

กิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่
ผลิตจาก *Bacillus subtilis* LB23 ในไส้กรอกไก่

ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF
EXOPOLYSACCHARIDES PRODUCED FROM *BACILLUS SUBTILIS* LB23
IN CHICKEN SAUSAGE

อูดม หลีวรกุล
UDOM LIWWORAKUL

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา สัตวศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2564

KMITL-2021-AG-M-031-342

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF
EXOPOLYSACCHARIDES PRODUCED FROM *BACILLUS SUBTILIS* LB23
IN CHICKEN SAUSAGE**



UDOM LIWWORAKUL

**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-031-342

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2021

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	กิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก <i>Bacillus subtilis</i> LB23 ในไส้กรอกไก่
นักศึกษา	นายอุดม หลีวรรณกุล
รหัสประจำตัว	61604037
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สัตวศาสตร์
พ.ศ.	2564
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.สุสดี ตั้งวัชรินทร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รศ.ดร.ศุภลักษณ์ ธรรมภักดี

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *Bacillus subtilis* LB23 พบว่า การศึกษาการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในหลอดทดลองที่ความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับ (0.19 0.25 0.31 และ 0.37%) กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.37% สามารถต้านออกซิเดชันของไขมัน ยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชและซูเปอร์ออกไซด์ได้ดีที่สุดและดีกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติมสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ ($P < 0.05$) นอกจากนี้เอกโซโพลีแซคคาไรด์ยังมีฤทธิ์ในการต้านการงอกสปอร์ *Clostridium sporogenes* โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้มีความเข้มข้น 0.25%

จากการศึกษาการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศ พบว่า ไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ (0.18 0.25 0.31 และ 0.37%) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* และ Lactic acid bacteria ได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติมสารต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์ การศึกษาคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 42 วัน พบว่า การเติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18, 0.25, 0.31 และ 0.37% สามารถควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียโดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางที่ใช้อากาศและไม่ใช้อากาศ จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ แบคทีเรียแลคติก และยีสต์รา ในไส้กรอกในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศ และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 21 และ 28 วันในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศ ตามลำดับ ทั้งนี้เอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.25% ให้ผลการต้านจุลินทรีย์ได้ดีไม่แตกต่างกับความเข้มข้น 0.37% และคุณภาพทางด้านเคมี-

กายภาพมีผลใกล้เคียงกัน

นอกจากนี้การศึกษาการใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์ทดแทนไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 63 วัน พบว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์สามารถทดแทนไนโตรเจนได้ถึง 50% โดยใช้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.25% และลดปริมาณไนโตรเจนและอิริทอร์เบตลง 50% สามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาที่เสื่อมเสียจากยีสต์และราได้ถึงวันที่ 35 ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศ เช่นเดียวกับไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.25% ที่ไม่ลดปริมาณไนโตรเจนและอิริทอร์เบต ในขณะที่ไส้กรอกที่ไม่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์และไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.25% แต่ลดปริมาณไนโตรเจนและอิริทอร์เบต 75% จะเสื่อมเสียจากยีสต์และราในวันที่ 21 และ 28 ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศตามลำดับ คุณภาพทางเคมี-กายภาพลดลง โดยค่าการสูญเสียเนื้อระหว่างการเก็บรักษาและค่าการออกซิเดชันของไขมันมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) ค่าความสว่างมีค่าเพิ่มขึ้นและค่าสีแดงของไส้กรอกกลุ่มที่ไม่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์มีค่าลดลงเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นานกว่า 42 วัน ซึ่งไส้กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์มีค่าสีแดงที่คงตัวตลอดอายุการเก็บรักษา สำหรับลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวมมีค่าลดลง ($P < 0.05$) ทั้งบรรจุภัณฑ์แบบปิดผนึกมีอากาศและแบบสุญญากาศ ทั้งนี้การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตรวจไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* และ *Escherichia coli*

Thesis	Antimicrobial and Antioxidant Activities of Exopolysaccharides Produced from <i>Bacillus Subtilis</i> LB23 in Chicken Sausage
Student	Mr. Udom Liwvorakul
Student ID	61604037
Degree	Master of Science
Program	Animal Science
Year	2021
Thesis Advisor	Asst Prof. Dr. Pussadee Tangwatcharin
Thesis Co-advisor	Assoc Prof. Dr. Supaluk Sorapukdee

ABSTRACT

The objectives of this study were to investigate the antimicrobial and antioxidative activity of the exopolysaccharide produced from *Bacillus subtilis* LB23. The experiments were performed at four different concentrations (0.18, 0.25, 0.31, and 0.37%). The 0.37% concentrated exopolysaccharide group was able to resist lipid oxidation, inhibit DPPH and superoxide oxidation the best and better than control and the synthetic antimicrobial additive ($P>0.05$). In addition, the exopolysaccharides had anti-germination activity of *Clostridium sporogenes*, with the lowest sterile concentration of 0.25%

The antimicrobial activity of exopolysaccharides added to sausage products in aerobic and anaerobic packaging was found that sausages added to exopolysaccharides (0.18 0.25 0.31 and 0.37%) can inhibit the growth of pathogenic microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, and Lactic acid bacteria were superior to control and synthetic antimicrobial additive groups. Microbial quality study of sausage products during storage at 4 ° C for 42 days. It was found that adding 0.18%, 0.25%, 0.31% and 0.37% of exopolysaccharide were able to control the growth of food spoilage microorganism, especially mesophilic aerobic and anaerobic bacteria, psychrophilic bacteria, lactic acid bacteria and yeast and mold in sausages aerobic and anaerobic packaging and keeps the shelf life up to 21 and 28 days in aerobic and anaerobic packaging respectively. The exopolysaccharide at a concentration of 0.25% showed good antimicrobial effect not different from 0.37% concentration and the physicochemical quality had similar effects.

In addition, exopolysaccharides to replace nitrite were investigated in chicken sausage products packed in aerobic and anaerobic packaging. During the storage at 4 °C for 63 days, it was found that exopolysaccharides can be substituted for up to 50% nitrite. Sausages added to a 0.25% concentration of exopolysaccharide and a 50% reduction in nitrite and erythrorbate content were able to extend the shelf life of yeast and mold deterioration up to day 35 in aerobic and anaerobic packaging. Similarly, sausages added to 0.25% concentrations of exopolysaccharides without reducing nitrite and erythrorbate. While sausages without exopolysaccharides and sausages added to 0.25% concentration of exopolysaccharide but reduced nitrite and erythrorbate content by 75% would Degraded by yeast and mold on the 21 and 28 days in aerobic and anaerobic packaging respectively. The chemical-physical quality decreased, the water loss during storage and the lipid oxidation increased ($P < 0.05$), the brightness value increased and the redness of the sausages without exopolysaccharides, the value of the sausage decreased over 42 days, with the exopolysaccharide added of sausages to be stable over the shelf life. Overall texture characteristics were reduced ($P < 0.05$) for both aerobic and anaerobic packaging. The storage of sausage products at 4 °C did not detect pathogens such as *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.ศุภศิณี ตั้งวัชรินทร์ อีกทั้ง รองศาสตราจารย์ ดร.ศุภลักษณ์ สรภักดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ให้ความช่วยเหลือให้คำชี้แนะช่วยแก้ปัญหาตลอดจนให้ความรู้และความเข้าใจที่ดีแก่นักศึกษา

ขอขอบคุณปณณานิ สัมภาวะผล ผู้ให้เชื่อบริษัทมาใช้ในการศึกษาในวิทยานิพนธ์เล่มนี้

ขอขอบคุณผศ.ดร. อัจฉรา เลขานุกุล ผศ.ดร.ศิริพร เรียบร้อย คิม และรศ.ดร. รณชัย สิทธิไกรพงษ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและข้อชี้แนะจนสามารถทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้

ขอขอบคุณคุณณทชัย วิจิตโรทัย คุณจรรยา คงฤทธิ์ คุณสุภาพรรณ ศฤงฆาร คุณจันทร์เพ็ญ เอื้อสกุลรุ่งเรือง นักวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และพี่นักศึกษาปริญญาโทที่ให้ความช่วยเหลือจนการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดามารดาซึ่งเป็นคนที่คอยให้กำลังใจและยังเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ให้ความรู้และคอยสั่งสอนทุกอย่างให้แก่นักศึกษา

อุดม หลีววรรณ

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	2
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 ผลึกกันท์เนื้อสัตว์ประเภทไส้กรอก	5
2.1.1 ประเภทของผลึกกันท์เนื้อสัตว์ประเภทไส้กรอก	5
2.2 วัตถุดิบและส่วนผสมหลักในการผลิตไส้กรอก	7
2.2.1 ส่วนผสมที่ไม่ใช่วัตถุดิบอาหารที่ใช้ในการผลิตไส้กรอก	7
2.2.2 วัตถุดิบอาหารที่ใช้ในการผลิตไส้กรอก	8
2.3 การเกิดอิมัลชันในผลึกกันท์เนื้อสัตว์ประเภทไส้กรอก	10
2.4 การเสื่อมเสียของผลึกกันท์เนื้อสัตว์ประเภทไส้กรอก	10
2.5 การปนเปื้อนแบคทีเรียก่อโรคในผลึกกันท์ไส้กรอก	12
2.6 การเกิดออกซิเดชันของไขมัน	13
2.7 เอกโซโพลีแซคคาไรด์ (Exopolysaccharides)	14

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
2.7.1 ชนิดและสมบัติของเอกโซโพลีแซคคาไรด์	15
2.7.2 การต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์	18
2.7.3 การต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์	20
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	22
3.1 วิธีการดำเนินงาน	22
3.1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี	22
3.1.2 วัสดุ – อุปกรณ์ และเครื่องมือ	23
3.2 วิธีการทดลอง	30
3.2.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์จาก <i>Bacillus subtilis</i> LB23	30
3.2.2 การทดลองที่ 2 ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกในระหว่างการเก็บรักษา	33
3.2.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาการใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์ทดแทนไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่	39
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	44
4.1 ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์จาก <i>Bacillus subtilis</i> LB23	44
4.1.1 ศึกษาคุณสมบัติการด้านการออกสปอร์ <i>Clostridium sporogenes</i> ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์	44
4.1.2 คุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์จากสารสกัดไส้กรอก	45
4.2 ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกในระหว่างการเก็บรักษา	47
4.3 ศึกษาการใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์ทดแทนไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่	58

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	73
5.1 สรุปผลการทดลอง	73
5.2 ข้อเสนอแนะ	74
บรรณานุกรม	75
ภาคผนวก	88
ภาคผนวก ก	89
ภาคผนวก ข	94
ภาคผนวก ค	95
ประวัติผู้เขียน	102



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 อายุการเก็บรักษาของไส้กรอกปรุงสุกที่บรรจุสุญญากาศเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน	11
2.2 เอกโซโพลีแซคคาไรด์ของจุลินทรีย์ที่ได้รับการยอมรับเชิงการค้า	18
2.3 กิจกรรมการยับยั้งการเจริญที่เกิดจากแบคทีเรีย <i>B. licheniformis</i> Dabb1 exopolysaccharide (BI-EPS) เทียบกับแบคทีเรียแกรมบวก (<i>B. subtilis</i> และ <i>B. pumilus</i>) และแบคทีเรียแกรมลบ (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> และ <i>Proteus vulgaris</i>) และเชื้อรา <i>Candida albicans</i>	19
2.4 กิจกรรมการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์จาก <i>B. altitudinis</i> MSH2014	19
2.5 กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ของสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน	20
3.1 ส่วนผสมในระบบอิมัลชันเนื้อสัตว์ (Emulsified meat system)	32
3.2 ส่วนประกอบของไส้กรอกในแต่ละกลุ่มทดลอง	34
3.3 องค์ประกอบของไส้กรอกในแต่ละกลุ่มทดลอง	40
4.1 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อและความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>C. sporogenes</i>	45
4.2 เวลาหนึ่งชั่วโมงของจุลินทรีย์ก่อโรคที่เติมลงในไส้กรอกไก่.....	50
4.3 จำนวนโคลิฟอร์มของไส้กรอกในบรรจุภัณฑ์แบบปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศ	63

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ปริมาณของจุลินทรีย์ที่เน่าเสียในไส้กรอกไก่ที่รวบรวมจากประเทศอียิปต์ (คอถัมน์ดำ) และกรีซ (คอถัมน์ขาว) ในระหว่างปี (2006)	13
2.2 ระบบ Catabolic นำไปสู่การสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์	16
2.3 ผลของการรวมกันของ EPS-Ca6 ต่อสารปฏิกิริยา thiobarbituric acid ในไส้กรอกเนื้อสุกในช่วง 12 วันของการเก็บรักษาที่ 4 °C	21
4.1 การต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซัลเฟต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6)	46
4.2 การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชในตัวอย่างกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซัลเฟต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6)	47
4.3 การเจริญของ <i>Salmonella</i> spp. ในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซัลเฟต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก) และสุญญากาศ (ข)	48
4.4 การเจริญของ <i>S. aureus</i> ในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซัลเฟต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก) และสุญญากาศ (ข)	49
4.5 การเจริญของ <i>L. monocytogenes</i> ในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซัลเฟต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก) และสุญญากาศ (ข)	49

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.6 การเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติกในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก) และสุญญากาศ (ข)	50
4.7 จำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางใช้อากาศ (ก และ ข), จำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางไม่ใช้อากาศ (ค และ ง) และจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ (จ และ ฉ) ในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก, ค และ จ) และสุญญากาศ (ข, ง และ ฉ)	52
4.8 จำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก) และสุญญากาศ (ข)	53
4.9 จำนวนยีสต์และราในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก) และสุญญากาศ (ข)	54
4.10 ปริมาณผลผลิตหลังการปรุงสุกของไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6)	55
4.11 จำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางใช้อากาศ (ก และ ข), จำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางไม่ใช้อากาศ (ค และ ง) และจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ (จ และ ฉ) ในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และโซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก, ค และ จ) และสุญญากาศ (ข, ง และ ฉ)	60

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.12 จำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และโซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก) และสุญญากาศ (ข)	61
4.13 จำนวนยีสต์และราในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และโซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก) และสุญญากาศ (ข)	62
4.14 ความเป็นกรด-ด่างของไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และโซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8)	64
4.15 การออกซิเดชันของไขมันในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และโซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8)	66

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.16 ปริมาณผลผลิตหลังการปรุงสุกของไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8)	67
4.17 การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8)	68
4.18 ค่าสี (CIE L*, a*, b*, Hue angle และ Chroma) ของไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8)	70
4.19 คุณภาพด้านเนื้อสัมผัสโดยรวม (TPA) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8)	72

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ผลิตภัณฑ์จากไก่ เช่น ไส้กรอกไก่เป็นอาหารที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก การผลิตมีขั้นตอนการจัดการจำนวนมาก ทำให้มีความเสี่ยงสูงต่อการปนเปื้อนจากเชื้อก่อโรคและเชื้อที่ทำให้อาหารเน่าเสีย เช่น *Staphylococcus* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* และ *Salmonella* spp. เป็นสาเหตุที่พบบ่อยของการปนเปื้อนเชื้อในไส้กรอกไก่ (Shiji *et al.* 2019) listeriosis เป็นโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย *L. monocytogenes* ทำให้เชื้อหุ้มสมองอักเสบ พบการเสียชีวิต 500 รายในสหรัฐอเมริกา ระหว่างปี 1994 และ 2002 มีการเรียกคืนผลิตภัณฑ์จากไก่จำนวนมากเนื่องจากมีการปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* ปัจจัยที่ทำให้เกิดการระบาดของโรค คือ การปนเปื้อนข้ามระหว่างการตัดและการหั่น ไส้กรอก นำไปสู่การเพิ่มขึ้นของแบคทีเรีย psychrotrophic, *Brochothrix thermosphacta*, Lactic acid bacteria (LAB) และ *Pseudomonas* spp. ทำให้อาหารเน่าเสียและอายุการเก็บรักษาลดลง (Alsheikh *et al.* 2013) ความกังวลอีกอย่างหนึ่งในผลิตภัณฑ์จากไก่ คือ การเริ่มมีอาการหิวน้ำและคลื่นไส้ไม่พึงประสงค์เนื่องจากเกิดออกซิเดชัน เมื่อเนื้อไก่สัมผัสกับสภาพแวดล้อมที่เป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น ความร้อน จะเป็นตัวเร่งให้เนื้อไก่ก่อไวต์ออกซิเดชันมากกว่าเนื้อหมูและเนื้อวัว ออกซิเดชันที่สูงในระหว่างการแปรรูปและการเก็บรักษาเนื้อไก่นำไปสู่การเสื่อมคุณภาพทั้งด้านรสชาติ สีและประสาทสัมผัสทางกายภาพ (Carvalho *et al.* 2017) สาเหตุของการเหม็นหืนในไส้กรอกเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยไขมันในเนื้อสัตว์เมื่อเก็บไว้นานๆ จะเกิดกรดไขมันอิสระที่ก่อให้เกิดการเหม็นหืนได้ (วิษชุดา สังข์แก้ว. 2553) ดังนั้นการใช้สารต้านจุลินทรีย์และสารต้านอนุมูลอิสระเป็นประโยชน์ในการรักษาคุณภาพเนื้อสัตว์ในการยืดอายุการเก็บรักษา (Yin and Cheng. 2003) ไส้กรอกมักมีไนโตรเจนเป็นส่วนผสมเนื่องจากเป็นสารต้านจุลินทรีย์ที่สามารถช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะ *Clostridium botulinum* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท นอกจากนี้ไนโตรเจนยังทำให้เกิดสีแดงอมชมพูมารับประทานในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก แต่หากใช้ในปริมาณที่เกินกำหนดก็จะก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค เช่น ทำให้ฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงผิดปกติไม่สามารถนำพาออกซิเจนไปใช้ได้ ทำให้เซลล์ขาดออกซิเจน เกิดอาการตัวเขียว หายใจไม่ออก หัวใจเต้นเร็ว และหมดสติในที่สุด และก่อให้เกิดสารไนโตรซามีนที่เป็นสารก่อมะเร็ง เสี่ยงต่อการเสียชีวิตได้ (Govari and Pexara. 2015) สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ต่างๆ เช่น butylated hydroxyanisole (BHA) หรือ butylated hydroxytoluene (BHT) มักถูกใช้เพื่อชะลอการพัฒนาของผลิตภัณฑ์อาหารหิวน้ำ (Martinez *et*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

al. 2001) อย่างไรก็ตามผู้บริโภคมีความกังวลเกี่ยวกับความปลอดภัยของสารสังเคราะห์ ความกังวลนี้ นำไปสู่ความสนใจสารจากธรรมชาติ (Pokorny. 1991) สารจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ และต้านอนุมูลอิสระมีข้อได้เปรียบที่จะได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค

แบคทีเรียบางชนิดสามารถผลิตพอลิเมอร์ออกมาสู่สิ่งแวดล้อมเรียกว่า exopolysaccharide (EPS) (Fang *et al.* 2013) การใช้ประโยชน์จากสารต้านอนุมูลอิสระที่ปลอดภัยและเป็นสารธรรมชาติ เช่น เอกโซโพลีแซคคาไรด์ สามารถทดแทนสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์และได้รับความสนใจอย่างมากในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา (Li *et al.* 2014) จากการศึกษาก่อนหน้านี้ได้มีการนำเชื้อ *Bacillus subtilis* LB23 มาทำการศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ *S. aureus*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *L. plantarum* และ *L. lactis* และต้านออกซิเดชันได้ประสิทธิภาพที่ดี (มุสดี ตังวัชรินทร์, ยังไม่มีการเผยแพร่ข้อมูล) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมรวมถึงมนุษย์และได้รับการรับรองความปลอดภัยในการใช้ในอาหารจึงจัดให้เป็น generally regarded as safe (GRAS) โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (FDA) (Yahav *et al.* 2018) จึงนำแบคทีเรียนี้มาผลิตเอกโซโพลีแซคคาไรด์เบื้องต้น นอกจากนี้ Mohamed *et al.* (2012) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของ Eps 2 isolated ที่ผลิตโดย *B. cereus* แยกได้จากปลากระพงประเทศเอเชีย (*Lates calcarifer*) พบว่า Eps1 ที่แยกได้จากสายพันธุ์ ors1 แสดงฤทธิ์ยับยั้ง *Lysinibacillus*, *Paenibacillus* sp, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* แต่ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้ง *Ralstonia* sp, *Mesorhizobium* sp, *Achromobacter insolitus* และ *Protrus vulgaris* และ Eps2 ที่แยกได้จากสายพันธุ์ ors2 แสดงกิจกรรมยับยั้ง *Lysinibacillus*, *Paenibacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *E. coli* และ *Mesorhizobium* sp. แต่ไม่ได้แสดงฤทธิ์ยับยั้งต่อ *Ralstonia* sp., *A. insolitus* และ *P. vulgaris*

ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาเอกโซโพลีแซคคาไรด์ของเชื้อ *Bacillus subtilis* LB23 ที่มีคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์และต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่และนำมาประยุกต์ใช้เพื่อทดแทนสารไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ในการยืดอายุการเก็บรักษา

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาคุณสมบัติของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *B. subtilis* LB23 มีคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันในระบบอิมัลชันเนื้อสัตว์

1.2.2 เพื่อศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่

1.2.3 เพื่อศึกษาการใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์ในการทดแทนสารไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่ ในระหว่างการเก็บรักษา

1.3 สมมุติฐานของการศึกษา

1.3.1 เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *B. subtilis* LB23 สามารถต้านจุลินทรีย์และต้านออกซิเดชัน ในระบบอิมัลชันเนื้อสัตว์

1.3.2 เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่นำมาใช้มีกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และต้านออกซิเดชันที่สามารถ ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่

1.3.3 เอกโซโพลีแซคคาไรด์สามารถทดแทนสารไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่ได้

1.4 ขอบเขตของการศึกษา

การทดลองที่ 1 การศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์จาก *B. subtilis* LB23 ในระบบอิมัลชันเนื้อสัตว์

การทดลองที่ 2 การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกในระหว่างการเก็บรักษา (4 องศาเซลเซียส) โดยทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านจุลินทรีย์ ภายภาพ-เคมี

การทดลองที่ 3 การประยุกต์ใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์เพื่อทดแทนสารไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่

1.5 ขั้นตอนการศึกษา

1.5.1 ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในระบบอิมัลชันเนื้อสัตว์

1.5.2 ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกในระหว่างการเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 42 วัน

1.5.3 ศึกษาเอกโซโพลีแซคคาไรด์ทดแทนสารไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกในระหว่างการเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 63 วัน

1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น

การศึกษาวิจัยเรื่องกิจกรรมการด้านจุลินทรีย์และการด้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียในไส้กรอกไก่ เป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ (laboratory scale) เท่านั้น

1.7 ข้อจำกัดของการศึกษา

การนำเอกโซโพลีแซคคาไรด์มาประยุกต์ใช้ตลอดจนการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่เป็นการศึกษาและประเมินภายในห้องปฏิบัติการ (laboratory scale) เท่านั้น หากมีการนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรม (commercial scale) ควรมีการทวนสอบคุณภาพต่อไป

1.8 คำจำกัดความที่ใช้ในการศึกษา

1.8.1 ไส้กรอกประเภทอิมัลชัน คือ ไส้กรอกเนื้อเนียนที่มีการสับผสมระหว่างเนื้อสัตว์ ไขมัน และน้ำ เข้าด้วยกัน

1.8.2 เอกโซโพลีแซคคาไรด์ คือ โพลีเมอร์ที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตที่ถูกผลิตและหลั่งออกมาโดยจุลินทรีย์

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ประเภทไส้กรอก

ไส้กรอกเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแปรรูปเนื้อสัตว์จัดได้ว่าอยู่ในกลุ่มของผลิตภัณฑ์ลดขนาดบดละเอียดอิมัลชัน (Emulsion) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่ถูกบดด้วยเครื่องบดละเอียดจนโครงสร้างในระดับเส้นใยกล้ามเนื้อเปลี่ยนแปลงโดยมีโปรตีนไมโอซินละลายออกมาจากเส้นใยกล้ามเนื้อและทำให้ส่วนผสมแปรเปลี่ยนเป็นมวลเหนียวซึ่งเป็นลักษณะของส่วนผสมที่เรียกว่า อิมัลชัน (เขวาลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2536) ส่วนเนื้อที่จะนำมาผลิตอิมัลชันนั้นจะต้องเป็นเนื้อที่มีคุณสมบัติอุ้มน้ำได้มากและจะต้องมีคุณสมบัติในการเป็นตัวช่วยในการเกาะ (Binding) ระหว่างโปรตีน ไขมัน และน้ำ เป็นอย่างดีด้วย โดยสรุปแล้ว ผลิตภัณฑ์อิมัลชันที่ดีขึ้นกับ โปรตีนจากเนื้อสัตว์ที่มีคุณสมบัติในการอุ้มน้ำและเป็นตัวจับไขมัน เนื่องจากผลิตภัณฑ์ประเภทอิมัลชันเป็นผลิตภัณฑ์ที่กำหนดให้มีการใช้ไขมันในระดับสูง สัดส่วนของโปรตีน:ไขมัน:น้ำในผลิตภัณฑ์อิมัลชันคือ 50:30:20 (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2560ก) ในยุคปัจจุบันการผลิตไส้กรอกเป็นการประยุกต์ใช้กระบวนการถนอมอาหารหลายอย่างรวมกัน เช่น การใช้สารเคมี การใช้ความร้อน การอบแห้ง การแช่แข็ง และการแช่เย็น จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกในปัจจุบันนั้นมาให้เลือกบริโภคอย่างหลากหลาย ซึ่งจะแตกต่างกันตามลักษณะของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต ชนิดของเครื่องเทศและเครื่องปรุงรส ชนิดของเนื้อสัตว์ เช่น เนื้อหมู เนื้อไก่ เนื้อวัว เนื้อปลา เป็นต้น อัตราส่วนระหว่างเนื้อสัตว์และไขมันของเนื้อสัตว์ ความละเอียดของการบดเนื้อสัตว์และเครื่องเทศ วิธีการผสม ขั้นตอนการผลิต วิธีการอัดไส้ ขนาดและความยาวของไส้ที่นำมาใช้ (เขวาลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2536)

2.1.1 ประเภทของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ประเภทไส้กรอก

การจำแนกไส้กรอกเป็นหมวดหมู่ที่เฉพาะเจาะจงเป็นเรื่องยากเพราะการผลิตไส้กรอกมีวิธีการที่หลากหลาย โดยการจำแนกประเภทของไส้กรอกต่างๆขึ้นอยู่กับขั้นตอนการผลิตและคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ (Mohan. 2014) ซึ่งประเภทของไส้กรอกแบ่งออกเป็น 4 ประเภท ได้แก่

1) ไส้กรอกสด (Fresh sausage) ทำจากเนื้อสดโดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้อหมูบดละเอียดและผสมเครื่องปรุงแล้วบรรจุในไส้เก็บไว้ในตู้เย็น ก่อนรับประทานก็นำมาทำให้สุกก่อน รสชาติ เนื้อสัมผัส ความนุ่มและสีของไส้กรอกชนิดนี้ เกี่ยวข้องโดยตรงกับอัตราส่วนของไขมันและเนื้อแดง (เขวาลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2536) ตัวอย่างไส้กรอกสดมีดังนี้

- ไส้กรอกหมูสด (Fresh pork sausage) ผลิตจากเนื้อหมูแช่แข็งหรือได้จากทั้งสองอย่างมารวมกัน รวมทั้งเนื้อหมูที่ผ่านการเอากระดูกออก (Deboned Pork) แต่ไม่รวมผลพลอยได้จากเนื้อหมู ผลิตภัณฑ์จะต้องมีไขมันไม่เกิน 50% และสามารถเติมน้ำหรือน้ำแข็งได้ถึง 30%

- ไส้กรอกอาหารเช้า (Breakfast sausage) ทำจากเนื้อหมูหรือเนื้อโคสดหรือจากผลพลอยได้จากเนื้อสัตว์ก็ได้และอาจเติมสารที่ช่วยการรวมตัวได้ถึง 3% ของผลผลิตที่ได้ ไขมันไม่เกิน 50% และเติมน้ำเกลือหรือน้ำแข็งได้ถึง 3%

- บราตเวอร์สต์ (Bratwurst) ทำจากเนื้อลูกโคหรือเนื้อหมู มีการใช้ผิวหรือน้ำมันมะนาวในการปรุงรส นิยมลวกก่อนจำหน่าย

2) ไส้กรอกรมควัน (Smoked sausage) ไส้กรอกชนิดนี้มีลักษณะคล้ายกับไส้กรอกสดแต่ผ่านการรมควันจึงทำให้สีและรสชาติแตกต่างไปจากไส้กรอกสด เช่น ไส้กรอกหมูสดรมควัน (Fresh smoked pork sausage) เป็นต้น เมื่อรับประทานต้องทำให้สุกก่อน ไส้กรอกชนิดนี้สามารถเก็บรักษาได้นานกว่าไส้กรอกสดธรรมดาได้ 1-2 วัน แต่อย่างไรก็ตามควรเก็บไว้ในที่เย็น (เขาวลัทธิ สุธพันธ์พิสิษฐ์. 2536)

3) ไส้กรอกแห้งและไส้กรอกกึ่งแห้ง (Dry and Semi-dry sausage) ผลิตจากการหมักเนื้อด้วยเชื้อตามธรรมชาติหรือเชื้อบริสุทธิ์ที่เติมลงไป หลังจากการผสมเนื้อที่ผ่านการบดกับส่วนผสมเช่น เกลือเครื่องเทศ และเชื้อบริสุทธิ์แล้วจะเก็บไว้ในที่อุณหภูมิค้างนกระทั่งมีปริมาณกรดตามที่ต้องการจวบจรูในไส้และทำให้แห้งในอากาศ ผลิตภัณฑ์บางชนิดจะผ่านการรมควันเพียงเล็กน้อย (เขาวลัทธิ สุธพันธ์พิสิษฐ์. 2536)

- ไส้กรอกแห้ง เป็นไส้กรอกที่ผ่านการรมควันเล็กน้อยหรืออาจไม่ผ่านเลยแต่จะทำให้แห้งในอากาศ มีผลผลิตประมาณ 60-70% ของน้ำหนักเดิม ไส้กรอกแห้งมีลักษณะแห้งแน่นและราคาแพงกว่าไส้กรอกกึ่งแห้ง เช่น ซาลามิ (Salami)

- ไส้กรอกกึ่งแห้ง เป็นไส้กรอกที่ถูกทำให้สุกด้วยความร้อนจากการรมควันเพื่อให้เกิดกลิ่นรสได้ด้วย จะได้ผลผลิตที่มีน้ำหนักประมาณ 70-80% ของน้ำหนักเดิม เนื่องจากมีการหมักโดยแบคทีเรียและมีความชื้นมากกว่าไส้กรอกแห้งจึงทำให้ไส้กรอกแห้งจึงทำให้ไส้กรอกมีลักษณะที่ค่อนข้างนุ่มได้แก่ ทูริงเจอร์ (Thuringer) และซัมเมอร์ (Summer sausage)

4) ไส้กรอกสุก (Cooked sausage)

ไส้กรอกสุกทำจากเนื้อชนิดเดียวหรือหลายชนิดรวมกันไม่ว่าเนื้อโค เนื้อหมู หรือเนื้อสัตว์ปีกและอาจรมควันหรือไม่ก็ได้ ไส้กรอกชนิดนี้ถูกทำให้สุกพร้อมที่จะรับประทานได้ทันที โดยสามารถ

แบ่งไส้กรอกสุกได้หลายชนิด ในกลุ่มแฟรงค์เฟอร์เตอร์ และไส้กรอกตับและไส้กรอกเลือด (เขาว
ลักษณะ สุรพันธ์พิเชียร. 2536)

- กลุ่มแฟรงค์เฟอร์เตอร์ (Frankfurter) ไส้กรอกที่จัดอยู่ในกลุ่มแฟรงค์เฟอร์เตอร์ได้แก่ แฟรง
เฟอร์เตอร์ (Frankfurter) แนกเวอร์สต์ (Knackwurst) โบ โลญา และอื่นๆ ที่คล้ายแฟรงค์เฟอร์เตอร์ทำจาก
เนื้อหมูและเนื้อโคผสมกันและหมักด้วยส่วนผสมและเครื่องเทศแล้วบรรจุลงในไส้แกะหาคบรรจุในไส้
พลาสติกเรียกว่าเวียนนา (Vienna) แต่บรรจุในไส้หมูเรียกว่า แนกเวอร์สต์ ไส้กรอกในกลุ่มนี้เป็นที่นิยม
บริโภคมากและเป็นที่ยุ้จักกันดี

- กลุ่มไส้กรอกตับและไส้กรอกเลือด (Liver sausage and Blood sausage) ไส้กรอกตับทำ
จากการบดมันหมูแข็ง ตับหมู มีการเติมเจลาติน ปูรงรสด้วยหัวหอมและเครื่องเทศแล้วจึงบรรจุในไส้
และทำให้สุก ไส้กรอกตับมีรสชาติและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ส่วนไส้กรอกเลือด ทำจากมันหมูแข็ง
ต้มสุกหั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมและเนื้อบดละเอียด ผสมกับเจลาติน เลือดวัวและเครื่องเทศแล้วจึงบรรจุในไส้
และทำให้สุก

