

ผลของการใช้สารสกัดจากชาเขียวต่อคุณสมบัติทางจุลินทรีย์และทางกายภาพ
ของซาลามิเนื้อโคพื้นเมือง

EFFECT OF GREEN TEA EXTRACT ON MICROBIOLOGICAL AND
PHYSICAL PROPERTIES OF THAI NATIVE BEEF SALAMI



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2557

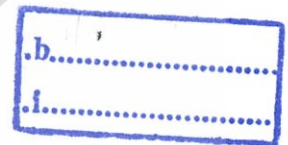
KMITL-2014-AG-M-031-174

ผลของการใช้สารสกัดจากชาเขียวต่อคุณสมบัติทางจุลินทรีย์และทางกายภาพ
ของซาลามิเนื้อโคพื้นเมือง

EFFECT OF GREEN TEA EXTRACT ON MICROBIOLOGICAL AND
PHYSICAL PROPERTIES OF THAI NATIVE BEEF SALAMI



เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 148270
วันเดือนปี 24 มี.ค. 2560



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2557

KMITL-2014-AG-M-031-174

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**EFFECT OF GREEN TEA EXTRACT ON MICROBIOLOGICAL AND
PHYSICAL PROPERTIES OF THAI NATIVE BEEF SALAMI**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN ANIMAL SCIENCE
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

2014

KMITL-2014-AG-M-031-174

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2014

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของการใช้สารสกัดจากชาเขียวต่อคุณสมบัติทางจุลินทรีย์และทางกายภาพของ
ซาลามิเนื้อโคพื้นเมือง

Effects of Green Tea Extract on Microbiological and Physical Properties of
Thai Native Beef Salami

นักศึกษา นางสาวดาวใจ ตันต์สุระ

รหัสประจำตัว 52640552

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา สัตวศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.คมเช พิลาสสมบัติ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รศ.ดร.จุฑารัตน์ เศรษฐกุล

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
รศ.ดร.รณชัย	สิทธิไกรพงษ์	
ผศ.ดร.ศศิธร	นาททอง	
รศ.ดร.จุฑารัตน์	เศรษฐกุล	
ดร.รุจรีน	กิมสุวานิช	
ผศ.ดร.คมเช	พิลาสสมบัติ	

วัน/เดือน/ปีที่สอบ 26 พฤศจิกายน 2557

สถานที่สอบ ห้องประชุมคณะเทคโนโลยีการเกษตร (ชั้น 1 ตึกบุญนาค L)

คณบดีรับรองแล้ว



(รองศาสตราจารย์ศักดิ์ชัย ชูโชติ)

คณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตร

วันที่ 23 เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของการใช้สารสกัดจากชาเขียว ต่อคุณสมบัติทางจุลินทรีย์และทางกายภาพของชาลามีเนื่อ โคลพื้นเมือง
นักศึกษา	นางสาวดาวใจ ตันท์สุระ
รหัสประจำตัว	52640552
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สัตวศาสตร์
พ.ศ.	2557
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร. คมแข พิลาสมบัติ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รศ.ดร. จุฑารัตน์ เศรษฐกุล

บทคัดย่อ

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้สารสกัดชาเขียว ต่อคุณสมบัติทางจุลินทรีย์และทางด้านคุณภาพชาลามีเนื่อ โคลพื้นเมือง โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มการทดลองได้แก่ กลุ่มควบคุม (ไม่เติมสารสกัดชาเขียว) และกลุ่มที่เติมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่อ กิโลกรัมเนื่อและไขมัน โดยชาลามีทั้งสองกลุ่มจะใช้ระยะเวลาการหมัก (Fermentation) และบ่ม (Ripening) 5 สัปดาห์ ทำการศึกษาทางด้านจุลชีววิทยาโดยการตรวจหา แบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) เชื้อจุลินทรีย์รวม (Total microbial count) Yeast/Mold, Coliforms, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, และ *Salmonella* spp. โดยสุ่มเก็บตัวอย่างชาลามีในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์ ใช้การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ t-test และทำการศึกษาทางด้านคุณภาพ โดยวิเคราะห์ค่าสีด้านใน (L^* , a^* และ b^*) ค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ค่า water activity (a_w) ค่าการออกซิเดชันของไขมันในชาลามี (2-Thiobarbituric Acid Reactive Substance) สุ่มเก็บตัวอย่างในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์ จัดกลุ่มการทดลองแบบ 2x6 แฟคทอเรียล ในแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ โดยศึกษาอิทธิพลของสองปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยแรกคือระดับความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียว (0 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่อ กิโลกรัมเนื่อและไขมัน) ปัจจัยที่สองคือ ระยะเวลาบ่มที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าการเสริมสารสกัดชาเขียวนั้นมีผลต่อจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกและจุลินทรีย์รวม โดยพบว่ากลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว มีจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก และจุลินทรีย์รวมสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วน Yeast/Mold ในชาลามีกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมในสัปดาห์ที่ 5 ของการบ่มชาลามีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และพบว่าจำนวน Coliforms ในชาลามีกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมในสัปดาห์ที่ 1 ของการบ่มชาลามีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) นอกจากนี้ในการทดลองครั้งนี้ตรวจไม่พบ *Escherichia coli*, *S. aureus* และ *Salmonella* spp. ตลอดระยะเวลาของการบ่มชาลามีเนื่อ โคลพื้นเมือง

ส่วนการศึกษาทางด้านคุณภาพ ในด้านของสีพบว่าค่าความสว่าง (L^*) และค่าสีเหลือง (b^*) ในซาลามี ทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) และพบว่าค่าสีแดง (a^*) ในกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่า กลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$) ทางด้านค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น และค่า pH ในซาลามีพบว่า ทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้ ค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น และค่า pH ในซาลามี ในซาลามีลดลง ($P<0.05$) ส่วนค่า a_w พบว่าในกลุ่มควบคุมมีค่าต่ำกว่า กลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$) เมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้ค่า a_w ในซาลามีลดลง และ พบว่าค่าการออกซิเดชันของไขมันในซาลามีกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$) เมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้ค่าการออกซิเดชันของไขมันในซาลามีในซาลามีเพิ่มขึ้น ($P<0.05$)



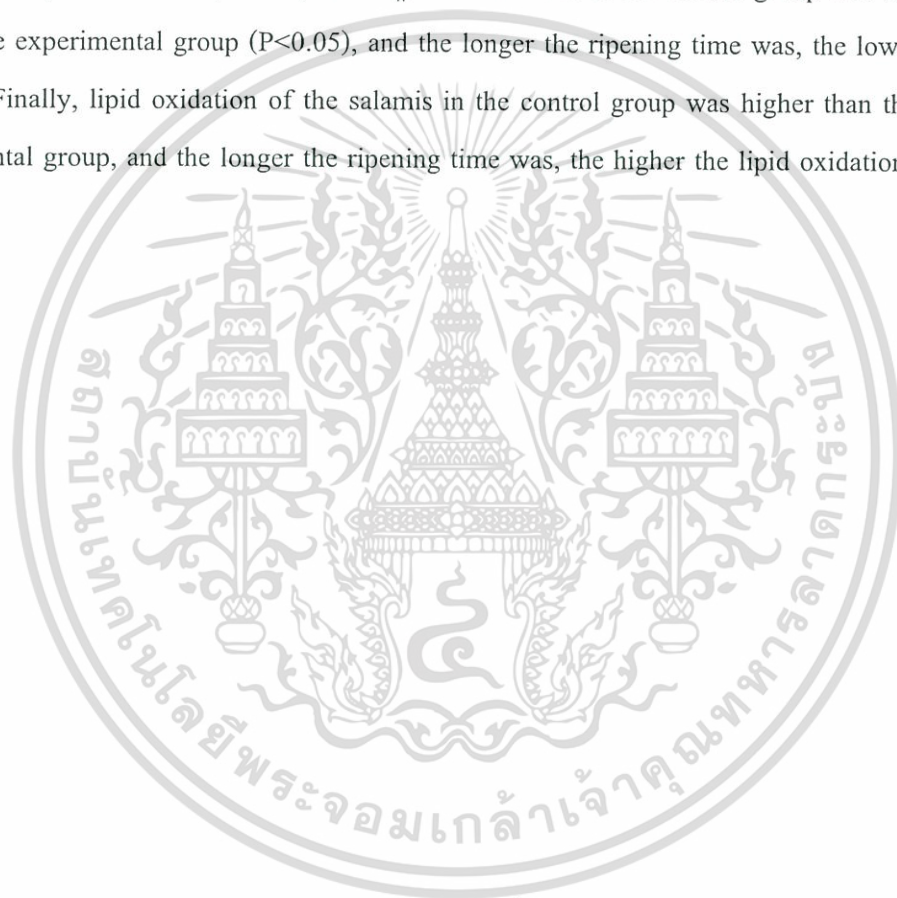
Thesis Title	Effect of Green Tea Extract on Microbiological and Physical Properties of Thai Native Beef Salami
Student	Miss Dawjai Tansura
Student ID	52640552
Degree	Master of Science
Program	Animal of Science
Year	2014
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. KomKhae Pilasombut
Thesis Co-advisor	Assoc. Prof. Dr. Jutarat Sethakul

ABSTRACT

This study aimed to investigate the effect of Green tea extract on the microbiological and physical properties of a Thai native beef Salami. The study used a control group, Salami without green tea extract, and an experimental group, Salami with 0.2 percent of green tea extract per kilogram of meat and fat. The salamis of both groups were fermented and then ripened for five weeks. The numbers of the following microbial counts were monitored including lactic acid bacteria (LAB), total microbial count, yeast/mold, coliforms, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella spp.* by sampling the salamis randomly in week 0, 1, 2, 3, 4, and 5. Comparisons between the microbial counts of the control and experimental groups for each week were done using t-test. The following qualities of the salamis of both groups were also monitored: inside color (L^* , a^* and b^*), percentage of moisture, pH, water activity (a_w), and lipid oxidation (expressed as 2-thiobarbituric acid reactive substance, TBARS) in the same weekly periods. Comparisons between the qualities of the salamis of both groups were done by using a statistic: a completely randomized block and 2x6 factorial arrangement of two factors. The first factor was the concentration of the green tea extract (0 and 0.2 percent per kilogram of meat and fat), and the second factor was the ripening time in week 0, 1, 2, 3, 4 and 5. The results showed that the supplementation of green tea extract has an influence towards the number of lactic acid bacteria and total microbiological agents. It was found that the number of lactic acid bacteria and microbiological agents supplemented by green tea extract was statistically significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The number of yeast/mold in Salami supplemented with green tea extract was statistically significantly lower than those in the control group at week 5 of ripening time ($P < 0.05$). In addition, it was found that the number of coliforms in the group

supplemented with green tea extract was statistically significantly lower than those in the control group at week 1 of ripening time ($P < 0.05$). Also, this experiment did not detect the growth of *Escherichia coli*, *S. aureus* and *Salmonella* spp. throughout the ripening duration.

The physical properties study in terms of colors found that the lightness (L^*) and yellowness (b^*) in both groups of Salami were not statistically different ($P > 0.05$). It was also found that the redness (a^*) in the control group was higher than those in the group supplemented with 0.2 percent green tea extract ($P < 0.05$). The percentage of moisture and pH in both groups were not statistically different ($P > 0.05$), and with a longer ripening period, this percentage of moisture and pH decreased ($P < 0.05$). The a_w of the Salamis in the control group was lower than that in the experimental group ($P < 0.05$), and the longer the ripening time was, the lower the a_w became. Finally, lipid oxidation of the salamis in the control group was higher than that in the experimental group, and the longer the ripening time was, the higher the lipid oxidation became ($P < 0.05$).



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้อย่างดีโดยได้รับความกรุณาจาก ผศ. ดร. कमख พิลาสมบัติ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ. ดร. จุฑารัตน์ เศรษฐกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้ความช่วยเหลือ คำชี้แนะ ตลอดจนให้ความรู้ในการแก้ปัญหาและ ประสบการณ์ที่ดี ทำให้ข้าพเจ้าสามารถดำเนินงานได้อย่างถูกต้อง และแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นได้สำเร็จลุล่วง ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างสูง

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่ง จากศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ โดยความร่วมมือระหว่างสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) และ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ได้ให้งบประมาณในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณอังคณา ทุมดี นายเฉลิมชัย ทิพยัค และบุคคลต่างๆ ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ช่วยเหลือในการปฏิบัติงาน และได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บรวบรวมข้อมูลในการวิจัยครั้งนี้ ตลอดจนคำปรึกษาคำแนะนำต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จได้เป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ ภาควิชาเกษตรชีววินิจฉัย คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้การอนุเคราะห์สารสกัดชาเขียวมาทำงานวิจัยชิ้นนี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ในสาขาวิชาสัตวศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกคนที่ให้คำแนะนำต่างๆ และคอยให้กำลังใจเสมอมา

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา พี่ชาย และญาติมิตร ที่คอยเป็นกำลังใจเป็นที่ปรึกษาและให้การสนับสนุนในทุกๆ เรื่อง ทำให้ข้าพเจ้าสามารถทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมาจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน ตลอดจนผู้ที่สามารถนำไปใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อไป

นางสาว ดาวใจ ตันท์สุระ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	XI
สารบัญภาพ	XII
บทที่ 1	1
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์การศึกษา.....	2
1.3 สถานที่ดำเนินการ	2
1.4 ระยะเวลาการศึกษา.....	3
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ซาลามิ (Salami)	4
2.1.1 ซาลามิชนิดหมักดิบ (raw fermented salami products)	5
2.1.2 ซาลามิชนิดไม่หมัก (non-fermented salami products).....	6
2.2 การเลือกวัตถุดิบ และกระบวนการหมักซาลามิ	8
2.2.1 วัตถุดิบหลักที่ใช้ทำซาลามิ.....	8
2.2.1.1 วัตถุดิบเนื้อ	8
2.2.1.2 วัตถุดิบไขมัน	10
2.2.1.3 กล้าเชื้อที่ใช้ในผลิตภัณฑ์	11
2.2.1.4 ใ้สับบรรจุผลิตภัณฑ์	12
2.2.2 กระบวนการหมักและบ่มซาลามิ (Fermentation and Drying).....	13
2.3 การเสื่อมเสียของซาลามิ.....	14
2.3.1 การเสื่อมเสียเนื่องจากการเกิดออกซิเดชัน.....	14
2.3.1.1 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตราการเกิดออกซิเดชัน	15
2.3.1.2 การตรวจสอบการเกิดออกซิเดชันในไขมัน.....	17

