



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาผลของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงต่อปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้

กรอกหมู

(Effect of extracts from red sorrel on the nitrite residue in pork sausages)

รฟว.
๓๒๒๙๗
๒๕๖๒

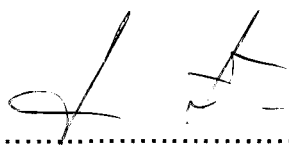
จัดทำโดย

นายทวีศักดิ์ อมรปิยะกฤษณ์ 46040199

นายณัฏพันธ์ พึ่งประเสริฐ 46040208

b. 11๖๖๙๖15
i.

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก


.....

5 / 4 / ๒๕๕๐ อาจารย์ที่

ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง
 การศึกษาผลของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงต่อปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้
 กรอกหมู
 (Effect of extracts from red sorrel on the nitrite residue in pork
 sausages)



T096766

จัดทำโดย

นายทวิศักดิ์ อมรปิยะกฤษฎ์ 46040199

นายนันท์พันธ์ พึ่งประเสริฐ 46040208

ปพ.

ท ๒๒๙ ก

๒๕๔๙

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 96766

วัน,เดือน,ปี..... ๒๕๔๙

รายงานปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร

บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นายทวีศักดิ์ อมรปิยะกฤษณ์ นายนันท์พันธ์ พึ่งประเสริฐ . 2549 : การศึกษาผลของสารสกัดจาก
 กระเจี๊ยบแดงต่อปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมู (Effect of extracts from red sorrel on the
 nitrite residue in pork sausages) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม

บทคัดย่อ

จากการทดลองเติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง 3 ระดับ(0 ,0.3 และ0.5 %โดย
 น้ำหนัก) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมูที่มีปริมาณไนไตรท์ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ppm) โดยบรรจุ
 ในถุง PE ปิดผนึกแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน พบว่าค่า
 pH ของไส้กรอกหมูทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย ในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งสอดคล้อง
 กับปริมาณกรดทั้งหมดที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างไส้
 กรอก โดยติดตามค่า a^* พบว่าตัวอย่างไส้กรอกที่ไม่เติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงมีแนวโน้มของ
 ค่า a^* ลดลงเมื่ออายุการเก็บนานขึ้น ในขณะที่ตัวอย่างไส้กรอกที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงทั้งสอง
 ระดับมีค่า a^* เพิ่มขึ้น ในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้ปริมาณไนไตรท์ในไส้กรอกทุกตัวอย่าง
 มีแนวโน้มลดลง ในระหว่างการเก็บรักษา โดยปริมาณไนไตรท์จะลดลงมากขึ้นเมื่อระดับสารสกัด
 กระเจี๊ยบแดงที่เติมมากขึ้น จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดง มี
 ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมูได้

นายทวีศักดิ์ อมรปิยะกฤษณ์

.....

ลายมือชื่อนักศึกษา



.....

(ผศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม)

5/4/2550

.....

(วัน/เดือน/ปี)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำปัญหาพิเศษเรื่องผลของสารสกัดจากกระเจียบแดงต่อปริมาณไนโตรเจนตกค้างในไส้กรอกหมู เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิตของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งในการจัดทำครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับเกียรติจาก ผศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรตม์ มาเป็นที่ปรึกษาปัญหาพิเศษของข้าพเจ้าและได้กรุณาสละเวลาอันมีค่า มาให้คำแนะนำ คำปรึกษาและเอาใจใส่ดูแลเป็นอย่างมาก รวมถึงการแก้ไขในส่วนที่ยังมีข้อบกพร่องอยู่ทำให้รายงานและการทำงานปัญหาพิเศษครั้งนี้สมบูรณ์มาก นอกจากนี้ก็ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนและคอยเอาใจช่วยให้การทำงานปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ทวีศักดิ์ อมรปิยะกฤษณ์
นนทพันธ์ พึ่งประเสริฐ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

| | หน้า |
|---|------|
| บทคัดย่อ | ก |
| กิตติกรรมประกาศ | ข |
| สารบัญ | ค |
| สารบัญตาราง | ง |
| สารบัญรูป | จ |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง | 2 |
| 2.1 ไม้ไผ่กรอก | 2 |
| 2.2 กระเจี๊ยบแดง | 2 |
| 2.3 ไนไตรท์ในเนื้อสัตว์ | 4 |
| 2.4 อันตรายจากการใช้ไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ | 4 |
| 2.5 การลดปริมาณไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ | 5 |
| 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสมบัติการทำลายไนไตรท์ของสารสกัดจากพืช | 5 |
| บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง | 7 |
| 3.1 วัสดุอุปกรณ์ | 7 |
| 3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการทดลอง | 8 |
| บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง | |
| 4.1 การเตรียมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง | 12 |
| 4.2 ผลของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงต่อปริมาณ ไนไตรท์ตกค้างใน ไม้ไผ่กรอกหมู | 12 |
| บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง | 20 |
| เอกสารอ้างอิง | 21 |
| ภาคผนวก | |
| ก. การวิเคราะห์สารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด | 22 |
| ข. การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด | 24 |
| ค. การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ในไม้ไผ่กรอก | 26 |

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | หน้า |
|---|------|
| 4.1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในระหว่างการเก็บรักษาของตัวอย่างไส้กรอกหมู ที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน | 13 |
| 4.2 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด (เปรียบเทียบกับกรดซิตริก) ในระหว่างการเก็บรักษาของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดง ที่ความเข้มข้นต่างกัน | 14 |
| 4.3 ผลการเปลี่ยนแปลงสี ค่า a^* ที่ผิวด้านนอกของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติม สารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน | 16 |
| 4.4 ผลการเปลี่ยนแปลงสี ค่า a^* ของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัด กระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน | 17 |
| 4.5 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนค้ำในระหว่างการเก็บรักษา ของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน | 18 |

สารบัญรูป

| รูปที่ | หน้า |
|---|------|
| 4.1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในระหว่างการเก็บรักษาของตัวอย่าง ไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน | 13 |
| 4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด (เปรียบเทียบกับกรดซิตริก) ในระหว่างการเก็บรักษาของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดง ที่ความเข้มข้นต่างกัน | 14 |
| 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่า a^* ที่ผิวด้านนอกของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติม สารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน | 16 |
| 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่า a^* ที่ผิวด้านในของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติม สารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน | 17 |
| 4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรต์ตกค้างในระหว่างการเก็บรักษา ของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน | 19 |
| ก1 กราฟมาตรฐานกรดเกลือสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบ โพลิฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดกระเจี๊ยบแดง | 23 |
| ค1 กราฟมาตรฐานสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรต์ตกค้าง ในไส้กรอกหมู | 25 |

บทที่ 1

บทนำ

ในการแปรรูปผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์หลายชนิด จะมีการเติมสารประกอบไนเตรทและ หรือไนไตรท์ในส่วนผสม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค โดยเฉพาะ *Clostridium botulinum* นอกจากนี้สารประกอบไนไตรท์ยังช่วยปรับปรุงคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยให้กลิ่นรสเฉพาะและทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีสีชมพู หรือ สีแดงที่คงตัว อย่างไรก็ตาม สารประกอบไนไตรท์สามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบเอมีน (amines) เกิดเป็นสารประกอบในกลุ่ม เอ็น-ไนโตรโซ (N – nitroso compounds) ได้แก่ เอ็น-ไนโตรซามีน (N – nitrosamine) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง (ชัชณรงค์, 2529) ดังนั้นจึงมีกฎหมายควบคุมปริมาณสารประกอบไนเตรท ไนไตรท์ ที่อนุญาตให้ใช้ได้ ในผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 พ.ศ. 2527 โดยกำหนดให้มีไนเตรทในอาหารไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไนไตรท์ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ชัชณรงค์, 2529)

การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนในกลุ่ม เอ็น-ไนโตรโซ (N – nitroso compounds) จากการทำปฏิกิริยาระหว่างไนไตรท์กับสารประกอบเอมีน สามารถเกิดได้ทั้งในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ในระหว่างกระบวนการแปรรูป หรือ เกิดขึ้นได้ในทางเดินอาหารของคนเรา เนื่องจากการบริโภคอาหารที่มี ไนไตรท์เป็นองค์ประกอบ (เขาวลัษณ์, 2546) ดังนั้นจึงได้มีความพยายามที่จะลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ต่างๆ ให้ลดลงด้วยการเติมวัตถุเจือปนอาหารต่างๆ ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก หรือ วิตามินซี ซึ่งพบว่าสามารถช่วยลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้ (เขาวลัษณ์, 2546) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชชนิดต่างๆ มีสมบัติในการทำลายสารประกอบไนไตรท์ได้ดี (John and Marchal, 1995) ดังนั้นปัญหาพิเศษนี้จึงสนใจที่จะศึกษาผลของสารสกัดกระเจียบแดง ซึ่งมีองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิกสูง (เขาวลัษณ์, 2546) ต่อการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู ข้อมูลที่ได้จะสามารถใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้สารสกัดจากพืชในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ต่อไป