2.2 วัตถุดิบและส่วนผสมหลักในการผลิตไส้กรอก

2.2.1 ส่วนผสมที่ไม่ใช่วัตถุดิบอาหารที่ใช้ในการผลิตไส้กรอก

1) เนื้อสัตว์ เนื้อแช่เย็นและเนื้อแช่แข็งสามารถนำมาผลิตได้ เนื้อจะต้องผ่านการตัดแต่งอย่างดี
ไม่ควรมีเอ็นกระดูกติดมา เนื้อและมันต้องผ่านกระบวนการบดหยาบให้มีขนาดประมาณ 3-6 มิลลิเมตร
เนื้อและมันควรนำมาแช่เย็นไว้ในอุณหภูมิ 1-4 องศาเซลเซียส แต่สามารถใช้เนื้ออุ่นมาทำผลิตภัณฑ์ได้
แต่ต้องระวังเรื่องจุลินทรีย์และปัญหาการสกัดโปรตีนออกได้ไม่มาก เพราะโปรตีนแอคโตไมโอซินจะ
มีการรวมตัวโดยธรรมชาติทำให้ถูกสกัดไม่ได้มาก เมื่อโปรตีนมีน้อยการจับตัวของโปรตีนกับน้ำและ
ไขมัน ไม่ดีแต่จะมีการจับระหว่างไขมันกับน้ำ เมื่อผลิตภัณฑ์สุกจะเหนียว ในขณะที่แช่เย็นอาจมีการใส่
เกลือเข้าไปหมักด้วยก็ได้เพื่อช่วยให้เนื้อมีการอุ้มน้ำได้ขึ้น (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2560)

2) น้ำสะอาดหรือน้ำแข็ง ทำหน้าที่เป็นตัวทำลายและตัวพาให้ส่วนผสมอื่นๆ เกิดการ
ผสมผสานเข้ากันและแทรกซึมเข้าสู่กล้ามเนื้อได้ดีขึ้น โดยเฉพาะในการทำน้ำเกลือปูรงรส (pickle or
brine curing) สำหรับฉีดเข้าสู่เนื้อหรือใช้หมักแช่น้ำเกลือ ปริมาณน้ำที่ใช้ละลายส่วนผสมอื่นๆ จะมี
ผลต่อรสชาติและความชุ่มฉ่ำของเนื้อ ทั้งนี้ปริมาณน้ำหนักของผลผลิตที่ได้ภายหลังการแปรรูป และทำ
ให้สุกขึ้นอยู่กับความสามารถของผลิตภัณฑ์ที่จะอุ้มน้ำไว้ได้ (รุจริน ลิ้มสุกวานิช. 2560)

3) ไชมัน โดยผลิตภัณฑ์ประเภทไส้กรอกอิมัลชันที่ได้มาตรฐานในต่างประเทศมักกำหนดให้ มีปริมาณ ไชมัน ได้ไม่เกิน 30 เปอร์เซ็นต์ สำหรับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของไทยระบุให้ไส้กรอกหมู และไก่ มี ไชมัน ได้ไม่เกิน 30 เปอร์เซ็นต์ (รุจริน ลิมสุวานิช และ จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2552)

4) เกลือบริโกล คือโซเดียมคลอไรด์ จัดเป็นสารปรุงแต่งอาหารที่เก่าแก่ใช้กันมานานที่สุด และมีความสำคัญอย่างมากต่อการแปรรูปผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ บทบาทที่สำคัญของเกลือต่อผลิตภัณฑ์ เนื้อประเภท curing ในปัจจุบันนั้นก็คือช่วยเสริมกลิ่นรสให้แก่ผลิตภัณฑ์ และทำงานร่วมกับเกลือ ฟอสเฟตในการละลายโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มความสามารถในการจับน้ำและไขมัน โดยเฉพาะในกรณีผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อแบบบดละเอียด นอกจากนั้นเกลียยังทำหน้าที่ในการยับยั้งการ เจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์บางกลุ่ม โดยปริมาณเกลือเพียงเล็กน้อยก็มิผลในการช่วยถนอม อาหารได้ (รุจริน ลิมสุวานิช. 2560)

5) สารให้ความหวาน จะทำหน้าที่ให้รสหวานแก่ผลิตภัณฑ์และมีส่วนช่วยทำให้เกิดสีน้ำตาล ในบางผลิตภัณฑ์ด้วยปฏิกิริยามเมลลาร์ และคาราเมลไลเซชัน (ศุภลักษณ์ สรภักดี. 2561) ซึ่งน้ำตาลที่ใช้ ใช้ได้ทั้งน้ำตาลทรายน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลทรายแดง น้ำผึ้ง หรือสารให้ความหวานอื่นๆ เป็น ส่วนประกอบอีกชนิดที่สำคัญ โดยการให้รสหวานแก่ผลิตภัณฑ์ ช่วยลดความเค็มหรือลดความแข็งจากร สชาติของเกลือ ทำให้มีรสชาติที่กลมกล่อมขึ้น นอกจากนี้ น้ำตาลยังช่วยเพิ่มสีส้มและรสชาติที่น่า รับประทานแบบคาราเมลเกลือที่ผิวนอกของผลิตภัณฑ์ ปริมาณที่มักใช้น้ำเกลือปรุงรสคือประมาณ 1-3 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์ด้วย (รุจริน ลิมสุวานิช. 2560)

2.2.2 วัตถุเจือปนอาหารที่ใช้ในการผลิตไส้กรอก

1) ฟอสเฟต ใช้เป็นส่วนผสมในการทำน้ำเกลือปรุงรสมากกว่าการใช้ในผลิตภัณฑ์หมักแห้ง เพื่อช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำให้กับผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นการช่วยเพิ่มน้ำหนักให้กับผลิตภัณฑ์ และลดการสูญเสียน้ำหนักภายหลังการปรุงสุก นอกจากนี้ฟอสเฟตยังช่วยลดกลิ่นหืนในผลิตภัณฑ์ด้วย มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนอนุญาตให้ใช้เกลือฟอสเฟตในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้ในปริมาณไม่เกิน 2,200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (คำนวณเป็น P_2O_5 จากฟอสฟอรัสทั้งหมด) ไม่รวมกับปริมาณฟอสฟอรัสที่มีใน ธรรมชาติ โดยปกติเกลือฟอสเฟตจะมีความสามารถในการละลายต่ำ จึงมักละลายฟอสเฟตก่อนที่ละลาย เกลือและส่วนผสมชนิดอื่นๆ หรืออาจจะละลายฟอสเฟตด้วยน้ำอุ่นจำนวนหนึ่งแก่พอละลาย ก่อนที่จะ ผสมเข้ากับน้ำเย็นและส่วนผสมอื่นๆ ต่อไป ตัวอย่างของเกลือฟอสเฟต ได้แก่ sodium tripolyphosphate sodium hexametaphosphate และ sodium acid pyrophosphate (รุจริน ลิมสุวานิช. 2560)

2) เกลือไนไตรท์และไนเตรต สารประกอบไนไตรท์และไนเตรตเป็นวัตถุกันเสียที่มีการใช้ มากที่สุดในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เพราะสารประกอบนี้นอกจากจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาโดยได้ยับยั้ง

การเจริญของจุลินทรีย์และยับยั้งการหืนของไขมันในเนื้อแล้วยังมีส่วนช่วยให้สีของผลิตภัณฑ์สวยงามขึ้น ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 381 พ.ศ. 2559 เรื่องวัตถุเจือปนอาหาร ได้อนุญาตให้ใช้ สารประกอบไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อได้ไม่เกิน 80 ส่วนในล้านส่วน โดยคำนวณในรูปของไนไตรท์ (สกุลลักษณะ สรภักดี. 2561)

กลไกของการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยไนไตรท์ คือไนไตรท์จะไปทำปฏิกิริยากับ กรดอะมิโนของจุลินทรีย์และทำให้มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นที่ผนังของเซลล์จุลินทรีย์และที่เอนไซม์ดีไฮโดรจีเนสทำให้การทำงานของระบบไซโตโครมของเซลล์ผิดปกติไปและประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จะดีขึ้นที่ความเป็นกรดต่ำ

กลไกของการช่วยให้สีของผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของไนไตรท์และไนเตรดดีขึ้น คือตามธรรมชาติของเนื้อสัตว์จะมีไมโอโกลบินซึ่งเป็นเม็ดสี สีม่วงแดงเป็นองค์ประกอบเมื่อมีการใช้สารประกอบไนไตรท์และไนเตรท ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์สารประกอบไนไตรท์และไนเตรดจะถูกรีดิวซ์ให้เป็นไนไตรต์และไนตริกออกไซด์ซึ่งไนตริกออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบิน กลายเป็นไนตริกออกไซด์ไมโอโกลบินและ ไนตริกออกไซด์ไมโอโกลบินจะเปลี่ยนเป็นไนโตรโซฮีโมโกลบินที่มีสีชมพู

3) โซเดียมอริโทเบต เป็นอนุพันธ์ของแอสคอร์เบททำหน้าที่ช่วยเร่งกระบวนการ coring reduction โดยช่วยเร่งการเกิดรีดักชันซึ่งเปลี่ยนไนไตรท์ให้เป็นไนตริกออกไซด์ก่อนที่จะรวมกับสารสีไมโอโกลบินในเนื้อสัตว์เกิดเป็นไนโตรโซฮีโมโกลบินที่มีสีแดงเข้มและเมื่อผลิตภัณฑ์ถูกทำให้สุกที่อุณหภูมิ 45-60 องศาเซลเซียส จะได้เป็นสีชมพูหรือสีชมพูแดงอ่อนของไนโตรโซฮีโมโกลบิน ซึ่งเป็นสีที่เป็นลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์แบบ cook cure meat ดังที่พบในไส้กรอกแบบต่างๆ โบโลน่า เบคอน หรือแฮม กระบวนการเปลี่ยนไนโตรโซฮีโมโกลบินจะค่อนข้างสมบูรณ์ที่ประมาณ 70 องศาเซลเซียสได้ เป็นสีชมพูที่ค่อนข้างทนแต่จะไม่ทนต่อการเกิดออกซิเดชัน โดยจะทำปฏิกิริยาได้ดี กับอากาศหรือออกซิเจนและแสง การใช้แอสคอร์เบทในปริมาณที่เพียงพอจะช่วยให้สีของผลิตภัณฑ์ cook cure meat หรือสารสีไนโตรโซฮีโมโกลบินมีความคงทนขึ้นและช่วยลดโอกาสการเกิดสารก่อมะเร็งที่เรียกว่าไนโตรซามีนเพราะแอสคอร์เบทจะช่วยลดปริมาณสารไนไตรท์ตกค้างในผลิตภัณฑ์ทั้งนี้ปริมาณสูงสุดของแอสคอร์เบทหรือกรดไอโซแอสคอร์เบทที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาอนุญาตให้ใช้ได้คือ 300 ppm หรือ 300 มิลลิกรัมต่อเนื้อ 1 กิโลกรัมจากการที่แอสคอร์เบทมีคุณสมบัติในการเร่งสลายตัวของไนไตรต์จึงไม่ควรเก็บน้ำปรุงที่มีส่วนผสมของแอสคอร์เบทและไนไตรต์ไว้ด้วยกันนานเกินกว่า 24 ชั่วโมงเพราะปริมาณไนไตรต์ในน้ำปรุงจะสูญเสียไปเรื่อยๆ (รุจริน ลิมสุกวานิช. 2560)

2.3 การเกิดอิมัลชันในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ประเภทไส้กรอก

อิมัลชัน (emulsion) หมายถึง การผสมและอยู่ร่วมกันของของเหลว 2 ชนิดที่ปกติเข้ากันไม่ได้ ชัยณรงค์ คันทพนิต (2529) ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มอิมัลชันเป็นผลิตภัณฑ์ที่อาศัยการรวมตัวของโปรตีนจากเนื้อสัตว์ไขมันสัตว์และน้ำ โปรตีนที่เหมาะสมที่สุดจะเป็น โปรตีนจากเส้นใยกล้ามเนื้อซึ่งจะทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ หรือสารช่วยให้รวมตัวระหว่างไขมันและน้ำที่เดิมลงไป ผลิตภัณฑ์ประเภทจัดได้ว่าเป็นการใช้ประโยชน์จากไขมันสัตว์ได้มาก ทั้งนี้เนื่องจากในสูตรอาหารอาจมีไขมันเป็นส่วนประกอบสูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์ก็สามารถทำได้ นอกจากนี้ยังเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถใช้ประโยชน์เนื้อสัตว์จากโครงกระดูก ในประเทศไทยนิยมใช้เนื้อสัตว์จากโครงกระดูกไก่ นำมาใช้ทดแทนส่วนผสมที่เป็นเนื้อในสูตรของผลิตภัณฑ์ได้ตั้งแต่ 10-100 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับเกรดของผลิตภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มนี้มีมากมายหลายชนิดที่รู้จักคือ ไส้กรอกแฟรงเฟิร์ตเตอร์ เวียนนา คอลเทล โบโลน่าชนิดต่างๆ เป็นต้น (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2560)

ผลิตภัณฑ์ประเภทไส้กรอกอิมัลชันที่ได้มาตรฐานในต่างประเทศมักกำหนดให้มีปริมาณไขมันได้ไม่เกิน 30 เปอร์เซ็นต์ สำหรับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของไทยระบุให้ไส้กรอกหมูและไก่ มีไขมันได้ไม่เกิน 30 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณโปรตีนไม่น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกำหนดให้ไส้กรอกเวียนนาและฮอตดอกมีไขมันได้ไม่เกิน 25 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณโปรตีนไม่น้อยกว่า 13 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้สัดส่วนสัดส่วนของปริมาณโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ โดยเฉพาะโปรตีนไมโอซินต่อไขมัน และน้ำ เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อกระบวนการเกิดอิมัลชัน ซึ่งมีผลต่อคุณภาพทางด้านกายภาพของอิมัลชัน โดยเฉพาะลักษณะทางเนื้อสัมผัส เช่น ความเนียน ความแน่น ความยืดหยุ่น ความนุ่มภายใต้ผิวและความกรอบของผิวไส้กรอก เป็นต้น (รุจริน ลิ้มสุวานิช และจุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2552)

2.4 การเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ประเภทไส้กรอก

แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกสามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพในไส้กรอกบรรจุสุญญากาศ เช่น *Lactobacillus sake* และ *Lactobacillus curvatus* เป็นจุลินทรีย์ที่พบมากในไส้กรอกปรุงสุก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *L. sake* เป็นส่วนสำคัญที่ทำให้ไส้กรอกเน่าเสีย การเจริญของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกบนผิวของไส้กรอก ทำให้เกิดลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นรสเปรี้ยวและรสชาติที่ไม่ดี การปรุงสุกไส้กรอกในระหว่างการผลิตจะทำลายแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกบนผิวของไส้กรอก ไส้กรอกจะถูกปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกส่วนใหญ่ในขั้นตอนหลังจากการปรุงสุก ในระหว่างกระบวนการแช่เย็นการปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์เป็นผลมาจากการสัมผัส

กับจุลินทรีย์ในอากาศ คนงานและอุปกรณ์เป็นหนึ่งในแหล่งที่มาของการปนเปื้อนมากที่สุดระหว่างการบรรจุ (Mahgoub and Mahmoud 2013) Korkeala and Björkroth (1997) ได้ศึกษาการเน่าเสียของไส้กรอกในบรรจุสุญญากาศ การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพเกิดจากการเจริญของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกบนผิวไส้กรอก นอกจากการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของไส้กรอกแล้วภายในบรรจุภัณฑ์ยังสังเกตเห็นน้ำเมื่อบนผิวไส้กรอกในระหว่างการเก็บรักษาอีกด้วย (ตารางที่ 2.1) อายุในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกขึ้นอยู่กับชนิดของไส้กรอก โดยไส้กรอกปรุงสุกมีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 2-4 สัปดาห์ในตู้เย็น (Mohan. 2014) นอกจากอายุในการเก็บรักษาจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษา การปนเปื้อนจุลินทรีย์ของวัตถุดิบที่นำมาใช้ จุลินทรีย์เริ่มต้นในผลิตภัณฑ์ ความร้อนที่ใช้ในการปรุงสุกผลิตภัณฑ์ สุขลักษณะการผลิตที่ดี และบรรจุภัณฑ์ ซึ่งบรรจุภัณฑ์ที่ใช้จะมีส่วนช่วยในควบคุมคุณภาพทั้งในด้านชีวภาพ เคมี และกายภาพ

ตารางที่ 2.1 : อายุการเก็บรักษาของไส้กรอกปรุงสุกที่บรรจุสุญญากาศเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

Sausage	Shelf life (days)	Storage temperature (°C)
Wiener	14	6
	6	15
Bologna	14	3
	8	6
Vienna	2	15
	27	8
FrankFurter	98	4
Ring sausage	55	2
	43	4
	29	8
	17	12

ที่มา : Korkeala and Björkroth (1997)

ตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม (มผช. 331-2555) สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เรื่องไส้กรอก ไข่ได้มีการกำหนดทางด้านจุลินทรีย์ดังนี้

- จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องน้อยกว่า 1×10^6 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม
- *Salmonella* spp. ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม
- *Staphylococcus aureas* ต้องน้อยกว่า 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม
- *Listeria monocytogenes* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

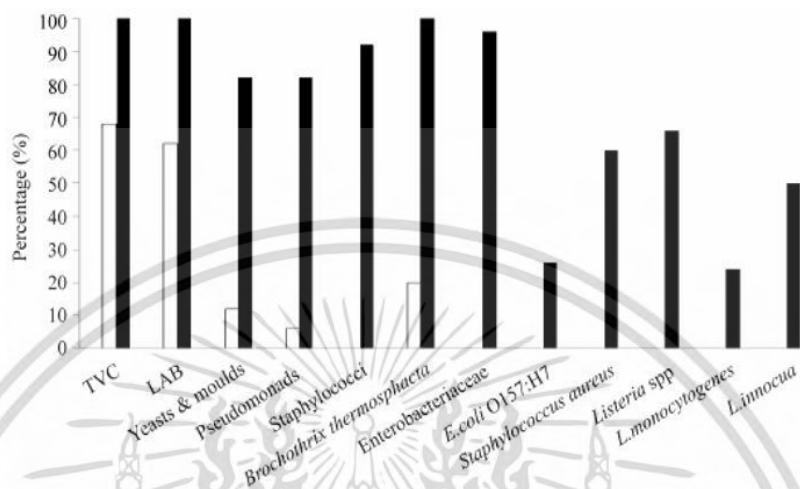
- *Clostridium perfringens* ต้องน้อยกว่า 100 โคลิโคนต่อตัวอย่าง 1 กรัม
- *Escherichia coli* โดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม
- ยีสต์และรา ต้องน้อยกว่า 100 โคลิโคนต่อตัวอย่าง 1 กรัม

บรรจุภัณฑ์สุญญากาศเป็นการบรรจุอาหารในถุงที่ดูดอากาศออกมีผลทำให้บรรจุภัณฑ์ยุบตัวลงมาตามลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหาร ออกซิเจนที่ยังเหลืออยู่ในบรรจุภัณฑ์จะถูกดูดซับออกไปโดยปฏิกิริยาทางเคมีจากองค์ประกอบอาหารและกิจกรรมการหายใจของจุลินทรีย์ในอาหาร ดังนั้นการออกแบบรูปร่างของผลิตภัณฑ์อาหารจะช่วยให้เกิดรูปลักษณะที่พึงประสงค์และไม่มีปัญหาจากการแทงทะลุแผ่นฟิล์มของผลิตภัณฑ์ที่แหลมคม การบรรจุแบบสุญญากาศใช้กับอุตสาหกรรมการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีคุณภาพดีการบรรจุแบบนี้ทำให้มีอายุการเก็บรักษาไว้ได้นานกว่าในสภาวะที่มีอากาศถึง 5 เท่า ตามปกติผลิตภัณฑ์เนื้อมักเน่าเสียเนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบที่ต้องการอากาศ แบคทีเรียดังกล่าวจะถูกยับยั้งโดยคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นในบรรจุภัณฑ์และในบรรยากาศที่มีออกซิเจนต่ำ หลังจากปิดผนึกแล้วในสภาวะเช่นนี้จุลินทรีย์ที่เจริญได้ดี ได้แก่ แบคทีเรียที่ให้กรดแลคติก แต่เมแทบอลิซึมจะดำเนินไปอย่างเชื่องช้า จึงไม่เกิดสารเมตาบอไลต์มากพอที่จะทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารเน่าเสีย (มุสดี ตังวัชรินทร์. 2558)

2.5 การปนเปื้อนแบคทีเรียก่อโรคในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก

ไส้กรอกเป็นผลิตภัณฑ์อาหารพร้อมบริโภคที่ได้รับความนิยมอย่างมากในยุคปัจจุบัน เป็นอาหารประเภทที่ผ่านการแปรรูปและปรุงสุกก่อนการบรรจุจำหน่าย ผู้บริโภคสามารถรับประทานได้ทันทีโดยไม่ต้องปรุงให้สุกอีกครั้ง ซึ่งในระหว่างการบรรจุผลิตภัณฑ์ การขนส่ง และการจัดวางระหว่างรอจำหน่าย อาจมีความเสี่ยงที่จะเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บนผิวของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้ ซึ่งมีทั้งกลุ่มจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียและกลุ่มจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค โดยมีผลต่ออายุการเก็บรักษาของไส้กรอก เช่น *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* (Mahgob et al. 2013) จากการศึกษาของ Mahgob et al. (2013) ได้ศึกษาจุลินทรีย์ก่อโรคและการเน่าเสียในไส้กรอกไก่ในประเทศอียิปต์และกรีซ โดยทดลองกับไส้กรอกไก่ 100 ตัวอย่าง ที่รวบรวมจากตลาดค้าปลีกในประเทศอียิปต์และกรีซ พบว่ากลุ่มจุลินทรีย์ total viable count (TVC) และแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (LAB) ในประเทศอียิปต์มีสูงถึง 100% ในขณะที่ประเทศกรีซพบเพียง 68% และ 62% ตามลำดับ และจุลินทรีย์ที่ยังตรวจพบจำนวนมากในไส้กรอกไก่ของประเทศอียิปต์ คือ *Brochothrix thermosphacta* (BT), *Enterobacteriaceae* (EN), *staphylococci* (STAPH), yeasts and molds (Y&M) และ

pseudomonads (PS) 100, 96, 92, 82 และ 82% ตามลำดับ ส่วนในประเทศกรีซพบ BT, Y&M และ PS คิดเป็น 20%, 12% และ 6% ตามลำดับ (ภาพที่ 2.1)



ภาพที่ 2.1 : ปริมาณของจุลินทรีย์ที่เน่าเสียในไส้กรอกไก่ที่รวบรวมจากประเทศอียิปต์ (คอแลมันดำ) และ กรีซ (คอแลมันขาว) ในระหว่างปี (2006)

ที่มา : Mahgoub *et al.* (2013)

2.6 การเกิดออกซิเดชันของไขมัน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันจะเกิดขึ้นที่โมเลกุลของกรดไขมัน โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) จะมีความไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มากกว่ากรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) ยิ่งถ้ามีพันธะคู่มีมากดัง เช่น กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acid) ที่มีพันธะคู่ตั้งแต่ 2 ตำแหน่งขึ้นไป ปฏิกิริยาออกซิเดชันก็จะยิ่งเกิดเร็วมากขึ้นด้วยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบปฏิกิริยาแบบลูกโซ่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกับออกซิเจนและอนุมูลอิสระเกิดเป็นสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) ซึ่งสารเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้จะสลายตัวเป็นสารที่มีโมเลกุลเล็ก ๆ ที่ทำให้มีกลิ่นหืนและเกิดเป็นอนุมูลอิสระที่เริ่มต้นของปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไปได้อีก (Amaral *et al.* 2018) โดยกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันสามารถแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

1) ปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น (Initiation) ปฏิกิริยาออกซิเดชันเริ่มเกิดขึ้นเมื่อโมเลกุลของไฮโดรเจน (ในรูปของ แอลฟา-methylene hydrogen molecule) ถูกดึงออกจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่อยู่ในสภาวะที่มีตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น แสง ความร้อน รังสี หรือโลหะไอออน หรือผ่านกิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส

(lipoxygenase) เกิดเป็นอนุมูลอิสระของกรดไขมัน ที่เรียกว่า อนุมูลอัลคิล (alkyl radical, R.) (ศุภลักษณ์ สรภักดี. 2561)

2) ปฏิกริยาขั้นต่อเนื่อง (propagation) ปฏิกริยาขั้นต่อเนื่องเป็นขั้นตอนที่อนุมูลอัลคิล (R•) ที่เกิดขึ้นในขั้นต้นทำปฏิกริยากับ-ออกซิเจนชนิด triplet (triplet Oxygen, o_2) เกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxyl radical, ROO•) อนุมูลเปอร์ออกซิลที่เกิดขึ้นนี้จะทำปฏิกริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัวอื่นๆ เกิดสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (ROOH) และอนุมูลอัลคิล (R•) ตัวใหม่ได้อีกครั้ง ซึ่งอนุมูลอิสระของไขมันที่เกิดขึ้นนี้สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซิล (ROO•) ได้ใหม่อีกรอบเช่นกันดังมการที่ ซึ่งจะเกิดกลไกเหนี่ยวนำกรดไขมันตัวอื่นให้กลายเป็นอนุมูลอิสระไปเรื่อยๆ จึงเรียกปฏิกริยานี้ว่า ออกซิเดชันออกซิเดชัน (auto-oxidation) (ศุภลักษณ์ สรภักดี. 2561)

สารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์สามารถสลายเป็นผลผลิตทุติยภูมิ (Secondary products) เช่น เพนทานาล (pentanal), แหกซานาล (hexanal), 4-ไฮดรอกซีโนนีนาล (4-hydroxynonenal), และมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA) ซึ่งสารประกอบมาลอนไดอัลดีไฮด์นี้จะถูกใช้เป็นตัวชี้หนึ่งในการวัดปริมาณการเกิดออกซิเดชันของไขมันในเนื้อสัตว์จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทิบาร์ (Thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) (ศุภลักษณ์ สรภักดี. 2561)

3) ปฏิกริยาขั้นสุดท้าย (termination) ปฏิกริยาขั้นสุดท้ายเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเกิดการรวมตัวกันในรูปต่างๆ ทำให้เกิดสารประกอบที่ไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระ (non-radical products) เช่น ไดเมอร์ หรือ ไตรเมอร์ของกรดไขมัน รวมทั้งเกิดสารประกอบออกซิไดซ์ (oxidized compounds) จำพวก แอลดีไฮด์ คีโตน กรด และแอลกอฮอล์ ซึ่งส่งผลต่อกลิ่นรสที่ไม่ต้องการในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ (Amaral *et al.* 2018)

2.7 เอกโซโพลีแซคคาไรด์ (Exopolysaccharides)

เอกโซโพลีแซคคาไรด์เป็นโพลีเมอร์ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตที่ถูกผลิตและหลั่งออกมาโดยจุลินทรีย์ซึ่งสะสมอยู่ภายนอกเซลล์ ผลิตโดยจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น แบคทีเรีย, ราและสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว ซึ่งเอกโซโพลีแซคคาไรด์ของจุลินทรีย์เหล่านี้มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (Bhaskar and Bhosle 2005) โครงสร้างหลักของ Eps นั้นประกอบไปด้วยมโนแซ็กคาไรด์, กลูโคส, กาแลคโตส และแรมโนส (Van den Berg *et al.* 1995) เอกโซโพลีแซคคาไรด์ยังแสดงคุณสมบัติทางชีวภาพสูงที่นำไปสู่การประยุกต์ใช้ที่มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ จุลินทรีย์จำนวนมากสามารถสังเคราะห์เอกโซโพลีแซค

คาไรด์ (Eps) และขับออกจากเซลล์ได้ไม่ว่าจะเป็นโพลีเมอร์ที่ละลายน้ำหรือไม่ละลายน้ำต่างก็สามารถปกป้องจุลินทรีย์ได้ และยังสามารถนำไปใช้งานด้านเทคโนโลยีชีวภาพหลายอย่าง เช่น สิ่งทอ, ยา, เครื่องสำอาง และอาหาร (Gandhi *et al.* 1997) แบคทีเรียส่วนใหญ่ผลิตเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ในทุกสภาวะ แต่ปริมาณและองค์ประกอบของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ขึ้นอยู่กับความเครียด, อาหารเลี้ยงเชื้อ และสิ่งแวดล้อม ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะเพิ่มการผลิตโพลีเมอร์โดยปรับสภาพการเพาะเลี้ยงเชื้อ โครงสร้าง, องค์ประกอบ และความหนืดของโพลีแซคคาไรด์ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ, แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน, แร่ธาตุ และสภาวะของ pH, อุณหภูมิ และออกซิเจน (Lin and Chien 2005) ตลอดจนสายพันธุ์แบคทีเรีย เช่น แบคทีเรียแลคติกจะมีความสามารถในการผลิตเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์แตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ อาจเป็นเพราะกลไกการผลิตเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ของเชื้อแตกต่างกัน เช่น การผลิตเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์มีความสัมพันธ์กับการเจริญ โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์เพื่อให้ได้ปริมาณมากควรเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการที่จะทำให้ช่วงเวลาในการเจริญของเชื้อเป็นไปได้นาน ในขณะที่เชื้อมีอัตราการผลิตเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์สูง ซึ่งเชื้อแบคทีเรียมีการผลิตเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์สัมพันธ์กับการเจริญและเชื้อจะหยุดการการผลิตเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์เมื่อการเจริญสิ้นสุดลง ในขณะที่การผลิตเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากเชื้อบางสายพันธุ์ไม่มีความสัมพันธ์กับการเจริญ เช่น *Agrobacterium radiobacter* โดยมีอัตราการผลิตเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ในสภาวะที่ขาดแหล่งไนโตรเจน และเชื้อมีการเจริญอยู่ในช่วง Stationary (McKellar *et al.* 2003)

2.7.1 ชนิดและสมบัติของเอกโซโพลีแซคคาไรด์

โครงสร้างเอกโซโพลีแซคคาไรด์มี 2 รูปแบบ คือ ในรูปของแคปซูลที่อยู่รอบผนังเซลล์จะมีความหนาและคงรูป และแบบที่สอง อยู่ในรูปของเมือกที่สร้างแล้วถูกปล่อยออกมานอกเซลล์มีลักษณะเหนียว รูปร่างไม่แน่นอน (Bhaskar and Bhosle 2005) จำแนกตามมอนอเมอร์ได้ 3 ประเภทดังนี้

1) โพลีแซคคาไรด์ที่มีองค์ประกอบเป็นสารอินทรีย์ สารอินทรีย์ที่พบ ได้แก่ อะซิเตท ไพรูเวท เป็นต้น โดยสารอินทรีย์เหล่านี้มีผลต่อประจุรวมบนโมเลกุลของโพลีแซคคาไรด์ และ โครงสร้างของโพลีแซคคาไรด์บางตัวพบว่ามีกรดอะมิโนเป็นองค์ประกอบด้วย (Sutherland. 1998)

2) โพลีแซคคาไรด์ที่มีฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบ โดยจะอยู่ในรูปของ Phosphorylated exopolysaccharide โดยพบในผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก (Sutherland. 1998)

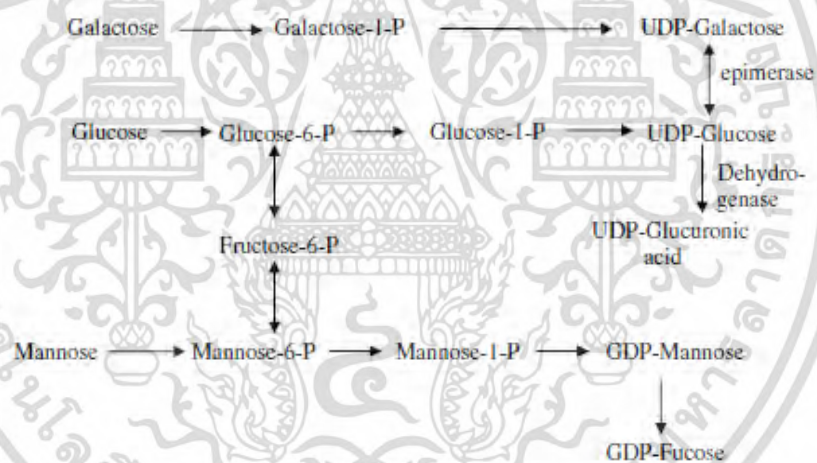
3) โฮโมโพลีแซคคาไรด์ (Homopolysaccharide) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์เพียงชนิดเดียว เช่น เด็กซ์แทรน (Dextran) เป็นโฮโมโพลีแซคคาไรด์ที่มีแอลฟา-กลูแคน เป็นองค์ประกอบโดยเชื้อที่สามารถผลิตเด็กซ์แทรน (Sutherland. 1998)

จุลินทรีย์สามารถสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ได้ 2 รูปแบบ ดังนี้

1) สังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ขึ้นภายในเซลล์ เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ แบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม

กลุ่มที่ 1: เอนไซม์ที่มีส่วนร่วมในกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์อื่น ๆ คือ hexokinase ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องใน phosphorylation ของกลูโคส (Glc) เป็นกลูโคส -6- ฟอสเฟต (Glc-6-P) และเอนไซม์ที่สอง phosphoglucomutase จะเปลี่ยนกลูโคส -6- ฟอสเฟต (Glc-6-P) เป็น กลูโคส -1 ฟอสเฟต (Glc-1-P) (Kumar *et al.* 2007)

กลุ่มที่ 2 : เอนไซม์ภายในเซลล์ ได้แก่ uridine diphosphate-glucose pyrophosphorylase (UDP-glucose pyrophosphorylase) เป็นตัวเร่งการเปลี่ยน Glc-1-P เป็น uridine diphosphate-glucose (UDP-Glc) ซึ่งเป็นโมเลกุลสำคัญในการสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ (ภาพที่ 2.2) (Kumar *et al.* 2007)



ภาพที่ 2.2 : ระบบ Catabolic นำไปสู่การสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์

ที่มา : Kumar *et al.* (2007)

กลุ่มที่ 3 : เอนไซม์กลุ่มนี้อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ periplasmic และเรียกว่า glycosyl transferases ถ่ายโอนน้ำตาลนิวคลีโอไทด์ UDP-Glc หรือ UDP-Gal และ / หรือ UDP-GlcA ไปยังหน่วยทำซ้ำที่ติดอยู่กับ glycosyl carrier lipid (Kumar *et al.* 2007)