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.3.1.3 วิธีการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชัน.....	18
2.3.2 การเสื่อมเสียเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏและรสชาติ.....	18
2.3.2.1 ผิวหน้าเป็นเมือก (Surface Slime).....	18
2.3.2.2 การเปลี่ยนแปลงสี (Change in colour of meat pigments).....	19
2.3.2.3 การเหม็นเน่า และรสเปรี้ยวในผลิตภัณฑ์.....	19
2.4 เชื้อจุลินทรีย์ที่พบในผลิตภัณฑ์ชาลามี.....	19
2.4.1 มาตรฐานทางด้านเชื้อจุลินทรีย์ และทางกายภาพในชาลามี.....	19
2.4.2 ลักษณะทั่วไปของเชื้อที่มักพบในชาลามี.....	19
2.4.3 กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก.....	20
2.4.4 กลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่อาจพบในชาลามี.....	23
2.4.4.1 <i>Salmonella</i> spp.....	23
2.4.4.2 <i>Escherichia coli</i>	24
2.4.4.3 <i>Listeria monocytogenes</i>	25
2.5 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับชา.....	27
2.5.1 ประเภทของชา.....	27
2.5.2 สารประกอบที่พบจากชาเขียว.....	28
2.6 คุณสมบัติของชาเขียว.....	29
2.6.1 ประโยชน์ที่ได้รับจากชาเขียวทางด้านสุขภาพ.....	29
2.6.2 สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากชาเขียว.....	29
2.6.3 การใช้สารสกัดชาเขียวในเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์.....	31
2.6.4 สารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากชาเขียว.....	34
2.6.5 กลไกการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากชาเขียว.....	35
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย.....	37
3.1 สารทดสอบ.....	37
3.2 วัตถุประสงค์ที่ใช้ผลิตชาลามี.....	37
3.2.1 วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือในการผลิตชาลามี.....	37
3.3 อุปกรณ์ และเครื่องมือในการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ ทางเคมี และกายภาพ.....	38

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ	38
3.3.2 สารเคมี.....	39
3.4 การวางแผนการทดลอง.....	39
3.4.1 ทางด้านเชื้อจุลินทรีย์.....	39
3.4.2 ทางด้านเคมี และกายภาพของผลิตภัณฑ์ชาลามี.....	40
3.5 วิธีการดำเนินงานวิจัย	40
3.5.1 การเตรียมวัตถุดิบสำหรับทำชาลามี	42
3.5.2 วิธีการทำชาลามี.....	42
3.6 การวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาลามี.....	43
3.7 การตรวจวิเคราะห์ทางเคมี และกายภาพของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาลามี.....	47
3.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	48
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	49
4.1 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ชาลามี.....	49
4.1.1 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) ในชาลามีเนื้อโค	49
4.1.2 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวม ในชาลามีเนื้อโค	50
4.1.3 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนยีสต์ รา ในชาลามีเนื้อโค	50
4.1.4 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวน Coliforms ในชาลามีเนื้อโค.....	51
4.1.5 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวน <i>E. coli</i> ในชาลามีเนื้อโค.....	52
4.1.6 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวน <i>S. aureus</i> ในชาลามีเนื้อโค	53
4.1.7 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวน <i>Salmonella</i> spp. ในชาลามีเนื้อโค	53
4.2 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อคุณภาพของชาลามีเนื้อโค.....	54
4.2.1 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่าสีของชาลามีเนื้อโค.....	54
4.2.2 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น ในชาลามีเนื้อโค	55

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2.3 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่า pH ในชาลามีเนื้อโค.....	55
4.2.4 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่า a_w ในชาลามีเนื้อโค.....	56
4.2.5 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่าการออกซิเดชันของไขมันในชาลามี TBARS (mg MDA/kg)	56
4.2.6 ผลการประเมินความพึงพอใจทางประสาทสัมผัส ของชาลามีเนื้อโค.....	61
บทที่ 5 วิจัยรณผลการทดลอง	63
5.1 ผลของสารสกัดชาเขียว และระยะเวลาบ่มต่อจำนวนจุลินทรีย์ ในผลิตภัณฑ์ชาลามี	63
5.1.1 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) ในชาลามีเนื้อโค.....	63
5.1.2 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวม ในชาลามีเนื้อโค.....	64
5.1.3 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนยีสต์ รา ในชาลามีเนื้อโค.....	65
5.1.4 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวน Coliforms ในชาลามีเนื้อโค.....	67
5.1.5 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวน <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> และ <i>Salmonella</i> spp. ในชาลามีเนื้อโค.....	68
5.2 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อคุณภาพของชาลามีเนื้อโค.....	69
5.2.1 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่าความสว่าง สีแดง และสีเหลือง ในชาลามีเนื้อโค.....	69
5.2.2 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นในชาลามีเนื้อโค.....	69
5.2.3 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่า pH ในชาลามีเนื้อโค.....	70
5.2.4 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่า a_w ในชาลามีเนื้อโค.....	71
5.2.5 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่าการออกซิเดชันของไขมัน ในชาลามี (mg MDA/kg)	72
5.2.6 ผลการประเมินความพึงพอใจทางประสาทสัมผัสของชาลามีเนื้อโค.....	73

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	75
6.1 สรุปผลการทดลอง	75
6.2 ข้อเสนอแนะ	76
บรรณานุกรม	77
ภาคผนวก	87
ภาคผนวก ก	87
ภาคผนวก ข	90
ภาคผนวก ค	92
ประวัติผู้เขียน	96



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สายพันธุ์ของกล้าเชื้อแบคทีเรียที่นิยมใช้ในการหมักเนื้อสัตว์	12
4.1 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 (Mean±SD).....	49
4.2 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวม (Total plate count) ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 (Mean±SD).....	50
4.3 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อปริมาณยีสต์ รา ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 (Mean±SD)	51
4.4 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อจำนวน Coliforms ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 (Mean±SD)	52
4.5 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อจำนวน <i>E. coli</i> ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5.....	52
4.6 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อจำนวน <i>S. aureus</i> ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5.....	53
4.7 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อจำนวน <i>Salmonella</i> spp. ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5.....	53
4.8 อิทธิพลของระดับปริมาณสารสกัดชาเขียวและระยะเวลาการบ่มชาลามี ต่อคุณภาพของชาลามีเนื้อโค	57
4.9 อิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาในการบ่มชาลามี ต่อค่าความสว่าง (LSE±SE)	58
4.10 อิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาในการบ่มชาลามี ต่อค่าสีเหลือง (LSE±SE)	58
4.11 อิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มชาลามีต่อเปอร์เซ็นต์ความชื้น (LSE±SE).....	58
4.12 อิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มชาลามีต่อค่า pH (LSE±SE).....	59
4.13 อิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มชาลามีต่อค่า a_w (LSE±SE).....	60
4.14 อิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาในการบ่มชาลามี ต่อค่า TBARS (mg MDA/kg)	60
4.15 ผลการประเมินความพึงพอใจของผู้บริโภคด้านคุณภาพทางประสาทสัมผัสของ ผลิตภัณฑ์เนื้อชาลามี	61

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 วิธีการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดแลกติกแบบ Homofermentation โดยแบคทีเรียกรดแลกติก.....	21
2.2 วิธีการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดแลกติกแบบ Heterofermentation โดยแบคทีเรียกรดแลกติก.....	22
2.3 โครงสร้างของคาเทชินทั้ง 8 อนุพันธ์.....	30
2.4 แสดงค่า TBARS ที่ระดับของสารคาเทชิน ที่ 0 (T0), 200 (T200), 400 (T400), 600 (600), 800, (T800) และ 1000 (T1000) mg/kg.....	33
3.1 แสดงลำดับขั้นตอนในการศึกษาการเสริมสารสกัดชาเขียวในชาลามิเนื้อโค 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 2 เปอร์เซ็นต์.....	41



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

ซาลามิ (Salami) จัดเป็นผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวแบบแห้ง (dry fermented sausages) ซึ่งเป็นอาหารที่นิยมบริโภคกันมากในแถบชาติตะวันตก พบทั้งในประเทศฝรั่งเศส อิตาลี เยอรมัน หรือในอเมริกา โดยอาจมีชื่อเรียกต่างๆ กันไปตามส่วนผสม ขั้นตอนการผลิต และแหล่งผลิตที่ต่างกัน ซึ่งมีส่วนผสมหลักที่นิยมใช้ คือเนื้อโค เนื้อสุกร และมีไขมันเป็นส่วนผสมถึง 30-35 เปอร์เซ็นต์ ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่เป็นที่รู้จักกัน ได้แก่ Hungarian salami, Milano salami ซาลามิเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อที่มีราคาค่อนข้างสูง เนื่องจากต้องใช้ความรู้ และเทคโนโลยีในการผลิตและวัตถุดิบที่ผ่านการคัดสรรมีคุณภาพตรงตามการนำไปใช้ประโยชน์และมีความปลอดภัยด้านอาหาร วัตถุดิบเนื้อที่นำมาใช้ในการผลิตซาลามิมีตั้งแต่เนื้อหมู เนื้อควาย เนื้อกวาง นอกเหนือไปจากเนื้อหมู และเนื้อวัวที่ได้รับความนิยมในการนำมาผลิต

ลักษณะสมบัติของเนื้อโคพื้นเมืองจะค่อนข้างเหนียว การที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อเล็ก ทำให้เนื้อโคพื้นเมืองมีเส้นใยกล้ามเนื้อละเอียด เมื่อเปรียบเทียบกับโคขุนซึ่งมีการสร้างกล้ามเนื้อสูง ขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อหยาบ เนื้อโคพื้นเมืองไม่มีไขมันแทรก เนื้อมีสีออกแดงคล้ำผิวสัมผัสเป็นมันวาว เนื้อจะค่อนข้างแห้งไม่ฉ่ำน้ำเหมือนโคขุน โดยทั่วไป จากลักษณะดังกล่าวจึงเหมาะกับการนำไปแปรรูป ด้วยการที่ซาลามิมีส่วนผสมที่มีไขมันสูงทำให้ผลิตภัณฑ์มีโอกาสเสื่อมหรือหืนง่ายเนื่องจากการเกิดออกซิเดชัน ส่งผลต่อคุณภาพ และอายุการเก็บรักษาของซาลามิลดลงด้วย ซาลามิเป็นผลิตภัณฑ์ในกลุ่มหมักที่ไม่ผ่านกระบวนการทำสุก (raw fermented salami product) ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีโอกาสปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค และเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ถ้าหากวัตถุดิบที่นำมาผลิตซาลามิไม่สะอาด หรือกระบวนการหมักเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ Emberland *et al.* (2006) พบรายงานเกี่ยวกับผู้ป่วยที่มีอาการอาหารเป็นพิษเนื่องจากการติดเชื้อ *Salmonella* โดยทางสถาบันสาธารณสุขของประเทศนอร์เวย์ ได้ทำการตรวจสอบและบันทึกข้อมูลในผู้ป่วยเพศชายที่ อายุระหว่าง 50-54 ปี ที่มีอาการป่วยอาหารเป็นพิษ หลังจากทำการตรวจอุจจาระของผู้ป่วยพบเชื้อ *Salmonella* จากการสอบถามผู้ป่วย พบสาเหตุเกิดจากการบริโภคซาลามิ จึงนำตัวอย่างซาลามิจากห้องบ่มมาทำการตรวจแยกเชื้อ พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* Kedougou

เพื่อช่วยชะลอปฏิบัติการออกซิเดชัน และยับยั้งการเจริญเติบโต หรือทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้ อาหารเน่าเสีย และก่อโรค จึงมีการนำสารกันบูด หรือวัตถุกันเสีย ที่เป็นสารเคมีเข้ามาช่วยในการถนอมอาหาร ซึ่งสารเคมีดังกล่าวก็เป็นอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภค จึงได้มีการศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้เสริมลงในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อลดการเสื่อมเสียเนื่องจากการเกิดออกซิเดชัน และยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ เช่นชาเขียว ซึ่งเป็นพืชที่มีศักยภาพในการนำมาเป็นสารเติมแต่งในอาหารที่มีประสิทธิภาพสามารถต้านอนุมูลอิสระ ทั้งนี้ชาเขียว (*Camellia sinensis*) เป็นชาที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก ซึ่งได้รับการบริโภคเป็นเครื่องดื่มและมีคุณสมบัติเป็นยา ใบชาเขียวมีส่วนประกอบของสาร Catechin ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักใบแห้ง ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ โดยคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระนั้นสามารถช่วยลดการหืนเนื่องจากออกซิเดชันและพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้หลากหลาย เช่น แกรมบวกและแกรมลบ (Mbata *et al.* 2008)

จากคุณสมบัติของสารสกัดจากชาเขียว ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการนำสารสกัดชาเขียวเข้ามาช่วยในการชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งจะมีผลต่ออายุในการเก็บรักษา และลดการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ชาลามีเนโอโคพีนเมือง เพิ่มความปลอดภัยของผู้บริโภคจากการบริโภคผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่มีการใช้สารกันหืนจากธรรมชาติ และผลิตภัณฑ์ที่ปราศจากการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ที่ใช้สารสกัดจากชาเขียวมาเป็นตัวยับยั้ง ซึ่งเป็นการลดการใช้สารเคมี ทำให้ผู้บริโภคได้รับประโยชน์อย่างเต็มที่ และได้นำเนโอโคพีนเมืองมาเพิ่มมูลค่าโดยการใช้น้ำมันส่วนที่มีมูลค่าต่ำ หรือเนื่องจากชิ้นส่วนที่มีความสำคัญรอง นำมาทำผลิตภัณฑ์ชาลามีเนโอโคพีนเมือง