1.1 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากกระเจียบแดงต่อคุณภาพทางกายภาพและเคมีบางประการของไส้กรอกหมู

2. ศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากกระเจียบแดงต่อปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและวารสารปริทัศน์

2.1 ใ้กรอก

ผลิตภัณฑ์ใ้กรอก ใ้กรอกเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเนื้อมาบดหรือสับให้ละเอียด ผสมเกลือ เครื่องเทศ และเครื่องปรุงอื่น ๆ บรรจุในใ้กรอกหรือแบบพิมพ์ ความแตกต่างของใ้กรอกขึ้นอยู่กับชนิดของส่วนผสมหรือเครื่องเทศที่ใช้ สัดส่วนของเนื้อและไขมัน ชนิดของเนื้อ ขนาดหรือชนิดของใ้และวิธีการทำใ้กรอก (จินตนา,2529)

แบ่งตามลักษณะกรรมวิธีการผลิต ได้ 4 ประเภท ดังนี้

- 1) ใ้กรอกรมควัน เป็นใ้กรอกที่ใช้เนื้อมัด ผสมเครื่องปรุงบรรจุในใ้ และผ่านการรมควันเพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสดี และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้น
- 2) ใ้กรอกสุก เป็นใ้กรอกที่ใช้เนื้อมัด ผสมเครื่องปรุงในใ้ และทำให้สุกพร้อมที่จะรับประทานได้ทันที และไม่ผ่านการรมควัน
- 3) ใ้กรอกหมักแห้ง เป็นใ้กรอกที่ต้องผ่านขั้นตอนการหมักให้มีรสเปรี้ยวก่อนทำให้แห้ง เก็บได้นานในสภาพที่เย็น อากาศแห้ง และมีความชื้นต่ำ
- 4) ใ้กรอกสด เป็นใ้กรอกที่ทำจากเนื้อสด บดและผสมเครื่องปรุง บรรจุในใ้มัดเป็นปล้องๆ และเก็บไว้ในตู้เย็นหรือตู้แช่แข็ง เมื่อรับประทานก็นำมาทำให้สุก ใ้กรอกชนิดนี้ถ้าเก็บรักษาที่อุณหภูมิไม่เหมาะสม จะเน่าเสียได้ง่าย

แบ่งตามลักษณะเนื้อสัมผัส ได้ 2 ประเภท ดังนี้

- 1) ใ้กรอกบดหยาบ เป็นผลิตภัณฑ์ที่เนื้อถูกบดด้วยเครื่องบดธรรมดาแต่ยังมองเห็นชิ้นเนื้อในผลิตภัณฑ์
- 2) ใ้กรอกบดละเอียด เป็นผลิตภัณฑ์ที่เนื้อถูกบดด้วยเครื่องบดละเอียดจนเป็นเนื้อเดียวกันมีลักษณะเหนียว

2.2 กระเจี๊ยบแดง

กระเจี๊ยบแดง เป็นพืชล้มลุกที่ปลูกได้ทั่วไปในประเทศที่อยู่เขตร้อน โดยมีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Hibiscus sabdariffa* Linn อยู่ในตระกูลของ MALVACEAE มีชื่อภาษาอังกฤษว่า red sorrel กระเจี๊ยบแดงเริ่มรู้จักและนำมาใช้ประโยชน์ทางอาหารและเภสัชตั้งแต่ปีค.ศ. 1658 ประโยชน์ทางอาหารของกระเจี๊ยบแดงส่วนใหญ่นำมาประกอบอาหารเช่นทำเครื่องดื่มน้ำเย็น เยลลี่ ซอสไวน์ และใช้เป็นสีผสมอาหาร สำหรับประโยชน์ทางการแพทย์และเภสัชกระเจี๊ยบแดงสามารถใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคต่างๆ เช่น ความดันโลหิตสูงและมะเร็ง เป็นต้น จากรายงานเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของ Lee และคณะ (2002) พบว่ากรดโปรโตแคทีชีวอิก (protocatechic , PCA) ที่สกัดได้จากกระเจี๊ยบแดงมีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยกรดชนิดนี้จะทำหน้าที่จับกับโลหะไอออนเช่น Cu^{2+} ซึ่งโลหะไอออนนี้จะมีผลไปกระตุ้นไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (low density lipoprotein) ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นเมื่อขาด Cu^{2+} ที่เป็นสารกระตุ้นทำให้เกิดการเกิดออกซิเดชันของไลโปโปรตีนชนิดที่มีความหนาแน่นต่ำลดลงเป็นผลทำให้ความเสี่ยงการเกิดโรคหัวใจลดลงด้วย และจากการศึกษาในระบบจำลองของ Chewonarin และคณะ(1999) พบว่าสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงที่สกัดด้วยเอทานอล 80% มีผลยับยั้งการกลายพันธุ์ในเชื้อ *Salmonella typhimurium* ได้ถึง 60-90% และสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงยังมีผลเป็นสารต้านมะเร็งธรรมชาติ (natural chemopreventive) ด้วยโดยทางการแพทย์จะใช้เป็นสารยับยั้งการเกิดเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงยังมีสมบัติทำลายเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ จากการศึกษาของ EL-Shayeb และ Mabrouk (1984) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงสามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ได้และยังมีผลยับยั้งการก่อตัวของสารอะฟลาทอกซินได้ 42-85% นอกจากการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราแล้ว สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงยังมีผลทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้อีกหลายชนิด เช่น *E.coli* , *Pasteurella multocida* , *Streptococcus* , *Proteus vulgaris* และ *Pyocyanus* (Mishra *et al.*, 1999)

องค์ประกอบของกระเจี๊ยบแดงส่วนใหญ่ประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคส กรดซัคซินิก (succinic acid) และกรดออกซาลิก (oxalic acid) เนื่องจากมีกรดเป็นองค์ประกอบหลายชนิดทำให้กระเจี๊ยบแดงมีพีเอชอยู่ระหว่าง 2-3 ซึ่งมีผลให้กระเจี๊ยบแดงมีรสชาติเปรี้ยว สีแดงของกลีบกระเจี๊ยบประกอบด้วยรงควัตถุที่จัดอยู่ในกลุ่มของเฟลโวนอยด์ รงควัตถุนี้มีชื่อว่า แอนโธไซยานิน นิยมใช้เป็นสารให้สีแดงในแยม เยลลี่ และเครื่องดื่มน้ำผลไม้ แอนโธไซยานินในกระเจี๊ยบแดงประกอบด้วย เดลฟินิดิน-3-แซมบูไบโอไซด์ (delphinidin-3-sambubioside) เป็นรงควัตถุที่ทำให้เกิดสีม่วงแดงในกระเจี๊ยบแดง โดยมีปริมาณมากที่สุด รงควัตถุที่พบรองลงมาคือ ไซยานิน-3-แซมบูไบโอไซด์ (cyaniding-3-sambubioside) โดยอัตราส่วนของรงควัตถุทั้งสองชนิดในกระเจี๊ยบแดงเป็นร้อยละ 70.9:29.1 ของปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมด จากการวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมดในกระเจี๊ยบแดงพบว่าใน 100 กรัมของกระเจี๊ยบแดงแห้ง จะมีแอนโธไซยานินอยู่ 1.5 กรัม (ในรูปของน้ำหนักแห้ง) ซึ่งแอนโธไซยานินที่วิเคราะห์ได้นี้แสดงอยู่ในรูปของ เดลฟินิดิน-3-กลูโคไซด์ (delphinidin-3-glucoside) (Bridle and Timberlake, 1997) แอนโธไซยานินมีสมบัติละลายน้ำได้ดีในน้ำ อะซิโตน และแอลกอฮอล์ ไม่ละลายในปิโตรเลียมอีเทอร์ และเบนซีน สีของแอนโธไซยานินสามารถเปลี่ยนแปลงไปตามความเป็นกรด-ด่าง คือในสภาพที่เป็นกรดจะให้สีแดงเข้ม ในสภาพที่เป็นกลางจะให้สีชาแดง และในสภาพที่เป็นด่างจะให้สีเขียวคล้ำจนถึงสีชาแก่ เนื่องจากสีของแอนโธไซยานินจากกระเจี๊ยบแดงมีสีสั่นสวยงาม จึงนิยมนำไปใช้ผสมอาหารธรรมชาติซึ่งสามารถใช้แทนสีผสมอาหารชนิดสังเคราะห์ได้ดี และสมบัติอีกอย่างหนึ่งของแอนโธไซยานิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกระเจียบแดงคือเป็นสารต้านปฏิกริยาออกซิเดชัน ซึ่งปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์พบว่าแอนไซไซยานินมีส่วนช่วยทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในหลอดทดลองและสัตว์ทดลองได้เป็นอย่างดี (Tee *et al.*, 2002; Duh and Yen, 1997; Tseng *et al.*, 1997) ดังนั้นจึงทำให้แอนไซไซยานินมีความสำคัญในแง่อื่นๆ มากขึ้นนอกจากใช้เป็นสีผสมอาหาร