กลุ่มที่ 4: เอนไซม์กลุ่มนี้อยู่นอกเยื่อหุ้มเซลล์และผนังเซลล์ มีส่วนเกี่ยวข้องในการเกิดพอลิเมอร์ของ macromolecules จากนั้นเอกโซโพลีแซคคาไรด์ จะถูกขับออกมาจากผิวเซลล์เพื่อก่อตัวเป็นเมือกหลวม ๆ หรือแคปซูลโพลีแซคคาไรด์ที่ติดอยู่รอบ ๆ เซลล์ (Kumar *et al.* 2007)

2) สังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์แล้วขับออกมาภายนอกเซลล์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ ที่ผลิตนอกเซลล์ คือ dextran, alternan และ levan (Cakic *et al.* 2002)

- Dextran เป็น homopolysaccharide ที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน [15–20,000 kDa] ผลิตโดย *Leuconostoc mesenteroides* ซึ่ง Dextranucrase เป็น glucosyltransferase ถ่ายโอนกลูโคสจากซูโครสไปยังจุดสิ้นสุดห่วงโซ่เดกซ์แทรน ตามปฏิกิริยา $\text{Sucrose} \rightarrow \text{dextran} + \text{D-fructose}$

- Alternan ผลิตโดย *Leuconostoc mesenteroides* เกิดขึ้นโดย alternanucrase ซึ่งสังเคราะห์ Alternan ตามปฏิกิริยา $\text{Sucrose} \rightarrow \text{alternan} + \text{fructose}$

- Levan เป็น β -2,6-fructan ผลิตนอกเซลล์โดย *Bacillus*, *Erwinia* และ *Gluconobacter spp.* เกิดขึ้นโดยเอนไซม์ levansucrase ตามปฏิกิริยา $\text{Sucrose} \rightarrow \text{levan} + \text{D-glucose}$

แทนแทนกัมเป็นเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *Xanthomonas campestris* ซึ่งก่อโรคในพืช แต่แทนแทนกัมได้รับการยอมรับให้สามารถนำมาใช้ในอาหารและผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ผลิตภัณฑ์นม เครื่องดื่ม ลูกกวาด ซอส ขนมอบัง น้ำผลไม้และอาหารสัตว์ หรือใช้ในอุตสาหกรรมน้ำมัน อุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมกระดาษ อุตสาหกรรมสีและอุตสาหกรรมสิ่งทอ ต้นทุนการผลิตแทนแทนกัมค่อนข้างถูกเนื่องจากสารตั้งต้นที่ใช้คือ กลูโคส และเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นโพลีเมอร์ได้สูงถึง 60-70 เปอร์เซ็นต์ (Sutherland. 1998)

เด็กซ์แทรนเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมเป็นชนิดแรก หลังจากที่ค้นพบในปี 1880 และนำมาใช้ในการผลิตเจล ความแตกต่างของโครงสร้างทำให้เด็กซ์แทรนมีคุณสมบัติทั้งที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ จึงนำมาใช้ในการผลิตลูกกวาด หมากฝรั่ง และเจลลี่ เด็กซ์แทรนจะช่วยป้องกันการไหลเอ่อของเจล ไอศกรีม และเป็นส่วนผสมในการทำขนมพุดดิ้ง (Cakic *et al.* 2002)

โมโนเมอร์ของจุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์เอกโซโพลีแซคคาไรด์ (ตารางที่ 2.2)

ตารางที่ 2.2 : เอกโซโพลีแซคคาไรด์ของจุลินทรีย์ที่ได้รับการยอมรับเชิงการค้า

เอกโซโพลีแซคคาไรด์	องค์ประกอบหลัก	แบคทีเรียผู้ผลิต	การประยุกต์ใช้
เดกซ์แทรน	กลูโคส	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	เพิ่มความคงตัวของอาหาร
แซนแทน	กลูโคส แมนโนส กรดกลูโคนิก	<i>Xanthomonas campestris</i>	เพิ่มความข้นและความคงตัวของยาชนิดครีม
แอลจินेट	กรดแมนนูโรนิก กรดกลูโคนิก อะซิเตต	<i>Azotobacter vinelandii</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	เพิ่มความข้นและความคงตัวของสารแขวนลอยในยา ก่อเจลและขึ้นรูปฟิล์มและยาลดกรดในกระเพาะ
เจลแลน	กลูโคส แรมโนส กรดกลูโคนิก	<i>Sphingomonas paucimobillis</i>	สารอิมัลชันในยาใช้ในปาก ตา และ จมูก
กรดไฮยาลูโรนิก	กรดกลูโคนิก N-อะซิทิล-กลูโคซามีน	<i>Streptococcus equisimilis</i> <i>Bacillus subtilis</i>	สมานแผลที่รักษายากและเรื้อรัง และรักษาโรคข้อและกระดูกอักเสบ

ที่มา : ดัดแปลงจาก Moscovici (2015)

2.7.2 การต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์

Abinaya *et al.* (2018) ได้ศึกษาลักษณะโครงสร้างของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ จากเชื้อ *B. licheniformis* Dab1 (BI-EPS) ซึ่งมีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำในยุงที่เป็นพาหะมาลาเรียและไวรัสซิกา ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่า BI-EPS มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis* และ *B. pumilus*) และแบคทีเรียแกรมลบ (*P. aeruginosa* และ *P. vulgaris*) และเชื้อรา *C. albicans* โดยใช้วิธี agar well diffusion method โชนการยับยั้งของแบคทีเรียแกรมบวก *B. subtilis* อยู่ในช่วง 8.23 ± 0.87 มม. ทดสอบ $75 \mu\text{g} / \text{ml}$ ในขณะที่ *B. pumilus* โชนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 9.27 ± 0.25 มม. ทดสอบ $100 \mu\text{g} / \text{ml}$ และ โชนการยับยั้งของแบคทีเรียแกรมลบ *P. aeruginosa* อยู่ในช่วง 10.4 ± 0.75 มม. ทดสอบ $75 \mu\text{g} / \text{ml}$ ในขณะที่ *P. vulgaris* และ *C. albicans* โชนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 11.7 ± 0.85 และ 8.93 ± 0.64 มม. ทดสอบ $100 \mu\text{g} / \text{ml}$ โดยรวมแล้ว BI-EPS มีการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบมากขึ้นที่ $100 \mu\text{g} / \text{ml}$ หากเปรียบเทียบกับแบคทีเรียแกรมบวก (ตารางที่ 2.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 : กิจกรรมการยับยั้งการเจริญที่เกิดจากแบคทีเรีย *B. licheniformis* Dabhl exopolysaccharide (BI-EPS) เทียบกับแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis* และ *B. pumilus*) และแบคทีเรียแกรมลบ (*Pseudomonas aeruginosa* และ *Proteus vulgaris*) และเชื้อรา *Candida albicans*

สปีชีส์	โซนการยับยั้ง (nm)			
	25 µg/ml	50 µg/ml	75 µg/ml	100 µg/ml
<i>Bacillus subtilis</i>	3.97 ± 0.21 ^a	5.23 ± 1.17 ^a	8.27 ± 0.47 ^b	8.23 ± 0.87 ^b
<i>Bacillus pumilus</i>	6.17 ± 0.25 ^a	8.03 ± 0.31 ^b	8.23 ± 0.38 ^b	9.27 ± 0.25 ^c
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5.17 ± 0.32 ^a	7.27 ± 0.25 ^b	10.4 ± 0.75 ^c	9.93 ± 0.42 ^c
<i>Proteus vulgaris</i>	7.17 ± 0.42 ^a	8.17 ± 0.35 ^{ab}	9.97 ± 0.55 ^{bc}	11.7 ± 0.85 ^c
<i>Candida albicans</i>	3.07 ± 0.15 ^a	4.8 ± 0.36 ^b	6.57 ± 1.17 ^c	8.93 ± 0.64 ^d

ที่มา : ดัดแปลงจาก Abinaya *et al.* (2018)

Mohamed *et al.* (2018) ได้ศึกษาเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ที่ผลิตโดย *B. altitudinis* MSH2014 พบว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์ ที่ผลิตจาก *B. altitudinis* MSH2014 มีกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่น โดยการสร้างเคลือบโซนขึ้นบริเวณรอบเซลล์ กิจกรรมด้านจุลินทรีย์แสดงให้เห็นว่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์ มีกิจกรรมด้านจุลินทรีย์ต่อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่นำมาทดสอบ โดยการเพิ่มความเข้มข้นของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ยับยั้งจะทำให้เคลือบโซนมีขนาดที่เพิ่มขึ้น ซึ่งอยู่ในช่วง 6.3 ถึง 24.9 มม. (ตารางที่ 2.4)

ตารางที่ 2.4 : กิจกรรมการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์จาก *B. altitudinis* MSH2014

เอกโซโพลีแซคคาไรด์ (µg/disk)	แบคทีเรียแกรมบวก		แบคทีเรียแกรมลบ			ยีสต์			รา
	<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>	
	โซนการยับยั้ง (nm)								
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	20.0	10.5	
Rimactane	16.7	16.8	21.9	14.1	0.0	0.0	0.0	0.0	
Flucoral	0.0	0.0	0.0	0.0	25.9	24.1	24.5	26.4	

ที่มา : ดัดแปลงจาก Mohamed *et al.* (2018)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.3 การต้านออกซิเดชันของเอ็กซ์โพลิแซคคาไรด์

อนุมูลอิสระเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต เพื่อลดผลเสียที่เกิดจากอนุมูลอิสระมีการใช้สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์และสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติ อย่างไรก็ตามสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์จะส่งผลเสียต่อดับและก่อให้เกิดมะเร็ง (Pokorny, 1991) ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติเพื่อปกป้องมนุษย์จากอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติชนิดใหม่มีความสำคัญอย่างยิ่งในด้านวิทยาศาสตร์และการแพทย์ในทศวรรษที่ผ่านมา โพลีแซคคาไรด์จากธรรมชาติมีความไวสูงต่อการย่อยสลายทางชีวภาพและเป็นสารโพลีเมอร์สังเคราะห์ที่เป็นอันตรายน้อยในช่วงไม่กี่ทศวรรษที่ผ่านมาเอ็กซ์โพลิแซคคาไรด์ รู้จักอย่างแพร่หลายผลิตโดยจุลินทรีย์ และมีการใช้เอ็กซ์โพลิแซคคาไรด์ มากมายในอุตสาหกรรมอาหารและยา (Kumar *et al.* 2007) จากการรายงานของ Fang *et al.* (2013) พบว่าเอ็กซ์โพลิแซคคาไรด์จากเชื้อ *B. licheniformis* OSTK95 เป็นแบคทีเรียในทะเลที่แยกได้จากตัวอย่างโคลนทะเลที่เก็บมาจากสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนของน้ำ ซึ่งตั้งอยู่ใน Lianyungang ประเทศจีน เมื่อนำมาทดสอบพบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของเอ็กซ์โพลิแซคคาไรด์ ได้แก่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (reducing power), ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลในหลอดทดลอง (ตารางที่ 2.5)

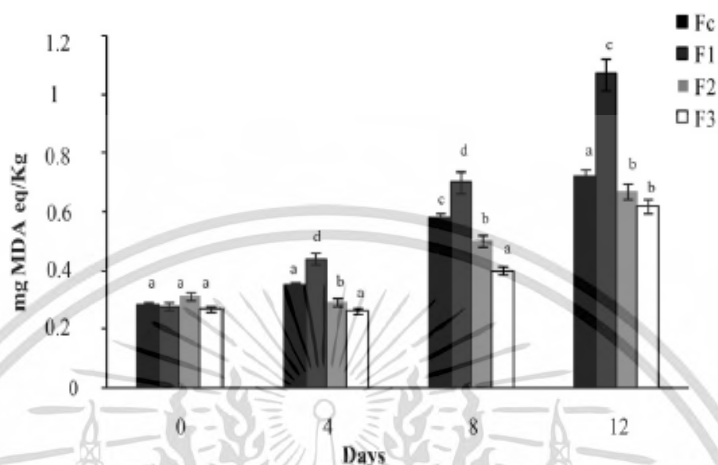
ตารางที่ 2.5 : กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองของเอ็กซ์โพลิแซคคาไรด์ของสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน

สายพันธุ์	Reducing power (A_{700})	Superoxide anion scavenging (%)	Hydroxyl radical scavenging (%)
OSTK95 ^w	0.31 ± 0.02	43.89 ± 3.65	50.91 ± 4.33
OSTK95 ^s	0.33 ± 0.03	41.52 ± 3.12	52.09 ± 3.56
UD061 ^w	0.32 ± 0.05	42.09 ± 3.18	51.95 ± 4.56
UD061 ^s	0.30 ± 0.02	42.11 ± 3.02	50.95 ± 3.06

ที่มา : ดัดแปลงจาก Fang *et al.* (2013)

Trabelsi *et al.* 2017 ได้ศึกษาเอ็กซ์โพลิแซคคาไรด์ ในไส้กรอกเนื้อวัว ซึ่งรายงานว่าเอ็กซ์โพลิแซคคาไรด์ ที่ผลิตโดย *Lactobacillus sp. Ca₆* (Eps-Ca₆) มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในไส้กรอกเนื้อวัวโดยยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ได้รับการประเมินโดยการวิเคราะห์ TBARS ระหว่างการเก็บรักษาซึ่งส่งผลให้เกิดความคงตัวของสีเนื้อในการเก็บรักษาในตู้เย็น โดย Fc คือ กลุ่มควบคุม F1 คือ ไส้

กรอกที่มีการเติมวิตามินซี F2 คือ ใ้ส้กรอกที่มีการเติมวิตามินซีกับเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.0625% และ F3 คือ ใ้ส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.125%



ภาพที่ 2.3 : ผลของการรวมกันของ EPS-Ca6 ต่อสารปฏิกิริยา thiobarbituric acid ในใ้ส้กรอกเนื้อสุก ในช่วง 12 วันของการเก็บรักษาที่ 4 °C

ที่มา : Trabelsi *et al.* (2017)

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3. วิธีการดำเนินงาน

3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

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

24) Nitrient broth	(Merck, Germany)
25) Novobiocin broth	(Merck, Germany)
26) Plate Count Agar (PCA)	(Merck, Germany)
27) Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)	(Merck, Germany)
28) Potato Dextrose Agar (PDA)	(Merck, Germany)
29) Simmon's citrate agar	(Merck, Germany)
30) Sodium acetate	(Merck, Germany)
31) Sodium chloride (NaCl) 0.85 %	(Merck, Germany)
32) Sodium chloride	(Merck, Germany)
33) Sodium citrate	(Merck, Germany)
34) Sulfuric acid (H_2SO_4)	(Merck, Germany)
35) Tartarlic acid	(Merck, Germany)
36) Trichloroacetic acid (TCA)	(Merck, Germany)
37) Tryptophan broth	(Merck, Germany)
38) Yeast extract	(Merck, Germany)

3.2 วัสดุ – อุปกรณ์ และเครื่องมือ

1) ตู้อบลมร้อน	(Binder, Model FD 115, Germany)
2) เครื่องชั่งชนิดหยาบ	(Tanita model 1144, Tanita Corporation, Japan)
3) เครื่องชั่งชนิดละเอียด	(Sartorius, Basic, Germany)
4) ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Laminar Flow	(Dwyer model merk II, USA)
5) ตู้บ่มเพาะเชื้อจุลินทรีย์	(WTB Binder model BD, Germany)
6) ตู้อบเครื่องแก้ว	(Hot-air oven, Memmert model CM500, Germany)
7) หม้อนึ่งความดันสำหรับฆ่าเชื้อ	(Hirayama model HVE 50, Japan)
8) อ่างควบคุมอุณหภูมิ	(Water Bath, Memmert, Germany)
9) เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง	(Vortex Mixer KMC-1300V, Korea)
10) เครื่องตีปนไฟฟ้า	(Stomacher Bag Mixer 400 model VW, France)
11) ไมโครเวฟ	(Toshiba model ER-G8C, Thailand)
12) เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็น	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 13) ไมโครปิเปต ขนาด 100, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร (Finnpipette F3, USA)
- 14) เครื่องวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Warner-Bratzler, Instron Model 1011)
- 15) เครื่องวัดค่าสีของเนื้อ (Hunterlab Mini Scan EZ)
- 16) เครื่อง Homogenizer (Ultra tarrax, Germany)
- 17) เครื่อง Centrifuge (Beckman Coulter model Avanti J-E, USA)
- 18) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Shimadzu model UV – 1601, Japan)
- 19) เครื่องวัดค่า กรด-ด่าง (Mettler Toledo medel SG-2, Switzerland)
- 20) เครื่องบ่มเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Mini Shaking Incubator Bench Top, Germany)
- 21) อ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิ
- 22) อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ
- 23) Autopipette ขนาด 10, 200, 1000 μ l และ 5, 10 ml
- 24) ปีกเกอร์ขนาด 250, 500, 1000 ml
- 25) กระบอขวด
- 26) หลอดทดลองขนาดเล็กและเครื่องแก้วชนิดและขนาดต่างๆ
- 27) กรวยกรอง
- 28) นาฬิกาจับเวลา
- 29) กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman 1) (Merck, Germany)
- 30) Disposable cuvette semi-micro

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการทดลองครั้งนี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

วัตถุประสงค์	กิจกรรม
<p>การทดลองที่ 1</p> <p>ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์จาก <i>Bacillus subtilis</i> LB23</p>	<p>1.1 การสกัดเอกโซโพลีแซคคาไรด์จาก <i>Bacillus subtilis</i> LB23</p> <p>1.2 การทดลองย่อยที่ 1.1 ทดสอบคุณสมบัติการต้านสปอร์ <i>Clostridium sporogenes</i> ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์</p> <ul style="list-style-type: none"> - Minimal Inhibitory Concentration (MIC) - Minimal Bactericidal Concentration (MBC) <p>การทดลองย่อยที่ 1.2 ทดสอบคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในระบบอิมัลชัน (Emulsion meat system)</p> <p>วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ซึ่งมีรอบการผลิต 3 ซ้ำ โดยแบ่งออกเป็น 6 กลุ่มทดลอง ดังนี้</p> <ul style="list-style-type: none"> T1 กลุ่มควบคุม T2 กลุ่ม BHA 0.01% T3 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.18% T4 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.25% T5 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31% T6 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.37% <p>ทดสอบคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ดังนี้</p> <ul style="list-style-type: none"> - Superoxide radical scavenging activity - DPPH radical scavenging activity
<p>การทดลองที่ 2</p> <p>ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกในระหว่างการเก็บรักษา</p>	<p>2.1 ทดสอบคุณสมบัติการต้านแบคทีเรียของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่เติมสารละลายเชื้อบริสุทธ์</p>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	<p>จัดกลุ่มการทดลองแบบ 6x7 Factorial in CRD แบ่งออกเป็น 3 ปัจจัย คือ กลุ่มทดลอง, วิธีบรรจุภัณฑ์และระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยแบ่งออกเป็น 6 กลุ่มทดลอง ดังนี้</p> <p>T1 กลุ่มควบคุม</p> <p>T2 กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5%</p> <p>T3 กลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.18%</p> <p>T4 กลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.25%</p> <p>T5 กลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31%</p> <p>T6 กลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.37%</p> <p>โดยใส่กรอกทุกทรีตเมนต์ที่เติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์จำนวน 10^3 CFU/g ซึ่งได้แก่เชื้อ <i>S. aureus</i>, <i>Salmonella</i> spp., <i>L. monocytogenes</i>, <i>L. plantarum</i> และ <i>L. lactis</i> บรรจุปิดผนึกแบบมีอากาศและแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 42 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างทุกๆ 7 วัน (0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42) แล้วตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ ได้แก่</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>S. aureus</i> - <i>Salmonella</i> spp. - <i>L. monocytogenes</i> - Lactic Acid Bacteria (LAB) <p>2.2 ทดสอบคุณสมบัติการต้านแบคทีเรียของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์ใส่กรอกที่ไม่เติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์</p> <p>จัดกลุ่มการทดลองตามการทดลองที่ 2 ข้อ 2.1 โดยทุกทรีตเมนต์จะไม่เติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ บรรจุปิดผนึกแบบมีอากาศและแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา</p>
--	---

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	<p>42 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างทุกๆ 7 วัน (0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42) แล้ววิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์, เคมี่และกายภาพ ดังนี้</p> <p>2.1.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mesophilic aerobic bacteria - Mesophilic anaerobic bacteria - Psychrotrophic aerobic bacteria - Thermophilic aerobic bacteria - Lactic acid bacteria - Yeast and mold - Aerobic bacterial spore - Anaerobic bacterial spore <p>2.1.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีและกายภาพ</p> <ul style="list-style-type: none"> - ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) - ปริมาณผลผลิตหลังการปรุงสุก (Cooking yield) - ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (Purge loss) - วิเคราะห์ค่าสี (CIE L*, a*, b*) - วิเคราะห์คุณภาพด้านประสาทสัมผัส (Texture profile analysis, TPA)
<p>การทดลองที่ 3</p> <p>การประยุกต์ใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์เพื่อทดแทนไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่</p>	<p>3.1 ทดสอบคุณสมบัติการด้านแบคทีเรียของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ไส้กรอก</p> <p>จัดกลุ่มการทดลองแบบ 8x10 Factorial in CRD แบ่งออกเป็น 3 ปัจจัย คือ กลุ่มทดลอง, วิธีบรรจุภัณฑ์และระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ บรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศและแบบ</p>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	<p>สุญญากาศ เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 63 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างทุกๆ 7 วัน (0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 และ 63) โดยแบ่งออกเป็น 8 กลุ่มทดลอง ดังนี้</p> <p>T1 กลุ่มควบคุม</p> <p>T2 กลุ่มที่เติม BHA 0.01%</p> <p>T3 กลุ่มที่เติม โซเดียมซิเตรต 1.5%</p> <p>T4 กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซิเตรต 1.5%</p> <p>T5 กลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.25%</p> <p>T6 กลุ่มที่ลดปริมาณไนไตรท์และอีริทอร์เบต 25% และเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.025%</p> <p>T7 กลุ่มที่ลดปริมาณไนไตรท์และอีริทอร์เบต 50% และเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.025%</p> <p>T8 กลุ่มที่ลดปริมาณไนไตรท์และอีริทอร์เบต 75% และเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.025%</p> <p>วิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์, เคมีและกายภาพ ดังนี้</p> <p>3.1.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mesophilic aerobic bacteria - Mesophilic anaerobic bacteria - Psychrotrophic aerobic bacteria - Thermophilic aerobic bacteria - Lactic acid bacteria - Yeast and mold - Aerobic bacterial spore - Anaerobic bacterial spore - <i>S. aureus</i> - <i>Salmonella</i> spp.
--	---

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	<ul style="list-style-type: none"> - <i>L. monocytogenes</i> - Coliforms และ <i>Escherichia coli</i> <p>3.1.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีและกายภาพ</p> <ul style="list-style-type: none"> - ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) - ปริมาณผลผลิตหลังการปรุงสุก (Cooking yield) - ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (Purge loss) - วิเคราะห์ค่าสี (CIE L*, a*, b*) - วิเคราะห์คุณภาพด้านประสาทสัมผัส (TPA) - ค่าการออกซิเดชันของไขมัน (TBARS)
--	---

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์จาก *Bacillus subtilis* LB23

3.3.1.1 การสกัดเอกโซโพลีแซคคาไรด์ (Crude exopolysaccharide) จาก *Bacillus subtilis* LB23

เชื้อ *Bacillus subtilis* LB23 แยกได้จากดิน วิเคราะห์สายพันธุ์แบคทีเรียด้วยวิธี 16S rRNA (Ki *et al.*, 2009) และผ่านการทดสอบกิจกรรมการต้านแบคทีเรียก่อโรคเบื้องต้นในหลอดทดลอง โดยการผลิตเอกโซโพลีแซคคาไรด์ดัดแปลงจากวิธีของ Fang *et al.* (2013) ทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียบน Mueller hinton agar (Merck) บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (กลูโคส 10 กรัม, ทริปโทน 5 กรัม, สารสกัดจากยีสต์ 5 กรัม, โซเดียมคลอไรด์ 3 กรัม, ไดโพรแทสเซียมฟอสเฟต 3 กรัม, โพแทสเซียม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 กรัม, แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต 0.5 กรัม และ แคลเซียมคาร์บอเนต 0.5 กรัม) ปริมาตร 100 ml และบ่มบนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน และนำมาหมุนเหวี่ยงความเร็วรอบ 10,000 x g แล้วนำไปต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงอีกครั้ง จากนั้นนำส่วนใสมาทดสอบ Phenol-Sulfuric acid เพื่อหาปริมาณเอกโซโพลีแซคคาไรด์ โดยเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายฟีนอล 5% ในน้ำ 1 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง จากนั้นจึงเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร ลงในส่วนผสมอย่างรวดเร็ว ที่ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที และวางไว้ในอ่างน้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร เทียบมาตรฐานกับกลูโคส (Dubois *et al.* 1956) จากการทดสอบการต้านจุลินทรีย์เบื้องต้นด้วยการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *L. plantarum* และ *L. lactis* ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ (ไม่แสดงข้อมูล) พบว่า มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่จะยับยั้งแบคทีเรียเหล่านี้ได้ที่ความเข้มข้น 0.0625% เป็นปริมาณสารละลายทั้งหมด หรือ Crude exopolysaccharide จากนั้นนำมาหาค่าปริมาณเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่มีอยู่ในสารละลาย Crude exopolysaccharide ทั้งหมด โดยนำมาคูณกับค่าที่ได้จากการหาปริมาณเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 14,070 ml/l หรือ 14.07 g/l จะได้ค่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่อยู่ในสารละลาย เท่ากับ 0.0625 x 14,070 เท่ากับ 879.378 mg/l หรือ 0.88 g/l

3.3.1.2 การทดลองย่อยที่ 1.1 ทดสอบคุณสมบัติการต้านสปอร์ *Clostridium sporogenes* ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์

Clostridium sporogenes DMST 15536 (ATCC 11437) จากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Jason *et al.* (2015) โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร Brain Heart Infusion broth (BHI) บ่มแบบไร้อากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วันจนเซลล์เข้าสู่สภาวะสร้างสปอร์มากกว่า 95% ตรวจสอบโดยการส่องกล้องจุลทรรศน์ จากนั้นนำมาดัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อกระตุ้นสปอร์แล้วหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 x g เป็นเวลา 10 นาที แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อออกและเติมน้ำเกลือให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อ 10^8 cfu/ml โดยเทียบกับ McFarland และเจือจางให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 10^6 cfu/ml จากนั้นนำไปทำการวิเคราะห์ค่า Minimal Inhibitory Concentration และ Minimal Bactericidal Concentration ต่อไป

1) ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ดัดแปลงจากวิธีการของ Mohamed *et al.* (2016) โดยนำเอกโซโพลีแซคคาไรด์มาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *Clostridium sporogenes* โดยเตรียมสารสกัดความเข้มข้นของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 300 ไมโครลิตร ทำการเจือจางแบบ 2-fold serial dilution ลงในไมโครเพลทเพาะเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม (96-well plate) ตั้งแต่หลุมที่ 2 ถึง 9 หลุมละ 20 ไมโครลิตร แล้วเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI ปริมาตร 120 ไมโครลิตร ลงใน 96-well plate ทุกหลุม จากนั้นเติมสปอร์ลงใน 96-well plate ปริมาตรหลุมละ 20 ไมโครลิตรทุกหลุม แล้วนำไปบ่มแบบไร้อากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 18-20 ชั่วโมง อ่านผลที่ได้โดยดูจากตะกอนของเชื้อสีขาวขุ่นที่ก้นหลุมของ 96-well plate ถ้ามีสีขาวขุ่นแสดงว่าที่ความเข้มข้นนั้น ไม่ยับยั้งเชื้อ ส่วน positive control คือ อาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียว ไม่มีสารสกัดเอกโซโพลีแซคคาไรด์

2) ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าสปอร์ (Minimal Bactericidal Concentration, MBC) ดัดแปลงจากวิธีการของ Mohamed *et al.* (2016) จากการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสามารถนำมาหาค่า MBC โดยนำ 96-well plate ที่ทำการทดสอบหาค่า MIC หลุมที่ไม่มีความขุ่นทุกหลุมไป spread plate บนอาหาร BHI บ่มแบบไร้อากาศที่ 37 องศาเซลเซียสนาน 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนี ถ้าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ก็จะไม่พบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

การทดลองย่อยที่ 1.2 ทดสอบคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในระบบอิมัลชัน (Emulsion meat system)

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ซึ่งมีรอบการผลิต 3 ซ้ำ โดยแบ่งออกเป็น 6 กลุ่มทดลอง ได้แก่ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มบีเอชเอ 0.01%, T3 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.18%, T4 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.25%, T5 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31% และ T6 กลุ่ม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.37%

ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Almaráz-Buendia *et al.* (2019) แต่ละกลุ่มทดลองผสมส่วนผสมตามอัตราส่วนในตารางที่ 3.1 ผสมกับ 0.6 M Tris-HCl (pH 8.0) แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง homogenizer เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นคนสารละลายตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร แล้วเก็บสารละลายตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 30 นาที และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2000 x g เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วเก็บส่วนใสเพื่อนำไปวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชัน

ตารางที่ 3.1 ส่วนผสมในระบบอิมัลชันเนื้อสัตว์ (Emulsified meat system)

ส่วนผสม	T1	T2	T3	T4	T5	T6
เนื้อไก่ (g)	5	5	5	5	5	5
ไขมันหมู (g)	3	3	3	3	3	3
น้ำแข็ง (g)	1.85	1.85	1.85	1.85	1.85	1.85
โซเดียมคลอไรด์ (g)	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
บีเอชเอ (g)	-	0.001	-	-	-	-
เอกโซโพลีแซคคาไรด์ (ml)	-	-	0.018	0.025	0.031	0.037

T1 = Control, T2 = BHA 0.01%, T3 = EPS 0.18%, T4 = EPS 0.25%, T5 = EPS 0.31% และ T6 = EPS 0.37%

ทดสอบคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ดังนี้

1) การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical-scavenging activity) วิธีการทดลองดัดแปลงตามวิธีการของ Kovačeva *et al.* (2007) เตรียมตัวอย่างทดสอบ 1 ml ผสมกับส่วนผสมที่ประกอบไปด้วยสารละลายแต่ละอย่างปริมาตร 5.0 ml ได้แก่ สารละลาย NBT (200 $\mu\text{mol/L}$ ใน 0.6 M phosphate buffer, pH 8.0), สารละลาย NADH (500 $\mu\text{mol/L}$ ใน 0.6 M phosphate buffer, pH 8.0) จากนั้นเติมสารละลาย PMS (60 $\mu\text{mol/L}$ ใน 0.6 M phosphate

buffer, pH 8.0) ผสมให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 5 นาที และนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับสาร Ascorbic acid ซึ่งหาร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์จากสูตร

$$\text{Scavenging radical (\%)} = (1 - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}}) \times 100$$

2) การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical-scavenging activity) ตามวิธีการดัดแปลงจาก Hidayat *et al.* (2017) เตรียมตัวอย่างทดสอบปริมาตร 0.5 ml ผสมกับ 0.5 mM DPPH ปริมาตร 3.0 ml ที่ละลายในเอทานอล 75% ผสมให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร บันทึกผล 3 ซ้ำ และนำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสาร α -Tocopherol ซึ่งหาร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชจากสูตร

$$\text{Scavenging activity (\%)} = [1 - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

3.3.1.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนข้อมูล โดยใช้ Analysis of Variance ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของข้อมูล โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS for windows version 17.0 (SPSS Inc.)

