภัณฑ์สำหรับคนรุ่นใหม่ ผลิตภัณฑ์เหล่านี้กำลังแทนที่อาหารที่ต้องอุ่นให้ความร้อนเป็นเวลานานก่อนนำไปบริโภค วิธีนี้จะช่วยลดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการและคุณภาพการบริโภค และมีราคาถูก

2.3 การเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปชู-วิด

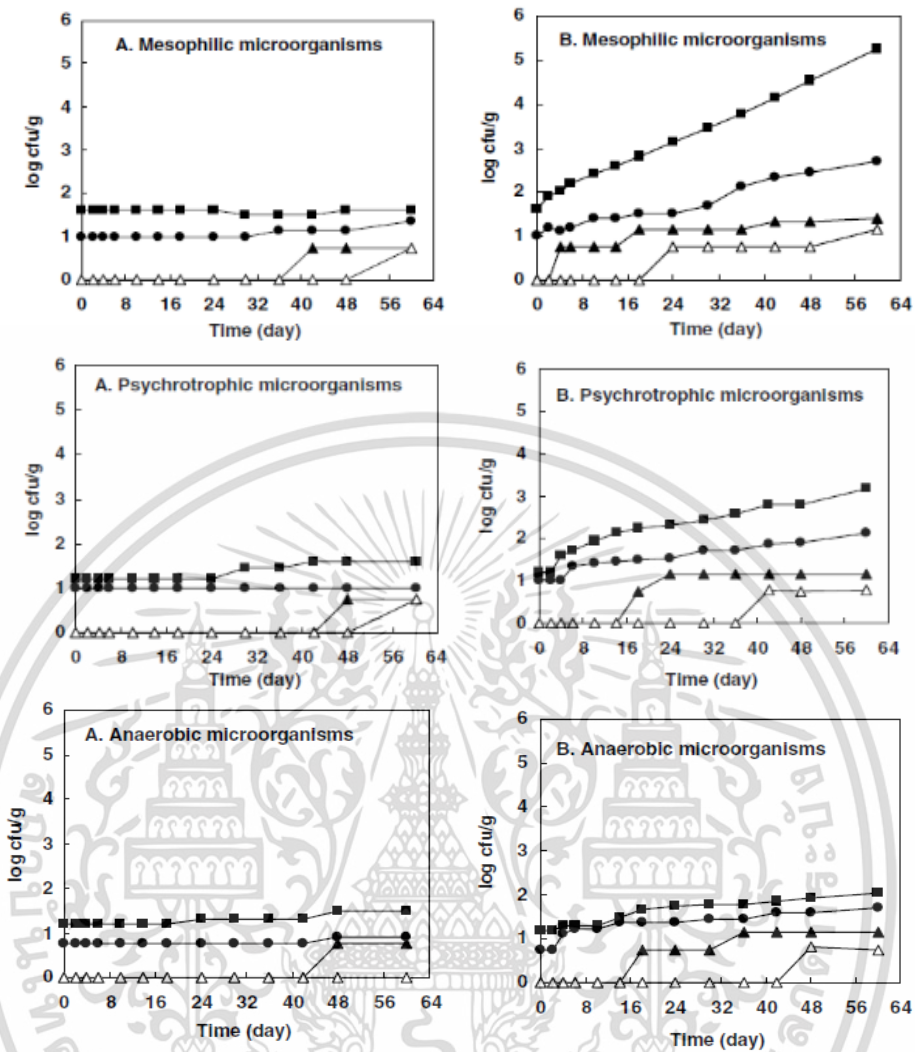
2.3.1 การเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์

การเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์เป็นการเสื่อมเสียของอาหาร มีสาเหตุหลักจากจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย รา หรือยีสต์ ซึ่งเกิดการปนเปื้อนและเพิ่มจำนวนขึ้นในอาหาร แล้วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่ทำให้คุณภาพอาหารเปลี่ยนไปจนไม่เป็นที่ยอมรับ ปริมาณจุลินทรีย์มีผลต่อการเน่าเสียของอาหารแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของอาหาร มีจำนวนประมาณ $10^6 - 10^9 \text{ cfu /กรัม}$ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. 2553)

อายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อชู-วิด Paik *et al.* (2006) ได้ทำการศึกษาสารต้านจุลินทรีย์ต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อโคเกาหลีชู-วิด โดยใช้อุณหภูมิในการชู-วิดผลิตภัณฑ์ 97 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 11 นาที เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 64 วัน จากผลการทดลอง (ภาพที่ 2.2) พบว่า เนื้อโคชิ้นรูปกลุ่มที่ไม่ได้เติมสารต้านจุลินทรีย์ (control) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีการเจริญของ mesophilic bacteria เกินกว่าที่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานกำหนดในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ส่วนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ไม่เกินที่มาตรฐานกำหนด แต่ก็พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณจุลินทรีย์ทั้ง mesophilic bacteria, psychophilic bacteria และ anaerobic bacteria แสดงให้เห็นว่า ความร้อนที่ใช้ในกระบวนการผลิตไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ๆ ได้ จึงจำเป็นจะต้องเติมสารต้านจุลินทรีย์เพื่อช่วยยืดอายุในการเก็บรักษา

Hilda *et al.* (2000) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิในการแปรรูปและอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อคุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ sous vide โดยใช้อุณหภูมิในการซู-วิด 80-91 องศาเซลเซียส ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 และ 8 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ ในผลิตภัณฑ์ได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส จะพบการเจริญของจุลินทรีย์น้อยกว่า และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ ประมาณ 4-5 สัปดาห์ (ตารางที่ 2.2) ทางด้านประสาทสัมผัสได้รับการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา เนื่องจากอุณหภูมิต่ำสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาทางชีวเคมีและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้อีกด้วย นอกจากนี้ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาไม่พบการเจริญของ *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* และ *Enterobacteriaceae*



ภาพที่ 2.2 ปริมาณของจุลินทรีย์ต่อระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อโคชินรูปซู-วิด ในระหว่างการเก็บรักษาที่ (A) 4 °C และ (B) 25 °C โดยแบ่งเป็นกลุ่มควบคุม (●), บรรจุภัณฑ์ที่เติมเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* (■), บรรจุภัณฑ์ที่เติมเชื้อ *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* และใส่ nisin 100 IU (▲) บรรจุภัณฑ์ที่เติมเชื้อ *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* และ nisin 500 IU (▲)

ที่มา : Paik et al. (2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 แสดงอายุการเก็บรักษา และปริมาณเชื้อ Lactic acid bacteria และ *Pseudomonas* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมู-วัว

อุณหภูมิในการเก็บรักษา (°C)	ผลิตภัณฑ์	TPC	LAB	<i>Pseudomonas</i> spp.
3	Rack of lamb (week 5)	4×10^7	4×10^2	2×10^6
	Chicken drumsticks (week 4)	8×10^6	8×10^5	$< 10^2$
8	Chicken mousse (week 3)	2×10^7	2×10^6	$< 10^2$
	Pork loins (week 5)	4×10^6	4×10^5	1×10^6
	Fillet of fish (week 4)	5×10^7	1×10^4	5×10^2
	Julienne carrot (week 4)	3×10^6	1×10^4	$< 10^2$
	Chicken chasseur (week 4)	5×10^7	3×10^5	$< 10^2$
	Meatball in sweet and sour sauce (week 3)	1×10^8	1×10^8	$< 10^2$
	Fish bandong (week 3)	9×10^7	3×10^7	6×10^5

ที่มา : Hilda *et al.* (2000)

2.3.2 มาตรฐานผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์พร้อมปรุง (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2560)

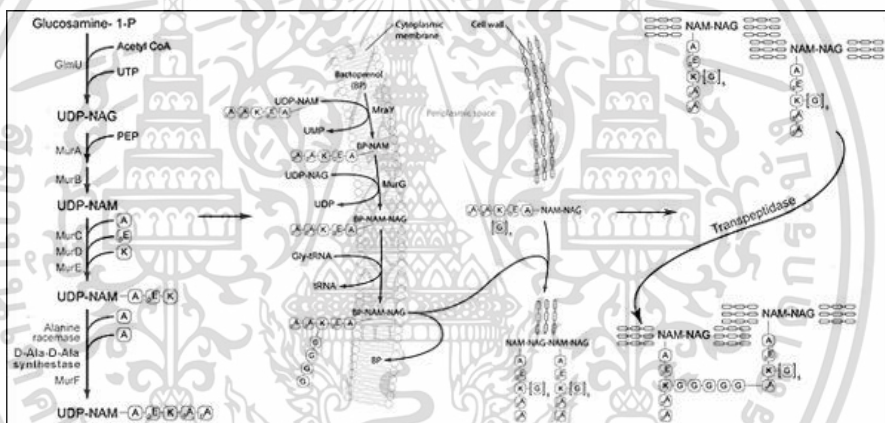
1. จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน 1×10^6 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม
2. เชื้อ *Escherichia coli* กำหนดค่า MPN ต้องน้อยกว่า 100 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม
3. เชื้อ *Staphylococcus aureus* ต้องน้อยกว่า 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม
4. เชื้อ *Clostridium perfringens* ต้องน้อยกว่า 1000 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม
4. เชื้อ *Bacillus cereus* ต้องน้อยกว่า 1000 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม
5. เชื้อ *Salmonella* spp. ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม
6. เชื้อ *Vibrio cholerae* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

2.3.3 กระบวนการยับยั้งจุลินทรีย์ สารต้านจุลินทรีย์จะออกฤทธิ์โดยการรบกวนกระบวนการทำงานต่างๆ และทำลายโครงสร้างของแบคทีเรีย มีฤทธิ์ต่อเชื้อ 2 ประเภท คือ ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bactericidal) และยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (bacteriostatic) (Kapoor *et al.* 2017) จากผลการทดลองของ Zaman *et al.* (2017) พบว่า EPS สามารถยับยั้งการทำงานของเชื้อก่อโรคได้ แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อก่อโรคได้เพราะยังพบการเจริญของเชื้อในผลิตภัณฑ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลไกการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม โดยแบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์ ดังนี้

1. สารต้านจุลินทรีย์ที่มีผลยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (cell wall synthesis inhibitors) แบคทีเรียที่ก่อเกิดโรคส่วนใหญ่มีผนังเซลล์ที่ให้ความต้านทานแรงดึงและรักษาความดันออสโมติกภายในเซลล์ การสังเคราะห์ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน (ดังแสดงในภาพที่ 2.3) คือ 1. โมโนเมอร์ถูกสังเคราะห์ในไซโทพลาสซึมจากกรดอะมิโนและน้ำตาล 2. Bactoperol ถ่ายไอออนโมโนเมอร์ผ่านเยื่อหุ้มไซโทพลาสซึมซึ่งจะถูกทำให้เป็นโพลิเมอร์เซชันเป็นโซ่เปปไทโดไกลแคน ในที่สุด 3. เครื่องข่าย peptidoglycan cross-links แบบ Transpeptidase (Kasmar *et al.* 2008) โดยสารจะยับยั้งกระบวนการสร้างผนังเซลล์ โดยจับกับ binding proteins ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิด crosslinking ของสาย peptidoglycan (Kapoor *et al.* 2017) Li *et al.* (2014) พบว่ากลไกการทำงานของ EPS อาจจะไปรบกวนผนังเซลล์ซึ่งทำให้การแบ่งเซลล์ของแบคทีเรียลดลง



ภาพที่ 2.3 ขั้นตอนการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่ 1. การสังเคราะห์โมโนเมอร์, 2. โมโนเมอร์พอลิเมอร์เซชัน, 3. พอลิเมอร์เชื่อมขวาง

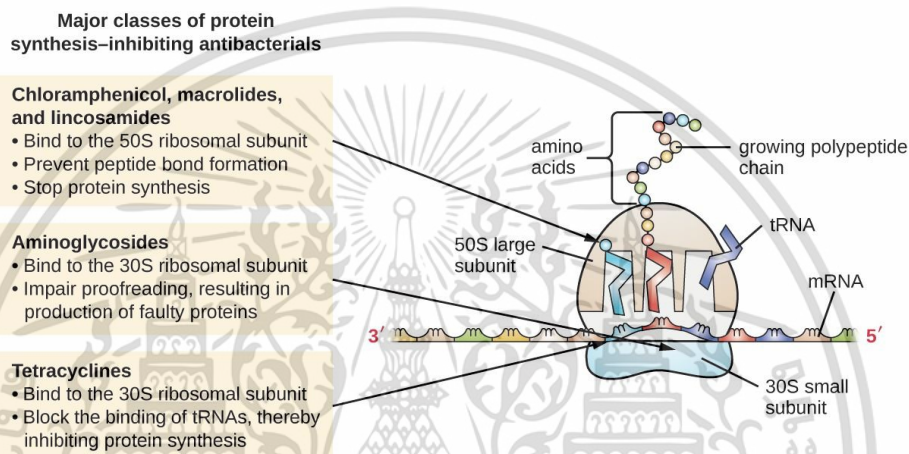
ที่มา: Kasmar *et al.* (2008)

2. สารต้านจุลินทรีย์ที่มีผลยับยั้งการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย (inhibitors of membrane function) โดยเยื่อหุ้มเซลล์ หรือ cytoplasmic membrane ทำหน้าที่ปกคลุมไซโทพลาสซึมควบคุมการผ่าน เข้า-ออกของสารภายในและภายนอกเซลล์ของ แบคทีเรีย และ Kumar *et al.* (2012) กล่าวว่าเมื่อเยื่อหุ้มเซลล์ถูกรบกวนการทำงาน หรือสูญเสียหน้าที่ สารต่างๆ จะไหลออกจากเซลล์เป็นผลให้เซลล์แบคทีเรียเกิดการตาย จากการศึกษาของ Li *et al.* (2014) พบว่ากลไกการทำงานของ EPS อาจจะไปรบกวนผนังเซลล์เยื่อหุ้มไซโทพลาสซึมทำให้การเจริญของแบคทีเรียลดลง

3. สารต้านจุลินทรีย์ที่มีผลยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (protein synthesis inhibitors)

กระบวนการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์แบคทีเรีย เป็นกระบวนการที่สำคัญเช่นเดียวกับเซลล์มนุษย์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งไรโบโซมจะทำหน้าที่สร้างโปรตีนในแบคทีเรีย จะพบไรโบโซมชนิด 70S ประกอบด้วย หน่วยย่อย 30S และ 50S (ดังแสดงในภาพที่ 2.4) สารต้านจุลินทรีย์จะไปยับยั้งการสร้างไรโบโซมหน่วยย่อยชนิด 30S และ 50S ของเซลล์แบคทีเรีย ไรโบโซมมีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีนในสิ่งมีชีวิตเรียกทรานสเลชัน โดยการอ่านข้อมูลจาก mRNA ไปเป็น โปรตีน mRNA มีรหัสพันธุกรรม ซึ่งจะบอกถึงลำดับของกรดอะมิโนในโปรตีนนั้นๆเพื่อรวมกรดอะมิโนเดี่ยวให้เป็นพอลิเพปไทด์ (Yusupova *et al.* 2006 and Korostelev *et al.* 2006) Li *et al.* (2014) รายงานว่า EPS สามารถยับยั้งหรือรบกวนกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนภายในเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งขัดขวางการเจริญของแบคทีเรีย

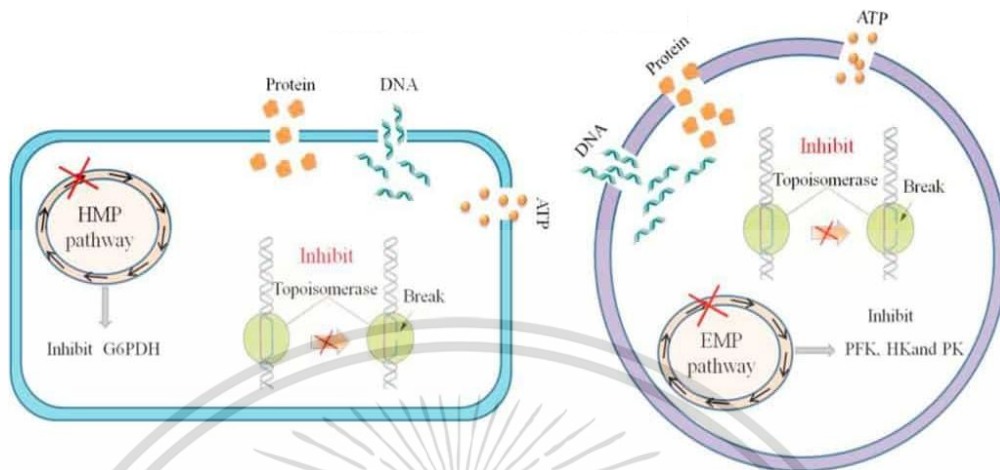


ภาพที่ 2.4 สารต้านจุลินทรีย์มีผลยับยั้งการสังเคราะห์ไรโบโซมโปรตีนชนิด 30s และ 50s
ที่มา: Mancini *et al.* (2003)

4. โดยสารต้านจุลินทรีย์ที่มีผลยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก (nucleic acid synthesis inhibitors) กรดนิวคลีอิกในเซลล์แบคทีเรีย ประกอบด้วย DNA และ RNA สารต้านจุลินทรีย์ที่มีผลยับยั้งการสังเคราะห์ RNA จะรบกวนกระบวนการ transcription ส่งผลให้ไม่เกิดการสร้าง mRNA เมื่อไม่มี mRNA เกิดขึ้นจะไม่มีการสร้างโปรตีนเกิดขึ้นในลำดับถัดไป ยาในกลุ่มนี้ ได้แก่ rifampin ส่วนยาปฏิชีวนะที่มีผลยับยั้งการสังเคราะห์ DNA มีกลไกการออกฤทธิ์โดยยาจะยับยั้งการทำงานของ DNA gyrase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการคลายตัวของเกลียว DNA ในระหว่างที่มีการจำลองตัวของ DNA เมื่อเอนไซม์ DNA gyrase ถูกยับยั้ง ส่งผลให้เกิดภาวะเครียดในเซลล์ และเซลล์แบคทีเรียตายในที่สุด (Ullah and Ali. 2017)

5. สารต้านจุลินทรีย์ที่มีผลยับยั้งกรดโฟลิก (folic acid metabolism inhibitors) กรดโฟลิกเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสำคัญในแบคทีเรีย ซึ่งทำหน้าที่เป็น cofactor ในการ

สังเคราะห์ DNA (ภาพที่ 2.5) เมื่อไม่มีการสร้างสารพันธุกรรมเซลล์ของแบคทีเรียจึงหยุดการเจริญเติบโต (Yusupova *et al.* 2006 and Korostelev *et al.* 2006)



ภาพที่ 2.5 กลไกการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยยับยั้งการสังเคราะห์ DNA
ที่มา: Cui *et al.* (2018)

2.4 การเสื่อมเสียเนื่องจากการออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์เนื้อโคจันรูปซู-วิด

2.4.1 การเสื่อมเสียเนื่องจากการออกซิเดชัน

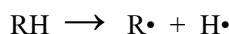
การออกซิเดชันของไขมันจัดเป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่ลดคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ในระหว่างการเก็บรักษา โดยสังเกตได้จากเกิดการเกิดกลิ่นหืนของผลิตภัณฑ์เนื่องจากการออกซิไดซ์กรดไขมันไม่อิ่มตัวในเนื้อสัตว์กลายเป็นอนุมูลอิสระของไขมัน เกิดเป็นสารประกอบกลุ่มไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และสลายต่อไปเป็นสารออกซิไดซ์ ซึ่งส่งผลต่อกลิ่นรส เนื้อสัมผัส รวมไปถึงคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานนท์, 2553)

2.4.2 กลไกการเกิดออกซิเดชันของไขมัน

กระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation) คือกระบวนการเสื่อมสภาพของไขมัน โดยเกิดการออกซิเดชันจากการที่อนุมูลอิสระดิงเอาอิลเล็กตรอนออกจากไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์แล้วทำให้เซลล์เสียหาย มีโอกาสเกิดในกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีพันธะคู่หลายคู่ (PUFA) ได้บ่อยมากที่สุด เพราะพันธะคู่มี methylene (-CH₂-) และมีอะตอมไฮโดรเจนที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยามาก กระบวนการนี้มี 3 ขั้นตอน คือ ปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น (initiation) ปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่อง (propagation) และปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย (termination) เรียกผลผลิตของปฏิกิริยานี้ว่า ลิพิดเปอร์ออกไซด์ (lipid peroxide) (Eitenmiller and Lee, 2004 and Reische *et al.* 2008)

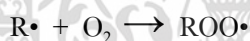
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น (initiation) ปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้นเป็นขั้นตอนที่มีอนุมูลอิสระที่เรียกว่า อนุมูลอัลคิล (alkyl radical, R•) เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างกรดไขมันไม่อิ่มตัวกับออกซิเจน โดยมีความร้อน แสง รังสี อีออนของโลหะ หรือฮีม (beam) เป็นตัวเร่ง ดังสมการ

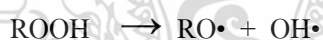


สามารถวิเคราะห์กลไกการเกิดออกซิเดชันได้ด้วยค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value; PV) โดยการหาปริมาณเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นในไขมัน โดยเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชัน จะเกิดการออกซิเดชันได้ง่ายในระหว่างพันธะคู่กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Rajalakshmi and Narasimhan, 1996)

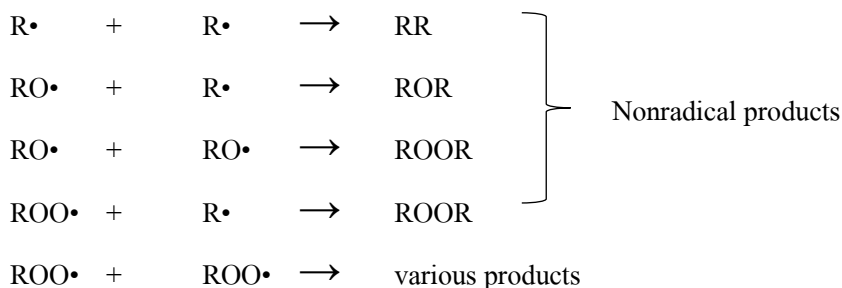
2. ปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่อง (propagation) ปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่องเป็นขั้นตอนที่อนุมูลอัลคิล (R•) ที่เกิดขึ้นในขั้นต้นทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxyl radical, ROO•) และอนุมูลเปอร์ออกซิลที่เกิดขึ้นนี้จะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัวอื่น ทำให้เกิดสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (ROOH) และอนุมูลอัลคิล (R•) เกิดขึ้น ดังสมการ



ซึ่งสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (ROOH) ที่เกิดขึ้นนี้ เป็นสารที่ไม่เสถียรหรือไม่มีความคงตัว สามารถเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระอื่น ๆ เช่น อนุมูลอัลคอกซิล (alkoxyl radical, RO•) ที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระแบบเดิมไปเรื่อย ๆ แบบลูกโซ่

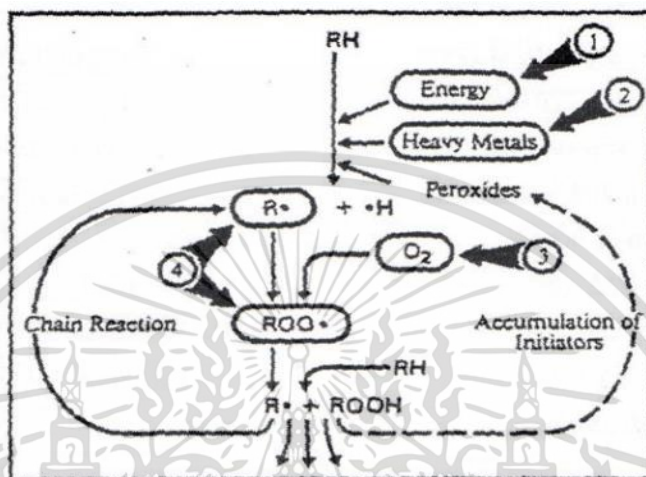


3. ปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย (termination) ปฏิกิริยาขั้นสุดท้ายเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น เกิดการรวมตัวกันในรูปต่างๆ ทำให้เกิดสารที่มีความคงตัวและทำให้ปฏิกิริยาลึกลับลดลง ไม่เกิดปฏิกิริยาต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถวิเคราะห์กลไกการเกิดออกซิเดชันได้โดยการวิเคราะห์ค่า thio barbituric acid reactive substances (เรียกลย่อว่า TBARS) เป็นสารที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation) โดยการวัด ปริมาณแอลดีไฮด์ (aldehyde) ในรูปมาโลนาลแอลดีไฮด์ (malonal aldehyde) ที่มีอยู่ในน้ำมัน



ภาพที่ 2.6 ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

ที่มา: Olsen. (2007)

การออกซิเดชันของไขมันสามารถชะลอการเกิดปฏิกิริยาให้ช้าลงได้ (ดังภาพที่ 2.6) คือ

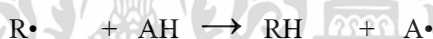
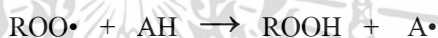
1. ลดปริมาณความร้อนและแสงลง โดยการเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ในที่เย็นและมีด
2. อย่าให้มีกรปนเปื้อนของโลหะหนักต่างๆ เนื่องจากการมีโลหะหนักปนเปื้อนมาก แม้ในปริมาณเพียงแค่ 0.1 – 1 ppm ก็สามารถเร่งการออกซิเดชันให้เร็วขึ้น
3. ป้องกันไม่ให้สัมผัสกับออกซิเจน โดยเก็บในภาชนะปิด
4. ใช้สารต้านออกซิเดชันทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ เพื่อหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบลูกโซ่

2.4.3 สารต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมัน

สารต้านออกซิเดชัน หรือสารต้านอนุมูลอิสระ คือสารปริมาณน้อยที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ ได้สารเหล่านี้มีกลไกการต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับ กับเหล็ก ป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ เป็นต้น ปกติร่างกายคนเรานั้นจะมีสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติหลากหลายชนิดทั้งที่เป็นเอนไซม์เช่น superoxide dismutase, catalase และ glutathione เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

peroxidase เป็นต้น และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น Urate, Bilirubin เนื่องจากสารเหล่านี้มีจำนวนจำกัด ดังนั้นเมื่อใดก็ตามที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นเกินกว่าจะกำจัดได้หมด อาจจะทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย ดังที่กล่าวมาแล้วข้างนอกจากนี้พวกวิตามินบางชนิด เช่น เบต้าแคโรทีน วิตามินซี วิตามินอี รวมทั้งสารประกอบกลุ่ม polyphenols ต่างๆ ซึ่งมีรายงานพบมากในผัก ผลไม้ทั่วไปยังจัดเป็นสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากแหล่งธรรมชาติ สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทตามลักษณะการออกฤทธิ์คือ (Eitenmiller and Lee, 2004 ; Reische *et al.* 2008)

1) สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ เป็นสารที่สามารถยับยั้งกลไกการเกิดออกซิเดชันในปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น (initiation) โดยการให้อนุมูลไฮโดรเจน H• หรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระโดยตรงเป็นผลให้อนุมูลนั้นกลายเป็นสารที่มีความเสถียรขึ้น และไม่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาโดยสารต้านอนุมูลอิสระจับกับ Peroxyl (ROO•) สารออกฤทธิ์ในลักษณะดังกล่าวได้แก่ สารประกอบกลุ่ม phenolic เช่น flavonoids, eugenol และ vanillin

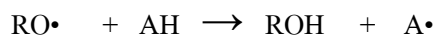
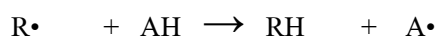


ทำให้สารอนุมูลอิสระที่ทำปฏิกิริยากับ AH จะไม่เปลี่ยนไปเป็นสารอนุมูลอิสระอีกครั้งซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระจะกลายเป็น antioxidant radical (A•) ซึ่งเป็นสารคงตัว ไม่ทำให้เกิดออกซิเดชัน และสารต้านออกซิเดชันที่เป็นอนุมูลอิสระจะจับกับ peroxy radical (ROO•), (RO•), และ (R•) เช่น tocopherol, BHT, BHA, TBHQ, และ แคโรทีนอยด์ เป็นต้น



2) สารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ สารต้านอนุมูลอิสระประเภทนี้จะไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระแต่จะช่วยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิในลักษณะต่างๆ เช่น จับกับเหล็ก Fe^{2+} ดักจับออกซิเจน ครอบขั้วรังสียูวี เป็นต้น

2.1 ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) สามารถยับยั้งกลไกการเกิดออกซิเดชันในปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น (initiation) โดยยับยั้งการออกซิเดชันโดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ และยังมีฤทธิ์เป็นสารรีดิวซ์ ทำหน้าที่เป็นสารส่งผ่านอิเล็กตรอน เช่น วิตามิน หรือ แอสคอบิก ดังสมการ



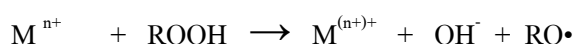
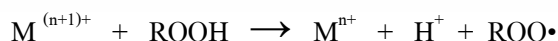
2.2 ยับยั้งการทำงานของ singlet oxygen (singlet oxygen quenching) สามารถยับยั้งกลไกการเกิดออกซิเดชันในปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่อง (propagation) สารกลุ่มแคโรทีนอยด์สามารถยับยั้งการทำงานของ singlet oxygen โดยการเปลี่ยน singlet oxygen ($^1O_2^*$) ให้อยู่ในรูป triplet oxygen (3O_2) และปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปแบบความร้อน และกลับไปเป็นพลังงานดังสภาวะปกติ ดังสมการ



2.3 จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) สามารถยับยั้งกลไกการเกิดออกซิเดชันในปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น (initiation) สารที่สามารถจับกับโลหะที่สำคัญเหล่านี้คือ Fe^{2+} หรือ Cu^{2+} ได้แก่ flavonoids, phosphoric acid และ citric acid เป็นต้น



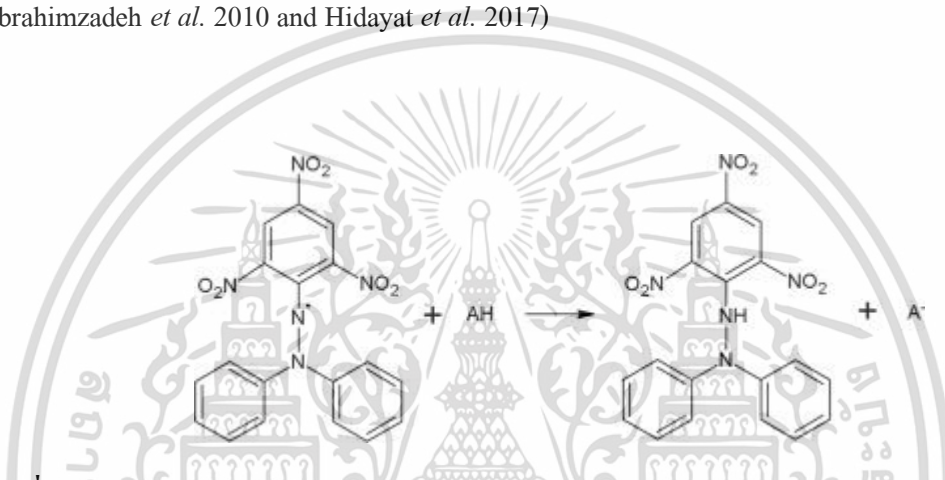
โลหะหนักทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ROOH) เกิดสารประกอบไม่คงตัวสลายตัวทำให้เกิดอนุมูลอิสระเปอร์ออกซิล (ROO \cdot) และอัลคอกซิล (RO \cdot) และเหนี่ยวนำทำให้เกิดการออกซิเดชันต่อไป ดังสมการ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4 วิเคราะห์การต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมัน

1. วิธีทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระ DPPH radical-scavenging activity เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันในปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น (initiation) (Shama and bhat. 2009 and Ebrahimzadeh *et al.* 2010) อนุมูล DPPH[•] เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วง ซึ่งใช้ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็น stable radical ในตัวทำละลาย methanol สารละลายมีสีม่วง และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดย DPPH[•] จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species (R[•]) (ดังภาพที่ 2.7) จะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง (Ebrahimzadeh *et al.* 2010 and Hidayat *et al.* 2017)



ภาพที่ 2.7 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของอนุมูล DPPH กับสารต้านอนุมูลอิสระ (AH)

ที่มา: Hidayat *et al.* (2017)

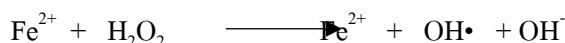
ถ้าตัวอย่างมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มของสารละลายสีม่วงจะลดลง ซึ่งจะรายงานผลการทดลองเป็นค่า 50% effective concentration (EC₅₀) ซึ่งหมายถึงปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH[•] เหลืออยู่ 50% (Gil *et al.* 2002)

2. วิธีทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์สาร (reducing power) เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันในปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น (initiation) มีความสามารถของการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน ระดับขั้นของสารที่ต้องการทดสอบ สามารถใช้หาความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้ซึ่งวิธีนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์ หรือให้อิเล็กตรอนของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบแก่สารอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้นภายในระบบ โดยสารที่ต้องการทดสอบจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระแล้วทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัว อีกทั้งยังสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระอีกด้วย โดยอาศัยจากการวัดปฏิกิริยา reduction ของ Fe³⁺(CN)₆⁻ ไปเป็น Fe²⁺(CN)₆⁻ ซึ่งจะทำให้มีสีน้ำเงินที่เข้มข้น สามารถตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ได้ จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 nm ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้น แสดงถึง ความสามารถในการรีดิวซ์ที่มากขึ้น (Oyaizu *et al.* 1986)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. วิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity อนุมูลอิสระ hydroxyl radical (OH•) เป็นอนุมูลอิสระที่ว่องไว สามารถเกิดการออกซิเดชันได้ โดยการเกิดปฏิกิริยาถูกโซ่อย่างต่อเนื่อง (Spencer *et al.* 1994) โดยแบ่งเป็น 2 กลไกได้แก่

1. ปฏิกิริยาของไฮดรอกซิลเพอร์ออกไซด์ (H₂O₂) แม้ว่าเกลือของโลหะทรานซิชันทั่วไปจะทำปฏิกิริยากับ H₂O₂ ได้ OH• เรียกว่า fenton reaction ดังสมการ



2. การแตกตัวของน้ำเนื่องจากถูกแสงหรือรังสี ดังสมการ



ในการศึกษาความสามารถในการยับยั้ง OH• radical ของสารตัวอย่างต้องทำการสังเคราะห์ Hydroxyl radical (OH•) จากน้ำตาล deoxyribose โดยปฏิกิริยา fenton reaction model system ทดสอบที่มีความสามารถในการยับยั้ง OH• radical จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm (Mathew and Abraham, 2006)