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากสารสกัดชาเขียว ที่มีผลต่อคุณภาพทางด้านกายภาพ ทางด้านเนื้อสัมผัส และทางด้านเชื้อจุลินทรีย์ของชาลามี
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากชาเขียวในการชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์ชาลามี

1.3 สถานที่ดำเนินการ

1. ห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์เนื้อสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
2. ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
3. ห้องปฏิบัติการโภชนศาสตร์สัตว์ สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ระยะเวลาการศึกษา

ใช้ระยะเวลาทำการทดลองทั้งสิ้น 2 ปี

1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถนำความรู้การใช้ประโยชน์จากสารสกัดชาเขียวมาใช้เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับศึกษายุทธศาสตร์การเก็บรักษา เนื้อแปรรูป และเพิ่มมูลค่าการผลิตและเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภค และลดการใช้สารเคมีกันหืนในการใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ซาลามิ (Salami)

ซาลามิ (Salami) จัดเป็นผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวแบบแห้งหรือกึ่งแห้ง (dry, semi-dry fermented sausages) ซึ่งเป็นอาหารที่นิยมบริโภคกันมากในแถบชาติตะวันตก พบทั้งในประเทศฝรั่งเศส อิตาลี เยอรมัน หรือในอเมริกา โดยอาจมีชื่อเรียกต่างๆ กันไปตามส่วนผสม ขั้นตอนการผลิต และแหล่งผลิตที่ต่างกัน นิยมใช้เนื้อโคและเนื้อสุกร แต่จะใช้ส่วนของเนื้อแดงและไขมันบดหยาบกับเครื่องเทศและสารปรุงแต่ง หมักไว้ที่อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่มีการควบคุมให้เหมาะสมแก่การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างกรดแลคติก ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ เช่น Hungarian salami ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันเป็นส่วนผสมถึง 30-35 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลาในการหมักประมาณ 90-100 วัน เมื่อสิ้นสุดการบ่มแล้วค่า a_w ประมาณ 0.85-0.88 (รุจริน ลิ้มศุภวานิช และ จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2552) Campbell-Platt (1995) ได้ยกตัวอย่างไส้กรอกหมักแบบแห้ง เช่น Genoa salami ที่มักผลิตจากเนื้อสุกรบดละเอียด ไขมันสุกร และเนื้อโคอีกเล็กน้อย มีไขมันประมาณ 30-35 เปอร์เซ็นต์ มักใช้เป็นส่วนประกอบบนหน้าของพิซซ่า และ Dry salami ซึ่งเป็นไส้กรอกแห้งจากเนื้อสุกร และเนื้อโคที่ไม่ผ่านการทำสุก แต่มักจะรมควัน ผลิตภัณฑ์ทั้งสามชนิดนี้มักจะมีราขาวเกิดคลุมที่ผิวนอกด้วย อย่างไรก็ตาม ไส้กรอกหมักแห้งนั้นมักไม่ผ่านการทำให้สุก และจะมีการรมควันในเฉพาะบางผลิตภัณฑ์ โดยเป็นการรมควันแบบเย็นที่ 15-25 องศาเซลเซียส กระบวนการหมัก โดยส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ (Slow fermentation) เพราะการหมักใช้อุณหภูมิต่ำ ประมาณ 15-25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ เวลาประมาณ 3 วัน หรือจนกระทั่งได้ค่า pH น้อยกว่า 4.7 แต่ในสหรัฐอเมริกา พบว่ามีการหมักที่ประมาณ 38-43 องศาเซลเซียส ด้วยเวลาที่สั้นลงคือน้อยกว่า 24 ชั่วโมง (Fast fermentation) จากนั้นจึงเข้าสู่กระบวนการทำแห้ง โดยลดความชื้นอย่างค่อยเป็นค่อยไปที่ 12-15 องศาเซลเซียส และมีการลดลงของความชื้นสัมพัทธ์ในการบ่มอย่างต่อเนื่อง ส่วนในเรื่องของรสชาติจะขึ้นอยู่กับเวลา และการหมักบ่ม ในบางชนิดจะมีกลิ่นชีสเล็กน้อย เนื่องจากเอนไซม์ เช่น proteases และ lipases ซึ่งเอนไซม์ย่อยโปรตีนอย่าง calpain และ cathepins จะย่อยโปรตีนจนเป็นกรดอะมิโนอิสระ เช่น valine leucine taurine และ glutamine อันเป็นผลปฏิกิริยา proteolysis ก่อให้เกิดกลิ่นและรสชาติเฉพาะ ส่วน lipases จะย่อยสลายไขมันให้กลายเป็นกรดไขมันอิสระ ซึ่งก่อให้เกิดกลิ่นและรสชาติขึ้นเช่นกัน นอกจากนี้รสชาติของซาลามิ ยังขึ้นอยู่กับความเป็นกรดและเครื่องเทศที่เติมลงไปด้วย ความเป็นกรดที่เกิดขึ้นในซาลามินั้นมาจากกรดแลคติก หรือ สารเร่งการสร้างความเป็นกรด (GDL) ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นฉุน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Feiner (2006) กล่าวว่าซาลามีมีหลากหลายชนิด สามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้ดังนี้ คือกลุ่มที่ผ่านการหมักดิบ (raw fermented salami products) และชนิดที่ไม่หมัก (non-fermented salami products)

2.1.1 ซาลามีชนิดหมักดิบ (raw fermented salami products)

1) Hungarian salami

โดยทั่วไปมีไขมันเป็นส่วนประกอบอยู่ประมาณ 45 เปอร์เซ็นต์ เกลือ 4 เปอร์เซ็นต์ ทำจากเนื้อสุกรเพศเมียที่มีอายุมากกว่า 2 ปี น้ำหนักประมาณ 180-200 กิโลกรัม มีองค์ประกอบของน้ำ ในเนื้อต่ำ สีของเนื้อคล้ำ และมีเส้นใยกล้ามเนื้อมากกว่าสุกรที่อายุน้อย ซาลามีชนิดนี้จะอาศัยกระบวนการหมักแบบธรรมชาติโดยไม่ใช้เกลือหรือจุลินทรีย์ แต่ในปัจจุบันได้นำเกลือหรือจุลินทรีย์มาใช้ในการทำ Hungarian salami เนื่องจากตัวผลิตภัณฑ์นั้นได้ประโยชน์ทางด้าน สี กลิ่น รส และการสร้างกรดจากเกลือหรือจุลินทรีย์ โดยทั่วไปแล้วเนื้อจะถูกสับในเครื่องสับผสม ให้ได้ขนาดประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ในการหมักจะเริ่มคั้นที่อุณหภูมิประมาณ 10-12 องศาเซลเซียส จนกระทั่งค่า a_w ต่ำกว่า 0.95 จะช่วยป้องกันเชื้อ *Salmonella* spp. ส่วนค่า pH ที่ลดลงถึง 5.2 ก็จะเป็นกำแพงป้องกันเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในผลิตภัณฑ์ได้ ในช่วง 10-14 วันแรก เริ่มจะพบเชื้อราบนผิวหน้าอยู่บ่อย ใช้เวลาประมาณ 90-100 วัน จึงจะเสร็จสิ้นเป็น Hungarian salami และจะมีค่า pH อยู่ที่ 6.0-6.3 และค่า a_w ประมาณ 0.85-0.88 ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวและปลอดภัย

2) Milano salami

ทำจากเนื้อแดงสุกรในส่วนไหล่ 70-75 เปอร์เซ็นต์ และส่วนที่เป็นไขมันสันหลัง 25-30 เปอร์เซ็นต์ มีส่วนผสมของเกลือ 2.8-3.2 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาล 5-7 กรัมต่อกิโลกรัมของผลิตภัณฑ์ และเครื่องเทศ อีก 5 กรัมต่อกิโลกรัมของผลิตภัณฑ์ โดยมากเครื่องเทศจะประกอบด้วย พริกไทยขาว กระเทียม กระวาน ไวท์แดง เนื้อที่นำมาทำควรแช่เย็นแบบกึ่งแข็ง ส่วนไขมันควรจะแช่แข็ง เนื้อและไขมันจะสับให้เข้ากัน ในเครื่องสับผสมจนได้ขนาด ประมาณ 3-4 มิลลิเมตร อุณหภูมิภายหลังการสับเนื้อจะอยู่ที่ประมาณ -3 ถึง -1 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำไปบรรจุใส่ไส้ที่เป็นเซลลูโลส (Cellulose) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80 มิลลิเมตร การหมักจะเริ่มขึ้นประมาณ 5-8 ชั่วโมงแรกของการทำ ที่อุณหภูมิ 22-24 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 60-65 เปอร์เซ็นต์ ต่อจากนั้นกระบวนการหมักในผลิตภัณฑ์จะใช้เวลาต่ออีก 2-3 วันที่อุณหภูมิ 22-24 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 90-95 เปอร์เซ็นต์ ต่อจากนั้น อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์จะค่อยๆลดลง เหลือ 18-20 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 80-85 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงสุดท้ายของการทำบ่มแห้งอุณหภูมิจะอยู่ที่ 12-15 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 72-74 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าขณะการบ่มแห้งจะมีการสูญเสียน้ำหนักประมาณ 30-34 เปอร์เซ็นต์ และค่า a_w จะต่ำกว่า 0.89 และค่า pH ของ Milano salami จะอยู่ที่ประมาณ 5.2-5.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) Kantwurst

จัดว่าเป็นซาลามีหมักดิบชนิดหนึ่งอยู่ในประเทศออสเตรีย ซึ่งค่า pH จะลดลงอยู่ที่ประมาณ 4.8-5.0 ภายใน 3-4 วัน การสร้างกรดจะเกิดขึ้นจากการหมักของกลูโคสและน้ำตาล โดยทั่วไปจะใช้เนื้อดิบที่เป็นเนื้อสุกรเป็นหลัก ในบางครั้งอาจใช้เนื้อวัวปนด้วย มีการเติมเกลือประมาณ 26-28 กรัมต่อกิโลกรัมของผลิตภัณฑ์ ไนไตรท์ แอสคอร์เบต และเครื่องเทศ เช่น พริกไทยดำ กระเทียม เม็ดผักชี และเม็ดอีหრა เนื้อและไขมันจะบดรวมกันในเครื่องสับผสมจนได้ขนาด 2-3 มิลลิเมตร หลังจากตีในเครื่องสับผสมจนได้ขนาดที่ต้องการ อุณหภูมิของเนื้อควรอยู่ที่ -3 ถึง -1 องศาเซลเซียส แล้วนำไปบรรจุใส่ไส้บรรจุที่เป็นกระดาษ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 55 หรือ 75 มิลลิเมตร หลังจากเสร็จกระบวนการหมักและบ่มเป็นผลิตภัณฑ์ที่พร้อมบริโภค จะมีค่า pH อยู่ที่ประมาณ 5.0-5.2 และค่า a_w อยู่ที่ 0.92 และผลิตภัณฑ์จะแห้งมากกว่านี้ถ้าใช้เวลาบ่มนานขึ้นและพบว่าค่า a_w ที่ 0.88-0.89 (น้ำหนักสูญเสียน้อยกว่า 30 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งสามารถเก็บได้โดยไม่ต้องแช่เย็น

2.1.2 ซาลามีชนิดไม่หมัก (non-fermented salami products)

1) Polish salami

Polish salami ในประเทศออสเตรีย จะมีส่วนผสมของ อิมัลชัน 30 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 25 เปอร์เซ็นต์ หรือ สามชั้น 35 เปอร์เซ็นต์ และเนื้อแดง 40 เปอร์เซ็นต์ และใส่เครื่องเทศที่ประกอบไปด้วย กระเทียม พริกไทย ผักชี เกลือประมาณ 18-20 กรัมต่อกิโลกรัมผลิตภัณฑ์ วัตถุดิบทั้งหมดถูกสับจนได้ขนาด 4-5 มิลลิเมตร ในส่วนเนื้อแดงจะแยกออกมาบดจนได้ขนาดประมาณ 13 มิลลิเมตร แล้วนำส่วนผสมหลักทั้งสองมาผสมกันอีกครั้ง หลังจากนั้นนำไปบรรจุใส่ที่เป็นเซลลูโลส (Cellulose) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 75 หรือ 90 มิลลิเมตร จะนำไปอบที่ 65-70 องศาเซลเซียส ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วรมควันที่อุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียส ประมาณ 1 ถึง 1 ชั่วโมงครึ่ง และสุดท้ายจะนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนกระทั่งอุณหภูมิใจกลางได้ 70-72 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำไปเก็บในห้องเย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส ผู้ผลิตบางรายนำไปทำให้แห้งต่อโดยใช้อุณหภูมิ 12-15 องศาเซลเซียส และค่าความชื้นสัมพัทธ์ ที่ 72-75 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งมีค่า a_w อยู่ที่ 0.92 ซึ่งสามารถเก็บได้โดยไม่ต้องแช่เย็น

2) Kransky

Kransky เป็นผลิตภัณฑ์ที่พบได้ทั่วโลก โดยทั่วไปประกอบด้วย อิมัลชัน 30-35 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 25-32 เปอร์เซ็นต์ หรือ ไขมันสามชั้น 35 เปอร์เซ็นต์ และส่วนของเนื้อแดง 35-40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนขั้นตอนการผสมเนื้อกับส่วนอิมัลชันก็จะคล้ายกับการทำ Polish salami เครื่องเทศที่ใส่จะมี พริกไทยดำ กระเทียม ผักชี ลูกจันทเทศ และมีการผสมเกลือ และไนไตรท์ 1.8-2 เปอร์เซ็นต์ ของมวลเนื้อ นำส่วนผสมทั้งหมดมาบดรวมกันจนได้ขนาด 4-6 มิลลิเมตร ยกเว้นในส่วนของเนื้อจะแยกแล้วบดจนได้ขนาด ประมาณ 8-13 มิลลิเมตร หลังจากนั้น นำทั้งสองส่วนมาผสมกัน แล้วนำไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรจุใส่ไส้หมูสด นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-30 นาที นำไปรมควันต่อที่อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-40 นาที แล้วทำให้สุกด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 76-78 องศาเซลเซียส จนอุณหภูมิใจกลางของซาลามีอยู่ที่ 70 องศาเซลเซียส แล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียสเพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนนำมาบริโภคนิยมนำไปแช่น้ำร้อน หรืออย่างก็ได้