2.3 ไนโตรทในเนื้อสัตว์

ไนเตรทและไนไตรท์ (nitrate and nitrite) มีการใช้อย่างกว้างขวางในการแปรรูป และการรักษาคุณภาพเนื้อสัตว์ การเติมสารประกอบไนเตรทและ หรือไนไตรท์ในส่วนผสม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค โดยเฉพาะ *Clostridium botulinum* นอกจากนี้สารประกอบไนไตรท์ยังช่วยปรับปรุงคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยให้กลิ่นรสเฉพาะและทำให้เกิดกลิ่นเนื้อสัตว์มีสีแดงชมพูหรือสีแดงที่คงตัว (ชัยณรงค์, 2529) สารประกอบไนไตรท์สามารถทำปฏิกริยากับสารประกอบเอมีน (amines) เกิดเป็นสารประกอบในกลุ่ม เอ็น-ไนโตรโซ (N – nitroso compounds) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง สามารถเกิดได้ทั้งในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ในระหว่างกระบวนการแปรรูป หรือ เกิดขึ้นได้ในทางเดินอาหารของเรา เนื่องจากการบริโภคอาหารที่มีไนไตรท์เป็นองค์ประกอบ (ชัยณรงค์, 2529) ร่างกายคนปกติสามารถดูดซึม ไนเตรทและไนไตรท์จากระบบทางเดินอาหารอย่างรวดเร็ว ไนเตรทที่ถูกดูดซึมจะขับถ่ายออกมาอย่างรวดเร็ว ไนเตรทที่ถูกดูดซึมดังกล่าวจะทำปฏิกริยากับฮีโมโกลบิน เกิดเมทฮีโมโกลบิน (methaemoglobin) ซึ่งในผู้ใหญ่จะเปลี่ยนไปเป็น ออกซี-ฮีโมโกลบิน โดย reducing systems เช่น NADH - methaemoglobin reductase ในเด็กอายุไม่เกิน 3 เดือน และสัตว์ที่มีอายุน้อยๆ ระบบการทำงานของเอ็นไซม์ยังพัฒนาไม่สมบูรณ์ ดังนั้นเมทฮีโมโกลบิน จะเพิ่มมากขึ้น มีผลให้เกิดโรค methaemoglobinaemia

2.4 อันตรายจากการใช้ไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (จินตนา,2529)

อันตรายทางตรง การบริโภคไนไตรท์มากกว่า 4 กรัมต่อวัน ในผู้ใหญ่อาจทำให้มีอาการอาเจียน และอุจจาระเป็นเลือดเนื่องจากเกิดการระคายเคืองต่อกระเพาะอาหาร ถ้าใส่ และเยื่อทางเดินอาหาร ในเด็กทำให้เกิดโรคเมทฮีโมโกลบินีเมีย(methemoglobinemia)โดยไนไตรท์รวมตัวกับฮีโมโกลบินเกิดเป็นเมท-ฮีโมโกลบินทำให้ร่างกายขาดออกซิเจน ผิวหนังเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินแกมเทา โดยเริ่มจากริมฝีปาก นิ้วมือ นิ้วเท้า หน้าและลำตัว ถ้ามีอาการมากจะสามารถเสียชีวิตได้ การบริโภคไนไตรท์มากกว่า 8 กรัมต่อวัน สามารถทำให้เสียชีวิตได้อย่างเฉียบพลัน

อันตรายทางอ้อม ไนไตรท์ทำปฏิกริยากับเอมีนเกิดเป็นสารประกอบไนโตรซามีนที่มีฤทธิ์เป็นสารก่อมะเร็ง ในมนุษย์และสัตว์ สารประกอบไนโตรซามีนที่พบในผลิตภัณฑ์เนื้อ คือไนโตรไดเมทิลลามีน(nitrosodimethylamine), ไนโตรโซพิเพอริดีน(nitrosopiperidine), ไนโตรโซไพร์โรลิดีน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(nitrosopyrrolidine) ส่วนใหญ่ใน ไตรโซโดเมทิลลามีน(nitrosodimethylamine) จะพบในผลิตภัณฑ์เนื้อ และใน ไตรโซไพร์โรลิดีน(nitrosopyrrolidine) จะพบในผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันสูง เช่น เบคอน

2.5 การลดปริมาณไนโตรที่ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

ประเทศไทยอนุญาตให้ใช้โซเดียม หรือโพแทสเซียมไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในรูปโซเดียม หรือโพแทสเซียมไนเตรดไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2527) โซเดียมไนไตรท์มีสูตรทางเคมีคือ NaNO_2 มีน้ำหนักโมเลกุล 69.0 มีลักษณะผลึกสีขาวเหลือง ไวต่อความชื้น สามารถละลายได้ดีในน้ำและละลายได้เล็กน้อยในแอลกอฮอล์ ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีการใช้ไนไตรท์อย่างแพร่หลาย เพราะไนไตรท์ให้สมบัติที่ต้องการมากมายในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ คือ เป็นสารป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ป้องกันการเกิดกลิ่นหืนเนื่องปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้เกิดสีในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ แต่การใช้ไนไตรท์มากเกินไปอาจเกิดอันตรายแก่ร่างกาย ปัจจุบันยังไม่มีสารใด ๆ ที่มีคุณสมบัติสามารถใช้แทนไนไตรท์ แต่ได้มีแนวทางในการลดปริมาณไนไตรท์ 2 แนวทาง คือ การใช้ไนไตรท์ร่วมกับสารรีดิวซิงเช่น กรดแอสคอร์บิก อีริธอร์บิก และโทโคฟีรอล สามารถยับยั้งการเกิดไนโตรโซโดเมทิลลามีน และ ไนโตรโซโดเอทิลลามีน ส่วนโทโคฟีรอล สามารถยับยั้งการเกิดไนโตรไพร์โรลิดีน หรือลดปริมาณการใช้ไนไตรท์ร่วมกับการใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นสารให้สี เช่น เบทานีน เบต้าแคโรทีน และเล็คโธ การลดปริมาณไนไตรท์อาจจำเป็นต้องใช้สารป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น บีเอชเอ (จินตนา, 2529)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสมบัติการทำลายไนไตรท์ของสารสกัดจากพืชและวัตถุดิบบางชนิด

Kang และคณะ(2006) ได้ศึกษาเพื่อดูความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ของสารสกัดจากเปลือกพืชตระกูลส้ม พบว่าเปลือกพืชตระกูลส้มที่ระดับความเป็นกรดต่างที่แตกต่างกัน คือที่ pH 1.2 , 4.2 และ 6.0 จะมีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ได้ 55% , 8% และ 4% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าที่ค่าความเป็นกรดต่ำ สารประกอบฟีนอลิกจะสามารถทำงานได้ดีกว่า

Fernandez – Gines และคณะ (2004) ได้ศึกษาเพื่อดูผลของการเติมของ Lemon Albedo ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันลงในไส้กรอกบาโลนา จากงานวิจัยพบว่านอกจากการเติม Lemon Albedo ลงในไส้กรอกบาโลนาจะช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหารแล้ว ยังสามารถเกิดชีวปฏิกิริยา ซึ่งส่งผลต่อการลดปริมาณไนไตรท์ที่ตกค้างในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก โดยพบว่าการใช้ Lemon Albedo ที่ระดับความเข้มข้น 2.5% - 5% จะให้ผลดีในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pourazrang และคณะ(2002) ได้ศึกษาผลของการใช้วิตามินซี (L – ascorbic acid) และวิตามินอี ต่อการยับยั้งการเกิดสารประกอบ เอ็น – ไนโตรโซ ในตัวอย่างไส้กรอก พบว่า วิตามินซี มีผลต่อการลดการเกิดสารประกอบเอ็น – ไนโตรโซ และจะมีประสิทธิภาพดีเมื่อใช้ร่วมกับวิตามินอี โดยวิตามินอีจะมีหน้าที่ไปช่วยส่งเสริมการทำงานของวิตามินซี แต่พบว่าการใช้วิตามินอี เพียงอย่างเดียวจะไม่มีผลต่อการลดการเกิดสารประกอบเอ็น – ไนโตรโซ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์ในการทดลอง

1. อุปกรณ์เตรียมสารสกัด

- เครื่องระเหยสุญญากาศ Rotavapor BOUCHI B - 114
- ปั๊มสุญญากาศ Vacuum system BUCHI B – 169
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ Water bath BUCHI B – 480
- เครื่องทำความเย็น Cooling รุ่น CBD 1
- เครื่องชั่งชนิดละเอียด Metter AE 3000
- เครื่องบดหยาบ Blender MX – T 100N

2. อุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์ผลทางเคมี

- เครื่องวัดการดูดกลืนแสง Spectrophotometer 22
- เครื่องวัด pH WTW / Inolab Level 1
- เครื่องวัดสี Minolia CR – 300

3. อุปกรณ์ในการทำไส้กรอก

- เครื่องบดเนื้อ US Berkel
- เครื่องบรรจุไส้ Poussoir couper R 201
- เครื่องบรรจุสุญญากาศ Sammic S.A.
- เครื่องสับผสม
- ตู้อบลมร้อน (try dryer)

3.2 วัตถุดิบ

- 1) กระเจี๊ยบแดง (Red sorrel) ยี่ห้อเทศ โก้โลดัส จากเทศ โก้โลดัส สาขา พระรามที่ 1
- 2) วัตถุดิบที่ใช้ทำไส้กรอก
 - เนื้อหมูส่วนสะโพกจากตลาดบางกะปิ กรุงเทพฯ
 - มันหมูแข็งจากตลาดบางกะปิ
 - พริกไทย
 - กระเทียม
 - อบเชย
 - ลูกจันทน์
 - ลูกผักชี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สารฟอสเฟต
- น้ำแข็ง
- โปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองผง
- ไข่ขาวผง
- น้ำมันพืช
- กลิ่นควิน
- ไข่เทียม
- โซเดียมไนไตรท์

3) สารเคมี

- เอทิลแอลกอฮอล์ 95 %
- กรดแกลลิก
- Folin – Ciocalieiu
- โซเดียมคาร์บอเนต(Na_2CO_3)
- N-(1-naphthyl) ethylenediamine.2HCl (NED reagent)
- Sulfanilamide reagent

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมสารสกัดกระเจียบแดง

นำกระเจียบแดงแห้งซึ่งน้ำหนัก 100 กรัม ปั่นผสมกับเอทานอล 95 % ปริมาตร 1 ลิตร โดยใช้เครื่องปั่นน้ำผลไม้ที่ความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นถ่ายใส่บีกเกอร์ทรงสูงแล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงโดยคนทุกๆ 10 นาที จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 โดยใช้กรวยกรองบุชเนอร์ นำสารละลายที่ได้ นำไประเหยเอาตัวทำละลายออกให้หมด โดยใช้ เครื่องระเหยสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เก็บสารสกัดที่ได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ - 18 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

3.3.2 การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดจะใช้วิธีรายงานโดยประพันธ์ และ วันทนี (2545) โดยที่สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดจะทำปฏิกิริยากับ Folin Coicalteu เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 730 นาโนเมตร

ใช้กรดเกลือเป็นสารประกอบพินอลมาตรฐาน รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ก

3.3.3 ผลของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงต่อปริมาณไนโตรเจนที่ตกค้างในไส้กรอกหมู

3.3.3.1 การเตรียมตัวอย่างไส้กรอกหมู

การเตรียม Pre-Emulsion

ชั่งโปรตีนถั่วเหลืองสกัดผง 100 กรัม ใส่ลงในโถของเครื่องผสมแป้งค้อย ๆ เติมน้ำเย็นปริมาณ 400 กรัม ผสมให้โปรตีนกระจายตัวและดูดซับน้ำไว้จนหมดก่อน โดยใช้ไม้ตีหัวโบเสร็จแล้วเติมน้ำมันพืชปริมาณ 400 กรัม ลงในส่วนผสมพร้อมกับตีผสมตลอดเวลา ค่อย ๆ เททีละน้อยจนหมด แล้วเพิ่มความเร็วในช่วงหลังให้แรงขึ้นเพื่อให้ไขมันกระจายตัวและคงตัวดี ในส่วนผสม Pre-Emulsion ที่ได้เก็บแช่เย็นที่ 2-5 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

ส่วนผสมไส้กรอกหมู

| | | |
|-----------------------|----------------------|-------------------------|
| เนื้อหมู 3000 กรัม | มันแข็ง 400 กรัม | น้ำแข็ง 900 กรัม |
| น้ำตาล 24 กรัม | พริกไทยป่น 12 กรัม | ไข่ขาวผง 24 กรัม |
| ดอกจันทร์ป่น 2.4 กรัม | อบเชย 0.9 กรัม | ฟอสเฟต 15 กรัม |
| ผงชูรส 7.5 กรัม | กลี้นควันผสม 12 กรัม | โซเดียมไนไตรท์ 1.5 กรัม |

วิธีการทำไส้กรอกหมู

นำเนื้อหมูแช่เย็นจัดและหั่นเป็นชิ้นพอประมาณ บดละเอียด แล้วนำไปแช่เย็นจัดไว้ หั่นมันแข็งเป็นชิ้นเล็กและบดละเอียด นำเข้าแช่เย็นจัดไว้ นำเนื้อบดใส่ลงในกระทะของเครื่องสับนวด เติมเกลือและบด 1 นาที เติมน้ำแข็ง และฟอสเฟต บดต่อ 2 นาที เติมน้ำแข็งและน้ำแข็ง เกลือไนไตรท์บดต่ออีก 2 นาที เติมส่วนผสมที่เหลือและสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแล้วบดจนเข้ากันดีเป็นมวลเหนียว บรรจุส่วนผสมใส่เครื่องบรรจุและอัดไส้เทียมมัดปล้องให้ได้ขนาดตามต้องการ นำไส้กรอกเข้าสู่อบใช้อุณหภูมิ 80- 90 องศาเซลเซียส นาน 20- 30 นาที เสร็จแล้วมาต้มในน้ำร้อน 90 องศาเซลเซียส นาน 5-10 นาที นำมาแช่เย็นในน้ำสะอาดและบรรจุในถุง PE ผลึกแบบสุญญากาศเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.3.4 การวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพของตัวอย่างไส้กรอกหมู

3.3.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (ดัดแปลงจาก AOAC, 2000)

การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างใส่กรอกมา 5 กรัม บดให้ละเอียด เอามาใส่บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำ 20 มิลลิลิตร นำไปนึ่งเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็น นำไปกรองโดยใช้กระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 เอาสารละลายที่กรองได้นำไปปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 250 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ได้จะใช้สำหรับการวิเคราะห์ต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณกรด

ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำลงไป 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาเลอิน 2-3 หยด แล้วนำไปไทเทรตกับ โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล จนกระทั่งถึงจุดยุติเกิดสีชมพู กำหนดหาปริมาณกรด ทั้งหมดตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรด} = \frac{N \times V \times 64 \times 100}{1000 \times \text{กรัมตัวอย่าง}}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล NaOH

V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต

64 = มวลโมเลกุลของกรดซิตริก

3.3.4.2 การวัดค่า pH (ดัดแปลงจาก AOAC, 1984 โดยนภา, 2529)

นำตัวอย่างใส่กรอกมา 20 กรัม มาบดให้ละเอียด เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน วัดด้วยเครื่องวัด pH meter WTW / Inolab Level 1

3.3.4.3 การวิเคราะห์สี

วัดค่าสีของตัวอย่างใส่กรอกหุ้มทั้งส่วนผิวด้านนอกและผิวเนื้อด้านในด้วย เครื่องวัดสี Minolia CR – 300 นำตัวอย่างมาวัดค่า Hunter lab color วัดค่าสี L, a และ b โดยใช้แผ่น target mask ขนาดที่เหมาะสมกับตัวอย่างที่ต้องการวัด ในการทดลองครั้งนี้ใช้แผ่นขนาดกลาง สอบเทียบเครื่องวัดสีด้วย zero calibration Box CM-A12 และ White Calibration Plate ซึ่งตั้งค่าการวัดดังนี้

แหล่งกำเนิดแสง C (Light North Sky Daylight)

ค่ามุม 10 องศา แหล่งรวมแสงใช้ SCI (รวมแสงสะท้อน) ทำการวัดแบบหา

ค่าเฉลี่ย 10 จุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำตัวอย่างใส่กรอกทุกตัวอย่าง วางบนแผ่น target mask วัดค่า 10 จุดต่อ 1 ตัวอย่างอ่านค่าสีที่วัดได้ในระบบ L, a และ b (ค่า L คือ ค่าความสว่าง, ค่า a คือ ค่าสีแดงและค่า b คือ ค่าสีเหลือง)

3.3.4.4 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในใส่กรอก

การเตรียมตัวอย่าง (ดัดแปลงจาก AOAC ,2000)

นำตัวอย่างใส่กรอกมาบดแล้วนำมาชั่ง 2.5 กรัม นำมาใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ปริมาณ 150 มิลลิลิตร นำไปนึ่งในถังถึง 2 ชั่วโมง โดยคนทุก ๆ 10 นาที นำมาทำให้เย็นโดยใช้น้ำเย็น นำมาถ่ายลงในขวดวัดปริมาตร 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นเอาไปกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 นำสารละลายที่ได้นำไปวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในใส่กรอก

