สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

# ศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนมันแข็งและไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง

นางสาวจิราพร จิตต์ปิยะมิตร
นายธีรยุทธ วงษ์จิตรพิมล

ส/ว.
ว533ศ
2550

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....83742
วัน,เดือน,ปี.....15 ก.ย. 2551

b.....11983462
i.....

โครงงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# Studied on Using Nata - *Monascus purpureus* TISTR 3090 Products Replaced on Fat and Nitrite in Chinese sausage

**Jiraporn Jitpiyamit**

**Teerayut Wongchitphimon**

**A Special Project submitted Partial Fulfillment of the Requirement**

**for the Degree of Bachelor of Science**

**Industrial Microbiology Program**

**Department of Applied Biology, Faculty of Science**

**King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang**

**Academic Year 2007**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**โครงงานพิเศษเรื่อง** ศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักวุ้นมะพร้าว
ร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090
ทดแทนมันเข็งและไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง

**นักศึกษา** นางสาว จิราพร จิตต์ปิยะมิตร
นายธีรยุทธ วงษ์จิตรพิมล

**สาขาวิชา** จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

**ภาควิชา** ชีววิทยาประยุกต์

**อาจารย์ที่ปรึกษา** รศ.ดวงใจ โอชัยกุล

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบังอนุมัติให้ทำโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

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

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)
หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **โครงงานพิเศษเรื่อง** | ศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนมันแข็งและไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง |
| **นักศึกษา** | นางสาวจิราพร จิตต์ปิยะมิตร |
| | นายธีรยุทธ วงษ์จิตรพิมล |
| **สาขาวิชา** | จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม |
| **ภาควิชา** | ชีววิทยาประยุกต์ |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | รศ.ดวงใจ โอชัยกุล |


**บทคัดย่อ**

ศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนมันแข็งและไนไตรท์ในกุนเชียง โดยใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 ของน้ำหนักเนื้อหมู เปรียบเทียบกับกุนเชียงสูตรควบคุมที่มีการใช้มันแข็งร้อยละ 25 และไนไตรท์ ร้อยละ 0.1 จากนั้นนำกุนเชียงที่ได้จากสูตรต่าง ๆ นำมาวัดค่าสี ลักษณะเนื้อสัมผัส องค์ประกอบทางเคมี ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส และ ตรวจหา *Clostridium perfringens* ผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงเพิ่มขึ้น ค่าสี L* a* และ b* มีค่าสูงขึ้นตามไปด้วยและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับกุนเชียงสูตรควบคุม ขณะที่ปริมาณไขมันมีปริมาณลดลงและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) กุนเชียงสูตรที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงเพิ่มขึ้นมีค่า $a_w$ ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ รวมทั้งปริมาณความชื้นลดลง และ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับกุนเชียงสูตรควบคุม เมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัสกุนเชียงสูตรที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 – 25 ไม่มีความแตกต่าง เมื่อเปรียบเทียบกับกุนเชียงสูตรควบคุม และเมื่อพิจารณาจากค่าต่าง ๆ พบว่าการใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 สามารถนำมาทดแทนมันแข็งได้ถึงร้อยละ 5 โดยไม่ต้องใช้ผงเพรก


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **Special Project Title** | Studied on Using Nata - *Monascus purpureus* TISTR 3090 Products Replaced on Fat and Nitrite in Chinese Sausage |
| **Name** | Miss Jiraporn Jitpiyamit |
| | Mr. Teerayut Wongchitphimon |
| **Department** | Applied Biology |
| **Program** | Industrial Microbiology |
| **Academic Year** | 2007 |
| **Special Project Advisor** | Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul |


**Abstract**

This project investigates the use of nata cultured with *Monascus purpureus* TISTR 3090 instead of using backfat and nitrite in Chinese sausage products . The Chinese sausage with nata ( 5 , 10 , 15 , 20 and 25 percent of pork weight ) were compared with the controlled Chinese sausage ( 25 percent backfat and 0.1 percent nitrite ) . Then the products of each formular were tested to measure the color level , texture quality , taste quality , Chemical constituents and *Clostridium perfringens* . The results show that when compared with the controlled products the more the nata is used , the higher L* , a* and b* become with the significant difference at ( $p < 0.05$ ) while the fat quantify decreases with the significant difference at ( $p < 0.05$ ) . When compared to the controlled products . The Chinese sausage with more nata are found to have lower $a_w$ , lower water holding capacity and lower moisture with the significant difference at ( $p < 0.05$ ) , the Chinese sausage with 5 – 25 percent have no difference sensory tested , when compare to the controlled products . After considering all of the data , it can be concluded that the nata cultured with *Monascus purpureus* TISTR 3090 can be the substitute of backfat by 5 percent in Chinese sausage products without using nitrite .


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ซึ่งสำเร็จได้ด้วยการสนับสนุนและการช่วยเหลือจากบุคคลผู้มีอุปการคุณหลายท่าน

ขอขอบพระคุณ รศ. ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษา และกรรมการโครงงานพิเศษที่กรุณาเป็นอย่างยิ่งในการให้คำปรึกษาระหว่างการค้นคว้าวิจัยตลอดจนการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ที่สุด

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง และ ผศ. ลินจง สุขลำภู ที่เป็นประธานกรรมการและกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษ ที่ช่วยในการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่าน ที่ให้การเอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมี ต่าง ๆ ทำให้โครงงานพิเศษสามารถสำเร็จได้

สุดท้ายนี้ต้องขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และรุ่นพี่ เพื่อนๆ ทุกท่าน และผู้มีส่วนร่วมในโครงงานพิเศษทุกท่านที่ให้การสนับสนุนและเป็นส่วนหนึ่งในความสำเร็จนี้

นางสาวจิราพร จิตต์ปิยะมิตร

นายธีรยุทธ วงษ์จิตรพิมล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อภาษาไทย | ก |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | ข |
| กิตติกรรมประกาศ | ค |
| สารบัญ | ง |
| สารบัญตาราง | ฉ |
| สารบัญรูป | ช |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| 1.1 ที่มาและความสำคัญ | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ | 3 |
| 1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ | 3 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 3 |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ | 4 |
| 2.1 การผลิตและแปรรูปวุ้นมะพร้าว | 4 |
| 2.2 แบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส | 7 |
| 2.3 กระบวนการสังเคราะห์ เซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* | 8 |
| 2.4 การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียผลิตเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ | 9 |
| 2.5 ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อกระบวนการผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *A.xylinum* | 10 |
| 2.6 ประวัติและความสำคัญของเชื้อราโมแนสคัส | 14 |
| 2.7 การจัดจำแนกเชื้อรา *Monascus* sp. | 15 |
| 2.8 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราโมแนสคัส | 15 |
| 2.9 สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส | 16 |
| 2.10 ความปลอดภัยของสารสีโมแนสคัส | 18 |
| 2.11 การตรวจสอบความเป็นพิษของสารสีโมแนสคัส | 19 |
| 2.12 บทบาทของสารเคมีที่ใช้ในการหมักเนื้อต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์สัตว์ | 19 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ ( ต่อ )

หน้า


บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย 24

3.1 เชื้อจุลินทรีย์และอาหารเลี้ยงเชื้อ 24

3.2 วัตถุดิบ และสารเคมี 24

3.3 อุปกรณ์ 25

3.4 วิธีการทดลอง 27

3.5 การวิเคราะห์สถิติ 31

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปราย 33

4.1 การใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ในการตกแต่งและทดแทนปริมาณมันแข็งและไนไตรท์ ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง 33

4.1.1 การวัดค่าสีของกุนเชียง 33

4.1.2 Water Activity ( $a_w$ ) 34

4.1.3 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส ( Texture Analysis ) ของกุนเชียง 35

4.1.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกุนเชียง 38

4.1.5 การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส 41

4.1.6 การตรวจหาเชื้อ *Clostridium perfringens* 44

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ 45

เอกสารอ้างอิง 47

ภาคผนวก 50


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง


| ตารางที่ | หน้า |
|---|---|
| 2.1 ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบของวุ้นมะพร้าว | 7 |
| 2.2 ผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ ในการสังเคราะห์เซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* | 11 |
| 3.1 แสดงสูตรควบคุมของกุนเชียง | 29 |
| 4.1 ผลการวัดสีและค่า $a_w$ ของกุนเชียงที่มีการทดแทนมันแข็งและไนไตรท์โดยใช้วุ้นมะพร้าวที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ในปริมาณที่แตกต่างกัน | 35 |
| 4.2 ผลการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของกุนเชียงที่มีการทดแทนมันแข็งและไนไตรท์โดยใช้วุ้นมะพร้าวที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ในปริมาณที่แตกต่างกัน | 38 |
| 4.3 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบในผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่มีการทดแทนมันแข็งและไนไตรท์โดยใช้วุ้นมะพร้าวที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ในปริมาณที่แตกต่างกัน | 41 |
| 4.4 ผลการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่มีการทดแทนมันแข็งและไนไตรท์โดยใช้วุ้นมะพร้าวที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ในปริมาณที่แตกต่างกัน | 43 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป


| รูปที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 2.1 | ลักษณะเชื้อ *A. xylinum* จากกล้องจุลทรรศน์ (Gram stain) | 5 |
| 2.2 | ลักษณะเชื้อ *A. xylinum* จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด | 5 |
| 2.3 | ลักษณะของวุ้นมะพร้าวที่เชื้อ *A. xylinum* ผลิตได้ | 6 |
| 2.4 | Pathway การสังเคราะห์เส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรีย | 9 |
| 2.5 | ลักษณะของเชื้อราโมแนสคัส | 15 |
| 2.6 | ลักษณะของข้าวแดง | 16 |
| 2.7 | โครงสร้างเคมีของรงควัตถุที่แยกจาก *Monascus* spp. | 18 |
| 2.8 | แสดงสีของผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้ไนเตรทและไนไตรท์ | 22 |
| 3.1 | แสดงขั้นตอนการผลิตกุนเชียง | 32 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

# บทนำ

## 1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

โรคหัวใจและหลอดเลือด ( Cardiorvascular disease , CVD ) และโรคหลอดเลือดหัวใจ ( Coronary heart disease , CHD ) เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการตายของคนในวัยเจริญเติบโต เนื่องจากโรคเหล่านี้มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณและชนิดของไขมันที่บริโภค รวมทั้งมีผลต่อความรุนแรงของการเกิดโรคเหล่านี้ ในปัจจุบันผู้บริโภคนิยมหันมารับประทานอาหารที่มีไขมันต่ำ และให้พลังงานต่ำ อย่างไรก็ตามไขมันยังเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารประเภทเนื้อสัตว์ เนื่องจากเป็นตัวที่ทำให้เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสและกลิ่นรสที่ดี

กุนเชียงเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อสัตว์ชนิดหนึ่งซึ่งเป็นที่นิยมบริโภคของคนชาวเอเชีย ( Wang ,1995 ) อย่างไรก็ตามกุนเชียงมีไขมันอยู่ในปริมาณสูง ( ร้อยละ 20 – 30 ) มีการศึกษามากมายที่จะลดปริมาณไขมันในกุนเชียงลง โดยใช้วัตถุดิบชนิดอื่นมาทดแทนไขมัน เช่น การใช้โซเดียมอัลจิเนตและคาราจีแนน ( Lee, 1995 ) หัวบุก คาราจีแนน และวุ้น ( Chung , 1999 ) ไคโตซาน ( Lin และ Chao , 2001 ) โปรตีนเวย์ โซเดียมเคซีเนส ไข่ขาว ( Hsu และ Sun , 2006 ) ดังนั้นการหาวัตถุดิบมาทดแทนไขมันและทำให้ผลิตภัณฑ์มีการยอมรับจากผู้บริโภคเป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องพัฒนาต่อไป

วุ้นมะพร้าว ( Nata de coco ) เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียได้จากการหมักน้ำมะพร้าวด้วยเชื้อ *Acetobacter xylinum* ซึ่งจะสร้างแผ่นฟิล์มสีขาวหรือแผ่นวุ้นบนส่วนผิวหน้าของน้ำมะพร้าว สามารถนำไปประกอบอาหารคาวและหวานได้หลายชนิด

วุ้นมะพร้าวเป็นอาหารที่ให้พลังงานต่ำและมีปริมาณใยอาหารสูง ลักษณะเป็น micro-fibril cellulose ( Masaoka และคณะ, 1993) เส้นใยประเภทนี้จะช่วยเพิ่มปริมาณอุจจาระทำให้ขับถ่ายดีขึ้นเป็นผลดีต่อผู้มีปัญหาทางเดินอาหารไม่ปกติ ( Kie และคณะ, 1984 .; Anderson และคณะ ,1994 ) จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่ามีปริมาณน้ำร้อยละ 94.6 โปรตีนร้อยละ 0.84 ไขมันต่ำร้อยละ 0.0 และปริมาณเยื่อใย ( fiber ) ร้อยละ 1.15 (สมคิด , 2531) จึงเหมาะที่จะนำมาผลิตเป็นอาหารเพื่อสุขภาพชนิดที่ให้ปริมาณใยอาหารสูง การหมักวุ้นมะพร้าวได้มีการศึกษากันมาก ( Cannon และคณะ , 1991 .; Berizon และคณะ, 1992 .; Okiyama และคณะ, 1992 .;

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Embuscado และคณะ , 1994 ) อย่างไรก็ตามมีการศึกษากันเพียงเล็กน้อยเกี่ยวกับสีของวุ้นมะพร้าว ซึ่งได้มีการศึกษาและปรับปรุงสีของวุ้นมะพร้าวให้ดีขึ้นได้ จะทำให้สามารถนำวุ้นมะพร้าวมาประยุกต์ใช้ในการผลิตอาหารได้หลายอย่าง. เชื้อรา *Monascus* sp จัดอยู่ใน Class Ascomycetes เจริญได้ดีบนอาหารแข็งในรูปของข้าวแดง ( อั่งคัก ) เพื่อใช้ปรุงแต่งสีในไวน์ เต้าหู้ยี้ ใช้ถนอมอาหารประเภทเนื้อ ใช้รักษาโรค รวมทั้งใช้เป็นสีผสมในอาหาร ยาและเครื่องสำอาง เชื้อราชนิดนี้นอกจากสร้างสารสีแล้ว ยังสร้างสารอื่นที่เป็นประโยชน์อีกหลายชนิด เช่น monascilin A เอนไซม์ สารโมนาโคลินที่ใช้ยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล สารลดความดันโลหิต และสารช่วยในการตกตะกอน ( flocculants ) ( Fink - Germmels และ Leistnen , 1991 ) *Monascus purpureus* เป็นเชื้อราที่รู้จักกันดี โดยมีการใช้เป็นสารที่ให้สีและกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มมานานแล้ว ( Johns และ Stuart, 1991.; Su, 1978 .; Wong และคณะ , 1981 .; Lin และ Demain , 1991 .; Chen และ Johns, 1993 ) สารสีที่ได้จากเชื้อชนิดนี้จะมีความคงตัวและเหมาะสมที่จะนำมาเติมในผลิตภัณฑ์อาหาร ( Fink - Germmels และคณะ, 1991.; Fabre และคณะ, 1993.; Juzlova และคณะ, 1996) สารสีธรรมชาติจากเชื้อรา *Monascus* ถูกนำมาใช้เป็นสีผสมอาหารแทนสีสังเคราะห์ที่ผลิตโดยวิธีทางเคมี เพราะมีราคาถูก ความปลอดภัยสูง อีกทั้งยังไม่พบว่าเป็นสารก่อมะเร็งเหมือนสีผสมอาหารประเภทสีสังเคราะห์ที่มีองค์ประกอบพวก cocal tar dyes จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสีที่ได้จากเชื้อรา *Monascus* พบว่าสารสีไม่มีพิษต่อการฟักตัวของไข่ไก่ และไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซมของเม็ดเลือดขาว ไม่พบความผิดปกติใดๆ ในหนูทดลอง ( นุษบา และคณะ , 2531 .; Kaio และคณะ, 1978 )

โครงงานพิเศษนี้จึงได้นำวุ้นมะพร้าวมาเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 และนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus* มาใช้ทดแทนมันแข็งบางส่วนรวมทั้งปรับปรุงแต่งสีในผลิตภัณฑ์กุนเชียง ซึ่งการผลิตกุนเชียงโดยทั่วไปมีการใช้สารไนไตรท์เป็นสารเจือปน เพื่อทำให้กุนเชียงมีสีแดงเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค แต่ปริมาณสารไตรท์ที่ตกค้างจะเป็นสารตั้งต้นในการเกิดสารไนโตรซามีน ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งทำให้เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ประกอบกับในปัจจุบันผู้บริโภคได้ให้ความสำคัญกับการลดปริมาณไขมันและความปลอดภัยจากสารเคมีมากขึ้น ดังนั้นการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Monascus* จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์จากผลิตภัณฑ์ชนิดนี้และได้ผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่มีปริมาณไขมันลดลงมีความปลอดภัยจากสารเคมีมากขึ้น

**1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ**

1. ศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนมันแข็งและไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง

2. วิเคราะห์องค์ประกอบของผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่ได้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ในข้อ 1 เช่น การวัดสี ค่าความชื้น ค่า $a_w$ การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณเถ้า ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ รวมทั้งการทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อดูการยอมรับของผู้บริโภค

**1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ**

ศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนมันแข็งและไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง โดยแปรผันความเข้มข้นต่างๆ ของวุ้นมะพร้าวที่มีสีแดง จากนั้นวิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ของกุนเชียงที่ได้รวมทั้งทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์กุนเชียง.

