สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนไนไตรท์

นางสาวจิรารัตน์ จิตรานุวัฒน์กุล
นางสาวจุฑามาศ สวนแก้ว
นายสมเจษฐ์ อยู่ญาติมาก

วท.
ศ๒๑๙
๑๕๘๐

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 72590
วัน,เดือน,ปี 20 มิ.ย. 2550

b 11769762
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Studies on Shelf life of Chinese Sausage from Nata-*Monascus purpureus* TISTR 3090 As an Alternative to Nitrite

Miss Jirarat Chitranuwatkul

Miss Chuthamat Suankaew

Mr. Somjade Yooyartmark

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2006

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนไนไตรท์
นักศึกษา	นางสาวจิรารัตน์ จิตรานุวัฒน์กุล
	นางสาวจุฑามาศ สวนแก้ว
	นายสมเจษฐ์ อยู่ญาติมาก
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดวงใจ โอชัยกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ.ลินจง สุขลำภู
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์	คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง	
กรรมการ	รศ.ดวงใจ โอชัยกุล	
กรรมการ	ผศ.ลินจง สุขลำภู	

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนไนไตรท์

นักศึกษา นางสาวจิรารัตน์ จิดรานุวัฒน์กุล
นางสาวจุฑามาศ สวนแก้ว
นาย สมเจษฐ์ อยู่ญาดิมาก

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดวงใจ โอชัยกุล

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ลินจง สุขลำภู

บทคัดย่อ

ศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนไนไตรท์โดยใช้ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.10 และ 0.05 เปรียบเทียบค่าสีและผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสกับกุนเชียงที่ใช้ไนไตรท์ซึ่งเป็นสูตรควบคุม พบว่ากุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ทั้งสองความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) กับกุนเชียงสูตรควบคุม ดังนั้นจึงเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ ร้อยละ 0.05 ในการศึกษาอายุการเก็บรักษา

ศึกษาการเลือกใช้ชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมในการบรรจุกุนเชียงโดยเปรียบเทียบระหว่างถุงสองชนิดคือโพลีอะครีลาไมด์และโพลีโพรไพลีน พบว่ากุนเชียงบรรจุในถุงชนิดโพลีอะครีลาไมด์มีระดับคะแนนความพึงพอใจของผู้บริโภคมากกว่าถุงชนิดโพลีโพรไพลีน ดังนั้นจึงเลือกถุงชนิดโพลีอะครีลาไมด์เป็นบรรจุภัณฑ์ในการศึกษาอายุการเก็บรักษา

ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 เพื่อทดแทนไนไตรท์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 เปรียบเทียบกับสูตรควบคุมเป็นระยะเวลา 11 สัปดาห์ พบว่าเมื่อระยะเวลาเก็บรักษาเพิ่มขึ้นกุนเชียงทั้งสองสูตรจะมีค่าความหืนและปริมาณจุลินทรีย์แอนแอโรบิกแบคทีเรียเพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่า water activity และค่าความชื้นลดลง เมื่อทำการวัดสีในระบบ L* a*และ b* พบว่าค่า L*ของสูตรควบคุมค่อนข้างคงที่แต่สูตรผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 มีแนวโน้มค่า L*ลดลง ค่าa* ของทั้งสองสูตรค่อนข้างคงที่ และค่า b* ของสูตรควบคุมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแต่ค่า b* ค่อนข้างคงที่ในสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 กุนเชียงสูตรควบคุมมีค่าความคงตัวของสีสูงกว่ากุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 เมื่อสิ้นสุดอายุการเก็บรักษาระดับการยอมรับโดยรวมของผู้บริโภคของทั้งสองสูตรไม่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากคุณสมบัติด้านต่างๆ ที่ตรวจสอบสรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 สามารถใช้เป็นสารทดแทนไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียงได้ ภายในช่วงอายุการเก็บรักษาที่ระยะเวลาไม่เกิน 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Studies on Shelf life of Chinese Sausage from Nata-*Monascus purpureus* TISTR 3090 As an Alternative to Nitrite
Name	Miss Jirarat Chitranuwatkul
	Miss Chuthamat Suankaew
	Mr. Somjade Yooyartmark
Department	Applied Biology
Program	Industrial Microbiology
Academic Year	2006
Special Project Advisor	Assoc. Prof.Duangjai Ochaikul
Special Project co-advisor	Assist. Prof.Linchong Suklumpoo

ABSTRACT

Aim of this project was reduced amount of products from *Monascus purpureus* TISTR 3090 – nata complex as an alternative to nitrite in chinese sausage. Amount of products 0.05% ,0.10% of meat weight were assessed by sensory panels and compared with nitrite used control products. The results found chinese sausage with 0.05% product from *Monascus purpureus* TISTR 3090 – nata complex obtained the high acceptability score in all characteristics, no significant difference from control sample ($P \leq 0.05$).So we used products from *Monascus purpureus* TISTR 3090 with 0.05 % for study on shelf life.

Study on selected type of packaging which contain products by compared with PA-bag and PP-bag the result showed that PA-bag has a higher score by consumer,so we choosed PA-bag packaging for study on shelf life.

Study on shelf life of chiness sausage from nata-*Monascus purpureus* TISTR 3090 0.05% as an alternative to nitrite compared with control sample which contain nitrite by storaged room temperature in vaccum condition for 11 weeks. For measuring of physical chemical and biological characteristic found that chinese sausage with 0.05% products from *Monascus purpureus* TISTR 3090 – nata complex and control have an incrcased trend of rancidity and anaerobic bacteria whereas moisture contend and water activity have an decreased. For color measuring, the results showed that L* value of control samples was constanted while products from *Monascus purpureus* TISTR 3090 – nata complex was reduced. Both of samples had a constanted a* value. b* Value of control samples was dccreased whereas products from *Monascus purpureus* TISTR 3090 – nata complex was constanted and found that control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

samples have a higher score of stability of colors than chinese sausage with 0.05% of product,but there are non different of a satisfied.

When consider the total characteristic of this product. The result showed that control and chinese sausage with 0.05% product from *Monascus purpureus* TISTR 3090 – nata complex were non different from each other in duration time of six weeks , so the total shelf life of chinese sausage with 0.05% products from *Monascus purpureus* TISTR 3090 – nata as an alterntive to nitrite was about six weeks.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ซึ่งสำเร็จได้ด้วยการสนับสนุนและการช่วยเหลือจากบุคคลผู้มีอุปการคุณหลายท่าน

ขอขอบพระคุณ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษา และกรรมการโครงงานพิเศษที่กรุณาเป็นอย่างยิ่งในการให้คำปรึกษาระหว่างการค้นคว้าวิจัยตลอดจนการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ที่สุด

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง และผศ.ลินจง สุขลำภู ที่เป็นประธานกรรมการและกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษ ที่ช่วยในการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่าน ที่ให้การเอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีต่าง ๆ สำหรับใช้ในการทดลอง และช่วยอำนวยความสะดวกในด้านต่าง ๆ ทำให้โครงงานพิเศษสามารถสำเร็จได้

สุดท้ายนี้ต้องขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และรุ่นพี่ เพื่อน ๆ ทุกท่าน และผู้มีส่วนร่วมในโครงงานพิเศษทุกท่าน ที่ให้การสนับสนุนและเป็นส่วนหนึ่งในความสำเร็จนี้

นางสาวจิรารัตน์ จิตรานุวัตน์กุล
นางสาวจุฑามาศ สวนแก้ว
นายสมเจษฐ์ อยู่ญาติมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	4
2.1 ประวัติและความสำคัญของเชื้อราโมแนสคัส	4
2.2 การจัดจำแนกเชื้อรา *Monascus* sp.	4
2.3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราโมแนสคัส	5
2.4 สายพันธุ์ต่าง ๆ ของเชื้อราโมแนสคัส	6
2.5 สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส	7
2.6 คุณสมบัติของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส	15
2.7 สภาวะที่ใช้เลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส	15
2.8 การใช้ประโยชน์	22
2.9 ความปลอดภัยของสารสีโมแนสคัส	25
2.10 การตรวจสอบความเป็นพิษของสารสีโมแนสคัส	25
2.11 บทบาทของสารเคมีที่ใช้ในการหมักเชื้อต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์สัตว์	25
2.12 สารป้องกันการเสื่อมเสียจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมี	35
2.13 การผลิตและแปรรูปรุ้นมะพร้าว	37
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	52
3.1 เชื้อจุลินทรีย์และอาหารเลี้ยงเชื้อ	52
3.2 วัตถุดิบ และสารเคมี	52
3.3 อุปกรณ์	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4 วิธีการทดลอง	53
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	58
4.1 การใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นน้ำมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ในการตกแต่งและทดแทนปริมาณไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง	58
4.2 การศึกษาชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมในการบรรจุกุนเชียง	59
4.3 ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียง	60
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	73
เอกสารอ้างอิง	75
ภาคผนวก	80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณแร่ธาตุและวิตามิน พันธุ์ข้าวหอมมะลิและข้าวแดงที่ผลิตได้ 22

ตารางที่ 2.2 ปริมาณไนเตรทในน้ำที่ประเทศไทยกำหนด 31

ดารางที่ 2.3 ปริมาณไนเตรท ไนไตรท์สูงสุดเท่าที่ยอมให้มีในอาหารที่สหภาพโซเวียตแนะนำ 32

ตารางที่ 2.4 ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบของวุ้นมะพร้าว 39

ตารางที่ 2.5 ผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ ในการสังเคราะห์เซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* 42

ตารางที่ 2.6 แสดงอัตราเร็วของปฏิกิริยาและการเจริญของจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในอาหารตามชนิดของน้ำหรือค่า Aw ที่มีอยู่ในอาหาร 50

ตารางที่ 3.1 แสดงสูตรควบคุมของกุนเชียง 55

ตารางที่ 4.1 ผลค่า L* a* b* ของสีภายในของกุนเชียงสูตรต่างๆ 58

ตารางที่ 4.2 ผลวิเคราะห์ค่าการทดสอบทางประสาทสัมผัสของกุนเชียงชนิดต่างๆ 59

ตารางที่ 4.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่บรรจุในถุงพลาสติกชนิดโพลีอะคริลไมด์และถุงพลาสติกชนิดโพลีโพรไพลีนหลังจากเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 7วัน 60

ตารางที่ 4.4 ค่า L* ของกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์ 61

ตารางที่ 4.5 ค่า a* ของกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์ 62

ตารางที่ 4.6 ค่า b* ของกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์ 63

ตารางที่ 4.7 ความคงตัวของสี (Δ E) ในกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์ 64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 4.8 ค่า Water activity ของกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 11 สัปดาห์ 66

ตารางที่ 4.9 ค่าความชื้นของผลิตภัณฑ์กุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 11 สัปดาห์ 67

ตารางที่ 4.10 ค่าความหืนของผลิตภัณฑ์กุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 11 สัปดาห์ 69

ตารางที่ 4.11 จำนวนแอนแอโรบิกแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์กุนเชียง ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์ 70

ตารางที่ 4.12 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของกุนเชียง หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องห้องเป็นระยะเวลา 11 สัปดาห์ 72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1 แสดงวงจรชีวิตของเชื้อราโมแนสคัส 6

ภาพที่ 2.2 ความสัมพันธ์ระหว่างจุดสำคัญในการแบ่งสายพันธุ์ของสกุลโมแนสคัส 7

ภาพที่ 2.3 การเกิดสาร 6 – MSA และ orsellinic acid จาก acetyl และ malonyl unit 9

ภาพที่ 2.4 เปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ fatty acid synthase กับ polyketide synthases 10

ภาพที่ 2.5 โครงสร้างเคมีของรงควัตถุที่แยกจาก *Monascus* spp. 11

ภาพที่ 2.6 โครงสร้างทางโมเลกุลของสารสีที่สกัดได้จากการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. 13

ภาพที่ 2.7 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสารสีที่สร้างจากเชื้อรา *Monascus* sp. 14

ภาพที่ 2.8 สีของข้าวแดงที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp. 22

ภาพที่ 2.9 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเชื้อรา *Monascus* sp. 23

ภาพที่ 2.10 สูตรโครงสร้างไอโซเมอร์ของไนเตรท 26

ภาพที่ 2.11 สูตรโครงสร้างไอโซเมอร์ของไนไตรท์ 26

ภาพที่ 2.12 pathwayการสังเคราะห์เส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรีย 40

ภาพที่ 2.13 แสดงสูตรโครงสร้างและการจัดเรียงตัวของโพลีเอทธิลีน 49

ภาพที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการผลิตกุนเชียง 56

ภาพที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงค่า L*ของผลิตภัณฑ์กุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์ 61

ภาพที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่า a*ของผลิตภัณฑ์กุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์ 62

ภาพที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่า b*ของกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์ 63

ภาพที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าความคงตัวของสีในกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์ 65

ภาพที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงค่า Water activity (a_w)ของผลิตภัณฑ์กุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์ 66

ภาพที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงค่าความชื้นในผลิตภัณฑ์กุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์ 68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงค่าความหืนในผลิตภัณฑ์กุนเชียง ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์ 69

ภาพที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงจำนวนแอนแอโรบิกแบคทีเรีย ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์ 71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

วุ้นมะพร้าว หรือวุ้นน้ำมะพร้าว หรือวุ้นสวรรค์ หรือลูกพร้าว หรือวุ้นส้ม หรือเห็ดชาแดง หรือเห็ดรัสเซีย หรือเห็ดกัมพูชา เป็นผลิตภัณฑ์อุสาหกรรมเกษตรที่น่าสนใจ เนื่องจากผลิตได้ง่ายในครัวเรือนและระดับอุตสาหกรรม ต้นทุนในการผลิตต่ำ เพราะใช้น้ำมะพร้าวแก่ที่เหลือทิ้งมาใช้ให้เกิดประโยชน์ วุ้นที่ได้สามารถนำมาแปรรูปเป็นอาหารคาวหวานได้มากมายหลายชนิด อาหารคาวจะปรุงโดยใช้วุ้นสวรรค์แทนเนื้อปลาหมึกหรือแมงกะพรุน ทำยำต่างๆ แกงเผ็ด แกงจืด ผัดเผ็ด ผัดกระเพรา เป็นต้น อาหารหวาน ได้แก่ วุ้นในน้ำเชื่อม วุ้นกรอบ เยลลี่ รวมมิตร แยมวุ้นสวรรค์ อีกทั้งหลังการหมักจะได้น้ำส้มสายชูเป็นผลพลอยได้ด้วย วุ้นมะพร้าว จัดเป็นแผ่นวุ้นชนิดเซลลูโลสเจล (gelatinous bacterial cellulose) ที่สร้างขึ้นโดยแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* subspecies *xylinum* หรือ *Acetobacter xylinum* นอกจากแบคทีเรียสกุล *Acetobacter* แล้วยังมีแบคทีเรียสกุลอื่นๆ ที่สร้างวุ้นชนิดนี้ ได้แก่ *Rhizobium Alcaligenes Agrobacterium* และ *Pseudomonas* เป็นต้น

แบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* เป็นแบคทีเรียที่นิยมนำมาใช้ผลิตวุ้นมะพร้าว จัดอยู่ในสกุล *Acetobacter spp.* เรียกกันทั่วไปว่า Acetic acid bacteria หรือแบคทีเรียน้ำส้มสายชูเป็นเชื้อที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต โคโลนีที่ขึ้นอยู่บนอาหารวุ้นมีลักษณะกลมนูน ทึบแสงสีน้ำตาลอ่อน ผิวเรียบมัน มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 2 มิลลิเมตร สามารถผลิตวุ้นเซลลูโลสได้ที่ผิวหน้าของอาหารเหลว หากหมักด้วยน้ำมะพร้าวทางฟิลิปินส์จะเรียกว่า Nata de Coco หากหมักด้วยน้ำสับปะรดจะเรียกว่า Nata de Pina ซึ่งวุ้นมะพร้าว หรือวุ้นสวรรค์นี้ มีชื่อเป็นภาษาอังกฤษว่า Bacterial celluloseเนื่องจากวุ้นมะพร้าวมีปริมาณเส้นใยอาหารอยู่มากเป็น Micro-Fibrill Cellulose ที่มีความละเอียดอ่อนและนุ่มกว่า Dietary Fiber ที่พบในผักผลไม้ เมื่อรับประทานแล้วจะไปช่วยในระบบการย่อยและขับถ่ายของร่างกาย สามารถช่วยระบายพิษและลดปัญหาที่เกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารและระบบขับถ่ายได้เป็นอย่างดี คุณประโยชน์ของการบริโภคอาหารที่มีเส้นใยสูง จะช่วยในการควบคุมน้ำหนัก ช่วยป้องกันโรคท้องผูก โรคมะเร็งในลำไส้ใหญ่ โรคริดสีดวงทวาร ลดการเกิดคลอเรสเตอรอลในเส้นเลือด และยังช่วยลดการดูดซึมสารพิษต่างๆ ในระบบการย่อยของร่างกายด้วย การบริโภคอาหารที่มีเส้นใยเป็นประจำมีผลดีต่อสุขภาพ โดยเฉพาะผู้ที่ไม่ชอบทานผักและผลไม้ หรือผู้ที่กลัวสารพิษตกค้าง ยาฆ่าแมลงในผักผลไม้ อาจหันมาบริโภควุ้นมะพร้าวแทนได้ วุ้นมะพร้าวนอกจากจะมีปริมาณเส้นใยสูงและแคลอรี่ต่ำแล้ว ยังมีแร่ธาตุอื่นๆ อยู่ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Monascus purpureus เป็นเชื้อราที่สร้างเส้นใยที่แท้จริงและสร้างสารสีแดงในกระบวนการหมักแบบอาหารแข็งบนข้าวนึ่ง ขนมปัง รำข้าว และธัญพืชต่างๆ โดยมีการใช้เป็นสารให้สีและกลิ่นรสตามธรรมชาติมาเป็นเวลานานแล้ว (Su, 1980.,Wong และคณะ,1981., Lin และ Demain ,1991) ปัจจุบันมีการศึกษาถึงการควบคุมโครงสร้างของเชื้อรา *Monascus purpureus* เพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตสารสีแดงจากการหมัก สารสีที่สร้างจากเชื้อรา *Monascus* นั้นมีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศแถบเอเชีย และมีการศึกษาวิจัยกันมากในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาเนื่องจากสารสีเหล่านี้สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุปรุงแต่งอาหารได้ เชื้อราชนิดนี้มีใช้กันมาแต่ดั้งเดิมในประเทศจีนและประเทศไทยในการใช้ผลิตข้าวแดง ข้าวหมักที่มีสีแดงเข้ม ซึ่งนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน และใช้เป็นสารให้สีในผลิตภัณฑ์ต่างๆด้วย เช่น ไวน์ เนยแข็ง และ เนื้อสัตว์ในบรรดาสีที่ผลิตได้จากเชื้อ *Monascus* นี้ สีแดงเป็นสีที่ค่อนข้างมีความสำคัญที่สุด เพราะสามารถนำมาใช้แทนสารไนไตรท์ ในผลิตภัณฑ์จำพวกเนื้อได้ และสามารถนำมาใช้แทนสีสังเคราะห์พวก erythrosine ได้ นอกจากนี้สารสีที่ได้จากเชื้อ *Monascus* ยังมีราคาถูก มีความปลอดภัยสูง คงตัวต่อ pH และความร้อน อีกทั้งยังไม่พบว่าเป็นสารก่อมะเร็งเหมือนสีผสมอาหารที่ได้จากการสังเคราะห์อีกด้วย จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสีที่ได้จากเชื้อรา *Monascus purpureus* พบว่าไม่มีพิษต่อการฟักตัวของไข่ไก่ ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมของเม็ดเลือดขาว ไม่พบความผิดปกติในหนูทดลอง (บุษบา และคณะ , 2531) และยังประกอบด้วยสารที่ใช้เป็นยารักษาโรค เช่น Monakolin k (mevinolin) (Jurlova และคณะ, 1996)ในการเลี้ยง *Monascus* ร่วมกับวุ้นมะพร้าวจะทำให้วุ้นมะพร้าวมีสีแดงเนื่องจากสารสีที่*Monascus*สร้างขึ้น สามารถนำวุ้นมะพร้าวสีแดงนี้มาใช้เป็นสารแต่งสีอาหารให้มีสีแดงซึ่งจะลดอันตรายที่จะเกิดแก่ผู้บริโภคอันเนื่องมาจากสีผสมอาหารหรือสารสีอื่นๆที่ไม่ได้มาตรฐาน

ณัฐวดีและคณะ (2548) ศึกษาการนำวุ้นมะพร้าวเลี้ยงร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3050 เมื่อได้วุ้นมะพร้าวที่มีสีแดงแล้ว จากนั้นพัฒนาเป็นผงวุ้นสีแดง ทำให้สะดวกต่อการนำไปใช้งาน มีน้ำหนักเบา และสามารถเก็บได้นาน และนำผงวุ้นสีแดงที่ได้มาทดแทนไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง พบว่า การใช้ผงวุ้นสีแดง 0.1% ของน้ำหนักเนื้อหมู ทำให้สี รสชาติ และการทดสอบทางประสาทสัมผัสไม่แตกต่างกับผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่เป็นชุดควบคุม (ใช้ผงเพรกซึ่งมีส่วนประกอบของไนไตรท์) คุณภาพสำคัญของผลิตภัณฑ์กุนเชียง ได้แก่ สี กลิ่น ความชื้น และจำนวนจุลินทรีย์ ซึ่งคุณภาพเหล่านี้จะมีผลต่ออายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียง ดังนั้นเพื่อให้สามารถรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์กุนเชียงได้ตามกำหนดเวลาที่ต้องการและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคนั้น จำเป็นต้องเลือกใช้ภาชนะบรรจุที่เหมาะสมที่จะช่วยป้องกันไม่ให้ผลิตภัณฑ์กุนเชียงสูญเสียสภาพ รวมทั้งอุณหภูมิในการเก็บรักษาด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. ศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง
2. ศึกษาอายุการเก็บรักษาและความคงตัวของสีในผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนไนไตรท์

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่ใช้ผงวุ้นมะพร้าวสีแดงทดแทนไนไตรท์ โดยศึกษาชนิดของภาชนะบรรจุที่ใช้ในการเก็บรักษา ติดตามการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและทางกายภาพระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียง พร้อมทั้งประเมินผลทางประสาทสัมผัส

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เป็นการใช้สารสีจากธรรมชาติในการปรุงแต่งผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ และทดแทนไนไตรท์ ทำให้ผู้บริโภคมีความปลอดภัยมากขึ้น และทำให้รู้ชนิดของภาชนะบรรจุในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียงให้มีคุณภาพที่ดีและเก็บได้นาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ประวัติและความสำคัญของเชื้อราโมแนสคัส

Monascus purpureus เป็นเชื้อราที่ค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1884 โดย Van Tieghem แบ่งเป็น 4 กลุ่ม โดยอาศัยลักษณะทางสรีรวิทยาและความสามารถในการสร้างเอนไซม์ ได้แก่ *M. pilosus, M. purpureus, M. ruber* และ *M. floridanas* สามารถเจริญได้ดีในอาหารแข็งในรูปของข้าวแดง เพื่อใช้ปรุงแต่งสีในไวน์ เต้าหู้ยี้ ใช้ถนอมอาหารประเภทเนื้อ ใช้รักษาโรครวมทั้งใช้เป็นสีผสมอาหาร ยาและเครื่องสำอาง ต่อมาได้ผลิตเป็นการค้าในประเทศญี่ปุ่น ได้หวัน และจีน ในปี 1973 ได้เริ่มมีการทดลองเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว โดย Lin ได้แยกเชื้อราจากข้าวแดง และพบว่าเชื้อราเหล่านี้สร้างสารสีในอาหารเหลวได้ดีเช่นกัน

ต่อมาได้มีการปรับปรุงสายพันธุ์ของเชื้อราเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสร้างสารสี โดยใช้วิธีต่างๆ เช่น ใช้สารก่อการกลายพันธุ์ (Mutagen) การใช้รังสีต่างๆ การใช้เทคนิคโปรโตรพลาสต์ฟิวชั่น การปรับปรุงกรรมวิธีในการเลี้ยงเชื้อทั้งแบบครั้งคราว (batch culture) แบบป้อน (fed – batch culture) และการใช้วิธีการตรึงเซลล์

เชื้อราโมแนสคัสนอกจากจะสามารถสร้างสารสีได้แล้ว ยังสามารถสร้างสารอื่นที่เป็นประโยชน์อีกหลายชนิด ในปี 1977 Wong และ Bau รายงานถึงการค้นพบสารต่อต้านแบคทีเรียจากเชื้อรา *M. purpureus* ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อที่เป็นสาเหตุให้อาหารเน่าเสีย เช่น *Bacillus* sp. *Streptococcus* sp. และ*Pseudomonas sp.* เป็นต้น สารนี้มีชื่อว่า monascidin A นอกจากนี้ยังพบการสร้างเอนไซม์ โคเอนไซม์ เอทานอล สารโมนาโคลิน (monacolins) ที่ใช้ยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล สารลดความดันโลหิต และสารช่วยในการตกตะกอน (flocculant) อีกด้วย

2.2 การจัดจำแนกเชื้อรา *Monascus* sp.

เชื้อราโมแนสคัสสามารถจัดจำแนกได้ดังนี้

Class	Ascomycetes
Subclass	Plectomycetidae
Order	Eurotiales
Genus	Monascus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

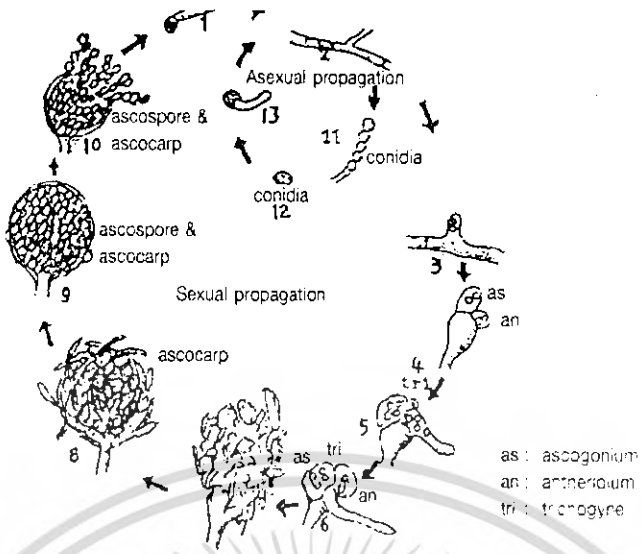
2.3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราโมแนสคัส

เชื้อราโมแนสคัส (*Monascus* spp.) เคยจัดอยู่ในวงศ์ Aspergillaceae อันดับ Plectascales แต่ปัจจุบันจัดอยู่ในวงศ์ Monascusceae กลุ่ม Ascomycetes กลุ่มย่อย Plectomycetidae อันดับ Eurotiales (Alexopoulos และ Mims, 1979., Hawksworth และคณะ, 1995) เส้นใยมีผนังกั้น มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ เส้นใยมีการแตกกิ่งก้านสาขามากมายและมักเจริญแบบชิดเกาะแน่นบนผิวของอาหารแข็ง เส้นใยอายุอ่อนมีสีขาวแต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีแดงม่วง

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ มีการสร้างโคนิเดียเจริญมาจากโคนิดิโอฟอร์ (conidiophore) โคนิเดียมีลักษณะกลมหรือรูปไข่ อาจมีอันเดียวหรือเกิดติดต่อกันเป็นลูกโซ่ (Hawksworth และ Pitt , 1983) โคนิเดียมักไม่มีสี แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะเกิดสีแดงได้บ้าง โคนิดิโอฟอร์มีขนาดสั้นอาจมีผนังกั้น 0-1 ด้าน ถ้ามีขนาดยาวจะมีผนังกั้น 2-6 ด้าน เป็นสายตรงหรือขดเป็นเกลียว และเปลี่ยนเป็นสีแดง เมื่ออายุแก่ขึ้น การงอกของโคนิเดียจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสูตรอาหาร เช่น C Medium (Hiroi และคณะ, 1979) เหมาะสมสำหรับการเกิดโคนิเดียของโมแนสคัส นอกจากนั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นอีกหลายประการ เช่น อายุสปอร์ ความหนาแน่นของสปอร์ ความเป็นกรดเป็นด่าง แสงและอุณหภูมิ เช่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปโคนิเดียจะงอกภายใน 4 ชั่งโมง เมื่อมีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมด้วยการสร้าง germ-tube ขึ้นมา 1 อัน หรือ 2 อัน ซึ่งการงอกของโคนิเดีย กระตุ้นได้ด้วยคาร์โบไฮเดรตหลายชนิด (Wong และ Bau, 1978)

ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อราโมแนสคัส คล้ายๆกับเชื้อราอื่นใน Class Ascomycetes มีการสร้างเพอริทีเซียม (perithecium) ซึ่งเป็นแอสโคคาร์ป (ascocarp) มีรูปร่างกลม โดยจะเกิดบนก้าน (Kolotila, 1978) ที่มีหรือไม่มีผนังกั้นก็ได้ แอสโคคาร์ปเกิดขึ้นบนเส้นใยซึ่งเป็นแบบโฮโมแทลลิก โดยสร้างโครงสร้างออกมา 2 ชนิด คือแอนเทอริเดียม (antheridium) แอสโคโกเนียม (ascogonium) เกิดการฟิวชัน (fusion) ที่ปลายแอสโคโกเนียมกับส่วนฐานหรือส่วนกลางของแอนเทอริเดียม แล้วจึงจะมีการวิวัฒนาการต่อไป คือแบ่งเซลล์แบบไมโอซีส ตามมาด้วยไมโตซีส มี daughter nuclei จากการแบ่งตัว มีการขยายผนังเซลล์รวมออกเรียกว่า การสร้างแอสโคคาร์ปขึ้นในที่สุด ภายในเพอริทีเซียมมีแอสโคสปอร์มากมาย โดยแอสโคสปอร์จำนวน 2-8 รวมอยู่ภายในแอสคัส แอสโคสปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่ อาจมีสีน้ำตาล สีแดง สีส้ม หรือไม่มีสี เมื่อผนังแอสโคคาร์ปแตกออกก็จะปล่อยแอสโคสปอร์งอกเป็นเส้นใยใหม่ขึ้น วัฏจักรชีวิตของเชื้อรานี้แสดงในภาพที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.1 แสดงวงจรชีวิตของเชื้อราโมแนสคัส

ที่มา : Lin และ Demain (1991)

2.4 สายพันธุ์ต่างๆ ของเชื้อราโมแนสคัส

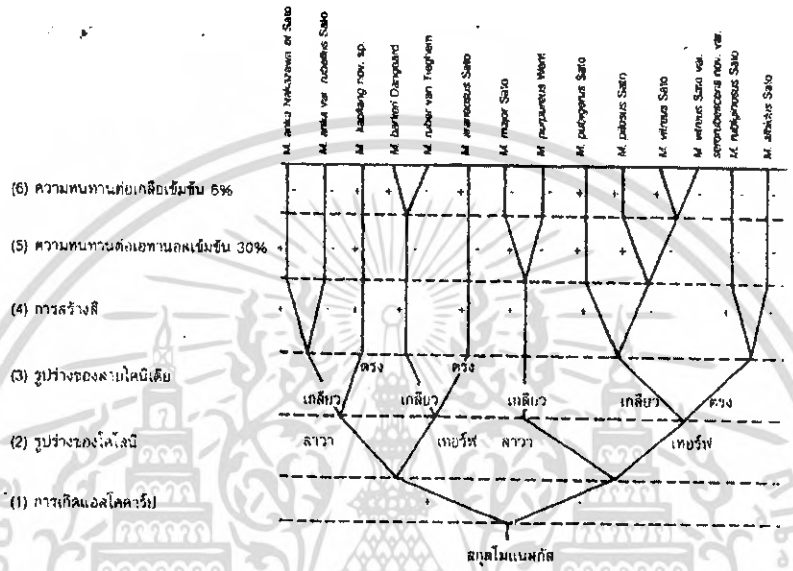
ปี ค.ศ. 1884 Van Tieghem ได้แยกและให้ชื่อเชื้อราโมแนสคัส และแบ่งได้เป็น 2 สายพันธุ์ คือ *M. mucoroides* และ *M. ruber* ต่อมาปี ค.ศ. 1895 Went ได้แยกสายพันธุ์สำคัญ คือ *M. purpureus* จากข้าวแดง หรืออังคัก ปัจจุบันมีการรวบรวมเชื้อราโมแนสคัสโดยคณะนักวิจัยหลายกลุ่ม แต่ละกลุ่มก็ใช้หลักการแตกต่างกันในการแบ่งสายพันธุ์ เช่น โดยอาศัยสมบัติสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา แสดงไว้ในภาพที่ 2.2 ใช้เฉพาะสัณฐานวิทยา (Hawksworth และ Pitt, 1983)

เชื้อราโมแนสคัสทั้ง 4 สายพันธุ์ คือ *M. pilosus, M. purpureus, M. ruber* และ *M. floridanus* นอกจากจะแตกต่างกันด้านลักษณะทางสรีรวิทยาแล้ว ทางด้านเอนไซม์วิทยายังต่างกันอีกด้วย โดยเชื้อราในกลุ่ม *M.pilosus* พบกิจกรรมเอนไซม์ β-galactosidase และ α-glucosidase *M. purpureus* พบเอนไซม์ polypectase และ cystine arylamidase และพบเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสใน *M. ruber* (Bridge และ Hawksworth ,1985) ส่วน *M. floridanus* เป็นสายพันธุ์เดียวที่พบกิจกรรมเอนไซม์ trypsinase แต่ไม่พบเอนไซม์ valine arylamidase เหมือนสายพันธุ์อื่น (Bridge และ Hawksworth, 1985) ส่วน Nishikawa และคณะ, (1988) ได้พบว่าเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ต่าง ๆ ส่วนใหญ่จะมีเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีเอสมากกว่าแอซิดโปรตีเอส และมีน้อยชนิดที่มีเอนไซม์โปรตีเอสทั้ง 2 แบบ

ต่อมา Nishikawa และ lizaka (1993) ได้เสนอความสัมพันธ์ของสายพันธุ์ต่าง ๆ ของเชื้อราโมแนสคัสโดยใช้หลักการวิเคราะห์ acrylamide gel electrophoresis สามารถแบ่งเชื้อรานี้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือกลุ่มที่ I และกลุ่มที่ II โดยอาศัยความเหมือนกันของวิทยาเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์ เอสเทอเรส แลคเตตดีไฮโดรจีเนส แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส และกลูโคส-6-ฟอตเฟสดีไฮโดรจีเนส ส่วนในประเทศอิรักมีรายงานพบสายพันธุ์ใหม่ของเชื้อราโมแนสคัส คือ *M. pallens* และ *M. sangulneus* (Cannon และคณะ, 1995) ล่าสุด Udagawa และ Baba (1998) ได้รายงานว่าพบสายพันธุ์ใหม่คือ *M. lunisporus* เทคนิคทางพันธุกรรมได้ถูกนำมาใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อราข้าวแดง ริเริ่มโดยคณะวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ชุลี, 2536)



ภาพที่ 2.2 ความสัมพันธ์ระหว่างจุดสำคัญในการแบ่งสายพันธุ์ของสกุลโมแนสคัส
+ เกิด , สร้าง ; - ไม่เกิด , ไม่สร้างลาวา (lava) โคโลนีลักษณะผิวหน้าภูเขาไฟ
เทอร์ฟ (turf) โคโลนีลักษณะเรียบแบบสนามหญ้า
ที่มา : ดัดแปลงมาจาก Lizuka and Lin (1991)

2.5 สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

2.5.1 สารสีจากเชื้อโมแนสคัส

เป็นสารประเภทโพลีคีไทด์ (polyketide) ที่เกิดจากการรวมตัวของ acetyl unit 1 หน่วยกับ malonyl unit 3 หน่วยขึ้นไปได้เป็นไพรเมอร์ (primer) และปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา วิถีการสังเคราะห์สารโพลีคีไทด์เหมือนกับกรดไขมันแต่ไม่พบสารตัวกลางที่เกิดจากปฏิกิริยารีดักชันในการสังเคราะห์สารโพลีคีไทด์นั้นสายของโพลีคีไทด์จะยาวขึ้นตามจำนวนของคาร์บอน 2 หน่วยที่มาจาก malonyl unit ที่ถูกเติมเข้าไปในสายไพร์เมอร์เกิดเป็น triketide tetraketide pentaketide และ polyketides ตามลำดับ ต่อจากนั้นเกิดปฏิกิริยา cyclisation และ aromatization ได้เป็นสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6-methylsalicylic acid หรือ orsellinic acid ซึ่งเป็นสาร tetraketide เริ่มต้นที่จะนำไปสู่การสังเคราะห์สารโพลีคีไทด์อื่นๆ ต่อไป ดังภาพที่ 2.3

