สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากกระเจี๊ยบเพื่อทดแทนการใช้ไนไตรท์ที่มีผลต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์แหนม

(Effect of Roselle Extract on Chemical and Microbiological Quality of Nham)

จัดทำโดย

นาย ชนินทร์	จินตนาวงศ์	45040186
นาย ระพีพันธ์	จิตต์อักษร	45040874
นาย วรรัตน์	รัตนชงค์	45040883

ปพ.
ส154ก
2548
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....96831
วัน,เดือน,ปี.....

รายงานปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากกระเจี๊ยบเพื่อทดแทนการใช้ไนไตรท์ที่มีผลต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์แหนม

(Effect of Roselle Extract on Chemical and Microbiological Quality of Nham)

จัดทำโดย

นาย ชนินทร์ จินตนาวงศ์ 45040186
นาย ระพีพันธ์ จิตต์อักษร 45040874
นาย วรรัตน์ รัตนชงค์ 45040883

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..../...../..... อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

( )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาย ชนินทร์ จินตนาวงษ์ นาย ระพีพันธ์ จิตต์อักษร และ นาย วรรัตน์ รัตนชงค์ . 2548 : การศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากกระเจี๊ยบเพื่อทดแทนการใช้ไนไตร์ทที่มีผลต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์แหนม (Effect of Roselle Extract on Chemical and Microbiological Quality of Nham) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์

บทคัดย่อ

จากการศึกษาพบว่าดอกกระเจี๊ยบแดงเป็นแหล่งของสารพฤกษเคมีหลายชนิดที่สำคัญ ได้แก่ แอนโธไซยานิน กรดซิตริก ซึ่งมีรายงานว่ามีการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ โดยยังมีกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น กรดซิตริก ซึ่งมีค่า pH ต่ำ และมีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด ซึ่งจากการทดลองวัดคุณสมบัติทางเคมีของแหนมกระเจี๊ยบโดยเปรียบเทียบกับแหนมไนไตรท์โดยมีการวัดเปอร์เซนต์กรดแลกติค pH ของแหนมปริมาณเชื้อ LAB (Lactic Acid Bacteria) ทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค และ การยังยั้ง *Clostridium perfringens* ในการทดลองพบว่าแหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบ จะมี เปอร์เซนต์กรดมากกว่าและมี pH ต่ำกว่า แหนมที่ใส่สารโซเดียมไนไตรท์ อีกทั้งยังมีปริมาณเชื้อ LAB มากกว่า แหนมที่ใส่สารโซเดียมไนไตรท์ เป็นผลให้แหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบมีความเปรี้ยวมากกว่า ส่วนผลทดลองทางประสาทสัมผัสของแหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบ เปรียบเทียบกับแหนมที่ใส่สารประกอบโซเดียมไนไตรท์ พบว่า ผู้ทดสอบยังคงให้การยอบรับแหนมที่ใส่ไนไตรท์มากกว่าแหนมที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบ โดยเฉพาะในด้านเนื้อสัมผัส สี กลิ่นรส และความชอบโดยรวม แต่ความเปรี้ยวผู้ทดสอบระบุว่าแหนมที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบมีความเปรี้ยวมากกว่า สำหรับการทดลองศึกษาผลของสารสกัดกระเจี๊ยบต่อ *Cl.perfringens* ในหลอด cooked meat สารสกัดกระเจี๊ยบ เทียบกับ ไนไตรท์ พบว่า ไม่สามารถยับยั้ง *Cl.perfringens* ได้ใน 10 ชม. เมื่อเทียบกับไนไตรท์ ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารสกัดกระเจี๊ยบที่นำมาทำการทดลองในขั้นตอนนี้อาจมีการเสื่อมสลายของสารยับยั้งเนื่องจากสารสกัดที่ใช้ในการทดลองดังกล่าวเก็บไว้เป็นเวลานานกว่า 4 เดือน

ชนินทร์ จินตนาวงษ์
ลายมือชื่อนักศึกษา

ระพีพันธ์ จิตต์อักษร
ลายมือชื่อนักศึกษา

วรรัตน์ รัตนชงค์
ลายมือชื่อนักศึกษา

(ผศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์)

18 / 6 / 49
วัน / เดือน / ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากผศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ผู้ซึ่งให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา และตรวจสอบแก้ไขรายงานปัญหาพิเศษให้เสร็จสมบูรณ์ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณพี่ ๆ นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ช่วยแนะนำรวมทั้งให้ข้อมูลอ้างอิงที่เกี่ยวข้องเกี่ยวกับรายงานปัญหาพิเศษฉบับนี้

ขอขอบคุณเพื่อนนักศึกษาปริญญาตรี ที่ให้กำลังใจและช่วยเหลือด้วยดีมาตลอดขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ และคุณแม่ที่ให้กำลังใจมาโดยตลอด

ท้ายสุดนี้ ผู้จัดทำหวังว่ารายงานปัญหาพิเศษเล่มนี้คงเป็นประโยชน์ได้ไม่มากก็น้อยสำหรับผู้ที่สนใจศึกษา

คณะผู้จัดทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญภาพ	จ
บทที่1 บทนำ	1
บทที่2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	2
2.1 แหนม	2
2.2 กระเทียม	5
2.3 กระเจี๊ยบแดง	6
2.4 องค์ประกอบและสารเคมีในดอกกระเจี๊ยบแดง	6
2.5 รายงานวิจัยของสารต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในกระเจี๊ยบแดง	7
2.6 การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	8
2.7 ไนไตรท์ในเนื้อสัตว์	11
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการทดลอง	15
3.1 วัสดุอุปกรณ์	15
3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการทดลอง	17
บทที่ 4 ผลการทดลอง	21
4.1 ผลการวิเคราะห์ค่าพีเอชและเปอร์เซ็นต์กรด แลกติด	21
4.2 การวิเคราะห์เชื้อ *Lacticacid Bacteria* (LAB)	23
4.3 การวิเคราะห์เชื้อ*Cl . perfringens*	25
4.4 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส	26
สรุปผลการทดลอง	27
เอกสารอ้างอิง	28
ภาคผนวก ก	30
ภาคผนวก ข	31
ภาคผนวก ค	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 9
ผลขนาดของโซนใสของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง (Roselle extract) ต่อเชื้อจุลินทรีย์

ตารางที่ 3.1 18
แสดงส่วนผสมในการผลิตแหนม

ตารางที่ 4.1 21
เปอร์เซ็นต์กรดแลคติคของแหนมที่หมักโดยใช้สารสกัดจากกระเจี๊ยบเทียบกับไนไตรท์

ตารางที่ 4.2 22
ค่า pH ของแหนมที่หมักโดยใช้สารสกัดจากกระเจี๊ยบเทียบกับไนไตรท์

ตารางที่ 4.3 24
เปรียบเทียบปริมาณ (LAB)ที่พบในแหนมที่หมักโดยใช้สารสกัดจากกระเจี๊ยบเทียบกับ ไนไตรท์

ตารางที่ 4.4 25
เปรียบเทียบปริมาณ เชื้อ *Cl .perfringens* ที่พบในอาหาร BHI เมื่อเวลาผ่านไปโดยใช้สารสกัดจากกระเจี๊ยบ เทียบกับ ไนไตรท์ และหลอดควบคุม

ตารางที่ 4.5 28
คะแนนความชอบจากการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของแหนมที่เติมสา สกัดกระเจี๊ยบเทียบกับไนไตรท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1 10
ผลของโซนใสของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงต่อแบคทีเรียทดสอบ
ที่มา: ศุภร อังศุจินดา (2547)

ภาพที่ 4.1 22
เปอร์เซ็นต์กรดแลคติคของแหนมที่ใส่สารสกัดกระเจี๊ยบกับแหนมที่ใส่ไนไตรท์ 100 ppm

ภาพที่ 4.2 23
ค่า pH แหนมที่ใส่สารสกัดกระเจี๊ยบกับแหนมที่ใส่ไนไตรท์ 100 ppm

ภาพที่ 4.3 24
ปริมาณแบคทีเรียแลกติคในแหนมที่หมักด้วยสารสกัดกระเจี๊ยบเทียบกับแหนมที่ใช้ไนไตรท์100 ppm

ภาพที่ 4.4 26
เปรียบเทียบปริมาณ เชื้อ *Cl .perfringens* ที่พบในอาหาร BHI เมื่อเวลาผ่านไปโดยใช้สาร
สกัดจากกระเจี๊ยบเทียบกับ ไนไตรท์ และหลอดควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า สารเคมีต่าง ๆ ที่ตกค้างภายในอาหารหลายชนิดนอกจากที่จะทำให้เกิดคุณสมบัติทีดีของอาหาร แต่ทว่าสารเคมีเหล่านั้นก็สามารถสะสมในร่างกายเมื่อบริโภคในปริมาณที่มากและต่อเนื่อง ซึ่งสารเคมีที่จะกล่าวถึงนี้คือ โซเดียมไนไตรท์ซึ่งมักใช้ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ ทั่วไปนิยมใช้เพื่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสเช่น สี กลิ่น รส นอกจากนี้โซเดียมไนไตรต์ยังสามมารถนำมาใช้ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Cl. botulinum* , *Cl. Perfingens* , *Salmonella anatum* เพื่อลดเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทำให้อาหารปลอดภัยและเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อสัตว์ทำให้เนื้อสัตว์เก็บได้นานขึ้น

แต่การใช้โซเดียมไนไตรต์ ที่มากเกินไปก็มีอันตรายเนื่องจากสารประกอบไนไตรต์ที่ตกค้างจะทำให้เกิด สารประเภท ไนโตรซามีน ซึ่งนักวิทยาศาสตร์เชื่อกันว่าเป็นสารก่อมะเร็งในสิ่งมีชีวิต เพราะฉะนั้นการใช้ โซเดียมไนไตรต์จึงควรใช้ในปริมาณที่จำกัด ซึ่งปัจจุบันมีการควบคุมการใช้ไนไตรต์ในเนื้อสัตว์ โดยกระทรวงสาธารณสุขมีกำหนดให้ใช้ได้ในปริมาณไม่เกิน 200 ppm

การควบคุมการตกค้างของโซเดียมไนไตรต์ อาจทำได้โดยการเติมสารอื่นลงไปเพื่อป้องกัน การเกิด ไนโตรซามีน หรือเร่งการเกิดไนโตรซามีน หรือเร่งการเกิด ไนตริกออกไซด์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของโซเดียมไนไตรต์ซึ่งสารที่เติมลงไปนี้คือสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงมีองค์ประกอบ ของสารพฤกษเคมีที่มีสมบัติต่าง เช่น สมบัติการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ (antimicrobial) เพื่อความปลอดภัยของการลดใช้สารเคมีสังเคราะห์ในการเติมลงในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ไนไตรท์ ไนเตรทซึ่งสารเคมีเหล่านี้อาจก่อให้เกิดสารไนโตรซามีนซึ่งเป็นสาเหตุของโรคมะเร็ง ซึ่งปัจจุบันได้มีผู้ที่ทำการศึกษาวิจัยเพื่อให้ได้มาซึ่งสารสกัดจากกระเจี๊ยบเพื่อใช้เป็นสาร ต้านการเจริญของ จุลินทรีย์เพื่อทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ จึงได้รับความสนใจจากผู้ที่ต้องการศึกษามากขึ้นดังนั้นจึงเป็นแนวทางการศึกษาสมบัติการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดความเสื่อมเสีย ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักของสารจากกระเจี๊ยบแดง ข้อมูลที่ได้สามารถเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้สารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ดีที่สุดลงในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.ศึกษาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของแหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง

2.ศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อแหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊บบแดง

3.ศึกษาผลการยับยั้งของจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Cl. perfringens*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่2

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 แหนม

แหนมเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นบ้านของประเทศไทย ในปัจจุบันนิยมบริโภคกันมาก โดยเฉพาะทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนได้ให้นิยามของแหนมว่าเป็น ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเนื้อหมูส่วนสะโพกที่แยกไขมัน และเอ็นออกแล้ว ผสมกับหนังหมู อาจผสมหูหมูหรือจมูกหมูที่ต้มสุก และหั่นเป็นเส้นแล้ว เติมเกลือ ข้าวสุก กระเทียมบด น้ำตาลทราย ผสมให้เข้ากัน อาจเติมพริกสดด้วยก็ได้ ห่อเป็นมัด หรือบรรจุในภาชนะบรรจุลักษณะอื่นๆ หมักจนมีรสเปรี้ยว(มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน,2546) สำหรับคุณลักษณะของแหนมนั้น ต้องมีการกระจายตัวของส่วนประกอบที่ใช้ทำ ผสมกันอย่างทั่วถึง เนื้อแน่น ไม่มีโพรงอากาศ และมีน้ำจากการหมักได้เล็กน้อย มีสีชมพูตามธรรมชาติของแหนม มีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติที่เกิดจากการหมัก มีรสเปรี้ยวที่พอเหมาะ ซึ่งรสเปรี้ยวที่เกิดขึ้นนั้น มาจากกระบวนการหมักที่มีจุลินทรีย์เข้ามาเกี่ยวข้อง โดนเฉพาะจุลินทรีย์พวกที่สร้างกรดแลติก ในระยะแรกของการหมักมักพบจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับเนื้อหมู ได้แก่ แบคทีเรียรูปท่อน และรูปกลม ติดสีแกรมบวก และแกรมลบ มีทั้งพวกที่สร้างกรดได้ และทำให้อาหารเน่าเสีย หลังการหมักประมาณ 24 ชั่วโมง จุลินทรีย์ที่พบในระยะแรกจะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะพวกที่สร้างกรดได้ดีและเติบโตในที่ที่มีอากาศน้อยคือเชื้อในกลุ่มhomofermentative cocci เช่น *P. cerevisiae* , *P. pentosaceus* และ *P. acidilactici* ที่เติบโตจำนวนมาก เชื้อชนิดนี้จะใช้น้ำตาลกลูโคส แล้วสร้างเป็นกรดแลคติกออกมาเป็นส่วนใหญ่ ทำให้ค่าพีเอชของแหนมลดลง ซึ่งพีเอชของแหนมในวันที่ 4 นั้น ควรมีค่าต่ำกว่า 4.5 และมีปริมาณกรดแลคติกสูงกว่า 0.5 เปอร์เซนต์ ค่าพีเอชที่ต่ำ และปริมาณกรดที่สูงนี้ จะทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคอย่างซัลโมเนลลา ลดจำนวนลงด้วย(บุษกร,2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหนมเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักกึ่งแห้งที่ผลิตจากเนื้อหมู นำมาสับหรือบด ผสมกับหนังหมู มีการเติมข้าวสุกและเครื่องปรุงอื่นๆ ได้แก่ กระเทียม พริกไทย บางครั้งมีการเติมพริกทั้งเม็ด ห่อให้แน่นด้วยใบตองหรือแผ่นพลาสติก หลังการบรรจุปล่อยให้เกิดการหมักที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-5 วัน การรับประทานแหนมแล้วแต่ความนิยมของผู้บริโภคว่าต้องการทำให้สุกหรือไม่ โดยส่วนใหญ่พบว่านิยมบริโภคในรูปของแหนมสด ส่วนรูปแบบของการบริโภคแหนมที่พบโดยทั่วไป ได้แก่ การปิ้ง ทอด ยำ หรือเป็นส่วนผสมในอาหารอื่นๆ แหนมเป็นผลิตภัณฑ์ที่พบได้ในประเทศไทย โดยเฉพาะในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประเทศลาว ประเทศเวียดนามและประเทศจีนเป็นต้น

กรรมวิธีทั่วไปในการผลิตแหนมประกอบด้วย นำเนื้อหมูมาแล่มันออกให้หมด จากนั้นนำมาสับหรือบดให้ละเอียด อาจใช้ผ้าขาวบางที่แห้งและสะอาดซับหลายๆครั้ง เพื่อลดความชื้น เติมโปแตสเซียมไนเทรตหรือผงเพรกลงในเนื้อบด คลุกเคล้าให้เข้ากันดี เติมพริกไทย กระเทียมข้าวสุกที่บดละเอียดแล้ว จากนั้นใส่หนังหมูที่ต้มสุกและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ บางๆ ลงผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันอีกครั้ง สำหรับการห่อแหนม ปริมาณที่ใส่แล้วแต่โรงงานผู้ผลิต เช่น อาจห่อด้วยถุงพลาสติกน้ำหนักประมาณ 30-40 กรัม พร้อมทั้งใส่พริกขี้หนูลงไป 1-2 เม็ด เพื่อให้ดูน่ารับประทาน หรือห่อให้เป็นรูปทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 นิ้ว ยาว 2.5-3.0 นิ้ว สุดท้ายห่อทับด้วยใบตอง 3-5 ชั้น รัดให้แน่นด้วยเชือก เพื่อกำจัดอากาศในห่อและทำให้เชื้อจุลินทรีย์ทำงานได้ดีที่สุด

ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเกิดได้ทั้งการหมักตามสภาพธรรมชาติ ซึ่งเป็นการหมักที่เกิดขึ้นจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับเนื้อสัตว์ที่ใช้เป็นวัตถุดิบ ส่วนผสมอื่นๆและอาจติดอยู่กับเครื่องมือที่ใช้ในการผลิต การหมักประเภทนี้พบแบคทีเรียกรดแลคติคค่อนข้างน้อย แต่จะพบเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ เชื้อแบคทีเรียชนิดที่พบและมีประโยชน์ได้แก่สกุล *Micrococcus* ส่วนความสำเร็จในกระบวนการหมักที่เกิดการสร้างกรด พบว่าในช่วงแรกของการหมักเกิดจากเชื้อในสกุล *Enterococcus* และในช่วงสุดท้ายของการหมักเกิดจากเชื้อในสกุล *Lactobacillus* และ *Pediococcus* เมื่อมีการหมักเกิดขึ้น เชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกเจริญอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้มีการสร้างกรดแลคติกมากขึ้น และทำให้ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์ลดลง ทำให้เชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคลดจำนวนลงหรือตายได้ภายใน 2-3 วัน สมบุญ(2518)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมบุญ(2518) ได้ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักแหนม และพบว่าในหมูเนื้อแดงที่เป็นองค์ประกอบหลักในการผลิตแหนมมีปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ ทั้งที่เป็นแท่งและทรงกลมรวมทั้งที่เป็นแกรมบวก และแกรมลบปะปนมากับวัตถุดิบ การเติมเกลือโป แต สเซียมไนเตรทลงไปในสูตรการผลิตจะถูกเปลี่ยนเป็นไนเตรทโดยวิธีการทางธรรมชาติ โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถรีดิวส์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ (Nitrate-reducing micrococci) ซึ่งมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีแดง ปรากฏขึ้นรวมทั้งมีกลิ่นรสเฉพาะและมีกิจกรรมการยับยั้ง จุลินทรีย์ประเภทอื่น ๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องได้ เครื่องเทศที่เติมลงไปในสูตรเป็นการช่วยเพิ่มกลิ่นที่ต้องการและอีกทั้งเป็นการช่วยถนอมอาหารได้อีกด้วย จากการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสพบว่าแหนมที่มีการเติมเกลือแกงร้อยละ 3 ลงไปในสูตรการผลิตจะมีการยอมรับมากที่สุด แต่การเติมเกลือแกงร้อยละ 2 (ระดับต่ำ) และร้อยละ 5 (ระดับสูง) ผู้บริโภคจะไม่ยอมรับทั้งนี้เพราะความเปรี้ยวต่ำ นอกจากนี้ สมบุญ (2518) ยังเสนอแนะว่าช่วงเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการบริโภคแหนมคือ 4 วัน หลังจากการหมักในช่วง 4 วัน ของการหมักจะมีการลดลงของค่าความเป็นกรดเป็นด่าง และมีความเป็นกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น แต่หลังจากช่วง 4 วัน ของการหมักผ่านพ้นไปค่าดังกล่าวทั้งสองจะมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ค่าความเป็นกรด – ด่างของผลิตภัณฑ์แหนมสุดท้ายมีค่าน้อยกว่า 4.5 และความเป็นกรดทั้งหมดเทียบกรดแลคติคมีค่าร้อยละ 0.5 นอกจากนี้ยังมีรายงานอีกว่าในช่วงต้นของการหมักแหนมมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดค่อนข้างสูง แต่หลังจาก 24 ชั่วโมงของการหมักด้วยอัตราเร็วของการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันของเชื้อจุลินทรีย์ทำให้สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์บางประเภทลงได้ ในช่วงแรก 24-27 ชั่วโมง ของการหมักเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดได้ทั้งประเภท homofermentative และheterofermentative lactobacilli รวมทั้ง homofermentative cocci มีความสามารถในการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีผลต่อการผลิตกรดแลคติคอย่างรวดเร็ว หลังจาก 72 ชั่วโมงของการหมัก เชื้อจุลินทรีย์ประเภท heterofermentative lactobacilli เช่น *Lactobacillus plantarum* จะมีการเจริญเติบโตมากที่สุด รวมทั้ง *Pediocioccus* บางสายพันธุ์และ heterofermentative lactobacilli ก็ยังคงมีการเจริญเติบโตอยู่เช่นกัน อย่างไรก็ตามเมื่อวันที่ 4 ของการหมัก จุลินทรีย์ไม่สามารถสร้างกรดได้ส่วนใหญ่จะถูกทำลายโดยสภาพแวดล้อมที่มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นรวมทั้งพวก โคลิฟอร์มด้วย *lactobacillus brevis* จะมีการเจริญเติบโตร่วมกับ *LB. plantarum* ในปริมาณที่สูงเช่นกันแต่มีอัตราการเจริญเติบโตช้ากว่า *Lb. plantarum* เมื่อแหนมถูกเก็บที่อุณหภูมิห้องมากกว่า 1 สัปดาห์ ผลิตภัณฑ์แหนมจะมีความเปรี้ยวเพิ่มขึ้นแต่ความเหนียวของเนื้อจะลดลง ยีสต์โดยเฉพาะ *Candida* sp. อาจจะถูกตรวจพบหลังจาก 7 วัน ของการหมักแหนม การเติมแหนมในรุ่นเก่า (ที่หมักมาแล้ว 5 วัน) ลงไปในการผลิตแหนมรุ่นใหม่ร้อยละ 10 พบว่าสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคได้ แต่ลักษณะเนื้อสัมผัสผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ยอมรับว่าอ่อนนิ่มกว่าปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 กระเทียม (Allium sativum L.)