**1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

สามารถผลิตกุนชียงโดยลดปริมาณมันแข็งและสารไนไตรท์ในสูตรของการทำกุนเชียงลง และใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทน ซึ่งจะได้กุนเชียงที่มีความปลอดภัยในการบริโภคมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# ทฤษฎีและหลักการ

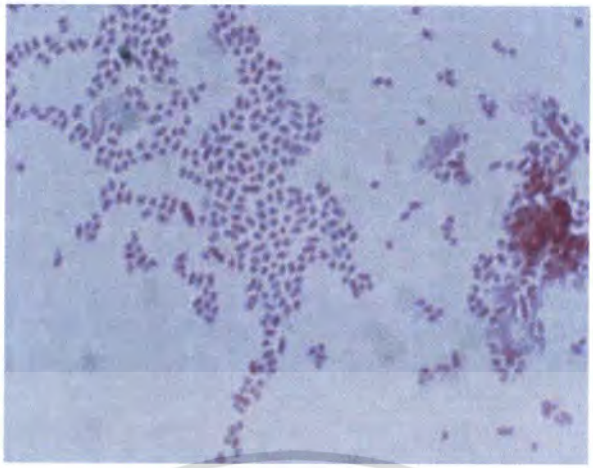
## 2.1 การผลิตและแปรรูปวุ้นมะพร้าว

วุ้นมะพร้าวมีชื่อเป็นภาษาอังกฤษว่า Bacterial cellulose เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักอาหารเหลว ไม่ว่าจะเป็นน้ำผัก น้ำผลไม้ หรืออาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา โดยใช้เชื้อแบคทีเรียชื่อ *Acetobacter xylinum* โดยหากหมักด้วยน้ำมะพร้าวทางประเทศฟิลิปปินส์จะเรียกว่า Nata de Coco ( Montenegro , 1985 ) ซึ่งมีชื่อเรียกหลายอย่าง เช่น วุ้นน้ำมะพร้าว วุ้นสวรรค์ ลูกมะพร้าว เนื้อวุ้นที่ผลิตได้จะมีลักษณะเป็นเนื้อเหนียวคล้ายวุ้นสีขาว สีครีม ทึบแสง คล้ายวุ้นที่ใช้ทำขนมแต่เหนียวกว่า ต้มที่ 100 องศาเซลเซียส ก็ไม่ละลายน้ำ มีองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพต่างกัน โดยความหนา สี กลิ่น และเนื้อสัมผัสเปลี่ยนไปตามวัตถุดิบที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ (สมคิด, 2531 ) การผลิตวุ้นสวรรค์ในประเทศไทยนิยมใช้น้ำมะพร้าวแก่ ซึ่งเป็นวัตถุเหลือใช้เป็นวัตถุดิบ (สมศรี , 2531 ) แผ่นวุ้นที่ได้จากการหมักสามารถนำมาแปรรูปเป็นอาหารได้หลายชนิด นอกจากการเชื่อมวุ้นในน้ำเชื่อมผสมกับผลไม้ หรือรับประทานกับไอศกรีมและอาหารหวานชนิดต่างๆ แล้ว ยังสามารถนำไปประกอบเป็นอาหารคาวชนิดต่างๆ โดยใช้เป็นอาหารมังสวิรัติ แทนเนื้อปลาหมึกหรือแมงกะพรุน ( สมคิด , 2531 ) และอาหารหวาน ได้แก่ วุ้นในน้ำเชื่อม วุ้นกรอบ เยลลี่ แยมวุ้นสวรรค์ อีกทั้งหลังการหมักจะได้น้ำส้มสายชูเป็นผลพลอยได้ด้วย

วุ้นมะพร้าวจัดเป็นแผ่นวุ้นชนิดเซลลูโลสเจล (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* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่นิยมนำมาใช้ผลิตวุ้นมะพร้าว จัดอยู่ในสกุล *Acetobacter* spp. เรียกกันทั่วไปว่า Acetic acid bacteria หรือแบคทีเรียน้ำส้มสายชูเป็นเชื้อที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโตเคลื่อนที่โดยแฟลกเจลลารอบๆเซลล์หรืออาจไม่เคลื่อนที่ โคโลนีที่ขึ้นอยู่บนอาหารวุ้นมีลักษณะกลมนูน ทึบแสงสีน้ำตาลอ่อนผิวเรียบมัน มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 2 มิลลิเมตร สามารถผลิตวุ้นเซลลูโลสได้ที่ผิวหน้าของอาหารเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะเชื้อ *A. xylinum* จากกล้องจุลทรรศน์ (Gram stain)**

ที่มา : http://www.botany.utexas.edu/facstaff/facpages/mbrown/movies/af9.jpg

**รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะเชื้อ *A. xylinum* จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด**

ที่มา : http://www.botany.utexas.edu/facstaff/facpages/mbrown/movies/af10.jpg

**2.1.1 ลักษณะเฉพาะของวุ้นสวรรค์ที่ได้จาก *Acetobacter xylinum***

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

2. จากการที่เส้นใยมีขนาดเล็กมาก ดังนั้นจึงทำปฏิกิริยากับสารเคมีต่าง ๆ ได้ดี

3. เส้นใยไม่มีเฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเพกตินเจือปน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 Fiber ที่พบในผัก ผลไม้ ใยอาหารจัดเป็นสารอาหารชนิดหนึ่งที่มีคุณประโยชน์ค่อนข้างสูงทางโภชนาการและสุขภาพผลการศึกษาทางระบาดวิทยาและการวิจัยของนักวิชาการด้านการแพทย์และโภชนาการ พบว่าใยอาหารมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับอุบัติการณ์ของโรคที่เกิดจากการรับประทานอาหารด้อยคุณภาพมีสารอาหารอย่างใดอย่างหนึ่งมากเกินไป ทำให้เกิดโรคอ้วน ซึ่งเป็นต้นเหตุของโรคอื่นๆอีกมากมาย เช่น โรคเส้นเลือดตีบตัน คอเลสเตอรอลและน้ำตาลในเลือดสูงฯลฯ การบริโภคอาหารที่มีปริมาณและคุณภาพเหมาะสมกับสภาวะร่างกายจะช่วยลดโอกาสในการเกิดโรคเหล่านี้ได้รวมทั้งโรคที่เกี่ยวกับระบบย่อยอาหารและการขับถ่าย นอกจากนี้ใยอาหารยังใช้เป็นสารควบคุมน้ำหนักตัวได้ดีเนื่องจาก ทำให้ผู้บริโภครู้สึกอิ่มแต่ไม่ให้พลังงาน ( วิภาและคณะ , 2542 )

**รูปที่ 2.3 ลักษณะของวุ้นมะพร้าวที่เชื้อ *A. xylinum* ผลิตได้**

ที่มา : www.ifr.ac.uk/SPM/SPMImages/acetan34.gif

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.2 ส่วนประกอบและคุณค่าทางอาหารของวุ้นมะพร้าว

วุ้นมะพร้าวนอกจากผลิตง่าย ต้นทุนการผลิตต่ำ ยังมีคุณค่าทางอาหารคือ มีแร่ธาตุ และวิตามินต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

**ตารางที่ 2.1 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)

## 2.2 แบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส

โพลีแซคคาไรด์ที่สังเคราะห์ขึ้นโดยแบคทีเรียแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ โฮโมโพลีแซคคาไรด์และเฮเทอโรโพลีแซคคาไรด์ สายพันธุ์แบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ที่สามารถผลิตสารโพลีแซคคาไรด์ เช่น *Corynebacterium* sp., *Arthobacter vicosus* NRRL B-1797, *Alcaligenes faecalis var myxogenes* 10C3, *Pseudomonas solanacearum*, *Erwinia stewatii*, *Escherichia coli*, *Erwinia amylovora*, *Acinetobacter vinelandii* strain D-0.5, *Acinetobacter* sp. strain 12, *Leuconostoc mesenteroides*, *L. dextranicum*, *Xanthomonas campestris* และสายพันธุ์ *Acetobacter* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

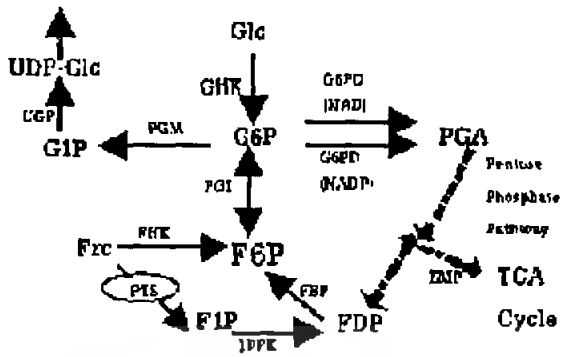
เชื้อแบคทีเรียที่ได้รับความสนใจในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสในระดับอุตสาหกรรม ได้แก่เชื้อ *Acetobacter* sp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ หรือ Gram variable จัดอยู่ในแฟมิลี่ Acetobacteraceae สายพันธุ์ที่สำคัญและใช้ในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสกันอย่างกว้างขวาง คือ *A. xylinum, A. pasteurianus, A.hansenii, A.sucrofermantans* 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 (clop shape) 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 ไม่สร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ($H_2S$) สามารถออกซิไดส์เอทานอลเป็นกรดอะซิติก และออกซิไดส์ กรดอินทรีย์ประเภทอะซิเตท และแลคเตทเป็นน้ำ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญเป็นสารประเภทเอทานอล กลีเซอรอล แลคเตท กลูโคส ซูโครส ฟรุคโตส แลคโตส และอะราบิโนส สามารถสร้างกรดจากเอทานอล และยังสามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารที่มีเอทานอล และโพรพานอล อุณหภูมิที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 65-70 องศาเซลเซียล

## 2.3 กระบวนการสังเคราะห์ เซลลูโลส ของเชื้อ *Acetobacter xylinum*

มีกระบวนการสังเคราะห์ Bacterial cellulose หรือที่เรียกว่า BC โดยกระบวนการสังเคราะห์จะเกิดขึ้นในเซลล์ของแบคทีเรีย โดยอาศัยกระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลกลูโคส ผ่านทาง pentose phosphate pathway โดยที่ cellulose pathway จะแยกออกที่ glucose-6-phosphate (G6P) เพื่อสังเคราะห์ UDP-glucose จาก glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) เส้นใยเหล่านี้จะถูกขับออกมาทางรูของ cell membrane จนเกิดเป็นเส้นใยแผ่นวุ้นบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อเส้นใยที่ได้มีลักษณะเป็นเยื่อเหนียว มีสีขาว สีครีม ทึบแสง เซลลูโลสไม่ละลายที่อุณหภูมิ100 องศาเซลเซียส ดังแสดงในรูปที่ 2.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 2.4 Pathway การสังเคราะห์เส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรีย**

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

## 2.4 การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ในการผลิตเซลลูโลสนั้นพบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ การเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีการให้อากาศและมีการเขย่าจะให้ผลดีที่สุด สำหรับการสร้างเซลลูโลส จะเกิดขึ้นในเซลล์ของแบคทีเรียและเส้นใยเหล่านี้จะถูกขับออกมาทางรูของเซลล์เมมเบรน โดยในการเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter* นี้ใช้น้ำตาลฟรุคโตสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 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 ก็มีผลต่อการสร้างเซลลูโลสด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.5 ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อกระบวนการผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *A.xylinum*

ลักษณะการผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *A. xylinum* เป็นแบบ Growth associated มีลักษณะสำคัญคือการเจริญเติบโต (trophophase) แบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลสจะมีการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นจำนวนมาก และมีการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสออกมาน้อย แต่ในช่วงผลิตผลิตภัณฑ์ (idiophase) จะมีการเจริญของเซลล์เพียงเล็กน้อยแต่มีการผลิตเซลลูโลสสูงสุด

### 2.5.1 แหล่งคาร์บอน

สำหรับผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ ในการสังเคราะห์เซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* แบ่งออกได้ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียจะมีความสัมพันธ์กับการใช้สารอาหารน้ำตาลกลูโคส ผลผลิตของแบคทีเรียเซลลูโลสจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารอาหารน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น เนื่องจากน้ำตาลกลูโคสถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดกลูโคนิก และกรดดีโตกลูโคนิก แหล่งคาร์บอนจะมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter* sp. โดยเป็นแหล่งพลังงานแก่เซลล์และเป็นองค์ประกอบหลักของแบคทีเรียเซลลูโลส เช่น ซูโครส มอลโทส และแมนโนส เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียผลิตเซลลูโลสบางสายพันธุ์มีความสามารถในการใช้สารในกลุ่มแอลกอฮอล์ เช่น กลีเซอรอล ไกลคอล เอทานอล และโพรพานอล เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อเป็นแหล่งให้พลังงาน (Yoshinaga และคณะ, 1997) แหล่งคาร์บอนที่ต่างกันจะมีผลต่อกิจกรรมของ phosphocose isomerase และในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำตาลฟรุกโตส พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ UDPG pyrophosphorylase สูงขึ้น ซึ่งมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 2.2 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 |
| 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)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.5.2 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 เมื่อถูกเมตาบอไลท์จะทำให้เกิดสภาวะที่เป็นด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ สารไนโตรเจนอินทรีย์ที่สำคัญประกอบด้วย เปปโตน สารสกัดจากยีสต์ และเคซีน

ธาตุอาหารอื่นๆมีความจำเป็นเกี่ยวกับอัตราการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสภายนอกเซลล์ เช่น แหล่งไนโตรเจน แคลเซียม และฟอสเฟต เป็นต้น อย่างไรก็ตามชนิดและปริมาณของธาตุอาหารเหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการและสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส รวมถึงสภาวะการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส เช่น พีเอช อุณหภูมิ และการให้อากาศ แหล่งไนโตรเจน เป็นสารอาหารที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แต่ถ้ามีปริมาณสูงจะลดประสิทธิภาพการเปลี่ยนสารคาร์โบไฮเดรตเป็นเซลลูโลส สำหรับโปแตสเซียมและโซเดียมไนเตรทแบคทีเรียไม่สามารถใช้ได้ และยังเป็นพิษต่อเชื้ออีกด้วย (Lapuz และคณะ, 1967)

**2.5.3 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.5.4 อัตราการให้อากาศ**

Krusong และ Yoshida (1995) พบว่าปริมาณการให้อากาศและปริมาณออกซิเจนมีผลต่อการสังเคราะห์เซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* โดยมีผลกับปริมาณพลังงานที่สร้างขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ ในกรณีของแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* และ *Acetobacter aerogenes* ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะไม่มีอากาศ พบว่ามีการสังเคราะห์เซลลูโลสในปริมาณที่ต่ำกว่าในสภาพที่มีอากาศ โดยการสังเคราะห์จะต่ำกว่าร้อยละ 25-40 กรณีของเชื้อ *A. xylinum* พบว่าในสภาพที่ไม่มีอากาศจะไม่สามารถสังเคราะห์เซลลูโลสได้เลย การสังเคราะห์จะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อปริมาณก๊าซออกซิเจนมีเพียงพอต่อความต้องการของเซลล์เท่านั้น

Gusman และคณะ (1982) รายงานว่าปริมาณอากาศมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสโดยได้ศึกษาการผลิตของเชื้อ *A.xylinum* ในการศึกษาใช้กระบวนการหมัก 2 แบบ คือ แบบอยู่กับที่ให้เกิดเซลลูโลสขึ้นเองที่ผิวหน้าของอาหารเหลว เปรียบเทียบกับการหมักที่มีการให้อากาศและมีการกวนตลอดเวลา (submerged culture) ในถังหมักขนาด 1ลิตร 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 เป็นตัวจำกัดปริมาณก๊าซออกซิเจนที่มีอยู่ด้วยชนิดของใบกวนในถังหมักแบบ Maxblen และ Gate with turbine จะช่วยเพิ่มการส่งผ่านก๊าซออกซิเจนได้สูงขึ้น ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การส่งผ่านของมวล (volumetric mass transfer coeffcient, $K_La$) มีค่าสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากใบกวนจะช่วยเพิ่มฟองอากาศในอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และช่วยเพิ่มผิวสัมผัสระหว่างฟองอากาศกับอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ค่า $K_La$ สูงขึ้น และนอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่ม partial pressure ของก๊าซออกซิเจนในถังหมัก แบคทีเรียสามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงขึ้น และลดพลังงานในการกวน

**2.5.5 ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ**

Ohara และคณะ (1992) ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ และการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ในกระบวนการหมักแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส ส่วนใหญ่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงค่าพีเอช 4.0-5.0 และค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ในการย่อยสลายสารอาหาร รวมถึงการยอมให้สารอาหารผ่านผนังเซลล์ได้

การศึกษาผลของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* พบว่าค่าพีเอช 4.0-5.0 เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการผลิตเซลลูโลสที่มีค่าพีเอช 3.0 การเจริญเติบโตของเชื้อจะลดลงและที่ค่าพีเอชมากกว่า 8.0 เชื้อไม่สามารถเจริญเติบโตได้ การเติมกรดอะซิติกในอาหารเลี้ยงเชื้อร้อยละ 1-10 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* มีผลโดยตรงต่อเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์โปรโตพลาสซึม และการแบ่งเซลล์ของเชื้อ *A. xylinum* และเชื้อจุลินทรีย์ยังสามารถนำกรดอะซิติกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้อีกด้วย

Alban (1962) ได้ศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยหนึ่งที่ต้องการควบคุมก่อนการหมักเพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter* sp. และยังช่วยป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ที่ไม่สามารถทนต่อความเป็นกรดได้

## 2.6 ประวัติและความสำคัญของเชื้อราโมแนสคัส

*Monascus purpureus* เป็นเชื้อราแบ่งเป็น 4 กลุ่ม โดยอาศัยลักษณะทางสรีรวิทยาและความสามารถในการสร้างเอนไซม์ ได้แก่ *M. pilosus, M. purpureus, M. rubber* และ *M. floridanas* และสามารถเจริญได้ดีในอาหารแข็งเพื่อใช้ถนอมอาหารประเภทเนื้อ ใช้รักษาโรค รวมทั้งใช้เป็นสีผสมอาหาร ยาและเครื่องสำอางต่อมาได้ผลิตเป็นการค้าในประเทศญี่ปุ่น ได้หวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และจีน ในปี 1973 ได้เริ่มมีการทดลองเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว โดย Lin ได้แยกเชื้อราจากข้าวแดง และพบว่าเชื้อราเหล่านี้สร้างสารสีในอาหารเหลวได้ดีเช่นกัน

## 2.7 การจัดจำแนกเชื้อรา *Monascus* sp.

เชื้อราโมแนสคัสสามารถจัดจำแนกได้ดังนี้

| | |
|---|---|
| Class | Ascomycetes |
| Subclass | Plectomycetidae |
| Order | Eurotiales |
| Genus | Monascus |

## 2.8 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราโมแนสคัส

เชื้อราโมแนสคัส (*Monascus* spp.) เคยจัดอยู่ในวงศ์ Aspergillaceae อันดับ Plectascales แต่ปัจจุบันจัดอยู่ในวงศ์ Monascusceae กลุ่ม Ascomycetes กลุ่มย่อย Plectomycetidae อันดับ Eurotiales (Hawksworth และคณะ, 1995) เส้นใยมีผนังกั้น มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ เส้นใยมีการแตกกิ่งก้านสาขามากมายและมักเจริญแบบชิดเกาะแน่นบนผิวของอาหารแข็ง เส้นใยอายุอ่อนมีสีขาวแต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีแดงม่วงดังรูปที่ 2.5

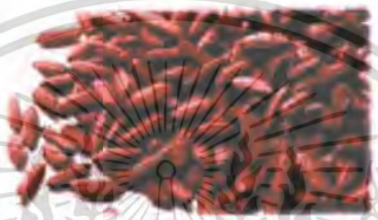
**รูปที่ 2.5 ลักษณะของเชื้อราโมแนสคัส**

ที่มา : www.vscht.cz/kch/galerie/obrazky/houby/skrob-7.gif

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.9 สารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

สีมีความสำคัญสำหรับกระบวนการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรม สีของอาหารแสดงลักษณะปรากฏของอาหาร สีผสมอาหารอาจได้มาจากธรรมชาติหรือถูกสังเคราะห์ขึ้น การใช้สีสังเคราะห์อาจก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenicity) และเกิดมะเร็ง (carcinogenicity) สีจากธรรมชาติโดยทั่วไปได้มาจากพืชหรือผลิตภัณฑ์จากพืช หรือจากจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ จึงได้มีการพัฒนาสีผสมอาหารจากธรรมชาติเพิ่มมากขึ้น (Sabater-Vilar M.; Roel F.M. และ Fink-Gremmels J. 1999)



**รูปที่ 2.6** ลักษณะของข้าวแดง

ที่มา : www.ist.cmu.ac.th/riseat/images/newsheadbg.gif

โมแนสคัสเป็นเชื้อราที่สร้างรงควัตถุหลายชนิดตั้งแต่สีเหลืองถึงสีแดง ชาวเอเชียตะวันออกรู้จักใช้ในการผสมอาหารมานานนับหลายร้อยปี โดยเชื่อว่ามีแหล่งกำเนิดมาจากประเทศจีนซึ่งผลิตในรูปข้าวแดงเรียกว่าอังคัก (Ankak) ใช้ผสมในไวน์ข้าว เต้าหู้ยี้ ผลิตภัณฑ์เนื้อและปลา และยังมีสรรพคุณเป็นยาลดคอเลสเตอรอล จากสารโมนาโคลิน เค (monakolin K) นอกจากนี้มีการใช้ข้าวแดงแพร่หลายในประเทศญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย และไทย

มีงานวิจัยของ Babitha และคณะ (2006) ได้ศึกษาการนำเมล็ดขนุนผงมาใช้เป็นสับสเตรทสำหรับผลิตสารสีโดยเชื้อ *Monascus purpureus* เพาะเลี้ยงเชื้อราในฟลาส์กขนาด 250 มล. ใช้สับสเตรท 5 กรัม ( เมล็ดขนุนผง ) เพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสม คือ ความชื้นเริ่มต้น 50 เปอร์เซ็นต์ ใช้หัวเชื้อสปอร์เริ่มต้น $9\times10^{4}$ สปอร์/กรัม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำการสกัดสารสีที่ได้ด้วยสารละลายเมทานอล 90 % ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวางบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ 15 นาทีจากนั้นทำการกรองด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 1 นำส่วนใสที่กรองได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง double beam spectrophotometer ( Shimadzu UV 1601 ) เพื่อวิเคราะห์สารสีที่ราผลิตได้ซึ่งผลผลิตของสีที่ราผลิตได้เท่ากับ 25 หน่วย/กรัมน้ำหนักแห้ง สีที่ได้มีความคงตัวในช่วงพีเอชที่กว้างเป็นบัฟเฟอร์ตามธรรมชาติเป็นส่วนสำคัญที่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง


เชื้อรา *Monascus* spp. ผลิตสารสีชนิดต่างๆ ดังนี้

1. โมนาสโคฟลาวิน ( monascoflavin ) แยกได้เป็นครั้งแรกพร้อมกับสารโมนาสโครูบรินจากเชื้อรา *M. purpureus Wentii* เป็นสารสีในกลุ่มสีเหลือง สูตรโมเลกุลคือ $C_{21}H_{26}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 358 ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปีดังนี้ $\lambda^{MeOH}_{max}$ 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 $\lambda^{dioxan}_{max}$ 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

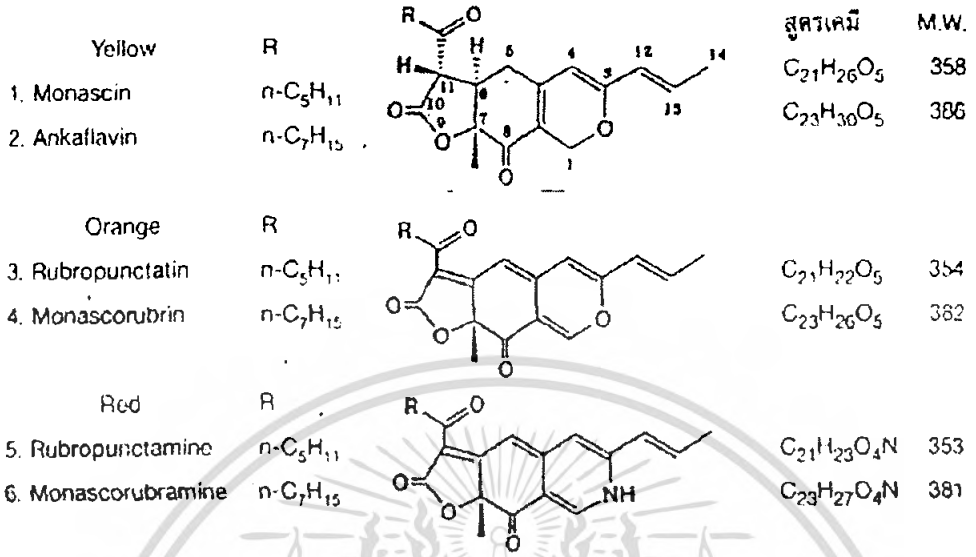
4. โมนาสโครูบิน ( monascorubin ) เป็นสารสีในกลุ่มสีส้ม สูตรโมเลกุลคือ $C_{23}H_{26}O_5$ และน้ำหนักโมเลกุล 382 ซึ่งมีคุณสมบัติทางสเปคโตรสโคปีดังนี้ $\lambda^{BtOH}_{max}$ 253 302 352 mμ มีจุดหลอมเหลว 134-136 องศาเซลเซียส

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 ดังรูปที่ 2.7

83742

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 2.7 โครงสร้างเคมีของรงควัตถุที่แยกจาก *Monascus* spp.**

ที่มา : บุษบา (2542)

โดยสารสีเหล่านี้เป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolite)เรียกว่า azaphilones ( Babitha และคณะ , 2006 ) ซึ่งเชื้อราจะสร้างขึ้นพร้อม ๆกับการเจริญหรือสร้างหลังจากการเจริญหยุดลงแล้ว

## 2.10 ความปลอดภัยของสารสีโมแนสคัส

บุษบา และ วรรณภา (2528) ศึกษาความปลอดภัยของสารสีของเชื้อราโมแนสคัสโดยวิเคราะห์หาโลหะหนัก เช่น โครเมียม ตะกั่ว สารหนู ในน้ำสี พบว่าไม่มีโลหะหนักทั้ง 3 ชนิดปะปนอยู่ในน้ำสีเลย

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.11 การตรวจสอบความเป็นพิษของสารสีโมแนสคัส

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

บุษบา และคณะ (2531) ศึกษาความปลอดภัยของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส โดยนำน้ำสีไปฉีดทดสอบความเป็นพิษในไข่ไก่ฟัก เปรียบเทียบกับการฉีดด้วยน้ำกลั่นตามวิธีของ AOAC พบว่าไข่ไก่ฟักที่ผ่านการฉีดด้วยน้ำสีแดงหรือสีเหลืองมีอัตราการรอดเท่ากับไข่ไก่ฟักควบคุมที่ฉีดด้วยน้ำกลั่น

## 2.12 บทบาทของสารเคมีที่ใช้ในการหมักเนื้อต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์สัตว์

### 2.12.1 ไนไตรท์ (Nitrite) และ/หรือ ไนเตรท (Nitrate)

ส่วนใหญ่นิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียมไนไตรท์ หรือโปตัสเซียมไนไตรท์ และเกลือโซเดียมไนเตรท หรือโปตัสเซียมไนเตรท

### 2.12.2 แหล่งที่พบ

1. แหล่งธรรมชาติสังเคราะห์

ไนเตรทในดิน น้ำผิวดินและน้ำใต้ดินเกิดขึ้นเนื่องจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ แอมโมเนียมอิออนจะถูกออกซิไดซ์เป็นไนไตรท์และไนเตรท จึงเป็นผลเนื่องมาจากวัฏจักรของไนโตรเจน แต่ไนไตรท์โดยปกติจะพบในปริมาณต่ำมาก

2. แหล่งที่เกิดขึ้นเนื่องจากกิจกรรมของมนุษย์

จากการใช้ปุ๋ยสังเคราะห์ซึ่งเป็นแหล่งใหญ่ของไนเตรทในสิ่งแวดล้อม ได้แก่ สารประกอบไนเตรทของแอมโมเนียม แคลเซียม โปแตสเซียม โซเดียมและยูเรีย

3. ของเสียจากสัตว์

4. ของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.12.3 วัตถุประสงค์ในการใช้**

หน้าที่ของเกลือไนไตรท์ และเกลือไนเตรท เมื่อใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ คือ

2.12.3.1 ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดง และรักษาสีแดงของผลิตภัณฑ์เนื้อ ทำให้มีความน่ารับประทานเพิ่มขึ้น

2.12.3.2 ช่วยเพิ่มรสชาติ และกลิ่นรสแก่ผลิตภัณฑ์ ทำให้มีกลิ่นเฉพาะตัวเป็นที่ยอมรับสำหรับผู้บริโภคมากกว่าการใช้เกลือในการหมักเนื้อเพียงอย่างเดียว

2.12.3.3 ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และป้องกันการสร้างสปอร์ของแบคทีเรียที่ ไม่ต้องการอากาศ โดยเฉพาะพวก *Clostridium botulinum*

2.12.3.4 ช่วยยับยั้งการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยจะไปยับยั้งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนของไขมัน (oxidative rancidity)

**2.12.4 บทบาทของเกลือไนไตรท์ และไนเตรท ต่อการเกิดสีในผลิตภัณฑ์เนื้อ** มีผลเนื่องจากการแตกตัวให้สารไนตริกออกไซด์ ทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบินดังปฏิกิริยา ตามขั้นตอนต่อไปนี้

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→ $NO + H_2O$ (ไนตริกออกไซด์ + 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)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.12.5 การเกิดไนโตรซามิน ( nitrosamine )**

การเกิดไนโตรซามีนนั้นอาจเกิดมาจากไนเตรต เปลี่ยนเป็นไนไตรท์ โดยเชื้อแบคทีเรียบางชนิด แล้วไนไตรท์ก็จะทำปฏิกิริยากับอามีนที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์บางชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสภาวะที่เป็นกรด จะเกิดปฏิกิริยาได้ไนโตรซามีน ซึ่งเป็นสารที่ก่อมะเร็งได้อย่างรวดเร็ว ในระยะหลังพบว่าไนโตรซามีนสามารถเกิดขึ้นได้ในร่างกาย โดยเฉพาะในกระเพาะอาหารที่มีสภาวะเป็นกรด เมื่อเราได้รับไนเตรทเข้าไปในร่างกายแล้ว ภายใน 1-2 ชม. ร่างกายขับไนเตรทและบางส่วนเปลี่ยนเป็นไนไตรท์ออกมาทางน้ำลายสูง เมื่อเรากลืนน้ำลายผสมกับอาหารที่มีอามีนสูงก็จะเกิดปฏิกิริยาในกระเพาะอาหารได้ ดังนั้นถ้าเรากินอาหาร ที่มีดินประสิวหรือไนเตรทและสารไนไตรท์สูง แล้วกินอาหารที่มีอามีนในมื้อถัดไปก็จะได้รับ ไนโตรซามีนที่เกิดขึ้นในกระเพาะอาหารได้

**2.12.6 ปริมาณไนไตรท์และไนเตรทที่เหมาะสมในการใช้**

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 20 (2517) อนุญาตให้ใช้ไนเตรทได้ในปริมาณที่ไม่เกิน 500 ส่วนในล้านส่วน (โดยคิดคำนวณเป็นโซเดียมไนเตรท) และไนไตรท์ให้ใช้ได้ในปริมาณที่ไม่เกิน 200 ส่วนในล้านส่วน (โดยคิดคำนวณเป็นโซเดียมไนไตรท์) ในปัจจุบันพบว่าในอาหารๆ หลายชนิด เช่น เนื้อเค็ม เนื้อสวรรค์ ไส้กรอก กุนเชียง กุ้งแห้ง ฯลฯ มีปริมาณของสารไนเตรทเกินกำหนดมาก โดยไม่คำนึงถึงอันตรายที่จะเกิดขึ้นจากพิษของสารเคมีดังกล่าว

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรณีที่ใช้ไนเตรทและไนไตรท์รวมกัน ต้องมีไนเตรทเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายได้ไม่เกิน 200 ส่วนต่อล้านส่วน เกลือไนเตรทและไนไตรท์ที่ใช้ทางการค้าจะผสมกันออกมา เพื่อสะดวกในการใช้ มีชื่อทางการค้าเป็นผงเพรค (praque powder) โดยมีปริมาณที่แนะนำใช้เป็น 0.25-0.38 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักเนื้อ และ Tari colper 40s ปริมาณที่แนะนำใช้เป็น 2 กรัม ต่อเนื้อ 1 กิโลกรัม