4. Superoxide radical scavenging activity อนุมูลอิสระ superoxide anion radical (O₂⁻) เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันในปฏิกิริยาต่อเนื่อง (propagation) เป็นอนุมูลเริ่มแรกที่เกิดขึ้นในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและเป็นตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นๆอีกมากมายจากการเกิดปฏิกิริยาถูกโซ่ นอกจากจะทำให้อนุมูลอิสระมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นแล้ว ฤทธิ์และความแรงของอนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาถูกโซ่เป็นอันตรายสูงขึ้นไปด้วยแต่ตัวของ O₂⁻ จะมีความว่องไวน้อยกว่า OH• ซึ่งการเกิด O₂⁻ เป็นดังสมการ



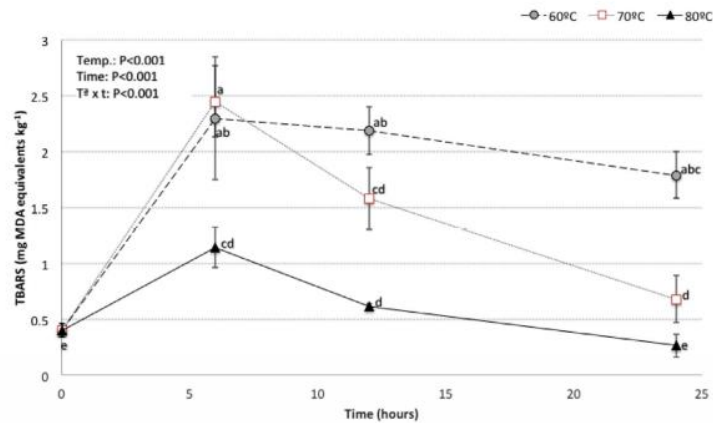
เมื่อ O₂⁻ ทำปฏิกิริยากับ H₂O₂ จะทำให้เกิด H• เรียกว่า Haber-Weiss reaction (Kappus, 1992) ดังสมการ



การศึกษาสมบัติการเป็นสารจับ O₂⁻ ของสารตัวอย่าง ซึ่ง O₂⁻ จะผลิตมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารในระบบ phenazine methosulphate (PMS) – nicotinamide adenine dinucleotide (NADH)

Roldan *et al.* (2014) ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อระยะเวลาในการเกิดออกซิเดชันของโปรตีนและไขมันของสเต็มเนื้อแกะชู-วิด (ภาพที่ 2.8) ชู-วิดที่อุณหภูมิ 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส และเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส 25 ชั่วโมงค่า TBARS สูงกว่าค่าเริ่มต้น จากการทดลองสรุปได้ว่า การชู-วิดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นช่วงอุณหภูมิที่เกิดการออกซิเดชันต่ำสุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิอื่น

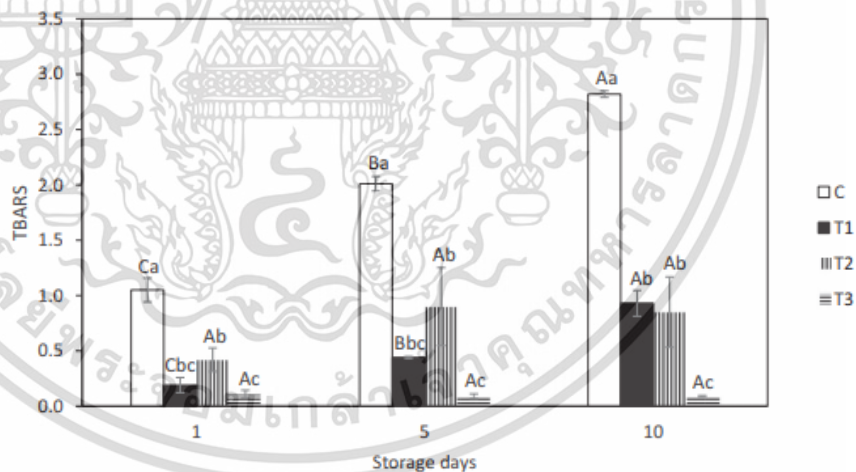
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.8 ค่า TBARS ของอุณหภูมิที่แตกต่างกันในการชู-วิด ที่ส่งผลต่อการออกซิเดชันในเนื้อแกะชู-วิด

ที่มา : (Roldan et.al. 2014)

Zahid *et al.* (2020) ได้ทำการศึกษาการเกิดการออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์แพดตี้เนื้อโคปรุงสุกเก็บในที่เย็น ต่ออายุในการเก็บรักษา (ภาพที่ 2.9) พบว่าการเติมสารต้านการเกิดออกซิเดชันสามารถช่วยยืดอายุในการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้น ที่การเก็บรักษาวันที่ 10 พบว่าผลิตภัณฑ์กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้มีการเติมสารต้านออกซิเดชัน มีค่า TBARS สูงที่สุด



ภาพที่ 2.9 ผลค่า TBARS (mg MDA / กิโลกรัม) ของแพดตี้เนื้อโคปรุงสุกระหว่างการเก็บรักษาในตู้เย็น C: การควบคุม, T1: เติมBHT 0.02%, T2: เติมกรดแอสติก 0.05%, T3: เติมสารสกัดจากพลู 0.1%

ที่มา : Zahid *et al.* (2020)

2.5 เอกโซโพลีแซคคาไรด์ (Exopolysaccharide ; EPS)

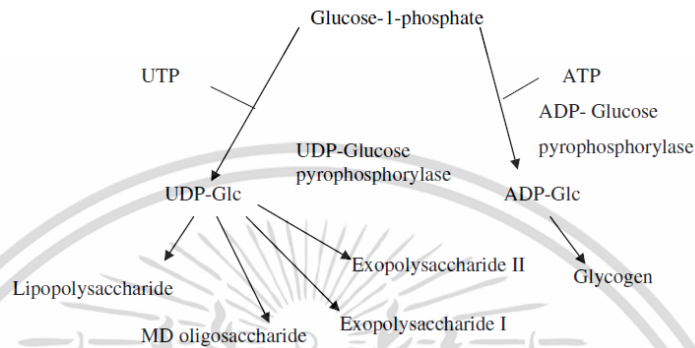
เอกโซโพลีแซคคาไรด์ ผลิตได้จากแบคทีเรียในขณะที่มีการเจริญและขับออกมานอกเซลล์ ในการผลิตเอกโซโพลีแซคคาไรด์จากแบคทีเรียโดยกระบวนการหมัก จะได้เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่มีความหลากหลาย และมีสมบัติเฉพาะตัวมากกว่าโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากพืช การผลิตโพลีแซคคาไรด์จากเชื้อแบคทีเรีย มีข้อดีคือสามารถผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้จำนวนมาก และสามารถควบคุมคุณภาพของโพลีแซคคาไรด์ได้ โดยควบคุมสภาวะในกระบวนการหมักการผลิต ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอกโซโพลีแซคคาไรด์จากเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ อาหาร อุณหภูมิ พีเอช แหล่งคาร์บอน และสภาวะในการหมัก ตลอดจนสายพันธุ์แบคทีเรีย (Vuyst and Dessest. 1999)

การสังเคราะห์ของโพลีแซคคาไรด์แบ่งเป็น 3 กลุ่มคือ 1. exopolysaccharide 2. capsular polysaccharides และ 3. intracellular polysaccharide การสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ของแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับเอนไซม์และโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ กลุ่มยีนส์สังเคราะห์ทำหน้าที่ควบคุมการถอดรหัสและแปลสัญญาณ โดยมี biofilm growth node เหนี่ยวนำให้สังเคราะห์โพลีแซคคาไรด์ การสังเคราะห์โพลีแซคคาไรด์ควบคุมด้วยกลไกการแลกเปลี่ยนของคาร์บอน ในการสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์โมเลกุลใหญ่ด้วยเอนไซม์สังเคราะห์ไซโตพลาสซึม แล้วย้ายออกมานอกเมมเบรน (Rehm. 2010) ส่วนใหญ่คล้ายกับกระบวนการผลิตโพลิเมอร์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย, peptidoglycan และ lipopolysaccharide โดยการสังเคราะห์จะเกิดขึ้นที่เยื่อหุ้มเซลล์และส่งออกไปยังพื้นที่ภายนอกเยื่อหุ้มเซลล์ไซโตพลาสซึม เอกโซโพลีแซคคาไรด์กลุ่ม levans, alternans และ dextrans จะถูกสังเคราะห์โดยกระบวนการนอกเซลล์ (Kumar *et al.* 2006)

เอกโซโพลีแซคคาไรด์ คือ โพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ในขณะที่มีการเจริญและขับออกมานอกเซลล์ ในการผลิตเอกโซโพลีแซคคาไรด์จากจุลินทรีย์โดยกระบวนการหมัก จะได้เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่มีความหลากหลาย และมีสมบัติเฉพาะตัวมากกว่าโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากพืช การผลิตโพลีแซคคาไรด์จากเชื้อแบคทีเรีย มีข้อดีคือสามารถผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้จำนวนมาก และสามารถควบคุมคุณภาพของโพลีแซคคาไรด์ได้ โดยควบคุมสภาวะในกระบวนการหมักการผลิต ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอกโซโพลีแซคคาไรด์จากเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ อาหาร อุณหภูมิ พีเอช แหล่งคาร์บอน และสภาวะในการหมัก ตลอดจนสายพันธุ์แบคทีเรีย (Vuyst and Dessest. 1999)

2.5.1 กระบวนการผลิตและสังเคราะห์ Exopolysaccharide

การสังเคราะห์ exopolysaccharide ส่วนใหญ่คล้ายกับกระบวนการผลิตพอลิเมอร์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย, peptidoglycan และ lipopolysaccharide (ภาพที่ 2.10) โดยการสังเคราะห์จะเกิดขึ้นที่เยื่อหุ้มเซลล์และส่งออกไปยังพื้นที่ภายนอกเยื่อหุ้มเซลล์ไซโตพลาสซึม แต่ levans, alternans และ dextrans จะถูกสังเคราะห์โดยกระบวนการนอกเซลล์ (Kumar *et al.* 2006)



ภาพที่ 2.10 Pathway anabolism ของกลูโคสในแบคทีเรียแกรมลบ

ที่มา : Kumar *et al.* (2006)

การสังเคราะห์ exopolysaccharide ภายในเซลล์ (intracellular synthesis) เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์อยู่ในตำแหน่งต่างๆ ภายในเซลล์แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม (Kumar *et al.* 2006)

กลุ่มที่ 1 พบภายในเซลล์ในกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์ เช่น hexokinase ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องใน phosphorylation ของกลูโคส (Glc) เป็นกลูโคส -6- ฟอสเฟต (Glc-6-P) และ phosphoglucomutase จะเปลี่ยนกลูโคส -6- ฟอสเฟต (Glc-6-P) เป็น กลูโคส -1 ฟอสเฟต (Glc-1-P)

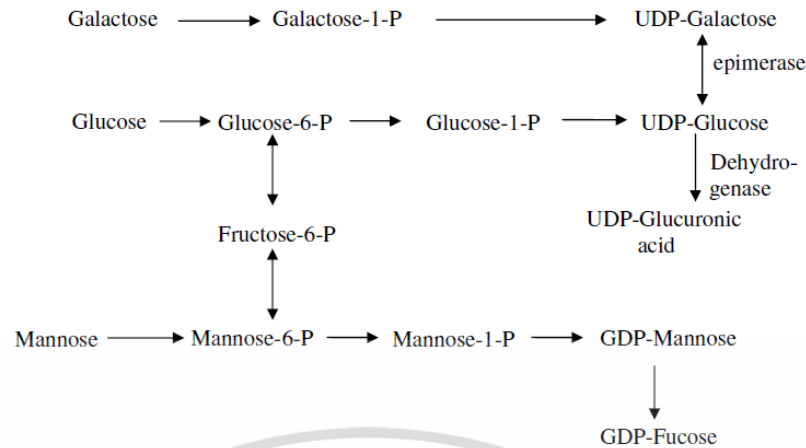
กลุ่มที่ 2 พบภายในเซลล์ได้แก่ uridine diphosphate-glucose pyrophosphorylase (UDP-glucose pyrophosphorylase) เป็นตัวเร่งการเปลี่ยน Glc-1-P เป็น uridine diphosphate กลูโคส (UDP-Glc) ซึ่งเป็นโมเลกุลสำคัญในการสังเคราะห์ exopolysaccharide (ภาพที่ 2.11) บทบาทของน้ำตาลนิวคลีโอไทด์มี 2 บทบาทคือ 1.) น้ำตาลนิวคลีโอไทด์สามารถเปลี่ยนเป็นน้ำตาลโมเลกุลอื่น: ตัวอย่างเช่น UDP-Glc \rightarrow UDP-Gal กลายเป็น UDP-Gal-4-epimerase หรือ UDP-Glcuroic acid (UDPGlcA) กลายเป็น UDP-Glc dehydrogenase และ 2.) น้ำตาลนิวคลีโอไทด์เป็นแหล่งของ monosaccharide ที่ตกค้างในระหว่างการสังเคราะห์ exopolysaccharide

กลุ่มที่ 3 เอนไซม์กลุ่มนี้อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ periplasmic เรียกว่า glycosyl transferases โดยจะถ่ายโอนน้ำตาลนิวคลีโอไทด์ UDP-Glc หรือ UDP-Gal หรือ UDP-GlcA ไปยังหน่วยทำซ้ำที่ติดอยู่กับไขมัน glycosyl carrier

กลุ่มที่ 4 เอนไซม์กลุ่มนี้อยู่ภายนอกเยื่อหุ้มเซลล์และผนังเซลล์ มีส่วนเกี่ยวข้องในการเกิดพอลิเมอร์ไรเซชันของ macromolecules จากนั้น exopolysaccharide จะถูกดึงออกมาจากผิวเซลล์เพื่อ

ก่อตัวเป็นเมือกหลวม ๆ หรือแคปซูลโพลีแซคคาไรด์ที่ติดอยู่รอบ ๆ เซลล์

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.11 ระบบ Catabolic ในการสังเคราะห์น้ำตาลนิวคลีโอไทด์

ที่มา : Kumar *et al.* (2006)

การสังเคราะห์ exopolysaccharide ภายนอกเซลล์ (extracellular synthesis) มีกลุ่มอะซิดซึ่งประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์จำนวนมาก การสังเคราะห์ทางชีวภาพของโมเลกุลดังกล่าวเกี่ยวข้องกับกลไกการสร้าง acetate, pyruvate, succinate, ฟอสเฟต และซัลเฟต กลุ่ม acetyl เพิ่มขึ้นจาก acetyl CoA ส่วน phosphoenol pyruvate เป็นสารตั้งต้นของ pyruvate ใน methylated polysaccharides ของทั้งยูคาริโอตและโพรคาริโอตกลุ่ม methyl ได้จากเมธิโอนีนหรือ S-adenosyl methionine น้ำตาล O-methyl จะถูกนำเข้าสู่ exopolysaccharides ที่ระดับ isoprenoid lipid-linked polysaccharide

การสังเคราะห์ exopolysaccharides ภายนอกเซลล์คือ dextran, alternan และ levan

1.) Dextran เป็น homopolysaccharide ที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันผลิตโดย *Leuconostoc mesenteroides* โดย Dextranucrase เป็น glucosyltransferase เปลี่ยนจากซูโครสเป็นกลูโคส ไปยังจุดสิ้นสุดของห่วงโซ่เดกซ์แทรน ปฏิกิริยาโดยรวมคือ $\text{Sucrose} \rightarrow \text{dextran} + \text{D-fructose}$

2.) Alternan สร้างโดย *leuconostoc mesenteroides* โดย alternanucrase จะสังเคราะห์ alternan และกลูแคน เกิดปฏิกิริยา คือ $\text{sucrose} \rightarrow \text{alternan} + \text{fructose}$

3.) Levan เป็น β -2,6-fructan ผลิตภายนอกเซลล์โดย *Bacillus*, *Erwinia* และ *Gluconobacter* spp. โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยใช้เอนไซม์ levansucrase เกิดปฏิกิริยา คือ $\text{sucrose} \rightarrow \text{levan} + \text{D-glucose}$

exopolysaccharide ที่ผลิตโดย *B. subtilis* ประกอบด้วย D-fructose เป็นฟรุคโตสโพลิเมอร์ที่มีกลูโคสตกค้างซึ่งเชื่อมโยงกับฟรุคโตสซิว Levan สามารถสังเคราะห์ได้นอกเซลล์หลังจากการอัดขึ้นรูปของเอนไซม์ extracellular levansucrase (Marvasi *et al.* 2010) ซึ่ง *Bacillus subtilis* ได้รับการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (FDA) ให้เป็นเชื้อที่ได้รับ Generally Recognized as Safe (GRAS) คือได้รับการยอมรับโดยทั่วไปแล้วว่าปลอดภัยสามารถนำมาใช้ในการแปรรูปอาหาร เช่น ใช้เป็นสารให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความคงตัว สารต้านจุลินทรีย์หรือสารกันบูด เป็นต้น(FDA. 2018) และหน่วยงานความปลอดภัยอาหารแห่งสหภาพยุโรป (The European Food Safety authority: EFSA) โดยคณะกรรมการพิจารณาสารเจือปนผลิตภัณฑ์และสารเคมีที่ใช้ในอาหารสัตว์ (FEEDAP) ผลการตรวจสอบความปลอดภัยในสปีร์ที่มีชีวิตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ PB6 พบว่ามีความปลอดภัยที่จะใช้เป็นวัตถุเจือปนในอาหารได้ และถูกจัดอยู่ในกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่เป็นอันตราย ไม่ก่อให้เกิดสารพิษหรือต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ และมีความปลอดภัยต่อสัตว์ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม (มกอช. 2558)

ตารางที่ 2.3 จุลินทรีย์ที่ผลิต Exopolysaccharide ที่เป็นที่ยอมรับทางการแพทย์

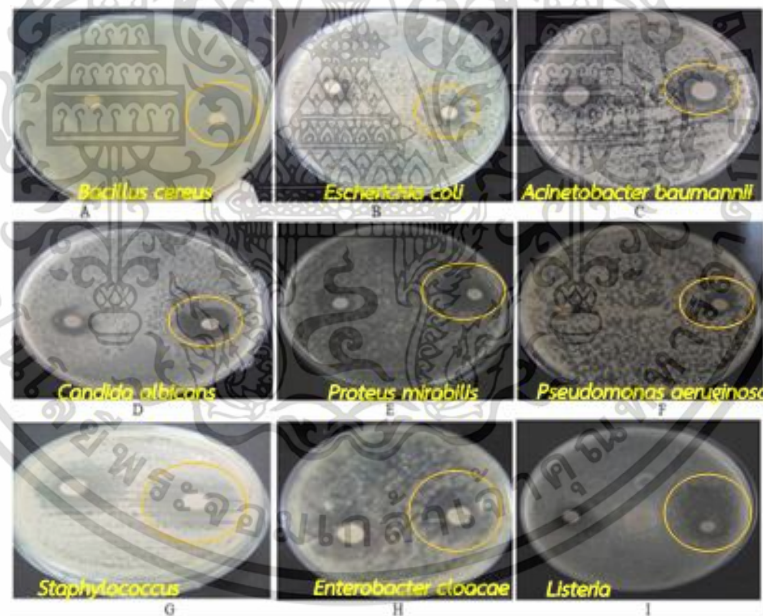
EPS	ตำแหน่งพอลิเมอร์	องค์ประกอบโมโนเมอร์	จุลินทรีย์ผู้ผลิตหลัก	การประยุกต์ใช้
Dextran	Extracellular	Glucose	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	เพิ่มระดับพลาสมาในเลือด
Xanthan	Extracellular	Glucose (2), mannose (2), glucuronic acid, acetate, pyruvate	<i>Xanthomonas campestris</i>	วัตถุเจือปนอาหาร เช่น ช่วยเรื่องการคงตัวของอิมัลชัน
Alginate	Extracellular	Mannuronic acid, guluronic acid, acetate	<i>Azotobacter vinelandii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ใช้ทางการแพทย์
Gellan	Extracellular	Glucose, rhamnose, glucuronic acid, glycerate, acetate	<i>Sphingomonas paucimobilis</i> (formerly <i>Pseudomonas elodea</i>)	สารเติมแต่งอาหาร, วัตถุเจือปนอาหาร
Hyaluronic acid/hyaluronan	Extracellular	Glucuronic acid, N-acetyl-glucosamine	<i>Streptococcus equisimilis/zooepidemicus</i> ; <i>Bacillus subtilis</i> (recomb. <i>Str. equisimilis</i>)	เครื่องสำอางค์ และใช้ทางการแพทย์

ที่มา :ดัดแปลงจาก Moscovici (2015) และ Kumar *et al.* (2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการรวบรวมข้อมูลของ Moscovici. (2015) ระบุว่า *Bacillus subtilis* ผลิต EPS กลุ่ม hyaluronic acid/hyaluronan กระบวนการสังเคราะห์เกิดขึ้นภายนอกเซลล์ โครงสร้างหลักประกอบด้วย β -(1,4)-heteropolymer ประกอบด้วย disaccharide หลายๆหน่วย องค์ประกอบหลักคือ Glucuronate and N-acetyl glucosamine สารตั้งต้นในการผลิต EPS คือ UDP-d-glucuronate and UDP-N-acetyl glucosamine การผลิต hyaluronic acid ต้องใช้โปรตีนเดี่ยวคือ hyaluronic acid synthase (HasA) สำหรับการกระบวนการพอลิเมอร์ไรเซชันและการหลั่งออกมาภายนอกเซลล์ กระบวนการสังเคราะห์ทางชีวภาพประกอบด้วย กลไกการหลั่งโพลิเมอร์ไรเซชัน ที่ใช้ในการสังเคราะห์ xanthan ซึ่งต้องใช้ตัวพาไขมันสำหรับการถ่ายโอน oligosaccharide ของหน่วยทำซ้ำ ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ไซโทพลาซึม เช่น อัลจินเนต และเซลลูโลส (Rehm. 2010)

Nehal *et al.* (2019) ได้ทำการศึกษาด้านการเจริญของจุลินทรีย์ของ Exopolysaccharide โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับไนซิน พบว่า EPS มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้หลายชนิด (ภาพที่ 2.12) เมื่อเปรียบเทียบกับ nisin ซึ่งเป็นสารต้านจุลินทรีย์ทางการค้าที่ผลิตจากแบคทีเรีย พบว่า EPS มีความสามารถในการต้านแบคทีเรียใกล้เคียงกับ ไนซินโดยสังเกตจากพื้นที่การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค



ภาพที่ 2.12 การต้านจุลินทรีย์ของ EPS ที่ 50 มก./มล. (paperdisk ทางขวา) ยับยั้ง *Bacillus cereus* ATCC 10702 (A), *Escherichia coli* ATCC 8739 (B), *Acinetobacter baumannii* ATCC BAA-1710 (C), *Candida albicans* ATCC 10231 (D), *Proteus mirabilis* ATCC 7002 (E), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 49189 (F), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (G), *Enterobacter cloacae* ATCC13047 (H), *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 (I) เปรียบเทียบกับ nisin (paperdisk ทางซ้าย)

ที่มา : Nehal *et al.* (2019)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาของ Li *et al.* (2013) ศึกษาผล ต้านการเกิดการออกซิเดชันของ EPS แสดงให้เห็นว่า EPS สามารถต้านการเกิดการออกซิเดชันได้ (ตารางที่ 2.4) โดยในการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันของ EPS-3 ผลจากการทดสอบ DPPH, Superoxide radical และ Hydroxyl radical มีค่า EC50 คือ 1.38, 3.43 และ 0.11 mg / mL ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้ใกล้เคียงกับวิตามินซี ซึ่งเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 2.4 ความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันของ EPS

	DPPH radical	Superoxide radical	Hydroxyl radical	Reducing power
CEPS	1.62±0.07 ^B	4.06±0.09 ^C	0.17±0.01 ^B	0.882±0.029 ^C
EPS-1	4.46±0.009 ^B	>8.00	0.34±0.04 ^C	0.521±0.017 ^A
EPS-2	>5.00	>8.00	0.87±0.03 ^D	0.496±0.019 ^A
EPS-3	1.38±0.05 ^B	3.43±0.09 ^B	0.11±0.01 ^A	0.632±0.021 ^B
Vc	0.32±0.01 ^A	2.48±0.08 ^A	0.15±0.01 ^B	1.492±0.064 ^D

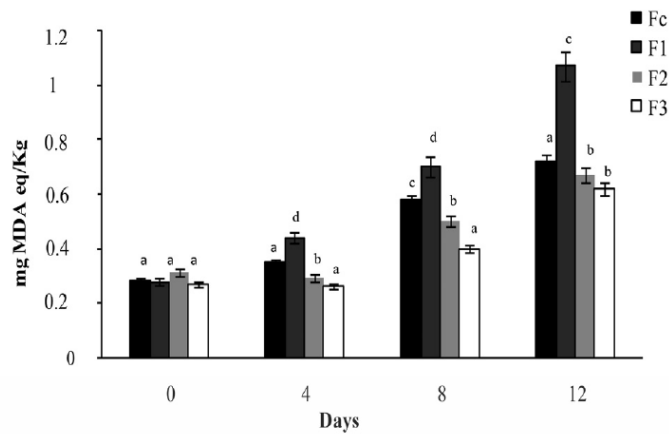
ที่มา : Li *et al.* (2013)

2.5.2 การประยุกต์ใช้ Exopolysaccharide ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

exopolysaccharide มีการนำมาใช้ในหลายอุตสาหกรรมไม่เพียงแต่ในอุตสาหกรรมอาหารเท่านั้น การใช้ Exopolysaccharide ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์พบว่าเริ่มมีการนำมาใช้ในหลายๆประเทศ แต่ในประเทศไทยการนำสารสกัด Exopolysaccharide มาใช้ในอาหารยังพบค่อนข้างน้อย ส่วนมากใช้ในการทดลองมากกว่าในอุตสาหกรรม

Korc and Vargac. (2021) รายงานว่า EPS ที่สร้างจากแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก เป็นวัตถุเจือปนอาหารเชิงพาณิชย์อีกทางเลือกหนึ่งที่ได้จากธรรมชาติ นอกจากช่วยด้านจุลินทรีย์แล้วยังช่วยผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีลักษณะทางเคมีกายภาพที่ดี การใช้ EPS ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีข้อดีหลายประการ เนื่องจากอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางรีโอโลยี (rheological) ที่ต้องการในอาหาร เช่น ความหนืดที่เพิ่มขึ้นจากการรวมตัวที่ลดลง และเนื้อสัมผัสที่ดีขึ้น นอกเหนือจากการมีคุณสมบัติในการทำให้เป็นอิมัลชันไฟเออร์ การทำให้ขึ้นและคงตัว ยิ่งไปกว่านั้น EPS ยังให้ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีลักษณะทางประสาทสัมผัสที่เป็นที่ต้องการมีความแน่น ความเป็นครีม และความรู้สึกสบายปาก หรือแม้กระทั่งสามารถนำไปใช้ในการเตรียมบรรจุภัณฑ์อาหาร (Angelin & Kavitha, 2020 and Moradi *et al.* 2021) การประยุกต์ใช้ EPS ที่ได้จากแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์สามารถลดหรือหลีกเลี่ยงการใช้สารเติมแต่งสังเคราะห์ ซึ่งไม่เพียงแต่หมายถึงการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเท่านั้น แต่ยังสามารถตอบสนองความต้องการของลูกค้าได้อีกด้วย อย่างไรก็ตามการใช้ EPS ที่ได้จากแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกไม่จำเป็นต้องบอกในฉลากของผลิตภัณฑ์ (Lynch *et al.* 2018)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.13 ผลของปฏิกิริยา thiobarbituric-acid ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเนื้อโค เก็บรักษา 0-12 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

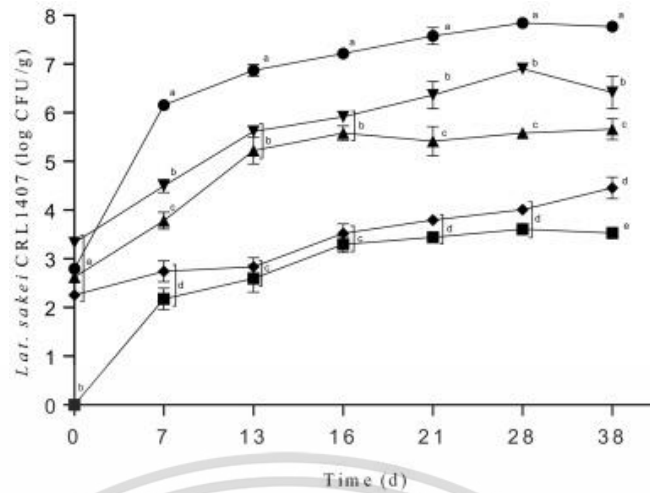
ที่มา : Trabelsi *et al.* (2018)

Trabelsi *et al.* (2018) ได้ทำการทดลองโดยใช้ EPS เป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเนื้อโคปรุงสุก (ภาพที่ 2.13) โดยแบ่งเป็น 4 ทรีตเมนต์คือ FC (ควบคุม): ไส้กรอกกับ Vit C, F1: ไส้กรอกที่ไม่มี Vit C หรือ EPS-Ca6, F2: ไส้กรอกกับ Vit C และ EPS ที่ความเข้มข้น 0.0625% และ F3: ไส้กรอกที่มี EPS-Ca6 เข้มข้น 0.125% ทดสอบคุณสมบัติด้วยวิธีการ thiobarbituric-acid พบว่าหลังจากเก็บรักษาในวันที่ 4 ไส้กรอกที่มี VitC และ EPS ความเข้มข้น 0.0625% (F2) และไส้กรอกที่มี EPS-Ca6 เข้มข้น 0.125% (F3) มีค่า TBARS ลดลง (0.29 และ 0.26 mg MDA eq / Kg ตามลำดับ) ซึ่งต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม (0.35 mg MDA eq / Kg) แสดงให้เห็นว่า EPS เมื่อเติมลงในไส้กรอกมีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับผลการทดลองในวันที่ 8 และ 12 พบว่ากลุ่ม F2 และ F3 มีค่า TBARS ลดลงมากกว่ากลุ่มควบคุม แสดงว่า EPS ที่ระดับความเข้มข้น 0.125% ที่เติมลงไป ไส้กรอก ก็มีสมบัติในการต้านการเกิดออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์ได้ เป็นเวลานานกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เติม และสามารถยืดอายุในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้

Segli *et al.* (2021) ได้ทำการศึกษาผลของ EPS ที่ผลิตจาก *Lactobacillus acidophilus* CRL641 (BE-1) และ *Latilactobacillus curvatus* CRL705 (BE-2) ด้านการเจริญของ *Latilactobacillus sakei* CRL1407 ในผลิตภัณฑ์เนื้อแผ่นในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าหลังจากเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 38 วัน (ภาพที่ 2.14) BE-1 และ BE-2 ช่วยลดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียลง 2.11 และ 1.35 log CFU / g ตามลำดับ แต่การใช้ EPS ทั้ง 2 คือ BE-1 และ BE-2 รวมกันทำให้การเจริญเติบโตลดลงมากขึ้น 3.31 log CFU / g ค่า pH ในผลิตภัณฑ์กลุ่มที่เติม EPS คงที่ แต่ในตัวอย่างกลุ่มควบคุมค่า pH ลดลงมากที่สุด ตรวจพบการเกิดออกซิเดชันของไขมันเล็กน้อย โดยค่าสีของผลิตภัณฑ์กลุ่ม BE-1 และ BE-1 + BE-2 ไม่มีเปลี่ยนแปลง การใช้ EPS เป็นสารควบคุมทางชีวภาพในการถนอมอาหารสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อแผ่นได้โดยไม่สูญเสียคุณภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.14 การเจริญของ *Latilactobacillus sakei* CRL1407 ในผลิตภัณฑ์เนื้อแผ่นในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ ช่วงระยะเวลาในการเก็บรักษา 38 วัน ที่อุณหภูมิ 4 °C แบ่งกลุ่มทดลอง 5 กลุ่มคือ (●) กลุ่มควบคุม, กลุ่ม Substrate control (■), BE-1 from *L. acidophilus* CRL641 (▲), BE-2 from *Lat. curvatus* CRL705 (▼) และ BE-1 + BE-2 (◆) *ตัวอักษร (a-e) ที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างการรักษาในเวลาเดียวกัน
ที่มา : Segli *et al.* (2021)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3. วิธีการดำเนินงาน

3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

- | | |
|---|----------------------------|
| 1) 2 – Thiobarbituric acid (TBARs) | (Sigma, Germany) |
| 2) Acetic acid | (Merck, Germany) |
| 3) Agar power | (Merck, Germany) |
| 4) Alcohol | (Merck, Germany) |
| 5) Barium chloride (BaCl ₂) | (Ajax finechem, Australia) |
| 6) Baird-Parker agar (BP-agar) | (Merck, Germany) |
| 7) Butylated hydroxyanisole (BHA) | (Chemipan, Thailand) |
| 8) Buffer peptone water | (Merck, Germany) |
| 9) Catalyst | (Merck, Germany) |
| 10) Calcium carbonate | (Ajax finechem, Australia) |
| 11) Deionized water | (Labvalley, Thailand) |
| 12) Dextrose tryptone agar | (Himedia, India) |
| 13) D(+)-Glucose | (Merck, Germany) |
| 14) Dipotassium hydrogen phosphate (K ₂ HPO ₄) | (Ajax finechem, Australia) |
| 15) DPPH | (Merck, Germany) |
| 16) Folin reagent | (Merck, Germany) |
| 17) Hektoen Enteric Agar | (Merck, Germany) |
| 18) Hydrochloric acid | (J.T.Baker, America) |
| 19) Kovac's Indole reagent | (Merck, Germany) |
| 20) L-ascorbic acid | (Sigma, Germany) |
| 21) Listeria selective Agar | (Merck, Germany) |
| 22) Magnesium sulfate (MgSO ₄) | (Merck, Germany) |
| 23) Methyl red-VogesProskauer (MR-VP) broth | (Merck, Germany) |
| 24) MRS agar | (Merck, Germany) |
| 25) Mueller hinton agar (MHA) | (Merck, Germany) |
| 26) Muller-Kauffmann Tetrathionate-Novobiocin broth (MKTTn) | (Merck, Germany) |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการวิจัยในเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้เผยแพร่เนื้อหาไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

