

ผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *Bacillus subtilis* LB23 ต่อการ  
เปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการรักษาของผลิตภัณฑ์หมูบดปรุงรส

**EFFECT OF EXOPOLYSACCHARIDES FROM  
*BACILLUS SUBTILIS* LB23 ON QUALITY CHANGES  
DURING STORAGE OF MARINATED GROUND PORK PRODUCT**



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา สัตวศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2564

**KMITL-2021-AG-M-031-343**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**EFFECT OF EXOPOLYSACCHARIDES FROM  
*BACILLUS SUBTILIS* LB23 ON QUALITY CHANGES  
DURING STORAGE OF MARINATED GROUND PORK PRODUCT**

**PATSAWEE SITTICHAJ**

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

**2021**

**KMITL-2021-AG-M-031-343**

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	ผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก <i>Bacillus subtilis</i> LB23 ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการรักษาของผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรส
นักศึกษา	นางสาวพัสวิ สิทธิชัย
รหัสประจำตัว	61604038
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สัตวศาสตร์
พ.ศ.	2564
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร.สุสดี ตั้งวัชรินทร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.ศุภลักษณ์ สรภักดี

### บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ (Exopolysaccharides, EPS) ที่ผลิตจากเชื้อ *Bacillus subtilis* LB23 ต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรส โดยได้ทำการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นของ EPS 2 ระดับ ได้แก่ 0.18% และ 0.25% ตามลำดับ ในผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรสที่ทำการบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกแบบมีอากาศ และบรรจุแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน โดยศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคและแบคทีเรียกรดแลกติกในผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรส ซึ่งมีการเติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ ซึ่ง ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes* และแบคทีเรียกรดแลกติกในตัวอย่างที่ทำการทดสอบ โดยพบว่า EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและแบคทีเรียกรดแลกติกได้มากที่สุด ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ลดลงสูงที่สุด มีอัตราการเจริญสูงสุดที่มีค่าน้อยที่สุด และมีระยะหนึ่งชั่วโมงของจุลินทรีย์สูงที่สุด ( $P < 0.05$ ) นอกจากนี้ยังทำการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ และเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรส ซึ่งพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ Mesophilic aerobic bacteria, Mesophilic anaerobic bacteria, Psychrophilic bacteria, Lactic acid bacteria, ยีสต์ และรา และยังสามารถช่วยลดการสูญเสียทางด้านเคมีกายภาพได้ดีกว่าในกลุ่มทดลองอื่นๆ ( $P < 0.05$ )

จากการศึกษาผลของ EPS-LB23 ที่ผลิตจากเชื้อ *Bacillus subtilis* ต่ออายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรส ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางด้านจุลินทรีย์ และเคมีกายภาพในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรสที่ทำการบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกแบบมีอากาศ และบรรจุแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน โดยทำการวิเคราะห์ EPS-LB23 ระดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และเผยแพร่ไปยังเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นที่ 0.25%, 0.31% และ 0.37% ตามลำดับ พบว่าการเติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.31% และ 0.37% สามารถชะลอการเจริญของ Mesophilic aerobic bacteria, Mesophilic anaerobic bacteria, Psychrophilic bacteria, Lactic acid bacteria ยีสต์, รา และ Coliforms ได้จนถึงวันที่ 16 ของการเก็บรักษา ซึ่งแตกต่างกับกลุ่มควบคุมที่มีอายุการเก็บรักษาได้เพียง 10 วัน นอกจากนี้ EPS-LB23 ยังช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาและหลังการปรุงสุกได้อีกด้วย และจากการศึกษาพบว่าค่าออกซิเดชันของไขมันเพิ่มขึ้นทุกกลุ่ม ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ค่าสี (CIE; L\*, a\* และ b\*) ค่าความสดใส (Chroma) ของทุกกลุ่มมีค่าลดลงในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และค่าองศาของสี (Hue angle) เพิ่มขึ้น และคุณลักษณะทางด้านเนื้อสัมผัสโดยรวมมีค่าลดลงระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ แต่อย่างไรก็ตามการเติม EPS ทั้ง 2 ความเข้มข้นสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นานถึง 16 วัน และยังถนนคุณภาพทางด้านเคมีกายภาพได้อีกด้วย ดังนั้น EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.31% จึงมีสมบัติเป็นวัตถุกันเสียที่ดีในผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรส



<b>Thesis</b>	Effect of Exopolysaccharides from <i>Bacillus subtilis</i> LB23 on Quality Changes During Storage of Marinated Ground Pork Product
<b>Student</b>	Ms. Patsawee Sittichai
<b>Student ID</b>	61604038
<b>Degree</b>	Master of Science
<b>Program</b>	Animal Science
<b>Year</b>	2021
<b>Thesis Advisor</b>	Assoc Prof. Dr. Pussadee Tangwacharin
<b>Thesis Co-advisor</b>	Assoc Prof. Dr. Supaluk Sorapukdee

## ABSTRACT

The Objective of this study was to study the effects of Exopolysaccharides, EPS from *Bacillus subtilis* LB23 on shelf life of raw marinated ground pork. The tests at concentrations 0.18% and 0.25% respectively in raw marinated ground pork products, that were packaged in aerobic and vacuum packed at 4 °C for 6 days. The antimicrobial activity pathogen and lactic acid bacteria in raw marinated ground pork products, which added pure inoculation solutions *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes* and lactic acid bacteria in the sample tested. It was found that the EPS-LB23 concentration 0.25% was antimicrobial against pure pathogens and Lactic acid bacteria. Which reduced bacterial count in the initial, maximum specific growth rate and generation time of these bacteria was the highest ( $P < 0.05$ ). In addition Microbiological and physicochemical qualities of product were analyzed. It was found that it can inhibited the growth of Mesophilic aerobic bacteria, Mesophilic anaerobic bacteria, Psychrophilic bacteria, Lactic acid bacteria, Yeast and Mold, can also reduce the loss of physicochemical better than in other group ( $P < 0.05$ ).

Effect of EPS-LB23 from *Bacillus subtilis* on the shelf life of raw marinated ground pork products. Which effect of the changes in the microorganism and physical chemistry during storage of raw marinated ground pork products that were packaging in aerobic and vacuum packed at 12 °C for 16 days. EPS-LB23 was analyzed at concentrations 0.25%, 0.31% and 0.37% respectively. The results showed that 0.31% and

0.37% EPS-LB23 adding could retard the growth of Mesophilic aerobic bacteria, Mesophilic anaerobic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ III อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

bacteria, Psychrophilic bacteria, Lactic acid bacteria, yeast, Mold and Coliforms until the 16 days of storage. This was different with the control group that had a shelf life of only 10 days. In addition, they were able to reduce purge loss and cooking loss ( $P < 0.05$ ). and the study found that oxidation increased for all group, pH value, color (CIE;  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ), chroma decreased during the storage time. and Hue angle increased for all group and texture profile analyzed of all products had decreased during the storage time. Moreover, the EPS adding at both concentrations has been able to extend shelf life of this product for 16 days and preserve the quality of physical chemistry as well. Consequently, 0.31% EPS-LB23 had a good preservative potential for raw marinated ground pork product.



## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ประสบความสำเร็จได้ด้วยดี โดยได้รับความกรุณาจากท่าน รศ.ดร.ศุภศิณี ตั้งวัชรินทร์อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.ศุภลักษณ์ สรภักดี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ท่านได้กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัยอย่างยิ่ง จึงก่อให้เกิดความสำเร็จตามเป้าหมายได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ข้าพเจ้าขอขอบคุณ ผศ.ดร.ปณณาณี สัมภวะ ที่อนุเคราะห์ให้แบบที่เรียกใช้ในงานวิจัยของวิทยานิพนธ์เล่มนี้แก่ข้าพเจ้า ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์จากท่านและขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณ ผศ.ดร. ศิริพร เรียบร้อย กิม ผศ.ดร. อัจฉรา เลขานุกุล และ รศ.ดร. รณชัย สิทธิไกรพงษ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและข้อชี้แนะจนสามารถทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้

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

ข้าพเจ้าขอขอบคุณพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวของข้าพเจ้า ที่คอยเป็นกำลังใจให้คำปรึกษา และรวมถึงการสนับสนุนทางด้านต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณพี่ เพื่อน และบุคคลต่างๆ ในคณะเทคโนโลยีการเกษตรที่คอยช่วยเหลือ และคอยเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าเสมอมา

สุดท้ายนี้คุณงานความดีที่เกิดจากการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดา มารดา ครูอาจารย์ ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่าน และประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบให้แก่ผู้ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไปในอนาคต

พัสวี สิทธิชัย

## สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	III
กิตติกรรมประกาศ .....	V
สารบัญ .....	VI
สารบัญตาราง .....	IX
สารบัญภาพ .....	X
บทที่ 1 บทนำ .....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา .....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา .....	3
1.3 สมมติฐานของการศึกษา .....	3
1.4 ขอบเขตของการศึกษา .....	3
1.5 ขั้นตอนการศึกษา .....	3
1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น .....	4
1.7 ข้อจำกัดในการศึกษา .....	4
1.8 คำจำกัดความ .....	4
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	5
2.1 การปรุงรสเนื้อสัตว์ .....	5
2.2 ลักษณะของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรส .....	5
2.3 ส่วนผสมในการผลิตหมูปปรุงรส .....	6
2.4 การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่อุณหภูมิแช่เย็น .....	7
2.4.1 การเสื่อมเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่อุณหภูมิแช่เย็น .....	8
2.4.2 ปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่อุณหภูมิแช่เย็น .....	8
2.5 การเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรส .....	9
2.5.1 การเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ .....	10
2.5.2 การเสื่อมเสียเนื่องจากการเกิดออกซิเดชันของไขมัน .....	11
2.6 เอกโซโพลีแซคคาไรด์ (Exopolysaccharide, EPS) .....	14
2.7 กระบวนการสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์จากแบคทีเรีย .....	14
2.7.1 การสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ภายในเซลล์ .....	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ VI อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
2.7.2 การสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ภายนอกเซลล์ .....	16
2.8 สมบัติทางกายภาพและเชิงหน้าที่ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ .....	19
2.9 ผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ต่อการต้านจุลินทรีย์ .....	20
2.10 ผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ต่อการต้านออกซิเดชัน .....	25
2.11 การประยุกต์ใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์จากแบคทีเรียต่อผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์..	26
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย .....	28
3.1 วัตถุประสงค์-สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ .....	28
3.1.1 สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ .....	28
3.1.2 วัสดุ-อุปกรณ์ และเครื่องมือ .....	29
3.2 ขอบเขตการทดลอง .....	31
3.3 วิธีการทดลอง .....	34
3.4 การทดลองที่ 1 การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ที่ผลิตจากเชื้อ <i>B. subtilis</i> LB23 ในผลิตภัณฑ์หมูปูดปรุงรส .....	34
3.4.1 การผลิตและสกัดเอกโซโพลีแซคคาไรด์.....	34
3.4.2 ศึกษาการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากเชื้อ <i>B. subtilis</i> LB23 ที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์หมูปูดปรุงรส .....	35
3.5 การทดลองที่ 2 ผลของกิจกรรมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ซึ่งผลิตจากเชื้อ <i>B. subtilis</i> LB23 ที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์หมูปูดปรุงรส .....	42
3.5.1 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพและอายุการเก็บรักษา ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปูดปรุงรส .....	42
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ .....	48
4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคา ไรด์ที่ผลิตจาก เชื้อ <i>B. subtilis</i> LB23 ในผลิตภัณฑ์หมูปูดปรุงรส .....	48
4.1.1 การทดลองย่อยที่ 1.1 การต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ที่ผลิตจากเชื้อ <i>B. subtilis</i> LB23 ที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์หมูปูดปรุงรสที่เติม สารละลายเชื้อบริสุทธิ์ .....	48

## สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
4.1.2 การทดลองย่อยที่ 1.2 ผลของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ที่มีผลต่อคุณภาพ จุลินทรีย์และเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส .....	53
4.2 การทดลองที่ 2 ผลของเอกโซโพลิแซคคาไรด์ที่ผลิตจากเชื้อ <i>B. subtilis</i> LB23 ที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรส .....	66
4.2.1 การเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพทางจุลินทรีย์ .....	66
4.2.2 คุณภาพทางกายภาพ .....	72
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ .....	84
5.1 สรุปผลการทดลอง .....	84
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	84
บรรณานุกรม .....	85
ภาคผนวก .....	98
ภาคผนวก ก .....	99
ภาคผนวก ข .....	107
ภาคผนวก ค .....	108
ประวัติผู้เขียน .....	115

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียในอุตสาหกรรมอาหารและการแพทย์ ...	18
2.2	แสดงการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยความเข้มข้นที่แตกต่างกันของ EPS ที่ผลิตจาก <i>Bacillus altitudinis</i> MSH2014 .....	24
2.3	กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองของ EPS ของสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน ...	26
3.1	ส่วนผสมในการทำผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสแต่ละสูตรของการทดลอง .....	36
3.2	ส่วนผสมในการทำผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสแต่ละสูตรของการทดลอง .....	43
4.1	อัตราการเจริญสูงสุดและระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส .....	52
4.2	คุณภาพทางเคมีกายภาพในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสที่บรรจุแบบมีอากาศเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน .....	64
4.3	คุณภาพทางเคมีกายภาพในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสที่บรรจุแบบสุญญากาศเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน .....	65
4.4	จำนวนโคลิฟอร์มในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสที่บรรจุแบบมีอากาศ อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน .....	71
4.5	จำนวนโคลิฟอร์มในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสที่บรรจุแบบสุญญากาศ อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน .....	72

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	กระบวนการ Anabolism ของกลูโคสในแบคทีเรียแกรมลบ .....	15
2.2	ระบบ Catabolic ในการสังเคราะห์น้ำตาลนิวคลีโอไทด์ .....	16
2.3	ผลของการต้านจุลินทรีย์ของ EPS ที่ความเข้มข้น 50 mg/ml (ทางขวา) ผลิตจากเชื้อ <i>Lactococcus lactis</i> F-mou ที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> (A), <i>Escherichia coli</i> (B), <i>Acinetobacter baumannii</i> (C), <i>Candida albicans</i> (D), <i>Proteus mirabilis</i> (I), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (F), <i>Staphylococcus aureus</i> (G), <i>Enterobacter cloacae</i> (H), <i>Listeria monocytogenes</i> (I) เปรียบเทียบกับไนซิน (ทางซ้าย) .....	21
2.4	เชื้อ <i>S. aureus</i> หลังจากได้รับสแตรัซ (a) และ EPS ที่ผลิตจากเชื้อ <i>Streptomyces virginia</i> H03 (b) จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน .....	23
2.5	กิจกรรมต้านเชื้อจุลินทรีย์ของ B-EPS (300 µg / ml) และ L-EPS (300 µg / ml) เมื่อเทียบกับของ ampicillin (100 µg / ml) .....	25
2.6	ผลของการใส่ EPS-Ca <sub>6</sub> ต่อปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการทดลอง TBARS ในไส้กรอกเนื้อโคในช่วง 12 วัน ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส .....	27
4.1	การเจริญของเชื้อ <i>Salmonella</i> spp. ที่บรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศ (ก), บรรจุแบบสุญญากาศ (ข) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน, จำนวนของจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ลดลง (ค) ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5, EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 และ 0.25 .....	49
4.2	การเจริญของเชื้อ <i>S. aureus</i> ที่บรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศ (ก), บรรจุแบบสุญญากาศ (ข) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน, จำนวนของจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ลดลง (ค) ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, เดิม โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5, EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 และ 0.25 .....	51
4.3	การเจริญของเชื้อ <i>L. monocytogenes</i> ที่บรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศ (ก), บรรจุแบบสุญญากาศ (ข) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน, จำนวนของจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ลดลง (ค) ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, เดิม โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5, EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 และ 0.25 ...	51

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.4	การเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติกที่บรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศ (ก), บรรจุแบบสุญญากาศ (ข) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน, จำนวนของจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ลดลง (ค) ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, เดิม โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5, EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 และ 0.25 .....	52
4.5	จำนวนของจุลินทรีย์ Mesophilic aerobic bacteria (ก และข) ที่บรรจุแบบมีอากาศ และบรรจุแบบสุญญากาศ, จำนวนของจุลินทรีย์ Mesophilic anaerobic bacteria (ค และง) ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5, EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 และ 0.25 อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน .....	54
4.6	จำนวนของจุลินทรีย์ Psychrophilic bacteria ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5, EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 และ 0.25 อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศ และบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข) .....	55
4.7	จำนวนของจุลินทรีย์ Lactic acid bacteria ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5, EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 และ 0.25 อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศ และบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข) .....	56
4.8	จำนวนของจุลินทรีย์ยีสต์-รา ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5, EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 และ 0.25 อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข) .....	57
4.9	ผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 (T3) และ 0.25 (T4) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน .....	62

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.10	จำนวนของจุลินทรีย์ Mesophilic aerobic bacteria (ก และข) ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ, จำนวนของจุลินทรีย์ Mesophilic anaerobic bacteria (ค และง) ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), เดิม โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน .....	67
4.11	จำนวนของจุลินทรีย์ Psychrophilic bacteria ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), เดิม โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน .....	68
4.12	จำนวนของจุลินทรีย์ Lactic acid bacteria ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), เดิม โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข) .....	69
4.13	จำนวนของจุลินทรีย์ยีสต์-รา ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), เดิม โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข) .....	70

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
4.14	ค่าความเป็นกรด-ด่างในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), เติมโซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1% (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข) .....	73
4.15	ค่าการออกซิเดชันของไขมันในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), เติมโซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข) .....	74
4.16	ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), เติมโซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข) .....	75
4.17	ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุก ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), เติมโซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข) .....	77

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.18	ค่าสี CIE ในผลิตภัณฑ์หมอบคปรงรตกลุ่มควบคุม (T1), เดิมโซเดียมซีเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซีเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ L*(ก และข), a*(ค และง), b*(จ และฉ), Hue angle (ช และซ) และ Chroma (ฅ และญ) .....	80
4.19	ผลิตภัณฑ์หมอบคปรงรตกลุ่มควบคุม (T1), เดิมโซเดียมซีเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซีเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน .....	80
4.20	ค่าคุณลักษณะทางด้านเนื้อสัมผัสโดยรวมในผลิตภัณฑ์หมอบคปรงรตกลุ่มควบคุม (T1), เดิมโซเดียมซีเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซีเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ ค่าความแข็ง (ก และข), ค่าการเกาะรวมตัว (ค และง), ค่าความเหนียวคล้ายยาง (จ และฉ), ค่าความยืดหยุ่น (ช และซ) และ ค่าความเคี้ยวได้ (ฅ และญ) .....	83

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันเนื้อหมูและผลิตภัณฑ์จากเนื้อหมูที่มีอยู่ประมาณ 30 ชนิด โดยเนื้อหมูดซึ่งมักมีสัดส่วนสูงที่ผู้บริโภคมักบริโภคเป็นประจำ (Verbeke *et al.* 2010) ดังนั้นการผลิตเนื้อสัตว์ปรุงรสจึงเป็นที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย เพื่อเป็นการเพิ่มรสชาติและเพิ่มความหลากหลายให้กับผลิตภัณฑ์ (Yusop *et al.* 2011) เนื่องจากการบดจะทำลายโครงสร้างเนื้อเยื่อของกล้ามเนื้อจึงทำให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวของเนื้อปนเปื้อนสู่เนื้อบด จากสภาพแวดล้อมที่เอื้ออำนวยต่อการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งเกิดขึ้นจากการกระทำนี้ ดังนั้นเนื้อบดจึงเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่มีอายุการเก็บรักษาสั้นเนื่องจากการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ (Stobnicka and Gniewosz 2018) แต่ในขณะเดียวกันการเสื่อมเสียของเนื้อสดอาจยังสามารถเกิดขึ้นได้เนื่องจากการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเนื้อบดปรุงรส เนื่องจากเนื้อบดมีพื้นที่ผิวสัมผัสมากขึ้น ทำให้มีความไวต่อการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น (Björkroth, 2005) มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ เช่น *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* และ *Listeria monocytogenes* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคที่ปนเปื้อนในระหว่างการแปรรูปเนื้อและในระหว่างการเก็บรักษา (DeGeer *et al.* 2016; Björkroth, 2005) และการเสื่อมเสียอีกอย่างหนึ่งคือ การเกิดออกซิเดชันเนื่องจากโครงสร้างที่เป็นรูพรุนของเนื้อสด (Björkroth, 2005) จากสาเหตุดังกล่าวพบว่า มีชาวอเมริกันป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษ และมีผู้เสียชีวิตประมาณ 3,000 รายต่อปี (DeGeer *et al.* 2016) ดังนั้นจึงมีการใช้สารสังเคราะห์ในการต้านจุลินทรีย์ ช่วยในการยับยั้งการเกิดจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Björkroth, 2005) และยังมีการใช้สารต้านออกซิเดชันเป็นส่วนผสมในอาหาร ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ เช่น butylated hydroxyanisole (BHA) และ butylated hydroxytoluene (BHT) ซึ่งมักจะถูกใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Cömert and Gökmen, 2018) ถึงแม้สารสังเคราะห์ที่สามารถต้านอนุมูลอิสระนั้นจะมีประสิทธิภาพในการชะลอกระบวนการเกิดออกซิเดชันแต่ผู้บริโภคก็ยังคงมีความกังวลอยู่ จึงนำไปสู่ความสนใจการใช้สารจากธรรมชาติที่มีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ และต้านอนุมูลอิสระ (Zhang *et al.* 2013) โดยจุลินทรีย์หลายชนิดมีความสามารถในการสังเคราะห์ Exopolysaccharide (EPS) ซึ่งเป็นโพลีเมอร์ที่ถูกขับออกมาออกเซลล์ในรูปของแคปซูลหรือเมือก

ส่วนใหญ่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต ปลอดภัยและย่อยสลายเองได้โดยโครงสร้างและเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติที่มีศักยภาพทำให้มีการนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น เป็นสารทำให้คงตัว อิมัลซิไฟเออร์ สารเพิ่มความหนืด และสารก่อเจล และมีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมยา และเป็นสารบำบัดทางชีวภาพในระบบการจัดการสิ่งแวดล้อม (Hassan and Ibrahim, 2017; Fang *et al.* 2013) โดย Hassan and Ibrahim, 2017; Zheng *et al.* 2016 ได้รายงานไว้ว่า EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Bacillus* spp. สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ เช่น *L. monocytogenes*, *Streptococcus aureus* และ *Salmonella* Typhimurium และในการศึกษาของ Razack *et al.* 2014 พบว่า EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน โดยความเข้มข้นที่ 0.8 มก./มล. มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ที่ 61.19% ซึ่งเกิดจากความสามารถในการให้ไฮโดรเจนแก่สารอนุมูลอิสระ แสดงให้เห็นว่า EPS มีฤทธิ์ทั้งต้านจุลินทรีย์และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้โดย EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* เป็นแบคทีเรียที่ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมรวมถึงมนุษย์ซึ่งได้รับการรับรองความปลอดภัยจาก Generally Regarded as Safe (GRAS) (Yahav *et al.* 2018) นอกจากนี้ยังได้รับการรับรองความปลอดภัยจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (FDA) (Apetroaie-Constantin *et al.* 2009) ซึ่งการศึกษาก่อนหน้านี้ได้มีการนำเชื้อ *B. subtilis* LB23 ที่ได้นำมาศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการทดสอบกิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์ด้วยการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *Lactobacillus plantarum* และ *Lactococcus lactis* และการต้านออกซิเดชันมาในเบื้องต้นแล้ว พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่จะยับยั้งแบคทีเรียเหล่านี้ได้ที่มีความเข้มข้น 0.0625% (สุสติ ตั้งวัชรินทร์, ยังไม่มีการเผยแพร่ข้อมูล)

นอกจากนี้งานวิจัยก่อนหน้านี้ของ Trabelsi *et al.* (2018) ได้นำ EPS มาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเนื้อโคพบว่า EPS ความเข้มข้น 0.0625% สามารถช่วยต้านการเกิดออกซิเดชันและยังช่วยเรื่องคุณสมบัติการคงตัวของอิมัลชันในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเนื้อโค ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษา EPS ที่ผลิตจาก *B. subtilis* LB23 ที่มีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูบดปรุงรส เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์

## 1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาคุณสมบัติของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ ที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์หมูบดปรุงรส

1.2.2 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูบดปรุงรสที่มีการเติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 1.3 สมมติฐานของการศึกษา

1.3.1 คุณสมบัติของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส

1.3.2 ผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ซึ่งผลิตจากจุลินทรีย์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส

### 1.4 ขอบเขตของการศึกษา

การทดลองที่ 1 การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* LB23 ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เย็น โดยทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางต้านจุลินทรีย์ และเคมีกายภาพ

การทดลองที่ 2 ผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ซึ่งผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* LB23 ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส

### 1.5 ขั้นตอนการศึกษา

1.5.1 ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากเชื้อ *Bacillus subtilis* LB23 ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส

1.5.2 ศึกษาผลของกิจกรรมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* LB23 ที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส

### 1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น

การศึกษาวិจัยเรื่องการประยุกต์ใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์จากแบคทีเรีย *B. subtilis* LB23 เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส เป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการเท่านั้น

### 1.7 ข้อจำกัดในการศึกษา

การผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสและการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่บรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศในอุณหภูมิ 4 และ 12 องศาเซลเซียส ตลอดอายุการเก็บรักษาเป็นการศึกษาและประเมินภายในห้องปฏิบัติการเท่านั้น หากนำไปใช้จำเป็นต้องควบคุมอุณหภูมิให้เท่ากับอุณหภูมิในห้องปฏิบัติการ เพื่อความแม่นยำในการเก็บรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.8 คำจำกัดความ

ผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรสคือ ผลิตภัณฑ์ลดขนาดที่ได้จากการนำเนื้อสดไปลดขนาดโครงสร้างของเส้นใยกล้ามเนื้อให้เล็กลง ผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีลักษณะเนื้อที่ประกอบมาจากชิ้นเล็กๆ ที่ผ่านการผสมด้วยเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรส



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 การปรุงรสเนื้อสัตว์

การปรุงรสเนื้อสัตว์ (marinade) อาจมาจากคำภาษาละติน *marinus* ถูกนำมาใช้ในภาษาอิตาลี สเปน และฝรั่งเศส โดยทั่วไป หมายถึง การปรุงรสในน้ำเกลือ (Björkroth, 2005) เป็นการเพิ่มรสชาติของเนื้อสัตว์ควบคู่ไปกับการยืดอายุการเก็บ (เยวาลักษณ์ สุรพันธ์พิศยฐ์, 2536) ในอดีตการปรุงรสเนื้อสัตว์มักใช้เวลาประมาณ 1 ถึง 24 ชั่วโมงในสารละลายที่มีเกลือหรือกรด ที่เติมน้ำตาล เครื่องเทศ หรือน้ำมัน อุตสาหกรรมระดับที่ใหญ่ขึ้นการปรุงรสด้วยสารละลายเกลือและฟอสเฟตหลังจากแช่เย็นเพื่อเพิ่มผลผลิตและปรับปรุงคุณภาพเนื้อสัตว์ การปรุงรสเป็นส่วนประกอบหลักของส่วนผสมที่ไม่ใช่เนื้อสัตว์ในรูปแบบของสารละลายหรือผงที่ใช้กับอาหารที่ไม่ผ่านการปรุงแต่งโดยเฉพาะเนื้อสัตว์เพื่อเพิ่มรสชาติหรือปรุงรส (Yusop *et. al.* 2011) เกลือเป็นส่วนประกอบที่สร้างสีและปรุงรสในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เกลือช่วยยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อทำหน้าที่ยับยั้งการเน่าเสียได้โดยการลดปริมาณน้ำที่จุลินทรีย์จะนำไปใช้

### 2.2 ลักษณะของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูบดปรุงรส

ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ทำจากเนื้อหมู เครื่องเทศหรือสมุนไพร เช่น กระเทียม พริกไทย วัตถุดิบปรุงรสอาหาร และเครื่องปรุงรสเช่น เกลือ นำมาบดบดละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน นวดจนเหนียวที่อุณหภูมิห้องโดยใช้น้ำแข็ง อาจผสมส่วนประกอบอื่นๆ คลุกเคล้าให้เข้ากันเป็นผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มมูลค่าเนื้อสัตว์ให้มีกลิ่นและรสชาติที่ดี ในการปรุงรสทำให้เกิดกลิ่นและรสชาติที่ดีแล้วยังยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (อุมาพร ศิริพินทุ์, 2551) เพื่อให้เครื่องปรุงแทรกซึมได้อย่างทั่วถึง การที่เครื่องปรุงแทรกซึมได้อย่างรวดเร็วและ ส่วนประกอบของน้ำปรุงรสสามารถกระจายได้ทั่วชิ้นเนื้อ ช่วยในการปรับปรุงคุณภาพ ในด้านความนุ่มเนื้อ ความชุ่มฉ่ำ รวมทั้งยังช่วยเพิ่มผลผลิตของผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วย ชิ้นส่วนเนื้อหมูที่ใช้ในการทำผลิตภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์ลดขนาด (comminuted products) หมายถึง ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ได้จากการนำเนื้อสดไปบดลดขนาด ให้เล็กลง ผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะมีลักษณะที่ประกอบมาจากชิ้นเล็กๆ ผ่านการผสมด้วยเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรสผลิตภัณฑ์ลดขนาดคงรูปร่างอยู่ได้ด้วยการบรรจุใส่หรือการแปรรูปปรุง (สัณชัย จตุรสิทธิ์ธา, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.3 ส่วนผสมหลักในการผลิตหมูปปรุงรส

Yusop *et al.* (2011) ได้กล่าวไว้ว่า ส่วนผสมในการปรุงรสสามารถแบ่งได้เป็นสองประเภทตามหน้าที่การใช้งาน ประเภทแรกประกอบด้วยส่วนผสมที่มีผลต่อคุณสมบัติการยึดเกาะของน้ำหรือเนื้อสัมผัส และปรับสภาพเนื้อสัตว์ให้จับน้ำผ่านความแรงไอออนิก และค่า pH เช่น น้ำ, เกลือ, ฟอสเฟต, กรดอินทรีย์, โซโครคอลลอยด์, ไอโซเลต ประเภทที่สองประกอบด้วยส่วนผสมที่มีผลต่อความน่าดึงดูดของผู้บริโภคและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ส่วนผสมรองเหล่านี้ เช่น สมุนไพร และเครื่องเทศ สารสกัดที่สกัดกลิ่นรส และสารให้ความหวาน มาริเนต (marinated) และน้ำเกลือมีส่วนผสมที่คล้ายกัน โดยทั่วไปแล้วมีน้ำ, เกลือ, ฟอสเฟตและสารแต่งกลิ่น การหมักเป็นส่วนที่ทำให้ส่วนผสมที่ช่วยในการปรับปรุงรสชาติเนื้อสัมผัสและความชุ่มฉ่ำของเนื้อสัตว์ในการทำผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เกลือไนเตรตไนไตรต์ เครื่องปรุงแต่งกลิ่นรส สารช่วยจับน้ำ และน้ำ เป็นส่วนที่มีความสำคัญต่อการผลิตผลิตภัณฑ์ให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคทั้งนี้ โดยมีสัดส่วนที่แน่นอนมีลักษณะผลิตภัณฑ์ที่น่ารับประทาน รสชาติสม่ำเสมอและอำนวยความสะดวกในการทำผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพได้มาตรฐานขึ้นอยู่กับทางเลือกใช้ส่วนประกอบที่สำคัญแต่ละชนิด เช่น เนื้อสัตว์ เครื่องปรุงแต่งรส เป็นต้น โดยมีรายละเอียด ดังนี้

(1) เกลือบริโภค คือ โซเดียมคลอไรด์เป็นส่วนผสมอาหารที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ซึ่งอาจนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ในหลายลักษณะ เช่น การคลุกหรือการทาที่ผิวหน้าเนื้อ เป็นส่วนผสมโดยตรงในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เป็นส่วนผสมในน้ำเกลือ และเป็นส่วนผสมในมาริเนต โดยเกลือสามารถช่วยในการอุ้มน้ำ และสกัดละลายโปรตีนจากเนื้อสัตว์ (ศุภลักษณ์ สรภักดี. 2561) เกลือยังทำหน้าที่เสริมกลิ่นรสให้แก่ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ และทำงานร่วมกับเกลือฟอสเฟตในการละลายโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ซึ่งจะช่วยเพิ่มความสามารถในการจับน้ำและไขมัน เกลือยังทำหน้าที่ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์บางกลุ่ม โดยปริมาณเกลือเพียงเล็กน้อยก็มีผลในการช่วยถนอมอาหารได้ (รุจริน ถิมศุภวานิช. 2560)

(2) สารประกอบฟอสเฟต จัดเป็นวัตถุเจือปนอาหารที่สำคัญในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ซึ่งสารประกอบฟอสเฟตทำหน้าที่ช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำให้กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ด้วยกลไกหลักคือการเพิ่มค่า pH ซึ่งเป็นการช่วยเพิ่มน้ำหนักให้กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ และลดการสูญเสียน้ำหนักภายหลังการปรุงสุก (อุมาพร ศิริพิณฑุ. 2551; ศุภลักษณ์ สรภักดี. 2561) นอกจากนี้ฟอสเฟตยังช่วยลดกลิ่นหืนในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้อีกด้วย โดยฟอสเฟตที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์มักจะอยู่ในรูปของโซเดียม เช่น โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (Sodium Tripolyphosphate) โดยจะใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เช่น ไส้กรอก แพนเค้ก นักเก็ต เป็นต้น (ศุภลักษณ์ สรภักดี. 2561)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(3) น้ำตาล น้ำตาลที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มักเป็นน้ำตาลที่ได้จากแหล่งธรรมชาติ เช่น น้ำตาลซูโครส หรือน้ำตาลทอยแดง หน้าที่ของน้ำตาลต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ทำหน้าที่ให้รสหวานแก่ผลิตภัณฑ์ ให้สีน้ำตาลกับผลิตภัณฑ์โดยผ่านปฏิกิริยามอลาร์ด ซึ่งเป็นปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์และโปรตีนที่ผ่านกระบวนการความร้อน (ศุภลักษณ์ สรภักดี. 2561) ทำให้ความเต็มของอาหารลดลง เมื่อน้ำตาลทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนของโปรตีนในระหว่างการให้ความร้อน จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีน้ำตาลที่บริเวณผิวหน้าของชิ้นเนื้อและมองดูน่ารับประทานยิ่งขึ้น (อุมพร ศิริพิณฑุ. 2551)

(5) เครื่องเทศ เครื่องเทศช่วยเพิ่มกลิ่นรสให้กับผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้เครื่องเทศยังช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ด้วย เช่น พริกไทย อย่างไรก็ตามเมื่อใช้เครื่องเทศในปริมาณปกติในการปรุงอาหารจะไม่มีฤทธิ์ป้องกันจุลินทรีย์ แต่อาจช่วยเสริมฤทธิ์ของสารอื่น (อุมพร ศิริพิณฑุ. 2551)

(7) น้ำ องค์ประกอบที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งที่มีถูกมองว่าเป็นส่วนผสมที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยปกติแล้วน้ำจะหายไปในการปรุงอาหารเนื่องจากการระเหย น้ำจะถูกเติมในระหว่างกระบวนการแปรรูปเพื่อชดเชยการสูญเสียน้ำหนักของผลิตภัณฑ์ซึ่งจะช่วยเพิ่มผลผลิตและเพิ่มความชุ่มชื้นของผลิตภัณฑ์ (Xiong, 2005) คุณสมบัติของตัวทำละลายของน้ำที่เติมลงในน้ำหมักจะถูกเพิ่มที่ประมาณร้อยละ 10 – 20 ของน้ำหนักเนื้อ (Tarté and Amundson. 2006)

## 2.4 การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่อุณหภูมิแช่เย็น

การใช้อุณหภูมิต่ำในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีความสำคัญต่อการผลิตอาหารในระดับครัวเรือน และอุตสาหกรรม ซึ่งการแช่เย็นเป็นวิธีการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ในอุณหภูมิต่ำเหนือจุดเยือกแข็ง หรือการเก็บรักษาไว้ในห้องเย็นหรือตู้เย็น เรียกว่า การแช่เย็น (Refrigeration) ที่อุณหภูมิต่ำประมาณ -1 ถึง 8 องศาเซลเซียส ตามปกติอุณหภูมิต่ำมีผลต่อการลดปฏิกิริยาทางเคมี และการเปลี่ยนแปลงจากจุลินทรีย์ จึงช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ (วิไล รัตนาทอง. 2546) ซึ่งในการใช้อุณหภูมิต่ำในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์หลังจากการแปรรูปแล้วนั้น เพื่อเป็นการชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ การใช้อุณหภูมิต่ำจะทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ และปฏิกิริยาของเอนไซม์ช้าลง แต่อย่างไรก็ตามเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นจะก่อให้เกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ และสีของเนื้อเกิดการเปลี่ยนแปลงไปบ่งบอกได้ถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่อาจจะไม่เหมาะสมต่อการนำมาบริโภคได้ (Coombs et al. 2017)

#### 2.4.1 การเสื่อมเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่อุณหภูมิแช่เย็น

การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งสูงกว่า 0 องศาเซลเซียสเล็กน้อยในสภาวะที่มีอากาศเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการถนอมเนื้อสัตว์ และวิธีนี้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางลักษณะทางประสาทสัมผัส น้อยที่สุด แม้จะมีการใช้อุณหภูมิที่มีความแตกต่างกันเล็กน้อยในห้องเย็น ซึ่งในการศึกษาปัจจุบัน ส่วนใหญ่จะดำเนินการศึกษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอาจจะเกิดการปนเปื้อนจากแบคทีเรียประเภท psychrotrophic เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งได้แก่ *Staphylococcaceae*, *Micrococcaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Brochothrix thermosphacta* และ Lactic acid bacteria (Iacumin and Carballo 2016; Kamenik 2003)

#### 2.4.2 ปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่อุณหภูมิแช่เย็น

1) จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น เป็นจำนวนของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนก่อนการเก็บรักษาและก่อนบรรจุภัณฑ์ ซึ่งเกิดจากการปฏิบัติที่ไม่ถูกสุขอนามัย และเครื่องมืออุปกรณ์ที่นำมาใช้ ทั้งนี้ถ้ามีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นสูงจะทำให้อายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สั้นลง โดยจุลินทรีย์ที่มักพบจากการปฏิบัติไม่ถูกสุขอนามัย ได้แก่ *Enterobacteriaceae*, *Aeromonas* spp. และ *Shewanella* spp. เป็นต้น (Holley *et al.* 2004; Kamenik 2003)

2) อุณหภูมิ เนื่องจากอุณหภูมิในการเก็บรักษาถือเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเน่าเสียและคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยจะส่งผลกระทบต่อระยะพักตัว ซึ่งเป็นระยะที่แบคทีเรียปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม อัตราการเจริญที่สูงที่สุด และจำนวนจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์บางกลุ่มสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิแช่เย็น เช่น แบคทีเรียผลิตกรดแลกติก และ *Pseudomonas* spp. โดยพบว่าหลังจากการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เชื้อ *Pseudomonas* สามารถก่อให้เกิดแบคทีเรียที่เน่าเสียได้มากถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งได้แก่ *Pseudomonas fragi*, *P. lundensis* และ *P. fluorescens* (Iacumin and Carballo 2017; Doulgeraki *et al.* 2012) การยืดอายุผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยการลดอุณหภูมิในการเก็บรักษาจะเป็นการจำกัดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และในการศึกษาของ Li *et al.* (2006) พบว่าเชื้อ *Pseudomonas* spp. และ *Brochothrix thermosphacta* เป็นแบคทีเรียที่มักพบในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Papadopoulou *et al.* (2012) พบว่าเนื้อหมูบดที่เก็บรักษาอุณหภูมิแช่เย็นมีการเจริญของเชื้อ *B. thermosphacta* ในจำนวนที่สูงและเมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นสูงกว่า 5-10 องศาเซลเซียส มักพบว่าเชื้อ *Enterobacteriaceae* จะทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเสื่อมเสียได้ (In't veld 1996) นอกจากนี้การศึกษาของ Fengou *et al.* (2019) ได้รายงานว่าเนื้อหมูบดที่ทำารเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4, 8 และ 12 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อ

*Pseudomonas* spp, *B. thermosphacta* และแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกมีจำนวนเพิ่มสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น