**รูปที่ 2.8** แสดงสีของผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้ไนเตรทและไนไตรท์

ที่มา : www.e-learning.sg.or.th/ac5_9/pic/banner.jpg

www.e-learning.sg.or.th/ac5_9/picture/recujpg.jpg

**2.12.7 อันตรายของไนเตรทและไนไตรท์**

พิษภัยที่เกิดขึ้นจากการใช้สารไนเตรทและไนไตรท์มากเกินกำหนด โดยเฉพาะไนไตรท์มีพิษแรงกว่าไนเตรท จะทำให้เกิดอาการปวดท้อง และทำให้กระเพาะอาหาร ลำไส้อักเสบอย่างรุนแรงได้ เม็ดเลือดแดงหมดสภาพในการที่จะพาออกซิเจนไปใช้ในเซลล์ต่างๆ ของร่างกายได้ ความเป็นพิษของไนเตรทได้มีรายงานไว้ว่า เด็กดื่มน้ำที่มีไนเตรทเพียง 30 พีพีเอ็มแล้วเสียชีวิต แสดงว่าไนเตรทมีพิษต่อเด็กมาก โดยเฉพาะทารกที่อายุต่ำกว่า 6 สัปดาห์เพราะในกระเพาะของเด็กมีแบคทีเรียที่รีดิวส์ไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ได้ ประกอบกับเด็กยังไม่สร้างกรดเกลือในกระเพาะที่จะช่วยกำจัดแบคทีเรียดังกล่าวได้ แม้ในผู้ใหญ่ที่ได้รับไนเตรทในปริมาณมากเกินไป และมีเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวอยู่ในกระเพาะจะได้รับพิษดังกล่าวได้ เช่นกันหรือในการรวมตัวทางเคมีเป็นสารประกอบใหม่ที่เรียกว่า ไนโตรซามีนซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งกลุ่มหนึ่งซึ่งได้พิสูจน์แล้วว่าสารนี้คือสารที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็ง (carcinogen) เช่น ไดเอทิลไนโตรซามีน (diethylnitrosamine) สามารถทำให้เกิดมะเร็งได้หลายแห่งในร่างกาย เช่น ที่หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ตับ ไต เป็นต้น เมื่อพบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกลือไนไตรท์และไนเตรทเป็นพิษดังกล่าว ทำให้มีผู้คิดค้นหาสารประกอบอื่นเพื่อจะมาใช้แทนและแก้ปัญหาดังกล่าว

โดยในประเทศไต้หวันมีการใช้มันเทศ ( *Dioscorea* spp. ) ซึ่งเป็นหัวมันชนิดหนึ่งที่มีการปลูกมากในประเทศไต้หวัน มาใช้ทดแทนมันแข็งในส่วนประกอบของการผลิตกุนเชียงเพื่อสุขภาพ โดยลักษณะที่สำคัญของมันเทศ คือ ให้โปรตีนสูงแต่ให้ไขมันต่ำ พบว่า หากใช้มันเทศปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ทดแทนมันแข็งในสูตรการทำกุนเชียงตามปกติ ปริมาณของไขมันในกุนเชียงจะมีค่าลดต่ำกว่า 22 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นปริมาณไขมันที่พบในกุนเชียงโดยทั่วไป โดยที่ลักษณะเนื้อสัมผัส สี และรสชาติ ที่ได้มีความใกล้เคียงกับกุนเชียงสูตรควบคุม และ ปริมาณค่า TBA และ TVAใช้เป็นตัวบ่งบอกถึงการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ มีค่าลดลง (Fa - Jui Tan และคณะ, 2006 )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3

# วิธีดำเนินงานวิจัย

## 3.1 เชื้อจุลินทรีย์และอาหารเลี้ยงเชื้อ

### 3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

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

### 3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- อาหารสูตรมะพร้าว ใช้ในการเตรียมหัวเชื้อและผลิตวุ้นมะพร้าว
- อาหารวุ้นเลี้ยงเชื้อสำหรับสร้างสารสี โดยใช้อาหารสูตรดัดแปลงของ Lin และ Demain ( 1991 )

## 3.2 วัตถุดิบ และสารเคมี

### 3.2.1 วัตถุดิบในการผลิตกุนเชียง

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

### 3.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาโปรตีน

- กรดซัลฟูริกเข้มข้น
- กรดบอริก 2 %
- กรดไฮโดรคลอริก 0.1 N
- โซเดียมไฮดรอกไซด์
- Mix indicater
- Catalyst mixture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.2.3 สารเคมีที่ใช้ในการหาปริมาณไขมัน**

- ปิโตรเลียมอีเทอร์ จุดเดือด 35 – 60 องศาเซลเซียส

**3.2.4 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์**

- Cooked meat medium
- Plate count agar

## 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, สวิสเซอร์แลนด์

**3.3.4 อุปกรณ์ใช้ในการหาค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity)**

- centrifuge tube 50 ml
- vortex
- centrifuge ; Hitachi Centrifuge, Model SCR20B,Japan

**3.3.5 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความชื้น**

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

**3.3.6 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์**

- อุปกรณ์เครื่องแก้ว
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ ( Autoclave ) Tomy; SS – 325, Japan
- ตู้บ่มเชื้อ Binder; BD240, Germany
- ตู้อบ กล้วยน้ำไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เครื่องตีป่นอาหาร ( stomacher ) Iul instruments

**3.3.7 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน**

- เครื่องกลั่นรุ่น 1002
- เครื่องย่อยรุ่น 1007 พร้อมอุปกรณ์ย่อย ( digestor ) และหลอดย่อย ( digestion tube)
- Exhaust Manifold และ Aspirator
- Tube stand
- ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

**3.3.8 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน**

- เครื่อง Soxhlet apparatus พร้อมชุดกลั่นและชุดย่อย
- เตาอบแห้ง

**3.3.9 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดเนื้อสัมผัสของกุนเชียงด้วยเครื่อง Texture Analyzer**

- เครื่อง Texture Analyzer
- มีด

**3.3.10 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเถ้า**

- ครูซิเบิล
- ปากคีบ
- เตาเผา
- โถดูดความชื้น ( desiccators )
- เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง
- กระดาษกรองชนิดไร้เถ้า
- ตู้อบลมร้อน
- Hood
- Hot plate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.4 วิธีการทดลอง

### 3.4.1 การเตรียมหัวเชื้อสำหรับผลิตวุ้นมะพร้าว

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

### 3.4.2 การผลิตวุ้นมะพร้าว

เลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ซึ่งมีส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อเหมือนสูตรที่ใช้ในการเตรียมหัวเชื้อ โดยเตรียมอาหารใส่ถาดพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการลวกน้ำร้อน เติมหัวเชื้อที่ได้จากข้อ 3.4.1 ลงไปในถาดพลาสติกโดยใช้หัวเชื้อร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ปิดถาดด้วยกระดาษที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จะได้แผ่นวุ้นมะพร้าวนำมาตัดให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมที่มีขนาด 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 นำไปนับสปอร์โดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ให้ได้เชื้อเริ่มต้นประมาณ $1.0 \times 10^6$ 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 ร้อยละ 10 ( 15 มิลลิลิตรต่อฟลาสก์ ) นำไปวางบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เลี้ยงนาน 12 วัน และนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาล้างน้ำให้สะอาดปั่นให้ละเอียด นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียล 20 นาที จากนั้นนำไปใช้เป็นส่วนผสมของกุนเชียง

**3.4.5 การใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนปริมาณมันแข็งและสารไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง**

ศึกษาผลของปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 โดยใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนมันแข็งและทดแทนไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียงในการทดลองแบ่งกุนเชียงเป็น 5 สูตรและมีกุนเชียงสูตรควบคุม (ตารางที่ 3.1) สำหรับกุนเชียง 5 สูตรประกอบด้วยส่วนประกอบดังนี้

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| สูตรควบคุม | มันแข็ง | 25 % | วุ้นมะพร้าวสีแดง | 0% | ผงเพรก 0.1 % |
| สูตรที่ 1 | มันแข็ง | 20 % | วุ้นมะพร้าวสีแดง | 5 % | ไม่เติมผงเพรก |
| สูตรที่ 2 | มันแข็ง | 15 % | วุ้นมะพร้าวสีแดง | 10 % | ไม่เติมผงเพรก |
| สูตรที่ 3 | มันแข็ง | 10 % | วุ้นมะพร้าวสีแดง | 15 % | ไม่เติมผงเพรก |
| สูตรที่ 4 | มันแข็ง | 5 % | วุ้นมะพร้าวสีแดง | 20 % | ไม่เติมผงเพรก |
| สูตรที่ 5 | มันแข็ง | 0 % | วุ้นมะพร้าวสีแดง | 25 % | ไม่เติมผงเพรก |

และมีกระบวนการผลิตกุนเชียงดังภาพที่ 3.1 หลังจากนั้นนำกุนเชียงที่ได้มาทำการตรวจสอบคุณภาพ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.4.5.1 วัดค่าสี โดยใช้เครื่อง Chroma meter ( Minolta , CR – 300 )**

โดยนำกุนเชียงมาปั่นให้ละเอียด และบรรจุลงในถ้วยวัดสีสำหรับของแข็งให้แน่น ไม่ให้มีอากาศ 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 |

**3.4.5.2 ทดสอบคุณสมบัติทางด้านเนื้อสัมผัส**

ดัดแปลงจากวิธีของ Bourne (1982) และ SMS (1993) โดยใช้เครื่อง Texture analyser ( Model LF1331) ใช้หัววัดรูปทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร ใช้ความเร็ว 2 มิลลิเมตรต่อวินาที ทำการกดกุนเชียง 2 ครั้ง ณ จุดกึ่งกลางของชั้นกุนเชียงด้วยระยะทาง 50 % ของความหนาของชั้นกุนเชียง โดยวัดค่าต่างๆดังนี้ ค่าความแข็ง ( Hardness ) ค่าความยืดหยุ่น ( Springiness ) ค่าความเหนียว ( Gumminess ) ค่าความทนต่อการเคี้ยว ( Chewiness ) ค่าความสามารถในการเกาะรวมตัวกัน ( Cohesiveness)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.4.5.3 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกุนเชียง**

โดยนำกุนเชียงแต่ละสูตรมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น ตามวิธีของ AOAC (1980) (ภาคผนวก ค ) สำหรับค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water holding capacity) วิเคราะห์โดยดัดแปลงจากวิธีของ Dagbjartsson และ Solberg (1972) โดยนำกุนเชียง 5 กรัม มาผสมกับน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดเซนติฟิวส์ขนาด 50 มิลลิลิตร ชั่งน้ำหนัก เขย่าให้ผสมกันเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2000 g (3500 รอบต่อนาที) อุณหภูมิ 15° C เป็นเวลา 10นาที เทส่วนใสออก ชั่งน้ำหนักอีกครั้ง

$$\text{ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนปั่นเหวี่ยง} - \text{น้ำหนักหลังปั่นเหวี่ยง}}{\text{น้ำหนักก่อนปั่นเหวี่ยง}} \times 100$$

**3.4.5.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัส**

ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของกุนเชียงโดยใช้ผู้ทดสอบชิม 20 คนให้คะแนนความชอบแบบ 9-point Hedonic Scale ( 1 = ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 = ชอบมากที่สุด ) ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และการยอมรับโดยรวม วางแผนการทดลอง Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) เวอร์ชั่น 15.0 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) เพื่อหาสูตรที่เหมาะสมและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

**3.4.5.5 การตรวจหาเชื้อ *Clostridium perfringens***

ตามวิธี ( AOAC, 1995 )(ภาคผนวก ค) ทำการสุ่มตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นเทสารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1 ( พีเอช 7.0 ± 0.1 ) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปตีป่นให้ละเอียดโดยใช้เครื่องตีป่น เป็นเวลา 1 นาที ทำการเจือจาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

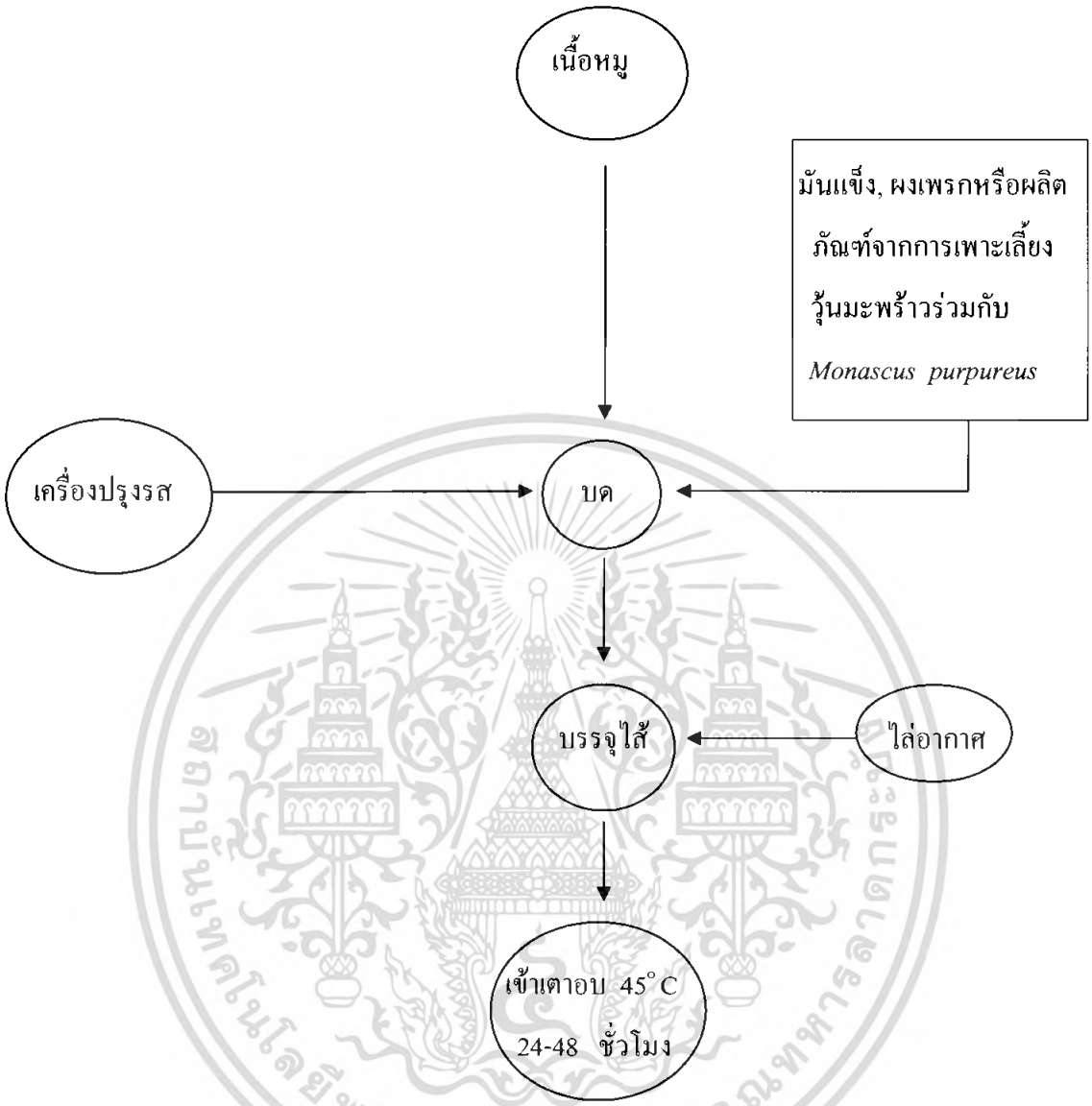
ตัวอย่างอาหารตามที่ต้องการ 3 ระดับ คือ $10^{-1}$ $10^{-2}$ และ $10^{-3}$ ดูดตัวอย่างอาหารแต่ละความเจือจางใส่ลงในหลอด cooked meat ( CM ) หลอดละ 1 มิลลิลิตร ระดับความเจือจางละ 3 หลอด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 18 – 24 ชั่วโมง ดูการขุ่นของอาหารถ้าอาหารในหลอดทดลองขุ่นต้องทำการทดลองยืนยันขั้นต่อไปโดยใช้ลูบจุ่มเชื้อจากหลอด CM medium นำมาถ่ายเพาะเชื้อบน SPS agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 18 – 24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ให้ลักษณะโคโลนีสีดำ นำมาทดสอบยืนยัน โดยการถ่ายเชื้อลง fluid thioglycollate บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการถ่ายเชื้อลงในอาหาร 2 ชนิด

- stap ลง motility - nitrate บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- stap ลง lactose gelatin medium บ่มที่ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

## 3.5 การวิเคราะห์สถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) มีจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) เวอร์ชั่น 15.0 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Dancan 's New Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการผลิตกุนเชียง**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4
# ผลการทดลองและอภิปราย

## 4.1 การใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ในการตกแต่งและทดแทนปริมาณมันแข็งและไนไตรท์ ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของวุ้นมะพร้าว พบว่า มีโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 0.68 – 0.84 ไขมันร้อยละ 0.05 – 0.06 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 3.00 – 3.20 ไฟเบอร์ร้อยละ 1.10 – 1.15 แคลเซียมร้อยละ 5.20 – 34.50 มิลลิกรัม / 100 กรัม ฟอสฟอรัสร้อยละ 5.70 – 22.00 มิลลิกรัม / 100 กรัม และน้ำร้อยละ 94.4 – 94.6 (สมคิด , 2531) จึงได้นำมาใช้ในการทดลองเลี้ยงร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ได้วุ้นมะพร้าวที่มีสีแดงเพื่อใช้ทดแทนปริมาณมันแข็งและไนไตรท์ ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง และนำผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและทางเคมี รวมทั้งคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ ดังนี้

### 4.1.1 การวัดค่าสีของกุนเชียง

#### 4.1.1.1 ค่า L*

จากการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนปริมาณมันแข็งและไนไตรท์ ในผลิตภัณฑ์กุนเชียงในปริมาณที่แตกต่างกันแบ่งกุนเชียงออกเป็น 5 สูตร และมีกุนเชียงสูตรควบคุม ( ซึ่งเป็นสูตรที่ผลิตขายทั่วไป )