27) Nicotinamide adenine dinucleotide (NADH)	(Merck, Germany)
28) Nitrient broth	(Merck, Germany)
29) Nitroblue Tetrazolium (NBT)	(Merck, Germany)
30) Novobiocin broth	(Merck, Germany)
31) Phenazine methosulfate (PMS)	(Merck, Germany)
32) Plate Count Agar (PCA)	(Merck, Germany)
33) Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)	(Merck, Germany)
34) Potato Dextrose Agar (PDA)	(Merck, Germany)
35) Simmon's citrate agar	(Merck, Germany)
36) Sodium caseinate	(Solution Ingredient, Thailand)
37) Sodium citrate	(Merck, Germany)
38) Sodium chloride (NaCl) 0.85 %	(Merck, Germany)
39) Sodium chloride	(Merck, Germany)
40) Sodium citrate	(Chemipan, Thailand)
41) Sodium Tripolyphosphate (STPP)	(Chemipan, Thailand)
42) Sulfuric acid (H_2SO_4)	(Merck, Germany)
43) Tartarlic acid	(Merck, Germany)
44) α -Tocopherol	(Merck, Germany)
45) Tranlglutaminase	(Ajinomoto, Thailand)
46) Trichloroacetic acid (TCA)	(Merck, Germany)
47) Tryptone broth	(Merck, Germany)
48) Tryptophan broth	(Merck, Germany)
49) Yeast extract	(Merck, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วัสดุ-อุปกรณ์ และเครื่องมือ

- 1) ตู้อบลมร้อน (Binder, Model FD 115, Germany)
- 2) เครื่องชั่งชนิดหยาบ (Tanita model 1144, Tanita Corporation, Japan)
- 3) เครื่องชั่งชนิดละเอียด (Sartorius, Basic, Germany)
- 4) ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Laminar Flow (Dwyer model merk II, USA)
- 5) ตู้บ่มเพาะเชื้อจุลินทรีย์ (WTB Binder model BD, Germany)
- 6) ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot-air oven, Memmert model CM500, Germany)
- 7) หม้อนึ่งความดันสำหรับฆ่าเชื้อ (Hirayama model HVE 50, Japan)
- 8) อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath, Memmert, Germany)
- 9) เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง (Vortex Mixer KMC-1300V, Korea)
- 10) เครื่องตีปั่นไฟฟ้า (Stomacher Bag Mixer 400 model VW, France)
- 11) ไมโครเวฟ (Toshiba model ER-G8C, Thailand)
- 12) เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็น
- 13) ไมโครปิเปต ขนาด 100, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร (Finnpipette F3, USA)
- 14) เครื่องวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Warner-Bratzler, Instron Model 1011)
- 15) เครื่องวัดค่าสีของเนื้อ (Hunterlab Mini Scan EZ)
- 16) เครื่อง Homogenizer (Ultra tarrax, Germany)
- 17) เครื่อง Centrifuge (Beckman Coulter model Avanti J-E, USA)
- 18) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Shimadzu model UV – 1601, Japan)
- 19) เครื่องวัดค่า กรด-ด่าง (Mettler Toledo medel SG-2, Switzerland)
- 20) เครื่องบ่มเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Mini Shaking Incubator Bench Top, Germany)
- 21) อ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิ
- 22) อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ
- 23) Autopipette ขนาด 10, 200, 1000 μ l และ 5, 10 ml
- 24) บีกเกอร์ขนาด 250, 500, 1000 ml
- 25) กระบอกตวง
- 26) หลอดทดลองขนาดเล็กและเครื่องแก้วชนิดและขนาดต่างๆ
- 27) กรวยกรอง
- 28) นาฬิกาจับเวลา
- 29) กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman 1) (Merck, Germany)
- 30) Disposable cuvette semi-micro

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 ขอบเขตการทดลอง แบ่งออกเป็น 3 การทดลองดังนี้

แผนการทดลอง

วัตถุประสงค์	กิจกรรม
<p>การทดลองที่ 1</p> <p>ศึกษากิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์ และการต้านออกซิเดชัน ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก <i>B. subtilis</i> LB23 และ <i>B. velezensis</i> LB24 ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วีค</p>	<p>1.1 ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วีค จัดกลุ่มการทดลองแบบ 8 x 4 Factorial in CRD โดยมีปัจจัยคือกลุ่มทดลองแบ่งออกเป็น 8 กลุ่มทดลอง ดังนี้</p> <ul style="list-style-type: none"> T1 กลุ่มควบคุม T2 กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 1.5% T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.18% T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.25% T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31% T6 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้น 0.18% T7 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้น 0.25% T8 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้น 0.31% <p>และระยะเวลาในการเก็บรักษาและสุ่มเก็บตัวอย่าง 4 ระยะเวลา คือ 0, 4, 8 และ 12 วัน ศึกษาสมบัติการต้านแบคทีเรีย ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วีค โดยเติมสารละลายแบคทีเรีย <i>Salmonella</i> Typhimurium, <i>S. aureus</i>, <i>L. monocytogenes</i>, และแบคทีเรียกรดแลคติก ปริมาณ 1×10^3 cfu/g ลงในผลิตภัณฑ์เนื้อชิ้นรูปซู-วีคและบรรจุในบรรจุภัณฑ์มาริเนตแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส ตรวจสอบวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ ดังนี้</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Salmonella</i> spp. - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Listeria monocytogenes</i> - Lactic acid bacteria <p>1.2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านการเกิดออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ในสารสกัดน้ำจากเนื้อโคในหลอดทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CBD โดยมีปัจจัยคือ กลุ่มทดลอง 8 กลุ่มทดลอง ดังนี้</p>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์	กิจกรรม
	<p>T1 กลุ่มควบคุม</p> <p>T2 กลุ่มเติม บีเอสเอ ความเข้มข้น 0.01%</p> <p>T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.18%</p> <p>T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.25%</p> <p>T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31%</p> <p>T6 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้น 0.18%</p> <p>T7 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้น 0.25%</p> <p>T8 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้น 0.31%</p> <p>เพื่อศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ ดังนี้</p> <p>1.2.1 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH)</p> <p>1.2.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical scavenging)</p>
<p>การทดลองที่ 2</p> <p>ศึกษาผลของกิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์ ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ได้รับการคัดเลือก ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปซู-วิด ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส</p>	<p>2.1 ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปซู-วิด วางแผนการทดลองแบบ 5 x 4 Factorial in CRD โดยมีปัจจัย คือ กลุ่มทดลอง ซึ่งแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มทดลอง ดังนี้</p> <p>T1 กลุ่มควบคุม</p> <p>T2 กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 1.5%</p> <p>T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.18%</p> <p>T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.25%</p> <p>T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31%</p> <p>เก็บรักษาและสุ่มเก็บตัวอย่าง 4 ระยะเวลาคือ 0, 4, 8 และ 12 วัน บรรจุในบรรจุภัณฑ์มาริเนตแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ ในผลิตภัณฑ์</p> <p>- Aerobic bacteria</p> <ul style="list-style-type: none"> • Psychrophilic bacteria • Mesophilic bacteria • Thermophilic bacteria

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์	กิจกรรม
	<ul style="list-style-type: none"> - Lactic acid bacteria - Mesophilic anaerobic bacteria - Anaerobic bacterial spore - Aerobic bacterial spore - ยีสต์ รา <p>2.2 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพของของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดในระหว่างการเก็บรักษา</p> <ul style="list-style-type: none"> - ค่าความเป็นกรด-ด่าง - ค่าสี (CIE L*, a* b*, chroma และ Hue angle) - ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการซู-วิด (Sous-vide loss, %) - ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์ (Purge loss, %) - ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการย่าง (Grilling loss, %) - ค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อ (Shear force) - ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม (TPA)
<p>การทดลองที่ 3</p> <p>ศึกษาผลของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นที่ได้รับคัดเลือก ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส</p>	<p>3.1 ศึกษาผลของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ ที่มีสมบัติด้านจุลินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด วางแผนการทดลองแบบ 5 x 2 x 8 Factorial in CRD โดยมีปัจจัยคือ กลุ่มทดลองแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มทดลอง ดังนี้</p> <ul style="list-style-type: none"> T1 กลุ่มควบคุม T2 กลุ่มเติม โขเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 1.5% T3 กลุ่มเติม บีเอสเอ ความเข้มข้น 0.01% T4 กลุ่มเติม โขเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 1.5% และ บีเอสเอ ความเข้มข้น 0.01% T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์	กิจกรรม
	<p>การเก็บรักษาที่ 4 และ 12 องศาเซลเซียส และสุ่มเก็บตัวอย่างทุกสัปดาห์เป็นระยะเวลา 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 วัน จากนั้นวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aerobic bacteria <ul style="list-style-type: none"> • Psychophilic bacteria • Mesophilic bacteria • Thermophilic bacteria - Lactic acid bacteria - Mesophilic anaerobic bacteria - Anaerobic bacterial spore - Aerobic bacterial spore - ยีสต์ รา - <i>S. aureus</i> - <i>Salmonella</i> spp. - <i>L. monocytogenes</i>. - <i>Escherichia coli</i> <p>3.2 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพของของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดในระหว่างการเก็บรักษา</p> <ul style="list-style-type: none"> - ค่าความเป็นกรด-ด่าง - การเกิดปฏิกิริยาการออกซิเดชันของไขมัน (TBARS) - ค่าสี (CIE L*, a* b*, chroma และ Hue angle) - ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์ (Purge loss, %) - ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการย่าง (Grilling loss, %) - ค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อ (Shear force) - ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม (TPA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การทดลองที่ 1 ศึกษากิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชัน ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *B. subtilis* LB23 และ *B. velezensis* LB24 ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปซู-วีค

3.4.1 ผลิตและสกัดเอกโซโพลีแซคคาไรด์ (crude exopolysaccharide) จาก *B. subtilis* LB23 และ *B. velezensis* LB24

การผลิตเอกโซโพลีแซคคาไรด์จาก เชื้อ *B. subtilis* LB23 และ *B. velezensis* LB24 แยกได้จากดิน และวิเคราะห์ยืนยันสายพันธุ์ด้วยวิธี 16S rRNA (Ki *et al.* 2009) ผ่านการทดสอบกิจกรรมการต้านแบคทีเรียก่อโรคเบื้องต้นในหลอดทดลอง จากนั้นทำการผลิต EPS ด้วยวิธีการดัดแปลงจากวิธีการของ Fang *et al.* (2013) โดยเพาะเลี้ยงบน mueller hinton agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (กลูโคส 10 กรัม, ทริปโทน 5 กรัม, สารสกัดจากยีสต์ 5 กรัม, โซเดียมคลอไรด์ 3 กรัม, ไดโทแทสเซียมฟอสเฟต 3 กรัม, โพแทสเซียม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 กรัม, แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต 0.5 กรัม และ แคลเซียมคาร์บอเนต 0.5 กรัม) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มบนเครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน และนำมาสกัดโดยการหมุนเหวี่ยง 10,000 xg แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 นาที และนำไปหมุนเหวี่ยงอีกครั้ง จากนั้นนำส่วนใสที่ได้มาทดสอบ Phenol sulfuric method ดัดแปลงจากวิธีการของ Dubois *et al.* (1956) เพื่อหาปริมาณเอกโซโพลีแซคคาไรด์ โดยเตรียมตัวอย่างทดสอบ 2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายฟินอลความเข้มข้น 5% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง จากนั้นจึงเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาณ 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง หลังจากนั้นปล่อยให้ทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร เทียบกับมาตรฐานกับกลูโคส

จากการทดสอบการต้านจุลินทรีย์เบื้องต้นด้วยการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *Lactobacillus plantarum* และ *Lactococcus lactis* ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ พบว่า มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่จะยับยั้งแบคทีเรียเหล่านี้ได้ที่ความเข้มข้น 0.0625% เป็นปริมาณสารละลายทั้งหมด หรือ Crude exopolysaccharide (ผู้สดี ดั่งวัชรินทร์, ยังไม่มีการเผยแพร่ข้อมูล) จากนั้นนำมาหาค่าปริมาณเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่มีอยู่ในสารละลาย Crude exopolysaccharide ทั้งหมด โดยนำมาคูณกับค่าที่ได้จากการหาปริมาณเอกโซโพลีแซคคาไรด์โดยเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *B. subtilis* LB23 มีค่าเท่ากับ 14,070 ml/l หรือ 14.07 g/l จะได้ออกโซโพลีแซคคาไรด์ที่อยู่ในสารละลาย เท่ากับ $0.0625 \times 14,070$ เท่ากับ 879.378 mg/l หรือ 0.88 g/l และเอกโซโพลีแซคคาไรด์โดยเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *B. velezensis* LB24 มีค่าเท่ากับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12,150 ml/l หรือ 12.15 g/l จะได้ค่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่อยู่ในสารละลาย เท่ากับ $0.0625 \times 12,150$ เท่ากับ 759.375 mg/l หรือ 0.76 g/l

3.4.2 ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชินรูปซู-วิด

วางแผนการทดลองแบบ 8 x 4 Factorial in CRD โดยมีปัจจัยคือกลุ่มทดลองแบ่งออกเป็น 8 กลุ่มทดลอง ดังนี้ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5, T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, T6 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T7 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T8 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 โดยแต่ละกลุ่มทดลองมีอัตราส่วนดังแสดงในตารางที่ 3.1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 วัน และสุ่มเก็บตัวอย่าง 4 ระยะเวลาคือ 0, 4, 8 และ 12 วัน

ศึกษาสมบัติการต้านแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียแลคติกของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชินรูปซู-วิด โดยเตรียมแบคทีเรียก่อโรค *S. aureus* DMST 4745, *Salmonella* Typhimurium DMST 22842, *L. monocytogenes* DMST 11256 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (กระทรวงสาธารณสุข) ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร MHA และ *L. plantarum* KL 103 และ *L. lactis* KLL 101 เพาะเลี้ยงในอาหาร MRS agar (Tangwatcharin *et al.* 2019a) เตรียมสารละลายเชื้อ โดย นำเชื้อ 2-3 โคโลนี ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ่ายลงในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 10 มิลลิลิตร และปรับความเข้มข้นให้มีความเข้มข้น 1×10^8 cfu/มิลลิลิตร โดยเทียบกับมาตรฐาน McFarland 0.5 เจือจางให้มีความเข้มข้น 1×10^5 cfu/มิลลิลิตร จากนั้นเติมลงในผลิตภัณฑ์ให้ในผลิตภัณฑ์ที่มีเชื้อก่อโรคความเข้มข้น 1×10^3 cfu/มิลลิลิตร

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนของส่วนผสมในการผลิตเนื้อโคชินรูปซู-วิด

ส่วนผสม	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
เนื้อ (กรัม)	95	95	95	95	95	95	95	95
น้ำเย็น (มิลลิลิตร)	3	3	3	3	3	3	3	3
ทรานส์กลูตามีน (กรัม)	1	1	1	1	1	1	1	1
โซเดียมคาซิเนต (กรัม)	1	1	1	1	1	1	1	1
โซเดียมซิเตรท (กรัม)	-	1.5	-	-	-	-	-	-
EPS LB23 (มิลลิลิตร)	-	-	0.18	0.25	0.31	-	-	-
EPS LB24 (มิลลิลิตร)	-	-	-	-	-	0.18	0.25	0.31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คัดแปลงวิธีการตาม Farouk *et al.* (2005) โดยใช้เศษเนื้อโคจากสหกรณ์การเลี้ยงปศุสัตว์ ทร.กลาง โพนยางคำ จำกัด ปทุมธานี ประเทศไทย เศษเนื้อโคส่วนสะโพกมีปริมาณไขมันประมาณร้อยละ 10 ตัดแต่งเนื้อโคตามลายกล้ามเนื้อให้ได้ขนาดประมาณ 20 x 60 x 10 มิลลิเมตร ผสมส่วนผสมในเครื่องผสม (KitchenAid, Professional 600, USA) เป็นเวลา 4 นาที ส่วนผสมที่ได้จะถูกขึ้นรูปในแม่พิมพ์ทรงกระบอกเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร แห้งเย็นไว้ที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำออกจากแม่พิมพ์ สไลด์ก่อนเนื้อขึ้นรูปใหม่ให้มีความหนา 15 มิลลิเมตร บรรจุในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศแล้วนำไปแช่-วัดให้เนื้อมีอุณหภูมิใจกลาง 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 20 นาที บรรจุในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียก่อโรคในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขึ้นรูปแช่-วัด ดังต่อไปนี้

1) การตรวจสอบ *Salmonella* spp. ตามวิธีการของ ISO-6579 (2002) โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อโคขึ้นรูปแช่-วัด 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่องเครื่องตีปั่น (Stomacher bag Mixer 400 model VW, France) เป็นเวลา 60 วินาที จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 จากนั้นเจือจางสารละลายตัวอย่างในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม (1:100, 1:1000, 1:10000 และ 1:100000 เป็นต้น) จากนั้นเปิดตัวอย่างลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิค pour plate โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Hektole enteric agar ที่เติมยาปฏิชีวนะ novomyocin ความเข้มข้นร้อยละ 0.0015 นำไปบ่ม 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีสีน้ำตาลเงินเขียวและตรงกลางมีสีดำกลม นูน ผิวเรียบเป็นมัน อาจพบหรือไม่พบจุดตรงกลางบันทึกผลจำนวนจุลินทรีย์ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำโคโลนีมาทดสอบทางปฏิกิริยาเคมี โดยทดสอบการใช้น้ำตาลในอาหาร TSI (Triple sugar iron agar) โดยใช้เข็มถ่ายเชื้อลงในอาหาร TSI นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หากเชื้อจุลินทรีย์สามารถน้ำตาลกลูโคสได้ จะทำให้เกิดความเป็นกรดขึ้นที่ส่วนของผิวหน้า โดยอาหารจะเป็นสีแดง แต่ถ้าหากเชื้อแบคทีเรียนั้นสามารถใช้ทั้งน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลเล็กโทสและหรือน้ำตาลซูโครสในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำจะทำให้อาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลืองจากกรดที่แบคทีเรียสร้างขึ้น และหากอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นมียอแซนโทนเนื่องจากแก๊สที่เชื้อจุลินทรีย์ สร้างขึ้นจะรายงานผลบวกคือมีแก๊สในหลอด และหากเป็นแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Hydrogen sulfide) จะพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นเกิดสีดำอยู่ที่ส่วนก้นหลอดอาหาร และวิธีการทดสอบการเกิด Decarboxylation ของ lysine ในอาหาร LIA (Lysine iron agar) ใช้เข็มถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LIA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง อาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงดำเพราะ เชื้อ typical colony ของ *Salmonella* spp. จะสร้างเอนไซม์ lysine decarboxylation ได้ จึงทำให้เกิดการสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์

2) การตรวจสอบ *S. aureus* ตามวิธีการของ BAM (2001c) โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อโคขึ้นรูปชู-วิดในการทดลองที่ 3.4 ปีเปตลงในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิค pour plate โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตและนับจำนวนโคโลนีที่มี สีดำขอบใส 30 – 300 โคโลนี และสุ่มมาทดสอบการสร้างเอนไซม์ Coagulase test และสุ่มมาทดสอบการสร้างเอนไซม์ Coagulase test โดย หยด Rabbit plasma 0.1 มิลลิลิตรลงบนสไลด์ จากนั้นเขี่ยเชื้อที่ต้องการทดสอบ 1 loop ผสมให้เข้ากัน ผลบวกจะพบ การเกาะกลุ่ม (agglutination) ของเชื้อ ส่วนผลลบจะ ไม่มีการเกาะกลุ่ม และข้อมลสีแกรม

3) การตรวจสอบ *L. monocytogenes* ตามวิธีดัดแปลงจาก Coombs *et al.* (2017) และ BAM (2017) ตามลำดับโดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อโคขึ้นรูปชู-วิดในการทดลองที่ 3.4 ปีเปตลงในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิค pour plate โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ *L. monocytogenes* selective agar ที่เติม modified Listeria selective supplement ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตและนับจำนวนโคโลนีที่มีลักษณะ กลม สีขาวขุ่น และเห็นสีดำเป็น โชนรอบ ๆ โคโลนี และอาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนเป็นสีดำ ซึ่งในอาหารมีสาร Ferric ammonium citrate หากตรวจพบ *Listeria* spp. และ *L. monocytogenes* อาหารจะเปลี่ยนสีเหลืองเป็นสีดำโดยอาศัยการตรวจยับยั้งการย่อย Esculin และตรวจสอบยืนยันด้วยวิธี LIA

4) การตรวจสอบแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria ; LAB) ตรวจวิเคราะห์หาแบคทีเรียกรดแลคติกโดยวิธีการที่อ้างอิงจาก AOAC (2006) โดยนำสารละลายเจือจางของตัวอย่างในการทดลองที่ 3.4 ปีเปตลงในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิค pour plate โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ จากนั้นนับจำนวนโค โลนี รายงานผลจำนวน LAB เฉพาะงานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30 – 300 โคโลนี หน่วยเป็น log cfu/g

- การทดสอบหาเอนไซม์คาตาเลส (Catalase) โดยการถ่ายเชื้อจากอาหาร Modified Listeria supplement agar ลงบนกระຈก จากนั้นหยดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ลงบนกระຈก สังเกตการเกิดฟอง หากเกิดฟองแสดงว่าแบคทีเรียมีเอนไซม์คาตาเลส สามารถเปลี่ยนอนุพันธ์ที่เป็นพิษของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นน้ำและออกซิเจนได้

- การข้อมลสีแกรมนำโคโลนีแต่ละโคโลนีที่เลือกไว้มาข้อมลแกรม และข้อมลสปอร์ โดยวิธี Gram stain ตามวิธีการของ BAM (2001a)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ลักษณะเซลล์ของ *Salmonella* spp. ย้อมติดสีแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) ไม่สร้างสปอร์
- ลักษณะเซลล์ของ *S. auerus* ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างเป็นทรงกลมอยู่รวมกันเป็นพวงคล้ายพวงองุ่น ไม่สร้างสปอร์
- ลักษณะเซลล์ของ *L. monocytogenes* ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างลักษณะเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ สร้างแคปซูล
- ลักษณะเซลล์ของแบคทีเรียแลคติก ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างลักษณะเป็นท่อนและทรงกลม ไม่สร้างสปอร์

ทำการวิเคราะห์หาค่าจลพลศาสตร์การเจริญของแบคทีเรียก่อโรคแต่ละชนิดโดยคำนวณหาค่าระยะเวลาหนึ่งชั่วอายุ (generation time, λ) ตาม Oliveira *et al.* (2011) ดังสมการ โดยคำนวณหาค่าอัตราการเจริญสูงสุด (maximum specific growth rate, μ_{max})

$$\mu_{max} = \ln(X_2) - \ln(X_1) / t_2 - t_1$$

โดยที่ X_2 และ X_1 คือจำนวนแบคทีเรีย t_2 และ t_1 คือระยะเวลาในการบ่ม

$$\lambda = \ln 2 / \mu_{max}$$

3.4.3 ศึกษาคุณสมบัติต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ จากสารสกัดน้ำจากเนื้อโค

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยมีปัจจัยคือ กลุ่มทดลอง 8 กลุ่มทดลอง ดังนี้ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มเติมบีเอสเอความเข้มข้นร้อยละ 0.01, T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, T6 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T7 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T8 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีอัตราส่วนผสมแต่ละกลุ่มทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 อัตราส่วนของสารสกัดน้ำจากเนื้อโค

ส่วนผสม	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
เนื้อโค (กรัม)	90	90	90	90	90	90	90	90
น้ำเย็น (มิลลิลิตร)	5	5	5	5	5	5	5	5
น้ำมันดอกทานตะวัน (มิลลิลิตร)	5	5	5	5	5	5	5	5
บีเอสเอ (กรัม)	-	0.01	-	-	-	-	-	-
EPS LB23	-	-	0.18	0.25	0.31	-	-	-
EPS LB24	-	-	-	-	-	0.18	0.25	0.31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยใช้เศษเนื้อโคจากการตัดแต่งมีปริมาณไขมันร้อยละ 10 แต่ละกลุ่มทดลองผสม ส่วนผสมตามอัตราส่วนในตารางที่ 1 ด้วยเครื่องปั่นผสม เป็นเวลา 5 นาที ผสมสารละลายตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำปราศจากไอออน 50 มิลลิลิตร เก็บสารละลายตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงความเร็วรอบ 2000 xg เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เก็บส่วนใสเพื่อนำไปวิเคราะห์สมบัติการต้านการเกิดออกซิเดชัน โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 3 ซ้ำ การทดลองโดยศึกษาคุณสมบัติออกซิเดชันของสารสกัดน้ำจากเนื้อโค โดยวิธีการดังต่อไปนี้

1) การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical-scavenging activity) ตามวิธีการดัดแปลงจาก Hidayat *et al.* (2017) เตรียมตัวอย่างทดสอบ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับ DPPH ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 3.0 ml ที่ละลายในเอทานอลร้อยละ 75 ผสมให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และนำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสาร α -Tocopherol ซึ่งหาร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช จากสูตร

$$\text{Scavenging activity (\%)} = [1 - (\text{Asample} - \text{Ablank}) / \text{Acontrol}] \times 100$$

2) การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radicalscavenging activity) วิธีการทดลองดัดแปลงตามวิธีการของ Kovaceva *et al.* (2007) เตรียมตัวอย่างทดสอบ 1 มิลลิลิตร ผสมกับส่วนผสมที่ประกอบไปด้วยสารละลายแต่ละอย่าง ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร ได้แก่สารละลาย NBT (200 ไมโครโมล/ลิตร ใน ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์, pH 8.0), สารละลาย NADH (500 ไมโครโมล/ลิตร ใน ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์, pH 8.0) จากนั้นเติมสารละลาย PMS (60 ไมโครโมล/ลิตร ใน ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์, pH 8.0) ผสมให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับสาร Ascorbic acid ซึ่งหาร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์จากสูตร

$$\text{Scavenging radical (\%)} = (1 - \text{Asample} / \text{Ablank}) \times 100$$

3.4.4 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ การต้านจุลินทรีย์ของ EPS ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขึ้นรูปซู-วิด จัดกลุ่มการทดลองแบบ 8 x 4 Factorial in CRD ระยะเวลาหนึ่งชั่วโมง วิเคราะห์ผลการทดลองแบบ CRD และการต้านการเกิดออกซิเดชันของ EPS จากสารสกัดน้ำจากเนื้อโควางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ ANOVA procedure และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย SPSS for windows version 17.0: SPSS Inc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของกิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์ ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ได้รับการคัดเลือก ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชู-วิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.5.1 ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชู-วิด

วางแผนการทดลองแบบ 5 x 4 Factorial in CRD โดยมีปัจจัยคือ กลุ่มทดลองแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มทดลอง ดังนี้ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5, T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 ดังแสดงอัตราส่วนแต่ละกลุ่มทดลองในตารางที่ 3.3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่าง 4 ระยะเวลาคือ 0, 4, 8 และ 12 วัน

ตารางที่ 3.3 อัตราส่วนของส่วนผสมในการผลิตเนื้อโคขุนรูปชู-วิด

ส่วนผสม	T1	T2	T3	T4	T5
เนื้อ (กรัม)	95	95	95	95	95
น้ำเย็น (มิลลิลิตร)	3	3	3	3	3
ทรานส์กลูตามิเนส (กรัม)	1	1	1	1	1
โซเดียมคาซิเนต (กรัม)	1	1	1	1	1
โซเดียมซิเตรท (กรัม)	-	1.5	-	-	-
EPS LB23 (มิลลิลิตร)	-	-	0.18	0.25	0.31

ผสมส่วนผสมและผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชู-วิดตามวิธีการในการศึกษาที่ 3.4 จากนั้นศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของ EPS LB23 ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชู-วิด ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส ตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ ในผลิตภัณฑ์ดังต่อไปนี้

1) Aerobic bacteria วิธีการที่อ้างอิงจาก AOAC (2006) โดยนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชู-วิดปริมาณ 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 จากนั้นเจือจางตัวอย่างให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม (1:100, 1:1000, 1:10000 และ 1:100000 เป็นต้น) จากนั้นถ่ายลงในจานเพาะเชื้อด้วยเทคนิค pour plate โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ทำที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ

ต่างกันคือ 7, 37 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7, 1 และ 2 วัน จากนั้นนับจำนวนโคโลนี รายงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการใช้ในเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นใจไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลจำนวนเชื้อ Psychrophilic bacteria, Mesophilic bacteria และ Thermophilic bacteria ตามลำดับ โดยจำนวนระหว่าง 30 – 300 โคโลนี หน่วยเป็น log cfu/กรัม

2) Lactic acid bacteria ตรวจวิเคราะห์หาเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกโดยวิธีการที่อ้างอิงจาก AOAC (2006) โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดคังวิธีการที่แสดงในการทดลองที่ 3.4 จากนั้นถ่ายลงในจานเพาะเชื้อด้วยเทคนิค pour plate โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ทำที่ระดับความเงื้องละ 2 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ จากนั้นนับจำนวนโคโลนี รายงานผลจำนวนเชื้อ Lactic acid bacteria จำนวนระหว่าง 30 - 300 โคโลนี หน่วยเป็น log cfu/กรัม

3) Mesophilic anaerobic bacteria วิธีการที่อ้างอิงจาก AOAC (2006) โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดคังวิธีการที่แสดงในการทดลองที่ 3.4 จากนั้นถ่ายลงในจานเพาะเชื้อด้วยเทคนิค pour plate โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ทำที่ระดับความเงื้องละ 2 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ จากนั้นนับจำนวนโคโลนี รายงานผลจำนวนเชื้อ Mesophilic anaerobic bacteria จำนวนระหว่าง 30 - 300 โคโลนี หน่วยเป็น log cfu/กรัม

4) Anaerobic bacteria spore วิธีการที่อ้างอิงจาก AOAC (2006) โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดคังวิธีการที่แสดงในการทดลองที่ 3.4 นำไปตัวอย่างไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที จากนั้นถ่ายลงในจานเพาะเชื้อด้วยเทคนิค pour plate โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ทำที่ระดับความเงื้องละ 2 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ จากนั้นนับจำนวนโคโลนี รายงานผลจำนวนเชื้อจำนวนระหว่าง 30 - 300 โคโลนี หน่วยเป็น log cfu/กรัม

5) Aerobic bacteria spore โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดคังวิธีการที่แสดงในการทดลองที่ 3.4 นำไปตัวอย่างไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที จากนั้นถ่ายลงในจานเพาะเชื้อด้วยเทคนิค pour plate โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ทำที่ระดับความเงื้องละ 2 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รายงานผลจำนวนเชื้อจำนวนระหว่าง 30 - 300 โคโลนี หน่วยเป็น log cfu/กรัม

6) ยีสต์ และรา โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดคังวิธีการที่แสดงในการทดลองที่ 3.4 จากนั้นถ่ายลงในจานเพาะเชื้อด้วยเทคนิค pour plate โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ทำที่ระดับความเงื้องละ 2 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นนับจำนวนยีสต์และรา รายงานผลจำนวนยีสต์และราที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนีหน่วยเป็น log cfu/กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพ

1) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ตามวิธีการของ AOAC (2006) โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดพร้อมปรุง กลุ่มการทดลองละ 3 ชิ้น ใช้หัวโพรบแทงลงในผลิตภัณฑ์โดยตรงด้วยเครื่อง pH meter (Mettler Toledo model SG-2, Switzerland) ตัวอย่างละ 3 ตำแหน่งและบันทึกผล

2) ค่าสี (CIE L*, a*, b*) สุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด กลุ่มการทดลองละ 3 ชิ้น มาวัดค่าสีด้วยระบบ CIE (L*, a*, b*) ด้วยเครื่องวัดสี HunterLab Mini Scan EZ 4000L (Hunter Lab Inc, Reston, VA, USA) ก่อนวัดตัวอย่างทำการปรับเทียบค่าเครื่อง (Calibrate) ด้วยแผ่นสีมาตรฐานและทำการวัดตัวอย่างซ้ำและแสดงผลเป็นค่า L* (Lightness), a* (Redness), b* (Yellowness) และคำนวณค่า Chroma และ Hue angle (Kortei *et al.* 2015)

$$C^* = \sqrt{b^*^2 + a^*^2}$$

$$h^\circ = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right)$$

3) ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการซู-วิด (sous-vide loss, %) โดยดัดแปลงวิธีการของ Serrano *et al.* (2007) การวัดค่าการสูญเสียน้ำหนักของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ความหนา 15 มิลลิเมตร ซึ่งน้ำหนักผลิตภัณฑ์ก่อนการซู-วิด บรรจุในบรรจุภัณฑ์ลามิเนตแบบสุญญากาศ ผลิตภัณฑ์ได้รับความร้อนโดยการซู-วิด ให้อุณหภูมิใจกลางของผลิตภัณฑ์เท่ากับ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 20 นาที ซึ่งน้ำหนักตัวอย่างหลังการซู-วิด แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการซู-วิดจากสูตร

$$\% \text{ sous-vide loss} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนซู-วิด} - \text{น้ำหนักหลังซู-วิด}) \times 100}{(\text{น้ำหนักหลังซู-วิด})}$$

4) ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์ (Purge loss, %) โดยวิธีการของ (Belibagli and Ersan. 2018) โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการซู-วิดก่อนเก็บรักษาเป็นน้ำหนักเริ่มต้น และชั่งน้ำหนักสุดท้ายของกระบวนการเก็บรักษา คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาได้จากสูตรต่อไปนี้

$$\% \text{ purge loss} = \frac{(\text{น้ำหนักผลิตภัณฑ์ก่อนเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักสุดท้ายของการเก็บรักษา}) \times 100}{(\text{น้ำหนักผลิตภัณฑ์ก่อนเก็บรักษา})}$$

5) ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการย่าง (Grilling loss, %) โดยดัดแปลงวิธีการของ Viegas *et al.* (2012) โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ก่อนย่างเป็นน้ำหนักเริ่มต้น อย่างด้วยเตาย่างไฟฟ้า (imarflex EP-751, ประเทศไทย) โดยให้อุณหภูมิใจกลางของตัวอย่างผลิตภัณฑ์เท่ากับ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที และชั่งน้ำหนักหลังย่าง คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการย่างได้จากสูตรต่อไปนี้

$$\% \text{ Grill loss} = \frac{(\text{น้ำหนักผลิตภัณฑ์ก่อนย่าง} - \text{น้ำหนักหลังย่าง}) \times 100}{(\text{น้ำหนักผลิตภัณฑ์ก่อนย่าง})}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6) วิเคราะห์แรงตัดผ่านชิ้นเนื้อ Shear force คัดแปลงวิธีการของ Bourne. (1978) ตัดตัวอย่างขนาด กว้าง x ยาว x หนา ประมาณ 1 x 2.5 x 1 เซนติเมตร ให้ได้อย่างน้อย 15 ชิ้นต่อกลุ่ม ตัวอย่าง นำไปวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อด้วยเครื่อง Texture analyzer (ยี่ห้อ Instron รุ่น 3344) ด้วยหัววัด Warner-Bratzler shear ความเร็วหัวตัดที่ 400 มิลลิเมตร/นาที โดยตัดผ่านแกนกลางของชิ้นเนื้อ และบันทึกผลค่าแรงเฉือนสูงสุดในหน่วยนิวตัน

7) ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม (Texture profile analysis) ด้วยเครื่อง Instron model 1011 (Calibration Laboratory, USA) ตัดผลิตภัณฑ์ขนาด 1×1×1 เซนติเมตร (Bourne, 1978) ทำการวัดค่าตัวอย่างด้วยหัวหัววัดแบบกด (compression) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15.5 เซนติเมตร โหลดเซลล์ที่ใช้ในการวัดค่า 500 นิวตัน โดยกำหนดการวัดค่าของตัวอย่างจะถูกกดลงไปเป็นระยะทางร้อยละ 40 ของความสูงตัวอย่าง (Das *et al.* 2008) แต่ละตัวอย่างทดลองจะทำการวัดค่า 10 ครั้ง บันทึกค่าความแข็ง (hardness, N) ค่าความเหนียวคล้ายยาง (gumminess, N) ค่าความยากในการเคี้ยว (chewiness, Nmm) ค่าความยืดหยุ่น (springiness, ratio) และค่าการเกาะตัวกัน (cohesiveness, ratio)

3.5.3 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ จัดกลุ่มการทดลองแบบ Factorial in CRD และวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS for windows version 17.0: SPSS Inc

3.6 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นที่ได้รับการคัดเลือก ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชินรูปซู-วิดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส

3.6.1 ศึกษาผลของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ ที่มีสมบัติต้านจุลินทรีย์ต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชินรูปซู-วิด

วางแผนการทดลองแบบ 5 x 4 Factorial in CRD โดยมีปัจจัยคือ กลุ่มทดลองแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มทดลอง ดังนี้ T1 กลุ่มควบคุม T2 กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรท 1.5% T3 กลุ่มเติม BHA ความเข้มข้น 0.01% T4 กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรท 1.5% และ BHA ความเข้มข้น 0.01% และ T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31% ดังแสดงอัตราส่วนแต่ละกลุ่มทดลองในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 อัตราส่วนของส่วนผสมในการผลิตเนื้อโคชินรูปซู-วิด

ส่วนผสม	T1	T2	T3	T4	T5
เนื้อ (กรัม)	95	95	95	95	95
น้ำเย็น (มิลลิลิตร)	3	3	3	3	3
ทรานส์กลูตามิเนส (กรัม)	1	1	1	1	1
โซเดียมคาซิเนต (กรัม)	1	1	1	1	1
โซเดียมซิเตรท (กรัม)	-	1.5	-	1.5	-
บีเอสเอ (กรัม)	-	-	0.01	0.01	-
EPS LB23 (มิลลิลิตร)	-	-	-	-	0.31

ผสมส่วนผสมและผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อโคชินรูปซู-วิดตามวิธีการในการศึกษาที่ 3.4 จากนั้นบรรจุผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างเป็นระยะเวลา 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 และ 49 วัน และทำการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ดังต่อไปนี้

- 1) Aerobic bacteria (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.5)
 - Psychrophilic bacteria
 - Mesophilic bacteria
 - Thermophilic bacteria
- 2) Lactic acid bacteria (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.5.)
- 3) Mesophilic anaerobic bacteria (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.5.)
- 4) Anaerobic bacteria spore (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) Aerobic bacteria spore (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.5)

6) ยีสต์ รา (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.5)

7) *Salmonella* spp. ตามวิธีการของ BAM (2007) ตามวิธีการของ ISO-6579 (2002) โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อลงในสารละลายเปปโทน ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่องเครื่องตีปั่น เป็นเวลา 60 วินาที จากนั้นถ่ายเชื้อลงอาหาร MkTTn broth และ RV broth ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ของแต่ละอาหาร เหลว บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาทำการถ่ายเชื้อด้วยวิธีการ Streak ให้เป็นโคโลนีเดี่ยวลงบนอาหาร HE agar ที่เติมยาปฏิชีวนะ novomyocin ความเข้มข้น ร้อยละ 0.0015 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นสังเกตโคโลนีที่สงสัยที่ปรากฏลักษณะสีน้ำเงินเขียว และตรงกลางมีสีดำกลมมน ผิวเรียบมัน ให้เขี่ยเชื้อลงในอาหาร LIA และ TSI agar slant (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.4) และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นรายงานผลซึ่งจะต้องไม่พบ *Salmonella* sp. ในตัวอย่างอาหารเนื้อสด 25 กรัม

8) *S. aureus* โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อลงในสารละลายไซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่องเครื่องตีปั่น เป็นเวลา 60 วินาที จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 จากนั้นเจือจางสารละลายตัวอย่างในสารละลายไซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม (1:100, 1:1000, 1:10000 และ 1:100000 เป็นต้น) จากนั้นเปิดสารละลายเจือจาง 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Baird Parker agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีที่มี สีดำขอบ และสุ่มมาตรวจสอบยืนยันการสร้างเอนไซม์ Coagulase test (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.4)

9) *L. monocytogenes* ตามวิธีดัดแปลงจาก Coombs *et al.* (2017) และ BAM (2017) ตามลำดับโดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด 25 กรัม ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Buffered listeria enrichment broth 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่องเครื่องตีปั่น เป็นเวลา 60 วินาที บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นเติม Supplement listeria enrichment 2.5 มิลลิลิตรนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วคูดสารละลายตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified listeria selective agar นำเพลทไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รายงานผลจำนวนเชื้อ *Listeria* spp. และ *L. monocytogenes* ว่าพบหรือไม่พบ สังเกตได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนเป็นสีดำ ซึ่งในอาหารมีสาร Ferric ammonium citrate หากตรวจพบ *Listeria* spp. และ *L. monocytogenes* อาหารจะเปลี่ยนสีเหลืองเป็นสีดำโดยอาศัยการตรวจจับการย่อย Esculin ลักษณะโคโลนีคือ กลม สีขาวนูน และเห็นสีดำเป็นโซนรอบ ๆ โคโลนี จากนั้นทำการทดสอบยืนยันด้วยวิธีการ LIA (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10) coliform และ *E. coli* โดยวิธีการที่อ้างอิงจาก BAM (2002) สุ่มตัวอย่าง 25 กรัม เติมน้ำตาลละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องตีปั่น เป็นเวลา 1 นาที ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างเจือจาง 1 : 10 จากนั้นทำเช่นนี้ต่อไปเรื่อยๆ จนได้ระดับที่ต้องการ ทำการ ปิเปตตัวอย่างเริ่มต้นที่ระดับความเจือจาง 1 : 10 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในงานอาหารเหลว LMX broth ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาให้ทำการนำอาหาร LMX broth ไปส่องแสง UV ซึ่งถ้าพบหลอดทดลองไหนเรืองแสงให้ทำการถ่ายเชื้อลงบนอาหาร EMB agar โดยวิธี Spread plate และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ส่วนหลอดทดลองที่เรืองแสงให้นำมาหยดด้วย Kovac reagent อีกทีหนึ่งเพื่อตรวจสอบเชื้อ *E. coli* เมื่อครบกำหนดเวลาให้เลือกโคโลนีที่มีลักษณะเป็น metallic sheen มา streak ลงบนอาหาร PCA และบ่มต่อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทดสอบขั้นยืนยันผลทางปฏิกิริยาโดยวิธี IMVic ดังต่อไปนี้

- การทดสอบ Indole โดยการถ่ายเชื้อจากอาหาร Plate count agar slant ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptophan broth แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมน้ำตาลละลาย Kovac ปริมาตร 0.20 - 0.30 มิลลิลิตร ถ้าให้ผลบวกจะปรากฏสีแดงที่ส่วนบนของ Tryptophan broth

- การทดสอบ Methyl red และ Acetoin (MR-VP) โดยการถ่ายเชื้อจากอาหารใน Plate count agar slant ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MR-VP บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

- 1) สำหรับ MR ให้เติมน้ำตาลละลาย Methyl red 5 หยด ลงในสารละลายเชื้อ โดยผลบวกจะเกิดสีแดงผลลบจะให้สีเหลือง
- 2) สำหรับ VP ให้ถ่ายเชื้อประมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองแล้วเติม 5% Alcoholic-naphtol solution 0.6 มิลลิลิตรและ 40% KOH 0.2 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5-10 นาที ผลบวกจะให้สีชมพูแดง

- การทดสอบ Citrate ทำการถ่ายเชื้อจากอาหาร Plate count agar slant ใส่ลงในอาหาร Simmom's citrate agar "Stab" นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง รายงานการเจริญเป็นผลบวก ไม่เจริญผลเป็นลบ

3.6.2 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพ

1) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.5)

2) การศึกษาค่าการเกิดปฏิกิริยาการออกซิเดชันของไขมันด้วยเทคนิค Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Chen *et al.* (2017) โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ใส่กรอกจำนวน 5 กรัม ใส่ในหลอดเซนตริฟิวพลาสติก (Centrifuges tube) ขนาด 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตร ใส่สารละลาย 2.5% 2-Thiobarbituric acid 10 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ (Ultra tarrax model T25 digital, Germany) ที่ความเร็วรอบ 5,000 x g เป็นเวลา 1 นาที ในสภาพที่ตัวอย่างเย็น แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 4,000 x g เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำส่วนใส ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย 0.2 M 2-Thiobarbituric acid ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นโดยการเปิดน้ำไหลผ่าน จากนั้นนำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ทำ 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณความเข้มข้นของ TBARS โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสาร 1,1,3,3-Tetraethoxypropane (TEP) และคำนวณค่า TBARS ในหน่วย mg MDA/kg sample

- 3) ค่าสี (CIE L*, a* b*, chroma และ Hue angle) (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.5)
- 4) ค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างการซู-วิด (sous-vide loss, %) (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.5)
- 5) ค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์ (purge loss, %) (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.5)
- 6) ค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างการย่าง (grill loss, %) (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.5)
- 7) ค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อ (shear force) (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.5)
- 8) ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม (TPA) (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.5)

3.6.3 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ จัดกลุ่มการทดลองแบบ Factorial in CRD และวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของข้อมูล โดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS for windows version 17.0: SPSS Inc

บทที่ 4

ผลการดำเนินการวิจัย

4.1 การทดลองที่ 1 ศึกษากิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชัน ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *B. subtilis* LB23 และ *B. velezensis* LB24 ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด

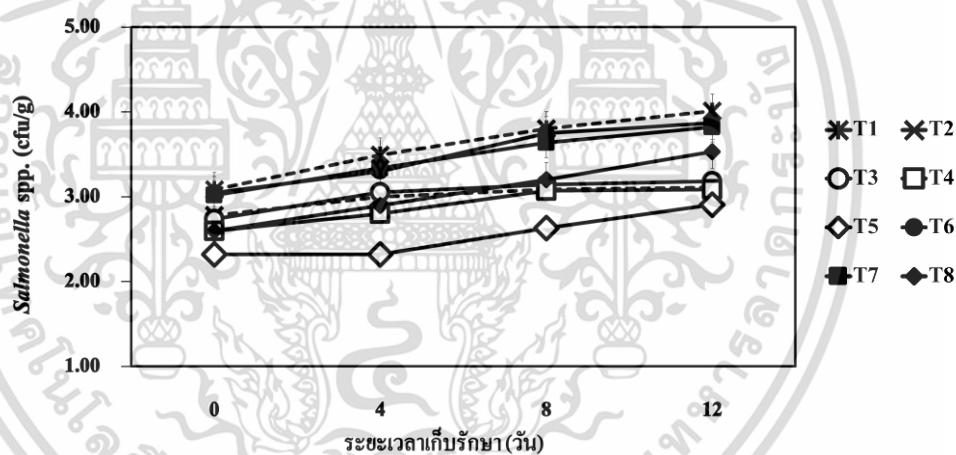
4.1.1 ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด

โดยศึกษาความสามารถในการต้านแบคทีเรียก่อโรค *Salmonella* spp., *S. aureus*, *L. monocytogenes* และแบคทีเรียกรดแลคติก ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด โดยการเติมสารละลายเชื้อลงในผลิตภัณฑ์ และแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 8 กลุ่มทดลอง ดังนี้ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5, T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, T6 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T7 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T8 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน สุ่มเก็บตัวอย่าง 4 ระยะเวลาคือ 0, 4, 8 และ 12 วัน และตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ ดังนี้ *Salmonella* spp., *S. aureus*, *L. monocytogenes* และแบคทีเรียกรดแลคติก

จากการศึกษาความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดพบว่ากลุ่มตัวอย่างที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ลงในผลิตภัณฑ์ มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม การเจริญของเชื้อ *Salmonella* spp. (ภาพที่ 4.1) ตลอดระยะเวลาที่ทำการเก็บรักษาพบว่ากลุ่มที่เติม EPS LB23 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้มากกว่ากลุ่มที่เติม EPS LB24 ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน และกลุ่ม EPS LB23 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองกลุ่มอื่น ส่วนค่าระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของแบคทีเรีย (ตารางที่ 4.1) กลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่ามากที่สุด ($P < 0.05$) คือ 0.31 ± 0.00 ชั่วโมง รองลงมาเป็นกลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 มีค่า 0.11 ± 0.00 ชั่วโมง ส่วนกลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 และกลุ่มโซเดียมซิเตรทมีค่าเท่ากันและไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

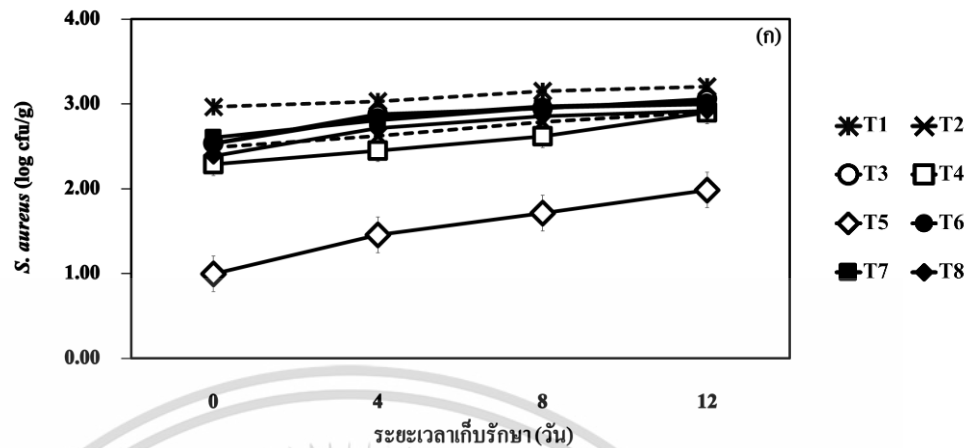
ค่าเท่ากับ 0.10 ± 0.00 ชั่วโมง จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากลุ่มตัวอย่างที่เติม EPS LB23 สามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคสังเกตได้จากค่าระยะเวลาหนึ่งช่วงอายุที่มากที่สุด ทำให้ตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษาพบการเจริญของเชื้อในกลุ่มตัวอย่างนี้น้อยที่สุด Zaman *et al.* (2017) กล่าวว่าสารต้านจุลินทรีย์จะออกฤทธิ์โดยการรบกวนกระบวนการทำงานต่างๆ และทำลายโครงสร้างของแบคทีเรีย มีฤทธิ์ต่อเชื้อ 2 ประการ คือ ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bactericidal) และยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (bacteriostatic) จากผลการทดลองพบว่า EPS สามารถยับยั้งการทำงานของเชื้อก่อโรคได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อก่อโรคได้เพราะยังพบการเจริญของเชื้อในผลิตภัณฑ์เนื้อโคจืดรูปซู-วิด ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากกลไกการทำงานของ EPS รบกวนผนังเซลล์และเยื่อหุ้มไซโทพลาสซึมและการย่อยสลาย DNA ทำให้การแบ่งเซลล์ลดลง (Li *et al.*, 2014) และจากการศึกษาของ Muhammad *et al.* (2018) ที่ศึกษาเกี่ยวกับความสามารถในการต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *Lactobacillus rhamnosus* โดยทำในหลอดทดลอง พบว่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์มีความสามารถในการต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค *S. typhimurium* และ *E. coli*



ภาพที่ 4.1 การเจริญเติบโตของ *Salmonella* spp. (log cfu /กรัม.) ต่อระยะเวลาในการเก็บรักษา 12 วัน โดยแบ่งกลุ่มทดลองคือ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มโซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5, T3 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, T5 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, T6 กลุ่ม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T7 กลุ่ม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T8 กลุ่ม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 *ตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชั้นรูปชู-
 วิต พบว่ากลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ โดยตัวอย่างกลุ่ม EPS
 LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 พบปริมาณของเชื้อ *S. aureus* น้อยที่สุดตลอดระยะเวลาในการเก็บ
 รักษา (ภาพที่ 4.2) เป็นไปในทิศทางเดียวกับค่าระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของแบคทีเรีย (ตารางที่ 4.1)
 กลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่ามากที่สุด ($P < 0.05$) มีค่า 0.21 ± 0.00 ชั่วโมง
 รองลงมาเป็นกลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และกลุ่มโซเดียมซิเตรท มีค่าเท่ากันและไม่
 ต่างกันทางสถิติ คือ 0.12 ± 0.00 ชั่วโมง Li *et al.* (2014) พบว่า EPS เข้าไปรบกวนกระบวนการผ่าน
 เข้าออกสารของผนังเซลล์เยื่อหุ้มไซโทพลาสซึม และยับยั้งหรือรบกวนกระบวนการสังเคราะห์
 โปรตีนภายในเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งทำให้การแบ่งเซลล์ของแบคทีเรียลดลง Ullah and Ali. (2017) กล่าวว่า
 สารต้านจุลินทรีย์ที่มีผลยับยั้งการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย (inhibitors of membrane
 function) โดยเยื่อหุ้มเซลล์ หรือ cytoplasmic membrane ทำหน้าที่ปกคลุมไซโทพลาสซึม ควบคุมการ
 ผ่านเข้า-ออกของสารภายในและภายนอกเซลล์ของ แบคทีเรีย และ Kumar *et al.* (2012) กล่าวว่าเมื่อ
 เยื่อหุ้มเซลล์ถูกรบกวนการทำงาน หรือสูญเสียหน้าที่ สารต่างๆ จะไหลออกจากเซลล์เป็นผลให้เซลล์
 แบคทีเรียเกิดการตาย และสารต้านจุลินทรีย์มีผลยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (protein synthesis
 inhibitors) กระบวนการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์แบคทีเรีย เป็นกระบวนการที่สำคัญเช่นเดียวกับ
 เซลล์มนุษย์ซึ่งไรโบโซมจะทำหน้าที่สร้างโปรตีนในแบคทีเรีย จะพบไรโบโซมชนิด 70S
 ประกอบด้วย หน่วยย่อย 30S และ 50S สารต้านจุลินทรีย์จะไปยับยั้งการสร้างไรโบโซมหน่วยย่อย
 ชนิด 30S และ 50S ของเซลล์แบคทีเรีย ไรโบโซมมีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีนใน
 สิ่งมีชีวิตเรียกว่าทรานสเลชัน โดยการอ่านข้อมูลจาก mRNA ไปเป็น โปรตีน mRNA มีรหัสพันธุกรรม
 ซึ่งจะบอกถึงลำดับของกรดอะมิโนในโปรตีนนั้นๆเพื่อรวมกรดอะมิโนเดี่ยวให้เป็นโพลีเพปไทด์
 (Yusupova *et al.* 2006 and Korostelev *et al.* 2006) และจากการศึกษาของ Nehal *et al.* (2019) ที่
 ทดสอบการต้านเชื้อ *S. aureus* ของ EPS พบว่า EPS มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ พบว่ามีพื้นที่
 ยับยั้งใกล้เคียงกับการทำงานของไนซินซึ่งเป็นสารต้านจุลินทรีย์ทางการค้าที่ผลิตจากแบคทีเรีย
 เช่นเดียวกัน

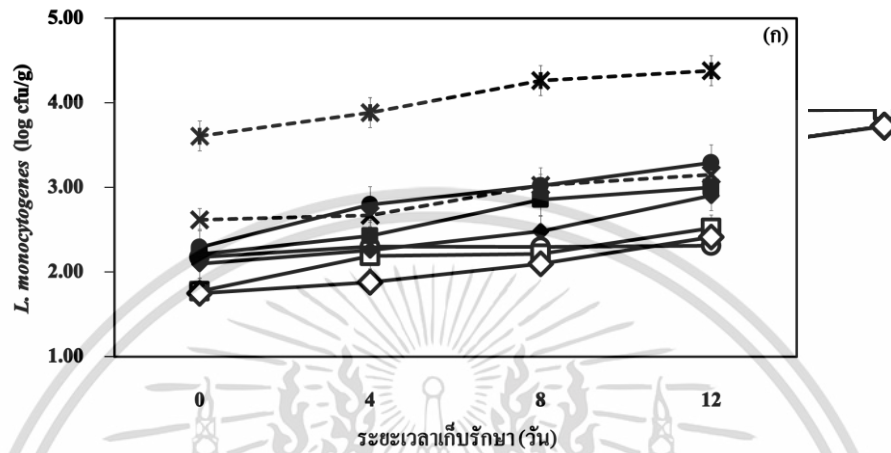


ภาพที่ 4.2 การเจริญเติบโตของ *S. aureus* (log cfu /กรัม.) ต่อระยะเวลาในการเก็บรักษา 12 วัน โดยแบ่งกลุ่มทดลองคือ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มโซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5, T3 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, T5 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, T6 กลุ่ม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T7 กลุ่ม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T8 กลุ่ม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 *ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด ที่ทำการเติมสารละลายเชื้อก่อโรค และตรวจสอบปริมาณของเชื้อระหว่างการเก็บรักษาพบว่า ตัวอย่างกลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีปริมาณของเชื้อ *L. monocytogenes* น้อยที่สุดตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาทั้ง 12 วัน (ภาพที่ 4.3) เช่นเดียวกับค่าระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของแบคทีเรียพบว่ากลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่ามากที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, กลุ่มโซเดียมซิเตรท, EPS LB2 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 และกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) มีค่า 0.16 ± 0.00 , 0.14 ± 0.00 , 0.13 ± 0.00 , 0.13 ± 0.00 , 0.13 ± 0.00 , 0.11 ± 0.00 , 0.11 ± 0.00 และ 0.10 ± 0.00 ชั่วโมง ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* รวมไปถึงเชื้อ *Salmonella* spp. และ *S. aureus* ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Lakra et al. (2019) พบว่า EPS ที่สกัดจาก *Weissella confusa* MD1 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค *L. monocytogenes* รวมไปถึงเชื้อ *Salmonella enterica*, *Salmonella typhimurium* และ *Staphylococcus aureus* ได้ และ EPS ที่ความเข้มข้น 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับที่ระดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นใจขอสงวนสิทธิ์ในการนำ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ Velugoti *et al.* (2020) รายงานว่า EPS มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยการยับยั้งหรือรบกวนการสร้างสารพันธุกรรมของแบคทีเรีย โดยการยับยั้งการสร้างกรดโพลีลิกซึ่งทำหน้าที่เป็น cofactor ในการสังเคราะห์ DNA เมื่อไม่มีการสร้างสารพันธุกรรมเซลล์ของแบคทีเรียจึงหยุดการเจริญเติบโต

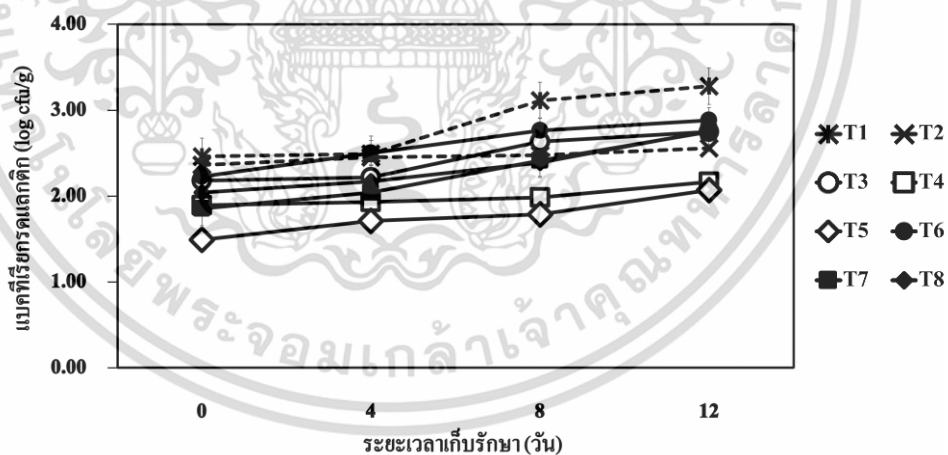


ภาพที่ 4.3 การเจริญเติบโตของ *L. monocytogenes* (log cfu /กรัม.) ต่อระยะเวลาในการเก็บรักษา 12 วัน โดยแบ่งกลุ่มทดลองคือ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่ม โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5, T3 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, T5 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, T6 กลุ่ม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T7 กลุ่ม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T8 กลุ่ม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 *ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากการศึกษาการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกด้วยการเติม EPS ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชินรูปซู-วิคพบว่ากลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม (ภาพที่ 4.4) และพบว่ากลุ่มที่เติม EPS LB23 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้มากกว่ากลุ่มที่เติม EPS LB24 ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน และกลุ่ม EPS LB23 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองกลุ่มอื่น สอดคล้องกับค่าระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของแบคทีเรีย (ตารางที่ 4.1) พบว่า EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มากที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่ม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, กลุ่มโซเดียมซิเตรท, EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 และกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) มีค่า 0.18 ± 0.00 , 0.16 ± 0.00 , 0.15 ± 0.00 , 0.14 ± 0.00 , 0.13 ± 0.00 , 0.12 ± 0.00 และ 0.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

± 0.00 ชั่วโมง ตามลำดับ จากผลการศึกษการยับยั้งเชื้อก่อโรคทั้ง 3 ชนิดข้างต้นจะเห็นได้ว่า EPS มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Wu *et al.* (2010) ศึกษาการต้านแบคทีเรียก่อโรคของ EPS พบว่า EPS จากเชื้อ *Bifidobacterium* มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *L. monocytogenes*, *S. aureus* และ *B. cereus* ได้ดีกว่า *Salmonella*, *Typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Vibrio parahaemolyticus* เนื่องจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบค่อนข้างซับซ้อนกว่าแบคทีเรียแกรมบวก โดยมีชั้น peptidoglycan บางกว่าแบคทีเรียแกรมบวก และมีชั้นของ lipopolysaccharide (LPS) เป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (outer membrane) ซึ่งโครงสร้างและลักษณะของผนังเซลล์แบคทีเรียที่แตกต่างกัน มีผลต่อการทำงานของสารต้านจุลินทรีย์ Kapoor *et al.* (2017) กล่าวว่าผนังเซลล์ของแบคทีเรียประกอบด้วย polysaccharide มาเชื่อมกันคล้ายโครงสร้างตาข่าย เรียกว่า peptidoglycan สารต้านจุลินทรีย์จะยับยั้งกระบวนการสร้างผนังเซลล์ โดยจับกับ penicillin binding proteins (PBPs) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิด crosslinking ของสาย peptidoglycan อีกทั้งในการศึกษารั้งนี้ยังพบว่ากลุ่มตัวอย่างที่เดิม EPS LB23 มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณแบคทีเรียที่เจริญในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด และยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิดและแบคทีเรียแลคติกได้มากกว่ากลุ่มตัวอย่างที่เดิม LB24-EPS ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน ($P < 0.05$)



ภาพที่ 4.4 การเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลคติก (log cfu /กรัม.) ต่อระยะเวลาในการเก็บรักษา 12 วัน โดยแบ่งกลุ่มทดลองคือ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มโซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5, T3 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, T5 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, T6 กลุ่ม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T7 กลุ่ม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T8 กลุ่ม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 *ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด (ชั่วโมง) ที่ผ่านการเติมสารละลายเชื้อก่อโรคและแบคทีเรียกรดแลคติก

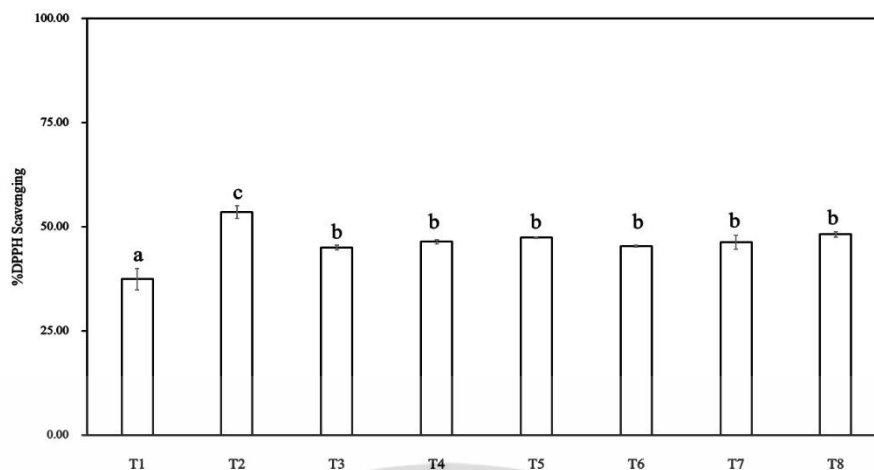
แบคทีเรียก่อโรค	control	citrate	EPS LB23	EPS LB23	EPS LB23	EPS LB24	EPS LB24	EPS LB24	P - value
			0.18%	0.25%	0.31%	0.18%	0.25%	0.31%	
<i>S. Typhimurium</i>	0.09 ± 0.00 ^{a*}	0.10 ± 0.00 ^b	0.10 ± 0.00 ^b	0.11 ± 0.00 ^c	0.13 ± 0.00 ^d	0.09 ± 0.00 ^a	0.09 ± 0.00 ^a	0.10 ± 0.00 ^b	0.000
<i>S. aureus</i>	0.10 ± 0.00 ^a	0.12 ± 0.00 ^d	0.09 ± 0.00 ^{ab}	0.12 ± 0.00 ^d	0.21 ± 0.00 ^e	0.11 ± 0.00 ^{bc}	0.11 ± 0.00 ^{bc}	0.11 ± 0.00 ^{bc}	0.000
<i>L. monocytogenes</i>	0.11 ± 0.00 ^a	0.13 ± 0.00 ^b	0.10 ± 0.00 ^b	0.14 ± 0.00 ^d	0.16 ± 0.00 ^e	0.11 ± 0.00 ^a	0.13 ± 0.00 ^b	0.13 ± 0.00 ^c	0.000
Lactic acid bacteria	0.12 ± 0.00 ^a	0.13 ± 0.00 ^c	0.11 ± 0.00 ^b	0.16 ± 0.00 ^e	0.18 ± 0.00 ^f	0.12 ± 0.00 ^{ab}	0.14 ± 0.00 ^c	0.15 ± 0.00 ^d	0.000

* ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

4.1.2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านการเกิดออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์จากสารสกัดน้ำจากเนื้อโคโดยแบ่งกลุ่มทดลอง 8 กลุ่มทดลอง ดังนี้ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มเติมบีเอชเอความเข้มข้นร้อยละ 0.01, T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, T6 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T7 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T8 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31

1) การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) ในสารสกัดจากเนื้อโค (ภาพที่ 4.5) จากการศึกษพบว่ากลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์มีฤทธิ์ในการต้านการเกิดออกซิเดชันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยกลุ่ม EPS LB24 มีฤทธิ์ในการต้านการเกิดออกซิเดชันมากกว่ากลุ่ม EPS LB23 เล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน โดยกลุ่มที่เติม EPS LB24 0.31%, EPS LB23 0.31%, EPS LB24 0.25%, EPS LB23 0.25%, EPS LB24 0.18% และ EPS LB23 0.18% มีค่าร้อยละ 48.18 ± 0.65 , 47.5 ± 0.19 , 47.35 ± 0.19 , 46.30 ± 1.65 , 45.34 ± 0.30 และ 45.05 ± 0.57 ตามลำดับ แต่ค่าร้อยละการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ยังน้อยกว่ากลุ่มที่เติมสารบีเอชเอ ($P < 0.05$) โดยมีค่าร้อยละ 53.55 ± 1.53 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Zhang *et al.* (2013) พบว่า EPS ที่ผลิตโดย *L. plantarum* C88 มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ DPPH ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระ และสามารถให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนเพื่อหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชัน DPPH เนื่องจากสาร DPPH เป็นอนุมูลอิสระที่คงตัว สารต้านออกซิเดชันจะกำจัดอนุมูลอิสระโดยการให้อิเล็กตรอนกับ $H\cdot$ ทำให้สิ้นสุดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และจากผลการทดลองกลุ่มที่เติม EPS มีความสามารถต้านการเกิดออกซิเดชันได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมเช่นเดียวกับการศึกษาของ Cao *et al.* (2020) ที่ทำการศึกษการต้านการเกิดออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจาก *Bacillus velezensis* SN-1 พบว่ากลุ่มตัวอย่าง EPS มีฤทธิ์ในการต้านการเกิดออกซิเดชันได้มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และพบว่ากลุ่มที่เติมสารบีเอชเอ หรือบิวทิเลเทดไฮดรอกซีแอนิโซ สามารถต้านการเกิดออกซิเดชันได้มากเนื่องจาก บีเอชเอเป็นสารต้านออกซิเดชันทางการค้าที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ในอาหาร เพื่อลดความหืนและยืดอายุในการเก็บรักษา (Ye *et al.* 2012) สารบีเอชเอ สามารถนำมาใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันในไขมันสัตว์ได้ดี ทำหน้าที่ให้ไฮโดรเจนกับอนุมูลอิสระทำให้อนุมูลอิสระเกิดความเสถียร และไม่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา (Reische *et al.* 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