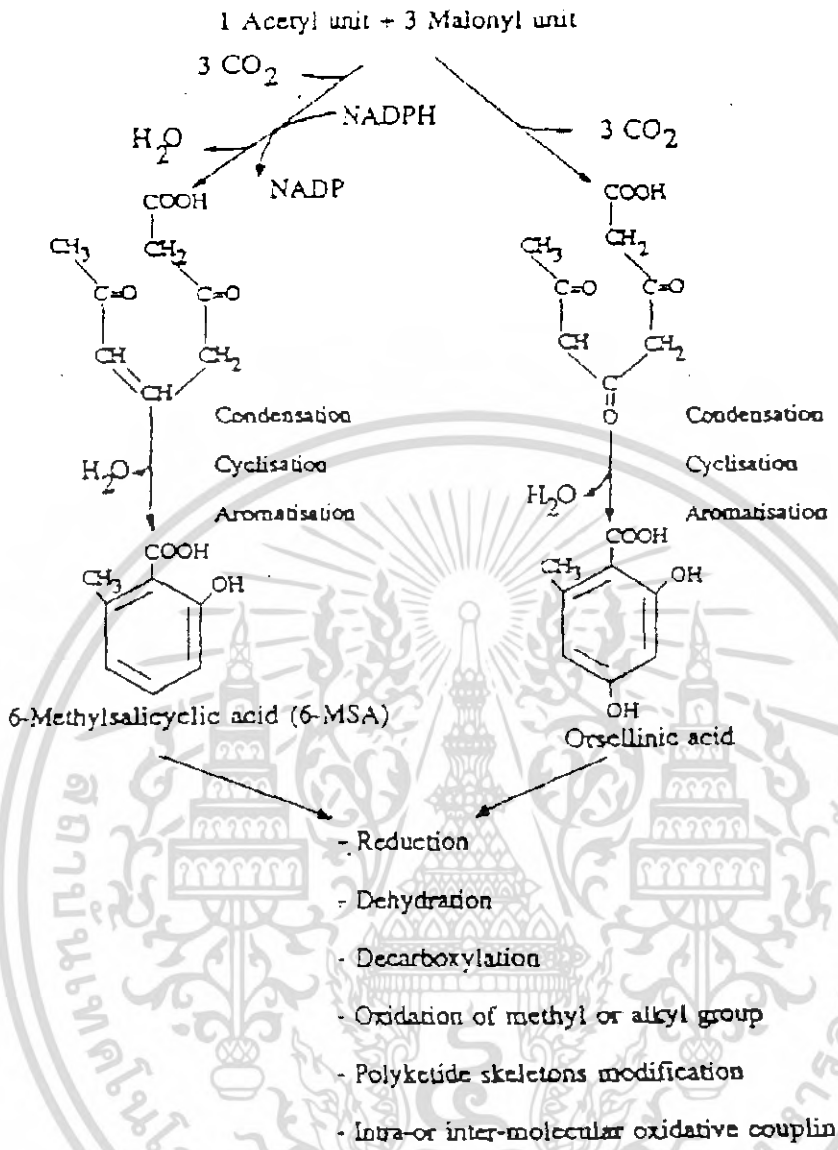
เมื่อได้สารเริ่มต้นแล้วปฏิกิริยาที่จะเกิดขึ้นต่อไปขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์นั้น ๆ เช่น อาจมีการเติม หรือดึงออกซิเจนออกจากโครงสร้างของสารเกิดปฏิกิริยา decarboxylation มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างรูปหรือยักย้ายหมู่ต่าง ๆ ภายในโมเลกุลของสารเกิด intra- หรือ inter molecular oxidative coupling หรือให้เกิดพันธะระหว่าง C-C หรือ C=O เป็นต้น

สารสีที่สกัดได้จาก *Monascus* sp. เช่น rubropunctatin จาก *M. rubropuntatus* monascorbrin จาก *M. purpureus* และ monascin (monascoflavin) จาก *Monascus* sp. เป็นสารประเภทโพลีคีไทด์ ซึ่งเป็นเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ โดยผลิตขึ้นมาคล้ายกับกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน

เชื่อว่าเอนไซม์โพลีคีไทด์ เป็นเอนไซม์ที่ใช้สังเคราะห์สารโพลีคีไทด์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับยีนที่สังเคราะห์เอนไซม์ fatty acid synthase อย่างใกล้ชิด จากการจำลองตัวเองที่ผิดพลาดของยีนทำให้สูญเสียขั้นตอนรีดักชันไป ทำให้เอนไซม์ polyketide synthase ที่ทำหน้าที่สังเคราะห์โพลีคีไทด์แทนที่จะเป็น fatty acid synthase ซึ่งมีหน้าที่สังเคราะห์กรดไขมัน ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสอง แสดงดังภาพที่ 2.4

การสังเคราะห์โพลีคีไทด์ถูกยับยั้งด้วยแสงสีน้ำเงิน โดยพบว่าแสงสีน้ำเงินจะกระตุ้นให้เชื้อราสร้างโคนิเดีย เบต้าแคโรทีนและกรดไขมัน แทนสารโพลีคีไทด์ โดยไปมีผลต่อเอนไซม์ที่ใช้สังเคราะห์หรือควบคุมวิถีการสร้างโพลีคีไทด์ การได้รับแสงสีน้ำเงินเวลาเพียง 2 นาทีก็สามารถยับยั้งการสังเคราะห์สารโพลีคีไทด์ได้แล้ว

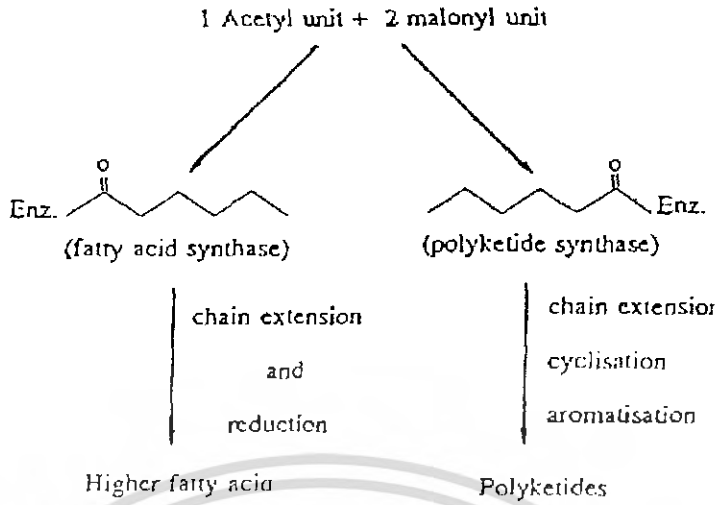
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.3 การเกิดสาร 6 – MSA และ orsellinic acid จาก acetyl และ malonyl unit

ที่มา : นิสา (2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.4 เปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ fatty acid synthase กับ polyketide synthases
ที่มา : นิสา (2537)

2.5.2 สารสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส เชื้อรา *Monascus* spp. ผลิตสารสีชนิดต่าง ๆ ดังนี้

1. โมนาสโคฟลาวิน (monascoflavin) แยกได้เป็นครั้งแรกพร้อมกับสารโมนาสโครูบรินจากเชื้อรา *M. purpureus Wentii* เป็นสารสีในกลุ่มสีเหลือง สูตรโมเลกุลคือ $C_{21}H_{26}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 358 ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปีดังนี้ λ^{MeOH}_{max} 225 228 385 mμ มีจุดหลอมเหลว 143-155 องศาเซลเซียส สารสีโมนาสโคฟลาวินเป็นตัวเดียวกันกับสารสีโมนาสซิน (monascin) ซึ่งแยกได้จากเชื้อรา *M. rubiginousus*

2. อังคักฟลาวิน (ankaflavin) เป็นสารสีในกลุ่มสีเหลือง สูตรโมเลกุลคือ $C_{23}H_{30}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 386 มีจุดหลอมเหลว 120-121 องศาเซลเซียส ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปี ดังนี้ λ^{dioxan}_{max} 212 228 382 mμ สารสีอังคักฟลาวินมีสูตรโครงสร้างสัมพันธ์กับสารสีโมนาสซิน เช่นเดียวกับสารสีรูโบรพังทาทินที่มีสูตรสัมพันธ์กับสารสีโมนาสโครูบริน

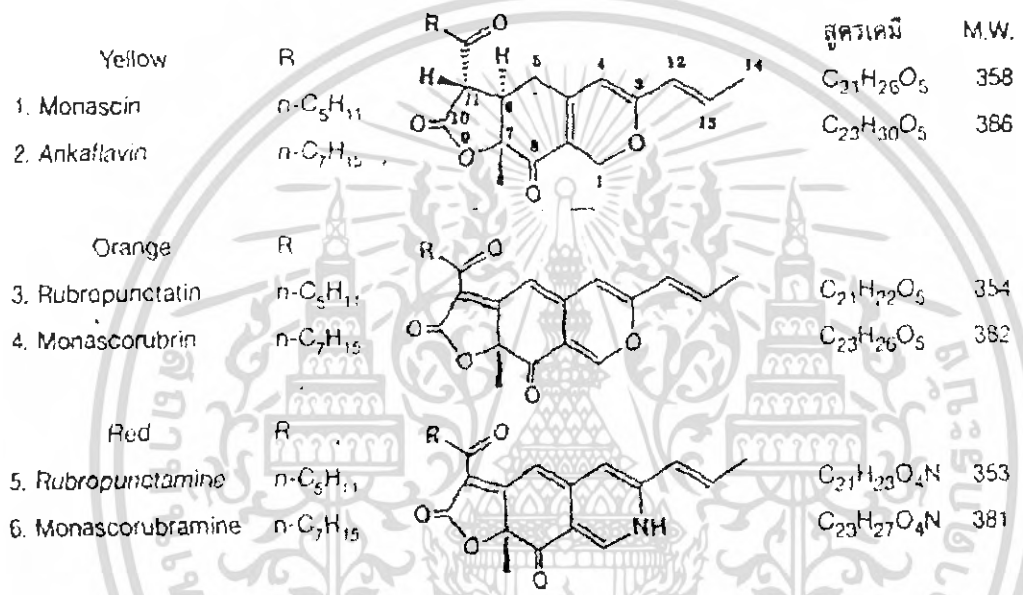
3. รูโบรพังทาทิน (robropunctatin) เป็นสารสีในกลุ่มสีส้ม สูตรโมเลกุลคือ $C_{21}H_{22}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 354 สารสีรูโบรพังทาทินสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนียมในอาหารเลี้ยงเชื้อได้สารรูโบรพังทาทินซึ่งสามารถทำปฏิกิริยาต่อได้กับสังกะสีและกรดแอซิติกได้อะโปรูโบรพังทามีน (aporubropunctamine) สารนี้มีผลึกรูปเข็มสีแดง มีจุดหลอมเหลว 156-157 องศาเซลเซียส

4. โมนาสโครูบิน (monascorubin) เป็นสารสีในกลุ่มสีส้ม สูตรโมเลกุลคือ $C_{23}H_{26}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 382 ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปีดังนี้ λ^{EtOH}_{max} 253 302 352 mμ มีจุดหลอมเหลว 134-136 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. รูโบรพังทามีน (robropunctamine) เป็นสารสีในกลุ่มสีแดง สูตรโมเลกุลคือ$C_{21}H_{23}O_4N$ น้ำหนักโมเลกุล 353 สารรูโบรพังทามีนเกิดจากสารรูโบรพังทาทินทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนียม

6. โมนาสโครูบรามีน (monascorubramine) เป็นสารสีในกลุ่มสีแดง สูตรโมเลกุลคือ $C_{23}H_{27}O_4N$ และน้ำหนักโมเลกุล 381 มีจุดหลอมเหลว 207-208 องศาเซลเซียส สารโมนาสโครูบรามีนเกิดจากสารโมนาสโครูบรินทำปฏิกิริยากับอนุมูลแอมโมเนียม ดังภาพที่ 2.5



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างเคมีของรงควัตถุที่แยกจาก *Monascus* spp.

ที่มา : บุษบา (2542)

โดยสารสีเหล่านี้เป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่เชื้อราสร้างขึ้นพร้อม ๆกับการเจริญหรือสร้างหลังจากการเจริญหยุดลงแล้ว มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับสารในกลุ่ม Azaphiloner เช่น sclerotiorin และ rotiorin

Haws และคณะ (1959) พบว่าเมื่อนำเส้นใยที่ได้จากการเจริญของเชื้อรา *M.purpureus* ในอาหารเหลว czapek dox อายุ 14-20 วัน มาสกัดด้วย light petroleum และอีเทอร์จะได้สารสีส้มของ rubropunctatin ($C_{21}H_{22}O_5$) และสาสีเหลือง monascin ($C_{21}H_{26}O_5$) สารสีส้ม rubropuntatin ละลายในสารละลายอินทรีย์เกือบทุกชนิด แต่ไม่ละลายในโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ที่อุณหภูมิต่ำ และเมื่อนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลายแอมโมเนียจะได้สารสีม่วงของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

rubropunctamine ที่ละลายในแอลกอฮอล์ได้ดีที่สภาวะเป็นด่าง แต่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ที่สภาวะเป็นกรดและไม่ละลายในน้ำ เมื่อนำมาทำให้เกิดการรีดักชันด้วยผงสังกะสีจะได้สารไม่มีสี

สารสี rubropunctatin พบครั้งแรกใน *M. rubrapunctatus* โดย Sato ซึ่งแยกมาจาก *M.purpureus* Carels และ Shepherd (1997) พบว่าถ้ามีแอมโมเนียมไนเตรทในปริมาณ 5-10 กรัมต่อลิตร จะทำให้เชื้อสร้างสารสีค่อนข้างแดง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไนโตรเจนมากขึ้นสารสีแดงจะเพิ่มขึ้น ยกเว้นการเพิ่มในปริมาณมากๆ ที่จะไปยับยั้งการเจริญและการสร้างสารสี เนื่องจากสีแดงส่วนมากได้มาจากอาหารที่มีกลูโคสอยู่น้อย เนื่องจากการเจริญของเส้นใยที่ความเข้มข้นของกลูโคสสูงอาหารจะมีความเป็นกรดมากซึ่งจะไม่ผลิตสารสีแดงออกมา ดังนั้นที่ความเข้มข้นของกลูโคสสูงๆ เส้นใยอาจจะต้องการสารประกอบไนโตรเจนเพื่อเป็นองค์ประกอบโครงสร้างของเส้นใยในการเจริญเติบโต

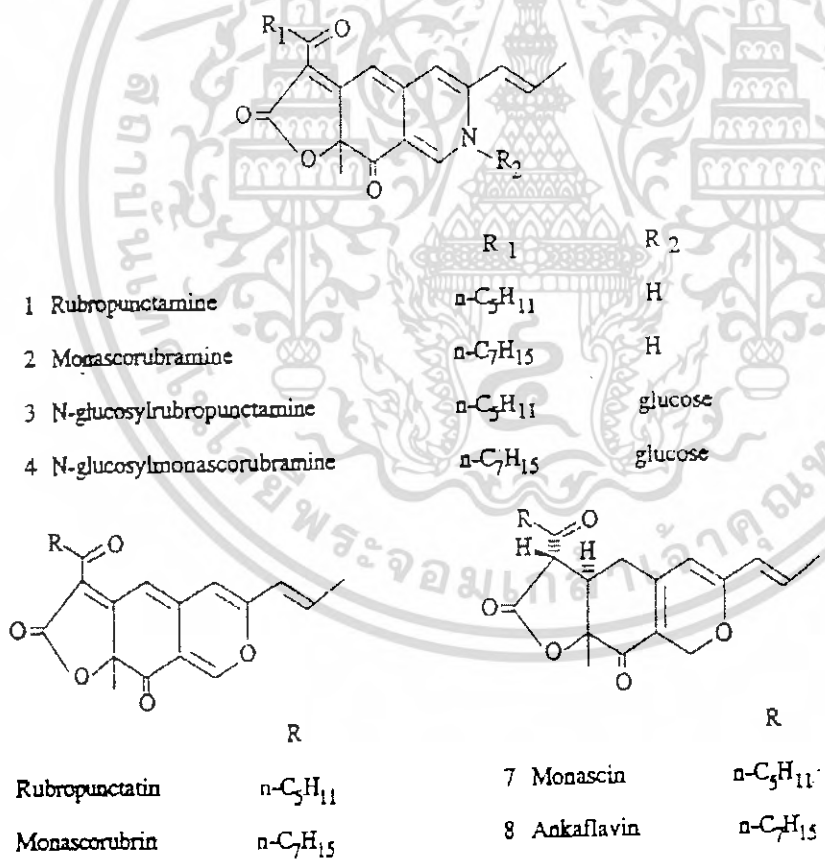
Carels และ Shepherd (1997) พบว่าการสร้างสารสีของเชื้อราโมแนสคัส ขึ้นอยู่กับชนิดของแหล่งไนโตรเจน และพีเอชเริ่มต้นในการเลี้ยงเชื้อ เมื่อแหล่งไนโตรเจนเป็นยีสต์เอกซ์แทรคหรือไนเตรตที่พีเอช 6.5 จะสร้างสารสีแดง และจะสร้างสารสีส้มในอาหารที่มีแอมโมเนียมหรือแอมโมเนียมไนเตรตที่พีเอช 2.5 โดยปรับให้มีพีเอชในอาหารเริ่มต้นเท่ากับ 5.5 แต่พีเอชสุดท้ายจะแตกต่างกันไปตามชนิดของอาหารนั้น ๆ พบว่าเชื้อราจะสร้างสารสีแดง ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างหมู่เอมีน (NH-group) ของกรดอะมิโนในอาหารเลี้ยงเชื้อ และในเซลล์กับสารสีส้ม monascorbrin หรือ rubropunctatin ที่เชื้อราสังเคราะห์ขึ้น ปฏิกิริยานี้ไม่เกิดขึ้นที่พีเอชของการเลี้ยงเชื้อเป็นกรด จึงพบเฉพาะสารสีส้มที่เชื้อราสังเคราะห์ขึ้นเท่านั้น แต่ถ้าพีเอชสุดท้ายของอาหารเลี้ยงเชื้อมากกว่า 6 สารสีส้มจะเปลี่ยนเป็นอนุพันธ์เอมีนของสารสีแดงโดยทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียในน้ำ พบว่าถ้ามีความเข้มข้นแอมโมเนียมไนเตรต 5-10 กรัมต่อลิตร อาจจะมีแอมโมเนียมอิออนอิสระมากกว่าหรือมี อะมิโนกลุ่มอิสระภายในหรือภายนอกเซลล์มากกว่า ซึ่งสามารถที่จะไปทำปฏิกิริยากับสารสีส้มทำให้เปลี่ยนเป็นอนุพันธ์เอมีนของสารสีแดง ส่วนสารสีเหลือง monascin และ ankaflavin นั้นสันนิษฐานว่าได้มาจากการถูกออกซิไดส์ของสารสีส้ม มีรายงานว่าเชื้อราโมแนสคัสสังเคราะห์ได้ทั้งสาร สีส้มและสีเหลือง เฉพาะสารสีแดงเท่านั้นที่เกิดจากปฏิกิริยาทางเคมี ข้อสันนิษฐานดังกล่าวต่างจากการทดลองของ สมชาย (2536) ที่พบว่าเชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์กลายพันธุ์ KB20M10.2 สร้างสารสีเหลืองได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชเป็นกลาง และมีหมู่เอมีนจากกรดอะมิโนเหลือเพียงพอต่อการทำปฏิกิริยา ดังนั้นการสร้างสารสีเหลืองจึงน่าจะมีปัจจัยอื่นๆ เกี่ยวข้องนอกเหนือจากไนโตรเจนและพีเอชเริ่มต้น

Manchand และคณะ (1973) พบว่าเชื้อโมแนสคัสแต่ละสายพันธุ์ให้สารสีแตกต่างกันออกไป *M. rubropunctatus* สร้างสาร rubropunctatin และ monascin *M. purpureus* สร้างสาร monascorubrin และ monascin ส่วน *M. rubriginosus* สร้างเฉพาะสาร monascin เท่านั้น และพบการสร้างสารสีเหลืองตัวใหม่จากเชื้อรา *M. anka* มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับ monascin มีชื่อว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ankaflavin ($C_{23}H_{30}O_5$) ต่อมา ได้ใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆสกัดสารสีออกจากข้าวแดงซึ่งเกิดจากการเจริญของเชื้อรา *M.anka* พบสารสี 3 กลุ่ม คือ สารสีแดงประกอบด้วย rubropunctamine และ monascorubramineสารสีส้มประกอบด้วย rubropunctatin และ monascorubrin และสารสีเหลืองประกอบด้วย monascin และ ankaflavin โครงสร้างโมเลกุลของสารสีทั้ง 3 กลุ่ม แสดงดังภาพที่ 2.6

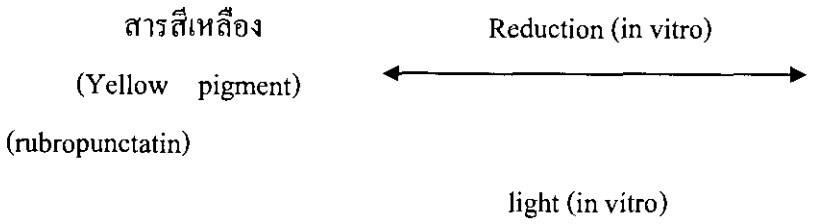
Wong และ Bon (1978) ศึกษาผลของแสงต่อการเปลี่ยนแปลงสารสีที่สร้างจากเชื้อราโมแนสคัสพบว่าแสงอุลตราไวโอเลต และสารบางอย่างที่ได้จากเชื้อ *Bacillus* sp. กระตุ้นให้เชื้อราสายพันธุ์ที่สร้างสารสีได้น้อย หรือไม่สร้างสารสีเลย (albino mutant) สร้างสารสีได้ดีขึ้น ในขณะเดียวกันก็ยับยั้งการสร้างสีในสายพันธุ์ที่สร้างสารสีได้สูง แสงสีขาว แสงสีน้ำเงินและแสงสีแดงกระตุ้นการสร้างสารสีเหลืองแต่ไม่มีผลต่อสารสีแดง ทั้งนี้เนื่องจากสารสีเหลืองทำหน้าที่เป็นตัวรับแสง (photoreceptor) ซึ่งอาจเป็นสารเริ่มต้นหรือสารตัวกลางในกระบวนการสังเคราะห์สารสีก็เป็นได้ สารสีเหลืองนี้สามารถถูกออกซิไดส์ไปเป็นสารสีส้มคือ rubropunctatin ได้ในหลอดทดลอง และปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถเกิดย้อนกลับได้เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสง ดังแสดงดังภาพที่ 2.7



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างทางโมเลกุลของสารสีที่สกัดได้จากการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp.

ที่มา : Sweeny และคณะ. (1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.7 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสารสีที่สร้างจากเชื้อรา *Monascus* sp.

ที่มา : Wong and Bon (1978)

2.5.3 การปล่อยสารสีออกจากเส้นใยของเชื้อราโมแนสคัส

Su และ Huang (1980) กล่าวว่าสารสีที่เชื้อราโมแนสคัสสร้างขึ้นมีลักษณะเป็น granular fluid ซึ่งจะถูกขับออกมาตามช่องหรือรอยแตกของผนังเส้นใยในบางครั้งเมื่อขับออกมาสารสียังคงติดอยู่กับปลายเส้นใย และสะสมจนมีจำนวนมากก่อนหลุดจากเส้นใย สารสีบางส่วนสะสมอยู่ภายในเส้นใยด้วย

Lin และ Iizuka (1982) การทดลองเลี้ยงเชื้อรา *M. kaoliang* R-10847 บนอาหารแข็ง Mantou meal เพื่อศึกษาการสร้างสารสีนอกเซลล์ พบว่าเชื้อราจะเริ่มต้นสร้างสารสีและปล่อยออกมาในวันที่ 1 ของการเจริญพร้อมกับสารสีที่มีลักษณะหนืดชนิดหนึ่ง (viscousus subtance) ทำให้สารสีเกาะติดอยู่กับเส้นใย และสะสมเพิ่มมากขึ้น จนกระทั่งเส้นใยแตกจึงหลุดออกมา ไม่พบการสะสมสารสีภายในเส้นใย

Lin และ Iizuka (1982) พบว่าการชักนำให้เชื้อราเกิดการผ่าเหล่าเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีรอยรั่ว (leakage) ของผนังเส้นใยมากขึ้นส่งผลให้เชื้อราสร้างสารสีได้ดีขึ้นเนื่องจากมีความสมดุลย์ระหว่างการสังเคราะห์สารสี และการปล่อยออกจากเส้นใย การเติมทวิน (Tween) 80 ปริมาณที่เหมาะสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือปรับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นอีกวิธีที่ช่วยให้การปล่อยสารสีออกจากเส้นใยเพิ่มขึ้น

2.5.4 การแยกสีโมแนสคัส

วิธีสกัดสีออกจากเส้นใยจะแตกต่างกันไป ทั้งทางด้านการใช้ตัวทำละลายเป็นตัวสกัดและปริมาณความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ใช้สกัด โดยได้มีการทดลองใช้เมทานอล คลอโรฟอร์ม เอทานอลและ อะซีโตน ในการสกัดสีออกจากเส้นใย พบว่าสารที่สกัดได้ดีที่สุด คือเมทานอล ซึ่งสีที่สกัดได้จะมีค่าดูดกลืนแสงเด่นอยู่ที่ 2 สี ที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร (สีเหลือง) และ 500 นาโนเมตร (สีแดง)

การใช้เอทานอลร้อยละ 50 ในการสกัดสีออกจากเส้นใย นำเอาส่วนใสที่กรองได้ไปวัดค่าสีด้วยสเปกโตโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร นอกจากนี้ยังสามารถวัดค่าสีที่ละลายน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้และสีที่ละลายได้ทั้งในน้ำและละลายในเอทานอลร้อยละ 95 ได้ด้วย นำมาวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตรและ 500 นาโนเมตร

2.6 คุณสมบัติของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

Su และ Huang (1980) ศึกษาคุณสมบัติของสารสีจากเชื้อรา *M. anka* V-204 พบว่าละลายได้ดีในเอทานอลแต่ละลายได้เล็กน้อยในน้ำ สารสีในตัวทำละลายพีเอชต่างกันจะได้เฉดสีแตกต่างกันดังนี้ ที่พีเอช 3.0-4.0 จะเป็นสีส้ม พีเอช 5.0-6.0 เป็นสีแดง และที่พีเอช 7.0-9.0 จะเป็นสีม่วงแดง เมื่อแยกสารสีจากเส้นใยมาทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่ได้จากแป้งถั่วเหลือง จะได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงเข้มละลายในน้ำได้ดี สารสีจะไวต่อแสงเมื่อละลายในน้ำแต่จะทนต่อแสงมากขึ้นเมื่อละลายในเอทานอล และทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสได้ดีเมื่ออยู่ในตัวทำละลายพีเอชเป็นกลางหรือเบส

Sweeny และคณะ (1981) การทดสอบคุณสมบัติของสารสีโดยเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ดีขึ้นคือN-glucosylribropunctamine และ N-glucosylmonascorunramine พบว่าสารทั้งสองคงสภาพต่อแสงแดดได้ดีขึ้นเมื่อเติมสาร quercetin-5-sulfonic acid สำหรับพีเอช 2.8 สาร 6-hydroxy-1,4-naphthoquinone สำหรับพีเอช 6.0 และ สาร 1,4,6-trihydroxynaphthalene ใช้ได้ดีทั้งพีเอช 2.8 และ 6.0 เป็นสารป้องกันการสลายตัวของสารสีจากแดด

Wong และ Koehler (1983) นำสารสีแดงจากเชื้อราโมแนสคัสมาทำปฏิกิริยากับสารที่ไม่เป็นอันตรายและมีราคาถูกเพื่อให้ละลายน้ำได้ดี พบว่าสาร aminoacetic acid และ aminobenzoic acid ใช้กับสารสีแดงได้ดี สารเชิงซ้อนที่ได้คงตัวที่พีเอช 9.2 และพีเอช 7.0 มากกว่าที่พีเอช 3.0 เมื่ออยู่ในตัวทำละลายพีเอชเป็นกลางหรือด่างจะทนความร้อนและแสงอัตราไวโอเลตได้ดี โดยเหลือสารสีมากกว่าร้อยละ 80 เมื่อได้รับแสงอุลตราไวโอเลตนาน 30 ชั่วโมง ส่วนวรรณภา (2529) พบว่าน้ำสีที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัสโดยผ่านกระบวนการใดๆคงตัวได้ดีที่พีเอชเป็นกลางถึงด่างเช่นกัน ทนต่ออุณหภูมิน้ำเดือดนาน 15 นาที และคงตัวได้ดีในสารละลายโซเดียมเบนโซเอท กลีเซอรอล น้ำและกรดอะซิติก

2.7 สภาวะที่ใช้เลี้ยงเชื้อราโมแนสคัส

2.7.1 การเลี้ยงเชื้อราในสภาพหมักแห้ง (Solid cultivation)

ข้าวแดงหรืออังคักเป็นผลิตภัณฑ์สารสีที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนข้าวนึ่งรู้จักกันมาช้านานแถบตะวันออก เช่น ประเทศจีน ประเทศแถบเอเชียใต้ เช่น ได้หวัน มาเลเซีย ฮ่องกง ไทย กัมพูชา ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย เป็นต้น เชื้อราที่เจริญบนข้าวสามารถสร้างสารสีออกมานอกเซลล์ได้มาก ทำให้ไม่เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์สารสี (Johns และ Stuart, 1991) เชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โมแนสคัส สายพันธุ์ที่นิยมใช้หมักข้าวแดงคือ *M. purpureus* และ *M. anka* ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของข้าวแดง มีผู้ศึกษาไว้มากมาย ส่วนใหญ่จะเป็นปัจจัยเกี่ยวกับสายพันธุ์ข้าว สายพันธุ์เชื้อรา สภาวะการเลี้ยง เช่น ความชื้น อุณหภูมิบ่ม ความเป็นกรดต่าง เป็นต้น ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักของโมแนสคัสบนอาหารแข็งเพื่อผลิตสารสีมีดังนี้

2.7.1.1. สายพันธุ์เชื้อราโมแนสคัส โดยทั่วไป เชื้อราโมแนสคัส เมื่อเจริญบนเมล็ดข้าวโดยการงอกของเส้นใยทั้งผิวหน้า และแทรกทะลุเข้าไปในเมล็ดข้าวนั้นก็จะมีการสร้างสารสีได้ภายหลังจากการบ่มไปได้นาน 3 วัน สารสีเหล่านี้เมื่อมีการนำมาสกัดด้วยสารละลายเอทานอล พบว่าสารสีแดงทั่วไปจะมีค่าดูดกลืนแสงสูงสุด 2 จุด ที่ 420 และ 500 นาโนเมตร บางสายพันธุ์ให้สีข้าวแดง หรือ อังคัก เป็นสีแดงสวย หรือแดงชมพูแก่ จะมีความโด่ง (peakedness) ที่จุด 500 นาโนเมตร สูงกว่าที่ 420 นาโนเมตร เช่นที่พบในสายพันธุ์ของ *M. purpureus* หรือ *M. anka* แต่บางสายพันธุ์อาจให้สีแดงเข้มคล้ำ โดยมีค่าความโด่งที่ 420 นาโนเมตร สูงกว่าที่ 500 นาโนเมตร หรือค่าความโด่งที่ 370 สูงกว่า 500 นาโนเมตร เป็นต้น เช่น สายพันธุ์ *M. barkeri* (พลายแก้ว และบุษบา, 2534) หรือ *M. kaoliang* (บุษบา และวรรณภา, 2528)

2.7.1.2. สับสเตรต สับสเตรตที่ใช้ในการหมักสีโมแนสคัสแบบแห้งนั้น ปกติจะเป็นข้าว (Palo และคณะ, 1960) หรือเมล็ดธัญพืชอื่น ๆ (พลายแก้ว และบุษบา, 2534., Han, 1990., Lin และ Lizuka, 1983)

1. ข้าว Palo และคณะ (1960) ได้ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการสร้างสีของ *M. purpureus* และพบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตอังคัก มีดังต่อไปนี้ ความชื้นไม่เกิน 50 เปอร์เซ็นต์ pH ระหว่าง 3.0 – 7.5 อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส แต่สายพันธุ์ข้าวเหนียวให้ผลไม่ดีนัก บุษบา (2528) พบว่าการสร้างสีของ *M. purpureus* โดยใช้สภาวะต่อการผลิตข้าวแดงของ Palo และคณะ (1960) มาทดสอบกับข้าวพันธุ์ต่างๆ ของไทย พบว่าข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยวงู และข้าวพันธุ์หอมมะลิให้สีเข้มใกล้เคียงกัน แต่ข้าวเหนียวกลับให้กลิ่นหอมมากกว่าข้าวหอมมะลิ กลิ่นหอมดังกล่าวคือ กลิ่นเอสเทอร์ และแอลกอฮอล์ปนกัน ทั้งนี้ข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยวงู และข้าวเจ้าพันธุ์หอมมะลิให้ผลความเข้มของสีใกล้เคียงกับข้าวพันธุ์ญี่ปุ่น ในขณะที่ข้าวสายพันธุ์อื่นๆ ของไทย คือ พันธุ์เส้าไห้ พันธุ์ธรรมดา ฯลฯ นั้นล้วนแต่ให้สีและความหอมน้อยกว่ามาก ส่วนพันธุ์เหลือง 148 กข 23 กข 25 เหมาะสมต่อการผลิตข้าวแดงมากกว่าพันธุ์ กข 7 และข้าวดอกมะลิ 105

2. เมล็ดธัญพืชและอื่นๆ พลายแก้ว และบุษบา (2534) ได้ศึกษาแหล่งสับสเตรตชนิดต่าง ๆ ต่อการผลิตสี โมแนสคัสเปรียบเทียบกับการผลิดบนข้าวโดยใช้เมล็ดข้าวโพด มันเทศ มันสำปะหลัง มันฝรั่ง ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ข้าวฟ่าง ขนมปัง แทนข้าวต่อการเจริญการสร้างสี และการสร้างสปอร์ของ *M. kaoliang* พบว่าขนมปังให้ค่าสีแดงมากที่สุด ซึ่งตรงกับผลการทดลองของ Lin และ Iizuka (1982) รองลงมาคือมันฝรั่ง และปลายข้าวหอมมะลิ นอกนั้นให้สี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่ดีนัก ส่วนการสร้างสปอร์ของ *M. kaoliang* พบว่า ถั่วเหลืองให้ปริมาณสปอร์สูงสุด รองลงมา คือ ถั่วเขียว ขนมปัง และปลายข้าวหอมมะลิ

2.7.1.3. ความชื้น Palo และคณะ (1960) รายงานว่าความชื้นต่ำกว่า 50 เปอร์เซนต์ ให้ผลดีต่อการสร้างสีอังคักของ *M. purpureus* เชิดชัย และคณะ (2519) พบว่าความชื้น 60 เปอร์เซนต์ ให้ผลดีเมื่อมีการเขย่า หรือการให้อากาศช่วยให้เชื้อราสร้างสีแดงได้ดีและเร็วขึ้น และการหมักข้าวแดงในสภาพที่มีความชื้นสูงมากไปนั้น เชื้อราโมแนสคัสจะย่อยแป้งได้สูง แต่สีกลับน้อยลง Lotong และ Suwanarit (1990)พบว่าความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตข้าวแดงในถุงพลาสติกของเชื้อรา *Monascus* sp. NP 1 คือ 32.6 เปอร์เซ็นต์ แต่ความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 39.6 เปอร์เซนต์ นั้น อัตราการสร้างสีจะลดลง ความชื้นต่ำเกินไป ทำให้เชื้อราเจริญได้ไม่ดี ส่งผลให้การสร้างสีไม่ดีด้วย ความชื้นสูงเกินไปเกิดการเจริญและการสร้างเอนไซม์ กลูโคอะไมเลสมาก เกิดการสะสมกลูโคสยับยั้งการสร้างสีได้ จึงพัฒนาสายพันธุ์กลายที่ทนกลูโคสได้สูง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวแดง (กังสดาลย์, 2538., กังสดาลย์ และคณะ, 2539) ในขณะที่ Han (1990), และ Stuart (1991) พบว่าถ้าความชื้นเริ่มต้นที่ 50-56 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้สีสูงสุดภายใน 8 วัน พลายแก้ว และบุษบา (2534) ศึกษาสภาพวัตถุดิบที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสีของ *M. kaoliang* ที่ให้สีแดง โดยศึกษาเวลาในการแช่ข้าว และเวลาสะเด็ดน้ำ และ *M.barkari* ที่ให้สีเหลือง ในสภาพที่เป็นกรด พบว่าเวลาแช่ข้าวนาน 8 ชั่วโมง และสะเด็ดน้ำ 5-10 นาที ที่ทำให้ข้าวมีความชื้นเริ่มต้นประมาณ 41 เปอร์เซ็นต์ เหมาะต่อการสร้างสีแดงของ *M. kaoliang* และสีเหลืองของ *M.barkari* นอกจากนั้นยังพบเพิ่มเติมว่าการแช่ข้าวในน้ำนานเกินไปทำให้เมล็ดข้าวเกาะกัน การผึ่งสะเด็ดน้ำชั่วครู่ก็เพียงพอ มิฉะนั้นอาจทำให้ข้าวผึ่งลมมากเกินไป ทำให้ผิวหน้าแห้งเกินไป ไม่เป็นผลดีต่อการสร้างสี

2.7.1.4. พีเอช Palo (1960) รายงานว่า *M. purpureus* สามารถสร้างสารสีแดงได้ในพีเอชระหว่าง 3.0-7.5 (พลายแก้ว และ บุษบา (2534) พบว่าเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกรดจะไม่มีผลต่อการสร้างสีเหลืองของ *M. barkari*

Carels และ Shepherd (1975) พบว่าพีเอชต่ำมีการสะสมสีส้มเนื่องจากสีส้มโมนาสโครูบริน และรูโบพังทาทินที่เชื้อสังเคราะห์ขึ้นไม่สามารถทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนได้แต่พีเอชสูง ๆ ปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถเกิดขึ้นได้จึงให้สีแดงออกมา จากรายงานของ John และ Stuart (1991) การศึกษาการปรับพีเอชของน้ำให้ได้ 3.0 4.0 6.0 และ 7.0 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลก่อนนำไปแช่ข้าวเป็นเวลา 5 ชั่วโมง พบว่าพีเอช 6 เป็นพีเอชที่เหมาะสมในการสร้างสารสีของเชื้อรา *M. purpureus* FRR 2190

วรรณภา (2529) ได้ทำการศึกษาพบว่าการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* spp. KB 11304 KB 21035 และ KB 20322 ที่พีเอชเริ่มต้น 7.0 มีการสร้างสารสีสูงสุด และถ้าพีเอชสุดท้ายค่อนไปทางด่างจะให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
72590