3.3.2 การทดลองที่ 2 ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในระหว่างการเก็บรักษา

3.3.2.1 ทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์ใส่กรอกที่เติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์

จัดกลุ่มการทดลองแบบ 6x7 factorial in CRD แบ่งออกเป็น 2 ปัจจัย คือ กลุ่มทดลอง และระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยแบ่งออกเป็น 6 กลุ่มทดลอง ได้แก่ T1 กลุ่มควบคุม, T2 กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5%, T3 กลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.18%, T4 กลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.25%, T5 กลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.31% และ T6 กลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.37% บรรจุผลิตภัณฑ์แบบมีอากาศและแบบสุญญากาศ ตรวจสอบวิเคราะห์ทุก 7 วัน (0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42)

ส่วนผสมของแต่ละกลุ่มทดลองตามตารางที่ 3.2 ซึ่งการผลิตใส่กรอกดัดแปลงจากวิธีการของ Meier-Dinkel *et al.* (2016) โดยใช้อกไก่ 50% และมันแข็ง 30% บดด้วยเครื่องบด แล้วนำไปสับผสมในเครื่องสับผสม ใส่ผงเพรก 1.466% (ประกอบด้วยเกลือแกง 99.2% และไนไตรท์ 0.8%) โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.4% และน้ำแข็ง 10% แล้วสับผสมจนเป็นเนื้อเดียวกัน จึงเติมเครื่องเทศ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อีริทอร์เบต 0.1% ผงชูรส 0.1% น้ำตาล 0.46% หอมหัวใหญ่ 1.46% กระเทียมสด 1% ปาปริก้า 0.1% premix 2% และน้ำแข็งอีก 10% สับผสมจนส่วนผสมเข้ากัน แล้วนำส่วนผสมทั้งหมดอัดใส่ โดยใช้ไส้คอลลาเจน จากนั้นใช้เชือกมัดไส้กรอกเป็นท่อนยาว 15 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 55 กรัม แล้วนำไส้กรอกไปต้มในหม้อที่น้ำ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จนอุณหภูมิใจกลางเท่ากับ 72 องศาเซลเซียส แล้วนำไส้กรอกขึ้นมาพักให้เย็นและนำไปเติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์เพื่อทดสอบคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของ เอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก จากนั้นบรรจุปิดผนึกแบบมีอากาศและแบบสุญญากาศ ด้วยถุงลามิเนต เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส ตรวจสอบวิเคราะห์ทุก 7 วัน (0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42)

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบของไส้กรอกในแต่ละกลุ่มทดลอง

ส่วนผสม	T1	T2	T3	T4	T5	T6
ส่วนผสมหลัก						
เนื้ออกไก่	50	50	50	50	50	50
มันหมู	30	30	30	30	30	30
น้ำแข็ง	20	20	20	20	20	20
รวม			100%			
ส่วนผสมอื่น						
โซเดียมกลูตาไรต์	1.488	1.488	1.488	1.488	1.488	1.488
ไนไตรท์	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012
โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
อีริทอร์เบต	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
ผงชูรส	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
น้ำตาล	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46
หอมหัวใหญ่	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66
กระเทียมสด	1	1	1	1	1	1
ปาปริก้า	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
เครื่องเทศไส้กรอก	2	2	2	2	2	2
โซเดียมซิเตรต	-	1.5	-	-	-	-
เอกโซโพลีแซคคาไรด์	-	-	0.18	0.25	0.31	0.37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) เตรียมแบคทีเรียก่อโรคตามวิธีการของ Tangwatcharin *et al.* (2019) *Staphylococcus aureus* DMST 4745, *Salmonella Typhimurium* DMST 22842, *Listeria monocytogenes* DMST11256 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (กระทรวงสาธารณสุข) เพาะเลี้ยงในอาหาร MHA และ *Lactobacillus plantarum* KL103 และ *Lactococcus lactis* KLL101 เพาะเลี้ยงในอาหาร MRS agar (Merck) เตรียมสารละลายเชื้อโดย นำเชื้อ 2-3 โคโลนี ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ่ายลงในสารละลายเกลือ โซเดียมคลอไรด์ (Sigma-Aldrich) ความเข้มข้น 0.85% ปริมาณ 10 ml และปรับความเข้มข้นให้มีความเข้มข้น 1×10^8 cfu/ml โดยเทียบกับมาตรฐาน McFarland 0.5 เจือจางให้มีความเข้มข้น 1×10^5 cfu/ml จากนั้นเติมลงในผลิตภัณฑ์ให้ในผลิตภัณฑ์มีเชื้อก่อโรคความเข้มข้น 1×10^3 cfu/ml แล้วทำการฉีดหัวเชื้อ แต่ละตัวที่ความเข้มข้นเท่ากันลงในไส้กรอกแล้วทำการนวดเป็นระยะเวลา 1 นาที บรรจุปิดผนึกแบบมีอากาศและแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 42 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างทุก 7 วัน (0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42) เพื่อวิเคราะห์จุลินทรีย์ ดังนี้

1.1) *Staphylococcus aureus* ตามวิธีการของ BAM (2001a) โดยชั่งตัวอย่าง ผลิตภัณฑ์จำนวน 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปผสมด้วยเครื่องตีปั่น (Stomacher bag Mixer 400 model VW, France) 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 สังเกตและนับจำนวน โคโลนีที่มี สีดำ ขอบใส ทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีที่ระดับความเจือจางที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 - 300 โคโลนี แล้วคำนวณจำนวนจุลินทรีย์เป็นหน่วย log CFU/g และสุ่มมาทดสอบการสร้างเอนไซม์ Coagulase test โดยปิเปต Rabbit plasma 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนสไลด์ที่ทำความสะอาดแล้ว ถ่ายเชื้อลงบนสไลด์และ Smear สังเกตการเกิดเส้นใยบนสไลด์

- การย้อมสีแกรม นำโคโลนีแต่ละโคโลนีที่เลือกไว้มาย้อมแกรมโดยวิธี Gram stain ตามวิธีการของ BAM (2001a) ลักษณะเซลล์ของ *S. aureus* ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างเป็นทรงกลม อยู่รวมกันเป็นพวงคล้ายพวงองุ่น ไม่สร้างสปอร์

1.2) *Samonella* spp. ตามวิธีการของ ISO-6579 (2002) โดยนำสารละลายเจือจางของตัวอย่างในข้อที่ 1.1) ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร HE agar เติม novomyocin ปริมาณ 0.1:1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ เมื่อถ่ายเชื้อลง

อาหาร HE agar เสร็จให้นำไปบ่ม 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง สังเกตและนับโคโลนีสีน้ำเงินเขียวและตรงกลางมีสีดำ กลม นูน ผิวเรียบเป็นมัน 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 แต่ถ้าหากเชื้อแบคทีเรียชนิดนั้นสามารถใช้น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแล็กโทสและหรือน้ำตาลซูโครสในสถานะที่มีออกซิเจนต่ำจะทำให้ส่วนก้นหลอดอาหารเป็นสีเหลืองจากกรดที่แบคทีเรียสร้างขึ้น และหากอาหารเลี้ยงเชือนั้นมีรอยแตกอันเนื่องมาจากแก๊สที่เชื้อจุลินทรีย์สร้างขึ้นจะรายงานผลบวกคือมีแก๊สในหลอด และหากเป็นแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Hydrogen sulfide) จะพบว่าอาหารเลี้ยงเชือนั้นเกิดสีดำอยู่ที่ส่วนก้นหลอดอาหาร 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

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

1.3) *Listeria monocytogenes* ตามวิธี ISO11290-1 ดัดแปลงจาก Coombs *et al.* (2017) และ BAM (2017) โดยนำสารละลายเจือจางของตัวอย่างในข้อที่ 1.1) ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Modified listeria selective agar นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีดำโดยอาศัยการตรวจจับการย่อย Esculin ลักษณะโคโลนีคือ กลม สีขาวนูน และเห็นสีดำเป็นโซนรอบ ๆ โคโลนี ทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีที่ระดับความเจือจางที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 - 300 โคโลนี แล้วคำนวณจำนวนจุลินทรีย์เป็นหน่วย log CFU/g จากนั้นทดสอบการเกิด Decarboxylation ของ lysine ในอาหาร LIA (Lysine Iron Agar) ใช้เข็มถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LIA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

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

1.4) Lactic acid bacteria โดยนำสารละลายเจือจางของตัวอย่างในข้อที่ 1.1) ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร MRS Agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ จากนั้นนับจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี รายงานผลหน่วยเป็น log cfu/g (AOAC, 2006)

- การทดสอบหาเอนไซม์คาตาเลส (Catalase) โดยการถ่ายเชื้อลงบนกระจก จากนั้นหยดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂) ลงบนกระจกสังเกตการเกิดฟอง หากเกิดฟองแสดงว่าแบคทีเรียมีเอนไซม์คาตาเลส สามารถเปลี่ยนออกซิเจนที่เป็นพิษของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นน้ำและออกซิเจนได้

- การย้อมสีแกรม ตามวิธีการของ BAM (2001a) ลักษณะเซลล์ของแบคทีเรียแลคติก ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างลักษณะเป็นท่อนและทรงกลม ไม่สร้างสปอร์

2) ทำการวิเคราะห์หาค่าจลพลศาสตร์การเจริญของแบคทีเรียก่อโรคแต่ละชนิดโดยคำนวณหาค่าระยะเวลาหนึ่งชั่วอายุ (generation time, λ) ตาม Oliveira *et al.* (2011) ดังสมการ

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

โดยที่ X_2 และ X_1 คือจำนวนแบคทีเรีย t และ t_2 และ t_1 คือระยะเวลาในการบ่ม

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

3.3.2.2 ทดสอบคุณสมบัติการต้านแบคทีเรียของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ไม่เติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์

จัดกลุ่มการทดลองตามการทดลองที่ 3.3.2 ข้อ 3.3.2.1 โดยทุกทริตเมนต์จะไม่เติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ บรรจุปิดผนึกแบบมีอากาศและแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 42 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างทุกๆ 7 วัน (0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42) แล้ววิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์, เคมี่และกายภาพ ดังนี้

1) การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์

1.1) Mesophilic aerobic and anaerobic bacteria โดยสุ่มตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปผสมด้วยเครื่องตีปั่น (Stomacher bag Mixer 400 model VW, France) เป็นเวลา 60 วินาที จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 จากนั้นเจือจางตัวอย่างให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Plate count agar (PCA) บ่มแบบมีอากาศและสุญญากาศที่อุณหภูมิ 37° C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี รายงานผลหน่วยเป็น log cfu/g (BAM, 2002a)

1.2) Psychrotrophic aerobic bacteria โดยนำสารละลายเชื้อจากตัวอย่างในข้อที่ 1.1) ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเชื้อจาก 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Plate count agar (PCA) บ่มที่อุณหภูมิ 7° C เป็นเวลา 7-10 วัน จากนั้นนับจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี รายงานผลหน่วยเป็น log cfu/g (BAM, 2002b)

1.3) Thermophilic aerobic bacteria โดยนำสารละลายเชื้อจากตัวอย่างในข้อที่ 1.1) ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเชื้อจาก 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Plate count agar (PCA) บ่มที่อุณหภูมิ 55° C เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนับจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี รายงานผลหน่วยเป็น log cfu/g (BAM, 2002c)

1.4) Lactic acid bacteria

(ดังแสดงในการทดลองที่ 3.3.2)

1.5) Yeast and mold โดยนำสารละลายเชื้อจากตัวอย่างในข้อที่ 1.1) ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเชื้อจาก 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Potato Dextrose Agar + 10% Tataric acid solution ปริมาตร 1:100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3-7 วัน จากนั้นนับจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี รายงานผลหน่วยเป็น log cfu/g (AOAC, 2006)

1.6) Aerobic and anaerobic bacterial spore โดยนำสารละลายเชื้อจากตัวอย่างในข้อที่ 1.1) ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำตัวอย่างมาทำการเพาะเลี้ยง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar (PCA) และนำไปบ่มแบบมีอากาศและสูญญากาศที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี รายงานผลหน่วยเป็น log cfu/g (Watterson *et al.* 2014)

2) การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีและกายภาพ

2.1) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตามวิธีของ Conte-Junior *et al.* (2008) โดยใช้หัวโพรบแทงลงบนผลิตภัณฑ์ใส่กรอกโดยตรงด้วยเครื่องวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter (Mettler Toledo model SG-2, Switzerland) ทำการวัดค่า 3 ครั้ง และบันทึกผล 3 ซ้ำ

2.2) ปริมาณผลผลิตหลังการปรุงสุก (Cooking yield) ตามวิธีการของ Prapasuwannakul. (2018) คำนวณหาปริมาณผลผลิตหลังการปรุงสุก ดังสมการ

$$\text{Cooking yield (\%)} = \frac{\text{Cooked weight}}{\text{Uncooked weight}} \times 100$$

2.3) ค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างการเก็บรักษา (Purge loss) ตามวิธีการของ Belibağlı and Ersan (2018) โดยชั่งน้ำหนักใส่กรอกแล้วเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้น

นำไส้กรอกออกจากตู้เย็นแล้วเอาไส้กรอกออกจากถุงบรรจุและซับที่ผิวหน้าไส้กรอกด้วยกระดาษ Kimwipe แล้วชั่งน้ำหนักไส้กรอก คำนวณ % Purge loss ด้วยสมการ

$$\text{Purge loss (\%)} = (\text{น้ำหนักก่อนเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังเก็บรักษา}) / \text{น้ำหนักก่อนเก็บรักษา} \times 100$$

2.4) วิเคราะห์ค่าสี (CIE L*, a*, b*) สุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกกลุ่มการทดลองละ 3 ชิ้น มาวัดค่าสีด้วยระบบ CIE (L*a*b*) ด้วยเครื่องวัดสี HunterLab Mini Scan EZ 4000L (Hunter Lab Inc, Reston, VA, USA) ซึ่งแต่ละตัวอย่างทดลองจะทำการวัดค่า 3 จุด และแสดงผลเป็นค่า L* (Lightness), a* (Redness), b* (Yellowness) ทำการวัดค่า 3 ครั้ง และบันทึกผล 3 ซ้ำ และคำนวณค่า Chroma และ Hue angle ดังสมการ (Kortei *et al.* 2015)

$$C^* = \sqrt{b^{*2} + a^{*2}}, h^\circ = \tan^{-1}(b^*/a^*)$$

2.5) วิเคราะห์คุณภาพด้านเนื้อสัมผัส (Texture Profile Analysis, TPA) ตามวิธีการของ Das *et al.* (2008) โดยตัดตัวอย่างไส้กรอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร สูง 2 เซนติเมตร ทำทั้งหมด 6 ซ้ำ นำไปวัดลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวมด้วยเครื่อง Instron (Warner-Bratzler, Instron model 1011, Instron company, Thailand) (Bourne. 1978) โดยใช้หัวแบบ Compression ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15.5 เซนติเมตร ซึ่งเป็นการวัดค่าแรงที่ใช้กดลงบนตัวอย่างขนาดมาตรฐาน 2 ครั้ง โหลดเซลล์ที่ใช้ในการวัดค่า 500 นิวตัน กำหนดให้การวัดค่าของตัวอย่างถูกกดลงไปเป็นระยะทาง 40% ของความสูงของตัวอย่าง แล้วบันทึกผลค่าลักษณะเนื้อสัมผัสได้แก่ ค่าความแข็ง (Hardness, N) ค่าความสามารถในการเกาะรวมตัวกัน (Cohesiveness, ratio) ค่าความเหนียวเป็นกาวหรือยาง (Gumminess, N) ค่าการเคี้ยว (Chewiness, N) และค่าความยืดหยุ่น (Springiness, ratio)

3.3.2.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของข้อมูล โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS for windows version 17.0 (SPSS Inc.)

3.3.3 การทดลองที่ 3 การประยุกต์ใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์เพื่อทดแทนไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่

3.3.3.1 ทดสอบคุณสมบัติการต้านแบคทีเรียของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ไส้กรอก

จัดกลุ่มการทดลองแบบ 8x10 Factorial in CRD ซึ่งมีรอบการผลิต 3 รอบเป็น block แบ่งออกเป็น 3 ปัจจัย คือ กลุ่มทดลอง, บรรจุภัณฑ์และระยะเวลาการเก็บรักษา วิเคราะห์ทุก 7 วัน

(0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 และ 63) เป็นเวลา 63 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกแบบมีอากาศและแบบสุญญากาศ โดยส่วนผสมของแต่ละกลุ่มทดลองตามตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 องค์ประกอบของไส้กรอกในแต่ละกลุ่มทดลอง

ส่วนผสม	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
ส่วนผสมหลัก	(%)							
เนื้ออกไก่	50	50	50	50	50	50	50	50
มันหมู	30	30	30	30	30	30	30	30
น้ำแข็ง	20	20	20	20	20	20	20	20
รวม	100%							
ส่วนผสมอื่น	(%)							
โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
ผงชูรส	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
น้ำตาล	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46
หอมหัวใหญ่	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66
กระเทียมสด	1	1	1	1	1	1	1	1
ปาปริก้า	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
เครื่องเทศไส้กรอก	2	2	2	2	2	2	2	2
โซเดียมคลอไรด์	1.488	1.488	1.488	1.488	1.488	1.488	1.488	1.488
ไนไตรท์	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.009	0.006	0.003
อิริทอร์เบต	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.075	0.05	0.025
บีเอสเอ	-	0.01	-	0.01	-	-	-	-
โซเดียมซิเตรต	-	-	1.5	1.5	-	-	-	-
เอกโซโพลีแซคคาไรด์	-	-	-	-	0.25	0.25	0.25	0.25

แบ่งออกเป็น 8 กลุ่มทดลอง ดังนี้

T1 กลุ่มควบคุม

T2 กลุ่มที่เติมบีเอสเอ 0.01%

T3 กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5%

T4 กลุ่มที่เติมบีเอสเอ 0.01% และ โซเดียมซิเตรต 1.5%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

T5 กลุ่มที่เติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.25%

T6 กลุ่มที่ลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% และเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.025%

T7 กลุ่มที่ลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% และเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.025%

T8 กลุ่มที่ลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% และเติม EPS LB23 ความเข้มข้น 0.025%

วิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์, เคมีและกายภาพ ดังนี้

1) การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ ได้แก่

1.1) Mesophilic aerobic and anaerobic bacteria, Psychrotrophic aerobic bacteria, Thermophilic aerobic bacteria, Yeast and mold และ Aerobic and anaerobic bacterial spore (ดังแสดงในการทดลองที่ 3.3.2)

1.2) *Lactic acid bacteria*

(ดังแสดงในการทดลองที่ 3.3.2)

1.3) *Staphylococcus aureus*

(ดังแสดงในการทดลองที่ 3.3.2)

1.4) *Salmonella* spp. ตามวิธีการของ ISO-6579 (2002) โดยสุ่มตัวอย่าง 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อลงในสารละลายเปปโทน ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่องเครื่องตีปั่น เป็นเวลา 60 วินาที บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อลงอาหารเหลว MktTn broth บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อลงอาหาร HE agar เติม novomyocin ปริมาณ 0.1:1 มิลลิลิตร เมื่อถ่ายเชื้อลงอาหาร HE agar เสร็จให้นำไปบ่ม 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีสีน้ำเงินเขียวและตรงกลางมีสีดำ กลม นูน ผิวเรียบเป็นมัน อาจพบหรือไม่พบจุดตรงกลาง แล้วนำโคโลนีมาทดสอบทางปฏิกิริยาเคมี Lysine Iron Agar slant (LIA) และ Triple Sugar Iron (TSI agar) ตามวิธีการทดลองที่ 3.3.2

1.5) *Listeria monocytogenes* ตามวิธี ISO11290-1 คัดแปลจาก Coombs *et al.* (2017) และ BAM (2017) ตามลำดับ โดยสุ่มตัวอย่าง 25 กรัม ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Buffered listeria enrichment broth 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่องเครื่องตีปั่น เป็นเวลา 60 วินาที บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นเติม Supplement listeria enrichment 2.5 มิลลิลิตรนำไปบ่ม

ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วดูดสารละลายตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified listeria selective agar นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รายงานผลจำนวนเชื้อ *Listeria* spp. และ *L. monocytogenes* ว่าพบหรือไม่พบ สังเกตได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนเป็นสีดำ ซึ่งในอาหารมีสาร Ferric ammonium citrate หากตรวจพบ *Listeria* spp. และ *L. monocytogenes* อาหารจะเปลี่ยนสีเหลืองเป็นสีดำโดยอาศัยการตรวจจับการย่อย Esculin ลักษณะโคโลนีคือ กลม สีขาวขุ่น และเห็นสีดำเป็นโซนรอบ ๆ โคโลนี จากนั้นทดสอบการเกิด Decarboxylation ของ lysine ในอาหาร LIA (Lysine Iron Agar) ตามวิธีของการทดลองที่ 3.3.2

1.6) Coliforms และ *Escherichia coli* ตามวิธีการของ BAM (2001b) โดยนำสารละลายเจือจางของตัวอย่างในข้อที่ 1.1) ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 1 มิลลิลิตร LMX broth ระดับความเจือจางละ 3 หลอด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงสีของอาหารเลี้ยงเชื้อหากมีการปนเปื้อนเชื้อ Coliforms อาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีฟ้า จากนั้นนับจำนวนหลอดของแต่ละระดับความเจือจางแล้วเปิดตารางหาจำนวนจุลินทรีย์โดยเป็นหน่วย MPN/g จากนั้นทำการหา *E. coli* โดยนำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่เปลี่ยนเป็นสีฟ้าบันทึกค่าเป็นบวก นำไปส่องการเรืองแสงด้วยเครื่อง Gel documentation (UV light) หากมีการเรืองแสงให้บันทึกผลเป็นบวก และนำหลอดที่เรืองแสงไปทำการ streak ลงอาหาร EMB Agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำโคโลนีที่มีสีดำล้อมเงาสีเขียว (Metallic sheen) มาเขียนเชื้อ (Streak) บนอาหาร PCA เพื่อทดสอบ *E. coli* แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทดสอบด้วยวิธีทางชีวเคมี IMViC คือ

1.6.1) 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

1.6.2) การทดสอบ Methyl red และ Acetoin (MR-VP) โดยการถ่ายเชื้อจากอาหารใน Plate count agar slant ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MR-VP บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วแบ่งเป็น 2 ส่วนดังนี้

- สำหรับ MR ให้เติมสารละลาย Methyl red 5 หยด ลงในสารละลายเชื้อ โดยผลบวกจะเกิดสีแดงผลลบจะให้สีเหลือง

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

1.6.3) การทดสอบ Citrate ทำการถ่ายเชื้อจากอาหาร Plate count agar slant ใส่ลงในอาหาร Simmom's citrate agar “Stab” นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง รายงานการเจริญเป็นผลบวก ไม่เจริญผลเป็นลบ

2) การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีและกายภาพ

2.1) pH, Cooking yield, Purge loss, ค่าสี และ TPA

(ดังแสดงในการทดลองที่ 3.3.2)

2.2) การออกซิเดชันของไขมัน (TBARS) ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Chen *et al.* (2017) โดยกลุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ใส่กรอกจำนวน 5 กรัม ใส่ในหลอดเซนตริฟิวพลาสติก (Centrifuges tube) ขนาด 50 มิลลิลิตร ใส่สารละลาย 2.5% 2-Thiobarbituric acid 10 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ (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

3.3.3.2 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของข้อมูล โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS for windows version 17.0 (SPSS Inc.)

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์จาก *Bacillus subtilis* LB23

การทดลองย่อยที่ 1.1 การศึกษาคุณสมบัติการต้านการงอกสปอร์ *Clostridium sporogenes* ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์

ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration: MIC) และผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration: MBC) พบว่า ฤทธิ์ของสารสกัดเอกโซโพลีแซคคาไรด์ต่อการต้านสปอร์ *Clostridium sporogenes* มีค่า MIC ที่ความเข้มข้นของเอกโซโพลีแซคคาไรด์เท่ากับ 0.0625% สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ *C. sporogenes* ได้ และจากผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ นำมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) พบว่า สารสกัดเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.25% สามารถฆ่าสปอร์ของ *C. sporogenes* (ตารางที่ 4.1) จากการศึกษาของ Liu *et al.* (2017) รายงานการใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์ในการยับยั้งเชื้อ *Clostridium saccharoperbutylaceticum* พบว่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์สามารถลดจำนวนของเชื้อได้โดยการลดความสามารถของเซลล์จุลินทรีย์ในการขนส่งสารเข้าออกภายในเซลล์ เช่น กลูโคส และมีความสามารถในการลดประสิทธิภาพการหมักของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติก

ไนไตรท์เป็นสารกันเสีย นิยมนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อแปรรูป เช่น ไส้กรอก แฮม เบคอน เป็นต้น โดยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสียและช่วยยับยั้งการเจริญของ *Clostridium botulinum* และ *Clostridium perfringens* ที่สามารถสร้างสารพิษโบทูลินัมที่ออกซิเจนที่มีฤทธิ์รุนแรงถึงขั้นทำให้เสียชีวิตได้ โดยการศึกษาพบว่าแบคทีเรีย *C. sporogenes* มาทดลองเนื่องจากไม่มีความเป็นพิษ ซึ่งแตกต่างจาก *C. botulinum* ที่สามารถผลิตสารพิษ neurotoxins botulinum อย่างไรก็ตามไนไตรท์สามารถทำปฏิกิริยากับเอมีนในอาหารกลายเป็นสารก่อมะเร็ง ซึ่งทำให้เกิดมะเร็งตับ กระเพาะอาหาร และหลอดอาหาร ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาฤทธิ์การต้านการงอกสปอร์ *C. sporogenes* ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์เพื่อนำผลการศึกษาไปประยุกต์ใช้ในการทดลองลดปริมาณสารไนไตรท์ต่อไป

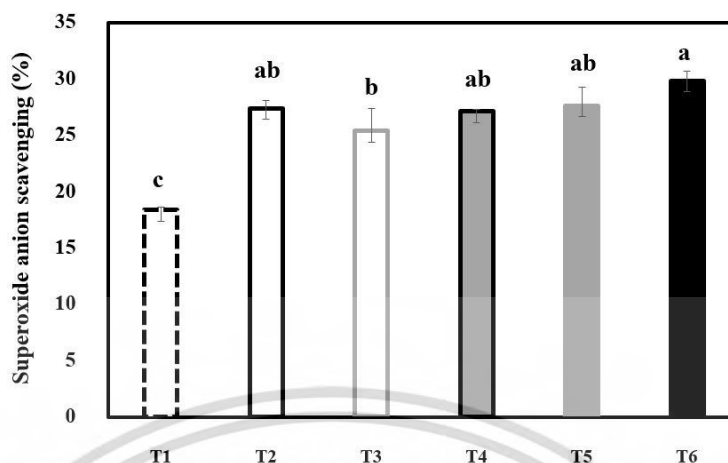
ตารางที่ 4.1 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อและความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *C. sporogenes*

จุลินทรีย์	EPS	
	MIC	MBC
<i>C. sporogenes</i>	1/16 MIC	1/4 MBC

การทดลองย่อยที่ 1.2 ทดสอบคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์จากสารสกัดไส้กรอก โดยแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 6 กลุ่มทดลอง ได้แก่ กลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มโซเดียมซิติเรต 2% (T2), กลุ่มเอกโซโพลีแซคคาไรด์ LB23 ความเข้มข้น 0.18 (T3), 0.25 (T4), 0.31 (T5) และ 0.37% (T6)

1) การต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical-scavenging activity) ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ในไส้กรอกไก่ พบว่า กลุ่มทดลอง T6 (EPS 0.37%) สามารถต้านการเกิดออกซิเดชันได้ดีที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 29.85 ± 0.87 รองลงมาคือ กลุ่มทดลอง T5 (EPS 0.31%), T2 (Positive Control, BHA), T4 (EPS 0.25%), T3 (EPS 0.18%) และ T1 (Control) มีค่าเท่ากับ 27.63 ± 1.64 , 27.41 ± 0.7 , 27.14 ± 0.17 , 25.38 ± 2.03 และ 18.40 ± 0.24 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.3) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง อนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\cdot-}$) เป็นอนุมูลเริ่มแรกที่เกิดขึ้นในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและเป็นตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นๆอีกมากมายจากการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ นอกจากนี้จะทำให้อนุมูลอิสระมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นแล้ว ฤทธิ์และความแรงของอนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาลูกโซ่เป็นอันตรายสูงชันด้วย (Kaul *et al.* 1979) ซึ่งรายงานของ Fang *et al.* (2010) พบว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์จากเชื้อสายพันธุ์ *Bacillus licheniformis* OSTK95 เป็นแบคทีเรียในทะเลที่แยกได้จากตัวอย่างโคลนทะเลที่เก็บมาจากสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนของน้ำ ซึ่งตั้งอยู่ใน Lianyungang ประเทศจีน เมื่อนำมาทดสอบ พบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ได้แก่ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์, ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลและความสามารถในการรีดิวซ์สาร (Reducing power) ในหลอดทดลอง และในการศึกษาของ Muhammad *et al.* (2018) ได้ทำการทดสอบกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ โดยเปรียบเทียบกับกรดแอสคอร์บิกซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน พบว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร สามารถกำจัดอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์และกำจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชได้ถึง 70.3% และ 78.7% ตามลำดับ ทั้งนี้เกิดจากเอกโซโพลีแซคคาไรด์ให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\cdot-}$) ที่โมเลกุลมีอิเล็กตรอนเดี่ยวเพียงตัวเดียว (Singlet Oxygen) กลายเป็น โมเลกุลออกซิเจนปกติ (O_2) (Fang *et al.* 2013)

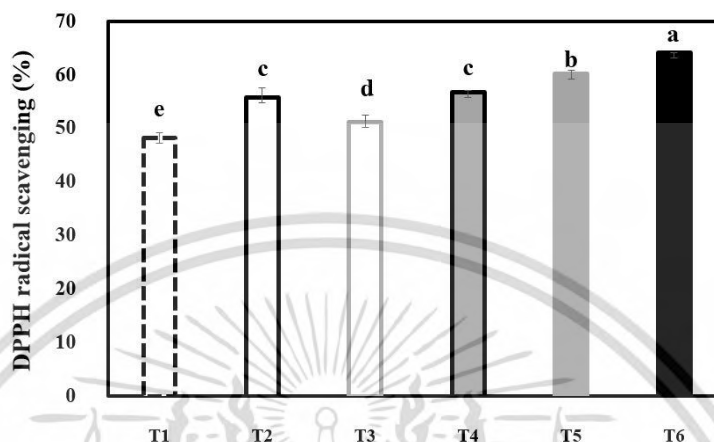
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 การต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมบีเอชเอ 0.01% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6)

2) การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical-scavenging activity) ผลการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอชในไส้กรอกไก่ พบว่า กลุ่มทดลองเอกโซโพลีแซคคาไรด์ทุกความเข้มข้นสามารถต้านการเกิดออกซิเดชันได้มากกว่ากลุ่มทดลองควบคุม ซึ่งกลุ่มทดลอง T6 (EPS 0.37%) สามารถต้านการเกิดออกซิเดชันได้ดีที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 64.18 ± 0.01 รองลงมาคือ กลุ่มทดลอง T5 (EPS 0.31%), T4 (EPS 0.25%), T2 (Positive Control, BHA), T3 (EPS 0.18%) และ T1 (Control) มีค่าเท่ากับ 60.20 ± 0.7 , 56.76 ± 0.42 , 55.82 ± 1.84 , 51.26 ± 1.32 และ 48.26 ± 0.95 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.2) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง จากรายงานของ Trabelsi *et al.* (2017) มีการทดสอบกิจกรรมการกำจัดสารอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันในหลอดทดลองและเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระบีเอชเอ ที่สังเคราะห์ขึ้น พบว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์มีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชได้ดีและมีค่ามากถึง 95.76% ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร แต่มีค่าการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชน้อยกว่าบีเอชเอ อย่างไรก็ตามสามารถบ่งบอกได้ถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชที่ดีของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเอกโซโพลีแซคคาไรด์เกิดจากการทำให้อนุมูลอิสระเกิดความเสถียร โดยการถ่ายโอนอะตอมของไฮโดรเจนหรือโดยการให้อิเล็กตรอน จากการศึกษาเชื่อว่าผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ต่อการกำจัดสารอนุมูลอิสระดีพีพีเอชเป็นผลมาจากความสามารถในการให้ไฮโดรเจน และการศึกษาของ Chen *et al.* (2008) รายงานว่าหมู่ไฮดรอกซิลของโมโนแซ็กคาไรด์

สามารถทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนเพื่อจับกับอนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระเกิดความเสถียรจึงหยุดปฏิกิริยาห่วงโซ่การเกิดอนุมูลอิสระ



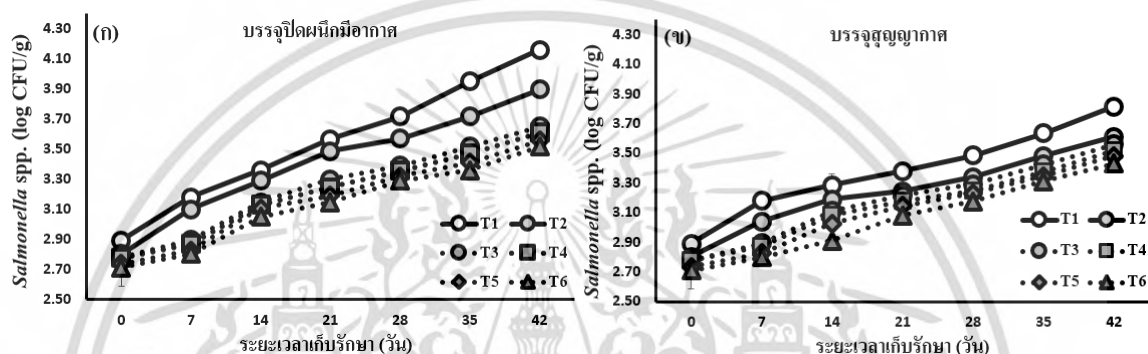
ภาพที่ 4.2 การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชในตัวอย่างกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมบีเอชเอ 0.01% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6)

4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกในระหว่างการเก็บรักษา

ทดสอบการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่เติมและไม่เติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ โดยแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 6 กลุ่มทดลอง ได้แก่ ไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ LB23 ความเข้มข้น 0.18 (T3), 0.25 (T4), 0.31 (T5) และ 0.37% (T6) บรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศ เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 42 วัน โดยสุ่มตรวจวิเคราะห์ทุก 7 วัน (0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42)

1) การต้านแบคทีเรียของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในไส้กรอกไก่ที่เติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ จากการศึกษากิจกรรมการต้านแบคทีเรียก่อโรคของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก ได้แก่ เชื้อ *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, *L. plantarum* และ *L. lactis* พบว่า กลุ่มทดลองที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ลงในผลิตภัณฑ์สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้มากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต การเจริญของเชื้อ *Salmonella* spp. โดยกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.37% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้มากที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 42 วัน ทั้งในบรรจุภัณฑ์แบบปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศ (ภาพที่ 4.3ก และ 4.3ข) และมีระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของแบคทีเรียมากที่สุด ($P < 0.05$) มีค่า 0.12 ± 0.1 ชั่วโมง (ตารางที่ 4.2) ในด้านบรรจุภัณฑ์ไม่มีความแตกต่าง

กันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Li *et al.* (2014) ที่รายงานว่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *Bifidobacterium bifidum* WBIN03 และ *L. plantarum* R315 มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *L. monocytogenes*, *S. typhimurium*, *S. aureus* เนื่องจากเอกโซโพลีแซคคาไรด์ทำลายผนังเซลล์, เยื่อหุ้มไซโทพลาสซึมและย่อยสลาย DNA ทำให้การแบ่งเซลล์ของจุลินทรีย์ลดลงและการศึกษาของ Muhammad *et al.* (2018) รายงานว่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก *L. rhamnosus* ที่แยกได้จากนมแม่ของมนุษย์มีฤทธิ์ในการต่อต้านแบคทีเรียก่อโรค *S. typhimurium* และ *E. coli* ในหลอดทดลอง