3) Vienna salami

การทำ Vienna salami จะใช้ส่วนของไขมัน 25 เปอร์เซ็นต์ เนื้อแดง 45 เปอร์เซ็นต์ และส่วนของอิมัลชันอีก 35 เปอร์เซ็นต์ ต้องผ่านการแช่แข็ง ส่วนเนื้อจะแช่เย็นกึ่งแข็งนำไปอบคั่วในเครื่องสับผสมจะกระทั่งได้ขนาด 4 มิลลิเมตร ในช่วงทำจะนำไปนึ่งจนอุณหภูมิใจกลางผลิตภัณฑ์อยู่ที่ 70-72 องศาเซลเซียส ต่อจากนั้นนำไปรมต่อที่ อุณหภูมิ 12-14 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 72-74 เปอร์เซ็นต์เพื่อให้ผลิตภัณฑ์แห้งมากขึ้นจนกระทั่งได้ค่า a_w อยู่ที่ 0.92

Toldrá *et al.* (2007) พบว่าขั้นตอนการผลิตไส้กรอกหมัก อาศัยการหมักให้เกิดขึ้นตามธรรมชาติหรือสภาวะของแต่ละพื้นที่การผลิต เช่น ไส้กรอกในเมดิเตอร์เรเนียนร์ ที่มีความแห้ง a_w มีค่าต่ำมาก เนื่องจากได้รับแสงแดดในแต่ละวันเป็นเวลานานพอที่จะทำให้ไส้กรอกแห้งมากขึ้นได้ ต่างจากไส้กรอกหมักในแถบยุโรปเหนือ ที่ต้องอาศัยการรมควันเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา ได้มีการพัฒนากระบวนการผลิต โดยใช้เทคโนโลยีฮาร์ดเดิล (Hurdle Effects) เพื่อควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ และยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ปัจจัยดังนี้

1. การเติมไนไตรท์ เกลือ หรือน้ำตาล
2. การลดการออกซิเดชันของโปรตีน
3. การใช้เกลือเชือกที่เรียกว่ากรดแลคติก ต่อ จำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกเริ่มต้น
4. การลดลงของค่า pH
5. การลดลงของค่า a_w
6. การรมควัน

ซึ่งทั้ง 6 กระบวนการที่นำมาเป็นกำแพงป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ ซึ่งจุลินทรีย์บางชนิดอาจจะยังมีชีวิตอยู่ได้บ้างในบางขั้นตอน แต่เมื่อผ่านทั้ง 6 กระบวนการจะทำให้จุลินทรีย์ถูกกำจัดออกไปจากอาหารและไม่สามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ในอาหาร ทำให้อาหารมีความคงตัว และปลอดภัย

ธงชัย พุฒทองศิริ (2546) กล่าวว่า เฮอร์เดิลเทคโนโลยี เป็นหลักการหนึ่งที่ใช้สำหรับการเก็บรักษาอาหาร ซึ่งอาจใช้สารเคมีหรือกระบวนการใดก็ตาม เพื่อยับยั้งกระบวนการเสื่อมสลายของอาหาร โดยใช้สำหรับควบคุมการเสื่อมสลายอาหารที่เกิดจากกระบวนการทางชีวภาพหรือจุลินทรีย์เท่านั้น สามารถแบ่งเฮอร์เดิลหรืออุปสรรคออกได้เป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ ด้วยกัน คือ

1. อุปสรรคทางกายภาพ (Physical impact) ได้แก่ กระบวนการใช้ความร้อน การควบคุมอุณหภูมิค่าในระหว่างการเก็บรักษาวัตถุดิบ ผลิตภัณฑ์ หรืออุณหภูมิในระหว่างการใช้รังสีในการฆ่าจุลินทรีย์ การใช้พลังงานอิเล็กโทรแมกเนติกส์ (Electromagnetic energy) การใช้ภาชนะบรรจุในการควบคุมจุลินทรีย์ เช่น การเก็บในสภาพสุญญากาศ การควบคุมบรรยากาศ หรือการดัดแปลงบรรยากาศ หรือแม้กระทั่งการใช้การบรรจุแบบปลอดจากเชื้อ (Aseptic packaging)

2. อุปสรรคทางเคมี หรือ อุปสรรคทางกายภาพเคมี (Physico-chemical impact) ได้แก่ การควบคุมปริมาณน้ำอิสระในอาหาร (Water activity, a_w) การควบคุมการเป็นกรดต่าง การควบคุมปฏิกิริยารีดอกซ์ในอาหาร (Redox potential, Eh) เช่น การใช้น้ำตาล หรือเกลือในการควบคุมแรงดันออสโมติก เพื่อปรับค่าน้ำอิสระในอาหาร การใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ หรือก๊าซออกซิเจนรวมกับการใช้สารเคมี การรมควัน การใช้สมุนไพรและเครื่องเทศในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์

3. อุปสรรคจากจุลินทรีย์หรือผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์ (Microbial impact or microbial derive products) เช่น จุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติแต่เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการแข่งขันสูงกว่า จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสีย (Competitive flora) กล้าเชื้อจุลินทรีย์ (Starter cultures) ซึ่งมีจุลินทรีย์อยู่ในปริมาณที่สูง เมื่อนำไปใส่ในอาหารที่ต้องการหมัก เช่น ไวน์ จะทำให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ไม่สามารถเจริญได้ต่อไป สารที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นแล้วมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น สารปฏิชีวนะ (Antibiotic) ไคโตซาน (Chitosan) และ โคลีน (Choline) เป็นต้น ซึ่งสารประกอบเหล่านี้อาจเป็นสารที่สร้างขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หรือเมื่อจุลินทรีย์นั้นสิ้นสุดการเจริญเติบโตในอาหารนั้นๆ แล้ว สารเหล่านี้ทำให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นไม่สามารถเจริญในอาหารชนิดนั้นได้

2.2 การเลือกวัตถุดิบ และกระบวนการหมักซาลามิ

2.2.1 วัตถุดิบหลักที่ใช้ทำซาลามิ (Feiner, 2006)

2.2.1.1 วัตถุดิบเนื้อ

เนื้อที่นำมาใช้ในการผลิตซาลามินิยมเนื้อที่ไม่มีไขมันปน (lean meat) อาจจะใช้ได้ทั้งเนื้อกวาง เนื้อกระบือ เนื้อจึงใจ แต่ที่นิยมคือเนื้อสุกร ทั้งนี้ปัญหาหลักของการจะใช้เนื้อชนิดใดนั้นขึ้นอยู่กับความเร็วหรือช้าของการสร้างกรด (acidification) ในระหว่างกระบวนการหมัก หรือวัตถุดิบของแต่ละท้องถิ่น ทั้งนี้พบว่าเนื้อม้า และเนื้อกวางมีปริมาณไคโลโคเจนในเนื้อสูงกว่าเนื้อโคและเนื้อสุกร ดังนั้นผลิตภัณฑ์จะมีความเป็นกรดที่สูงกว่า (ค่า pH ต่ำ) เนื้อที่จะนำมาทำซาลามิจะต้องคัดเลือกเอาต่อม ฟังสிட จุดเลือด หลอดเลือดออกให้หมด เนื่องจากจุดดังกล่าวจะเป็นแหล่งปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ควรน้อยที่สุด ที่เหมาะสม คือ มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *Enterobacteriaceae* สูงสุดไม่เกิน 10^4 cfu/g เนื้อสด ค่า pH ในเนื้ออยู่ที่ 5.7-5.8 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อ DFD (Dark Firm Dry) ไม่เหมาะสมที่จะนำมาผลิตทั้งนี้ เพราะเนื้อนี้มีค่า pH สูง ความเป็นกรดจะช้า ประกอบกับความสามารถของการอุ้มน้ำของโปรตีนในเนื้อสูง (WHC) จึงทำให้กระบวนการดึงเอาน้ำออกจากผลิตภัณฑ์ (ripening) เป็นไปได้ช้า เนื้อ PSE (Pale Soft and Exudative) มีข้อได้เปรียบมากกว่าเนื้อ DFD ในการที่จะนำมาทำซาลามิเนื่องจากผลิตภัณฑ์จะแห้งเร็วกว่า อย่างไรก็ตามไม่ควรใช้ในปริมาณเกินกว่า 20-25 เปอร์เซ็นต์ ของวัตถุดิบเนื้อ

เนื้อจากแม่โคเหมาะสมที่จะนำมาทำซาลามิมากกว่าเนื้อโคหนุ่ม เนื่องจากเนื้อนี้มีสีแดงเข้มเพราะมีปริมาณเม็ดสีในเลือด (myoglobin) สูงกว่า นอกจากนี้ยังมีปริมาณไกลโคเจนในเนื้อสูงกว่า เนื้อมีความชื้นต่ำกว่าทำให้ระยะเวลาในการบ่มผลิตภัณฑ์สั้นกว่า จูซาร์ตัน เศรษฐกุล (2552) กล่าวว่า เนื้อโคพื้นเมือง หมายถึงเนื้อโคที่ได้มาจากโคพันธุ์พื้นเมือง ซึ่งถูกเลี้ยงแบบปล่อยให้หากินหญ้าตามธรรมชาติ เนื้อโคพื้นเมืองคุณภาพไม่คงที่ ขึ้นอยู่กับอายุโค ความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งอาหารหญ้าที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เนื้อโคพื้นเมืองอายุประมาณ 2 ปี น้ำหนักตัวประมาณ 200 กิโลกรัม เนื้อที่ได้มีความนุ่มปานกลาง เส้นใยกล้ามเนื้อละเอียด ไม่มีไขมันแทรก เนื้อจะค่อนข้างแห้งไม่ฉ่ำน้ำเหมือนเนื้อโคขุน

คุณลักษณะที่สำคัญของคุณภาพเนื้อโคไทยแบ่งออกเป็น 5 ด้าน ดังนี้

- 1) คุณภาพด้านโภชนาการ และสุขภาพ (nutritional and health value) เนื้อโคเป็นแหล่งอาหารประเภทโปรตีน และพลังงาน มีกรดอะมิโนจำเป็น กรดไขมันจำเป็นและแร่ธาตุจำเป็น ได้แก่ ธาตุเหล็ก ซีลีเนียม สังกะสี นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยวิตามิน B และ E
- 2) คุณภาพด้านการบริโภคหรือด้านที่ใช้ประสาทสัมผัสเป็นตัวตัดสิน (eating value หรือ sensory value) ได้แก่ คุณภาพที่เกี่ยวข้องกับรสชาติ สี กลิ่น ความนุ่ม ลักษณะเนื้อสัมผัส ซึ่งด้านคุณภาพของความนุ่มนั้นผู้บริโภคมักให้ความสำคัญมากที่สุด
- 3) คุณภาพด้านความปลอดภัยจากสารตกค้าง (hygienic value) ซึ่งเกี่ยวข้องกับโดยตรงกับความปลอดภัยของอาหาร (food safety) ได้แก่ ความปลอดภัยจากสารเคมีตกค้าง สิ่งปนเปื้อนในเนื้อ และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค
- 4) คุณภาพด้านการนำเนื้อไปแปรรูป (technological value) ได้แก่ ค่า pH ในเนื้อ ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนในเนื้อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษา (drip loss) และการสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุก (cooking loss)
- 5) คุณภาพด้านนิเวศธรรมและจิตใจ (ethical value) ได้แก่ เนื้อโคที่เลี้ยงแบบปล่อยตามธรรมชาติที่มีความอุดมสมบูรณ์ตลอดทั้งปี ไม่ใช้ฮอร์โมน หรือทำการตอนเพื่อเร่งการเจริญเติบโต สอดคล้องกับการเลี้ยงโคพื้นเมืองตามธรรมชาติ ถ้าได้มีการพัฒนาปรับปรุงการผลิตให้ถูกต้องตลอดห่วงโซ่ของการผลิต จะสามารถสร้างเอกลักษณ์ของเนื้อโคไทยที่มีคุณลักษณะของคุณภาพเนื้อครบทั้ง 5 ด้าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมพร ดวนใหญ่ และคณะ (2552) พบว่าจุดเด่นที่น่าสนใจของเนื้อโคพื้นเมือง คือ มีปริมาณกรดไขมัน Conjugated Linoleic acid (CLA) สูงเมื่อเทียบกับโคสายพันธุ์อื่นภายใต้ระบบการผลิตของประเทศ CLA มีประโยชน์ต่อสุขภาพช่วยป้องกันการสร้างเซลล์มะเร็ง ลดการสะสมไขมันในผนังหลอดเลือด ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคความดันโลหิตสูง เพิ่มการสะสมแร่ธาตุในกระดูก และลดการสะสมไขมันในร่างกาย CLA จะมีมากขึ้นในเนื้อโคที่กินหญ้าทั้งนี้เนื่องจากกรดไขมัน linoleic และ linolenic ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการสร้าง CLA ส่วนใหญ่ได้มาจากหญ้าและธัญพืชที่นำมาเลี้ยงสัตว์ นอกจากนี้ยังพบว่า โคพื้นเมืองมีไขมันและคอเลสเตอรอลต่ำกว่าโคลูกผสม และยังพบว่าในเนื้อโคพื้นเมือง ยังมีสัดส่วนของไขมันที่มีประโยชน์ในกลุ่มโอเมก้า 3 (EPA, DHA) วิตามินอี และธาตุซิงค์สูงกว่าโคลูกผสม โดยเฉพาะธาตุซิงค์สูงกว่า 5 เท่า ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าวิตามินอี และธาตุซิงค์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากขึ้นด้วย นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์เนื้อไม่พบการตกค้างของโลหะหนัก ยาฆ่าแมลง รวมทั้งสารปฏิชีวนะ เพราะเกษตรกรไม่มีความจำเป็นต้องใช้ยาหรือสารเคมีแก่โค จุฑารัตน์ เศรษฐกุล (2552) ยังพบว่าเนื้อโคพื้นเมืองสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการแปรรูปเนื้อสัตว์ ซึ่งเป็นการใช้ชิ้นส่วนที่มีมูลค่าต่ำ หรือเนื้อจากชิ้นส่วนที่มีความสำคัญรอง เช่น เนื้อพื่นท้อง เนื้อสีข้าง เนื้อบริเวณคอ เนื้อดังกล่าวสามารถนำมาเป็นวัตถุดิบในการทำผลิตภัณฑ์สดรูปเนื้อบดหยาบ ได้แก่ ไส้กรอกเปรี้ยว ซาลามิ และแฮมเบอร์เกอร์ ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าเนื้อโคพื้นเมืองให้สูงขึ้นด้วย จากคุณสมบัติและจุดเด่นในเนื้อโคพื้นเมืองไทย จึงมีการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต ผลิตภัณฑ์เนื้อประเภทหมักเปรี้ยวกึ่งแห้งแบบตะวันตกอย่าง ซาลามิเนื้อโคพื้นเมืองที่ลดการใช้สารเคมี ที่มีความปลอดภัยกับผู้บริโภคมาก