จัดอยู่ในวงศ์ Alliaceae มีถิ่นกำเนิดทางตอนใต้ของทวีปยุโรปถึงตอนกลางของทวีปเอเชีย และแพร่กระจายไปยังประเทศต่างๆทั่วโลก นำมาปลูกในประเทศไทยมากทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกเพื่อเป็นอาหารและเครื่องเทศ โดยใช้ทั้งต้นเป็นอาหาร หัวกระเทียมสด แห้ง และน้ำมันกระเทียมใช้เป็นเครื่องเทศแต่งกลิ่นอาหารหลายชนิด ทั้งเป็นอาหารเสริมสุขภาพได้ด้วยมีผู้ใช้กระเทียมเป็นยาพื้นบ้านมานานหลายร้อยปีแล้วโดยใช้บำบัดอาการไอหวัด หลอดลมอักเสบเรื้อรัง ปวดฟัน ปวดหู ปวดท้อง อาหารไม่ย่อย โรคความดันโลหิตสูง เส้นเลือดเปราะ ขับลม ขับเสมหะ ขับปัสสาวะ ขับประจำเดือน ขับพยาธิ ลดอาการอักเสบบวม ฆ่าเชื้อ แก้โรคผิวหนัง น้ำมันกระเทียมใช้ทาแก้แมลงกัดต่อย มีรายงานทางเภสัชวิทยาของกระเทียม และน้ำมันกระเทียมว่า ทำให้น้ำตาลในเลือดของกระต่ายลด ลดไขมันในกระต่ายและคน ลดความดันโลหิตในสัตว์และคน ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา ฆ่าแมลง ขับเสมหะ ขับเหงื่อ ขับปัสสาวะ ฤทธิ์ต่างๆเหล่านี้เนื่องมาจากสาร allicin, diallyl disulphide และ diallyl trisulphide นอกจากนี้ ยังทำให้เกิดผิวหนังอักเสบ และแสบร้อนเมื่อสัมผัส

กระเทียมสดประกอบด้วยน้ำมันระเหยง่ายประมาณ 0.2 เปอร์เซนต์ นอกจากนั้นเป็น allicin,เอนไซม์ โปรตีน ไขมัน วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 กรดอะมิโน แร่ธาตุ และสารอื่น ๆ อีกหลายชนิด ในน้ำมันระเหยง่ายประกอบด้วยสารเคมีประเภทสารประกอบของกำมะถันที่เป็นสารหลัก คือ allicin , diallyl disulphide,diallyl trisulphide และที่พบเป็นส่วนน้อยคือ dimrthyl sulphide, dimethyl disulphide , dimethyl trisulphide ,dially sulphide และสารประกอบอื่น ๆ ของกำมะถันอีกหลายชนิด นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารระเหยได้ชนิดอื่นอีกคือ citral geraniol ,linalool และสาร allicin ซึ่งเป็นสาระสำคัญที่มีกลิ่นนั้นเกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ allinase เปลี่ยน alliin ให้เป็น allicin ความร้อนและด่างทำให้ allicin เสื่อมสลายได้ แต่กรดเจือจางไม่ทำให้ allicin เปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นกระเทียมดองในน้ำส้มสายชูจึงยังมีกลิ่นอยู่ (กัลยา ,2548)

มีรายงานการวิจัยที่เกี่ยวกับผลของกระเทียมที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ดังเช่น รายงานการวิจัยของอดิศร (2542) ที่ศึกษาผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกทางการค้า 3 สายพันธุ์คือ *Lb. curvatus,Lb. sake* และ *P. acidilactici* พบว่ากล้าเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถทนต่อการทำลายของสาร allicin ที่มีในน้ำสกัดกระเทียมได้ดี สามารถเจริญได้ดีใน MRS broth ที่มีน้ำสกัดกระเทียมที่มีความเข้มข้น 1 และ 3 เปอร์เซนต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3กระเจี๊ยบแดง

กระเจี๊ยบแดงเป็นพืชในวงศ์ (Family Name)ชื่อสามัญ (Common Name): Rosella ชื่อพฤกษศาสตร์ (Scientific Name): Hibiscus sabdariffa Linn.: Malvaceaeชื่ออังกฤษ: Jamaicanชื่อท้องถิ่นภาคกลางเรียกว่า,กระเจี๊ยบ ,กระเจี๊ยบเปรี้ยว, ส้มพอเหมาะ ทางภาคเหนือเรียก ผักเก็งเค้ง, ส้มเก็งเค้ง,แกงแดง จังหวัดตากเรียกว่า ส้มตะเลงเครง ทางอีสานเรียกว่า ส้มพอดี ทาง แม่ฮ่องสอน เรียกว่าส้มปู่ ชาวมาลายูเรียกว่า Asum sugar(วีรดา, 2518) พันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศไทยปัจจุบันมี 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ซูดานและพันธุ์บราซิล โดยเป็นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากประเทศเยอรมันตะวันตก กระเจี๊ยบแดง ชอบอากาศร้อนหรืออากาศค่อนข้างร้อน มีฝนตกชุ่มแต่ไม่มีน้ำขังขึ้นได้ทุกสภาพดินต้องการน้ำระยะแรก 1 – 2 เดือน หลังจากนั้นจะสามารถทนต่อความแห้งแล้งได้ดีเกษตรกรนิยมปลูกกระเจี๊ยบแดงในช่วงกลางฤดูฝนคือในช่วงเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนสิงหาคม เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนตุลาคมถึงเดือนพฤษจิกายน ในการเก็บเกี่ยวเกษตรกรจะต้องรีบแยกกลีบดอกให้เสร็จในวันนั้น ไม่ควรทิ้งไว้ค้างคืนเพราะจะทำให้กลีบดอกเน่าและเสื่อมคุณภาพลงได้

2.4 องค์ประกอบของกระเจี๊ยบแดง

การหาองค์ประกอบของกระเจี๊ยบแดงส่วนใหญ่เป็นกรดอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เช่น กรดฮิบิสซิค 23 เปอร์เซ็นต์ กรดซิตริก 17 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีกรดมาลิก และกรดทาทาลิก กรดออกซาลิก(วีรสิงห์ , 2522)

นอกจากนี้ยังมีผู้ศึกษาสารเคมีในดอกกระเจี๊ยบพบว่ามีองค์ประกอบของสารที่สำคัญดังนี้

1. hibiscic acid	10.Aspartic acid
2.Citric acid	11. Alkaloid
3.Tataric acid	12.Resin
4.Malic acid	13. Pectin
5.Hibiscitrin	14.Cyanin
6.Malvin	15.Sabdaretine
7.Galactose	16.Delphinidin
8.Galacturonic acid	17.Gossyprtin
9.Anthoxanthin	18.Heterosides

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 รายงานวิจัยของสารต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในกระเจี๊ยบแดง

ดอกกระเจี๊ยบแห้งที่เรียกกัน ความจริงแล้วคือกลีบรองกลีบดอกที่ยังเหลืออยู่ติดผลกระเจี๊ยบ จึงมักเรียกสับสนว่า ดอกกระเจี๊ยบแดง

2.5.1.ฤทธิต้านเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial activity)

Shihata และคณะ(1983) ศึกษาสมบัติการต้านการเจริญของจุลินทรีย์จากสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง พบว่า สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงเข้มข้น3 เปอร์เซ็นต์ มีฤทธิ์ต้านการเจริญของ *Escherichia coli,* และ *Staph.aureus*

Chulassili และคณะ (1994) ศึกษาสมบัติการต้านการเจริญของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วง พบว่าสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงมีประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของแบคทีเรียได้ 101 สายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 50มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

Somaatmadja และคณะ (1964) กล่าวว่า แอนโธไซยานิน ซึ่งเป็นรงควัตถุกลุ่มของฟลาโวนอยด์ที่พบมากในกลีบดอกกระเจี๊ยบ มีคุณสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้นั้นเนื่องจากโครงสร้างของสารประกอบที่เป็น double-ring benzopyran มีประจุบวกจึงทำให้ว่องไวต่อการเกิดคีเลท (chelate) ของโลหะอิออน ซึ่งจะมีผลไปรวมตัวกับหมู่ซัลฟ์ไฮดริกของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างพลังงานของแบคทีเรีย เมื่อเอนไซม์ถูกยับยั้งการทำงาน จึงมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ และตายไปในที่สุด

จากการศึกษาของ Pratt และคณะ (1960) รายงานผลการสกัดแอนโทไซยานินจากสตอเบอรี่และองุ่น ต่อการต้านการเจริญแบคทีเรีย พบว่า แอนโทไซยานินจำพวก Pelargonidin-3-monoglucoside, cyaniding-3-monoglucoside และ delphinidin-3-monoglucoside ใช้ปริมาณร้อยละ 10 มิลลิกรัม มีผลต่อการเจริญของ *Escherichia coli* และ *Lactobacillus acidophilus* โดยสามารถลดอัตราการเจริญในช่วง lag Phase ของเชื้อดังกล่าว

2.5.2 ฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Antifungal activity)

El –Shaveb และ Mabrouk (1984) ทำการทดลองโดยใช้ผงกระเจี๊ยบแดงแห้งใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดขนาดความเข้มข้น 1.0 ก./ล.กับเชื้อราผลปรากฏว่า ไม่สามารถต้านเชื้อรา *Aspergillus flavus* ได้ แต่ทำให้สร้าง *Alfa toxin* ลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ดอกกระเจี๊ยบแดง *(Hibiscus sabdariffa* Linn.*)* เป็นพืชสมุนไพรที่พบอยู่ทั่วไป มีราคาถูก และมีสรรพคุณทางยามากมาย เช่น ช่วยลดความดันโลหิต ช่วยขับปัสสาวะ และยังสามารถนำมาสกัดสีเพื่อใช้ในการทำผลิตภัณฑ์และได้มีการศึกษาพบว่าดอกกระเจี๊ยบแดง เป็นแหล่งของสารพฤกษเคมีหลายชนิดที่สำคัญได้แก่ แอนโธไซยานินและกรดอินทรีย์ชนิด ต่าง ๆ เป็นต้น โดยที่กรดอินทรีย์ยังส่งผลให้ค่า pH ต่ำ ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดซึ่งเหมาะสมที่จะทำการศึกษาถึงคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดง

ศุภร(2547)ได้จึงทำการศึกษาถึงคุณสมบัติของสารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดงที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์

2.7 ผลการศึกษาสมบัติการต้านการเจริญของจุลินทรีย์จากสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง ใช้วิธี (Agar-well diffusion method)

การประเมินประสิทธิภาพถึงสมบัติการต้านการเจริญของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง หรือการทดสอบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ต่อสารสกัดด้วยวิธี Agar-well diffusion method นั้น เป็นวิธีการตรวจสอบเบื้องต้นว่าสารที่ทดสอบมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อหรือไม่การต้านเชื้อของสาร ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อในสารสกัดทั้งชนิดต้านการเจริญและทำลายเชื้อจะก่อให้เกิดโซนใสรอบหลุม ทดสอบโดยเตรียมสารละลายสารสกัดจากการเจี๊ยบแดงเข้มข้น 5 ระดับ ดังนี้ 25, 50, 100, 150 และ 200 มล/มก. ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบอย่างละ 2 สายพันธุ์ได้แก่ *Escherichia coli* , *Salmonella anatum* , *Staphylococcus aureus* และ *Listeria innocua* ตามลำดับ และกล้าเชื้อแลกติกเอสิดแบคทีเรีย(LAB)ที่ใช้ในการแปรรูปผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก 2 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus pentosaceus*

จากการทดลองสมบัติด้านการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงด้วยวิธี Agar-well diffusion method