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน จะใช้วิธีดัดแปลงจากวิธีรายงานโดย AOAC 2000 โดยที่สารประกอบไนโตรเจน จะทำปฏิกิริยากับ Reagent NED เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีชมพู ซึ่งสามารถติดตามโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ใช้โซเดียมไนไตรต์เป็นสารประกอบมาตรฐานในการทำกราฟมาตรฐาน รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ค

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การเตรียมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง

จากการเตรียมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง โดยนำกระเจี๊ยบแดงแห้งชั่งน้ำหนัก 100 กรัม ปั่นผสมกับเอทานอล 95 % ปริมาตร 1 ลิตร โดยใช้เครื่องปั่นน้ำผลไม้ที่ความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นถ่ายใส่บีกเกอร์ทรงสูง แล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงโดยคนทุกๆ 10 นาที จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 โดยใช้กรวยกรองบุชเนอร์ นำสารละลายที่ได้ ไประเหยเอาตัวทำละลายออกให้หมด โดยใช้เครื่องระเหยสูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ได้สารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่มีลักษณะขุ่นหนืด มีสีแดงคล้ำและมีกลิ่นเปรี้ยวของกรด

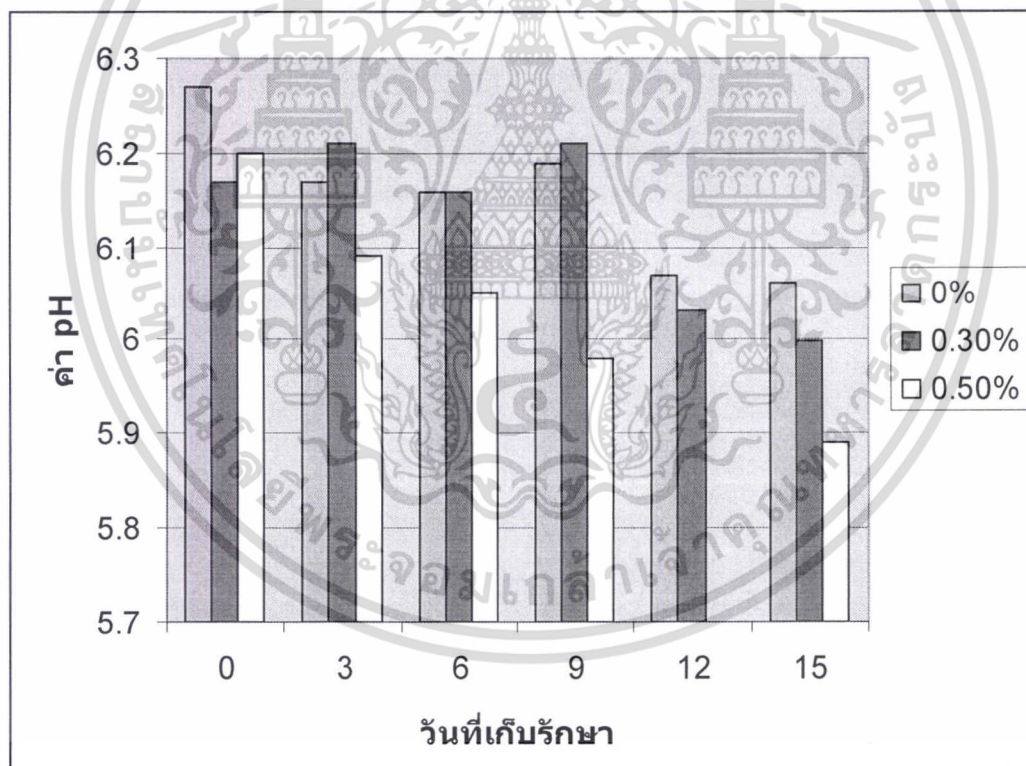
เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ได้พบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 347 มิลลิกรัม / กรัมสารสกัด ค่า pH ของสารละลาย 20% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงมีค่าเท่ากับ 4.13

4.2 ผลของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีกายภาพและปริมาณไนโตรเจนตกค้างในไส้กรอกหมู

จากการทดลองเตรียมไส้กรอกหมูที่มีปริมาณไนโตรเจน 500 ppm และเติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง 3 ระดับ คือ 0, 0.3, และ 0.5 % โดยน้ำหนัก บรรจุตัวอย่างไส้กรอกที่ได้ในถุง PE และปิดผนึกแบบสูญญากาศ นำเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 ของการเก็บรักษา มาวิเคราะห์ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมด $\text{S}(\text{a}^*)$ ของผิวหนังนอกและเนื้อในไส้กรอกและปริมาณไนโตรเจนตกค้าง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1- 4.5 และรูปที่ 4.1- 4.5 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในระหว่างการเก็บรักษาของตัวอย่าง
ไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

| วันที่เก็บรักษา | ค่า pH ของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดง | | |
|-----------------|--|------|------|
| | 0 % | 0.3% | 0.5% |
| 0 | 6.27 | 6.17 | 6.20 |
| 3 | 6.17 | 6.21 | 6.09 |
| 6 | 6.16 | 6.16 | 6.05 |
| 9 | 6.19 | 6.21 | 5.98 |
| 12 | 6.07 | 6.03 | 5.17 |
| 15 | 6.06 | 6.00 | 5.89 |



รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในระหว่างการเก็บรักษาของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสาร
สกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

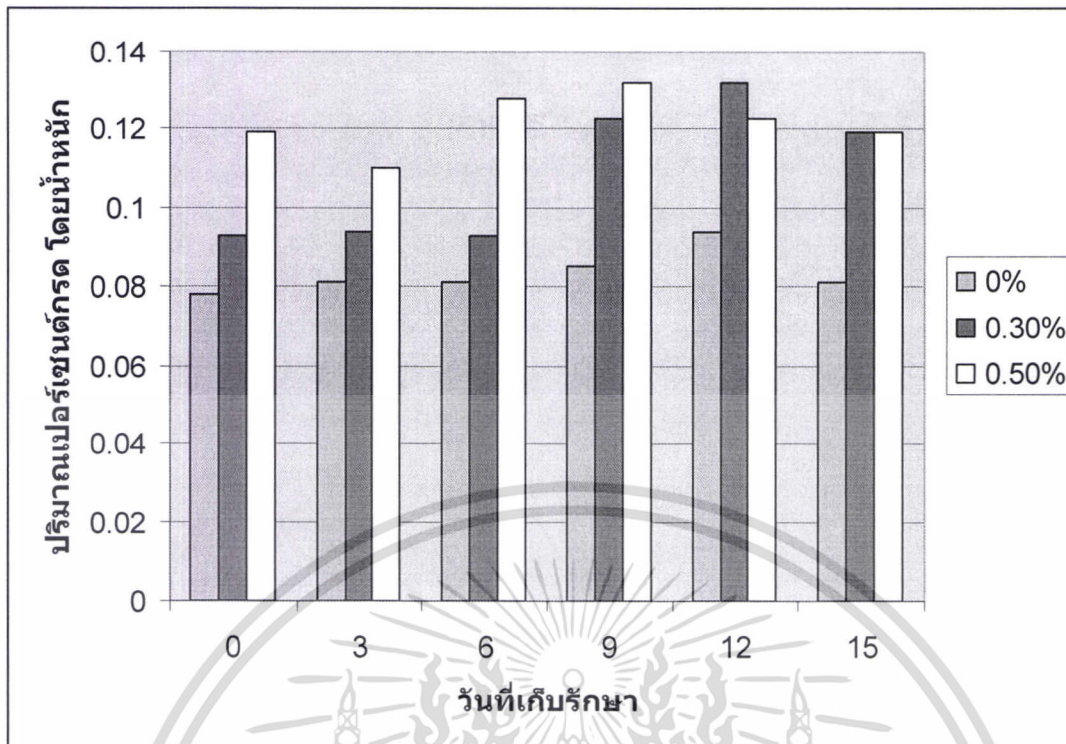
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าตัวอย่างไส้กรอกควบคุม (สารสกัดกระเจียบแดง 0 %) จะมี pH ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาสูงกว่าตัวอย่างไส้กรอกที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงทั้งสองระดับเล็กน้อย อย่างไรก็ตามค่า pH ของไส้กรอกหมูทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น โดยตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงที่ระดับ 0, 0.3 และ 0.5 % โดยน้ำหนัก มีค่า pH ลดลงจากเริ่มต้น 6.27 , 6.17 , และ 6.20 เป็น 6.06 , 6.00 , และ 5.89 ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น มีผลทำให้จุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างกรดได้ เช่น แบคทีเรียแลคติก เจริญมากขึ้นและผลิตกรดออกมาทำให้ pH ของตัวอย่างไส้กรอกหมูลดลง