2.2.1.2 วัตถุดิบไขมัน

ไขมันที่เหมาะสมในการนำมาทำซาลามิ คือไขมันสุกรที่มาจากส่วนไขมันสันหลัง (back fat) และไขมันต้นคอ (neck fat) เนื่องจากเป็นไขมันที่มีกรดไขมันอิ่มตัวสูงกว่าไขมันส่วนอื่น ซึ่งจะทำให้ไขมันไม่ละลายในช่วงระยะการบ่ม แต่ไขมันวัวไม่นิยมนำมาใช้เนื่องจากมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวสูงมากเกินไป แต่ถ้าจะใช้ไขมันวัวทำซาลามิในบางชนิดจะใช้ไขมันจากส่วนเสื่อร้องให้ (brisket) การใช้ไขมันในส่วนผสมมากจะทำให้ค่า pH ลดลงช้า เนื่องจากไขมันมีค่า pH สูงและความชื้นต่ำ ทำให้ผลิตภัณฑ์ซาลามิที่มีไขมันสูงจะมีค่า a_w ต่ำ

ในการเตรียมวัตถุดิบเนื้อและไขมันจะต้องผ่านกระบวนการลดอุณหภูมิถึงจุดเยือกแข็ง (-18 ถึง -20 °C) เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. ในขณะที่ทำการสับผสมเนื้อและไขมันในอ่างสับผสมความเร็วสูง (high speed bowl cutter) ไม่ควรใช้เนื้อแช่เยือกแข็งทั้งหมด ควรมีเนื้อกึ่งแช่แข็ง (semi-frozen) ประมาณ 20-25 เปอร์เซ็นต์ เพราะจะช่วยทำให้อุณหภูมิสุดท้ายไม่ต่ำเกินไป อุณหภูมิสุดท้ายควรอยู่ที่ 0 องศาเซลเซียสซึ่งจะทำให้กระบวนการหมัก (fermentation) โดยเชื้อจุลินทรีย์ทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.3 กล้าเชื้อที่ใช้ในผลิตภัณฑ์

การเติมกล้าเชื้อจุลินทรีย์ลงในซาลามีจะช่วยในกระบวนการสร้างกรด ลีกลีน และ รสของผลิตภัณฑ์ ซึ่งปริมาณที่เหมาะสมในการใช้ อย่างน้อย 10^7 cfu/g ของมวลเนื้อซาลามี โดยกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้จะต้องไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค (Feiner 2006) Flores and Toldra (2010) กล่าวว่ากล้าเชื้อแบคทีเรียควรมีคุณสมบัติที่มีความเสถียรภายใต้สภาวะของกระบวนการผลิต เช่น ทนเกลือ ทนกรด และสามารถผลิตแบคทีเรียโอซิน แบคทีเรียที่เจริญตามธรรมชาติในไส้กรอกหมักนั้นเป็นแบคทีเรียที่ดี ที่สามารถนำมาคัดแยกเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อได้ซึ่งสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมและเนื้อสัตว์ได้ดี ในการผลิตไส้กรอกหมักส่วนใหญ่จะใช้ร่วมกับกล้าเชื้อที่ประกอบด้วยแบคทีเรียกรดแลคติกเพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับ coagulase negative staphylococci (CNS) และยีสต์/รา การใช้แบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถหมักคาร์โบไฮเดรตเพื่อให้ได้กรดแลคติก ทำให้ค่า pH ในผลิตภัณฑ์ลดลงอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้แบคทีเรียเหล่านี้สามารถผลิตเอนไซม์ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี เช่น การย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมันที่ส่งผลต่อสี รสชาติ และลักษณะเนื้อสัมผัส ทั้งนี้ต้องพิจารณาจากปัจจัยอื่นร่วมด้วย เช่น อุณหภูมิและระยะเวลาของการหมักและการบ่ม ปริมาณเกลือ ไนเตรท และไนไตรท์ ชนิด และปริมาณของคาร์โบไฮเดรต การเปลี่ยนแปลงของค่า pH, a_w และเครื่องเทศ

Cocconcelli and Fontana (2008) รายงานว่ากล้าเชื้อทางการค้าที่นิยมใช้ โดยทั่วไปในยุโรป ได้แก่ กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก (*Lactobacillus* และ *Pediococcus*) และกลุ่ม GCC+ (*Staphylococcus* และ *Kocuria*) ซึ่งแบคทีเรียสายพันธุ์เหล่านี้มีบทบาทหน้าที่แตกต่างกันออกไปในกระบวนการหมักเนื้อ ดังแสดงตารางที่ 1

ตารางที่ 2.1 สายพันธุ์ของกล้าเชื้อแบคทีเรียที่นิยมใช้ในการหมักเนื้อสัตว์

สายพันธุ์	หน้าที่และคุณสมบัติในการหมักเนื้อสัตว์	ลักษณะของคุณภาพ
<i>Lactobacillus sakei</i>	มีผลต่อการลดลงของค่า pH พัฒนาทางด้านรสชาติ สามารถสร้างสารแบคเทอริโอซิน	เก็บรักษาได้นาน เกิดกลิ่นรสที่ดี
<i>Lactobacillus curvatus</i>	มีผลต่อการลดลงของค่า pH ย่อยสลายโปรตีน สามารถสร้างสารแบคเทอริโอซิน	เก็บรักษาได้นาน ผลิตภัณฑ์มีความคงตัว เกิดกลิ่นรสที่ดี
<i>Lactobacillus plantarum</i>	มีผลต่อการลดลงของค่า pH สามารถสร้างสารแบคเทอริโอซิน	เก็บรักษาได้นาน ผลิตภัณฑ์มีความคงตัว
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	สามารถสร้างกรดและสารแบคเทอริโอซิน	เก็บรักษาได้นาน ผลิตภัณฑ์มีความคงตัว
<i>Staphylococcus xylosus</i>	ย่อยสลายโปรตีนและไขมัน	เกิดสีและรสชาติที่ดี
<i>Staphylococcus carnosus</i>	ลดการเกิดไนเตรทได้	เก็บรักษาได้นาน
<i>Kocuria varians</i>	ลดการเกิดไนเตรทได้	เกิดสีที่ดี เก็บรักษาได้นาน

ที่มา : Cocconcelli and Fontana (2008)

2.2.1.4 ใ้สับรรจุผลิตภัณฑ์

Feiner (2006) กล่าวว่าใ้สับรรจุที่นิยมนำมาทำผลิตภัณฑ์ซาลามี มี 3 ประเภท ได้แก่

(1) ใ้สับรรจุธรรมชาติ (Natural casings) ซึ่งได้รับความนิยมมากในการนำมาทำผลิตภัณฑ์ใ้สักรอกต่างๆ เช่น ใ้สักรอกแฟรงเฟอร์เตอร์ ใ้สักรอกดับ ซาลามี หรือ ใ้สักรอกแฮม ใ้สับรรจุจะช่วยเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้คงรูป และช่วยป้องกัน แสง และความชื้นจากภายนอกเข้าสู่ผลิตภัณฑ์ ใ้สับรรจุชนิดนี้ทำจากลำใ้เล็กของสัตว์ ได้แก่ ใ้สัหมู ใ้สัแกะ ใ้สัม้า หรือ ใ้สัวัว ซึ่งใช้ในการผลิตใ้สักรอกมาหลายพันปี ใ้สับรรจุธรรมชาตินั้นทำให้มวลเนื้อผลิตภัณฑ์เกาะตัวกันแน่น ในซาลามีที่ใช้ใ้สับรรจุแบบธรรมชาติก็จะไม่ทำให้เกิดช่องว่างในมวลเนื้อของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการบ่มแห้ง

ใ้สับรรจุที่ได้จากสัตว์ที่นิยมนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์นั้น ได้แก่ หลอดอาหาร ลำใ้เล็ก และ ลำใ้ใหญ่ ในส่วนของหลอดอาหารนั้นมักจะใช้ผลิตใ้สักรอกที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาดใหญ่ ในการเตรียมใ้สัที่ได้จากสัตว์เพื่อนำไปทำใ้สับรรจุผลิตภัณฑ์ ควรล้างใ้สัสะอาดด้วยน้ำเกลือที่ความเข้มข้นประมาณ 40 – 50 เปอร์เซ็นต์ และเก็บที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2) ใ้บรจุเซลลูโลส (Cellulose casings) ใ้บรจุเซลลูโลส ทำมาจากเซลลูโลสโดยนิยมเติมสารเคมีลงไปเพื่อเพิ่มความเหนียวให้กับใ้บรจุ ใ้บรจุเซลลูโลสไม่สามารถทานได้เหมือนใ้บรจธรรมชาติ มีทั้งลักษณะที่เป็นแบบใส และสีทึบ ขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์และการบวนการผลิต ใ้บรจชนิดนี้จะไม่ค่อยเนบติดกับเนื้อผลิตภัณฑ์มากนัก ก่อนนำใ้บรจชนิดนี้ไปใช้บางครั้ง อาจนำใ้บรจุเซลลูโลสไปแช่น้ำอุ่นก่อนเป็นเวลาประมาณ 30 นาที ก่อนนำไปบรจุผลิตภัณฑ์ เพื่อให้ใ้บรจเนบเกาะกับมวลเนื้อในผลิตภัณฑ์ ใ้บรจุเซลลูโลสที่มีขนาดเล็กส่วนมากสีของตัวใ้บรจสามารถละลายเข้าสู่ผิวของเนื้อผลิตภัณฑ์ได้ เมื่อผ่านกระบวนการความร้อนขึ้น

(3) ใ้บรจคอลลาเจน (Collagen casings) ใ้บรจคอลลาเจน มีทั้งชนิดกินได้ และไม่ได้ ได้จากการสกัดผิวหนังชั้นกลางส่วนที่เรียกว่าชั้น Corium ของวัว อาจมีการเติมเซลลูโลสเพื่อเพิ่มความเหนียวซึ่งสามารถกินได้ ส่วนใ้บรจคอลลาเจนที่กินไม่ได้จะผลิตจากสารสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติเหมือนคอลลาเจน และนิยมใช้กับใ้กรอกที่มีขนาดใหญ่ เวลากินต้องลอกออก ใ้บรจคอลลาเจนไม่ควรได้รับความร้อน หรือน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 80 องศาเซลเซียส เพราะจะทำให้ใ้คอลลาเจนแตกได้ ใ้บรจคอลลาเจนเป็นที่นิยมมาก สำหรับนำมาผลิตใ้กรอกพร้อมทาน และใ้กรอกสด เนื่องจากให้ความรู้สึกอ่อนนุ่มที่ผิว ใ้กรอกเวลากัด

2.2.2 กระบวนการหมักและบ่มซาลามิ (Fermentation and Drying)

การหมักเป็นกระบวนการซึ่งสามารถทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ รวมถึงทำให้สี และรสชาติที่ดีขึ้น ในซาลามิหมักดิบพบว่า สามารถทำให้จุลินทรีย์มีความเสถียรโดยการลดค่า a_w ให้ได้ 0.89 หรือต่ำกว่า หรือ มีค่า pH ต่ำกว่า 5.2 ในการทำซาลามิบางชนิดนิยมใช้ทั้งสองวิธี คือการลดค่า a_w และการลดค่า pH ซึ่งสามารถทำให้ซาลามิปลอดภัยยิ่งขึ้น สามารถควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่สำคัญอย่าง *Salmonella* spp. และ *S. aureus* ในมาตรฐานการผลิตอาหารบางประเทศ กำหนดให้ลดค่า pH ให้ต่ำกว่า 5.2 ภายใน 48 ชั่วโมง เพื่อลดอันตรายจากการเจริญของเชื้อ *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* การหมักซาลามิจะอาศัยการหมักจากแบคทีเรียกรดแลคติก โดยพบว่าเมื่อค่า a_w ประมาณ 0.95 แบคทีเรียกรดแลคติกจะหยุดการทำงาน

ปริมาณของไขมันจะมีบทบาทในกระบวนการหมักซาลามิ หากมีปริมาณส่วนผสมที่เป็นไขมันน้อย จะต้องเพิ่มปริมาณส่วนของเนื้อแดงมากขึ้น ซึ่งมีผลทำให้มีปริมาณน้ำในผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น ทำให้ค่า a_w เริ่มต้นสูง ทำให้กระบวนการหมักนานกว่าซาลามิที่มีไขมันสูง การทำซาลามิหากใช้ปริมาณไขมันที่สูงขึ้นจะทำให้ค่า a_w เริ่มต้นของซาลามิต่ำ และต้องใช้ความชื้นสัมพัทธ์ที่สูงขึ้นในกระบวนการหมัก โดยเฉพาะในช่วง 24-48 ชั่วโมงแรก เพื่อป้องกันการแข็งตัวของใ้บรจุ ในกระบวนการหมักและบ่มซาลามิ อุณหภูมิ ความเร็วลม และความชื้นสัมพัทธ์ มีความสำคัญมากต่อตัวซาลามิ ทั้งการเปลี่ยนแปลงของสี เนื้อสัมผัส น้ำหนักสูญเสีย รสชาติ และความเสถียรของ