3) รูปแบบการบรรจุภัณฑ์ เป็นการพัฒนาสถานะการเก็บรักษาเพื่อที่จะขยายระยะเวลาของผลิตภัณฑ์บนพื้นฐานของการตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ที่กำหนด ซึ่งเทคนิคการบรรจุเนื้อสัตว์มีจุดมุ่งหมายเพื่อชะลอการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ และคงคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ (Ivanovic *et al.* 2016; Kamenik 2013) และเป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าการเก็บรักษาในสภาวะที่มีอากาศสามารถเร่งการเน่าเสียผลิตภัณฑ์ เนื่องจากการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของจุลินทรีย์ (Doulgeraki *et al.* 2012; Kamenik 2013) ดังนั้นในระหว่างการเก็บรักษาด้วยอุณหภูมิต่ำภายใต้สภาวะที่มีอากาศจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีเป็นส่วนใหญ่เป็นพวก *Acinetobacter*, *Pseudomonas* เช่น *P. fluorescens*, *P. fragi*, *P. lundensis*, *P. putida* และ *Psychrobacter* (Iacumin and Carballo 2017; Doulgeraki *et al.* 2012) ในขณะที่การใช้บรรจุภัณฑ์แบบสุญญากาศ เป็นการบรรจุผลิตภัณฑ์ที่มีการดูดอากาศออกก่อนการปิดผนึก ซึ่งจะช่วยให้ภายในบรรจุภัณฑ์มีสภาวะเป็นแบบสุญญากาศส่งผลทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ แต่อย่างไรก็ตามในสภาวะนี้อาจจะเอื้อต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศในกลุ่มของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก เช่น *Lactobacillus algidus*, *Lactococcus* spp., *Weissella* spp., *B. thermosphacta* และ *Enterobacteriaceae* (Anderson *et al.* 1998; Iacumin and Carballo 2017; Doulgeraki *et al.* 2012) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Jiang *et al.* (2010) พบว่าการบรรจุภัณฑ์แบบสุญญากาศ ทำให้แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาซึ่งเชื้อ *Lactobacillus sakei* และ *Lactococcus* sp. มีจำนวนสูงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และโดดเด่นเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษา

## 2.5 การเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส

เนื่องจากเนื้อหมูเป็นเนื้อสัตว์ที่มีการบริโภคกันมากที่สุด และอุดมไปด้วยโปรตีน ไขมัน และวิตามิน จึงมีบทบาทสำคัญในอาหารของมนุษย์ และยังเป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของแบคทีเรียที่เน่าเสียและก่อโรค (Boskovic *et al.* 2017) ดังนั้นในอุตสาหกรรมการผลิตเนื้อสัตว์ นอกจากความสด สะอาด และความปลอดภัยแล้วนั้น สิ่งที่ต้องคำนึงถึงอีกข้อที่สำคัญคือ การลดเชื้อก่อโรคในเนื้อสัตว์ เช่น *Salmonella* spp., *E. coli* และ *L. monocytogenes* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในเนื้อสด (DeGeer *et al.* 2016.) การเสื่อมเสียของเนื้อสดอาจเกิดขึ้นได้จากสองวิธีระหว่างการเก็บรักษา คือ การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการเกิดออกซิเดชัน (Boskovic *et al.* 2017) การปนเปื้อนจากจุลินทรีย์จะเกิดขึ้นในกระบวนการฆ่าและการชำแหละสัตว์ต่าง ๆ อยู่เสมอโดยกระบวนการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเครื่องมือที่ใช้ในการผลิต การทำความสะอาดเครื่องมืต่าง ๆ และความระมัดระวังของผู้ที่เกี่ยวข้องจะสามารถลดการปนเปื้อนได้มาก การบรรจุอาหารในภาชนะบรรจุจะช่วยลดการปนเปื้อนได้ดีเช่นเดียวกัน ลักษณะการเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโดยการกระทำของเอนไซม์สัตว์เอง การออกซิไดส์ของไขมัน และกิจกรรมของจุลินทรีย์ เอนไซม์จะทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูงซึ่งจุลินทรีย์ก็เจริญได้ดีด้วย (มุสดี ตังวัชรินทร์. 2558)

### 2.5.1 การเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์

เนื่องจากเนื้อและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ประกอบไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการสูง มีค่า pH เป็นกรดเล็กน้อย และมีความชื้นสูงซึ่งจะส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และจากการเปลี่ยนแปลงจากปัจจัยภายนอก เช่น การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ด้วยอุณหภูมิต่ำจะเป็นการชะลอการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ประเภท Psychrotrophic (Int veld 1996) ดังนั้นปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นและค่า pH ยังเป็นตัวแปรที่สำคัญในการกำหนดอายุการเก็บรักษาของเนื้อสัตว์ (Blixt and Borch. 2002; Ivanovic *et al.* 2016) โดยในการศึกษาปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีว่าเนื้อมีแนวโน้มที่จะเกิดการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ได้สูง เนื่องจากกระบวนการบดเป็นการรบกวนโครงสร้างของเนื้อสัตว์ส่งผลทำให้ปล่อยของเหลวในเนื้อเยื่อ ทำให้เนื้อมีพื้นที่สัมผัสกับอากาศที่สนับสนุนการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และเนื่องจากเนื้อมีพื้นที่ผิวสัมผัสมากขึ้นทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ทั่วทั้งผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้ตามข้อกำหนดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 5.7 log CFU/กรัม ซึ่งจะปลอดภัยต่อผู้บริโภค (Boskovic *et al.* 2017) ซึ่งเนื้อสัตว์สดโดยทั่วไปแล้วมีความชื้นและมีค่า pH ที่ปานกลางหรือเป็นกรดเล็กน้อย เมื่อเก็บรักษาในสภาวะที่มีอากาศการเน่าเสียส่วนใหญ่จะเกิดจากเชื้อ *Pseudomonas* spp. ซึ่งอาจเกิดการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อม และจากอุปกรณ์ที่ใช้ในการแปรรูปผลิตภัณฑ์ โดยจะย่อยโปรตีนและผลิตเอนไซม์ทำให้เกิดกลิ่นที่พึงประสงค์ และเกิดเมือกบริเวณผิวของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Int veld 1996)

ในการศึกษาของ Boskovic *et al.* (2017) ได้รายงานว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินขีดจำกัด 5.7 log CFU/กรัม ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ซึ่งมีจำนวนอยู่ที่  $6.19 \pm 0.07$  log CFU/กรัมและ Ivanovic *et al.* (2016) ได้รายงานว่ามีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์มักพบ Enterobacteriaceae มีความสำคัญทางการค้าเนื่องจากเป็นตัวกำหนดเกณฑ์การประเมินทางสุขอนามัยของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ และยังสามารถทำให้เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เกิดการเสื่อมเสียในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น และจากการศึกษาได้รายงานว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน พบว่ามีจำนวนของ Enterobacteriaceae สูงตั้งแต่วันที่ 6 ของการเก็บรักษา และแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา เนื่องจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียผลิตภัณฑ์แลคติกเป็นจุลินทรีย์ที่จะนำไปสู่การเน่าเสียของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่บรรจุภายใต้สภาวะสุญญากาศ ดังนั้นจุลินทรีย์ที่มักพบบ่อย ได้แก่ *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp. และ *Carnobacterium* spp. ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการเน่าเสียของเนื้อสดที่เก็บรักษาในอุณหภูมิแช่เย็น นอกจากนี้เชื้อ *Salmonella* spp. ได้รับการรายงานว่าเป็นแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในเนื้อหมูสด ซึ่งเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในอาหาร (Escartin *et al.* 2000) โดยจากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าโรคที่เกิดจากการบริโภคอาหารในสหรัฐอเมริกา 9-15 เปอร์เซ็นต์เกิดจากเชื้อ *Salmonella* spp. ซึ่งพบว่ามักเกิดจากสายพันธุ์ *S. Enteritidis* และ *S. Typhimurium* อยู่ที่ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เกิดจากการบริโภคเนื้อหมูหรือผลิตภัณฑ์จากเนื้อหมู (Broadway *et al.* 2021; Boskovic *et al.* 2017)

นอกจากนี้ มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ 6000-2547 : เนื้อสุกร ได้มีข้อกำหนดทางด้านจุลินทรีย์ ดังนี้

- จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน  $5 \times 10^5$  โคโลนี/ตัวอย่าง 1 กรัม
- โคลิฟอร์ม (Coliform organisms) กำหนดค่า Most Probable Number (MPN)/ตัวอย่าง 1 กรัม ต้องไม่เกิน  $5 \times 10^3$
- *Salmonella* spp. ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม
- *S. aureus* กำหนดค่า Most Probable Number (MPN)/ตัวอย่าง 1 กรัม ต้องไม่เกิน  $5 \times 10^2$

### 2.5.2 การเสื่อมเสียเนื่องจากการเกิดออกซิเดชันของไขมัน

ความต้องการในการบริโภคผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ผ่านการปรุงสุกเพิ่มขึ้น เนื่องจากความสะดวกของผู้บริโภค อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ผ่านการปรุงสุกจะไวต่อการเกิดออกซิเดชันและการเสื่อมสภาพทางเคมี โดยจะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิ เช่น แอลดีไฮด์, คีโตน และเกิด warmed over flavor (WOF) ในระหว่างการเก็บรักษาโดย WOF ทำให้สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการและยังส่งผลต่ออายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อีกด้วย (Choe *et al.* 2011) โดยสามารถวิเคราะห์หลักไคการเกิดออกซิเดชันได้โดยการวิเคราะห์ห่าค่า (Thio Barbituric Acid Reactive Substances, TBARS) ซึ่งจะวัดผลิตภัณฑ์ออกซิเดชันของไขมันทุติยภูมิ เช่น แอลดีไฮด์ คาร์บอนิล และไฮโดรคาร์บอน ที่ส่งผลต่อกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ต่อเนื้อสัตว์ (Teets *et al.* 2008)

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันจะเกิดขึ้นที่โมเลกุลของกรดไขมัน โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีความไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มากกว่ากรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) โดยกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันสามารถแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน โดยมีรายละเอียดดังนี้ (Eitenmiller and Lee 2004; Reische *et al.* 2008)

## (1) ปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น (initiation)

ปฏิกิริยาออกซิเดชันเริ่มเมื่อ โมเลกุลของไฮโดรเจน ถูกดึงออกจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่อยู่ในสถานะที่มีตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น แสง ความร้อน รังสี หรือโลหะไอออน เกิดเป็นอนุมูลอิสระของกรดไขมัน ที่เรียกว่า อนุมูลอัลคิล ( $R\cdot$ ) ดังสมการที่ 2.1



## (2) ปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่อง (propagation)

ปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่องเป็นขั้นตอนที่อนุมูลอัลคิล ( $R\cdot$ ) ที่เกิดขึ้นทำปฏิกิริยากับออกซิเจนชนิดตรีplet (triplet Oxygen,  $^3O_2$ ) เกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxyl radical,  $ROO\cdot$ ) ดังสมการที่ 2.2



อนุมูลเปอร์ออกซิลที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัว เกิดสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ( $ROOH$ ) และ อนุมูลอัลคิล ( $R\cdot$ ) ตัวใหม่ ดังสมการที่ 2.3



สารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ( $ROOH$ ) เป็นสารที่ไม่เสถียรสามารถแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระอื่นๆ เช่น  $RO\cdot$  และ  $R\cdot$  เหนียวินำทำให้เกิดอนุมูลอิสระแบบเดิมไปเรื่อย ๆ โดยที่ปฏิกิริยาในช่วงนี้จะเรียกว่า ปฏิกิริยาการแตกตัวขั้นทุติยภูมิ ดังสมการที่ 2.4 และ 2.5



ซึ่งสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์สลายเป็นผลผลิตทุติยภูมิ เช่น มาลอนไดแอลดีไฮด์ สารประกอบนี้จะถูกใช้เป็นตัวชี้วัดหนึ่งในการวัดปริมาณการเกิดออกซิเดชันของไขมันในเนื้อสัตว์จากการวิเคราะห์ด้วย TBARS (Kumar *et al.* 2015)

### (3) ปฏิกริยาขั้นสุดท้าย (termination)

ปฏิกริยาขั้นสุดท้าย เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระเกิดการรวมตัวกันในรูปต่าง ๆ เกิดเป็นสารประกอบที่ไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระ รวมทั้งเกิดสารประกอบออกซิไดซ์พวกแอลดีไฮด์ คีโตน แอลกอฮอล์ ซึ่งส่งผลต่อกลิ่นรสที่ไม่ดีในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ (Kumar *et al.* 2015) ดังสมการที่ 2.6-2.10



นอกจากนี้การเกิดออกซิเดชันของไขมันทำให้เกิดการเสื่อมเสียของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ (Muzolf-Panek *et al.* 2020) โดยทั่วไปแล้วค่า TBARS เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษาซึ่งในการศึกษาของ Choe *et al.* (2010) ได้รายงานว่าการเกิดออกซิเดชันของไขมันซึ่งวัดค่า TBARS พบว่าหุบศปรุ่งสุกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วันกลุ่มควบคุมมีค่า TBARS อยู่ระหว่าง 1.06-6.81 MDA mg/kg

## 2.6 เอกโซโพลีแซคคาไรด์ (Exopolysaccharide, EPS)

ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาเอกโซโพลีแซคคาไรด์ (Exopolysaccharides, EPS) ได้รับความสนใจเพิ่มขึ้น เนื่องจากเป็นพอลิเมอร์ที่ผลิตจากแบคทีเรีย ส่วนใหญ่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตซึ่งจะถูกปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ และเนื่องจากสารนอกเซลล์เหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นโพลีแซคคาไรด์ จึงมีชื่อว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์ (Mollakhalili Meybodi และ Mohammadifar 2015; Fang *et al.* 2013; Nehal *et al.* 2019) เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ออกมาสู่สิ่งแวดล้อมจะเกิดเป็น 2 แบบ โดยจะเกิดเป็นลักษณะของแคปซูลบนผิวเซลล์ ซึ่งจะมีความหนาและคงรูป หรือถูกขับออกมาภายนอกเซลล์ ในลักษณะเมือกมีลักษณะเหนียว รูปร่างไม่แน่นอนโดย เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไม่มีความเป็นพิษ ย่อยสลายได้ทางชีวภาพจึงนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง และเป็นวัตถุดิบที่ใช้สำหรับอุตสาหกรรมอาหาร เช่น สารเพิ่มความข้นหนืด, ความคงตัว, อิมัลซิไฟเออร์, การก่อเจล และความสามารถในการกักเก็บน้ำในอาหาร (Dwivedi *et al.* 2018 ; Wu *et al.* 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

1) เอกโซโพลีแซคคาไรด์ เช่น แซนแทน (xanthan), เดกซ์แทรน (dextran), แอลจีเนต (alginate), เซลลูโลส (cellulose), กรดไฮยาลูโรนิก (hyaluronic acid) และกรดโคแลนิก (colanic acid) ซึ่งสามารถหลั่งออกมาหรือสังเคราะห์ออกนอกเซลล์ได้โดยเอนไซม์ที่ผนังเซลล์

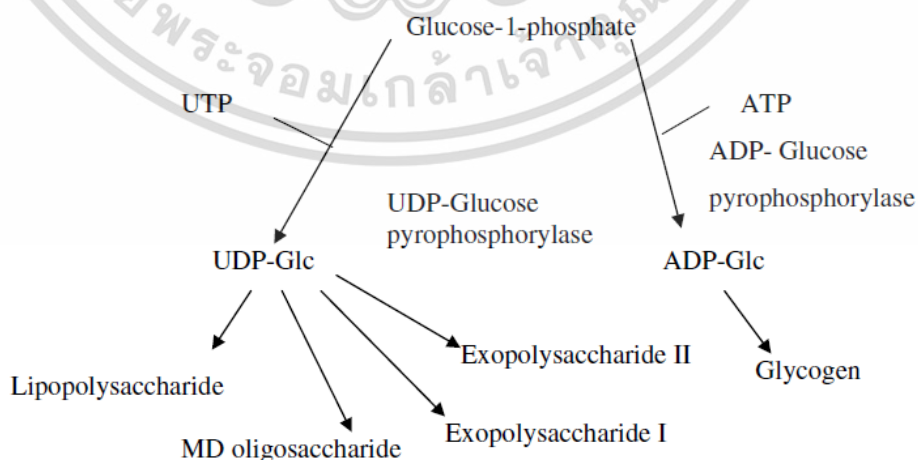
2) แคปซูลาร์โพลีแซคคาไรด์ (capsular polysaccharides)

3) อินตราเซลล์ลาร์โพลีแซคคาไรด์ (intracellular polysaccharide)

ซึ่งการสังเคราะห์โพลีแซคคาไรด์แต่ละกลุ่มที่มีความแตกต่างกันจะขึ้นอยู่กับเอนไซม์และโปรตีนจากกลุ่มยีนส์ที่ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ ซึ่งการสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ และแคปซูลาร์โพลีแซคคาไรด์จะมี biofilm growth node เห็นยวนำให้เกิดการสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ และนอกจากนี้ยังมีน้ำตาลนิวคลีโอไซด์ไดฟอสเฟต กรดนิวคลีโอไซด์ไดฟอสเฟต และอนุพันธ์ของน้ำตาลนิวคลีโอไซด์ไดฟอสเฟต ซึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์โพลีแซคคาไรด์ของแบคทีเรีย (Rehm, 2010)

## 2.7 กระบวนการสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์จากแบคทีเรีย

กระบวนการสังเคราะห์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ส่วนใหญ่มีลักษณะใกล้เคียงกับกระบวนการผลิตพอลิเมอร์ของผนังเซลล์แบคทีเรีย, peptidoglycan และ lipopolysaccharide ซึ่งได้แสดงในภาพที่ 2.1 โดยการสังเคราะห์จะเกิดขึ้นบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์และถูกส่งออกไปยังภายนอกเยื่อหุ้มไซโทพลาสซึม (Kumar *et al.* 2007)



ภาพที่ 2.1 กระบวนการ Anabolism ของกลูโคสในแบคทีเรียแกรมลบ

ที่มา : Kumar *et al.* (2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

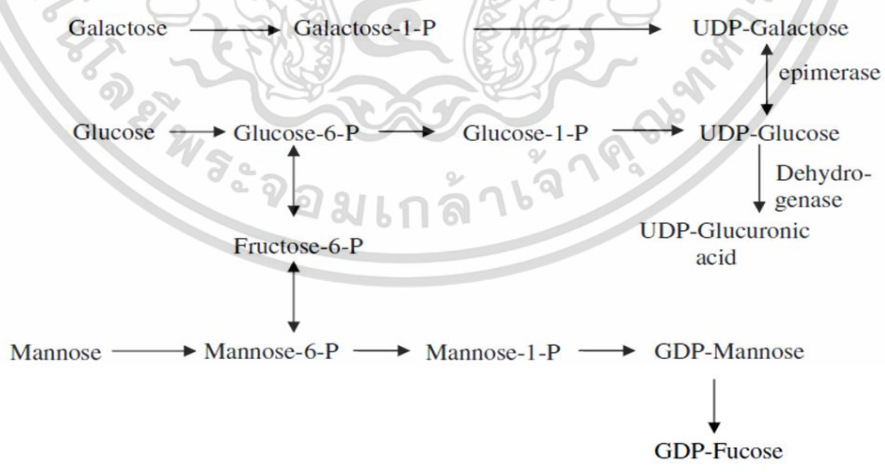
2.7.1 การสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ภายในเซลล์ (intracellular synthesis) เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์อยู่ในตำแหน่งต่างๆ ของเซลล์จุลินทรีย์ซึ่งจะแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม (Kumar *et al.* 2007) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 พบเอนไซม์ภายในเซลล์ซึ่งมีส่วนร่วมในกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ เช่น hexokinase ซึ่งจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการบวนการ phosphorylation ของกลูโคส (Glc) ทำให้กลายเป็น กลูโคส -6- ฟอสเฟต (Glc-6-P) และเอนไซม์ตัวที่สอง phosphoglucomutase จะเปลี่ยนตัว กลูโคส -6- ฟอสเฟต (Glc-6-P) ไปเป็นกลูโคส -1-ฟอสเฟต (Glc-1-P)

กลุ่มที่ 2 เอนไซม์กลุ่มที่สองเป็นเอนไซม์ภายในเซลล์ ซึ่งได้แก่ uridine diphosphate-glucose pyrophosphorylase (UDP-glucose pyrophosphorylase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยน กลูโคส-1-ฟอสเฟต (Glc-1-P) ไปเป็น uridine diphosphate glucose (UDP-Glc) ซึ่งเป็นโมเลกุลสำคัญในการสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งจะแสดงในภาพที่ 2.2

โดยบทบาทของน้ำตาลนิวคลีโอไทด์มี 2 บทบาทซึ่งได้แก่

- 1) การเปลี่ยนรูปไปเป็นน้ำตาลรูปแบบอื่น ตัวอย่างเช่น UDP-Glc → UDP-Gal กลายเป็น UDP-Gal-4-epimerase หรือ UDP-Glc → UDP-Glucuronic acid (UDPGlcA) กลายเป็น UDP-Glc dehydrogenase
- 2) เป็นแหล่งของ monosaccharide ที่เหลืออยู่ในระหว่างการสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์



ภาพที่ 2.2 ระบบ Catabolic ในการสังเคราะห์น้ำตาลนิวคลีโอไทด์

ที่มา : Kumar *et al.* (2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 3 เอนไซม์กลุ่มนี้อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ periplasmic และเรียกว่า glycosyl transferases จะถ่ายโอนน้ำตาลนิวคลีโอไซด์ UDP-Glc หรือ UDP-Gal หรือ UDP-GlcA ไปยังหน่วยทำซ้ำที่ติดอยู่กับ glycosyl carrier lipid

กลุ่มที่ 4 เอนไซม์กลุ่มนี้อยู่นอกเยื่อหุ้มเซลล์และผนังเซลล์ มีส่วนเกี่ยวข้องในการเกิดพอลิเมอร์ไรเซชันของ macromolecules จากนั้นเอกโซโพลีแซคคาไรด์จะถูกขับออกมาจากผิวเซลล์เพื่อก่อตัวเป็นเมือกห่อหุ้ม หรือแคปซูลโพลีแซคคาไรด์ที่ติดอยู่รอบ ๆ เซลล์

**2.7.2 กระบวนการสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ภายนอกเซลล์ (extracellular synthesis)** มีกลุ่มอะซิลซึ่งประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์ โดยในการสังเคราะห์ทางชีวภาพของโมเลกุลดังกล่าวเกี่ยวข้องกับกลไกการกระตุ้นในการสร้าง acetate, pyruvate, succinate, phosphate และ sulfate ซึ่งจากการศึกษาได้มีการระบุว่ากลุ่ม acetyl เพิ่มขึ้นจาก acetyl CoA ในขณะที่ phosphoenol pyruvate เป็นสารตั้งต้นของ pyruvate ซึ่งโพลีแซคคาไรด์ methylated ทั้งยูคาริโอตและโพรคาริโอตกลุ่ม methyl ได้มาจาก methionine หรือ S-adenosyl methionine โดยน้ำตาล O-methyl จะถูกนำไปใช้ใน exopolysaccharides ที่ระดับ isoprenoid lipid-linked polysaccharide (Kumar *et al.* 2007)

เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตภายนอกเซลล์ ได้แก่ dextran, alternan และ levan

1) Dextran เป็น homopolysaccharide ที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน [15–20,000 kDa] ที่ผลิตโดย *Leuconostoc mesenteroides* โดยที่ Dextranucrase กลายเป็น glucosyltransferase ซึ่งจะเปลี่ยนจากซูโครสเป็นกลูโคสไปยังจุดสิ้นสุดของห่วงโซ่โดยที่ Dextran จะเพิ่มขึ้นตามปฏิกิริยาที่ 2.1 ดังต่อไปนี้



2) Alternan ผลิตโดย *Leuconostoc mesenteroides* เกิดขึ้นจากการที่ alternanucrase ทำการสังเคราะห์ Alternan ปฏิกิริยาจะคล้ายกับ dextran ซึ่งจะแสดงปฏิกิริยาที่ 2.2 ดังต่อไปนี้



3) Levan เป็น  $\beta$ -2,6-fructan ที่ผลิตนอกเซลล์โดย *Bacillus*, *Erwinia* และ *Gluconobacter* spp. โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในน้ำตาลซูโครส ซึ่งเป็นแหล่งของคาร์บอนที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ levansucrase ซึ่งจะแสดงปฏิกิริยาที่ 2.3 ดังต่อไปนี้



เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของหน่วยย่อย โครงสร้าง และมวลโมเลกุล โดยเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในเชิงการค้ำมีคุณสมบัติที่น่าสนใจสำหรับการนำมาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ และอุตสาหกรรมต่าง ๆ ซึ่งจะแสดงในตารางที่ 2.2 ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 2.1 เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียในอุตสาหกรรมอาหารและการแพทย์

เอกโซโพลีแซคคาไรด์	องค์ประกอบหลัก	แบคทีเรียผู้ผลิต	การประยุกต์ใช้
เดกซ์แทรน	กลูโคส	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	เพิ่มปริมาณพลาสติกในเลือด และเพิ่มความคงตัวของอาหาร
แซนแทรน	กลูโคส แมนโนส กรดกลูคูโรนิก อะซีเตต ไพรูเวต	<i>Xanthomonas campestris</i>	เพิ่มความข้นและความคงตัวของยาชนิดครีม
แอลจินต	กรดแมนนูโรนิก กรดกลูคูโรนิก อะซีเตต	<i>Azotobacter vinelandii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	สารแตกตัวในยาชนิดเม็ด เพิ่มความข้นและความคงตัวของสารแขวนลอยในยา ขาลดกรดในกระเพาะอาหาร
เจลแลน	กลูโคส แรมโนส กรดกลูคูโรนิก กลีเซอรอล อะซีเตต	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	สารอิมัลชันในยาใช้ในปาก ตา จมูก และยาควนคุมการปล่อยยาสำหรับยาชนิดเม็ด
กรดไฮยาลูโรนิก/ไฮยาลูโรแนน	กรดกลูคูโรนิก N-อะซีทิล-กลูโคซามีน	<i>Streptococcus equisimilis</i> <i>S. zooepidemicus</i> ; <i>Bacillus subtilis</i>	สมานแผลที่รักษายากและเรื้อรัง รักษาโรคข้อกระดูกอักเสบและศัลยกรรมตา

ที่มา : ดัดแปลงจาก Moscovici (2015) และ Rehm (2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากการสังเคราะห์กรดไฮยาลูโรนิกต้องใช้โปรตีน HA synthase (HasA) ในขณะที่เอกโซโพลีแซคคาไรด์ส่วนใหญ่จะถูกสังเคราะห์และหลั่งออกมาโดย membrane-spanning multiprotein complexes ซึ่งจากกระบวนการสังเคราะห์เหล่านี้ทำให้แบ่งออกเป็น 2 วิธี Rehm (2010) ดังต่อไปนี้

1) กลไกการสังเคราะห์และการหลั่งขึ้นอยู่กับโปรตีนซึ่งใช้ในการสังเคราะห์ เช่น การสังเคราะห์แซนแทน โดยจะอาศัยไขมันเป็นตัวพาในการย้ายโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) ผ่านเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม

2) กลไกการสังเคราะห์ที่ไม่ขึ้นอยู่กับโปรตีน และไขมันที่เป็นตัวพาในการสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ เช่น แอลจินेट และเซลลูโลส (Moscovici. 2015)

จากกระบวนการสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ดังกล่าวข้างต้น จึงทำให้สามารถแบ่งเอกโซโพลีแซคคาไรด์ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ (Razack *et al.* 2013; Moscovici. 2015) (ตารางที่ 2.2) ได้แก่

1. โฮโมโพลีแซคคาไรด์ (Homopolysaccharides) ซึ่งประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์เพียงชนิดเดียว เช่น เดกซ์แทรน ที่ผลิตจาก *Streptococcus* spp. ที่มีองค์ประกอบหลักเป็นกลูโคส เป็นต้น

2. เฮเทอโพลีแซคคาไรด์ (Heteropolysaccharides) เป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยแซคคาไรด์หลายชนิด เช่น แอลจินेट ที่ผลิตจาก *Azotobacter vinelandii* และ *P. aeruginosa* ที่มีองค์ประกอบหลักเป็นแมนนูโรนิก กรดกลูโรนิก และอซิเตต เป็นต้น

## 2.8 สมบัติทางกายภาพและเชิงหน้าที่ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์

การประยุกต์ใช้ EPS ที่ผลิตจากแบคทีเรียที่มีความหลากหลายของโครงสร้างและองค์ประกอบจะส่งผลกับคุณสมบัติสำคัญทางชีวภาพของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งเป็นโพลีเมอร์จากธรรมชาติที่มีการใช้งานทางเทคโนโลยีชีวภาพอย่างหลากหลาย (Mohamed *et al.* 2018; Mollakhalili Meybodi and Mohammadifar) ถูกนำไปประยุกต์ใช้ในหลากหลายสาขา เช่น กาว, ลี้งทอ, อุตสาหกรรมปิโตรเลียม และเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารและยา เนื่องจากสามารถทนต่ออุณหภูมิสูงและสภาวะความเป็นกรดต่างของกระบวนการในการทำอาหาร และอาจนำ EPS ไปใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร เนื่องจากเป็นสารก่อเจล, สารลดแรงตึงผิว, อิมัลซิไฟเออร์, สารเพิ่มความหนืด, สารต้านจุลินทรีย์ และสารต้านอนุมูลอิสระ (Fang *et al.* 2013b ; Wu *et al.* 2010; Razack *et al.* 2013; Orsod *et al.* 2012)

1) แซนแทน (xanthan) แซนแทนเป็นเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากเชื้อ *Xanthomonas campestris* ซึ่งประกอบด้วยแซคคาไรด์หลายชนิด และได้รับการรับรองโดยองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (FDA) ให้เป็นวัตถุเจือปนในอาหารในชื่อ E415 (Moscovici *et al.* 2015) ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถนำมาบริโภคได้โดยนำมาใช้ในอุตสาหกรรมยา และอาหารเนื่องจากมีคุณสมบัติ เช่น มีความหนืดสูงมีความเข้มข้นต่ำ มีความสามารถในการละลายได้สูงในน้ำ(เย็นและร้อน) และเนื่องจากคุณสมบัติของแซนแทนซึ่งเป็นอิมัลชันที่มีความเสถียร จึงนำมาใช้ในการผลิตซอล และซอลมะเขือเทศ (Kumar *et al.* 2007; Li *et al.* 2014a; Mollakhalili Meybodi and Mohammadifar 2015)

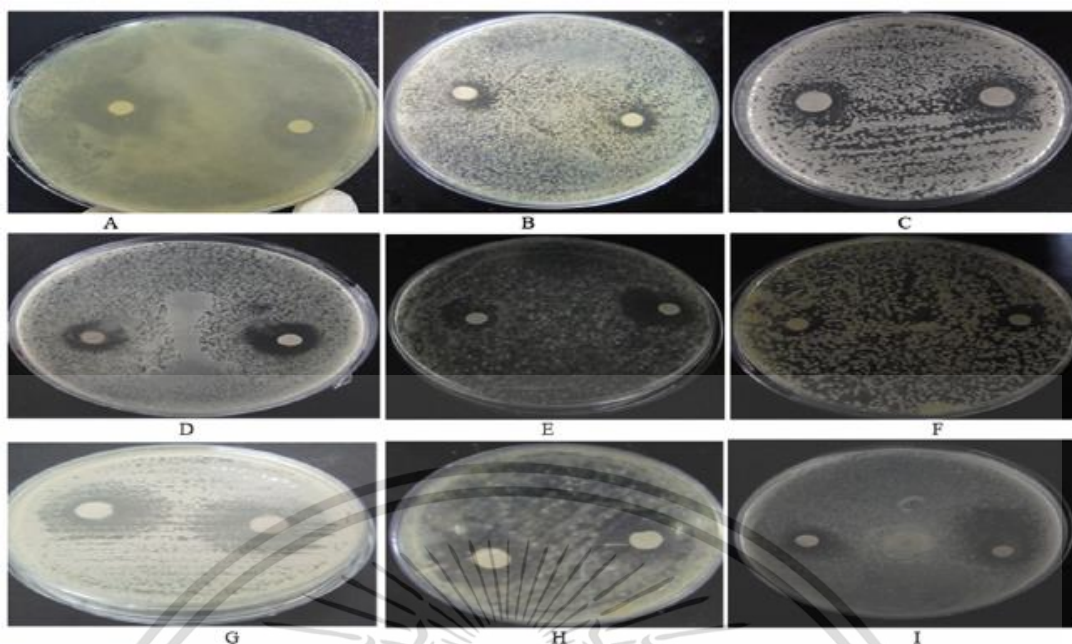
2) เจลแลน (gellan) เป็นเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตโดย *Pseudomonas elodea* ซึ่งเป็นสเปทเทอโรโพลีแซคคาไรด์ โดยมีคุณสมบัติเป็นสารก่อเจล สารเพิ่มความข้น จึงมีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น แยม เจลลี่ ไอศกรีม และโยเกิร์ต (Mollakhalili Meybodi และ Mohammadifar 2015)

3) เดกซ์แทรน (dextran) เป็นสเปทเทอโรโพลีแซคคาไรด์ ที่ผลิตจากจากแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งได้รับการรายงานว่ามีคุณสมบัติ เช่น สารเพิ่มความหนืด ก่อเจล และอิมัลซิไฟเออร์สามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง กระจายปิโตรเลียม และสิ่งทอ (Mollakhalili Meybodi และ Mohammadifar 2015; Zhang *et al.* 2013)

## 2.9 ผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ต่อการต้านจุลินทรีย์

ในการศึกษาของ Nehal *et al.* (2019) ได้รายงานว่าเชื้อ *Lactococcus lactis* F-mou สามารถผลิต EPS ซึ่งมีความสามารถในการทำลายเชื้อ *B. cereus*, *E. coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Candida albicans*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Enterobacter cloacae*, *L. monocytogenes* ซึ่งได้แสดงในภาพที่ 2.3 โดยมีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Li *et al.* (2014a) ที่รายงานว่ามี EPS ความเข้มข้น 4 mg/ml ที่ผลิตจากเชื้อ *Lactobacillus helveticus* MB2-1 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* นอกจากนี้ในการศึกษาของ Nehal *et al.* (2019) ได้กล่าวไว้ว่าประจุลบของ EPS ที่มาจากกลุ่มซัลเฟตมีปฏิกิริยาต่อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีเนื่องจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกมีประจุบวกที่สูงกว่าแบคทีเรียแกรมลบจึงส่งผลต่อการทำลายแบคทีเรียแกรมบวก และในการศึกษาของ Wu *et al.* (2010) ที่รายงานว่ามี EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Bifidobacterium longum* BCRC 14634 ที่ทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค และแบคทีเรียเน่าเสีย ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก 4 ชนิด และแบคทีเรียแกรมลบ 3 ชนิด ดังต่อไปนี้ *E. coli*, *S. Typhimurium*, *P. aeruginosa*, *V. parahaemolyticus*, *S. aureus*, *B. subtilis* and *B. cereus* โดยที่ EPS ความเข้มข้น 80 ug/ml สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 7 ชนิดได้ ซึ่งจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า EPS ส่งผลทำให้การแบ่งตัวของแบคทีเรียลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาพ 2.3 ผลของการต้านจุลินทรีย์ของ EPS ที่ความเข้มข้น 50 mg/ml (ทางขวา) ผลิตจากเชื้อ *Lactococcus lactis* F-mou ที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* (A), *Escherichia coli* (B), *Acinetobacter baumannii* (C), *Candida albicans* (D), *Proteus mirabilis* I, *Pseudomonas aeruginosa* (F), *Staphylococcus aureus* (G), *Enterobacter cloacae* (H), *Listeria monocytogenes* (I) เปรียบเทียบกับ ไนซิน (ทางซ้าย)

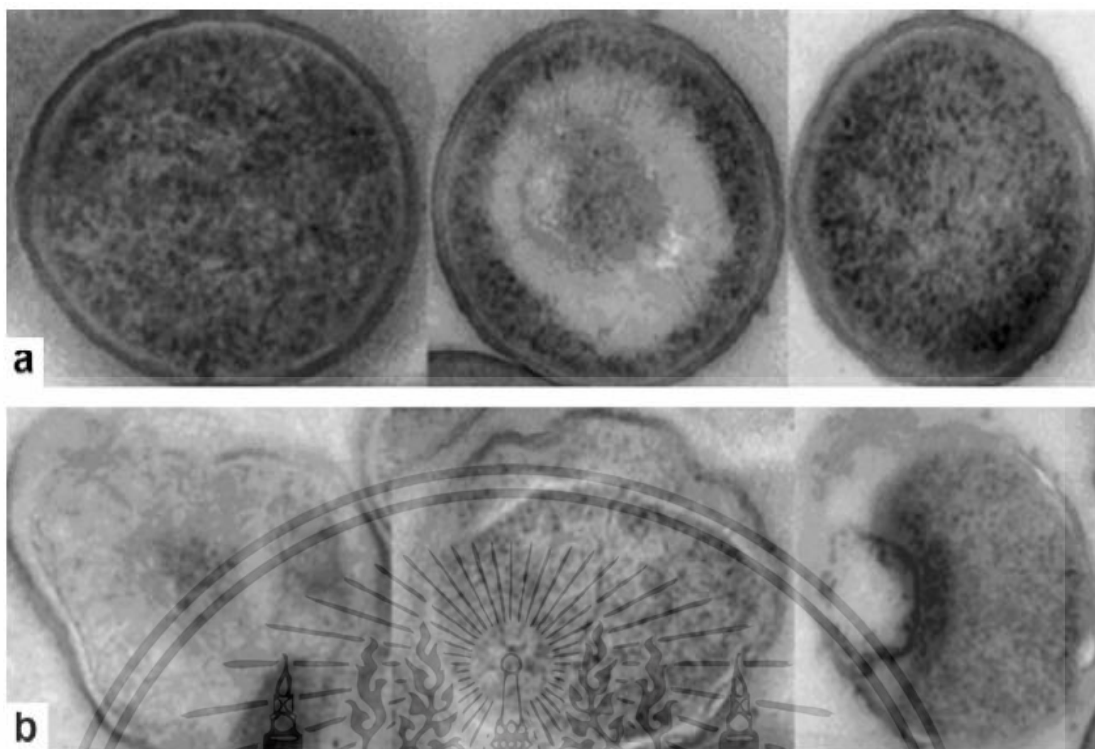
ที่มา : Nehal *et al.* (2019)

โดยทั่วไปแล้วผนังเซลล์ของแบคทีเรียแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันตามส่วนประกอบของผนังเซลล์ทำให้สามารถแบ่งแบคทีเรียออกเป็น 2 พวก โดยการย้อมแกรม คือ แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ โดยมีส่วนประกอบทางเคมี คือ เพปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) ทำให้ผนังเซลล์มีความแข็งแรง โดยผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกมีเพปทิโดไกลแคน 90 เปอร์เซ็นต์ และมีส่วนประกอบอื่นๆ เช่น กรดไดโคอิก ส่วนแบคทีเรียแกรมลบส่วนใหญ่ประกอบด้วยไขมัน พอลิแซ็กคาไรด์ โปรตีน และเพปทิโดไกลแคน 5-20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะป้องกันไม่ให้โมเลกุลที่ขอบนี้ขนาดใหญ่เข้าไปในเซลล์ได้ แต่โมเลกุลที่ขอบนี้ขนาดเล็กจะเข้าสู่แบคทีเรียแกรมลบผ่านช่องรูพรุนภายในเยื่อหุ้มชั้นนอก (Bruslind, 2020) เนื่องจาก EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* มีกิจกรรมในการต้านจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (Laurienzo, 2010) ซึ่งในการศึกษาของ Mohamed *et al.* (2018) ได้กล่าวไว้ว่ากลไกการออกฤทธิ์ของ EPS ที่มีประจุลบเกิดขึ้นโดยผ่านกิจกรรมคีเลชั่น การกีดขวางโลหะหรือสารอาหารที่จำเป็น ส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และการศึกษาของ Nehal *et al.* (2019) ได้กล่าวไว้ว่าประจุลบของ EPS ที่มาจากกลุ่มซัลเฟตที่ผลิตจาก