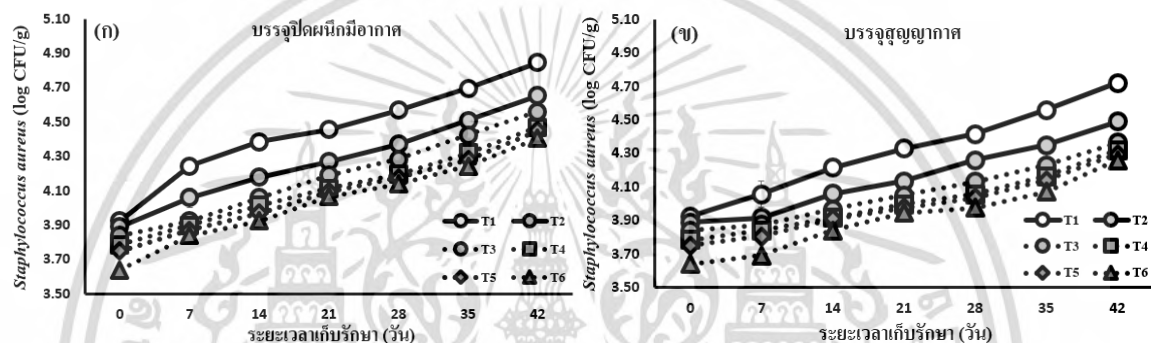


ภาพที่ 4.3 การเจริญของ *Salmonella* spp. ในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก) และสุญญากาศ (ข)

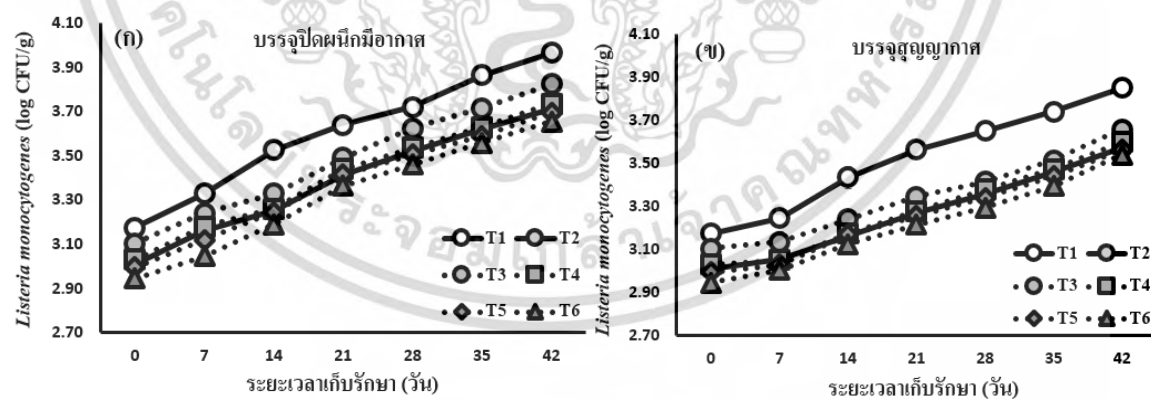
นอกจากนี้การศึกษานี้ยังพบว่ากลุ่มทดลองที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.37% มีปริมาณของเชื้อ *S. aureus*, *L. monocytogenes* และแบคทีเรียกรดแลคติก น้อยที่สุดตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาทั้งในบรรจุภัณฑ์แบบปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศ (ภาพที่ 4.4, 4.5 และ 4.6) ในด้านบรรจุภัณฑ์มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และมีระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของแบคทีเรียมากที่สุด ($P<0.05$) มีค่า 0.08 ± 0.1 ชั่วโมง (ตารางที่ 4.2) ไม่มีความแตกต่างในด้านบรรจุภัณฑ์ ($P>0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Nehal *et al.* (2019) ที่ทดสอบการต้านเชื้อ *S. aureus* ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ พบว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยให้ประสิทธิภาพใกล้เคียงกับไนซินที่เป็นสารต้านจุลินทรีย์ทางการค้าที่ผลิตจากแบคทีเรีย สำหรับเชื้อ *L. monocytogenes* ในด้านบรรจุภัณฑ์มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และมีระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของแบคทีเรียมากที่สุด ($P<0.05$) มีค่า 0.1 ± 0.1 ชั่วโมง (ตารางที่ 4.2) ไม่มีความแตกต่างในด้านบรรจุภัณฑ์ ($P>0.05$) และแบคทีเรียกรดแลคติกมีระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของแบคทีเรียมากที่สุด ($P<0.05$) มีค่า 0.27 ± 0.01 ชั่วโมง (ตารางที่ 4.2) ในด้านบรรจุภัณฑ์มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งการศึกษาของ Wu *et al.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2010) รายงานว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์จากแบคทีเรีย *Bifidobacterium longum* มีความสามารถในการขัดขวางการแบ่งตัวของเซลล์แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคและการศึกษาของ Xing *et al.* (2009) รายงานว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Streptomyces virginia* มีความสามารถในการทำลายผนังเซลล์และเยื่อหุ้มไซโทพลาสซึมของ *S. aureus* ซึ่งนำไปสู่การละลายของโปรตีนและการรั่วไหลของโมเลกุลที่จำเป็น ส่งผลให้เซลล์ตาย ยิ่งไปกว่านั้น DNA อาจถูกย่อยสลายเป็นชิ้นเล็ก ๆ หลังจากที่โพลีแซคคาไรด์เข้าสู่เซลล์ และอาจส่งผลให้เซลล์ของแบคทีเรียไม่สามารถพัฒนาความสามารถในการต้านทานได้

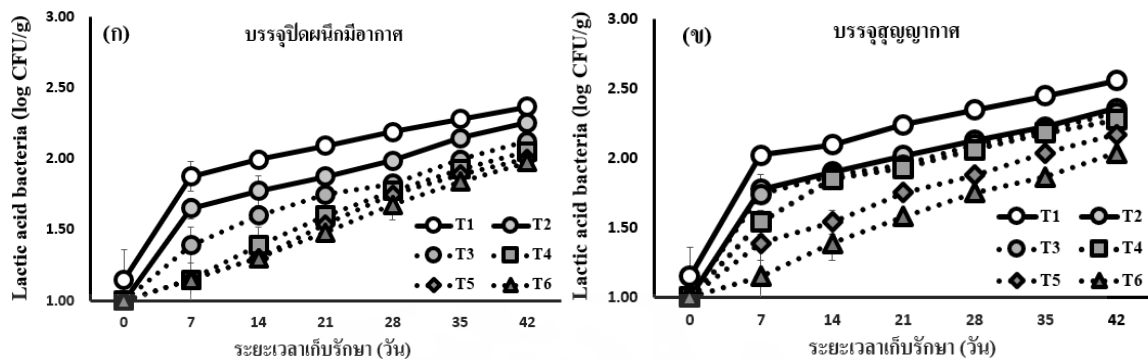


ภาพที่ 4.4 การเจริญของ *S. aureus* ในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมไซเดียมซิเตรต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก) และสุญญากาศ (ข)



ภาพที่ 4.5 การเจริญของ *L. monocytogenes* ในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมไซเดียมซิเตรต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก) และสุญญากาศ (ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 การเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6) ในบรรจุภัณฑ์ปิดหมักมีอากาศ (ก) และสุกญูญากาศ (ข)

ตารางที่ 4.2 เวลาหนึ่งชั่วโมงของจุลินทรีย์ก่อโรคที่เติมลงในไส้กรอกไก่

บรรจุภัณฑ์	สูตรไส้กรอก*						SEM	P-value
	T1	T2	T3	T4	T5	T6		
ปิดผนึกแบบมีอากาศ								
<i>Salmonella</i> spp.	0.10 ^b	0.10 ^b	0.11 ^a	0.11 ^a	0.11 ^a	0.11 ^a	0.004	0.126
<i>S. aureus</i>	0.07 ^b	0.08 ^a	0.08 ^a	0.08 ^a	0.08 ^a	0.08 ^a	0.002	0.055
<i>L. monocytogenes</i>	0.09 ^b	0.10 ^a	0.10 ^a	0.10 ^a	0.10 ^a	0.10 ^a	0.002	0.055
LAB	0.16 ^b	0.19 ^{ab}	0.22 ^{ab}	0.27 ^a	0.27 ^a	0.27 ^a	0.026	0.095
สุกญูญากาศ								
<i>Salmonella</i> spp.	0.10 ^b	0.10 ^b	0.11 ^a	0.11 ^a	0.11 ^a	0.11 ^a	0.004	0.126
<i>S. aureus</i>	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.002	0.489
<i>L. monocytogenes</i>	0.09 ^b	0.10 ^a	0.10 ^a	0.10 ^a	0.10 ^a	0.10 ^a	0.002	0.055
LAB	0.15 ^c	0.17 ^{bc}	0.18 ^{bc}	0.20 ^{bc}	0.22 ^{ab}	0.27 ^a	0.016	0.023

*T1 = ไส้กรอกควบคุม, T2 = ไส้กรอกที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5%, T3 = ไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.18%, T4 = ไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25%, T5 = ไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.31% และ T6 = ไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.37%

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

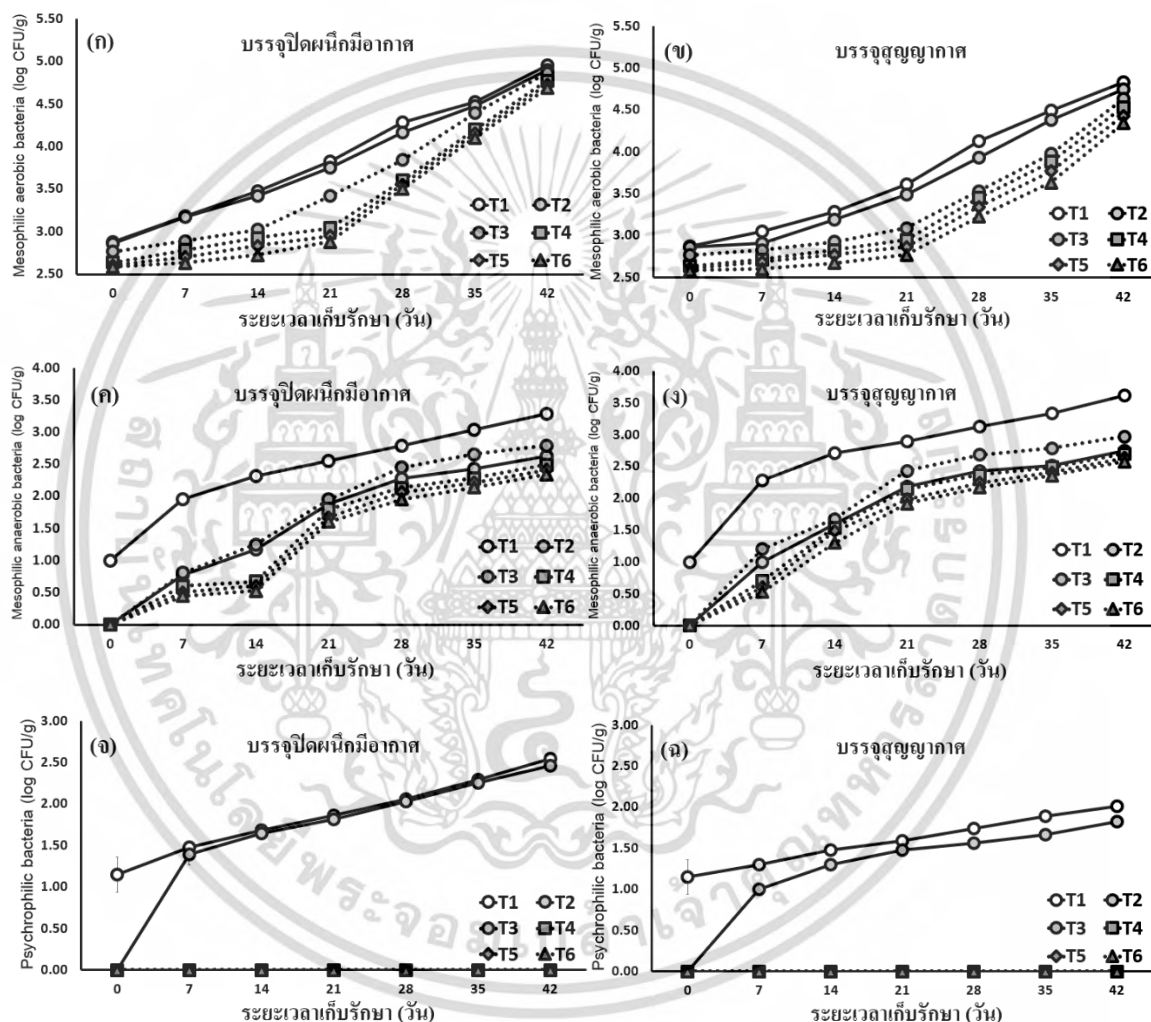
2) การดำนแบบที่เรียของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในไส้กรอกไก่ที่ไม่เติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์

2.1) คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์

จากการศึกษาด้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ไม่เติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ พบว่า ไส้กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ LB23 สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้มากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติมสารด้านจุลินทรีย์สังเคราะห์ โดยเมื่อเริ่มการเก็บรักษามีจำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางทั้งที่ใช้อากาศและไม่ใช้อากาศอยู่ในช่วง 2-3 log CFU/g และเมื่อสิ้นสุดอายุการเก็บรักษานาน 42 วัน ไส้กรอกกลุ่ม T4, T5 และ T6 มีจำนวนจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกันและมีค่าน้อยที่สุด ($P>0.05$) รองลงมาคือไส้กรอกกลุ่ม T3, T2 และ T1 ตามลำดับ ($P<0.05$) แต่อย่างไรก็ตามไส้กรอกกลุ่ม T4-T6 สามารถควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางที่ใช้อากาศได้นานถึง 21 วัน ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศ (ภาพที่ 4.7ก และ 4.7ข) และควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางที่ไม่ใช้อากาศได้นานถึง 14 และ 7 วัน ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศตามลำดับ (ภาพที่ 4.7ค และ 4.7ง) จากการศึกษาของ Li *et al.* (2014) พบว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์มีกลไกทำให้การแบ่งเซลล์ของจุลินทรีย์ลดลง, รบกวนผนังเซลล์และเชื้อหุ้มไซโทพลาสซึมและย่อยสลาย DNA ทำให้นำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุดและการศึกษาของ Miller *et al.* (1993) รายงานคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของโซเดียมซิเตรต โดยโซเดียมซิเตรตจะทำการจับไอออนของโลหะภายในเนื้อที่จุลินทรีย์จะนำไปใช้ในการเจริญ ซึ่งจะทำให้จุลินทรีย์มีอาหารไม่เพียงพอต่อการเจริญและตายในที่สุด นอกจากนี้การศึกษาของ Özpolat *et al.* (2014) ได้ศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์ต่ออายุการเก็บรักษาไส้กรอกปลา พบว่า บรรจุภัณฑ์มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ โดยจำนวน Total Plate Counts ของไส้กรอกปลาที่เก็บรักษานาน 56 วัน มีค่าเท่ากับ 6.86 ± 0.5 และ 6.58 ± 0.2 log cfu/g ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศตามลำดับ

ไส้กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ LB23 ไม่พบจำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 42 วัน ในขณะที่ไส้กรอกกลุ่ม T2 พบจำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำแต่น้อยกว่าไส้กรอกกลุ่ม T1 โดยเมื่อเริ่มการเก็บรักษามีจำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำอยู่ในช่วง 0-1 log CFU/g และเมื่อสิ้นสุดอายุการเก็บรักษานาน 42 วัน มีจำนวนเชื้อจะเพิ่มขึ้นมากกว่า 2 log CFU/g (ภาพที่ 4.7จ และ 4.7ฉ) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Casillo *et al.* (2017) รายงานว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์มีกลไกการป้องกันความเย็นที่ทำให้จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำเจริญและผลการศึกษาของ Özpolat *et al.* (2014) รายงานว่าพบจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศมากกว่าบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ มีค่าเท่ากับ 7.56 ± 0.54 และ 7.42 ± 0.25 log cfu/g ตามลำดับ อีกทั้งการศึกษาคั้งนี้ยังพบว่าไส้กรอกทุกกลุ่มไม่พบจำนวนจุลินทรีย์

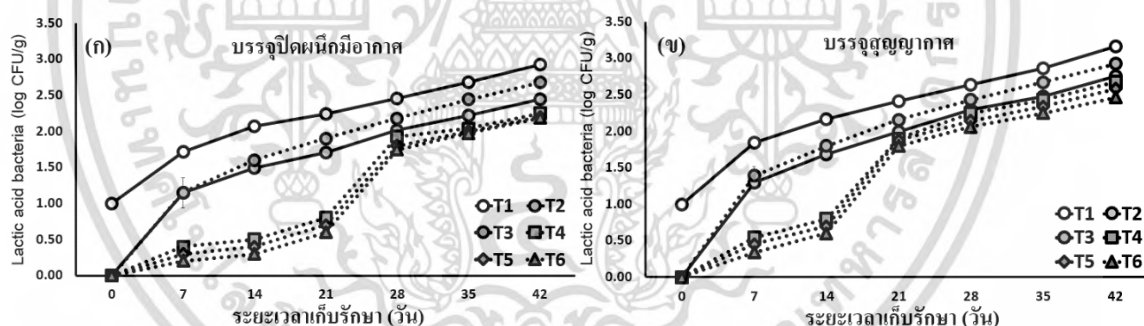
ที่ชอบอุณหภูมิสูงและสปอร์แบคทีเรียที่เรียกลดระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งการศึกษาของ Xing *et al.* (2009) ทดสอบความสามารถของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Streptomyces virginia* ในการต้านเชื้อ *S. aureus* โดยนำเอกโซโพลีแซคคาไรด์ไปต้มที่อุณหภูมิ 30, 60, 70, 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียสก่อนนำไปทดสอบ พบว่า ประสิทธิภาพการต้านเชื้อ *S. aureus* ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่อุณหภูมิต่างๆไม่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพที่คงตัวเมื่ออยู่ในอุณหภูมิที่สูง



ภาพที่ 4.7 จำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางใช้อากาศ (ก และ ข), จำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางไม่ใช้อากาศ (ค และ ง) และจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ (จ และ ฉ) ในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม โซเดียมซิเตรต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก, ค และ จ) และสุญญากาศ (ข, ง และ ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาการต้านแบคทีเรียกรดแลกติกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่ (ภาพที่ 4.8) แสดงให้เห็นว่าไส้กรอกกลุ่ม T4, T5 และ T6 มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกน้อยที่สุด รองลงมาคือไส้กรอกกลุ่ม T2, T3 และ T1 ตามลำดับ ($P < 0.05$) ซึ่งในระหว่างการเก็บรักษาไส้กรอกกลุ่ม T2 ที่เติมโซเดียมซิเตรตเป็นสารต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์สามารถลดจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกก่อนการเก็บรักษาแต่ไม่สามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติก ในขณะที่ไส้กรอกกลุ่ม T4, T5 และ T6 สามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติกได้นานถึง 21 และ 14 วัน ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดอายุการเก็บรักษาที่ 42 วัน มีจำนวนเชื้อจะเพิ่มขึ้นมากกว่า $2 \log \text{cfu/g}$ อาจเนื่องมาจาก เอกโซโพลีแซคคาไรด์สามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าทำลายการลำเลียงสารอาหารและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Seyedeh and Dehghannya, 2020) โดยการศึกษาของ Özpolat *et al.* (2014) พบว่า ไส้กรอกที่เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกน้อยกว่าไส้กรอกที่เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.38 ± 0.17 และ $6.58 \pm 0.2 \log \text{cfu/g}$ ตามลำดับ Korkeala *et al.* (1990) รายงานว่า แบคทีเรียกรดแลกติกมีส่วนสำคัญในการเน่าเสียของไส้กรอกที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ และ Özpolat *et al.* (2014) รายงานว่าจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกที่ยอมรับได้ต้องมีค่าไม่เกิน $6 \log \text{cfu/g}$ ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก

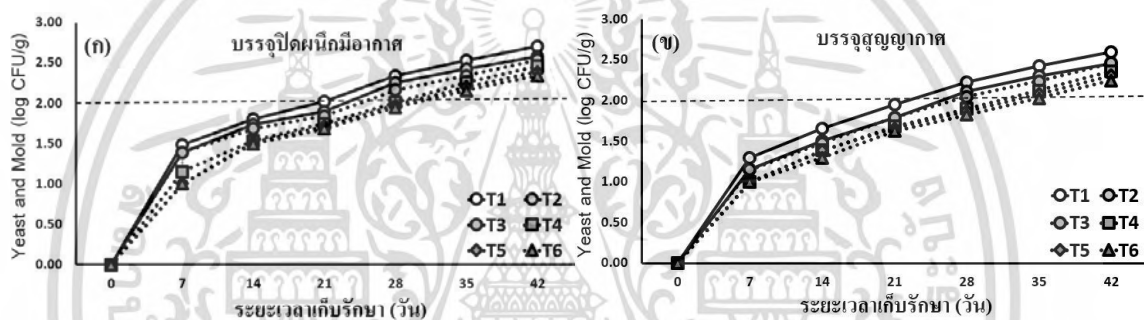


ภาพที่ 4.8 จำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก) และสุญญากาศ (ข)

การศึกษาการต้านยีสต์และราในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่ (ภาพที่ 4.9) แสดงให้เห็นว่าไส้กรอกกลุ่ม T4, T5 และ T6 มีจำนวนยีสต์และราน้อยกว่ากลุ่ม T1, T2 และ T3 ($P < 0.05$) ซึ่งข้อกำหนดด้านจุลินทรีย์ของไส้กรอกไก่ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2555) ระบุว่ายีสต์และราต้องน้อยกว่า 100CFU/g โดยไส้กรอกกลุ่ม T1, T2 และ T3 มีจำนวนยีสต์และรามากกว่า $2 \log \text{CFU/g}$ เมื่อทำการเก็บรักษานาน 21 และ 28 วันในบรรจุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศตามลำดับ ในขณะที่ไส้กรอกกลุ่ม T4, T5 และ T6 มีจำนวนยีสต์และรามากกว่า $2 \log \text{CFU/g}$ เมื่อทำการเก็บรักษานาน 35 วัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sahar *et al.* (2018) ที่ทดสอบการต้านจุลินทรีย์ของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ พบว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์มีกลไกยับยั้งยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae* และ *C. albican*) และ รา (*Aspergillus niger* และ *Fusarium oxysporum*) โดยการขัดขวางการลำเลียงสารอาหารที่จำเป็นในการเจริญของจุลินทรีย์ และจากการศึกษาของ Özpolat *et al.* (2014) พบจำนวนยีสต์และราในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่บรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศมากกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศเมื่อเก็บรักษานาน 56 วัน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.56 และ $2.22 \pm 0.2 \log \text{cfu/g}$ ตามลำดับ Sachindra *et al.* (2005) รายงานว่า การบรรจุสุญญากาศแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของยีสต์และราในระหว่างการเก็บรักษา



ภาพที่ 4.9 จำนวนยีสต์และราในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก) และสุญญากาศ (ข)

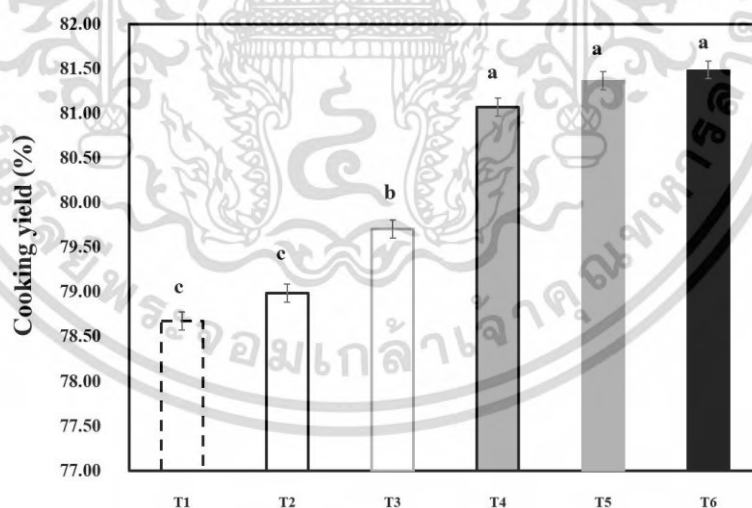
2.2) คุณภาพทางด้วยเคมี-กายภาพ

1. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) แสดงในภาคผนวก ก พบว่า ไส้กรอกกลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรตมีค่าความเป็นกรด-ด่างมากที่สุดเท่ากับ 6.44 โดยไส้กรอกกลุ่มอื่นมีค่าใกล้เคียงกันเท่ากับ 6.34 ($P < 0.05$) เมื่อระยะเวลาเก็บรักษามากขึ้น ค่าความเป็นกรด-ด่างจะลดลง ($P < 0.05$) ไส้กรอกสูตรที่เติมโซเดียมซิเตรตมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่าไส้กรอกสูตรอื่นๆเนื่องจากโซเดียมซิเตรตสามารถช่วยควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยโซเดียมซิเตรตจะทำให้เกิดระบบบัฟเฟอร์ที่ช่วยควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสัตว์ (Blaszyk and Holley, 1998) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Özer *et al.* (2014) รายงานว่าในระหว่างการเก็บรักษาค่าความเป็นกรด-ด่างของไส้กรอกลดลง เนื่องจากมีแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกเพิ่มจำนวนขึ้นจากการหมักน้ำตาลเกิดเป็นกรดแลคติกขึ้น ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการเก็บรักษาของไส้กรอกลดลงจาก 6.41 ± 0.02 เป็น 5.90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

± 0.15 และ 5.89 ± 0.12 ที่เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศนาน 56 วัน ตามลำดับ ($P > 0.05$)

2. ปริมาณผลผลิตหลังการปรุงสุก (Cooking yield) แสดงในภาพที่ 4.10 พบว่า ใ้กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.25, 0.31 และ 0.37% มีปริมาณผลผลิตหลังการปรุงสุกมากที่สุด ($P < 0.05$) เท่ากับ 81.49, 81.37 และ 81.07% ตามลำดับ รองลงมา คือ ใ้กรอกกลุ่ม T3 (EPS 0.18%), T2 (Sodium citrate) และ T1 (Control) มีค่าเท่ากับ 79.71, 78.99 และ 78.68% ตามลำดับ การสูญเสียน้ำหนักหลังการปรุงสุก คือ การรวมกันของของเหลวและสารที่ละลายน้ำได้ที่สูญเสียไประหว่างการปรุงสุก (Aaslyng *et al.* 2003) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Lobo *et al.* (2019) รายงานว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์มีความสามารถในการกักเก็บน้ำและน้ำมัน ได้ดีและยังมีความสามารถในการละลายน้ำสูงและความสามารถในการอุ้มน้ำ ซึ่งมีลักษณะที่ดีในการนำมาใช้เป็นสารทำให้คงตัวและการศึกษาของ Bhat and Bajaj. (2018) รายงานว่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Enterococcus faecium* มีศักยภาพในการช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวและทำให้ผลิตภัณฑ์มีเสถียรภาพจากกระบวนการทางความร้อน นอกจากนี้การศึกษาของ Xing *et al.* (2009) รายงานว่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Streptomyces virginia* มีความเสถียรต่อความร้อนและไม่เป็นพิษ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุเจือปนในอาหารได้



ภาพที่ 4.10 ปริมาณผลผลิตของใ้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T2), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.18% (T3), 0.25% (T4), 0.31% (T5) และ 0.37% (T6)

3. การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (Purge loss) แสดงในภาคผนวก ก พบว่า ไม้ไผ่กรอกกลุ่มควบคุมมีค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษามากที่สุดเท่ากับ 2.98% รองลงมา คือ ไม้ไผ่กรอกกลุ่ม T2 (BHA), T3 (EPS 0.18%), T4 (EPS 0.25%), T5 (EPS 0.31%) และ T6 (EPS 0.37%) มีค่าเท่ากับ 2.96%, 2.83%, 2.76%, 2.73% และ 2.70% ตามลำดับ ($P < 0.05$) เมื่อระยะเวลาเก็บรักษามากขึ้น ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาจะเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) อาจเป็นผลมาจากการเจริญของ จุลินทรีย์ทำให้เกิดการสลายของโปรตีนและการเสียหายของโครงสร้างโปรตีนในผลิตภัณฑ์ ทำให้น้ำ ภายในเซลล์แพร่ออกมา มีผลทำให้ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ การศึกษาของ Holman *et al.* (2018) ที่รายงานว่าค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น นอกจากนี้อาจเป็นผลมาจากค่าความเป็น กรด-ด่างที่ลดลง ทำให้ช่องว่างระหว่างเซลล์กักเก็บน้ำไว้ไม่ได้ และตัวอย่างครั้งนี้มีการผ่านความร้อน ก่อนการเก็บแช่เย็นมีผลทำให้โปรตีนเสียหาย โครงสร้างกล้ามเนื้อจึงไม่สามารถอุ้มน้ำได้ น้ำจึงแพร่ ออกมาจากผลิตภัณฑ์ จากการศึกษาของ Sharma *et al.* (2020) ทดสอบความสามารถในการอุ้มน้ำของ เอกโซโพลีแซคคาไรด์จากเชื้อ *Lactobacillus paraplantarum* พบว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์มี ความสามารถในการอุ้มน้ำและละลายน้ำได้ดี เนื่องจากโครงสร้างภายในโพลีเมอร์สามารถดูดซับน้ำ และกักเก็บน้ำได้เป็นจำนวนมากด้วยพันธะไฮโดรเจน ซึ่งการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาที่สูงขึ้น อาจเชื่อมโยงกับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลง เนื่องจากความสามารถในการอุ้มน้ำลดลงและยังมีค่า ความเป็นกรด-ด่างใกล้เคียงกับจุดไอโซอิเล็กทริก (Isoelectric) ของโปรตีนเนื้อสัตว์ (ค่าความเป็นกรด- ด่าง 5.10) จะส่งผลให้สูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น

โดยปกติเนื้ออกไก่มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 5.8-6.0 (Ziobar *et al.* 2010) แต่ เมื่อมีการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์และ โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (ความเข้มข้น 1% มีค่าความเป็นกรด- ด่างอยู่ที่ 9.8) ส่งผลให้ระบบบัลลันเนื้อสัตว์มีค่าความเป็นด่างเพิ่มขึ้นจนห่างจากค่าจุดไอโซอิเล็กทริก ของเนื้อสัตว์ (pI 4.8-5.5) ทำให้เกิดการแรงผลักเนื่องจากประจุลบช่วยในการแยกตัวกันของแอคโตไม โอซินทำให้โครงสร้างภายในเกิดการพองตัวสามารถกักเก็บน้ำได้มากขึ้น นอกจากนี้การจับกับประจุ บวกของแคลเซียมทำให้โปรตีนแอคติน และไมโอซินเกิดการแยกตัวออกจากกัน ส่งผลให้การสกัด ละลายโปรตีนดียิ่งขึ้น (Knipe. 1992)

4. ค่าสี (CIE L*, a*, b*, Hue angle และ Chroma) แสดงในภาคผนวก ก พบว่า ไม้ ไผ่กรอกทุกกลุ่มมีค่าความสว่าง, ค่าสีแดง, ค่าสีเหลือง, ค่าองศาของสี และค่าความสดใส ไม่มีความแตกต่าง กันทางสถิติ ($P > 0.05$) ในด้านระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่า วันที่ 0 มีค่าความสว่างสูงที่สุด เมื่อ ระยะเวลาเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าความสว่างลดลง ($P > 0.05$) ซึ่งค่าความสว่างมีค่าตรงกันข้ามกับ

ค่าสีเหลือง โดยเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน และเมื่อเก็บรักษาถึงวันที่ 42 มีค่าสีเหลืองและสีแดงมากที่สุด ($P>0.05$) สำหรับค่าองศาของสี พบว่า เมื่อเก็บรักษาถึงวันที่ 14, 21 และ 35 มีค่ามากที่สุด ($P>0.05$) และค่าความสดใสของสีจะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเก็บรักษามากขึ้น ($P<0.05$) ซึ่งการบรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศจะมีค่าความสว่าง, ค่าสีแดง, ค่าสีเหลือง, ค่าองศาของสี และค่าความสดใสมากกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Pogorzelska-Nowick *et al.* (2018) ที่รายงานว่าค่าความสว่างเพิ่มขึ้นเนื่องจากโครงสร้างของเซลล์เกิดความเสียหายทำให้น้ำออกจากเซลล์ส่งผลให้สีของเนื้อสว่างขึ้น เป็นผลมาจากการสะท้อนและการกระเจิงของแสง นอกจากนี้ Akesowan (2008) รายงานว่าการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจากแสงและออกซิเจนในผลิตภัณฑ์ ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีสีน้ำตาล (ค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้น) เนื่องจากแสงทำให้น้ำในไตรกลีเซอไรด์ที่จับกับฮีโมโกลบินเกิดการแยกจากกันส่งผลให้เกิดการออกซิไดซ์จากออกซิเจน ส่วนค่าความสดใสของสีจะสอดคล้องกับค่าสีแดงและค่าสีเหลือง กล่าวคือเมื่อค่าสีแดงและค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้นค่าความสดใสของสีจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่ออายุการเก็บรักษามากขึ้นความสดใสของผลิตภัณฑ์จะเพิ่มขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีเข้มมากขึ้น (del Pulgar *et al.* 2012) และการศึกษาของ Lee and Yoon (2001) รายงานว่าค่าองศาของสีที่สูงขึ้นบ่งบอกถึงการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อสัตว์เนื่องจากจากปฏิกิริยารีดักชันภายในกล้ามเนื้อ