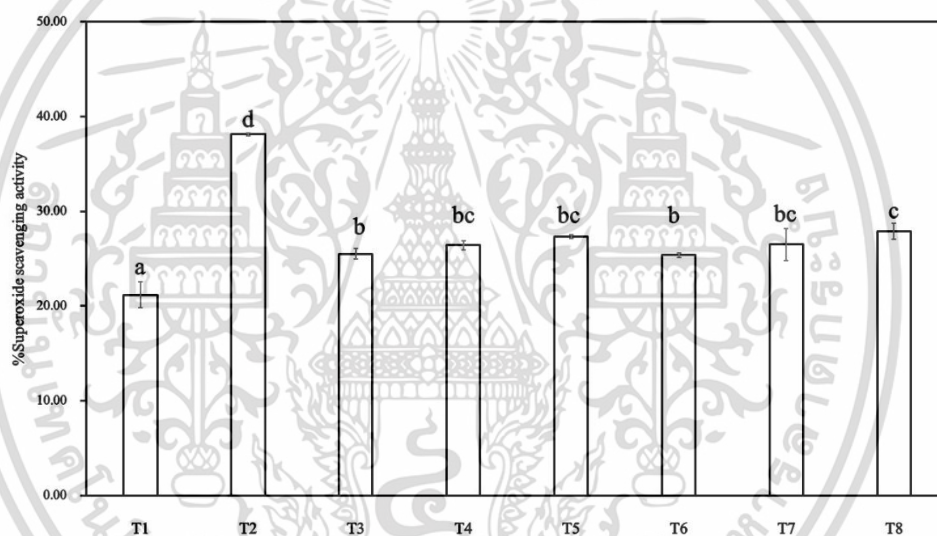


ภาพที่ 4.5 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) ในสารสกัดจากเนื้อโค แบ่งเป็น 8 กลุ่มทดลองคือ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มเติมบีเอสเอความเข้มข้นร้อยละ 0.01, T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, T6 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T7 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T8 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 *ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2) การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical scavenging) ในสารสกัดจากเนื้อโค (ภาพที่ 4.6) ผลการศึกษาเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการยับยั้งการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช คือกลุ่มตัวอย่างที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจาก *Bacillus* ทั้ง 2 ชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยกลุ่มที่เติม EPS LB24 0.31%, EPS LB23 0.31%, EPS LB24 0.25%, EPS LB23 0.25%, EPS LB24 0.18% และ EPS LB23 0.18% มีค่าการยับยั้งร้อยละ 27.87 ± 0.84 , 27.35 ± 0.19 , 26.48 ± 1.65 , 26.40 ± 0.49 , 25.49 ± 0.56 และ 25.38 ± 0.24 ตามลำดับ แต่ค่าการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ยังน้อยกว่ากลุ่มที่เติมสารบีเอสเอ ($P < 0.05$) โดยมีค่าร้อยละ 38.12 ± 0.14 จากผลการทดลองพบว่า EPS สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันได้ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทดลองของ Ye *et al.* (2012) ที่ศึกษาเกี่ยวกับการต้านการเกิดออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจาก *Pseudomonas* PF-6 สารต้านอนุมูลอิสระจะยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระได้ และจากการทดลองของ Fang *et al.* (2013) พบว่า EPS สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันได้โดย Superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$) เป็นตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นๆ จากปฏิกิริยาลูกโซ่ออกซิเดชันโดย EPS จะจับกับ $O_2^{\cdot-}$ ของสารตัวอย่าง ซึ่ง $O_2^{\cdot-}$ เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ของสารในระบบ Phenazine methosulphate (PMS) – Nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุมูล O₂^{•-} ที่ลดลงจะลดการทำปฏิกิริยากับสาร Nitroblue tetrazolium (NBT) ในสารตัวอย่างทำให้การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันลดลง และจากผลการทดลองข้างต้นยังพบว่ากลุ่มที่เติม เอกโซโพลีแซคคาไรด์มีความสามารถยับยั้งการออกซิเดชันมากกว่ากลุ่มควบคุม โดยกลุ่มที่เติม EPS สามารถยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชัน ขึ้นเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เริ่มต้นจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวถูกกระตุ้นทำให้สูญเสียไฮโดรเจนอะตอม (H•) ทำให้เกิดอนุมูลอิสระไฮโดรคาร์บอน (R•) สารต้านการเกิดออกซิเดชันจะยับยั้งการเกิด auto oxidation ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระเสถียรและไม่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาถูกออกซิเดชันในสารสกัดจากเนื้อโคได้ (Pieniz *et al.* 2015) ซึ่งไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาของ Wang *et al.* (2018) พบว่า EPS ที่สกัดจาก *Bacillus velezensis* A2 สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันได้มากกว่ากลุ่มควบคุมและ EPS ที่สกัดได้จากแบคทีเรียกรดแลคติก



ภาพที่ 4.6 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical scavenging) ในสารสกัดจากเนื้อโค แบ่งเป็น 8 กลุ่มทดลองคือ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มเติมบีเอชเอความเข้มข้นร้อยละ 0.01, T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, T6 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T7 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T8 กลุ่มเติม EPS LB24 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 *ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.2 ศึกษาผลของกิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์ ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ได้รับการคัดเลือก ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ศึกษาคุณภาพการต้านการเกิดออกซิเดชันและการต้านสารละลายแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียกรดแลคติกของ EPS ที่สกัดจาก *Bacillus* LB23 และ LB24 ในการทดลองที่ 1 ทำให้ตัดสินใจเลือก EPS LB23 มาศึกษาต่อในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด โดยแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มทดลอง ดังนี้ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5, T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 บรรจุผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการเก็บรักษา 12 วันและสุ่มเก็บตัวอย่างทุกๆ 4 วัน คือวันที่ 0, 4, 8 และ 12 ตรวจสอบวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดที่ไม่ผ่านการเติมสารละลายเชื้อแบคทีเรีย

4.2.1 การศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด

พบการเจริญของแบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic bacteria) (ตารางที่ 4.2) เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษาโดยกลุ่มตัวอย่างที่พบการเจริญของแบคทีเรียน้อยสุดคือกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 รองลงมาเป็นกลุ่มโซเดียมซิเตรท, EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, EPS ความเข้มข้น 0.18 และกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) โดยมีปริมาณแบคทีเรีย 2.10 ± 0.03 , 2.89 ± 0.20 , 2.95 ± 0.14 , 3.09 ± 0.16 และ 3.19 ± 0.19 log cfu/กรัม ตามลำดับ ซึ่งการเจริญของแบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลางในแต่ละกลุ่มทดลองยังไม่เกินมาตรฐานที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนดว่าปริมาณแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์พร้อมปรุงของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2560) กำหนดให้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์น้อยกว่า 1×10^6 log cfu/กรัม

แบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิสูง (Thermophilic bacteria) (ตารางที่ 4.2) กลุ่มตัวอย่างที่เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าการเจริญของแบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิสูงพบน้อยที่สุดคือกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 รองลงมาเป็นกลุ่มที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.31 และ 0.18 ($P < 0.05$) โดยมีปริมาณแบคทีเรีย 2.14 ± 0.02 , 2.36 ± 0.07 และ 2.58 ± 0.08 log cfu/กรัม ตามลำดับ แต่ทั้งนี้ก็ยังพบการเจริญของแบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิสูงมากกว่ากลุ่มตัวอย่างที่เติมโซเดียมซิเตรท มีปริมาณแบคทีเรีย 1.61 ± 0.13 log cfu/กรัม มีรายงานว่าโซเดียมซิเตรทสามารถควบคุมการงอกของสปอร์ *Clostridium perfringens* ในเนื้อโคและเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อหมูมารินेटได้ (Thippareddi *et al.* 2003) และโซเดียมซิเตรทจะทำให้เกิดระบบบัฟเฟอร์เพื่อช่วยควบคุม pH ของเนื้อหมูหมักเกลือและไม่หมักเกลือ ให้มีค่า pH ประมาณ 5.98 – 6.15 และโซเดียมซิเตรทยังได้รับการรับรองให้เป็นสารต้านจุลินทรีย์เพื่อควบคุมการเจริญของเชื้อก่อโรคในอาหารเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ (USDA FSIS, 2000)

นอกจากนั้น Sallam (2006) ได้ทำการศึกษาเพื่อประเมินคุณภาพทางจุลชีววิทยาของปลาแซลมอนสดโดยจุ่มลงในโซเดียมซิเตรท (NaC) ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคและจุลินทรีย์เน่าเสียประเภทต่างๆ ($P < 0.05$) ได้แก่ Enterobacteriaceae, Psychrotrophic bacteria, Mesophilic bacteria, Thermophilic bacteria, *Pseudomonas* spp. และ Lactic acid bacteria

และจากผลการศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดโดยไม่เติมสารละลายเชื้อก่อโรค ดังแสดงในตารางที่ 4.2 โดยไม่พบการเจริญของแบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ (psychrophilic bacteria), สปอร์ของแบคทีเรียไม่ใช้อากาศ (anaerobic bacterial spore), แบคทีเรียกรดแลคติก, ยีสต์ และรา และ พบการเจริญของแบคทีเรียไม่ใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic anaerobic bacteria) และสปอร์ของแบคทีเรียใช้อากาศ (aerobic bacterial spore) ในวันที่ 12 ของการเก็บรักษา ($P > 0.05$) คาดว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และระยะเวลา 300 นาที ทำให้เกิดการพลาสเจอร์ไรส์ผลิตภัณฑ์ ส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ ยืดระยะพักตัวของจุลินทรีย์ (lag phase) ทำให้แบคทีเรียเกิดการปรับตัวในการเจริญเติบโตมากขึ้นกว่าจะเข้าสู่ระยะแบ่งเซลล์ สังเกตได้จากค่าระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของแบคทีเรีย ในการทดลองก่อนหน้านี้ กลุ่มที่เติม EPS สามารถยืดระยะเวลานการแบ่งตัวของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 4.2 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้งรูปซู-วิด

จุลินทรีย์ (log cfu/g)	control				citrate				EPS LB23 0.18%				EPS LB23 0.25%				EPS LB23 0.31%			
	0	4	8	12	0	4	8	12	0	4	8	12	0	4	8	12	0	4	8	12
Psychrophilic aerobic																				
bacterial	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Mesophilic aerobic																				
bacterial	2.65±0.03 ^{1a}	2.71±0.12 ^{1a}	3.59±0.11 ^{1b}	3.83±0.06 ^{1b}	2.30±0.09 ^{1a}	2.46±0.07 ^{1a}	3.36±0.08 ^{1b}	3.48±0.14 ^{1b}	2.62±0.07 ^{1a}	2.69±0.09 ^{1a}	3.52±0.05 ^{1b}	3.55±0.05 ^{1b}	2.61±0.02 ^{1a}	2.55±0.01 ^{1a}	3.32±0.06 ^{1b}	3.36±0.06 ^{1b}	1.39±0.12 ^{1a}	1.39±0.12 ^{1a}	2.77±0.08 ^{1b}	2.87±0.06 ^{1b}
Thermophilic aerobic																				
bacterial	2.56±0.08 ^{1b}	2.79±0.04 ^{1b}	2.94±0.03 ^{1b}	3.07±0.06 ^{1b}	1.41±0.09 ^{1a}	1.39±0.12 ^{1a}	1.42±0.06 ^{1a}	2.22±0.15 ^{1a}	2.30±0.03 ^{1c}	2.45±0.04 ^{1c}	2.69±0.05 ^{1c}	2.88±0.05 ^{1c}	2.07±0.06 ^{1a}	2.11±0.04 ^{1b}	2.15±0.05 ^{1b}	2.27±0.05 ^{1b}	2.13±0.07 ^{1b}	2.21±0.04 ^{1b}	2.65±0.06 ^{1b}	2.47±0.01 ^{1b}
Mesophilic anaerobic																				
bacteria	ND	ND	ND	1.03±0.12	ND	ND	ND	0.13±0.03	ND	ND	ND	0.52±0.21	ND	ND	ND	1.00±0.04	ND	ND	ND	0.09±0.11
Mesophilic aerobic																				
bacterial spore	ND	ND	ND	0.61±0.08	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.17±0.37	ND	ND	ND	0.31±0.28	ND	ND	ND	ND
Mesophilic anaerobic																				
bacterial spore	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
แบคทีเรียกรดแลคติก	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ยีสต์ และ รา	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

^{ABC} ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกัน ในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

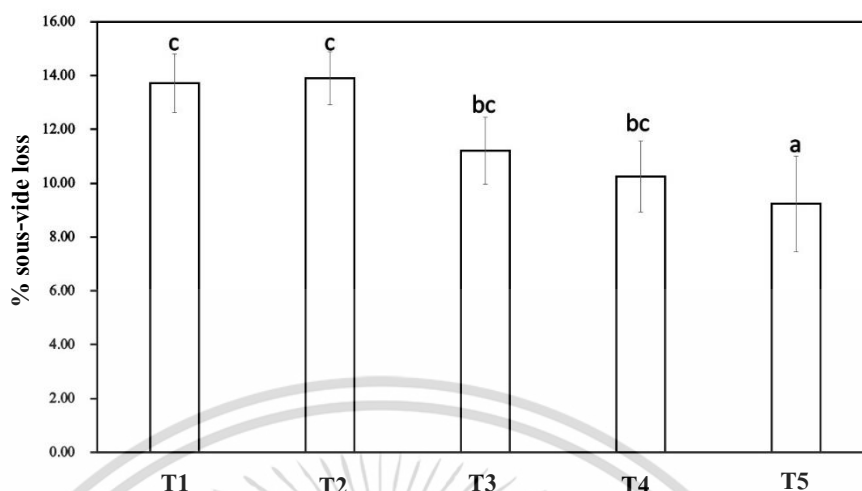
^{abc} ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกัน ในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ND = จำนวนแบคทีเรียน้อยกว่า 1 log cfu/g

4.2.2 คุณภาพทางเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ที่สกัดจาก *Bacillus subtilis* LB23

โดยแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มทดลอง ดังนี้ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มเติม โซเดียมซิติเรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5, T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 ทำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 12 วัน และทำการสุ่มตัวอย่างออกมาทดสอบคุณภาพทางเคมีกายภาพทุกๆ 4 วัน ให้ผลการประเมินคุณภาพทางเคมี-กายภาพ ระหว่างการเก็บรักษา ดังต่อไปนี้

1) ค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างการซู-วิด (Sous-vide loss, %) ของผลิตภัณฑ์เนื้อ โคชิ้นรูปซู-วิดโดยทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 วัน (ภาพที่ 4.7) พบว่ากลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างการให้ความร้อนน้อยสุดรองลงมาคือกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 0.18, กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เติม โซเดียมซิติเรทที่มีค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างการให้ความร้อนมากที่สุด ($P < 0.05$) ซึ่งมีค่าร้อยละ 9.23, 10.25, 11.21, 13.71 และ 13.89 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า EPS ที่เติมลงในผลิตภัณฑ์สามารถช่วยลดการสูญเสียไอน้ำระหว่างการซู-วิด ในผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสได้ การสูญเสียไอน้ำหนักหลังจากการให้ความร้อนจะมีความสัมพันธ์กับ โปรตีนในเนื้อสัตว์ เนื่องจาก ภายในเส้นใยโปรตีนของเซลล์กล้ามเนื้อเป็นองค์ประกอบ เมื่อเนื้อสัตว์ได้รับความร้อนจะทำให้เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติ (denatured protein) โดยความร้อนจะทำลายพันธะของเซลล์กล้ามเนื้อที่ทำหน้าที่ยึดเกาะโครงสร้างโมเลกุล (Triyannanto and Lee, 2015) Remminghorst *et al.* (2009) รายงานว่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Azotobacter vinelandii* สามารถใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพราะนอกจาก EPS จะมีคุณสมบัติเป็นสารทำให้เกิดความคงตัวของอิมัลชันแล้ว EPS ยังมีคุณสมบัติเป็นสารช่วยจับน้ำอีกด้วย



ภาพที่ 4.7 ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการชู-วิด (Sous-vide loss, %) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปชู-วิด โดยแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มทดลอง คือ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มเติม โซเดียมซิติเรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5, T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 *ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2) ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์ (Purge loss, %) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปชู-วิดโดยเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ (ตารางที่ 4.3) พบว่ากลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 มีค่าการสูญเสียน้ำน้อยที่สุด รองลงมาเป็นกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ 0.31 ($P < 0.05$) โดยมีค่าร้อยละ 3.04, 3.08 และ 3.10 ตามลำดับ โดยมีค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์น้อยกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เติมโซเดียมซิติเรทที่มีค่าร้อยละ 3.81 และ 3.89 ตามลำดับ ในระหว่างการเก็บรักษาค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากการปลดปล่อยของน้ำภายใน โครงสร้างผลิตภัณฑ์ Supaphon *et al.* (2020) ซึ่งสอดคล้องกับ Kim *et al.* (2010) และ Mungure *et al.* (2016) ที่รายงานว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นด้วย เช่นเดียวกับการศึกษาของ Lee and Yoon (2001) ที่ทดลองเก็บรักษาเนื้อโคที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 52 วัน พบว่าค่าการสูญเสียน้ำเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา เช่นเดียวกับ Rooyen *et al.* (2018) ที่ศึกษาเกี่ยวกับค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาของเนื้อโคมีค่าเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการทดลองของ Hilbig *et al.* (2019) ที่ผลิต EPS จากแบคทีเรียกรดแลคติก 3 ชนิดคือ *L. plantarum* TMW 1.1478, *L. sakei* TMW 1.411 และ *L. curvatus* TMW 1.1928 ในผลิตภัณฑ์แฮมขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปใหม่ ทำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วันพบว่าค่าการสูญเสีย น้ำในระหว่างการเก็บรักษาของแฮมชิ้นรูปใหม่ลดลง

3) ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการย่าง (Grilling loss, %) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูป ชู-วิด (ตารางที่ 4.4) พบว่ากลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, 0.25 และ 0.18 มีค่าการสูญเสีย น้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์น้อยกว่ากลุ่มที่เติม โซเดียมซิเตรทและกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) มีค่าร้อยละ 12.06, 15.38, 15.70, 16.13 และ 17.39 ตามลำดับ และในระหว่างการเก็บ รักษาเป็นเวลา 4, 8 และ 12 วัน พบว่ามีค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการย่างเพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 ($P < 0.05$) จากผลการทดลองข้างต้นพบว่ากลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่า การสูญเสียน้ำระหว่างการ ย่างน้อยที่สุด แต่มีค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์มากกว่ากลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ 0.18 กล่าวคือกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 สูญเสีย น้ำออกจากผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเก็บรักษาไปมากทำให้ปริมาณน้ำภายในโครงสร้างเหลือน้อย จึงส่งผลให้ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการย่างมีค่าต่ำที่สุด ซึ่งใกล้เคียงการทดลองของ Ferreira *et al.* (2016) และ Juárez *et al.* (2010) ที่ศึกษาเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์แปดดีเนื้อไก่และเนื้อกระป๋องมาผ่านความ ร้อนด้วยการย่างจะเกิดการสูญเสียน้ำระหว่างการย่างประมาณ 13.15% และค่าการสูญเสียน้ำจะ เพิ่มขึ้นเมื่อผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น เนื่องจากการให้ความร้อนทำให้โครงสร้างของ เนื้อเยื่อในผลิตภัณฑ์ถูกทำลายทำให้เกิดการปลดปล่อยน้ำมากขึ้นส่งผลต่อค่าการสูญเสียน้ำระหว่าง การย่างของผลิตภัณฑ์ (Becker *et al.* 2016)

4) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปชู-วิด (ตารางที่ 4.3) พบว่ากลุ่มควบคุมมีค่า pH เท่ากับ 5.95 ซึ่งใกล้เคียงกับกลุ่มที่เติม EPS ทั้ง 3 ความเข้มข้นคือเข้มข้น ร้อยละ 0.18, 0.25 และ 0.31 โดยมีค่า pH เท่ากับ 5.95, 5.96 และ 5.95 ตามลำดับ ($P < 0.05$) และพบว่า ค่า pH ในระหว่างการเก็บรักษาลดลง โดยในวันเริ่มต้นและหลังเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4, 8 และ 12 วัน มีค่า pH เท่ากับ 5.99, 5.98, 5.97 และ 5.96 ตามลำดับ ($P < 0.05$) เช่นเดียวกับค่า pH ผลิตภัณฑ์ เนื้อโคชิ้นรูปชู-วิดหลังจากการย่าง (ตารางที่ 4.4) โดยมีค่า pH ในระหว่างการเก็บรักษา ($P < 0.05$) เท่ากับ 5.99, 5.98, 5.98 และ 5.96 ตามลำดับ สาเหตุที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลงอาจเนื่องมาจาก โพรตีนเกิดการเสียสภาพทางธรรมชาติและปลดปล่อยกรดอะมิโนอิสระออก (Devadason *et al.* 2013) ซึ่งผลสอดคล้องกับ Girish *et al.* 2018 ศึกษาผลิตภัณฑ์เนื้อโคชู-วิดพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บ รักษาเพิ่มขึ้น (0 – 6 เดือน) ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงจาก 6.08 – 5.97 ตามลำดับ อีกทั้งยัง สอดคล้องกับ Rajkumar *et al.* (2010) ศึกษาผลิตภัณฑ์เนื้อพะงิ้นพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษา

ของผลิตภัณฑ์นานขึ้นส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำลง

ตารางที่ 4.3 คุณภาพทางเคมี – ภายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคจีนรูปชู-วิตตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มตัวอย่าง					ระยะเวลาเก็บรักษา					P-value			
	control	citrate	LB23 0.18%	LB23 0.25%	LB23 0.31%	SEM	0	4	8	12	SEM	กลุ่ม ตัวอย่าง	ระยะเวลา เก็บรักษา	Interaction
การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษา (Purge loss, %)	3.81 ^{ab*}	3.89 ^b	3.04 ^a	3.08 ^{ab}	3.10 ^{ab}	0.229	3.43	3.80	4.22	4.16	0.117	0.037	0.052	0.625
ค่าความเป็นกรดต่าง	5.95	6.20	5.95	5.96	5.95	0.752	5.99	5.98	5.97	5.96	0.503	0.070	0.090	0.077
ค่าสี														
ค่าความสว่าง (CIE L*)	43.48	45.79	43.96	43.74	43.69	0.678	43.54	43.58	43.94	44.16	0.758	0.051	0.071	0.102
ค่าสีแดง (CIE a*)	10.23	10.59	10.74	10.57	12.07	0.295	9.72	9.70	9.71	9.70	0.264	0.062	0.066	0.300
ค่าสีเหลือง (CIE b*)	10.43	11.01	10.70	10.36	10.47	0.277	11.47	11.45	11.48	11.49	0.248	0.177	0.547	0.004
ค่าความสดใส (Chroma C*)	14.70	14.75	14.81	14.90	14.89	0.270	15.14	15.77	14.46	15.27	0.242	0.102	0.094	0.003
ค่าองศาของสี (Hue angle h*)	45.28	46.19	43.29	44.88	41.09	0.758	49.95	43.93	40.51	45.50	0.875	0.042	0.120	0.539
ค่าลักษณะเนื้อสัมผัส														
ค่าความแข็ง (Hardness, N)	9.82	10.11	9.40	9.33	9.58	0.968	39.95	40.93	40.51	40.50	0.866	0.038	0.200	0.516
ค่าความสามารถในการเกาะรวมตัว (Cohesiveness, ratio)	0.68	0.72	0.68	0.66	0.67	0.109	0.64	0.67	0.74	0.68	0.118	0.096	0.100	0.163
ค่าความเหนียว (Gumminess, N)	6.63	7.33	6.39	6.14	6.45	0.307	3.94	4.12	4.20	4.55	0.275	0.055	0.051	0.100
ค่าความยืดหยุ่น (Springiness, ratio)	0.77 ^a	0.77 ^a	0.80 ^b	0.79 ^b	0.80 ^b	0.007	0.78	0.77	0.79	0.80	0.106	0.003	0.114	0.483
ค่าความยากในการเคี้ยว (Chewiness, N)	5.13	5.65	4.30	4.36	4.76	0.246	3.31	3.73	4.37	4.94	0.220	0.061	0.210	0.166
ค่าแรงเคี้ยว (N)	31.95 ^a	34.04 ^b	32.10 ^a	32.00 ^a	31.73 ^a	0.302	28.86	33.18	33.53	33.88	0.270	0.043	0.374	0.463

* ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 4.4 คุณภาพทางเคมี – กายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปซู-วิตตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากผ่านการย่าง

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มตัวอย่าง					ระยะเวลาเก็บรักษา					P-value			
	control	citrate	LB23 0.18%	LB23 0.25%	LB23 0.31%	SEM	0	4	8	12	SEM	กลุ่ม ตัวอย่าง	ระยะเวลา เก็บรักษา	Interaction
ค่าการสูญเสียไน้ระหว่างการย่าง (Grill loss %)	17.39 ^{c*}	16.13 ^{bc}	15.70 ^b	15.38 ^b	12.06 ^a	0.474	13.32	15.73	16.19	16.09	0.424	0.047	0.101	0.071
ค่าความเป็นกรดต่าง	5.95	6.20	5.94	5.96	5.96	0.003	5.99	5.98	5.98	5.96	0.002	0.061	0.079	0.074
ค่าสี														
ค่าความสว่าง (CIE L*)	31.08	32.10	31.80	31.92	31.41	0.668	30.47 ^a	30.79 ^b	31.87 ^c	32.04 ^d	0.598	0.237	0.000	0.096
ค่าสีแดง (CIE a*)	12.26 ^a	12.03 ^a	13.99 ^b	15.73 ^c	16.39 ^d	0.636	9.75	9.95	9.89	9.93	0.569	0.038	0.100	0.125
ค่าสีเหลือง (CIE b*)	13.03	14.51	13.85	13.83	13.82	0.584	11.57	11.55	11.58	11.52	0.522	0.185	0.112	0.101
ค่าความสดใส (Chroma C*)	17.94	18.90	19.76	19.22	24.68	0.649	15.15	15.21	14.95	15.09	0.581	0.052	0.168	0.542
ค่าองศาของสี (Hue angle h*)	47.33	50.28	45.19	49.21	48.45	1.464	49.83	45.51	47.45	49.87	1.309	0.069	0.114	0.547
ค่าลักษณะเนื้อสัมผัส														
ค่าความแข็ง (Hardness, N)	36.01 ^b	34.26 ^a	36.43 ^b	36.44 ^b	33.40 ^a	0.466	34.20	36.08	36.87	36.48	0.417	0.000	0.051	0.055
ค่าความสามารถในการเกาะรวมตัว (Cohesiveness, ratio)	0.69 ^a	0.78 ^b	0.67 ^a	0.69 ^a	0.70 ^a	0.007	0.68 ^a	0.68 ^a	0.73 ^b	0.73 ^b	0.006	0.000	0.000	0.263
ค่าความเหนียว (Gumminess, N)	4.82 ^{bc}	6.83 ^c	4.52 ^{bc}	5.40 ^b	4.48 ^a	0.372	4.65	4.57	5.70	5.12	0.332	0.000	0.069	0.170
ค่าความยืดหยุ่น (Springiness, ratio)	0.78	0.79	0.81	0.81	0.81	0.007	0.73 ^a	0.79 ^b	0.79 ^b	0.79 ^b	0.006	0.016	0.000	0.430
ค่าความยากในการเคี้ยว (Chewiness, N)	19.61 ^a	21.37 ^c	19.86 ^{ab}	20.71 ^{bc}	19.11 ^a	0.007	0.68 ^a	0.68 ^a	0.73 ^b	0.73 ^b	0.006	0.000	0.000	0.090
ค่าแรงเคี้ยว (N)	35.93 ^a	37.59 ^d	36.38 ^c	36.27 ^b	35.98 ^a	0.047	36.47	37.14	37.72	38.48	0.042	0.000	0.996	0.242

* ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกัน ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

5) การศึกษาค่าสี (CIE; L^* , a^* และ b^*) ค่าความสดสี (Chroma) และค่าองศาของสี (Hue angle) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 วัน (ตารางที่ 4.3) พบว่ากลุ่มควบคุมมีค่า L^* เท่ากับ 43.48 ซึ่งใกล้เคียงกับกลุ่มที่เติม EPS ทั้ง 3 ความเข้มข้น คือเข้มข้นร้อยละ 0.18, 0.25 และ 0.31 ($P>0.05$) โดยมีค่าความสว่างเท่ากับ 43.96, 43.74, และ 43.69 ตามลำดับ เป็นไปในทิศทางเดียวกับค่า L^* ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดหลังจากการย่าง (ตารางที่ 4.4) โดยกลุ่มควบคุมมีค่าความสว่าง 31.08 ซึ่งใกล้เคียงกับกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, 0.25 และ 0.31 ($P>0.05$) โดยมีค่า 31.80, 31.92 และ 31.41 ตามลำดับ และพบว่าค่าความสว่าง L^* ในวันที่เริ่มต้นและในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4, 8 และ 12 วัน มีค่าเพิ่มขึ้น ($P>0.05$) และภายหลังจากการย่างแล้วทำการเก็บรักษาค่าความสว่างในวันที่เริ่มต้นและในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4, 8 และ 12 วัน ($P>0.05$) ผลิตภัณฑ์มีค่าความสว่างเพิ่มขึ้น เนื่องจากน้ำที่อยู่ในโครงสร้างของผลิตภัณฑ์ ถูกปลดปล่อยออกมาหลังจากโครงสร้างของเนื้อเยื่อถูกทำลายทำให้บริเวณผิวหนังเนื้อมีความสว่างเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา (Eichner and wolf, 1983) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ Supaphon *et al.* (2020) ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคซู-วิดที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส ทั้ง 2 อุณหภูมิมีค่าความสว่าง L^* เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา ส่วนการเปลี่ยนแปลงของค่าสีแดง (a^*) พบว่ากลุ่มที่เติม EPS มีค่าสีแดงมากกว่ากลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.3) โดยกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าสีแดงมากที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 และ 0.25 แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่เมื่อนำไปย่างพบว่าผลิตภัณฑ์มีค่าสีแดงเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.4) กลุ่มที่มีค่าสีแดงมากที่สุดคือกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 รองลงมาเป็นกลุ่มที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ 0.18 แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่าสีแดงเท่ากับ 16.39, 15.73 และ 13.99 ส่วนค่าสีเหลือง (b^*) พบว่ากลุ่มที่เติม EPS มีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.3) ทั้ง 3 ความเข้มข้น คือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, 0.25 และ 0.31 ($P>0.05$) มีค่าสีเหลืองเท่ากับ 10.70, 10.36 และ 10.47 ตามลำดับ เมื่อนำผลิตภัณฑ์ไปผ่านการให้ความร้อนโดยการย่างพบว่าค่าสีเหลืองของผลิตภัณฑ์สูงขึ้น โดยกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าสีเหลืองมากที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 และ 0.25 แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ค่าความสดสี (Chroma) และค่าองศาของสี (Hue angle) มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างใกล้เคียงกันตลอดการเก็บรักษา ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของทั้งสองค่าเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของค่าสีเหลืองและค่าสีแดง พบว่าค่าความสดสีของกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, 0.25 และ 0.31 ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมและไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนค่าองศาสีพบว่ากลุ่มที่เติม EPS มีค่าองศาสีน้อยกว่ากลุ่มควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, 0.25 และ 0.31 ($P>0.05$) แสดงให้เห็นว่ากลุ่มทดลองและระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาไม่มีอิทธิพลร่วมต่อค่า a^* , b^* , C^* และ h^* ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้นรูปซู-วิด ($P>0.05$) และค่าสีแดง ค่าสีเหลือง ค่าองศาสี และค่าความสดใสของสีนั้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) สอดคล้องกับ Kim *et al.* (2013) ศึกษาผลการต้านอนุมูลอิสระต่อค่าสีและการออกซิเดชันของไขมันในแพ็คเกจเนื้อโคระหว่างการรักษาแบบเย็นพบว่าในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มีค่าความสว่างลดลงและไม่พบความแตกต่างของค่าสีแดง และค่าสีเหลืองในทุกตัวอย่างหลังการรักษา จะเห็นได้ว่า ผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้นรูปซู-วิดที่เก็บรักษาที่ระยะ 12 วัน กลุ่ม EPS ทั้ง 3 กลุ่มมีสีแดงมากกว่ากลุ่มควบคุม ส่วนผลิตภัณฑ์เมื่อผ่านการทำให้สุกโดยการย่างพบว่าค่าสีเมื่อมองด้วยตาเปล่า ไม่แตกต่างกัน

6) ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม (Texture profile analysis) ได้แก่ ค่าค่าความแข็ง (Hardness), ค่าความยากในการเคี้ยว (Chewiness), ความเหนียว (Gumminess), ค่าความสามารถในการเกาะรวมตัวกัน (Cohesiveness) และค่าความยืดหยุ่น (Springiness) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคจิ้นรูปซู-วิด พบว่าค่าความแข็งของผลิตภัณฑ์ที่เติม EPS มีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.3) โดยกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าความแข็งมากที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้น 0.18 และ 0.25 ($P>0.05$) โดยมีค่า 9.58, 9.40 และ 9.33 นิวตัน ตามลำดับ แต่ก็ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.4) พบว่าค่าความแข็งของกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าน้อยที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่มโซเดียมซิเตรท, กลุ่มควบคุม, กลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 และ 0.25 ($P<0.05$) มีค่า 33.40, 34.26, 36.01, 36.43 และ 36.44 นิวตัน ตามลำดับ เช่นเดียวกับการทดลองของ Hilbig *et al.* (2019) ศึกษาคุณสมบัติของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ที่ได้จากแบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์แฮมขึ้นรูปใหม่ พบว่า EPS ช่วยให้ค่าการสูญเสียน้ำในผลิตภัณฑ์ลดลงในระหว่างการเก็บรักษา และยังช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีค่าความแข็งที่ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เติม EPS ส่วนค่าความสามารถในการเกาะรวมตัว (ตารางที่ 4.3) พบว่ากลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 0.68 นิวตัน ซึ่งไม่แตกต่างกันกับกลุ่มตัวอย่างที่เติม EPS ทั้ง 3 ความเข้มข้นคือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, 0.25 และ 0.31 ($P>0.05$) มีค่าเท่ากับ 0.68, 0.66 และ 0.67 ตามลำดับ เป็นไปในทิศทางเดียวกับค่าความสามารถในการเกาะรวมตัว ของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.4) พบว่ากลุ่มที่เติม EPS มีค่าไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) โดยกลุ่มควบคุม, กลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, 0.25 และ 0.31 มีค่า 0.69, 0.67, 0.69 และ 0.70 ตามลำดับ ผลการศึกษาค่าความเหนียวของผลิตภัณฑ์ (ตารางที่ 4.3) พบว่ากลุ่มที่เติม EPS มีค่าไม่แตกต่างกันกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) โดยกลุ่มควบคุม, กลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, 0.25 และ 0.31 มีค่าความเหนียวเท่ากับ 6.63, 6.39, 6.14 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.45 นิวตัน ตามลำดับ ส่วนค่าความเหนียวของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.4) พบว่ากลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าน้อยที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, กลุ่มควบคุม, กลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และกลุ่มโซเดียมซิเตรทมีค่ามากที่สุด ($P < 0.05$) คือ 4.48, 4.52, 4.82, 5.40 และ 6.83 นิวตัน ตามลำดับ