ผลจากขนาดของโซนใสที่เกิดขึ้นต่อเชื้อทดสอบ 6 สายพันธุ์ (ตารางที่ 1) พบว่า ภายหลังการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สารสกัดกระเจี๊ยบแดง 25 มก/มล. ให้ผลต้านกับ *L. innocua* และ *Stap. Aureus* ที่ระดับความเข้มขัน 100มก/มล. สามารถต้านการเจริญแบคทีเรียที่ก่อความเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ทั้งหมด (ภาพที่ 1) และที่ระดับความเข้มข้น 150 และ 200 มก/มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่เพียงแต่ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ทั้งหมดแล้วยังให้ผลการยับยั้ง lactic acid bacteria อีกด้วย เมื่อพิจารณาโดยรวมแล้วขนาดของโซนใสที่เกิดขึ้นพบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงมีผลต่อความไวต่อเชื้อ แบคทีเรียแกรมบวก มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียเอง โดยเฉพาะคุณสมบัติทางสรีระวิทยาของแบคทีเรียเช่น คุณสมบัติของผนังเซลล์

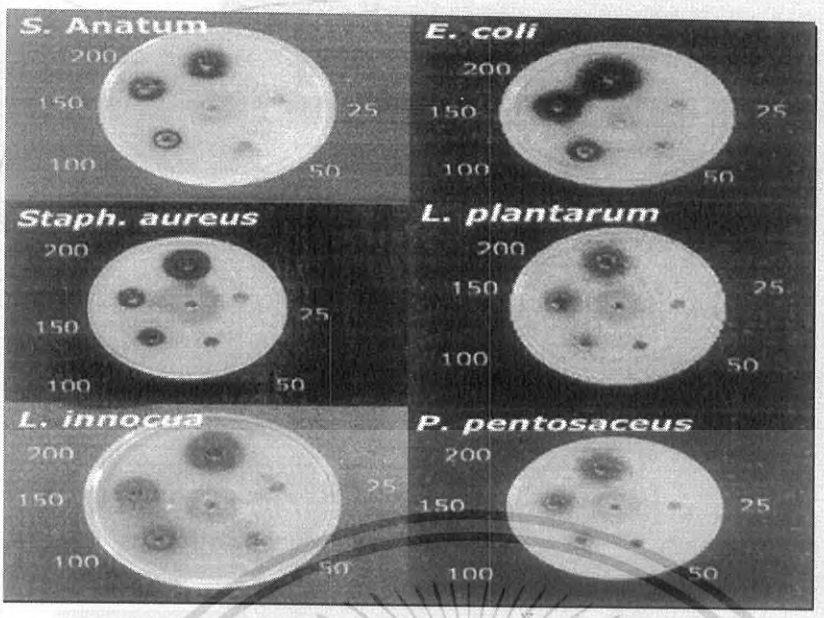
ตารางที่ 2.1 ผลขนาดของโซนใสของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง (Roselle extract) ต่อเชื้อจุลินทรีย์

สิ่งที่ตรวจสอบ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใส (มม.) ± S.D					
	E.coli	*S.anatum*	*Staph.aureus*	*L.innocua*	*L.plantalum*	*P.pentosaceus*
RE 25 mg/ml	-	-	-	1.21 ± 0.24	-	-
RE 50 mg/ml	-	-	1.72 ± 0.73	1.96 ± 0.75	-	-
RE 100 mg/ml	2.74 ± 1.08	3.14 ± 1.08	7.49 ± 1.24	7.25 ± 1.46	-	-
RE 150 mg/ml	6.39 ± 1.08	6.89 ± 1.08	10.63 ± 1.54	10.02 ± 1.47	1.22 ± 0.49	1.01 ± 0.51
RE 200 mg/ml	10.16 ± 1.37	10.85±1.37	12.84 ± 1.14	14.58 ± 1.37	3.06 ± 0.87	2.91 ± 0.48
น้ำกลั่น	-	-	-	-	-	-
Choramphenicol	7.59 ± 0.49	8.22 ± 0.34	11.35 ± 0.79	14.38 ± 1.08	15.44 ± 0.76	15.18 ± 0.91

RE = สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง - ไม่เกิดโซนใส

ที่มา : ศุภร (2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.1 ผลของโซนใสของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงต่อแบคทีเรียทดสอบ
ที่มา: ศุภร อังศุจินดา (2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 ไนไตรต์ในเนื้อสัตว์

ผลของไนไตรต์ในเนื้อสัตว์

ไนไตรต์มีผลสามารถชะลอการเกิดสารพิษ botulinal toxin (botulism) และยังสามารถช่วยขัดขวางการเกิดกลิ่นเหม็นหืนและการเกิดกลิ่นรสที่ไม่ดีในระหว่างการเก็บรักษาได้

การใส่ไนไตรต์เป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการหมัก เนื่องจากสามารถทำให้เกิดสีแดงชมพูในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์หมักได้เนื่องจากสารประกอบไนไตรต์เมื่อถูกรีดิวส์แล้วจะทำให้เกิดสารไนตริกออกไซด์ซึ่งจะเข้าทำปฏิกริยากับไมโอโกลบินที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์เกิดเป็นไนตริกออกไซด์ไมโอโกลบินซึ่งทำให้เกิดสีแดงชมพูได้ และเมื่อถูกความร้อนสารเหล่านี้จะเปลี่ยนไปเป็นสารไนโตรโซฮีโมโครมที่มีสีชมพู และสารเหล่านี้เป็นสารที่ค่อนข้างคงตัวต่อปฏิกิริยารีดักชั่น หรือออกซิเดชันทำให้สีที่ได้มีความคงทนเมื่อถูกความร้อนระหว่างการแปรรูป

ปริมาณไนไตรต์ที่สามารถใช้ได้

สำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อหมักปริมาณที่สามารถไนไตรต์ที่สามารถใช้ได้กำหนดโดย Meat Inspection Regulations, Title 9, Chapter111, Subchapter A, Code of Federal Regulations, 1974 โดยกำหนดไว้ดังนี้

- 2 ปอนด์ต่อ 100 เกลลอนในผลิตภัณฑ์ของดอง
- 1 ออนซ์ต่อ 100 ปอนด์ของเนื้อสัตว์(เนื้อหมัก)
- ¼ ออนซ์ต่อ 100 ปอนด์ในเนื้อสับ

ต่อมาได้มีการกำหนดในหน่วย ppm โดย U.S. Department of Agriculture (USDA) โดยกำหนดไว้ว่า ในการใช้สารประกอบไนตรต์อนุญาติให้ใช้ได้ไม่เกิน 200 ppm (1ส่วนในล้านส่วน) โดยมีวิธีคำนวณดังนี้

$$ppm = \frac{\text{กรัมของโซเดียมไนไตรต์ x 1 ล้าน}}{\text{กรัมของเนื้อหมักทั้งหมด}}$$

ในอีกทางหนึ่ง 200 ppm สามารถเรียกว่า 1 ปอนด์ของโซเดียมไนไตรต์ใน 5000 ปอนด์ของเนื้อสัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 อันตรายที่เกิดจากไนไตรต์

ตามข้อมูลจาก (www.extension.umn.edu) GRAS (1972)ปริมาณที่เป็นอันตรายถึงชีวิตของโพแทสเซียมไนไตรต์ ในผู้ใหญ่อยู่ในช่วง 30 - 35 กรัมและปริมาณที่เป็นอันตรายถึงชีวิตของโซเดียมไนไตรต์อยู่ในช่วง 22 - 23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว และในปริมาณที่ต่ำของโพแทสเซียมไนไตรต์และโซเดียมไนไตรต์ จะทำให้เกิด Methermoglobinemia (ฮีโกลบินสูญเสียความสามารถในการรับออกซิเจน)โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับเด็กทารก เป็นผลเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของไนเตรตไปเป็นไนไตรต์ในร่างกายเมื่อบริโภคอาหารที่มีไนเตรตอยู่

ตามรายงานยังพบอีกว่าโดยปกติผู้คนได้รับไนเตรตจากการบริโภคผักมากกว่าการบริโภคเนื้อหมัก ผักพวกที่มีสารไนเตรตอยู่มากได้แก่ ผักขม บีท หัวผักกาด ผักชี และกะหล่ำปลี นอกจากนี้ปริมาณไนไตรต์ในผักต่างๆยังขึ้นอยู่กับสภาพทั่วไปของดิน ปุ๋ย และ ชนิดพันธุ์ ของผักนั้นๆ

ปริมาณไนไตรต์ในทางเดินอาหารของมนุษย์ 10% มาจากการบริโภคผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก และอีก 90% มาจากการบริโภคผัก และจากแหล่งอื่นๆ ไนเตรตสามารถถูกรีดิวส์กลายเป็นไนไตรต์ได้โดยจุลินทรีย์ที่อยู่ในอาหาร และจุลินทรีย์ที่อยู่ในทางเดินอาหาร เพราะฉะนั้นอาจเป็นไปได้ว่าการบริโภคผักมากอาจทำให้เกิดสารก่อมะเร็งได้

2.10 ไนโตรซามีน

ในปี 1970 สื่อต่างๆเริ่มให้ความสนใจในความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่ใช้ไนไตรต์ ซึ่งในการศึกษาพบว่า สารเอมีนและโปรตีนในเนื้อสัตว์สามารถทำปฏิกริยากับไนไตรต์แล้วทำให้เกิดสารประเภทไนโตรซามีนซึ่งมีหลายชนิดและส่วนมากเป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์ทดลองและไม่ใช่ว่าในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์หมักทั้งหมดจะมีสารไนโตรซามีน หรือถ้ามีก็อาจจะมีในปริมาณที่น้อยตามการรายงานของ Pensabene และคณะ (1974) (www.extension.umn.edu) ในเรื่องปริมาณสารไนโตรซามีนในอาหาร ที่เป็นอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ศึกษาที่มหาวิทยาลัยในชิคาโก พบว่าปริมาณไนโตรซามีนที่เกิดขึ้นส่วนมากมาจากปริมาณสารพวกไนไตรต์ที่ใส่ลงไปในระหว่างขั้นตอนการหมักเนื้อสัตว์ ปริมาณความเข้มข้นของสารประเภทเอมีนในเนื้อสัตว์ ส่วนประกอบอื่นๆที่ใช้ในระหว่างการหมัก สภาวะในการผลิต ระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และอุณหภูมิในการเก็บรักษา ต่อมา USDA ได้ทดลองนำตัวอย่างเบคอนหมักมาใส่ประเภท กรดแอสคอบิกเพื่อลดการเกิดไนโตรซามีนในเบคอนหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อมาได้มีการศึกษาผลของการให้ความร้อนกับผลิตภัณฑ์หมักโดยมีการศึกษาการให้ความร้อนในเบคอนหมักที่มีการใช้สารไนไตรต์ในกระบวนการหมักที่มีผลต่อปริมาณสารไนโตรโซไพโรลิดีนในเบคอนศึกษาโดย Pensabene และคณะ(1974)(www.extension.umn.edu) พบว่าเมื่อมีการให้ความร้อนที่210°Fเป็นเวลา 10 นาที , 210°Fเป็นเวลา 15 นาที , 275°F เป็นเวลา 10 นาที , 275°F เป็นเวลา 30 นาที พบว่าไม่พบสาร ไนโตรโซไพโรลิดีน ในเบคอน แต่เมื่อให้ความร้อนที่ 350°Fเป็นเวลา 6 นาที , 400°F เป็นเวลา 4 นาที , 400°F เป็นเวลา 10 นาที พบว่าตรวจพบสารไนโตรโซไพโรลิดีน ในปริมาณ 10,17 และ 19 ppb (ส่วนใน10ล้านส่วน)เพราะฉะนั้นการให้ความร้อนสูงเกินไปอาจทำให้เสี่ยงต่อการเกิดสารไนโตรซามีนในเบคอน