5. คุณภาพด้านเนื้อสัมผัสโดยรวม (Texture Profile Analysis, TPA) แสดงในภาคผนวก ก พบว่า ไส้กรอกทุกกลุ่มมีค่าความแข็ง, ค่าการเกาะตัว, ค่าความเหนียว, ค่าความยืดหยุ่น และค่าการเคี้ยว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อระยะเวลาเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่า ค่าความแข็ง, ค่าความเหนียว และค่าการเคี้ยว มีสูงขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ($P<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Andres *et al.* (2006) ที่รายงานว่าค่าความแข็ง, ค่าความเหนียว และค่าการเคี้ยวของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษามีสาเหตุมาจากไส้กรอกเกิดการสูญเสียไอน้ำในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้การศึกษาของ Akoğlu *et al.* (2018) รายงานว่าในระหว่างการเก็บรักษาการย่อยสลายโปรตีนเป็นสาเหตุให้ผลิตภัณฑ์นุ่มขึ้นอันเนื่องมาจากกิจกรรมทางเคมีและเอนไซม์ ถึงแม้ว่าการให้ความร้อนจะหยุดการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสในกล้ามเนื้อ แต่กิจกรรมโปรติเอสที่เหลือยังคงดำเนินต่อไปในผลิตภัณฑ์ระหว่างการแช่เย็น

จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์ LB23 ที่ความเข้มข้น 0.37% มีศักยภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่ได้ดีที่สุด แต่การใช้เอกโซโพลีแซค

คาร์โบไฮเดรตที่ความเข้มข้น 0.25% ให้ผลการต้านจุลินทรีย์ได้ดีไม่แตกต่างกับความเข้มข้น 0.37% และคุณภาพทางด้านเคมีกายภาพมีผลใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงเลือกใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0.25% ในการทดลองต่อไป

4.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาการใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์ทดแทนไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่

ทดสอบการต้านจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก โดยแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 8 กลุ่มทดลอง ได้แก่ ไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และโซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8) บรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศ เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 63 วัน โดยสุ่มตรวจวิเคราะห์ทุก 7 วัน (0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 และ 63)

3.1) คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์

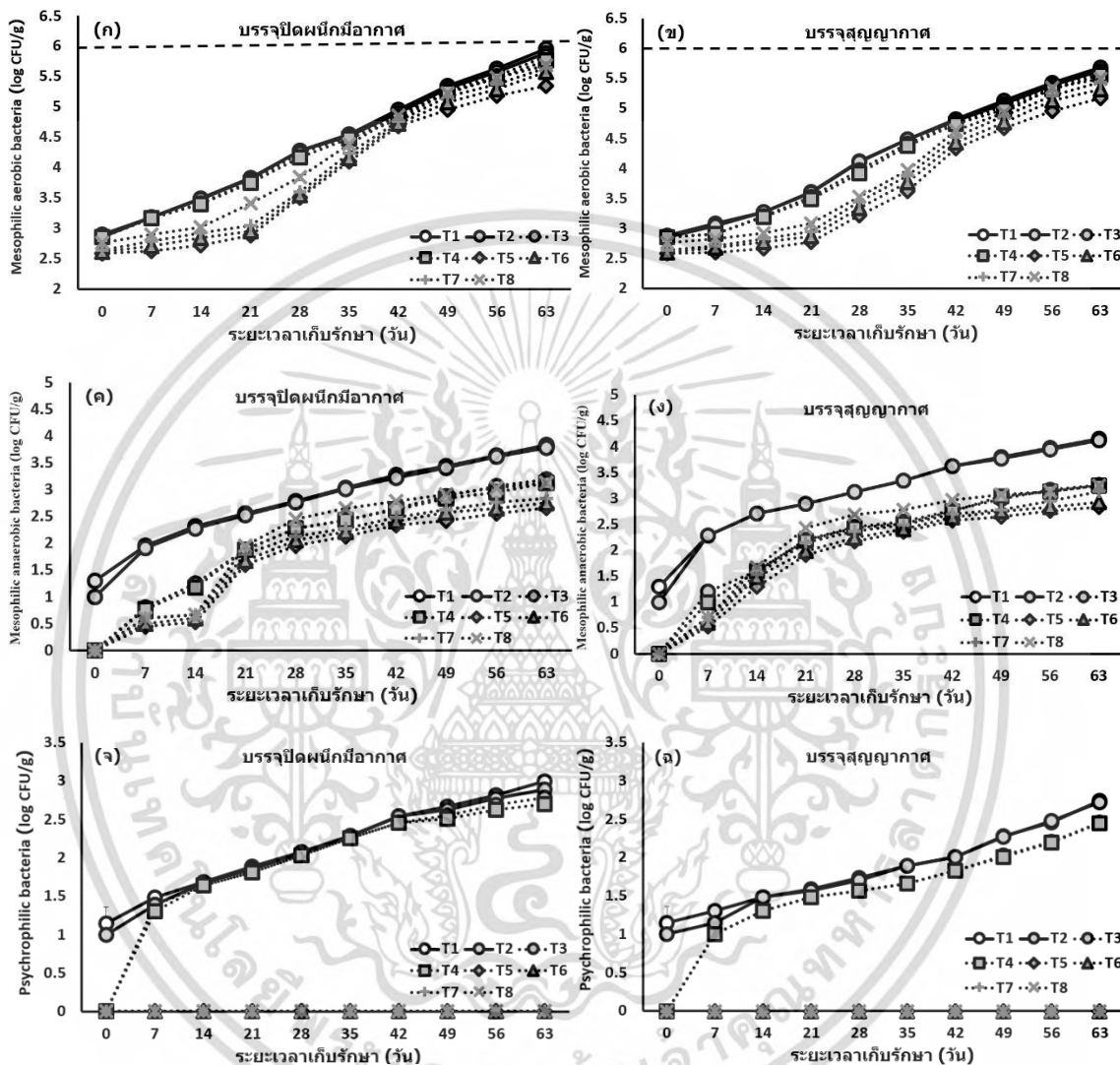
การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกนาน 63 วัน พบว่า ไส้กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ LB23 สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติมสารต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์ โดยเมื่อเริ่มการเก็บรักษามีจำนวนจุลินทรีย์ที่ขอบอุณหภูมิปานกลางทั้งที่ใช้อากาศและไม่ใช้อากาศอยู่ในช่วง 2-3 log CFU/g และเมื่อสิ้นสุดอายุการเก็บรักษานาน 63 วัน ไส้กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), ไส้กรอกกลุ่มที่ลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% และเติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T6) และไส้กรอกกลุ่มที่ลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% และเติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T7) มีจำนวนจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกันและมีค่าน้อยที่สุด รองลงมาคือไส้กรอกกลุ่มลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% และเติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T8), ไส้กรอกกลุ่มที่เติม BHA 0.01% และโซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), ไส้กรอกกลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), ไส้กรอกกลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2) และไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1) ตามลำดับ ($P < 0.05$) (ภาพที่ 4.11) การเติมวัตถุเจือปนอาหารสามารถช่วยลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ เช่น ไนไตรท์ โดยปริมาณไนไตรท์มีผลต่อสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียที่ทำให้เน่าเสีย โดยมีกลไกในการขัดขวางการดูดซึมออกซิเจน และ oxidative phosphorylation ทั้งนี้ไนไตรท์สามารถสร้างกรดไนตรัส

และไนตริกออกไซด์ และสามารถหยุดการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย เช่น แอลโดเลส (Aldolase) และไนไตรท์สามารถป้องกันและควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. botulinum* ที่เป็นเชื้อก่อโรคในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เป็นต้น (Lee *et al.* 2019) แต่อย่างไรก็ตามไส้กรอกทุกกลุ่มมีจำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางไม่เกิน 6 log CFU/g ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนที่กำหนดให้พบจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางไม่เกิน 6 log CFU/g (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2555)

ไส้กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ไม่พบจำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 63 วัน ในขณะที่ไส้กรอกกลุ่มที่เติมสารต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์ (T3 และ T4) พบจำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำน้อยกว่าไส้กรอกกลุ่มที่เติมบีเอสเอและไส้กรอกกลุ่มควบคุม โดยเมื่อเริ่มการเก็บรักษามีจำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำอยู่ในช่วง 0-1 log CFU/g และเมื่อสิ้นสุดอายุการเก็บรักษานาน 63 วัน มีจำนวนเชื้อจะเพิ่มขึ้นมากกว่า 2 log CFU/g (ภาพที่ 4.11) กลไกในการต้านจุลินทรีย์ของโซเดียมซิเตรตมี 2 วิธี คือ โซเดียมซิเตรตรบกวนเยื่อหุ้มชั้นนอกของแบคทีเรียโดยตรงเป็นผลมาจากการจับประจุบวกของโมเลกุลกับส่วนประกอบของผนังเซลล์ส่งผลให้การทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ถูกรบกวนและนำไปสู่การรั่วไหลของส่วนประกอบไซโตพลาสซึมในที่สุด อีกวิธีหนึ่งคือโซเดียมซิเตรตจับ Ca^{2+} และ Mg^{2+} ที่จำเป็นสำหรับการเจริญของแบคทีเรีย (Nagaoka *et al.* 2010) จากการศึกษาของ Dogruyol and Mol (2016) รายงานว่าการเก็บรักษาเนื้อปลาแมคเคอเรลที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส มีจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำและจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำทั้งที่ใช้อากาศและไม่ใช้อากาศเพิ่มขึ้นตลอดการเก็บรักษา และ Paik *et al.* (2006) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำที่ใช้อากาศรอดชีวิตจากกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์จะทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อเกิดการเน่าเสียที่อุณหภูมิไม่ปกติ ทั้งนี้จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญต่อสภาวะแช่เย็นคือ จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิในการศึกษา และด้วยความเสี่ยงต่อสุขภาพทำให้ต้องมีการศึกษาจุลินทรีย์ก่อโรคด้วย

อีกทั้งการศึกษานี้ยังพบว่าไส้กรอกทุกกลุ่มไม่พบจำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิสูงและสปอร์แบคทีเรียตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ทั้งนี้แบคทีเรียใช้อากาศที่สร้างสปอร์ได้ เช่น สายพันธุ์ *Bacillus* spp. และแบคทีเรียไม่ใช้อากาศ ที่สร้างสปอร์ได้ เช่น สายพันธุ์ *Clostridium* spp. โดยในการทดลองเป็นการศึกษาการตรวจหาสปอร์ของเชื้อ *Clostridium* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่ใช้ออกซิเจน สร้างสปอร์ได้ รูปร่างทรงกระบอก และเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียโดยทำให้บรรจุภัณฑ์เกิดการพองตัว (Blown pack spoilage) (Wambui and Stephan, 2019) โดยการสร้างสปอร์ของแบคทีเรียจะเกิดขึ้นในกรณีที่สภาพแวดล้อมในการเจริญของแบคทีเรียไม่เหมาะสม เช่น ขาดสาร

สารอาหาร ได้รับความร้อน แห้งแล้ง แต่เมื่อสภาพแวดล้อมเข้าสู่สภาวะปกติจะทำให้สปอร์สามารถ กลายเป็นเซลล์ปกติของแบคทีเรียได้ (Vegetative cell) (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานพนธ์. 2562)

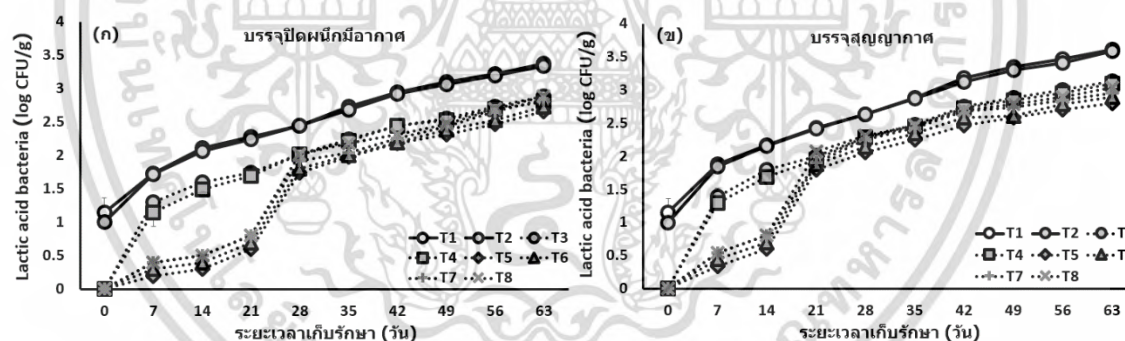


ภาพที่ 4.11 จำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางใช้อากาศ (ก และ ข), จำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบ อุณหภูมิปานกลางไม่ใช้อากาศ (ค และ ง) และจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ (จ และ ฉ) ในไส้กรอกกลุ่ม ควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซ โพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซค คาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8) ในบรรจุภัณฑ์ที่ปิดสนิทมีอากาศ (ก, ค และ จ) และสุญญากาศ (ข, ง และ ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาการต้านแบคทีเรียกรดแลกติกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่ (ภาพที่ 4.12) แสดงให้เห็นว่าไส้กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ (T5, T6, T7 และ T8) มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกน้อยที่สุด รองลงมาคือไส้กรอกกลุ่ม T4, T3, T2 และ T1 ตามลำดับ ($P < 0.05$) ซึ่งในระหว่างการเก็บรักษาไส้กรอกกลุ่ม T3 และ T4 ที่เติมโซเดียมซิเตรตเป็นสารต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์สามารถลดจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกก่อนการเก็บรักษาแต่ไม่สามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติก ในขณะที่ไส้กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์สามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติกได้นานถึง 21 และ 14 วัน ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดอายุการเก็บรักษาที่ 63 วัน มีจำนวนเชื้อจะเพิ่มขึ้นมากกว่า 2 log CFU/g

แบคทีเรียผลิตกรดแลกติกเป็นจุลินทรีย์หลักของจุลินทรีย์ที่เจริญบริเวณพื้นผิวไส้กรอกที่ทำการบรรจุแบบสุญญากาศ ซึ่งส่งผลต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นเปรี้ยวและรสชาติ (Korkeala and Björkroth, 1997) นอกจากนี้การเน่าเสียที่เกิดจากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกส่งผลให้ไส้กรอกมีลักษณะเป็นเมือก (Slime) บนผิวไส้กรอก (Korkeala *et al.* 1990) และแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกทำให้เกิดกระบวนการหมัก ส่งผลให้เกิดการผลิตกรดแลกติกที่ได้จากการเมตาบอลิซึมคาร์โบไฮเดรต ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของไส้กรอกลดลง (Signorini *et al.* 2006)

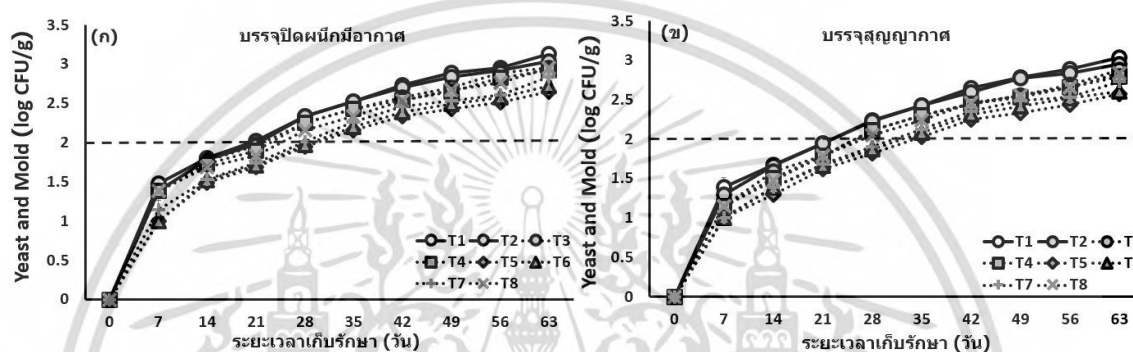


ภาพที่ 4.12 จำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และโซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก) และสุญญากาศ (ข)

การศึกษาการต้านยีสต์และราในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่ (ภาพที่ 4.13) แสดงให้เห็นว่าไส้กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ (T5, T6, T7 และ T8) มีจำนวนยีสต์และราน้อยกว่ากลุ่ม T1, T2, T3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ T4 ($P < 0.05$) โดยใส่กรอกกลุ่ม T1, T2, T3, T4 และ T8 มีจำนวนยีสต์และรามากกว่า 2 log CFU/g เมื่อทำการเก็บรักษานาน 21 และ 28 วันในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศตามลำดับ ในขณะที่ใส่กรอกกลุ่ม T5, T6 และ T7 มีจำนวนยีสต์และรามากกว่า 2 log CFU/g เมื่อทำการเก็บรักษานาน 35 วัน ยีสต์และราที่พบในผลิตภัณฑ์อาจได้รับการปนเปื้อนมาจากเนื้อไก่ในระหว่างกระบวนการจัดการ (Ella *et al.* 2018) ซึ่งข้อกำหนดด้านจุลินทรีย์ของใส่กรอกไก่ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2555) ระบุไว้ว่ายีสต์และราต้องน้อยกว่า 2 log CFU/g



ภาพที่ 4.13 จำนวนยีสต์และราในใส่กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติม โซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนโตรทและอิทธิออร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนโตรทและอิทธิออร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนโตรทและอิทธิออร์เบต 75% (T8) ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศ (ก) และสุญญากาศ (ข)

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าใส่กรอกทุกกลุ่มไม่พบเชื้อ *S. aureus*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *C. perfringens* และ *E. coli* ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่ 4 °C เป็นเวลา 63 วัน แต่พบการเจริญของโคลิฟอร์ม (ตารางที่ 4.3) โดยวันสุดท้ายของการเก็บรักษาใส่กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์พบจำนวนโคลิฟอร์มน้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 6.2 MPN/g รองลงมาคือใส่กรอกกลุ่มที่เติมสารต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์และใส่กรอกกลุ่มควบคุม มีค่าเท่ากับ 9.2 และ 9.4 MPN/g ตามลำดับ โดยบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Wu *et al.* (2010) รายงานว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* โดยการลดการแบ่งเซลล์ของแบคทีเรีย

ทั้งนี้กระบวนการผลิตใส่กรอกจะผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิกึ่งกลางของผลิตภัณฑ์ ต้องไม่ต่ำกว่า 72 องศาเซลเซียส และคงไว้เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 15 นาทีขึ้นไป ตามประกาศกระทรวง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาธารณสุข (ฉบับที่ 193) เรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิตและการเก็บรักษาอาหาร (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2545) ทำให้สามารถทำลายทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ และมีงานวิจัยของ Lee *et al.* (2019) รายงานว่าการใช้เกลือไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์สามารถควบคุมเชื้อก่อโรคในอาหารได้ โดยไนไตรท์สามารถควบคุมการงอกของสปอร์ *C. botulinum* และการเจริญของเชื้อก่อโรคในอาหารต่าง ๆ เช่น *L. monocytogenes*, *C. perfringens*, *Achromobacter*, *Aerobater*, *Escherichia*, *Flavobacterium* และ *Micrococcus* spp. นอกจากนี้ Hung and Zayas (1991) รายงานว่าการไม่พบเชื้อ *Clostridium* ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นการบ่งบอกถึงความปลอดภัยต่อสุขภาพในผลิตภัณฑ์ และโคลิฟอร์มสามารถถูกทำลายด้วยความร้อนได้ง่ายในระหว่างกระบวนการผลิตไส้กรอกซึ่งตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน เรื่อง ไส้กรอกไก่

ตารางที่ 4.3 จำนวนโคลิฟอร์มของไส้กรอกในบรรจุภัณฑ์แบบปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศ

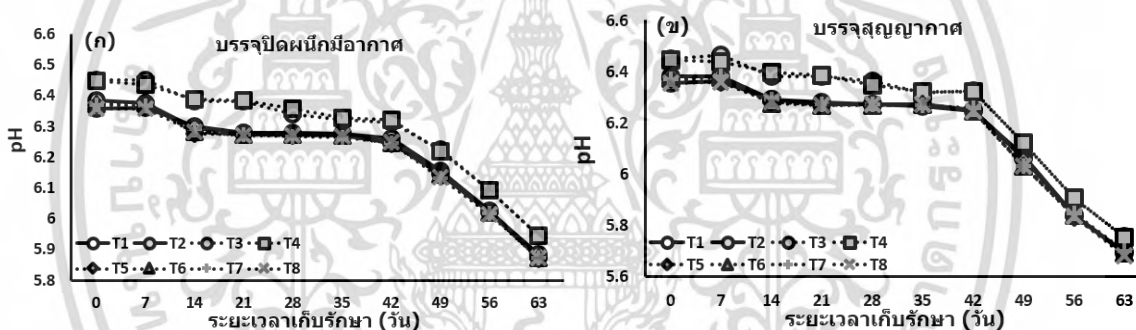
วัน	Coliform (MPN/g)							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	0	0
28	3	0	3	0	0	0	0	0
35	3.6	3	3.6	3	0	0	0	3
42	6.2	3.6	6.1	3.6	0	0	3	3
49	6.2	6.1	6.2	6.1	3	3.6	3.6	3.6
56	9.2	6.2	9.2	6.2	6.1	6.2	6.2	6.2
63	9.4	9.2	9.4	9.2	6.2	6.2	6.2	6.2

T1 = กลุ่มควบคุม, T2 = กลุ่มที่เติม BHA 0.01%, T3 = กลุ่มที่เติม โซเดียมซิเตรต 1.5%, T4 = กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซิเตรต 1.5%, T5 = กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25%, T6 = กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณ ไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25%, T7 = กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณ ไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% และ T8 กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณ ไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2) คุณภาพทางด้านเคมี-กายภาพ

1. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) แสดงในภาพที่ 4.14 พบว่า ใส้กรอกกลุ่มที่เติม โซเดียมซิเตรต (T3 และ T4) มีค่าความเป็นกรด-ด่างมากที่สุดเท่ากับ 6.27 รองลงมาคือใส้กรอกกลุ่ม T2 (Positive Control, BHA), T1 (ควบคุม), T5, T6, T7 และ T8 (EPS) มีค่าเท่ากับ 6.20, 6.19, 6.19, 6.19, 6.19 และ 6.18 ตามลำดับ ($P<0.05$) เมื่อระยะเวลาเก็บรักษามากขึ้น ค่าความเป็นกรด-ด่างจะลดลง ($P<0.05$) ในด้านบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษา พบว่า การบรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศมีค่ากรด-ด่างมากกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ จากการศึกษารายงานของ Öztürk *et al.* (2020) รายงานว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงอาจเกิดจากการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียแลคติกมีการหมักน้ำตาลเกิดเป็นกรดแลคติก เนื่องจากกรดที่ได้จากการหมักทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ลดลง และยังช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกลุ่มราและยีสต์ เนื่องจากไฮโดรเจนไอออนจะซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่ภายในไซโตพลาสซึม ซึ่งส่งผลให้ประจจุอิเล็กตรอน (Electrochemical proton gradient) ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เสียไป



ภาพที่ 4.14 ความเป็นกรด-ด่างของใส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติม โซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8)

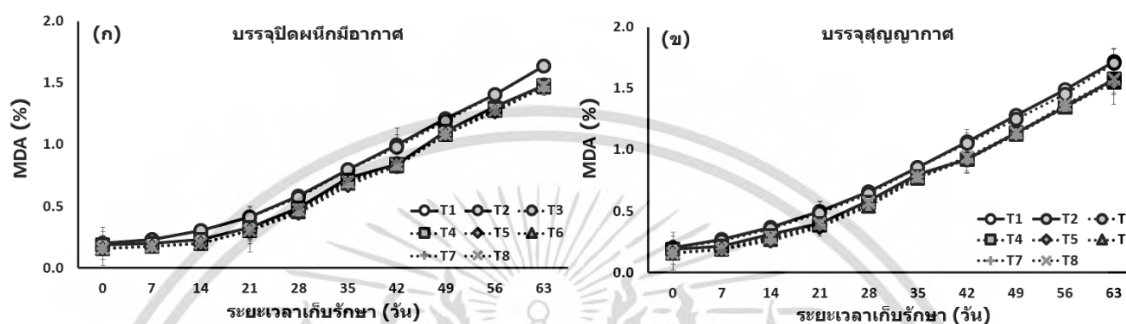
2. การออกซิเดชันของไขมันในใส้กรอกไก่ (TBARS) แสดงในภาพที่ 4.15 พบว่า ใส้กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ (T5, T6, T7 และ T8) มีค่าออกซิเดชันของไขมันน้อยที่สุดและมีค่าไม่แตกต่างกัน รองลงมาคือ ใส้กรอกกลุ่มที่เติมบีเอชเอและ โซเดียมซิเตรต (T4), กลุ่มที่เติมบีเอชเอ (T2), กลุ่มที่เติม โซเดียมซิเตรต (T3) และกลุ่มควบคุม (T1) มีค่าเท่ากับ 0.72, 0.72, 0.80 และ 0.81 (มิลลิกรัม MDA/กิโลกรัมเนื้อ) ตามลำดับ ($P<0.05$) โดยระยะเวลาเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าออกซิเดชันของไขมันเพิ่มมากขึ้น ($P<0.05$) ในด้านบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษา พบว่าการบรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศมี

ค่าการเกิดออกซิเดชันของไขมันมากกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ จากการศึกษาของ Urek and Ilgin (2019) ทดสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Pleurotus sajor caju* พบว่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ โดยสามารถให้อิเล็กตรอนเพื่อเปลี่ยนให้อนุมูลอยู่ในรูปแบบที่เสถียรมากขึ้นหรือทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเพื่อยุติปฏิกิริยาลูกโซ่

การเกิดออกซิเดชันของไขมันเป็นปัจจัยสำคัญในการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยวิธีการ TBARS เป็นการตรวจวัดระดับการออกซิเดชันของไขมันที่เกิดขึ้นในขั้นที่สองของการออกซิเดชัน คือ การออกซิไดซ์เปอร์ออกไซด์เป็นแอลดีไฮด์และคีโตน ทำให้เกิดรสชาติที่ไม่พึงปรารถนา กลิ่นเหม็นเปรี้ยว การเปลี่ยนสีและการก่อตัวของสารประกอบที่เป็นพิษ (Wenjiao *et al.* 2014) โดยจะเกิดสารประกอบต่างๆ ขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา เช่น ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่สามารถก่อให้เกิดสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นหืน (Dallabona *et al.* 2013) Kranen *et al.* (1999) รายงานว่าฮีโมโกลบินเป็นตัวเร่งในการเกิดออกซิเดชันในอาหารประเภทเนื้อสัตว์ คือ ภายหลังจากกำจัดเลือดออกออกจากกล้ามเนื้อสัตว์แล้ว ยังคงมีส่วนของฮีโมโกลบินที่หลงเหลืออยู่ในกล้ามเนื้อ และพบว่าภายหลังจากการปรุงสุกเนื้อส่วนนอกก็สามารถตรวจพบรังควาณฮีโมโกลบิน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kanner and Harel (1985) ที่รายงานว่าการเกิดออกซิเดชันของฮีโมโกลบิน (hemoglobin autoxidation) เกิดขึ้นเมื่อออกซิเจนหลุดออกจาก Oxmyoglobin ทำให้เหล็กในฮีโมโกลบินอยู่ในสถานะที่เป็นเฟอร์ริก (Fe^{3+}) กลายเป็น Metmyoglobin และทำให้เกิดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide anion radical) เปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และปฏิกิริยาของ Metmyoglobin กับ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นสาเหตุทำให้เกิดอนุมูลเฟอร์ริล (ferryl protein radical) ซึ่งเป็นตัวเริ่มต้นของการเกิดออกซิเดชัน

การศึกษาของ Pegg and Shahidi (2000) รายงานว่าไนไตรท์มีส่วนช่วยในการยับยั้งการหืนของไขมันในเนื้อสัตว์ อาจเกี่ยวข้องกับไนตริกออกไซด์ที่เกิดจากไนไตรท์เข้าทำปฏิกิริยากับฮีมโปรตีนและไอออนของโลหะต่างๆ แล้วจับกับอนุมูลอิสระเกิดเป็นสารประกอบจำพวกไนโตรโซและไนโตรซิลที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน รวมทั้งงานวิจัยของ Morrissey and Techivangana (1985) รายงานว่าไนไตรท์ที่ความเข้มข้นในระดับต่ำเพียง 50 ส่วนในล้านส่วน มีผลในการยับยั้งการหืนในเนื้อไก่ หมู และโคลงใต้ ประมาณ 50-60% และประสิทธิภาพในการกันหืนจะดีขึ้นเมื่อใช้ไนไตรท์ที่ความเข้มข้นมากขึ้น ตัวอย่างเช่นในงานวิจัยเดียวกันนี้ เมื่อใช้ไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 200 ส่วนในล้านส่วน จะลดการหืนลงได้ 87-91% เปรียบเทียบกับเนื้อกลุ่มเดียวกัน และ Feiner (2006) รายงานว่าไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 20-60 ส่วนในล้านส่วน สามารถให้ผลเป็นสารต้านการออกซิเดชันได้ นอกจากนี้โซเดียมอริทอร์เบตทำหน้าที่ป้องกันการออกซิเดชันของไขมัน โดยการจับออกซิเจนทำให้อนุมูลเปอร์ออกไซด์ไม่

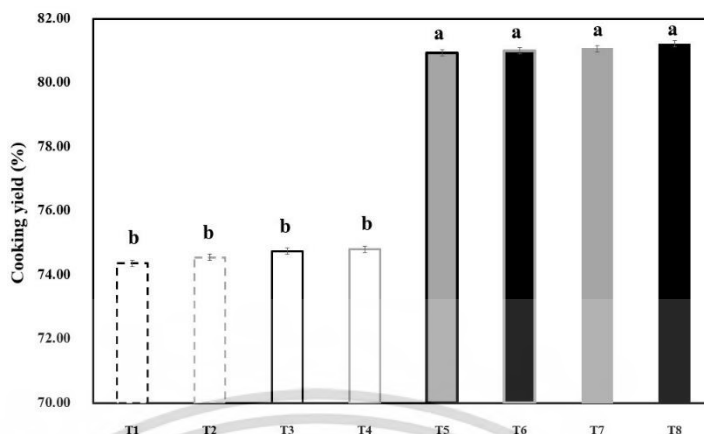
ว่องไวในการทำปฏิกิริยา นอกจากนี้ Karabagias *et al.* (2011) รายงานว่าการให้ความร้อนแก่ผลิตภัณฑ์ อาจทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันโดยทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และส่งเสริมการเกิดกลิ่นหืน เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ปรุงสุกในระหว่างการเก็บรักษา



ภาพที่ 4.15 การออกซิเดชันของไขมันในไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติม โซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8)

3. ปริมาณผลผลิตหลังการปรุงสุก (Cooking yield) แสดงในภาพที่ 4.16 พบว่า ไส้กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์มีปริมาณผลผลิตหลังการปรุงสุกมากที่สุด ($P < 0.05$) รองลงมา คือ ไส้กรอกกลุ่ม T4 (BHA + Sodium citrate), T3 (Sodium citrate), T2 (BHA) และ T1 (Control) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 74.80, 74.74, 74.55 และ 74.35% ตามลำดับ จากการศึกษาของ Majee *et al.* (2017) รายงานว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์มีความสามารถในการจับน้ำได้ดีและมีความสามารถในการกักเก็บน้ำ และการศึกษาของ Wu *et al.* (2010) ได้ศึกษาผลของเอกโซโพลีแซคคาไรด์จากโปรไบโอติกในการต้านจุลินทรีย์ พบว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์จากเชื้อ *Bifidobacterium longum* สามารถนำมาใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหารได้ เนื่องจากสามารถทนต่ออุณหภูมิสูงและสภาพที่เป็นกรด-ด่างในกระบวนการผลิตอาหาร ซึ่งอาจใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์เป็นวัตถุเจือปนในอาหารเพื่อปรับปรุงรสชาติและต้านจุลินทรีย์ในอาหาร นอกจากนี้การศึกษาของ Ahmed *et al.* (2013) รายงานว่าเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Lactobacillus kefirifaciens* มีเสถียรภาพทางความร้อนที่ดีสำหรับการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมที่มีกระบวนการผลิตที่อุณหภูมิสูงถึง 150 องศาเซลเซียสได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

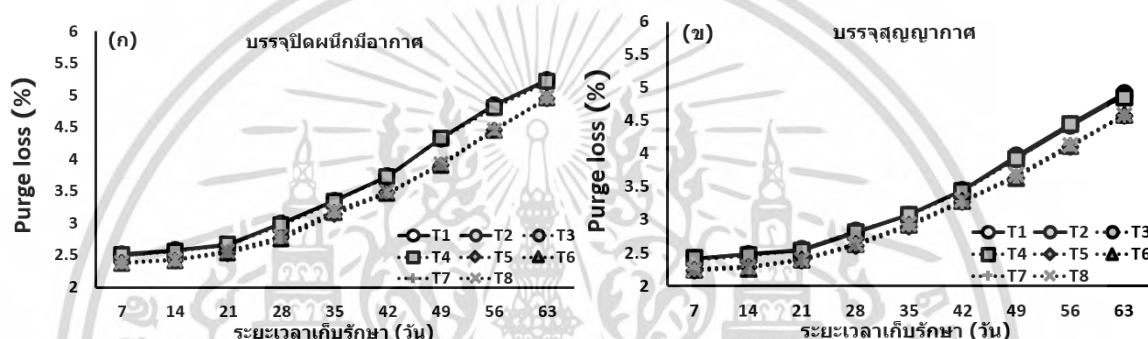


ภาพที่ 4.16 ปริมาณผลผลิตหลังการปรุงสุกของไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติม โซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8)

4. การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (Purge loss) แสดงในภาพที่ 4.17 พบว่า ไส้กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์มีการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาน้อยที่สุดและมีค่าใกล้เคียงกันเท่ากับ 3.24% ซึ่งไส้กรอกกลุ่มควบคุมมีค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษามากที่สุดเท่ากับ 3.47% รองลงมา คือ ไส้กรอกกลุ่ม T2 (Positive Control, BHA), T3 (Sodium citrate) และ T4 (BHA + Sodium citrate) มีค่าเท่ากับ 3.46%, 3.45% และ 3.45% ตามลำดับ ($P < 0.05$) เมื่อระยะเวลาเก็บรักษามากขึ้น ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาจะเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) ซึ่งการบรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศมีค่ามากกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Dallabona *et al.* (2013) กล่าวว่าระยะเวลาการเก็บรักษาของไส้กรอกที่นานขึ้น ส่งผลให้ค่าการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การศึกษาของ Saravanan and Shetty. (2015) ทดสอบความสามารถในการอุ้มน้ำของเอกโซโพลีแซคคาไรด์จากเชื้อ *Lactobacillus kefiranofaciens* พบว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์สามารถละลายน้ำได้และมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ดี เนื่องจากโครงสร้างโพลีเมอร์สามารถดูดซับน้ำและกักเก็บน้ำได้จำนวนมากโดยเชื่อมกันด้วยพันธะไฮโดรเจน

ทั้งนี้ไส้กรอกทุกกลุ่มทดลองมีค่ากรด-ด่างมากกว่า 6.0 เนื่องจากการเติมสารละลายจำพวกเกลือและฟอสเฟต โดยเกลือที่เติมลงไป ไส้กรอกเมื่อทำการละลายน้ำแล้วจะแตกตัวเป็นโซเดียมไอออนและคลอไรด์ไอออน ซึ่งคลอไรด์ไอออนจะเข้าจับกับโมเลกุลโปรตีน ($pH > pI$) ส่งผลให้ประจุลบ

เพิ่มขึ้น เกิดการผลัดกันระหว่างประจุลบทำให้เส้นไฮโปรตีนเกิดการพองตัว และแยกตัวออกจากกัน จึงสามารถทำให้เนื้อสัตว์สามารถรับน้ำได้มากยิ่งขึ้น (Ishioroshi *et al.* 1979) และฟอสเฟตที่เติมลงไปเป็นพวกอัลคาไลน์ฟอสเฟตที่มีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างของโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตอยู่ที่ 9.8 ดังนั้น เมื่อเติมฟอสเฟตลงไปเนื้อสัตว์ ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในเนื้อสัตว์เพิ่มขึ้น และยังทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในเนื้อสัตว์ห่างจากค่าจุดไอโซอิเล็กทริก ทำให้ประจุลบที่มีมากเกิดการผลัดตัวออกจากกันทำให้เนื้อสัตว์สามารถรับน้ำได้มากขึ้น (Knipe. 1992) ดังนั้น ผลิตภัณฑ์แปรรูปเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่จึงใช้เกลือร่วมกับการใช้ฟอสเฟต

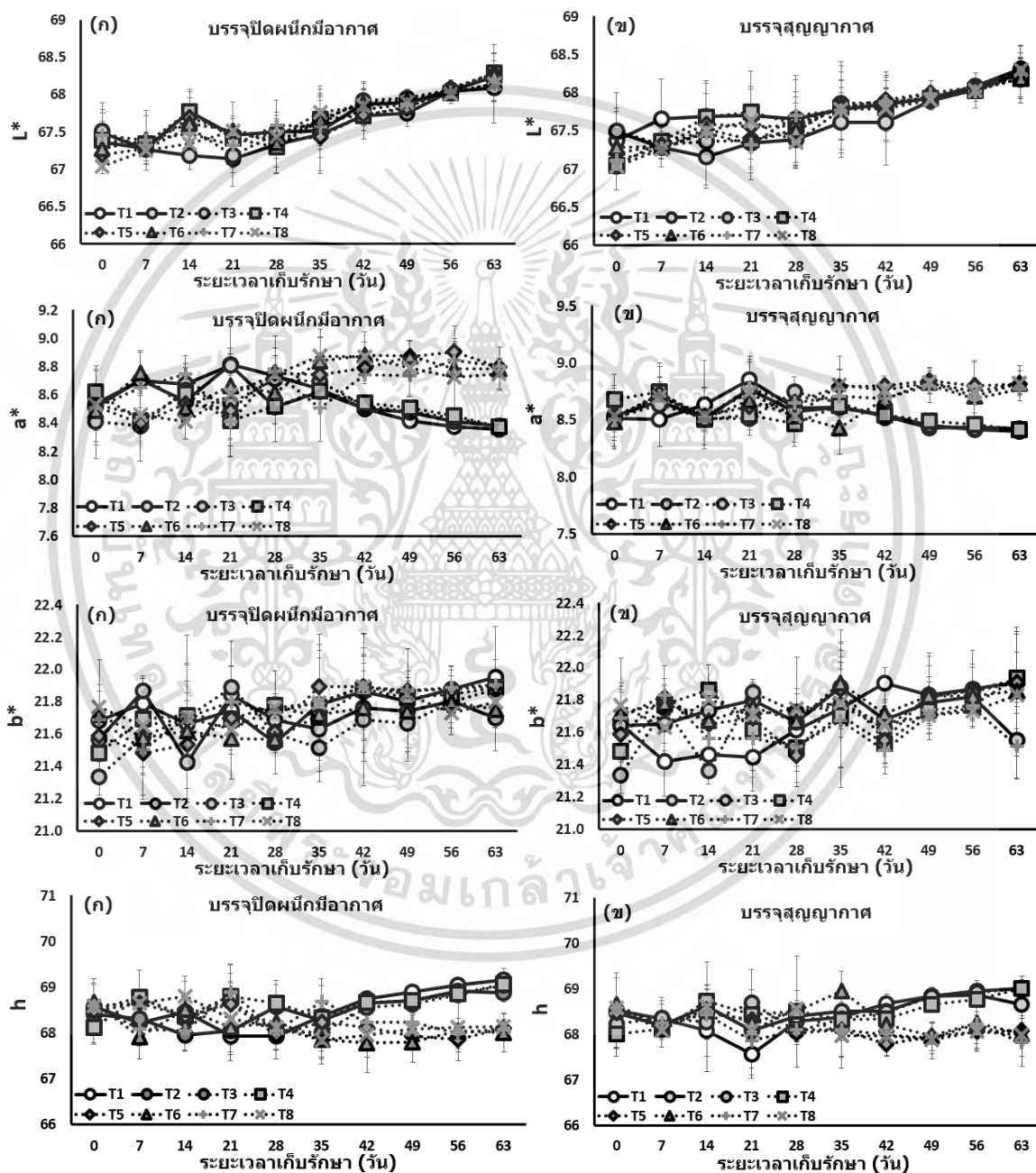


ภาพที่ 4.17 การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ใส่กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติม โซเดียมซีเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซีเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75% (T8)

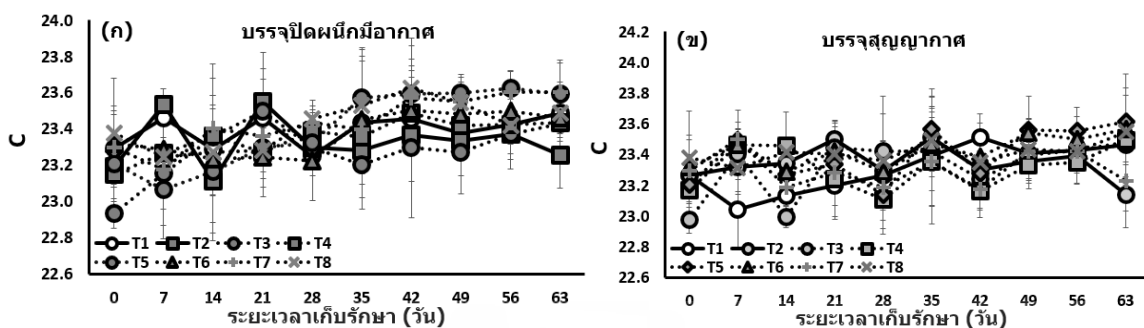
5. ค่าสี (CIE L*, a*, b*, Hue angle และ Chroma) แสดงในภาพที่ 4.18 พบว่า ใส่กรอกทุกกลุ่มมีค่าความสว่าง, ค่าสีแดง, ค่าสีเหลือง, ค่าองศาของสี และค่าความสดสี ไม่ความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ด้านระยะเวลาเก็บรักษา พบว่า ใส่กรอกในวันที่ 0 มีค่าความสว่าง, ค่าสีแดง, ค่าสีเหลืองและค่าความสดสีน้อยที่สุด และมีค่ามากที่สุดเมื่อเก็บรักษาถึงวันที่ 63 ซึ่งค่าสีแดงจะลดลงตามระยะเวลาเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น ($P<0.05$) โดยการเพิ่มขึ้นของค่าความสว่างเกิดจากการสูญเสียน้ำในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งน้ำที่ซึมออกมาเป็นน้ำบริเวณผิวหนังของเนื้อ (Severini *et al.* 2003) การลดลงของค่าสีแดงในระหว่างการเก็บรักษานั้นอาจเกิดจากการออกซิเดชันของออกซิโมโกลบินไปเป็นเมทโมโกลบิน ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการเปลี่ยนแปลงของสีโดยการเพิ่มขึ้นของเมทโมโกลบิน (Ozer and Sarioçban. 2010) และการศึกษาของ Kim *et al.* (2013) รายงานว่าค่าสีแดงของเนื้อลดลงเมื่อระยะเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยเกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์กับอากาศมากขึ้นและอุณหภูมิในการเก็บรักษา นอกจากนี้ del Pulgar *et al.* (2012) รายงานว่าค่าความสดใสจะเกี่ยวข้องกับการเสีสภาพของเมทไมโอโกลบิน ส่วนค่าองศาของสีจะมีความสัมพันธ์ร่วมกับค่าสีแดงที่ได้รับอิทธิพลจากปริมาณการเสีสภาพของเมทไมโอโกลบิน กล่าวคือถ้าเมทไมโอโกลบินเสีสภาพมากขึ้นค่าองศาของสีจะสูงขึ้นตามไปด้วย

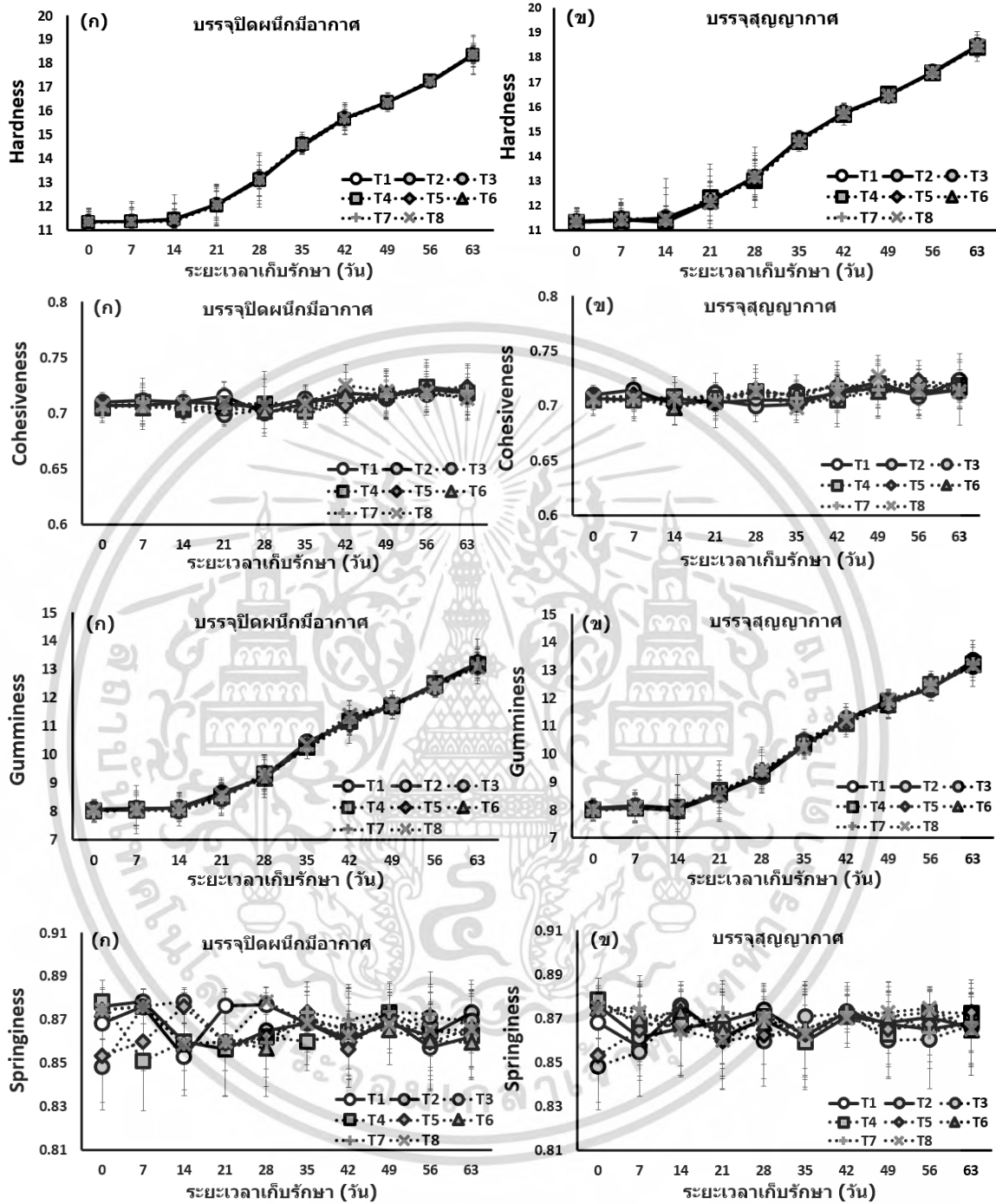


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

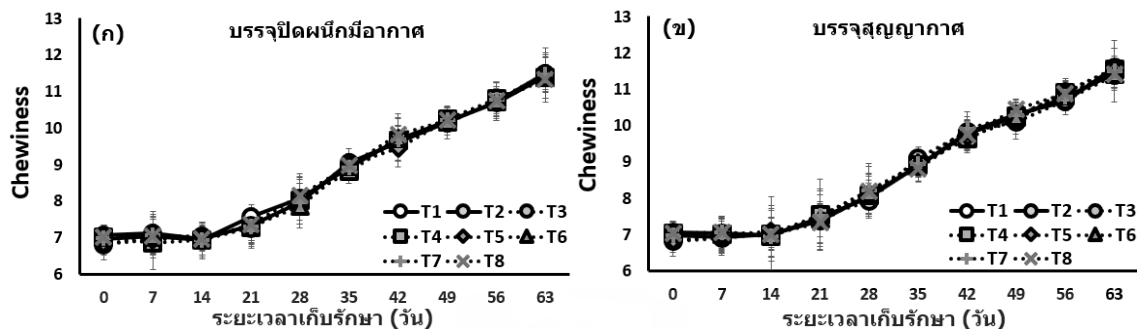


ภาพที่ 4.18 ค่าสี (CIE L*, a*, b*, Hue angle และ Chroma) ของไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติม โซเดียมซิเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซิเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอีธอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอีธอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอีธอร์เบต 75% (T8)

6. คุณภาพด้านเนื้อสัมผัสโดยรวม (Texture Profile Analysis, TPA) แสดงในภาพที่ 4.19 พบว่าไส้กรอกทุกกลุ่มมีค่าความแข็ง, ค่าการเกาะตัว, ค่าความเหนียว, ค่าความยืดหยุ่น และค่าการเคี้ยว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยค่าความแข็ง, ค่าการเกาะตัว, ค่าความเหนียว และค่าการเคี้ยวของไส้กรอกทุกกลุ่มของทั้ง 2 บรรจุภัณฑ์ มีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น ($P < 0.05$) จากการศึกษาของ del Pulgar *et al.* (2012) รายงานว่าค่าความแข็งของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริลลาและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเนื่องจากความร้อนทำให้โปรตีนเสียสภาพและเกิดการสูญเสียร่างกายในกล้ามเนื้อทำให้กล้ามเนื้อแข็งมากขึ้น รวมถึงอาจเป็นผลมาจากค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงใกล้จุดไอโซอิเล็กทริกของแอกตินและไมโอซินในเนื้อเป็นผลให้ผลิตภัณฑ์เนื้อแข็ง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.19 คุณภาพด้านเนื้อสัมผัสโดยรวม (TPA) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% (T2), กลุ่มที่เติม โซเดียมซีเตรต 1.5% (T3), กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซีเตรต 1.5% (T4), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% (T5), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอีริทอร์เบต 25% (T6), กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอีริทอร์เบต 50% (T7) และกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอีริทอร์เบต 75% (T8)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และต้านออกซิเดชันของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ในหลอดทดลอง พบว่า เอกโซโพลีแซคคาไรด์มีฤทธิ์ต้านการงอกสปอร์ *Clostridium sporogenes* โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อมีค่าเท่ากับ 0.0625% และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้มีค่าเท่ากับ 0.25% นอกจากนี้การต้านออกซิเดชัน พบว่า กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชและซูเปอร์ออกไซด์ได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติมสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์

การศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก พบว่า ไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค *S. aureus*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* และ Lactic acid bacteria ได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติมสารต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์ และการศึกษาคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 42 วัน พบว่า ไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0.37% มีศักยภาพในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไปได้ดีที่สุด แต่การใช้เอกโซโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0.25% ให้ผลการต้านจุลินทรีย์ได้ดีไม่แตกต่างกับความเข้มข้น 0.37% และคุณภาพทางด้านเคมี-กายภาพมีผลใกล้เคียงกัน

คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 63 วัน พบว่า จุลินทรีย์ในกลุ่ม Aerobic mesophilic bacteria, Aerobic psychrophilic bacteria, Anaerobic mesophilic bacteria, แบคทีเรียแลคติกและยีสต์-ราเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา ซึ่งเอกโซโพลีแซคคาไรด์สามารถทดแทนไนไตรท์ได้ถึง 50% โดยไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบตลง 50% สามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาที่เสื่อมเสียจากยีสต์และราได้ถึงวันที่ 35 ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศโดยไม่พบสปอร์ของ *C. sporogenes* ในขณะที่ไส้กรอกที่ไม่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์และไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ความเข้มข้น 0.25% แต่ลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบตลง 75% จะเสื่อมเสียจากยีสต์และราในวันที่ 21 และ 28 ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกมีอากาศและสุญญากาศตามลำดับ ทั้งนี้ตลอดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *S. aureus*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* และ *E. coli* และคุณภาพทางเคมี-กายภาพของไส้กรอกเปลี่ยนแปลงไปในบรรจุภัณฑ์ทั้งสองประเภทระหว่างการเก็บรักษา โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ลดลง ค่าการสูญเสียไนโตรเจนระหว่างการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ค่าสีมีค่าความสว่างเพิ่มขึ้นและค่าสีแดงของไส้กรอกกลุ่มที่ไม่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ลดลงเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นานกว่า 42 วัน ซึ่งไส้กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์มีค่าสีแดงที่คงตัวตลอดอายุการเก็บรักษา และลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวมมีค่าความแข็ง ค่าความเหนียวและค่าการเคี้ยวเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ไส้กรอกกลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์มีค่าออกซิเดชันของไขมันน้อยกว่าไส้กรอกกลุ่มที่ไม่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ โดยค่าออกซิเดชันของไขมันเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น ในด้านบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาพบว่าบรรจุแบบปิดผนึกมีอากาศมีค่าการเกิดออกซิเดชันของไขมันมากกว่าบรรจุแบบสุญญากาศ

5.2 ข้อเสนอแนะ

สามารถนำงานวิจัยในครั้งนี้เป็นต้นแบบในการนำเอกโซโพลีแซคคาไรด์ไปประยุกต์ใช้ในการทดแทนไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์กลุ่มเนื้อหมักอื่นๆได้ เช่น แสม เบคอน โบโลน่า เป็นต้น อีกทั้งสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อสด ผลิตภัณฑ์เนื้อที่ผ่านการซูวี เป็นต้น เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ในกลุ่มอื่นๆต่อไป

บรรณานุกรม

- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2560ก. “หลักการแปรรูปผลิตภัณฑ์เนื้อกลุ่มอิมัลชัน.” หน้า 54-55. ใน เอกสารประกอบการอบรมการสร้างมูลค่าเพิ่มเนื้อสุกร. ณ อาคารบุญนาค คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2560ข. “ประเภทและชนิดของผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์และกระบวนการแปรรูปเนื้อสัตว์.” หน้า 40-45. ใน เอกสารประกอบการอบรมการสร้างมูลค่าเพิ่มเนื้อสุกร. ณ อาคารบุญนาค คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ชัยณรงค์ คันชนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. กรุงเทพมหานคร : ไทยวัฒนาพานิช.
- สุสดี ตังวชิรินทร์. 2558. “เทคโนโลยีการควบคุมจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์.” หน้า 116-119. ใน เอกสารประกอบการอบรมการเรียนรู้. ณ อาคารบุญนาค คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. 2562. สปอร์ของแบคทีเรีย. [Online]. Available : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1430/bacterial-spore-สปอร์ของแบคทีเรีย>.
- เขवालักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2536. “เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์.” หน้า 3. ใน การลดไขมันในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกแฟรงค์เฟิร์ตโดยใช้สารทดแทนไขมันจากพวกคาร์โบไฮเดรต. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- รุจริน ลิ่มศกวานิช และ จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2552. คุณค่าเนื้อโคไทย. กรุงเทพมหานคร : บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.
- รุจริน ลิ่มศกวานิช. 2560. “ส่วนผสมหลักและสารปรุงแต่งอาหารที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์.” หน้า 67-68. ใน เอกสารประกอบการอบรมการสร้างมูลค่าเพิ่มเนื้อโค. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- วิษชุดา สังข์แก้ว. 2553. “ผลของสารสกัดจากโบริเคโดนบกต่อลักษณะทางกายภาพ ประสาทสัมผัส และการเกิดออกซิเดชันของไส้กรอกแฟรงค์เฟิร์ต.” วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 3/1 (พิเศษ): 153-156.
- ศุภลักษณ์ สรภักดี. 2561. ส่วนผสมและวัตถุดิบอาหารในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์. กรุงเทพมหานคร : ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2545. การประยุกต์ใช้หลักเกณฑ์ GMP กฎหมายในการผลิตผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์. กรุงเทพฯ : กระทรวงสาธารณสุข.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2555. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน เรื่อง ไส้กรอกไก่. มพช. 311/2555.
- 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.
- Abinaya, M., B. Vaseeharan, M. Divya, S. Vijayakumar, M. Govindarajan, N.S. Alharbi, J.M. Khaled, M.N. Al-anbr and G. Benelli. 2018. “Structural characterization of *Bacillus licheniformis* Dahbl exopolysaccharide antimicrobial potential and larvicidal activity on malaria and Zika virus mosquito vectors.” **Environmental Science and Pollution Research**. 19 : 18604-18619.
- Ahmed, Z., Wang, Y., Anjum, N., Ahmad, H., Ahmad, A. and Raza, M. 2013. “Characterization of new exopolysaccharides produced by coculturing of *L. kefiranoferiens* with yoghurt strains.” **International Journal of Biological Macromolecules**. 59 : 377-383.
- Akesowan, A. 2008. “Effect of soy protein isolate on quality of light pork sausages containing konjac flour.” **African Journal of Biotechnology**. 7 : 4586-4590.
- Akoğlu, I. T., Biyikli, M., Akoğlu, A. and Kurhan, Ş. 2018. “Determination of the quality and shelf life of sous vide cooked turkey cutlet stored at 4 and 12°C.” **Brazilian Journal of Poultry Science**. 20 : 001-008.
- Alsheikh, A. D. I., G. E. Mohammed, and M. A. Abdalla. 2013. “Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from retail broiler chicken ready to eat meat products in Sudan.” **International Journal of Animal and Veterinary Advances**. 5(1) : 9-14.
- Amaral, A. B., SILVA, M. V. D. and LANNES, S. C. D. S. 2018. “Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors—a review.” **Food Science and Technology**. 38 : 1-15.
- Andres, S.C., Garcia, M.E., Zaritzky, N.E. and Califano, A.N. 2006. “Storage stability of low-fat chicken sausages.” **Journal of Food Engineering**. 72 : 311-319.
- AOAC. 2006. Official methods of analysis of AOAC (Association of Official Analytical Chemists) international (18th ed.) Gaithersburg, MD : AOAC International.

- BAM. 2001a. **Yeasts, molds and mycotoxins.** Available Source: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071435.htm>.
- BAM. 2001b. ***Staphylococcus aureus*.** Available Source: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm>.
- BAM. 2002. **Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria.** Available Source: <https://www.fda.gov/food/laboratorymethodsfood/bam-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria>.
- BAM. 2017. **Bacteriological Analytical Manual online, Chapter 3 Aerobic plate count.** [Online]. Available: <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm063346.html>.
- BAM. 2017. **Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*.** Available Source: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071400.htm>.
- 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.
- Bhaskar, P. V. and Bhosle, N. B. 2005. “Microbial extracellular polymeric substances in marine biogeochemical processes.” **Current Science.** 25 : 45-53.
- Bhat, B., and Bajaj, B. K. 2018. “Hypocholesterolemic and bioactive potential of exopolysaccharide from a probiotic *Enterococcus faecium* K1 isolated from kalarei.” **Bioresource Technology.** 254 : 264-267.
- Blaszyk, M. and Holley, R. A. 1998. “Interaction of monolaurin, eugenol and sodium citrate on growth of common meat spoilage and pathogenic organisms.” **International Journal of Food Microbiology.** 39(3) : 175-183.
- Bourne, M. C. 1978. “Texture profile analysis.” **Food Technology.** 32 : 62-66.
- Bover-Cid, S. and W.H. Holzapfel. 1999. “Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria.” **International Journal of Food Microbiology.** 53 : 33-41.
- Buege, J. A. and Aust, S. D. 1978. **Microsomal lipid peroxidation.** Methods in Enzymology. Academic Press.

- Byelashov, Patricia A. Kendall, Keith E. Belk, John A. Scanga, and John N. Sofos. 2008. "Control of *listeria monocytogenes* on vacuum-packaged frankfurters sprayed with lactic acid alone or in combination with sodium lauryl Sulfate." **Journal of Food Protection**. 728-734.
- Cachaldora, A., G. García, J.M. Lorenzo and M.C. García-Fontán. 2013. "Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on some quality characteristics and the shelf-life of "morcilla", a typical cooked blood sausage." **Meat Science**. 93 : 220–225.
- Cacic, M. D., Nikolic, G. S. and Ilic, L. A. 2002. "FT-IR spectra of iron (III) complexes with dextran, pullulan and inulin oligomers." **Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia**. 21 : 135-146.
- Casillo, A., E. Parrilli, F. Sannino, D.E. Mitchell, M.I. Gibson, G. Marino, R. Lanzetta, M. Parrilli, S. Cosconati, E. Novellino, A. Randazzo, M.L. Tutino and M.M. Corsaro. 2017. "Structure-activity relationship of the exopolysaccharide from a psychrophilic bacterium: a strategy for cryoprotection." **Carbohydrate Polymers**. 156 : 364–371.
- Chen, Y., Xie, M. Y., Nie, S. P., Li, C. and Wang, Y. X. 2008. "Purification, composition analysis and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of *Ganoderma atrum*." **Food Chemistry**. 107(1) : 231-241.
- Chen, Q., Kong, B., Han, Q., Xia, X., and Xu, L. 2017. "The role of bacterial fermentation in lipolysis and lipid oxidation in Harbin dry sausages and its flavour development." **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie**. 77 : 389-396.
- Conte-Junior, C. A., Fernandez, M. and Mano, S. B. 2008. "Use of carbon dioxide to control the microbial spoilage of bullfrog (*Rana catesbeiana*) meat. In a. mendez-vilas (Ed.)." **Modern Multidisciplinary Applied Microbiology**. 356–361.
- 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.
- Dallabona, B.R., Karam, L.B., Wagner, R., Bartolomeu, D.A.F.S., Mikos, J.D., Francisco, J.G. P., de Macedo, R.E.F. and Kirschnik, P.G. 2013. "Effect of heat treatment and packaging systems on the stability of fish sausage." **Revista Brasileira de Zootecnia**. 42 : 835-843.

- 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.
- del Pulgar, J. S., Gazquez, A. and Ruiz-Carrascal, J. 2012. “Physico-chemical, textural and structural characteristics of sous-vide cooked pork cheeks as affected by vacuum, cooking temperature, and cooking time.” **Meat Science**. 90 : 828-835.
- Dogruyol, H. and Mol, S. 2016. “Effect of irradiation on shelf life and microbial quality of cold-stored sous-vide mackerel fillets.” **Journal of Food Processing and Preservation**. 1745-4549.
- DuBois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, P. and Smith, F. 1956. “Colorimetric method for determination of sugars and related substances.” **Analytical Chemistry**. 28(3) : 350–356.
- Ella, K.L.C., Christian, N.A., Augustin, G., Armand, A. B. and Moses, M.C. 2018. “Production of chicken sausage (Cobb 500 (Smith, 1992)): characterisation of Physicochemical, microbiological and sensorial qualities.” **International Journal of Scientific Research and Management**. 6 : 17-23.
- Essien, E. 2003. **Sausage Manufacture**. Cambridge : Woodhead.
- Fang Y., S. Ahmed, S. Liu, S. Wang, M. Lu, and Yuliang Jiao. 2013. “Optimization of antioxidant exopolysaccharides production by *Bacillus licheniformis* in solid state fermentation.” **Carbohydrate Polymers**. 98 : 1377-1382.
- Feiner, G. 2006. **Meat Products Handbook: Practical Science and Technology**. Elsevier.
- Gandhi, H. P., Ray, R. M., Patal, R. M. 1997. “Exopolymer production by *Bacillus* species.” **Carbohydrate Polymers**. 34 : 323-327.
- Govari, M. and Pexara, A. 2015. “Nitrates and Nitrites in meat products.” **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**. 66(3) : 127-140.
- Gray, J. J., Goma, E. A. and Buckley, D. J. 1996. “Oxidative quality and shelf life of meats.” **Meat Science**. 43 : 111–123.
- Hidayat, M. A., Fitri, A., and Kuswandi, B. 2017. “Scanometry as microplate reader for high throughput method based on DPPH dry reagent for antioxidant assay.” **Acta Pharmaceutica Sinica B**. 7(3) : 395-400.

- Holman, B. W., Kerry, J. P. and Hopkins, D. L. 2018. "Meat packaging solutions to current industry challenges: A review." **Meat Science**. 144 : 159-168.
- Hung, S.C. and Zayas, J.F. 1991. "Sensory, chemical and bacteriological stability of frankfurters containing milk proteins and corn germ protein flour 1." **Journal of Food Processing and Preservation**. 15 : 413-431.
- Karabagias, I., Badeka, A. and Kontominas, M. G. 2011. "Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging." **Meat Science**. 88(1) : 109-116.
- Korkeala, H. J. and Björkroth, K. J. 1997. "Microbiological spoilage and contamination of vacuum-packaged cooked sausages. Journal of Food Protection." **Journal of Food Protection**. 60(6) : 724-731.
- Kovačeva, J., Platenik, J., Vejražka, M., Štípek, S., Ardan, T., Čejka, Č., and Čejková, J. 2007. "Differences in activities of antioxidant superoxide dismutase, glutathione peroxidase and prooxidant xanthine oxidoreductase/xanthine oxidase in the normal corneal epithelium of various mammals." **Physiological Research**. 56(1) : 105-112.
- Ishioroshi, M., Jima, K.S. and Yasui, T. 1979. "Heat-induced gelation of myosin: factors of pH and salt concentrations." **Journal of Food Science**. 44 : 1280-1284.
- ISO 6579. 2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. 4th ed. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Jason, B., K.L. Cross, M.W. Peck. 2015. "Apertures in the *Clostridium sporogenes* spore coat and exosporium align to facilitate emergence of the vegetative cell." **Food Microbiology**. 51 : 45-50.
- Kanner, J. and Harel, S. 1985. "Lipid peroxidation and oxidation of several compounds by H₂O₂ activated metmyoglobin." **Lipids**. 20(9) : 625-628.
- Kaul, R., Kaul, H. K., Bajpai, P. C. and Murti, C. K. 1979. "Evidence for the possible involvement of the superoxide radicals in the photodegradation of bilirubin." **Journal of Biosciences**. 1(4) : 377-383.

- Ki, J.S., W. Zhang and P.Y. Qian. 2009. "Discovery of marine *Bacillus* species by 16S rRNA and rpoB comparisons and their usefulness for species identification." **Journal of Microbiological Methods.** 77 : 48-57.
- Kim, T. S., Park, J. W., Kim, M. J. and Lee, J. 2013. "Effects of lipophilic and hydrophilic antioxidants in oil-in-water emulsions under chlorophyll photosensitization." **Food Science and Biotechnology.** 22(1) : 125-130.
- Knipe, C.L. 1992. **Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition.** London : Academic Press Limited.
- Korkeala, H., Alanko, T., Mäkelä, P. and Lindroth, S. 1990. "Lactic acid and pH as indicators of spoilage for vacuum-packed cooked ring sausages." **International Journal of Food Microbiology.** 10(3-4) : 245-253.
- Korkeala, H.J. and Björkroth, K.J. 1997. "Microbiological spoilage and contamination of vacuum-packaged cooked sausages." **Journal of Food Protection.** 60 : 724-731.
- 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.
- Kranen, R. W., Van Kuppevelt, T. H., Goedhart, H. A., Veerkamp, C. H., Lambooy, E. and Veerkamp, J. H. 1999. "Hemoglobin and myoglobin content in muscles of broiler chickens." **Poultry Science.** 78(3) : 467-476.
- Krzywicki. 1982. "The determination of haem pigment in meat." **Meat Science.** 7 : 29-36.
- Kumar, Kalpana Mody and Bhavanath Jha. 2007. "Bacterial exopolysaccharides." **Journal of Basic Microbiology.** 47 : 103-117.
- Lee, K. T. and Yoon, C. S. 2001. "Quality changes and shelf life of imported vacuum-packaged beef chuck during storage at 0°C." **Meat Science.** 59 : 71-77.
- Lee, S. H., Choe, J., Shin, D. J., Yong, H. I., Choi, Y., Yoon, Y. and Jo, C. 2019. "Combined effect of high pressure and vinegar addition on the control of *Clostridium perfringens* and quality in nitrite-free emulsion-type sausage." **Innovative Food Science and Emerging Technologies.** 52 : 429-437.