เมื่อทำการวัดสีของกุนเชียงในสูตรต่างๆ พบว่าเมื่อใช้วุ้นมะพร้าวที่มีสีแดงในปริมาณมากขึ้นมีผลทำให้ค่า L* ซึ่งแสดงถึงความสว่างจะมีค่าสูงขึ้นตามไปด้วย เมื่อใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 25 ค่า L* มีค่าสูงสุดคือ 45.92 ± 1.13 ขณะที่กุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 20 15 10 5 และสูตรควบคุมมีค่า L*เท่ากับ 44.04 ± 0.43 43.14 ± 0.34 40.38 ± 0.72 38.04 ± 0.90 และ 35.67±0.79 ตามลำดับ และเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณร้อยละ 5 - 25 มีค่า L* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกุนเชียงสูตรควบคุม ดังแสดงในตารางที่ 4.1

#### 4.1.1.2 ค่า a*

เมื่อใช้วุ้นมะพร้าวที่มีสีแดงปริมาณร้อยละ 5 - 10 ค่า a* ซึ่งแสดงถึงความเข้มของสีแดงมีค่าน้อยกว่ากุนเชียงสูตรควบคุม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณวุ้นสีแดงน้อยจึงมีผลทำให้กุนเชียงสูตรเหล่านี้มีสีแดงน้อยกว่ากุนเชียงสูตรควบคุมที่มีการใช้ไนไตรท์ เมื่อใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แดงมากขึ้นร้อยละ 15 – 25 ทำให้กุนเชียงที่ได้มีค่า a* เพิ่มสูงขึ้นตามปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงที่ใช้ และมีค่าสูงกว่ากุนเชียงสูตรควบคุม โดยพบว่ากุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 25 มีค่า a* เท่ากับ 9.45 ± 0.09 ขณะที่กุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 20 15 และชุดควบคุม มีค่า a* เท่ากับ 9.13 ± 0.10 7.97 ± 0.58 และ 7.89 ± 0.15 ตามลำดับ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 – 25 มีค่า a* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$) กับกุนเชียงสูตรควบคุม การที่กุนเชียงมีความเข้มของสีแดงมากขึ้นเรื่อยๆ อาจเนื่องมาจากวุ้นมะพร้าวที่นำมาเป็นส่วนประกอบในกุนเชียงมีสีแดงจึงทำให้เมื่อมีการเติมวุ้นมะพร้าวสีแดงเพิ่มมากขึ้นทำให้ความเข้มของสีแดงในกุนเชียงเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย ดังแสดงในตารางที่ 4.1

**4.1.1.3 ค่า b***

เมื่อใช้วุ้นมะพร้าวที่มีสีแดงปริมาณร้อยละ 5 - 25 ค่า b* ซึ่งแสดงถึงความเข้มของสีเหลืองจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงที่ใช้ และสูงกว่ากุนเชียงสูตรควบคุมโดยพบว่าการใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 25 มีค่า b* สูงสุดเท่ากับ 4.00 ± 0.43 ขณะที่การใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 20 15 10 5 และสูตรควบคุมมีค่า b* เท่ากับ 2.51 ± 0.09 1.68 ±0.31 1.60 ± 0.02 1.35 ± 0.30 และ 0.47 ± 0.53 ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 – 25 มีค่า b * แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$) กับกุนเชียงสูตรควบคุม แสดงดังตารางที่ 4.1

จากการทดลองของ Fa – Jui Tan และ คณะ ( 2007 ) ศึกษาผลของการทดแทนไขมันโดยใช้มันเทศต่อคุณภาพของกุนเชียง พบว่า จากการใช้มันเทศปริมาณร้อยละ 0 5 10 และ 15 มาทดแทนมันแข็งในกุนเชียง หลังจากผลิตกุนเชียง จะเก็บกุนเชียงในถุงสุญญากาศที่ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน ผลการทดลองพบว่า กุนเชียงที่เติมมันเทศเพิ่มขึ้นจะมีค่า L* และ a* ต่ำกว่ากุนเชียงสูตรควบคุมซึ่งแตกต่างจากการใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่เมื่อเติมวุ้นมะพร้าวสีแดงเพิ่มขึ้นจะมีค่า L* และ ค่า a* สูงกว่ากุนเชียงสูตรควบคุม

**4.1.2 Water Activity ( $a_w$ )**

จากการใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงทดแทนมันแข็งและไนไตรท์บางส่วน พบว่าเมื่อใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงมากขึ้นมีผลทำให้กุนเชียงมีค่า $a_w$ ลดลง และมีค่าน้อยกว่ากุนเชียงสูตรควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.1** ผลการวัดสีและค่า $a_w$ ของกุนเชียงที่มีการทดแทนมันแข็งและไนไตรท์โดยใช้วุ้นมะพร้าวที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ในปริมาณที่แตกต่างกัน

| สูตรกุนเชียง[1] | ค่าสีของผลิตภัณฑ์กุนเชียง | | | $a_w$ |
|---|---|---|---|---|
| | L * | a* | b* | |
| ชุดควบคุม | 35.67 ± 0.79[c 2] | 7.89 ± 0.15[b] | 0.47 ± 0.53[d] | 0.8477 ± 0.0012[a] |
| สูตร 1 | 38.04 ± 0.90[d] | 6.47 ± 0.23[c] | 1.35 ± 0.30[c] | 0.8463 ± 0.0006[a] |
| สูตร 2 | 40.38 ± 0.72[c] | 6.52 ± 0.19[c] | 1.60 ± 0.02[c] | 0.8400 ± 0.0010[b] |
| สูตร 3 | 43.14 ± 0.34[b] | 7.97 ± 0.58[b] | 1.68 ± 0.31[c] | 0.8363 ± 0.0006[c] |
| สูตร 4 | 44.04 ± 0.43[b] | 9.13 ± 0.10[a] | 2.51 ± 0.09[b] | 0.8337 ± 0.0012[d] |
| สูตร 5 | 45.92 ± 1.13[a] | 9.45 ± 0.09[a] | 4.00 ± 0.43[a] | 0.8317± 0.0012[e] |

[1]กุนเชียงสูตรควบคุม ใช้มันแข็งร้อยละ 25 ผงเพรกร้อยละ 0.1
กุนเชียงสูตร 1 ใช้มันแข็งร้อยละ 20 วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 ไม่เติมผงเพรก
กุนเชียงสูตร 2 ใช้มันแข็งร้อยละ 15 วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 10 ไม่เติมผงเพรก
กุนเชียงสูตร 3 ใช้มันแข็งร้อยละ 10 วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 15 ไม่เติมผงเพรก
กุนเชียงสูตร 4 ใช้มันแข็งร้อยละ 5 วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 20 ไม่เติมผงเพรก
กุนเชียงสูตร 5 ไม่มีการใช้มันแข็ง วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 25 ไม่เติมผงเพรก

[2]ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

### 4.1.3 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส ( Texture Analysis ) ของกุนเชียง

#### 4.1.3.1 ค่าความแข็ง (Hardness)

ผลการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของกุนเชียงจากการใช้วุ้นมะพร้าวในปริมาณต่างๆกัน พบว่าค่าความแข็งของกุนเชียงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงเพิ่มขึ้น จากการทดลองจะเห็นว่าเมื่อใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 มีค่าความแข็งของกุนเชียงเท่ากับ 8.01± 0.32 12.60 ±0.88 14.47 ± 0.12 14.47 ± 0.74 และ 14.48 ± 0.49 นิวตัน ตามลำดับ ขณะที่กุนเชียงสูตรควบคุมมีค่าความแข็งเท่ากับ 4.27± 0.48 นิวตัน เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ค่าความแข็งของกุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่างๆ มีความแตกต่างอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีนัยสำคัญทางสถิติ ( P < 0.05) กับกุนเชียงสูตรควบคุม ขณะที่กุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 15 20 และ 25 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( P > 0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4.2 การที่ค่าความแข็งของกุนเชียงเพิ่มขึ้นอาจเนื่องมาจากขั้นตอนการนำกุนเชียงเข้าสู่ตู้อบลมร้อน ทำให้ปริมาณน้ำในวุ้นมะพร้าวสีแดงเกิดการระเหย ส่งผลต่อค่าความแข็งดังนั้นเมื่อมีการเพิ่มปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงเพิ่มมากขึ้นจึงทำให้ค่าความแข็งเพิ่มขึ้นตามไปด้วย

**4.1.3.2 ค่าการทนต่อการเคี้ยว (Chewiness)**

การใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวที่มีสีแดงทดแทนมันแข็งและไนไตรท์ในกุนเชียงพบว่าเมื่อใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงมากขึ้น กุนเชียงที่ได้จะมีค่าทนต่อการเคี้ยว เพิ่มขึ้นตามไปด้วย จากการทดลองจะเห็นว่า เมื่อใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 กุนเชียงมีค่าทนต่อการเคี้ยวเท่ากับ 7.67 ±1.50 8.25 ± 3.15 11.15 ± 0.09 11.65 ± 1.48 และ 11.94 ± 1.44 นิวตัน.มิลลิเมตร ตามลำดับ ขณะที่กุนเชียงสูตรควบคุมมีค่าทนต่อการเคี้ยวเท่ากับ 1.54 ± 0.32 นิวตัน.มิลลิเมตร และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าค่าทนต่อการเคี้ยวของกุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่างๆ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) กับกุนเชียงสูตรควบคุม แสดงดังในตารางที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าเมื่อค่าความแข็งของกุนเชียงเพิ่มมากขึ้นจากการที่เติมวุ้นมะพร้าวสีแดงลงไปในปริมาณที่เพิ่มขึ้น มีผลต่อค่าการทนต่อการเคี้ยวด้วยเช่นกัน เพราะเมื่อกุนเชียงมีความแข็งมากทำให้เกิดการทนต่อการเคี้ยวมากขึ้นตามไปด้วย

**4.1.3.3 ค่าการเกาะรวมตัว ( Cohesiveness)**

จากการใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวที่มีสีแดงเพิ่มขึ้น กุนเชียงที่ได้จะมีค่าการเกาะรวมตัวเพิ่มขึ้นตามไปด้วย โดยพบว่าเมื่อใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 กุนเชียงมีค่าความสามารถในการเกาะรวมตัวเท่ากับ 0.23± 0.03 0.23 ± 0.03 0.24 ± 0.02 0.26 ± 0.07 และ 0.29 ± 0.01 นิวตัน.มิลลิเมตร ตามลำดับ ขณะที่กุนเชียงสูตรควบคุมมีค่าเท่ากับ 0.16 ± 0.00 นิวตัน.มิลลิเมตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าค่าการเกาะรวมตัวของกุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่างๆ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( P > 0.05) ขณะที่กุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณร้อยละ 5 – 25 มีค่าความสามารถในการเกาะรวมตัวแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) กับกุนเชียงสูตรควบคุม แสดงดังในตารางที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.1.3.4 ค่าความยืดหยุ่น (Springiness)**

จากการใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวที่มีสีแดงเพิ่มขึ้นพบว่าค่าความยืดหยุ่นของกุนเชียงจะเพิ่มขึ้นจนถึงการใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 15 ซึ่งจะทำให้กุนเชียงที่ได้มีค่าความยืดหยุ่นสูงสุดเท่ากับ 6.09 ± 0.71 มิลลิเมตร เมื่อเพิ่มปริมาณวุ้นมะพร้าวร้อยละ 20 – 25 ค่าความยืดหยุ่นของกุนเชียงที่ได้จะลดลง และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่างๆ กับกุนเชียงสูตรควบคุม พบว่ากุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่างๆ จะให้ค่าความยืดหยุ่นสูงกว่ากุนเชียงสูตรควบคุมและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.2 การที่ค่าความยืดหยุ่นของกุนเชียงที่ผลิตได้ทุกสูตรมีค่าความยืดหยุ่นมากกว่ากุนเชียงสูตรควบคุม อาจเป็นผลมาจากลักษณะของวุ้นมะพร้าวสีแดงที่มีความยืดหยุ่นทำให้เมื่อใช้เป็นส่วนประกอบในกุนเชียงมีผลให้ค่าความยืดหยุ่นที่ค่ามากกว่าสูตรควบคุมที่ไม่มีการเติมวุ้นมะพร้าวสีแดง

**4.1.3.5 ค่าความเหนียว (Gumminess)**

เมื่อใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงมากขึ้นกุนเชียงที่ได้จะมีค่าความเหนียวเพิ่มขึ้นโดยพบว่าเมื่อใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 กุนเชียงมีความเหนียวเท่ากับ 2.05 ± 0.39 3.24 ± 0.26 4.39 ± 0.24 4.57 ± 0.28 และ 4.64 ± 0.52 gf ตามลำดับ ขณะที่กุนเชียงที่เป็นสูตรควบคุมมีค่าความเหนียวเท่ากับ 0.79 ± 0.02 gf และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่างๆ จะมีค่าความเหนียวแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกุนเชียงสูตรควบคุม ดังแสดงในตารางที่ 4.2 การที่ค่าความเหนียวมีค่าเพิ่มขึ้นอาจเนื่องมาจากลักษณะเนื้อสัมผัสของวุ้นมะพร้าวมีความเหนียวทำให้เมื่อมีการเติมวุ้นมะพร้าวสีแดงในเชียงกุนเชียงมากขึ้นทำให้มีผลต่อค่าความเหนียว ซึ่งสอดคล้องกับค่าความแข็ง และค่าการทนต่อการเคี้ยวซึ่งมีค่ามากขึ้นตามการปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงที่มากขึ้นด้วยเช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.2** ผลการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของกุนเชียงที่มีการทดแทนมันแข็งและไนไตรท์โดยใช้วุ้นมะพร้าวที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ในปริมาณที่แตกต่างกัน

| สูตรกุนเชียง[1] | ลักษณะเนื้อสัมผัสของกุนเชียง | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Hardness (N) | Chewiness (N.mm) | Cohesiveness (N.mm) | springiness (mm) | Gumminess (gf) |
| ชุดควบคุม | 4.27± 0.48$^{d}$[2] | 1.54 ± 0.32$^{d}$ | 0.16 ± 0.00$^{b}$ | 0.85 ± 0.16$^{d}$ | 0.79± 0.02$^{d}$ |
| สูตร 1 | 8.01 ± 0.32$^{c}$ | 7.67 ± 1.50$^{c}$ | 0.23± 0.03$^{a}$ | 3.97± 0.78$^{c}$ | 2.05 ± 0.39$^{c}$ |
| สูตร 2 | 12.60 ± 0.88$^{b}$ | 8.25 ± 3.15$^{bc}$ | 0.23 ± 0.03$^{a}$ | 4.24± 1.57$^{bc}$ | 3.24 ± 0.26$^{b}$ |
| สูตร 3 | 14.47± 0.12$^{a}$ | 11.15 ± 0.09$^{ab}$ | 0.24 ± 0.02$^{a}$ | 6.09 ± 0.71$^{a}$ | 4.39 ± 0.24$^{a}$ |
| สูตร 4 | 14.47 ± 0.74$^{a}$ | 11.65 ± 1.48$^{a}$ | 0.26 ± 0.07$^{a}$ | 5.95 ± 0.77$^{a}$ | 4.57 ± 0.28$^{a}$ |
| สูตร 5 | 14.48 ± 0.49$^{a}$ | 11.94 ±1.44$^{a}$ | 0.29± 0.01$^{a}$ | 5.72 ± 0.05$^{ab}$ | 4.64 ± 0.52$^{a}$ |

[1]กุนเชียงสูตรควบคุม ใช้มันแข็งร้อยละ 25 ผงเพรกร้อยละ 0.1

| | | | |
|---|---|---|---|
| กุนเชียงสูตร 1 | ใช้มันแข็งร้อยละ 20 | วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 | ไม่เติมผงเพรก |
| กุนเชียงสูตร 2 | ใช้มันแข็งร้อยละ 15 | วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 10 | ไม่เติมผงเพรก |
| กุนเชียงสูตร 3 | ใช้มันแข็งร้อยละ 10 | วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 15 | ไม่เติมผงเพรก |
| กุนเชียงสูตร 4 | ใช้มันแข็งร้อยละ 5 | วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 20 | ไม่เติมผงเพรก |
| กุนเชียงสูตร 5 | ไม่มีการใช้มันแข็ง | วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 25 | ไม่เติมผงเพรก |

[2]ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

### 4.1.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกุนเชียง

#### 4.1.4.1 ปริมาณโปรตีน

จากการใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่างๆ เพื่อทดแทนไขมันบางส่วนและไนไตรท์พบว่า เมื่อใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงมากขึ้นปริมาณโปรตีนในกุนเชียงจะมีค่าเพิ่มขึ้น โดยพบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมจะมีปริมาณโปรตีนต่ำที่สุดคือ ร้อยละ 1.57 ± 0.01 เมื่อใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 ปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้ในกุนเชียงสูตรเหล่านี้มีค่าเท่ากับร้อยละ 1.68 ± 0.01 1.76 ± 0.01 2.20 ± 0.01 2.56 ± 0.00 และ 2.84 ± 0.01 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมมีปริมาณโปรตีนต่ำกว่ากุนเชียงสูตรที่ใช้วุ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มะพร้าวสีแดงในปริมาณต่างๆ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.3