เชื้อ *L. lactis* F-mou สามารถทำปฏิกิริยากับแบคทีเรียแกรมบวกโดย Bruslind (2020) ได้กล่าวไว้ว่า เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้เผยแพร่เห็นแจ้งประโยชน์ทางวิชาการ ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การการกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ซึ่งอยู่ในชั้น peptidoglycan ที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรีย ทำให้เกิดรอยแยกส่งผลต่อการซึมผ่านบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของอิเล็กโทรไลต์ (electrolyte) และระดับความดันออสโมติก (osmotic change) และในการศึกษาของ Zhang *et al.* (2017) ได้กล่าวไว้ว่า polysaccharide ที่ผลิตจากเชื้อ *Cordyceps cicadae* ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของ *E. coli* เกิดความเสียหายเนื่องจากเกิดปฏิกิริยากับโปรตีน porin ที่เยื่อหุ้มชั้นนอกของเซลล์ *E. coli* จึงยับยั้งการทำงานของ porin และการศึกษาของ HE *et al.* (2010) พบว่าการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยมีสาเหตุจาก EPS โดยการเข้าไปทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์และเยื่อหุ้มไซโทพลาสซึมส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ยอมให้สารผ่าน นำไปสู่การการสลายตัวของโปรตีนและการรั่วไหลของโมเลกุลที่จำเป็น ยิ่งไปกว่านั้น DNA อาจถูกย่อยสลายหลังจากที่ EPS เข้าสู่เซลล์ส่งผลทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถซ่อมแซมตัวเองได้ และทำให้เซลล์จุลินทรีย์ตาย

นอกจากนี้ He *et al.* (2010) ได้รายงานว่ EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Streptomyces virginia* H03 ที่ได้ผ่านการทดสอบแล้วพบว่ามึฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *B. subtilis*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* และ *E. coli* โดยมีบริเวณการยับยั้งอยู่ที่ 38.5, 37.4, 36.8 และ 40.4 มม. ตามลำดับ และสามารถยับยั้งยีสต์และรา *Zygosaccharomyces bailii* และ *Candida utilis* ได้เช่นกัน โดยมีบริเวณการยับยั้งอยู่ที่ 28.5 และ 29.1 มม. ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับไนซินแล้วพบว่า EPS สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้มากกว่าโดยในการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่า EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Streptomyces virginia* H03 สามารถทำลายเชื้อ *S. aureus* ได้เนื่องจาก EPS จะไปทำลายผนังเซลล์ของเชื้อ *S. aureus* ส่งผลกระทบต่อโครงสร้าง (พื้นฐานวิทยา) ของเชื้อ *S. aureus* ซึ่งจะแสดงในภาพที่ 2.2 โดยจะเห็นว่าเมื่อเทียบกับเชื้อ *S. aureus* ที่ได้รับสารซิงค์ในความเข้มข้นเดียวกันกับ EPS เซลล์จะเกิดความผิดปกติบริเวณผนังเซลล์ ซึ่งส่งผลต่อเซลล์ทำให้ของเหลวภายในเซลล์รั่วไหลออกมา



รูปภาพ 2.4 เชื้อ *S. aureus* หลังจากได้รับสตราซ์ (a) และ EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Streptomyces virginia* H03 (b) จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ที่มา : He *et al.* (2010)

นอกจากนี้ในการศึกษาของ Mohamed *et al.* (2018) ได้รายงานว่า EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *B. altitudinis* MSH2014 ซึ่งนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์โดย EPS ที่นำมาทำการทดสอบมีความเข้มข้นอยู่ที่ 75, 100, 150 และ 200  $\mu\text{g} / \text{disk}$  ตามลำดับ โดยจะสังเกตได้ว่า EPS สามารถยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และราได้โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ EPS ทำให้บริเวณการยับยั้งแบคทีเรียเพิ่มขึ้นด้วยซึ่งมีค่าอยู่ที่ 6.3 – 24.9 มม. โดยจะแสดงในตารางที่ 2.2 และจากการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ EPS นี้ได้กล่าวไว้ว่าพอลิแซคคาไรด์ที่มีประจุลบ เช่น พอลิแซคคาไรด์ที่มีซัลเฟต จะเกิดกลไกหลายอย่างผ่านกิจกรรมคีเลชัน, การกีดกันโลหะ และกีดกันสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งมีแนวโน้มเดียวกับการศึกษาของ Orsod *et al.* (2012) ที่พบว่า EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *B. cereus* สามารถยับยั้งเชื้อ *Lysinibacillus*, *Paenibacillus* sp, *E. coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* และ EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Brachybacterium* sp. สามารถยับยั้งเชื้อ *Lysinibacillus*, *Paenibacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *E. coli* และ *Mesorhizobium* sp

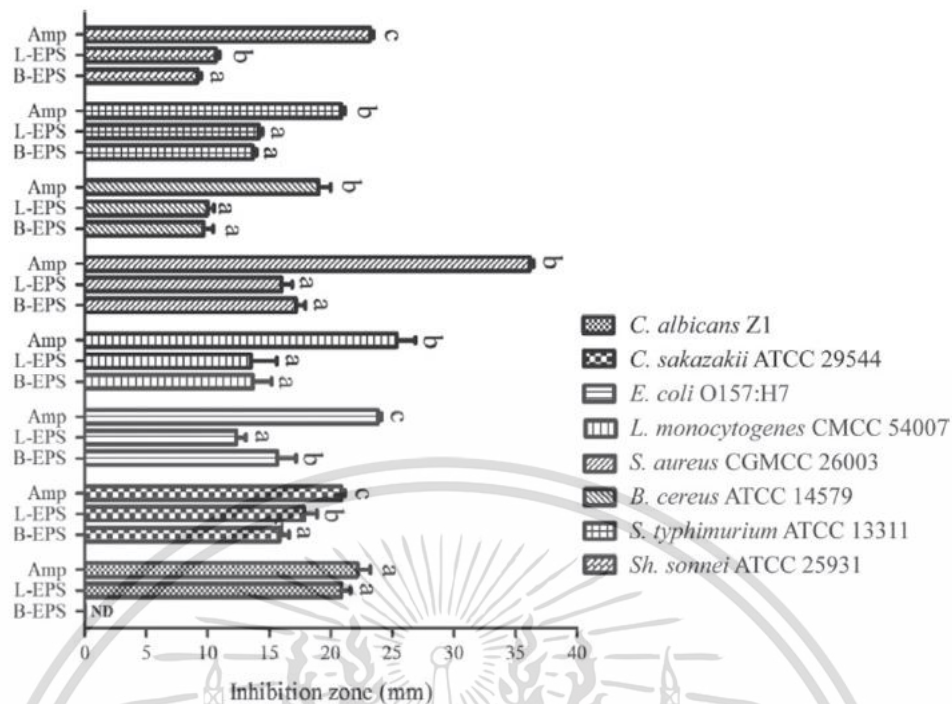
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 บริเวณการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของ EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *B. altitudinis* MSH2014

ความเข้มข้นของ	แบคทีเรียแกรมลบ		แบคทีเรียแกรมลบ		ยีสต์		รา	
EPS (mg/disk)	<i>B. subtilis</i>	<i>S. Aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	<i>F. oxysporum</i>
	บริเวณการยับยั้ง (mm)		บริเวณการยับยั้ง (mm)		บริเวณการยับยั้ง (mm)		บริเวณการยับยั้ง (mm)	
75	11.2	12.2	12.9	7.7	10.2	7.7	15.2	6.3
100	13.1	15.1	17.7	10.6	12.2	9.5	16.7	7.1
150	15.7	17.3	19.8	13.4	14.7	13.7	18.7	8.3
200	17.8	18.8	24.9	15.6	17.6	17.3	20	10.5
Rimactane	16.7	16.8	21.9	14.1	0	0	0	0
Flucoral	0	0	0	0	25.9	24.1	24.5	26.4

ที่มา : Mohamed *et al.* (2018)

จากการศึกษาของ Li *et al.* (2014b) โดยศึกษากิจกรรมการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของ EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* WBIN03 (B-EPS) และ *Lactobacillus plantarum* R315 (L-EPS) แสดงให้เห็นว่า EPS ที่ได้จากจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดมีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ ได้แก่ *Cronobacter sakazakii*, *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Candida albicans*, *B. cereus*, *Salmonella* Typhimurium และ *Shigella sonnei* ที่ระดับความเข้มข้น 300  $\mu\text{g/ml}$  จากการทดลองนี้ทำให้ทราบว่า EPS ทั้งสองชนิดคือ B-EPS และ L-EPS มีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus* และ *Salmonella* Typhimurium ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน และในการยับยั้งจุลินทรีย์ *Cronobacter sakazakii* และ *Shigella sonnei* บริเวณการยับยั้งของ L-EPS มีค่าเท่ากับ  $17.83 \pm 1.04$  และ  $10.67 \pm 0.29$  มม. ตามลำดับซึ่งสูงกว่า B-EPS แต่ในทางตรงกันข้ามบริเวณการยับยั้งของ B-EPS ในการต้านจุลินทรีย์ *E. coli* O157: H7 มีค่าเท่ากับ  $15.67 \pm 1.53$  มม. และ L-EPS มีค่าเท่ากับ  $12.00 \pm 1.32$  มม. ในการต้านเชื้อ *E. coli* O157: H7 ของ B-EPS มีค่ามากกว่า L-EPS ส่วนบริเวณการยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* Z1 ของ L-EPS มีค่าเท่ากับ  $20.83 \pm 0.76$  มม. ซึ่งจะแสดงในภาพที่ 2.5 ดังต่อไปนี้



รูปภาพ 2.5 กิจกรรมต้านเชื้อจุลินทรีย์ของ EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* WBIN03 (B-EPS) (300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) และ *Lactobacillus plantarum* R315 (L-EPS) (300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับ Ampicillin (100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )  
ที่มา : Li *et al.* (2014b)

## 2.10 ผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ต่อการต้านออกซิเดชัน

จากงานวิจัยของ Zhang *et al.* (2013) แสดงให้เห็นว่า EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Lactobacillus plantarum* C88 มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งเกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระ และลดการเกิดออกซิเดชันของไขมัน โดยในการศึกษาของ Mohamed *et al.* (2018) ได้มีการรายงานว่ EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *B. altitudinis* มีลักษณะเป็นเฮเทอโรโพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยกรดแมนนูโรนิก, กลูโคส และซัลเฟต จากการทดสอบพบว่า EPS ที่ระดับความเข้มข้น 150 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) สามารถแสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันโดยวิธีการ DPPH ได้และจากการศึกษาของ Zheng *et al.* (2016) ได้รายงานว่ EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Bacillus cereus* SZ-1 มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน โดยได้ทำการศึกษาผลของ EPS ที่มีผลต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยการทดสอบจะใช้วิธีการ DPPH, Superoxide radical และ Hydroxyl radical โดย EPS ที่ระดับความเข้มข้นที่ 3, 2.6 และ 3.1 mg/mL ตามลำดับ พบว่ามีกิจกรรมในการต้านออกซิเดชัน นอกจากนี้การศึกษาของ Fang *et al.* (2013) ได้ทำการศึกษาเชื้อ *Bacillus licheniformis* UD061 และ *Bacillus licheniformis* เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OSTK95 ซึ่งเป็นตัวอย่างจากโคลนทะเลที่ปนเปื้อนน้ำในประเทศจีนเมืองเหลียนยูนกั๋ง ซึ่งสามารถผลิต EPS ได้นำมาทดสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของ EPS ได้แก่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (reducing power), ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล ซึ่งจะแสดงในตารางที่ 2.3 ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 2.3 กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองของ EPS ของสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน

สายพันธุ์	Reducing power (A700)	Superoxide anion scavenging (%)	Hydroxylradical scavenging (%)
OSTK95 <sup>W</sup>	0.31 ± 0.02	43.89 ± 3.65	50.91 ± 4.33
OSTK95 <sup>S</sup>	0.33 ± 0.03	41.52 ± 3.12	52.09 ± 3.56
UD061 <sup>W</sup>	0.32 ± 0.05	42.09 ± 3.18	51.95 ± 4.56
UD061 <sup>S</sup>	0.30 ± 0.02	42.11 ± 3.02	50.95 ± 3.06

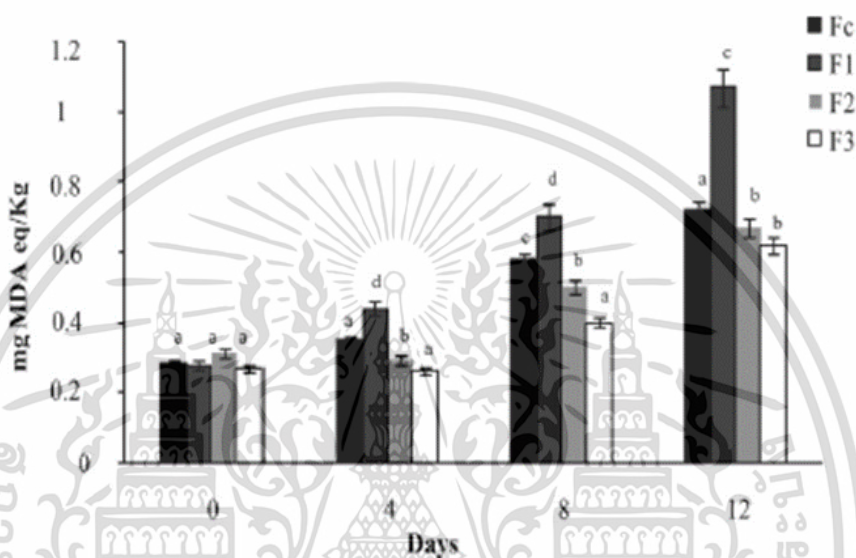
ที่มา : Fang *et al.* (2013)

## 2.11 การประยุกต์ใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์จากแบคทีเรียต่อผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

โดยการประยุกต์ใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์จากแบคทีเรียที่ผลิต EPS โดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกถือว่าเป็นปลอดภัยเนื่องจากได้ผ่านการรับรองความปลอดภัย (Generally Recognized as Safe, GRAS) ดังนั้นจึงมีการนำ EPS ที่ผลิตจากแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกมาใช้ประโยชน์ด้วยสมบัติต่าง ๆ เช่น เป็นสารให้ความหนืด สารทำให้คงตัว สารก่อเจลหรือเป็นอิมัลซิไฟเออร์ สารต้านอนุมูลอิสระ และสารต้านจุลินทรีย์ จึงมีการนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร (Li *et al.* 2014a; Trabelsi *et al.* 2018) และ Trabelsi *et al.* (2018) ได้ทำการศึกษาการออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งเป็นหนึ่งในปัจจัยหลักของการเสื่อมสภาพในผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์โดยส่วนใหญ่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิตและระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ด้วยเหตุนี้จึงได้ทำการศึกษา EPS-Ca<sub>6</sub> ที่ผลิตจากเชื้อ *Lactobacillus* sp. Ca<sub>6</sub> โดยได้ทำการเสริม EPS-Ca<sub>6</sub> ลงในไส้กรอกเนื้อโคปรุงสุก โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มทดลองดังนี้ กลุ่มควบคุมไส้กรอกที่มีวิตามินซี (F<sub>0</sub>), ไส้กรอกที่ไม่มีวิตามินซีหรือไม่มี EPS-Ca<sub>6</sub> (F<sub>1</sub>), ไส้กรอกที่มีวิตามินซีและมี EPS-Ca<sub>6</sub> ที่ความเข้มข้น 0.0625% (F<sub>2</sub>) และไส้กรอกที่มี EPS-Ca<sub>6</sub> ที่ความเข้มข้น 0.125% (F<sub>3</sub>) ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน และทำการวิเคราะห์โดยวิธีการ TBARS พบว่าหลังจากการเก็บรักษา 4 วันไส้กรอกที่มี EPS-Ca<sub>6</sub> ความเข้มข้น 0.0625% (F<sub>2</sub>) และ 0.125% (F<sub>3</sub>) มีค่า TBARS เท่ากับ 0.29 และ 0.26 mg MDA eq / Kg ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ EPS-Ca<sub>6</sub> จะมีฤทธิ์ในการชะลอการเกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกซิเดชันของไขมันในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ และหลังจากผ่านไป 12 วัน ไข่กรอกเนื้อโคปรุงสุกที่มี EPS-Ca<sub>6</sub> ความเข้มข้น 0.0625% และ 0.125% มีค่า TBARS อยู่ที่ 0.67 และ 0.62 mg. MDA eq/Kg ตามลำดับ จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า EPS-Ca<sub>6</sub> มีความสามารถในการลดการเกิดออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์นี้ได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับตัวควบคุมที่มีและไม่มีวิตามินซี ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา



รูปภาพ 2.6 ผลของการใส่ EPS-Ca<sub>6</sub> ต่อปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการทดลอง TBARS ในไข่กรอกเนื้อโคในช่วง 12 วันของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ที่มา : Trabelsi *et al.* (2018)

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 วัตถุดิบ-สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

##### 3.1.1 สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ

- |   |                            |
|---|----------------------------|
| 1) Acetic acid  | (Merck, Germany)           |
| 2) Agar power   | (Merck, Germany)           |
| 3) Alcohol  | (Merck, Germany)           |
| 4) Barium chloride ( $BaCl_2$ )                             | (Ajax finechem, Australia) |
| 5) Baird-Parker agar (BP-agar)                              | (Merck, Germany)           |
| 6) Buffer peptone water                                     | (Merck, Germany)           |
| 7) Calcium carbonate  | (Ajax finechem, Australia) |
| 8) Deionized water  | (Labvalley, Thailand)      |
| 9) D(+)-Glucose   | (Merck, Germany)           |
| 10) Dipotassium hydrogen phosphate ( $K_2HPO_4$ )           | (Ajax finechem, Australia) |
| 11) DPPH  | (Merck, Germany)           |
| 12) Folin reagent   | (Merck, Germany)           |
| 13) Hektoen Enteric Agar                                    | (Merck, Germany)           |
| 14) Hydrochloric acid                                       | (J.T.Baker, America)       |
| 15) Kovac's Indole reagent                                  | (Merck, Germany)           |
| 16) L-ascorbic acid   | (Sigma, Germany)           |
| 17) Listeria selective Agar                                 | (Merck, Germany)           |
| 18) Magnesium sulfate ( $MgSO_4$ )                          | (Merck, Germany)           |
| 19) Methyl red-VogesProskauer (MR-VP) broth                 | (Merck, Germany)           |
| 20) MRS agar  | (Merck, Germany)           |
| 21) Mueller hinton agar (MHA)                               | (Merck, Germany)           |
| 22) Muller-Kauffmann Tetrathionate-Novobiocin broth (MKTTn) | (Merck, Germany)           |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

23) Nitrient broth	(Merck, Germany)
24) Nicotinamide adenine dinucleotide (NADH)	(Merck, Germany)
25) Nitroblue Tetrazolium (NBT)	(Merck, Germany)
26) Novobiocin broth	(Merck, Germany)
27) Plate Count Agar (PCA)	(Merck, Germany)
28) Phenazine methosulfate (PMS)	(Merck, Germany)
29) Potassium dihydrogen phosphate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	(Merck, Germany)
30) Potato Dextrose Agar (PDA)	(Merck, Germany)
31) Simmon's citrate agar	(Merck, Germany)
32) Sodium acetate	(Merck, Germany)
33) Sodium chloride (NaCl) 0.85 %	(Merck, Germany)
34) Sodium chloride	(Merck, Germany)
35) Sodium citrate	(Merck, Germany)
36) Sodium Tripolyphosphate (STPP)	(Chemipan, Thailand)
37) Sulfuric acid ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )	(Merck, Germany)
38) Tartarlic acid	(Merck, Germany)
39) $\alpha$ -Tocopherol	(Merck, Germany)
40) 2 - Thiobarbituric acid (TBARS)	(Sigma, Germany)
41) 1,1,3,3 - Tetraethoxypropane	(Sigma, Germany)
42) Triobarbituric acid (TBA)	(Merck, Germany)
43) Tryptophan broth	(Merck, Germany)
44) Yeast extract	(Merck, Germany)

### 3.1.2 วัสดุ – อุปกรณ์ และเครื่องมือ

- 1) เครื่องบดเนื้อ (Biro medel 346-3, USA)
- 2) เครื่องวัดค่า กรด-ด่าง (Mettler Toledo medel SG-2, Switzerland)
- 3) เครื่องชั่งชนิดละเอียด (Sartorius, Basic, Germany)
- 4) เครื่องชั่งชนิดหยาบ (Tanita model 1144, Tanita Corporation, Japan)
- 5) อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath, Memmert, Germany)
- 6) เครื่อง Homogenizer (Ultra tarrax, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 7) ไมโครปิเปต (Finnpipette F3, USA)
- 8) เครื่องหมุนเวียง (Beckman Coulter model Avanti J-E, USA)
- 9) ตู้อบลมร้อน (Binder, Model FD 115, Germany)
- 10) ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Laminar Flow (Dwyer model merk II, USA)
- 11) ตู้บ่มเพาะเชื้อจุลินทรีย์ (WTB Binder model BD, Germany)
- 12) ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot-air oven, Memmert model CM500, Germany)
- 13) หม้อนึ่งความดันสำหรับฆ่าเชื้อ (Hirayama model HVE 50, Japan)
- 14) เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง (Vortex Mixer KMC-1300V, Korea)
- 15) เครื่องตีปั่นไฟฟ้า (Stomacher Bag Mixer 400 model VW, France)
- 16) ไมโครเวฟ (Toshiba model ER-G8C, Thailand)
- 17) เครื่องวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Warner-Bratzler, Instron Model 1011)
- 18) เครื่องวัดค่าสีของเนื้อ (Hunterlab Mini Scan EZ)
- 19) เครื่องบ่มเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Mini Shaking Incubator Bench Top, Germany)
- 20) เครื่อง Centrifuge (Beckman Coulter model Avanti J-E, USA)
- 21) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Shimadzu model UV – 1601, Japan)
- 22) อ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิ
- 23) อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ
- 24) บีกเกอร์ขนาด 250, 500, 1000 มิลลิลิตร
- 25) กระบอกตวง
- 26) หลอดทดลองขนาดเล็กและเครื่องแก้วชนิดและขนาดต่างๆ
- 27) Centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร
- 28) Disposable cuvette
- 29) นาฬิกาจับเวลา
- 30) ซ้อนตักตัวอย่าง
- 31) plexiglass plates
- 32) มีด
- 33) เขียง
- 34) ซ้อนตักตัวอย่าง
- 35) เทอร์โมมิเตอร์
- 36) ถุงสุญญากาศชนิด K-Nylon/LLDPE
- 37) งานอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2 ขอบเขตการทดลองในครั้งนี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

วัตถุประสงค์	แนวทางการดำเนินการวิจัย
<p><b>การทดลองที่ 1</b></p> <p>การศึกษาอิทธิพลของการต้านจุลินทรีย์ของ เอกโซโพลีแซคคาไรด์ ที่ผลิตจาก เชื้อ <i>B. subtilis</i> LB23 ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส</p>	<p>1.1 การผลิตและสกัดเอกโซโพลีแซคคาไรด์ จากเชื้อ <i>B. subtilis</i> LB23</p> <p>1.2 ศึกษาการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ที่ผลิตจาก เชื้อ <i>B. subtilis</i> LB23 ที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส</p> <p>จัดกลุ่มการทดลองแบบ 4x4 factorial in CRD โดยทำการศึกษา 2 ปัจจัย คือ กลุ่มทดลอง และระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ซึ่งแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มทดลองดังนี้</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- T1 : ควบคุม (หมูปดปรุงรสสูตรปกติ)</li> <li>- T2 : กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5%</li> <li>- T3 : กลุ่มเติม EPS ความเข้มข้น 0.18%</li> <li>- T4 : กลุ่มเติม EPS ความเข้มข้น 0.25%</li> </ul> <p>ทำการบรรจุแบบมีอากาศ และบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและเก็บรักษาเป็นเวลา 6 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างที่ระยะเวลา (0, 2, 4 และ 6 วัน)</p> <p>โดยแบ่งออกเป็น 2 การทดลองย่อย</p> <p>1.2.1 การทดลองย่อยที่ 1.1 ทดสอบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคและแบคทีเรียผลิตภัณฑ์กรดแลคติกของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส โดยนำหมูปดปรุงรสในข้อที่ 1.2 ทุกกลุ่มการทดลองเติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์จำนวน <math>1 \times 10^3</math> cfu/กรัม ก่อนการบรรจุซึ่งได้แก่เชื้อ <i>S. aureus</i>, <i>S. Typhimurium</i>, <i>L. monocytogenes</i>, <i>L. plantarum</i> และ <i>L. lactis</i> ซึ่งได้ ตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ดังนี้</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Salmonella</i> spp.</li> <li>- <i>S. aureus</i></li> </ul>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์	แนวทางการดำเนินการวิจัย
	<p>- <i>L. monocytogenes</i></p> <p>- Lactic acid bacteria</p> <p>1.2.2 การทดลองย่อยที่ 1.2 ศึกษากิจกรรมของ เอกโซโพลีแซคคาไรด์ ที่มีผลต่อคุณภาพจุลินทรีย์และเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส โดยนำหมูปดปรุงรสในข้อที่ 1.2 ทุกกลุ่มการทดลองที่ไม่มีการเติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ โดยทำการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์และด้านเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส โดยการตรวจวิเคราะห์ดังต่อไปนี้</p> <p>1.2.2.1 ตรวจคุณภาพทางจุลินทรีย์</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mesophilic aerobic bacteria</li> <li>- Mesophilic anaerobic aerobic bacteria</li> <li>- Psychrophilic aerobic bacteria</li> <li>- Lactic acid bacteria</li> <li>- Aerobic bacterial spore</li> <li>- Anaerobic bacterial spore</li> <li>- ยีสต์ และรา</li> </ul> <p>1.2.2.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีกายภาพ</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)</li> <li>- ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (Purge loss)</li> <li>- ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก (Cooking loss)</li> <li>- ค่าสี (CIE, L*, a*, b*, chroma และ Hue angle)</li> <li>- ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม (TPA)</li> </ul>
<p><b>การทดลองที่ 2</b></p> <p>ผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งผลิตจากเชื้อ <i>B. subtilis</i> LB23 ที่มีผลต่ออายุ</p>	<p>2.1 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรส</p> <p>จัดกลุ่มการทดลองแบบ 7x9 factorial in CRD โดยทำการศึกษา 2 ปัจจัย คือ กลุ่มการทดลอง และ</p>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์อื่นใดได้

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์	แนวทางการดำเนินการวิจัย
<p>การเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส</p>	<p>ระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยแบ่งออกเป็น 7 กลุ่มทดลองดังนี้</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- T1 : กลุ่มควบคุม (หมูปดปรุงรสสูตรปกติ)</li> <li>- T2 : กลุ่มเติม โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 1.5%</li> <li>- T3 : กลุ่มเติม กรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 0.1%</li> <li>- T4 : โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% และ กรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 0.1%</li> <li>- T5 : กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.25%</li> <li>- T6 : กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31%</li> <li>- T7 : กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.37%</li> </ul> <p>ทำการบรรจุแบบมีอากาศ และบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาเป็นเวลา 16 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างที่ระยะเวลา (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 และ 16 วัน) นำมาตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์และด้านเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส</p> <p>2.1.1 การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ ดังนี้</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mesophilic aerobic bacteria</li> <li>- Mesophilic anaerobic bacteria</li> <li>- Psychrophilic aerobic bacteria</li> <li>- Aerobic bacterial spore</li> <li>- Anaerobic bacterial spore</li> <li>- ยีสต์และรา</li> <li>- <i>Salmonella</i> spp.</li> <li>- <i>S. aureus</i></li> <li>- <i>L. monocytogenes</i></li> <li>- Lactic acid bacteria</li> <li>- Coliforms และ <i>E. coli</i></li> </ul> <p>2.1.2 การวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ ดังนี้</p>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรณีใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านอื่น

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์	แนวทางการดำเนินการวิจัย
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)</li> <li>- การออกซิเดชันของไขมัน (TBARS)</li> <li>- ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา</li> <li style="padding-left: 20px;">(Purge loss)</li> <li>- ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก</li> <li style="padding-left: 20px;">(Cooking loss)</li> <li>- ค่าสี (CIE, L*, a*, b*, chroma และ Hue angle)</li> <li>- ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม (TPA)</li> </ul>

### 3.3 วิธีการทดลอง

### 3.4 การทดลองที่ 1 การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ที่ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* LB23 ในผลิตภัณฑ์หมูปูดปรุงรส

#### 3.4.1 การผลิตและสกัดเอกโซโพลีแซคคาไรด์ (Crude exopolysaccharide) จากเชื้อ *B. subtilis* LB23

เชื้อ *B. subtilis* LB23 แยกได้จากดิน และวิเคราะห์ยืนยันสายพันธุ์แบคทีเรียด้วยวิธีตรวจ 16s rRNA (Ki *et al.*, 2009) ผ่านการทดสอบกิจกรรมการต้านแบคทีเรียที่เรียกชื่อโรคเบื้องต้นในหลอดทดลอง จากนั้นทำการผลิตและหาปริมาณ EPS ด้วยวิธีการดัดแปลงจากวิธีการของ Fang *et al.* (2013) โดยเพาะเลี้ยงบนอาหาร Mueller Hinton agar (MHA, Merck) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (กลูโคส 10 กรัม, ทริปโทน 5 กรัม, สารสกัดจากยีสต์ 5 กรัม, โซเดียมคลอไรด์ 3 กรัม, ไดโพลเทสซีมฟอสเฟต 3 กรัม, โพลเทสซีม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 กรัม, แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต 0.5 กรัม และแคลเซียมคาร์บอเนต 0.5 กรัม) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มบนเครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน และนำมาสกัดโดยการหมุนเหวี่ยง 10,000 x g แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 นาที และนำไปหมุนเหวี่ยงอีกครั้ง นำส่วนใสที่ได้มาทดสอบ Phenol sulfuric method ดัดแปลงจากวิธีการของ Dubois *et al.* (1956) เพื่อหาปริมาณเอกโซโพลีแซคคาไรด์ โดยเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายฟีนอล ความเข้มข้นร้อยละ 5 ในน้ำ 1 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองจากนั้นจึงเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองหลังจากนั้นปล่อยให้ทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร จากการทดสอบการต้านจุลินทรีย์เบื้องต้นด้วยการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *Salmonella spp.*, *L. monocytogenes*, *L. plantarum* และ *L. lactis* ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ (ไม่แสดงข้อมูล) พบว่ามีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่จะยับยั้งแบคทีเรียเหล่านี้ได้ ที่ความเข้มข้น 0.0625% (ผุสดี ตังวัชรินทร์, ยังไม่มีการเผยแพร่ข้อมูล) เป็นปริมาณสารละลายทั้งหมดหรือ Crude exopolysaccharide จากนั้นนำมาหาค่าปริมาณเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่มีอยู่ในสารละลาย Crude exopolysaccharide ทั้งหมด โดยนำมาคูณกับค่าที่ได้จากการหาปริมาณเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 14,070 ml/l หรือ 14.07 g/l จะได้ค่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่อยู่ในสารละลาย เท่ากับ  $0.0625 \times 14,070$  เท่ากับ 879.378 mg/l หรือ 0.88 g/

### 3.4.2 ศึกษาการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ที่ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* LB23 ที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรส

จัดกลุ่มการทดลองแบบ 4x4 factorial in CRD โดยทำการศึกษา 2 ปัจจัย คือ กลุ่มการทดลอง และระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ซึ่งได้ทำการบรรจุแบบมีอากาศ และบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาเป็นเวลา 6 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างที่ระยะเวลา (0, 2, 4 และ 6 วัน) ในการผลิตเนื้อหมูปปรุงรสตัดแปลงจากวิธีการของ จุฑารัตน์ และคณะ (2556) โดยใช้เนื้อหมูส่วนสะโพกร้อยละ 80 นำมาบดด้วยเครื่องบดที่มีรูตะแกรงเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.7 เซนติเมตร โดยนำเนื้อหมูป, เกลือแกงร้อยละ 1, (Sodium Tripolyphosphate, STPP) ร้อยละ 0.375 และน้ำแข็งร้อยละ 20 ใส่ลงในเครื่องผสม (KitchenAid, Professional 600, St. Joseph, MI, USA) เป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นใส่ส่วนผสมที่เหลือแล้วทำการผสมอีก 3 นาที แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มการทดลองคือ หมูปปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), EPS ความเข้มข้นร้อยละ 0.18 (T3) และ 0.25 (T4) ส่วนผสมที่ได้ของแต่ละกลุ่มจะถูกนำไปใส่ลงในแม่พิมพ์ทรงกลมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร และมีความสูง 1.5 เซนติเมตร บรรจุลงในบรรจุภัณฑ์เพื่อทำการวิเคราะห์ค่าคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยาและเคมีกายภาพ โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มทดลองดังนี้ และจะแสดงส่วนผสมในการทำผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรสดังตารางที่ 3.1 ดังต่อไปนี้

T1 กลุ่มควบคุม (หมูปปรุงรสสูตรปกติ)

T2 กลุ่ม โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5%

T3 กลุ่ม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18%

T4 กลุ่ม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 : ส่วนผสมผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสแต่ละกลุ่มทดลอง

ส่วนผสม	T1	T2	T3	T4
ส่วนผสมหลัก	(%)	(%)	(%)	(%)
เนื้อหมู	80	80	80	80
น้ำแข็ง	20	20	20	20
รวม	100%	100%	100%	100%
% ของส่วนผสมอื่นๆ				
เกลือแกง	1	1	1	1
STPP	0.375	0.375	0.375	0.375
น้ำตาล	1.89	1.89	1.89	1.89
ผงชูรส	0.25	0.25	0.25	0.25
พริกไทย	0.47	0.47	0.47	0.47
กระเทียม	0.47	0.47	0.47	0.47
โซเดียมซิเตรท	-	1.5	-	-
EPS LB23	-	-	0.18	0.25

โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลองย่อย

**การทดลองย่อยที่ 1.1 ทดสอบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคและแลคติกของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส** โดยนำหมูปดปรุงรสในตารางที่ 3.1 ทุกกลุ่มการทดลองเติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์จำนวน  $1 \times 10^3$  cfu/กรัม ก่อนการบรรจุซึ่งได้แก่เชื้อ *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes* และ Lactic acid bacteria ซึ่งได้ทำตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ดังนี้

(1) การเตรียมแบคทีเรียก่อโรค *S. aureus* DMST 4745, *S. Typhimurium* DMST 22842, *L. monocytogenes* DMST11256 จากกรมวิทยาศาสตร์ (กระทรวงสาธารณสุข) เพาะเลี้ยงในอาหาร MHA และ *L. plantarum* KL103 และ *L. lactis* KLL101 เพาะเลี้ยงในอาหาร MRS agar (Merck) (Tangwacharin *et al.*, 2019) เตรียมสารละลายเชื้อโดยนำเชื้อ 2-3 โคโลนี ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ่ายลงในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ (Sigma-Aldrich) ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 10 มิลลิลิตร และปรับความเข้มข้นให้มีความเข้มข้น  $1 \times 10^8$  cfu/มิลลิลิตร โดยเทียบกับมาตรฐาน McFarland 0.5 เจือจางให้มีความเข้มข้น  $1 \times 10^5$  cfu/มิลลิลิตร จากนั้นเติมลงในผลิตภัณฑ์ให้ในผลิตภัณฑ์มีเชื้อก่อโรคความเข้มข้น  $1 \times 10^3$  cfu/มิลลิลิตร

(2) ทำการวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *S. aureus* ตามวิธีการของ BAM (2001b) โดยชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์จำนวน 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในสารละลายเกลือเอกซาร์เป็นเยื่อกรองในถุงกรองโรเซิงในเพื่อกรองเศษเนื้อหมู เมื่อกรองเสร็จให้นำเยื่อกรองไปใส่ในไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85% ปริมาตร 225 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างไปตีปั่นด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 จากนั้นเจือจางตัวอย่างให้ได้ระดับความเจือจางที่  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  ตามความเหมาะสม ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Baird Parker agar ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตและนับจำนวนโคโลนีที่มีสีดําขอบใส ทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีที่ระดับความเจือจางที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 – 300 โคโลนี แล้วคำนวณจำนวนจุลินทรีย์เป็นหน่วย log CFU/กรัม และสุ่มมาทดสอบการสร้างเอนไซม์ Coagulase test โดยปิเปต Rabbit plasma 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนสไลด์ที่ทำความสะอาดแล้ว ถ่ายเชื้อลงบนสไลด์และ Smear สังเกตการณ์เกิดเส้นใยบนสไลด์

- การย้อมสีแกรม นำโคโลนีแต่ละโคโลนีที่เลือกไว้มาย้อมแกรมโดยวิธี Gram stain ตามวิธีการของ BAM (2001b) ลักษณะเซลล์ของ *S. aureus* ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างเป็นทรงกลมอยู่รวมกันเป็นพวงคล้ายพวงองุ่น ไม่สร้างสปอร์

(3) การตรวจสอบ *Salmonella* spp. คัดแปลงตามวิธีการของ ISO-6579 (2002) โดยนำสารละลายตัวอย่างที่ระดับการเจือจางต่างๆในข้อ (3.4.2.1 ข้อที่ 1.2) ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร HE agar ที่เติมยาปฏิชีวนะโนโวไมโอซิน ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ เมื่อถ่ายเชื้อลงอาหาร HE agar เสร็จให้นำไปบ่ม 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง สังเกตและนับโคโลนีสีน้ำตาลเงินเขียวและตรงกลางมีสีดำ กลม นูน ผิวเรียบเป็นมัน อาจพบหรือไม่พบจุดตรงกลาง ทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีที่ระดับความเจือจางที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 – 300 โคโลนี แล้วคำนวณจำนวนจุลินทรีย์เป็นหน่วย log CFU/g แล้วนำโคโลนีมาทดสอบทางปฏิกิริยาเคมี โดยทดสอบการใช้น้ำตาลในอาหาร TSI (Triple Sugar Iron Agar) โดยใช้เข็มถ่ายเชื้อลงในอาหาร TSI นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หากเชื้อจุลินทรีย์สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้จะทำให้เกิดความเป็นกรดขึ้นที่ส่วนของผิวหน้า โดยอาหารจะเป็นสีแดง แต่ถ้าหากเชื้อแบคทีเรียนั้นสามารถใช้น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแล็กโทสและหรือน้ำตาลซูโครสในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำจะทำให้ส่วนก้นหลอดอาหารเป็นสีเหลืองจากกรดที่แบคทีเรียสร้างขึ้น และหากอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นมีรอยแตกอันเนื่องมาจากแก๊สที่เชื้อจุลินทรีย์ สร้างขึ้นจะรายงานผลบวกคือมีแก๊สในหลอด และหากเป็นแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Hydrogen sulfide) จะพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นเกิดสีดำอยู่ที่ส่วนก้นหลอดอาหาร และวิธีการทดสอบการเกิด Decarboxylation ของ lysine ในอาหาร LIA (Lysine Iron Agar) ใช้เข็มถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LIA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงดําเพราะ เชื้อ typical colony ของ *Salmonella* spp. จะสร้างเอนไซม์ lysine decarboxylation ได้ จึงทำให้เกิดการสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- การย้อมสีแกรมโดยวิธี Gram stain ตามวิธีการของ BAM (2001a) ลักษณะเซลล์ของ *Salmonella* spp. ย้อมติดสีแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) ไม่สร้างสปอร์

(4) การตรวจสอบ *L. monocytogenes* ตามวิธี ISO11290-1 ดัดแปลงจาก Coombs et al. (2017) และ BAM (2017) โดยนำสารละลายตัวอย่างที่ระดับการเจือจางต่างๆ ในข้อ (3.4.2.1 ข้อที่ 1.2) ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Modified listeria selective agar นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีดำโดยอาศัยการตรวจยับยั้งการย่อย Esculin ลักษณะโคโลนีคือ กลม สีขาวขุ่น และเห็นสีดำเป็นโซนรอบ ๆ โคโลนี ทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีที่ระดับความเจือจางที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 – 300 โคโลนี แล้วคำนวณจำนวนจุลินทรีย์เป็นหน่วย log CFU/กรัม จากนั้นทดสอบการเกิด Decarboxylation ของ lysine ในอาหาร LIA (Lysine Iron Agar) ใช้เข็มถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LIA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

- การย้อมสีแกรมโดยวิธี Gram stain ตามวิธีการของ BAM (2001a) ลักษณะเซลล์ของ *L. monocytogenes* ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างลักษณะเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ สร้างแคปซูล

(5) Lactic acid bacteria ดัดแปลงวิธีการจาก AOAC (2006) โดยนำสารละลายตัวอย่างที่ระดับการเจือจางต่างๆ ในข้อ (3.4.2.1 ข้อที่ 1.2) ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร De Man Rogosa and Sharpe (MRS agar) ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ และคูณสารละลายที่ความเข้มข้น 1:10 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อจากนั้นเทอาหาร De Man Rogosa and Sharpe (MRS agar) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ แล้วทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียจากจานเลี้ยงเชื้อที่ระดับความเจือจางที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี แล้วคำนวณจำนวนจุลินทรีย์เป็นหน่วย log CFU/g และนำไปทดสอบ catalase test

- การทดสอบหาเอนไซม์คาตาเลส (Catalase) โดยการถ่ายเชื้อจากอาหาร Modified Listeria supplement agar ลงบนกระຈก จากนั้นหยดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ลงบนกระຈก สังเกตการณ์เกิดฟอง หากเกิดฟองแสดงว่าแบคทีเรียมีเอนไซม์คาตาเลส สามารถเปลี่ยนอนุพันธ์ที่เป็นพิษของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นน้ำและออกซิเจนได้

- การย้อมสีแกรมและย้อมสปอร์โดยวิธี Gram stain ตามวิธีการของ BAM (2001a) ลักษณะเซลล์ของแบคทีเรียแลคติก ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างลักษณะเป็นท่อนและทรงกลม ไม่สร้างสปอร์

(6) ทำการวิเคราะห์หาค่าจลพลศาสตร์การเจริญของแบคทีเรียก่อโรคแต่ละชนิดโดยคำนวณหาค่าระยะเวลาหนึ่งชั่วอายุ (generation time,  $\lambda$ ) ตาม Oliveira *et al.* (2011) ดังสมการที่

3.1 และ 3.2 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\mu_{\max} = \ln(X_2) - \ln(X_1) / t_2 - t_1 \quad (3.1)$$

โดยที่  $X_2$  และ  $X_1$  คือจำนวนแบคทีเรียที่เรียก  $t$  และ  $t_2$  และ  $t_1$  คือระยะเวลาในการบ่ม

$$\lambda = \ln 2 / \mu_{\max} \quad (3.2)$$

(7) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติวางแผนการทดลองแบบ CRD และวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS for windows version 17.0: SPSS Inc.