ตารางที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด (เปรียบเทียบกับกรดซิตริก)ของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

| วันที่เก็บรักษา | ปริมาณกรดทั้งหมด (% โดยน้ำหนักเทียบกับกรดซิตริก) ของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดง | | |
|-----------------|---|-------|-------|
| | 0% | 0.3% | 0.5% |
| 0 | 0.078 | 0.093 | 0.119 |
| 3 | 0.081 | 0.094 | 0.110 |
| 6 | 0.081 | 0.093 | 0.128 |
| 9 | 0.085 | 0.123 | 0.132 |
| 12 | 0.094 | 0.132 | 0.123 |
| 15 | 0.081 | 0.119 | 0.119 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

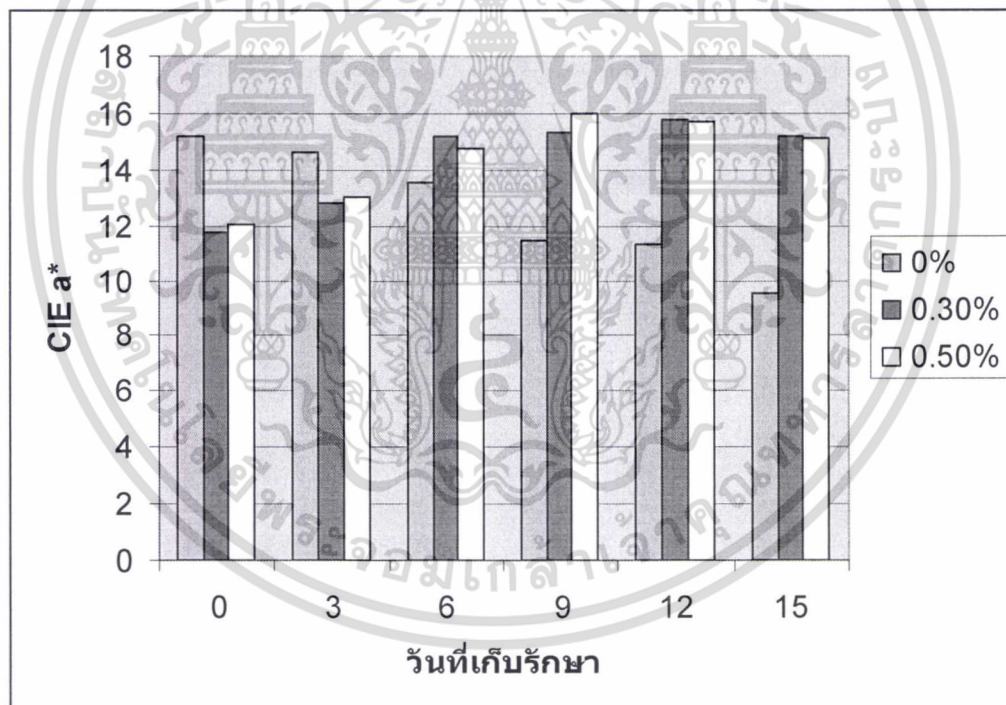


รูปที่ 4.2 เปรอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด (เปรียบเทียบกับกรดซิตริก) ของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าตัวอย่างไส้กรอกที่เติมสารสกัดจากกระเจียบแดงทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น จะมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าตัวอย่างควบคุม และเมื่อเติมสารสกัดกระเจียบแดงมากขึ้น ปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างไส้กรอกจะสูงขึ้นด้วย ทั้งนี้เนื่องมาจากความเป็นกรดของสารสกัดกระเจียบแดงมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกมีปริมาณกรดเพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดในตัวอย่างไส้กรอกหมูทั้ง 3 ตัวอย่าง ในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดในไส้กรอกหมูทุกตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยซึ่งสอดคล้องกับแนวโน้มการลดลงของค่า pH

ตารางที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงสี (ค่า a^*) ที่ผิวด้านนอกของตัวอย่าง ในระหว่างการเก็บรักษา ไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

| วันที่เก็บรักษา | ค่า a^* ที่ผิวด้านนอก | | |
|-----------------|--------------------------|-------|-------|
| | ปริมาณสารสกัดกระเจียบแดง | | |
| | 0% | 0.3% | 0.5% |
| 0 | 15.21 | 11.77 | 12.03 |
| 3 | 14.65 | 12.86 | 13.05 |
| 6 | 13.55 | 15.22 | 14.78 |
| 9 | 11.49 | 15.34 | 15.98 |
| 12 | 11.32 | 15.78 | 15.70 |
| 15 | 9.52 | 15.20 | 15.12 |

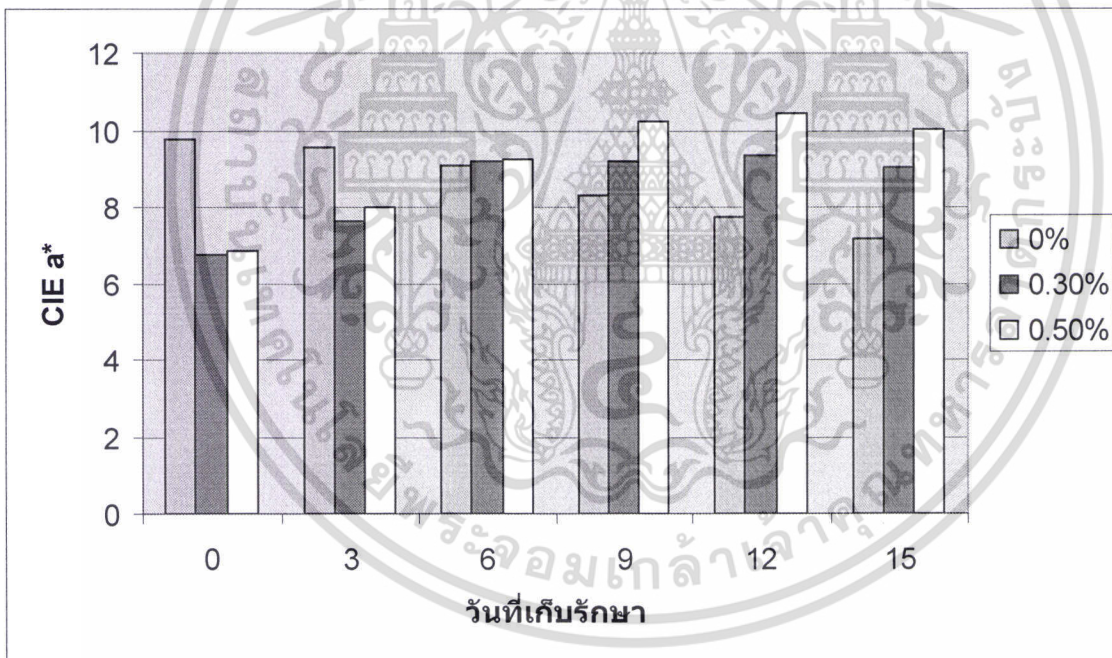


รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงสี (ค่า a^*) ที่ผิวด้านนอกของตัวอย่าง ในระหว่างการเก็บรักษา ไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงสี (ค่า a^*) ที่ผิวด้านในของตัวอย่าง ในระหว่างการเก็บรักษา ใ้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

| วันที่เก็บรักษา | ค่า a^* ที่ผิวด้านใน | | |
|-----------------|--------------------------|------|-------|
| | ปริมาณสารสกัดกระเจียบแดง | | |
| | 0% | 0.3% | 0.5% |
| 0 | 9.79 | 6.75 | 6.88 |
| 3 | 9.56 | 7.63 | 8.01 |
| 6 | 9.08 | 9.18 | 9.23 |
| 9 | 8.32 | 9.22 | 10.21 |
| 12 | 7.75 | 9.35 | 10.44 |
| 15 | 7.16 | 9.03 | 10.03 |



รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงสี (ค่า a^*) ที่ผิวด้านในของตัวอย่าง ในระหว่างการเก็บรักษาใ้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