เราอาจไม่สามารถทราบได้เลยถึงปริมาณไนโตรซามีน ถ้ามันฟร์อมตัวอยู่ในร่างกายหลังการบริโภคผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก หรือระดับอันตรายในเนื้อสัตว์หรือในร่างกายมนุษย์ เพราะสารไนโตรซามีนจะเป็นสารที่มีอยู่น้อยมากๆใน ผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก แต่จะมีมากขึ้นในเบคอนที่ให้ความร้อนสูงเกินไป

ในรายงานของ “GRAS” กล่าวว่าการใช้ไนไตรต์ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักในระดับที่สูงไม่แสดงหลักฐานของการเป็นสารก่อมะเร็ง แต่อย่างไรก็ตามไนโตรซามีนยังคงเป็นอันตรายต่อสุขภาพของร่างกายมนุษย์

ผู้ผลิตเบคอนทั้งหลายต่างอยู่ภายใต้การควบคุมของ USDA ซึ่งต้องคอยควบคุมและตรวจสอบปริมาณของไนโตรซามีนในเบคอนที่ให้ความร้อน ป้องกันไม่ให้มีสารไนโตรซามีนเกินกว่าที่อนุญาติให้มีได้

ถึงแม้ว่า ไนไตรต์จะเป็นสารที่ถูกควบคุม แต่เมื่อเร็วๆนี้ก็มีการศึกษาที่พบว่า ไนไตรต์สามารถยับยั้งการเกิด malonaldehyde ซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กและพบบ่อยๆในผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งทำให้เกิดเหม็นหืนได้ผลิตภัณฑ์ แฮม เบคอน เนื้อวัว แต่ malonaldehyde จะถูกต่อต้านโดยสารประกอบไนไตรต์ในปริมาณที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11 หน่วยงานที่ควบคุม

หน่วยงานที่สำคัญคือ องค์การอาหารและยา (FDA) ได้มีบทบาทในการควบคุมตรวจสอบปริมาณสารปรุงแต่งในอาหารเพื่อความปลอดภัยของมนุษย์ในวันที่ 16 พฤษจิกายน 1973 FDA ได้ริเริ่มการใช้บรรจุภัณฑ์สำหรับไนไตรต์และไนเตรตเพื่อป้องกันการเกิดของสารไนโตรซามีนในระหว่างการเก็บรักษา และFDAก็เกี่ยวข้องโดยตรงต่อการควบคุมปริมาณไนไตรต์ในเนื้อสัตว์เพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

USDA เป็นอีกหน่วยงานที่มีส่วนรับผิดชอบและคอยควบคุมดูแลปริมาณการใช้ไนไตรต์ในผลิตภัณฑ์เนื้อ และยังมีส่วนในการตรวจสอบผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปของเนื้อสัตว์ เพื่อความแน่ใจว่ามีการใช้สารไนไตรต์ไม่เกิน 200 ppm เพราะฉะนั้นหน่วยงาน USDA จึงมีส่วนเกี่ยวข้องโดยตรงกับการใช้ไนไตรต์ในเนื้อสัตว์

A National Academy of sciences Committee เป็นอีกหน่วยงานหนึ่งซึ่งมีส่วนในการศึกษาค้นคว้าหาทางเลือกใหม่ของการใช้ไนไตรต์เพื่อลดอันตรายซึ่งจะเกิดขึ้นจากไนไตรต์ นอกจากนี้ยังมีการค้นคว้าหาสารประกอบตัวอื่นมาใช้ทดแทนไนไตรต์แต่อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถหาสารตัวอื่นมาทดแทนไนไตรต์ได้ทั้งหมดก็ยังคงมีการค้นคว้ากันต่อไปเพื่อ ประโยชน์และลดอันตรายจากการใช้สารประกอบไนไตรต์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการทดลอง

3.1 วัสดุอุปกรณ์

3.1.1เครื่องมือ

1.1 เครื่องระเหยสุญญากาศ	Rotavapour BUCHI R-114 , Switzerland
1.2 เครื่องบดหยาบ	Blender
1.3 เครื่องชั่งชนิดละเอียด	Mettler AE 3000 , Switzerland
1.4 ปั๊มสุญญากาศ	Vacuum system BUCHI R-169 , Switzerland
1.5 ตู้อบลมร้อน	Memmert Germany
1.6 เครื่องเขย่า (shaker)	Serhard Bonn
1.7 Autoclave	Tomy SS-325 japan
1.8 ตู้บ่มเชื้อ	Memert Germany
1.9 ตู้อบฆ่าเชื้อเครื่องแก้ว	Heraeus Germany
1.10 เครื่องวัด pH	WTW/InoLab Level 1
1.11 Microwave	National/NN 5656F
1.12 Vortex	Vortex (Vortex genie 2)
1.13 Kitchen Aid	
1.14 เครื่องบด	

3.1.2 อุปกรณ์

2.1 เครื่องแก้วในการทำการทดลอง

2.2 Loop

2.3 เข็มเขี่ยเชื้อ

2.4 จานเพาะเชื้อ

2.5 ตะเกียงแอลกอฮอล์

2.6 ตะแกรงใส่หลอดทดลอง

2.7 ปากคีบ

2.8 Foggy

2.9 ไฟเช็ค

2.10 กระบอกน้ำกลั่น

2.11 ลูกยาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.22 เขียง

2.23 มีด

2.24 กะละมัง

2.25 ยาง

2.26 ถุง PE ขนาดเล็ก

3.1.3วัตถุดิบ

3. 1 ดอกกระเจี๊ยบแดงแห้ง(ตลาดแฮปปี้แลนด์ เขตบางกะปิ)

3.2 เนื้อหมูแดงส่วนสะโพก(ตลาดหัวตะเข้ เขตลาดกระบัง)

3.3 หนังหมู(ตลาดหัวตะเข้ เขตลาดกระบัง)

3.4 กระเทียม(ตลาดหัวตะเข้ เขตลาดกระบัง)

3.5 ข้าวสุก(หอมมะลิ ตราฉัตร)

3.6 น้ำตาล(ตราวังขนาย)

3.1.4สารเคมี

4.1 เอทิลแอลกอฮอล์ ร้อยละ95 (องค์การสุรากรมสรรพสามิตร,ประเทศไทย)

4.2 โซเดียมคลอไรด์ (Merck , USA)

4.3 โซเดียมคาร์บอเนต (Merck , USA)

4.4 โซเดียมไนไตร์ท (Merck , USA)

4.5 โ ซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (Carlo Erba Reagent , Italy)

4.6 โซเดียมแอสคอเบท (Fluka , Switterland)

4.7 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Merck , USA)

4.8 ฟีนอล์ฟทาลีน (Carlo Erba Reagent , Italy)

4.9 น้ำมันพาราฟิน (Metha Group Trading Ltd)

3.1.5อาหารเลี้ยงเชื้อ

5.1Glucose , yeast peptone

5.2 BHI

3.1.6เชื้อจุลินทรีย์

6.1*Clostridium. perfringens*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการทดลอง

3.2.1การเตรียมสารสกัดจากกระเจี๊ยบ

การเตรียมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง ชั่งกระเจี๊ยบแดงที่บดละเอียดแล้ว 25 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมเอทิลแอลกอฮอล์ 80 % จำนวน 250 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่าเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำสารที่สกัดได้ไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman NO. 1 โดยใช้กรวยกรองบุชเนอร์ เอาส่วนกากมาทำการสกัดอีกครั้ง (re –extraction) โดยใช้เครื่องเขย่าเป็นเวลา 1 คืน แล้วทำการกรองและระเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซียลเซียส จนตัวทำละลายหมดไป นำไปทำให้แห้งโดยใช้ไลโอฟีไลเซอร์ (lyophilizer) จากนั้นเก็บตัวอย่างที่สกัดได้ไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซียลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Glucose , yeast peptone

3.2.3 เตรียมสารละลายเจือจาง

ชั่ง สาร NaCl 8.5 กรัม แล้ว ละลายในน้ำกรอง 1,000 มิลลิลิตร ด้วย Volumemetric flask จากนั้น บรรจุลงขวดปริมาตรขวดละ 250 ml และหลอดปริมาตรหลอดละ 9 ml แล้วจึงนำไปผ่านหม้อนึ่งความดัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
96831

3.2.4 การผลิตแหนม(ตุ้มจิ๋ว)

ตารางที่ 3.1 แสดงส่วนผสมในการผลิตแหนม

ส่วนผสม	ปริมาณ (กรัม)
เนื้อหมู	650
หนังหมู	350
ข้าวสุก	60
กระเทียม	50
เกลือ	25
น้ำตาล	5
Sodium tripolyphosphate	3
Sodium ascobate	0.5
Sodium nitrite	0.100

ที่มา : Swetwiwathana และคณะ (1999)

เตรียมส่วนผสมตามสูตรและเตรียมเนื้อหมูส่วนสะโพกที่แยกไขมัน และเอ็นออกหลังจากนั้น เตรียมหนังหมู โดยการนำไปต้มจนมีลักษณะใส จากนั้นทำการถอนขนและหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆนำเนื้อหมูและหนังหมูเข้าเครื่องบดจนเป็นเนื้อเดียวกันจากนั้นนำส่วนผสมทั้งหมด ยกเว้นไนไตรต์และสารสกัดจากกระเจี๊ยบ เข้าเครื่องผสม (Kitchen aid) จนส่วนผสมทั้งหมดเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งครึ่งส่วนผสมที่ได้แล้วทำการใส่ไนไตร์ท และสารสกัดจากกระเจี๊ยบเพื่อทำการผลิตแหนมทั้งสองสูตร บรรจุลงถุงขนาดเล็ก มัดถุงให้แน่นที่สุด หลังจากนั้นบ่มทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5วัดเปอร์เซนต์กรดแลกติก(ดัดแปลงจาก AOAC,1984 โดย นภา,2529)

ชั่งตัวอย่างแหนม 3 กรัม บดให้ละเอียด เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง นำน้ำใสที่ได้ไปต้มไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 2 -3 หยด ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 NaOH จนกระทั่งถึงจุด end point เกิดสีชมพู คำนวณหาปริมาณกรดแลกติกตามสูตร

$$\text{เปอร์เซนต์กรดแลกติก} = \frac{N \times V \times 90.01 \times 100}{1{,}000 \times \text{กรัมตัวอย่าง}}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH

V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท

3.2.6 การหาพีเอช (ดัดแปลงจาก AOAC,1984 โดย นภา,2529)

นำตัวอย่างแหนม 20 กรัมมาบดให้ละเอียด เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน วัดด้วยเครื่องวัด pH meter

3.2.7การวิเคราะห์เชื้อ Lactic acid Bacteria (LAB)

โดยวิธี total plate count

ชั่งตัวอย่างแหนม 25 กรัม (แบ่งเป็น 2สูตร)นำไปใส่ในน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 % ในถุงสเตอร์ไลต์ นำไปตีด้วยเครื่อง Stomacher ดูดสารละลายลงในถุงสเตอร์ไรต์มา 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำเกลือ 0.85 % อยู่ 9 มิลลิลิตรทำซ้ำอีก 5 ครั้ง (6 Dilution) ใช้ปิเปตดูดสารจาก ทุก Dilution มา 0.1 มิลลิลิตรใส่ลงในเพลตที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ GYP agar + $CaCO_3$ 0.5 % ทำการ Spread plate นำ plate ที่ทำการ spread plate แล้วไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซียลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมานับเชื้อทึกและสังเกตความแตกต่างของตัวอย่างแหนมทั้งสองสูตรจากนั้นนำมาวิเคราะห์เพื่อสรุปผล