เชื้อจุลินทรีย์ ในห้องที่ชื้นจะต้องปลอดจากเชื้อรา โดยทั่วไปซาลามิจะมีค่า a_w อยู่ที่ 0.96-0.97 หลังจากบรรจุใส่ การใช้พื้นที่ในตู้บ่มซาลามิถือว่ามีความสำคัญ ควรใช้พื้นที่ที่เหมาะสม โดยไม่ควรบ่มซาลามิมากเกินไป หรือน้อยเกินไป หากใช้พื้นที่บ่มเพียงครึ่งหนึ่งของตู้บ่มที่มีปริมาตรมาก ลมจะดึงความชื้นออกจากผิวของซาลามิไปอย่างรวดเร็ว จนทำให้เกิดการแข็งตัวของไส้บรรจุ ก่อนกระบวนการหมักจะเสร็จสิ้น ในซาลามิที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางขนาดเล็กจะพบปัญหาของผลิตภัณฑ์แห้งเร็วเกินไปส่งผลให้สีของซาลามิเป็นสีเทาไม่น่าบริโภค

2.3 การเสื่อมเสียของซาลามิ

Feiner (2006) กล่าวว่า ซาลามิ (Salami) จัดเป็นผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวแบบแห้ง (dry fermented sausages) ซึ่งมีส่วนผสมหลักที่นิยมใช้เนื้อโค เนื้อสุกร และมีไขมันเป็นส่วนผสมถึง 30-35 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลาในการหมักประมาณ 90-100 วัน ทำให้ผลิตภัณฑ์มีโอกาสเสื่อมเสียเนื่องจากการเกิดออกซิเดชัน ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นหืนในซาลามิ ส่งผลต่อคุณภาพของซาลามิด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าผลิตภัณฑ์มีโอกาสปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค และเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ผิดปกติทางลักษณะปรากฏ กลิ่น และรสของตัวผลิตภัณฑ์ด้วย

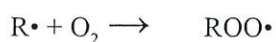
2.3.1 การเสื่อมเสียเนื่องจากการเกิดออกซิเดชัน

เนื่องจากซาลามิมีส่วนผสมของไขมันมาก และใช้เวลาในการบ่มนานจึงทำให้เกิดกลิ่นหืนในผลิตภัณฑ์ นิธิยา รัตนาปนนท์ (2545) กล่าวว่า การหืน (Rancidity) เป็นปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของไขมันและน้ำมัน ทำให้มีกลิ่นผิดปกติและคุณสมบัติทั้งทางเคมีและกายภาพเช่นกัน การหืนเนื่องจากออกซิเดชัน (Oxidative rancidity) เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่พันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวกับออกซิเจนในอากาศ เกิดเป็น peroxide linkage ขึ้นระหว่างพันธะคู่ ออกซิเดชันจะเกิดขึ้นเองอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา เมื่อไขมันและน้ำสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ ทำให้มีกลิ่นและรสชาติผิดปกติไป เนื่องจากไขมันที่อยู่ในอาหารมีองค์ประกอบเป็นกรดไขมันชนิดต่าง ๆ มากมาย ซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งสมบัติทางกายภาพ และทางเคมี รวมทั้งความไวต่อการเกิดออกซิเดชัน นอกจากนั้นส่วนประกอบอื่น ๆ ในอาหารอาจทำหน้าที่ร่วมออกซิไดส์ (co-oxidized) หรือทำปฏิกิริยากับไขมันที่ถูกออกซิไดส์แล้ว ดังนั้นปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของไขมัน จึงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง และค่อนข้างสลับซับซ้อน

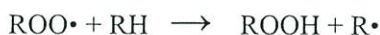
Perumalla and Hettiarachchy (2011) กล่าวว่า กระบวนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันมี 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นที่ 1 ขั้นเริ่มต้น (Initiation) เป็นการสูญเสียอะตอมของไฮโดรเจน ($H\cdot$) จากกรดไขมันไม่อิ่มตัว (RH) เกิดเป็นอนุมูลอิสระ ($R\cdot$) และทำปฏิกิริยากับออกซิเจน (O_2) ที่อยู่ในอากาศ โดยมีแสง ความร้อน รังสีหรือโลหะเพียงเล็กน้อยเป็นตัวเร่ง ทำให้เกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxyl ; $ROO\cdot$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ขั้นที่ 2 ขั้นต่อเนื่อง (Propagation) ในกระบวนการนี้ อนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxyl ; ROO) ที่เกิดจากปฏิกิริยาขั้นต้น (initiation) เข้าทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัว (RH) อื่นๆ เกิดเป็นสารที่อยู่ในรูปลิพิด ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (lipid hydroperoxides ; ROOH) และมีอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น



ขั้นที่ 3 ขั้นสุดท้าย (Termination) กระบวนการออกซิเดชันสิ้นสุดลงเมื่ออนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxyl ; ROO) 1-2 อนุมูลทำปฏิกิริยากัน ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระ (non-radical species; ROOR or RR) เป็นสารที่มีความคงตัวและจะไม่เกิดปฏิกิริยาต่อไป



เยวาลักษณ์ สุรพันธ์พิศัย (2536) พบว่าการเหม็นหืนนอกจากจะเกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีแล้ว ยังพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ยังเป็นสาเหตุประการหนึ่งที่ทำให้เกิดการเหม็นหืน แต่ไม่ค่อยสำคัญมากนัก ชัยณรงค์ คันธพนิต (2529) กล่าวว่าสารย่อยที่จุลินทรีย์ผลิตออกมาส่วนใหญ่มักจะเป็นพวกไลเปส (lipases) ซึ่งสามารถไฮโดรไลซ์พวกไขมัน และฟอสโฟลิปิดส์ไปเป็นกลีเซอรอล และกรดไขมัน หรือในกรณีของฟอสโฟลิปิดส์ก็จะได้ nitrogenous bases และฟอสฟอรัส การย่อยดังกล่าวเรียกว่าไลโปลิซิส (lypolysis) นี้ ถ้าเกิดขึ้นมากๆ ก็จะช่วยให้การเกิดออกซิเดชันของไขมันเป็นไปในอัตราเร็วขึ้นตามไปด้วย ดังนั้น จึงทำให้เหม็นหืนได้ การเหม็นหืนที่เกิดขึ้นในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ส่วนมากจะมีผลจากปฏิกิริยาการออกซิเดชันของไขมันที่มีผลเนื่องจากการที่ออกซิเจนเข้าทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัว เป็นการเสื่อมเสียของอาหารเนื่องจากการปฏิกิริยาทางเคมี สามารถเกิดขึ้นได้ตั้งแต่ในช่วงที่เตรียมวัตถุดิบ ระหว่างกระบวนการแปรรูป จนถึงระหว่างการเก็บเพื่อรอจำหน่าย ตัวอย่างการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดกลิ่นหืน ทำให้คุณค่าของอาหารลดลง และบางครั้งอาจก่อให้เกิดสารพิษ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บสั้นลง

2.3.1.1 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตราการเกิดออกซิเดชัน

Alamed (2008) พบว่าในอาหารประกอบด้วยกรดไขมันที่หลากหลายชนิด ซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งสมบัติทางกายภาพ และทางเคมี ซึ่งมีผลต่อความไวของการเกิดออกซิเดชัน และยังมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเกิดการออกซิเดชัน เช่น ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ ความเข้มข้นของออกซิเจน อุณหภูมิ พื้นที่ผิว นอกจากนี้ มาลัยพร ศรีวิระ (2551) ยังพบว่า ความชื้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก็เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการออกซิเดชัน

(1) ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ

พบว่า กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แต่มีอัตราความเร็วในการเกิดของปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน โดยอัตราการเกิดออกซิเดชันของไขมันจะได้รับผลกระทบจากจำนวนตำแหน่งพันธะคู่ Coleman and Williams (2007) กล่าวว่าอะตอมไฮโดรเจนที่อยู่ติดกับพันธะคู่จะมีความไวต่อการถูกออกซิไดซ์ในการออกซิเดชันของไขมัน หากพันธะคู่ของกรดไขมันมีปริมาณมากยิ่งส่งผลต่อการออกซิไดซ์ให้เร็วขึ้นด้วย

(2) ความเข้มข้นของออกซิเจน

ในภาวะที่มีออกซิเจนมาก อัตราการเกิดออกซิเดชันจะไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของออกซิเจน แต่ในภาวะที่มีออกซิเจนน้อยอัตราการเกิดออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของออกซิเจน โดยถ้ามีความเข้มข้นของออกซิเจนในระดับที่สูงจะเพิ่มอัตราการเกิดออกซิเดชันในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ อย่างไรก็ตามผลของออกซิเจน ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นด้วย เช่น อุณหภูมิ และพื้นที่ผิวที่สัมผัสกับออกซิเจนด้วย

(3) อุณหภูมิ

อัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น และอุณหภูมิยังมีอิทธิพลต่อความดันย่อยของออกซิเจนด้วย เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นการเปลี่ยนความดันย่อยของออกซิเจนจะมีอิทธิพลเพียงเล็กน้อยต่ออัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชัน เพราะการละลายของออกซิเจนในไขมันและน้ำจะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น

(4) พื้นที่ผิว

อัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงต่อพื้นที่ผิวของไขมันที่สัมผัสกับอากาศ ดังนั้น หากอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรเพิ่มขึ้นการเกิดออกซิเดชันจะเร็วขึ้นสำหรับอาหารที่เป็นอิมัลชัน (emulsion) ชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water) การเกิดออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับอัตราการแพร่กระจายของออกซิเจนเข้าไปยังส่วนที่เป็นน้ำมัน

(5) ความชื้น

มาลัยพร ศรีวิระ (2551) กล่าวว่าอัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชันขึ้นอยู่กับค่า a_w อาหารแห้งที่มีความชื้นต่ำมาก (a_w น้อยประมาณ 0.1) ปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว เมื่อค่า a_w เพิ่มขึ้นถึงประมาณ 0.3 จะยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันให้เกิดน้อยที่สุด อย่างไรก็ตามเมื่อค่า a_w เพิ่มมากขึ้นอยู่ในช่วง 0.55-0.85 อัตราการเกิดออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นอีกครั้งหนึ่ง เนื่องจากมีปริมาณน้ำมากพอที่จะทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของคะตะลิสต์ (catalyst) และออกซิเจน

2.3.1.2 การตรวจสอบการเกิดออกซิเดชันในไขมัน

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาทางเคมีที่ซับซ้อน และมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพ และทางเคมีของไขมัน การตรวจสอบเพื่อวัดการเกิดออกซิเดชันของไขมันทำได้หลายวิธี

(1) การหาค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value, PV)

นิธิยา รัตนาปนนท์ (2545) เปอร์ออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์ตัวแรกของการเกิดออกซิเดชันซึ่งวัดปริมาณที่เกิดขึ้นได้โดยใช้ความสามารถของเปอร์ออกไซด์ที่จะทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมไอโอไดด์ ได้เป็นไอโอดีน แล้วหาปริมาณไอโอดีนที่เกิดขึ้นโดยการไทเตรชัน (titration) หรือไอโอดิเมตรี (iodimetry) หรือออกซิไดส์เฟอร์รัสไอออนให้เป็นเฟอร์ริกไอออน โดยวิธีไทโอไซยาเนต

ค่าเปอร์ออกไซด์ หมายถึง มิลลิสมมูลของเปอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อ กิโลกรัมของไขมันหรือน้ำมัน ระหว่างการเกิดออกซิเดชันค่าเปอร์ออกไซด์จะเพิ่มขึ้นจนถึงจุดสูงสุด และลดต่ำลง

(2) การทดสอบกรดไทโอบาร์บิทูริก (Thiobarbituric acid, TBA)

Estévez *et al.* (2009) ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว จะทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์บิทูริกทำให้เกิดสี ซึ่งเชื่อว่าเกิดจากปฏิกิริยาควบนั่น (condensation) ของมาโลนัลดีไฮด์ (malonal-dehyde) กับกรดไทโอบาร์บิทูริก 2 โมเลกุล อย่างไรก็ตาม การเกิดออกซิเดชันอาจไม่จำเป็นต้องเกิดมาโลนัลดีไฮด์เสมอไป เพราะสารประกอบพวกแอลคานาล (alkanals) แอลคีนาล (alkenals) และ 2,4-ไดอีนาล (dienals) กับกรดไทโอบาร์บิทูริก จะให้สีเหลือง และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร มีเพียง ไดอีนาลเท่านั้นที่ให้สีแดง และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร

(3) วัดการเรืองแสง (Fluorescence Measurment)

Estévez *et al.* (2009) กล่าวว่าวิธีการวัดค่าการออกซิเดชันในไขมันโดยใช้การเรืองแสง เป็นอีกวิธีที่ได้รับความนิยม ซึ่งเหมาะกับการใช้ตรวจวัดในวัตถุบิทางชีวภาพ แต่ส่วนมากก็ได้นำไปใช้กับสารสกัดของโปรตีนและไขมัน เนื่องจากในอาหารจะประกอบด้วยสารเรืองแสงมากมายและซับซ้อน ในระหว่างกระบวนการออกซิเดชันจะเกิดผลิตภัณฑ์ขึ้นบางส่วนของปฏิกิริยาออโตฟลูออเรสเซนต์ (autofluorescent) จากปฏิกิริยาระหว่างการออกซิไดส์กรดไขมันหรือ การออกซิเดชันของไขมัน จะแตกตัวได้สารผลิตภัณฑ์ ที่เป็นสารประกอบของ กรดอะมิโน โปรตีน และสาร DNA (deoxyribonucleic acid) ซึ่งสารทั้งสามกลุ่มมีคุณลักษณะเฉพาะที่สามารถจำแนกได้โดยการเรืองแสง วิธีดังกล่าวเป็นวิธีที่มีจุดเด่นคือ มีความรวดเร็วกว่า และไม่ทำลายตัวอย่าง เมื่อเทียบกับการวิธีการตรวจด้วยวิธี TBA

(4) การวิเคราะห์ กรดไขมันอิสระ (Free Fatty Acid)