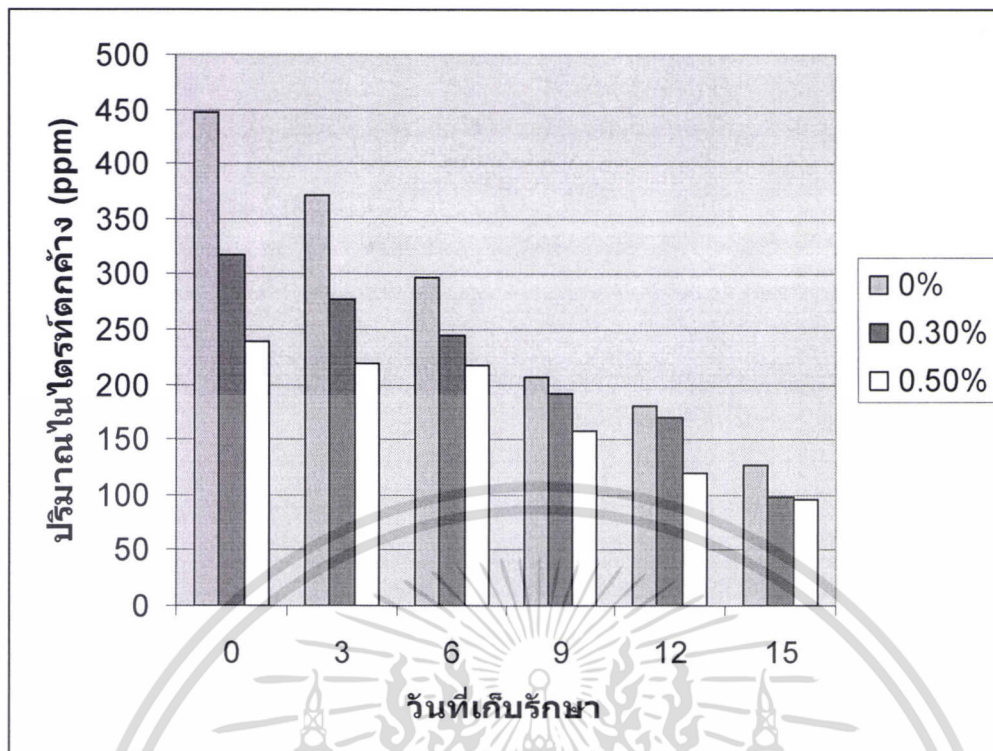
เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดง (a^*) ในส่วนผิวด้านนอกของตัวอย่างใ้กรอกหมู ในระหว่างการเก็บรักษาดังผลการทดลองในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3 จะเห็นได้ชัดว่า ตัวอย่างใ้กรอกควบคุมที่เตรียมได้เริ่มต้นมีค่า a^* หรือสีแดงมากกว่าตัวอย่างใ้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงทั้งสองระดับ อย่างไรก็ตามเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น ตัวอย่างควบคุมจะมีเอกสารที่เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และห้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แนวโน้มของค่า a^* ลดลง โดยลดลงจากเริ่มต้น 15.21 เป็น 9.52 ในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการถูกทำลายของรงควัตถุสีแดงในระหว่างการเก็บรักษา สำหรับกรณีของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงทั้ง 2 ระดับนี้ พบว่าค่า a^* มีค่าใกล้เคียงกันและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น การเปลี่ยนแปลงสีแดงในส่วน of เนื้อไส้กรอกด้านในก็มีแนวโน้มเป็นในทิศทางเดียวกันกับผิวด้านนอก (ตาราง 4.4 และ รูปที่ 4.4) ซึ่งสาเหตุที่ทำให้ตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงมีความเข้มของสีแดงเพิ่มขึ้น เมื่อเก็บรักษานานขึ้นนั้นไม่สามารถได้แน่ชัด แต่คาดว่าน่าจะเกิดจากรงควัตถุสีแดงแอนโทไซยานินที่เป็นองค์ประกอบหลักในสารสกัดกระเจี๊ยบแดง โดยทั่วไปแอนโทไซยานินจะมีสีแดงเข้มในสภาวะเป็นกรด หรือ pH ต่ำ และสีแดงของแอนโทไซยานินจะลดลงหรือเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน หรือเขียวคล้ำจนถึงสีน้ำตาล ในสภาวะที่เป็นด่าง (Bridle and Timberlake, 1997) จากผลการทดลองในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.2 พบว่า pH ของตัวอย่างไส้กรอกมีค่าลดลงในระหว่างการเก็บรักษา แสดงว่ามีความเป็นกรดมากขึ้นจึงส่งผลให้แอนโทไซยานินในสารสกัดกระเจี๊ยบแดงมีสีแดงมากขึ้น ตัวอย่างไส้กรอกที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงจึงมีค่า a^* เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรที่ตกค้างในไส้กรอกในช่วงการเก็บรักษาของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

| วันที่เก็บรักษา | ปริมาณไนโตรที่ตกค้างในไส้กรอก (ppm) ของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดง | | |
|-----------------|---|--------|--------|
| | 0% | 0.30 % | 0.50 % |
| 0 | 446.66 | 317.33 | 238.66 |
| 3 | 370.66 | 276.33 | 219.00 |
| 6 | 296.33 | 244.66 | 217.66 |
| 9 | 207.00 | 191.66 | 158.33 |
| 12 | 180.66 | 171.00 | 118.66 |
| 15 | 126.66 | 98.66 | 95.33 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนที่ตกค้างในระหว่างการเก็บรักษาของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าไส้กรอกทุกตัวอย่างมีปริมาณไนโตรเจนที่ตกค้างลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น โดยตัวอย่างไส้กรอกควบคุม มีปริมาณไนโตรเจนที่ลดลงจากเริ่มต้น 446.66 ppm เป็น 126.66 ppm ในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงในปริมาณที่เพิ่มขึ้น จะมีผลทำให้ปริมาณไนโตรเจนที่ตกค้างลดลงได้มากขึ้น โดยไนโตรเจนที่ตกค้างในตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ระดับ 0.3% และ 0.5 % มีปริมาณไนโตรเจนที่ลดลงจากเริ่มต้นเท่ากับ 317.33 และ 238.66 เหลือ 98.66 และ 95.33 ppm ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงมีประสิทธิภาพ ในการลดปริมาณไนโตรเจนที่ตกค้างในไส้กรอกหมูได้ดี

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองเตรียมไส้กรองหุที่มีปริมาณไนไตรท์ 500 ppm และเติมสารสกัดจากกระเจียบแดง 3 ระดับ คือ 0, 0.3, และ 0.5 % โดยน้ำหนัก บรรจุตัวอย่างไส้กรองที่ได้ในถุง PE และปิดผนึกแบบสุญญากาศ นำเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 ของการเก็บรักษา มาวิเคราะห์ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมด สี (a^*) ของผิวด้านนอกและเนื้อในไส้กรองและปริมาณไนไตรท์ตกค้าง ซึ่งจากการทดลองพบว่า

1. ไส้กรองทุกตัวอย่างที่ระยะเวลาการเก็บนานขึ้น ค่า pH มีแนวโน้มลดลงซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดที่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น และจะเห็นได้ว่าไส้กรองที่ใส่สารสกัดจากกระเจียบแดงที่ระดับความเข้มข้น 0.3 % และ 0.5 % จะมีค่า pH ที่ต่ำกว่าไส้กรองที่ไม่ใส่สารสกัดจากกระเจียบแดง
2. ผิวด้านนอกและเนื้อด้านในไส้กรองหุที่ไม่ใส่สารสกัดจากกระเจียบแดงจะมีค่า a^* ลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นและในทางกลับกันไส้กรองที่เติมสารสกัดจากกระเจียบแดงจะมีสีแดงเข้มขึ้น (ค่า a^* เพิ่มขึ้น)
3. ไส้กรองทุกตัวอย่างมีปริมาณไนไตรท์ตกค้างลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น และไส้กรองที่เติมสารสกัดจากกระเจียบแดงมีปริมาณไนไตรท์ตกค้างต่ำกว่าไส้กรองที่ไม่ใส่สารสกัดจากกระเจียบแดง ซึ่งที่ระดับสารสกัดกระเจียบแดงสูงขึ้นไปมีผลทำให้ปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรองหุลดลงได้มากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- จินตนา สายสิทธิ์.2529.ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์.คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
กรุงเทพฯ.
- ชัยณรงค์ คันธพนิต.2529.วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์.กรุงเทพฯ : ไทยวัฒนาพานิช.
- นภา โล่ทอง.2529. ปฏิบัติการวิชาจุลชีววิทยาทางอาหาร ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์ .2546.การใช้สารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดงและเมล็ดส้มเขียวหวานเป็น
สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในหมูแผ่น.คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบัน
เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.
- AOAC. 2000. Association of Official Analytical Chemists, 17th ed. Washington, D.C. :
Association of Official Chemist, Inc.
- Bridle, P. , Timberlake, C.F. 1997. Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. Food
Chem. 58(1-2): 103-109
- Fernandez-Gines J.M., Fernandez-Lopez J., Sayas-Barbera E., Sendra E., Perez-Alvarez J.A.
(2004). Lemon Albedo as a new source of dietary fiber: Application to bologna sausages.
Meat Science.67 : 7-13.
- John, P., Marchal, J.1995. Ripening and Biochemistry of fruit.*in* Banana and
Plantains.(Gowen,S.,ed).UK: Chapman & Hall.
- Kang H.J., Chawla S.P., Jo C., Kwon J.H., Byun M.W. (2006). Studies on the delvelopment of
Functional powder from citrus peel. Bioresource Tech. 97 :614-620.
- Lee, MJ., Chou, F.P., Tseng, T.H., Hsigh, M.H., Lin,M.C. and Wang C.J. 2002 .Hibiscus
protocatechuic acid or esculetin can inhibit oxidative LDL induced by either copper ion
or nitric oxide donor. J. Agric. Food Chem. 50(7):2130-2136.
- Magra T.I., Bloukas J.G., Fista G.A. (2006). Effect of frozen and dried leek on processing and
quality characteristics of Greek traditional sausages. Meat Sci.72:280-287.
- Mishra, M., Shukla, Y.N., Jain, S.P. , Kumar, S. 1999. Chemistry and pharmacology of
some Hibiscus spp.- a review. J. Medicinal Aromatic Plant Sci. 21(4): 1169-1186.
- Tee, P.L., Yusof, S. Mohamed. 2002 Antioxidative properties of roselle (*Hibiscus sabdariffa*
L.) in linolic acid model system. Nutr. Food Sci. 32(1):17-20.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tseng, T.H., Kao, E.S. Chu, C.Y., Chou, F.P. Lin Wu, H.W., Wang, C.J. 1997. Protective effects of dried flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. against oxidative stress in rat primary hepatocytes. *Food Chem. Toxicol.* 35(1): 1159-1164.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol contents)

การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

1. สารเคมี

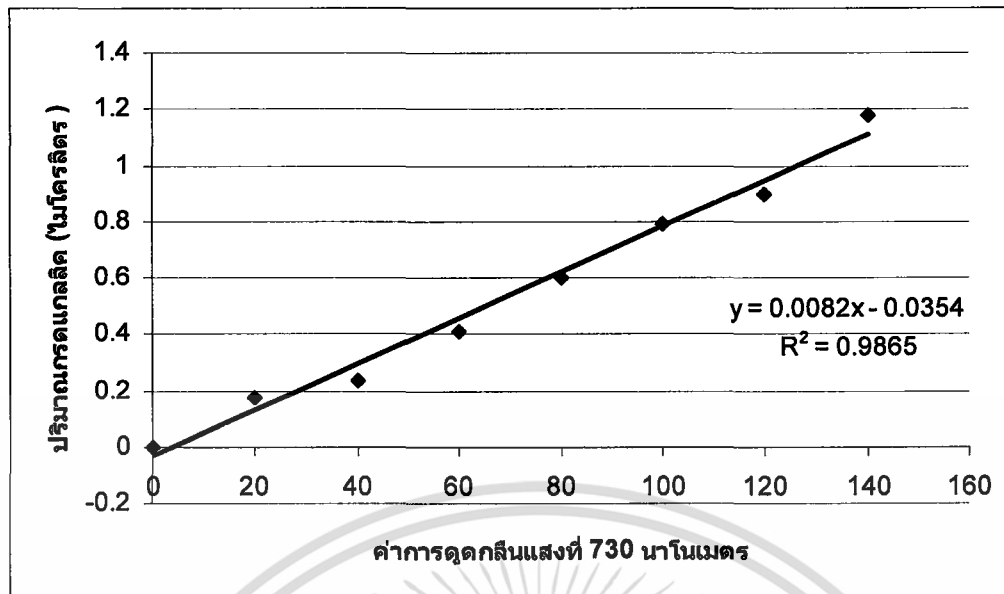
- Folin- Ciocalteu
- โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
- สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร

2. การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

- 2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 400 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร
- 2.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานดังกล่าวใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0, 0.05, 0.15, 0.20, 0.3 และ 0.35 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร
- 2.3 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที
- 2.4 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 % ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
- 2.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร
- 2.6 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในตัวอย่างสารสกัด

- 3.1 ปิเปตตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมเป็น 10 มิลลิลิตร
- 3.2 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที
- 3.3 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 % ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
- 3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็น blank



รูปที่ ก1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบ
โพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดกระเจียบแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด (เปรียบเทียบกับกรดซिटริก)

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด

1. สารเคมี

1.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1N.

1.2 สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน

2. การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด

2.1 ชั่งตัวอย่างใส่กรอก 2.5 กรัม แล้วนำมาบดให้ละเอียด

2.2 เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง นำน้ำที่กรองได้ไปต้มเพื่อไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

2.3 เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 NaOH จนกระทั่งถึงจุดยุติเกิดสีชมพู กำหนดหาปริมาณกรดทั้งหมดตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด} = \frac{N \times V \times 64 \times 100}{1000 \times \text{กรัมตัวอย่าง}}$$

N = ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล NaOH

V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต

64 = มวลโมเลกุลของกรดซिटริก

2.4 ตัวอย่างการคำนวณ

กำหนดหาปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างใส่กรอก จากสูตรในข้อ 2.3 โดยนำค่าปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ใช้ในการไทเทรต ในข้อ 2.3 มาแทนค่าในสมการ โดยมีตัวอย่างการคำนวณดังนี้

จากการวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างใส่กรอกได้ค่าสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่ได้จากการไทเทรต เท่ากับ 0.3 มิลลิลิตร โดยใช้ตัวอย่างใส่กรอกปริมาณ 5 กรัม นำไปแทนค่าในสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด} = \frac{N \times V \times 64 \times 100}{1000 \times \text{กรัมตัวอย่าง}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\begin{aligned} \text{เปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด} &= \frac{0.1 \times 0.3 \times 64 \times 100}{1000 \times 2.5} \\ &= 0.078 \end{aligned}$$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ในไส้กรอก

การเตรียมตัวอย่าง

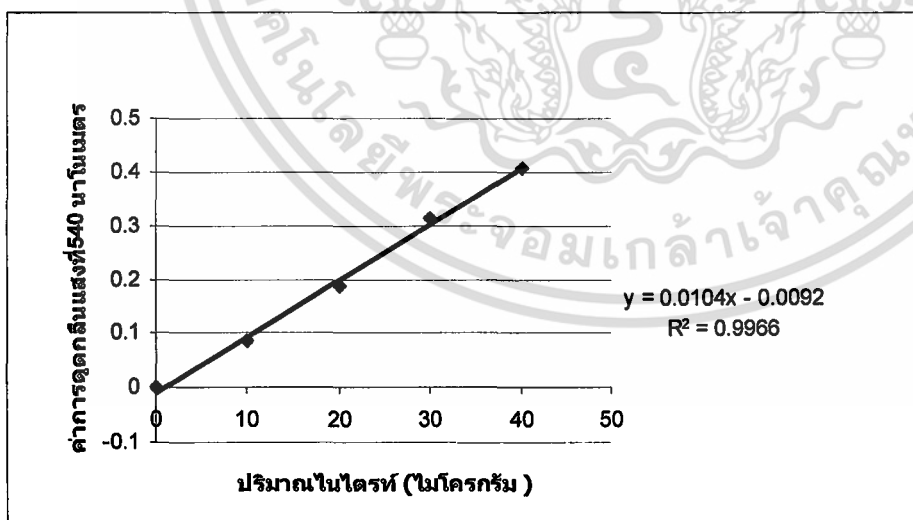
นำตัวอย่างไส้กรอกมาบดแล้วนำมาชั่ง 2.5 กรัม นำมาใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ปริมาณ 150 มิลลิลิตร นำไปนึ่งในลังถึง 2 ชั่วโมง โดยคนทุก ๆ 10 นาที นำมาทำให้เย็นโดยใช้น้ำเย็น นำมาถ่ายลงในขวดวัดปริมาตร 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นเอาไปกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 นำสารละลายที่ได้นำไปวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ในไส้กรอก

การเตรียมกราฟมาตรฐาน

โดยเตรียม working NaNO_2 (500ppm) จากนั้นปิเปตสารละลาย NaNO_2 มา 0, 1, 2, 3, 4, และ 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติม Sulfanamide หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เติมนED หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ในตัวอย่าง

นำสารละลายที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างไส้กรอก ปิเปตมา 4.0 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติม Sulfanamide หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เติมนED หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร



รูปที่ ค1 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการคำนวณ

คำนวณปริมาณไนโตรเจนที่ตกค้างในตัวอย่างไส้กรอกหมู โดยนำค่าความเข้มแสงที่ได้จากการวิเคราะห์ มาคำนวณโดยใช้สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานของ NaNO_2 โดยมีตัวอย่างการคำนวณดังนี้

จากการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนที่ตกค้างในตัวอย่างไส้กรอกหมูควบคุม ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.177 เมื่อนำไปแทนในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน คือ $y = 0.0104x - 0.0092$ ดังนั้น ค่า $x = 17.90$ ไมโครกรัม

เนื่องจาก ปิเปตสารละลายที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างไส้กรอกมา 4 มิลลิลิตร นั่นคือ มีปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง เท่ากับ 17.90 ไมโครกรัม

ถ้าสารละลายที่สกัดได้จากตัวอย่างไส้กรอกหมูทั้งหมด 250 มิลลิลิตร จะมีปริมาณไนโตรเจนที่ตกค้าง $(17.90 / 4) \times 250 = 1118.99$ ไมโครกรัม

โดยที่สารละลายตัวอย่างไส้กรอก 250 มิลลิลิตร นั้นมาจากไส้กรอกหมูเริ่มต้น 2.5 กรัม

ดังนั้นไส้กรอกหมู 2.5 กรัม จึงมีปริมาณไนโตรเจนที่ตกค้าง 1118.99 ไมโครกรัม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 447 ไมโครกรัม / กิโลกรัม หรือ ppm นั่นเอง