**การทดลองย่อยที่ 1.2** ศึกษากิจกรรมของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ที่มีผลต่อคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์และเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส โดยนำหมูปดปรุงรสในตารางที่ 3.1 ทุกกลุ่มการทดลองที่ไม่มีการเติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ โดยทำการวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์และด้านเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสดังต่อไปนี้

(1) การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์

(1.1) การตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) เป็นการตรวจวัดการปนเปื้อนทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรส โดยตรวจจุลินทรีย์ทั้งหมด คือ จุลินทรีย์ที่ใช้อากาศ (Mesophilic aerobic bacteria, Psychrophilic aerobe bacteria) และจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้อากาศ (Mesophilic anaerobic bacteria) โดยชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรส 25 กรัม ใส่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.85% ปริมาตร 225 มิลลิลิตร แล้วนำตัวอย่างไปตีปั่นด้วยเครื่อง (Stomacher bag Mixer 400 model VW, France) เป็นเวลา 60 วินาที หลังจากนั้นเจือจางที่ระดับ  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่เตรียมไว้ในแต่ละระดับการเจือจางจำนวน 0.1 มิลลิลิตร ถ่ายลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PCA ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ และดูดสารละลายที่ความเข้มข้น 1:10 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำจานอาหารไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ (WTB binder model BD, Germany) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เพื่อตรวจหาแบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic) และที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน เพื่อตรวจหาแบคทีเรียกลุ่มที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ (Psychrophilic) แล้วทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียจากจานเลี้ยงเชื้อที่ระดับความเจือจางที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี แล้วคำนวณจำนวนจุลินทรีย์เป็นหน่วย log CFU/กรัม (BAM, 2001a)

(1.2) Aerobic และ Anaerobic bacterial spore ดัดแปลงตามวิธีการของ (BAM, 2001a)

โดยนำตัวอย่างในข้อที่ 1.1 ไปให้ความร้อนใน Water Bath อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาที่ แล้วนำตัวอย่างไปตีปั่นด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที จากนั้นเจือจางตัวอย่างให้ได้ระดับความเจือจางที่  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  ตามความเหมาะสม ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Plate count agar (PCA) ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ และดูดสารละลายที่ความเข้มข้น 1:10 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อจากนั้นเทอาหาร PCA ใช้เทคนิค pour plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยถ้าเป็น Anaerobic bacterial spore ต้องทำการบ่มในสภาวะไม่มีอากาศ แล้วทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียจากงานเลี้ยงเชื้อที่ระดับความเจือจางที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี แล้วคำนวณจำนวนจุลินทรีย์เป็นหน่วย log CFU/กรัม

(1.3) Lactic acid bacteria (ดังแสดงในการทดลองย่อยที่ 1.1)

(1.4) ยีสต์และรา ตามวิธีการของ BAM (2001a) โดยนำสารละลายตัวอย่างที่ระดับการเจือจางต่างๆ ในข้อที่ 1.1 มาทำการปิเปต 1 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเชื้อระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ ที่มีอาหาร Potato Dextrose Agar ที่เติมกรดทาทาร์ลิกความเข้มข้น 10% จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3-7 วัน แล้วทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียจากงานเลี้ยงเชื้อที่ระดับความเจือจางที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี แล้วคำนวณจำนวนจุลินทรีย์เป็นหน่วย log CFU/กรัม

## (2) วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพ

(2.1) วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส ดัดแปลงตามวิธีการของ AOAC (2005) โดยการนำตัวอย่าง 10 g และน้ำกลั่น 50 ml homogenized เป็นเวลา 60 วินาที แล้วนำไปวัดด้วยเครื่องวัดค่า pH meter (Mettler Toledo model SG-2, Switzerland) ทำการวัดค่า 3 ครั้ง และบันทึกผล 3 ซ้ำ

(2.2) วัดค่าสี (CIE,  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Chroma และ Hue angle) สุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรส 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) ตามสมการที่ (3.3) และ (3.4) ตามลำดับดังนี้

$$C^* = \sqrt{b^{*2} + a^{*2}} \quad (3.3)$$

$$h^\circ = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (3.4)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2.3) ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์ (Purge loss) คัดแปลงตามวิธีของ Belibağlı and Ersan (2018) การสูญเสียน้ำที่ออกจากตัวอย่างในระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ ทำการชั่งน้ำหนักตัวอย่างหีบคปรงรสก่อนการเก็บรักษา และทำการชั่งน้ำหนักหลังการเก็บรักษา จากนั้นทำการคำนวณร้อยละการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากกระบวนการเก็บรักษาตามสมการที่ (3.5) ดังต่อไปนี้

$$\text{Purge loss (\%)} = \left( \frac{a-b}{a} \right) \times 100 \quad (3.5)$$

เมื่อ a คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนการเก็บรักษา (กรัม)

b คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังการเก็บรักษา (กรัม)

(2.4) ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุก (Cooking loss) ตามวิธีของ Bai *et al.* (2017) ทำการชั่งน้ำหนักตัวอย่างหีบคปรงรสก่อนการให้ความร้อนและหลังจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการคำนวณร้อยละการสูญเสียน้ำหนักหลังการให้ความร้อนตามสมการที่ (3.6) ดังต่อไปนี้

$$\text{Cooking loss (\%)} = \left( \frac{a-b}{a} \right) \times 100 \quad (3.6)$$

เมื่อ a คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนให้ความร้อน (กรัม)

b คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังให้ความร้อน (กรัม)

(2.5) วิเคราะห์คุณภาพด้านเนื้อสัมผัสโดยรวม (TPA) ตามวิธีการของการประเมินลักษณะเนื้อสัมผัสของหีบคปรงรสที่ปรุงสุกแล้ว โดยใช้หัวแบบ Compression ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15.5 เซนติเมตร วัดด้วยเครื่อง Instron (Warner-Bratzler, Instron model 1011, Instron company, Thailand) โดยการตัดตัวอย่างให้มีขนาด 1.5×1.5×1.5 เซนติเมตร จำนวน 10 ชิ้น (Das *et al.* 2008) ซึ่งเป็นการวัดค่าแรงที่ใช้กดลงบนตัวอย่างขนาดมาตรฐาน 2 ครั้ง โหลดเซลล์ที่ใช้ในการวัดค่า 500 นิวตัน กำหนดให้การวัดค่าของตัวอย่างถูกกดลงไปเป็นระยะทางร้อยละ 40 ของความสูงของตัวอย่าง (Bourne. 1978) บันทึกค่าความแข็ง (Hardness, N) ความสามารถในการเกาะรวมตัวกัน (Cohesiveness, ratio) ความเหนียวเป็นกาวหรือยาง (Gumminess, N) ค่าความยากในการเคี้ยว (Chewiness, N) และความยืดหยุ่น (Springiness, ratio)

(3) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD และวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS for windows version 17.0; SPSS Inc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.5 การทดลองที่ 2 ผลของกิจกรรมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* LB23 ที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส

#### 3.5.1 การเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรส

จัดกลุ่มการทดลองแบบ 7x9 factorial in CRD โดยซึ่งทำการศึกษา 2 ปีวิจัย คือ กลุ่มการทดลอง และระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ซึ่งได้ทำการบรรจุแบบปิดผนึกที่มีอากาศ และบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาเป็นเวลา 16 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างที่ระยะเวลา (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 และ 16 วัน) ในการผลิตเนื้อหมูปดปรุงรสตามวิธีการทดลองที่ 1 โดยแบ่งออกเป็น 7 กลุ่มการทดลองคือ หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1, EPS LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7) ส่วนผสมที่ได้ของแต่ละกลุ่มจะถูกนำไปใส่ลงในแม่พิมพ์ทรงกลมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร และมีความสูง 1.5 เซนติเมตร บรรจุลงในบรรจุภัณฑ์เพื่อทำการวิเคราะห์ค่าคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา และเคมีกายภาพ ซึ่งจะแสดงส่วนผสมในการทำผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสดังตารางที่ 3.2 ดังต่อไปนี้

- T1 ควบคุม (หมูปดปรุงรสสูตรปกติ)
- T2 กลุ่มโซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 1.5%
- T3 กลุ่มเติมกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 0.1%
- T4 กลุ่มเติมโซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 1.5% และกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1%
- T5 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.25%
- T6 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31%
- T7 กลุ่มเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.37%

ตารางที่ 3.2 ส่วนผสมผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรสแต่ละกลุ่มทดลอง

ส่วนผสม	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
ส่วนผสมหลัก	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
เนื้อหมู	80	80	80	80	80	80	80
น้ำแข็ง	20	20	20	20	20	20	20
รวม	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
%ของส่วนผสมอื่นๆ							
เกลือแกง	1	1	1	1	1	1	1
STPP	0.375	0.375	0.375	0.375	0.375	0.375	0.375
น้ำตาล	1.89	1.89	1.89	1.89	1.89	1.89	1.89
ผงชูรส	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
พริกไทย	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47
กระเทียม	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47
โซเดียมซิเตรท		1.5	-	1.5	-	-	-
กรดแอสคอร์บิก	-	-	0.1	0.1	-	-	-
EPS LB23	-	-	-	-	0.25	0.31	0.375

(1) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรสซึ่งตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ ดังนี้

- Mesophilic aerobic bacteria (ตั้งแสดงในการทดลองย่อยที่ 1.2)
- Mesophilic anaerobic bacteria (ตั้งแสดงในการทดลองย่อยที่ 1.2)
- Psychrophilic aerobic bacteria (ตั้งแสดงในการทดลองย่อยที่ 1.2)
- ตรวจคุณภาพทางจุลินทรีย์ LAB (ตั้งแสดงในการทดลองย่อยที่ 1.1)
- Aerobic bacterial spore (ตั้งแสดงในการทดลองย่อยที่ 1.2)
- Anaerobic bacterial spore (ตั้งแสดงในการทดลองย่อยที่ 1.2)
- ยีสต์, รา (ตั้งแสดงในการทดลองย่อยที่ 1.2)

- การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp. ตามวิธีการของ ISO-6579. (2002) ตัวอย่างเนื้อหมูปปรุงรส โดยสุ่มตัวอย่าง 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในถุงพลาสติก จากนั้นนำไปใส่อาหาร Buffer peptone 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Stomacher 60 วินาที ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้น ถ่ายเชื้อลงอาหารเหลว MkTTn บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศา

เซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อลงอาหาร HE agar ที่เติมยาปฏิชีวนะโนโวโมโอซิน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ดูแลเห็นแจ้งบริษัทเอกชนดำเนินการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อถ่ายเชื้อลงอาหาร HE agar เสร็จให้นำไปบ่ม 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง โดยสังเกตโคโลนี สีน้ำเงินเขียว และตรงกลางมีสีดำ กลมมน ผิวเรียบเป็นมัน อาจพบหรือไม่พบจุดตรงกลาง แล้วนำโคโลนีมาทดสอบทางปฏิกิริยาเคมี Lysine Iron Agar slant (LIA) และ Triple Sugar Iron (TSI agar) ตามวิธีการของการทดลองย่อยที่ 1.1

- *S. aureus* (ดังแสดงในการทดลองย่อยที่ 1.1)

- การตรวจสอบ *L. monocytogenes* ตามวิธี ISO11290-1 ดัดแปลงจาก Coombs *et al.* (2017) และ BAM (2017) ตามลำดับ โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรส 25 กรัม ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Buffered listeria enrichment broth 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตีปั่นด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นเติม Supplement listeria enrichment 2.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วคูดสารละลายตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified listeria selective agar นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รายงานผลจำนวนเชื้อ *L. monocytogenes* ว่าพบหรือไม่พบ สังเกตได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนเป็นสีดำ ซึ่งในอาหารมีสาร Ferric ammonium citrate หากตรวจพบ *L. monocytogenes* อาหารจะเปลี่ยนสีเหลืองเป็นสีดำโดยอาศัยการตรวจจับการย่อย Esculin ลักษณะโคโลนีคือ กลม สีขาวขุ่น และเห็นสีดำเป็นโซนรอบ ๆ โคโลนี จากนั้นทดสอบการเกิด Decarboxylation ของ lysine ในอาหาร LIA (Lysine Iron Agar) ตามวิธีการของการทดลองย่อยที่ 1.1

- Coliform และ *E. coli*

การตรวจสอบจำนวนโคลิฟอร์ม (Coliforms) และ *E. coli* ตรวจวิเคราะห์หาจำนวนเชื้อ *E. coli* เริ่มต้นนำผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรส ตามวิธีการของ BAM (2002) โดยชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์จำนวน 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85% จากนั้นนำตัวอย่างไปตีปั่นด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 จากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างที่ 1-3 ระดับ ปิเปตสารละลายเจือจาง 1 มิลลิลิตร ของแต่ละระดับการเจือจางลงในอาหาร LMX broth จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตการณ์เปลี่ยนสีของอาหารซึ่งอาหาร LMX broth จากสีเหลืองกลายเป็นสีฟ้า และการตรวจนับ Coliforms คำนวณด้วยตาราง MPN (BAM, 2002) โดยการนำไปส่อง UV เพื่อดูการเรืองแสงด้วยเครื่อง Gel documentation (UV light) และนำหลอดที่เรืองแสงมา Streak plate ลงอาหาร EMB agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำโคโลนีที่มีสีดำล้อมวงสีเขียว (Metallic sheen) มาเขียนเชื้อ (Streak) บนอาหาร PCA เพื่อทดสอบ *E.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*coli* แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทดสอบด้วยวิธีทางชีวเคมี IMViC คือ

- การทดสอบ Indole โดยการถ่ายเชื้อจากอาหาร Plate count agar slant ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptophan broth แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย 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 แล้วแบ่งเป็น 2 ส่วนดังนี้

1) สำหรับ MR ให้เติมสารละลาย Methyl red 5 หยด ลงในสารละลายเชื้อโดยผลบวกจะเกิดสีแดงผลลบจะให้สีเหลือง

2) สำหรับ VP ให้ถ่ายเชื้อประมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองแล้วเติม 5% Alcoholic-naphthol solution 0.6 มิลลิลิตรและ 40% KOH 0.2 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5-10 นาที ผลบวกจะให้สีชมพูแดง

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

(2) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส ซึ่งตรวจวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ ดังนี้

- ตรวจวิเคราะห์ pH (ดังแสดงในการทดลองย่อยที่ 1.2)

- ตรวจวิเคราะห์ค่าการออกซิเดชันของไขมัน (TBARS) ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Chen *et al.* (2017) โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสจำนวน 5 กรัม ใส่ในหลอดเซนตริฟิวาลาสติก (Centrifuges tube) ขนาด 50 มิลลิลิตร ใส่สารละลาย 2.5% 2-Thiobarbituric acid 10 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่องไฮโมจิโนเซอร์ (Untra 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตรวจวิเคราะห์ ค่าสี (ดังแสดงในการทดลองย่อยที่ 1.2)
- ตรวจวิเคราะห์ Purge loss (ดังแสดงในการทดลองย่อยที่ 1.2)
- ตรวจวิเคราะห์ Cooking loss (ดังแสดงในการทดลองย่อยที่ 1.2)
- ตรวจวิเคราะห์ TPA (ดังแสดงในการทดลองย่อยที่ 1.2)

(3) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD และวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของข้อมูล โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS for windows version



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 4.1 การศึกษาการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* LB23 ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส

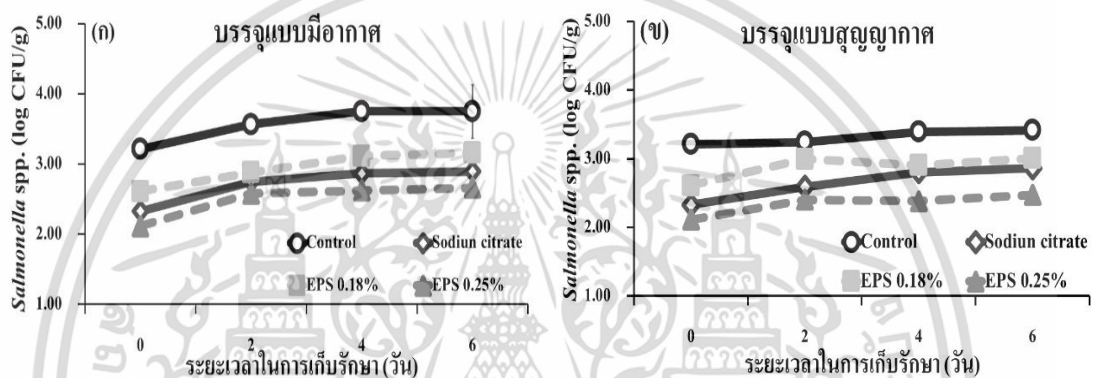
##### 4.1.1 การต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* LB23 ที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสที่เติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์

###### 4.1.1.1 การต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของ EPS-LB23 ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรส

จากการศึกษาความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของ EPS-LB23 ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสที่เติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งได้แก่เชื้อ *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, *L. plantarum* และ *L. Lactis* โดยมีปัจจัยกลุ่มทดลองดังนี้ กลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% (T2), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% (T3) และ 0.25% (T4) ตามลำดับ ที่มีการบรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน และจากการศึกษาไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษา ( $P > 0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 1 และ 2 ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าจำนวนเชื้อ *Salmonella* spp. เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์เริ่มต้นในแต่ละกลุ่มการทดลองมีจำนวนไม่เท่ากัน โดยจะพบว่ากลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสสามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella* spp. ได้ดีกว่ากลุ่มโซเดียมซิเตรท และกลุ่มควบคุมตามลำดับ ซึ่งกลุ่มที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้สูงสุด รองลงมาคือกลุ่มโซเดียมซิเตรท, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และกลุ่มควบคุม เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสมีจำนวนเชื้อ *Salmonella* spp. ที่บรรจุแบบมีอากาศสูงกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศมีจำนวนจุลินทรีย์อยู่ที่ 2.66 และ 2.47 log CFU/กรัม ตามลำดับ ได้แสดงในภาพที่ 4.1 ก และข เนื่องจากเนื้อหมูเป็นแหล่งโปรตีน ไขมัน และวิตามิน จึงมีบทบาทสำคัญในการเป็นแหล่งอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรครวมไปถึง *Salmonella* spp. (Boskovic *et al.* 2017) จากการศึกษาพบว่ากลุ่มที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของจุลินทรีย์สูงสุด ( $P < 0.001$ ) มีค่า 0.12 ชั่วโมง และเมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุพบว่าการบรรจุแบบสุญญากาศมีค่าระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของจุลินทรีย์สูงสุด ( $P < 0.01$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.1 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Li *et al.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2014b) ที่รายงานไว้ว่า EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *B. bifidum* WBIN03 และ *L. plantarum* R315 มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *S. aureus* โดย EPS ทั้งสองชนิดมีความเข้มข้น 300 ug/ml ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกลไกการทำงานของ EPS ครอบคลุมผนังเซลล์และเชื้อหุ้มไซโทพลาสมและคาร์บอกซิล DNA ทำให้การแบ่งเซลล์ของจุลินทรีย์ลดลง และในการศึกษาของ Wu *et al.* (2010) ได้ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของ EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Bifidobacterium longum* โดยทดสอบกับจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์นำเสีย ซึ่งพบว่าจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์นำเสียได้ถูกยับยั้งโดย EPS ที่มีความเข้มข้น 80 ug/ml แสดงให้เห็นว่า EPS มีความสามารถในการทำให้การแบ่งตัวของจุลินทรีย์ลดลง

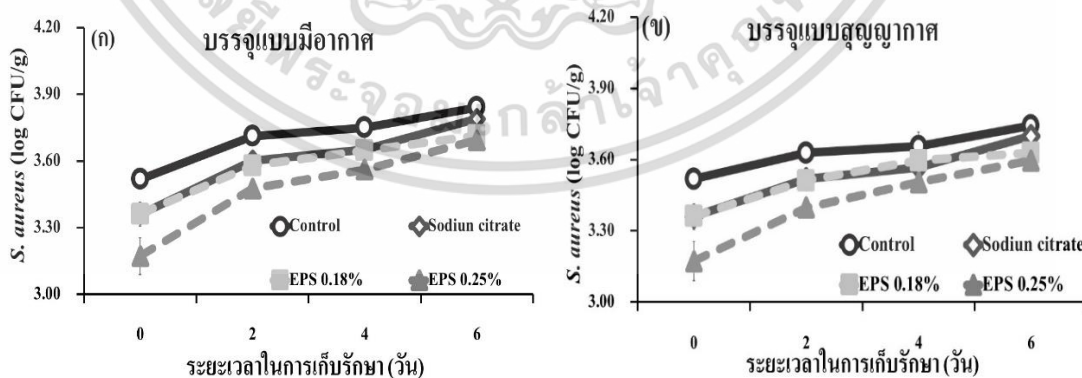


ภาพที่ 4.1 การเจริญของเชื้อ *Salmonella* spp. ที่บรรจุแบบมีอากาศ (ก), บรรจุแบบสุญญากาศ (ข) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 1.5%, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และ 0.25%

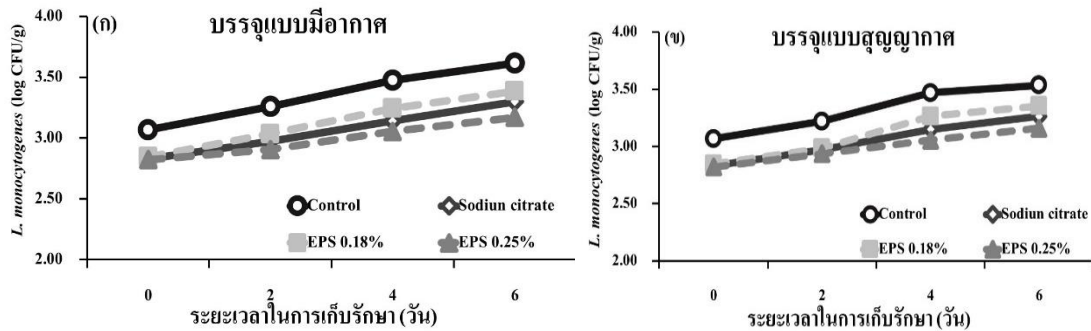
ในทำนองเดียวกันเมื่อพิจารณาปัจจัยกลุ่มทดลองทั้ง 4 กลุ่ม ที่มีการบรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน จากการศึกษาไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษา ( $P > 0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 1 และ 2 จากการศึกษาพบว่าจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาแต่กลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศมีจำนวนเชื้อ *S. aureus* เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาอยู่ที่ 3.69 และ 3.60 log CFU/กรัมตามลำดับและเชื้อ *L. monocytogenes* อยู่ที่ 3.17 และ 3.16 log CFU/กรัมตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ แสดงให้เห็นว่า EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา ดังแสดงในภาพที่ 4.2ก, 4.2ข และ ภาพที่ 4.3ก, 4.3ข ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Li *et al.* (2014b) ที่รายงานไว้ว่า EPS ที่ผลิตจาก *B. bifidum* WBIN03 และ *L. plantarum* R315 มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium* และ *S. aureus* เนื่องจาก EPS ทำลายผนังเซลล์และเชื้อหุ้มไซโทพลาสมและคาร์บอกซิล DNA ทำให้การแบ่งเซลล์ของจุลินทรีย์ลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และการศึกษาของ He *et al.* (2010) รายงานว่า EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Streptomyces virginia* H03 ที่ความเข้มข้น 15.6 และ 31.3 ug/ml ตามลำดับ สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *L. monocytogenes* ได้ซึ่งมีบริเวณการยับยั้งจุลินทรีย์อยู่ที่  $38.5 \pm 0.3$  และ  $36.8 \pm 0.2$  มม. ตามลำดับ โดยมีสาเหตุจาก EPS ดังนี้ 1) EPS เข้าไปทำให้ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์แตกและทำให้ของเหลวภายในเซลล์จุลินทรีย์ออกมาเกิดการหดตัวทำให้เซลล์จุลินทรีย์โค่นทำลาย 2) เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ยอมให้สารผ่านถ้าเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลายก็จะทำให้การเจริญของเซลล์หยุดชะงักและทำให้เซลล์ตายได้ และ 3) การสลายตัวของโปรตีนการรั่วไหลของโมเลกุลที่จำเป็นส่งผลให้เซลล์จุลินทรีย์ตาย และในการศึกษานี้ยังมีแนวโน้มเดียวกับของ Mohamed *et al.* (2018) ซึ่งศึกษาการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของ EPS ที่ผลิตจาก *B. altitudinis* MSH2014 พบว่า EPS ที่ความเข้มข้น 75, 100, 150 และ 200 ug/disk มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ซึ่งมีบริเวณการยับยั้งอยู่ที่ 12.2, 15.1, 17.3 และ 18.8 มม. ตามลำดับ และในการศึกษานี้ยังพบว่ากลุ่มทดลองที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของจุลินทรีย์สูงที่สุด ( $P < 0.001$ ) โดยเชื้อ *S. aureus* และ *L. monocytogenes* มีค่าอยู่ที่ 0.09 และ 0.11 ชั่วโมงตามลำดับ และเมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุพบว่าเชื้อ *S. aureus* มีความแตกต่างกันโดยที่การบรรจุแบบสุญญากาศมีค่าระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงมากกว่าการบรรจุแบบมีอากาศ ( $P < 0.001$ ) และเมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุกันท์พบว่าเชื้อ *L. monocytogenes* ไม่มีความแตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.1 ดังนั้นผลการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้นจึงชี้ให้เห็นว่า EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีความสามารถในการทำลายเซลล์จุลินทรีย์ได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับโซเดียมซิเตรท, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และกลุ่มควบคุม ตามลำดับ นอกจากนี้ในการศึกษาของ Li *et al.* (2014b) ยังพบว่า EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *B. bifidum* WBIN03 (B-EPS) และ *L. plantarum* R315 (L-EPS) มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *L. monocytogenes* อีกด้วย



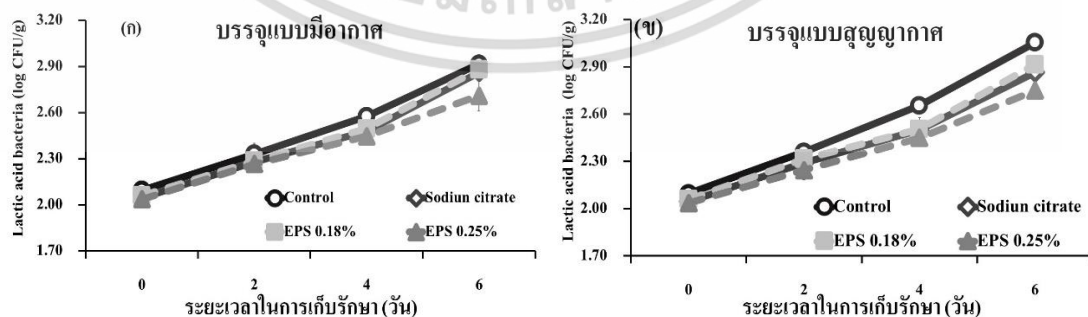
ภาพที่ 4.2 การเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่บรรจุแบบมีอากาศ (ก), บรรจุแบบสุญญากาศ (ข) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, เดิม โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5%, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และ 0.25%



ภาพที่ 4.3 การเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ที่บรรจุแบบมีอากาศ (ก), บรรจุแบบสุญญากาศ (ข) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, เติมโซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5%, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และ 0.25%

4.1.1.2 ศึกษาการต้านแบคทีเรียกรดแลกติกของ EPS-LB23 ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรส

จากการศึกษาโดยมีปัจจัยกลุ่มทดลองดังนี้ กลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% (T2), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% (T3) และ 0.25% (T4) ตามลำดับ ที่มีการบรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน และไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษา ( $P > 0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 1 และ 2 จากการศึกษานี้พบว่าแบคทีเรียกรดแลกติกมีจำนวนเพิ่มขึ้นตลอดจนระยะเวลาในการเก็บรักษา เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษากลุ่มที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์อยู่ที่ 2.71 และ 2.75 log CFU/กรัม ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.4ก และ 4.4ข โดยตัวอย่างกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสนี้สามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติกได้ดีที่สุด รองลงมาคือกลุ่มโซเดียมซิเตรท, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และกลุ่มควบคุม ตามลำดับและกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของจุลินทรีย์สูงสุด ( $P > 0.05$ ) มีค่าอยู่ที่ 0.14 ชั่วโมง และเมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) ได้แสดงในตารางที่ 4.1



ภาพที่ 4.4 การเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติกที่บรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศ (ก), บรรจุแบบสุญญากาศ (ข) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, เติมโซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5%, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และ 0.25%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ตารางระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของแบคทีเรียที่เรียกก่อโรคและเน่าเสียในผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรส

จุลินทรีย์	สูตรหมูปปรุงรส (T)				P - value
	Control	Citrate	EPS LB23 0.18%	EPS LB23 0.25%	
<b>มีอากาศ</b>					
<i>Salmonella</i> spp.					
เวลาหนึ่งชั่วโมง (h)	0.09 <sup>c</sup>	0.11 <sup>b</sup>	0.11 <sup>b</sup>	0.12 <sup>a</sup>	0.000
<i>S. aureus</i>					
เวลาหนึ่งชั่วโมง (h)	0.08 <sup>b</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.000
<i>L. monocytogenes</i>					
เวลาหนึ่งชั่วโมง (h)	0.09 <sup>c</sup>	0.10 <sup>b</sup>	0.10 <sup>b</sup>	0.11 <sup>a</sup>	0.001
<b>LAB</b>					
เวลาหนึ่งชั่วโมง (h)	0.13	0.13	0.13	0.14	0.701
<b>สุญญากาศ</b>					
<i>Salmonella</i> spp.					
เวลาหนึ่งชั่วโมง (h)	0.10 <sup>c</sup>	0.12 <sup>b</sup>	0.10 <sup>c</sup>	0.13 <sup>a</sup>	0.002
<i>S. aureus</i>					
เวลาหนึ่งชั่วโมง (h)	0.09	0.09	0.09	0.09	0.479
<i>L. monocytogenes</i>					
เวลาหนึ่งชั่วโมง (h)	0.09 <sup>c</sup>	0.10 <sup>b</sup>	0.10 <sup>b</sup>	0.11 <sup>a</sup>	0.001
<b>LAB</b>					
เวลาหนึ่งชั่วโมง (h)	0.13	0.14	0.13	0.14	0.615

<sup>a</sup>ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

#### 4.1.2 การทดลองย่อยที่ 1.2 ผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่มีผลต่อคุณภาพจุลินทรีย์และเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรส

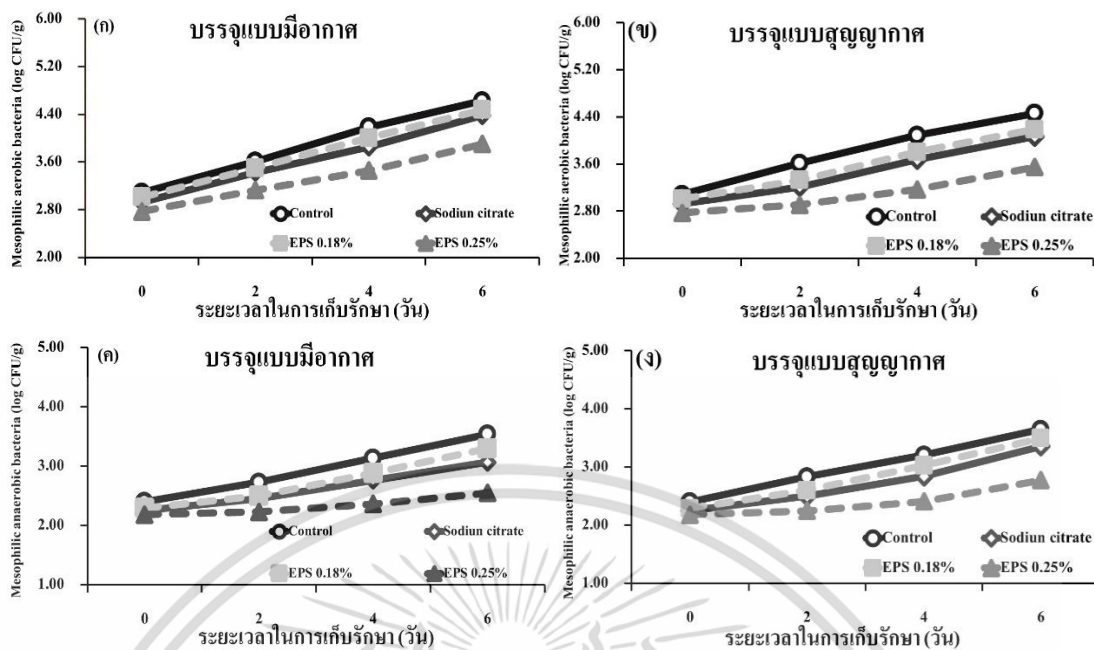
##### 4.1.2.1 คุณภาพทางจุลินทรีย์

จากการศึกษาเมื่อพิจารณาปัจจัยของกลุ่มทดลองกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 1.5% (T2), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% (T3) และ 0.25% (T4) ตามลำดับ โดย EPS ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรสที่มีการบรรจุแบบมีอากาศ และการบรรจุแบบสุญญากาศในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ (P>0.05) ตารางภาพผนวกที่ 3 และ 4 จากการศึกษาพบว่า Mesophilic aerobic bacteria ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรสทุกกลุ่มทดลอง มีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นอยู่ในช่วง 2.77-3.09 log CFU/กรัม โดยกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีจำนวนจุลินทรีย์ต่ำที่สุด รองลงมาคือกลุ่มโซเดียมซิเตรท, EPS-LB23 ความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.18% และกลุ่มควบคุม ตามลำดับ เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์พบว่าวิธีการบรรจุแบบสุญญากาศ มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่าการบรรจุแบบมีอากาศ เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ หมูปดปรุงรสที่ทำกรบรรจุแบบมีอากาศ และบรรจุแบบสุญญากาศพบว่ากลุ่มที่เดิม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีจุลินทรีย์อยู่ที่ 3.90 และ 3.55 log CFU/กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่าในกลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรท และ EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% มีจำนวนจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 4.38-4.63 และ 4.07-4.46 log CFU/กรัม ตามลำดับ และการศึกษา Mesophilic anaerobic bacteria มีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นอยู่ในช่วง 2.18-2.4 log CFU/กรัม โดยกลุ่มทดลองที่เดิม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีจำนวนจุลินทรีย์ต่ำที่สุด รองลงมาคือกลุ่ม โซเดียมซิเตรท, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และกลุ่มควบคุม ตามลำดับและเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ หมูปดปรุงรสที่ทำกรบรรจุแบบมีอากาศ และบรรจุแบบสุญญากาศ พบว่าในกลุ่มทดลองที่เดิม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีจำนวน Mesophilic anaerobic bacteria ต่ำกว่าในกลุ่มทดลองอื่นๆ ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์พบว่ากรบรรจุแบบมีอากาศมีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศโดยกลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรท และ EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% มีจำนวนจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 3.07-3.54 และ 3.36-3.65 log CFU/กรัม ตามลำดับ และในกลุ่มทดลองที่เดิม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีจำนวนจุลินทรีย์อยู่ที่ 2.55 และ 2.78 log CFU/กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่า 3 กลุ่มทดลองแรก และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสพบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นได้แสดงในภาพที่ 4.5 จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่ากลุ่มทดลองที่เดิม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีจำนวนจุลินทรีย์ Mesophilic aerobic bacteria และ Mesophilic anaerobic bacteria น้อยกว่ากลุ่ม โซเดียมซิเตรท, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และกลุ่มควบคุม ตามลำดับ โดยผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสที่เดิม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Mohamed *et al.* (2018) พบว่า EPS ที่ผลิตจาก *B. altitudinis* ความเข้มข้น 75, 100, 150 และ 200 ug/ml สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบซึ่งมีบริเวณการยับยั้งอยู่ที่ 6.3-24.9 มม. โดยกลไกของ EPS ที่ผ่านกิจกรรมเคลือบชั้นการกีดขวางโลหะและสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ และรองลงมาคือกลุ่ม โซเดียมซิเตรท ( $P < 0.001$ ) ซึ่งจากการศึกษาของ Miller *et al.* (1993) โดยได้กล่าวไว้ว่าการใช้โซเดียมซิเตรทจะทำการจับไอออนของโลหะภายในเนื้อที่จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญ ซึ่งจะทำให้จุลินทรีย์มีอาหารไม่เพียงพอต่อการเจริญและตายในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

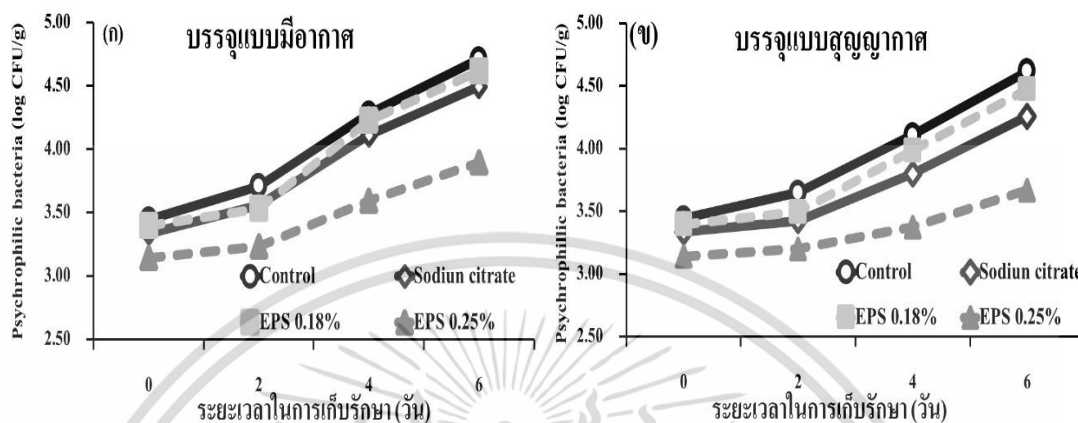


ภาพที่ 4.5 จำนวนของจุลินทรีย์ Mesophilic aerobic bacteria (ก และข) ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ, จำนวนของจุลินทรีย์ Mesophilic anaerobic bacteria (ค และง) ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5%, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และ 0.25% อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

ในการทำงานเดียวกันจากการศึกษา Psychrophilic bacteria ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรท, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และ 0.25% ที่ทำการบรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลองและระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P > 0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 3 และ 4 พบว่ากลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยที่สุดได้แสดงในภาพที่ 4.6 ก และข ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Orsod *et al.* (2012) พบว่า EPS ที่ผลิตจากสามารถยับยั้งเชื้อ *Lysinibacillus*, *Paenibacillus* sp., *E. coli* และ *P. aeruginosa* และ EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Brachybacterium* sp. สามารถยับยั้งเชื้อ *Lysinibacillus*, *Paenibacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *E. coli* และ *Mesorhizobium* sp. และในการศึกษาของ Nehal *et al.* (2019) ได้กล่าวว่าประจุลบของ EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *L. lactis* F-mou มีกลุ่มซัลเฟตมีปฏิริยาต่อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีเนื่องจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกมีประจุบวกที่สูงกว่าแบคทีเรียแกรมลบจึงส่งผลต่อการทำลายแบคทีเรียแกรมบวก และรองลงมาคือกลุ่มโซเดียมซิเตรท ( $P < 0.001$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์ พบว่าการบรรจุแบบสุญญากาศมีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่าการบรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศ โดยกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% สามารถชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ได้จนถึงวันที่ 6 ของการเก็บรักษาซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์อยู่ที่ 3.90 และ 3.67 log CFU/กรัม ตามลำดับและเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่ามีความจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ( $P < 0.001$ ) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรสในกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีความจุลินทรีย์น้อยกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ

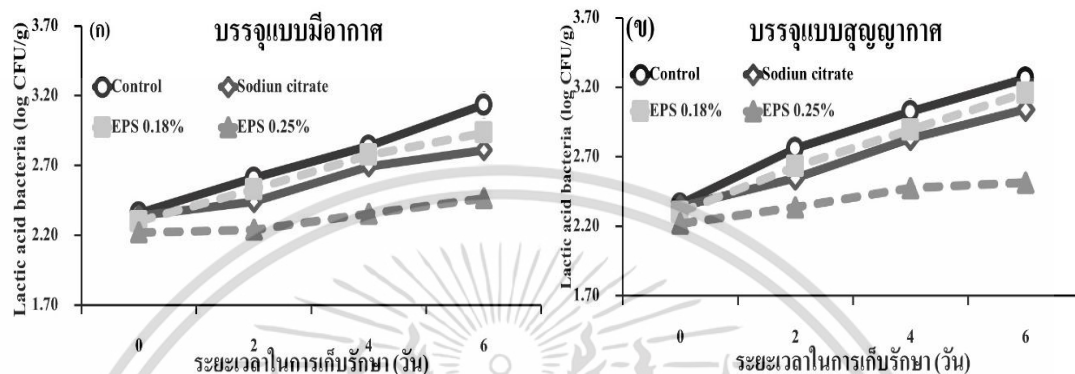


ภาพที่ 4.6 จำนวนของจุลินทรีย์ Psychrophilic bacteria ในผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรสกลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5%, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และ 0.25% อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข)

การศึกษาแบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรสกลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรท, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และ 0.25% ตามลำดับ ที่บรรจุแบบมีอากาศ และบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P > 0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 3 และ 4 ซึ่งจากการศึกษาพบว่ามีความจุลินทรีย์เริ่มต้นอยู่ในช่วง 2.22-2.36 log CFU/กรัม ในกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีความจุลินทรีย์ที่ต่ำกว่าที่สุด รองลงมาคือกลุ่ม โซเดียมซิเตรท, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และกลุ่มควบคุม ( $P < 0.001$ ) ได้แสดงในภาพที่ 4.7 เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์ พบว่าการบรรจุแบบมีอากาศมีความจุลินทรีย์น้อยกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ โดยในกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% ซึ่งมีความจุลินทรีย์อยู่ที่ 2.47 และ 2.52 log CFU/กรัม ตามลำดับโดยมีความจุลินทรีย์น้อยกว่าอีก 3 กลุ่มการทดลอง ซึ่งมีความจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 2.81-3.14 และ 3.04-3.27 log CFU/กรัม ตามลำดับได้แสดงในภาพที่ 4.7 เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ พบว่าจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ แต่อย่างไรก็ตามกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% สามารถชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ได้จนถึงวันที่ 6 ของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรส ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Li *et al.* (2014b) โดยศึกษากิจกรรมการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของ EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *B. bifidum* WBIN03 (B-EPS) และ *L. plantarum* R315 (L-EPS) แสดงให้เห็นว่า EPS ที่ได้จากจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดมีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ ได้แก่ *Cronobacter sakazakii*,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Candida albicans*, *B. cereus*, *S. Typhimurium* และ *Shigella sonnei* ที่ระดับความเข้มข้น 300 µg/ml และในการศึกษาของ Mohamed *et al.* (2018) ได้กล่าวไว้ว่ากลไกการออกฤทธิ์ของ EPS ผลิตจากเชื้อ *B. altitudinis* MSH2014 เกิดขึ้นโดยผ่านกิจกรรมคีเลชั่น การกีดขวางโลหะหรือสารอาหารที่จำเป็นส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งอาจบ่งบอกถึงความสามารถในการต้านจุลินทรีย์

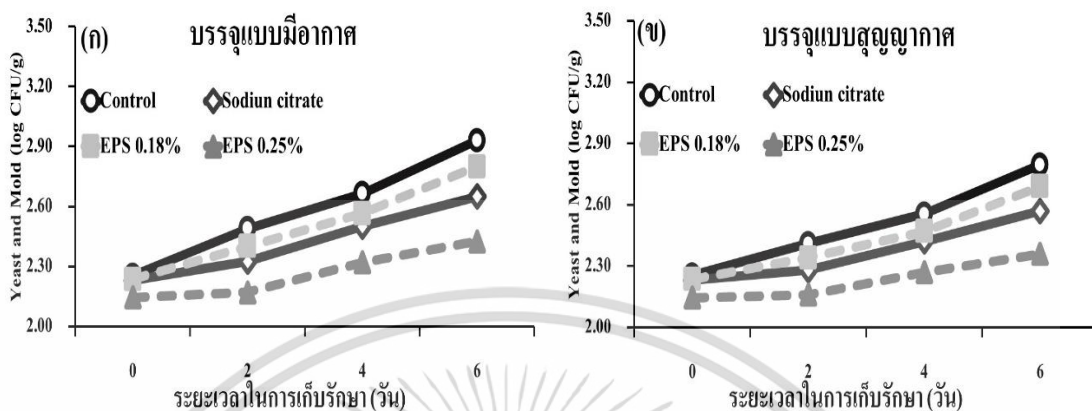


ภาพที่ 4.7 จำนวนของจุลินทรีย์ Lactic acid bacteria ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 1.5%, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และ 0.25% อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข)

นอกจากนี้ในการศึกษาการเจริญของยีสต์และรา ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสทั้ง 4 กลุ่มการทดลอง ที่บรรจุแบบมีอากาศ และบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P > 0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 3 และ 4 พบว่ากลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีจำนวนจุลินทรีย์เหล่านี้น้อยกว่ากลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรทและ EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา ( $P < 0.001$ ) ดังแสดงในภาพที่ 4.8 เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์ พบว่าการบรรจุแบบมีอากาศมีจำนวนจุลินทรีย์มากกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ โดยที่ในกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่าในกลุ่มทดลองอื่นๆ ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์อยู่ที่ 2.43 และ 2.36 log CFU/กรัม ตามลำดับและเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรส พบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ( $P < 0.001$ ) แต่อย่างไรก็ตามกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% สามารถชะลอการเจริญของยีสต์และราดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอีก 3 กลุ่มการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Mohamed *et al.* (2018) ที่รายงานไว้ว่า EPS ที่ผลิตจาก *B. altitudinis* MSH2014 ความเข้มข้น 75, 100, 150 และ 200 µg/ml มีความสามารถในการยับยั้งยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida albicans*)

และรา (*Aspergillus niger* และ *Fusarium oxysporum*) ได้ซึ่งมีบริเวณการยับยั้งอยู่ที่ 6.3-20.0 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มม. เนื่องจาก EPS มีการขีดขวางการลำเลียงสารอาหารที่จำเป็นในการเจริญของจุลินทรีย์จึงทำให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลง



ภาพที่ 4.8 จำนวนของยีสต์และรา ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 1.5%, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และ 0.25% อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข)

#### 4.1.2.2 คุณภาพทางเคมีกายภาพ

จากการศึกษาผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรส โดยกำหนดกลุ่มทดลองออกเป็น 4 กลุ่มการทดลอง ได้แก่ กลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% (T2), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% (T3) และ 0.25% (T4) ซึ่งทำการบรรจุ 2 แบบ บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P>0.05$ ) โดยค่าคุณภาพทางเคมีกายภาพที่ได้วิเคราะห์ได้แสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3 ในการศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เมื่อพิจารณาปัจจัยกลุ่มทดลองของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสต่อคุณลักษณะทางด้านค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่าเมื่อเติม โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% จะทำให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงที่สุดมีค่าอยู่ที่ 6.26 และ 6.19 เมื่อเปรียบเทียบกับอีก 3 กลุ่มการทดลองซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 6.16-6.07 ( $P<0.01$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์พบว่า การบรรจุแบบมีอากาศมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ เนื่องจากแบคทีเรียกรดแลคติกเจริญได้ดีในสถานะที่ไม่มีอากาศ ซึ่งมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสที่บรรจุแบบสุญญากาศอยู่ในช่วง 2.52-3.27 log CFU/กรัม และบรรจุแบบมีอากาศอยู่ในช่วง 2.47-3.14 log CFU/กรัม ดังแสดงในภาพที่ 4.7 และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรส พบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามในกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกน้อยกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ดัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสดงในภาพที่ 4.7 ส่งผลให้ทุกกลุ่มทดลองมีค่า pH ลดลงตามระยะเวลาในการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น ( $P < 0.001$ ) โดยในกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 มีค่า pH ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมแสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3 โดย Lactic acid bacteria ที่มักพบมากที่สุดเนื้อสัตว์คือ *Lactobacillus sakei* ที่ถือว่าเป็นตัวแทนของจุลินทรีย์เน่าเสียในเนื้อสัตว์ที่บรรจุแบบสุญญากาศและแบบตัดแปลงบรรยากาศ ซึ่งเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (Doulgeraki *et al.* 2012) ซึ่งการเจริญของ Lactic acid bacteria จะทำการย่อยสลายกลูโคส และคาร์โบไฮเดรตผลิตเป็นกรดแลกติกทำให้ค่า pH ของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ลดลง (Kamenik 2013) เนื่องจากแบคทีเรียที่หมักน้ำตาลกลูโคสแล้วให้ผลผลิตเป็นกรดแลกติก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ กรดอะซิติกหรือเอทานอลอยู่ในประเภท Facultative heterofermenter ซึ่งอยู่ได้ในที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถผลิตกรดแลกติกผ่านวิถีฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase pathway) ซึ่งมีเอนไซม์อัลโดเลส และฟอสโฟคีโตเลส ที่สามารถผลิตกรดแลกติกจากน้ำตาลเฮกโซสได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Fengou *et al.* (2019) ได้กล่าวไว้ว่า LAB สามารถผลิตกรดอินทรีย์ (กรดแลกติกหรือกรดอะซิติก) ซึ่งทำให้ pH ของเนื้อหมูปลดลง ซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อาจเกิดจากจำนวนจุลินทรีย์ LAB ที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านกลุ่มทดลองของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรส 4 กลุ่มทดลองต่อคุณลักษณะทางด้านค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ (Purge loss%) ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน และในการศึกษาในครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P > 0.05$ ) ได้แสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3 พบว่ากลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้อยที่สุด รองลงมาคือ EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18%, กลุ่มควบคุม และ โซเดียมซิเตรท ตามลำดับ ( $P < 0.001$ ) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sharma *et al.* (2020) พบว่า EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Lactobac paraplantarum* KMI มีความสามารถในการอุ้มน้ำ เนื่องจาก EPS สามารถละลายน้ำได้ คุณสมบัตินี้เกิดจากโครงสร้างที่ซึมผ่านได้ของโซลโพลิเมอร์ ซึ่งสามารถกักเก็บน้ำจำนวนมากได้ผ่านพันธะไฮโดรเจน เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์ของการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการบรรจุแบบมีอากาศมีค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาสูงกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาจทำให้อายุการเก็บรักษาลดลง เนื่องจากมีของเหลวอิสระอยู่ในบรรจุภัณฑ์ (Shand, 2000) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่าของเหลวที่ออกมาอยู่ในบรรจุภัณฑ์เนื้อสัตว์มีค่าการสูญเสียอยู่ที่ร้อยละ 5.77 และ 5.18 ตามลำดับ ส่งผลทำให้จุลินทรีย์สามารถใช้น้ำอิสระในการเจริญได้ ซึ่งแสดงในภาพที่ 4.5 และ 4.6 จะพบว่า Mesophilic aerobic bacteria, Mesophilic anaerobic bacteria และ Psychrophilic bacteria ที่บรรจุแบบมีอากาศมีจำนวนจุลินทรีย์

สูงกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ พบว่าเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

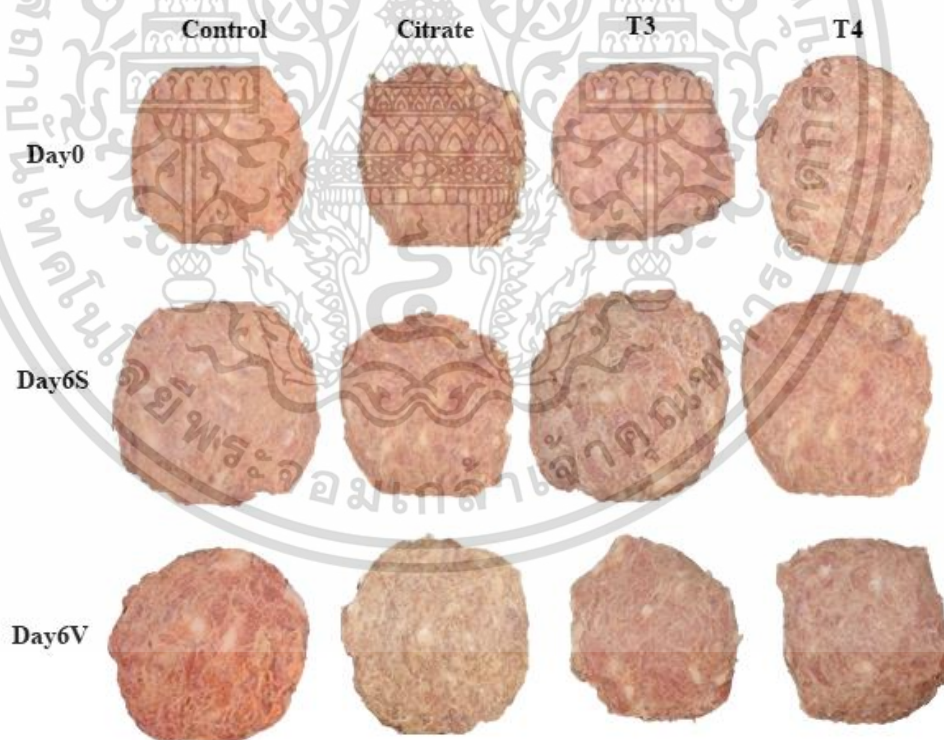
ระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ก็เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน ( $P < 0.001$ ) แต่อย่างไรก็ตามในกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา และจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่าในกลุ่มทดลองอื่นๆ ซึ่งการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นตัวบ่งบอกว่าโปรตีนไม่สามารถกักเก็บน้ำไว้ในผลิตภัณฑ์ได้ (Omana *et al.* 2012) การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นี้อาจเนื่องมาจากค่า pH ที่ลดลงซึ่งส่งผลทำให้โปรตีนเสียสภาพการในอุ้มน้ำ (Savage *et al.* 1990)

เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านกลุ่มทดลองของผลิตภัณฑ์เนื้อหึ่ง 4 กลุ่มทดลองต่อคุณลักษณะทางด้านค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุก (Cooking loss%) บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P > 0.05$ ) ได้แสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3 พบว่าผลิตภัณฑ์เนื้อหึ่งบรรจุสุกในกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุกน้อยที่สุด รองลงมาคือ EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18%, กลุ่มควบคุม และโซเดียมซิเตรท ( $P < 0.001$ ) ตามลำดับ เนื่องจาก EPS มีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ดี โดยมีโครงสร้างการดูดซับน้ำของโพลีเมอร์ซึ่งสามารถกักเก็บน้ำได้จำนวนมากผ่านพันธะไฮโดรเจน (Saravanan and Shetty 2016) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Trabelsi *et al.* (2018) พบว่า EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Lactobacillus* sp. มีความสามารถในการอุ้มน้ำของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเนื้อวัวได้ดี โดย Liu *et al.* (2010) ได้กล่าวไว้ว่า EPS มีคุณสมบัติทางกายภาพและ rheological ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของ EPS จึงถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเป็นสารเพิ่มความหนืดสารที่ทำให้คงตัว, การสร้างเจล และการเป็นสารอิมัลชัน ในการศึกษาครั้งนี้พบว่ากลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้อยที่สุดได้แสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3 และเมื่อนำผลิตภัณฑ์มาผ่านความร้อนกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% ก็มีค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุกน้อยกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ แสดงถึงความสามารถในการเป็นละลายที่เพิ่มความคงตัวและการอุ้มน้ำให้กับผลิตภัณฑ์ของ EPS-LB23 ซึ่งส่งผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์อีกด้วย เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์พบว่าค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุกเพิ่มขึ้น ( $P < 0.001$ ) ซึ่งเกี่ยวข้องกับทำให้ความร้อนการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุกที่เพิ่มขึ้นอาจเกิดจากโปรตีนเปลี่ยนแปลงส่งผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำ (Triyannanto and Lee 2015) แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้กลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีค่าการสูญเสียน้อยกว่าในกลุ่มทดลองอื่นๆ

เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านกลุ่มทดลองของผลิตภัณฑ์เนื้อหมู 4 กลุ่มต่อคุณลักษณะทางด้านค่าสี (CIE L\*, a\*, b\*, Hue angle และ Chroma) ได้แสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3 บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P>0.05$ ) พบว่าค่าความสว่าง (Lightness) กลุ่มโซเดียมซิเตรทมีค่าความสว่างสูงที่สุด รองลงมาคือกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% และ 0.25% ตามลำดับ ( $P>0.05$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์พบว่าไม่มีความแตกต่าง และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ พบว่าความสว่างของตัวอย่างเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา ( $P<0.01$ ) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Zhang *et al.* (2016) และ Brodowska *et al.* (2017) ที่รายงานว่าหมูปดกลุ่มควบคุมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าความสว่างเพิ่มเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Severini *et al.* (2003) ยังกล่าวไว้เกี่ยวกับการเพิ่มขึ้นของค่าความสว่างเกิดจากการสูญเสียน้ำในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งน้ำที่ซึมออกมาเป็นน้ำบริเวณผิวหนังของเนื้อ โดยในการศึกษาครั้งนี้พบว่ากลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีค่าความสว่างน้อยกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ เนื่องจากความสามารถในการอุ้มน้ำได้ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสูญเสียน้ำในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่ได้แสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3 ในการศึกษาค่าสีแดง (Redness) ได้แสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3 เมื่อพิจารณากลุ่มทดลองพบว่ากลุ่ม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีค่าสีแดงสูงที่สุด รองลงมาคือ EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18%, กลุ่มควบคุม และกลุ่มโซเดียมซิเตรท ( $P<0.001$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์พบว่าการบรรจุแบบสุญญากาศมีค่าสีแดงสูงกว่าการบรรจุแบบมีอากาศ และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์พบว่าค่าสีแดงลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บเพิ่มขึ้น ( $P<0.001$ ) ซึ่งการลดลงของค่าสีแดงในเนื้อหมูปดปรุงรสระหว่างการเก็บรักษานั้นอาจเกิดจากการออกซิเดชันของออกซิโมโกลบินไปเป็นเมทโมโกลบิน ซึ่งเป็นสาเหตุหลักมาจากการเปลี่ยนสีของเนื้อสด โดยการเพิ่มขึ้นของเมทโมโกลบิน (Ozer and Sariocban 2010; Zhang *et al.*, 2016) ซึ่งการลดลงของค่าสีแดงนี้จะเกี่ยวข้องกับการเกิดออกซิเดชันของออกซิเดชันที่ทำให้ค่าสีแดงในผลิตภัณฑ์ลดลง (Kumar *et al.* 2015) และสอดคล้องกับการศึกษาของ Brodowska *et al.* (2017) พบว่าเนื้อหมูปด ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน มีค่าสีแดงลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีค่าสีแดงสูงกว่าในกลุ่มการทดลองอื่นๆ ในการศึกษาค่าสีเหลือง (Yellowness) ได้แสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3 เมื่อพิจารณาปัจจัยกลุ่มทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์พบว่าการบรรจุแบบมีอากาศมีค่าสีเหลืองสูงกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าค่าสีเหลืองลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ( $P<0.001$ ) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sojić *et al.* (2020) ได้รายงานว่าแพคดีเนื้อหมูที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4 องศาเซลเซียส พบว่ากลุ่มควบคุมมีค่าสีเหลืองลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น ซึ่งมีค่าเริ่มต้นอยู่ที่ 11.7 และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มีค่าอยู่ที่ 8.13 ในการศึกษาค่าองศาของสี (Hue angle) ได้แสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3 เมื่อพิจารณาปัจจัยกลุ่มทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์พบว่าการบรรจุแบบมีอากาศมีค่าองศาของสีสูงกว่าแบบสุญญากาศ และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าค่าองศาของสีลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ( $P<0.001$ ) ซึ่งมีแนวโน้มเดียวกับการศึกษาของ Jakanović *et al.* (2020) ที่ได้ทำการเก็บรักษาเนื้อหมูที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน พบว่าค่าองศาของสีลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น และในการศึกษาค่าความสดใส (Chroma) เมื่อพิจารณาปัจจัยกลุ่มทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์พบว่าการบรรจุแบบมีอากาศมีค่าความสดใสสูงกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ ( $P<0.01$ ) และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าค่าความสดใสของตัวอย่างลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ( $P<0.001$ ) ซึ่งจะแสดงภาพผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสในภาพที่ 4.9



ภาพที่ 4.9 ผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซีเตรทความเข้มข้น 1.5% (T2), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.18% (T3) และ 0.25% (T4) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (S และ V)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านกลุ่มทดลองของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรส 4 กลุ่ม ต่อคุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัสโดยรวม (Texture profile analyzed: TPA) ได้แสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3 จากการศึกษานี้พบว่าไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างสูตรผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรส และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P > 0.05$ ) ในการศึกษาค่าความแข็ง (Hardness, N) พบว่า EPS ความเข้มข้น 0.25% มีค่าความแข็งสูงสุดรองลงมาคือ EPS ความเข้มข้น 0.18%, กลุ่มควบคุม และ โซเดียมซิเตรตตามลำดับ ( $P < 0.001$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุพบว่าการบรรจุแบบสุญญากาศมีค่าความแข็งสูงกว่าการบรรจุแบบมีอากาศ และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่ามีค่าความแข็งลดลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ( $P < 0.001$ ) ซึ่งการศึกษาของ Liu *et al.* (2010) ได้กล่าวไว้ว่าคุณสมบัติของ EPS ช่วยในการเกิดเจล และเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ ซึ่งในการศึกษาในครั้งนี้พบว่ากลุ่มที่เติม EPS-LB23 มีค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์และค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุกน้อยกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3 ทำให้ส่งผลต่อค่าความแข็งตัวของผลิตภัณฑ์ทำให้กลุ่มที่เติม EPS-LB23 มีค่าความแข็งตัวสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ด้วยเช่นกัน และในการศึกษาค่าความสามารถในการเกาะรวมตัวกัน (Cohesiveness, ratio) พบว่า EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% และ 0.18% มีค่าความสามารถในการเกาะรวมตัวกันสูงสุดรองลงมาคือกลุ่มควบคุม และ โซเดียมซิเตรตตามลำดับ ( $P < 0.001$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่ามีค่าความสามารถในการเกาะรวมตัวกันลดลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ( $P < 0.001$ ) ในการศึกษาค่าความเหนียวคล้ายยาง (Gumminess, N) พบว่า EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% และ 0.18% มีค่าความเหนียวคล้ายยางสูงสุดรองลงมาคือกลุ่มควบคุม และ โซเดียมซิเตรตตามลำดับ ( $P < 0.001$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่ามีค่าความเหนียวคล้ายยางลดลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ( $P < 0.001$ ) และในการศึกษาค่าความยืดหยุ่น (Springiness, ratio) พบว่าทุกกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุพบว่าการบรรจุแบบมีอากาศมีค่าความยืดหยุ่นสูงกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่ามีค่าความยืดหยุ่น ลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ( $P < 0.01$ ) และในการศึกษาค่าความเคี้ยวได้ (Chewiness, N) พบว่า EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% และ 0.18% มีค่าความเคี้ยวได้สูงสุดรองลงมาคือกลุ่มควบคุม และ โซเดียมซิเตรตตามลำดับ ( $P < 0.001$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่ามีค่าความเคี้ยวได้ลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ( $P < 0.01$ ) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Zhao *et al.* (2019) พบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นทำให้ค่าความแข็ง ค่าความยืดหยุ่น ค่าความเคี้ยวได้ของเนื้อหมูที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าลดลงตลอดระยะเวลาในการเก็บ

จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียก่อโรค และแบคทีเรียเน่าเสียได้ดีกว่าในกลุ่มทดลองอื่นๆ และคุณภาพทางด้านเคมีกายภาพดีกว่าในกลุ่มทดลองอื่นๆ ดังนั้นจึงเลือกใช้ EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% ในการศึกษาต่อไป และเนื่องจากการศึกษาของ Fengou *et al.*, 2019 พบว่าในการเก็บรักษาเนื้อหมูปอดที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียสทำให้เชื้อ *Pseudomonas* spp., *Brochothrix thermosphacta* และ Lactic acid bacteria เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วส่งผลต่อการเสื่อมเสียของเนื้อหมูปอดจึงนำไปสู่การทดลองที่ 2



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 คุณภาพทางเคมีกายภาพในผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรสที่บรรจุแบบมีอากาศเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มตัวอย่าง (T)					ระยะเวลาในการเก็บรักษา					P-value		
	Control	Citrate	EPS LB23 0.18%	EPS LB 0.25%	SEM	0	2	4	6	SEM	T	D	Interaction
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	6.16 <sup>b</sup>	6.26 <sup>a</sup>	6.15 <sup>c</sup>	6.15 <sup>c</sup>	0.00	6.35 <sup>a</sup>	6.23 <sup>b</sup>	6.20 <sup>c</sup>	5.94 <sup>d</sup>	0.00	0.000	0.000	0.067
ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (%)													
ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการเก็บรักษา	6.00 <sup>b</sup>	6.85 <sup>a</sup>	5.71 <sup>b</sup>	4.55 <sup>c</sup>	0.17	-	3.56 <sup>c</sup>	5.76 <sup>b</sup>	8.01 <sup>a</sup>	0.15	0.000	0.000	0.096
ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุก	7.29 <sup>a</sup>	7.51 <sup>a</sup>	5.89 <sup>b</sup>	4.95 <sup>c</sup>	0.14	6.78 <sup>b</sup>	5.86 <sup>c</sup>	7.18 <sup>a</sup>	5.82 <sup>c</sup>	0.14	0.000	0.000	0.548
ค่าสี													
ความสว่าง	54.30 <sup>ab</sup>	54.69 <sup>a</sup>	53.92 <sup>b</sup>	53.91 <sup>b</sup>	0.18	53.46 <sup>c</sup>	53.88 <sup>bc</sup>	54.32 <sup>b</sup>	55.17 <sup>a</sup>	0.18	0.013	0.000	0.999
ค่าสีแดง	5.03 <sup>b</sup>	4.90 <sup>c</sup>	5.30 <sup>a</sup>	5.31 <sup>a</sup>	0.04	5.41 <sup>a</sup>	5.22 <sup>b</sup>	5.00 <sup>c</sup>	4.90 <sup>d</sup>	0.04	0.000	0.000	0.072
ค่าสีเหลือง	9.40	9.39	9.45	9.48	0.13	10.42 <sup>a</sup>	9.47 <sup>b</sup>	9.15 <sup>b</sup>	8.69 <sup>c</sup>	0.13	0.952	0.000	0.922
ค่าองศาของสี	61.83 <sup>ab</sup>	62.44 <sup>a</sup>	60.67 <sup>b</sup>	60.65 <sup>b</sup>	0.39	62.53 <sup>a</sup>	61.12 <sup>b</sup>	61.27 <sup>b</sup>	60.67 <sup>b</sup>	0.39	0.006	0.015	0.553
ค่าความสดใของสี	10.66	10.59	10.83	10.87	0.11	11.74 <sup>a</sup>	10.81 <sup>b</sup>	10.44 <sup>c</sup>	9.97 <sup>d</sup>	0.11	0.218	0.000	0.707
ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม													
ค่าความแข็ง (N)	8.44 <sup>b</sup>	8.18 <sup>b</sup>	9.38 <sup>a</sup>	9.66 <sup>a</sup>	0.18	9.90 <sup>a</sup>	9.42 <sup>a</sup>	8.75 <sup>b</sup>	7.59 <sup>c</sup>	0.18	0.000	0.000	0.513
ค่าการเกาะรวมตัว (ratio)	0.69 <sup>bc</sup>	0.69 <sup>c</sup>	0.71 <sup>ab</sup>	0.72 <sup>a</sup>	0.01	0.74 <sup>a</sup>	0.71 <sup>b</sup>	0.69 <sup>c</sup>	0.67 <sup>d</sup>	0.01	0.006	0.000	0.942
ค่าความเหนียวคล้ายยาง (N)	6.67 <sup>b</sup>	6.54 <sup>b</sup>	7.12 <sup>a</sup>	7.25 <sup>a</sup>	0.13	7.23 <sup>a</sup>	6.99 <sup>ab</sup>	6.79 <sup>bc</sup>	6.57 <sup>c</sup>	0.13	0.000	0.004	0.939
ค่าความยืดหยุ่น (ratio)	0.85	0.86	0.85	0.86	0.00	0.86	0.84	0.85	0.86	0.01	0.856	0.254	0.922
ค่าความเคี้ยวได้ (N)	5.68 <sup>b</sup>	5.60 <sup>b</sup>	6.08 <sup>a</sup>	6.20 <sup>a</sup>	0.12	6.21 <sup>a</sup>	5.93 <sup>ab</sup>	5.78 <sup>c</sup>	5.63 <sup>d</sup>	0.12	0.000	0.004	0.865

† ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 4.3 คุณภาพทางเคมีกายภาพในผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรสที่บรรจุแบบสุญญากาศเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	กลุ่มตัวอย่าง (T)					ระยะเวลาในการเก็บรักษา					P-value		
	Control	Citrate	EPS LB23 0.18%	EPS LB23 0.25%	SEM	0	2	4	6	SEM	T	D	Interaction
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	6.08 <sup>b</sup>	6.19 <sup>a</sup>	6.06 <sup>d</sup>	6.07 <sup>c</sup>	0.00	6.35 <sup>a</sup>	6.21 <sup>b</sup>	5.95 <sup>c</sup>	5.89 <sup>d</sup>	0.00	0.000	0.000	0.061
ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (%)													
ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลัง การเก็บรักษา	5.57 <sup>b</sup>	6.31 <sup>a</sup>	5.07 <sup>c</sup>	3.75 <sup>d</sup>	0.07	-	3.28 <sup>c</sup>	5.28 <sup>b</sup>	6.97 <sup>a</sup>	0.06	0.000	0.000	0.073
ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลัง การปรุงสุก	7.37 <sup>a</sup>	7.55 <sup>a</sup>	5.78 <sup>b</sup>	4.78 <sup>c</sup>	0.11	6.78 <sup>b</sup>	5.69 <sup>c</sup>	7.11 <sup>a</sup>	5.90 <sup>c</sup>	0.11	0.000	0.000	0.054
ค่าสี													
ความสว่าง	54.05	54.31	53.98	53.89	0.14	53.11 <sup>d</sup>	53.62 <sup>c</sup>	54.35 <sup>b</sup>	55.17 <sup>a</sup>	0.14	0.208	0.000	0.396
ค่าสีแดง	5.21 <sup>b</sup>	5.04 <sup>c</sup>	5.30 <sup>a</sup>	5.35 <sup>a</sup>	0.03	5.41 <sup>a</sup>	5.30 <sup>b</sup>	5.16 <sup>c</sup>	5.04 <sup>d</sup>	0.03	0.000	0.000	0.064
ค่าสีเหลือง	8.97	8.85	9.13	9.05	0.22	10.06 <sup>d</sup>	9.07 <sup>b</sup>	8.53 <sup>bc</sup>	8.33 <sup>c</sup>	0.22	0.840	0.000	0.986
ค่าองศาของสี	59.66	60.14	59.58	59.25	0.68	61.70 <sup>a</sup>	59.59 <sup>b</sup>	58.70 <sup>b</sup>	58.65 <sup>b</sup>	0.68	0.827	0.010	0.982
ค่าความสดใสของสี	10.38	10.19	10.57	10.52	0.19	11.42 <sup>a</sup>	10.51 <sup>b</sup>	9.98 <sup>bc</sup>	9.75 <sup>c</sup>	0.19	0.510	0.000	0.968
ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม													
ค่าความแข็ง (N)	8.91 <sup>b</sup>	8.68 <sup>b</sup>	9.71 <sup>a</sup>	10.00 <sup>a</sup>	0.15	9.90 <sup>a</sup>	9.72 <sup>a</sup>	9.04 <sup>b</sup>	8.63 <sup>b</sup>	0.15	0.000	0.000	0.531
ค่าการเกาะรวมตัว (ratio)	0.70 <sup>b</sup>	0.69 <sup>c</sup>	0.72 <sup>a</sup>	0.72 <sup>a</sup>	0.02	0.74 <sup>a</sup>	0.72 <sup>b</sup>	0.70 <sup>b</sup>	0.68 <sup>c</sup>	0.02	0.015	0.000	0.954
ค่าความเหนียวคล้ายยาง (N)	6.73 <sup>b</sup>	6.54 <sup>b</sup>	7.24 <sup>a</sup>	7.37 <sup>a</sup>	0.16	7.23 <sup>a</sup>	7.08 <sup>ab</sup>	6.89 <sup>ab</sup>	6.70 <sup>b</sup>	0.16	0.001	0.115	0.908
ค่าความยืดหยุ่น (ratio)	0.85	0.85	0.84	0.85	0.01	0.86 <sup>a</sup>	0.84 <sup>b</sup>	0.84 <sup>b</sup>	0.85 <sup>ab</sup>	0.01	0.699	0.003	0.912
ค่าความเคี้ยวได้ (N)	5.69 <sup>b</sup>	5.56 <sup>b</sup>	6.11 <sup>a</sup>	6.25 <sup>a</sup>	0.14	6.21 <sup>a</sup>	5.93 <sup>ab</sup>	5.79 <sup>b</sup>	5.68 <sup>b</sup>	0.14	0.001	0.050	0.895

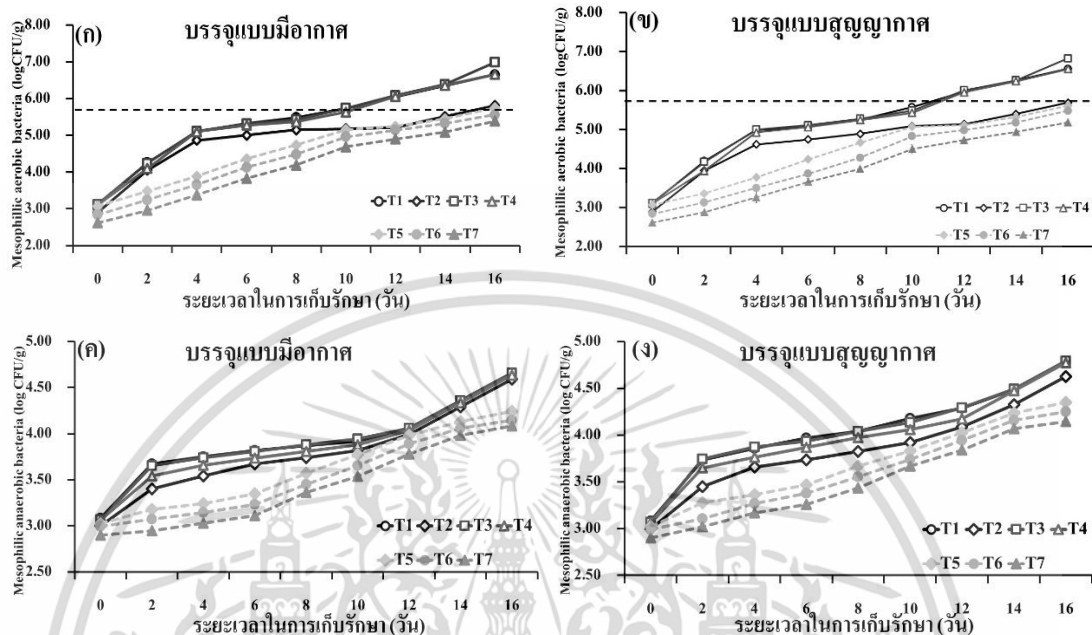
† ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

## 4.2 การทดลองที่ 2 ผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* LB23 ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรส

### 4.2.1 การเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพทางจุลินทรีย์

จากการศึกษาการประยุกต์ใช้ EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* LB23 ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรส กลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรตความเข้มข้น 1.5% (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T3), โซเดียมซิเตรตความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% (T5), 0.31% (T6) และ 0.37% (T7) ตามลำดับ ที่มีการบรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน Mesophilic aerobic bacteria ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P > 0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 5 และ 6 จากการศึกษาพบว่าเนื้อหมูปปรุงรสทุกกลุ่ม มีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นอยู่ในช่วง 2.62-3.12 log CFU/กรัม โดยกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.31% และ 0.37% มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่าในกลุ่มการทดลองอื่นๆ เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์พบว่า การเติม EPS-LB23 สามารถชะลอการเจริญของ Mesophilic aerobic bacteria ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรสได้ โดยที่ผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรสที่มีการบรรจุแบบมีอากาศ EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.31% และการบรรจุแบบสุญญากาศ EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% มีอายุการเก็บรักษาอย่างน้อย 16 วัน ภาพที่ 4.10 ก และข เนื่องจากจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำกว่ามาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช. 6000-2547) ซึ่งจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 5.70 log CFU/กรัม (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2547) ในขณะที่การบรรจุแบบมีอากาศและการบรรจุแบบสุญญากาศในกลุ่มควบคุม, กรดแอสคอร์บิก, และโซเดียมซิเตรตร่วมกับกรดแอสคอร์บิกยืดอายุการเก็บรักษาได้เพียง 10 วัน และกลุ่มโซเดียมซิเตรตสามารถยืดอายุการเก็บได้ 14 วัน เมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ พบว่าจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษาแต่อย่างไรก็ตามกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.31% และ 0.37% มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ในการศึกษาจุลินทรีย์ Mesophilic anaerobic bacteria พบว่ากลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ทั้ง 3 ความเข้มข้น ที่ทำการบรรจุแบบมีอากาศและการบรรจุแบบสุญญากาศสามารถชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ได้จนถึงวันที่ 16 ของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ภาพที่ 4.10 ค และ ง ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่าในกลุ่มโซเดียมซิเตรตความเข้มข้น 1.5%, โซเดียมซิเตรตความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1%, กลุ่มควบคุม และกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% ตามลำดับ ( $P < 0.001$ ) อาจมาจากกลไกการทำงานของ EPS โดยในการศึกษาของ Li *et al.* (2014b) พบว่า EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* WBIN03 และ

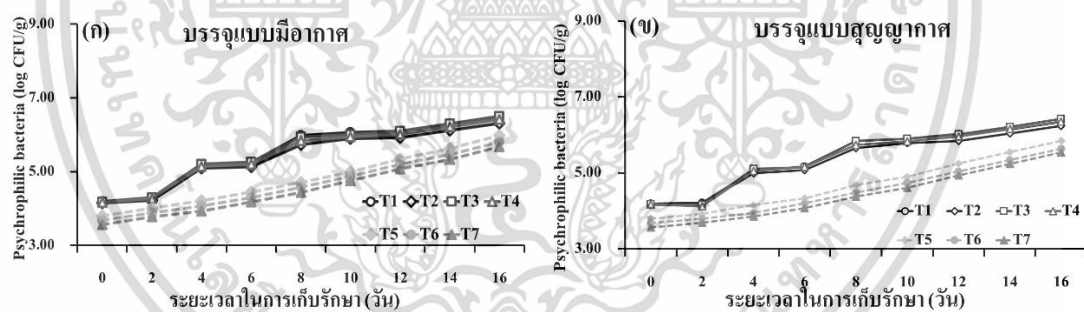
*Lactobacillus plantarum* R315 มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยการรบกวนผนังเซลล์และเชื้อหุ้มไซโทพลาสซึม ส่งผลต่อการย่อยสลาย DNA ทำให้การแบ่งเซลล์ของจุลินทรีย์ลดลง



ภาพที่ 4.10 จำนวนของจุลินทรีย์ Mesophilic aerobic bacteria (ก และข) ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ, จำนวนของจุลินทรีย์ Mesophilic anaerobic bacteria (ค และง) ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรตความเข้มข้น 1.5% (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T3), โซเดียมซิเตรตความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% (T5), 0.31% (T6) และ 0.37% (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน

ในทำนองเดียวกันการศึกษาด้านจุลินทรีย์ Psychrophilic bacteria ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรตความเข้มข้น 1.5% (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T3), โซเดียมซิเตรตความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% (T5), 0.31% (T6) และ 0.37% (T7) ที่ทำการบรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลองและระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P > 0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 5 และ 6 พบว่ากลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25%, 0.31% และ 0.37% ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสสามารถชะลอการเจริญของ Psychrophilic bacteria ได้แสดงในภาพที่ 4.11 โดยที่การบรรจุแบบมีอากาศกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% และ 0.31% สามารถควบคุมเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

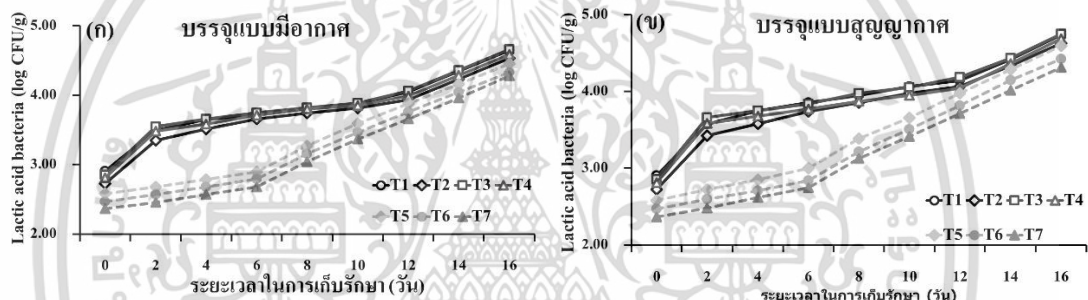
จุลินทรีย์ได้ถึงวันที่ 14 และความเข้มข้น 0.37% ควบคุมจุลินทรีย์ได้จนถึงวันที่ 16 ในขณะที่การบรรจุแบบสุญญากาศในกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% สามารถควบคุมจุลินทรีย์ได้จนถึงวันที่ 14 เช่นกันแต่ในความเข้มข้น 0.31% และ 0.37% สามารถควบคุมเชื้อได้จนถึงวันที่ 16 ของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ จากการศึกษาในช่วงต้นพบว่าผลิตภัณฑ์ที่บรรจุแบบมีอากาศมีจำนวนจุลินทรีย์สูงกว่าแบบสุญญากาศโดย Kamenik (2013) ได้กล่าวไว้ว่าเนื้อสัตว์สามารถเน่าเสียได้อย่างรวดเร็วภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนสาเหตุนี้เกิดจากการเจริญของ pseudomonades ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Psychrotrophs เช่น *Pseudomonas fragi*, *P. lundensis*, *P. putida* และ *P. fluorescens* โดย *P. fluorescens* มักพบบ่อยในเนื้อสดแต่เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นพบว่าเชื้อ *P. fragi* มีจำนวนจุลินทรีย์มากกว่าซึ่งถือว่ามีความสำคัญในการเน่าเสียของเนื้อสัตว์ และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์พบว่าจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25%, 0.31% และ 0.37% สามารถควบคุมจุลินทรีย์ได้จนถึงวันที่ 14 และ 16 ของการเก็บรักษาซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Wu *et al.* (2010) พบว่า EPS ที่ผลิตจาก *Bifidobacterium longum* มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียถูกยับยั้งโดย EPS แสดงให้เห็นว่าทำให้การแบ่งตัวของจุลินทรีย์ลดลง



ภาพที่ 4.11 จำนวนของจุลินทรีย์ Psychrophilic bacteria ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5% (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T3), โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% (T5), 0.31% (T6) และ 0.37% (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข)

ในการศึกษาแบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสทั้ง 7 กลุ่มทดลองที่บรรจุแบบมีอากาศ และบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษา เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์ (P>0.05) ตารางภาคผนวกที่ 5 และ 6 ซึ่งจากการศึกษาพบว่าทั้ง 3 กลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 สามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกได้จนถึงวันที่ 16 ของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่ทำการบรรจุแบบมีอากาศ และทำการบรรจุแบบสุญญากาศ ได้แสดงในภาพที่ 4.12 ก และข โดยการศึกษาของ Nehal *et al.* (2019) ได้รายงานไว้ว่า EPS ที่ผลิตจากเชื้อ *Lactococcus lactis* F-mou ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Candida albicans*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Listeria monocytogenes* ซึ่งมีแนวโน้มเดียวกับการศึกษาของ HE *et al.* (2010) พบว่าการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยมีสาเหตุจาก EPS โดยการเข้าไปทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ และเยื่อหุ้มไซโทพลาสซึมส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ยอมให้สารผ่านนำไปสู่การการสลายตัวของโปรตีนและการรั่วไหลของโมเลกุลที่จำเป็นของจุลินทรีย์



ภาพที่ 4.12 จำนวนของจุลินทรีย์ Lactic acid bacteria ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% (T5), 0.31% (T6) และ 0.37% (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข)

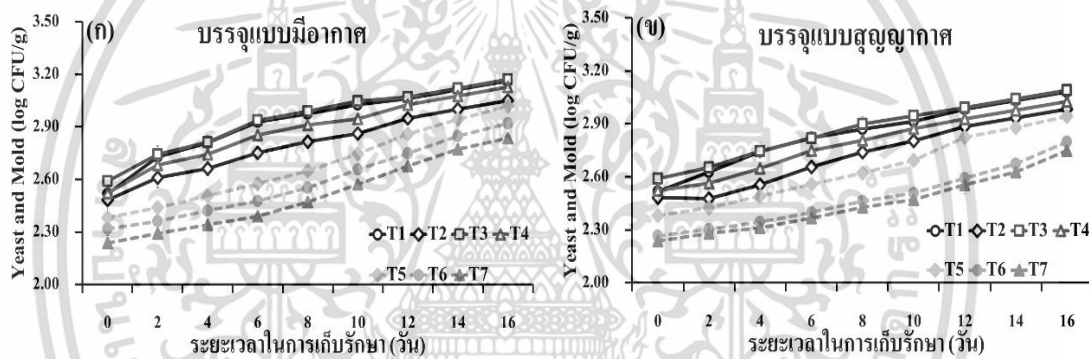
ในการศึกษาฮิสต์และราแสดงในภาพที่ 4.13 ก และข ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสทั้ง 7 กลุ่มทดลอง ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ (P>0.05) ตารางภาคผนวกที่ 5 และ 6 พบว่ากลุ่มทดลองที่มีการเติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25%, 0.31% และ 0.37% มีจำนวนจุลินทรีย์เหล่านี้น้อยกว่ากลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรท, กรดแอสคอร์บิก และโซเดียมซิเตรทร่วมกับกรดแอสคอร์บิก ตามลำดับ (P<0.001) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์พบว่าการบรรจุแบบสุญญากาศกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23

ความเข้มข้น 0.31% และ 0.37% ยังสามารถชะลอการเจริญของฮิสต์และราได้ดีกว่าการบรรจุแบบมีอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ไม่สามารถนำออกเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อากาศ และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์พบว่าปริมาณยีสต์และราเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา ( $P < 0.001$ ) แต่อย่างไรก็ตาม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.31% และ 0.37% มีปริมาณยีสต์และราน้อยกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา ซึ่งในการทดลองของ HE *et al.* (2010) พบว่า EPS *Streptomyces virginia* H03 ความเข้มข้น 125  $\mu\text{g/ml}$  สามารถยับยั้ง *Zygosaccharomyces bailii* และ *Candida utilis* ซึ่งมีบริเวณการยับยั้งอยู่ที่ 28.5 และ 29.1 มม. ตามลำดับ โดย EPS อาจทำลายผนังเซลล์และเยื่อหุ้มไซโทพลาสซึมนำไปสู่การสลายตัวของโปรตีนและการรั่วไหลของโมเลกุลที่จำเป็นส่งผลทำให้เซลล์จุลินทรีย์ตาย ยิ่งไปกว่านั้นยังมีผลต่อการย่อยสลาย DNA หลังจากที่ EPS ได้เข้าสู่เซลล์จุลินทรีย์ ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้หลายประการที่ EPS จะมีผลต่อจุลินทรีย์ ได้แก่ ผนังเซลล์เยื่อหุ้มไซโทพลาสซึมและ DNA ซึ่งอาจส่งผลให้จุลินทรีย์ไม่สามารถป้องกันเซลล์ได้



ภาพที่ 4.13 จำนวนของจุลินทรีย์ยีสต์-รา ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% (T5), 0.31% (T6) และ 0.37% (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข)

นอกจากนี้ในการศึกษาผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสทั้ง 7 กลุ่มทดลอง ที่ทำการบรรจุแบบมีอากาศ และบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคซึ่งได้แก่เชื้อ *S. aureus*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* และ *E. coli* ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์แต่ตรวจพบการเจริญของโคลิฟอร์มดังแสดงในตารางที่ 4.4 และ 4.5 โดยวันสุดท้ายของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสกลุ่มที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25%, 0.31% และ 0.37% พบจำนวนโคลิฟอร์มน้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 14, 11 และ 11 MPN/g ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ เนื้อสุกร (มกอช.

6000-2547) ในขณะที่วันสุดท้ายของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรท, กรดแอสคอร์บิก และโซเดียมซิเตรทร่วมกับกรดแอสคอร์บิก ในการบรรจุแบบมีอากาศมีจำนวนโคลิฟอร์มมีค่าอยู่ที่ 75, 43, 75 และ 64 MPN/g ตามลำดับ ซึ่งมีจำนวน โคลิฟอร์มสูงกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศโดยมีค่าอยู่ที่ 64, 38, 64 และ 43 MPN/g ตามลำดับได้แสดงในตารางที่ 4.4 และ 4.5 โดยการศึกษา Gadekar *et al.* (2014) ได้กล่าวไว้ว่า โคลิฟอร์มเป็นจุลินทรีย์ที่บ่งบอกถึงความสะอาดขณะทำการผลิตผลิตภัณฑ์ จึงจำเป็นต้องมีการตรวจสอบเพื่อยืนยันความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ และในการศึกษาของ Wu *et al.* (2010) ที่รายงานว่าการผลิตจากเชื้อ *Bifidobacterium longum* BCRC 14634 ที่ทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค และแบคทีเรียเน่าเสีย ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก 4 ชนิด และแบคทีเรียแกรมลบ 3 ชนิด ดังต่อไปนี้ *E. coli*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *V. parahaemolyticus*, *S. aureus*, *B. subtilis* and *B. cereus* โดยที่ EPS ความเข้มข้น 80 ug/ml สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 7 ชนิดได้และในการศึกษาของ Mohamed *et al.* (2018) ที่พบว่า EPS มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* โดยการลดการแบ่งเซลล์ของจุลินทรีย์กลุ่มนี้

ตารางที่ 4.4 จำนวนโคลิฟอร์มในผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรสที่บรรจุแบบมีอากาศอุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 วัน

Coliform (MPN/g)	หมูปปรุงรส						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
วันที่ 0	3	0	3	0	0	0	0
วันที่ 2	6.2	0	6.2	6.2	0	0	0
วันที่ 4	9.4	6.2	9.4	7.4	3	3	3
วันที่ 6	15	9.4	16	11	3.6	3	3
วันที่ 8	20	14	23	16	6.1	3.6	3.6
วันที่ 10	27	20	29	23	6.2	6.1	6.1
วันที่ 12	36	27	36	29	7.4	7.2	7.2
วันที่ 14	43	35	43	38	9.4	9.2	9.2
วันที่ 16	75	43	75	64	14	11	11

<sup>1</sup>หมูปปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 จำนวนโคลิฟอร์มในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสที่บรรจุแบบสุญญากาศ อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน

Coliform (MPN/g)	หมูปดปรุงรส						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
วันที่0	3	0	3	0	0	0	0
วันที่2	6.1	0	6.2	0	0	0	0
วันที่4	9.2	6.1	9.2	7.2	3	3	3
วันที่6	14	9.2	14	11	3.6	3	3
วันที่8	16	11	20	14	6.1	3.6	3.6
วันที่10	23	16	27	20	6.2	6.1	6.1
วันที่12	28	23	35	27	7.4	7.2	7.2
วันที่14	38	29	38	35	9.4	9.2	9.2
วันที่16	64	38	64	43	14	11	11

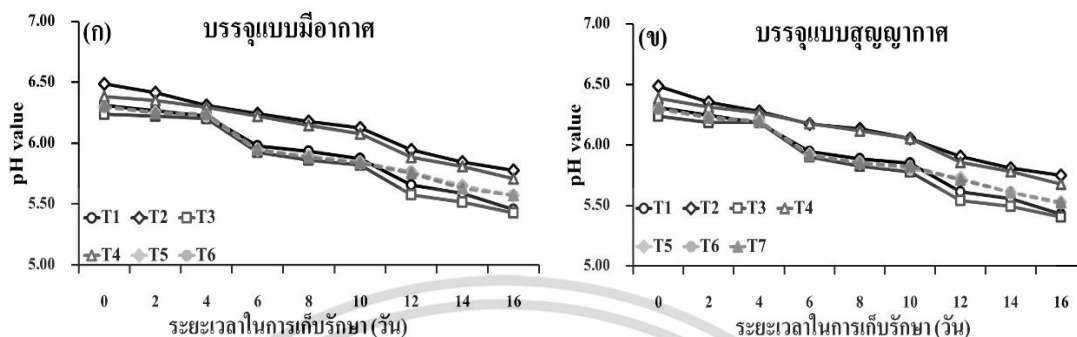
หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7)

#### 4.2.2 คุณภาพทางกายภาพ

จากการศึกษาผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสโดยแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 7 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% (T2), กรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 0.1% (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% (T5), 0.31% (T6) และ 0.37% (T7) บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน อีกทั้งไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P>0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 7 และ 8 โดยค่าคุณภาพทางเคมีกายภาพที่ได้วิเคราะห์เมื่อพิจารณาปัจจัยกลุ่มทดลองของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสต่อคุณลักษณะทางด้านค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่แสดงในภาพที่ 4.15g และพบว่ามีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงที่สุด รองลงมาคือโซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1%, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25%, 0.31%, 0.37%, กลุ่มควบคุม และกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% ตามลำดับ ( $P<0.001$ ) เมื่อพิจารณาปัจจัยวิธีการบรรจุไม่แตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาปัจจัยระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์พบว่าเมื่อระยะเวลาใดการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ทำให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา ( $P<0.001$ ) ซึ่งสอดคล้องกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาของ *Sojić et al. (2020)* และ *Pateiro et al. (2018)* พบว่าเนื้อหมูปดในกุ่มควบคุมมีค่า pH ลดลง โดยอาจเป็นผลมาจากการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลกติก



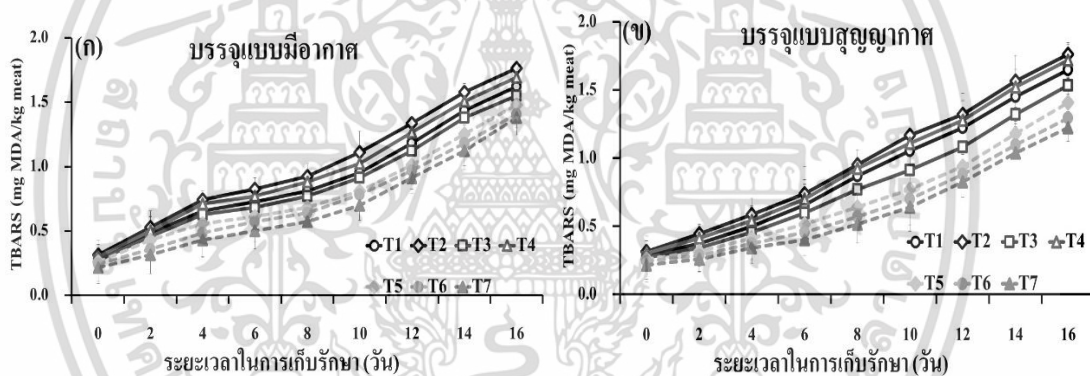
ภาพที่ 4.14 ค่าความเป็นกรด-ด่างในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 1.5% (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% (T5), 0.31% (T6) และ 0.37% (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข)

เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านกลุ่มทดลองของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรส 7 กลุ่มต่อคุณลักษณะทางการออกซิเดชันของไขมัน (Thio barbituric acid reactive substances; TBARS) ได้แสดงภาพที่ 4.15 บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาอุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ซึ่งในการศึกษารั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P > 0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 7 และ 8 ในการเกิดออกซิเดชันของไขมันก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ไม่พึงประสงค์ในคุณลักษณะทางด้านรสชาติ สี และเนื้อสัมผัส (Cunha *et al.* 2018) โดย Cullere *et al.* (2019) และ Dal Bosco *et al.* (2019) ได้กล่าวไว้ว่าเนื้อปดเกิดการออกซิไดซ์ได้เร็ว เนื่องจากการบดจะทำให้เนื้อหุ้มกล้ามเนื้อแตกตัว และเป็นการเร่งปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลของโปรออกซิแดนซ์และสารประกอบไม่อิ่มตัว ในการศึกษารั้งนี้พบว่ากลุ่มทดลองโซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% มีค่าการออกซิเดชันของไขมันสูงที่สุดรองลงมาคือ โซเดียมซิเตรทร่วมกับกรดแอสคอร์บิก, กลุ่มควบคุม, กรดแอสคอร์บิก, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25%, 0.13% และ 0.37% ตามลำดับ ( $P < 0.001$ ) โดย Li *et al.* (2014b) ได้กล่าวไว้ว่าการเกิดออกซิเดชันเป็นกระบวนการเสื่อมสภาพของกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่เกิดจากสารอนุมูลอิสระ ซึ่งในงานวิจัยปัจจุบันพบว่า  $FE_2^+$  ทำให้เกิดการผลิตสารอนุมูลอิสระและ Malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกถึงการเกิดออกซิเดชัน

ของไขมันและยังพบว่า EPS ที่ผลิตจาก *Bifidobacterium bifidum* WBIN03 และ *Lactobacillus* เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

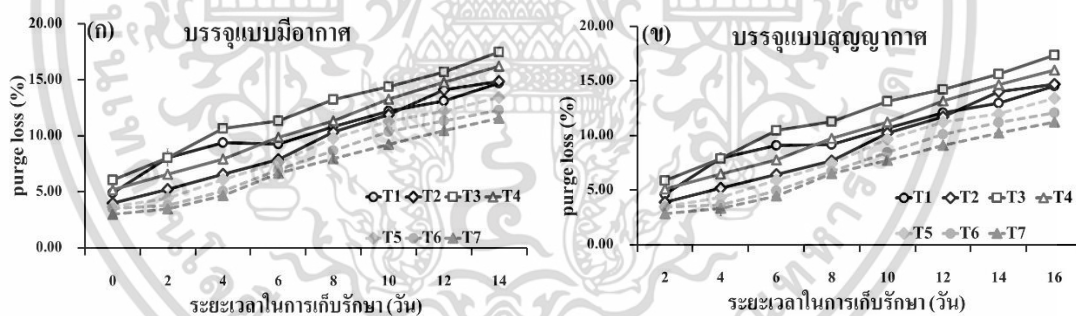
*plantarum* R315 ความเข้มข้น 0.10, 0.50, 1.00 และ 1.50 mg/ml มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันสอดคล้องกับการศึกษาของ Xu *et al.* (2011a) และ Xu *et al.* (2011b) พบว่า EPS ที่ผลิตจาก *Bifidobacterium animalis* RH ความเข้มข้น 0.1 mg/ml มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์พบว่า การบรรจุแบบมีอากาศมีค่าการออกซิเดชันของไขมันสูงกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ พบว่าค่าการออกซิเดชันของไขมันเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น ( $P < 0.001$ ) ซึ่งในการศึกษาของ Šojić *et al.* (2020) ได้กล่าวไว้ว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นทำให้ค่าออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเกิดออกซิเดชันของไขมันในตัวอย่างที่เพิ่มขึ้นน่าจะเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase) และในการศึกษาของ Brodowska *et al.* (2016) ได้กล่าวไว้ว่ากระบวนการแปรรูปเนื้อสัตว์และระยะเวลาในการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นส่งผลทำให้การออกซิเดชันเพิ่มขึ้นด้วย



ภาพที่ 4.15 ค่าการออกซิเดชันของไขมันในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 1.5% (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% (T5), 0.31% (T6) และ 0.37% (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข)

เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านกลุ่มทดลองของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรส 7 กลุ่ม ต่อคุณลักษณะทางด้านค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ (Purge loss) ได้แสดงในภาพที่ 4.16 ก และข บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน และในการศึกษาในครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P > 0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 7 และ 8 พบว่ากลุ่มกรดแอสคอร์บิก มีค่าการสูญเสียเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

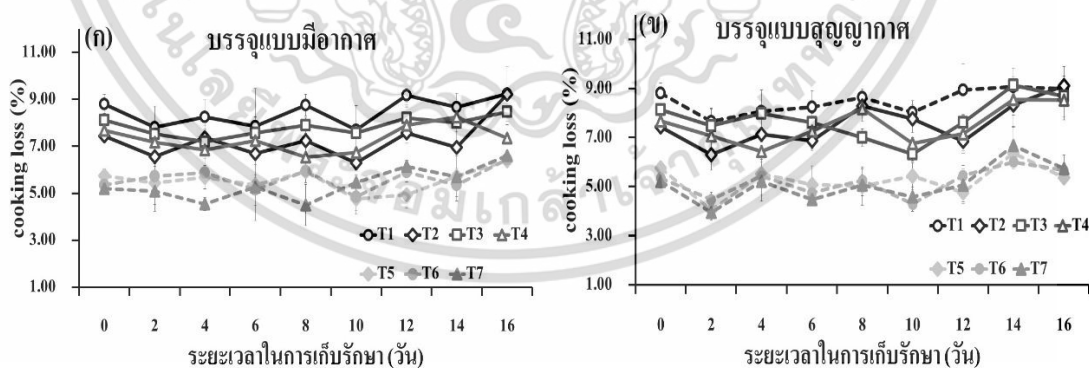
น้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สูงสุด รองลงมาคือ โซเดียมซิเตรทร่วมกับกรดแอสคอร์บิก, กลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรท, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25%, 0.31% และ 0.37% ตามลำดับ ( $P < 0.001$ ) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ahmed *et al.* (2013) พบว่า EPS ที่ผลิตจาก *Lactobacillus kefirnofaciens* ZW3 มีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ เนื่องจาก EPS มีคุณสมบัติในการละลายน้ำสามารถเก็บน้ำได้จำนวนมากด้วยพันธะไฮโดรเจน เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์พบว่าการบรรจุแบบมีอากาศมีค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาสูงกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่สูงขึ้นอาจเนื่องมาจากค่า pH ที่ลดลงส่งผลทำให้ปริมาณน้ำในบรรจุภัณฑ์เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่าโปรตีนไม่สามารถกักเก็บน้ำไว้ในผลิตภัณฑ์ได้ (Claus *et al.* 1990) และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ก็เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน ( $P < 0.001$ ) ซึ่งค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาจทำให้อายุการเก็บรักษาลดลง และส่งผลต่อลักษณะภายนอกทำให้ไม่เป็นที่น่าสนใจของผู้บริโภค (Shand 1999) แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาในครั้งนี้พบว่ากลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.31% และ 0.37% มีค่าการสูญเสียน้อยกว่าในกลุ่มทดลองอื่นๆ ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์



ภาพที่ 4.16 ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในผลิตภัณฑ์หมูปปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 1.5% (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% (T5), 0.31% (T6) และ 0.37% (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข)

เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านกลุ่มทดลองของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรส 7 กลุ่มต่อคุณลักษณะทางด้านค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุก (Cooking loss) ได้แสดงในภาพที่ 4.17 ก และข บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ในการศึกษาในเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P>0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 7 และ 8 พบว่ากลุ่มควบคุมมีค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุกมากที่สุด รองลงมาคือกรดแอสคอร์บิก, โซเดียมซิเตรท, โซเดียมซิเตรทร่วมกับกรดแอสคอร์บิก, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25%, 0.31% และ 0.37% ตามลำดับ ( $P<0.001$ ) เนื่องจาก EPS มีคุณสมบัติในการละลายน้ำและมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ดี โดยโครงสร้างของโพลีเมอร์จะกักเก็บน้ำผ่านพันธะไฮโดรเจน (Maina *et al.* 2008) โดยจะสังเกตได้จากการศึกษาครั้งนี้ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ พบว่ากลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.31% และ 0.37% มีค่าการสูญเสียใกล้เคียงกันตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาและน้อยกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ และเมื่อนำมาปรุงสุกก็ยังมีค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุกน้อยกว่าในกลุ่มทดลองอื่นๆ ด้วยเช่นกัน โดยในการศึกษาของ Kodali *et al.* (2009) พบว่า EPS ที่ผลิตจาก *Bacillus coagulans* RK-02 ที่แยกได้จากดินสามารถผลิต EPS ที่มีมวลโมเลกุลสูงและเป็นโพลีเมอร์สายยาว ซึ่งมีศักยภาพสูงในอุตสาหกรรมอาหารเป็นสารให้ความหนืด, ให้ความคงตัว และเป็นสารอิมัลชันที่ดี ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในอาหาร เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุในการศึกษาครั้งนี้พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุกเพิ่มขึ้น ( $P<0.001$ ) โดยการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุกคือ ของเหลวและสารละลายที่สูญเสียไปจากเนื้อสัตว์ระหว่างการปรุงสุก (Aaslyng *et al.* 2003) เนื่องจากการให้ความร้อน โดยโปรตีนในเนื้อสัตว์จะเสียสภาพธรรมชาติ ดังนั้นจึงเป็นสาเหตุของการเปลี่ยนแปลงของลักษณะเนื้อสัมผัส โดยจะส่งผลต่อการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เส้นใยเนื้อสัตว์เกิดการหดตัว (Pathare and Roskilly 2016)



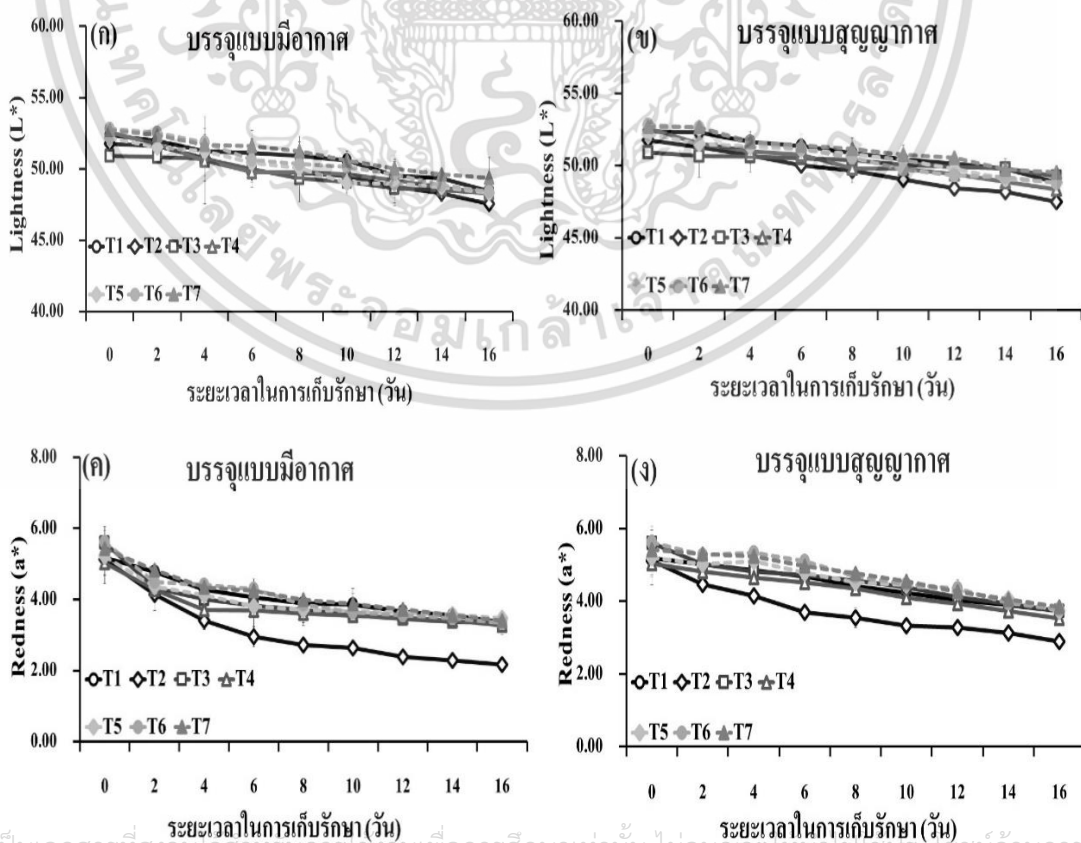
ภาพที่ 4.17 ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุก ในผลิตภัณฑ์หมูปบปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% (T5), 0.31% (T6) และ 0.37% (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (ก และข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

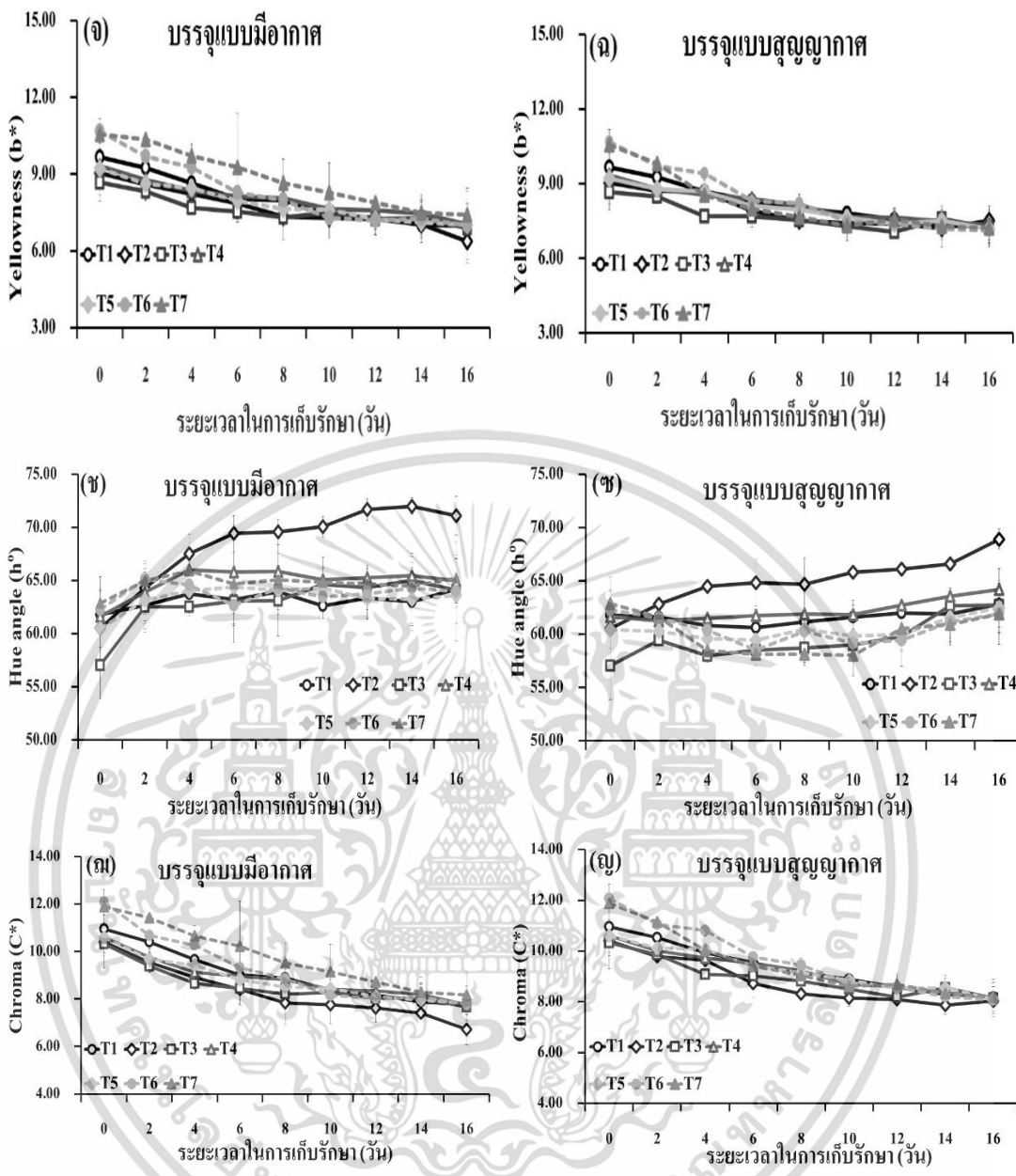
เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านกลุ่มทดลองของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรส 7 กลุ่มต่อคุณลักษณะทางด้านค่าสีได้แสดงในภาพที่ 4.18 ในการศึกษาไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลอง และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P>0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 7 และ 8 พบว่ากลุ่มกรดแอสคอร์บิกมีค่าความสว่างมากที่สุด รองลงมาคือ โซเดียมซิติเรทร่วมกับกรดแอสคอร์บิก, กลุ่มควบคุม, โซเดียมซิติเรท, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25%, 0.31% และ 0.37% ตามลำดับ ( $P<0.001$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุผลิตภัณฑ์พบว่าการบรรจุแบบมีอากาศมีค่าสูงกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ พบว่าค่าความสว่างเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ( $P<0.001$ ) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Pogorzelska-nowicka *et al.* (2019) ที่รายงานว่าค่าความสว่างเพิ่มขึ้นเนื่องจากโครงสร้างของเซลล์เกิดความเสียหายทำให้น้ำออกจากเซลล์ส่งผลให้ทำให้ค่าสว่างเพิ่มมากขึ้นเป็นผลจากการสะท้อนแสงและการกระจาย ในการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับแบคทีเรียกรดแลคติกโดยจะมีการใช้น้ำตาลในผลิตภัณฑ์ ซึ่งจะผลิตเป็นกรดแลคติกส่งผลทำให้ค่า pH ในผลิตภัณฑ์ลดลง โดยมีค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น ในการศึกษาค่าสีแดงได้แสดงในภาพที่ 4.18 เมื่อพิจารณากลุ่มทดลองพบว่ากลุ่ม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.37% มีค่าสีแดงสูงสุด รองลงมาคือ EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.31%, 0.25%, กลุ่มควบคุม, แอสคอร์บิก, โซเดียมซิติเรทร่วมกับกรดแอสคอร์บิก และ โซเดียมซิติเรทตามลำดับ ( $P<0.001$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุภัณฑ์พบว่าการบรรจุแบบสุญญากาศมีค่าสีแดงสูงกว่าการบรรจุแบบมีอากาศ และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์พบว่าค่าสีแดงลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บเพิ่มขึ้น ( $P<0.001$ ) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Jeong *et al.* (2006); Kim *et al.* (2013) ที่รายงานว่าค่าสีแดงของเนื้อลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยเกี่ยวข้องกับการสัมผัสกับอากาศมากขึ้นของเนื้อหมูปและอุณหภูมิในการเก็บรักษาและ Inai *et al.* (2014) ได้กล่าวไว้ว่าการเก็บรักษาเนื้อที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้ค่าสีแดงมีความเสถียรมากขึ้น เนื่องจากกระบวนการออกซิเดชันของ myoglobin ลดลงในการศึกษาค่าสีเหลืองได้แสดงในภาพที่ 4.18 เมื่อพิจารณาปัจจัยกลุ่มทดลองพบว่ากลุ่ม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.37% มีค่าสีเหลืองสูงสุด รองลงมาคือ EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.31%, กลุ่มควบคุม, โซเดียมซิติเรทร่วมกับกรดแอสคอร์บิก, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25%, โซเดียมซิติเรท และกรดแอสคอร์บิกตามลำดับ ( $P<0.001$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์พบว่าค่าสีเหลืองลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ( $P<0.001$ ) ในการศึกษาค่าองศาของสีได้แสดงในภาพที่ 4.18 เมื่อพิจารณากลุ่มทดลองพบว่ากลุ่มโซเดียมซิติเรทมีค่าองศาสีมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รองลงมาคือ โขเคียมซีเตรทร่วมกับกรดแอสคอร์บิก, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.37%, 0.31%, กลุ่มควบคุม, EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% และกรดแอสคอร์บิกตามลำดับ ( $P<0.001$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุพบว่าการบรรจุแบบมีอากาศมีค่าองศาสีสูงกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์พบว่าค่าองศาสีเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ( $P<0.001$ ) ซึ่งมีแนวโน้มเดียวกับการศึกษาของ Pogorzelska-nowicka *et al.* (2019) ที่รายงานว่าเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าค่าองศาของสีมีทิศทางไปในบริเวณของสีเหลืองซึ่ง Ripoll *et al.* (2008) ได้กล่าวไว้ว่าเนื่องจากองศาของสีนี้เป็นตัวกำหนดการเปลี่ยนแปลงของสีด้วยสายตามนุษย์จึงสันนิฐานได้ว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไปมีผลทำให้สีของเนื้อคุกกี้แห้ง ในการศึกษาค่าความสดไสของสีได้แสดงในภาพที่ 4.18 เมื่อพิจารณากลุ่มทดลองพบว่ากลุ่ม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.37% มีค่าความสดไสของสีมากที่สุด รองลงมาคือ EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.31%, กลุ่มควบคุม, EPS-LB23 0.25%, โขเคียมซีเตรทร่วมกับกรดแอสคอร์บิก, กรดแอสคอร์บิก และ โขเคียมซีเตรทตามลำดับ ( $P<0.001$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุพบว่าการบรรจุแบบสุญญากาศมีค่าความสดไสมากกว่าการบรรจุแบบมีอากาศ และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าค่าความสดไสของสีลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น ( $P<0.001$ ) ซึ่งจะแสดงภาพผลิตภัณฑ์หมอบคปรุ่งรสในภาพที่ 4.19

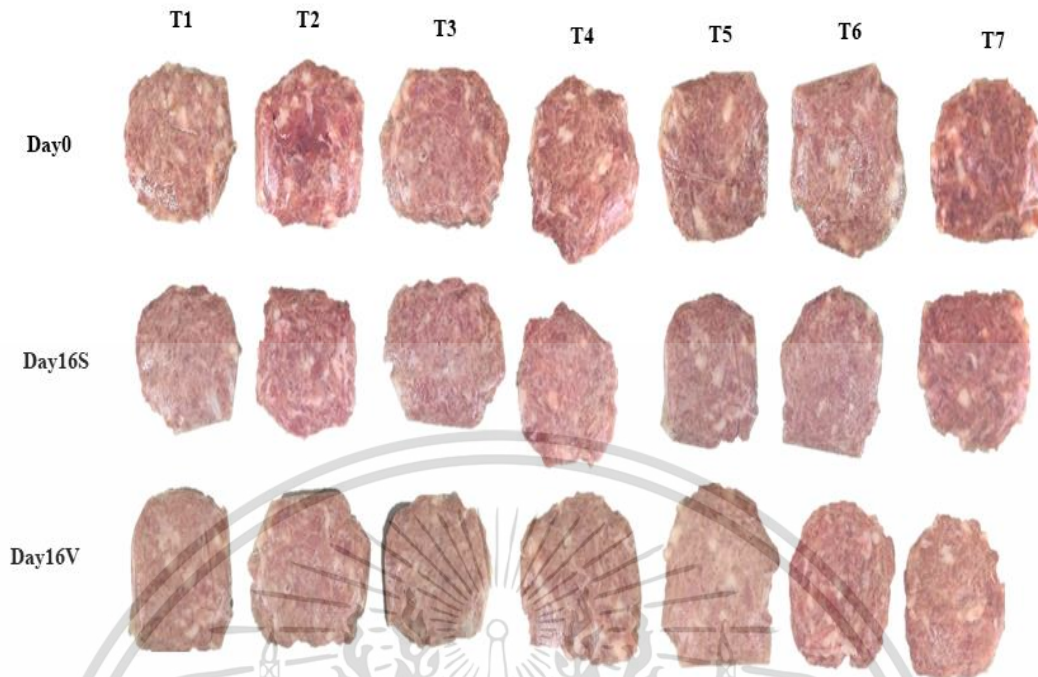


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาติให้เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.18 ค่าสี CIE ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซีเตรทความเข้มข้น 1.5% (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T3), โซเดียมซีเตรทความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% (T5), 0.31% (T6) และ 0.37% (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ L\*(ก และข), a\*(ค และง), b\*(จ และฉ), Hue angle (ช และซ) และ Chroma (ฅ และฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