สีแดง แต่เมื่อเลี้ยงเชื้อ KB 21035 ในสภาพที่เป็นกรดพบการสร้างสีเหลืองดีที่สุด ดังนั้นจึงพบว่าพีเอชที่เหมาะสมจึงขึ้นอยู่กับสายพันธุ์

2.7.1.5. อุณหภูมิ อุณหภูมิมีผลโดยตรงต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการเมแทบอลิซึม เพื่อการเจริญ เติบโต อุณหภูมิสูงเกินไปทำให้เชื้อเจริญได้ช้า สร้างสารสีในข้าวแดงได้ไม่ดี อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีจะอยู่ระหว่าง 27-30 องศาเซลเซียส

บุษบา (2542) พบว่าอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียสเหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างเอนไซม์กลูโคอะมิเลส แต่ไม่เหมาะสมต่อการสร้างสีของเชื้อราโมแนสคัส

2.7.1.6 การให้อากาศ เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต Hesseltine (1965) พบว่าการเขย่าหรือให้อากาศช่วยให้การสร้างสารสีได้ดีและเร็วขึ้น Han และ Mudgett (1992) ได้ศึกษาพบว่า ก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูงทำให้การสร้างสารสีและการเจริญลดลง และไม่สามารถสร้างสารสีและเจริญได้เมื่อมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ตั้งแต่ 1.0 บรรยากาศ ก๊าซออกซิเจนตั้งแต่ 0.2 บรรยากาศ ทำให้การสร้างสารสีและการเจริญเพิ่มขึ้นและเพิ่มสูงสุดเมื่อมี ก๊าซออกซิเจนมากกว่า 2.1 บรรยากาศ ความดันออกซิเจนต่อความดันคาร์บอนไดออกไซด์ที่ระดับ 0.50 ต่อ 0.02 บรรยากาศ จะมีผลต่อการสร้างสารสีแดงมากที่สุด สภาพที่มีก๊าซออกซิเจนคงที่ที่ 0.50 บรรยากาศและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำๆ เป็นสภาพที่ให้การผลิตสารสีสูงสุด

2.7.2 การหมักเชื้อราโมแนสคัสในสภาพหมักเปียก (Submerged cultivation)

การหมักในอาหารเหลวนั้น อาจใช้กระบวนการหมักแบบเบ็ดเสร็จ แบบป้อนอาหารเป็นระยะ (fed-batch) ใช้เซลล์อิสระหรือเซลล์ที่ถูกตรึง (immobilized cells) ในถังหมักลักษณะปกติที่มีใบกวน หรือแบบ air lift fermentor (บุษบา และคณะ, 2531., Evans และ Wang, 1984) แต่อย่างไรก็ตามปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างสีโมแนสคัสในสภาพการหมักเปียกนั้นมีมากมายปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและสร้างสารสีในการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในสภาพหมักเปียก

2.7.2.1 องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. แหล่งคาร์บอน Lin (1973) รายงานการหมักเปียกของ *Monascus* sp. F-2 ในอาหารคาร์บอนชนิดต่างๆ พบว่าแป้งละลายน้ำ (soluble starch) กาแลคโทส และมอลโทส เหมาะสมกับการผลิตสี ตามลำดับ การเติมสังกะสีประมาณ 800 ไมโครกรัมต่อลิตร มีส่วนเพิ่มการเจริญของเส้นใย และเพิ่มความสามารถใช้แหล่งคาร์บอนต่าง ๆ ดังต่อไปนี้ เช่น อะราบิโนส ไซโลส กลูโคส ฟรุคโทส แมนโนส ซูโครส มอลโทส แป้ง ซอร์บิทอล เอทานอล (Johnson and McHan, 1975)

บุษบา และวรรณภา (2528) ได้รายงานเป็นครั้งแรกเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากมันสำปะหลังในการผลิตสีโมแนสคัส โดยทำการคัดเลือกเชื้อราโมแนสคัสที่สามารถใช้มันสำปะหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นแหล่งคาร์บอนได้ดี และต่อมาได้รวบรวมเสนอต่อสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (บุษบา และคณะ, 2531)

ส่วน Lee และคณะ. (1995) ได้ใช้ชิ้นมันสำปะหลังในอาหารเหลวและเรียกกระบวนการนี้ว่า solid-liquid state culture method ซึ่งช่วยลดปัญหาความหนืดของอาหารหมักได้

แป้งข้าวเจ้า(Su และ Huang, 1980., Yongsmith และคณะ, 1994) สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อผลิตสารสีโมแนสคัสได้ดีเช่นกัน ส่วน Lin และ Demain (1991) พบว่าเมื่อใช้ defined medium เป็นแหล่งคาร์บอนที่พบว่าเหมาะสมต่อการสร้างสีของ *Monascus* sp. TTWMB 6042 จะเป็นมอลโทส กลูโคส และฟรุคโทส ตามลำดับ แต่ไม่พบกาแลคโทส และซูโครส ถ้าเลี้ยง *M. purpureus* ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเข้มข้นสูง 50 กรัมต่อลิตร ในสภาพอับอากาศ จะพบว่ามีการสร้างเอทานอลเกิดขึ้น และพบว่า *M. purpureus* CCM 8152สามารถสร้างสีจากเอทานอลได้ดีกว่ามอลโทส *M. ruber* สร้างสีจากเอทานอลได้ดีกว่ากลูโคส

2. แหล่งไนโตรเจน Lin (1973) พบว่า *Monascus* sp. F-2 สามารถผลิตสีได้ดีในแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารไนเตรต และกลูตาเมต ส่วนแหล่งสารอินทรีย์ที่ไม่เหมาะสมสำหรับการผลิตสี เช่น เปปโตน และสารสกัดยีสต์ แต่จากรายงานของ Carels และ Shepherd (1997) พบว่าเมื่อแหล่งไนโตรเจนเป็นสารสกัดยีสต์จะผลิตสีแดงอย่างเดียว เนื่องจากอาหารนี้มีกรดอะมิโนมากพอเมื่อเชื้อเจริญขึ้นจะทำให้พีเอชสูงขึ้น สารสีสามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนอิสระ หรือ NH-group ภายในเส้นใยเปลี่ยนเป็นกลุ่มสารอนุพันธุ์เอมีนได้ และไม่พบสีส้มหรือสีเหลือง ส่วนอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นโซเดียมไนเตรตจะได้สารสีแดงและสีส้ม อาหารนี้ไม่มีกรดอะมิโนอิสระถึงแม้พีเอชจะสูงขึ้น สารสีจะสามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนหรือ NH-group ภายในเส้นใยได้เท่านั้น จึงทำให้สารสีส้มยังเหลืออยู่ ขณะที่อาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมมิโนคลอไรด์และแอมมิโนไนเตรตจะทำให้พีเอชลดลงอย่างรวดเร็วเป็นผลให้สารสีที่ผลิตได้ ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับ NH-group ภายในเส้นใยได้ ผลที่เกิดขึ้นคือ จะมีการสะสมของโมนาสโครูบรินและรูโบรพังตาดิน ได้เป็นสีส้ม การเจริญของราแดงบางสายพันธุ์ในอาหารนี้ได้สารสีเหลือง สามารถเกิดขึ้นโดยการเกิดออกซิเดชันของโมนาสโครูบรินหรือรูโบรพังทาทินกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ได้เป็น โมนาสซิน หรือ แองคาฟลาวิน Carels และ Shepherd (1997) พบว่าสารสีส้ม โมนาสโครูบริน และ รูโบรพังดาติน สังเคราะห์ขึ้นโดยวิธีการทางชีวภาพ ส่วนสีอื่นๆ เช่น สีแดง สีเหลือง เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมี โดยขึ้นกับสภาพการเพาะเลี้ยงเชื้อ

การเติมกรดอะมิโนในรูปของสารสกัดยีสต์ ในอาหารที่มีโซเดียมไนเตรดและแอมโมเนียมคลอไรด์จะมีผลทำให้เพิ่มการสร้างเส้นใยหรือมวลชีวภาพ อาจเนื่องมาจากในสารสกัดยีสต์มีวิตามินอยู่ด้วย ส่วนการเติมกรดอะมิโนทั้งหมดที่พบในสารสกัดยีสต์ลงในอาหารที่มีไนเตรดหรือแอมโมเนียม จะเป็นการลดการสร้างสารสี แต่จะกระตุ้นการสร้างโคนิเดีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wong และคณะ (1981) พบว่าอัตราส่วนของคาร์บอนและไนโตรเจนสำคัญต่อการสร้างสี โดยกลูโคสความเข้มข้นระหว่าง 40 –200 กรัมต่อลิตร และแอมโมเนียมไนเตรตที่มีความเข้มข้น 5 และ10 กรัมต่อลิตร ทำให้ *M. purpureus* ผลิตสีแดงได้ดี แต่ถ้าความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรตสูงมากกว่า 50 กรัมต่อลิตร จะยับยั้งการเจริญและการผลิตสี

วรรณภา (2529) ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะต่อการสร้างสารสีแดงของเชื้อโมแนสคัส กลุ่มที่ใช้มันสำปะหลังได้ดี เช่นสายพันธุ์ *Monascus* sp. KB21035 KB11304 และ KB20322 พบว่าเปปโตนให้สารสีแดงสูงสุด โพแทสเซียมไนเตรตให้สารสีแดงพอสมควร ส่วนโซเดียมไนเตรต แอมโมเนียมไนเตรต แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรียให้สารสีแดงน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบการสร้างสารสีแดงในแหล่งไนโตรเจนที่เป็นเปปโตน และแป้งถั่วเหลืองที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าสายพันธุ์ KB21035 และ KB20322 ใช้แป้งถั่วเหลืองในการสร้างสารสีแดงได้น้อยกว่าเปปโตน ขณะที่สายพันธุ์ KB11304 สร้างสารสีแดงได้ดีในอาหารที่มีแป้งถั่วเหลืองมากกว่าเปปโตน และเป็นรายงานแรกที่มีการใช้แป้งถั่วเหลืองไขมันเต็ม (full fat soy flour) เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ให้ผลดีต่อการสร้างสีโมแนสคัส

Lin และ Demain (1991) พบว่าแอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมไนเตรต และโมโนโซเดียมกลูตาเมต เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. TTWMB 6042 ส่วนแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสร้างสารคือ โมโนโซเดียมกลูตาเมตที่มีความเข้มข้น 1.26 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ร่วมกับมอลโทสเข้มข้น 10.0 เปอร์เซนต์ พบว่าสารไนโตรเจนชนิดนี้เมื่อใช้ร่วมกับกลูโคสจะเหมาะสมสำหรับการสร้างสีของ *Monascus ruber* แต่การใช้แอมโมเนียมไนเตรตจะให้ไนโตรเจนต่ำในปฏิกิริยา Schiff-base reaction จึงเกิดการสร้างสีแดงน้อย

การศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจน 3 ชนิดคือสารสกัดยีสต์ เปปโตน และสารสกัดมอลต์ต่อการเจริญ และการสร้างสารสีเหลืองของเชื้อราสายพันธุ์ป่า *M. purpureus* KB10 พบว่าเปปโตนมีผลโดยตรงต่อการกระตุ้นการสร้างสารสี แต่สารสกัดยีสต์ส่งเสริมการเจริญมากกว่าการสร้างสารสี ส่วนสารสกัดมอลต์มีผลต่อการเจริญและการสร้างสารสีน้อยกว่าแหล่งไนโตรเจนอื่น นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อใช้เปปโตนและความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซนต์ ร่วมกับกรดกลูตามิกเข้มข้น 0.1 เปอร์เซนต์ จะให้สีเหลืองสูงสุดเมื่อพีเอชเป็นกรด

สมชาย (2536) ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสีเหลืองของเชื้อราสายพันธุ์กลาย *Monascus* sp. KB 20M10.2 พบว่าแหล่งไนโตรเจนประเภทสารอนินทรีย์ที่ให้สารสีเหลืองที่ดีที่สุดคือโพแทสเซียมไนเตรต โดยจะให้สารสีเหลือง 216 หน่วยต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือแคลเซียมไนเตรต แอมโมเนียมไนเตรด และโซเดียมไนเตรต ตามลำดับ ส่วนแหล่งไนโตรเจนประเภทสารอินทรีย์ที่ให้สารสีเหลืองสูงที่สุด คือ แป้งถั่วเหลืองเท่ากับ 674.2 หน่วยต่อมิลลิลิตร รองลงมาเป็น เปปโตน สารสกัดเนื้อ สารสกัดยีสต์ และสารสกัดมอลต์ได้ปริมาณสารสีเหลือง 434.7 392.5 211.7 และ 20.7 หน่วยต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อศึกษาความเข้มข้นของแป้งถั่ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหลืองที่เหมาะสมพบว่า ที่ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ ให้สารสีเหลืองสูงที่สุด รองลงมาคือ 4.0 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การใช้แป้งถั่วเหลืองเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับแป้งมันสำปะหลัง 3.0 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมต่อการผลิต สีเหลืองของ *Monascus* sp. KB 20M10.2

3. อุณหภูมิ Manandhar และ Apinis (1971) ศึกษาอัตราการเจริญของ *Monascus* sp. 37 สายพันธุ์บนอาหาร malt extract agar พบว่า *Monascus* sp. ส่วนใหญ่เจริญได้ที่อุณหภูมิ 25 30 37 และ 40 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 หรือ 37 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้คือ 45 องศาเซลเซียส การเจริญของ *Monascus* sp. ส่วนใหญ่ที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส ไม่แตกต่างกัน แต่อัตราการเจริญทั่วไปที่ 25 และ 40 องศาเซลเซียสจะช้า ส่วนที่อุณหภูมิ 45 และ 18 องศาเซลเซียสการเจริญจะช้ามาก การสร้างสีจะสร้างได้ดีที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส

Lin (1973) การเพาะเชื้อรา *Monascus* sp. F-2 ลงในอาหารเหลวนำไปเขย่าด้วยความเร็ว 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 27 32 37 และ 40 องศาเซลเซียส บ่มนาน 3 วัน พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการสร้างสีได้ดีที่สุดคือ 32 องศาเซลเซียส รองลงมาคือ 27 องศาเซลเซียส และถ้าอุณหภูมิมากกว่า 32 องศาเซลเซียส จะทำให้การผลิตสีลดลงอย่างรวดเร็ว

4. ระยะเวลากับการผลิตสีและการเจริญของเซลล์ ปกติการสร้างสีโมแนสคัสในอาหารเหลวสูงสุดไม่เกิน 7 วัน ตัวอย่างเช่น Lin (1973) ศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Monascus* sp. F-2 ในอาหารเหลวที่มีผงข้าว 5 เปอร์เซ็นต์ $MgSO_4.7H_2O$ 0.1 เปอร์เซ็นต์ KH_2PO_4 0.2 เปอร์เซ็นต์ บรรจุอาหาร 75 มิลลิลิตรในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร เขย่าด้วยความเร็ว 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน พบว่าการผลิตสีมีความสัมพันธ์กับการเจริญ

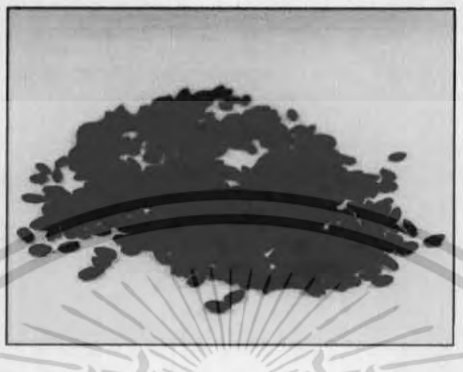
5. พีเอชอาหาร Lin (1973) การปรับพีเอชเริ่มต้นของอาหารตั้งแต่ 2 ถึง 10 เมื่อบ่มเวลา 3 วัน *Monascus* sp. F-2 จะให้การผลิตสีสูงสุดในอาหารที่ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 6.0 และพีเอชสุดท้ายของอาหารภายหลังการบ่มลดลงเป็น 5.8 ส่วนการ ศึกษาของ Wong และคณะ. (1981) พีเอชเริ่มต้นของอาหารที่เหมาะสมเป็น 5.5 ส่วนใหญ่จะผลิตสีแดงได้มากกว่าที่มีพีเอชต่ำกว่า 6.0 เมื่อบ่มเป็นเวลานาน 17 วัน โดยเชื้อรา *M. purpureus*

6. สารอื่นๆ การใช้กรดโครโทนิก และกรดซอร์บิกที่ความเข้มข้นต่ำ สามารถเร่งการสร้างสีได้โดยไม่มีผลต่อการเพิ่มเส้นใย ส่วนการเติมสาร cerulenin ethionine เมทิโอนีน หรือยูเรียมีผลต่อการยับยั้งการสร้างสี และ พบว่า $MgSO_4$ เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการผลิตสีในอาหารที่ประกอบด้วยผงข้าว 2 เปอร์เซ็นต์ และเปปโตน 0.05 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 การใช้ประโยชน์

ในแถบเอเชียได้มีการใช้เชื้อรา *Monascus* spp. ผลิตอาหารหมัก เช่น ข้าวแดง ไวน์ข้าว (rice wine) สุราเกาเหลียง (kaoliang brandy) และเต้าหู้ยี้ (tofuyo) ซึ่งก่อให้เกิดสีสันและกลิ่นเฉพาะ นอกจากนี้ยังใช้ข้าวแดงผสมในตำรับยาจีนเพื่อรักษาโรค



ภาพที่ 2.8 สีของข้าวแดงที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus* sp.

ที่มา : www.poli.usp.br/Pigmento/imagens/pigmentomonascus.jpg

ข้าวแดงจะมีคุณค่าทางโภชนาการเพิ่มขึ้นเนื่องจากมีธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และวิตามินบีอยู่สูง จากผลการวิเคราะห์ของกรมวิทยาศาสตร์บริการ (2518) พบว่าในข้าวแดงมีปริมาณแร่ธาตุและวิตามินสูงกว่าในข้าวสารมาก ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกันแล้วเห็นได้ว่าข้าวแดงมีปริมาณวิตามินบีสองสูงกว่าข้าวสารถึง 185 เท่า (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณแร่ธาตุและวิตามินในข้าวสารพันธุ์ข้าวหอมมะลิ และ ข้าวแดงที่ผลิตได้

รายการ	ข้าวพันธุ์ขาวมะลิ (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	ข้าวแดงที่ผลิตได้ (มิลลิกรัมต่อ 10 กรัม)
แคลเซียม	4.30	18.70
ฟอสฟอรัส	86.70	326.00
วิตามินบี 1	0.12	0.54
วิตามินบี 2	0.04	9.20

ที่มา : กรมวิทยาศาสตร์บริการ (2518)

เชื้อรา *Monascus* spp. บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* spp. *Bacillus* spp. และ *Pseudomonas* spp. ซึ่งทั้ง 3 สกุลพบว่าเป็นเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษและก่อให้เกิดอาหารเน่าเสีย ซึ่งอาหารที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้เลี้ยงเชื้อนี้คือ ยีสต์เอกซ์แทรกอาการ์ (Yeast extract agar, YEA) (Wong และ Koehler, 1983) ซึ่งได้แยกสารปฏิชีวนะจากเชื้อรา *M. purpureus* N11S แล้วนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ด้วยวิธี เปเปอร์แอสเซย์ดิสก์ (paper assay disc) พบว่าต้องใช้ปริมาณอย่างน้อยที่สุด 1.5 ไมโครกรัมต่อ 6 ไมโครลิตร

ข้าวแดงได้ถูกใช้เป็นสารเจือสีในอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งเป็นสารสีจากธรรมชาติที่มีความปลอดภัย ราคาถูก โดยใช้ในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ น้ำหวาน น้ำนม นมเปรี้ยว น้ำผลไม้ แยม ขนม ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์ซูริมิ เป็นต้น

ภาพที่ 2.9 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเชื้อรา *Monascus* sp.

ที่มา : www.efood-idv.tw/images/efood0407283/gif

www.ku.ac.th/e-magazine/september45/agri/rice.jpg

นอกจากนั้นข้าวแดงยังใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องยาจีน เนื่องจากมีสารโมนาโคลิน เค (monacolin K) โดยสารนี้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 3-hydroxy-3-methylglutareyl coenzyme A (HMG-CoA) reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลทำให้มีคุณสมบัติในการลดปริมาณโคเลสเตอรอลในเลือดได้ ใช้ในผู้ป่วยที่มีปริมาณไขมันในเลือดสูงและเนื้องอกในหนู เนื่องจากสารสีสามารถยับยั้งกระบวนการอักเสบ อันเกิดจากสารทีพีเอ (TPA : 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) ซึ่งเป็นสารที่ส่งเสริมการเกิดเนื้องอก

สารโมนาโคลิน เค (monacolin K) มีผลต่อปริมาณคอเลสเตอรอล (total cholesterol) ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำ (low density lipoprotein cholesterol ; LDL-C) และไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นสูง (high density lipoprotein cholesterol ; HDL-C) LDL-C เป็นคอเลสเตอรอลที่ไม่ดี (bad cholesterol) ทำให้เลือดตกตะกอนเป็นลิ่มแล้วเกาะติดที่ผนังเส้นเลือดเป็นสาเหตุใหญ่ที่ทำให้ผนังของเส้นเลือดภายในหนาขึ้น การไหลเวียนของเลือดไม่สะดวก ก่อให้เกิดการอุดตันของเส้นเลือด ส่วน HDL-C เป็นคอเลสเตอรอลที่ดี (good

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cholesterol) เนื่องจากนำคอเลสเตอรอลที่ไม่จำเป็นต่อร่างกายกลับไปสู่ตับแล้วขับถ่ายออก เรียกกระบวนการนี้ว่า " Reverse Transortation of cholesterol " ถ้าในร่างกายมีระดับ HDL-C ต่ำกว่า 35 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรจะมีความเสี่ยงที่จะเป็นโรคเส้นเลือดในสมองและหัวใจอุดตัน

ได้มีการทดลองให้หนูได้รับข้าวแดงเป็นระยะ 6 เดือนหลังจากนั้นจะวัดปริมาณไขมันในเลือดและตับพบว่าความเข้มข้นของซีรัม ไตรกลีเซอไรด์ คอเลสเตอรอล VLDL-C (very low density lipoprotein cholesterol) และ LDL-C จะลดลง ส่วน HDL-C จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากข้าวแดงจะมีสารในกลุ่มโมนาโคลินซึ่งเป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล

นอกจากนี้ยังมีการทดลองใช้สารสีจาก *M. rubiginosus* เจือสีในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว โดยเติมสารสีในปริมาณต่างๆ กัน 3 ระดับ คือ 0.2 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ และได้นำมาเปรียบเทียบกับนมเปรี้ยว รสธรรมชาติ นมเปรี้ยวที่เติมสารสี 0.2 เปอร์เซ็นต จะมีสีแดงอ่อนและนมเปรี้ยวที่เติมสารสี1 เปอร์เซ็นต์ จะมีสีแดงเข้ม

การสกัดสารสีโมแนสคัสจาก *M. purpureus* DSM 1379 ด้วยเมทานอลแล้วเติมในไส้กรอกแฟรงเฟอเตอร์เพื่อลดปริมาณไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งพบว่าสารสีสกัดจะทำให้เกิดสีน้ำตาลแดง ซึ่งเป็นสีที่ผู้บริโภคต้องการในผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีไนไตรท์และเมื่อนำไปให้แสงเป็นเวลา 30 นาที และ 2.5 ชั่วโมง สีของไส้กรอกที่เติมสารสีโมแนสคัสจะมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย

มีการศึกษาคุณสมบัติของสารสีจาก *M. ruber* ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้เอทานอลและกลูตาเมตเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน หลังจากการสกัดและการทำให้บริสุทธิ์ก็ได้ตรวจสอบคุณสมบัติของสารสีที่อยู่ในสารละลาย โดยทดสอบความคงตัวของสารสีทั้งในสารละลายและเมื่อเติมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ พบว่าสารสีที่เติมลงในผลิตภัณฑ์จะยังคงอยู่ได้เมื่อเก็บที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลานานถึง 3 เดือน จะคงตัวอยู่ระหว่างร้อยละ 92-98 จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสปรากฏว่าผลิตภัณฑ์ที่เติมสารสีจาก *M. ruber* จะช่วยเพิ่มกลิ่นรส เนื่องจากสารสีรวมตัวกับกลูตาเมต

ได้มีการศึกษาการใช้ประโยชน์จากสารสีเพื่อผลิตเหล้าสาเกโดยทำโปรโตพลาสฟิวชันระหว่างเชื้อรา *M. anka* กับเชื้อรา *Aspergillus oryzae* การเลี้ยงโดยใช้เทคนิคกึ่งการหมักแห้งและหมักเปียก (solid – liquid state culture method)

นอกจากนี้ยังมีศึกษาการใช้ข้าวแดงเพื่อปรับปรุงสีในไส้กรอกอิมัลชันโดยเปรียบเทียบด้วยการประเมินผลทางประสาทสัมผัสกับไส้กรอกที่ใช้ผงเพรกร้อยละ 0.3 พบว่าข้าวแดงบดละเอียดในระดับ 0.6 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักเนื้อ ผู้ชิมให้การยอมรับมากที่สุดส่วนการใช้สีที่สกัดจากข้าวแดงบดละเอียด พบว่าไส้กรอกจากการเติมสีที่สกัดจากข้าวแดงบดละเอียดในระดับ 0.3 0.6 และ 0.9 ไม่มีความแตกต่างกันในเรื่องนี้ รวมทั้งการยอมรับโดยรวมและเมื่อเก็บไส้กรอกที่ปรับปรุงสีโดยใช้ข้าวแดงบดละเอียดพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผลิตสีแดงจากเชื้อราโมแนสคัส โดยวิธีการหมักแห้งนอกจากจะผลิตจากข้าวแล้วยังสามารถผลิตได้จากข้าวโพด ข้าวฟ่าง ขนมปัง ถั่วเหลือง ขานอ้อย ถั่วเขียว มันสำปะหลัง มันเทศ และมันฝรั่ง เป็นต้น และยังสามารถพัฒนาเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวได้ออกมาในรูปสีผสมอาหารที่สามารถละลายน้ำได้มากขึ้น

2.9 ความปลอดภัยของสารสีโมแนสคัส

บุษบา และวรรณภา (2528) การศึกษาความปลอดภัยของสารสีของเชื้อราโมแนสคัสโดยวิเคราะห์หาโลหะหนัก เช่น โครเมียม ตะกั่ว สารหนู ในน้ำสี พบว่าไม่มีโลหะหนักทั้ง 3 ชนิดปะปนอยู่ในน้ำสีเลย

บุษบา และคณะ (2531) น้ำสีจากเชื้อราโมแนสคัสไม่เป็นอันตรายใดๆ ต่อไข่ไก่ฟักไม่ทำให้โครโมโซมเม็ดเลือดขาวของคนเปลี่ยนแปลง และไม่เป็นพิษต่อหนูทดลองที่ได้รับสารสีในอัตรา 0.02 0.10 และ 2.00 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ธวัช และคณะ (2530) ผลการเปรียบเทียบผลของสีปองโซ 4 อาร์ ซึ่งเป็นสีสังเคราะห์และสารสีจากเชื้อราโมแนสคัสต่อความผิดปกติของโครโมโซมของคน พบวาสีปองโซ 4 อาร์ ทำให้โครโมโซมผิดปกติสูงถึง 28.64 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่สารสีจากเชื้อราโมแนสคัสไม่ทำให้โครโมโซมผิดปกติแต่อย่างใด

2.10 การตรวจสอบความเป็นพิษของสารสีโมแนสคัส

ความเป็นพิษของสีที่ได้จาก *Monascus* sp. โดยทดลองกับหนู พบว่าไม่เป็นพิษต่อสัตว์ทดลองนั้นๆ นอกจากนี้ยังพบว่าค่า LD_{50} มีค่า 33.3 หรือ 8.7 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวเมื่อกินสีเข้าไป และเมื่อฉีดเข้าช่องท้อง ตามลำดับ

บุษบา และคณะ (2531) การศึกษาความปลอดภัยของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส โดยนำน้ำสีไปฉีดทดสอบความเป็นพิษในไข่ไก่ฟัก เปรียบเทียบกับการฉีดด้วยน้ำกลั่นตามวิธีของ AOAC พบว่าไข่ไก่ฟักที่ผ่านการฉีดด้วยน้ำสีแดงหรือสีเหลืองมีอัตราการรอดเท่ากับไข่ไก่ฟักควบคุมที่ฉีดด้วยน้ำกลั่น

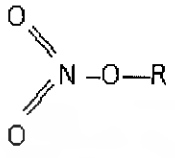
2.11 บทบาทของสารเคมีที่ใช้ในการหมักเนื้อต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์สัตว์

2.11.1 ไนไตรท์ (Nitrite) และ/หรือ ไนเตรท (Nitrate)

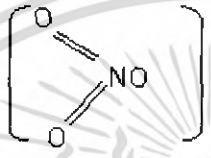
ส่วนใหญ่นิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียมไนไตรท์ หรือโปตัสเซียมไนไดรท์ และเกลือโซเดียมไนเตรท หรือโปตัสเซียมไนเตรท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.1.1 การบ่งชื่อ ไนเตรทเป็นเกลือของกรดไนตริกซึ่งเป็นกรดแก่ เกลือไนเตรทที่ใช้ในทางการเกษตร และอุตสาหกรรม ได้แก่ เกลือไนเตรทของโซเดียม โปแทสเซียม แคลเซียม แอมโมเนียม ทองแดง เหล็ก อะลูมิเนียม โครเมียม ปรอท เงิน บิสมัส แบเรียม สตรอนเดียม และตะกั่ว สูตรโครงสร้างมี 2 ไอโซเมอร์ ดังนี้



1. สำหรับการผลิต ester



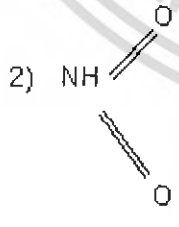
2. สำหรับการผลิตเกลือ

ภาพที่ 2.10 สูตรโครงสร้างไอโซเมอร์ของไนเตรท

ที่มา : www.udru.ac.th/~pasak/nitrate.htm

ไนไตรท์ เป็นเกลือของกรดไนตรัสซึ่งเป็นกรดอ่อน สารไนไตรท์ถูกออกซิไดซ์เป็นสารไนเตรทได้ง่าย ดังนั้นในสิ่งแวดล้อมมักพบไนไตรท์ ในปริมาณต่ำสูตรโครงสร้างมี 2 ไอโซเมอร์ ดังนี้

1) H - O - N = O เกลือไนไตรท์ของ active metals



2) เกลือไนไตรท์ของ quiescent metals

ภาพที่ 2.11 สูตรโครงสร้างไอโซเมอร์ของไนไตรท์

ที่มา : www.udru.ac.th/~pasak/nitrate.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.1.2 แหล่งที่พบ

1. แหล่งธรรมชาติสังเคราะห์

ไนเตรทในดิน น้ำผิวดินและน้ำใต้ดินเกิดขึ้นเนื่องจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ไนโตรเจน โดยจุลินทรีย์ แอมโมเนียมอิออนจะถูกออกซิไดซ์เป็นไนไตรท์และไนเตรท จึงเป็นผลเนื่องมาจากวัฏจักรของไนโตรเจน แต่ไนไตรท์โดยปกติจะพบในปริมาณต่ำมาก

2.แหล่งที่เกิดขึ้นเนื่องจากกิจกรรมของมนุษย์

จากการใช้ปุ๋ยสังเคราะห์ซึ่งเป็นแหล่งใหญ่ของไนเตรทในสิ่งแวดล้อมได้แก่ สารประกอบไนเตรทของแอมโมเนียม แคลเซียม โปแตสเซียมและโซเดียม ยูเรีย ได้แก่

1. ของเสียจากสัตว์

2. ของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม

3. การใช้สารไนโตรเจนและไนไตรท์เป็นสารปรุงแต่งอาหาร เช่น ใช้ดินประสิวในพวกเนื้อสด เนื้อเปื่อย เนื้อตุ๋น ทำให้เนื้อมีสีแดงสด และเปื่อยยุ่ย ใช้เป็นวัตถุกันเสียในเนื้อเค็ม ปลาช่อนแห้ง แหนม หมูยอ ไส้กรอก ซึ่งนอกจากจะช่วยกันเสียแล้วยังให้สีแดงสดสวยด้วย หากใช้ดินประสิวเจือปนในอาหารเกินกว่าที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนดอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้

2.11.1.3 วัตถุประสงค์ในการใช้

1. ช่วยป้องกันการเสื่อมเสียอันเนื่องจากสปอร์ของแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic bacteria) เช่น Clostridium *botulinum* และ *Clostridium perfringens*

2. ช่วยให้เกิดสีและกลิ่นในผลิตภัณฑ์พวก cured meat ซึ่งเป็นที่ถูกใจผู้บริโภค และช่วยให้สีนั้นคงอยู่ได้นานในช่วงของการเก็บรักษาที่ถูกต้องหน้าที่ของเกลือไนไตรท์ และเกลือไนเตรท เมื่อใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ คือ

2.1 ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดง และรักษาสีแดงของผลิตภัณฑ์เนื้อ ทำให้มีความน่ารับประทานเพิ่มขึ้น

2.2 ช่วยเพิ่มรสชาติ และกลิ่นรสแก่ผลิตภัณฑ์ ทำให้มีกลิ่นเฉพาะตัวเป็นที่ยอมรับสำหรับผู้บริโภคมากกว่าการใช้เกลือในการหมักเนื้อเพียงอย่างเดียว

2.3 ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และป้องกันการสร้างสปอร์ของแบคทีเรียที่ ไม่ต้องการอากาศ โดยเฉพาะพวก *Clostridium botulinum*

2.4 ช่วยยับยั้งการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยจะไปยับยั้งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนของไขมัน (oxidative rancidity)

2.11.1.4 บทบาทของเกลือไนไตรท์ และไนเตรท ต่อการเกิดสีในผลิตภัณฑ์เนื้อ มีผลเนื่องจากการแตกตัวในสารไนตริกออกไซด์ เมื่อเข้าทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบินดังปฏิกิริยา ตามขั้นตอนต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ 1 NO_3^- (ไนเตรท) —แบคทีเรียที่รีดิวส์ไนเตรทได้ ดึงออกซิเจนออกไป→ NO_2^-

ขั้นตอนที่ 2 $NO_2^- + H^+$ (ไนเตรท) —แบคทีเรียพวกที่ผลิตกรดแลคติก อนุมูลไฮโดรเจน→ HNO_2 (กรดไนตรัส)

ขั้นตอนที่ 3 HNO_2 (กรดไนตรัส) —สลายตัว→ NO (ไนตริกออกไซด์) + H_2O (น้ำ)

ขั้นตอนที่ 4 Mb (ไมโอโกลบิน) —สภาพเหมาะสม→ MMb (เมทไมโอโกลบิน)

ขั้นตอนที่ 5 NO (ไนตริกออกไซด์) + MMb (เมทไมโอโกลบิน) —สภาพเหมาะสม→ NOMb (ไนโตรโซไมโกลบิน)

ขั้นตอนที่ 6 NOMb (ไนโตรโซไมโกลบิน) —ความร้อนในการอบและการรมควัน→ NO-Homochome (ไนโตรโซฮีโมโครม สารให้สีชมพูที่คงตัว)

ที่มา : ภัทธรินทร์ และคณะ (2547)

การใช้สารพวกไนไตรท์และไนเตรท แต่เดิมใช้เฉพาะดินประสิวซึ่งให้เกลือไนเตรท ต่อมาพบว่าการแตกตัวของไนเตรทให้ไนตริกออกไซด์ช้ามาก และต้องอาศัยจุลินทรีย์บางชนิดในเนื้อสัตว์ช่วยในกระบวนการผลิต ผลิตภัณฑ์เกิดสีแดงต้องใช้เวลานาน ถ้าการใช้ไนเตรทและไนไตรท์ร่วมกัน มีผลต่อการเร่งการแตกตัวของไนเตรท ทำให้เกิดการแตกตัวให้ไนตริกออกไซด์เร็วขึ้นและมากขึ้น จึงทำให้เกิดสีเร็วและมีไนเตรทเหลือตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์น้อยที่ลง

2.11.1.5 กลไกการทำงานของเกลือไนไตรท์และไนเตรทในผลิตภัณฑ์เนื้อ

1.ตามปกติพบว่าเกลือไนไตรท์ที่เติมลงในเนื้อจะหายไปครึ่งหนึ่งของปริมาณที่เติมลงไปทันที โดยเชื่อว่าไนไตรท์จะไปทำปฏิกิริยากับซิสทีอีน (cysteine) เกิดเป็น s-nitrosocysteine ทางหนึ่ง ส่วนอีกทางหนึ่งพบว่าเกลือไนไตรท์จะไปรวมตัวกับหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (sulfhydryl group) ในโปรตีนของเนื้อเกิดเป็นไนโทรโซไทอัล (nitrosothiol) ซึ่งการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวนี้ เป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้เกลือไนไตรท์นี้ทำหน้าที่เป็น bacteriost

2. ส่วนหนึ่งของเกลือไนไตรท์จะสลายตัวให้ไนทริกออกไซด์ (nitric oxide, NO) และ ไนทรัสออกไซด์ (nitrous oxide, N_2O) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้นับว่าเป็นกุญแจสำคัญของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องกับสีของผลิตภัณฑ์เนื้อโดยตรงเพราะ NO เป็นจักรกลสำคัญโดยจะไปทำปฏิกิริยากับรงควัตถุฮีม (heme pigment) ในเนื้อคือ ไมโอโกลบิน (myoglobin) เกิดเป็นไนโทรโซไมโอโกลบิน (nitrosomyoglobin) ให้สีแดงสดเมื่อนำผลิตภัณฑ์นั้นไปผ่านความร้อน จะได้สารไนโทรโซฮีโมโครม (nitrosohemochrome) ให้สีชมพูซึ่งเป็นสีเฉพาะที่เกิดขึ้นใน cured meat และสีนี้จะคงตัวได้ดี จากการศึกษาพบว่าไมโอโกลบินจะรับไนไตรท์ไว้ได้ 15 ส่วนต่อล้านส่วน