Feiner (2006) การวิเคราะห์กรดไขมันอิสระ จะเป็นการวิเคราะห์ค่าการหืนของไฮโดรไลติก ในไขมัน หรือน้ำมัน วิธีนี้นิยมใช้วิเคราะห์ไขมันเท่านั้น เนื่องจากการหืนของไฮโดรไลติก เกิดจากกระบวนการไฮโดลลิซิส (Hydrolysis) ของไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) ที่มีเอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของกระบวนการดังกล่าว ค่าของกรดไขมันอิสระจะเพิ่มขึ้นขณะที่มีการเก็บรักษา ไขมัน หรืออาหารที่มีไขมัน การหืนของไฮโดรไลติก หากผลการวิเคราะห์กรดไขมันอิสระในเนื้อ หรือผลิตภัณฑ์เนื้อ มีค่ามากกว่า 1.2 จะบ่งชี้ว่า ตัวอย่างนั้นมีความหืน

2.3.1.3 วิธีการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ฉัฐนันท์ มณีนิล (2554) ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (auto-oxidation) เป็นปฏิกิริยาแบบผันกลับได้ ซึ่งไม่สามารถจะป้องกันไม่ให้เกิดขึ้นได้แต่สามารถชะลอให้เกิดช้าลงได้ซึ่งทำได้โดย

- (1) ลดปริมาณความร้อนและแสงลง โดยการเก็บผลิตภัณฑ์ในที่เย็นและมีมืด
- (2) ป้องกันไม่ให้สัมผัสออกซิเจน โดยการเก็บในภาชนะที่ปิดสนิท

(3) การใช้สารต้านอนุมูลอิสระ He and Shahidi (1997) กล่าวว่าสารต้านออกซิเดชันที่เป็นสารสังเคราะห์ที่นิยมใช้ในอาหาร ได้แก่ Butylated hydroxyanisole (BHA), Butylated hydroxytoluene (BHT), Tert-butylatedhydroquinone (TBHQ) ซึ่งสารต้านออกซิเดชันที่สังเคราะห์ขึ้นบางตัวเช่น BHA สามารถกระตุ้นให้เกิดมะเร็งซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ทำให้มีการศึกษาและพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ เช่น สารคาเทชินที่ได้จากชาเขียวที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ Buckley *et al.* (1995) พบว่าสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติที่นิยม ได้แก่ วิตามินอี วิตามินซี แคโรทีน กลูต้าไธโอน นอกจากนี้ Maestri *at al.* (2006) ยังพบว่าสารประกอบฟีนอลิกในพืช เช่น ถั่ว มีคุณสมบัติต้านการออกซิเดชันได้เช่นกัน

2.3.2 การเสื่อมเสียเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏและรสชาติ (Dong and Min 2007)

สำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก จะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และทางเคมีในระหว่างการเก็บรักษา โดยเชื้อจุลินทรีย์เป็นสาเหตุสำคัญมากที่สุด ในการเสื่อมเสีย ผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เช่น มีการเปลี่ยนสี มีกลิ่น ไม่พึงประสงค์ ผิวหน้าเมือกด้วย

2.3.2.1 ผิวหน้าเป็นเมือก (Surface Slime)

มีสาเหตุเนื่องจากแบคทีเรียพวก *Pseudomonas* และ *Achromobacter* พบในเนื้อ และผลิตภัณฑ์ที่เก็บในห้องเย็นที่มีความชื้นสูง แต่ถ้าอุณหภูมิต่ำจะพบพวก *Micrococcus* หรือ *Yeast* ปะปนทำให้เกิดเมือกขึ้นในผลิตภัณฑ์พวกไส้กรอก

2.3.2.2 การเปลี่ยนแปลงสี (Change in color of meat pigments)

ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีแบคทีเรียพวก *Lactobacillus viridescens* ซึ่งปนเปื้อนมากับในส่วนผสมของเนื้อในขณะที่เตรียมการ ในการอบและการรมควัน ผลิตภัณฑ์ใช้ความร้อนไม่พอต่อการทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนได้หมด แบคทีเรียที่เหลืรอดอยู่จะเจริญเติบโตและผลิตสาร hydrogen peroxide ซึ่งเป็น strong (porphyrin ring) ของเม็ดสี ไมโอโกลบิน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในรูปของ Verdoheme หรือ Choleglobin ทำให้เกิดเป็นสีเขียว (greening) ในผลิตภัณฑ์ด้วย

2.3.2.3 การเหม็นเน่า และรสเปรี้ยวในผลิตภัณฑ์

เขवालักษณ์ สุรพันธ์พิศิชฐ์ (2536) พบว่าการเหม็นเน่าเกิดขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียพวก *Proteus* และ *Clostridium perfringens* เจริญอยู่ในเนื้อสัตว์และสามารถสร้างเอ็นไซม์ที่สามารถย่อยสลายโปรตีน และย่อยสลายโมเลกุลของโปรตีน สายเปปไทด์หรือกรดอะมิโนอิสระได้ สิ่งที่เกิดจากการย่อยสลายดังกล่าวทำให้เกิดมีกลิ่นเหม็นเน่าขึ้น ได้แก่ hydrogen sulphide, mercaptans, indole, ammonia, amine และอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่าการย่อยคาร์โบไฮเดรตในเนื้อสัตว์ของแบคทีเรียประเภทที่ไม่ต้องการอากาศ (anaerobic bacteria) เช่น พวก Lactic acid bacteria ชนิดต่างๆ เป็นผลให้เกิดกรดอินทรีย์ต่างๆ เกิดขึ้น ทำให้เนื้อมี pH ลดลง และเกิดแก๊สขึ้นในเวลาเดียวกัน ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดรสเปรี้ยวขึ้นด้วย

2.4 เชื้อจุลินทรีย์ที่พบในผลิตภัณฑ์ชาลามี

2.4.1 มาตรฐานทางด้านเชื้อจุลินทรีย์ และทางกายภาพในชาลามี

1) มาตรฐานทางด้านเชื้อจุลินทรีย์ในชาลามี

- *Salmonella* spp. เมื่อสิ้นสุดกระบวนการผลิตต้องมีการลดลงของเชื้อ 6.5 log (UFDA-FSIS. 2001)
- *L. monocytogenes*. ต้องไม่พบในตัวอย่างของชาลามี (UFDA-FSIS. 2003)
- *E. coli* เมื่อสิ้นสุดกระบวนการผลิตต้องมีการลดลง 6.5 log (UFDA-FSIS. 2001)

2) มาตรฐานทางด้านกายภาพในชาลามี

- ค่า a_w ต่ำกว่า 0.91 (UFDA-FSIS. 2011)
- ค่า pH ต่ำกว่า หรือ เท่ากับ 5.2 (UFDA-FSIS. 2011)

2.4.2 ลักษณะทั่วไปของเชื้อที่มักพบในชาลามี

Aquilanti *et al.* (2007) ทำการศึกษาระบบนิเวศน์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในตัวอย่างชาลามีของอิตาลีที่หมักตามธรรมชาติ ในระหว่างการหมักได้เก็บตัวอย่างชาลามีมาวิเคราะห์ทางเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กายภาพ และทางเคมี วัด ค่า pH และ a_w ตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวม แบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งพบว่าปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่เริ่มการหมักมีจำนวน $5.85 \log \text{ cfu/g}$ จากนั้นจะเพิ่มปริมาณขึ้นสูงที่สุดในช่วงวันที่ 3 ของการหมักมีจำนวน $8.56 \log \text{ cfu/g}$ หลังจากนั้นจึงค่อยลดจำนวนลง ส่วนเชื้อยีสต์พบว่าในวันแรกของการหมักจะมีจำนวน $3.10 \log \text{ cfu/g}$ และจะค่อยเพิ่มจำนวนมากขึ้น สูงสุดในช่วง 30-45 วันของการบ่ม มีจำนวน $5.89 \log \text{ cfu/g}$ ส่วน *Staphylococcus aureus* และ *E. coli* มีจำนวน $<2 \log \text{ cfu/g}$ และ $<1 \log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ ในขณะที่ *L. monocytogenes* และ *Salmonella* spp. นั้นไม่พบใน 25 กรัม ของผลิตภัณฑ์ และมีการจำแนกชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อที่พบในซาลามิดด้วยวิธีการทางชีวโมเลกุล จากการศึกษาค้นคว้าความหลากหลายของเชื้อจุลินทรีย์ พบเชื้อ *Lactobacillus curvatus*, *Lb. plantarum* และ *Staphylococcus xylosus* ส่วนยีสต์ที่พบจะเป็นกลุ่มของ *Debaryomyces hansenii* ค่า pH เริ่มต้นอยู่ที่ 5.6 หลังจากนั้น 3 วัน เริ่มลดลงจนถึงวันที่ 20 ของการหมัก ค่า pH จะลดลงต่ำสุดอยู่ที่ประมาณ 4.6 หลังจากนั้น ค่า pH จะค่อยสูงขึ้นอยู่ที่ 5.04 ในช่วงสุดท้ายของการหมักหรือวันที่ 45 ของการหมัก ส่วนค่า a_w นั้นพบว่าเมื่อเริ่มต้นค่าจะอยู่ที่ 0.94 หลังจากนั้นจะลดลงจนถึง 0.88

Feiner (2006) กล่าวว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่มักพบในผลิตภัณฑ์ซาลามิ ที่สำคัญคือกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก โดยพบมากในระหว่างกระบวนการหมักซึ่งมีประโยชน์ต่อผลิตภัณฑ์มาก นอกจากนี้ยังพบจุลินทรีย์ในกลุ่มอื่นอีกเช่น รา ยีสต์ *L. monocytogenes*, *Pseudomonas* spp., *S. aureus* ส่วนเชื้อ *Salmonella* spp. มักพบในซาลามิที่กระบวนการหมักเกิดขึ้นช้า ส่วน *Clostridium botulinum* จะพบได้ในกลุ่มของซาลามิหมักดิบ และใช้ไ้บรรจุธรรมชาติที่เป็นไ้ของสัตว์ที่ทำความสะอาดไม่ดีพอ *Clostridium botulinum* จะสามารถเจริญอยู่ที่ผิวค้ำในของไ้บรรจุ

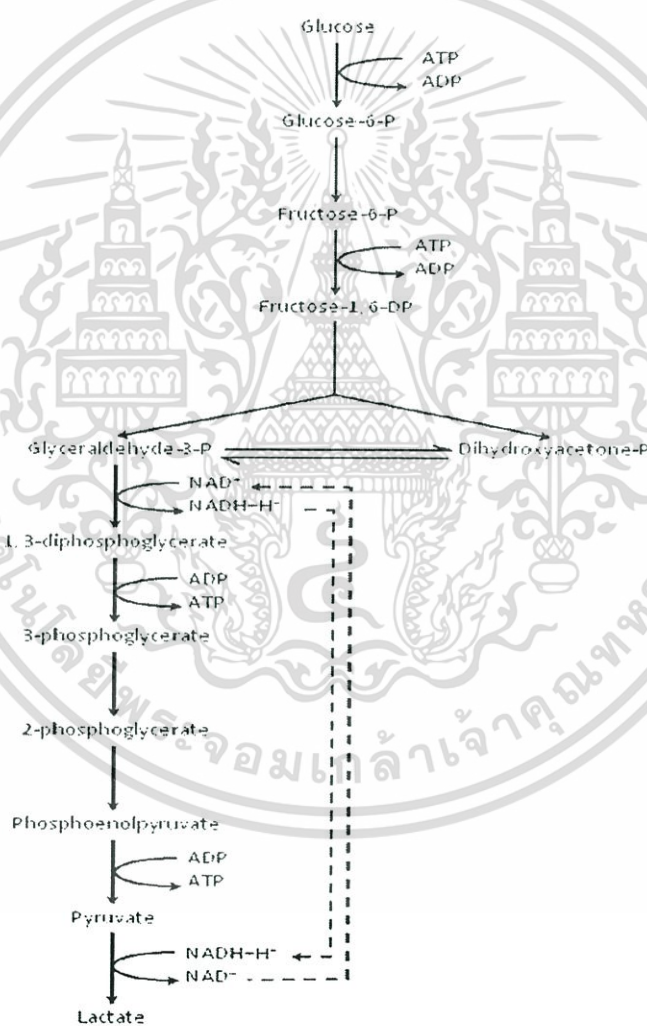
2.4.3 กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก

แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) จัดเป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมบวก ที่มีลักษณะสำคัญคือ ไม่สร้างสปอร์ (nonsporing) ไม่เคลื่อนที่ รูปร่างเป็นแท่ง (rod) และกลม (cocci) มีการจัดเรียงตัวเป็นคู่ คู่สี่ ทรงกลมโซ่ยาว และโซ่ยาว เป็นต้น (อัฉรา เพิ่ม. 2550) มีความสามารถผลิตกรดแลคติก ซึ่งเป็นผลผลิตหลักจากกระบวนการหมักเมื่อมีคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสม การเจริญส่วนใหญ่ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อย (microaerophile) บางชนิดเป็นพวกไม่ต้องการอากาศ (strictly anaerobe) เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่ได้พลังงานจากการหมักน้ำตาลโดยไม่ใช้ออกซิเจน จึงมีความต้องการสารอาหารที่ค่อนข้างซับซ้อนและสมบูรณ์ ส่วนใหญ่ต้องการสารอนินทรีย์ในปริมาณค่อนข้างสูง เช่น แมงกานีส แมกนีเซียม และ ฟอสฟอรัส ในปัจจุบันมีการศึกษา และได้ทำการคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติก จากแหล่งต่างๆมากมาย Herrerias *et. al* (2005) รายงานว่าแบคทีเรียกรดแลคติกมีความสำคัญมากในกระบวนการหมักของซาลามิ เช่น *Lactobacillus* spp. ซึ่งมีคุณสมบัติที่มีประโยชน์ในการสร้างกรด และยังช่วยไ้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ตามกระบวนการและผลิตภัณฑ์ที่ผลิตกันที่มีความสม่ำเสมอของรสชาติ สีของผลิตภัณฑ์ด้วย ซึ่งได้ถูกจำแนกไว้ทั้งหมด 12 สกุลด้วยกัน ได้แก่ *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* และ *Weissella* ได้จากการหมัก คือ