3.2.8 การศึกษาสมบัติการต้านการเจริญของเชื้อ*Cl. Perfringens*

ทำการ Stock เชื้อ *Cl. perfringens*ในหลอดอาหาร cooked meat เตรียมอาหาร BHI ตามสูตร เตรียมสารละลายเจือจาง (NaCL) เข้มข้น 0.85 % เตรียมน้ำมันพาราฟีน นำเข้าเครื่องอบความดันไอน้ำ 121 องศาเซียลเซียสนาน 15 นาทีแบ่งการทดลองหลอดละ 10 มิลลิลิตร โดยกรองผ่านแผ่น filter ที่ต่อ กับเข็มฉีดยาเพื่อทำการ sterilize ทำการถ่ายเชื้อลงในหลอดทดลองหลังจากนั้นหยดน้ำมันพาราฟีนเคลือบทับที่ผิวหน้า โดยการทดลองเป็น 3ชุดชุดที่1.หลอด control ชุดที่ 2.หลอดที่มีไนไตรท์0.001กรัม ชุดที่ 3.หลอดที่มีสารสกัดจากกระเจี๊ยบ 0.30 กรัม หลังจากนั้นทำการ dilution

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 10 ชั่วโมงที่ 0 และชั่วโมงที่ 2 ทำการเจือจางที่ 10^{-1} ถึง 10^{-4} ชม.ที่ 4 และ 6 ทำการเจือจาง ที่ 10^{-1} ถึง 10^{-5} ชม.ที่ 8 และ ชั่วโมงที่ 10 ทำการเจือจางที่ 10^{-1} ถึง 10^{-6} (ยกเว้นหลอด control เจือจางที่ 10^{-4}) ใช้ปิเปตดูดสารจาก ทุก Dilution มา 0.1 มิลลิลิตรใส่ลงในเพลตที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการ Spread plateนำ plate ที่ทำการ spread plate แล้วไปบ่มใน CANDLE JAR ที่สภาพที่มีอากาศเล็กน้อยเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมานับเชื้อ

3.2.9การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

โดยวิธีการหาอัตราความชอบ *(Hedonic Scaleing)*

ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 20 คน ดำเนินการทดสอบโดยใช้แผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) โดยการทดสอบผู้ชิมประเมินผลในด้าน สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส การยอมรับโดยรวม ซึ่งแบ่งการทดลองเป็น 9 ระดับคือ 9 = ชอบมากที่สุด และ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด นำคะแนนที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ยโดย Duncan New ' Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

21061

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

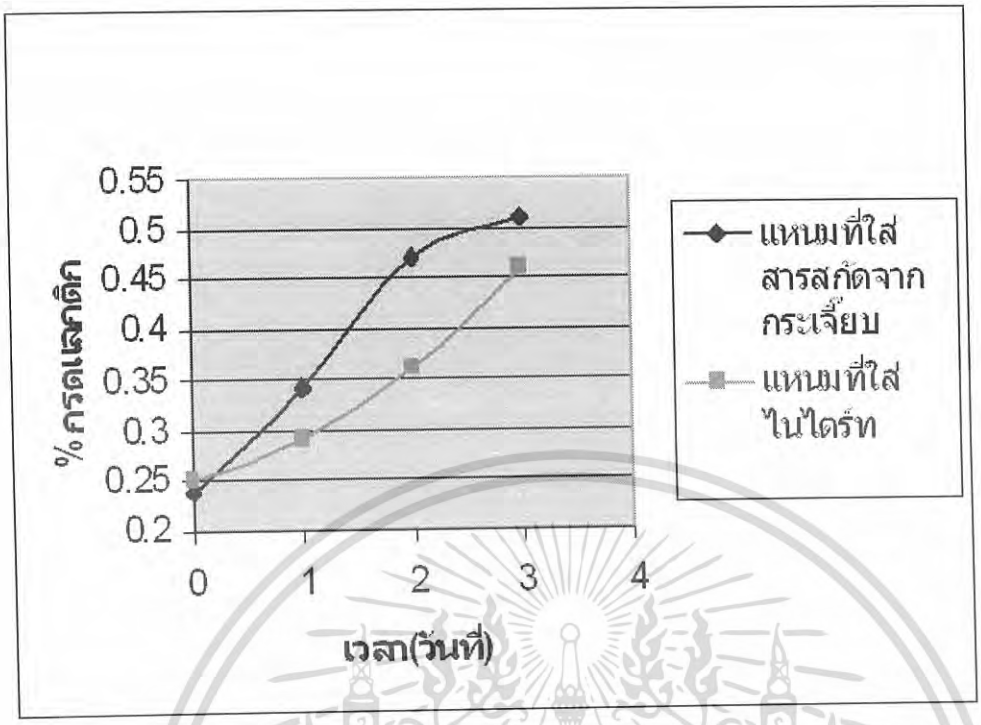
4.1 ผลการวิเคราะห์ค่าพีเอชและเปอร์เซ็นต์กรด แลกติก

กระบวนการหมักแหนมมักเกิดจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ ซึ่งมักจะมีทั้งสร้างกรดได้ และทำให้อาการเน่าเสีย จุลินทรีย์ที่สร้างกรดได้ดี และพบในระยะแรกของการหมัก เป็นพวก *homofermentative cocci* ซึ่งเชื้อประเภทนี้จะใช้น้ำตาลกลูโคส แล้วสร้างเป็นกรดแลกติก ออกมาส่วนใหญ่ทำให้ค่าพีเอชของแหนมลดลง (บุษกร , 2545) และจากการทดลองผลิตแหนมโดยแบ่งลักษณะการผลิตเป็น 2 แบบคือ 1.แหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบ 2.แหนมที่ใส่ไนไตรท์ จากการนำตัวอย่างทั้งสองมาทำการไทเทรตด้วย NaOH 0.1 N พบว่าในวันที่ 0 ของการหมักค่าพีเอชและเปอร์เซ็นกรดแลกติกไม่แตกต่างกันมากนัก เนื่องจากกระบวนการหมักยังไม่เกิดขึ้น แต่หลังจากการที่หมักแหนมไว้ 1 – 3 วันพบว่าการหมักแหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบจะมีเปอร์เซ็นกรดแลกติกที่เพิ่มสูงขึ้น ดังแสดงใน ตารางที่4.1 และ ภาพที่4.1 และค่าพีเอชลดลงมากกว่าแหนมที่มีการใส่ไนไตรท์ ดังแสดงในตารางที่4.2 และ ภาพที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์กรดแลคติคของแหนมที่หมักโดยใช้สารสกัดจากกระเจี๊ยบเทียบกับไนไตรท์

ตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์กรดแลคติค								ค่าเฉลี่ย			
	ครั้งที่ 1				ครั้งที่ 2							
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แหนมที่ใส่ไนไตร์ท	0.24	0.26	0.39	0.47	0.26	0.32	0.32	0.45	0.25	0.29	0.36	0.46
แหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบ	0.21	0.30	0.50	0.54	0.26	0.38	0.44	0.48	0.24	0.34	0.47	0.51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
หองสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

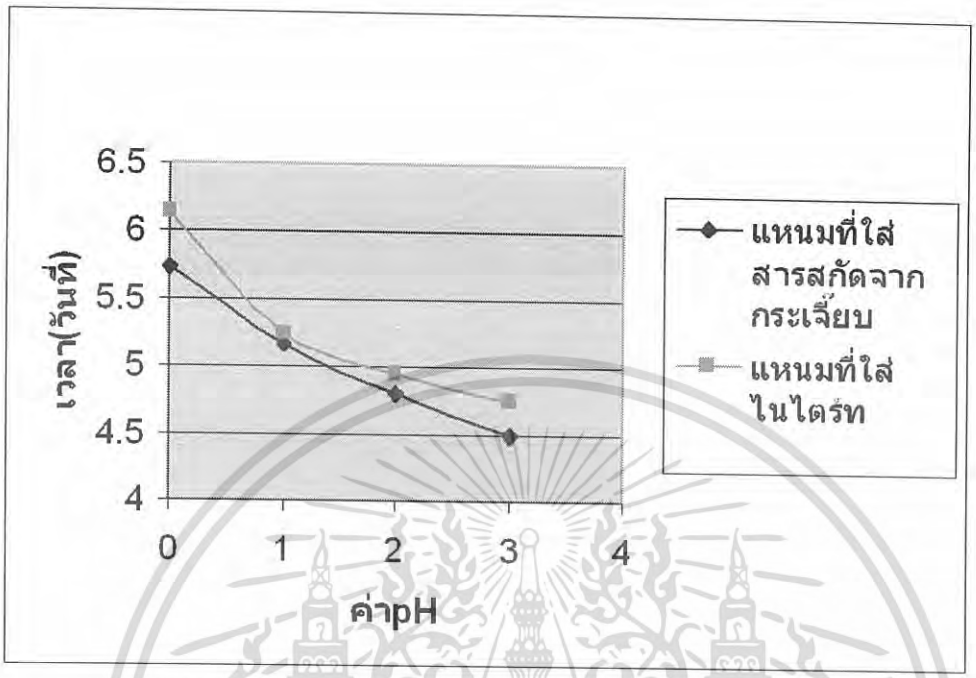


ภาพที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์กรดแลคติคของแหนมที่ใส่สารสกัดกระเจี๊ยบกับแหนมที่ใส่ไนไตรท์ 100 ppm

ตารางที่ 4.2 ค่า pH ของแหนมที่หมักโดยใช้สารสกัดจากกระเจี๊ยบเทียบกับไนไตรท์

ตัวอย่าง	พีเอช								ค่าเฉลี่ย			
	ครั้งที่ 1				ครั้งที่ 2							
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แหนมที่ใส่ไนไตร์ท	6.30	5.16	4.85	4.66	5.94	5.34	5.02	4.82	6.14	5.25	4.94	4.74
แหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบ	5.84	4.96	4.55	4.43	5.63	4.99	4.58	4.54	5.74	5.17	4.80	4.49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพ 4.2 ค่า pH แหนมที่ใส่สารสกัดกระเจี๊ยบกับแหนมที่ใส่ไนไตรท์ 100 ppm

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองแหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบจะมีเปอร์เซ็นต์กรดมากกว่าอาจเนื่องมาจากสารสกัดจากกระเจี๊ยบไม่มีการทำให้ปลอดเชื้อจึงอาจมีเชื้อ *Lactic acid Bacteria* อยู่ก่อนแล้ว จึงทำให้มีเปอร์เซ็นต์กรดแลกติคสูงกว่า และมีพีเอชต่ำกว่าแหนมที่ใส่สารโซเดียมไนไตรท์

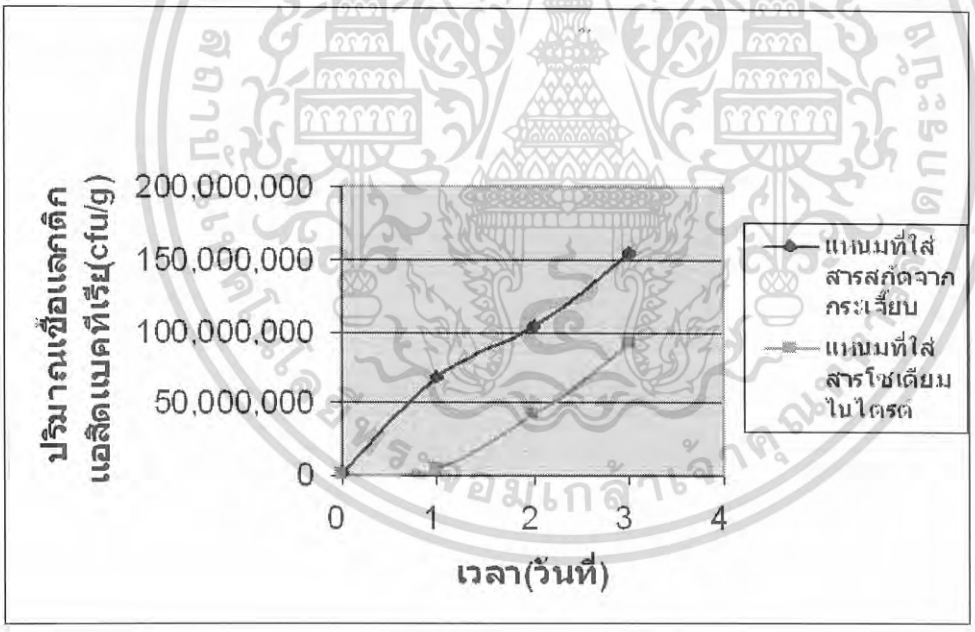
4.2 การวิเคราะห์เชื้อ *Lactic acid Bacteria* (LAB)

จากการทดลองในการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ (LAB) ดัง (ตารางที่ 4.3 ภาพที่ 4.3)โดยการนำตัวอย่างแหนมทำการวิเคราะห์การนับเชื้อ แบบ total plate count โดยการทำการ spread plate จากการนำตัวอย่างมาทำการเจือจางที่ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^0 ถึง 10^6แล้วไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซียลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงโดยผลการทดลองจะแสดงจำนวนเชื้อที่เจริญบนอาหาร GYP ที่ใส่สาร แคลเซียมคาร์บอเนตแล้วนำมาทำวิเคราะห์เชื้อพบว่า แหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบเมื่อเวลาผ่านไป ปริมาณเชื้อ (LAB) จะมากกว่าแหนมที่ใส่ไนไตรท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบปริมาณ (LAB)ที่พบในแหนมที่หมักโดยใช้สารสกัดจากกระเจี๊ยบเทียบกับ ไนไตรท์

วันที่	ปริมาณเชื้อแลกติกแอสิดแบคทีเรีย cfu/g					
	แหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบ			แหนมที่ใส่สารโซเดียมไนไตรต์		
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	เฉลี่ย	ครั้งที่1	ครั้งที่2	เฉลี่ย
0	$18.3x10^5$	$61.45x10^4$	$12.22x10^5$	$47x10^2$	41x10	$25.55x10^2$
1	$38.01x10^6$	$98.5x10^6$	$68.22x10^6$	$36.1x10^5$	$47.9x10^5$	$42x10^5$
2	$12.09x10^7$	$86.1x10^6$	$10.35x10^7$	$38.86x10^6$	$44.43x10^6$	$41.65x10^6$
3	$64.15x10^6$	$24.7x10^7$	$15.56x10^7$	$79.45x10^6$	$10.35x10^7$	$91.46x10^6$



ภาพที่ 4.3 ปริมาณแบคทีเรียแลกติคในแหนมที่หมักด้วยสารสกัดกระเจี๊ยบเทียบกับแหนมที่ใช้ไนไตรท์ 100 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าปริมาณเชื้อ *Lactic acid Bacteria* ของแหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบมีปริมาณมากกว่าแหนมที่ใส่สารโซเดียมไนไตรท์ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารสกัดจากกระเจี๊ยบในการทำแหนมมิได้ทำให้ปลอดเชื้อก่อน จึงอาจมีปริมาณเชื้อ *Lactic acid Bacteria* อยู่ก่อนแล้วทำให้ผลของเปอร์เซ็นต์กรดแลกติค และ พีเอชเป็นไปตามหัวข้อ 4.1

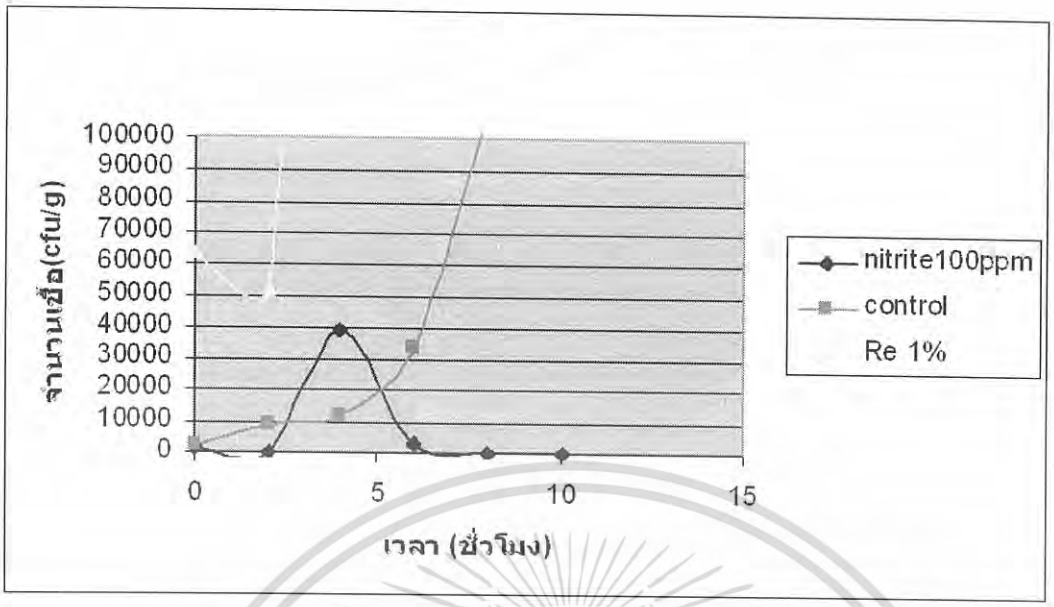
4.3 การวิเคราะห์ผลของการยับยั้งเชื้อ *Cl. perfringens*

ผลการทดสอบของการยับยั้งเชื้อ *Cl. perfringens* มีแนวโน้มว่าสารสกัดจากกระเจี๊ยบจะไม่สามารถยับยังเชื้อ *Cl. perfringens* ได้ในเวลา 10 ชม. เพราะจากการทดลองแล้วยังมีเชื้อเจริญเติบโตที่ 10 ชม. ส่วนไนไตรท์สามารถยับยั้งได้เนื่องจากเชื้อมีการเจริญเติบโตน้อยที่ 10 ชั่วโมง ส่วน Control มีการเจริญเติบโตของเชื้อ *Cl. perfringens* เป็นจำนวนมาก ดังแสดงใน ตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.4 การที่สารสกัดกระเจี๊ยบในหลอด cooked meat ไม่สามารถยับยั้ง *Cl. perfringens* ได้ อาจมีผลเนื่องจากสารสกัดกระเจี๊ยบที่นำมาทำการทดลองในขั้นตอนนี้อาจมีการเสื่อมสลายของสารยับยั้งเนื่องจากสารสกัดที่ใช้ในการทดลองดังกล่าวเก็บไว้เป็นเวลานานกว่า 4 เดือน

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบปริมาณ เชื้อ *Cl .perfringens* ที่พบในอาหาร BHI agar เมื่อเวลาผ่านไปโดยใช้สารสกัดจากกระเจี๊ยบเทียบกับ ไนไตรท์ และหลอดควบคุม

เวลา(ช.ม.)	ปริมาณเชื้อ *Cl .perfringens* cfu/g		
	ไนไตรต์	control	สารสกัดจากกระเจี๊ยบ
0	$11.5x10^2$	$23.3x10^2$	$63.4x10^3$
2	$30.5x10^3$	$90.2x10^2$	$56.3x10^3$
4	$39.1x10^3$	$12.0x10^3$	$51.8x10^3$
6	$28.3x10^2$	$33.8x10^3$	$50.5x10^4$
8	10.8x10	$11.0x10^4$	$19.2x10^6$
10	1.0x10	$15.8x10^5$	$43.8x10^5$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 เปรียบเทียบปริมาณ เชื้อ *Cl .perfringens* ที่พบในอาหาร BHI เมื่อเวลาผ่านไปโดยใช้สารสกัดจากกระเจี๊ยบเทียบกับ ไนไตรท์ และหลอดควบคุม

4.4.การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลการทดลองการหมักแหนมโดยการใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบ เพื่อทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยเปรียบเทียบกับการหมักแหนมที่มีการใส่ไนไตรท์ ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 3 วัน มาทดสอบโดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 20 ท่าน ให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับแหนมที่ใส่ไนไตรท์มากกว่าใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบในด้าน สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ดังตารางที่ 4.5 เมื่อเปรียบเทียบกับแหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบ ทั้งนี้เนื่องมาจากว่า แหนมที่ใส่ไนไตรท์มีสีที่ดูน่ารับทางกว่าแหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบเนื่องจากมีสีคล้ำกว่า ซึ่งสีของผลิตภัณฑ์แหนมที่เกิดจากสารไนไตรท์ช่วยแตกตัวให้สาร ไรตริกออกไซด์ โดยมีแบคทีเรียแลกติกเป็นตัวช่วย สารนี้จะเข้าทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบิน เกิดเป็นไนโตรโซไมโอโกลบิน ซึ่งเป็นสารที่ให้สีชมพู สำหรับความเปรี้ยวแหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบมีความเปรี้ยวมากกว่าแหนมที่ใส่ไนไตรท์ทั้งนี้เนื่องมาจาก แหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบมี PH ที่ต่ำกว่าแหนมที่ใส่ไนไตรท์ จึงทำให้ แหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบมีความเปรี้ยวมากกว่า โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 คะแนนความชอบจากการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของแหนมที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบเทียบกับไนไตรท์

ตัวอย่าง	คะแนน±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน				
	สี	กลิ่นรส	ความเปรี้ยว	เนื้อสัมผัส	การยอมรับโดยรวม
แหนมใส่กระเจี๊ยบ	4.140±1.305[b]	4.177±1.365[b]	7.702±1.565[a]	4.826±1.454[b]	5.750±1.751[b]
แหนมใส่ไนไตรท์	8.575±1.827[a]	8.425±1.454[a]	4.815±1.329[b]	7.635±1.807[a]	7.265±1.963[a]

ในบล็อกที่มีอักษรต่างกันหมายความว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ($p \leq 0.05$)

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาคุณสมบัติต่างๆของแหนมที่ใส่กระเจี๊ยบแทนไนไตรท์เปรียบเทียบกับแหนมที่ใช้ไนไตรท์ 100 ppmโดยดูคุณสมบัติทางเคมี เช่น เปอร์เซ็นต์กรดแลกติค และ pH ของแหนมและคุณสมบัติทางจุลชีววิทยาคือ ปริมาณเชื้อ Lactic Acid Bacteria (LAB) รวมถึงทดสอบทางประสาทสัมผัสต่อความชอบของแหนมของผู้บริโภค และ การศึกษาถึงผลของสารสกัดกระเจี๊ยบในการยับยั้ง *Cl. perfringens* ในการทดลอง พบว่า แหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบแทนไนไตรท์ จะมี เปอร์เซ็นต์กรดมากกว่าและมี pH ต่ำกว่า แหนมที่ใส่สารโซเดียมไนไตรท์ อีกทั้งยังมีปริมาณเชื้อ LAB มากกว่า แหนมที่ใส่สารโซเดียมไนไตรท์ด้วย เป็นผลให้แหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบมีความเปรี้ยวมากกว่า

สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสของแหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบ เปรียบเทียบกับแหนมที่ใส่สารประกอบโซเดียมไนไตรท์ พบว่า ผู้ทดสอบให้ความชอบทางด้านความเปรี้ยวต่อ แหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบมีสีเข้มกว่า และมีรสเปรี้ยวกว่าแหนมที่ใส่สารประกอบไนไตรท์โดยมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนที่ ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แต่ผู้บริโภคชอบแหนมที่ใส่สารประกอบโซเดียมไนไตรท์มากกว่าแหนมที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบในด้าน สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ส่วนผลการทดสอบของการยับยั้งเชื้อ *Cl. perfringens* ของสารสกัดกระเจี๊ยบในหลอดทดลองพบว่าสารสกัดจากกระเจี๊ยบจะไม่สามารถยับยังเชื้อ *Cl. perfringens* ได้เมื่อบ่มเชื้อนานกว่า 10 ชม. ส่วนไนไตรท์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อในกลุ่ม *Cl. perfringens* ได้ดี ซึ่งผลการทดลองนี้น่าจะมีการศึกษาเพิ่มเติมในโอกาสต่อไปโดยใช้สารสกัดกระเจี๊ยบที่สกัดใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กัลยา ภราไดย. 2548. กระเทียม. อนุกรมวิธานพืช ฉบับราชบัณฑิตยสถาน. อักษร ก :100-101

นภา โล่ห์ทอง. 2529. ปฏิบัติการวิชาจุลชีววิทยาทางอาหาร ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน.2546.แหนม มผช. 145/2546.7 หน้า.182

บุษกร อุตรภิชาติ. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. การผลิตเอกสารและตำรา มหาวิทยาลัยทักษิน. สงขลา. 425 หน้า.