3. เกลือไนไตรท์บางส่วนถูกออกซิไดส์ได้เกลือไนเตรทดังที่ได้ทำการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์เบคอนแล้วพบปริมาณของไนเตรทโดยมิได้เติมเกลือไนเตรทลงไปเลย สำหรับการเกิดการออกซิไดส์อาจเกิดไปพร้อม ๆ กับขณะที่ออกซีไมโอโกลบิน (oxymyoglobin) ที่มีเหล็กอยู่ในสภาพ Fe^{2+} ถูกออกซิไดส์ให้เป็น Fe^{3+} หรืออาจเกิดโดยวิธีออกซิไดส์เอง (autoxidation) ของเกลือไนไดรท์ก็ ได้

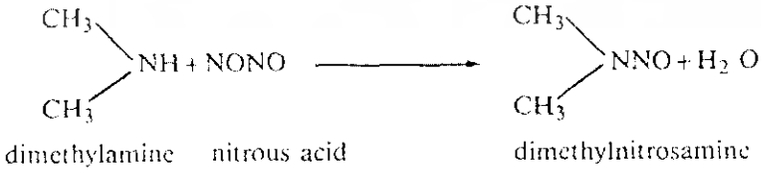
เกลือไนเตรททำหน้าที่ช่วยให้เกิดสีใน cured meat ทางอ้อมโดยทำหน้าที่เป็นแหล่งกักเก็บ (reservoir) ไนไตรท์ไว้เพื่อสลายตัวออกมาได้ในระยะยาวโดยมีแบคทีเรียที่รีดิวซ์ไนเตรท (nitrate reducing bacteria) ทำหน้าที่นั้นซึ่งการทำงานของเกลือไนเตรทจะจำเป็นเมื่อทำการหมักเนื้อนั้นไว้ระยะนานตามวิธีดั้งเดิมนิยมปฏิบัติกันอยู่ จึงจำเป็นต้องใช้เกลือไนเตรทควบคู่กันไปด้วยซึ่งมักผลิตจำหน่ายในรูปของเกลือผสมอยู่แล้วซึ่งจะเรียกว่า ผงเพรก (Praque powder) ส่วนประสิทธิภาพในการป้องกันแบคทีเรียนั้นเกลือไนเตรทจะด้อยกว่าเกลือไนไตรท์

2.11.1.6 การเกิดสารไนโตรซามิน (nitrosamine)

นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าไนโตรซามินเป็นสารเคมี ที่ทำให้เกิดมะเร็งได้ และพบว่าการเกิดสารไนโตรซามิน อาจเกิดได้จากกรดไนตรัสที่เกิดจากการแตกตัวของไนเตรต ดังนั้นการใช้ไนเตรตเติมลงในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ อาจก่อให้เกิดสารที่ทำให้เกิดมะเร็งขึ้นได้ในผู้บริโภคถ้าใช้ในปริมาณที่มากเกินไปและใช้ไม่ถูกต้อง

สารไนโตรซามิน อาจเกิดขึ้นได้ 2 กรณี คือ

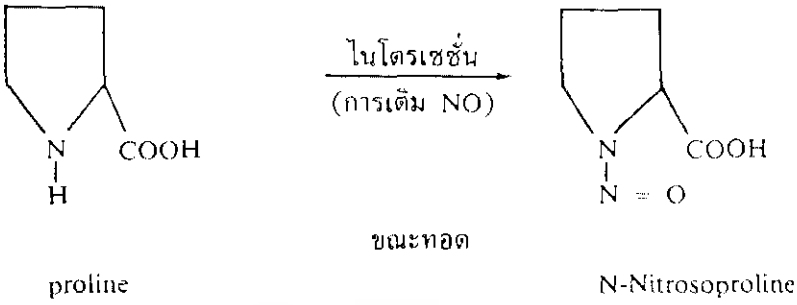
1. กรดไนตรัสทำปฏิกิริยากับ secondary amine ที่อาจมีอยู่ในเนื้อสัตว์ทำให้เกิดสารไนโตรซามิน ดังแสดงในปฏิกิริยา



dimethylamine nitrous acid dimethylnitrosamine

2. ปฏิกิริยาการเติมกลุ่มไนตริกอ๊อกไซด์ (Nitrosation) กับโปรตีน โพรลีนอิสระ (free proline) ที่มีอยู่มากในหมูสามชั้น ทำให้เกิดเป็นสารไนโตรซามิน ดังแสดงในปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



แต่อย่างไรก็ตามสถาบันเนื้อสัตว์ของอเมริกาโดย Nitrite Safety Council (1980) ได้ทำการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารที่ทำจากเนื้อหมักตามโรงงานต่าง ๆ ในสหรัฐอเมริกาตรวจสอบพบว่าถ้ามีการใช้สารไนไตรท์และไนเตรต ในปริมาณที่ไม่มากกว่ามาตรฐานกำหนดแล้วจะไม่พบสารไนโตร-ซามินในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แทบทุกชนิด ดังนั้นการที่มีผู้กล่าวถึงสารไนโตรซามินที่อาจเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารไนไตรท์และไนเตรทเพื่อช่วยในการผลิต จึงเป็นการเตือนให้ทราบถึงผลเสียของการใช้สารเหล่านี้ในปริมาณที่มากเกินไป

2.11.1.7 ปริมาณไนไตรท์และไนเตรทที่เหมาะสมในการใช้

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 20 (2517) อนุญาตให้ใช้ไนเตรทได้ในปริมาณที่ไม่เกิน 500 ส่วนในล้านส่วน (โดยคิดคำนวณเป็นโซเดียมไนเตรท) และไนไตรท์ให้ใช้ได้ในปริมาณที่ไม่เกิน 200 ส่วนในล้านส่วน (โดยคิดคำนวณเป็นโซเดียมไนไตรท์)

สำหรับ Federal meat inspection regulation ของสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้ไนเตรทและไนไตรท์ ดังนี้

1. การใช้ไนเตรทในน้ำหมักให้ใช้ได้ 7 ปอนด์ต่อ100 แกลลอน สำหรับเนื้อสัตว์ที่หมักแบบแห้งใช้ไนเตรท 3 ออนซ์ต่อเนื้อบด 100 ปอนด์ และถ้าเป็นเนื้อบดที่มีการเติมไนเตรทควรใช้ 2 ¾ ออนซ์ ต่อเนื้อบด 100 ปอนด์

2. การใช้ไนไตรท์ ในน้ำหมักให้ใช้เพียง 2 ปอนด์ต่อน้ำหนัก 100 แกลลอน ที่ระดับที่มีการฉีดเข้าเนื้อประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ กรณีเนื้อหมักแบบแห้ง ใช้ไนไตรท์ 1 ออนซ์ต่อเนื้อ 100 ปอนด์ และถ้าเป็นเนื้อบดใช้ไนไตรท์ ¼ ออนซ์ต่อเนื้อบด 100 ปอนด์

3. ถ้าเป็นเนื้อ เกลือโพแทสเซียมไนไตรท์ (potassium nitrite, KNO_2) อนุญาตให้ใช้ได้ 0.02 เปอร์เซ็นต์ หรือ 200 ส่วนในล้านส่วนของปริมาณเนื้อ ถ้าเป็นโซเดียมไนไตรท์ (sodium nitrate, $NaNO_2$) ให้ใช้ได้ 0.7 ส่วนในล้านส่วนในปลากระป๋อง แต่ถ้าเป็น cured fish ให้ใช้ได้ 200 ส่วนในล้านส่วนเช่นกัน ซึ่งถ้าใช้เกลือดังกล่าวในปริมาณที่ถูกต้องแล้ว ควรจะมีไนไตรท์เหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ได้ประมาณ 10-50 ส่วนในล้านส่วนเท่านั้น

กรณีที่ใช้ไนเตรทและไนไตรท์รวมกัน ต้องมีไนเตรทเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายได้ไม่เกิน 200 ส่วนต่อล้านส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกลือไนเตรทและไนไตรท์ที่ใช้ทางการค้าจะผสมกันออกมา เพื่อสะดวกในการใช้ มีชื่อทางการค้าเป็นผงเพรค (praque powder) โดยมีปริมาณที่แนะนำใช้เป็น 0.25-0.38 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักเนื้อ และ Tari colper 40s ปริมาณที่แนะนำใช้เป็น 2 กรัม ต่อเนื้อ 1 กิโลกรัม

ในปัจจุบันมีการผลิตสารหมักเนื้อผสมเสร็จ (meat curing premixes) ซึ่งประกอบด้วยสารไนไตรท์ สารไนเตรท และเครื่องปรุงรสต่างๆ ในลักษณะนี้ได้มีข้อกำหนดของการบรรจุไว้ว่าต้องทำการบรรจุสารไนไตรท์ และไนเตรท กับเครื่องปรุงรสแยกกัน เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดมีการรวมตัวกันขึ้นเป็นสารไนโตรซามิน และบนภาชนะบรรจุต้องระบุว่าปราศจากสารไนโตรซามิน

4. มาตรการทางกฎหมายอื่น ๆ

1. ประเทศไทย

1.1 น้ำ ประเทศไทยมีการกำหนดปริมาณไนเตรทในน้ำดังนี้

ตารางที่ 2.2 ปริมาณไนเตรทในน้ำที่ประเทศไทยกำหนด

ชนิด	มาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)
น้ำดื่ม	ไนเตรท - ไนโตรเจน 4 มิลลิกรัมต่อลิตร
น้ำบาดาลเพื่อการบริโภค	ไนเตรท 45 มิลลิกรัมต่อลิตร
น้ำผิวดิน	ไนเตรท - ไนโตรเจน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ที่มา : www.udru.ac.th/~pasak/nitrate.htm

1.2 อาหาร

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข กำหนดให้มีไนเตรทในอาหารได้ไม่เกิน 500 (มิลลิกรัมต่อลิตร) ส่วนไนไตรท์ ไม่เกิน 200 (มิลลิกรัมต่อลิตร)

2. ต่างประเทศ

2.1 อาหารสัตว์ สหภาพโซเวียตแนะนำปริมาณไนเตรท ไนไตรท์สูงสุดเท่าที่ยอมให้มีในอาหารดังนี้

ตารางที่ 2.3 ปริมาณไนเตรท ไนไตรท์สูงสุดเท่าที่ยอมให้มีในอาหารที่สหภาพโซเวียตแนะนำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัตว์	ปริมาณไนเตรท (มิลลิกรัมต่อลิตร) ปริมาณไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	ไนเตรทอิออน	โปแตสเซียมไนเตรท	ไนไตรท์อิออน	โปรแตสเซียมไนไตรท์
วัว ควาย	50	90	5.0	7.5
ลูกแกะ ลูกแพะ	4.0	6.0	-	-
หมู	10	16	1.0	1.5
แม่ไก่	100	16.0	10.0	15.0

ที่มา : www.udru.ac.th/~pasak/nitrate.htm

สหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้โซเดียมไนไตรท์เป็นวัตถุเจือปนในอาหารสัตว์และน้ำในระดับไม่เกิน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.2 อาหารสำหรับมนุษย์

สหภาพโซเวียตแนะนำปริมาณไนเตรทสูงสุดที่ยอมให้มีในผักชนิดต่างๆ คือจำกัดการใช้ในอาหารกระป๋องประเภทเนื้อสัตว์และปลา ปริมาณไนไตรท์ที่ยอมรับได้ใน 1 วัน (maximum allowable) สำหรับมนุษย์ไม่เกิน 200 มิลลิกรัม สำหรับปริมาณไนไตรท์ตามข้อกำหนดของสหภาพโซเวียตกำหนดให้ไส้กรอกและหมูรมควันมีไนไตรท์ไม่เกิน 15-20 เปอร์เซนต์ และในอาหารสำเร็จรูปประเภทปลา เนยแข็ง ไม่เกิน 200 มิลลิกรัม FAO/WHO แนะนำให้ปริมาณโซเดียมไนไตรท์และโปแตสเซียมไนไตรท์ที่ได้รับในแต่ละวัน (ADI) ไม่ควรเกิน 0-0.2 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

ปี ค.ศ.1981 สหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้โซเดียมไนไตรท์เป็นสารถนอมอาหาร สารคงสภาพสี (Colorfixation) และระงับการเจริญเติบโตและการเกิดสารพิษจาก *Clostridium botulinum* ชนิด E ของอาหารบางชนิดในระดับไม่เกิน 10-20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในกรณีที่ใช้ระงับการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าวต้องไม่ต่ำกว่า 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้สารที่เติมไนไตรท์ต้องระบุในฉลาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 น้ำ

ประเทศสหภาพโซเวียตกำหนดปริมาณไนเตรทในรูปของไนโตรเจนในแหล่งน้ำและการสันทนาการไม่เกิน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในแหล่งน้ำเพื่อการประมง 9.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ในรูปไนเตรท 40 มิลลิกรัมต่อลิตร) และกำหนดแอมโมเนียมไนไตรท์ในแหล่งน้ำเพื่อการประมงไม่เกิน 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร ในรูปไนไตรท์อิออนหรือ 0.02 มิลลิกรัม/ลิตร ในรูปไนโตรเจนและในน้ำใช้ไม่เกิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในน้ำเพื่อการอุตสาหกรรม ซึ่งแนะนำโดยสหภาพโซเวียตมีดังนี้

1. โรงงานสารเคมีไม่ควรมีไนเตรทเกิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไนไตรท์เกิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. โรงงานผลิตยาไม่ควรมีไนไตรท์เกิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

3. โรงงานผลิตอาหารไม่ควรมีไนเตรท์เลย

2.4 ข้อกำหนดอื่นๆ

ตลาดร่วมยุโรป (EEC) กำหนดให้สี น้ำมันชักเงา ที่มีโซเดียมไนไตรท์ ความเข้มข้นเกินกว่า 5.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารพิษ และความเข้มข้น 1.0-5 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารอันตรายซึ่งประเทศสมาชิกต้องไม่ให้มีสินค้าที่เป็นอันตรายดังกล่าวจำหน่ายในตลาดโดยไม่มีการบรรจุผูกมัด ติดฉลากอย่างถูกต้อง

2.11.1.8 การใช้ประโยชน์โดยทั่วไป

ไนเตรท ถูกนำมาใช้ในกิจการต่าง ๆ ทั้งทางด้านการเกษตรและอุตสาหกรรม ดังนี้

1. โปแตสเซียมไนเตรท ใช้เป็นปุ๋ย ใช้ถนอมอาหาร ใช้ในการผลิตโลหะ แก้ว เทียน ไม้ขีด

2. แคลเซียมไนเตรท ใช้เป็นปุ๋ย ใช้ผลิตไนเตรทของโปแทสเซียม ตะกั่ว และโครเมียมโดยวิธีการย่อยสลาย

3. ไนเตรทของเหล็ก ทองแดง อะลูมิเนียม โครเมียม ใช้ในอุตสาหกรรมทอผ้าโดยทำให้สีติดทนนาน

4. ไนเตรทของปรอท เงิน บิสมัส ใช้ในอุตสาหกรรมยารักษาโรค ไนไตรท์ ที่ใช้อย่างแพร่หลายที่สุด ได้แก่ โซเดียมไนไตรท์ ซึ่งใช้ในกิจการต่าง ๆ ดังนี้

1. ใช้เป็นตัวเร่งให้คอนกรีตแข็งตัว

2. ใช้ถนอมอาหารสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อ

3. เป็นสารป้องกันการกัดกร่อนจากบรรยากาศ

4. ใช้ในด้านเภสัชกรรม

5. อุตสาหกรรม

6. กระดาษอุตสาหกรรมยาง

7. อุตสาหกรรมทอผ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. อุตสาหกรรมกำจัดวัชพืช

2.11.1.9 อันตรายของไนเตรทและไนไตรท์ ทั้งไนเตรทและไนไตรท์เป็นพิษแก่ร่างกายเมื่อบริโภคในปริมาณมากเกินไป โดยเฉพาะไนไตรท์มีพิษแรงกว่าไนเตรท เพราะเมื่อซึมผ่านลำไส้เข้าสู่กระแสโลหิตแล้วจะไปออกซิไดส์ฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงกลายเป็นเมทไมโอโกลบิน (metmyoglobin) ซึ่งจะทำให้เม็ดเลือดนั้นหมดสภาพไม่สามารถลำเลียงออกซิเจนได้อีก ความเป็นพิษของไนเตรทได้มีรายงานไว้ว่า เด็กดื่มน้ำที่มีไนเตรทเพียง 30 พีพีเอ็มแล้วเสียชีวิต แสดงว่าไนเตรทมีพิษต่อเด็กมาก โดยเฉพาะทารกที่อายุต่ำกว่า 6 สัปดาห์เพราะในกระเพาะของเด็กมีแบคทีเรียที่รีดิวส์ไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ได้ ประกอบกับเด็กยังไม่สร้างกรดเกลือในกระเพาะที่จะช่วยกำจัดแบคทีเรียดังกล่าวได้ แม้ในผู้ใหญ่ที่ได้รับไนเตรทในปริมาณมากเกินไป และมีเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวอยู่ในกระเพาะจะได้รับพิษดังกล่าวได้ เช่นกัน จึงเป็นข้อควรระวัง การบริโภคผลิตภัณฑ์พวกเนื้อสัตว์ในเด็กอ่อน ปัจจุบันในประเทศอังกฤษได้กำหนดให้ไนเตรทและไนไตรท์เป็นสารเคมีถนอมอาหารชนิดสังเคราะห์ (synthetic chemical perservative) มีกฎหมายควบคุม

นอกจากพิษอันเนื่องจากไนเตรทและไนไตรท์โดยตรงดังกล่าวแล้ว ยังพบว่าสารประกอบดังกล่าวจะช่วยให้เกิดสารประกอบที่เรียกว่าไนโตรซามีน (nitrosamine) ซึ่งได้พิสูจน์แล้วว่าสารนี้คือ สารที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็ง (carcinogen) เช่น ไดเอทิลไนโตรซามีน (diethylnitrosamine) เป็นสาเหตุโรคมะเร็งในตับของสัตว์ทดลอง ส่วนสารที่พบในเบคอนนั้นได้แก่เอ็น- ไนโทรโซไพโรลิดีน (N-nitrosopyrolidine) สารตั้งต้นที่จะเกิดสารนี้ ได้พิสูจน์แล้วว่าคือ โพรลีน (proline) ซึ่งมีอยู่ในอาหารหลายชนิด พบมากในส่วนเนื้อสามชั้นที่นำมาทำเบคอนคือ ประมาณ 11-16 มิลลิกรัม/กิโลกรัมจึงมีโอกาสเกิดไนโทรซามีนมากขึ้นพบว่าเบคอนดิบจะมีประมาณต่ำมากแต่เมื่อนำมาทอดหรือย่างจึงจะเกิดไนโทรซามีนขึ้น แต่ถ้านำไปย่างปริมาณจะต่ำกว่าและถ้าทอดนาน ๆ ปริมาณก็จะลดลง ที่น่าสังเกตอีกประการหนึ่งคือ ในน้ำมันที่เหลือจากทอดเบคอนจะมีไนโทรซามีนสูงกว่าในชิ้นเบคอนถึง 2 เท่า จึงควรหลีกเลี่ยงการใช้น้ำมันดังกล่าว จึงควรระมัดระวังอย่างยิ่งในการใช้ โดยเฉพาะปริมาณที่กำหนดไว้จะอยู่ในระดับที่ปลอดภัยพอสมควร นอกจากนี้ยังพบว่าเครื่องปรุงที่ใช้ในผลิตภัณฑ์มี N-nitrosopyrolidine ได้โดยเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างไนไตรท์ กับพาพริกา (paprika) และพบ N-nitrosopyrolidine จากปฏิกิริยาระหว่างไนไตรท์กับพริกไทย ซึ่งการหลีกเลี่ยงการเกิดสารพิษดังกล่าวทาง FDA จึงออกกฎให้บรรจุสารไรไตรท์กับเครื่องปรุงรสแยกจากกันโดยเด็ดขาด

เมื่อพบว่าเกลือไนไตรท์และไนเตรทเป็นพิษดังกล่าว ทำให้มีผู้คิดค้นหาสารประกอบอื่นเพื่อจะมาใช้แทนและแก้ปัญหาดังกล่าวเช่น ในปี พ.ศ. 2516 Brown ได้เสนอว่าเมทิล และเฮกซิลนิโคติเนต (methyl และ hexyl nicotinate) และเอ็น,เอ็น,ไดเอทิลนิโคตินามีด (N,N,diethylnicotinamide) อาจใช้แทนไนเตรทและไนไตรท์ได้ นอกจากนี้กลุ่มศึกษาจากประเทศสวีเดนได้รายงานว่า สารประกอบที่มีโอกาสใช้แทนได้คือ pentaerythritoltetranicotinate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยังได้เสนอแนะว่า ถ้าใช้โซเดียมแอสคอร์เบต (sodium ascorbate) หรือโซเดียมอิริทอร์เบต (sodium erythorbate) ร่วมกับเกลือไนไทรตจะช่วยลดการเกิดไนโทรซามีนได้ด้วย (สุภาวดี, 2545)

ลักษณะของความเป็นพิษ แบ่งเป็น 2 ลักษณะ คือ

1. ความเป็นพิษเฉียบพลัน (Acute effects)

ไนเตรทและไนไตรท์ ความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรทที่ทำให้สัตว์ทดลองตายครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) โดยทางกระเพาะอาหารในหนูขาว (albino rat) เท่ากับ 9,120 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ในหนู mice เท่ากับ 6,250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนปริมาณสูงสุดที่ทำให้ตาย (lethal doses) เท่ากับ 13,000 และ 10,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

2. ความเป็นพิษเรื้อรัง

พิษที่เกิดจากไนเตรทและไนไตรท์ที่สำคัญคือ methaemoglobinnaemia ซึ่งพบในสัตว์ที่อายุน้อย พบว่าไนไตรท์เป็นสารก่อกลายพันธุ์ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด

2.11.1.10 การตกค้างและสะสมในสิ่งแวดล้อม พืชหลายชนิดจะสะสมไนเตรทในลำต้น ซึ่งอาจจะมีปริมาณสูงมากพอที่จะทำให้เกิดพิษได้ จากการรวบรวมข้อมูลของ National Institute of Environmental Health Science พบว่า ปริมาณไนเตรทในผักแตกต่างกันมาก ในบีท มะเขือ ผักกะหล่ำ ผักขม มีปริมาณไนเตรทสูง ปริมาณของไนเตรทที่สะสมในต้นพืชจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น มีการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนบริเวณดังกล่าว หรือระยะการเจริญเติบโตของต้นพืช การทำงานของเอนไซม์รีดักเทสผิดปกติ เนื่องจากได้รับแสงไม่เพียงพอหรือกระบวนการสังเคราะห์แสงของต้นพืชลดน้อยลง หรือได้รับอาหารไม่เพียงพอ สาเหตุดังกล่าวจะทำให้เอ็นไซม์รีดักเทสไม่สามารถเปลี่ยนโปแตสเซียมที่รากและใบ ไปเป็นโปรตีนของพืช จึงทำให้เกิดการสะสมของไนเตรท

2.12 สารป้องกันการเสื่อมเสียจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมี

การเสื่อมเสียของอาหารจากผลการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่พบเสมอคือ การเสียในรูปการเปลี่ยนสีและกลิ่นโดยเฉพาะในกรณีหลังมักเป็นปัญหาสำคัญในการเสื่อมเสียของอาหารประเภทไขมันรวมทั้งผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบเช่น อาหารที่ผ่านการทอดทั้งหลาย สารที่ใช้เพื่อลดปัญหาเรื่องการหืน (rancidity) คือสารกันหืน (antirancidity) การหืนในอาหารมักจะเกิดได้ 3 ทางคือ

2.12.1. Hydrolytic Rancidity

เกิดขึ้นจากการที่ไขมันแตกตัวออก (fat splitting) การเกิดปฏิกิริยานี้จะต้องมีน้ำเข้าไปเกี่ยวข้องด้วยและอาจมีเอนไซม์ย่อยไขมัน (lipolytic enzyme) เข้ามาเกี่ยวข้องด้วยซึ่งมักมีอยู่แล้วในอาหารนั้นตามธรรมชาติหรืออาจจะเกิดขึ้นจากเชื้อจุลินทรีย์สร้างขึ้นมา การหืนแบบนี้มักพบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

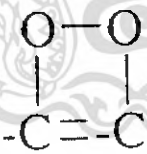
เสมอในพวกน้ำมันมะพร้าวหรือ (lauric fat) รวมทั้งไขมันในผลิตภัณฑ์นม ผลของการหืนแบบนี้จะทำให้เกิดกรดไขมันอิสระในปริมาณสูงขึ้นกว่าปกติ จึงทำให้มีกลิ่นคล้ายสบู่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ วิธีป้องกันกำจัดความหืนนี้คือการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ (refining) และการทำให้เอนไซม์นั้นเสียสภาพ

2.12.2 Ketonic Rancidity

เกิดขึ้นจากเชื้อจุลินทรีย์โดยตรง ทำให้เกิดปฏิกิริยา β-oxidation ขึ้นในไขมันและผลจากการหืนแบบนี้จะได้สารประกอบคีโตน การหืนแบบนี้มักเกิดในน้ำมันมะพร้าวที่ขึ้นรา มีความชื้นและสารอาหารพวกไนโตรเจนเข้ามาเกี่ยวข้องเพื่อการเจริญของราด้วย เมื่อเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวจะได้สารประกอบ methyl-amyl ketone นอกจากนี้ ยังพบว่าเกิดกับผลิตภัณฑ์นม การหืนนี้พบน้อยมากในอาหารที่ผ่านการแปรรูปและบรรจุในภาชนะบรรจุที่ดีถูกต้องและมีสุขลักษณะที่ดี การป้องกันการหืนแบบนี้จึงทำได้โดยการกำจัดความชื้นและสารประกอบไนโตรเจน

2.12.3 Oxidative Rancidity หรือ การออกซิไดส์เอง (autoxidation)

เป็นการหืนที่เกิดจากไขมันสัมผัสกับออกซิเจนโดยตรงหรืออาจจะเกิดจากปฏิกิริยาโฟโตเคมี (photochemical reaction) หรือ โดยสารบางอย่างที่เติมลงไปในน้ำมัน ไขมันที่จะเกิดการหืนแบบนี้ได้อย่างรวดเร็วมักเป็นพวกที่มีพันธะคู่ในกรดไขมัน (unsaturated fatty acid) ซึ่งปฏิกิริยาในแบบนี้เป็นแบบปฏิกิริยาลูกโซ่ซึ่งจะอธิบายได้เป็น 3 ขั้นคือ ขั้นเริ่มต้น ซึ่งจะได้ free radical (R °) เกิดขึ้นแล้วอนุมูลอิสระนี้จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเพอร์ออกซี (peroxy radical, ROO°) แล้วจะทำปฏิกิริยาต่อตรงพันธะคู่ของกรดไขมันอีกเกิดเป็นไฮโดรเพอร์ออกไซด์ (hydroperoxide, ROOH) คือเกิด peroxide bridge ตรงพันธะคู่ดังในรูป



ซึ่งการเกิดปฏิกิริยาในขั้นที่ได้ ROO ° และ ROOH นี้จะเป็นขั้น propagation ตามปกติ ไฮโดรเพอร์ออกไซด์จะไม่มีกลิ่นรสเลยแต่จะไม่คงตัวมักสลายตัวให้สารประกอบแอลดีไฮด์ คีโตน พอลิมอร์ ลิพอเพอร์ออกไซด์ (lipoperoxide) และอนุมูลอิสระ สารเหล่านี้จะกลับเข้าไปก่อให้เกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องได้อีกและยังก่อให้เกิดกลิ่นหืนขึ้นในอาหารได้ด้วยซึ่งเป็นการเกิดปฏิกิริยาในขั้นสุดท้าย

2.12.3.1 สารกันหืน (Antioxidants) สารกันหืนหมายถึง สารประกอบที่สามารถลดอัตราเร่งของปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารที่เกิดการออกซิไดซ์ตัวเองโดยเฉพาะการยืดระยะเวลาในขั้นเริ่มก่อปฏิกิริยา (induction period) ในการเกิดการหืน

1. หน้าที่และปฏิกิริยาของสารกันหืน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากปฏิกิริยาการหืนจะเห็นว่า ROO ° และ ROOH มีบทบาทสำคัญมากในการก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่ต่อเนื่องกันไปเรื่อย ๆ ถ้าหาวิธีทำให้ R ° และ ROO ° นี้หมดความสามารถในการทำปฏิกิริยาแล้ว อัตราเกิดของปฏิกิริยาก็จะลดลงได้และ ROO ° จะง่ายต่อการที่จะยุติปฏิกิริยาของมันได้ สารกันหืนจะทำหน้าที่ได้ในแบบต่าง ๆ ดังนี้คือ

1.1 สารกันหืนทำหน้าที่ให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระ เกิดสารที่คงตัวไม่ทำปฏิกิริยาต่อไป ดังเช่นสมมติให้ AH เป็นสูตรของสารกันหืน จะเกิดปฏิกิริยา

$$ROO^{\circ} + AH \longrightarrow \text{inert product}$$

$$R^{\circ} + AH \longrightarrow \text{inert product}$$

แต่ปฏิกิริยานี้จะเกิดในระดับต่ำมากมีผลต่อการป้องกันการหืนไม่มากนัก

1.2 สารกันหืนทำหน้าที่รวมตัวกับอนุมูลเพอร์ออกไซด์ เกิดเป็นสารเชิงซ้อนแล้วสารนี้อาจทำปฏิกิริยากับอนุมูลเพอร์ออกไซด์อื่น ๆ ได้อีกและเกิดเป็นสารประกอบสุดท้ายที่ไม่เปลี่ยนแปลงต่อไปดังสมการ

$$ROO^{\circ} + AH \longrightarrow (ROO.AH)$$

$$(ROO.AH) + ROO^{\circ} \longrightarrow \text{products of chain termination}$$

ปฏิกิริยาเช่นนี้มักจะเกิดขึ้นกับสารกันหืนที่เป็นฟีนอล (phenols)

2.13 การผลิตและแปรรูปวุ้นมะพร้าว

วุ้นมะพร้าวมีชื่อเป็นภาษาอังกฤษว่า Bacterial cellulose เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักอาหารเหลว ไม่ว่าจะเป็นน้ำผัก น้ำผลไม้ หรืออาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา โดยใช้เชื้อแบคทีเรียชื่อ *Acetobacter xylinum* หากหมักด้วยน้ำมะพร้าวทางฟิลิปินส์จะเรียกว่า Nata de Coco หากหมักด้วยน้ำสับปะรดจะเรียกว่า Nata de Pina มีชื่อเรียกหลายอย่าง เช่น วุ้นน้ำมะพร้าว วุ้นสวรรค์ ลูกมะพร้าว วุ้นเส้น เห็ดชาแดง เห็ดกัมพูชา เห็ดรัสเซีย วุ้นน้ำส้ม ทำจากน้ำมะพร้าว หรือน้ำผลไม้อื่น ๆ แผ่นวุ้นมีลักษณะเป็นเยื่อเหนียว มีสีขาว สีครีม ทึบแสง เป็นสารเซลลูโลส ผลิตโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* ลักษณะทางกายภาพคล้ายวุ้นทำขนม แต่เหนียวกว่า ต้มที่ 100 องศาเซลเซียส ก็ไม่ละลายน้ำ วุ้นมะพร้าว เป็นผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมที่น่าสนใจ เนื่องจากผลิตได้ง่ายในครัวเรือนและระดับอุตสาหกรรม ต้นทุนในการผลิตต่ำ เพราะใช้น้ำมะพร้าวแก่ที่เหลือทิ้งมาใช้ให้เกิดประโยชน์ วุ้นที่ได้สามารถนำมาแปรรูปเป็นอาหารคาวหวานได้มากมายหลายชนิด อาหารคาวจะปรุงโดยใช้วุ้นสวรรค์แทนเนื้อปลาหมึกหรือแมงกะพรุน ทำยำต่างๆ แกงเผ็ด แกงจืด ผัดเผ็ด ผัดกระเพราเป็นต้น อาหารหวาน ได้แก่ วุ้นในน้ำเชื่อม วุ้นกรอบ เยลลี่ รวมมิตร แยมวุ้นสวรรค์ อีกทั้งหลังการหมักจะได้น้ำส้มสายชูเป็นผลพลอยได้ด้วย

วุ้นมะพร้าวจัดเป็นแผ่นวุ้นชนิดเซลลูโลสเจล (gelatinous bacterial cellulose) ที่สร้างขึ้นโดยแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* subspecies *xylinum* หรือ *Acetobacter xylinum* นอกจากแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกุล *Acetobacter* แล้วยังมีแบคทีเรียสกุลอื่นๆ ที่สร้างวุ้นชนิดนี้ ได้แก่ *Rhizobium, Alcaligenes, Agrobacterium* และ *Pseudomonas* เป็นต้น

แบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* เป็นแบคทีเรียที่นิยมนำมาใช้ผลิตวุ้นมะพร้าว จัดอยู่ในสกุล *Acetobacter* spp. เรียกกันทั่วไปว่า Acetic acid bacteria หรือแบคทีเรียน้ำส้มสายชูเป็นเชื้อที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต โคโลนีที่ขึ้นอยู่บนอาหารวุ้นมีลักษณะกลมนูน ทึบแสงสีน้ำตาลอ่อนผิวเรียบมัน มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 2 มิลลิเมตร สามารถผลิตวุ้นเซลลูโลสได้ที่ผิวหน้าของอาหารเหลว

ลักษณะเฉพาะของวุ้นสวรรค์ที่ได้จาก *Acetobacter xylinum*

1. เส้นใยมีขนาดเล็กมาก คือ หนาประมาณ 3-4 นาโนเมตร กว้าง 60-80 นาโนเมตร และยาวประมาณ 180-960 นาโนเมตร

2. จากการที่เส้นใยมีขนาดเล็กมาก ดังนั้นจึงทำปฏิกิริยากับสารเคมีต่าง ๆ ได้ดี

3. เส้นใยไม่มีเฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเพกตินเจือปน

4. เส้นใยมีความเป็น Hydrophilic สูง อุ้มน้ำได้ 60-700 เท่าของน้ำหนักแห้ง

5. เส้นใยมีลักษณะใส

6. เส้นใยทนต่อแรงดึงได้สูงกว่าไฟเบอร์สังเคราะห์ต่าง ๆ

7. สามารถใช้สารตั้งต้นที่มีราคาถูก หาง่าย

8. สามารถควบคุมคุณสมบัติทางกายภาพได้ตามที่ต้องการ โดยจัดองค์ประกอบของอาหารที่ใช้เลี้ยง และสภาวะการหมัก

เนื่องจากวุ้นมะพร้าวมีปริมาณเส้นใยอาหารอยู่มาก เป็น Micro-Fibrill Cellulose ที่มีความละเอียดอ่อนและนุ่มกว่า Dietary Fibre ที่พบในผัก ผลไม้ เมื่อรับประทานแล้วจะไปช่วยในระบบการย่อยและขับถ่ายของร่างกาย สามารถช่วยระบายพิษและลดปัญหาที่เกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารและระบบขับถ่ายได้เป็นอย่างดี คุณประโยชน์ของการบริโภคอาหารที่มีเส้นใยสูง จะช่วยในการควบคุมน้ำหนัก ช่วยป้องกันโรคท้องผูก โรคมะเร็งในลำไส้ใหญ่ โรคริดสีดวงทวาร ลดการเกิดคอเลสเตอรอลในเส้นเลือด และยังช่วยลดการดูดซึมสารพิษต่างๆ ในระบบการย่อยของร่างกายด้วย การบริโภคอาหารที่มีเส้นใยเป็นประจำมีผลดีต่อสุขภาพ โดยเฉพาะผู้ที่ไม่ชอบทานผักและผลไม้ หรือผู้ที่กลัวสารพิษตกค้าง ของยาฆ่าแมลงในผักผลไม้ อาจหันมาบริโภควุ้นมะพร้าวแทนได้ วุ้นมะพร้าวนอกจากจะมีปริมาณเส้นใยสูงและแคลอรี่ต่ำแล้ว ยังมีแร่ธาตุอื่นๆ อยู่ด้วย

ประโยชน์ของไฟเบอร์จากวุ้นมะพร้าวต่อสุขภาพ

1. มีแคลอรี่ต่ำ ช่วยควบคุมน้ำหนัก

2. ช่วยในการขับถ่าย

3. ช่วยป้องกันมะเร็งลำไส้

4. ไฟเบอร์ของวุ้นเป็น gel form ร่างกายนำมาใช้ประโยชน์ได้ง่ายกว่าไฟเบอร์จากพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วุ้นสวรรค์ในบ้านเราเริ่มเป็นที่นิยมตั้งแต่ปี 2528 เป็นเพราะเกิดการเน่าเสียของแม่น้ำแม่กลอง เนื่องมาจากสองฝั่งของแม่น้ำเป็นโรงกะเทาะมะพร้าว แล้วเทน้ำมะพร้าวทิ้งลงไปในแม่น้ำ มีนักวิจัยหลายทีมเข้าไปดำเนินการแก้ไข แต่ไม่สำเร็จเนื่องจากน้ำมะพร้าวที่ทิ้งในแต่ละปีมีปริมาณมากถึง 3 แสนตัน (3 พันล้านลิตร) ต่อมาทีมนักวิจัยจากมหาวิทยาเกษตรศาสตร์ คือ ทีมของท่านอาจารย์ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ ได้เข้าไปดำเนินการแก้ไขตั้งแต่ต้นเหตุ คือ การนำน้ำมะพร้าวเหล่านั้นมาผลิตเป็นวุ้นมะพร้าว แม่น้ำแม่กลองก็กลับมาสดใสอีกครั้ง และเป็นการเพิ่มรายได้ให้กับชาวบ้านอีกด้วย

2.13.1 ส่วนประกอบและคุณค่าทางอาหารของวุ้นมะพร้าว

วุ้นมะพร้าวนอกจากผลิตง่าย ต้นทุนการผลิตต่ำ ยังมีคุณค่าทางอาหารคือมีแร่ธาตุ และวิตามินต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 2.4 ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบของวุ้นมะพร้าว

		ผลการวิเคราะห์โดย	
		กรมวิทยาศาสตร์บริการ	กองเกษตรเคมี
น้ำ	ร้อยละ	94.4	94.6
ไขมัน	ร้อยละ	0.05	0.06
ไฟเบอร์	ร้อยละ	1.10	1.15
โปรตีน	ร้อยละ	0.68	0.84
เถ้า	ร้อยละ	0.77	0.10
คาร์โบไฮเดรต	ร้อยละ	3.00	3.20
แคลเซียม	(มิลลิกรัม/100กรัม)	34.5	5.20
เหล็ก	(มิลลิกรัม/100กรัม)	0.20	-
ฟอสฟอรัส	(มิลลิกรัม/100กรัม)	22.00	5.70
วิตามินบี 1	(มิลลิกรัม/100กรัม)	0.01	-
วิตามินบี 2	(มิลลิกรัม/100กรัม)	0.02	-
ไนอาซีน	(มิลลิกรัม/100กรัม)	0.22	0.22

ที่มา : ภัทธรินทร์ และคณะ (2547)

2.13.2 แบคทีเรียที่ผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส

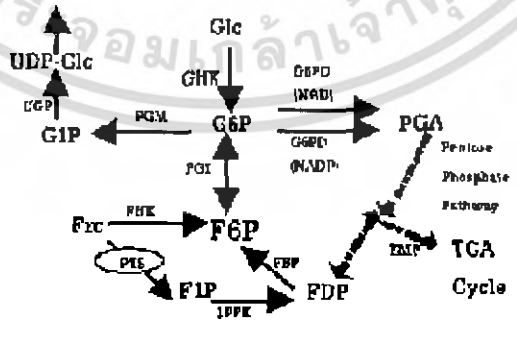
โพลีแซคคาไรด์ที่สังเคราะห์ขึ้นโดยแบคทีเรียแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ โฮโมโพลีแซคคาไรด์และเฮเทอโรโพลีแซคคาไรด์ สายพันธุ์แบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ที่สามารถผลิตสารโพลีแซคคาไรด์ อาทิเช่น *Corynebacterium* sp., *Arthobacter vicosus* NRRL B-1797, *Alcaligenes faecalis var myxogenes* 10C3, *Pseudomonas solanacearum*, *Erwinia stewatii*, *Escherichia coli*, *Erwinia*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

amylovora, *Acinetobacter vinelandii* strain D-0.5, *Acinetobacter* sp. strain 12, *Leuconostoc mesenterroides*, *L. dextranicum*, *Xanthomonas campestris* และสายพันธุ์ *Acetobacter* sp.