**4.1.4.2 ปริมาณไขมัน**

จากการใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่าง ๆ ทดแทนไขมันบางส่วนและไนไตรท์ พบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมซึ่งมีมันแข็งเป็นองค์ประกอบร้อยละ 25 มีปริมาณไขมันสูงสุดคือ ร้อยละ 24.13 ± 0.02 สำหรับกุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่าง ๆ มีปริมาณไขมันน้อยกว่ากุนเชียงสูตรควบคุม โดยพบว่ากุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 มีปริมาณไขมันร้อยละ 21.96 ± 0.03 19.57 ± 0.01 13.11 ± 0.02 10.08 ± 0.02 และ 8.31 ± 0.01 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมมีปริมาณไขมันสูงกว่ากุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวต่าง ๆ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและไขมันในกุนเชียงที่ได้จากสูตรที่มีการใช้วุ้นมะพร้าวในปริมาณต่าง ๆ กัน ให้ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Fa – Jui Tan และคณะ ( 2007 ) ซึ่งพบว่าเมื่อใช้มันเทศในปริมาณสูงขึ้นเพื่อเป็นส่วนผสมของกุนเชียง ทำให้กุนเชียงที่ได้มีปริมาณไขมันลดลงและโปรตีนเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงไปทดแทนมันแข็งในกุนเชียงบางส่วน ปริมาณไขมันในกุนเชียงจะได้จากมันแข็งเป็นส่วนใหญ่ เมื่อปริมาณมันแข็งลดลงทำให้ปริมาณไขมันในกุนเชียงที่ได้ลดลงเช่นกันและเมื่อเพิ่มปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากในวุ้นมะพร้าวมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบอยู่ในช่วงร้อยละ 0.68 – 0.84 (สมคิด , 2531)

**4.1.4.3 ปริมาณความชื้น**

เมื่อใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่าง ๆ ทดแทนมันแข็งบางส่วนและไนไตรท์ พบว่า ปริมาณความชื้นจะลดลง ตามปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงที่เพิ่มขึ้น โดยพบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมที่ใช้มันแข็งเป็นส่วนประกอบร้อยละ 25 มีความชื้นสูงสุดร้อยละ 56.57 ± 0.02 เมื่อใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 กุนเชียงมีความชื้นร้อยละ 36.94 ± 0.02 36.27 ± 0.01 35.43 ± 0.00 32.67 ± 0.02 และ 33.16 ± 0.01 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมมีปริมาณความชื้นสูงและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.3 การที่ค่าความชื้นมีปริมาณลดลง เนื่องมาจากการลดปริมาณไขมันซึ่งมีส่วนช่วยในการอุ้มน้ำ ทำให้ปริมาณน้ำในกุนเชียงมีค่าลดลงส่งผลต่อค่าความชื้นมีปริมาณลดลงตามไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.1.4.4 ปริมาณเถ้า**

กุนเชียงสูตรควบคุม มีปริมาณเถ้าสูงสุดคือร้อยละ 2.67 ± 0.00 ขณะที่กุนเชียงที่มีการใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงต่าง ๆ มีปริมาณเถ้าลดลง ตามปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงที่เพิ่มขึ้น โดยพบว่ากุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดง ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 มีปริมาณเถ้าร้อยละ 2.48 ± 0.01 2.34 ± 0.01 2.17 ± 0.01 2.15 ± 0.01 และ 2.00 ± 0.01 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมมีปริมาณเถ้าสูงสุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับกุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.3

**4.1.4.5 ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ**

จากการใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่าง ๆ ทดแทนมันแข็งบางส่วนและไนไตรท์ พบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมมีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ สูงสุดคือร้อยละ 17.53± 0.02 ขณะที่กุนเชียงที่ได้จากการใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวต่าง ๆ ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำจะลดลงตามปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงที่เพิ่มขึ้น โดยพบว่ากุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดง ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำร้อยละ 14.86± 0.02 13.87 ± 0.02 11.28±0.01 12.30 ± 0.00 และ 10.13 ± 0.00 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมมีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำสูงสุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับกุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.3

จากการทดลองของ Fa – Jui Tan และ คณะ (2007) พบว่า เมื่อใช้ปริมาณมันเทศเพิ่มในส่วนผสมของกุนเชียง ทำให้กุนเชียงที่ได้มีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้น ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองที่ได้ อาจเนื่องมาจากการใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงก่อนนำมาผสมในส่วนผสมของกุนเชียง จะนำมาปั่นให้ละเอียดก่อน ซึ่งเป็นการทำลายโครงสร้างของเซลลูโลส ทำให้เซลลูโลสหรือวุ้นมะพร้าวมีความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง เมื่อนำกุนเชียงไปผ่านการอบแห้ง ทำให้กุนเชียงที่มีการใช้วุ้นมะพร้าวในปริมาณสูง มีค่าความชื้นและความสามารถในการอุ้มน้ำของกุนเชียงลดลงตามปริมาณวุ้นมะพร้าวที่ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.3** ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบในผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่มีการทดแทนมันแข็งและไนไตรท์โดยใช้วุ้นมะพร้าวที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090ในปริมาณที่แตกต่างกัน

| สูตรกุนเชียง[1] | โปรตีน (ร้อยละ) | ไขมัน (ร้อยละ) | ความชื้น (ร้อยละ) | เถ้า (ร้อยละ) | ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (ร้อยละ) |
|---|---|---|---|---|---|
| ชุดควบคุม | 1.57± 0.01[f2] | 24.13 ± 0.02[a] | 56.57± 0.02[a] | 2.67± 0.00[a] | 17.53± 0.02[a] |
| สูตร 1 | 1.68 ± 0.01[c] | 21.96 ± 0.03[b] | 36.94 ± 0.02[b] | 2.48 ± 0.01[b] | 14.86± 0.02[b] |
| สูตร 2 | 1.76 ± 0.01[d] | 19.57 ± 0.01[c] | 36.27 ± 0.01[c] | 2.34 ± 0.01[c] | 13.87 ± 0.02[c] |
| สูตร 3 | 2.20 ± 0.01[c] | 13.11 ± 0.02[d] | 35.43 ± 0.00[d] | 2.17 ± 0.01[d] | 11.28± 0.01[e] |
| สูตร 4 | 2.56 ± 0.00[b] | 10.08 ± 0.02[e] | 32.67 ± 0.02[f] | 2.15 ± 0.01[e] | 12.30 ± 0.00[d] |
| สูตร 5 | 2.84 ± 0.01[a] | 8.31 ± 0.01[f] | 33.16 ± 0.01[e] | 2.00± 0.01[f] | 10.13± 0.00[f] |

[1]กุนเชียงสูตรควบคุม ใช้มันแข็งร้อยละ 25 ผงเพรกร้อยละ 0.1

กุนเชียงสูตร 1 ใช้มันแข็งร้อยละ 20 วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 ไม่เติมผงเพรก

กุนเชียงสูตร 2 ใช้มันแข็งร้อยละ 15 วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 10 ไม่เติมผงเพรก

กุนเชียงสูตร 3 ใช้มันแข็งร้อยละ 10 วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 15 ไม่เติมผงเพรก

กุนเชียงสูตร 4 ใช้มันแข็งร้อยละ 5 วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 20 ไม่เติมผงเพรก

กุนเชียงสูตร 5 ไม่มีการใช้มันแข็ง วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 25 ไม่เติมผงเพรก

[2]ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

### 4.1.5 การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

#### 4.1.5.1 ลักษณะปรากฏ

จากการนำกุนเชียงสูตรควบคุมและกุนเชียงสูตรต่าง ๆ ที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงทดแทนมันแข็งบางส่วนและไนไตรท์ เมื่อพิจารณาคุณสมบัติด้านลักษณะปรากฏของกุนเชียง พบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมมีลักษณะปรากฏที่ดีได้รับคะแนน คือ 6.30 ± 1.81 ขณะที่กุนเชียงสูตรที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณร้อยละ 5 และ 10 มีคะแนนที่ได้จากลักษณะปรากฏน้อยกว่าสูตรควบคุม โดยมีคะแนนลักษณะปรากฏ 5.25± 2.12 และ 5.85 ± 1.73 ตามลำดับ กุนเชียงสูตรที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 15 20 และ 25 มีคะแนนลักษณะปรากฏเพิ่มขึ้นและสูงกว่ากุนเชียงสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ควบคุม โดยมีคะแนน 6.30 ± 1.30 6.65 ± 1.18 และ 6.55 ± 1.28 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมและกุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่าง ๆ มีคะแนนลักษณะปรากฏไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.4

**4.1.5.2 สี**

กุนเชียงสูตรควบคุมมีคะแนนที่ได้จากค่าสีสูงสุดคือ 6.75 ± 1.74 ขณะที่กุนเชียงสูตรที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงแตกต่างกันจะมีคะแนนที่ได้จากค่าสีน้อยกว่าสูตรควบคุม โดยพบว่ากุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 มีคะแนนจากค่าสี เท่ากับ 5.25 ± 2.17 5.80 ± 1.44 5.95 ± 1.67 6.55 ± 1.43 และ 6.60 ± 1.27 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมและกุนเชียงสูตรที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวต่าง ๆ มีค่าสีของกุนเชียงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.4

**4.1.5.3 กลิ่น**

กุนเชียงสูตรควบคุมมีคะแนนทางด้านกลิ่นสูงสุดคือ 6.85±1.42 กุนเชียงสูตรที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงแตกต่างกัน มีคะแนนทางด้านกลิ่นน้อยกว่ากุนเชียงสูตรควบคุม และลดลง ตามปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงที่ใช้เพิ่มขึ้น โดยพบว่ากุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 มีคะแนนทางด้านกลิ่นเท่ากับ 6.35 ± 1.69 6.55 ±1.39 5.90 ± 1.33 5.65 ± 1.46 และ 5.75 ±1.41 ตามลำดับ เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมมีคะแนนทางด้านกลิ่นสูงกว่ากุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 10 และ 15 แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ขณะที่คะแนนทางด้านกลิ่นของกุนเชียงสูตรควบคุมมีค่าสูงกว่ากุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวร้อยละ 20 และ 25 และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.4 การที่คะแนนทางด้านกลิ่นของกุนเชียงในแต่ละสูตรมีค่าน้อยกว่ากุนเชียงสูตรควบคุมอาจเนื่องมากจากกลิ่นเฉพาะตัวของวุ้นมะพร้าวทำให้เกิดความรู้สึกแตกต่างจากสูตรควบคุม

**4.1.5.4 รสชาติ**

จากการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส จากผู้ทดสอบชิมจำนวน 20 คน พบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมและกุนเชียงสูตรที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงแตกต่างกัน คะแนนด้านรสชาติไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.4

**4.1.5.5 ความเหนียว**

กุนเชียงสูตรควบคุมและกุนเชียงสูตรที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงแตกต่างกัน มีคะแนนทางด้านความเหนียวที่เพิ่มขึ้นเมื่อใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงมากขึ้น โดยจะพบว่า กุนเชียงสูตรที่ 5 ที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 25 มีคะแนนทางด้านความเหนียวสูงสุดคือ 5.75 ±

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.33 แต่เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบว่าคะแนนทางด้านความเหนียวของกุนเชียงสูตรควบคุมและกุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.4

**4.1.5.6 การยอมรับโดยรวม**

กุนเชียงสูตรควบคุมมีคะแนนการยอมรับโดยรวมสูงสุดคือ 6.20± 1.44 ขณะที่กุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณต่าง ๆ มีคะแนนยอมรับโดยรวมน้อยกว่าสูตรควบคุม แต่เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าคะแนนการยอมรับโดยรวมของกุนเชียงสูตรควบคุม และกุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงต่างกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.4

**ตารางที่ 4.4** ผลการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่มีการทดแทนมันแข็งและไนไตรท์โดยใช้วุ้นมะพร้าวที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ในปริมาณที่แตกต่างกัน

| สูตรกุนเชียง[1] | คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของกุนเชียง | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ลักษณะปรากฏ | สี | กลิ่น | รสชาติ ( ns ) | ความเหนียว ( ns ) | การยอมรับโดยรวม ( ns ) |
| สูตรควบคุม | 6.30 ± I.81$^{ab2}$ | 6.75± 1.74$^{a}$ | 6.85 ± 1.42$^{a}$ | 5.60 ± 1.98 | 5.30 ±1.45 | 6.20±1.44 |
| สูตร 1 | 5.25 ± 2.12$^{b}$ | 5.25 ± 2.17$^{b}$ | 6.35 ± 1.69$^{ab}$ | 5.75 ±1.89 | 4.90 ± 1.65 | 6.25 ± 1.85 |
| สูตร 2 | 5.85 ± 1.73$^{ab}$ | 5.80 ± 1.44$^{ab}$ | 6.55 ±1.39$^{ab}$ | 6.60 ± 1.39 | 4.75 ± 1.92 | 5.50 ± 1.37 |
| สูตร 3 | 6.30 ± 1.30$^{ab}$ | 5.95 ± 1.67$^{ab}$ | 5.90 ± 1.33$^{ab}$ | 5.90± 1.65 | 5.15 ± 1.81 | 5.85 ± 1.39 |
| สูตร 4 | 6.65± 1.18$^{a}$ | 6.55± 1.43$^{a}$ | 5.65 ± 1.46$^{b}$ | 6.00± 1.59 | 5.60 ± 1.67 | 5.95 ± 1.47 |
| สูตร 5 | 6.55 ± 1.28$^{a}$ | 6.60 ± 1.27$^{a}$ | 5.75± 1.41$^{b}$ | 6.30 ± 1.45 | 5.75 ± 1.33 | 5.65 ± 1.46 |

[1]กุนเชียงสูตรควบคุม ใช้มันแข็งร้อยละ 25 ผงเพรกร้อยละ 0.1

| | | | |
|---|---|---|---|
| กุนเชียงสูตร 1 | ใช้มันแข็งร้อยละ 20 | วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 | ไม่เติมผงเพรก |
| กุนเชียงสูตร 2 | ใช้มันแข็งร้อยละ 15 | วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 10 | ไม่เติมผงเพรก |
| กุนเชียงสูตร 3 | ใช้มันแข็งร้อยละ 10 | วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 15 | ไม่เติมผงเพรก |
| กุนเชียงสูตร 4 | ใช้มันแข็งร้อยละ 5 | วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 20 | ไม่เติมผงเพรก |
| กุนเชียงสูตร 5 | ไม่มีการใช้มันแข็ง | วุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 25 | ไม่เติมผงเพรก |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[2]ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

**4.1.6 การตรวจหาเชื้อ *Clostridium perfringens***

ไม่พบ เชื้อ *Clostridium perfringens* ในกุนเชียงทุกสูตร

จากการทดสอบประสาทสัมผัสกุนเชียงสูตรต่าง ๆ พบว่ากุนเชียงสูตรควบคุมมีคะแนนลักษณะปรากฏ สี และกลิ่น สูงกว่ากุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณร้อยละ 5 – 25 ขณะที่คะแนนด้านรสชาติ ความเหนียว และการยอมรับโดยรวมของกุนเชียงสูตรต่างๆ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งนี้อาจเนื่องจากการใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงซึ่งเป็นการหมักวุ้นมะพร้าวร่วมกับเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นวุ้นมะพร้าวที่มีสีแดงเมื่อนำมาเป็นส่วนผสมของกุนเชียงโดยใช้ทดแทนมันแข็งบางส่วนและไม่มีการเติมสารไนไตรท์ ทำให้กุนเชียงที่ได้มีกลิ่นและรสชาติที่แตกต่างจากกุนเชียงสูตรควบคุมที่มีการใช้ปริมาณมันแข็ง และ สารไนไตรท์ ซึ่งสารไนไตรท์เป็นสารที่ทำให้เกิด กลิ่น รส ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง ( ภัทธรินทร์และคณะ , 2547 ) สำหรับคะแนนทางด้านรสชาติ ความเหนียว และการยอมรับโดยรวมของกุนเชียงสูตรที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกุนเชียงสูตรควบคุม

ดังนั้น จะเห็นได้ว่า การใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการหมักวุ้นมะพร้าวร่วมกับเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 มาใช้ทดแทนมันแข็งและไนไตรท์บางส่วนในผลิตภัณฑ์กุนเชียง พบว่าการใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงร้อยละ 5 และมันแข็ง ร้อยละ 20 ไม่มีการเติมไนไตรท์ ( สูตรที่ 1 ) กุนเชียงที่ได้จากสูตรดังกล่าวนี้จะมีคุณสมบัติต่าง ๆ ใกล้เคียงกับกุนเชียงสูตรควบคุมซึ่งมีมันแข็งเป็นองค์ประกอบร้อยละ 25 และมีการเติมผงเพรก ( ซึ่งมีไนไตรท์เป็นส่วนประกอบ ) ร้อยละ 0.1 ดังนั้นการที่กุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงสามารถนำมาใช้ทดแทนมันแข็งได้คือ ร้อยละ 5 โดยไม่มีการเติมสารเคมีในรูปผงเพรก ลงไป ทำให้กุนเชียงที่ผลิตได้ปลอดภัยจากสารเคมี และกุนเชียงที่ได้มีปริมาณไขมันลดลงรวมทั้งมีคะแนนการยอมรับจากผู้บริโภคไม่แตกต่างกันกับกุนเชียงที่ใช้เป็นสูตรควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5

# สรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 เพื่อทดแทนมันแข็งและไนไตรท์ในกุนเชียง โดยใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงปริมาณต่าง ๆ ดังต่อไปนี้ ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 ของน้ำหนักเนื้อหมูโดยเปรียบเทียบกับสูตรควบคุมที่มีการใช้มันแข็งร้อยละ 25 และไนไตรท์ร้อยละ 0.1 เป็นส่วนประกอบ วัดค่าสีของกุนเชียงสูตรต่าง ๆ พบว่าเมื่อใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงเพิ่มขึ้นทำให้กุนเชียงมีค่า L* ซึ่งแสดงความสว่างของกุนเชียง ค่า a* ซึ่งแสดงถึงสีแดงของกุนเชียง และ ค่า b* ซึ่งแสดงถึงสีเหลืองของกุนเชียง มีค่าเพิ่มขึ้นตามปริมาณวุ้นมะพร้าวที่เพิ่มขึ้น และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับกุนเชียงสูตรควบคุม

ค่า water activity ($a_w$) ของกุนเชียงสูตรที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวร้อยละ 5 – 25 มีค่าลดลงตามปริมาณวุ้นมะพร้าวที่ใช้ และมีค่าน้อยกว่ากุนเชียงสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ลักษณะทางเนื้อสัมผัสของกุนเชียงแต่ละสูตร พบว่า ค่าความแข็ง (Hardness ) ค่าการทนต่อการเคี้ยว ( Chewiness ) ค่าความสามารถในการรวมตัว ( Cohesiveness ) ค่าความยืดหยุ่น ( Springiness ) และ ค่าความเหนียว ( Gumminess ) มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงค่าเหล่านี้เพิ่มขึ้นและมีค่าสูงกว่ากุนเชียงสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของกุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดง พบว่า กุนเชียงที่ใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงในปริมาณร้อยละ 5 – 25 มีปริมาณไขมัน ลดลงเมื่อใช้วุ้นมะพร้าวสีแดงมากขึ้น และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับกุนเชียงสูตรควบคุม สำหรับปริมาณของความชื้น และ ปริมาณเถ้ามีแนวโน้มลดลงและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับกุนเชียงสูตรควบคุม ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของกุนเชียงที่ใช้ปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดง มีแนวโน้มลดลงตามปริมาณวุ้นมะพร้าวสีแดงเพิ่มขึ้น และมีความแตกต่างอย่างมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับกุนเชียงสูตรควบคุมจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า คะแนนที่ได้รับจาก รสชาติ ความเหนียว และการยอมรับโดยรวมไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$ ) กับกุนเชียงสูตรควบคุม และไม่พบเชื้อ *Clostridium perfringens* ในกุนเชียงทุกสูตร

ข้อเสนอแนะ

1. จากการตรวจเชื้อ *Clostridium perfringens* ไม่พบการเจริญของเชื้อชนิดนี้ ซึ่งไม่สามารถบอกได้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 หรือ วุ้นมะพร้าวสีแดง มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Clostridium perfringens*
2. ควรทำการตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ และจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศควบคู่กันไปด้วยในผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่ผลิตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง


จารุวรรณ์ ศิริพรรณพร ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ สิริพร สธนเสาวภาคย์ สร้อยทอง สายหยุดทอง .2544. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำกะทิ. *อาหาร*. 31 ( 3 ) : 167 – 168

เพลินใจ ตังคณะกุล . 2537. มังสวิรัติ : ทางเลือกใหม่เพื่อสุขภาพ . *อาหาร*. 24 ( 4 ): 240 – 246

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

บุษบา ยงสมิทธิ์ และ วรรณภา ทาบตลกา . 2528 . สีผสมอาหารจากมันสำปะหลังโดยเชื้อราโมแนสคัส. *วารสารวิทยาศาสตร์* , มก. 19 : 45 – 50 .

บุษบา ยงสมิทธิ์ วิเชียร ยงมานิตชัย สนทนา แสงจันทร์ และ ชุลี ชัยศรีสุข. 2531. การผลิตสีผสมอาหารจากมันสำปะหลังเพื่ออุตสาหกรรมการหมัก. รายงานการวิจัยเสนอต่อสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพฯ. 255 น.

บุษบา ยงสมิทธิ์. 2542.*จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี*. กรุงเทพ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภัทธรินทร์ เจิมจำรูญ รัตนาภรณ์ จำรงค์ศาสตร์ และ วิจิตรา สารพภา. 2547 . ศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงวุ้นมะพร้าวร่วมกับ *Monascus purpureus* TISTR 3090 ทดแทนไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง.โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วิภา สุโรจนะเมธากุล ตวิษา โลหะนะ พะยอม อัตถวิบูลย์กุล และ บุญมา นิยมวิทย์.2542. การใช้เซลลูโลสผงเป็นแหล่งของใยในผลิตภัณฑ์ชิพฟ่อนเค้กและคุกกี้.*อาหาร* 29 ( 1 ) : 17 – 20 .

สมคิด ธรรมรัตน์ . 2531 . การผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวและการแปรรูป. *อาหาร*. 18 ( 4 ) : 250 – 262

สมศรี ลิปิพัฒนวิทย์ . 2531 . การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับทำวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าวแก่. *อาหาร*. 18 ( 4 ) : 239 -248

กมล จันธิมา ภานุวัฒน์ จริงจามิกร วิภู อากาศ,2548 . การใช้ประโยชน์จากแครอทเพื่อผลิตกุนเชียงเพื่อสุขภาพ.โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 .

Babitha, S., Soccol, C, and Pandey, A. 2006. Jackfruit Seed – A Novel Substrate for the Production of *Monascus* Pigments through Solid-State Fermentation. *Food Technology. Biotechnology*. 44 (4) : 465–471 .

Ebner , H. 1982 . *Vineger* .in G . Reed ( ed ) . Prescott and Dunn 's Industrial Microbiology . 4th . Reed . AVI publishing com., Inc Wesport , Connecticut.

Fabre , C.E ., Santerre , A.L., Lore , M.O ., Banerian , R.o., Parcilleux , A.R., Goma , G. and Blanc , P.J. (1993) . Production and food Application of the pigment of *Monascus rubber. Journal of Food Science* 58, 1099 – 1110 .

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

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.

Line, Kuo - Wei and Chao, Jen – Yu . 2001. Quality characteristics of reduced fat Chinese style sausage as related to Chitosan ' s molecular weight .*Meat science*.59 (4): 343 – 351 .

Moll , H.R. and Farr , D.R. 1976. Red pigment and process US.Patent No.39933789, November 1976.

Montenegro, H.M. 1985 . Coconut and its product. *Journal of the American oil Chemists* . 62( 2 ) :259 – 261

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

Sabater-Vilar M., Roel F.M. and Fink-Gremmels J. 1999. Mutagenicity of commercial fermentation products and the role of citrinin contamination. Mutation Research 444 ; 7-16

Sallam ,K.I. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control* . 18(5): 566-575

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

Sheu , F., Wang , C.L. and Shyu , Y.T. 2000 . Fermentation of *Monascus purpureus* on Bacterial Cellulose-nata and the colour Stability of Monascus-nata Complex . *Journal of Food Science* . 65 (2) : 342-345.

Tan, Fa – Jui ., Liao , Fang – Yi ., Jhan ,Yi – Jing .,Liu ,Deng – Cheng. 2007. Effect of replacing pork backfat with yams ( *Dioscorea alata* ) on quality characteristic of Chinese sausage . *Journal of Food Engineering* 79 , 858 – 863 .

Yoshinaga, F ., Thnouchi, 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. *Bioscience . Biotechnology . Biochemistry*. 61 ( 2 ) : 219 – 224.

www.botany.utexas.edu/facstaff/facpages/mbrown/movies/af9.jpg

www.botany.utexas.edu/facstaff/facpages/mbrown/movies/af10.jpg

www.e-learning.sg.or.th/ac5_9/pic/banner.jpg

www.e-learning.sg.or.th/ac5_9/picture/recujpg.jpg

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

www.ifr.ac.uk/SPM/SPMImages/acetan34.gif

www.ist.cmu.ac.th/riseat/images/newsheadbg.gif

www.regina.ac.th/elearning/scied/know/cont7.html

www.semejelly.com/nata nutrition.asp

http://techno.msu.ac.th/fn/ecenter/fad/images/BHA.gif

http://techno.msu.ac.th/fn/ecenter/fad/images/tocopherol.gif

http://techno.msu.ac.th/fn/ecenter/fad/images/g.gif

www.vscht.cz/kch/galerie/obrazky/houby/skrob-7.gif

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก .

## อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์และสารเคมี

**ก1. สูตรอาหารน้ำมะพร้าว**

| | | |
|---|---|---|
| น้ำมะพร้าวแก่ | 1,000 | มิลลิลิตร |
| น้ำตาลซูโครส | 50 | กรัม |
| แอมโมเนียมซัลเฟต | 1 | กรัม |
| กรดอะซิติก | 10 | มิลลิลิตร |

**ก2. สูตรอาหาร Potato Dextrose Agar ( PDA)**

| | | |
|---|---|---|
| มันฝรั่งปอกเปลือกและหั่น | 200 | กรัม |
| กลูโคส | 20 | กรัม |
| ผงวุ้น | 15 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1000 | มิลลิลิตร |

1. ต้มมันฝรั่งเป็นเวลา ½ - 1 ชั่วโมงในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร
2. กรองเอาน้ำใสเติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร
3. เติมกลูโคสและผงวุ้นแล้วต้มให้ละลาย
4. นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

**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 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | |
|---|---|---|
| $MnSO_4.7H_2O$ | 0.003 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1,000 | มิลลิลิตร |

**ก4. สารละลายเปปโตน ( Peptone solution )**

| | | |
|---|---|---|
| Peptone | 10 | กรัม |
| NaCl | 0.5 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1,000 | มิลลิลิตร |

**ก5. 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 | |

**ก6. สารละลาย HCL 1 M**

| | | |
|---|---|---|
| สารละลาย HCL | 82.33 | มิลลิลิตร |
| น้ำกลั่น | 1,000 | มิลลิลิตร |

**ก7. สารละลาย 30% NaOH**

| | | |
|---|---|---|
| สารละลาย NaOH | 30 | มิลลิลิตร |
| น้ำกลั่น | 100 | มิลลิลิตร |

**ก8. สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 2**

| | | |
|---|---|---|
| กรอบอริก | 2 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 100 | มิลลิลิตร |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ก 9. สารละลายอินดิเคเตอร์**

| | | |
|---|---|---|
| Bromocresol green | 0.1 | กรัม |
| เอทานอล | 100 | มิลลิลิตร |

**ก 10. คะตะลิสต์ผสม**

| | | |
|---|---|---|
| โซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ | 48 | กรัม |
| คอปเปอร์ซัลเฟต | 1.75 | กรัม |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ข.

## แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่.....

กรุณาให้คะแนนคุณลักษณะต่างๆ ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์

คำแนะนำ

1. การชิมระหว่างตัวอย่าง ผู้ชิมต้องล้างตัวอย่างเดิมออกจากปากด้วยน้ำสะอาด เตรียมให้ก่อนการชิมตัวอย่างใหม่เสมอ
2. การให้คะแนนจะเป็นการให้คะแนนความชอบแบบ 9 – point Hedonic Scale โดย

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

| ตัวอย่าง | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **คุณลักษณะ** | | | | | | |
| ลักษณะปรากฏ | ..... | ..... | ..... | ..... | ..... | ..... |
| สี | ..... | ..... | ..... | ..... | ..... | ..... |
| กลิ่น | ..... | ..... | ..... | ..... | ..... | ..... |
| รสชาติ | ..... | ..... | ..... | ..... | ..... | ..... |
| ความเหนียว | ..... | ..... | ..... | ..... | ..... | ..... |
| การยอมรับโดยรวม | ..... | ..... | ..... | ..... | ..... | ..... |

ข้อเสนอแนะ.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ค.

# วิธีการวิเคราะห์

**ค1. ความชื้น ( AOAC, 1995 )**

ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ในอะลูมิเนียมแคน ( moisture can ) ที่ผ่านการอบแห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 – 150 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่นำมา คำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้น

การคำนวณ

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

**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 สภาวะนี้เรียกว่า Equilibrium Relative Humidity ( ERH ) เมื่อหารด้วย 100 ก็จะได้ค่า $a_w$ ( water activity ) ตามที่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ค3. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า ( AOAC,2000 )**

3.1 นำครูซิเบิลไปอบในเตาเผา ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก แล้วจดบันทึกน้ำหนักไว้

3.2 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างอาหาร 2 – 5 กรัม ( ทราบน้ำหนักแน่นอน ) ใส่ในกระดาษกรองไร้เถ้าใส่ลงในครูซิเบิล

3.3 นำครูซิเบิลที่มีตัวอย่างไปเผาบน Hot plate ใน Hood จนหมดควัน

3.4 นำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาวหรือสีเทา (ก่อนเอาออกจากเตาเผาควร ให้อุณหภูมิลดลงต่ำกว่า 130 องศาเซลเซียส ) ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วนำไปชั่งน้ำหนักและจดบันทึก

วิธีคำนวณ

$$\text{ร้อยละของเถ้า} = \frac{(W_2 - W_1)}{W} \times 100$$

W คือ น้ำหนักตัวอย่างอาหาร เป็นกรัม

$W_1$ คือ น้ำหนักครูซิเบิล เป็นกรัม

$W_2$ คือ น้ำหนักครูซิเบิลและเถ้า เป็นกรัม

**ค4. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ( AOAC , 1995 )**

4.1 ชั่งตัวอย่างอาหารมาประมาณ 1 กรัม ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนใส่ใน digestion tube

4.2 เติม catalyst ลงไป 2 กรัม เติมกรดกำมะถันเข้มข้นลงไป 25 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ และใส่ boiling chips 2 – 3 เม็ด

4.3 นำ digestion tube มาต่อเข้ากับเข้ากับชุดเครื่องย่อย ทำการย่อยที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส ย่อยโปรตีนจนได้สารละลายสีฟ้าใส

4.4 รอให้สารละลายสีฟ้าเย็นและหมดควันของไอกรดแล้วค่อย ๆ เติม น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร นำหลอดค่อเข้ากับชุดเครื่องกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำขวดรูปชมพู่ที่บรรจุสารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่มีการหยดสารอินดิเคเตอร์ 2 – 3 หยดเขย่าให้ดีก่อนนำไปวางใต้เครื่องกลั่น โดยให้ปลายแท่งแก้วของชุดกลั่นจุ่มอยู่ในสารละลาย

4.6 กลั่นเป็นเวลา 3 – 5 นาที แอมโมเนียที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาจะผ่าน condenser ลงสู่สารละลายบอริก สารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงน้ำเงิน ไปเป็นสีเขียว – น้ำเงิน

4.7 นำ flask ที่กลั่นเสร็จแล้วมาไตเตรทกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 N จนสีเขียว – น้ำเงิน เปลี่ยนเป็นใสและไม่มีสี ( อาจไตเตรทจนเป็นสีชมพู ลบปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกออก 0.02 มิลลิลิตร จะสังเกต end point ได้ง่ายขึ้น เนื่องจากสีชมพูจะเข้มขึ้นเมื่อหยดไฮโดรคลอริกเกินเพียงหยดเดียว

4.8 ทำ blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง ( ทำตามขั้นตอนที่ 1 – 7 )

4.9 คำนวณเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน

$$\% \text{ ไนโตรเจน} = \frac{(A - B) \times CD \times 100}{E \times 100}$$

$$\% \text{ โปรตีน} = (\% \text{ ไนโตรเจน}) \times 6.25$$

เมื่อ

A = มล. ของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง

B = มล. ของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับ blank

C = ความเข้มข้น ( N ) ของกรดไฮโดรคลอริก

D = 14

E = น้ำหนักของตัวอย่าง

**ค5. การวิเคราะห์ปริมาณไขมันปรับปรุงจาก ( AOAC , 1995 )**

5.1 นำบีกเกอร์หาไขมันขนาด 250 มิลลิลิตร ไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวางในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ไว้ จากนั้นทำการอบบีกเกอร์ซ้ำอีกครั้งจนกว่าจะได้น้ำหนักของบีกเกอร์ที่แน่นอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ชั่งตัวอย่างอาหารมา 3 กรัม ให้ได้น้ำหนักของตัวอย่างที่แน่นอน ห่อด้วยกระดาษกรองแล้วนำไปใส่ลงไปใน thimble ปิดด้วยสำลีที่สกัดไขมันออกแล้ว

5.3 นำ thimble ใส่ใน extraction unit ของ Soxhlet apparatus เติมปิโตเลียมอีเทอร์ในบีกเกอร์ให้ปริมาณเพียงพอที่จะให้เกิดการสกัดอย่างสมบูรณ์ ประมาณ 2 ชั่วโมง

5.4 เมื่อครบกำหนดแล้วนำเอาบีกเกอร์ที่รองสารสกัดไขมันไประเหยเอาปิโตเลียมอีเทอร์ออกให้หมดแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

5.5 ปล่อยให้เย็นในเดซิเคเตอร์ชั่งบีกเกอร์ที่มีไขมันแล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไขมัน

**วิธีคำนวณ**

$$\text{ปริมาณไขมัน} = \frac{W_3 - W_2}{W_1} \times 100$$

$W_1$ = น้ำหนักตัวอย่างเป็น กรัม

$W_2$ = น้ำหนักบีกเกอร์ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน เป็น กรัม

$W_3$ = น้ำหนักบีกเกอร์หลังจากสกัดไขมันและทำให้เย็น เป็นกรัม

**ค6. การหาค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ(Water holding capacity ) (Dagbjartsson และ Solberg ,1972)**

6.1 ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม นำตัวอย่างใส่ลงในหลอดเซนติฟิวส์ ขนาด 50 มิลลิลิตร

6.2 ปิเปตน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดเซนติฟิวส์ที่มีตัวอย่าง จากนั้นนำหลอดเซนติฟิวส์ไปชั่งน้ำหนักแล้วจดค่าน้ำหนักของหลอดเซนติฟิวส์

6.3 ผสมตัวอย่างและน้ำให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง vortex เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2000 g ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

6.4 จากนั้นเทส่วนใสทิ้ง นำหลอดเซนติฟิวส์ ไปชั่งน้ำหนัก แล้วจดบันทึกน้ำหนักของหลอดเซนติฟิวส์ไว้

6.5 นำน้ำหนักหลอดเซนติฟิวส์ก่อนและหลังเซนติฟิวส์ไปคำนวณหาค่า Water holding capacity

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**วิธีการคำนวณ**

$$\text{Water holding capacity (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนปั่นเหวี่ยง - น้ำหนักหลังปั่นเหวี่ยง}}{\text{น้ำหนักก่อนปั่นเหวี่ยง}} \times 100$$

**ค7. การวัดเนื้อสัมผัสของกุนเชียงด้วยเครื่อง Texture Analyzer ( ดัดแปลงจากวิธี Bourne,1982 และ SMS,1993 )**

7.1 ใช้มีดตัดกุนเชียงให้มีขนาด ชิ้นละ 1 $cm^3$

7.2 เลือกใช้โปรแกรม Texture Profile Analysis (TPA) จากนั้นกำหนดความเร็วหัววัดก่อนทดสอบ โดยกำหนดความเร็วหัววัดระหว่างทดสอบ เท่ากับ 2 มิลลิเมตรต่อวินาที

7.3 ความเร็วหัววัดหลังการทดสอบเท่ากับ 10 มิลลิเมตรต่อวินาที กดตัวอย่างโดยใช้หัวกดรูปทรงกระบอกตันเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร กดตัวอย่างให้ยุบลงร้อยละ 50 ของส่วนสูง

7.4 ทำการกดตัวอย่าง 2 ครั้ง หน่วยที่ใช้วัดเป็นกิโลกรัม คำนวณโดยเครื่อง computer

- ค่าความแข็ง ( Hardness ) หน่วยเป็นนิวตัน ( N )
- ค่าความยืดหยุ่น ( Springiness ) หน่วยเป็นนิวตัน.มิลลิเมตร ( N.mm )
- ค่าความเหนียว ( Gumminess ) หน่วยเป็น gf
- ค่าการทนต่อการเคี้ยว ( Chewiness ) หน่วยเป็น นิวตัน.มิลลิเมตร ( N . mm )
- ค่าความสามารถในการเกาะรวมตัวกัน ( Cohesiveness ) หน่วยเป็น นิวตัน. มิลลิเมตร ( N.mm )

**ค8. การตรวจหาเชื้อ *Clostridium perfringens* ( AOAC, 1995 )**

8.1 สุ่มตัวอย่างอาหารมาสูตรละ 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ เทสารละลายเปปโตน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ( พีเอช 7.0±0.1 ) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร เพื่อให้สารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1 : 10

8.2 นำตัวอย่างอาหารแต่ละสูตรไปทำการตีป่นให้ละเอียดโดยใช้เครื่องดีป่นอาหารเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างอาหาร 3 ระดับ คือ $10^{-1}$ $10^{-2}$ และ $10^{-3}$ โดยใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารแต่ละความเจือจางใส่ลงในหลอด cooked meat ( CM ) โดยใส่ตัวอย่างอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลอดละ 1 มิลลิลิตร ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

8.3 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 18 – 24 ชั่วโมง

8.4 ใช้ลูบจุ่มเชื้อจากหลอด CM medium โดยพยายามเขี่ยเชื้อจากก้นหลอดของ CM mediumนำมาถ่ายเพาะเชื้อบน SPS agar

8.5 คว่ำจานเพาะเชื้อนำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปใส่ไว้ใน anaerobic jar เพื่อขจัดออกซิเจน 8.6 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 18 – 24 ชั่วโมง

8.7 ตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ให้ลักษณะโคโลนีสีดำ นำมาทดสอบยืนยัน

8.8 ถ่ายเชื้อลง fluid thioglycollate บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

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

8.8.2 stap ลง lactose gelatin medium บ่มที่ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง *C. perfringens* สามารถเฟอร์เมนท์แลคโตส เกิดฟองก๊าซ และมีกรดเกิดขึ้น ทำให้อาหารเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง และมีเอนไซม์ย่อยเจลาตินได้ โดยแช่หลอดในน้ำแข็งประมาณ 30 วินาที เจลาตินที่ถูกย่อยสลายแล้วจะไม่จับตัวเป็นก้อนแข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ง.

# การวิเคราะห์ทางสถิติ

## ง1. ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ และทางเคมีในผลิตภัณฑ์กุนเชียง

### ง.1.1 วิเคราะห์ค่า L* a* และ b* โดยวิธี Dancan 's New Multiple Range Test (DMRT)

**ANOVA**

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| L | Between Groups | 225.947 | 5 | 45.189 | 77.090 | .000 |
| | Within Groups | 7.034 | 12 | .586 | | |
| | Total | 232.981 | 17 | | | |
| a | Between Groups | 23.555 | 5 | 4.711 | 61.315 | .000 |
| | Within Groups | .922 | 12 | .077 | | |
| | Total | 24.477 | 17 | | | |
| b | Between Groups | 21.815 | 5 | 4.363 | 55.030 | .000 |
| | Within Groups | .951 | 12 | .079 | | |
| | Total | 22.766 | 17 | | | |

Duncan

**L***

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 |
| 1 | 3 | 35.6700 | | | | |
| 2 | 3 | | 38.0400 | | | |
| 3 | 3 | | | 40.3833 | | |
| 4. | 3 | | | | 43.1367 | |
| 5 | 3 | | | | 44.0433 | |
| 6 | 3 | | | | | 45.9167 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .173 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**a***

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 1 |
| 2 | 3 | 6.4700 | | |
| 3. | 3 | 6.5233 | | |
| 1 | 3 | | 7.8900 | |
| 4 | 3 | | 7.9667 | |
| 5 | 3 | | | 9.1267 |
| 6 | 3 | | | 9.4500 |
| Sig. | | .818 | .741 | .179 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**b***

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| 1 | 3 | .4700 | | | |
| 2 | 3 | | 1.3500 | | |
| 3 | 3 | | 1.6067 | | |
| 4 | 3 | | 1.6767 | | |
| 5 | 3 | | | 2.5100 | |
| 6 | 3 | | | | 4.0033 |
| Sig. | | 1.000 | .201 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ง1.2 การวิเคราะห์ค่า water activity ( $a_w$ )**

**ANOVA**

**water activity ( $a_w$ )**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .001 | 5 | .000 | 168.757 | .000 |
| Within Groups | .000 | 12 | .000 | | |
| Total | .001 | 17 | | | |

**water activity ( $a_w$ )**

Duncan

| trement | N | Subset for alpha = .05 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 |
| 6 | 3 | .8317 | | | | |
| 5 | 3 | | .8337 | | | |
| 4 | 3 | | | .8363 | | |
| 3 | 3 | | | | .8400 | |
| 2 | 3 | | | | | .8463 |
| 1 | 3 | | | | | .8477 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .089 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ง1.3 การวิเคราะห์ค่าเนื้อสัมผัสของกุนเชียงด้วยเครื่อง Texture Analyzer**

**ANOVA**

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Hardness | Between Groups | 276.490 | 5 | 55.298 | 173.479 | .000 |
| | Within Groups | 3.825 | 12 | .319 | | |
| | Total | 280.315 | 17 | | | |
| Chewiness | Between Groups | 233.005 | 5 | 46.601 | 16.893 | .000 |
| | Within Groups | 33.103 | 12 | 2.759 | | |
| | Total | 266.109 | 17 | | | |
| Cohesiveness | Between Groups | .027 | 5 | .005 | 4.529 | .015 |
| | Within Groups | .014 | 12 | .001 | | |
| | Total | .041 | 17 | | | |
| springness | Between Groups | 59.323 | 5 | 11.865 | 16.958 | .000 |
| | Within Groups | 8.396 | 12 | .700 | | |
| | Total | 67.719 | 17 | | | |
| Gumminess | Between Groups | 37.482 | 5 | 7.496 | 70.686 | .000 |
| | Within Groups | 1.273 | 12 | .106 | | |
| | Total | 38.755 | 17 | | | |

**Hardness**

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| 1 | 3 | 4.2720 | | | |
| 2 | 3 | | 8.0100 | | |
| 3 | 3 | | | 12.6007 | |
| 5 | 3 | | | | 14.4753 |
| 4 | 3 | | | | 14.4783 |
| 6 | 3 | | | | 14.4803 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .992 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Chewiness**

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| 1 | 3 | 1.5447 | | | |
| 2 | 3 | | 7.6650 | | |
| 3 | 3 | | 8.2533 | 8.2533 | |
| 6 | 3 | | | 11.1493 | 11.1493 |
| 5 | 3 | | | | 11.6470 |
| 4 | 3 | | | | 11.9427 |
| Sig. | | 1.000 | .672 | .054 | .588 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Cohesiveness**

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 |
| 1 | 3 | .1603 | |
| 3 | 3 | | .2307 |
| 2 | 3 | | .2327 |
| 4 | 3 | | .2430 |
| 5 | 3 | | .2573 |
| 6 | 3 | | .2880 |
| Sig. | | 1.000 | .087 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**springiness**

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| 1 | 3 | .8527 | | | |
| 2 | 3 | | 3.9723 | | |
| 3 | 3 | | 4.2420 | 4.2420 | |
| 6 | 3 | | | 5.7187 | 5.7187 |
| 5 | 3 | | | | 5.9520 |
| 4 | 3 | | | | 6.0930 |
| Sig. | | 1.000 | .700 | .052 | .612 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Gumminess**

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| 1 | 3 | .7867 | | | |
| 2 | 3 | | 2.0460 | | |
| 3 | 3 | | | 3.2440 | |
| 4 | 3 | | | | 4.3933 |
| 5 | 3 | | | | 4.5700 |
| 6 | 3 | | | | 4.6400 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .395 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ง1.4 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน**

**ANOVA**

protein

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 4.029 | 5 | .806 | 14504.020 | .000 |
| Within Groups | .001 | 12 | .000 | | |
| Total | 4.030 | 17 | | | |

**protein**

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 |
| 1 | 3 | 1.5733 | | | | | |
| 2 | 3 | | 1.6833 | | | | |
| 3 | 3 | | | 1.7567 | | | |
| 4 | 3 | | | | 2.2000 | | |
| 5 | 3 | | | | | 2.5600 | |
| 6 | 3 | | | | | | 2.8433 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ง1.5 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน**

**ANOVA**

fat

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 650.021 | 5 | 130.004 | 557161.029 | .000 |
| Within Groups | .003 | 12 | .000 | | |
| Total | 650.024 | 17 | | | |

**fat**

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 |
| 6 | 3 | 8.3067 | | | | | |
| 5 | 3 | | 10.0767 | | | | |
| 4 | 3 | | | 13.1067 | | | |
| 3 | 3 | | | | 19.5667 | | |
| 2 | 3 | | | | | 21.9567 | |
| 1 | 3 | | | | | | 24.1267 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ง1.6 การวิเคราะห์ความชื้น**

**ANOVA**

ความชื้น

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 1217.712 | 5 | 243.542 | 1217711.828 | .000 |
| Within Groups | .002 | 12 | .000 | | |
| Total | 1217.714 | 17 | | | |

**ความชื้น**

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 |
| 5 | 3 | 32.6667 | | | | | |
| 6 | 3 | | 33.1600 | | | | |
| 4 | 3 | | | 35.4300 | | | |
| 3 | 3 | | | | 36.2667 | | |
| 2 | 3 | | | | | 36.9433 | |
| 1 | 3 | | | | | | 56.5700 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ง1.7 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า**

**ANOVA**

เถ้า

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .897 | 5 | .179 | 4613.286 | .000 |
| Within Groups | .000 | 12 | .000 | | |
| Total | .897 | 17 | | | |

เถ้า

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 |
| 6 | 3 | 2.0033 | | | | | |
| 5 | 3 | | 2.1467 | | | | |
| 4 | 3 | | | 2.1667 | | | |
| 3 | 3 | | | | 2.3400 | | |
| 2 | 3 | | | | | 2.4767 | |
| 1 | 3 | | | | | | 2.6700 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ง1.8 การวิเคราะห์ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity)**

**ANOVA**

**ความสามารถในการอุ้มน้ำ**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 107.183 | 5 | 21.437 | 137806.600 | .000 |
| Within Groups | .002 | 12 | .000 | | |
| Total | 107.185 | 17 | | | |

**ความสามารถในการอุ้มน้ำ**

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 |
| 6 | 3 | 10.1300 | | | | | |
| 4 | 3 | | 11.2800 | | | | |
| 5 | 3 | | | 12.3067 | | | |
| 3 | 3 | | | | 13.8733 | | |
| 2 | 3 | | | | | 14.8567 | |
| 1 | 3 | | | | | | 17.5267 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ง1.9 การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส**

**ANOVA**

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| touch | Between Groups | 11.942 | 5 | 2.388 | 1.116 | .356 |
| | Within Groups | 244.050 | 114 | 2.141 | | |
| | Total | 255.992 | 119 | | | |
| appear | Between Groups | 27.100 | 5 | 5.420 | 2.100 | .070 |
| | Within Groups | 294.200 | 114 | 2.581 | | |
| | Total | 321.300 | 119 | | | |
| color | Between Groups | 33.900 | 5 | 6.780 | 2.498 | .035 |
| | Within Groups | 309.400 | 114 | 2.714 | | |
| | Total | 343.300 | 119 | | | |
| smell | Between Groups | 23.175 | 5 | 4.635 | 2.182 | .061 |
| | Within Groups | 242.150 | 114 | 2.124 | | |
| | Total | 265.325 | 119 | | | |
| taste | Between Groups | 13.575 | 5 | 2.715 | .969 | .440 |
| | Within Groups | 319.350 | 114 | 2.801 | | |
| | Total | 332.925 | 119 | | | |
| over | Between Groups | 8.800 | 5 | 1.760 | .778 | .568 |
| | Within Groups | 258.000 | 114 | 2.263 | | |
| | Total | 266.800 | 119 | | | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คุณภาพทางลักษณะปรากฏ

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 |
| 2 | 20 | 5.2500 | |
| 3 | 20 | 5.8500 | 5.8500 |
| 1 | 20 | 6.3000 | 6.3000 |
| 4 | 20 | 6.3000 | 6.3000 |
| 6 | 20 | | 6.5500 |
| 5 | 20 | | 6.6500 |
| Sig. | | .060 | .166 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

## คุณภาพทางด้านสี

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 |
| 2 | 20 | 5.2500 | |
| 3 | 20 | 5.8000 | 5.8000 |
| 4 | 20 | 5.9500 | 5.9500 |
| 5 | 20 | | 6.5500 |
| 6 | 20 | | 6.6000 |
| 1 | 20 | | 6.7500 |
| Sig. | | .209 | .107 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คุณภาพทางด้านกลิ่น

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 1 |
| 5 | 20 | 5.6500 | |
| 6 | 20 | 5.7500 | |
| 4 | 20 | 5.9000 | 5.9000 |
| 2 | 20 | 6.3500 | 6.3500 |
| 3 | 20 | 6.5500 | 6.5500 |
| 1 | 20 | | 6.8500 |
| Sig. | | .084 | .061 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

## คุณภาพทางด้านรสชาติ

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | 1 | 1 |
| 1 | 20 | 5.6000 |
| 2 | 20 | 5.7500 |
| 4 | 20 | 5.9000 |
| 5 | 20 | 6.0000 |
| 6 | 20 | 6.3000 |
| 3 | 20 | 6.6000 |
| Sig. | | .101 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คุณภาพทางด้านความเหนียว

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | 1 | 1 |
| 2 | 20 | 4.9000 |
| 1 | 20 | 5.3000 |
| 5 | 20 | 5.6000 |
| 3 | 20 | 5.7500 |
| 4 | 20 | 5.7500 |
| 6 | 20 | 5.7500 |
| Sig. | | .112 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

## คุณภาพทางด้านการยอมรับโดยรวม

Duncan

| treatment | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | 1 | 1 |
| 3 | 20 | 5.5000 |
| 6 | 20 | 5.6500 |
| 4 | 20 | 5.8500 |
| 5 | 20 | 5.9500 |
| 1 | 20 | 6.2000 |
| 2 | 20 | 6.2500 |
| Sig. | | .174 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้