เช่นเดียวกันกับค่าความยืดหยุ่น (ตารางที่ 4.3) พบว่ากลุ่มที่เติม EPS ทั้ง 3 ความเข้มข้นมีค่าไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, 0.25 และ 0.31 มีค่าความยืดหยุ่นเท่ากับ 0.80, 0.79 ตามลำดับ สอดคล้องกันกับค่าความยืดหยุ่นของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.4) โดยที่ทั้ง 3 ความเข้มข้นมีค่าความยืดหยุ่นเท่ากัน คือ 0.81 ($P > 0.05$) จากผลการศึกษาค่าความยากในการเคี้ยว (ตารางที่ 4.3) พบว่ากลุ่มที่เติม EPS ทั้ง 3 ความเข้มข้นมีค่าไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, 0.25 และ 0.31 มีค่า 4.30, 4.36 และ 4.76 นิวตัน ตามลำดับ และสุดท้ายค่าความยากในการเคี้ยวของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.4) พบว่ากลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าน้อยที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่มควบคุม, กลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, กลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และกลุ่ม โซเดียมซิเตรท ($P < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 19.11, 19.61, 19.86, 20.71 และ 21.37 นิวตัน ตามลำดับ Dertli *et al.* (2016) รายงานว่าจากการศึกษาลักษณะเนื้อสัมผัสของไส้กรอกหมักแบบตุรกีที่ได้รับการเติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากแบคทีเรียกรดแลคติกลงในผลิตภัณฑ์พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เติม EPS มีค่าความแข็งและค่าการยืดติดเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และจากผลการทดลองพบว่ากลุ่มทดลองและระยะเวลาในการเก็บรักษาไม่มีอิทธิพลร่วมต่อค่า ได้แก่ ค่าค่าความแข็ง ค่าความยากในการเคี้ยว ความเหนียว และค่าความสามารถในการเกาะรวมตัวกัน และค่าความยืดหยุ่น ($P > 0.05$) ซึ่งค่าลักษณะเนื้อสัมผัสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา โดยก่อนการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้รับความร้อนจากการชู-วิดทำให้โปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกล้ามเนื้อทำให้จับตัวกันแน่นขึ้น ส่งผลให้ตัวอย่างมีค่าความแข็งสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Belibagli and Ersan. (2018) ที่รายงานว่าค่าความแข็งในผลิตภัณฑ์เนื้อแกะชู-วิดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ระยะเวลาสั้นขึ้น โดยความร้อนที่อุณหภูมิดังกล่าวสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีนได้ แต่อาจจะเอนไซม์บางชนิดที่เหลือยังคงดำเนินต่อไปแม้จะเก็บผลิตภัณฑ์ในสถานะแช่เย็น และในวันที่ 12 มีค่าความสามารถในการเกาะรวมตัวกันลดลง เนื่องจากเอนไซม์ในเนื้อทำให้โปรตีนเสียสภาพทำให้ความสามารถในการเกาะตัวกันลดลง (Akoglu *et al.* 2018)

7) ค่าแรงตัดผ่านขึ้นเนื้อ (Shear force) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปซู-วิด (ตารางที่ 4.3) พบว่าค่าแรงตัดผ่านขึ้นเนื้อของผลิตภัณฑ์ที่เติม EPS ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นมีค่าไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม โดยกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าแรงตัดผ่านขึ้นเนื้อน้อยที่สุด รองลงมาเป็นกลุ่มควบคุม, กลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, กลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 และกลุ่มโซเดียมซิเตรทมีค่ามากที่สุด ($P < 0.05$) โดยมีค่า 31.73, 31.95, 32.00, 32.10 และ 34.04 นิวตัน ตามลำดับและเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 วัน พบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีค่าแรงตัดผ่านเพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น จากผลการทดลองพบว่ากลุ่มที่เติม โซเดียมซิเตรทมีค่าแรงตัดผ่านสูงที่สุดเนื่องจากโซเดียมซิเตรทมีคุณสมบัติทำให้ ทำให้ค่า pH ของผลิตภัณฑ์สูงขึ้น มีค่าเท่ากับ 6.20 ซึ่งเป็นค่าที่ pH ของเนื้อห่างจาก จุดไอโซอิเล็กทริก (isoelectric point; pI) ที่โดยปกติจะมีค่าประมาณ 5.0 – 5.3 ทำให้ประจุบวกของ โปรตีนในผลิตภัณฑ์จะถูกจับด้วยคลอไรด์ไอออน (Cl⁻) ทำให้ประจุสุทธิของ โปรตีนเป็นบวกลดลง ส่งผลให้ช่องว่างในการรับน้ำของเส้นใยไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อลดลง ทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำของ โปรตีนลดลงด้วยเช่นกัน (Albaracin *et al.* 2011)

ค่าแรงตัดผ่านขึ้นเนื้อของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปซู-วิดที่ผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.4) พบว่ากลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าไม่แตกต่างกันกับกลุ่มควบคุม โดยกลุ่มควบคุมมีค่าแรงตัดผ่านขึ้นเนื้อน้อยที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, กลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, กลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 และกลุ่มโซเดียมซิเตรท ($P < 0.05$) โดยมีค่า 35.93, 35.98, 36.27, 36.38 และ 37.59 นิวตัน ตามลำดับ และพบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาที่นานขึ้นส่งผลให้ค่าแรงตัดผ่านเพิ่มมากขึ้นแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยในวันที่ 0, 4, 8 และ 12 ($P > 0.05$) การให้ความร้อนกับโปรตีน หรือ การปรับค่าความเป็นกรด – ด่าง เป็นต้น ทำให้พันธะไฮโดรเจนที่ทำหน้าที่ยึดเกาะของโครงสร้างถูกทำลาย (Asalyng *et al.* 2003) ทำให้ค่าประจุบวกและประจุขั้วลบมีปริมาณเท่ากัน เรียกสภาวะนี้ว่า isoelectric point (pI) ทำให้น้ำที่อยู่ในโปรตีนกล้ามเนื้อหลุดออกมาได้อย่างอิสระ ทำให้ค่าความเป็นกรดด่างของเนื้ออยู่ที่ประมาณ 5.0 เมื่อเนื้อมีประสิทธิภาพในการจับต่ำลงส่งผลให้เกิดการสูญเสียความชื้นสูงทำให้น้ำหนักลดลง (กรมปศุสัตว์. 2553)

4.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นที่ได้รับ การคัดเลือก ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชินรูปซู-วิดระหว่างการ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส

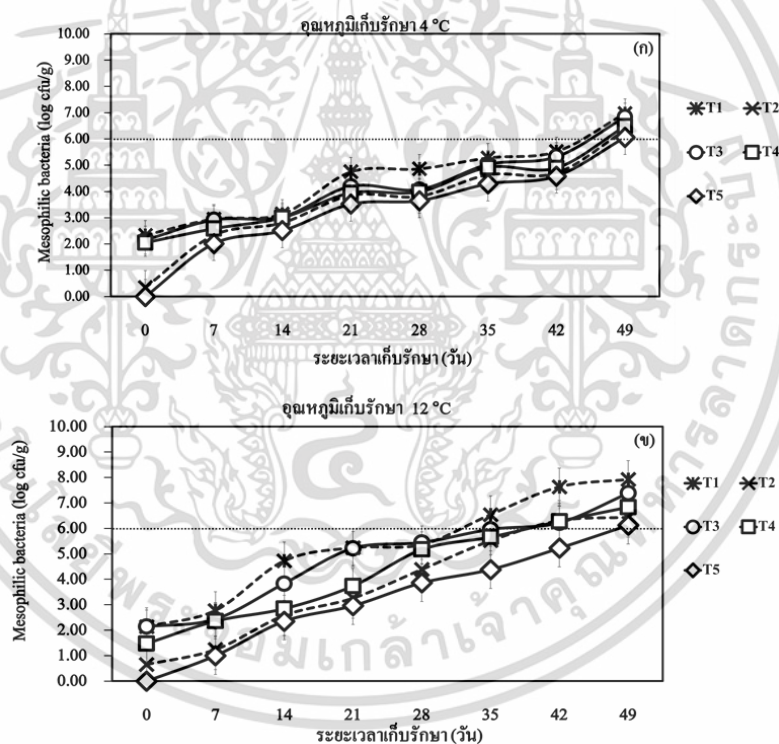
4.3.1 ผลของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ที่มีสมบัติด้านจุลินทรีย์ต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษา ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชินรูปซู-วิด

จากผลการศึกษาความเข้มข้นของ EPS ที่สกัดจาก *Bacillus subtilis* LB23 ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นในการทดลองที่ 2 ทำให้ตัดสินใจเลือกศึกษาความเข้มข้นของ EPS ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 โดยแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มทดลอง ดังนี้ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5, T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 บรรจุในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส สุ่มเก็บตัวอย่างระหว่างเก็บรักษาในวันที่ 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 และ 49 วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ทั้งหมดตามข้อกำหนดของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ดังต่อไปนี้

1) การเจริญของแบคทีเรียที่ใช้อากาศในการเจริญที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic aerobic bacteria) จากการศึกษาพบการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 น้อยที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรท, กลุ่มเติมโซเดียมซิเตรทและบีเอสเอ, กลุ่ม บีเอสเอ และ กลุ่มควบคุมพบการเจริญของเชื้อมากที่สุด ($P < 0.05$) และจากการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่ อุณหภูมิต่างกันพบการเจริญของแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 4.8 ข) มากกว่าที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 4.8 ก) ($P < 0.05$) โดยผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศา เซลเซียส พบการเสื่อมเสียหลังจากเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 49 วัน กลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 พบการเจริญของแบคทีเรียน้อยที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรท, กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรทและบีเอสเอ, กลุ่มบีเอสเอ และกลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส กลุ่มควบคุมเริ่มเสื่อมเสียที่ระยะเวลา 35 วัน มีค่า 6.54 log cfu/กรัม ส่วน กลุ่มอื่นๆ เริ่มเสื่อมเสียที่ระยะเวลา 42 วัน ได้แก่กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรท, กลุ่มเติมโซเดียมซิเตรท และบีเอสเอ และกลุ่มบีเอสเอ มีค่า 6.22, 6.28 และ 6.31 log/cfuกรัม และกลุ่มที่เติม EPS ความ เข้มข้นร้อยละ 0.31 เสื่อมเสียช้าที่สุดที่ระยะเวลา 49 วัน พบการเจริญของแบคทีเรีย 6.12 log cfu/กรัม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อ โคชิน-วิดของ Paik *et al.* (2006) พบว่า ผลิตภัณฑ์จะเริ่มเสื่อมเสียเนื่องจากแบคทีเรียใช้อากาศในการเจริญที่อุณหภูมิปานกลางเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะเวลา 49 – 56 วัน และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสพบการเสื่อมเสียมากกว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเป็นไปในทิศทางเดียวกับผลการศึกษารายงานของ Akoglu *et al.* (2018) ที่ทำการศึกษายาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์เนื้อไก่วงชู-วิดที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส พบว่าแบคทีเรียที่ใช้อากาศในการเจริญที่อุณหภูมิปานกลางเจริญถึง 5.00 log cfu/กรัม ผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เริ่มเสื่อมเสียที่ระยะเวลา 35 และที่อุณหภูมิในการเก็บรักษา 12 องศาเซลเซียส พบการเสื่อมเสียในระยะเวลา 21 วัน นอกจากนี้ Kim *et al.* (2019) รายงานว่าแบคทีเรียที่ใช้อากาศในการเจริญที่อุณหภูมิปานกลางเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญซึ่งสะท้อนถึงคุณภาพด้านจุลินทรีย์ของเนื้อสุกรปรุงสุกด้วยวิธีการชู-วิด โดยการรอดชีวิตของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์หลังจากกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ด้วยการชู-วิดจะทำให้เกิดการเน่าเสีย แสดงว่าผลิตภัณฑ์อาหารมีแบคทีเรียเหลือรอดอยู่และหากสภาวะแวดล้อมเหมาะสมจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถกลับมาเจริญเติบโตต่อได้โดยจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นตลอดการการเก็บรักษา



ภาพที่ 4.8 ปริมาณแบคทีเรียที่ใช้อากาศในการเจริญที่อุณหภูมิปานกลางในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ชิ้นรูปชู-วิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ก) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส (ข) แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มทดลอง ดังนี้ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5, T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) สปอร์ของแบคทีเรียใช้อากาศในการเจริญที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic aerobic bacteria spore) ในผลิตภัณฑ์เนื้อ โคชินรูปซู-วีคในระหว่างการเก็บรักษา (ตารางที่ 4.5) พบว่ากลุ่มที่พบการเจริญของแบคทีเรียน้อยที่สุดคือกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 รองลงมา เป็นกลุ่มที่เติม โซเดียมซัลเฟต, กลุ่มเติม โซเดียมซัลเฟตและบีเอสเอ, กลุ่มบีเอสเอ และ กลุ่มควบคุม พบการเจริญของเชื้อมากที่สุด ($P < 0.05$) ตามลำดับ โดยพบการเจริญของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์ที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 และกลุ่มโซเดียมซัลเฟต ที่ระยะเวลาในการเก็บรักษา 7 วันซึ่งต่างจากกลุ่มเติม โซเดียมซัลเฟตและบีเอสเอ, กลุ่มบีเอสเอ และกลุ่มควบคุมที่พบการเจริญของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์ตั้งแต่วันแรกที่เริ่มทำการเก็บรักษา และที่อุณหภูมิในการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส พบว่าการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 2 อุณหภูมิไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) เอนโดสปอร์ของแบคทีเรียเป็นโครงสร้างที่พบในแบคทีเรียบางชนิด ซึ่งช่วยให้แบคทีเรียมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ความร้อน เอนโดสปอร์เกิดขึ้นภายในเซลล์ กระบวนการสร้างสปอร์เริ่มจากการแบ่ง DNA ในเซลล์ปกติของแบคทีเรีย ส่วนที่จะพัฒนาเป็นสปอร์จะเริ่มสร้างผนังหุ้มขึ้นภายใน หลังจากนั้นเซลล์แม่จะหุ้มสปอร์ไว้ภายในเซลล์ ผนังหุ้มสปอร์จะพัฒนาให้หนาและแข็งแรงขึ้น ตามลำดับ โดยเคลือบจากภายนอกเซลล์แล้วเข้าไปในเซลล์ และน้ำภายในเซลล์จะถูกขับออกมา สปอร์ที่เป็นอิสระจะปล่อยออกมาจากเซลล์แม่ และสามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมได้โดยไม่ต้องการน้ำหรืออาหารใด (Paustian *et al.* 2001) จากการศึกษาของ Zaman *et al.* (2017) พบว่านอกจากสารต้านจุลินทรีย์จะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยรบกวนทำลายผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแล้ว ยังสามารถยับยั้งหรือรบกวนกระบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก ได้แก่ ดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ ได้อีกด้วย โดยสารต้านจุลินทรีย์ที่มีผลยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก (nucleic acid synthesis inhibitors) กรดนิวคลีอิกในเซลล์แบคทีเรียประกอบด้วย DNA และ RNA สารต้านจุลินทรีย์ที่มีผลยับยั้งการสังเคราะห์ RNA จะรบกวนกระบวนการ transcription ส่งผลให้ไม่เกิดการสร้าง mRNA เมื่อไม่มี mRNA เกิดขึ้นจะไม่มีการสร้างโปรตีนเกิดขึ้นในลำดับถัดไป ยาในกลุ่มนี้ ได้แก่ rifampin ส่วนยาปฏิชีวนะที่มีผลยับยั้งการสังเคราะห์ DNA มีกลไกการออกฤทธิ์โดยจะยับยั้งการทำงานของ DNA gyrase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการคลายตัวของเกลียว DNA ในระหว่างที่มีการจำลองตัวของ DNA เมื่อเอนไซม์ DNA gyrase ถูกยับยั้ง ส่งผลให้เกิดภาวะเครียดในเซลล์ และเซลล์แบคทีเรียตายในที่สุด (Ullah and Ali. 2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ปริมาณจุลินทรีย์ที่เจริญในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชินรูปซู-วิดในระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส

จุลินทรีย์ (log cfu/g)	กลุ่มตัวอย่าง						อุณหภูมิ			ระยะเวลาเก็บรักษา										P-value								
	control		citrate+		EPS					0		7		14		21		28		35		42		49		SEM		Inter
	control	citrate	BHA	BHA	0.31%	SEM	4°C	10°C	SEM																			
Mesophilic aerobic bacterial	4.88 ^{ea}	3.70 ^b	4.50 ^d	4.13 ^c	3.28 ^a	0.126	3.918 ^a	4.290 ^b	0.8	1.33 ^a	2.26 ^b	3.08 ^c	4.06 ^d	4.46 ^d	5.22 ^e	5.66 ^e	6.73 ^f	0.159	0.000	0.000	0.002	0.990						
Mesophilic aerobic bacterial spore	2.74 ^d	1.93 ^b	2.53 ^d	2.20 ^c	1.54 ^a	0.074	2.10	2.28	0.047	0.44 ^a	1.09 ^b	1.65 ^c	2.19 ^d	2.61 ^e	2.88 ^e	3.22 ^f	3.43 ^f	0.093	0.000	0.012	0.000	0.987						
Thermophilic aerobic bacterial	3.39 ^c	2.61 ^b	3.07 ^d	2.93 ^c	2.29 ^a	0.048	2.73 ^a	2.99 ^b	0.031	1.00 ^a	1.72 ^b	2.06 ^c	2.32 ^d	3.27 ^e	3.86 ^f	4.18 ^g	4.45 ^g	0.061	0.000	0.000	0.000	0.902						
Psychrophilic aerobic bacteria	1.22 ^c	0.49 ^{ab}	1.06 ^c	0.85 ^{bc}	0.30 ^a	0.141	0.349 ^a	1.227 ^b	0.089	0.00 ^a	0.00 ^a	0.19 ^a	0.39 ^{ab}	0.79 ^{bc}	1.23 ^{cd}	1.60 ^{de}	2.08 ^c	0.179	0.000	0.000	0.000	0.951						
Mesophilic anaerobic bacteria	3.03 ^d	2.08 ^b	2.66 ^c	2.57 ^c	1.54 ^a	0.096	2.00 ^a	2.75 ^b	0.061	0.59 ^a	1.19 ^b	1.76 ^c	2.20 ^d	1.70 ^c	3.09 ^f	3.59 ^g	3.89 ^g	0.122	0.000	0.000	0.000	0.996						
Mesophilic anaerobic bacterial spore	1.90 ^d	1.20 ^b	1.70 ^c	1.56 ^c	0.91 ^a	0.056	1.24 ^a	1.67 ^b	0.035	0.00 ^a	0.00 ^a	0.31 ^b	1.13 ^c	1.78 ^d	2.32 ^e	2.80 ^f	3.31 ^g	0.071	0.000	0.000	0.000	0.592						
แบคทีเรียกรดแลคติก	1.86 ^d	1.11 ^{ab}	1.55 ^{cd}	1.42 ^{bc}	0.89 ^a	0.114	0.95 ^a	1.78 ^b	0.072	0.00 ^a	0.21 ^{ab}	0.55 ^{bc}	0.87 ^c	1.39 ^d	2.10 ^e	2.70 ^f	3.13 ^g	0.144	0.000	0.000	0.000	0.996						
ยีสต์ และ รา	1.04 ^c	0.37 ^a	0.72 ^b	0.68 ^b	0.28 ^a	0.106	0.26 ^a	0.97 ^b	0.067	0.00 ^a	0.00 ^a	0.12 ^a	0.36 ^{ab}	0.62 ^{bc}	0.97 ^{cd}	1.26 ^{de}	1.61 ^c	0.133	0.000	0.000	0.000	0.854						

* ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกัน ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

3) การเจริญของแบคทีเรียใช้อากาศในการเจริญที่อุณหภูมิสูง (thermophilic aerobic bacteria) (ตารางที่ 4.5) พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่แบคทีเรียเจริญน้อยที่สุดตลอดการเก็บรักษาทั้ง 2 อุณหภูมิคือที่ 4 และ 12 องศาเซลเซียส คือกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 รองลงมาเป็นกลุ่มโซเดียมซัลเฟต, กลุ่มโซเดียมซัลเฟตและบีเอสเอ, กลุ่มบีเอสเอ และกลุ่มควบคุมพบการเจริญของเชื้อมากที่สุด ($P < 0.05$) จากการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในอุณหภูมิที่แตกต่างกันทั้ง 2 อุณหภูมิคือที่ 4 และ 12 องศาเซลเซียส พบการเจริญของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส มากกว่าผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และจากผลการทดลองพบว่าปริมาณแบคทีเรียใช้อากาศในการเจริญที่อุณหภูมิสูงในทุกกลุ่มผลิตภัณฑ์ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษายังไม่ได้อยู่ในปริมาณที่กรมวิทย์การแพทย์. (2560) กำหนดว่าผลิตภัณฑ์เสื่อมเสียคือที่กำหนดให้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์น้อยกว่า $1 \times 10^6 \log \text{cfu/กรัม}$ (Griffith, 2005) กล่าวว่าการใช้ความร้อนในกระบวนการผลิตเป็นการให้ความร้อนในระดับพลาสมาเจอร์ไรซ์ เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์หรือทำให้จุลินทรีย์บาดเจ็บ ทำให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลงหรือไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ รวมถึงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียใช้อากาศในการเจริญที่อุณหภูมิสูง ทำให้แบคทีเรียเจริญช้าหรือหยุดการเจริญส่งผลให้จำนวนของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์มีจำนวนลดลง (Aymerich *et al.* 2008) แต่การแช่เย็นแบบธรรมดาที่ไม่ได้สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ จึงยังพบการเจริญของแบคทีเรียจำนวนหนึ่งที่ยังมีชีวิตรอดในผลิตภัณฑ์ได้ นอกจากนี้การบรรจุผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศยังเป็นอีกปัจจัยที่ช่วยลดการเจริญของแบคทีเรียใช้อากาศในการเจริญที่อุณหภูมิสูง ซึ่งขั้นตอนต่างๆที่กล่าวมาในกระบวนการผลิตเป็นการนำเทคโนโลยีเซอร์เคลเข้ามาช่วยเพื่อยืดอายุในการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ โดยทำให้เกิดการอ่อนแรงของเมทาบอลิซึมทำให้จุลินทรีย์ต้องใช้พลังงานในการรักษาสภาวะโฮมิโอสเตซิสภายในเซลล์ไว้ภายใต้สภาวะความเครียด ทำให้เกิดการอ่อนแรงของเซลล์ และเมื่อจุลินทรีย์ใช้พลังงานจนหมด จุลินทรีย์ก็จะตายลง (Leistner, 1995)

4) แบคทีเรียใช้อากาศในการเจริญที่อุณหภูมิต่ำ (psychrophilic aerobic bacteria) (ตารางที่ 4.5) โดยกลุ่มที่พบการเจริญของแบคทีเรียน้อยที่สุดตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา คือกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 รองลงมาเป็นกลุ่มโซเดียมซัลเฟต, กลุ่มโซเดียมซัลเฟตและบีเอสเอ, กลุ่มบีเอสเอ และกลุ่มควบคุมพบการเจริญของเชื้อมากที่สุด ($P < 0.05$) พบการเจริญของแบคทีเรียใช้อากาศในการเจริญที่อุณหภูมิต่ำค่อนข้างน้อย โดยในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส กลุ่มโซเดียมซัลเฟตและบีเอสเอ, กลุ่มบีเอสเอ และกลุ่มควบคุม แบคทีเรียเริ่มเจริญที่ระยะเวลา 28 วัน กลุ่มโซเดียมซัลเฟตที่ระยะเวลา 35 วัน และกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 ที่ระยะเวลา 42

วัน ส่วนในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส กลุ่มบีเอสเอ และกลุ่มควบคุมพบการเจริญที่ระยะเวลา 14 วัน ของอายุการเก็บรักษา และที่ระยะเวลาในการเก็บรักษา 28 วัน พบการเจริญของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์กลุ่มที่เดิม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 , กลุ่มโซเดียมซิเตรท และกลุ่มโซเดียมซิเตรทและบีเอสเอ Pearson and Dustion. (1986) กล่าวว่าองค์ประกอบของไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียส่วนมากประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวและกรดไขมันโมเลกุลสั้น ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิต่ำ ฉะนั้นการที่ผลิตภัณฑ์ผ่านการให้ความร้อนเป็นระยะเวลาสั้นหรือการพลาสเจอร์ไรซ์ ทำให้ไขมันเหล่านี้ถูกทำลายส่งผลต่อการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์และการผ่านเข้าออกของสารอาหารหรือเอนไซม์บางชนิดของแบคทีเรีย ทำให้ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดนี้ในผลิตภัณฑ์

5) แบคทีเรียไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic anaerobic bacteria) ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปซู-วิด ในระหว่างการเก็บรักษาในระหว่างการเก็บรักษา (ตารางที่ 4.5) พบว่ากลุ่มที่พบการเจริญของแบคทีเรียน้อยที่สุดคือกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 น้อยที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่มที่เดิม โซเดียมซิเตรท, กลุ่มเดิม โซเดียมซิเตรทและบีเอสเอ, กลุ่มบีเอสเอ และกลุ่มควบคุมพบการเจริญของเชื้อมากที่สุด ($P < 0.05$) โดยมีค่า 1.54 ± 0.04 , 2.08 ± 0.03 , 2.57 ± 0.08 , 2.66 ± 0.09 และ 3.03 ± 0.09 log cfu/กรัม ตามลำดับ ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิในการเก็บรักษาต่างกันพบว่า ที่อุณหภูมิในการเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียส พบการเจริญของแบคทีเรียน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส และพบว่ากลุ่มที่เดิม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในระยะเวลา 0 – 7 วันแรกได้ โดยเริ่มพบการเจริญของแบคทีเรียในระยะเวลาที่ 14 ของอายุในการเก็บรักษา จากการศึกษาของ Mata *et al.* (2006) พบว่า EPS ที่ผลิตจาก *Halomonas venusta* และ *Alcaligenes faecalis* มีกลไกการต้านจุลินทรีย์เนื่องจากไอออนของโลหะมีความสำคัญในการคงตัวของผนังเซลล์แบคทีเรียในระหว่างการดูดซึมสารอาหาร ทำให้การเจริญของแบคทีเรียลดลง

6) สปอร์ของแบคทีเรียไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic anaerobic bacteria spore) ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปซู-วิด (ตารางที่ 4.5) ในระหว่างการเก็บรักษา พบว่ากลุ่มที่พบการเจริญของแบคทีเรียน้อยที่สุดคือกลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 รองลงมาเป็นกลุ่มที่เดิม โซเดียมซิเตรท, กลุ่มเดิม โซเดียมซิเตรทและบีเอสเอ, กลุ่มบีเอสเอ และ กลุ่มควบคุมพบการเจริญของเชื้อมากที่สุด ($P < 0.05$) จากการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่างกันพบว่า ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบการเจริญของเชื่อน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส ($P < 0.05$)

และพบว่าตลอดอายุในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ แบคทีเรียที่เจริญในผลิตภัณฑ์ไม่เกินมาตรฐานที่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรรมวิทย์การแพทย์กำหนด เอนโคสปอร์จะถูกสร้างขึ้นในช่วงหลังของการเจริญในระยะเจริญ ก่อนที่จะเข้าระยะคงที่หรือ late log phase เมื่อผลิตภัณฑ์ได้รับความร้อนเป็นเวลานานทำให้สภาพแวดล้อมภายในเซลล์แบคทีเรียไม่เหมาะสมต่อการแบ่งเซลล์ของแบคทีเรีย จึงสร้างเอนโคสปอร์ขึ้นภายในเซลล์ (Paustian *et al.* 2001) ถ้าในกระบวนการผลิตมีวิธีการยืดอายุช่วงระยะพักตัวของแบคทีเรียออกไปได้มากเท่าไร ยิ่งทำให้โอกาสในการรอดชีวิตของแบคทีเรียและการสร้างสปอร์ต่ำลง (Mckellar and Lu, 2004) ซึ่งในการทดลองนอกจากจะมีการให้ความร้อนเบื้องต้นกับผลิตภัณฑ์แล้ว การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์แช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำยังช่วยลดการเจริญของแบคทีเรียได้สังเกตได้จากผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสพบการเจริญของสปอร์แบคทีเรียต่ำกว่าผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส

7) แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดในระหว่างการเก็บรักษา (ตารางที่ 4.5) พบว่ากลุ่มที่พบการเจริญของแบคทีเรียน้อยที่สุดคือกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 รองลงมาเป็นกลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรท, กลุ่มเติมโซเดียมซิเตรทและบีเอสเอ, กลุ่มบีเอสเอ และ กลุ่มควบคุมพบการเจริญของเชื้อมากที่สุด ($P < 0.05$) จากการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่างกันพบว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบการเจริญของเชื่อน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส ($P < 0.05$) จากผลการทดลองที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสพบว่ากลุ่มทดลองกลุ่มแรกที่พบการเจริญของแบคทีเรียคือ กลุ่มควบคุม ที่ระยะเวลาในการเก็บรักษา 21 วัน กลุ่มที่พบการเจริญของเชื้อมากที่สุดคือกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 และ กลุ่มโซเดียมซิเตรท โดยพบที่ระยะเวลาในการเก็บรักษา 35 วัน และที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส พบการเจริญของแบคทีเรียในตัวอย่างกลุ่มเติมโซเดียมซิเตรทและบีเอสเอ, กลุ่มบีเอสเอ และ กลุ่มควบคุมในระยะเวลาเก็บรักษา 7 วัน ส่วนกลุ่มกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 และ กลุ่มโซเดียมซิเตรท พบการเจริญของแบคทีเรียที่ระยะเวลาในการเก็บรักษา 14 วัน เช่นเดียวกับผลการศึกษานี้ของ Akoglu *et al.* (2018) ที่ทำการศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์เนื้อไก่วงซู-วิดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 0 - 21 และในระยะเวลา 35 วัน พบการเจริญต่ำกว่า 1 log cfu/กรัม เนื่องจากแบคทีเรียอาจจะถูกทำลายในกระบวนการซู-วิดทำให้แบคทีเรียเริ่มต้นมีจำนวนน้อย หรืออยู่ในสภาวะที่สามารถเจริญในผลิตภัณฑ์ได้น้อย (Shakila *et al.* 2009)

8) ยีสต์และรา (yeast and mold) ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดในระหว่างการเก็บรักษาพบการเจริญของยีสต์และราในผลิตภัณฑ์ค่อนข้างน้อย (ตารางที่ 4.5) โดยกลุ่มที่พบการเจริญของแบคทีเรียน้อยที่สุดคือกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 น้อยที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรท, กลุ่มเติมโซเดียมซิเตรทและบีเอสเอ, กลุ่มบีเอสเอ และ กลุ่มควบคุมพบการเจริญ

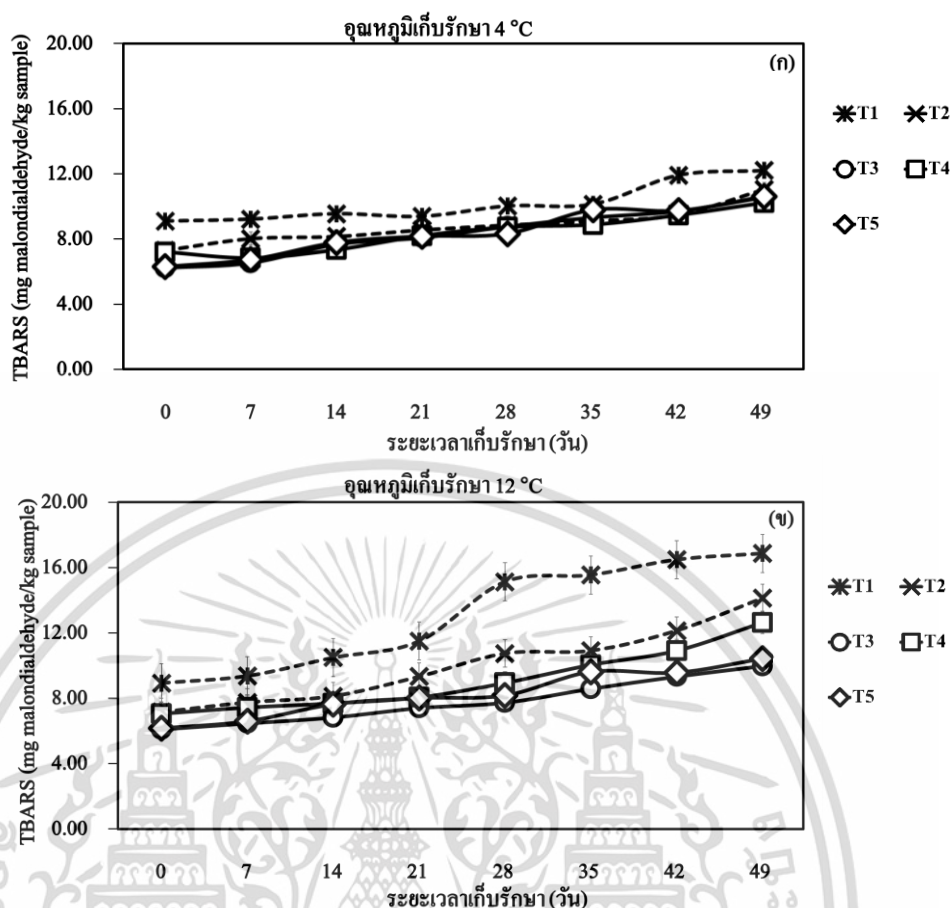
ของเชื้อมากที่สุด ($P < 0.05$) จากการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่างกันพบว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบการเจริญของเชื่อน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส ($P < 0.05$) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่ากลุ่มทดลองกลุ่มแรกที่พบการเจริญของแบคทีเรียคือ กลุ่มควบคุม ที่ระยะเวลาในการเก็บรักษา 28 วัน กลุ่มที่พบการเจริญของเชื้อช้าที่สุดคือกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 และกลุ่มโซเดียมซิเตรท โดยพบที่ระยะเวลาในการเก็บรักษา 42 วัน และที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส พบการเจริญของแบคทีเรียในตัวอย่างกลุ่มเดิมโซเดียมซิเตรทและบีเอสเอ, กลุ่มบีเอสเอ และกลุ่มควบคุมในระยะเวลาเก็บรักษา 14 วัน ส่วนกลุ่มกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 และ กลุ่มโซเดียมซิเตรท พบการเจริญของแบคทีเรียที่ระยะเวลาในการเก็บรักษา 21 วัน ยีสต์และราเจริญในผลิตภัณฑ์ได้ช้ากว่าแบคทีเรีย ยีสต์และราส่วนใหญ่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต แต่ในการทดลองบรรจุผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ ทำให้พบการเจริญของยีสต์และราในผลิตภัณฑ์ได้น้อยลง รวมไปถึงปริมาณน้ำอิสระที่ราสามารถเจริญได้ในผลิตภัณฑ์ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์และราโดยปกติจะเจริญได้ดีในอาหารแห้งซึ่งมีค่า a_w 0.80 - 0.88 มากกว่าในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่มีค่า $a_w > 0.95$ (Banwart *et al.* 1983) น้ำมีบทบาทสำคัญต่อการเสื่อมเสียของอาหาร น้ำในอาหารจะอยู่รวมตัวกันในสารอาหารต่างๆ เช่นในคาร์โบไฮเดรต โปรตีน โมเลกุลของน้ำถูกยึดเหนี่ยวไว้ด้วยสารหลายชนิดด้วยพันธะต่างๆ หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) หมู่อะมิโน ด้วยแรงดึงดูดที่ต่างกัน ซึ่งแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลของน้ำกับโมเลกุลของอาหารอื่น มีผลทำให้โมเลกุลของน้ำอิสระที่จะเคลื่อนที่ลดลง และมีระดับพลังงานต่ำ (Jay *et al.* 1998) และในการศึกษาไม่พบการเจริญของโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และแบคทีเรียก่อโรคร้ายอย่าง *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปชู-วีด อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์พร้อมปรุงตามมาตรฐานของความปลอดภัยด้านจุลินทรีย์ของประเทศอังกฤษ กำหนดไว้ว่าผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์พร้อมปรุงสามารถพบจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ไม่ควรเกิน 6.00 log cfu/g (Paik *et al.* 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 คุณภาพทางเคมี-กายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปซู-วิดที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจาก *Bacillus subtilis* LB23

โดยทำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 49 วัน และทำการสุ่มตัวอย่างออกมาทดสอบคุณภาพทางด้านเคมี และกายภาพ ดังต่อไปนี้

1) การเกิดปฏิกิริยาการออกซิเดชันของไขมัน (TBARS) (ภาพที่ 4.9) ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปซู-วิดในระหว่างทำการเก็บรักษาพบว่ากลุ่มบีเอชเอ มีค่าการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันน้อยที่สุด รองลงมาเป็นกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, กลุ่มเติม โซเดียมซิติเรทและบีเอชเอ, กลุ่ม โซเดียมซิติเรท และกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) โดยแต่ละกลุ่มตัวอย่างมีค่า TBARS เท่ากับ 8.10 ± 1.42 , 8.36 ± 1.46 , 8.75 ± 1.63 , 9.44 ± 1.94 และ 11.63 ± 2.87 mg MDA/น้ำหนักตัวอย่าง (กิโลกรัม) ตามลำดับ และมีค่า TBARS เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยกลุ่มที่เติม EPS มีค่า TBARS ไม่แตกต่างทางสถิติกับกลุ่มตัวอย่างที่เติมสารบีเอชเอซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระทางการค้า Robert *et al.* (1986) และเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาการเก็บรักษาพบว่า การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่า TBARS น้อยกว่า กลุ่มตัวอย่างที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์กลุ่มควบคุมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส มีค่า TBARS มากที่สุดและเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา สารบีเอชเอจัดเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันสังเคราะห์กลุ่มสารประกอบฟีนอล (Phenolic antioxidants) สารต้านออกซิเดชันกลุ่มนี้จะมีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนฟีนอลโดยสารกลุ่มนี้จะยับยั้งปฏิกิริยาในการเกิดออกซิเดชัน โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระได้ง่าย และเมื่อให้ไฮโดรเจนแล้วสารกลุ่มนี้อยู่ในรูปอนุมูลอิสระแต่ไม่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา (Reische *et al.* 2008) ซึ่งให้ผลไปในทิศทางเดียวกับการศึกษาของ Park *et al.* (2018) กล่าวว่าการออกซิเดชันของไขมันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ยิ่งอุณหภูมิในการเก็บรักษาสูงขึ้นมากเพียงใดปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของไขมันก็จะสูงขึ้นตาม และการศึกษาค่า TBARS ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปซู-วิดให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ Robert *et al.* (1986) ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับการเกิดออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูขึ้นรูปใหม่ จากผลการทดลองพบว่าค่า TBARS ของผลิตภัณฑ์ เนื้อหมูขึ้นรูปใหม่นั้นเพิ่มขึ้นตามอายุในการเก็บรักษา

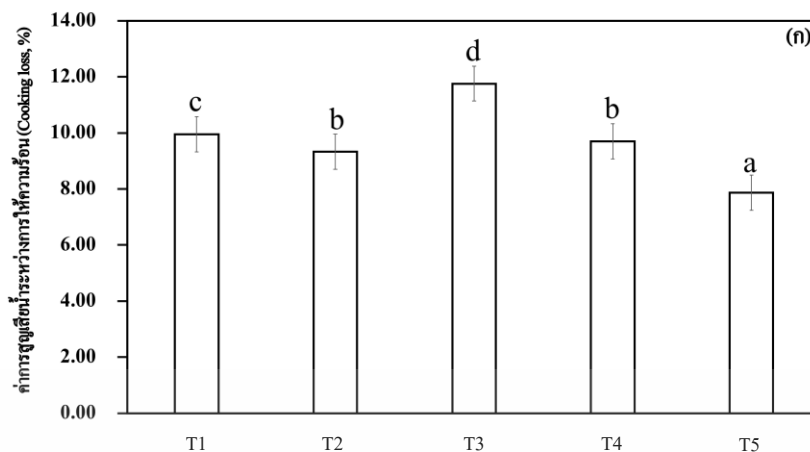


ภาพที่ 4.9 ค่าการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปชู-วิด ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ก) และ 12 องศาเซลเซียส (ข) แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มทดลอง ดังนี้ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5, T3 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18, T4 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31

2) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปชู-วิด ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 49 วัน (ตารางที่ 4.6) พบว่าแต่ละกลุ่มควบคุมมีค่า pH น้อยที่สุดแต่ไม่แตกต่างกันกับกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 รองลงมาเป็นกลุ่มบีเอสเอ, กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรท และ บีเอสเอ และกลุ่มตัวอย่างที่มีค่า pH มากที่สุดคือกลุ่มเติม โซเดียมซิเตรท ($P < 0.05$) และในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปชู-วิด ที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยการย่าง พบว่ากลุ่มควบคุมมีค่า pH น้อยที่สุด รองลงมาเป็นกลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31, กลุ่มบีเอสเอ, กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรท และ บีเอสเอ และกลุ่มตัวอย่างที่มีค่า pH มากที่สุดคือกลุ่มเติม โซเดียมซิเตรท ($P < 0.05$) ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 อุณหภูมิคือที่ 4 และ 12 องศาเซลเซียส พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ค่าความเป็นกรดต่างในระหว่างการเก็บรักษามีแนวโน้มลดลง อาจจะเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องมาจากการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในช่วงวันที่ 35-42 ทำให้ค่า pH ของผลิตภัณฑ์มีแนวโน้มลดลง Akoglu *et al.* (2018) แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ในผลิตภัณฑ์บรรจุในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถย่อยสลายกลูโคสและคาร์โบไฮเดรตเป็นกรดแลคติก ทำให้ค่าความเป็นกรดต่างของผลิตภัณฑ์ลดลง ในช่วงแรกแบคทีเรียกรดแลคติกมีกระบวนการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์เปปทิเดส ซึ่งจะย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อ (Toldra *et al.* 2008) จากผลการทดลองดังกล่าวพบว่าสอดคล้องกับการทดลองของ Carballo *et al.* (2005) ที่ทำการทดลองเกี่ยวกับอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อหมู-วิดที่อุณหภูมิ 50 – 60 องศาเซลเซียส และทำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 56 วัน พบว่าค่าความเป็นกรดต่างของผลิตภัณฑ์ลดลงอย่างเห็นได้ชัด ($P < 0.05$)

3) ค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างการชู-วิด (Sous-vide loss, %) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปชู-วิด (ภาพที่ 4.10) พบว่ากลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าร้อยละการสูญเสียไอน้ำระหว่างการให้ความร้อนด้วยการชู-วิดน้อยที่สุด รองลงมาเป็นกลุ่มโซเดียมซิเตรต, กลุ่มเติมโซเดียมซิเตรตและบีเอส, กลุ่มควบคุม และกลุ่มบีเอส ($P < 0.05$) โดยร้อยละการสูญเสียไอน้ำระหว่างการให้ความร้อนเท่ากับ 7.87 ± 0.17 , 9.33 ± 0.16 , 9.70 ± 0.15 , 9.95 ± 0.19 และ 11.76 ± 0.24 ตามลำดับ จากผลการทดลองทำการชู-วิดผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปชู-วิดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนในเนื้อสัตว์ พบว่าความร้อนที่อุณหภูมิ 40 - 60 องศาเซลเซียส ส่งผลต่อการจับตัวของโปรตีน sarcoplasmic โปรตีนคอลลาเจนจะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 53 - 63 องศาเซลเซียส (Martens *et al.* 1982) และโปรตีน myofibrillar ส่วนใหญ่เป็นไมโอซินถูกทำลายที่อุณหภูมิ 40-60 องศาเซลเซียส (Hughes *et al.* 2014) ความร้อนจากการชู-วิดทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเสื่อมสภาพของโปรตีน myofibrillar ส่งผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำในกล้ามเนื้อของผลิตภัณฑ์ (Tomberg. 2005) จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่า EPS สามารถช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีค่าร้อยละการสูญเสียไอน้ำเมื่อให้ความร้อนดีขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และนอกจาก EPS จะช่วยเรื่องความสามารถในการอุ้มน้ำของผลิตภัณฑ์แล้ว ยังสามารถช่วยเรื่องคุณสมบัติการคงตัวของอิมัลชันในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเนื้อโคได้ด้วย Trabelsi *et al.* (2018)



ภาพที่ 4.10 ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการซู-วิด (Sous-vide loss, %) ของผลิตภัณฑ์เนื้อ ไก่ชิ้นรูปซู-วิด แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มทดลอง ดังนี้ T1 กลุ่มควบคุม T2 กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรท 1.5% T3 กลุ่มเติม BHA ความเข้มข้น 0.01% T4 กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรท 1.5% และ BHA ความเข้มข้น 0.01% และ T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31%

4) ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์ (purge loss, %) ของผลิตภัณฑ์เนื้อ ไก่ชิ้นรูปซู-วิด โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4.6) พบว่ากลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าร้อยละการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์น้อยที่สุด รองลงมาเป็นกลุ่มโซเดียมซิเตรท, กลุ่มเติมโซเดียมซิเตรทและบีเอชเอ, กลุ่มควบคุม และกลุ่มบีเอชเอ ($P < 0.05$) เช่นเดียวกันกับที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส กลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าร้อยละการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์น้อยที่สุด ซึ่งในระหว่างการเก็บรักษาค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น และพบว่าที่อุณหภูมิในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส มีค่าการสูญเสียน้ำมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นพบว่าค่าร้อยละการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน สอดคล้องกับผลการศึกษาศึกษาของ Hilhig *et al.* (2019) ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับโฮโมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ผลิตจาก *Lactobacillus sakei* TMW1.411 และเฮทเทอโรเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *Lactobacillus plantarum* TMW1.1478 ในผลิตภัณฑ์แฮมชิ้นรูปใหม่ พบว่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์ทั้งสองชนิดมีความสามารถในการลดการสูญเสียน้ำในระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ และการศึกษาศึกษาของ Hwang *et al.* (2019) และ Mungure *et al.* (2016) จากผลการศึกษาค่าร้อยละการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์ในผลิตภัณฑ์เนื้อ ไก่ชิ้นรูปซู-วิดพบว่าเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะเวลาเพิ่มขึ้น ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เนื่องจากความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ และ โปรตีนในเนื้อลดลง

5) ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการย่าง (Grilling loss, %) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซิว-วิดที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยการย่างระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4.7) พบว่ากลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการย่างระหว่างการย่างน้อยที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่มโซเดียมซิเตรท, กลุ่มเติมโซเดียมซิเตรทและบีเอสเอ, กลุ่มควบคุม และกลุ่มบีเอสเอ ($P < 0.05$) เช่นเดียวกันกับที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส มีค่าร้อยละการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์กลุ่มที่เติม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการย่างระหว่างการย่างน้อยที่สุด และในระหว่างการเก็บรักษา ค่าร้อยละการสูญเสียน้ำระหว่างการย่างเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าร้อยละการสูญเสียน้ำน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส ซึ่งใกล้เคียงการทดลองของ Ferreira *et al.* (2016) และ Juárez *et al.* (2010) ที่รายงานว่าเมื่อนำแพคดีโก้และเนื้อกระป๋องมาผ่านความร้อนด้วยการย่างจะเกิดการสูญเสียน้ำระหว่างการย่างเพิ่มขึ้นเมื่อผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นที่ระยะเวลาเก็บรักษาทั้งหมด 35 วัน จะเห็นว่าการสูญเสียน้ำจากการใช้ความร้อนในการปรุงอาหารในเนื้อสัตว์ส่วนมากมีสาเหตุจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่เกิดจากความร้อนของ โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ในระหว่างการปรุงอาหาร (Hughes *et al.* 2014) น้ำในกล้ามเนื้อส่วนใหญ่อยู่ในโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ดังนั้นการเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้เกิดการหดตัวของไมโอไฟบริลลาร์การเปลี่ยนแปลงและการละลายและส่งผลให้สูญเสียน้ำในระหว่างการปรุงอาหาร (Purslow *et al.* 2559)

ตารางที่ 4.6 คุณภาพทางเคมี – กายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปซู-วีคตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มตัวอย่าง				อุณหภูมิ			ระยะเวลาเก็บรักษา										P-value				
	control	citrate	BHA	BHA	citrate+	EPS	SEM	4°C	10°C	SEM	0	7	14	21	28	35	42	49	SEM	กลุ่มตัวอย่าง	°C	ระยะ เวลา
% Purge loss	7.91 ^{d*}	7.51 ^c	6.94 ^b	7.13 ^b	6.11 ^a	0.122	6.75 ^a	7.49 ^b	0.77	7.34	7.15	7.04	7.11	7.07	7.02	6.94	0.134	0.000	0.000	0.593	0.670	
pH	5.85 ^b	6.22 ^c	5.88 ^c	6.18 ^d	5.8 ^a	0.006	5.99	5.98	0.003	5.96 ^a	5.96 ^a	5.98 ^a	5.99 ^b	5.99 ^b	5.99 ^b	6.00 ^b	5.99 ^b	0.007	0.000	0.010	0.002	0.301
ค่าความสว่าง	39.57 ^b	38.59 ^a	40.29 ^b	38.50 ^a	40.24 ^b	0.295	39.72	39.15	0.187	37.42 ^a	35.61 ^b	39.33 ^b	39.79 ^{bc}	40.29 ^{cd}	39.75 ^{bc}	40.82 ^d	39.48 ^{bc}	0.373	0.000	0.038	0.000	0.987
ค่าสีแดง	5.31	5.45	5.30	5.47	5.58	0.052	5.40 ^a	5.37 ^b	0.033	5.37	5.25	5.41	5.56	5.54	5.38	5.44	5.43	0.065	0.051	0.002	0.018	0.270
ค่าสีเหลือง	16.38 ^a	16.16 ^a	17.00 ^b	16.96 ^b	16.48 ^a	0.147	16.46	16.74	0.093	16.55	16.37	16.46	16.48	16.45	16.76	16.81	16.89	0.186	0.001	0.038	0.380	0.364
ค่าความสดใส	17.40 ^b	16.70 ^a	17.73 ^{bc}	16.86 ^a	18.00 ^c	0.172	17.5	17.17	0.109	17.90	17.36	17.52	16.94	17.14	16.91	17.65	17.29	0.217	0.000	0.040	0.032	0.721
ค่าองศาของสี	69.55 ^a	70.08 ^a	71.27 ^c	73.13 ^d	71.10 ^{bc}	0.391	71.24	70.81	2.47	69.42	71.68	72.46	71.25	70.88	70.86	70.52	71.14	0.495	0.000	0.223	0.011	0.232
Hardness (N)	7.93 ^b	8.34 ^{bc}	8.24 ^{bc}	8.48 ^c	7.13 ^a	0.097	7.64 ^a	8.41 ^b	0.087	6.44 ^a	8.41 ^{bc}	8.53 ^c	8.28 ^{bc}	8.25 ^{bc}	7.90 ^b	7.88 ^b	8.49 ^c	0.173	0.000	0.000	0.000	0.568
Cohesiveness (ratio)	0.70 ^b	0.75 ^c	0.69 ^b	0.77 ^d	0.67 ^a	0.008	0.715	0.722	0.005	0.712	0.709	0.72	0.705	0.715	0.737	0.698	0.752	0.101	0.000	0.281	0.007	0.204
Gumminess (N)	5.59 ^b	6.24 ^c	5.76 ^b	6.33 ^c	4.78 ^a	0.127	5.40 ^a	6.08 ^b	0.08	4.58 ^a	5.79 ^{bc}	6.17 ^{cd}	5.86 ^{bc}	5.88 ^{bc}	5.84 ^{cd}	5.5 ^b	6.32 ^d	0.160	0.000	0.000	0.000	0.582
Springiness (ratio)	0.78 ^a	0.79 ^a	0.82 ^b	0.79 ^a	0.79 ^a	0.007	0.80	0.79	0.004	0.78	0.78	0.78	0.79	0.80	0.81	0.79	0.80	0.008	0.001	0.166	0.049	0.350
Chewiness (N)	4.46 ^b	5.03 ^c	4.73 ^{bc}	5.03 ^c	3.76 ^a	0.114	4.33 ^a	4.88 ^b	0.072	3.85 ^a	4.55 ^{bc}	4.88 ^{cd}	4.64 ^{bc}	4.69 ^{bc}	4.76 ^{bc}	4.36 ^b	5.09 ^d	0.145	0.000	0.000	0.000	0.482
ค่าแรงเคี้ยว (N)	34.06 ^b	33.81 ^b	34.97 ^b	34.96 ^b	30.99 ^a	0.374	34.01	33.51	0.237	29.37 ^a	33.11 ^b	33.76 ^{bc}	35.26 ^d	34.77 ^{cd}	34.77 ^{cd}	33.7 ^{bc}	35.31 ^d	0.473	0.000	0.142	0.000	0.130

* ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 4.7 คุณภาพทางเคมี – กายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปซู-วิตตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส หลังจากการย่าง

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มตัวอย่าง				อุณหภูมิ			ระยะเวลาเก็บรักษา										P-value				
	citrate+		EPS		SEM	4°C	10°C	SEM	0	7	14	21	28	35	42	49	SEM	กลุ่มตัวอย่าง	°C	ระยะ เวลา	Inter action	
	control	citrate	BHA	BHA																		
% Grill loss	26.81 ^c	24.05 ^b	22.62 ^b	23.02 ^b	18.12 ^a	0.838	20.36	25.5	0.53	21.33	21.93	23.38	23.79	23.66	23.05	23.80	24.02	0.918	0.000	0.383	0.501	0.942
pH	5.81 ^a	6.22 ^d	5.87 ^b	6.15 ^c	5.81 ^a	0.004	5.97	5.96	0.002	5.96	5.96	5.97	5.97	5.97	5.97	5.98	5.98	0.005	0.001	0.302	0.063	0.244
ค่าความสว่าง	39.86 ^b	38.4 ^a	41.16 ^c	40.01 ^b	40.68 ^b	0.367	40.74	39.71	0.232	37.27 ^a	40.5 ^{bc}	41.08 ^{bc}	41.33 ^{bc}	40.01 ^{bc}	40.76 ^{bc}	41.13 ^{bc}	39.69 ^b	0.465	0.000	0.030	0.000	0.148
ค่าสีแดง	6.04	6.08	6.05	5.91	5.91	0.082	5.94	6.06	0.052	6.09	5.92	5.91	5.92	5.84	6.12	5.97	6.21	0.104	0.413	0.114	0.195	0.857
ค่าสีเหลือง	16.95 ^{bc}	16.57 ^a	16.83 ^b	17.00 ^c	16.75 ^{ab}	0.075	16.97	16.69	0.048	16.83	16.95	17.03	16.68	16.79	16.71	16.71	16.97	0.095	0.001	0.175	0.074	0.302
ค่าความสดโต	17.82	17.43	18.18	17.74	18.43	0.220	18.17	17.67	0.139	18.3	17.76	17.53	17.01	17.29	18.66	17.16	18.64	0.278	0.027	0.100	0.016	0.074
ค่าองศาของสี	69.95 ^a	70.65 ^{ab}	72.03 ^{cd}	73.05 ^d	71.55 ^b	0.403	71.28	71.61	0.255	69.42	71.68	72.56	71.25	70.24	72.53	72.33	71.55	0.510	0.000	0.355	0.010	0.218
Hardness (N)	8.44 ^{bc}	8.25 ^b	8.41 ^{bc}	8.71 ^c	7.02 ^a	0.105	7.81	8.52	0.066	7.93	8.24	8.42	8.28	8.25	8.18	8.11	7.91	0.132	0.000	0.132	0.019	0.259
Cohesiveness (ratio)	0.69 ^b	0.75 ^c	0.69 ^{ab}	0.77 ^c	0.67 ^a	0.007	0.72	0.72	0.005	0.71	0.71	0.72	0.72	0.71	0.73	0.71	0.72	0.009	0.000	0.780	0.711	0.606
Gumminess (N)	5.84 ^b	6.25 ^c	5.79 ^b	6.73 ^d	5.19 ^a	0.099	5.6	6.32	0.63	5.77	6.13	6.19	5.95	6.02	5.89	5.97	5.78	0.125	0.000	0.211	0.046	0.343
Springiness (ratio)	0.79	0.79	0.81	0.81	0.79	0.009	0.79	0.80	0.055	0.78	0.79	0.78	0.79	0.81	0.80	0.83	0.82	0.011	0.287	0.900	0.610	0.470
Chewiness (N)	4.69 ^b	5.05 ^c	4.74 ^b	5.40 ^d	4.14 ^a	0.092	4.48	5.13	0.058	4.72	4.82	4.83	4.71	4.8	4.78	4.98	4.77	0.117	0.000	0.815	0.510	0.255
ค่าแรงเคี้ยว (N)	34.78 ^{bc}	35.34 ^c	35.21 ^c	33.72 ^{ab}	32.89 ^a	0.433	34.65	34.13	0.274	34.18	34.51	34.87	34.06	34.53	34.12	35.63	33.2	0.548	0.001	0.189	0.160	0.417

* ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกัน ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

6) การศึกษาค่าสี (CIE; L*, a* และ b*) ค่าความสดสี (Chroma) และค่าองศาของสี (Hue angle) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชู-วิด ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส พบว่าค่าความสว่าง (ตารางที่ 4.6) ของแต่ละกลุ่มทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าความสว่างใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม รองลงมาเป็นกลุ่มบีเอชเอ, กลุ่มโซเดียมซิเตรทและบีเอชเอ และกลุ่มโซเดียมซิเตรท เช่นเดียวกันกับค่าความสว่างของกลุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่นำไปผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.7) พบว่าค่าความสว่างไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าความสว่างมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 41.44 ± 1.27 รองลงมาเป็นกลุ่มบีเอชเอ, กลุ่มโซเดียมซิเตรทและบีเอชเอ, กลุ่มควบคุม และกลุ่มโซเดียมซิเตรท ค่าสีแดงของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชู-วิด ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส พบว่าค่าสีแดง (ตารางที่ 4.6) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าสีแดงมารองลงมาเป็นกลุ่มโซเดียมซิเตรท, กลุ่มโซเดียมซิเตรทและบีเอชเอ, กลุ่มควบคุม และกลุ่มบีเอชเอ และค่าสีแดงในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.7) กลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าสีแดงมารองลงมาเป็น, กลุ่มโซเดียมซิเตรทและบีเอชเอ, กลุ่มควบคุม และกลุ่มโซเดียมซิเตรทมีค่าสีแดง ค่าสีเหลืองของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชู-วิด ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4.6) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามอายุในการเก็บรักษา แต่ค่าสีเหลืองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เช่นเดียวกันกับค่าสีเหลืองในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.7) ค่าสีเหลืองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยกลุ่มบีเอชเอมีค่าสีเหลืองมากที่สุด ค่าความสดสีของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชู-วิด ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4.6) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามอายุในการเก็บรักษา แต่ค่าความสดสีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าความสดสีมากที่สุด และค่าความสดสีในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.7) ค่าความสดสีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าความสดสีมากที่สุดเช่นเดียวกัน ค่าองศาสีของผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปชู-วิด ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4.6) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามอายุในการเก็บรักษา แต่ค่าองศาสีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เป็นไปในทิศทางเดียวกับค่าองศาสีในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.7) ค่าองศาสีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าองศาสีมากที่สุด จากผลการทดลองพบว่าค่าความสว่างจะเริ่มต่ำลงในช่วงระยะเวลา 42 – 49 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Sen *et al.* (2014) พบว่าค่าความสว่าง และค่าความเหลือง ในเนื้อแกะปรุงสุกเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) ตามอุณหภูมิ แม้ว่าจากผลการทดลองค่าความสว่างจะเพิ่มขึ้นไม่มีนัยสำคัญต่ออุณหภูมิแต่ละจุด แต่ค่าก็จะเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่ 4 และ 12 องศาเซลเซียส และ Yancey *et al.* (2011) รายงานด้วยว่าค่าความสว่างของสเต็กมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษานานขึ้น และสอดคล้องกับการทดลองของ Diaz *et al.* (2007) และ Paik *et al.* (2006) ที่พบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาไม่มีผลต่อค่าสีแดง ถึงแม้ว่าจะมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่ต่างกัน เช่นเดียวกับการศึกษาของ Lien *et al.* (2001) พบว่าสีของเนื้อซี่โครงหมูที่ปรุงสุกจะกลายเป็นสีชมพูแดงน้อยลงเรื่อยๆ เมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ค่าความสดใส และค่าองศาของสี พบว่า ค่าความสดใส และค่าองศาของสี ของของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยโดยมีค่าค่อนข้างใกล้เคียงกันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา การเปลี่ยนแปลงของสีผลิตภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษา ในระยะเวลาที่ 49 วัน ผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส สีของผลิตภัณฑ์เริ่มมีสีเขียว มากกว่าผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แต่เมื่อนำมาทำให้สุกโดยการย่างในสีของผลิตภัณฑ์แต่ละกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกัน

7) ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม (Texture profile analysis) ได้แก่ ค่าความแข็ง (ตารางที่ 4.6) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส พบว่ากลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าความแข็งน้อยที่สุด เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่าง(ตารางที่ 4.7) รองลงมาเป็นกลุ่มควบคุม, กลุ่มบีเอชเอ, กลุ่มโซเดียมซิเตรท และบีเอชเอ และกลุ่มโซเดียมซิเตรท ($P < 0.05$) ค่าความสามารถในการเกาะรวมตัวกัน (ตารางที่ 4.6) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส พบว่าแต่ละกลุ่มตัวอย่างมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าความสามารถในการเกาะรวมตัวกันน้อยที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่มควบคุม, กลุ่มบีเอชเอ, กลุ่มโซเดียมซิเตรทและบีเอชเอ และกลุ่มโซเดียมซิเตรท เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.7) พบว่าแต่ละกลุ่มตัวอย่างมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ค่าความเหนียว (ตารางที่ 4.6) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส พบว่าแต่ละกลุ่มตัวอย่างมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.7) โดยกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าความเหนียวน้อยที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่มควบคุม, กลุ่มบีเอชเอ, กลุ่มโซเดียมซิเตรทและบีเอชเอ และกลุ่มโซเดียมซิเตรท ค่าความยืดหยุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ตารางที่ 4.6) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส พบว่าแต่ละกลุ่มตัวอย่างมีค่าความยืดหยุ่นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) รวมไปถึงค่าความยืดหยุ่นของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดที่ผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.7) โดยกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าความยืดหยุ่นน้อยที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่มควบคุม, กลุ่มบีเอสเอ, กลุ่มโซเดียมซิเตรทและบีเอสเอ และกลุ่มโซเดียมซิเตรท และค่าความยากในการเคี้ยวของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4.6) พบว่าแต่ละกลุ่มตัวอย่างมีค่าความยากในการเคี้ยวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าความยากในการเคี้ยวน้อยที่สุดรองลงมาเป็นกลุ่มควบคุม, กลุ่มบีเอสเอ, กลุ่มโซเดียมซิเตรทและบีเอสเอ และกลุ่มโซเดียมซิเตรท เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.7) พบว่าแต่ละกลุ่มตัวอย่างมีค่าความยากในการเคี้ยวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และจากผลการทดลองพบว่าแต่ละกลุ่มทดลองมีอุณหภูมิในการเก็บรักษาและระยะเวลาในการเก็บรักษาไม่มีอิทธิพลร่วมกัน ($P>0.05$) ความแข็งของเนื้อมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) พบว่าเมื่อเปรียบเทียบค่าความแข็งของผลิตภัณฑ์ที่เริ่มต้นเก็บรักษาหรือวันที่ 0 กับระยะเวลาเก็บรักษา 49 วันพบว่าในระยะเริ่มต้นเก็บรักษา มีค่าต่ำกว่า แต่ในระหว่างโดยการเก็บรักษาพบว่าค่าความแข็งขึ้นๆลงๆ แม้ว่าค่าความแข็งของผลิตภัณฑ์หลังจากการย่างจะไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างการรักษา ($P>0.05$)

เป็นไปในทิศทางเดียวกับการทดลองของ Akoglu *et al.* (2018) พบว่าค่าความแข็งของเนื้อไก่วงซู-วิดมีค่าขึ้นๆลงๆ ในระหว่างการเก็บรักษา ทั้งที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส นอกจากนั้นค่าความแข็งยังส่งผลต่อค่าความเหนียวของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเก็บรักษาเกิดจากค่าความแข็งคู่กับค่าความสามารถในการเกาะรวมตัวกัน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าค่าความเหนียวเป็นไปในทิศทางเดียวกับค่าความแข็ง ซึ่งส่งผลต่อค่าความยากในการเคี้ยวด้วย เนื่องจากค่าที่ได้เกิดจากค่าความยืดหยุ่นคู่กับค่าความเหนียว (Campo *et al.* 2000) นอกจากอุณหภูมิในการเก็บรักษาและระยะเวลาในการเก็บรักษาที่ส่งผลต่อค่าความแข็งแล้ว ความร้อนและระยะเวลาในการปรุงสุก ทั้งการซู-วิดและการย่างก็ส่งผลต่อค่าความแข็งเช่นกัน เพราะทั้งอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการปรุงสุกมีผลสำคัญต่อการละลายคอลลาเจนในผลิตภัณฑ์ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความแข็งมากขึ้น (Martens *et al.* 1982) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Spanier *et al.* (1992) พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นส่งผลกระทบต่อค่าความยืดหยุ่นของเนื้อไก่ซู-วิดและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นรวมถึงค่าความสามารถในการเกาะรวมตัวของเนื้อไก่ซู-วิดมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

8) ค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อ (Shear force) ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด ของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4.6) พบว่ากลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อน้อยที่สุด มีเท่ากับ 30.99 ± 1.72 นิวตัน รองลงมาเป็นกลุ่มควบคุม, กลุ่มบีเอสเอ, กลุ่มโซเดียมซัลเฟตและบีเอสเอ และกลุ่มโซเดียมซัลเฟต ($P < 0.05$) เช่นเดียวกันกับผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่าง (ตารางที่ 4.7) โดยกลุ่ม EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 มีค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อเท่ากับ 32.89 ± 1.26 นิวตัน พบว่าในระหว่างการเก็บรักษาพบว่าค่าแรงเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ที่ระยะเวลา 35 วันที่เก็บรักษา ค่าแรงเมื่อลดลง ความร้อนในการซู-วิดส่งผลต่อความเหนียวนุ่มของผลิตภัณฑ์ สอดคล้องกับการทดลองของ Carballo *et al.* (2005) สาเหตุที่ค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อลดลงอาจเนื่องมาจากผลของการเกิดออกซิเดชันของโปรตีนเปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระในผลิตภัณฑ์ ปริมาณน้ำทั้งหมดการสูญเสียจากการปรุงอาหารและการละลายคอลลาเจนส่วนใหญ่ได้รับอิทธิพลจากอุณหภูมิและเวลาในการ sous vide (Naqvi *et al.* 2021) ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับค่าการสูญเสียในระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์และค่าความแข็งของผลิตภัณฑ์ จากการศึกษาเกี่ยวกับค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อในผลิตภัณฑ์เนื้อโคซู-วิดของ Devadason *et al.* (2013) พบว่าความร้อนในการปรุงอาหารและระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อค่าแรงตัดผ่านและความนุ่มเนื้อ เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์นานขึ้นส่งผลต่อค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อต่ำลง

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษากิจกรรมในการด้านจุลินทรีย์และการด้านออกซิเดชัน ของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *B. subtilis* LB23 และ *B. velezensis* LB24 ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด พบว่า EPS LB23 มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์มากกว่า EPS LB24 เมื่อเปรียบเทียบที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน สังเกตได้จากการต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค *Salmonella* spp., *S. aureus*, *L. monocytogenes* และแบคทีเรียกรดแลคติก และการศึกษาคุณสมบัติการต้านการเกิดออกซิเดชันของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ จากสารสกัดจากเนื้อโค