เชื้อแบคทีเรียที่ได้รับความสนใจในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสในระดับอุตสาหกรรม ได้แก่ เชื้อ *Acetobacter sp.* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ หรือ Gram variable จัดอยู่ในแฟมิลี่ Acetobacteraceae สายพันธุ์ที่สำคัญและใช้ในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสกันอย่างกว้างขวาง คือ *A. xylinum, A. pasteurianus, A.hansenii, A.sucrofermantans* และ *A.acetigenumx* สำหรับ *Acetobacter aceti* subsp. *xylinum* เซลล์มีลักษณะรูปร่างรีจนถึงเป็นท่อน อาจเป็นท่อนตรงหรือโค้งเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือต่อกันเป็นสาย ขนาดเซลล์กว้างประมาณ 0.6-0.8 ไมครอน ยาวประมาณ 1.0-4.0 ไมครอน และอาจพบในลักษณะกลม ยืดยาว (elongation) บวม (swollen) รูปกระบอง (clopshape) หรือเป็นเส้นสาย (filamentous) เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลารอบเซลล์หรือแฟลกเจลลาที่ขั้วเซลล์ หรือไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างเอนโดสปอร์ (endospore) โคโลนีของเชื้อ *Acetobacter* sp. มีสีชมพูเนื่องจากมีการสังเคราะห์สารพอร์ไฟริน (porpyrin) ต้องการอากาศ (aerobic) มีเมแทบอลิซึมจากการหายใจด้วยออกซิเจนโดยออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็คตรอนตัวสุดท้าย (terminal electron accepter) ในกระบวนการเปลี่ยนสารอาหารให้เป็นพลังงาน เป็นพวกเคโมออร์กาโนโทรพิค (chemoorganotrophic) สร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase positive) สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต คือที่พีเอช 3.3-5.4 และอุณหภูมิประมาณ 25-30 องศาเซลซียส ไม่สร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟต์ (H_2S) สามารถออกซิไดส์เอทานอลเป็นกรดอะซิติก และออกซิไดส์ กรดอินทรีย์ประเภทอะซิเตท และแลคเตทเป็นน้ำ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญเป็นสารประเภทเอทานอล กลีเซอรอล แลคเตท กลูโคส ซูโครส ฟรุคโตส แลคโตส และอะราบิโนส สามารถสร้างกรดจากเอทานอล และยังสามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารที่มีเอทานอล และโพรพานอล อุณหภูมิที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 65-70 องศาเซลเซียส การสังเคราะห์เส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรียมีวิถีทาง ดังนี้



ภาพที่ 2.12 Pathway การสังเคราะห์เส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

ที่มา : www.gpo.or.th/rdi/htmls/cellu.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.13.3 การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียผลิตเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ในการผลิตเซลลูโลสนั้นพบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ การเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีการให้อากาศและมีการเขย่าจะให้ผลดีที่สุด สำหรับการสร้างเซลลูโลส จะเกิดขึ้นในเซลล์ของแบคทีเรียและเส้นใยเหล่านี้จะถูกขับออกมาทางรูของเซลล์เมมเบรน โดยในการเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter* นี้ใช้น้ำตาลฟรุคโตส เป็นแหล่งคาร์บอน ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 40 กรัมต่อลิตร และจะให้เซลลูโลสสูงถึง 9 กรัมต่อลิตร ในการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter* นั้นได้ทำการเปรียบเทียบการเลี้ยงเชื้อในสภาพนิ่ง (static) และสภาพที่มีการเขย่า (agitation) พบว่าการเลี้ยงแบบสภาพนิ่งจะทำให้เส้นใยเจริญและจับตัวกันแน่น ทำให้สภาพอาหารเลี้ยงเชื้อมีความหนืดสูงกว่าการเลี้ยงแบบเขย่า นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มกรดคาร์บอนิค จะช่วยให้เซลล์มีการเจริญเติบโตดีในช่วงของ lag phaseและยังช่วยเพิ่มการผลิตเซลลูโลสด้วย การเพิ่มกรดแลคติกลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะช่วยให้เชื้อสังเคราะห์ATP ได้ดีขึ้น โดยจะไปเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของ lactate dehydrogenase และ TCA cycle นอกจากนี้ ปัจจัยอื่น ได้แก่ ชนิดของใบพัดในถังหมัก ความเร็วรอบในการกวน ปริมาณอากาศและ pH ก็มีผลต่อการผลิตเซลลูโลสด้วย

2.13.4 ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อกระบวนการผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *A. xylinum*

ลักษณะการผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *A. xylinum* เป็นแบบ Growth associated มีลักษณะสำคัญคือ การเจริญเติบโต (trophophase) แบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลสจะมีการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นจำนวนมากและมีการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสออกมาน้อย แต่ในช่วงผลิตผลิตภัณฑ์คือเซลลูโลส (idiophase) จะมีการเจริญของเซลล์เพียงเล็กน้อยแต่มีการผลิตเซลลูโลสสูงสุด

2.13.4.1 แหล่งคาร์บอน

สำหรับผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ ในการสังเคราะห์เซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* แบ่งออกได้ดังแสดงในตารางที่ 2.5

ผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียจะมีความสัมพันธ์กับการใช้สารอาหารน้ำตาลกลูโคส ผลผลิตของแบคทีเรียเซลลูโลสจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารอาหารน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น เนื่องจากน้ำตาลกลูโคสถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดกลูโคนิก และกรดคีโตกลูโคนิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 ผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ ในการสังเคราะห์เซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum*

แหล่งคาร์บอน	ชนิด	ผลผลิตของเซลลูโลส(ร้อยละ)
Monosaccharide	D-fructose	92
	D-galactose	15
	D-glucose	100
	D-mannose	6
	D-xylose	11
	L-arabinose	14
	L-sorbose	11
Disaccharide	Lactose	16
	Maltose	7
	Sucrose	33
	Starch	18
	Ethanol	4
	Ethylene glycol	1
	Diethylene glycol	1
	Propylene glycol	8
	Glycerol	93
	Myo-inositol	17
Organic acids	Citric acid	20
	L-malic acid	15
	Succinic acid	12
Other	D-glucono lactone	62
	No carbon source	2

ที่มา : Satoshi และคณะ. (1993)

แหล่งคาร์บอนจะมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter* sp. โดยเป็นแหล่งพลังงานแก่เซลล์และเป็นองค์ประกอบหลักของแบคทีเรียเซลลูโลส เช่น ซูโครส มอลโทส และแมนโนส เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียผลิตเซลลูโลสบางสายพันธุ์มีความสามารถในการใช้สารในกลุ่มแอลกอฮอล์ อาทิเช่น กลีเซอรอล ไกลคอล เอทานอล และโพรพานอล เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อเป็นแหล่งให้พลังงาน (Yoshinaga และคณะ, 1997) แหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ต่างกันจะมีผลต่อกิจกรรมของ phosphocose isomerase และในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำตาลฟรุกโตส พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ UDPG pyrophosphorylase สูงขึ้น ซึ่งมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลส

2.13.4.2 แหล่งไนโตรเจนและสารอาหารอื่นๆ เซลล์แบคทีเรียมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 8-10 ของน้ำหนักแห้ง ความต้องการไนโตรเจนของแบคทีเรียแต่ละชนิดแตกต่างกันไป แบคทีเรียบางสายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารที่มีสารไนโตรเจนอนินทรีย์ (inorganic nitrogen) แต่บางสายพันธุ์ต้องการสารไนโตรเจนอินทรีย์ (organic nitrogen) แหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ที่สำคัญเป็นสารประเภทก๊าซแอมโมเนียม เกลือแอมโมเนียม และไนเตรท สำหรับแอมโมเนียมซัลเฟต ปกติเมื่อแอมโมเนียม (NH_4^+) ถูกใช้ไปจะทำให้พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อจะเป็นกรด เพราะจะเกิดการสะสมอนุมูลซัลเฟต (SO_4^+) ขึ้น ส่วนก๊าซแอมโมเนียมและไนเตรต เมื่อถูกเมตาโบไลท์จะทำให้เกิดสภาวะที่เป็นด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ สารไนโตรเจนอินทรีย์ที่สำคัญประกอบด้วย เปปโตน สารสกัดจากยีสต์ และเคซีน

ธาตุอาหารอื่นๆมีความจำเป็นเกี่ยวกับอัตราการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสภายนอกเซลล์ เช่น แหล่งไนโตรเจน แคลเซียม และฟอสเฟต เป็นต้น อย่างไรก็ตามชนิดและปริมาณของธาตุอาหารเหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการและสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส รวมถึงสภาวะการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส อาทิเช่น พีเอช อุณหภูมิ และการให้อากาศ แหล่งไนโตรเจน เป็นสารอาหารที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แต่ถ้ามีปริมาณสูงจะลดประสิทธิภาพการเปลี่ยนสารคาร์โบไฮเดรตเป็นแบคทีเรียเซลลูโลส สำหรับโปแตสเซียมและโซเดียมไนเตรท แบคทีเรียไม่สามารถใช้ได้ และยังเป็นพิษต่อเชื้ออีกด้วย (Lapuz และคณะ, 1967)

2.13.4.3 อุณหภูมิ การหมักเชื้อ *Acetobacter* sp. ในน้ำมะพร้าวที่อุณหภูมิในช่วง 10-45 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้แต่จะไม่ผลิตเซลลูโลส การสังเคราะห์เซลลูโลสจะเริ่มมีการผลิตตั้งแต่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสจนถึงช่วงอุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตและผลิตเซลลูโลสในปริมาณสูง เมื่ออุณหภูมิสูงจะเกิดผลเสียต่อคุณสมบัติของเอนไซม์หรือการเสียสภาพโปรตีน โครงสร้างของแฟลกเจลลา ไรโบโซม โปรโตพลาส และไมโตคอนเดรีย

อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส ในการผลิตสารโพลีแซคคาไรด์ของเชื้อ *Escherichia coli* โดยทำการหมักที่อุณหภูมิ 20 และ 37 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์ที่แบคทีเรียสังเคราะห์ขึ้นจะต่ำกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

2.13.4.4 อัตราการให้อากาศ Krusong และ Yoshida (1995) พบว่าปริมาณการให้อากาศและปริมาณออกซิเจนมีผลต่อการสังเคราะห์เซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* โดยมีผลกับปริมาณพลังงานที่สร้างขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ ในกรณีของแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Acetobacter aerogenes ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะไม่มีอากาศ พบว่ามีการสังเคราะห์เซลลูโลสในปริมาณที่ต่ำกว่าในสภาพที่มีอากาศ โดยการสังเคราะห์จะต่ำกว่าร้อยละ 25-40 กรณีของเชื้อ *A. xylinum* พบว่าในสภาพที่ไม่มีอากาศจะไม่สามารถสังเคราะห์เซลลูโลสได้เลย การสังเคราะห์จะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อปริมาณก๊าซออกซิเจนมีเพียงพอต่อความต้องการของเซลล์เท่านั้น

Guzman และคณะ, (1982) รายงานว่าปริมาณอากาศมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสโดยได้ศึกษาการผลิตของเชื้อ *A.xylinum* ในการศึกษาใช้กระบวนการหมัก 2 แบบ คือ แบบอยู่กับที่ให้เกิดเซลลูโลสขึ้นเองที่ผิวหน้าของอาหารเหลว เปรียบเทียบการหมักที่มีการให้อากาศและมีการกวนตลอดเวลา (submerged culture) ในถังหมักขนาด 1 ลิตร อัตราการกวน 800 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1.25 ปริมาตรต่อปริมาตรนาที ปริมาณแบคทีเรียเซลลูโลสที่ผลิตได้ 22.47 และ 71.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Ebner (1982) เชื้อ *Acetobacter* sp. จะมีเอนไซม์อไฟเรส (aprayrase) ทำหน้าที่ในการย่อยสลายพลังงาน ATP (ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานและมีการสะสมในระหว่างปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก) ได้อย่างรวดเร็ว ทำให้เหลือพลังงาน ATP สำหรับกิจกรรมของเมแทบอลิซึมอื่นๆ ของเซลล์ในระดับต่ำ ดังนั้นเมื่องดให้อากาศทำให้พลังงาน ATP ในแหล่งเก็บพลังงานหรือ ATP pool สูญเสียไปอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

การหมักเชื้อ *A. xylinum* บนเครื่องเขย่าโดยการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณต่างกัน คือ 25 50 75 100 และ 125 มิลลิลิตร บรรจุในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร พบว่าปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อ 75 มิลลิลิตร ให้ผลผลิตเซลลูโลสปริมาณสูงสุด (Alban, 1962)

ปริมาณอากาศมีส่วนสัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลส และการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เมื่อแบคทีเรียสังเคราะห์เซลลูโลสเพิ่มขึ้น จะทำให้การแผ่กระจายของอากาศลดลง เป็นเหตุให้ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์เซลลูโลสลดลง เนื่องจากความหนืดของอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้น การส่งผ่านออกซิเจน (oxygen transfer) ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้เชื้อ *A. xylinum* BPR2001 เพื่อผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความหนืดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มขึ้น เป็นตัวจำกัดปริมาณก๊าซออกซิเจนที่มีอยู่ด้วย ชนิดของใบกวนในถังหมักแบบ Maxblen และ Gate with turbine จะช่วยเพิ่มการส่งผ่านก๊าซออกซิเจนได้สูงขึ้น ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การส่งผ่านของมวล (volumetric mass transfer coeffcient, K_La) มีค่าสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากใบกวนจะช่วยเพิ่มฟองอากาศในอาหารเลี้ยงเชื้อและช่วยเพิ่มผิวสัมผัสระหว่างฟองอากาศกับอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ค่า K_La สูงขึ้น และนอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่ม partial pressure ของก๊าซออกซิเจนในถังหมัก แบคทีเรียสามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงขึ้น และลดพลังงานในการกวน

2.13.4.5 ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

Ohara และคณะ (1992) ศึกษาค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ และการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ในกระบวนการหมักแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส ส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใหญ่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงค่าพีเอช 4.0-5.0 และค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ในการย่อยสลายสารอาหาร รวมถึงการยอมให้สารอาหารผ่านผนังเซลล์ได้

การศึกษาผลของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* พบว่าค่าพีเอช 4.0-5.0 เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส ที่มีค่าพีเอช 3.0 การเจริญเติบโตของเชื้อจะลดลงและที่ค่าพีเอชมากกว่า 8.0 เชื้อไม่สามารถเจริญเติบโตได้ การเติมกรดอะซิติกในอาหารเลี้ยงเชื้อ 1-10 เปอร์เซ็นต์ ลงในน้ำมะพร้าว นอกจากเป็นการปรับค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว จะช่วยป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อ *Aspergillus* sp. ได้ เมื่อเติมกรดอะซิติกร้อยละ 1 และเมื่อเพิ่มปริมาณกรดเป็นร้อยละ 2 จะช่วยป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อ *Pennicillium* sp. และ *Bacillus* sp. ได้ และมีรายงานว่ากรดอะซิติกที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้มีค่าพีเอชประมาณ 4.0-5.0 เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. xylinum* ซึ่งมีผลโดยตรงต่อเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์โปรโตพลาสซึม และการแบ่งเซลล์ของเชื้อ *A. xylinum* และเชื้อจุลินทรีย์ยังสามารถนำกรดอะซิติกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้อีกด้วย Alban, (1962) ได้ศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยหนึ่งที่ต้องการควบคุมก่อนการหมักเพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter* sp. และยังช่วยป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ที่ไม่สามารถทนต่อความเป็นกรดได้

2.13.5 การนำเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ประโยชน์

จากคุณสมบัติที่โดดเด่นของเซลลูโลสจากแบคทีเรียคือ เส้นใยมีขนาดเล็กเชื่อมกันเป็นร่างแห ทำให้มีความเหนียวสูงดังนั้นจึงได้มีการนำเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาดัดแปลงใช้เป็นส่วนประกอบของเมมเบรนต่าง ๆ เช่น เป็นส่วนประกอบของลำโพง และกระดาษที่ต้องการความเหนียวสูง ในทางการแพทย์ได้มีการนำเซลลูโลสจากแบคทีเรีย มาพัฒนาใช้เป็นผิวหนังเทียม (โดยตกแต่งแผล) เพราะว่ามีความเหนียวแม้ในสภาพเปียก และไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง นอกจากนี้ยังได้มีการนำ เซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารและเครื่องสำอางอีกด้วย

2.14 อายุการเก็บรักษา

ความเข้าใจเกี่ยวกับอายุการเก็บรักษามีด้วยกันหลายความหมาย ซึ่งนักวิจัยหลายท่านได้ให้คำจำกัดความไว้ดังนี้

อายุการเก็บรักษา (Shelf life) ของผลิตภัณฑ์ใดๆ หมายถึง ช่วงเวลาตั้งแต่ผลิตภัณฑ์นั้นผลิตขึ้น และบรรจุหีบห่อ ไปจนถึงช่วงที่ผลิตภัณฑ์นั้นเริ่มมีคุณสมบัติไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ซื้ออายุการเก็บรักษาจะมีความสัมพันธ์กับธรรมชาติของผลิตภัณฑ์ ภาชนะบรรจุ และสภาพแวดล้อมในระหว่างการลำเลียงขนส่งและเก็บรักษา(อมรรัตน์สวัสดิทัต,2528)

อายุการเก็บรักษา หมายถึง ช่วงเวลาหลังจากการผลิตและการบรรจุหีบห่อ ซึ่งผลิตภัณฑ์ยังเป็นที่ยอมรับภายใต้สภาวะแวดล้อมที่กำหนด อายุการเก็บรักษาจะขึ้นกับตัวผลิตภัณฑ์ ภาชนะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรจุ และสภาพแวดล้อม ตลอดจนผลิตภัณฑ์นั้นถูกขนส่ง เก็บรักษาและจำหน่าย (Marsh, 1997)

อายุการเก็บรักษาอาหาร หมายถึง ช่วงระยะเวลาอาจเป็นวัน เดือน หรือปีในระหว่างที่ผลิตภัณฑ์อาหารเกิดการเสื่อมคุณภาพไม่มากเกินระดับที่ทนได้ (Tolerated level) ซึ่งการเสื่อมคุณภาพในระดับที่ยอมรับได้จะถูกกำหนดขึ้นสำหรับผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด (Pfeiffer และคณะ, 1999) สมาคมผู้ประกอบการอาหารแห่งชาติของสหรัฐอเมริกา ได้นิยามอายุการเก็บรักษาอาหารไว้สำหรับอุตสาหกรรมภายในว่า " ผลิตภัณฑ์อาหารหนึ่งยังอยู่ในช่วงเวลาของอายุการเก็บต่อเมื่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคในการนำไปใช้ และคราบเท่าที่ภาชนะบรรจุยังคงปิดผนึกไม่มีการรั่ว และสามารถป้องกันอาหารที่บรรจุอยู่ " ส่วน IFT (The Institute of Food Technologists) ในสหรัฐอเมริกา ได้นิยามอายุการเก็บว่า " เป็นช่วงเวลาระหว่างการผลิต และการซื้อปลีกของผลิตภัณฑ์อาหารใดๆ โดยระหว่างช่วงเวลาดังกล่าว ผลิตภัณฑ์ยังมีคุณภาพทางด้านคุณค่าทางอาหาร รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัสและลักษณะปรากฏเป็นที่พอใจของผู้บริโภค "

2.14.1 ความสำคัญของการศึกษาอายุการเก็บรักษา

วัตถุประสงค์ในการศึกษาอายุการเก็บรักษาของอาหาร คือ เพื่อคงคุณภาพผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสม สำหรับช่วงเวลาที่ต้องการภายใต้สภาวะการเก็บรักษาและการขนส่งหนึ่งๆ แม้ว่าอายุการเก็บรักษาของอาหารต่างๆ มีความแตกต่างกัน และขึ้นอยู่กับอุณหภูมิการเก็บด้วย

อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดมักกำหนดจากผู้ประกอบการ ซึ่งการศึกษาอายุการเก็บรักษาเป็นส่วนที่สำคัญของการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร โดยที่ผู้ผลิตพยายามที่จะกำหนดอายุการเก็บรักษาที่นานที่สุดที่สอดคล้องกับค่าใช้จ่าย รูปแบบของการจัดการ และการใช้ของผู้จัดจำหน่าย ผู้ค้าปลีกและผู้บริโภค

การศึกษาอายุของอาหารสำหรับผู้ผลิต นักการตลาด ผู้บริโภคย่อมมีจุดมุ่งหมายที่แตกต่างกันออกไป กล่าวคือ ผู้ผลิตจำเป็นต้องทราบอายุของอาหารเพื่อ

1) เป็นข้อมูลในการตัดสินใจว่าคุ้มที่จะลงทุนหรือไม่

2) เป็นข้อมูลในการกำหนดระยะเวลาในการขายสินค้าให้กับฝ่ายการตลาด

3) สามารถกำหนดวันหมดอายุของอาหารอย่างถูกต้องลงบนภาชนะ

4)เป็นตัวกำหนดมาตรการในการควบคุมขบวนการผลิต เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สำเร็จ มีอายุการเก็บที่ถูกต้อง

5)ช่วยในการเลือกชนิดของภาชนะบรรจุให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ โดยที่สามารถคุ้มครองผลิตภัณฑ์ให้มีอายุการเก็บนานที่สุด หรือคุ้มครองผลิตภัณฑ์ในระยะเวลาการเก็บที่ต้องการ โดยสามารถหลีกเลี่ยงการเกิดการบรรจุที่มากเกินไป (overpackaging) หรือการบรรจุที่ต่ำเกินไป (underpackaging) เป็นการลดต้นทุนการผลิต

6) เป็นข้อมูลในการคัดเลือกวัตถุดิบ การสต๊อกวัตถุดิบ การวางแผนการผลิตและการเก็บผลิตภัณฑ์สำเร็จ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7) การศึกษาอายุของอาหารจะทำให้เกิดการปรับปรุง และพัฒนาคุณภาพของสินค้า

นอกจากนี้ การระบุอายุการเก็บที่ไม่เหมาะสม มักจะนำไปสู่การไม่ยอมรับและการร้องเรียนจากผู้บริโภค หรืออย่างน้อยที่สุดความไม่พอใจของผู้บริโภคอาจมีผลต่อการยอมรับ และยอดขายของยี่ห้อของผลิตภัณฑ์อาหารได้

2.14.2ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษา

1. ตัวผลิตภัณฑ์

เป็นปัจจัยขั้นแรกที่มีผลอย่างมากต่ออายุการเก็บรักษาซึ่งขึ้นอยู่กับคุณภาพวัตถุดิบ องค์ประกอบ และลักษณะเฉพาะตัวตามธรรมชาติ สำหรับค่าความชื้นเริ่มต้นจะมีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ที่ไวต่อความชื้นมาก เนื่องจากถ้าคามชื้นเริ่มต้นในผลิตภัณฑ์มีค่าน้อย ทำให้อายุการเก็บรักษามีค่ามากขึ้น แต่ถ้าความชื้นของผลิตภัณฑ์มีค่าสูง ทำให้อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์มีค่าน้อยลง

2. ภาชนะบรรจุ

ภาชนะบรรจุเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารแห้งทุกชนิด เนื่องจากภาชนะบรรจุทำหน้าที่เสมือนเกราะคุ้มกันให้อาหารสามารถลดหรือป้องกันก๊าซออกซิเจน แสงและความชื้นจากสิ่งแวดล้อมได้ ทั้งนี้เพื่อรักษาคุณสมบัติเดิมของผลิตภัณฑ์เอาไว้ให้ได้มากที่สุดดังนั้นการเลือกใช้ภาชนะที่เหมาะสมจะช่วยยืดอายุการเก็บของอาหารนั้นได้

2.1 คุณสมบัติที่สำคัญในการเลือกใช้ภาชนะบรรจุ

1. อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (Water Vapor Transmission Rate,WVTR)

หมายถึงปริมาณไอน้ำที่ซึมผ่านจากผิวหน้าหนึ่งไปยังอีกผิวหน้าหนึ่งของหน่วยพื้นที่ผิวของฟิล์มหรือพลาสติกในระยะเวลาที่กำหนดและภายใต้สภาวะที่คงที่ ดังนั้นจึงเป็นคุณสมบัติที่บอกถึงความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำบรรยากาศรอบๆระหว่างบรรจุภัณฑ์ ซึ่งจะมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร ค่านี้มีความสำคัญเมื่อผลิตภัณฑ์เป็นประเภทที่ไวต่อความ ชื้น ค่า WVTRจะถูกนำมาประกอบการตัดสินใจเลือกใช้วัสดุเพื่อคุ้มครองผลิตภัณฑ์ไม่ให้เสื่อมคุณภาพในระยะเวลาที่กำหนด(มยุรี ภาคลำเจียก.2537)และสามารถที่จะคาดคะเนอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ได้ โดยค่านี้มีความสัมพันธ์กับความหนาของฟิล์ม อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ของสภาพแวดล้อม (อมรรัตน์ สวัสดิทัต และวิวัธน์ ปฐมโยธิน.2522)

ปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อค่า WVTR คือ

ก) ความชื้นสัมพัทธ์ เมื่อค่าความชื้นสัมพัทธ์เกิดการเปลี่ยนแปลงจะมีผลต่อการละลายของไอน้ำที่ผิวของภาชนะบรรจุ และความแข็งของภาชนะบรรจุ กล่าวคือ ถ้าความชื้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัมพัทธ์เปลี่ยนแปลงมีค่าสูงขึ้น ทำให้การละลายของไอน้ำที่ผิวของภาชนะบรรจุมีมากขึ้นส่งผลให้ภาชนะบรรจุอ่อนตัวลง

ข) อุณหภูมิ เมื่ออุณหภูมิเกิดการเปลี่ยนแปลงจะมีผลต่อโครงสร้างของภาชนะบรรจุกล่าวคือเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ทำให้โครงสร้างอสัณฐาน(amorphous) ถูกเปลี่ยนเป็นโครงสร้างผลึก(crystalline)

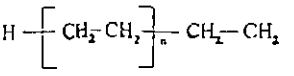
2. อัตราการซึมผ่านของก๊าซ (Gas Transmission Rate,GTR)หมายถึงปริมาณของก๊าซที่ซึมผ่านจากผิวหน้าหนึ่งไปยังอีกผิวหน้าหนึ่งของหน่วยพื้นที่ผิวของฟิล์มหรือพลาสติกในระยะเวลาที่กำหนดและภายใต้ผลต่างของความดันหนึ่งหน่วย มีหน่วยเป็นลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวันต่อบรรยากาศที่อุณหภูมิในการวิเคราะห์ ดังนั้นจึงเป็นคุณสมบัติที่บอกถึงความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของก๊าซบรรยากาศรอบๆระหว่างบรรจุภัณฑ์ ก๊าซที่นิยมวัดคือ ออกซิเจน ไนโตรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ ค่านี้มีความสำคัญเมื่อผลิตภัณฑ์เป็นประเภทที่ไวต่อก๊าซ และยังเป็นคุณสมบัติที่บอกถึงความสามารถในการเก็บรักษากลิ่นของผลิตภัณฑ์ทางอ้อมอีกด้วย จึงมีความสัมพันธ์กับการเลือกใช้วัสดุให้คุ้มครองผลิตภัณฑ์เพื่อไม่ให้เสื่อมคุณภาพในระยะเวลาที่กำหนด(มยุรี ภาคลำเจียก,2537)

อนันต์ สวารัตน์และมยุรี ภาคลำเจียก(2530) กล่าวว่ากลิ่นเป็นรูปของอนูหรือมวลเล็กๆของสารอื่นหรือเป็นสารระเหยนั่นเองซึ่งกลิ่นสามารถเล็ดรอดหรือซึมผ่านออกไปสู่ภายนอกหรือจากภายนอกเข้าสู่ภายใน ดังนั้นถ้าใช้ฟิล์มที่สามารถป้องกันกลิ่นได้แล้วก็สามารถป้องกันกลิ่นของผลิตภัณฑ์ให้อยู่อย่างเดิมหรือเปลี่ยนไปจากเดิมน้อยที่สุด

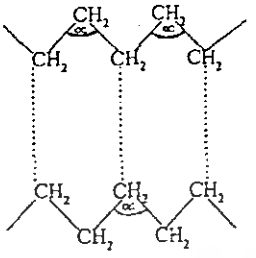
2.2 ชนิดของฟิล์มพลาสติก

2.2.1 โพลีเอทธิลีน (polyethylene, PE) เป็นพลาสติกหรือโพลีเมอร์ที่ประกอบด้วยโมโนเมอร์ของ เอทธิลีน โพลีเอทธิลีนมีสูตรโครงสร้างและการจัดเรียงตัวแบบต่างๆแสดงดังภาพที่ 2.13

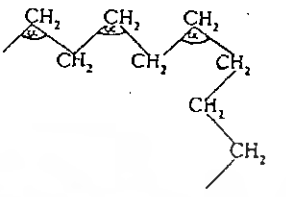
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



สูตรโครงสร้าง



การจัดเรียงตัวแบบ Linear Chain



การจัดเรียงตัวแบบ Branch Chain

ภาพที่ 2.13 แสดงสูตรโครงสร้างและการจัดเรียงตัวของโพลีเอทธิลีน

ที่มา : วุฒิชัย นาครักษา (2535)

การจัดเรียงตัวของโพลีเอทธิลีนที่ต่างกันทำให้ได้พลาสติกที่มีคุณสมบัติแตกต่างกัน โดยการจัดเรียงตัวแบบสายโซ่ตรง (linear chain) ทำให้ความหนาแน่น (density) ของพลาสติกสูงขึ้น เนื่องจากสามารถเกิดพันธะระหว่างโมเลกุล (secondary force) โพลีเอทธิลีนชนิดนี้เรียกว่าโพลีเอทธิลีน ความหนาแน่นสูง (High density polyethelene, HDPE) ในขณะที่การจัดเรียงตัวแบบ Branch chain ทำให้ความหนาแน่นต่ำเพราะเกิดพันธะระหว่างโมเลกุลยาก เนื่องจากความเกะกะ (steric hindrance) ของกิ่ง (branches) ในโมเลกุล โพลีเอทธิลีนชนิดนี้เรียกว่า โพลีเอทธิลีนความหนาแน่นต่ำ (Low density polyethylene ,LDPE)

2.2.1.1 โพลีเอทธิลีนความหนาแน่นสูง(High density polyethylene , HDPE)

เป็นฟิล์มที่มีคุณสมบัติในการต้านทานแรงดึงปานกลาง ในขณะที่การต้านทานแรงกดดีเยี่ยม จึงเหมาะสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตภาชนะบรรจุที่ใช้กรรมวิธีแบบ blow-molding และ injection molding เช่น blow mold drum , injection molded crates และ shipping pails รวมทั้ง shipping bags นอกจากนี้คุณสมบัติทางด้านความเหนียวก็มีผลต่อกรรมวิธีที่ใช้ในการผลิตภาชนะบรรจุเช่นกัน นอกจากนี้ HDPE ยังมีคุณสมบัติยอมให้ไอน้ำซึมผ่านได้ต่ำมาก จึงเหมาะสำหรับทำภาชนะบรรจุ ในการบรรจุผลิตภัณฑ์ที่อาจเสื่อมเสียเนื่องจากความชื้นที่เกิดขึ้นในอาหารแห้งต่างๆ แต่ HPDE ยอมให้ก๊าซชนิดต่างๆซึมผ่านได้ดี ทำให้ไม่สามารถนำไปใช้ในวัตถุประสงค์ที่ต้องการป้องกันผลิตภัณฑ์จากก๊าซ หรืออากาศจากสภาพแวดล้อม

2.2.1.2 โพลีเอทธิลีนความหนาแน่นต่ำ (Low density polyethylene , LDPE)

เป็นฟิล์มพลาสติกที่มีใช้กันอย่างกว้างขวางมากเพราะมีราคาอยู่ในระดับปานกลางมีคุณสมบัติที่สามารถนำไปใช้ได้เหมาะสมกับความต้องการ มีความสามารถในการขึ้นรูปเป็นภาชนะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรจุได้ง่าย ทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายเนื่องจากสามารถหลอมใช้ใหม่ได้ นอกจากนี้ LDPE มีคุณสมบัติเด่นในเรื่องของการป้องกันความชื้นได้ดี แต่ป้องกันการซึมผ่านของก๊าซและกลิ่นได้น้อย

3. สภาพแวดล้อมภายนอก

ปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาการเสื่อมเสีย ส่วนใหญ่ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น ออกซิเจน แสง เป็นต้น สภาพแวดล้อมจะมีผลอย่างมากต่อสภาวะแวดล้อมของอาหารที่บรรจุหีบห่อแล้ว

3.1ปริมาณความชื้น ปริมาณความชื้นสมดุลของสาร นิยามว่าเป็นปริมาณความชื้นที่มีอยู่เมื่อสารมีความดันไอสมดุลกับสิ่งแวดล้อม ค่า Aw นิยมวัดเป็นความชื้นสัมพัทธ์สมดุล คือ เปอร์เซ็นต์ความชื้นสัมพัทธ์ของบรรยากาศที่สัมผัสกับบรรยากาศขณะที่ไม่มีการดูดซับหรือคายน้ำเกิดขึ้น

$$Aw = ERH/100$$

เมื่อ ERH = ความชื้นสัมพัทธ์สมดุล (%)

การวัดปริมาณความชื้นสมดุลเป็นเรื่องจำเป็นอย่างยิ่งในเรื่องของอาหารแห้ง เนื่องจากค่า Aw มีความสำคัญต่อการเก็บรักษาอาหาร จากปฏิกิริยาหลายอย่างและการเจริญของจุลินทรีย์ เกิดขึ้นภายในช่วงค่า Aw ที่แน่นอนช่วงหนึ่ง น้ำในอาหารทำให้เกิดความดันไอ ซึ่งความดันไอที่เกิดขึ้นจะมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำที่มีอยู่ในอาหาร อุณหภูมิ และความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ละลายอยู่ในน้ำ เช่น เกลือ และ น้ำตาล ค่า Aw มีผลกระทบต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเคมีหลายชนิดที่เกิดขึ้นในอาหาร และอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย ซึ่งจะสัมพันธ์กับชนิดของน้ำในอาหาร ดังตารางที่2.6

ปฏิกิริยาและการเจริญของจุลินทรีย์	Monolayer water Aw 0-0.3	Capillary water Aw 0.3-0.8	Loosely bound Aw 0.8-1.0
Enzymatic activity	0	ต่ำ	สูง
Nonenzymatic browning	0	เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว	สูง
การไฮโดรไลสิส	0	เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว	สูง
ลิปิดออกซิเดชั่น	สูง	เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว	สูง
การเจริญของรา	0	ต่ำ*	สูง
การเจริญของยีสต์	0	ต่ำ*	สูง
การเจริญของแบคทีเรีย	0	0	สูง

* การเจริญของราและยีสต์จะเริ่มเมื่อมีค่า Aw ประมาณ 0.7

ตารางที่ 2.6 แสดงอัตราเร็วของปฏิกิริยาและการเจริญของจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในอาหารตามชนิดของน้ำหรือค่า Aw ที่มีอยู่ในอาหาร

ที่มา : นิธิยา รัตนาปนนท์ (2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 ออกซิเจน มีผลต่ออายุของอาหาร เนื่องจากออกซิเจนสามารถทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอาหาร หรืออาจเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำให้เกิดการเสื่อมคุณภาพขึ้น เช่นปฏิกิริยาการเกิดเหม็นหืน (rancidity)ในอาหาร เป็นต้น

3.3 อุณหภูมิ มีผลต่ออายุของอาหาร เนื่องจากอุณหภูมิเป็นตัวจำกัดอัตราการเจริญเติบโตและปริมาณจุลินทรีย์ในอาหาร และเป็นตัวกำหนดอัตราการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาเคมีต่างๆ เช่น ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลจะเกิดได้ดีที่อุณหภูมิสูงขึ้น อาหารชนิดเดียวกันเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันจะมีอายุการเก็บต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์และอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

- เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* TISTR 976 เป็นเชื้อที่ใช้ผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว
- เชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 เป็นเชื้อที่ใช้ผลิตสารสี

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- อาหารสูตรน้ำมะพร้าว (ภาคผนวก ก.)ใช้ในการเตรียมหัวเชื้อและผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว
- อาหารวุ้นเอียง PDA (ภาคผนวก ก.) ใช้ในการเตรียมหัวเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090
- อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับสร้างสารสี โดยใช้อาหารสูตรดัดแปลงของ Lin และ Demain (1991) (ภาคผนวก ก.)