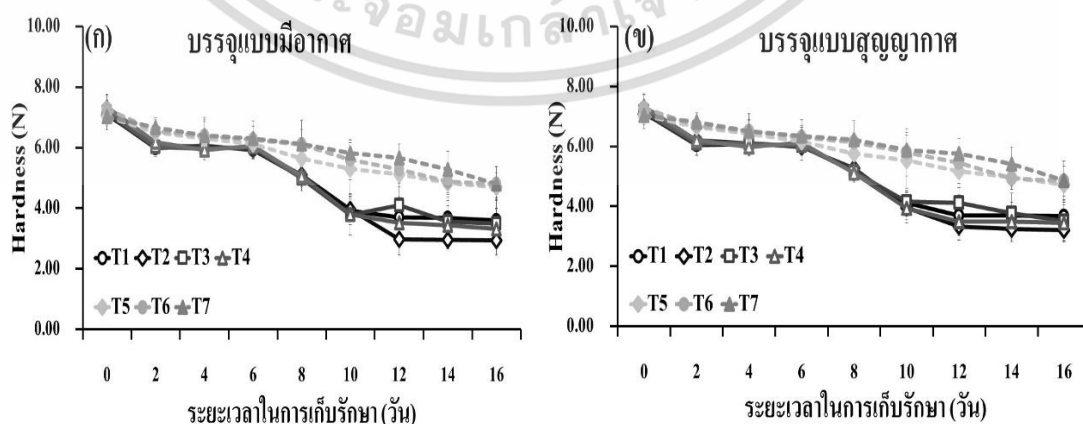


ภาพที่ 4.19 ผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% (T5), 0.31% (T6) และ 0.37% (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ (S และ V)

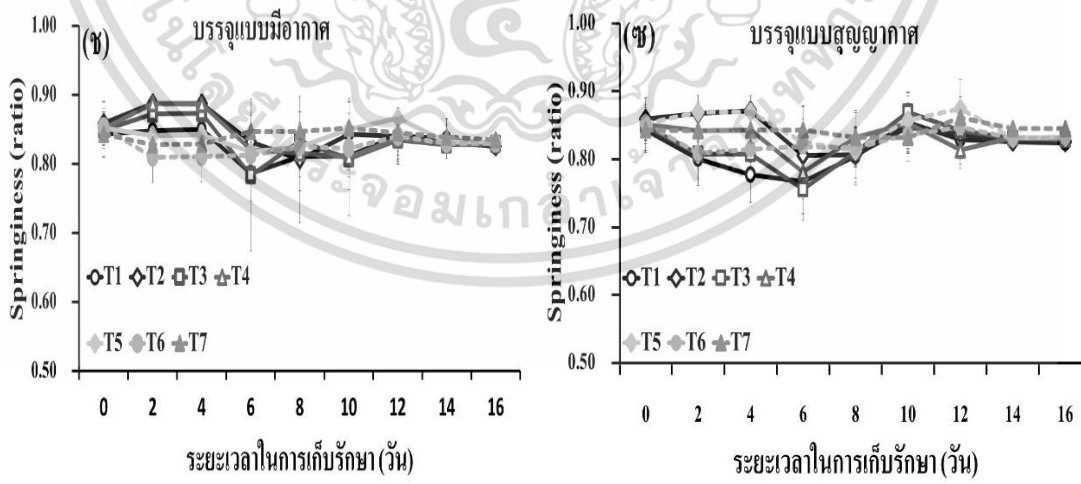
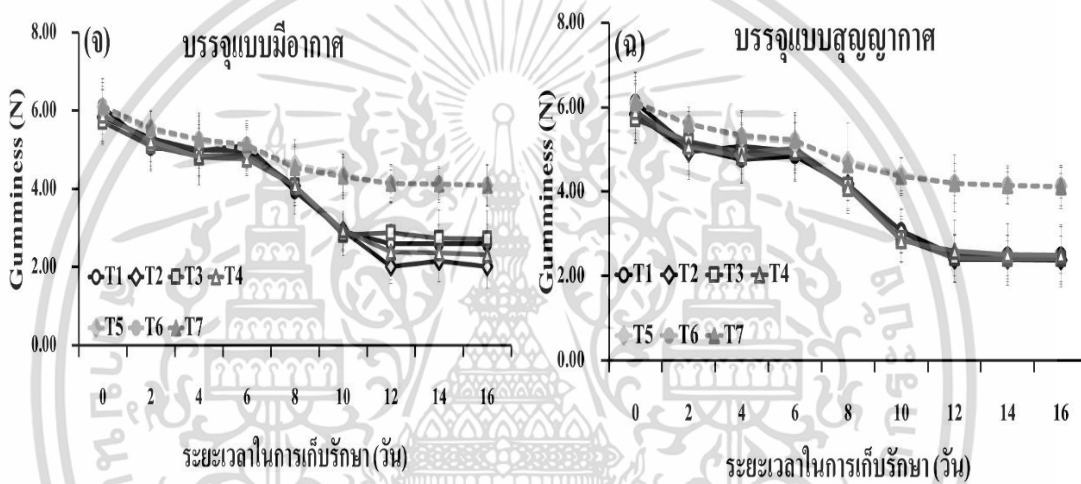
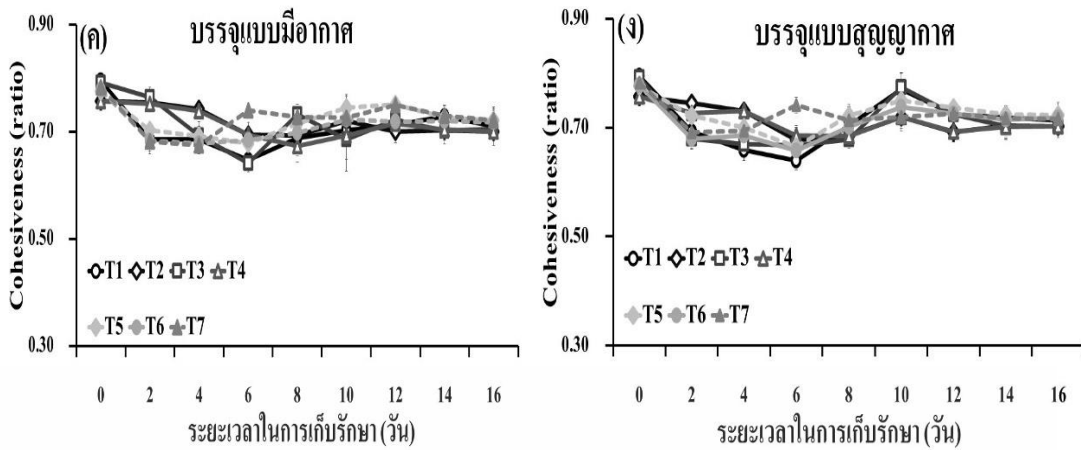
เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านกลุ่มทดลองของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรส 7 กลุ่มต่อคุณลักษณะทางด้านเนื้อสัมผัส โดยรวมได้แสดงในภาพที่ 4.20 ในการศึกษาไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างกลุ่มทดลองและระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ( $P>0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 7 และ 8 ในการศึกษาค่าความแข็งพบว่ากลุ่ม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.37% และ 0.31% มีค่าความแข็งมากที่สุด รองลงมาคือ EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25%, กรดแอสคอร์บิก, กลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรทร่วมกับกรดแอสคอร์บิก และโซเดียมซิเตรทตามลำดับ ( $P<0.001$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุพบว่าการบรรจุแบบสุญญากาศมีค่าความแข็งตัวสูงกว่าการบรรจุแบบมีอากาศ และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์พบว่าค่าความแข็งตัวลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ( $P<0.001$ ) โดยในการศึกษาครั้งนี้มีแนวโน้มเกี่ยวกับการศึกษาของ Yin *et al.* (2016) ซึ่งพบว่าเนื้อหมูปดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน กลุ่มควบคุมมีค่าความแข็งลดลงตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น และในการศึกษาของ Laws *et al.* (2001) ยังได้กล่าวไว้ว่า EPS มีคุณสมบัติในการเกิดเจล และมีความสามารถในการอุ้มน้ำ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่ากลุ่มที่เติม EPS มีค่าความแข็งลดลงเมื่อระยะเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

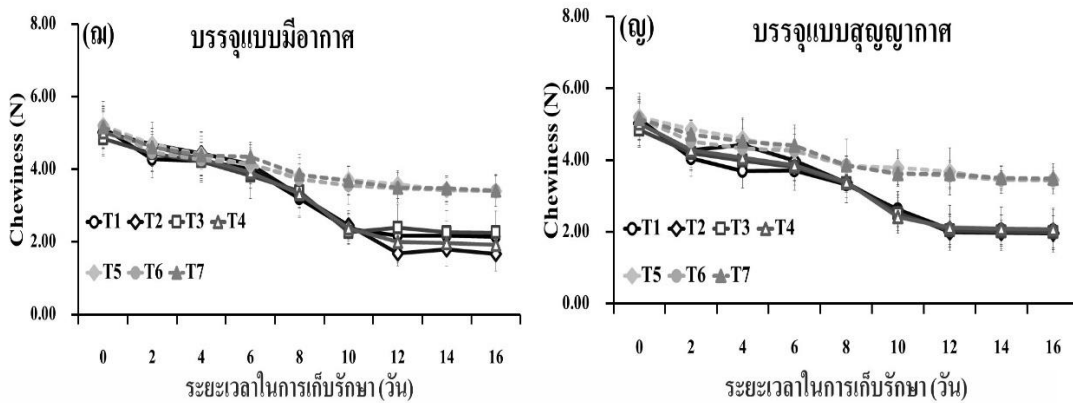
ในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นแต่ยังคงมีค่าความแข็งสูงกว่าในกลุ่มทดลองอื่นๆ ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา และยังคงสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุกในกลุ่มที่เติม EPS-LB23 มีค่าการสูญเสียน้อยกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ซึ่งมีผลส่งเสริมต่อค่าการแข็งตัวในผลิตภัณฑ์ ในการศึกษาความสามารถในการเกาะรวมตัวกัน พบว่ากลุ่มทดลองและระยะเวลาในการเก็บรักษาไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 7 และ 8 และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์พบว่ามีการเกาะรวมตัวลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ( $P<0.001$ ) ในการศึกษาค่าความเหนียวคล้ายยาง เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านกลุ่มทดลองพบว่ากลุ่มที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25%, 0.31% และ 0.37% มีค่าความเหนียวคล้ายยางมากกว่ากลุ่มโซเดียมซิเตรทร่วมกับกรดแอสคอร์บิก, กลุ่มควบคุม, โซเดียมซิเตรท และกรดแอสคอร์บิกตามลำดับ ( $P<0.001$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าค่าความเหนียวคล้ายยางลดลง เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น ( $P<0.001$ ) ในการศึกษาคุณลักษณะทางด้านค่าความยืดหยุ่น เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านกลุ่มทดลองและระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ตารางภาคผนวกที่ 7 และ 8 ในการศึกษาค่าความเคี้ยวได้เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านกลุ่มทดลองพบว่ากลุ่มที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25%, 0.31% และ 0.37% มีค่าความเคี้ยวได้มากกว่ากลุ่มโซเดียมซิเตรท, กรดแอสคอร์บิก, โซเดียมซิเตรทร่วมกับแอสคอร์บิก และกลุ่มทดลองตามลำดับ ( $P<0.001$ ) เมื่อพิจารณาวิธีการบรรจุพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าค่าความเคี้ยวได้ลดลง เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ( $P<0.001$ ) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Yin *et al.* (2016) ที่พบว่าเนื้อหมูปกติที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน มีค่าความเคี้ยวได้ลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.20 ค่าคุณลักษณะทางด้านเนื้อสัมผัสโดยรวมในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), โซเดียมซเตรทความเข้มข้น 1.5% (T2), กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T3), โซเดียมซเตรทความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้น 0.25% (T5), 0.31% (T6) และ 0.37% (T7) อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่บรรจุแบบมีอากาศและบรรจุแบบสุญญากาศ ค่าความแข็ง (ก และข), ค่าการเกาะรวมตัว (ค และง), ค่าความเหนียวคล้ายยาง (จ และฉ), ค่าความยืดหยุ่น (ช และซ) และ ค่าความเคี้ยวได้ (ณ และญ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

# สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* LB23 ในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน โดย EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes* และแบคทีเรียผลิตภัณฑ์กรดแลคติกได้ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา อีกทั้งยังควบคุมคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ในกลุ่ม Mesophilic aerobic bacteria, Mesophilic anerobic bacteria, Psychrophilic bacteria, ยีสต์และราได้รวมไปถึงการควบคุมคุณภาพทางเคมีกายภาพได้ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

ผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* LB23 ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรส ที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน โดยการบรรจุแบบสุญญากาศ EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 สามารถชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ในกลุ่ม Mesophilic aerobic bacteria, Mesophilic anaerobic bacteria, Psychrophilic bacteria, แบคทีเรียกรดแลคติก, ยีสต์และราได้จนถึงวันที่ 16 ซึ่งยืดอายุได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม 6 วัน และสามารถควบคุมคุณภาพทางด้านเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์ได้ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาดังนั้นการศึกษาผลิตภัณฑ์ในครั้งนี้จึงตัดสินใจเลือกกลุ่มทดลองที่เติม EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.31 ที่บรรจุแบบสุญญากาศซึ่งการเติม EPS-LB23 ลงในผลิตภัณฑ์หมูปดปรุงรสสามารถถนอมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ในระหว่างการเก็บรักษาสินค้าที่มีการขนส่งผิดพลาดในการควบคุมการเก็บรักษาแบบแช่เย็น

### 5.2 ข้อเสนอแนะ

จากงานวิจัยครั้งนี้พบว่า EPS-LB23 สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค และนำเสียบรวมไปถึงยังสามารถถนอมคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้คงที่ได้ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา ซึ่งการศึกษาครั้งนี้เป็นการจำลองรูปแบบการจัดจำหน่ายสินค้าที่มีการขนส่งผิดพลาดในการควบคุมอุณหภูมิ โดยสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ที่ยังไม่ปรุงสุก เช่น แพตตี้ ทอดมัน หมูปดปั่นปั่น สเต็ก และสามารถนำไปต่อยอดให้กับผลิตภัณฑ์ปรุงสุกที่เก็บรักษาแบบเย็น เช่น ไส้กรอก ลูกชิ้น เป็นต้น โดยเป็นการพัฒนาในด้านการยืดอายุการเก็บรักษาและรักษาคุณภาพทางด้านเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์ให้คงที่ และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บรรณานุกรม

- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, พรรณีภา ศิวะพิรุฬห์เทพ, คมแข พิลาสมบัตติ, ศุภลักษณ์ สรภักดี. 2556. “การแปรรูปเนื้อสัตว์.” ใน เอกสารประกอบการอบรมครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตรสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- บุญกร อุดรภิชชาติ. 2547. **จุลชีววิทยาทางอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : ภาควิชาชีววิทยาคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ.
- ปรียา วิบูลเศรษฐ์. 2540. **การเน่าเสียของอาหาร**. เล่มที่ 1. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุสติ ตั้งวัชรินทร์. 2558. **จุลินทรีย์ในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : มินเซอร์วิซซ์พพลาย.
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2536. **เทคโนโลยีเนื้อสัตว์**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สหมิตร ออฟเซต.
- รุจริน ลิ่มศุภวานิช. 2560. “ส่วนผสมหลักและสารปรุงแต่งอาหารที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์.” ใน เอกสารประกอบการอบรมการสร้างมูลค่าเพิ่มเนื้อโค. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 25-27 กุมภาพันธ์ 2560. หน้า 67-68.
- วิไล รังสาดทอง. **เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร**. กรุงเทพมหานคร : เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด, 2546.
- ศุภลักษณ์ สรภักดี. 2561. **ส่วนผสมและวัตถุดิบอาหารในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : มิน เซอร์วิซ ชัพพลาย.
- ศุภศิลป์ มณีรัตน์ และ ชรรมนุญ โปรดปราน. 2556. **รายงานการวิจัยการพัฒนาฟิล์มและสารเคลือบจากเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ของ *Weissella confusa* NH02 ที่ผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บเนื้อหมูแช่เย็น**. สงขลา : คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สัญญา จตุรติทธา. 2551. **เทคโนโลยีเนื้อสัตว์**. เชียงใหม่ : มิ่งเมือง.
- สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. **จุลชีววิทยาทางอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. **มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช.6000-2547. เนื้อสุกร. กระทรงเกษตรและสหกรณ์**.
- อนุชิตา มุ่งงาม. 2555. **แอนติออกซิแดนซ์ในธัญพืช**. มหาสารคาม : ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- อุมาพร ศิริพันธุ์. 2551. รายงานการวิจัยโครงการวิจัยเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์จากเนื้อสุกรหมัก เกลือรอมควันโดยวิธีการนวดสุญญากาศ. เชียงใหม่ : คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- 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(4) : 277-288.
- AOAC. 2005. Official Method 981.12: pH of Acidified Foods. 16<sup>th</sup> ed. Arlington, VA. The Association of Official Analytical Chemist.
- AOAC. 2006. Official methods of analysis. 18<sup>th</sup> ed. Washington, DC. The Association of Official Analytical Chemist.
- Ahmed, Z., Wang, Y., Anjum, N., Ahmad, H., Ahmad, A. and Raza, M. 2013. "Characterization of new exopolysaccharides produced by coculturing of *L. kefiranofaciens* with yoghurt strains." **International Journal of Biological Macromolecules**. 59 : 377-383.
- Anderson, D. L., Gibbs, A. J. and Gibson, N. L. 1998. "Identi@cation and phylogeny of spore-cyst fungi (*Ascospheera* spp.) using ribosomal DNA sequences." **Mycology Research**. 102 : 541-547.
- Apetroaie-Constantin, C., Mikkola, R., Andersson, M. A., Teplova, V., Suominen, I., Johansson, T., and Salkinoja-Salonen, M. 2009. "*Bacillus subtilis* and *B. mojavensis* strains connected to food poisoning produce the heat stable toxin amyloisin." **Journal of Applied Microbiology**. 106(6) : 1976-1985.
- BAM. 2002. Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. [Online]. Available : <https://www.fda.gov/food/laboratorymethodsfood/bam-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria>, November 2, 2017.
- BAM. 2001a. Yeasts, molds and mycotoxins. [Online]. Available : [https://www.fda.gov/Food/FoodScience Research/LaboratoryMethods/ucm071435.htm](https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071435.htm)
- BAM. 2001b. ***Staphylococcus aureus***. U.S. Food and Drug Administration. [Online]. Available : <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-staphylococcus-aureus>

- BAM. 2017. Detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*. [Online]. Available : <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071400.htm>.
- Bai, J. J., Lee, J. G., Lee, S. Y., Kim, S., Choi, M. J. and Cho, Y. 2017. “Changes in quality characteristics of pork patties containing antioxidative fish skin peptide or fish skin peptide-loaded nanoliposomes during refrigerated storage.” **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**. 37(5) : 752.
- Belibağlı, 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.
- Björkroth, J. 2005. “Microbiological ecology of marinated meat products.” **Meat Science**. 70 : 477-480.
- Blixt, Y. and Borch, E. 2002. “Comparison of shelf life of vacuum-packed pork and beef.” **Meat Science**. 60(4) : 371-378.
- Boskovic, M., Djordjevic, J., Ivanovic, J., Janjic, J., Zdravkovic, N., Glisic, M., Glamoclija, N., Baltic, B., Djordjevic, V. and Baltic, M. 2017. “Inhibition of Salmonella by thyme essential oil and its effect on microbiological and sensory properties of minced pork meat packaged under vacuum and modified atmosphere.” **International Journal of Food Microbiology**. 258 : 58-67.
- Bourne, M. C. 1978. “Texture profile analysis.” **Food Technology**. 32 : 62-66.
- Broadway, P. R., Brooks, J. C., Mollenkopf, D. F., Calle, M. A., Loneragan, G. H., Miller, M. F., Carroll, J. A., Sanchez, N. C. B. and Wittum, T. E. 2021. “Prevalence and antimicrobial susceptibility of Salmonella serovars isolated from US retail ground pork.” **Foodborne Pathogens and Disease**. 18(3) : 219-227.
- Brodowska, M., Guzek, D., Kolota, A., Glabska, D., Gorska-horczyzak, E., Wojtasik-Kalinowska, I., and Wierzbicka, A. 2016. “Effect of diet on oxidation and profile of volatile compounds of pork after freezing storage.” **Journal of Food and Nutrition Research**. 55(1) : 40-47.
- Brodowska, M., Guzek, D., Godziszewska, J., Górska-Horczyzak, E., Pogorzelska, E., Sakowska, A., Wojtasik-Kalinowska, I., Gantner, M. and Wierzbicka, A. 2017. “Cherry (*Prunus cerasus* cv Montmorency) extract with 87xopolysacch antioxidant potential as preservative for refrigerated

- storage of ground pork.” **International Journal of Food Science and Technology**. 52(12) : 2555-2563.
- Bruslind, L. 2020. General microbiology. [Online]. Available : <https://openlibrary-repo.ecampusontario.ca/jspui/handle/123456789/842>
- Buege, J. A. and Aust, S. D. 1978. “Microsomal lipid peroxidation.” 302–310. in *Methods in enzymology*. United states : Academic Press.
- Choe, J. H., Jang, A., Lee, E. S., Choi, J. H., Choi, Y. S., Han, D. J., Kim H. Y., Lee, M. A. Shim, S. Y. and Kim, C. J. 2011. “Oxidative and color stability of cooked ground pork containing lotus leaf (*Nelumbo mucifera*) and barley leaf (*Hordeum vulgare*) powder during refrigerated storage.” **Meat Science**. 87(1) : 12-18.
- Claus, J. R., Hunt, M. C. and Kastner, C. L. 1990. “Effects of substituting added water for fat on the textural, sensory, and processing characteristics of bologna.” **Journal of Muscle Foods**. 1(1) : 1-21.
- Coombs, C. E. O., Holman, B. W. B., Friend, M. A. and Hopkins, D. L. 2017. “Long-term rsd meat preservation using chilled and frozen storage combinations: A review.” **Meat Science**. 125 : 84-94.
- Cömert, E. D., & Gökmen, V. 2018. “Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century.” **Food Research International**. 105 : 76-93.
- Cunha, L. C. M., Monteiro, M. L. G., Lorenzo, J. M., Muneke, P. E. S., Muchenje, V., De Carvalho, F. A. L. and Conte-Junior, C. A. 2018. “Natural antioxidants in processing and storage stability of sheep and goat meat products.” **Food Research International**. 111 : 379-390.
- Cullere, M., Tasoniero, G., Secci, G., Parisi, G., Smit, P., Hoffman, L. C., and Dalle Zotte, A. 2019. “Effect of the incorporation of a fermented rooibos (*Aspalathus linearis*) extract in the manufacturing of rabbit meat patties on their physical, chemical, and sensory quality during refrigerated storage.” **LWT - Food Science and Technology**. 108 : 31-38.
- Dal Bosco, A., Mattioli, S., Matics, Z., Szendrő, Z., Gerencsér, Z., Mancinelli, Mancinelli, A. C., Kovács, M., Cullere, M., Castellini, C. and Dalle Zotte, A. 2019. “The antioxidant

- effectiveness of liquorice (*Glycyrrhiza glabra L.*) extract administered as dietary supplementation and/or as a burger additive in rabbit meat.” **Meat Science**. 158 : 107921.
- Das, A. K., Anjaneyulu, A.S. R., Gadekar, Y. P. Singh, R. P. and Pragati, H. 2008. “Effect of full-fat soy paste and textured soy granules on quality and shelf-life of goat meat nugget in frozen storage.” **Meat Science**. 80 : 607-614.
- DeGeer, S. L., Wang, L., Hill, G. N., Singh, M., Bilgili, S. F. and Bratcher, C. L. 2016. “Optimizing application parameters for lactic acid and sodium metasilicate against pathogens on fresh beef, pork and deli meats.” **Meat Science**. 118 : 28-33.
- Doulgeraki, A. I., Ercolini, D., Villani, F. and Nychas, G. J. E. 2012. “Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions.” **International Journal of Food Microbiology**. 157(2) : 130-141.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T. and Smith, F. 1956. “Colorimetric method for determination of sugars and related substances.” **Analytical Chemistry**. 28(3) : 350-356.
- Dwivedi, M., Patel, K. K. and Shah F. 2018. “Exopolysaccharide (EPS) producing isolates from sugarcane field soil and antibacterial activity of extracted EPSs.” **Acta Scientific Microbiology**. 1 : 06-13.
- Eitenmiller, R. R., and Lee, J. 2004. **Vitamin E: food chemistry, composition, and analysis**. New York : CRC Press.
- Escartin, E. F., Lozano, J. S. and García, O. R. 2000. “Quantitative survival of native *Salmonella* serovars during storage of frozen raw pork.” **International Journal of Food Microbiology**. 54(1-2) : 19-25.
- Fang, Y., Liu, S., Lu, M., Jiao, Y. and Wang, S. 2013. “A novel method for promoting antioxidant exopolysaccharides production of *Bacillus licheniformis*.” **Carbohydrate Polymers**. 92(2) : 1172-1176.
- Fengou, L. C., Spyrelli, E., Lianou, A., Tsakanikas, P., Panagou, E. Z., and Nychas, G. J. E. 2019. “Estimation of minced pork microbiological spoilage through fourier transform infrared and visible spectroscopy and multispectral vision technology.” **Foods**. 8(7) : 238.

- Fernández-López, J., Pérez-Alvarez, J. A., and Aranda-Catalá, V. 2000. "Effect of mincing degree on colour properties in pork meat." **Color Research and Application**. 25(5) : 376-380.
- 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.
- Hassan, S. W. M. and Ibrahim, H. A. H. 2017. "Production, Characterization and Valuable Applications of Exopolysaccharides from Marine *Bacillus subtilis* SH1." **Polish Journal of Microbiology**. 66 : 449-461.
- He, F., Yang, Y., Yang, G., and Yu, L. 2010. "Studies on antibacterial activity and antibacterial mechanism of a novel polysaccharide from *Streptomyces virginia* H03." **Food Control**. 21(9) : 1257-1262.
- Holley, R. A., Peirson, M. D., Lam, J. and Tan, K. B. 2004. "Microbial profiles of commercial, vacuum-packaged, fresh pork of normal or short storage life." **International Journal of Food Microbiology**. 97(1) : 53-62.
- Iacumin, L. and Carballo, J. 2016. "Microbial ecology of pork meat and pork products." In de Souza Sant'Ana, A., editor. **Quantitative Microbiology in Food Processing: Modeling the Microbial Ecology**. P 463-482. New Jersey : John Wiley & Sons.
- In't Veld, J. H. H. 1996. "Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview." **International Journal of Food Microbiology**. 33(1) : 1-18.
- Inai, M., Miura, Y., Honda, S., Masuda, A., and Masuda, T. 2014. "Metmyoglobin reduction by polyphenols and mechanism of the conversion of metmyoglobin to oxymyoglobin by quercetin." **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 62(4) : 893-901.
- ISO 6579. 2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. 4<sup>th</sup> ed. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Ivanovic, J., Janjic, J., Dordevic, J., Glamoclija, N., Mitrovic, R., Markovic, R., & Baltic, M. Z. 2016. "Microbiological status of minced pork meat in vacuum and modified atmosphere packaging." **Meat Technology**. 57(2) : 132-140.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Jiang, Y., Gao, F., Xu, X. L., Su, Y., Ye, K. P. and Zhou, G. H. 2010. "Changes in the bacterial communities of vacuum-packaged pork during chilled storage analyzed by PCR–DGGE." **Meat Science**. 86(4) : 889-895.
- Jeong, J. Y., Yang, H. S., Kang, G. H., Lee, J. I., Park, G. B. and Joo, S. T. 2006. "Effect of freeze-thaw process on myoglobin oxidation of pork loin during cold storage." **Food Science of Animal Resources**. 26(1) : 1-8.
- Jokanović, M., Ivić, M., Škaljac, S., Tomović, V., Pavlić, B., Šojić, B., Zeković, Z., Peulić, T. and Ikonić, P. 2020. "Essential oil and supercritical extracts of winter savory (*Satureja montana* L.) as antioxidants in precooked pork chops during chilled storage." **LWT - Food Science and Technology**. 134 : 110260.
- Kamenik, J. 2013. "The microbiology of meat spoilage: a review." **Maso International-Journal of Food Science and Technology**. 2013(1) : 1-9.
- 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(1) : 48-57.
- Kim, G. D., Jung, E. Y., Lim, H. J., Yang, H. S., Joo, S. T. and Jeong, J. Y. 2013. "Influence of meat exudates on the quality characteristics of fresh and freeze-thawed pork." **Meat Science**. 95(2) : 323-329.
- Kodali, V. P., Das, S. and Sen, R. 2009. "An exopolysaccharide from a probiotic: biosynthesis dynamics, composition and emulsifying activity." **Food Research International**. 42(5-6) : 695-699.
- 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 Jha. B. 2007. "Bacterial exopolysaccharides." **Journal of Basic Microbiology**. 47 : 103–117.

- Kumar, Y., Yadav, D. N., Ahmad, T. and Narsaiah, K. 2015. "Recent trends in the use of natural antioxidants for meat and meat products." **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. 14(6) : 796-812.
- Laurienzo, P. 2010. "Marine polysaccharides in pharmaceutical applications: an overview." **Marine Drugs**. 8(9) : 2435-2465.
- Laws, A., Gu, Y. and Marshall, V. 2001. "Biosynthesis, characterisation, and design of bacterial exopolysaccharides from lactic acid bacteria." **Biotechnology Advances**. 19(8) : 597-625.
- Li, M. Y., Zhou, G. H., Xu, X. L., Li, C. B. and Zhu, W. Y. 2006. "Changes of bacterial diversity and main flora in chilled pork during storage using PCR-DGGE." **Food Microbiology**. 23(7) : 607-611.
- Li, W., Ji, J., Rui, X., Yu, J., Tang, W., Chen, X., Jiang, M. and Dong, M. 2014a. "Production of exopolysaccharides by *Lactobacillus helveticus* MB2-1 and its functional characteristics in vitro." **LWT-Food Science and Technology**. 59(2) : 732-739.
- Li, S., Huang, R., Shah, N. P., Tao, X., Xiong, Y., and Wei, H. 2014b. "Antioxidant and antibacterial activities of exopolysaccharides from *Bifidobacterium bifidum* WBIN03 and *Lactobacillus plantarum* R315." **Journal of Dairy Science**. 97(12) : 7334-7343.
- Liu, C., Lu, J., Lu, L., Liu, Y., Wang, F., and Xiao, M. 2010. "Isolation, structural characterization and immunological activity of an exopolysaccharide produced by *Bacillus licheniformis* 8-370-1." **Bioresource Technology**. 101(14) : 5528-5533.
- Maina, N. H., Tenkanen, M., Maaheimo, H., Juvonen, R. and Virkki, L. 2008. "NMR spectroscopic analysis of exopolysaccharides produced by *Leuconostoc citreum* and *Weissella confusa*." **Carbohydrate Research**. 343(9) : 1446-1455.
- Miller, A. J., Call, J. E. and Whiting, R. C. 1993. "Comparison of organic acid salts for *Clostridium botulinum* control in an uncured turkey product." **Journal of Food Protection**. 56(11) : 958-962.

- Mohamed, S. S., Amer, S. K., Selim, M. S., and Rifaat, H. M. 2018. "Characterization and applications of exopolysaccharide produced by marine *Bacillus altitudinis* MSH2014 from Ras Mohamed, Sinai, Egypt." **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**. 5(3) : 204-209.
- Mollakhalili Meybodi, N. and Mohammadifar, M. A. 2015. "Microbial exopolysaccharides: a review of their function and application in food sciences." **Journal of Food Quality and Hazards Control**. 2(4) : 112-117.
- Moscovici, M. 2015. "Present and future medical applications of microbial exopolysaccharides." **Frontiers in Microbiology**. 6 : 1-11.
- Muzolf-Panek, M., Kaczmarek, A., Tomaszewska-Gras, J., Cegielska-Radziejewska, R., Szablewski, T., Majcher, M., and Stuper-Szablewska, K. 2020. "A Chemometric Approach to Oxidative Stability and Physicochemical Quality of Raw Ground Chicken Meat Affected by Black Seed and Other Spice Extracts." **Antioxidants**. 9(9) : 903.
- Nehal, F., Sahnoun, M., Smaoui, S., Jaouadi, B., Bejar, S. and Mohammed, S. 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., De Oliveira, M. N. and Converti, A. 2011. "Effect of inulin as a prebiotic to improve growth and counts of a probiotic cocktail in fermented skim milk." **LWT-Food Science and Technology**. 44(2) : 520-523.
- Omana, D. A., Pietrasik, Z., and Betti, M. 2012. "Evaluation of poultry protein isolate as a food ingredient: Physicochemical characteristics of low-fat turkey bologna." **Poultry Science**. 91(12) : 3223-3229.
- Orsod, M., Joseph, M., and Huyop, F. 2012. "Characterization of exopolysaccharides produced by *Bacillus cereus* and *Brachybacterium* sp. isolated from Asian sea bass (*Lates calcarifer*)." **Malaysian Journal of Microbiology**. 8(3) : 170-174.
- Ozer, O. and Sariçoban, C. 2010. "The effects of butylated hydroxyanisole, ascorbic acid, and  $\alpha$ -tocopherol on some quality characteristics of mechanically deboned chicken patty during freeze storage." **Czech Journal of Food Sciences**. 28(2) : 150-160.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Pateiro, M., Vargas, F. C., Chinha, A. A. I. A., Sant'Ana, A. S., Strozzi, I., Rocchetti, G., Barba, F. J., Domínguez, R., Lucini, L., Sobral, P. J. A. and Lorenzo, J. M. 2018. "Guarana seed extracts as a useful strategy to extend the shelf life of pork patties: UHPLC-ESI/QTOF phenolic profile and impact on microbial inactivation, lipid and protein oxidation and antioxidant capacity." **Food Research International**. 114 : 55-63.
- Pathare, P. B. and Roskilly, A. P. 2016. "Quality and energy evaluation in meat cooking." **Food Engineering Reviews**. 8(4) : 435-447.
- Palaniyandi, S. A., Damodharan, K., Suh, J. W. and Yang, S. H. 2018. "Functional characterization of an exopolysaccharide produced by *Bacillus sonorensis* MJM60135 isolated from Ganjang." **Journal of Microbiology and Biotechnology**. 28(5) : 663-670.
- Papadopoulou, O. S., Doulgeraki, A. I., Botta, C., Cocolin, L. and Nychas, G. J. E. 2012. "Genotypic characterization of *Brochothrix thermosphacta* isolated during storage of minced pork under aerobic or modified atmosphere packaging conditions." **Meat Science**. 92(4) : 735-738.
- Pogorzelska-Nowicka, E. D., Brodowska, M., Górska-Horczyzak, E., Godziszewska, J., Sakowska, A., Wojtasik-Kalinowska, I., and Wierzbicka, A. 2019. "Physicochemical and Biochemical Properties of Ground Pork Formulated with Addition of *Prunus cerasus* (cv Montmorency) Extract and Subjected to Freezing Storage." **Acta Universitatis Cibiniensis - Series E: Food Technology**. 23(2) : 167-178.
- Razack, S. A., Velayutham, V. and Thangavelu, V. 2013. "Medium optimization for the production of exopolysaccharide by *Bacillus subtilis* using synthetic sources and agro wastes." **Turkish Journal of Biology**. 37(3) : 280-288.
- Razack, S.A., Velayutham, V. and Thangavelu, V. 2014. "Medium optimization and in vitro antioxidant activity of exopolysaccharide produced by *Bacillus subtilis*." **Korean Journal of Chemical Engineering**. 31 : 296-303.
- Rehm, B. H. A. 2010. "Bacterial polymers: biosynthesis, modifications and applications." **Nature Reviews Microbiology**. 8(8) : 578-592.

- Reische, D. W., Lillard, D. A. and Eitenmiller, R. R. 2008. Antioxidants. In Akoh, C. C. and Min, D. B., editor. **Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology**. 3<sup>rd</sup> ed. P 409-434. New York : CRC press.
- Ripoll, G., Joy, M., Muñoz, F., & Albertí, P. 2008. “Meat and fat colour as a tool to trace grass-feeding systems in light lamb production.” **Meat Science**. 80(2) : 239-248.
- Saravanan, C. and Shetty, P. K. H. 2016. “Isolation and characterization of exopolysaccharide from *Leuconostoc lactis* KC117496 isolated from idli batter.” **International Journal of Biological Macromolecules**. 90 : 100-106.
- Savage, A. W. J., Warriss, P. D. and Jolley, P. D. 1990. “The amount and composition of the proteins in drip from stored pig meat.” **Meat Science**. 27(4) : 289-303.
- Severini, C., Teresa De Pilli, T. D. and Baiano, A. 2003. “Partial substitution of pork backfat with extra-virgin olive oil in ‘salami’ products: effects on chemical, physical and sensorial quality.” **Food Chemistry**. 64 : 323-331.
- Shand, P. J. 2000. “Textural, water holding, and sensory properties of low-fat pork bologna with normal or waxy starch hull-less barley.” **Food Chemistry and Toxicology**. 65(1) : 101-107.
- Sharma, K., Sharma, N., Handa, S., and Pathania, S. 2020. “Purification and characterization of novel exopolysaccharides produced from *Lactobacillus paraplantarum* KM1 isolated from human milk and its cytotoxicity.” **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**. 18(1) : 1-10.
- Šojić, B., Tomović, V., Kocić-Tanaackov, S., Kovačević, D. B., Putnik, P., Mrkonjić, Ž., Đurović, S., Jokanović, M., Ivić, M., Škaljac, S. and Pavlić, B. 2020. “Supercritical extracts of wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) by-product as natural antioxidants in ground pork patties.” **LWT - Food Science and Technology**. 130 : 109661.
- Stobnicka, A., and Gniewosz, M. 2018. “Antimicrobial protection of minced pork meat with the use of Swamp Cranberry (*Vaccinium oxycoccos* L.) fruit and pomace extracts.” **Journal of Food Science and Technology**. 55(1) : 62-71.