วีรสิงห์ เมืองมั่น , 2522 . การใช้สมุนไพรในการรักษาโรคนิ่วและโรคปัสสาวะอักเสบวารสาร รามาธิบดี . 10: 62-63

วีรดา ดิษยมณฑล .2518. กระเจี๊ยบแดงและผลิตภัณฑ์อาหารจากกระเจี๊ยบแดง.วิทยาศาสตร์การ อาหาร 7(2) : 34-42

ศุภร อังศุจินดา.2547.สมบัติการต้านของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงต่อแบคทีเรียที่ก่อความเสื่อม เสียที่พบในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก.วิทยาศาสตร์การอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สุมณฑา วัฒนสินธุ์.2545.จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ:โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2533.ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลกติคต่อซัลโมเนลลาในการหมักแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพ ฯ

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2542. ผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการเจริญต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรีย แลกติคสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อและเชื้อโรคอาหารที่เป็นพิษที่พบมากในแหนม (ในหลอดทดลอง).อาหาร.29(2) : 107 -115

Chulassiri , M. , Temcharoen , P. , and Picha, P.1994 In vrito study antidiarrheal causing bacteria and antimutagenic potential of herbal drinks. Report of National research council Bankkok National research council

Esselen, W.B. and Sammy, G.M. 1973. Roselle-A natural red colorant for foods. อ้างถึงใน นัยวิท เฉลิมนนท์. 2538. การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตและการใช้สีแดงธรรมชาติจาก กลีบดอกกระเจี๊ยบแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

El –Shaveb,E.S.and Mabrouk.S.S. 1984 .Utilisation of some edible and medicinal p;ant to inhibit aflatoxin formation.*Nurt.Rep Int.*29(2):273 -282

Pratt,D.E. ,Power,JJ., and Somaatmadjia , D.1960 .Anthocyanins I. The influence of strawberry and grape Anthocyanins on the growth of certain bacteria .Food Res.25(1) : 26 -32

Epley,R.J.,Addis,P.B. and Joseph, J.W. Animal Science

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Shihata , I.M., Hassan , AB. and El-Mayah , G.Y.1983. Antimicrobial and antifungal activity of *Hisbiscus sabdarriffa* and Lawsonia intermia extract .Bull.Anin Hlth.Prod Afr.31(4) 331 – 334

Somaatmadja, D , Power , JJ. and Handy . M.K. 1964 Anthocyanin and other related compounds J .Food Sci.29: 655-660

Swetwiwathana, A.,and N. Lotng.1999.Selection of bacterocin – producing lactic acid bacteria From nhan (Thai fermented meat) .Proceeding of International Conference on ASEAN NET WORK on microbial Research , November 29-December1,1999,Chiangmai,Thailand.P-III/16:543-548

www.extension.umn.edu/distribution/nutrition/DJ0974.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก1 Glucose yeast peptone agar

1.glucose	10.0	กรัม
2.yest extract	10.0	กรัม
3.peptone	10.0	กรัม
4.agar	1.2	กรัม
5.น้ำกลั่น	1000	กรัม
6.pH	6.8	
7.$CaCO_3$	0.5 %	

หลังจากผสมสูตรอาหารแล้วบรรจุลงขวดปริมาตรขวดละ 250 ml แล้วนำไปผ่านหม้อนึ่งความดัน

ก2. Modified BHI-EY Medium

1. BHI	10	กรัม
2.Lactose	10	กรัม
3.Phenol red (0.5 %)	10	กรัม
4.Agar	3	กรัม
6.น้ำกลั่น	1	ลิตร
7. Glyceral	0.4 %	

หลังจากผสมสูตรอาหารตามสูตร แล้วใส่ไข่แดงที่ผ่านการแช่แอลกอฮอล์ 95 % จำนวน 3% ของปริมาตรอาหาร หลังจากนั้นบรรจุลงขวดปริมาตรขวดละ 250 ml แล้วนำไปผ่านหม้อนึ่งความดัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ข1วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของตัวอย่างแหนม

1.1วิเคราะห์หาปริมาณกรด แลกติก (ดัดแปลงจาก AOAC,1984 โดย นภา,2529)

ชั่งตัวอย่างแหนม 3 กรัม บดให้ละเอียด เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรองนำน้ำใสที่ได้ไปต้มไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เติมสารละลายฟีนอฟทาลีน 2 -3 หยด ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 NaOH จนกระทั่งถึงจุด end point เกิดสีชมพู คำนวณหาปริมาณกรดแลกติกตามสูตร

$$\text{เปอร์เซนต์กรดแลกติก} = \frac{N \times V \times 90.01 \times 100}{1{,}000 \times \text{กรัมตัวอย่าง}}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH

V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท

1.2 การหาพีเอช (ดัดแปลงจาก AOAC,1984 โดย นภา,2529)

นำตัวอย่างแหนม 20 กรัม มาบดให้ละเอียด เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน วัดด้วยเครื่องวัด pH meter

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ค 1 ตาราง spss ของการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

1.1 ทางด้านกลิ่น

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
ชนิด	1.00	กระเจี๊ยบ	9
	2.00	ไนไตรท์	18
	22.00		2

Descriptive Statistics

Dependent Variable: กลิ่น

ชนิด	Mean	Std. Deviation	N
กระเจี๊ยบ	4.1778	1.3654	9
ไนไตรท์	8.4722	1.4911	18
22.00	8.0000	1.4142	2
Total	7.1069	2.4428	29

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: กลิ่น

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	112.367(a)	2	56.183	26.699	.000
Intercept	639.634	1	639.634	303.966	.000
ชนิด	112.367	2	56.183	26.699	.000
Error	54.712	26	2.104		
Total	1631.810	29			
Corrected Total	167.079	28			

a R Squared = .673 (Adjusted R Squared = .647)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

ชนิด

Multiple Comparisons

Dependent Variable: กลิ่น

	(I) ชนิด	(J) ชนิด	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	กระเจี๊ยบ	ไนไตรท์	-4.2944(*)	.5922	.000	-5.5118	-3.0771
		22.00	-3.8222(*)	1.1340	.002	-6.1532	-1.4913
	ไนไตรท์	กระเจี๊ยบ	4.2944(*)	.5922	.000	3.0771	5.5118
		22.00	.4722	1.0812	.666	-1.7503	2.6947
	22.00	กระเจี๊ยบ	3.8222(*)	1.1340	.002	1.4913	6.1532
		ไนไตรท์	-.4722	1.0812	.666	-2.6947	1.7503

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

กลิ่น

	ชนิด	N	Subset	
			1	2
Duncan(a,b,c)	กระเจี๊ยบ	9	4.1778	
	22.00	2		8.0000
	ไนไตรท์	18		8.4722
	Sig.		1.000	.629

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.104.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.500.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

c Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
ชนิด	1.00	กระเจี๊ยบ	9
	2.00	ไนไตรท์	20

Descriptive Statistics

Dependent Variable: กลิ่น

ชนิด	Mean	Std. Deviation	N
กระเจี๊ยบ	4.1778	1.3654	9
ไนไตรท์	8.4250	1.4545	20
Total	7.1069	2.4428	29

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: กลิ่น

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	111.966(a)	1	111.966	54.852	.000
Intercept	985.841	1	985.841	482.966	.000
ชนิด	111.966	1	111.966	54.852	.000
Error	55.113	27	2.041		
Total	1631.810	29			
Corrected Total	167.079	28			

a R Squared = .670 (Adjusted R Squared = .658)

1.2 ทางด้านสี

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
ชนิด	1.00	กระเจี๊ยบ	20
	2.00	ไนไตรท์	20

Descriptive Statistics

Dependent Variable: ความเข้ม

ชนิด	Mean	Std. Deviation	N
กระเจี๊ยบ	4.1400	1.3052	20
ไนไตรท์	8.5750	1.8278	20
Total	6.3575	2.7388	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ความเข้ม

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	196.692(a)	1	196.692	77.983	.000
Intercept	1616.712	1	1616.712	640.980	.000
ชนิด	196.692	1	196.692	77.983	.000
Error	95.846	38	2.522		
Total	1909.250	40			
Corrected Total	292.538	39			

a R Squared = .672 (Adjusted R Squared = .664)

1.3 ทางด้านรส

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
ชนิด	1.00	กระเจี๊ยบ	20
	2.00	ไนไตรท์	20

Descriptive Statistics

Dependent Variable: เปรี้ยว

ชนิด	Mean	Std. Deviation	N
กระเจี๊ยบ	7.7025	1.5631	20
ไนไตรท์	4.8150	1.3295	20
Total	6.2588	2.0468	40

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: เปรี้ยว

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	83.377(a)	1	83.377	39.600	.000
Intercept	1566.878	1	1566.878	744.194	.000
ชนิด	83.377	1	83.377	39.600	.000
Error	80.008	38	2.105		
Total	1730.263	40			
Corrected Total	163.384	39			

a R Squared = .510 (Adjusted R Squared = .497)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ทางด้านเนื้อสัมผัส

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable: สัมผัส

ชนิด	Mean	Std. Deviation	N
กระเจี๊ยบ	4.8250	1.4545	20
ไนไตรท์	7.6350	1.8010	20
Total	6.2300	2.1530	40

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: สัมผัส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	78.961(a)	1	78.961	29.468	.000
Intercept	1552.516	1	1552.516	579.394	.000
ชนิด	78.961	1	78.961	29.468	.000
Error	101.823	38	2.680		
Total	1733.300	40			
Corrected Total	180.784	39			

a R Squared = .437 (Adjusted R Squared = .422)

1.5 ทางด้านความชอบโดยรวม

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
ชนิด	1.00	กระเจี๊ยบ	20
	2.00	ไนไตรท์	20

Descriptive Statistics

Dependent Variable: ชอบรวม

ชนิด	Mean	Std. Deviation	N
กระเจี๊ยบ	5.730	1.751	20
ไนไตรท์	7.265	1.963	20
Total	6.498	1.994	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ชอบรวม

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	23.562(a)	1	23.562	6.813	.013
Intercept	1688.700	1	1688.700	488.259	.000
ชนิด	23.562	1	23.562	6.813	.013
Error	131.427	38	3.459		
Total	1843.690	40			
Corrected Total	154.990	39			

a R Squared = .152 (Adjusted R Squared = .130)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้