3.2 วัตถุดิบ และสารเคมี

3.2.1 วัตถุดิบในการผลิตกุนเชียง

- หมูเนื้อแดง
- มันแข็ง
- ผงพะโล้
- เกลือ
- น้ำตาล
- แป้งข้าวโพด
- ไส้หมูเทียม

3.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ความหืน

- Thiobarbituric acid reagent
- HCL. 4 M

3.2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

- Cooked meat medium
- Plate count agar
- Peptone

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 อุปกรณ์

3.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- ถ้วยพลาสติก
- แก้วน้ำพลาสติก

3.3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์สี

- เครื่องวัดสี Minolta, CR-300

3.3.3 อุปกรณ์ที่ใช้วัดค่า water activity

- เครื่องวัดค่า water activity Novasina; Thermoconstanter, สวิตเซอร์แลนด์

3.3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความชื้น

- กระป๋องหาความชื้น (moisture can)
- โถดูดความชื้น (dessicator)
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven) WTB binder; A10

3.3.5 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความหืน

- อุปกรณ์เครื่องแก้ว
- เครื่องกลั่นไนโตรเจน (distillation unit) Gerhardt; Vapodest 30
- เครื่องวัดพีเอช (pH meter) Eutech instruments; 510
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) Shimadzu; uv 1201 v, Japan

3.3.6 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์

- อุปกรณ์เครื่องแก้ว
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (Autoclave) Tomy; SS-325, Japan
- ตู้บ่มเชื้อ Binder; BD240, Germany
- ตู้อบ กล้วยน้ำไทย เตาอบ
- เครื่องตีป่นอาหาร (Stomacher) Iul instruments

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมหัวเชื้อสำหรับผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว

เลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ซึ่งประกอบด้วย น้ำมะพร้าวแก่ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 และกรดอะซิติกร้อยละ 1 (เป็นตัวปรับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีพีเอช 4-5) นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที บ่มที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 การผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว

เลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ซึ่งมีส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อเหมือนสูตรที่ใช้ในการเตรียมหัวเชื้อ โดยเตรียมอาหารใส่ถาดพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการลวกน้ำร้อน เติมหัวเชื้อที่ได้จากข้อ 3.4.1 ลงไปในถาดพลาสติกโดยใช้หัวเชื้อร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ปิดถาดด้วยกระดาษที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จะได้แผ่นวุ้นน้ำมะพร้าว นำแผ่นวุ้นน้ำมะพร้าวมาตัดให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมที่มีขนาด 2 x 2 x 0.5 เซนติเมตร นำไปล้างน้ำโดยเปิดน้ำให้ไหลผ่านเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.4.3 การเตรียมหัวเชื้อของ *Monascus purpureus* TISTR 3090

นำเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 เลี้ยงบนอาหารวุ้นเอียง PDA นาน 6-7 วัน จากนั้นนำมาทำสารละลายสปอร์ โดยใช้น้ำกลั่นผสม Tween 80 ร้อยละ 0.1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำไปนับสปอร์โดยใช้ฮีมาไซโดมิเตอร์ให้ได้เชื้อเริ่มต้นประมาณ 1.0×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการศึกษาต่อไป

3.4.4 การผลิตผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นน้ำมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ตามสูตรดัดแปลงของ Lin และ Demain (1991) ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 150 มิลลิลิตร ใส่ชิ้นวุ้นน้ำมะพร้าวลงไป 5 ชิ้นต่อ 1 ฟลาสก์ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 20 นาที จากนั้นเติมหัวเชื้อของ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ที่ได้จากข้อ 3.4.3 ร้อยละ 10 (15 มิลลิลิตรต่อฟลาสก์) นำไปวางบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เลี้ยงนาน 12 วัน และนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาล้างน้ำให้สะอาด นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ และนำมาปั่นให้ละเอียด อบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนแห้งและนำมาปั่นอีกครั้งให้ละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 100 เมช (Endecotts test sieves) เก็บใส่ถุงนำเข้าตู้เย็นเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

3.4.5 การใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นน้ำมะพร้าวร่วมกับ Monascus *purpureus* TISTR 3090 ในการดกแต่งและทดแทนปริมาณไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง

ศึกษาผลของปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นน้ำมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 2 ระดับ คือ ร้อยละ 0.05 ร้อยละ 0.10 ของน้ำหนักเนื้อ โดยใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นน้ำมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 แทนผงเพรกซึ่งมีไนไตรท์เป็นส่วนประกอบในสูตรควบคุม (ตารางที่ 3.1) และมีกระบวนการผลิตดังภาพที่ 3.1 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำกุนเชียงมาทำการตรวจสอบคุณภาพ ดังนี้

3.4.5.1 วัดค่าสี โดยใช้เครื่อง Chroma meter (Minolta, CR-300)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยนำกุนเชียงมาปั่นให้ละเอียด และบรรจุลงในถ้วยวัดสีสำหรับของแข็งให้แน่นไม่ให้มีอากาศ ทำการวัดสีโดยวัดค่า

L* = lightness (0 = black, 100 = white)

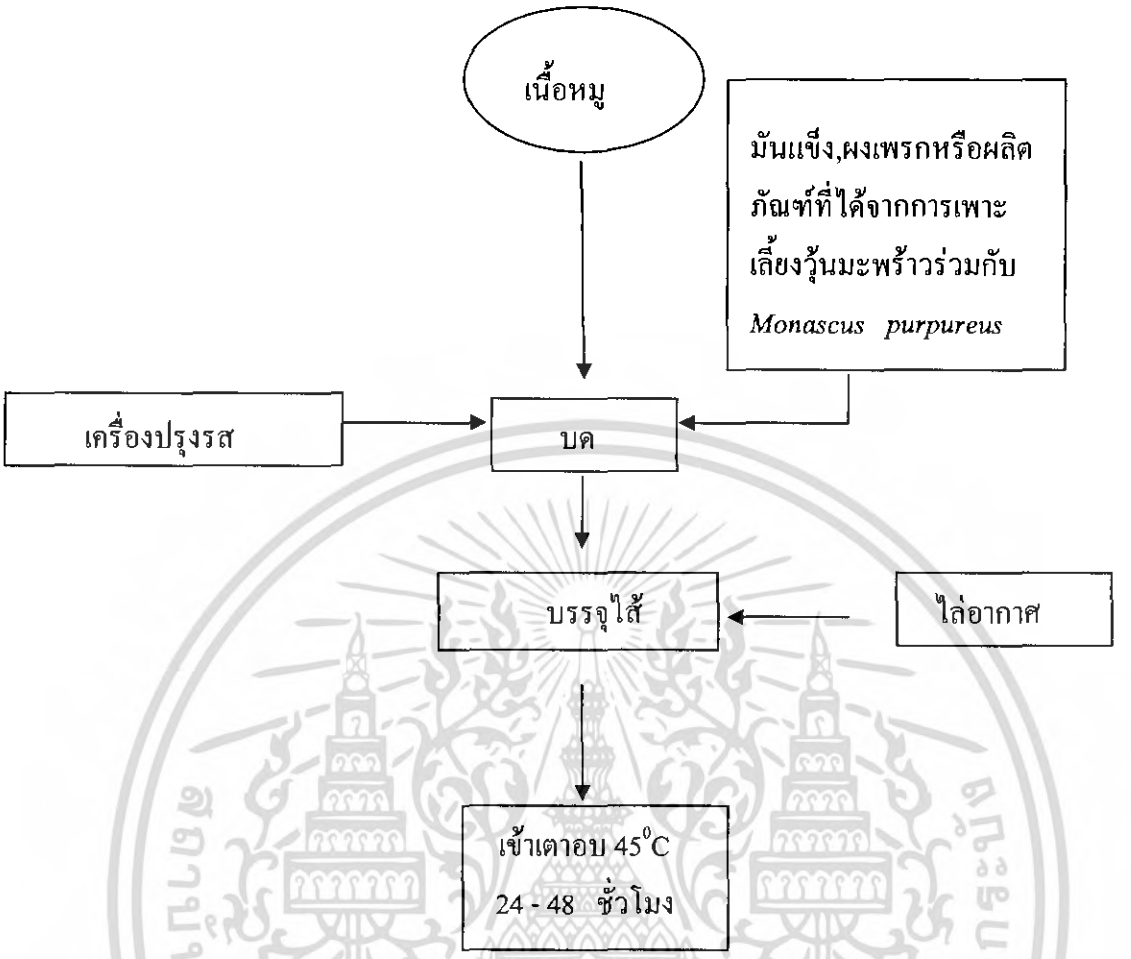
a* = redness / greenness (+ = red, - = green)

b* = yellowness / blueness (+ = yellow, - = blue)

ตารางที่ 3.1 แสดงสูตรควบคุมของกุนเชียง

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (กรัม)
เนื้อหมู	10,500
มันแข็ง	4,500
ผงเพรก	15
ผงพะโล้	30
เกลือ	195
น้ำตาลทราย	2,800

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการผลิตกุนเชียง

3.4.5.2 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของกุนเชียงโดยใช้ผู้ทดสอบชิม 20 คน ให้คะแนนความชอบแบบ 9-point Hedonic Scale (1 = ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 = ชอบมากที่สุด) ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และการยอมรับโดยรวม วางแผนการทดลอง Randomized Complete Block Design (RCBD) วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) เวอร์ชั่น 14.0 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) เพื่อหาสูตรที่เหมาะสมและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเพื่อนำไปศึกษาอายุการเก็บรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.6 ศึกษาชนิดภาชนะบรรจุที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียง

เลือกใช้ภาชนะบรรจุ 2 ชนิด ได้แก่ ถุงพลาสติกชนิดโพลีโพรไพลีน และถุงพลาสติกชนิดโพลีอะครีลาไมด์(ไนลอน)ในการบรรจุกุนเชียง ทดสอบกับกุนเชียงสูตรควบคุมในถุงแต่ละชนิดและปิดผนึกแบบสุญญากาศ โดยตั้งค่าต่างๆดังนี้

Vacuum time	85	sec
Heating time	2	sec
Inlate time	0	sec
Temperature	middle	

เก็บรักษากุนเชียงที่อุณหภูมิห้อง (30 ±1°C) เป็นเวลา 7 วัน ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของกุนเชียงในภาชนะบรรจุแต่ละชนิด โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 20 คน การให้คะแนนความชอบแบบ 9- point Hedonic Scale (1 = ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 = ชอบมากที่สุด) ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และการยอมรับโดยรวม วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) เวอร์ชั่น 14.0 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Indipendent – Sample T Test เพื่อหาชนิดของถุงพลาสติกบรรจุที่เหมาะสมซึ่งได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุดเพื่อนำไปใช้ในการบรรจุกุนเชียงในการศึกษาอายุการเก็บรักษา

3.4.7 ศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์กุนเชียง

นำกุนเชียงที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.4.5 และกุนเชียงในสูตรควบคุมบรรจุลงในถุงพลาสติกที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.4.6 ปิดผนึกแบบสุญญากาศ ตั้งค่าต่างๆ ดังหัวข้อ 3.4.6 ศึกษาระยะเวลาในการเก็บรักษากุนเชียงที่อุณหภูมิห้อง (30±1°C)เป็นเวลา 11 สัปดาห์ ติดตามผลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ทุก ๆ 14 วัน โดยตรวจสอบคุณภาพด้านต่างๆ ดังนี้

คุณภาพทางกายภาพและเคมี

- ค่าสี โดยใช้เครื่อง Chroma meter (Minolta, CR-300) โดยวัดค่า L* a* และ b* และความคงตัวของสี (ΔE)
- Water Activity (a_w)
- ความชื้น
- ความหืน

คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ โดยตรวจเชื้อ

- แอนแอโรบิกแบคทีเรีย (AOAC,1995)
- *Clostridium perfringens* (AOAC,1995)

คุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยการให้คะแนนความชอบแบบ 9- point Hedonic Scale

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นน้ำมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ในการตกแต่งและทดแทนปริมาณไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ กุนเชียง

4.1.1 การวัดค่าสีของกุนเชียงสูตรต่างๆ

จากการใช้ปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นน้ำมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 2 ระดับ คือความเข้มข้นร้อยละ 0.05 และร้อยละ 0.10 ของน้ำหนักเนื้อทดแทนไนไตรท์ที่เป็นส่วนประกอบเพื่อการถนอมอาหาร เมื่อทำการวัดค่าสีของผลิตภัณฑ์พบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมมีค่า L* ซึ่งแสดงถึงความสว่างสูงสุด คือ 38.2150 รองลงมาเป็นกุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 ซึ่งมีค่า L* เท่ากับ 37.3400 สำหรับค่า a* ซึ่งแสดงถึงความเข้มของสีแดง พบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมมีค่า a* สูงสุดคือ 8.3417 รองลงมาเป็นกุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 ซึ่งมีค่า a* เท่ากับ 8.1150 สำหรับค่า b* ซึ่งแสดงถึงความเข้มของสีเหลือง พบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมมีค่า b* สูงสุด คือ 8.6300 รองลงมาเป็นกุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 ซึ่งมีค่า b* เท่ากับ 7.8250 แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ค่าเฉลี่ย L* a* b* ของสีภายในของกุนเชียงสูตรต่างๆ

ชนิดกุนเชียง	ค่าการวัดสี		
	L*	a*	b*
สูตรควบคุม	38.2150[a]	8.3417[a]	8.6300[a]
สูตรใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05	37.3400[ab]	8.1150[a]	7.8250[b]
สูตรใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.1	35.9634[b]	8.1784[a]	7.7700[b]

หมายเหตุ

[a,b] ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.1.2 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

จากการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของกุนเชียง โดยใช้ผู้ทดสอบชิม 20 คนให้คะแนนคุณลักษณะด่างๆของผลิตภัณฑ์ดังตารางที่ 4.2 พบว่ากุนเชียงทั้งสามสูตรได้รับคะแนนที่ใกล้เคียงกัน เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าลักษณะปรากฏ กลิ่น และการยอมรับโดยรวมของกุนเชียงทั้งสามสูตรไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และสีของกุนเชียงสูตรที่ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 และ 0.10 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ($p\leq0.05$) แต่ต่างจากสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ คะแนนด้านรสชาติของสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 ไม่มีความแตกต่างกับสูตรควบคุม เมื่อพิจารณาโดยรวมทั้ง 5 ลักษณะพบว่ากุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ ร้อยละ 0.05 และ 0.10 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ($p\leq0.05$)กับสูตรควบคุมดังนั้นจึงคัดเลือกกุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 มาใช้ในการศึกษาอายุการเก็บรักษากุนเชียงต่อไป

ตารางที่ 4.2 ค่าการทดสอบทางประสาทสัมผัสของกุนเชียงชนิดต่างๆ

คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์	ค่าการทดสอบทางประสาทสัมผัส		
	สูตรควบคุม (ใช้ผงเพรก)	สูตรใช้ผลิตภัณฑ์ ร้อยละ 0.05	สูตรใช้ผลิตภัณฑ์ ร้อยละ 0.10
ลักษณะปรากฏ	7.72[a]	7.67[a]	7.60[a]
สี	7.70[a]	6.70[b]	6.73[b]
กลิ่น	7.70[a]	7.20[a]	7.50[a]
รสชาติ	6.50[b]	6.60[b]	7.10[a]
การยอมรับโดยรวม	7.50[a]	7.40[a]	7.50[a]

หมายเหตุ

[a,b] ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

4.2 ศึกษาชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมในการบรรจุกุนเชียง

ในการศึกษาชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมในการบรรจุกุนเชียงโดยเปรียบเทียบระหว่างถุงพลาสติกชนิดโพลีอะครีลาไมด์และถุงพลาสติกชนิดโพลีโพรไพลีนทดสอบกับกุนเชียงสูตรควบคุมในถุงแต่ละชนิดและปิดผนึกแบบสุญญากาศเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 7 วัน ทดสอบทางประสาทสัมผัส ปรากฏผลดังแสดงในตารางที่ 4.3 ซึ่งผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่ากุนเชียงที่บรรจุในถุงพลาสติกทั้งสองชนิดมีลักษณะของสี รสชาติ และการยอมรับโดยรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq0.05$) แต่ลักษณะปรากฏ และกลิ่นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ($P\leq0.05$) เมื่อพิจารณาระดับการยอมรับของผู้บริโภคพบว่ากุนเชียงซึ่งบรรจุในถุงชนิดโพลีอะครีลาไมด์มีคะแนนความพึงพอใจโดยรวมจากผู้บริโภคมากกว่ากุนเชียงที่บรรจุในถุงชนิดโพลีโพรไพลีน ดังนั้นจึงเลือกใช้ถุงพลาสติกชนิดโพลีอะครีลาไมด์ในการบรรจุกุนเชียงเพื่อใช้ในการศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่บรรจุในถุงพลาสติกชนิดโพลีอะครีลาไมด์และถุงพลาสติกชนิดโพลีโพรไพลีนหลังจากเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 7วัน

คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์	ค่าการทดสอบทางประสาทสัมผัส	
	ถุงชนิดโพลีอะครีลาไมด์	ถุงชนิดโพลีโพรไพลีน
ลักษณะปรากฏ	7.7000[a]	7.2000[a]
สี	7.8500[a]	6.9500[b]
กลิ่น	7.5500[a]	6.6000[a]
รสชาติ	7.7500[a]	6.8000[b]
การยอมรับโดยรวม	8.0500[a]	7.2000[b]

หมายเหตุ

[a,b]ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.3 ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียง

เมื่อนำกุนเชียงที่ใช้ผลิตภัณฑ์จากวุ้นน้ำมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 และกุนเชียงในสูตรควบคุมบรรจุในถุงพลาสติกชนิดโพลีอะครีลาไมด์ปิดผนึกแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง(30 °C) เป็นเวลา 11 สัปดาห์ ติดตามผลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านกายภาพและเคมีรวมทั้งคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ในทุก 14 วัน ดังนี้

4.3.1 ค่าสีของผลิตภัณฑ์กุนเชียง

4.3.1.1 ค่า L*

จากการวัดค่าสีของกุนเชียงพบว่าค่า L* ของกุนเชียงสูตรควบคุมจะค่อนข้างคงที่ ในขณะที่กุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 จะมีแนวโน้มของค่า L* ลดลงดังภาพที่ 4.1 โดยที่กุนเชียงสูตรควบคุม จะมีค่า L* สูงกว่ากุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 ในทุกสัปดาห์ และพบว่าในสัปดาห์ที่ 1 ถึงสัปดาห์ที่ 5 ของการเก็บรักษาค่า L* ของ กุนเชียงทั้งสองสูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จะเริ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่สัปดาห์ที่ 7 ของการเก็บรักษาไปจนถึงสัปดาห์ที่ 11 ทั้งนี้อาจเกิดจากสารสีที่ได้จากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 ร่วมกับวุ้นมะพร้าวมีความคงตัวน้อยจึงสลายตัวเร็ว(พอใจ และคณะ,2545) ซึ่งส่งผลให้ค่า L* มีแนวโน้มลดลงและไม่คงที่ แสดงดังตารางที่ 4.4

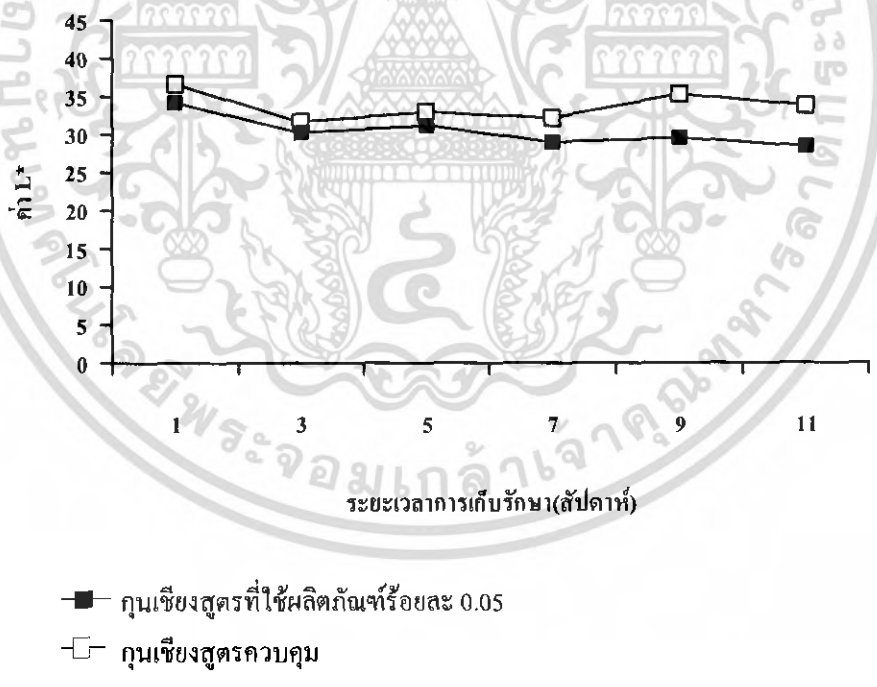
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ค่า L* ของกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

อายุผลิตภัณฑ์ (สัปดาห์)	ค่า L*	
	กุนเชียงสูตรควบคุม	กุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05
1	36.5700[a]	34.1933[a]
3	31.7100[a]	30.2400[a]
5	32.9500[a]	31.1933[a]
7	32.1733[a]	28.9467[b]
9	35.2900[a]	29.5233[b]
11	33.7867[a]	28.4267[b]

หมายเหตุ

[a,b] ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงค่า L*ของผลิตภัณฑ์กุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.2 ค่า a*

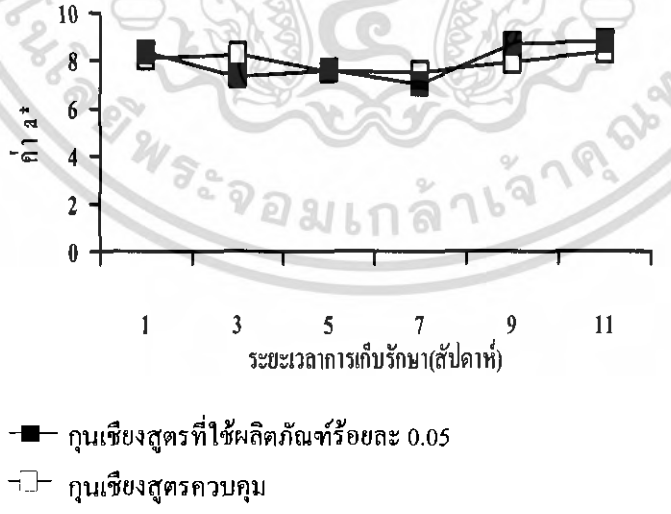
จากการวัดค่าสีของกุนเชียงพบว่าค่า a* ของผลิตภัณฑ์กุนเชียงทั้งสองสูตรคือสูตรควบคุมและสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 มีแนวโน้มค่อนข้างคงที่ดังภาพที่ 4.2 โดยกุนเชียงสูตรควบคุมมีค่า a* สูงกว่าในสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 เล็กน้อยและไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ค่า a* ของกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

อายุผลิตภัณฑ์ (สัปดาห์)	ค่า a* กุนเชียงสูตรควบคุม	กุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05
1	8.1000[a]	8.3500[a]
3	8.2633[a]	7.3367[a]
5	7.5433[a]	7.5933[a]
7	7.5000[a]	7.0167[a]
9	7.9400[a]	8.7033[a]
11	8.3800[a]	8.8200[a]

หมายเหตุ

[a,b] ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่า a*ของผลิตภัณฑ์กุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.3 ค่า b*

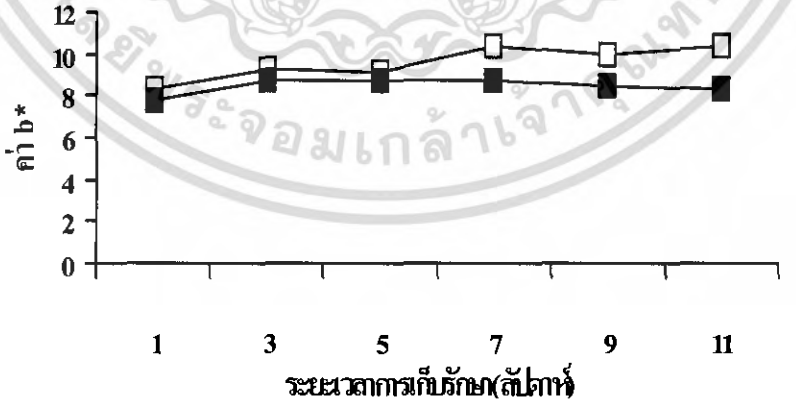
จากการวัดค่าสีของกุนเชียงพบว่าค่า b* ซึ่งเป็นค่าที่แสดงความเข้มของสีเหลืองในผลิตภัณฑ์กุนเชียงในสูตรควบคุมมีแนวโน้มของค่า b* เพิ่มขึ้น ในขณะที่สูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 มีแนวโน้มของค่า b* ค่อนข้างคงที่ ดังภาพที่ 4.3 นอกจากนี้ยังพบว่ากุนเชียงสูตรควบคุม มีค่า b* สูงกว่ากุนเชียงในสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 เล็กน้อย และพบว่าในสัปดาห์ที่ 1 ถึงสัปดาห์ที่ 9 ค่า b* ของกุนเชียงทั้งสองสูตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P\leq0.05$) แต่ในสัปดาห์ที่ 11 ของการเก็บรักษาพบว่าค่า b* ของกุนเชียงทั้งสองสูตรเริ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$)

ตารางที่4.6 ค่า b* ของกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

อายุผลิตภัณฑ์ (สัปดาห์)	ค่าb* กุนเชียงสูตรควบคุม	กุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05
1	8.3767[a]	7.8333[a]
3	9.2300[a]	8.7433[a]
5	9.1033[a]	8.7933[a]
7	10.3600[a]	8.7300[a]
9	9.9067[a]	8.3867[a]
11	10.3400[a]	8.3300[b]

หมายเหตุ

[a,b]ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$)



ภาพที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่า b*ของกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.4 ค่าความคงตัวของสี (Δ E)

เมื่อวัดค่าสี L* a* และ b* ของกุนเชียงสูตรควบคุมและสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 ร้อยละ 0.05 ซึ่งบรรจุและปิดผนึกในถุงพลาสติกชนิดโพลีอะครีลาไมด์โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 11 สัปดาห์นำมาคำนวณเพื่อหาค่าความคงตัวของสี (ΔE) แสดงผลดังตารางที่ 4.7 พบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมจะมีความคงตัวของสีสูงกว่ากุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 เล็กน้อยโดยจะพบว่าในสัปดาห์ที่ 1 ถึงสัปดาห์ที่ 3 ของการเก็บรักษาค่า ΔE ของกุนเชียงทั้งสองสูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P \leq 0.05$) แต่จะเริ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ในสัปดาห์ที่ 7 ถึงสัปดาห์ที่ 11 ของการเก็บรักษาดังภาพที่ 4.4

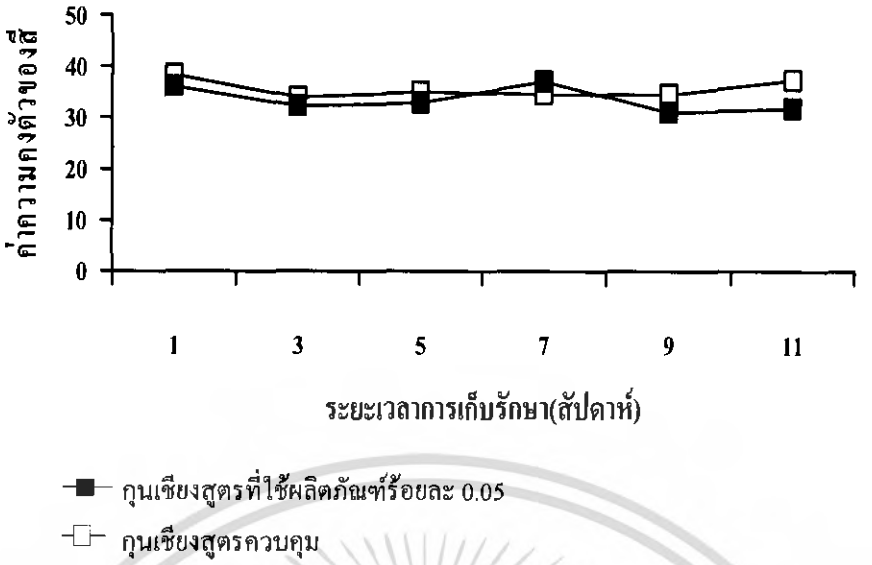
ตารางที่ 4.7 ความคงตัวของสี (Δ E) ในกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

อายุผลิตภัณฑ์ (สัปดาห์)	ค่าความคงตัวของสี (Δ E)	
	กุนเชียงสูตรควบคุม	กุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ ร้อยละ 0.05
1	38.3866[a]	36.0848[a]
3	34.0585[a]	32.3306[a]
5	35.0110[a]	32.9722[b]
7	34.5531[b]	37.1518[a]
9	34.6623[a]	31.0697[b]
11	37.5158[a]	31.9243[b]

หมายเหตุ

[a,b] ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าความคงตัวของสีในกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

4.3.2 Water Activity (a_w)

การเปลี่ยนแปลงค่า a_w ของกุนเชียงสูตรควมคุมและกุนเชียงที่ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ร้อยละ 0.05 ซึ่งบรรจุในถุงพลาสติกชนิดโพลีอะครีลาไมด์ปิดผนึกแบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์ พบว่าค่า a_w ของทั้งสองสูตรมีค่าอยู่ในระหว่าง 0.69 - 0.76 ดังตารางที่ 4.8 โดยในสัปดาห์ที่ 1 ของการเก็บรักษากุนเชียงสูตรควบคุมและกุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 มีค่า a_w เท่ากับ 0.7550 และ0.7530 ตามลำดับ จากนั้นค่า a_w ลดลงอย่างต่อเนื่องดังภาพที่ 4.5 เมื่อสัปดาห์ที่ 11 ค่า a_w ของกุนเชียงสูตรควบคุมและสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 เท่ากับ 0.7040 และ 0.6960 ตามลำดับ เมื่อคำนวณร้อยละของอัตราการเปลี่ยนแปลงค่า a_w ในสัปดาห์ที่ 11 เมื่อเทียบจากสัปดาห์แรกพบว่าสูตรควบคุมมีอัตราการเปลี่ยนแปลงลดลงร้อยละ 6.75 ซึ่งต่ำกว่าสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 ที่มีอัตราการเปลี่ยนแปลงลดลงร้อยละ 7.57 และเมื่อเปรียบเทียบในแต่ละสัปดาห์พบว่ากุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 มีค่า a_w ต่ำกว่ากุนเชียงสูตรควบคุมเล็กน้อย สาเหตุอาจเนื่องมาจากการเติมผงผลิตภัณฑ์นั้นมีผลให้เกิดการดูดซับน้ำอิสระในกุนเชียง เมื่อนำค่า a_w ของทั้งสองสูตรวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ($P \leq 0.05$)

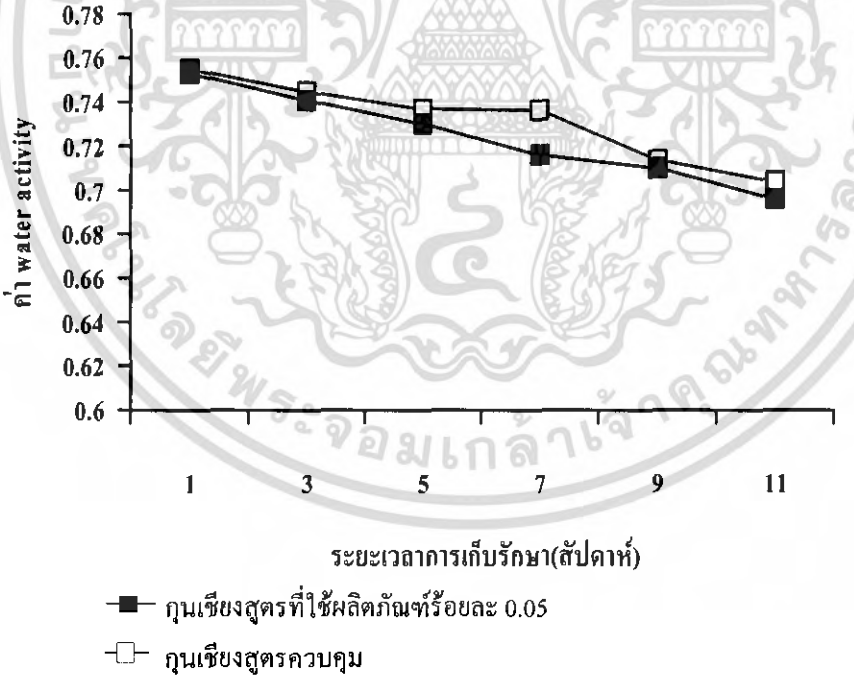
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ค่า Water activity ของกุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

อายุผลิตภัณฑ์ (สัปดาห์)	ค่าWater activity (a_w)	
	กุนเชียงสูตรควบคุม	กุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05
1	0.7550[a]	0.7530[a]
3	0.7447[a]	0.7407[a]
5	0.7367[a]	0.7300[a]
7	0.7363[a]	0.7160[b]
9	0.7137[a]	0.7100[a]
11	0.7040[a]	0.6960[a]

หมายเหตุ

[a,b] ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงค่า Water activity (a_w)ของผลิตภัณฑ์กุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3 ความชื้น

จากภาพที่ 4.6 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นของกุนเชียงสูตรควบคุมและกุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ร้อยละ 0.05 ซึ่งบรรจุในถุงชนิดโพลีอะครีลาไมด์โดยปิดผนึกแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 11 สัปดาห์ พบว่าปริมาณความชื้นลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยค่าร้อยละความชื้นของทั้งสองสูตรมีค่าอยู่ในระหว่าง 1.30-1.43 ดังตารางที่ 4.9 โดยในสัปดาห์ที่ 1 ของการเก็บรักษากุนเชียงสูตรควบคุมและสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 มีค่าความชื้นเท่ากับร้อยละ 1.4167 และ 1.4347 ตามลำดับ จากนั้นค่าความชื้นลดลงอย่างต่อเนื่องกระทั่งในสัปดาห์ที่ 11 ค่าความชื้นของสูตรควบคุมและสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 เท่ากับร้อยละ 1.3153 และร้อยละ 1.3050 ตามลำดับ เมื่อคำนวณร้อยละของอัตราการเปลี่ยนแปลงความชื้นในสัปดาห์ที่ 11 เมื่อเทียบจากสัปดาห์แรก พบว่าสูตรควบคุมมีอัตราการเปลี่ยนแปลงลดลงร้อยละ 7.15 ซึ่งต่ำกว่าสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 ที่มีอัตราการเปลี่ยนแปลงลดลงร้อยละ 9.04 และเมื่อเปรียบเทียบค่าความชื้นระหว่างการเก็บรักษาของกุนเชียงทั้งสองสูตรพบว่ากุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 มีค่าความชื้นใกล้เคียงกับกุนเชียงในสูตรควบคุมโดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ($P \leq 0.05$)

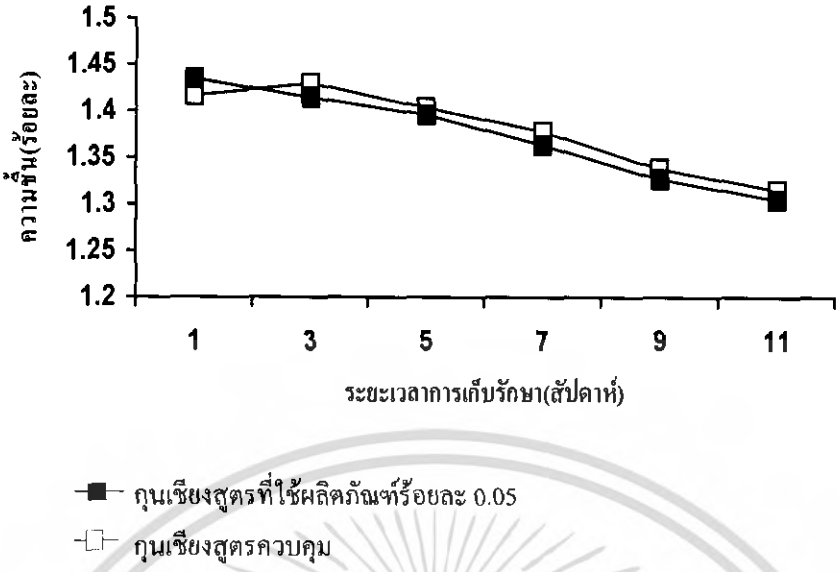
ตารางที่ 4.9 ค่าความชื้นของผลิตภัณฑ์กุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