การศึกษาลงของกิจกรรมในการด้านจุลินทรีย์ ของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ที่ได้รับการคัดเลือก ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ทำการเก็บรักษาระยะเวลา 12 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่ากลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31 มีปริมาณของแบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic bacteria) และแบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิสูง (Thermophilic bacteria) ต่ำที่สุด

จากการศึกษาผลของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นที่ได้รับการคัดเลือก ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส ที่ทำการเก็บรักษาระยะเวลา 49 วัน พบว่ากลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31 มีปริมาณของแบคทีเรียใช้อากาศที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง ที่อุณหภูมิเก็บรักษา 12 องศาเซลเซียส พบว่าผลิตภัณฑ์กลุ่มควบคุมเริ่มเสื่อมเสียที่ระยะเวลา 35 แต่ผลิตภัณฑ์กลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 เสียที่ระยะเวลา 49 วัน ส่วนผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส การเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 เริ่มเสื่อมเสียที่ระยะเวลา 49 วัน คุณภาพทางเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิดที่เติมเอกโซโพลิแซคคาไรด์ที่สกัดจาก *Bacillus subtilis* LB23 ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคชิ้นรูปซู-วิด พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่เติม EPS LB 23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 สามารถลดค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์, ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการให้ความร้อน และค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการย่าง ในผลิตภัณฑ์ได้สูงสุด และพบว่ากลุ่มที่เติม EPS มีค่าความเป็นกรด-ด่าง, ค่าสี

(CIE; L*, a* และ b*) ค่าความสดใส (Chroma) และค่าองศาของสี (Hue angle), ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม และค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อ ใกล้เคียงกันกับกลุ่มควบคุม

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาวิจัยการประยุกต์ใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์เนื้อโคขุนรูปซู-วิด พบว่าการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่างกัน ส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มต่างกัน เมื่ออุณหภูมิการเก็บรักษาเพิ่มสูงขึ้นผลิตภัณฑ์จะมีอายุการเก็บรักษาลดลง ทำให้เกิดแนวคิดในการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาวะแตกต่างกัน เช่น เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในตู้วางโซว์สินค้า เก็บรักษาแบบแช่แข็ง และการทดลองเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารในสภาวะเร่ง ว่าจะส่งผลต่ออายุการเก็บรักษา การเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ รวมถึงคุณภาพทางเคมีและกายภาพของผลิตภัณฑ์อย่างไร และยังพบว่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *B. velezensis* LB24 มีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชัน เหมาะสมจะนำไปศึกษาต่อในผลิตภัณฑ์ที่เกิดออกซิเดชันได้ง่าย เช่น ผลิตภัณฑ์เจอร์รี่ หรือผลิตภัณฑ์เนื้อแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2553). การผลิตเนื้อโคคุณภาพ. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2560). เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร. [Online]. Available : <http://e-library.dmsc.moph.go.th/ebooks/files/micro-ISBN60.pdf>.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. (2552). คุณค่าเนื้อโคไทย. ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : Amarin printing and publishing public company limited.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และญาติิน โอภาสพัฒนกิจ. (2548). คุณภาพของเนื้อโคภายใต้ระบบการผลิตและการตลาด ของ ประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร : บริษัทสุพีเรียพรีนติ้งเฮาส์ จำกัด.
- ชัยณรงค์ คันธพนิต. (2529). วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : ไทยวัฒนาพานิช จำกัด.
- นิธิยา รัตนานนท์. (2554). หลักการวิเคราะห์อาหาร. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์โอเดียมสโตร์.
- บัญญัติ วิชัชดิษฐ์. (2549). การเลี้ยงโคขุน. สำนักพิมพ์เกษตร สาสน, นนทบุรี.
- มกอช. (สำนักงานมาตรฐานการเกษตร). (2558). EFSA รับรองความปลอดภัยวัตถุดิบอาหารสัตว์จากเชื้อ *Bacillus subtilis* PB6. [Online]. Available : <https://warning.acfs.go.th/th/early-warning>
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิชัย. (2536). เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. กรุงเทพมหานคร : เก.ยู.เพลส.
- วัชรวิทย์ มีหนองใหญ่. 2557. “ปัจจัยที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อโค Factors Affecting on Beef Tenderness.” *แก่นเกษตร* 42 (3) : 443-452.
- สัญญา จตุรสิทธา. (2550). เทคโนโลยีเนื้อสัตว์. ครั้งที่ 4. เชียงใหม่ : ธนบรรณการพิมพ์.
- สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.(2563). สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้มปี 2563. [online]. Available : <http://www.oae.go.th/assets/portals/1/files/trend2563-Final-Download.pdf>.
- Aaslyng, M. D., Bejerholm, C., Ertbjerg, P., Bertram, H. C. and Andersen, H. J. (2003). “Cooking loss and juiciness of pork in relation to raw meat quality and cooking procedure.” **Food Quality and Preference**. 14 : 277 - 288.
- Akoglu, I. T., Biyikli, M., Akoglu, A. and Kurhan, S. (2018). “Determination of the quality and shelf life of sous vide cooked turkey cutlet stored at 4 and 12°C”. **Brazilian Journal of Poultry Science**. 20 : 001-008.
- AOAC. (1990). **Official Method of Analysis**. 18th ed. Washington, DC. The Association of Official Analytical Chemist.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- AOAC. (2006). **Official methods of Analysis**. 18th ed. Washington, DC. The Association of Official Analytical Chemist.
- AOAC. (2016). **Official Method of Analysis**. 18th ed. Washington, DC. The Association of Official Analytical Chemist.
- Aymerich, T., Picouet, P.A. and Monfort, J.M. (2007). "Decontamination technologies for meat products." **Meat Science**. 78(1-2):114-129.
- Baldwin, D. E. (2012). "Sous vide cooking: A review". **Internal Journal Gastro Food Science**. 1 : 15-30.
- Banwart, G.L. (1983) **basic food microbiology**. AVI Publisshing, Westport, Connecticut.
- BAM. (2001a). **Aerobic Plate Count. U.S. Food and Drug Administration**. [online]. Available : <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-aerobic-plate-count>
- BAM. (2001b). **Yeasts and Molds. U.S. Food and Drug Administration**. [online]. Available : <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-yeasts-molds-and-mycotoxins>
- BAM. (2001c). **Staphylococcus aureus. U.S. Food and Drug Administration**. [online]. Available : <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-staphylococcus-aureus>
- BAM. (2002). **Escherichia coli and the Coliform. U.S. Food and Drug Administration**. [online]. Available : <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliformbacteria>
- BAM. (2007). **Detection and Enumeration of Salmonella in Food. U.S. Food and Drug Administration**. [online]. Available : <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM>
- BAM. (2017). **Detection and enumeration of Listeria monocytogenes**. [online]. Available <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071400.htm>.
- Becker A., A. Boulaaba, S. Pinggen, A. Rohner and Gunter Klein. (2015). "Low temperature, long time treatment of porcine M. longissimus thoracis et lumborum in a combi steamer under commercial conditions." **Meat Science**. 110: 104-113.
- Belibagli, K. B. and Ersan, E. (2018). "Effects of storage on the quality of sous vide processed lamb liver". **Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi**. 22 : 1-11.
- Bourne, M. C., Kenny, J. F. and Barnard, J. (1978). "Computer-assisted readout of data from texture profile analysis curves." **Journal of Texture Studies**. 9 : 481-494.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Brugiapaglia, A., and Destefanis, G. (2009). "Sensory evaluation of meat colour using photographs." **Italian Journal of Animal Science**. 8 : 480 – 482.
- Cao, C., Li, Y., Wang, C., Zhang, N., Zhu, X., Wu, R. and Wu, J. (2020). "Purification, characterization and antitumor activity of an exopolysaccharide produced by *Bacillus velezensis* SN-1." **International Journal of Biological Macromolecules**. 156: 354-361.
- Chen, X.Q., Nagao, N., Itani, T., and Irifune, K. (2012). "Anti-oxidative analysis, and identification and quantification of anthocyanin pigments in different coloured rice." **Food Chemistry**. 135: 2783-2788.
- Coombs, C. E. O., Holman, B. W. B., Friend, M. A. and Hopkins, D. L. (2017a). "Long-term rsd meat preservation using chilled and frozen storage combinations: A review". **Meat Science**. 125 : 84-94.
- Cuvelier, C., J. F. Cabaraux, I. Dufrasne, A. Clinquart, J. F. Hocquette, L. Istasse, and J. L. Hornick. (2006). Performance, slaughter characteristics and meat quality of young bulls from Belgian Blue, Limousin and Aberdeen Angus breeds fattened with a sugar-beet pulp or a cereal-based diet. **Journal of Animal Science**. 82: 125-132.
- Devadason, I. P., Anjaneyulu, A. S. R., Mendirtta, S. K. and Murthy, T. R. K. (2014). "Quality and shelf life of buffalo meat blocks processed in retort pouches." **Journal of Food Science and Technology**. 51 : 3991 - 3997.
- Diaz, O. and Cobos, A. (2007). "Sous-vide cooking of traditional meat products: effect on the microbiology of dry-cured pork foreleg". **Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology**. 511-517.
- DuBois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith. (1956). "Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances." **Analytical Chemistry Journal**. 28 (3): 350-356.
- Eichner, K. and Wolf, W. (1983). "Maillard Reaction Products as Indicator Compounds for Optimizing Drying and Storage Conditions." **The Maillard Reaction in Foods and Nutrition**. ACS Symposium Series, 215.
- Fang Y., S. Ahmed, S. Liu, S. Wang, M. Lu, and Yuliang Jiao. (2013). Optimization of antioxidant exopolysaccharide production by *Bacillus licheniformis* in solid state fermentation. **Carbohydrate Polymers**. 98: 1377-1382.

- Farouk, M.M., Zhang S.X. and Cummings T. (2005). "Effect of muscle fiber/fiberbundle alignment on physical and sensory properties of restructured beef steaks." **Journal of Muscle Foods**. 16:256-73.
- FDA. (2018). **Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN 00592**. [Online]. Available : <https://www.fda.gov/food/gras-notice-inventory/agency-respons-letter-gras-notice-no-grn-00592>.
- Ferreira, V. C. S., Morcuende, D., Madruga, M. S., Hernández-López, S. H., Silva, F. A. P., Ventanas, S. and Estévez. M. (2016). "Effect of pre-cooking methods on the chemical and sensory deterioration of ready-to-eat chicken patties during chilled storage and microwave reheating". **Journal of Food Science Technology**. 53 : 2760-2769.
- Gadekar, Y. P., Sharma, B.D., Shinde, A.K. and Mendiratta, S.K. (2015). "Restructured meat products - production, processing and marketing: a review". **The Indian Journal of Small Ruminants**. 21 : 1-12.
- Griffith, W. M. (2005). **Understanding pathogen behavior**. CRC Press. Cambridge
- Girish, P. S., Nath, L., Thomas, R., Rajkumar, V. and Alam, T. (2018). "Development of Shelf Stable Ready-to-Eat Pork Curry Using Retort Processing Technology." **Journal of Packaging Technology and Research**. 2 : 61 - 66.
- Gullett, E. A., S. Battenham, and T. Hore. (1996). Effect of age and cut on consistency of tenderness and leanness of beef. **Food Quality and Preference**. 7: 37-45
- Heinz, G. and Hautzinger, P. (2007). "Meat Processing Technology for small- to medium-scale producers." **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. 1-477.
- Hernandez, E.D., A., Salaseviciene and P., Ertbjerg. (2018). "Low-temperature long-time cooking of meat: Eating quality and underlying mechanisms". **Meat Science**. 143: 104-113.
- Hilbig, J., Gisdera, J., Precht, R.M., Herrmann, K., Weissa, J. and Loeffler, M. (2019). "Influence of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria on the spreadability of fat-reduced raw fermented sausages (Teewurst)." **Food Hydrocolloids**. 93: 422-431.
- Hughes, J.M., Oiserh, S.K., Purslow, P.P. and Warner, R.D. (2014). "A structural approach to understanding the interactions between colour, water-holding capacity and tenderness." **Meat Science**. 98 : 520 – 532.

- Hwang, S. I., Lee, E. J. and Hong, G. P. (2019). "Effects of temperature and time on the cookery properties of sous-vide processed pork loin". **Food Science of Animal Resources**. 39 : 65-72.
- ISO - 6579 (2002). **Microbiology - General Guidance on Methods for the detection of *Salmonella***. 4th ed. Switzerland : International Organisation for Standardization.
- Juárez, M., Failla, S., Ficco, A., Peña, F., Avilés, C. and Polvillo, O. (2010). "Buffalo meat composition as affected by different cooking methods". **Food and Bioproducts Processing**. 88 : 145-148.
- Kameník, J., Saláková, A., Pavlík, Z., Boršilová, G., Hulanková, R. and Steinhäuserová, I. (2014). "Vacuum skin packaging and its effect on selected properties of beef and pork meat." **European Food Research and Technology**. 239 : 395 – 402.
- Kapoor G., Saigal S. and Elongavan A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. **Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology**. 33(3):300-5.
- Karyotisa D., P.N.Skandamisa and V.K. Juneja. (2017). Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in sous-vide processed marinated chicken breast. **Food Research International**. 100: 894-898.
- Ki, J. S., Zhang, W. and Qian, P. Y. (2009). Discovery of marine Bacillus species by 16S rRNA and rpoB comparisons and their usefulness for species identification. **Journal of Microbiological Methods**. 77: 48-57.
- Kim, Y.H., Huff-Lonergan, E., SebranekSteven, J.G. and Lonergan, M. (2010). "Effects of lactate/phosphate injection enhancement on oxidation stability and protein degradation in early postmortem beef cuts packaged in high oxygen modified atmosphere." **Meat Science**. 86(3): 852-858.
- Kim, H. W., Choi, Y. S., Choi, J. H., Kim, H. Y., Hwang, K. E., Song, D. H. and Kim, C. J. (2013). "Antioxidant effects of soy sauce on color stability and lipid oxidation of raw beef patties during cold storage." **Meat Science**. 95 : 641 - 646.
- Kim, Y. A., Ba, H. V. and Hwang, I. (2019). "Effects of traditional sauce type and storage time on quality characteristics, shelf-life and flavor compounds of marinated pork cooked by sous vide method". **Food Science of Animal Resources**. 39 : 355-370.

- Korostelev, A., Trakhanov, S., Laurberg, M. and Noller, H.F. (2006). "Crystal structure of a 70S ribosome-tRNA complex reveals functional interactions and rearrangements." **Cell**. 126: 1065–1077.
- Kortei, N. K., Odamtten, G. T., Obodai, M., Appiah, V. and Akonor, P. T. (2015). "Determination of color parameters of gamma irradiated fresh and dried mushrooms during storage". **Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition**. 10 : 66-71.
- Kumar, A.S., Mody, K. and Bhavanath J. (2006). "Bacterial exopolysaccharide a perception." **Basic Microbiology**. 47: 103-107.
- Lakra, A.K., Domdi, L., Tilwani, Y.M. and Arul, Y. (2019). "Physicochemical and functional characterization of mannan exopolysaccharide from *Weissella confusa* MD1 with bioactivities." **International Journal of Biological Macromolecules**. 143:797-805.
- Lee, K. T. and Yoon, C. S. (2001). "Quality changes and shelf life of imported vacuum-packaged beef chuck during storage at 0 °c". **Meat Science**. 59 : 71-77.
- Leistner, L. (1995). "Principles and applications of hurdle technology." G. W. Gould (ed.), **New Methods of Food Preservation**. 1-21.
- Li, J.Y., Jin, M.M., Meng, J., Gao S.M. and Lu R.R. (2013). "Exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* LP6: Antioxidation and the effect on oxidative stress." **Carbohydrate Polymers**. 98: 1147-1152
- Li, S., R. Huang, N.P. Shah, X. Tao, Y. Xiong and H. Wei. (2014). Antioxidant and antibacterial activities of exopolysaccharides from *Bifidobacterium bifidum* WBIN03 and *Lactobacillus plantarum* R315. **International Journal of Dairy Science**. 97 :7334–7343.
- Loypimai P, Moonggarm A, Chottanom P (2009) "Effects of ohmic heating on lipase activity, bioactive compounds and antioxidant activity of rice bran." **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**. 3(4):3642–3652
- Martens, H., Stabursvik, E. and Martens, M. (1982). "Texture and colour changes in meat during cooking related to thermal denaturation of muscle protein." **Journal of Texture Studies**. 13 : 291 – 309.
- Martins, S.I.F.S., Jongen, W.M.F. and Boekel, M.A.J.S.V. (2001). "A review of maillard reaction in food and implications to kinetic modeling." **Food Science and Technology**. 11 : 364 – 373.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Mata, J.A., Béjar, V., Llamas, I., Arias, S., Bressollier, P., Tallon, R., Urdaci, M.C. and Quesada, E. (2006). "Exopolysaccharides produced by the recently described halophilic bacteria *Halomonas ventosae* and *Halomonas anticariensis*." **Research in Microbiology**. 157(9): 827-835.
- Matloub A. A., E. Z.Gomaa, A. A. Hassan., M. M. Elbatanony and W. M. El-Senousy. (2019). "Comparative chemical and bioactivity studies of intra- and extracellular metabolites of endophytic bacteria, *Bacillus subtilis* NCIB 3610." **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**. 26: 497–511.
- McCormick, R. J. (1994). **Structure and properties of tissues**. In Muscle Foods. P 25 - 62. Boston, England : MA
- McIntyre, B. L., G. D. Tudor, D. Read, W. Smart, T. J. Della Bosca, E. J. Speijers, and B. Orchard. (2009). "Effects of growth path, sire type, calving time and sex on growth and carcass characteristics of beef cattle in the agricultural area of Western Australia." **Animal Reproduction Science**. 49: 504-514.
- Mckellar, R.C. and Lu, X. (2004). **Modeling Microbial Response in Food**. CRC Series in contemporary food science, USA.
- Mielnik, M. B., Aaby, K. and Skrede, G. (2003). "Commercial antioxidants control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat." **Meat Science**. 65: 1147–1155.
- Mungure, T.E., Farouk, M.M., Birch, E.J., Carne, A., Staincliffe, M., Stewart, I. and Bekhit, A.E.D.A. (2020). "Effect of PEF treatment on meat quality attributes, ultrastructure and metabolite profiles of wet and dry aged venison *Longissimus dorsi* muscle." **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. 65: 102457.
- Nehal, F. (2019). "Characterization, high production and antimicrobial activity of exopolysaccharides from *Lactococcus lactis* F-mou." **Microbial Pathogenesis**. 132: 10-19.
- Oliveira R.P.D.S., Perego P., Oliveira, M.N.D. and Converti A. (2011). "Effect of inulin as a prebiotic to improve growth and counts of a probiotic cocktail in fermented skim milk." **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie**. 44(2): 520-523.
- Paik, H.D., Kim, H.J., Nam, K.J., Kim, C.J., Lee, S.E., and Lee, D.S. (2006). "Effect of nisin on the storage of sous vide processed Korean seasoned beef." **Food Control**. 17 : 994-1000.

- Park, J. M., Lee, S. H., Koh, J. H. and Kim, J. M. (2018). "Determination of shelf life model of pork cutlet and pork lard during accelerated storage conditions". **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**. 38 : 664-678.
- Panjono, S. M. K., I. S. Lee, and S. K. Lee. (2009). "Carcass characteristics of Hanwoo (Korean cattle) from different sex conditions, raising altitudes and slaughter seasons." **Livestock Science**. 123: 283-287.
- Paustian, T. (2001). **Spore life cycle. introduction to bacteria structure**. [online]. Available :<http://www.lecturer.ukdw.ac.id/dhir/BacteriaStructure/inclusions.html>.
- Pieniza, S., Andreazzab, R., Okekeb, B. C., Camargod, F. A. O. and Brandellie, A. (2015). "Antimicrobial and antioxidant activities of Enterococcus species isolated from meat and dairy products." **Brazilian Journal Biology**. 75(4): 923-931.
- Rajkumar, v. (2008). **Assessment of quality and shelf life of retort pouch processed chettinad goat meat product**. Thesis of Madras Veterinary College.
- Reische, D.W., Lillard, D.A., and Eitenmiller, R.R. (2008). **Antioxidation**. In C. C. Akoh, and D.B. Min (Eds.), **Food Lipid: chemistry, nutrition, and biotechnology**. New York: Marcel Dekker, Inc. 3 : 409-434.
- Remminghorst, U., Hay, I.D. and Rehm, B.H.A. (2009). "Molecular characterization of Alg8, a putative glycosyltransferase, involved in alginate polymerisation." **Journal of Biotechnology**. 140:176-183.
- Riley, D. G., D. D. Johnson, C. C. Chase Jr., R. L. West, S. W. Coleman, T.A. Olson, and A.C. Hammond. (2005). "Factors influencing tenderness in steaks from Brahman cattle." **Meat Science**. 70: 347-356.
- Schönfeldt, H. C., and P. E. Strydom. (2011). "Effect of age and cut on tenderness of South African beef." **Meat Science**. 87: 206-218.
- Sen, A.R., Naveena, B.M., Muthukumar, M. and Vaithyanathan, S. (2011). "Colour, myoglobin denaturation and storage stability of raw and cooked mutton chops at different end point cooking temperature." **Journal of Food Science and Technology**. 51(5): 970-975.
- Serrano, A., Librelotto, J., Cofrades, S., Sánchez-Muniz, F. J. and Jiménez-Colmenero, F. (2007). "Composition and physicochemical characteristics of restructured beef steaks containing walnuts as affected by cooking method." **Meat Science**. 77 : 304 - 313.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นใบประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Shakila, R. J., Jeyasekaran, G., Vijakumar, A. and Sukumar, D. (2009). "Microbiological quality of sous-vide cook chill fish cakes during chilled storage (3°C)". **International Journal of Food Science and Technology**. 44 : 2120-2126.
- Sorapukdee, S. and Tangwatcharin, P. (2018). "Quality of steak restructured from beef trimmings containing microbial transglutaminase and impacted by freezing and grading by fat level." **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. 31(1) : 129-137.
- Spanier, A. M., St. Angelo, A. J. and Shaffer, G. P. (1992). "Response of beef flavor to oxygen depletion and an antioxidant-chelator mixture." **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 40 : 1656 - 1662.
- Supaphon, P., Kerdpi boon, S., Venien, A., Loison, O., Sicard, J., Rouel, J., and Astruc, T. (2021). "Structural changes in local Thai beef during sous-vide cooking." **Meat Science**. 175: 108442.
- Tangwatcharin, P., Nithisantawakhup J. and Sorapukdee S. (2019a). Selection of indigenous starter culture for safety and its effect on reduction of biogenic amine content in Moo som. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. 32(10): 1580-1590.
- Tangwatcharin, P., Sorapukdee, S. and Kongsrirat, K. (2019b). "Sous-vided Restructured Goat Steaks: Process Optimized by Thermal Inactivation of *Listeria monocytogenes* and Their Quality Characteristics." **Food Science of Animal Resources**. 39(6):863-876
- Thippareddi, H., Juneja, V.K., Phebus, R.K., Marsden, J.L. and Kastner, C.L. (2003). "Control of *Clostridium perfringens* germination and outgrowth by buffered sodium citrate during chilling of roast beef and injected pork." **Journal of Food Protection**. 66(3):376-381.
- Trabelsi, I. (2018). "Physicochemical, techno-functional, and antioxidant properties of a novel bacterial exopolysaccharide in cooked beef sausage." **International Journal of Biological Macromolecules**. 111 : 11-18.
- Triyannanto, E. and Lee, K. T. (2015) "Effect of pre-cooking conditions on the quality characteristics of ready-to-eat samgyetang." **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**. 35 : 494-501.
- Ullah, H. and Ali, S. (2017). "Classification of antibacterial agents and their functions." **Antibact agents**. 1-17.

- USDA-FSIS. (2000). "FSIS to increase permissible levels of food ingredients used as antimicrobials and flavoring agents." **Federal Register**. 65: 3121-3123.
- Velugoti, P.R., Kumar, S., Bohra, L.K., Juneja, V.K., and Thippareddi, H. (2020). "Inhibition of germination and outgrowth of *Clostridium perfringens* spores by buffered calcium, potassium and sodium citrates in cured and non-cured injected pork during cooling." **Food Science and Technology**. 123: 109074.
- Viegas, O., Novo, P., Pinto, E., Pinho, O. and Ferreira I.M.P.L.V.O. (2012). "Effect of charcoal types and grilling condition on formation of heterocyclic aromatic amines (HAs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in grilled muscle foods." **Food and Chemical Toxicology**. 50: 2128-2134
- Wang, L. L. and Xiong, Y. L. (2005). "Inhibition of lipid oxidation in cooked beef patties by hydrolyzed potato protein is related to its reducing and radical scavenging ability". **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 53 : 9186-9192.
- Wyrwiz, J., Moczowska, M., Kurek, M., Stelmasiak, A., Pótorak, A. and Wierzbicka, A. (2016). "Influence of 21 days of vacuum-aging on color, bloom development, and WBSF of beef semimembranosus." **Meat Science**. 122 : 48-54.
- Xing, L.J., Hu, Y.Y., Hu, H.Y., Ge, Q.F., Zhou, G.H., and Zhang, W.G. (2016). "Purification and identification of antioxidative peptides from dry-cured Xuanwei ham." **Food Chemistry**. 194:951–958
- Yaowei, F., Ahmedb, S., Shu, L., Wanga, S., Lua, M. and Yuliang, J.S. (2013). " Optimization of antioxidant exopolysaccharidess production by *Bacillus licheniformis* in solid state fermentation." **Carbohydrate Polymers**. 98 : 1377– 1382
- Ye, S., Liu, F., Wang, F., Wang, H. and Zhang M. (2012). "Antioxidant activities of an exopolysaccharide isolated and purified from marine *Pseudomonas* PF-6." **Carbohydrate Polymers**. 87: 764-770
- Yogesh, K., Jha S. N. and Ahmad, T. (2014). "Antioxidant potential of aqueous extract of some food grain powder in meat model system." **Journal of Food Science and Technology**. 11: 3446-3451.
- Yusupova, G., Jenner, L., Rees, B., Moras, D. and Yusupov, M. (2006). "Structural basis for messenger RNA movement on the ribosome." **Nature**. 444:391–394.

- Zahida, MD.A., Choib, J.Y., Seoa, J.K., Parvina, R., Koa, J. และ Yang, H.S. (2020). “Effects of clove extract on oxidative stability and sensory attributes in cooked beef patties at refrigerated storage.” **Meat Science**. 161: 1-8.
- Zaman, S.B., Hussain, M.A., Nye, R., Mehta, V., Mamun, K.T., and Hossain, N. (2017). A review on antibiotic resistance: Alarm bells are ringing. **Cureus**. 9(6):e1403.
- Zhang, L., Liu, C., Li, D. , Zhao, Y., Zhang, X., Zeng, X., Yang, Z. and Li, S. (2013). “Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88.” **International Journal of Biological Macromolecules**. 54: 270-275.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 70%

95% ethanol	737.0 มิลลิลิตร
Distilled water	233.0 มิลลิลิตร

2. การเตรียมสารละลายสำหรับการตรวจวัดการออกซิเดชันของไขมัน

2.1 0.02M Phosphate buffer

KH_2PO_4	0.6092 กรัม/ลิตร
K_2HPO_4	2.7041 กรัม/ลิตร

นำบัฟเฟอร์ทั้ง 2 ผสมกัน แล้วปรับค่าความเป็นกรดด่างให้มีค่าเท่ากับ pH 7.4 ด้วย HCL 0.1 N และ NaOH 0.1 N

2.2 TBA solution

2-Thiobarbituric acid	3.75 กรัม
Trichloroacetic acid	150 กรัม

นำ 2-Thiobarbituric acid และ Trichloroacetic acid มาละลายด้วย 0.25 N HCl แล้วทำการปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

3. การเตรียมสารละลายสำหรับการตรวจวัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH)

3.1 DPPH 0.2 mM

DPPH	0.0078 กรัม
95% ethanol	100 มิลลิลิตร

นำ DPPH มาละลายใน 95% ethanol จะได้สารละลายสีม่วงเก็บในภาชนะปิดสนิทให้ปลอดภัยจากแสงและอากาศ

4. การเตรียมสารละลายสำหรับการตรวจวัดการต้านการเกิดออกซิเดชัน (Superoxide radical scavenging)

4.1 NBT 156 $\mu\text{mol/L}$

NBT	0.0127 กรัม
Phosphate buffer pH 7.4	100 มิลลิลิตร

4.2 NADH 468

NADH	0.03 กรัม
Phosphate buffer pH 7.4	100 มิลลิลิตร

4.3 PMS

PMS	0.0018 กรัม
Phosphate buffer pH 7.4	100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลายเกลือ 0.85%

Sodium chloride 8.5 กรัม

ละลาย Sodium chloride ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. Plate count agar (PCA)

Plate count agar 22.5 กรัม

ละลาย Plate count agar ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับยีสต์ และรา

3.1 10% Tartaric acid solution

Tartaric acid 10 กรัม

ละลาย Tartaric acid ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.2 Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato Dextrose Agar 39 กรัม

ละลาย Potato Dextrose Agar ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำมาใช้ในน้ำ Potato Dextrose Agar 1,000 มิลลิลิตร มาผสมกับ 10% tartaric acid solution 10 มิลลิลิตร

4. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ *Salmonella* spp.

4.1 Bufferd Peptone Water (BPW)

Bufferd Peptone Water 25.5 กรัม

ละลาย Bufferd Peptone Water ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4.2 Iodine/Potassium iodine solution

Iodine 4 กรัม

Potassium iodine 5 กรัม

ละลาย Iodine และ Potassium iodine ในน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 20 มิลลิลิตร

4.3 Muller-Kauffman Tetrathionate-Novobiocin Broth (MKTTN)

Muller-Kauffman Tetrathionate-Novobiocin Broth 89.5 กรัม

ละลาย Muller-Kauffman Tetrathionate-Novobiocin Broth ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 1,000 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ โดยก่อนนำมาใช้ให้ผสม Muller-Kauffman Tetrathionate-Novobiocin Broth 1,000 มิลลิลิตร กับ Iodine/Potassium iodine solution 20 มิลลิลิตร

4.4 1.5% Novobiocin

Novobiocin 0.15 กรัม

ละลาย Novobiocin ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 10 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ

4.5 HEKTOEN Enteric Agar (HE agar)

HEKTOEN Enteric Agar 75 กรัม

ละลาย HEKTOEN Enteric Agar ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 1,000 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ โดยก่อนนำมาใช้ให้ผสม HEKTOEN Enteric Agar 1,000 มิลลิลิตร กับ 1.5% Novobiocin 1 มิลลิลิตร

4.6 Lysine Iron Agar (LIA)

Lysine Iron agar 32 กรัม

ละลาย Lysine Iron agar ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปให้ความร้อนจนวุ้นละลาย แล้วทำการแบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4.7 Triple Sugar Iron Agar (TSI Agar)

Triple Sugar Iron Agar 65 กรัม

ละลาย Triple Sugar Iron Agar ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปให้ความร้อนจนวุ้นละลาย แล้วทำการแบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อเสร็จแล้วให้นำหลอดทดลองมาเอียง (slant)

5. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ *S. aureus*

5.1 0.53% Sodium chloride

Sodium chloride 0.53 กรัม

ละลาย Sodium chloride ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

5.2 10.5% Potassium tellurite

Potassium tellurite 10.5 กรัม

ละลาย Potassium tellurite ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

5.3 Egg-yolk tellurite emulsion

ไข่ไก่เบอร์ 1 (เฉพาะไข่แดง)	1 ฟอง
0.53% Sodium chloride	40 มิลลิลิตร
10.5% Potassium tellurite	1 มิลลิลิตร

แช่ไข่ไก่เบอร์ 1 ใน 95% ethanol เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทำการแยกไข่แดงโดยการใช้ forceps ค่อยๆ ตอกด้านข้างของไข่ไก่ให้เป็นวง และเปลือกไข่ที่ตอกต้องเรียบ แล้วเทไข่ขาวออก แล้วเทไข่แดงใส่บีกเกอร์ที่ปลอดเชื้อจากนั้นเติม 0.53% Sodium chloride และ 10.5% Potassium tellurite ผสมให้เข้ากัน

5.4 BAIRD-PARKER Agar (BP Agar)

BAIRD-PARKER Agar	58 กรัม
-------------------	---------

ละลาย BAIRD-PARKER Agar ในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที โดยก่อนนำมาใช้ให้ผสม BAIRD-PARKER Agar 950 มิลลิลิตร กับ Egg-yolk tellurite emulsion 50 มิลลิลิตร

6. การเตรียมอาหารสำหรับ Coliform และ *E. coli*

6.1 LMX Broth

LMX Broth	17 กรัม
-----------	---------

ละลาย LMX broth ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แล้วแบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 9 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

6.2 Eosin Methylene-blue Lactose Sucrose Agar (EMB Agar)

Eosin Methylene-blue Lactose Sucrose Agar	36 กรัม
---	---------

ละลาย Eosin Methylene-blue Lactose Sucrose Agar ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

6.3 Tryptophan broth

Tryptophan broth 16 กรัม

ละลาย Tryptophan broth ในน้ำกลั่น 1,000 แล้วทำการแบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

6.4 MR-VP broth

MR-VP broth 17 กรัม

ละลาย MR-VP broth ในน้ำกลั่น 1,000 แล้วทำการแบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

6.5 SIMMONS Citrate Agar

SIMMONS Citrate Agar 22.3 กรัม

ละลาย SIMMONS Citrate Agar ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปให้ความร้อนจนวุ้นละลาย แล้วทำการแบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อเสร็จแล้วให้นำหลอดทดลองมาเอียง (slant)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวกมลชนก พิกุลทอง
วัน เดือน ปีเกิด	1 เมษายน 2539
ที่อยู่	59 หมู่ที่ 1 ตำบลนราภิรมย์ อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม 73130
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2556 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนรัตนโกสินทร์สมโภช บวรนิเวศสาขลาในพระสังฆราชูปถัมภ์ จังหวัดนครปฐม พ.ศ. 2560 หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิต สัตว์และประมง สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร พ.ศ. 2563 หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีการ ผลิตสัตว์และประมง สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร ผลงานทางวิชาการ “ <i>In vivo</i> study of anti-pathogenic bacterial and anti-lactic acid bacterial activity of Exopolysaccharide from <i>Bacillus</i> in ready- to-cook restructured beef.” The 17 th National Kasetsart University Kamphaeng Saen Conference (The 17 th KU-KPS Conference).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้