- Li, S., R. Huang, N.P. Shah, X. Tao, Y. Xiong and H. Wei. 2014. “Antioxidant and antibacterial activities of exopolysaccharides from *Bifidobacterium bifidum* WBIN03 and *Lactobacillus plantarum* R315.” **International Journal of Dairy Science**. 97 : 7334–7343.
- Lin, T. Y. and Chien, M. F. C. 2005. “Exopolysaccharide production as affected by lactic acid bacteria and fermentation time.” **Food Chemistry**. 100 : 1419-1423.
- Liu, X., Turchi, B., Mok, K. C., Taga, M. E. and Miller, M. J. 2017. “HM2-phage resistant solventogenic *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 shows increased exopolysaccharide production.” **Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters**. 364(19) : 1-6.
- Lobo, R. E., Gómez, M. I., de Valdez, G. F. and Torino, M. I. 2019. “Physicochemical and antioxidant properties of a gastroprotective exopolysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus* CRL1190.” **Food Hydrocolloids**. 96 : 625-633.
- Majee, S. B., Avlani, D. and Biswas, G. R. 2017. “Rheological behavior and pharmaceutical applications of bacterial exopolysaccharides.” **Journal of Applied Pharmaceutical**. 7 : 224-232.
- Mahgoub, S. and Sitohy, M. 2013. “Comparative prevalence of pathogenic and spoilage microbes in chicken sausages from Egypt and Greece.” **Health**. 5(2) : 274.
- Marapana, HAD Nayanarasi, S Senanayaka, PRD Perera and KHGK Kodagoda. 2018. “Effect of processing conditions on quality of chicken sausages stuffed in different casings.” **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**. 7 : 56-64
- Martinez-Tome, M., Jimenez, A. M., Ruggieri, S., Frega, N., Strabbioli, R. and Murcia, M. A. 2001. “Antioxidant properties of Mediterranean spices compared with common food additives.” **Journal of Food Protection**. 64 : 1412–1419.
- McKellar, R. C., van Geest, J. and Cui, W. 2003. “Influence of culture and environmental conditions on the composition of exopolysaccharide produced by *Agrobacterium radiobacter*.” **Food Hydrocolloids**. 17 : 429-437.
- Meier-Dinkel, L., J. Gertheiss, W. Schnäckel and D. Mörlein. 2016. “Consumers' perception and acceptance of boiled and fermented sausages from strongly boar tainted meat.” **Meat Science**. 118 : 34–42.

- Mielnik, M. B., Aaby, K. and Skrede, G. 2003. "Commercial antioxidants control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat." **Meat Science**. 65 : 1147–1155.
- 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 : 958–962.
- Mohamed, E., S. Ahmed, S. Funston, P. Dunlop, M. McGaw, R. Marchant and I.M. Banat. 2016. "Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants." **Biotechnology Letters**. 38 : 1015–1019.
- Mohamed, Shaimaa K. Amer, Manal S. Selim and Hala M. Rifaat. 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 : 204-209.
- Mohan, A. 2014. **Basics of Sausage Making Formulation, Processing and Safety**. Athens : UGA Extension Bulletin.
- Morrissey, P. A. and Tichivangana, J. Z. 1985. "The antioxidant activities of nitrite and nitrosylmyoglobin in cooked meats." **Meat Science**. 14(3) : 175-190.
- Moscovici, M. 2015. "Present and future medical applications of microbial exopolysaccharides." **Frontiers in microbiology**. 6 : 1012.
- Nagaoka, S., S. Murata, K. Kimura, T. Mori and K. Hojo. 2010. "Antimicrobial activity of sodium citrate against *Streptococcus pneumoniae* and several oral bacteria." **Letters in Applied Microbiology**. 51 : 546–551.
- 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.
- Ohshima, T., Yankah, V. V., Ushio, H. and Kiozumi, C. 1998. "Antioxidizing potentials of BHA, BHT, TBHQ, tocopherol, and oxygen absorber incorporated in Ghanaian fermented fish product." **Advances in Experimental Medicine and Biology**. 434 : 181–188.
- Oliveira R.P.D.S., Perego P., Oliveira, M.N.D. and Converti A. 2011. "Effect of inulin as a prebiotic to improve growth and counts of a probiotic cocktail in fermented skim milk." **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie**. 44(2) : 520-523.

- Ozer O. and Sarioçban C. 2010. “The effects of butylated hydroxyanisole, ascorbic acid, and α -tocopherol on some quality characteristics of mechanically deboned chicken patty during freeze storage.” **Czech Journal of Food Sciences.** 28(2) : 150-160.
- Özpolat, E., Patr, B., Guran, H. Ş. and Gul, M. R. 2014. “Effect of vacuum-packing method on the shelf-life of Capoeta umbra sausages.” **Iranian Journal of Fisheries Sciences.** 13(1) : 178-184.
- Öztürk, K. B., Kavuşan, H. S. and Serdaroglu, M. 2020. “The impacts of laurel (*Laurus nobilis*) and basil (*Ocimum basilicum*) essential oils on oxidative stability and freshness of sous-vide sea bass fillets.” **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences.** 44 : 101-109.
- Paik, H. D., Kim, H. J., Nam, K. J., Kim, C. J., Lee, S. E. and Lee, D. S. 2006. “Effect of nisin on the storage of sous vide processed Korean seasoned beef.” **Food Control.** 17 : 994-1000.
- Pegg, R. B. and Shahidi, F. 2008. **Nitrite curing of meat: The N-nitrosamine problem and nitrite alternatives.** John Wiley and Sons.
- Pogorzelska-Nowicka, E., Atanasov, A. G., Horbańczuk, J. and Wierzbicka, A. 2018. “Bioactive compounds in functional meat products.” **Molecules.** 23(2) : 307.
- Pokorny, J. 1991. “Natural antioxidants for food use.” **Trends in Food Science and Technology.** 2 : 223-227.
- Prapasuwannakul, N. 2018. “Characteristics of reduced-fat thai pork sausage with inulin addition.” **International Journal of Food Engineering.** 4(4) : 322-326.
- Roldan, M., T. Antequera, A. Martin, A.I. Mayoral and J. Ruiz. 2013. “Effect of different temperature time combinations on physicochemical, microbiological, textural and structural features of sous-vide cooked lamb loins.” **Meat Science.** 93 : 572-578.
- Sachindra, N.M., Sakhare, K.P., Yashoda, D. and Narasimha, R. 2005. “Microbial profile of buffalo sausage during processing and storage.” **Food Control.** 16 : 31-35.
- Sahar, S.M., S.K. Shaimaa, M.S. Selim and H.M. Rifaat. 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 : 204-209.

- 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.
- 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.
- Seyedeh, M.H. and J. Dehghannya. 2020. "Novel ultrasound-assisted extraction of kefirin biomaterial, a prebiotic exopolysaccharide, and investigation of its physicochemical, antioxidant and antimicrobial properties." **Materials Chemistry and Physics.** 243 : 122645.
- 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.
- Shiji, M., S. Snigdha, J. Mathew and E.K. Radhakrishnan. 2019. "Biodegradable and active nanocomposite pouches reinforced with silver nanoparticles for improved packaging of chicken sausages." **Food Packaging and Shelf Life.** 19 : 155-166.
- Signorini, M.L., Ponce-Alquicira, E. and Guerrero-Legarreta, I. 2006. "Effect of lactic acid and lactic acid bacteria on growth of spoilage microorganisms in vacuum-packaged beef." **Journal of Muscle Foods.** 17 : 277-290.
- Sutherland, W. 1998. "Novel and established application of microbial polysaccharides." **Trends in Biotechnology.** 16 : 41-46.
- Tangwatcharin, P., Sorapukdee, S. and Kongsrirat, K. 2019. "Sous-vided restructured goat steaks: process optimized by thermal inactivation of *listeria monocytogenes* and their quality characteristics." **Food Science of Animal Resources.** 39 : 863-876.
- Trabelsi, I., Ktari, N., Slima, S. B., Triki, M., Bardaa, S., Mnif, H. and Salah, R. B. 2017. "Evaluation of dermal wound healing activity and in vitro antibacterial and antioxidant activities of a new exopolysaccharide produced by *Lactobacillus* sp. Ca6." **International Journal of Biological Macromolecules.** 103 : 194-201.

- Turchi, B., S. Pero, B. Torracca, F. Fratini, S. Mancini, A. Galiero, F. Pedonese, R. Nuvoloni and D. Cerri. 2016. "Occurrence of *Clostridium* spp. in ewe's milk: Enumeration and identification of isolates." **Dairy Science and Technology**. 96 : 693-701.
- Urek, R. O. and Ilgin, S. 2019. "Production and partial characterization of the exopolysaccharide from *Pleurotus sajor caju*." **Annals of Microbiology**. 69(11) : 1201-1210.
- Van den Berg, D. J. C., Robijn, G. W., Janssen, A. C., Giuseppin, M. L. F., Vreeker, R., Kamering, J. D., Vliegthart, J. F. G., Ledebor, A. M. and Verrips, C. T. 1995. "Production of a novel extracellular polysaccharide by *Lactobacillus sake* O-1 and characterization of the polysaccharide." **Applied and Environmental Microbiology**. 61 : 2840-2844.
- Vareltzis, P., Hultin, H. O. and Autio, W.R. 2008. "Hemoglobin-mediated lipid oxidation of protein isolates obtained from cod and haddock white muscle as affected by citric acid, calcium chloride and pH." **Food Chemistry**. 108 : 64-74.
- Wambui, J. and Stephan, R. 2019. "Relevant Aspects of *Clostridium estertheticum* as a Specific Spoilage Organism of Vacuum-Packed Meat." **Microorganisms**. 7 : 1-12.
- Watterson, M.J., D.J. Kent, K.J. Boor, M. Wiedmann and N.H. Martin. 2014. "Evaluation of dairy powder products implicates thermophilic *sporeformers* as the primary organisms of interest." **International Journal of Dairy Science**. 97 : 2487-2497.
- Wenjiao, F., Yongkui, Z., Yunchun, C., Junxiu, S., and Yuwen, Y. 2014. "TBARS predictive models of pork sausages stored at different temperatures." **Meat Science**. 96 : 1-4.
- Wu, M.H., T.M. Pan, Y.J. Wu, S.J. Chang, M.S. Chang and C.Y. Hu. 2010. "Exopolysaccharide activities from probiotic *bifidobacterium*: Immunomodulatory effects (on J774A.1 macrophages) and antimicrobial properties." **International Journal of Food Microbiology**. 144 : 104-110.
- Xing, K., Chen, X. G., Kong, M., Liu, C. S., Cha, D. S. and Park, H. J. 2009. "Effect of oleoyl-chitosan nanoparticles as a novel antibacterial dispersion system on viability, membrane permeability and cell morphology of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*." **Carbohydrate Polymers**. 76(1) : 17-22.

- Yahav, S., Z. Berkovich, I. Ostrov, R. Reifen and M. Shemesh. 2018. “Encapsulation of beneficial probiotic bacteria in extracellular matrix from biofilm-forming *Bacillus subtilis*.” **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**. 46(2) : 974-982.
- Fang, Y., Ahmed, S., Liu, S., Wang, S., Lu, M., and Jiao, Y. 2013. “Optimization of antioxidant exopolysaccharides production by *Bacillus licheniformis* in solid state fermentation.” **Carbohydrate Polymers**. 98(2) : 1377-1382.
- Yin, M.-C., and Cheng, W.-S. 2003. “Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic derived organosulfur compounds in ground beef.” **Meat Science**. 63 : 23–28.
- Zahid, MD.A., Choib, J.Y., Seo, J.K., Parvina, R., Koa, J. and Yang, H.S. 2020. “Effects of clove extract on oxidative stability and sensory attributes in cooked beef patties at refrigerated storage.” **Meat Science**. 161 : 1-8.
- Ziober, I.L., Paiao, F.G., Marchi, D.F., Coutinho, L.L., Binneck, E., Nepomuceno, A.L. and Shimokomaki, M. 2010. “Heat and chemical stress modulate the expression of the alpha-RYR gene in broiler chickens.” **Genetics and Molecular Research**. 9 : 1258-1266.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 1 คุณภาพทางด้านเคมี-กายภาพของไส้กรอกไก่ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกแบบมีอากาศที่เก็บรักษานาน 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	สูตรไส้กรอก (T)*							ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน) (D)							P-value			
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	SEM	0	7	14	21	28	35	42	SEM	T	D	Interaction
ค่าความเป็นกรดต่าง	6.33 ^b	6.43 ^a	6.33 ^b	6.33 ^b	6.33 ^b	6.32 ^b	0.006	6.51 ^a	6.41 ^b	6.40 ^c	6.30 ^d	6.29 ^{de}	6.28 ^e	6.28 ^e	0.006	0.000	0.000	0.060
ค่าสูญเสียน้ำในการเก็บรักษา	3.03 ^a	3.02 ^a	2.89 ^b	2.81 ^c	2.77 ^{cd}	2.75 ^d	0.020	-	2.40 ^f	2.58 ^c	2.71 ^d	2.90 ^c	3.18 ^b	3.60 ^a	0.020	0.000	0.000	0.642
ค่าสี																		
ค่าความสว่าง	67.52	67.52	67.56	67.57	67.60	67.60	0.078	67.38	67.46 ^b	67.54 ^{ab}	67.61 ^{ab}	67.61 ^{ab}	67.65 ^{ab}	67.67 ^a	0.084	0.967	0.170	0.796
ค่าสีแดง	8.66	8.70	8.75	8.75	8.75	8.76	0.039	8.70	8.75	8.77	8.66	8.71	8.74	8.75	0.042	0.423	0.545	1.000
ค่าสีเหลือง	21.66 ^{ab}	21.78 ^a	21.72 ^{ab}	21.69 ^{ab}	21.79 ^a	21.63 ^b	0.046	21.62 ^b	21.7 ^{ab}	21.66 ^{ab}	21.72 ^{ab}	21.72 ^{ab}	21.81 ^a	21.74 ^{ab}	0.050	0.082	0.202	0.540
ค่าองศาของสี	68.20	68.21	68.06	68.03	68.12	67.94	0.100	68.07	68.02	67.95	68.26	68.13	68.15	68.07	0.108	0.364	0.542	0.999
ค่าความสดใสของสี	23.33 ^b	23.45 ^{ab}	23.41 ^{ab}	23.38 ^{ab}	23.48 ^a	23.33 ^b	0.044	23.30 ^b	23.39 ^{ab}	23.37 ^{ab}	23.38 ^{ab}	23.39 ^{ab}	23.49 ^a	23.44 ^{ab}	0.048	0.083	0.172	0.714
ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม																		
ค่าความแข็ง (N)	12.64	12.62	12.62	12.60	12.59	12.60	0.084	11.35 ^c	11.36 ^c	11.45 ^c	12.06 ^d	13.09 ^c	14.22 ^b	14.74 ^a	0.090	0.998	0.000	1.000
ค่าการเกาะตัวกัน (ratio)	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.002	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.002	0.788	0.637	0.865
ค่าความเหนียว (N)	8.97	8.93	8.95	8.93	8.94	8.88	0.068	8.05 ^c	8.11 ^c	8.11 ^c	8.51 ^d	9.27 ^c	10.04 ^b	10.49 ^a	0.074	0.962	0.000	1.000
ค่าความยืดหยุ่น (ratio)	0.87	0.87	0.87	0.86	0.86	0.87	0.003	0.87	0.87	0.86	0.86	0.87	0.86	0.86	0.003	0.894	0.412	0.339
ค่าการเลี้ยว (N)	7.76	7.73	7.76	7.72	7.72	7.69	0.065	6.99 ^c	7.00 ^c	7.00 ^c	7.33 ^d	8.02 ^c	8.67 ^b	9.06 ^a	0.071	0.970	0.000	1.000

*T1 = ไส้กรอกควบคุม, T2 = ไส้กรอกที่เติมโซเดียมซิเตรต 1.5%, T3 = ไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.18%, T4 = ไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25%, T5 = ไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.31% และ T6 = ไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.37%

^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางภาคผนวกที่ 2 คุณภาพทางด้านเคมี-กายภาพของไส้กรอกไก่ในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศที่เก็บรักษานาน 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	สูตรไส้กรอก (T)*							ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน) (D)							P-value			
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	SEM	0	7	14	21	28	35	42	SEM	T	D	Interaction
ค่าความเป็นกรดต่าง	6.34 ^b	6.44 ^a	6.34 ^b	6.34 ^b	6.34 ^b	6.33 ^b	0.002	6.51 ^a	6.41 ^b	6.36 ^c	6.32 ^d	6.29 ^c	6.29 ^c	6.28 ^c	0.002	0.000	0.000	0.061
ค่าสูญเสียน้ำในการเก็บรักษา	2.98 ^a	2.96 ^a	2.83 ^b	2.76 ^c	2.73 ^{cd}	2.70 ^d	0.140	-	2.32 ^f	2.53 ^e	2.67 ^d	2.81 ^c	3.13 ^b	3.53 ^a	0.014	0.000	0.000	0.639
ค่าสี																		
ค่าความสว่าง	67.60	67.59	67.59	67.58	67.65	67.58	0.054	67.64	67.64	67.62	67.61	67.59	67.56	67.50	0.058	0.938	0.583	0.796
ค่าสีแดง	8.65	8.70	8.70	8.72	8.71	8.72	0.033	8.70	8.71	8.68	8.68	8.68	8.72	8.73	0.035	0.636	0.926	1.000
ค่าสีเหลือง	21.67	21.72	21.71	21.65	21.71	21.67	0.031	21.62 ^{ab}	21.68 ^{ab}	21.69 ^{ab}	21.63 ^{ab}	21.60 ^b	21.71 ^{ab}	21.75 ^a	0.044	0.394	0.160	0.535
ค่าองศาของสี	68.25	68.17	68.16	68.06	68.14	68.08	0.081	68.08	68.10	68.18	68.18	68.16	68.19	68.13	0.088	0.639	0.956	1.000
ค่าความสดใสของสี	23.34	23.40	23.39	23.34	23.39	23.36	0.031	23.30 ^{ab}	23.35 ^{ab}	23.33 ^{ab}	23.32 ^{ab}	23.26 ^b	23.38 ^{ab}	23.43 ^a	0.043	0.553	0.179	0.712
ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม																		
ค่าความแข็ง (N)	12.63	12.63	12.63	12.62	12.61	12.62	0.068	11.35 ^c	11.42 ^c	11.42 ^c	12.17 ^d	13.13 ^c	14.19 ^b	14.71 ^a	0.106	1.000	0.000	1.000
ค่าการเกาะตัวกัน (ratio)	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.002	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.002	0.600	0.600	0.860
ค่าความเหนียว (N)	9.00	8.98	8.99	9.00	8.94	8.96	0.053	8.05 ^c	8.07 ^c	8.15 ^c	8.62 ^d	9.34 ^c	10.11 ^b	10.51 ^a	0.057	0.966	0.000	1.000
ค่าความยืดหยุ่น (ratio)	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.002	0.87	0.87	0.86	0.87	0.87	0.86	0.86	0.083	0.894	0.800	0.344
ค่าการเคี้ยว (N)	7.79	7.80	7.78	7.81	7.74	7.77	0.049	6.99 ^c	7.02 ^c	7.04 ^c	7.47 ^d	8.11 ^c	8.75 ^b	9.09 ^a	0.076	0.682	0.000	1.000

*T1 = ไส้กรอกควบคุม, T2 = ไส้กรอกที่เติมโซเดียมซีเตรต 1.5%, T3 = ไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.18%, T4 = ไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25%, T5 = ไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.31% และ T6 = ไส้กรอกที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.37%

^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางภาคผนวกที่ 3 คุณภาพทางด้านเคมี-กายภาพของไส้กรอกไก่ในบรรจุภัณฑ์ปิดผนึกแบบมีอากาศที่เก็บรักษานาน 63 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	สูตรไส้กรอก (T)*								ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน) (D)											P-value			
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	SEM	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	SEM	T	D	Interaction
ค่าความเป็นกรดต่าง	6.21 ^{bc}	6.20 ^b	6.28 ^a	6.29 ^a	6.21 ^{cd}	6.21 ^{bcd}	6.20 ^d	6.20 ^d	0.002	6.38 ^a	6.38 ^a	6.31 ^b	6.30 ^c	6.29 ^d	6.28 ^c	6.26 ^f	6.16 ^e	6.03 ^h	5.89 ⁱ	0.002	0.000	0.000	0.000
ค่าสูญเสียไขมันในการเก็บรักษา (%)	3.58 ^a	3.58 ^a	3.56 ^a	3.57 ^a	3.33 ^b	3.33 ^b	3.35 ^b	3.35 ^b	0.014	-	2.44 ⁱ	2.50 ^h	2.60 ^g	2.87 ^f	3.25 ^e	3.60 ^d	4.12 ^c	4.64 ^b	5.09 ^a	0.015	0.000	0.000	0.000
ค่าสี																							
ค่าความสว่าง	67.69	67.61	67.62	67.67	67.64	67.6	67.70	67.65	0.047	67.34 ^d	67.34 ^d	67.55 ^c	67.46 ^{cd}	67.46 ^{cd}	67.60 ^c	67.75 ^b	67.86 ^b	68.04 ^a	68.13 ^a	0.053	0.890	0.000	0.984
ค่าสีแดง	8.56 ^b	8.56 ^b	8.51 ^b	8.50 ^b	8.68 ^a	8.71 ^a	8.67 ^a	8.67 ^a	0.034	8.51 ^c	8.56 ^{bc}	8.58 ^{abc}	8.59 ^{abc}	8.66 ^{ab}	8.68 ^a	8.67 ^{ab}	8.64 ^{ab}	8.61 ^{abc}	8.57 ^{abc}	0.038	0.000	0.023	0.600
ค่าสีเหลือง	21.77	21.70	21.67	21.75	21.74	21.68	21.78	21.76	0.037	21.60 ^b	21.64 ^b	21.63 ^b	21.73 ^{ab}	21.66 ^b	21.73 ^{ab}	21.83 ^a	21.79 ^a	21.82 ^a	21.84 ^a	0.041	0.287	0.000	0.490
ค่าของสีของสี	68.53 ^{ab}	68.46 ^{abc}	68.53 ^{ab}	68.63 ^a	68.23 ^{cd}	68.09 ^d	68.28 ^{bcd}	68.25 ^{cd}	0.082	68.48 ^{ab}	68.42 ^{ab}	68.35 ^{ab}	68.42 ^{ab}	68.19 ^b	68.21 ^b	68.32 ^{ab}	68.36 ^{ab}	68.45 ^{ab}	68.56 ^a	0.092	0.000	1.000	0.604
ค่าความสดไสของสี	23.39 ^{ab}	23.33 ^{ab}	23.28 ^{bb}	23.35 ^{ab}	23.40 ^a	23.37 ^{ab}	23.44 ^a	23.42 ^a	0.037	23.22 ^d	23.27 ^{cd}	23.27 ^{cd}	23.37 ^{abc}	23.33 ^{bcd}	23.40 ^{ab}	23.49 ^a	23.44 ^{ab}	23.46 ^a	23.46 ^a	0.041	0.066	0.000	0.489
ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม																							
ค่าความแข็ง (N)	14.16	14.16	14.17	14.15	14.14	14.16	14.15	14.17	0.063	11.34 ^h	11.36 ^g	11.44 ^h	12.05 ^e	13.12 ^d	14.59 ^c	15.67 ^d	16.36 ^c	17.24 ^b	18.36 ^a	0.071	1.000	0.000	1.000
ค่าการเกาะตัวกัน (ratio)	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.002	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.72	0.72	0.72	0.002	0.689	0.000	1.000
ค่าความเหนียว (N)	10.10	10.09	10.04	10.07	10.07	10.08	10.06	10.10	0.054	8.01 ^b	8.05 ^b	8.07 ^b	8.52 ^e	9.25 ^f	10.29 ^c	11.19 ^d	11.72 ^c	12.42 ^b	13.19 ^a	0.060	0.992	0.000	1.000
ค่าความยืดหยุ่น (ratio)	0.87	0.87	0.87	0.86	0.86	0.86	0.87	0.87	0.002	0.87	0.87	0.86	0.86	0.87	0.87	0.86	0.87	0.86	0.87	0.002	0.587	0.028	0.325
ค่าการเคี้ยว (N)	8.75	8.75	8.71	8.70	8.70	8.71	8.73	8.76	0.052	6.96 ^b	7.01 ^b	6.97 ^b	7.33 ^e	8.00 ^f	8.94 ^c	9.66 ^d	10.19 ^c	10.73 ^b	11.41 ^a	0.058	0.977	0.000	1.000
ค่า TBARs (mg MDA/kg meat)	0.84 ^a	0.74 ^b	0.82 ^a	0.74 ^b	0.72 ^b	0.72 ^b	0.73 ^b	0.74 ^b	0.015	0.17 ⁱ	0.21 ⁱ	0.30 ^h	0.41 ^g	0.58 ^f	0.79 ^e	0.96 ^d	1.16 ^c	1.38 ^b	1.60 ^a	0.016	0.000	0.000	0.000

* T1 = กลุ่มควบคุม, T2 = กลุ่มที่เติม BHA 0.01%, T3 = กลุ่มที่เติม โซเดียมซัลเฟต 1.5%, T4 = กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซัลเฟต 1.5%, T5 = กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25%, T6 = กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25%, T7 = กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% และ T8 กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75%

^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางภาคผนวกที่ 4 คุณภาพทางด้านเคมี-กายภาพของไส้กรอกไก่ในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศที่เก็บรักษานาน 63 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	สูตรไส้กรอก (T)*									ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน) (D)									P-value				
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	SEM	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	SEM	T	D	Interaction
ค่าความเป็นกรดต่าง	6.19 ^c	6.19 ^b	6.26 ^a	6.26 ^a	6.18 ^c	6.18 ^c	6.18 ^c	6.18 ^d	0.001	6.38 ^a	6.38 ^a	6.31 ^b	6.30 ^c	6.29 ^d	6.28 ^c	6.26 ^f	6.11 ^e	5.94 ^h	5.80 ⁱ	0.001	0.000	0.000	0.000
ค่าสูญเสียไนโตรเจนระหว่างการเก็บรักษา (%)	3.46 ^a	3.45 ^a	3.45 ^a	3.45 ^a	3.22 ^b	3.22 ^b	3.24 ^b	3.24 ^b	0.005	-	2.38 ⁱ	2.44 ^h	2.53 ^g	2.80 ^f	3.13 ^e	3.48 ^d	3.96 ^c	4.46 ^b	4.91 ^a	0.005	0.000	0.000	0.000
ค่าสี																							
ค่าความสว่าง	67.74 ^a	67.61 ^b	67.66 ^{ab}	67.69 ^{ab}	67.67 ^{ab}	67.67 ^{ab}	67.70 ^{ab}	67.67 ^{ab}	0.036	67.29 ^f	67.34 ^f	67.52 ^e	67.50 ^e	67.51 ^e	67.70 ^d	67.76 ^d	67.90 ^c	68.04 ^b	68.19 ^a	0.041	0.344	0.000	0.989
ค่าสีแดง	8.55 ^b	8.55 ^b	8.53 ^b	8.54 ^b	8.71 ^a	8.64 ^{ab}	8.68 ^a	8.70 ^a	0.033	8.53 ^b	8.67 ^a	8.53 ^b	8.68 ^a	8.59 ^{ab}	8.65 ^{ab}	8.63 ^{ab}	8.64 ^{ab}	8.58 ^{ab}	8.61 ^{ab}	0.037	0.000	0.039	0.602
ค่าสีเหลือง	21.73	21.71	21.69	21.72	21.73	21.73	21.70	21.75	0.026	21.60 ^c	21.67 ^{abc}	21.63 ^{bc}	21.70 ^{bc}	21.63 ^{bc}	21.75 ^{abc}	21.73 ^{abc}	21.78 ^{ab}	21.81 ^a	21.82 ^a	0.029	0.826	0.000	0.488
ค่าอวกาศของสี	68.47 ^a	68.51 ^a	68.51 ^a	68.48 ^a	68.14 ^b	68.35 ^{ab}	68.12 ^b	68.18 ^b	0.085	68.44 ^{ab}	68.20 ^{ab}	68.47 ^{ab}	68.16 ^b	68.30 ^{ab}	68.33 ^{ab}	68.24 ^{ab}	68.35 ^{ab}	68.51 ^a	68.44 ^{ab}	0.095	0.000	0.128	0.609
ค่าความสดใสของสี	23.31 ^b	23.34 ^{ab}	23.32 ^{ab}	23.31 ^{ab}	23.40 ^a	23.42 ^a	23.30 ^b	23.41 ^{ab}	0.035	23.23 ^c	23.37 ^{ab}	23.26 ^{bc}	23.35 ^{abc}	23.25 ^{bc}	23.44 ^a	23.30 ^{bc}	23.43 ^a	23.43 ^a	23.44 ^a	0.039	0.053	0.000	0.486
ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม																							
ค่าความแข็ง (N)	14.20	14.20	14.19	14.19	14.18	14.18	14.19	14.19	0.052	11.34 ^h	11.39 ^h	11.43 ^h	12.12 ^e	13.12 ^f	14.61 ^c	15.70 ^d	16.42 ^c	17.32 ^b	18.40 ^a	0.058	1.000	0.000	1.000
ค่าการเกาะตัวกัน (ratio)	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.001	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.72	0.72	0.72	0.002	0.987	0.000	1.000
ค่าความเหนียว (N)	10.10	10.11	10.08	10.10	10.09	10.09	10.09	10.11	0.044	8.02 ^b	8.06 ^b	8.06 ^b	8.56 ^e	9.29 ^f	10.31 ^e	11.20 ^d	11.77 ^c	12.43 ^b	13.20 ^a	0.049	1.000	0.000	1.000
ค่าความยืดหยุ่น (ratio)	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.001	0.87	0.87	0.87	0.86	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.002	0.383	0.381	0.321
ค่าการเคี้ยว (N)	8.75	8.77	8.72	8.75	8.73	8.75	8.77	8.77	0.041	6.96 ^h	7.00 ^h	6.98 ^h	7.39 ^g	8.05 ^f	8.93 ^c	9.72 ^d	10.22 ^c	10.77 ^b	11.45 ^a	0.045	0.979	0.000	1.000
ค่า TBARs (mg MDA/kg meat)	0.81 ^a	0.72 ^b	0.80 ^a	0.71 ^b	0.69 ^b	0.69 ^b	0.69 ^b	0.70 ^b	0.011	0.17 ⁱ	0.20 ^f	0.26 ^h	0.37 ^g	0.54 ^f	0.76 ^e	0.91 ^d	1.14 ^c	1.35 ^b	1.55 ^a	0.013	0.000	0.000	0.000

* T1 = กลุ่มควบคุม, T2 = กลุ่มที่เติม BHA 0.01%, T3 = กลุ่มที่เติม โซเดียมซีเตรต 1.5%, T4 = กลุ่มที่เติม BHA 0.01% และ โซเดียมซีเตรต 1.5%, T5 = กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25%, T6 = กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 25%, T7 = กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 50% และ T8 กลุ่มที่เติมเอกโซโพลีแซคคาไรด์ 0.25% และลดปริมาณไนไตรท์และอิริทอร์เบต 75%

^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์ค่าออกซิเดชันของไขมันด้วยเทคนิค Thiobarbituric acid reactive substance (TBARs)

1.1 0.02M Phosphate buffer

KH₂PO₄ 0.6092 กรัม/ลิตร

K₂HPO₄ 2.7041 กรัม/ลิตร

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

1.2 TBA solution

2-Thiobarbituric acid 3.75 กรัม

Trichloroacetic acid 150 กรัม

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

2. การเตรียมสารละลายสำหรับการตรวจวัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH)

2.1 DPPH 0.2 mM

DPPH 0.0078 กรัม

95% ethanol 100 มิลลิลิตร

นำ DPPH มาละลายใน 95% ethanol จะได้สารละลายสีม่วงเก็บในภาชนะปิดสนิทให้ปลอดภัย แสงและอากาศ

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 จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (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 จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

3. สารละลายเปปโติน 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 จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (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

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

- 1) นำไข่ไก่สดแช่ใน 95% alcohol เป็นเวลา 20 นาที
- 2) นำไข่ไก่ในข้อที่ 1) วางบนกระดาษทิชชู ที่งให้ แอลกอฮอล์ระเหย
- 3) ตอกไข่ในตู้ปลอดเชื้อ โดยการแยกไข่ขาวออกจากไข่แดง โดยนำไข่แดง (ไข่แดง 5%) ใส่งในบีกเกอร์ที่ปลอดเชื้อ 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

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 จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจูลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

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 กรัมในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจูลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (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 ผสมให้เข้ากันด้วยเทคนิคปลอดเชื้อก่อนเทอาหาร

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 จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจูลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที (autoclave 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

ทำการละลาย Listeria selective supplement โดยปีเปต 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 จากนั้นนำไปทำให้ปลอดเชื้อจุกินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (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

น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

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

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นายอุดม หลีวรวงศ์
วัน เดือน ปีเกิด	2 กุมภาพันธ์ 2539
ที่อยู่	1990/13 ตำบลพระโขนง อำเภอคลองเตย จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10110
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2556 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนพระโขนงวิทยาลัย จังหวัดกรุงเทพมหานคร พ.ศ. 2560 หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สัตว์และประมง สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร พ.ศ. 2563 หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีการ ผลิตสัตว์สัตว์และประมง สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยี การเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร
ผลงานทางวิชาการ	“Antimicrobial and antioxidant activities of bacterial exopolysaccharide in chicken sausage.” The 17 th National Kasetsart University Kamphaeng Saen Conference (The 17 th KU-KPS Conference).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้