อายุผลิตภัณฑ์ (สัปดาห์)	ค่าความชื้น(ร้อยละ)	
	กุนเชียงสูตรควบคุม	กุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ ร้อยละ 0.05
1	1.4167[a]	1.4347[a]
3	1.4297[a]	1.4150[a]
5	1.4040[a]	1.3960[a]
7	1.3787[a]	1.3637[a]
9	1.3387[a]	1.3270[a]
11	1.3153[a]	1.3050[a]

หมายเหตุ

[a,b] ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงค่าความชื้นในผลิตภัณฑ์กุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

4.3.4 ความหืน

จากการบรรจุกุนเชียงสูตรควบคุมและกุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 ร้อยละ 0.05 ในถุงชนิดโพลีอะคริลาไมด์และปิดผนึกแบบสุญญากาศโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 11 สัปดาห์ และติดตามผลการเปลี่ยนแปลงค่าความหืนของผลิตภัณฑ์พบว่ากุนเชียงทั้งสองสูตรมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของค่าความหืนเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นดังภาพที่ 4.7 ค่าความหืนของกุนเชียงสูตรควบคุมในสัปดาห์ที่ 1 เท่ากับ 0.8537 มิลลิลิตร malonaldehyde ต่อกิโลกรัม กุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 มีค่าความหืนเท่ากับ 1.8513 มิลลิลิตร malonaldehyde ต่อกิโลกรัม จากนั้นค่าความหืนเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งมีอายุการเก็บรักษา 11 สัปดาห์ ค่าความหืนของกุนเชียงสูตรควบคุมมีค่าเท่ากับ 1.3423 มิลลิลิตร malonaldehyde ต่อกิโลกรัม และกุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 มีค่าความหืนเท่ากับ 2.6787 มิลลิลิตร malonaldehyde ต่อกิโลกรัม ซึ่งมีค่าสูงกว่าสูตรควบคุมอย่างชัดเจนและสูงกว่าในทุกสัปดาห์โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.005$) ดังตารางที่ 4.10 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติในการยั้บยั้งจุลินทรีย์ของสารไนไดรท์จึงส่งผลให้กุนเชียงสูตรควบคุมมีการย่อยสลายไขมันเป็นกรดไขมันอิสระในปริมาณที่ต่ำกว่ากุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05

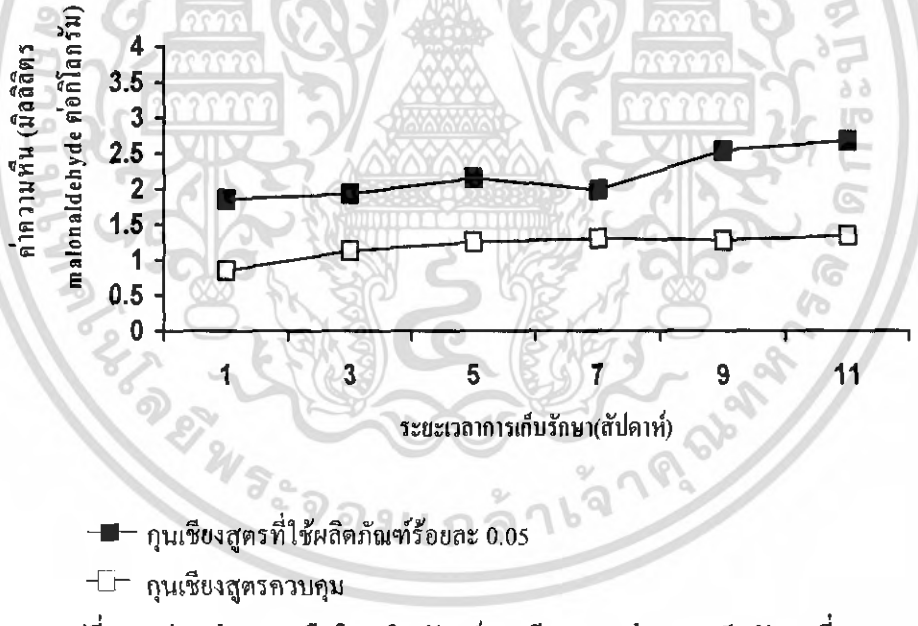
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ค่าความหืนของผลิตภัณฑ์กุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

อายุผลิตภัณฑ์ (สัปดาห์)	ค่าความหืน(มิลลิลิตร malonaldehyde ต่อกิโลกรัม)	
	กุนเชียงสูตรควบคุม	กุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05
1	0.8537 [b]	1.8513 [a]
3	1.1293 [b]	1.9307 [a]
5	1.2480 [b]	2.1493 [a]
7	1.3043 [b]	1.9827 [a]
9	1.2733 [b]	2.5390 [a]
11	1.3423 [b]	2.6787 [a]

หมายเหตุ

[a,b] ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงค่าความหืนในผลิตภัณฑ์กุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

4.3.5 ปริมาณแอนแอโรบิกแบคทีเรีย(anaerobic bacteria) และ *Clostridium perfringens*

จากการบรรจุกุนเชียงสูตรควบคุมและกุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ร้อยละ 0.05 ในถุงพลาสติกชนิดโพลีอะคริลาไมด์ปิดผนึกแบบสุญญากาศเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 11 สัปดาห์และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ติดตามผลการเปลี่ยนแปลงจำนวนแอนแอโรบิกแบคทีเรีย (anaerobic bacteria) และ *Clostridium perfringens* ดังตารางที่4.11 พบว่าจำนวนของแอนแอโรบิกแบคทีเรียสัปดาห์ที่ 1 ในกุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 เท่ากับ 4.5556 logcolony/g และในสูตรควบคุมเท่ากับ 5.3240 logcolony/g จากนั้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบมีมากขึ้นจนกระทั่งในสัปดาห์ที่ 11 พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ในกุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 เท่ากับ 6.4600 logcolony/g และสูตรควบคุมเท่ากับ 5.4447 logcolony/g เมื่อคำนวณอัตราการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์จากสัปดาห์แรกกระทั่งสัปดาห์ที่ 11 พบว่ากุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 มีอัตราการเปลี่ยนแปลงที่สูงกว่าสูตรควบคุมอย่างมาก นั่นคือมีอัตราการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นร้อยละ 41.80และร้อยละ 2.27 ตามลำดับ ทั้งนี้สาเหตุอาจเกิดจากคุณสมบัติของสารไนไตรท์ที่เป็นส่วนประกอบของกุนเชียงสูตรควบคุมมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีจึงทำให้จำนวนจุลินทรีย์ในสูตรควบคุมค่อนข้างคงที่ดังภาพที่ 4.8 และจากการตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อ *Clostridium perfringens* ในผลิตภัณฑ์กุนเชียงไม่พบว่ามีการเจริญของเชื้อตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

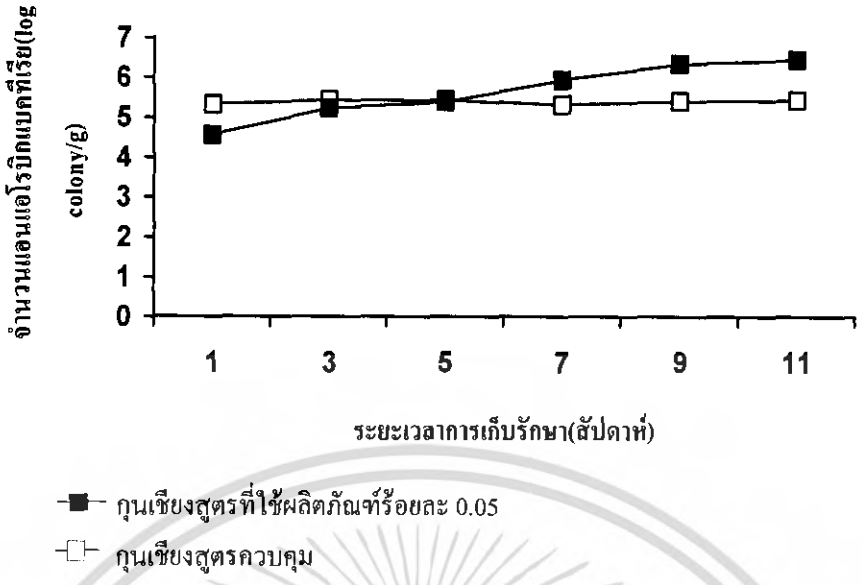
ตารางที่ 4.11 จำนวนแอนแอโรบิกแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์กุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

อายุผลิตภัณฑ์ (สัปดาห์)	จำนวนแอนแอโรบิกแบคทีเรีย (log colony/g)	
	กุนเชียงสูตรควบคุม	กุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05
1	5.3240[a]	4.5556[b]
3	5.4347[a]	5.2310[b]
5	5.4400[a]	5.3943[b]
7	5.3227[b]	5.9407[a]
9	5.4150[b]	6.3500[a]
11	5.4447[b]	6.4600[a]

หมายเหตุ

[a,b]ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงจำนวนแอนแอโรบิกแบคทีเรีย ในผลิตภัณฑ์กุนเชียงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 11 สัปดาห์

4.3.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

เมื่อทำการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เมื่อมีอายุครบ 11 สัปดาห์ของกุนเชียงสูตรควบคุมและสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR3090 ร้อยละ 0.05 ซึ่งบรรจุและปิดผนึกในถุงโพลีอะคริลาไมด์โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ปรากฏผลดังแสดงในตารางที่ 4.12 โดยกุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 ได้รับคะแนนรวมของความพึงพอใจจากผู้ทดสอบชิมต่ำกว่าสูตรควบคุมในคุณลักษณะด้านลักษณะปรากฏและ สี ส่วนคุณลักษณะด้านกลิ่น รส และความชอบโดยรวมได้รับคะแนนในระดับที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) กับสูตรควบคุมแต่เมื่อพิจารณาทั้ง 5 คุณลักษณะ กุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ฯร้อยละ 0.05 ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบและไม่มีความแตกต่างจากกุนเชียงสูตรควบคุมถึง 3 ลักษณะจึงกล่าวได้ว่ากุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 มีค่าการยอมรับจากผู้ทดสอบไม่แตกต่างจากกุนเชียงในสูตรควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของกุนเชียงหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 11 สัปดาห์

คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์	ค่าการทดสอบทางประสาทสัมผัส	
	กุนเชียงสูตรควบคุม	กุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05
ลักษณะปรากฏ	6.1500[a]	4.9000[b]
สี	6.1000[a]	4.7000[b]
กลิ่น	5.7000[b]	5.8500[a]
รสชาติ	6.0500[a]	6.3000[a]
การยอมรับโดยรวม	6.3500[a]	6.1000[a]

หมายเหตุ

[a,b] ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 เพื่อทดแทนไนไตรท์ที่ความเข้มข้น ร้อยละ 0.1 และ 0.05 ของน้ำหนักเนื้อ โดยเปรียบเทียบกับสูตรควบคุมที่มีไนไตรท์เป็นส่วนประกอบ พบว่ากุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.1 และ 0.05 มีค่า L*ต่ำกว่ากุนเชียงสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ($P \leq 0.05$)ขณะที่กุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.1 และร้อยละ 0.05 มีค่า L* a* และ b* ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P \leq 0.05$)

ศึกษาชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมในการบรรจุกุนเชียงโดยเปรียบเทียบระหว่างถุงสองชนิดคือถุงโพลีอะครีลาไมด์และถุงโพลีโพรไพลีนชนิดพบว่ากุนเชียงในถุงทั้งสองชนิดได้รับคะแนนความพึงพอใจจากผู้บริโภคแตกต่างกันโดยกุนเชียงในถุงชนิดโพลีอะครีลาไมด์มีค่าระดับคะแนนความพึงพอใจของผู้บริโภคมากกว่ากุนเชียงในถุงชนิดโพลีโพรไพลีน ดังนั้นจึงเลือกถุงชนิดโพลีอะครีลาไมด์เป็นบรรจุภัณฑ์ในการศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียง

ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 เพื่อทดแทนไนไตรท์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 เปรียบเทียบกับสูตรควบคุมเป็นระยะเวลา 11 สัปดาห์ พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นค่าสี L* a* และ b* เกิดการเปลี่ยนแปลงคือ ค่า L* ของสูตรควบคุมค่อนข้างคงที่แต่สูตรผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 มีแนวโน้มของค่า L* ลดลง ค่าa* ของทั้งสองสูตรค่อนข้างคงที่ และค่า b* ของสูตรควบคุมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแต่ในสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 ค่า b* ค่อนข้างคงที่ กุนเชียงสูตรควบคุมจะมีค่าความคงตัว(ΔE) สูงกว่ากุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 และมีแนวโน้มความคงตัวของสีมากกว่าสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 นอกจากนี้กุนเชียงทั้งสองสูตรมีจำนวนจุลินทรีย์แอนแอโรบิกแบคทีเรียและค่าความหืนเพิ่มขึ้น โดยกุนเชียงสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05 มีจำนวนจุลินทรีย์แอนแอโรบิกแบคทีเรียและความหืนสูงกว่ากุนเชียงสูตรควบคุม ค่าwater activity และค่าความชื้นของกุนเชียงทั้งสองสูตรต่างกันเพียงเล็กน้อยและมีแนวโน้มลดลง ตลอดอายุในการเก็บรักษาไม่พบการเจริญของเชื้อ *Clostridium perfringens* และเมื่อพิจารณาลักษณะการยอมรับโดยรวมของผู้บริโภคในสัปดาห์ที่ 11 พบว่ากุนเชียงทั้งสองสูตรมีระดับการยอมรับโดยรวมของผู้บริโภคไม่แตกต่างกัน

ดังนั้นเมื่อพิจารณาคุณภาพของกุนเชียงทั้งสองสูตรในทุกๆด้านแล้วพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 สามารถใช้เป็นสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดแทนไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียงได้โดยระยะเวลาที่สามารถยอมรับคุณภาพของกุนเชียงได้คือประมาณ 6 สัปดาห์หากระยะเวลาเก็บรักษาเกินกว่านี้จะทำให้คุณภาพกุนเชียงไม่เป็นที่ยอมรับ

ข้อเสนอแนะ

1. จากการตรวจเชื้อ *Clostridium perfringens* ไม่พบการเจริญของเชื้อชนิดนี้ ซึ่งไม่สามารถบอกได้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ร้อยละ 0.05 มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Clostridium perfringens* ดังนั้นควรทำการเติมเชื้อชนิดนี้ลงไปในผลิตภัณฑ์ที่ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนไนไตรท์ และตรวจหาในระหว่างการเก็บรักษาว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อชนิดดังกล่าวได้หรือไม่

2. ควรทำผลิตภัณฑ์ที่ไม่เติมทั้งสารไนไตรท์และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 เปรียบเทียบในด้านการยอมรับของผู้บริโภคและการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเก็บรักษา

3. ควรจะมีการตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด(แอโรบิกและแอนแอโรบิก)ควบคู่ไปด้วยเนื่องจากพบการเจริญของเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรุณา โชติฤทธิไกร จิราพร จันทรา และสินิทธ์ วุฒิกรสมบัติกุล. 2546.การหมักเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ร่วมกับแบคทีเรียเซลลูโลสและการคงตัวของสีในผลิตภัณฑ์ที่ได้. โครงงานพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

คณาจารย์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2546. *วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร*. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เทพปัญญา เจริญรัตน์ และอรวรรณ เตมีเจตน์. 2541. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารสีของเชื้อราโมแนสคัสจากกากมันสำปะหลัง. โครงงานพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ธวัช ขนบดี ประดิษฐ พงศ์ทองคำ นิตยา เสาหจินดา และอารี เสือก้อน. 2530. เปรียบเทียบการทดสอบผลของสีผสมอาหารในกลุ่มอะโซบางชนิด และสีที่ได้จากการหมักเชื้อรา *Monascus* sp. ในโครโมโซมของคน รายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 25 สาขาวิทยาศาสตร์ – เทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.หน้า 1- 15

ณัฐวดี กิจแสงทอง วีระศักดิ์ บุญช่วย และอภิญญา สุวรรณ์ทวีกุล . 2548.พัฒนาการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง. โครงงานพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นิสา บุตรดา. 2537. การกลายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส กบ. 11304 ให้เป็นสายพันธุ์ไม่สร้างสี และเปรียบเทียบสมบัติบางประการกับสายพันธุ์พ่อแม่ สายพันธุ์กลายพันธุ์สีแดงและสีเหลือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

บุษบา ยงสมิทธิ์ และวรรณภา ทาบโลกา. *2528.* สีผสมอาหารจากมันสำปะหลังโดยเชื้อราโมแนสคัส. *วารสารวิทยาศาสตร์*, มก. 19 : 45 – 50.

บุษบา ยงสมิทธิ์ วิเชียร ยงมานิตชัย สนทนา แสงจันทร์ และ ชุลี ชัยศรีสุข. 2531. การผลิตสีผสมอาหารจากมันสำปะหลังเพื่ออุตสาหกรรมการหมัก. รายงานการวิจัยเสนอต่อสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. 225 น.

บุษบา ยงสมิทธิ์. 2542. *จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตร-ศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปุ่น คงเจริญเกียรติ และ สมพร คงเจริญเกียรติ. 2541. บรรจุภัณฑ์อาหาร . กรุงเทพมหานคร : บริษัท แพคเมทส์ จำกัด

พลายแก้ว ไวชเบญจวงศ์ และบุษบา ยงสมิทธ์. 2534. การศึกษาเบื้องต้นโคจิเชื้อราแดง โมแนสคัส เตรียมจากวัตถุดิบชนิดต่าง ๆ. ในรายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 29 สาขาวิทยาศาสตร์ – เทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ . หน้า 277 – 282.

ภัทธรินทร์ เจิมจำรูญ รัตนาภรณ์ จำนงค์ศาสตร์ และวิจิตรา สานพภา. *2547.* ศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus TISTR 3090* ทดแทนไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง. โครงงานพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

มยุรี ภาคลำเจียก. 2540.บรรจุภัณฑ์พลาสติกสำหรับอาหาร.วารสารพลาสติก.

เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์. 2536. *เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์.* กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สุภาวดี อินทรย์เขียว. 2545. การใช้สารสีโมแนสคัส (อังคัก) ทดแทนไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกรมควันและกุนเชียง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สมชาย ไกรรักษ์. 2536. ศักยภาพของเชื้อราโมแนสคัสกลายพันธุ์ชนิดใหม่ ในการผลิตสีเหลืองธรรมชาติ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯง

วราวุฒิ ครูส่ง. 2539. *บทปฏิบัติการจุลชีววิทยาอาหารชั้นสูง.* ปรับปรุงครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วรรณภา ทาบโลกา. 2529. ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตสีของโมแนสคัสที่เจริญบนอาหารแป้งมันสำปะหลังในสภาพหมักเปียก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

Alban, C.A. 1962. Studies on the optimum conditions for Nata de coco bacterium or Nata formation in coconut water. *The Phillippine Agriculturist.* 45 : 409 – 415.

Alexopoulos, C.J and Mims, C.W. 1979. *Introductory Mycology.* John Wiley & Sons, Inc. New York. 632p.

AOAC. Official Method of Analysis. 1995. 16th ed. *The Association of Analysis Chemists. Arlington, Virginia.*

Aso, K., Suzuki, Y., Kato, F., Nishikawa ,J and Iizuka, H. 1989. Comparative electrophoresis and some properties of alkaline proteinases produced by *Monacus* spp. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 35 : 281 – 288.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Barnard, E.L. and Cannon, P.F.1987. A new species of *Monascus* from pine tissues in Florida. *Mycologia 79*: 479-484.

Bridge, P.D. and Hawksworth, D.L. 1985. Biochemical tests as an aid to the identification of *Monascus* sp. *Letters in Appl. Microbiol.* 1 : 25 – 29.

Cannon, P.F., Abdullah, S.K. and Abbas, B.A. 1995. Two new species of *Monascus* from Iraq, with a key to known species of the genus. *Mycol. Res. 99*: 659-662.

Carels, M. and Shepherd, D. 1997. The effect of different nitrogen sources on pigment production and sporulation of *Monacus* species in submerged, shaken culture. *J. Micro.* 24: 1346-1357.

Ebner, H. 1982. *Vinegar*. In G. Reed (ed). Proscott and Dunn's Industrial Microbiology. 4th. Reed. AVI Publishing com., Inc Wesport, Connecticut

Evan, P.J. and Wang, H.Y. 1984. Pigment production from immobilized *Monacus* sp. Utilizing polymeric resin adsorption. *Appl. Envion. Microbiol.* 47 (6) : 1323 – 1326.

Fabre, C.E., Santerre, A.L., Loret, M.O., Baberian, R., Parecilleux, A., Goma, G., and Blanc, P.J. 1993. Production and food applications of the red pigments of *Monascus rubber*. *J.Food Sci.* 58 : 1099-1110.

Gusman, M.P., Alabastro, E.F. and Tinsay, C.B. 1982. A submerged process for the production of Nata. *NRCP Research Bull.* 37 (1) : 1 – 50.

Han, O. and Mudgett, R.E. 1992. Effects of oxygen and carbondioxide partial pressure on *Monascus* growth and pigment production in solid – state fermentation. *Biotecnol. Prog.* 8 : 5 -10.

Haus, E.J., Holkor J.S.E., Kelly A., Powell, A.D.G. and Pobertson, A. 1959. The chemistry of fungi part xxxvii. The structure of rubropunctatin. *J. Chem. Soc.* 3598 – 3610.

Hawksworth, D.L. and Pitt, J.I. 1983. A new taxonomy for *Monascus* species based on cultural and microscopical characters. *Austl J. Bot.* 31 : 51 – 61.

Hawksworth, D. L., Kirk, P. M. , Sutton,B. C. , Pegler,D. N. 1995. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. 8th ed

Hendry, G.A.F. and Houghton, J.D. 1992. *Natural Food Colorants*. Blackie and Son., New York. 280 p.

Hesseltine, C.W. 1965. A millienium of fungi, food and fermentation. *Mycologia*. 57 : 179 – 181.

Hiroi, T., Shima, T. and Oagasanara N. 1979. Hyperpigment. Productive mutant of *Monascus ank* for solid culture. *Agr. Biol. Chem.* 43(9) : 1975 – 1976

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hwang, J. and Hseu, T.H. 1980. Specificity of the acid protease from *Monascus kaoliang* towards the ß-chain of oxidized insulin. *Biochem. Biophy. Acta*. 614 : 607 – 612.

Iizuka, H. and Mineki, S. 1977. Studies on the genus *Monascus*, I. purification and properties of two forms of glucoamylase from *Monascus kaoliang* NOV. SP. F1. *J. Gen. Appl. Microbiol*. 23 : 217 – 230.

Iizuka, H. and Mineki, S. 1978. Studies on the genus *Monascus*, II. Substrate specificity of two glucoamylase obtained from *Monascus kaoliang* F-1. *J. Gen. Appl. Microbiol*. 24 : 185 – 192.

Johns, M.R. and Stuart, D.M. 1991. Production of pigment by *Monascus purpureus* in solid culture. *J. Indust. Microbiol*. 8 : 23 – 28.

Johnson, G.T. and McHan, F. 1975. Some effect of zine on the ultilization of carbon source by *Monascus purpureus*. *Micologia* 67 : 806 – 816.

Kolotila, M. P., Hollingsworth, P. J., Volz, P. A. 1978.Surface features of *Monascus ruber* van Tieghem cleistothecia. *J.Bot. Gaz*.139 : 256-260.

Krusong, W. and Yoshida, T. 1995. Countoraction of negative effect on cellulose formation in agitated culture of *Acetobacter xylinum* in addition of alginated gel beads as microaerophilic carrier. *Annual Report International Conference Biotechnology*, Japan. 155 – 200.

Lee, Y.K., Chen, D.C., Chauvatcharin, S., Seki, T. and Yoshida, T. 1995. Production of *Monascus* pigment by a solid – liquid state culture method. *J. Ferment. Bioeng*. 79 (5) : 516 – 518.

Lin, C.F. 1973. Isolation and cultural conditions of *Monascus* sp. For the production of pigment in a submerged culture. *J. Ferment. Technol*. 51(6) : 407 – 414.

Lin, C.F. and lizuka, H. 1982 Production of extracellular pigment by a mutant of *Monascus kaoliang* sp. Nov. *Appl. Environ. Microbiol*. 43 (3) : 671 – 676

Lin, T.F. and Demain, A.L. 1991. Effect of nutrition of *Monascus* sp. On formation of red pigments. App. *Microbial Biotecnology*. 36 : 70-75.

Manandhar, K.L. and Apinis, A.E. 1971. Temperature relation in *Monascus*. *Trans. Br. Mycol. Soc*. 57 (3) : 465 – 472.

Manchand, P.S., Whalley, W.B. and Chem, F.C. 1973. Isolation and structure of ankaflavin : a new pigment from *Monascus anka*. *Phytochemistry* 12 : 2531 : 2532

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

McLoughlin, A.J. and Champagne, G.P. 1994. Immobilized cells in meat fermentation. *Critical Review of Biotecnology.* 14 : 179-192.

Nishikawa, J., Y. Watanabe, J. Kashimura, K. Aso, H. Iizuka, 1988. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 34, 467

Nishikawa, J., Iizuka,H. 1993. Numerical taxonomy of Monascus species based on the electrophoretic analysis of intracellular enzymes. *J. basic microbial*, 33 : 331-342

Ohara, H., Hiyama ,K and Yoshida, T.1992. Kinetic study on pH dependence of growth and death of *Streptococcus faecalis.. Applied Microbiology Biotechnology.* 38 : 403-407.

Chaisrisook .1998. Mycelial reactions and mycelial compatibility groups of red rice mould (Monascus purpureus) Department of Microbiology, Faculty of Science, KasetsartUniversity, Bangkaen, Bangkok , Thailand

Udagawa, S.-I. and Baba, H.1998. *Monascus lunisporas*: a new species isolated from mouldy feeds. *Cryptogamie Mycol.* 19: 269-276

Wong, H.C., Hu, C.A. , Yeh, H.L. , Su, W. , Lu, H.C. and lin, C.F. 1986. Production, purification, and characterization of α- galactosidase from *Monascus pilosus*. Appl. *Environ. Microbiol.* 52 (5) : 1147 – 1152.

Wong, H.C. and Koehler, P.E. 1983. Production and isolation of an antibiotic from *Monascus purpureus* and its relationship to pigments production. *J.Food Sci.* 46 : 589-592.

Wong, H.C. and Koehler, P.E. 1983. Production of red water soluble *Monascus* pigments production. *J.Food Sci.* 48: 1200-1203.

Wong, H.C., Lin, Y.C. and Koehler, P.E. 1981. Regulation of growth and pigmentation of *Monascus purpureus* by carbon and nitrogen concentration. *Mycologia.* 73 : 649 – 654.

Wong, H. C. and Bon, V.S. 1978. A comparision of conidial and ascospore germination of *Monascus purpureus. Trans. Br. Mycol. Soc.* 70(2) : 282.

Wong-Leung, Y.L., Fong, W.F. and Lam, W.L. 1993. Production of α- galactosidase by *Monascus* grown on soybean and sugarcane wastes. *World J. Microbiol. Bietechnol.* 9 : 529 – 533.

Satoshi, M., Ohe, T. and Sakota, N. 1993. Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum. J. of fermentation and Bioengineering.* 75 : 18 – 22.

Su, Y.C. and Huang, J.H. 1980. Fermentative production of anka – pigments (Monascus pigments). *Proc. Nat. Sci. counc. ROC.* 4 (2) : 201 – 215.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sweeny, J.G., Estrada, M.C. Valdes, g., Iacobucci, A. , Sato, H. and Sakamura, S. 1981. Photopprotection of the red pigment of *Monascus anka* in aqueous media by 1,4,6 – trihydroxy – naphthalene. J. *Agric. Food. Chem.* 29 : 1189 – 1193.

Yongsmith, B., Chitradon, L. , Krairak, S., Tabloka, W. and Bavavoda, R. 1990. Cassava fermentation of yellow pigments and amylolytic enzymes of a mutant of *Monascus* spp. in submerged cultivation. *Microbial Utilization of Renewable Resources.* 7 : 354 – 363.

Yongsmith, B., Tabloka, W. , Yongmanitchai, W. and Bavavoda, R. 1993. Culture conditions for yellow pigment formation by *Monascus* sp. KB 10 grown on cassava medium. *World. J. Microbiol. Biotechnol.* 9 : 85 – 90.

Yongsmith, B., Krairak, S. and Bavavoda, R. 1994. Product of yellow pigment in submerged culture of a mutant of *Monascus* spp. *J. Ferment. Bioeng.* 78 (3) : 223 – 228.

Yoshinaga, F., Tonouchi, N. and Watanabe, K. 1997. Research Progress in Production of Bacterial Cellulose by Aeration and Agitation Culture and Its Application as a New Industrial Material. *Biosci. Biotech. Biochem.* ; 61 (2) : 219-224.

www.agmassmedia.com

www-efood-idv.tw/images/efood0407283/gif

www.gpo.or.th/rdi/htmls/cellu.html

www.ku.ac.th/e-magazine/september45/agri/rice.jpg

www.poli.usp.br/Pigmento/imagens/pigmentomonascus.jpg

www.seience.nrru.ac.th/chum_von.htm

www.smejelly .com

www.udru.ac.th/~pasak/nitrate.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.
อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์และสารเคมี

ก1. สูตรอาหารน้ำมะพร้าว

น้ำมะพร้าวแก่	1,000	มิลลิลิตร
น้ำตาลซูโครส	50	กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต	1	กรัม
กรดอะซีติก	10	มิลลิลิตร

ก2. สูตรอาหาร PDA

Potato extract	4	กรัม
Sucrose	20	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ก3. สูตรอาหารดัดแปลงของ Lin & Demain (1991)

Sucrose	50	กรัม
Anhydrous MSG	15	กรัม
KH_2PO_4	2.4	กรัม
K_2HPO_4	2.4	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	8	กรัม
KCl	0.5	กรัม
$FeSO_4.7H_2O$	0.01	กรัม
$ZnSO_4.7H_2O$	0.01	กรัม
$MnSO_4.7H_2O$	0.003	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ก4. สารละลายเปปโตน (Peptone solution)

Peptone	10	กรัม
NaCl	0.5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก5. สูตรอาหาร Plate count agar (PCA)

Tryptone	5	กรัม
Yeast Extract	2.5	กรัม
Glucose	1	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH	7.0	

ก6. สูตรอาหาร Cooked meat medium (CM)

Beef heart	454	กรัม
NaCl	5	กรัม
Peptone	20	กรัม
Glucose	2	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH	7.2	

ก7. Thiobarbituric acid reagent (TBA)

Thiobarbituric acid	0.2883	กรัม
Acetic acid 90%	100	มิลลิลิตร

ก8. สารละลาย HCL 1 M

สารละลาย HCL	82.33	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่.....

กรุณาให้คะแนนคุณลักษณะต่าง ๆ ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์

<u>คำแนะนำ</u>

1. การชิมระหว่างตัวอย่างผู้ชิมต้องล้างตัวอย่างเดิมออกจากปากด้วยน้ำสะอาดที่เตรียมให้ก่อนการชิมตัวอย่างใหม่เสมอ

2. การให้คะแนนจะเป็นการให้คะแนนความชอบแบบ 9 – point Hedonic Scale โดย

1 = ไม่ชอบมากที่สุด	6 = ชอบเล็กน้อย
2 = ไม่ชอบมาก	7 = ชอบปานกลาง
3 = ไม่ชอบปานกลาง	8 = ชอบมาก
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย	9 = ชอบมากที่สุด
5 = เฉย ๆ	

ตัวอย่าง

คุณลักษณะ	1	2	3	4	5	6
ลักษณะปรากฏ	.....	.....	.....	.....	.....	.....
สี	.....	.....	.....	.....	.....	.....
กลิ่น	.....	.....	.....	.....	.....	.....
รสชาติ	.....	.....	.....	.....	.....	.....
การยอมรับโดยรวม	.....	.....	.....	.....	.....	.....