- Tangwatcharin, P., Sorapukdee, S. and Kongsrirat, K. 2019. "Sous-vided restructured goat steaks: process optimized by thermal inactivation of listeria mono cytogenes and their quality characteristics." **Food Science of Animal Resources.** 39 : 863-876.
- Tarté, R. and Amundson, C. M. 2006. Protein interactions in muscle foods. In Gaonkar, A. G. and McPherson, A. editor. **Ingredient Interactions: effects on Food Quality.** 2<sup>nd</sup> ed. P 195–283. New York : CRC Press.
- Teets, A. S., Sundararaman, M. and Were, L. M. 2008. "Electron beam irradiated almond skin powder inhibition of lipid oxidation in cooked salted ground chicken breast." **Food Chemistry.** 111(4) : 934-941.
- Trabelsi, I., Ktari, N., Triki, M., Bkhairia, I., Slima, S. B., Aydi, S. S., Aydi, S., Abdeslam, A. and Salah, R. B. 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(4) : 494.
- Verbeke, W., Pérez-Cueto, F. J., de Barcellos, M. D., Krystallis, A. and Grunert, K. G. 2010. "European citizen and consumer attitudes and preferences regarding beef and pork." **Meat Science.** 84(2) : 284-292.
- Wu, M. H., Pan, T. M., Wu, Y. J., Chang, S. J., Chang, M. S., and Hu, C. Y. 2010. "Exopolysaccharide activities from probiotic bifidobacterium: Immunomodulatory effects (on J774A. 1 macrophages) and antimicrobial properties." **International Journal of Food Microbiology.** 144(1) : 104-110.
- Xiong, y. l. 2005. "Role of myofibrillar proteins in water-binding in brine-enhanced meats." **Food Research International.** 38 : 281–287.
- Xu, R., Shang, N. and Li, P. 2011a. "In vitro and in vivo antioxidant activity of exopolysaccharide fractions from *Bifidobacterium animalis* RH." **Anaerobe.** 17(5) : 226-231.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Xu, R., Shen, Q., Ding, X., Gao, W. and Li, P. 2011. "Chemical characterization and antioxidant activity of an exopolysaccharide fraction isolated from *Bifidobacterium animalis* RH." **European Food Research and Technology**. 232(2) : 231-240.
- Yahav, S., Berkovich, Z., Ostrov, I., Reifen, R. and Shemesh, M. 2018. "Encapsulation of beneficial probiotic bacteria in extracellular matrix from biofilm-forming *Bacillus subtilis*." **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**. 46(2) : 974-982.
- Yin, Y., Xing, L. J., Zhou, G. H. and Zhang, W. G. 2016. "Antioxidative and antibacterial activities of rosemary extract in raw ground pork patties." **Journal of Food and Nutrition Research**. 4(12) : 806-813.
- Yusop, S. M., O'Sullivan, M. G. and Kerry, J. P. 2011. "Marinating and enhancement of the nutritional content of processed meat products." **Processed Meats**. (17) : 421-449.
- Zhang, J., Wang, Y., Pan, D. D., Cao, J. X., Shao, X. F., Chen, Y. J., Suu, Y. Y., and Ou, C. R. 2016. "Effect of black pepper essential oil on the quality of fresh pork during storage." **Meat Science**. 117 : 130-136.
- 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.
- Zheng, L. P., Zou, T., Ma, Y. J., Wang, J. W. and Zhang, Y. Q. 2016. "Antioxidant and DNA damage protecting activity of exopolysaccharides from the endophytic bacterium *Bacillus cereus* SZ1." **Molecules**. 21(2) : 174.
- Zhang, Y., Wu, Y. T., Zheng, W., Han, X. X., Jiang, Y. H., Hu, P. L., Tang, Z. X. and Shi, L. E. 2017. "The antibacterial activity and antibacterial mechanism of a polysaccharide from *Cordyceps cicadae*." **Journal of Functional Foods**. 38 : 273-279.
- Zhao, S., Li, N., Li, Z., He, H., Zhao, Y., Zhu, M., Wang, Z., Kang, Z. and Ma, H. 2019. "Shelf life of fresh chilled pork as affected by antimicrobial intervention with nisin, tea polyphenols, chitosan, and their combination." **International Journal of Food Properties**. 22(1) : 1047-1063.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 แบคทีเรียก่อโรคและเน่าเสียของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูบดปรุงรสที่บรรจุแบบมีอากาศในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 วัน

ชนิดของจุลินทรีย์	กลุ่มทดลอง (T) ที่บรรจุแบบมีอากาศ					ระยะเวลาในการเก็บรักษา (D)				P-value			
	control	citrate	EPS LB23 0.18%	EPS LB23 0.25%	SEM	0	2	4	6	SEM	T	D	Interaction
<i>Salmonella</i> spp. (log cfu/g)	3.57 <sup>a</sup>	2.71 <sup>c</sup>	2.94 <sup>b</sup>	2.49 <sup>d</sup>	0.04	2.57 <sup>c</sup>	2.94 <sup>b</sup>	3.09 <sup>a</sup>	3.12 <sup>a</sup>	0.04	0.000	0.000	0.951
<i>S. aureus</i> (log cfu/g)	3.71 <sup>a</sup>	3.60 <sup>b</sup>	3.58 <sup>b</sup>	3.48 <sup>c</sup>	0.02	3.59 <sup>d</sup>	3.65 <sup>c</sup>	3.65 <sup>b</sup>	3.76 <sup>a</sup>	0.02	0.000	0.000	0.157
<i>L. monocytogenes</i> (log cfu/g)	3.36 <sup>a</sup>	3.06 <sup>c</sup>	3.13 <sup>b</sup>	2.99 <sup>d</sup>	0.01	2.89 <sup>d</sup>	3.04 <sup>c</sup>	3.23 <sup>b</sup>	3.37 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.044
Lactic acid bacteria (log cfu/g)	2.48 <sup>a</sup>	2.42 <sup>b</sup>	2.43 <sup>b</sup>	2.36 <sup>c</sup>	0.02	2.06 <sup>d</sup>	2.29 <sup>c</sup>	2.50 <sup>b</sup>	2.84 <sup>a</sup>	0.02	0.001	0.000	0.288

<sup>1</sup>ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางภาคผนวกที่ 2 แบบที่เรียกอโรคและเน่าเสียของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรสที่บรรจุแบบสุญญากาศในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 วัน

ชนิดของจุลินทรีย์	กลุ่มทดลอง (T) ที่บรรจุแบบสุญญากาศ					ระยะเวลาในการเก็บรักษา (D)					P-value		
	control	citrate	EPS LB23 0.18%	EPS LB23 0.25%	SEM	0	2	4	6	SEM	T	D	Interaction
<i>Salmonella</i> spp. (log cfu/g)	3.32 <sup>a</sup>	2.65 <sup>c</sup>	2.88 <sup>b</sup>	2.34 <sup>d</sup>	0.02	2.57 <sup>d</sup>	2.81 <sup>c</sup>	2.87 <sup>b</sup>	2.94 <sup>a</sup>	0.02	0.000	0.000	0.051
<i>S. aureus</i> (log cfu/g)	3.64 <sup>a</sup>	3.54 <sup>b</sup>	3.52 <sup>c</sup>	3.42 <sup>d</sup>	0.01	3.35 <sup>d</sup>	3.51 <sup>c</sup>	3.58 <sup>b</sup>	3.67 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.060
<i>L. monocytogenes</i> (log cfu/g)	3.32 <sup>a</sup>	3.05 <sup>c</sup>	3.11 <sup>b</sup>	2.99 <sup>d</sup>	0.02	2.89 <sup>d</sup>	3.03 <sup>c</sup>	3.24 <sup>b</sup>	3.33 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.054
Lactic acid bacteria (log cfu/g)	2.54 <sup>a</sup>	2.40 <sup>c</sup>	2.45 <sup>b</sup>	2.37 <sup>c</sup>	0.02	2.06 <sup>d</sup>	2.30 <sup>c</sup>	2.51 <sup>b</sup>	2.90 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.063

<sup>a</sup>ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางภาคผนวกที่ 3 คุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปดปรุงรสที่บรรจุแบบมสุญญากาศในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 วัน

ชนิดของจุลินทรีย์	กลุ่มทดลอง (T) ที่บรรจุแบบมีอากาศ					ระยะเวลาในการเก็บรักษา (D)					P-value		
	control	citrate	EPS LB23 0.18%	EPS LB23 0.25%	SEM	0	2	4	6	SEM	T	D	Interaction
Mesophilic aerobic bacteria (log cfu/g)	3.88 <sup>a</sup>	3.65 <sup>c</sup>	3.75 <sup>b</sup>	3.31 <sup>d</sup>	0.02	2.95 <sup>d</sup>	3.42 <sup>c</sup>	3.87 <sup>b</sup>	4.35 <sup>a</sup>	0.02	0.000	0.000	0.055
Mesophilic anaerobic bacteria (log cfu/g)	2.95 <sup>a</sup>	2.63 <sup>c</sup>	2.74 <sup>b</sup>	2.33 <sup>d</sup>	0.01	2.28 <sup>d</sup>	2.48 <sup>c</sup>	2.79 <sup>b</sup>	3.11 <sup>a</sup>	0.02	0.000	0.000	0.069
Psychrophilic bacteria (log cfu/g)	4.04 <sup>a</sup>	3.88 <sup>c</sup>	3.94 <sup>b</sup>	3.47 <sup>d</sup>	0.01	3.33 <sup>d</sup>	3.51 <sup>c</sup>	4.05 <sup>b</sup>	4.43 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.062
Lactic acid bacteria (log cfu/g)	2.74 <sup>a</sup>	2.57 <sup>c</sup>	2.64 <sup>b</sup>	2.32 <sup>d</sup>	0.02	2.31 <sup>d</sup>	2.46 <sup>c</sup>	2.67 <sup>b</sup>	2.84 <sup>a</sup>	0.02	0.000	0.000	0.071
Yeast and Mold (log cfu/g)	2.59 <sup>a</sup>	2.43 <sup>c</sup>	2.50 <sup>b</sup>	2.27 <sup>d</sup>	0.02	2.22 <sup>d</sup>	2.35 <sup>c</sup>	2.51 <sup>b</sup>	2.70 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.078

<sup>1</sup>ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางภาคผนวกที่ 4 คุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรสที่บรรจุแบบสุญญากาศในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 วัน

ชนิดของจุลินทรีย์	กลุ่มทดลอง (T) ที่บรรจุแบบไม่มีอากาศ					ระยะเวลาในการเก็บรักษา (D)					P-value		
	control	citrate	EPS LB23 0.18%	EPS LB23 0.25%	SEM	0	2	4	6	SEM	T	D	Interaction
Mesophilic aerobic bacteria (log cfu/g)	3.81 <sup>a</sup>	3.47 <sup>c</sup>	3.58 <sup>b</sup>	3.11 <sup>d</sup>	0.02	2.96 <sup>d</sup>	3.27 <sup>c</sup>	3.69 <sup>b</sup>	4.07 <sup>a</sup>	0.02	0.000	0.000	0.068
Mesophilic anaerobic bacteria (log cfu/g)	3.02 <sup>a</sup>	2.74 <sup>c</sup>	2.85 <sup>b</sup>	2.40 <sup>d</sup>	0.02	2.28 <sup>d</sup>	2.54 <sup>c</sup>	2.87 <sup>b</sup>	3.32 <sup>a</sup>	0.02	0.000	0.000	0.053
Psychrophilic bacteria (log cfu/g)	3.96 <sup>a</sup>	3.73 <sup>c</sup>	3.84 <sup>b</sup>	3.35 <sup>d</sup>	0.02	3.33 <sup>d</sup>	3.44 <sup>c</sup>	3.84 <sup>b</sup>	4.26 <sup>a</sup>	0.02	0.000	0.000	0.064
Lactic acid bacteria (log cfu/g)	2.85 <sup>a</sup>	2.69 <sup>c</sup>	2.75 <sup>b</sup>	2.39 <sup>d</sup>	0.02	2.31 <sup>d</sup>	2.57 <sup>c</sup>	2.81 <sup>b</sup>	3.00 <sup>a</sup>	0.02	0.000	0.000	0.072
Yeast and Mold (log cfu/g)	2.50 <sup>a</sup>	2.40 <sup>c</sup>	2.43 <sup>b</sup>	2.23 <sup>d</sup>	0.01	2.22 <sup>d</sup>	2.30 <sup>c</sup>	2.43 <sup>b</sup>	2.62 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.081

<sup>1</sup>ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางภาคผนวกที่ 5 คุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรสที่บรรจุแบบมีอากาศในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน

ชนิดของจุลินทรีย์	สูตรหมูปปรุงรส (T)							ระยะเวลาในการเก็บรักษา (D)										P-value			
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	SEM	0	2	4	6	8	10	12	14	16	SEM	T	D	Interaction
Mesophilic aerobic bacteria (log cfu/g)	5.23 <sup>b</sup>	4.89 <sup>c</sup>	5.28 <sup>a</sup>	5.22 <sup>b</sup>	4.57 <sup>d</sup>	4.37 <sup>c</sup>	4.11 <sup>f</sup>	0.01	2.96 <sup>i</sup>	3.76 <sup>h</sup>	4.47 <sup>g</sup>	4.70 <sup>f</sup>	4.88 <sup>e</sup>	5.10 <sup>d</sup>	5.53 <sup>c</sup>	5.78 <sup>b</sup>	6.11 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.052
Mesophilic anaerobic bacteria (log cfu/g)	3.91 <sup>a</sup>	3.78 <sup>c</sup>	3.90 <sup>a</sup>	3.85 <sup>b</sup>	3.61 <sup>d</sup>	3.51 <sup>c</sup>	3.41 <sup>f</sup>	0.01	3.02 <sup>i</sup>	3.35 <sup>h</sup>	3.44 <sup>g</sup>	3.53 <sup>f</sup>	3.67 <sup>e</sup>	3.79 <sup>d</sup>	3.97 <sup>c</sup>	4.22 <sup>b</sup>	4.43 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.058
Psychrophilic bacteria (log cfu/g)	5.54 <sup>a</sup>	5.40 <sup>c</sup>	5.53 <sup>a</sup>	5.47 <sup>b</sup>	4.79 <sup>d</sup>	4.65 <sup>e</sup>	4.52 <sup>f</sup>	0.01	3.96 <sup>i</sup>	4.11 <sup>h</sup>	4.70 <sup>g</sup>	4.83 <sup>f</sup>	5.32 <sup>e</sup>	5.50 <sup>d</sup>	5.68 <sup>c</sup>	5.91 <sup>b</sup>	6.17 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.061
Lactic acid bacteria (log cfu/g)	3.83 <sup>a</sup>	3.72 <sup>c</sup>	3.84 <sup>a</sup>	3.79 <sup>b</sup>	3.37 <sup>d</sup>	3.25 <sup>e</sup>	3.15 <sup>f</sup>	0.01	2.67 <sup>i</sup>	3.08 <sup>h</sup>	3.21 <sup>g</sup>	3.31 <sup>f</sup>	3.52 <sup>e</sup>	3.69 <sup>d</sup>	3.91 <sup>c</sup>	4.20 <sup>b</sup>	4.50 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.068
Yeast and Mold (log cfu/g)	2.92 <sup>b</sup>	2.80 <sup>d</sup>	2.94 <sup>a</sup>	2.88 <sup>c</sup>	2.68 <sup>e</sup>	2.59 <sup>f</sup>	2.51 <sup>g</sup>	0.01	2.44 <sup>i</sup>	2.55 <sup>h</sup>	2.61 <sup>g</sup>	2.70 <sup>f</sup>	2.77 <sup>e</sup>	2.84 <sup>d</sup>	2.91 <sup>c</sup>	2.98 <sup>b</sup>	3.04 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.071

<sup>1</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

<sup>2</sup> หมูปปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), เดิมโซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7)

ตารางภาคผนวกที่ 6 คุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูปปรุงรสที่บรรจุแบบสุญญากาศในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน

ชนิดของจุลินทรีย์	สูตรหมูปปรุงรส (T)							ระยะเวลาในการเก็บรักษา (D)										P-value			
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	SEM	0	2	4	6	8	10	12	14	16	SEM	T	D	Interaction
Mesophilic aerobic bacteria (log cfu/g)	5.17 <sup>b</sup>	4.71 <sup>d</sup>	5.21 <sup>a</sup>	5.12 <sup>c</sup>	4.47 <sup>e</sup>	4.24 <sup>f</sup>	3.98 <sup>g</sup>	0.01	2.96 <sup>i</sup>	3.66 <sup>h</sup>	4.30 <sup>g</sup>	4.54 <sup>f</sup>	4.76 <sup>e</sup>	5.00 <sup>d</sup>	5.42 <sup>c</sup>	5.66 <sup>b</sup>	5.99 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.056
Mesophilic anaerobic bacteria (log cfu/g)	4.05 <sup>a</sup>	3.85 <sup>c</sup>	4.04 <sup>a</sup>	3.98 <sup>b</sup>	3.69 <sup>d</sup>	3.60 <sup>e</sup>	3.50 <sup>f</sup>	0.01	3.02 <sup>i</sup>	3.43 <sup>h</sup>	3.57 <sup>g</sup>	3.66 <sup>f</sup>	3.79 <sup>e</sup>	3.93 <sup>d</sup>	4.09 <sup>c</sup>	4.32 <sup>b</sup>	4.53 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.066
Psychrophilic bacteria (log cfu/g)	5.43 <sup>a</sup>	5.33 <sup>c</sup>	5.44 <sup>a</sup>	5.39 <sup>b</sup>	4.71 <sup>d</sup>	4.54 <sup>e</sup>	4.43 <sup>f</sup>	0.01	3.96 <sup>i</sup>	4.00 <sup>h</sup>	4.59 <sup>g</sup>	4.73 <sup>f</sup>	5.23 <sup>e</sup>	5.38 <sup>d</sup>	5.58 <sup>c</sup>	5.81 <sup>b</sup>	6.05 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.052
Lactic acid bacteria (log cfu/g)	3.93 <sup>a</sup>	3.81 <sup>c</sup>	3.94 <sup>a</sup>	3.86 <sup>b</sup>	3.45 <sup>d</sup>	3.30 <sup>e</sup>	3.20 <sup>f</sup>	0.01	2.67 <sup>i</sup>	3.15 <sup>h</sup>	3.28 <sup>g</sup>	3.40 <sup>f</sup>	3.63 <sup>e</sup>	3.80 <sup>d</sup>	3.99 <sup>c</sup>	4.28 <sup>b</sup>	4.59 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.075
Yeast and Mold (log cfu/g)	2.84 <sup>b</sup>	2.71 <sup>d</sup>	2.86 <sup>a</sup>	2.79 <sup>c</sup>	2.65 <sup>e</sup>	2.48 <sup>f</sup>	2.45 <sup>g</sup>	0.01	2.43 <sup>i</sup>	2.46 <sup>h</sup>	2.54 <sup>g</sup>	2.62 <sup>f</sup>	2.69 <sup>e</sup>	2.74 <sup>d</sup>	2.82 <sup>c</sup>	2.88 <sup>b</sup>	3.95 <sup>a</sup>	0.01	0.000	0.000	0.064

<sup>1</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

<sup>2</sup> หมูปปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), เดิมโซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซิเตรทความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7)

ตารางภาคผนวกที่ 7 คุณภาพทางเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูแปรรูปที่บรรจุแบบมีอากาศในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	สูตรหมูปปรุงรส (T)							SEM	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (D)								P-value				
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7		0	2	4	6	8	10	12	14	16	SEM	T	D	Interaction
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	5.92 <sup>d</sup>	6.15 <sup>a</sup>	5.87 <sup>c</sup>	6.10 <sup>b</sup>	5.94 <sup>c</sup>	5.94 <sup>c</sup>	5.94 <sup>c</sup>	0.01	6.33 <sup>a</sup>	6.29 <sup>h</sup>	6.25 <sup>c</sup>	6.03 <sup>d</sup>	5.97 <sup>c</sup>	5.92 <sup>f</sup>	5.76 <sup>g</sup>	5.67 <sup>h</sup>	5.58 <sup>i</sup>	0.01	0.000	0.000	0.054
การออกซิเดชันของไขมัน (mg MDA/kg meat)	0.91 <sup>bc</sup>	1.01 <sup>a</sup>	0.86 <sup>c</sup>	0.96 <sup>ab</sup>	0.79 <sup>d</sup>	0.74 <sup>dc</sup>	0.68 <sup>c</sup>	0.02	0.27 <sup>i</sup>	0.44 <sup>h</sup>	0.60 <sup>g</sup>	0.67 <sup>f</sup>	0.76 <sup>c</sup>	0.90 <sup>d</sup>	1.11 <sup>c</sup>	1.5 <sup>b</sup>	1.56 <sup>a</sup>	0.02	0.000	0.000	0.998
ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (%)																					
ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการเก็บรักษา	10.30 <sup>c</sup>	9.34 <sup>d</sup>	12.11 <sup>a</sup>	10.64 <sup>b</sup>	8.56 <sup>c</sup>	7.75 <sup>f</sup>	7.11 <sup>g</sup>	0.09	-	4.31 <sup>h</sup>	5.65 <sup>g</sup>	7.18 <sup>f</sup>	8.50 <sup>e</sup>	10.30 <sup>d</sup>	11.80 <sup>c</sup>	13.10 <sup>b</sup>	14.36 <sup>a</sup>	0.09	0.000	0.000	0.087
ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุก	8.47 <sup>a</sup>	7.26 <sup>c</sup>	7.84 <sup>b</sup>	7.30 <sup>c</sup>	5.55 <sup>d</sup>	5.62 <sup>d</sup>	5.39 <sup>d</sup>	0.13	6.91 <sup>bed</sup>	6.48 <sup>def</sup>	6.54 <sup>cdef</sup>	6.44 <sup>cf</sup>	6.68 <sup>bctc</sup>	6.20 <sup>f</sup>	7.12 <sup>b</sup>	6.95 <sup>bc</sup>	7.68 <sup>a</sup>	0.14	0.000	0.000	0.119
<b>ค่าสี</b>																					
ความสว่าง	50.61 <sup>a</sup>	49.76 <sup>b</sup>	49.60 <sup>b</sup>	50.04 <sup>b</sup>	50.05 <sup>b</sup>	50.58 <sup>a</sup>	51.03 <sup>a</sup>	0.16	48.39 <sup>f</sup>	48.86 <sup>ef</sup>	49.26 <sup>c</sup>	49.80 <sup>d</sup>	50.20 <sup>cd</sup>	50.48 <sup>c</sup>	51.16 <sup>b</sup>	51.80 <sup>a</sup>	52.20 <sup>a</sup>	0.18	0.000	0.000	0.895
ค่าสีแดง	4.07 <sup>ab</sup>	3.09 <sup>c</sup>	3.91 <sup>cd</sup>	3.78 <sup>d</sup>	3.95 <sup>bc</sup>	4.08 <sup>ab</sup>	4.16 <sup>a</sup>	0.05	5.31 <sup>a</sup>	4.46 <sup>b</sup>	4.04 <sup>c</sup>	3.84 <sup>d</sup>	3.64 <sup>c</sup>	3.54 <sup>ef</sup>	3.42 <sup>fg</sup>	3.32 <sup>gh</sup>	3.19 <sup>h</sup>	0.06	0.000	0.000	0.069
ค่าสีเหลือง	8.04 <sup>bc</sup>	7.67 <sup>cd</sup>	7.60 <sup>d</sup>	8.04 <sup>bc</sup>	7.88 <sup>cd</sup>	8.30 <sup>b</sup>	8.85 <sup>a</sup>	0.12	9.60 <sup>a</sup>	9.09 <sup>b</sup>	8.63 <sup>c</sup>	8.16 <sup>d</sup>	7.85 <sup>de</sup>	7.57 <sup>ef</sup>	7.39 <sup>f</sup>	7.24 <sup>fg</sup>	6.96 <sup>g</sup>	0.14	0.000	0.000	0.887
ค่าองศาของสี	63.17 <sup>c</sup>	68.46 <sup>a</sup>	62.93 <sup>c</sup>	64.87 <sup>b</sup>	63.39 <sup>c</sup>	63.82 <sup>bc</sup>	64.74 <sup>b</sup>	0.40	60.94 <sup>c</sup>	63.80 <sup>b</sup>	64.90 <sup>ab</sup>	64.73 <sup>ab</sup>	65.11 <sup>ab</sup>	64.99 <sup>ab</sup>	65.19 <sup>ab</sup>	65.36 <sup>a</sup>	65.31 <sup>a</sup>	0.46	0.000	0.000	0.113
ค่าความสดสีของสี	9.01 <sup>bc</sup>	8.29 <sup>c</sup>	8.56 <sup>de</sup>	8.89 <sup>cd</sup>	8.82 <sup>cd</sup>	9.25 <sup>b</sup>	9.79 <sup>a</sup>	0.12	10.98 <sup>a</sup>	10.13 <sup>b</sup>	9.53 <sup>c</sup>	9.03 <sup>d</sup>	8.67 <sup>de</sup>	8.37 <sup>ef</sup>	8.15 <sup>f</sup>	7.98 <sup>fg</sup>	7.67 <sup>g</sup>	0.13	0.000	0.000	0.864
<b>ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม</b>																					
ค่าความแข็ง (N)	5.00 <sup>c</sup>	4.79 <sup>d</sup>	5.01 <sup>c</sup>	4.96 <sup>c</sup>	5.73 <sup>b</sup>	5.90 <sup>a</sup>	6.02 <sup>a</sup>	0.05	7.15 <sup>a</sup>	6.28 <sup>b</sup>	6.15 <sup>bc</sup>	6.09 <sup>c</sup>	5.43 <sup>d</sup>	4.60 <sup>e</sup>	4.34 <sup>f</sup>	4.09 <sup>g</sup>	3.97 <sup>g</sup>	0.06	0.000	0.000	0.951
ค่าการเกาะรวมตัว (ratio)	0.71	0.72	0.72	0.71	0.72	0.71	0.73	0.02	0.78	0.72	0.7	0.68	0.7	0.71	0.73	0.72	0.71	0.01	0.000	0.000	0.962
ค่าความเหนียวคล้ายยาง (N)	3.99 <sup>b</sup>	3.81 <sup>c</sup>	3.97 <sup>bc</sup>	3.87 <sup>bc</sup>	4.81 <sup>a</sup>	4.79 <sup>a</sup>	4.81 <sup>a</sup>	0.06	5.98 <sup>a</sup>	5.33 <sup>b</sup>	5.06 <sup>c</sup>	5.00 <sup>c</sup>	4.27 <sup>d</sup>	3.52 <sup>e</sup>	3.18 <sup>f</sup>	3.18 <sup>f</sup>	3.13 <sup>f</sup>	0.07	0.000	0.000	0.976
ค่าความยืดหยุ่น (ratio)	0.83	0.85	0.84	0.84	0.84	0.83	0.84	0.02	0.85	0.85	0.85	0.82	0.82	0.83	0.84	0.83	0.83	0.01	0.001	0.000	0.984
ค่าความเหนียวได้ (N)	3.30 <sup>b</sup>	3.24 <sup>b</sup>	3.33 <sup>b</sup>	3.27 <sup>b</sup>	4.04 <sup>a</sup>	3.96 <sup>a</sup>	4.04 <sup>a</sup>	0.05	5.08 <sup>a</sup>	4.54 <sup>b</sup>	4.32 <sup>c</sup>	4.07 <sup>d</sup>	3.52 <sup>e</sup>	2.92 <sup>f</sup>	2.69 <sup>g</sup>	2.65 <sup>g</sup>	2.60 <sup>g</sup>	0.02	0.000	0.000	0.969

<sup>1</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

<sup>2</sup> หมูปปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), เดิมโซเดียมซัลเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซัลเฟตความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7)

ตารางภาคผนวกที่ 8 คุณภาพทางเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูบดปรุงรสที่บรรจุแบบสุญญากาศในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	สูตรหมบปรุงรส (T)								ระยะเวลาในการเก็บรักษา (D)								P-value				
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	SEM	0	2	4	6	8	10	12	14	16	SEM	T	D	Interaction
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	5.89 <sup>d</sup>	6.10 <sup>a</sup>	5.84 <sup>c</sup>	6.07 <sup>b</sup>	5.91 <sup>c</sup>	5.90 <sup>c</sup>	5.91 <sup>c</sup>	0.01	6.33 <sup>a</sup>	6.25 <sup>b</sup>	6.21 <sup>c</sup>	5.99 <sup>d</sup>	5.93 <sup>c</sup>	5.88 <sup>f</sup>	5.72 <sup>e</sup>	5.64 <sup>b</sup>	5.55 <sup>i</sup>	0.01	0.000	0.000	0.058
การออกซิเดชันของไขมัน (mg MDA/kg meat)	0.90 <sup>b</sup>	0.98 <sup>a</sup>	0.81 <sup>c</sup>	0.95 <sup>ab</sup>	0.72 <sup>d</sup>	0.66 <sup>dc</sup>	0.61 <sup>e</sup>	0.02	0.27 <sup>i</sup>	0.35 <sup>h</sup>	0.46 <sup>g</sup>	0.58 <sup>f</sup>	0.75 <sup>c</sup>	0.91 <sup>d</sup>	1.08 <sup>c</sup>	1.31 <sup>b</sup>	1.51 <sup>a</sup>	0.02	0.000	0.000	0.463
ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (%)																					
ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการเก็บรักษา	10.12 <sup>c</sup>	9.23 <sup>d</sup>	11.97 <sup>a</sup>	10.51 <sup>b</sup>	8.42 <sup>c</sup>	7.57 <sup>f</sup>	6.92 <sup>g</sup>	0.06	-	4.17 <sup>h</sup>	5.53 <sup>g</sup>	6.99 <sup>f</sup>	8.35 <sup>c</sup>	10.15 <sup>d</sup>	11.66 <sup>c</sup>	12.95 <sup>b</sup>	14.19 <sup>a</sup>	0.06	0.000	0.000	0.098
ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุก	8.49 <sup>a</sup>	7.57 <sup>b</sup>	7.77 <sup>b</sup>	7.51 <sup>b</sup>	5.26 <sup>c</sup>	5.18 <sup>c</sup>	5.11 <sup>c</sup>	0.10	6.91 <sup>b</sup>	5.85 <sup>f</sup>	6.54 <sup>cd</sup>	6.32 <sup>de</sup>	6.77 <sup>bc</sup>	6.17 <sup>c</sup>	6.54 <sup>cd</sup>	7.73 <sup>a</sup>	7.44 <sup>a</sup>	0.12	0.000	0.000	0.129
ค่าสี																					
ความสว่าง	50.86 <sup>ab</sup>	49.63 <sup>d</sup>	50.23 <sup>c</sup>	50.23 <sup>c</sup>	50.55 <sup>b</sup>	50.65 <sup>b</sup>	51.13 <sup>a</sup>	0.11	48.79 <sup>h</sup>	49.25 <sup>g</sup>	49.64 <sup>f</sup>	50.02 <sup>c</sup>	50.47 <sup>d</sup>	50.90 <sup>c</sup>	51.22 <sup>c</sup>	51.80 <sup>b</sup>	52.20 <sup>a</sup>	0.12	0.000	0.000	0.073
ค่าสีแดง	4.45 <sup>c</sup>	3.73 <sup>c</sup>	4.54 <sup>bc</sup>	4.29 <sup>d</sup>	4.57 <sup>b</sup>	4.73 <sup>a</sup>	4.71 <sup>a</sup>	0.04	5.31 <sup>a</sup>	4.99 <sup>b</sup>	4.87 <sup>b</sup>	4.64 <sup>c</sup>	4.41 <sup>d</sup>	4.21 <sup>c</sup>	4.03 <sup>f</sup>	3.82 <sup>g</sup>	3.60 <sup>h</sup>	0.04	0.000	0.000	0.052
ค่าสีเหลือง	8.22 <sup>ab</sup>	7.93 <sup>c</sup>	7.70 <sup>d</sup>	8.15 <sup>bc</sup>	8.06 <sup>bc</sup>	8.39 <sup>a</sup>	8.22 <sup>ab</sup>	0.07	9.60 <sup>a</sup>	9.08 <sup>b</sup>	8.61 <sup>c</sup>	8.11 <sup>d</sup>	7.86 <sup>c</sup>	7.52 <sup>f</sup>	7.43 <sup>f</sup>	7.38 <sup>f</sup>	7.27 <sup>f</sup>	0.08	0.000	0.000	0.082
ค่าออสมาของสี	61.59 <sup>b</sup>	64.99 <sup>a</sup>	59.54 <sup>d</sup>	62.26 <sup>b</sup>	60.46 <sup>c</sup>	60.52 <sup>c</sup>	60.06 <sup>cd</sup>	0.28	60.94 <sup>cd</sup>	61.22 <sup>cd</sup>	60.47 <sup>d</sup>	60.26 <sup>d</sup>	60.76 <sup>cd</sup>	60.76 <sup>cd</sup>	61.62 <sup>c</sup>	62.6 <sup>b</sup>	63.57 <sup>a</sup>	0.32	0.000	0.000	0.135
ค่าความสดไสของสี	9.34 <sup>bc</sup>	8.78 <sup>d</sup>	8.94 <sup>d</sup>	9.21 <sup>c</sup>	9.27 <sup>c</sup>	9.64 <sup>a</sup>	9.48 <sup>ab</sup>	0.07	10.98 <sup>a</sup>	10.36 <sup>b</sup>	9.90 <sup>c</sup>	9.35 <sup>d</sup>	9.02 <sup>c</sup>	8.63 <sup>f</sup>	8.46 <sup>g</sup>	8.31 <sup>gh</sup>	8.12 <sup>h</sup>	0.08	0.000	0.000	0.219
ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม																					
ค่าความแข็ง (N)	5.07 <sup>cd</sup>	4.93 <sup>d</sup>	5.12 <sup>c</sup>	5.02 <sup>cd</sup>	5.83 <sup>b</sup>	6.00 <sup>a</sup>	6.08 <sup>a</sup>	0.05	7.15 <sup>a</sup>	6.39 <sup>b</sup>	6.24 <sup>bc</sup>	6.14 <sup>c</sup>	5.55 <sup>d</sup>	4.77 <sup>e</sup>	4.44 <sup>f</sup>	4.22 <sup>g</sup>	4.03 <sup>h</sup>	0.06	0.000	0.000	0.314
ค่าการเกาะรวมตัว (ratio)	0.71	0.71	0.71	0.71	0.72	0.71	0.72	0.00	0.78	0.70	0.70	0.68	0.70	0.74	0.72	0.71	0.71	0.00	0.000	0.000	0.252
ค่าความเหนียวคล้ายยาง (N)	3.94 <sup>b</sup>	3.91 <sup>b</sup>	3.91 <sup>b</sup>	3.92 <sup>b</sup>	4.87 <sup>a</sup>	4.86 <sup>a</sup>	4.86 <sup>a</sup>	0.06	5.98 <sup>a</sup>	5.30 <sup>b</sup>	5.07 <sup>c</sup>	5.05 <sup>c</sup>	4.38 <sup>d</sup>	3.57 <sup>e</sup>	3.22 <sup>f</sup>	3.18 <sup>f</sup>	3.17 <sup>f</sup>	0.07	0.000	0.000	0.362
ค่าความยืดหยุ่น (ratio)	0.81	0.84	0.82	0.83	0.85	0.83	0.84	0.00	0.85	0.83	0.83	0.8	0.82	0.85	0.84	0.83	0.83	0.00	0.000	0.000	0.428
ค่าความเคี้ยวได้ (N)	3.20 <sup>b</sup>	3.30 <sup>b</sup>	3.19 <sup>b</sup>	3.26 <sup>b</sup>	4.13 <sup>a</sup>	4.02 <sup>a</sup>	4.10 <sup>a</sup>	0.05	5.08 <sup>a</sup>	4.42 <sup>b</sup>	4.23 <sup>c</sup>	4.04 <sup>d</sup>	3.57 <sup>c</sup>	3.03 <sup>f</sup>	2.73 <sup>g</sup>	2.65 <sup>g</sup>	2.64 <sup>g</sup>	0.06	0.000	0.000	0.512

<sup>1</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

<sup>2</sup> หมบปรุงรสกลุ่มควบคุม (T1), เดิมโซเดียมซัลเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (T2), กรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T3), โซเดียมซัลเฟตความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (T4), EPS-LB23 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 (T5), 0.31 (T6) และ 0.37 (T7)

## ภาคผนวก ข

### การเตรียมสารเคมี

#### 1. สารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 70%

95% ethanol	737.0 มิลลิลิตร
Distilled water	233.0 มิลลิลิตร

#### 2. การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์ค่าออกซิเดชันของไขมันด้วยเทคนิค Thiobarbituric acid reactive substance (TBARs)

##### 2.1 สารละลาย TBA ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

Trichloroacetic acid (TCA)	0.375 กรัม
2-thiobarbituric acid	15 กรัม
0.25 N HCl	100 มิลลิลิตร

ทำการละลาย Trichloroacetic acid (TCA) 0.375 กรัม ร่วมกับ 2-thiobarbituric acid 15 กรัม ใน 0.25 N HCl 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน โดยการให้ความร้อนพร้อมทั้งใช้ magnetic bar เพื่อช่วยในการกระจายตัวของสาร เก็บในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

## ภาคผนวก ค

## การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

## 1. การเตรียม 1% Potassium tellurite ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

Potassium tellurite	1 กรัม
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

ทำการละลาย Potassium tellurite 1 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจูลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

## 2. สารละลายเกลือ 0.85% Sodium chloride ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

Sodium chloride	8.5 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ทำการละลาย Sodium chloride 8.5 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจูลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

## 3. สารละลายเปปโตน 0.1% buffered peptone water ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

Buffered peptone water	25.5 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ทำการละลาย 0.1% peptone water 25.5 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจูลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

## 4. สารละลาย Kovac's indole reagent

Amylose iso-amylalcohol	150 มิลลิลิตร
p-dimethyl aminobenzaldehyde	10 กรัม
HCl	50 มิลลิลิตร

ทำการละลาย p-dimethyl aminobenzaldehyde 10 กรัม ลงใน Amylose iso-amylalcohol 150 มิลลิลิตร แล้วค่อยๆ เติม HCl ลงไป เก็บในขวดสีชา ที่ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 5. 10% Tartarlic acid ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

Tartarlic acid	10 กรัม
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

ทำการละลาย Tartarlic acid 10 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจูลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

## 6. 40% KOH ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

KOH	40 กรัม
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

ทำการละลาย KOH 40 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจูลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

## 7. Baird-Parker agar ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

7.1 Baird-Parker agar	58 กรัม
น้ำกลั่น	950 มิลลิลิตร

ทำการละลาย Baird-Parker agar 58 กรัม ในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจูลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

## 7.2 การเตรียม egg yolk-tellurite emulsion

- นำไข่ไก่สดแช่ใน 95% alcohol เป็นเวลา 20 นาที
- นำไข่ไก่ในข้อที่ 1) วางบนกระดาษทิชชู ทิ้งให้ แอลกอฮอล์ระเหย
- ตอกไข่ในตู้ปลอดเชื้อ โดยการแยกไข่ขาวออกจากไข่แดง โดยนำไข่แดง (ไข่แดง 5%) ใสลงในบีกเกอร์ที่ปลอดเชื้อ เติม 0.53% NaCl 40 มิลลิลิตร และเติม 10.5% tellurite 1 มิลลิลิตร (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)

ทำการผสม ข้อที่ 7.1 และ ข้อที่ 7.2 ผสมให้เข้ากันด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ

## 8. Buffered listeria enrichment broth ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

Buffered listeria enrichment broth	48 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการละลาย Buffered listeria enrichment broth 48 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อ จุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

#### 9. EMB agar ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

EMB agar	36 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ทำการละลาย EMB agar 36 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อ จุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

#### 10. Hektoen Enterixa agar ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

Hektoen Enterixa agar	75 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ทำการละลาย Hektoen Enterixa agar 75 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อ จุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

#### 11. Lysine Iron Agar ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

Lysine Iron Agar	3.2 กรัม
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

ทำการละลาย Lysine Iron Agar 3.2 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ให้ความร้อนด้วย microwave จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อ จุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

#### 12. LMX broth ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

LMX broth	17 กรัม
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

ทำการละลาย LMX broth 17 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อ จุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 13. Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

13.1 Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar	21.5 กรัม
น้ำกลั่น	450 มิลลิลิตร

ทำการละลาย Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar 21.5 กรัม ในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

## 13.2 การเตรียม egg yolk solution

ไข่แดง	25 กรัม
0.85% NaCl	25 มิลลิลิตร

## 13.3 supplement MYP 1 viol

น้ำกลั่น	5 มิลลิลิตร
----------	-------------

ทำการผสมอาหารในข้อที่ 13.1 เข้ากับ ข้อที่ 13.2 และ 13.3 ผสมให้เข้ากันด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ก่อนเทอาหาร

## 14. Mueller Kauffmann Tetrathionate Novobiocin Broth (MkTTN) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

MkTTN	89.5 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ทำการละลาย MkTTN 89.5 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที (actoclave เฉพาะน้ำกลั่น)

## 15. Modified listeria selective agar ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

15.1 Modified listeria selective agar	55.5 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ทำการละลาย MRS broth 52.2 กรัม ร่วมกับ Agar-agar 15 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

## 15.2 Listeria selective supplement 1 viol

98% alcohol	100 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการละลาย Listeria selective supplement โดยปีเปิด 95% alcohol 1.57 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 3.43 มิลลิลิตร (ทำให้ปลอดเชื้อ จุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที เฉพาะ 95% alcohol และ น้ำกลั่น)

16. MRS agar ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

MRS broth	52.2 กรัม
Agar-agar	15 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ทำการละลาย MRS broth 52.2 กรัม ร่วมกับ Agar-agar 15 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

17. MR-VP broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

MR-VP broth	17 กรัม
Agar-agar	15 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ทำการละลาย MR-VP broth 17 กรัม ร่วมกับ Agar-agar 15 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

18. Novomycin ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

Novomyocin	15 กรัม
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

ทำการละลาย Novomyocin 15 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

19. Plate count agar ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

Plate count agar	22.5 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ทำการละลาย Plate count agar 22.5 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

#### 20. Potassium iodine ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

Potassium iodine	25 กรัม
Iodine	20 กรัม
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

ทำการละลาย Potassium iodine 25 กรัม ร่วมกับ Iodine 20 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

#### 21. Potato dextrose agar ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

Potato dextrose agar	39 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ทำการละลาย Potato dextrose agar 39 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

#### 22. Tryptone Soya Agar ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

22.1 Tryptone Soya Agar	4.01 กรัม
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

ทำการละลาย Tryptone Soya Agar 4.01 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 118 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 12 นาที

#### 22.2 13.3% sodium thioglycolate

sodium thioglycolate	13.3 กรัม
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

#### 22.3 buffer mixer

dipotassium phosphate	5.7 กรัม
sodium carbonate	28 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำกลั่น

100 มิลลิลิตร

ทำการผสม 13.3% sodium thioglycolate 0.75 มิลลิลิตร กับ Buffer mixer (5.7% dipotassium phosphate + 28% sodium carbonate) 1.75 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจูลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวพัสวี สิทธิชัย
วัน เดือน ปีเกิด	4 เมษายน 2538
ที่อยู่	8/3 ถนนนิพัทธ์อุทิศ3 ซอย2 อำเภอหาดใหญ่ ตำบลหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2556 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนหาดใหญ่วิทยาลัย จังหวัดสงขลา พ.ศ. 2560 หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตภัณฑ์ สัตว์และประมง สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร พ.ศ. 2563 หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีการ ผลิตภัณฑ์สัตว์และประมง สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยี การเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร
ผลงานทางวิชาการ	“Application of Exopolysaccharide from <i>Bacillus subtilis</i> LB23 to Extend Shelf-life of Marinated Ground Pork.” The 17 <sup>th</sup> National Kasetsart University Kamphaeng Saen Conference (The 17 <sup>th</sup> KU-KPS Conference).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้