ข้อเสนอแนะ.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

วิธีการวิเคราะห์

ค1. ความชื้น (AOAC, 1995)

ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัมในอะลูมิเนียมแคน (moisture can) ที่ผ่านการอบแห้งและทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100-150 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้น

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้นร้อยละ} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}}$$

ค2. Water Activity (Thermoconstanter)

2.1 หมุนปุ่มสีเหลืองของเครื่อง thermoconstanter ในตำแหน่งที่ (1)

2.2 นำตลับพลาสติก (sample cup) มาใส่สารตัวอย่างให้ได้ปริมาตรประมาณ 80-90 เปอร์เซ็นต์

2.3 นำตลับตัวอย่างมาใส่ไว้ใน Measuring Chamber

2.4 ปิดฝาให้เรียบร้อย

2.5 ตั้งอุณหภูมิให้ได้ตามที่ต้องการ เช่น ถ้าต้องการควบคุมตัวอย่างให้ได้ 25 องศาเซลเซียส ก็ให้ตั้งปุ่มสีดำตรงขวามือให้ได้หมายเลข 190 เป็นต้น

2.6 จากนั้นรอจนกระทั่งอ่านอุณหภูมิได้ตามที่ตั้งไว้ และ Relative Humidity ของอากาศที่วัดได้อยู่ในสภาวะที่สมดุล (Equilibrium) กับสารตัวอย่าง สภาวะนี้เราเรียกว่า Equilibrium Relative Humidity (ERH) เมื่อหารด้วย 100 ก็จะได้ค่า a_w (water activity) ตามที่ต้องการ

ค3. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศ (AOAC, 1995)

3.1 สุ่มตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ เทสารละลายเปปโตน 0.1 เปอร์เซ็นต์ (พีเอช 7.0 ± 0.1) 225 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1 : 10

3.2 นำไปตีป่นให้ละเอียดโดยใช้เครื่องตีป่นอาหารเป็นเวลา 1 นาที

3.3 ปิเปตตัวอย่างอาหารเจือจาง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม 3 ระดับ คือ 10^{-3} 10^{-4} และ 10^{-5}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 หลอมอาหารเลี้ยงเชื้อให้ละลายแล้วตั้งทิ้งไว้ให้มีอุณหภูมิประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส

3.5 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารแต่ละความเจือจาง ใส่ในจานเพาะเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว จานละ 1 มิลลิลิตร แต่ละระดับความเจือจางทำ 3 ซ้ำ และใช้ระดับความเจือจาง 3 ระดับ โดยเรียงจานซ้อนกัน 4 ใบ ดูดตัวอย่างอาหารใส่จานใบล่างสุดก่อนแล้วไล่ขึ้นมาจนถึงใบบนสุด

3.6 เทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15-20 มิลลิลิตร โดยเริ่มจากจานใบล่างสุดก่อนเช่นเดียวกัน เขย่าจานที่ซ้อนกันอยู่ทั้ง 4 ใบพร้อม ๆ กัน โดยหมุนไปทางขวา 3-4 ครั้ง หมุนไปทางซ้าย 3-4 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้ให้วุ้นแข็งตัว

3.7 บ่มเชื้อในโถบ่มไร้อากาศ (anaerobic jar) ร่วมกับ Gas Par ระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง โดยกลับจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.8 นับจำนวนโคโลนีทั้งหมดที่เจริญบนผิวหน้าอาหารและที่เจริญฝังในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี

3.9 รายงานผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมของตัวอย่างอาหาร โดยคูณจำนวนที่นับกับระดับความเจือจาง

ค4. การตรวจหาเชื้อ *Clostridium perfringens* (AOAC, 1995)

4.1 เตรียมตัวอย่างอาหารให้เจือจางตามที่ต้องการ 3 ระดับคือ 10^{-1} 10^{-2} และ 10^{-3}

4.2 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารแต่ละความเจือจางใส่ลงในหลอด cooked meat (CM) โดยใส่ตัวอย่างอาหารหลอดละ 1 มิลลิลิตร ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

4.3 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 18-24 ชั่วโมง

4.4 ใช้ลูบจุ่มเชื้อจากหลอด CM medium โดยพยายามเขี่ยเชื้อจากก้นหลอดของ CM medium นำมาถ่ายเพาะเชื้อบน SPS agar

4.5 คว่ำจานเพาะเชื้อนำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปใส่ไว้ใน anaerobic jar เพื่อขจัดออกซิเจน

4.6 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 18-24 ชั่วโมง

4.7 ตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ให้ลักษณะโคโลนีสีดำ นำมาทดสอบยืนยัน

4.8 ถ่ายเชื้อลง fluid thioglycollate บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.8.1 stap ลง motility-nitrate บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง *C. perfringens* ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ดังนั้นการเจริญจะเกิดเฉพาะตามรอยแทงของเข็มเขี่ยเชื้อเท่านั้น ทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ ไนไตรท์จะทำปฏิกิริยากับน้ำยาทดสอบให้สีแดง ในกรณีที่การทดสอบครั้งแรกได้ผลลบ ให้บ่มหลอดเชื้ออีกหนึ่งหลอดต่อ 24 ชั่วโมง แล้วทดสอบซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.8.2 stap ลง lactose gelatin medium บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง *C. perfringens* สามารถเฟอร์เมนท์แลคโตส เกิดฟองก๊าซ และมีกรดเกิดขึ้น ทำให้อาหารเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง และมีเอนไซม์ย่อยเจลาตินได้ โดยแช่หลอดในน้ำแข็งประมาณ 30 วินาที เจลาตินที่ถูกย่อยสลายแล้วจะไม่จับตัวเป็นก้อนแข็ง

ค5. การตรวจวิเคราะห์ความหืน (Thiobarbituric acid number)

5.1 ชั่งตัวอย่างมา 10 กรัม ปั่นกับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร โดยใช้ blender เทใส่ flask ใช้น้ำกลั่นอีก 47.5 มิลลิลิตร ล้างตัวอย่างที่ติด blender ออกให้หมด แล้วเทใส่ใน flask

5.2 ใช้สารละลายกรดเกลือความเข้มข้น 4 M ปรับพีเอชให้ได้ 1.5 เทตัวอย่างทั้งหมดลงในหลอดกลั่น

5.3 ใส่ glass bead 3-4 เม็ดต่อหลอดกลั่น

5.4 ต่อหลอดกลั่นเข้ากับเครื่องกลั่น ทำการกลั่นจนเก็บของเหลวที่กลั่นได้ 50 มิลลิลิตร

5.5 ปิเปตของเหลวที่กลั่นได้ 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาปิด

5.6 เติมสารละลาย TBA ลงไป 5 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่า

5.7 นำไปต้มในน้ำเดือด 35 นาที และทำให้เย็นภายใน 10 นาที (ทำ blank ไปพร้อมกัน โดยใช้น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และสารละลาย TBA 5 มิลลิลิตร)

5.8 นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่า OD ที่ความยาวคลื่น 538 nm เปรียบเทียบกับ blank คำนวณหาค่า TBA

TBA number = 7.8 x (O.D.ตัวอย่าง - O.D.blank)

= มิลลิลิตร malonaldehyde ต่อกิโลกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ง1. ผลวิเคราะห์การเลือกใช้ชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม โดยทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสวิธี Indipendent – Sample T Test

คุณภาพทางลักษณะปรากฏ

Group Statistics

	APPEAR1	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA1	1.00	20	7.7000	.97872	.21885
	2.00	20	7.2000	1.43637	.32118

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA1	Equal variances assumed	2.078	.158	1.286	38	.206	.5000	.38865	-.28679	1.28679
	Equal variances not assumed			1.286	33.514	.207	.5000	.38865	-.29026	1.29026

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณภาพทางด้านสี

Group Statistics

	COLOR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA2	1.00	20	7.8500	.81273	.18173
	2.00	20	6.9500	1.60509	.35891

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA2	Equal variances assumed	2.732	.107	2.237	38	.031	.9000	.40230	.08559	1.71441
	Equal variances not assumed			2.237	28.142	.033	.9000	.40230	.07612	1.72388

คุณภาพทางด้านกลิ่น

Group Statistics

	SMELL	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA3	1.00	20	7.5500	.99868	.22331
	2.00	20	6.6000	1.84676	.41295

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA3	Equal variances assumed	6.531	.015	2.024	38	.050	.9500	.46946	-.00038	1.90038
	Equal variances not assumed			2.024	29.237	.052	.9500	.46946	-.00982	1.90982

คุณภาพทางด้านรสชาติ

Group Statistics

	TEST	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA4	1.00	20	7.7500	.78640	.17584
	2.00	20	6.8000	1.36111	.30435

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA4	Equal variances assumed	2.403	.129	2.703	38	.010	.9500	.35150	.23842	1.66158
	Equal variances not assumed			2.703	30.413	.011	.9500	.35150	.23255	1.66745

คุณภาพทางด้านการยอมรับโดยรวม

Group Statistics

	ACCEPT	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA5	1.00	20	8.0500	.68633	.15347
	2.00	20	7.2000	.83351	.18638

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA5	Equal variances assumed	1.095	.302	3.521	38	.001	.8500	.24143	.36125	1.33875
	Equal variances not assumed			3.521	36.651	.001	.8500	.24143	.36065	1.33935

ง2. ผลวิเคราะห์การศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์กุนเชียง

ง2.1วิเคราะห์ค่า L*a* และb*โดยวิธี Indipendent – Sample T Test

การวิเคราะห์ค่า L*

T-Test ค่า L*สัปดาห์ที่ 1

Group Statistics

	L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA1	1.00	3	36.5700	1.74089	1.00510
	2.00	3	34.1933	1.62371	.93745

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA1	Equal variances assumed	.131	.736	1.729	4	.159	2.3767	1.37443	-1.43935	6.19268
	Equal variances not assumed			1.729	3.981	.159	2.3767	1.37443	-1.44664	6.19998

T-Test ค่า L*สัปดาห์ที่ 3

Group Statistics

	L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA2	1.00	3	31.7100	.20952	.12097
	2.00	3	30.2400	1.42313	.82164

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA2	Equal variances assumed	11.005	.029	1.770	4	.151	1.4700	.83050	-.83584	3.77584
	Equal variances not assumed			1.770	2.087	.213	1.4700	.83050	-1.96484	4.90484

T-Test ค่า L*สัปดาห์ที่ 5

Group Statistics

	L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA3	1.00	3	32.9500	.81185	.46872
	2.00	3	31.1933	.75646	.43674

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA3	Equal variances assumed	.005	.949	2.742	4	.052	1.7567	.64066	-.02209	3.53542
	Equal variances not assumed			2.742	3.980	.052	1.7567	.64066	-.02559	3.53892

T-Test ค่า L*สัปดาห์ที่ 7

Group Statistics

	L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA4	1.00	3	32.1733	.62501	.36085
	2.00	3	28.9467	1.40251	.80974

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA4	Equal variances assumed	2.206	.212	3.640	4	.022	3.2267	.88650	.76534	5.68800
	Equal variances not assumed			3.640	2.764	.041	3.2267	.88650	.26427	6.18906

T-Test ค่า L*สัปดาห์ที่ 9

Group Statistics

	L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA5	1.00	3	35.2900	.95394	.55076
	2.00	3	29.5233	.56889	.32845

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA5	Equal variances assumed	.583	.488	8.993	4	.001	5.7667	.64126	3.98625	7.54708
	Equal variances not assumed			8.993	3.263	.002	5.7667	.64126	3.81582	7.71751

T-Test ค่า L*สัปดาห์ที่ 11

Group Statistics

	L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA6	1.00	3	33.7867	2.27566	1.31385
	2.00	3	28.4267	.31086	.17947

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA6	Equal variances assumed	6.619	.062	4.042	4	.016	5.3600	1.32606	1.67828	9.04172
	Equal variances not assumed			4.042	2.075	.053	5.3600	1.32606	-.15335	10.87335

การวิเคราะห์ค่า a*

T-Test ค่า a* สัปดาห์ที่ 1

Group Statistics

	A	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA1	1.00	3	8.1000	.36756	.21221
	2.00	3	8.3500	.91263	.52691

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA1	Equal variances assumed	1.529	.284	-.440	4	.683	-.2500	.56804	-1.82713	1.32713
	Equal variances not assumed			-.440	2.632	.693	-.2500	.56804	-2.20941	1.70941

T-Test ค่า a* สัปดาห์ที่ 3

Group Statistics

	A	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA2	1.00	3	8.2633	.59685	.34459
	2.00	3	7.3367	.39068	.22556

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA2	Equal variances assumed	.719	.444	2.250	4	.088	.9267	.41185	-.21682	2.07015
	Equal variances not assumed			2.250	3.448	.098	.9267	.41185	-.29276	2.14609

T-Test ค่า a* สัปดาห์ที่ 5

Group Statistics

	A	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA3	1.00	3	7.5433	.51033	.29464
	2.00	3	7.5933	.55582	.32090

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA3	Equal variances assumed	.067	.808	-.115	4	.914	-.0500	.43565	-1.25955	1.15955
	Equal variances not assumed			-.115	3.971	.914	-.0500	.43565	-1.26302	1.16302

T-Test ค่า a* สัปดาห์ที่ 7

Group Statistics

	A	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA4	1.00	3	7.5000	.53357	.30806
	2.00	3	7.0167	.86950	.50201

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA4	Equal variances assumed	1.528	.284	.821	4	.458	.4833	.58899	-1.15197	2.11864
	Equal variances not assumed			.821	3.319	.467	.4833	.58899	-1.29313	2.25980

T-Test ค่า a* สัปดาห์ที่ 9

Group Statistics

	A	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA5	1.00	3	7.9400	.71127	.41065
	2.00	3	8.7033	.36116	.20851

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA5	Equal variances assumed	2.858	.166	-1.657	4	.173	-.7633	.46056	-2.04204	.51537
	Equal variances not assumed			-1.657	2.967	.197	-.7633	.46056	-2.23829	.71162

T-Test ค่า a* สัปดาห์ที่ 11

Group Statistics

	A	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA6	1.00	3	8.3800	.91804	.53003
	2.00	3	8.8200	.47760	.27574

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA6	Equal variances assumed	2.886	.165	-.736	4	.502	-.4400	.59747	-2.09883	1.21883
	Equal variances not assumed			-.736	3.009	.515	-.4400	.59747	-2.33830	1.45830

การวิเคราะห์ค่า b*

T-Test ค่า b* สัปดาห์ที่ 1

Group Statistics

	B	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA1	1.00	3	8.3767	.50402	.29099
	2.00	3	7.8333	1.13072	.65282

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA1	Equal variances assumed	2.787	.170	.760	4	.489	.5433	.71474	-1.44111	2.52777
	Equal variances not assumed			.760	2.765	.507	.5433	.71474	-1.84490	2.93156

T-Test ค่า b* สัปดาห์ที่ 3

Group Statistics

	B	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA2	1.00	3	9.2300	1.17580	.67885
	2.00	3	8.7433	1.22533	.70744

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA2	Equal variances assumed	.032	.867	.496	4	.646	.4867	.98046	-2.23554	3.20887
	Equal variances not assumed			.496	3.993	.646	.4867	.98046	-2.23737	3.21070

T-Test ค่า b* สัปดาห์ที่ 5

Group Statistics

	B	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA3	1.00	3	9.1033	.35133	.20284
	2.00	3	8.7933	.42477	.24524

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA3	Equal variances assumed	.107	.760	.974	4	.385	.3100	.31826	-.57363	1.19363
	Equal variances not assumed			.974	3.864	.387	.3100	.31826	-.58603	1.20603

T-Test ค่า b* สัปดาห์ที่ 7

Group Statistics

	B	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA4	1.00	3	10.3600	1.66556	.96161
	2.00	3	8.7300	1.06099	.61256

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA4	Equal variances assumed	1.318	.315	1.430	4	.226	1.6300	1.14015	-1.53555	4.79555
	Equal variances not assumed			1.430	3.394	.238	1.6300	1.14015	-1.77158	5.03158

T-Test ค่า b* สัปดาห์ที่ 9

Group Statistics

	B	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA5	1.00	3	9.9067	.78679	.45425
	2.00	3	8.3867	1.50391	.86828

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA5	Equal variances assumed	1.489	.289	1.551	4	.196	1.5200	.97993	-1.20071	4.24071
	Equal variances not assumed			1.551	3.018	.218	1.5200	.97993	-1.58778	4.62778

T-Test ค่า b* สัปดาห์ที่ 11

Group Statistics

	B	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA6	1.00	3	10.3400	.74706	.43132
	2.00	3	8.3300	.64645	.37323

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA6	Equal variances assumed	.187	.688	3.524	4	.024	2.0100	.57038	.42637	3.59363
	Equal variances not assumed			3.524	3.919	.025	2.0100	.57038	.41340	3.60660

การวิเคราะห์ค่า ΔE

T-Test ค่า ΔE สัปดาห์ที่ 1

Group Statistics

	DELTAE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA1	1.0000	3	38.38667	1.6817748	.9709731
	2.0000	3	36.08480	1.4066297	.8121181

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA1	Equal variances assumed	.292	.618	1.818	4	.143	2.301867	1.2658296	-1.21264	5.816373
	Equal variances not assumed			1.818	3.879	.145	2.301867	1.2658296	-1.25638	5.860114

T-Test ค่า ΔE สัปดาห์ที่ 3

Group Statistics

	DELTAE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA2	1.0000	3	34.05850	.5497497	.3173981
	2.0000	3	32.33060	1.6901189	.9757906

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA2	Equal variances assumed	4.839	.093	1.684	4	.167	1.727900	1.0261135	-1.12105	4.576848
	Equal variances not assumed			1.684	2.419	.212	1.727900	1.0261135	-2.03004	5.485838

T-Test ค่า ΔE สัปดาห์ที่ 5

Group Statistics

	DELTAE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA3	1.0000	3	35.01107	.7688127	.4438742
	2.0000	3	32.97227	.9029043	.5212920

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA3	Equal variances assumed	.208	.672	2.978	4	.041	2.038800	.6846676	.1378580	3.939742
	Equal variances not assumed			2.978	3.901	.042	2.038800	.6846676	.1186576	3.958942

T-Test ค่า ΔE สัปดาห์ที่ 7

Group Statistics

	DELTAE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA4	1.0000	3	34.66230	.9234708	.5331661
	2.0000	3	31.06973	.9437189	.5448564

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA4	Equal variances assumed	.017	.902	4.713	4	.009	3.592567	.7623218	1.476022	5.709111
	Equal variances not assumed			4.713	3.998	.009	3.592567	.7623218	1.475629	5.709504

T-Test ค่า ΔE สัปดาห์ที่ 9

Group Statistics

	DELTAE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA5	1.0000	3	37.51587	.8535675	.4928074
	2.0000	3	31.92430	.7214203	.4165122

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA5	Equal variances assumed	.168	.703	8.666	4	.001	5.591567	.6452454	3.800078	7.383055
	Equal variances not assumed			8.666	3.892	.001	5.591567	.6452454	3.780289	7.402845

T-Test ค่า ΔE สัปดาห์ที่ 11

Group Statistics

	DELTAE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA6	1.0000	3	36.33413	2.0843029	1.203373
	2.0000	3	30.91260	.4935380	.2849443

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA6	Equal variances assumed	7.861	.049	4.384	4	.012	5.421533	1.2366485	1.988047	8.855020
	Equal variances not assumed			4.384	2.224	.040	5.421533	1.2366485	.5818506	10.26122

ง2.2 วิเคราะห์ค่า water activity (a_w)โดยวิธี Indipendent – Sample T Test

T-Test ค่า a_w สัปดาห์ที่ 1

Group Statistics

	AW	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA1	1.0000	3	.755000	.0080000	.0046188
	2.0000	3	.753000	.0111355	.0064291

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA1	Equal variances assumed	.432	.547	.253	4	.813	.002000	.0079162	-.0199790	.0239790
	Equal variances not assumed			.253	3.630	.814	.002000	.0079162	-.0208907	.0248907

T-Test ค่า a_w สัปดาห์ที่ 3

Group Statistics

	AW	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA2	1.0000	3	.744667	.0080208	.0046308
	2.0000	3	.740667	.0046188	.0026667

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA2	Equal variances assumed	.588	.486	.749	4	.496	.004000	.0053437	-.0108366	.0188366
	Equal variances not assumed			.749	3.195	.505	.004000	.0053437	-.0124338	.0204338

T-Test ค่า a_w สัปดาห์ที่ 5

Group Statistics

	AW	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA3	1.0000	3	.736700	.0141043	.0081431
	2.0000	3	.740000	.0070000	.0040415

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA3	Equal variances assumed	.900	.396	-.363	4	.735	-.003300	.0090908	-.0285402	.0219402
	Equal variances not assumed			-.363	2.929	.741	-.003300	.0090908	-.0326324	.0260324

T-Test ค่า a_w สัปดาห์ที่ 7

Group Statistics

	AW	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA4	1.0000	3	.736333	.0080208	.0046308
	2.0000	3	.716000	.0052915	.0030551

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA4	Equal variances assumed	.329	.597	3.665	4	.021	.020333	.0055478	.0049302	.0357364
	Equal variances not assumed			3.665	3.464	.028	.020333	.0055478	.0039424	.0367242

T-Test ค่า a_w สัปดาห์ที่ 9

Group Statistics

	AW	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA5	1.000	3	.71367	.007371	.004256
	2.000	3	.71000	.010817	.006245

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA5	Equal variances assumed	.617	.476	.485	4	.653	.00367	.007557	-.017315	.024649
	Equal variances not assumed			.485	3.528	.656	.00367	.007557	-.018470	.025804

T-Test ค่า a_ สัปดาห์ที่ 11

Group Statistics

	AW	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA6	1.000	3	.70400	.007550	.004359
	2.000	3	.69600	.010149	.005859

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA6	Equal variances assumed	.327	.598	1.095	4	.335	.00800	.007303	-.012276	.028276
	Equal variances not assumed			1.095	3.695	.340	.00800	.007303	-.012955	.028955

ง2.3 วิเคราะห์ค่าความชื้นโดยวิธี Indipendent – Sample T Test

T-Test ค่าความชื้นสัปดาห์ที่ 1

Group Statistics

	MOISTURE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA1	1.000	3	1.41667	.065531	.037834
	2.000	3	1.43467	.008737	.005044

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA1	Equal variances assumed	11.819	.026	-.472	4	.662	-.01800	.038169	-.123975	.087975
	Equal variances not assumed			-.472	2.071	.682	-.01800	.038169	-.176944	.140944

Test ค่าความชื้นสัปดาห์ที่ 3

Group Statistics

	MOISTURE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA2	1.000	3	1.42967	.013868	.008007
	2.000	3	1.41500	.007937	.004583

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA2	Equal variances assumed	1.199	.335	1.590	4	.187	.01467	.009226	-.010948	.040281
	Equal variances not assumed			1.590	3.183	.205	.01467	.009226	-.013760	.043093

T-Test ค่าความชื้นสัปดาห์ที่ 5

Group Statistics

	MOISTURE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA3	1.000	3	1.40400	.007550	.004359
	2.000	3	1.39600	.007550	.004359

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA3	Equal variances assumed	.000	1.000	1.298	4	.264	.00800	.006164	-.009115	.025115
	Equal variances not assumed			1.298	4.000	.264	.00800	.006164	-.009115	.025115

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

T-Test ค่าความชื้นสัปดาห์ที่ 7

Group Statistics

	MOISTURE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA4	1.000	3	1.37867	.014468	.008353
	2.000	3	1.36367	.010263	.005925

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA4	Equal variances assumed	.865	.405	1.465	4	.217	.01500	.010242	-.013435	.043435
	Equal variances not assumed			1.465	3.606	.224	.01500	.010242	-.014703	.044703

T-Test ค่าความชื้นสัปดาห์ที่ 9

Group Statistics

	MOISTURE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA5	1.000	3	1.33867	.014295	.008253
	2.000	3	1.32700	.019000	.010970

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA5	Equal variances assumed	.352	.585	.850	4	.443	.01167	.013728	-.026447	.049780
	Equal variances not assumed			.850	3.715	.447	.01167	.013728	-.027630	.050963

T-Test ค่าความชื้นสัปดาห์ที่ 11

Group Statistics

	MOISTURE	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA6	1.000	3	1.31533	.009452	.005457
	2.000	3	1.30500	.011136	.006429

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA6	Equal variances assumed	.057	.823	1.225	4	.288	.01033	.008433	-.013080	.033746
	Equal variances not assumed			1.225	3.897	.289	.01033	.008433	-.013326	.033992

ง2.4 วิเคราะห์ค่าความหืน โดยวิธี Indipendent – Sample T Test

T-Test ค่าความหืนสัปดาห์ที่ 1

Group Statistics

	RANCIDIT	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA1	1.0000	3	.853667	.0198578	.0114649
	2.0000	3	1.851333	.0282902	.0163333

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA1	Equal variances assumed	.373	.574	-49.995	4	.000	-.997667	.0199555	-1.05307	-.9422613
	Equal variances not assumed			-49.995	3.586	.000	-.997667	.0199555	-1.05569	-.9396441

T-Test ค่าความหืนสัปดาห์ที่ 3

Group Statistics

	RANCIDIT	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA2	1.0000	3	1.129333	.0020817	.0012019
	2.0000	3	1.930667	.0025166	.0014530

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA2	Equal variances assumed	.065	.812	-424.971	4	.000	-.801333	.0018856	-.8065686	-.7960980
	Equal variances not assumed			-424.971	3.864	.000	-.801333	.0018856	-.8066420	-.7960246

T-Test ค่าความหืนสัปดาห์ที่ 5

Group Statistics

	RANCIDIT	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA3	1.0000	3	1.248000	.0020000	.0011547
	2.0000	3	2.149333	.0149778	.0086474

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA3	Equal variances assumed	7.085	.056	-103.315	4	.000	-.901333	.0087242	-.9255555	-.8771112
	Equal variances not assumed			-103.315	2.071	.000	-.901333	.0087242	-.9376590	-.8650077

T-Test ค่าความหืนสัปดาห์ที่ 7

Group Statistics

	RANCIDIT	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA4	1.0000	3	1.304333	.0090738	.0052387
	2.0000	3	1.982667	.0060277	.0034801

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA4	Equal variances assumed	.500	.519	-107.855	4	.000	-.678333	.0062893	-.6957953	-.6608714
	Equal variances not assumed			-107.855	3.477	.000	-.678333	.0062893	-.6968804	-.6597862

T-Test ค่าความหืนสัปดาห์ที่ 9

Group Statistics

	RANCIDIT	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA5	1.0000	3	1.273333	.0066583	.0038442
	2.0000	3	2.539000	.0262298	.0151438

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA5	Equal variances assumed	3.276	.145	-81.008	4	.000	-1.265667	.0156241	-1.30905	-1.22229
	Equal variances not assumed			-81.008	2.257	.000	-1.265667	.0156241	-1.32607	-1.20526

T-Test ค่าความหืนสัปดาห์ที่ 11

Group Statistics

	RANCIDIT	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA6	1.0000	3	1.342333	.0110151	.0063596
	2.0000	3	2.678667	.0326241	.0188355

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA6	Equal variances assumed	5.997	.071	-67.219	4	.000	-1.336333	.0198802	-1.39153	-1.28114
	Equal variances not assumed			-67.219	2.450	.000	-1.336333	.0198802	-1.40844	-1.26422

ง2.5 วิเคราะห์ค่าการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสเมื่อผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษา 11 สัปดาห์โดยวิธี Indipendent – Sample T Test

T-Test ลักษณะปรากฏ

Group Statistics

	APPEAR1	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA1	1.00	20	6.1500	1.08942	.24360
	2.00	20	4.9000	1.48324	.33166

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA1	Equal variances assumed	1.018	.319	3.038	38	.004	1.2500	.41151	.41694	2.08306
	Equal variances not assumed			3.038	34.879	.004	1.2500	.41151	.41448	2.08552

T-Test สี

Group Statistics

	COLOR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA2	1.00	20	6.1000	1.07115	.23952
	2.00	20	4.7000	1.12858	.25236

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA2	Equal variances assumed	.270	.606	4.024	38	.000	1.4000	.34793	.69566	2.10434
	Equal variances not assumed			4.024	37.897	.000	1.4000	.34793	.69560	2.10440

T-Test กลิ่น

Group Statistics

	SMELL	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA3	1.00	20	5.7000	1.59275	.35615
	2.00	20	5.8500	.93330	.20869

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA3	Equal variances assumed	5.503	.024	-.363	38	.718	-.1500	.41279	-.98565	.68565
	Equal variances not assumed			-.363	30.672	.719	-.1500	.41279	-.99225	.69225

T-Test รสชาติ

Group Statistics

	TEST	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA4	1.00	20	6.0500	1.70062	.38027
	2.00	20	6.3000	1.71985	.38457

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA4	Equal variances assumed	.042	.838	-.462	38	.647	-.2500	.54083	-1.34486	.84486
	Equal variances not assumed			-.462	37.995	.647	-.2500	.54083	-1.34486	.84486

T-Test การยอมรับโดยรวม

Group Statistics

	ACCEPT	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DATA5	1.00	20	6.3500	1.53125	.34240
	2.00	20	6.1000	1.07115	.23952

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DATA5	Equal variances assumed	2.122	.153	.598	38	.553	.2500	.41786	-.59591	1.09591
	Equal variances not assumed			.598	34.002	.554	.2500	.41786	-.59919	1.09919

ภาคผนวก จ.

มาตรฐานกุนเชียงกุนเชียงหมู
โดยสำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน
กุนเชียงหมู

๑. ขอบข่าย

๑.๑ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ครอบคลุมเฉพาะกุนเชียงที่ทำจากเนื้อหมู

๒. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ มีดังต่อไปนี้

๒.๑ กุนเชียงหมู หมายถึง ไส้กรอกชนิดหนึ่งทำจากเนื้อหมูและมันหมู ที่นำมาบดหยาบแล้วผสมเครื่องปรุง เช่น น้ำตาล เกลือ และส่วนประกอบอื่นที่เหมาะสม เช่น เครื่องเทศและสมุนไพร ซีอิ๊ว นำไปบรรจุไส้โดยอาจหมักก่อนบรรจุหรือไม่ก็ได้ แล้วทำให้แห้ง

๒.๒ ไส้ หมายถึง ไส้ธรรมชาติ เช่น ไส้หมู ไส้แพะ ไส้แกะ ที่ทำความสะอาดและเก็บรักษาอย่างถูกสุขลักษณะ หรือไส้เทียม เช่น ไส้รีเจเนอเรเตดคอลลาเจน (regenerated collagen)

๓. คุณลักษณะที่ต้องการ

๓.๑ ลักษณะทั่วไป

ในภาชนะบรรจุเดียวกันต้องมีรูปทรงเดียวกัน และมีขนาดใกล้เคียงกัน

๓.๒ ลักษณะเนื้อ

ต้องแน่น คงรูป มีความนุ่มพอเหมาะ เนื้อหมูและมันหมูผสมกันอย่างทั่วถึง ไม่รวมกันเป็นกลุ่มก้อน

๓.๓ สี

ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้และสม่ำเสมอตลอดชิ้น ไม่มีสีผิดปกติ เช่น ซีด เขียวคล้ำ ดำ หรือมีรอยไหม้

๓.๔ กลิ่นและรส

ต้องมีกลิ่นและรสที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้ ปราศจากกลิ่นและรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นหืน เหม็นบูด ชม เปรี้ยว

เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ ๘.๑ แล้ว ต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคนไม่น้อยกว่า ๓ คะแนน และไม่มีลักษณะใดได้ ๑ คะแนน จากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๓.๕ สิ่งแปลกปลอม

ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ดิน กรวด ทราย ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์ เช่น แมลง หนู นก

๓.๖ วัตถุเจือปนอาหาร

หากมีการใช้วัตถุเจือปนอาหาร ให้ใช้ได้ตามชนิดและปริมาณที่กำหนดต่อไปนี้

๓.๖.๑ โซเตียมไนเทรตหรือโพแทสเซียมไนเทรต (คำนวณเป็นโซเดียมไนเทรต) ต้องไม่เกิน ๕๐๐ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือโซเดียมไนไทรต์หรือโพแทสเซียมไนไทรต์ (คำนวณเป็นโซเดียมไนไทรต์) ต้องไม่เกิน ๑๒๕ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

๓.๖.๒ ฟอสเฟตในรูปของโมโน- ไต- และโพลิของเกลือโซเดียมหรือโพแทสเซียม อย่างใดอย่างหนึ่งหรือรวมกัน (คำนวณเป็น P_2O_5 จากฟอสฟอรัสทั้งหมด) ต้องไม่เกิน ๓ ๐๐๐ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

๓.๖.๓ เกลือซอร์เบต ต้องไม่เกินร้อยละ ๐.๐๕ โดยน้ำหนัก

๓.๗ จุลินทรีย์

๓.๗.๑ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน ๑×๑๐^{๕} โคโลนีต่อตัวอย่าง ๑ กรัม

๓.๗.๒ ยีสต์และรา ต้องไม่เกิน ๑๐๐ โคโลนีต่อตัวอย่าง ๑ กรัม

๔. สุขลักษณะ

๔.๑ สุขลักษณะในการทำกุนเชียงหมู ให้เป็นไปตามคำแนะนำตามภาคผนวก ก.

๕. การบรรจุ

๕.๑ ให้บรรจุกุนเชียงหมูในภาชนะบรรจุที่สะอาด แห้ง ผนึกได้เรียบร้อย และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกภายนอกได้

๕.๒ น้ำหนักสุทธิของกุนเชียงหมูในแต่ละภาชนะบรรจุ ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก

๖. เครื่องหมายและฉลาก

๖.๑ ที่ภาชนะบรรจุกุนเชียงหมูทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้ ให้เห็นได้ง่าย ชัดเจน

(๑) ชื่อเรียกผลิตภัณฑ์ เช่น กุนเชียงหมู กุนเชียงหมูสมุนไพร

(๒) ชนิดและปริมาณวัตถุเจือปนอาหาร (ถ้ามี)

(๓) น้ำหนักสุทธิ

(๔) วัน เดือน ปีที่ทำ และวัน เดือน ปีที่หมดอายุ หรือข้อความว่า “ควรบริโภคก่อน (วัน เดือน ปี) ”

(๕) ชื่อผู้ทำ หรือสถานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน

ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๗. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

๗.๑ รุ่น ในที่นี้ หมายถึง กุนเชียงหมูที่มีส่วนประกอบเดียวกัน ทำโดยกรรมวิธีเดียวกัน ในระยะเวลาเดียวกัน

๗.๒ การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้

๗.๒.๑ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบสิ่งแปลกปลอม การบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๓.๕ ข้อ ๕. และข้อ ๖. จึงจะถือว่ากุนเชียงหมูรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๗.๒.๒ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบลักษณะทั่วไป ลักษณะเนื้อ สี และกลิ่นและรส ให้ใช้ตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบตามข้อ ๗.๒.๑ แล้ว จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๓.๑ ถึงข้อ ๓.๔ จึงจะถือว่ากุนเชียงหมูรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๗.๒.๓ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบวัตถุเจือปนอาหารและจุลินทรีย์ ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน ๕ หน่วยภาชนะบรรจุ นำมาทำเป็นตัวอย่างรวม เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๓.๖ และข้อ ๓.๗ จึงจะถือว่ากุนเชียงหมูรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๗.๓ เกณฑ์ตัดสิน

ตัวอย่างกุนเชียงหมูต้องเป็นไปตามข้อ ๗.๒.๑ ข้อ ๗.๒.๒ และข้อ ๗.๒.๓ ทุกข้อ จึงจะถือว่ากุนเชียงหมูรุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้

๘. การทดสอบ

๘.๑ การทดสอบลักษณะทั่วไป ลักษณะเนื้อ สี และกลิ่นและรส

๘.๑.๑ ให้แต่งตั้งคณะผู้ตรวจสอบ ประกอบด้วยผู้ที่มีความชำนาญในการตรวจสอบกุนเชียงหมูอย่างน้อย ๕ คน แต่ละคนจะแยกกันตรวจและให้คะแนนโดยอิสระ

๘.๑.๒ นำตัวอย่างกุนเชียงหมูมาตรวจสอบโดยพิจารณาจากกุนเชียงดิบ และกุนเชียงที่อบให้สุกที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม ตรวจสอบโดยการตรวจพินิจและชิม

๘.๑.๓ หลักเกณฑ์การให้คะแนน ให้เป็นไปตามตารางที่ ๑

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑ หลักเกณฑ์การให้คะแนน

(ข้อ ๘.๑.๓)

ลักษณะที่ตรวจสอบ	เกณฑ์ที่กำหนด	ระดับการตัดสิน (คะแนน)			
		ดีมาก	ดี	พอใช้	ต้องปรับปรุง
ลักษณะทั่วไป	ในภาชนะบรรจุเดียวกันต้องมีรูปทรงเดียวกันและมีขนาดใกล้เคียงกัน	๔	๓	๒	๑
ลักษณะเนื้อ	ต้องแน่น คงรูป มีความนุ่มพอเหมาะ เนื้อหมูและมันหมูผสมกันอย่างทั่วถึง ไม่รวมกันเป็นกลุ่มก้อน	๔	๓	๒	๑
สี	ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้และสม่ำเสมอตลอดชิ้น ไม่มีสีผิดปกติ เช่น ซีด เขียวคล้ำ ดำ หรือมีรอยไหม้	๔	๓	๒	๑
กลิ่นและรส	ต้องมีกลิ่นและรสที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้ ปราศจากกลิ่นและรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นหืน เหม็นบูด ขม เปรี้ยว	๔	๓	๒	๑

๘.๒ การทดสอบสิ่งแปลกปลอม ภาชนะบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก
ให้ตรวจพินิจ

๘.๓ การทดสอบวัตถุเจือปนอาหาร
ให้ใช้วิธีทดสอบตาม AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

๘.๔ การทดสอบจุลินทรีย์
ให้ใช้วิธีทดสอบตาม AOAC หรือ BAM หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

๘.๕ การทดสอบน้ำหนักสุทธิ
ให้ใช้เครื่องชั่งที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.
สุขลักษณะ
(ข้อ ๔.๑)

ก.๑ สถานที่ตั้งและอาคารที่ทำ

ก.๑.๑ สถานที่ตั้งตัวอาคารและที่ใกล้เคียง อยู่ในที่ที่จะไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ทำเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย โดย

ก.๑.๑.๑ สถานที่ตั้งตัวอาคารและบริเวณโดยรอบ สะอาด ไม่มีน้ำขังแฉะและสกปรก

ก.๑.๑.๒ อยู่ห่างจากบริเวณหรือสถานที่ที่มีฝุ่น เขม่า ควัน มากผิดปกติ

ก.๑.๑.๓ ไม่อยู่ใกล้เคียงกับสถานที่น่ารังเกียจ เช่น บริเวณเพาะเลี้ยงสัตว์ แหล่งเก็บหรือกำจัดขยะ

ก.๑.๒ อาคารที่ทำมีขนาดเหมาะสม มีการออกแบบและก่อสร้างในลักษณะที่ง่ายแก่การบำรุงรักษา การทำความสะอาด และสะดวกในการปฏิบัติงาน โดย

ก.๑.๒.๑ พื้น ฝาผนัง และเพดานของอาคารที่ทำ ก่อสร้างด้วยวัสดุที่คงทน เรียบ ทำความสะอาด และซ่อมแซมให้อยู่ในสภาพที่ดีตลอดเวลา

ก.๑.๒.๒ แยกบริเวณที่ทำออกเป็นสัดส่วน ไม่อยู่ใกล้ห้องสุขา ไม่มีสิ่งของที่ไม่ใช้แล้วหรือไม่เกี่ยวข้องกับการทำอยู่ในบริเวณที่ทำ

ก.๑.๒.๓ พื้นที่ปฏิบัติงานไม่แออัด มีแสงสว่างเพียงพอ และมีการระบายอากาศที่เหมาะสม

ก.๒ เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ในการทำ

ก.๒.๑ ภาชนะหรืออุปกรณ์ในการทำที่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์ ทำจากวัสดุมีผิวเรียบ ไม่เป็นสนิม ล้างทำความสะอาดได้ง่าย

ก.๒.๒ เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้ สะอาด เหมาะสมกับการใช้งาน ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อน ติดตั้งได้ง่าย มีปริมาณเพียงพอ รวมทั้งสามารถทำความสะอาดได้ง่ายและทั่วถึง

ก.๓ การควบคุมกระบวนการทำ

ก.๓.๑ วัตถุดิบและส่วนผสมในการทำ สะอาด มีคุณภาพดี มีการล้างหรือทำความสะอาดก่อนนำไปใช้

ก.๓.๒ การทำ การเก็บรักษา การขนย้าย และการขนส่ง ให้มีการป้องกันการปนเปื้อนและการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์

ก.๔ การสุขาภิบาล การบำรุงรักษา และการทำความสะอาด

ก.๔.๑ น้ำที่ใช้ล้างทำความสะอาดเครื่องมือ เครื่องจักร อุปกรณ์ และมือของผู้ทำ เป็นน้ำสะอาดและมีปริมาณเพียงพอ

ก.๔.๒ มีวิธีการป้องกันและกำจัดสัตว์นำเชื้อ แมลงและฝุ่นผง ไม่ให้เข้าในบริเวณที่ทำตามความเหมาะสม

ก.๔.๓ มีการกำจัดขยะ สิ่งสกปรก และน้ำทิ้ง อย่างเหมาะสม เพื่อไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนกลับลงสู่ผลิตภัณฑ์

ก.๔.๔ สารเคมีที่ใช้ล้างทำความสะอาด และใช้กำจัดสัตว์นำเชื้อและแมลง ใช้ในปริมาณที่เหมาะสม และเก็บแยกจากบริเวณที่ทำ เพื่อไม่ให้ปนเปื้อนลงสู่ผลิตภัณฑ์ได้

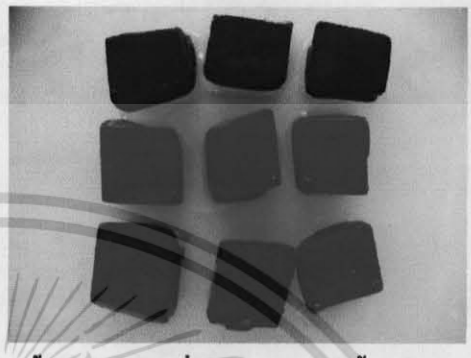
ก.๕ บุคลากรและสุขลักษณะของผู้ทำ

ผู้ทำทุกคน ต้องรักษาความสะอาดส่วนบุคคลให้ดี เช่น สวมเสื้อผ้าที่สะอาด มีผ้าคลุมผมเพื่อป้องกันไม่ให้เส้นผมหล่นลงในผลิตภัณฑ์ ไม่ไว้เล็บยาว ล้างมือให้สะอาดทุกครั้งก่อนปฏิบัติงาน หลังการใช้ห้องสุขา และเมื่อมือสกปรก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช.

การเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 ร่วมกับวุ้นมะพร้าว



ชิ้นวุ้นมะพร้าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090

สูตรควบคุม

สูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05

เปรียบเทียบลักษณะของกุนเชียงระหว่างสูตรควบคุมและสูตรที่ใช้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้