1) **Homofermentative** เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่หมักน้ำตาลกลูโคส โดยการเปลี่ยนกลูโคสเป็นไพรูเวต และอาศัยเอนไซม์อัลโดเลส (aldolase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาแล้วให้กรดแลคติกมากกว่าหรือเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ โดยผ่าน glycolysis (Embden-Meyerhof Parnas pathway : EMP) ได้แก่ แบคทีเรียในสกุล *Pediococcus*, *Streptococcus* และ *Lactobacillus* บางชนิดเช่น *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii*

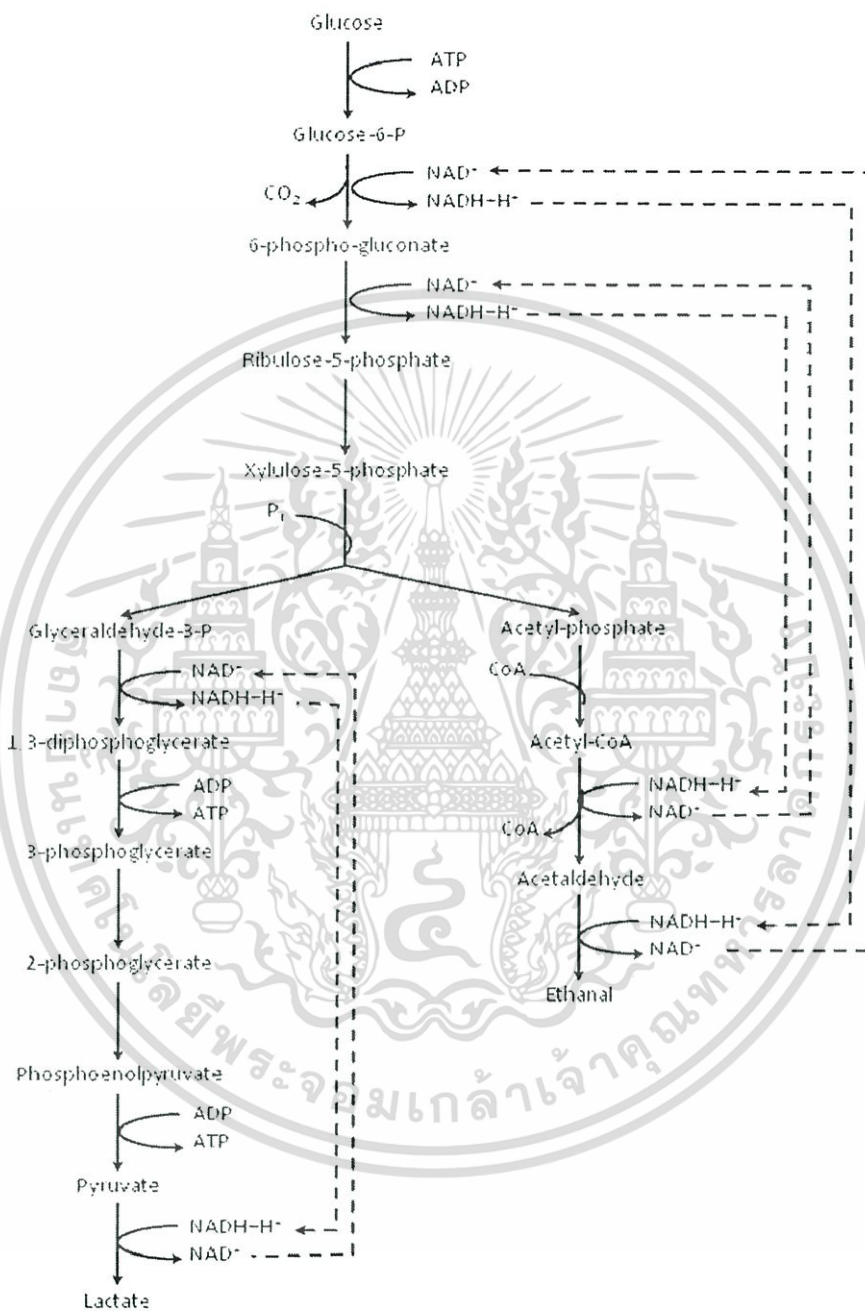


ภาพที่ 2.1 วิธีการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดแลคติกแบบ Homofermentation โดยแบคทีเรียกรดแลคติก

ที่มา : Axelsson (1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) **Heterofermentative** เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่หมักน้ำตาลกลูโคส แล้วให้คาร์บอนไดออกไซด์ 20-25 เปอร์เซ็นต์ กรดแลคติก 50 เปอร์เซ็นต์ กรดอะซิติกและเอทานอล 20-25 เปอร์เซ็นต์ โดยผ่าน phosphoketolase pathway ได้แก่ แบคทีเรียในสกุล *Lauconostoc* และ *Lactobacillus* บางชนิด เช่น *Lb. plantarum*, *Lb. casei* และ *Lb. brevis*



ภาพที่ 2.2 วิธีการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดแลคติกแบบ Heterofermentation โดยแบคทีเรียกรดแลคติก

ที่มา : Axelsson (1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศัพัตม์ รัชษ์เฝ้า (2539) รายงานว่าแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถสร้างกลิ่น และ ลักษณะอาหารที่ดีโดย *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* และ *Pediococcus* มีความสามารถในการใช้น้ำตาล หรือสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรตและเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติก กรดแลคติกที่ผลิตขึ้นเป็นผลิตภัณฑ์หลักที่เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกสร้างขึ้นโดยสามารถสร้างขึ้นในปริมาณมาก และปล่อยออกนอกเซลล์ นอกจากผลิตกรดแลคติกแล้วยังสามารถผลิตสารอื่นขึ้นมาได้แต่ผลิตได้ในปริมาณน้อย เช่น กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) แบคทีเรียโอซิน (bacteriocin) ไดอะซีทิล (diacetyl) Muyanja *et al.* (2003) กล่าวว่า แบคทีเรียโอซินเป็นสารโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียหลายชนิดรวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร โมเลกุลของแบคทีเรียโอซินประกอบด้วย กรดอะมิโนหลายร้อยตัวต่อกันแบบ linear chain เนื่องจากไม่มีพันธะไฮโดรเจนและ disulphide bridges (-s-s-) สารแบคทีเรียโอซินที่สร้างจากเชื้อต่างชนิดกันจะมีโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน และสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้แตกต่างกัน แบคทีเรียกรดแลคติกมีความสามารถในการผลิตแบคทีเรียโอซินซึ่งเป็นสารประกอบโปรตีนขนาดใหญ่ที่มีโครงสร้างเป็นพวกโพลีเปปไทด์ มีประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์บางสายพันธุ์ แบคทีเรียโอซินที่ผลิตขึ้นมาได้แก่ nisin, pediocin และ lactocin เป็นต้น ซึ่ง nisin เป็นแบคทีเรียโอซินตัวแรกที่ค้นพบ และได้ผ่านการรับรองแล้วว่าเป็นสารที่มีความปลอดภัยต่อมนุษย์ และสามารถใช้เติมลงในผลิตภัณฑ์อาหารได้ โดยทั่วไปกลไกของแบคทีเรียโอซินในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยจะเข้าไปทำปฏิกิริยาโดยเฉพาะกับสารหรือตัว receptor ที่อยู่รอบนอกเซลล์ Sahl *et al.* (1995) สำหรับกลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งในสภาพเซลล์ปกติและสปอร์ แบคทีเรียโอซินจะเข้าไปมีผลต่อผนังเซลล์ของแบคทีเรีย โดยจะถูกดูดซึมเข้าไปทางผนังเซลล์และมีผลทำให้เกิดการสูญเสียองค์ประกอบที่สำคัญจำพวก ATP ทำให้เซลล์ถูกย่อยสลายไป ส่งผลให้มีการเคลื่อนย้ายไอออนอย่างอิสระและสูญเสียแรงเคลื่อนของโปรตอน (Proton motive force; PMF) จึงทำให้ความต่างศักย์ลดลงและไม่มีการสร้างพลังงานเกิดขึ้น ดังนั้นเมื่อเซลล์ไม่สามารถนำสารอาหารขนาดใหญ่เข้าสู่เซลล์ได้แต่น้ำสามารถไหลเข้าพร้อมกับการไหลออกของสารโมเลกุลขนาดเล็ก จึงทำให้เซลล์แตกเนื่องจากแรงดันออสโมติก

2.4.4 กลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่อาจพบในชาลามี

2.4.4.1 *Salmonella* spp.

Salmonella spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ ชอบอุณหภูมิปานกลาง ที่ 37 องศาเซลเซียส จะเป็นอุณหภูมิเหมาะสมเชื้อ *Salmonella* spp. สามารถเจริญแข่งกับแบคทีเรียอื่นๆ ได้ดี เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่ติดต่อผ่านการรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเท่านั้น ส่วนใหญ่จะพบในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ต่างๆ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อไก่ เนื้อหมู และเนื้อวัว เป็นต้น และผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง โดยการปนเปื้อนมาจากอากาศ เครื่องมือและอุปกรณ์การผลิต (สุมนฉา วัฒนสินธุ์, 2545) Emberland *et al.* (2006) รายงานเกี่ยวกับผู้ป่วยที่มีอาการอาหารเป็นพิษเนื่องจากการติดเชื้อ *Salmonella* Kedougou โดยทางสถาบันสาธารณสุขของประเทศนอร์เวย์ ได้ทำการตรวจสอบและบันทึกข้อมูลในผู้ป่วยเพศชายที่อายุระหว่าง 50 - 54 ปี ที่มีอาการป่วยอาหารเป็นพิษ หลังจากทำการตรวจอุจจาระของผู้ป่วยพบเชื้อ *Salmonella* จากการสอบถามผู้ป่วยได้พบสาเหตุเกิดจากการบริโภคซาลามิ จึงนำตัวอย่างซาลามิจากห้องบ่มมาทำการตรวจแยกเชื้อ พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* Kedougou

Messier *et al.* (1989) ได้ศึกษาการใช้ระดับความเข้มข้นของเกลือที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ Genoa salami ที่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อ *S. Typhi* และ *S. aureus* เนื่องจาก Genoa salami ทำจากเนื้อหมูสด อาศัยการบ่ม ความเข้มข้นของเกลือ ค่า pH และค่า a_w เป็นตัวควบคุมความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์ การทดลองจะใช้ระดับความเข้มข้นของเกลือ 3 ระดับคือ 2, 2.75 และ 3.3 เปอร์เซ็นต์ โดยการเติมเชื้อ *S. Typhi* ATCC #14028 และ *S. aureus* ATCC #25923 ลงใน Genoa salami หลังจากนั้นจะตรวจในวันที่ 1, 4, 11, 18, 25, 32, 40 และ 74 ของการบ่ม พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของเกลือทั้ง 3 ระดับในวันที่ 1 ยังสามารถพบ *S. Typhi* หลังจากวันที่ 11 ของการบ่ม ผลการตรวจ *S. Typhi* เป็นลบ ส่วน *S. aureus* ในวันที่ 1 ของการบ่ม ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นของเกลือ พบว่า *Staph. aureus* สามารถมีชีวิตรอดได้ประมาณ 50 - 70 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณเชื้อที่เติมลงไป ส่วนในวันที่ 4 - 74 ของการบ่มพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 2.75 และ 3.3 เปอร์เซ็นต์ จะพบเชื้ออยู่ในระดับที่ต่ำกว่า ระดับ 2.0 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

2.4.4.2 *Escherichia coli*

สุมนฉา วัฒนสินธุ์ (2545) กล่าวว่า *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น แยกได้ครั้งแรกในอุจจาระเด็กที่ป่วยด้วยโรคท้องร่วงในปี ค.ศ. 1885 ผู้ค้นพบเป็น นักจุลชีววิทยาชาวเยอรมัน กล่าวว่า ได้มีการจำแนกชนิดของเชื้อ *E. coli* ออกเป็น 5 ชนิด คือ EPEC, EIEC, ETEC, EHEC และ EAEC ซึ่งสายพันธุ์ EHEC เป็นสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคในมนุษย์สร้าง Vorotoxin 2 ชนิดคือ VT1 และ VT2 เป็นสาเหตุของโรค haemolytic uraemic และโรคเลือดออกในลำไส้ใหญ่ Rogeric *et al.* (2001) พบตัวอย่างของ *E. coli* 0157: H7 เป็นแบคทีเรียที่พบในลำไส้ จึงพบบ่อยในอุจจาระของคนและสัตว์ ด้วยเหตุนี้ จึงใช้แบคทีเรียนี้เป็น

ดัชนีถึงการปนเปื้อนอุจจาระในน้ำและอาหาร ต่อมา *E. coli* ได้รับการจัดให้เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ

Williams *et al.* (2000) ได้พบการระบาดของเชื้อ *E. coli* O157: H7 ในผู้ป่วยที่บริโภคน้ำ ซาลามิ Genoa โดยพบการระบาดในช่วงฤดูใบไม้ผลิ ที่ทางตอนใต้ของเมือง Ontario ประเทศ Canada และส่งเจ้าหน้าที่สาธารณสุขเข้าตรวจสอบผู้ป่วย 25 คน จากการสอบถามข้อมูลอาหารที่ผู้ป่วยกินเข้าไป พบว่ามาจากกรบริโภคน้ำ ซาลามิ Genoa จึงส่งตัวอย่างอุจจาระของผู้ป่วยไปยังห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจสอบ พบเชื้อ *E. coli* O157: H7 ซึ่งทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษ และมีอาการผิดปกติทางเม็ดเลือด (Hemolytic) และได้ทำการเก็บตัวอย่างซาลามิ Genoa จากผู้ผลิต 13 แห่ง จำนวน 39 ตัวอย่าง พบมีการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* O157: H7 จำนวน 3 ใน 7 ตัวอย่าง พบเชื้อมาจากแหล่งผลิตที่เดียวกัน และผลิตในช่วงกลางเดือนกุมภาพันธ์ ปี 1998 เนื่องจากผลิตภัณฑ์ดังกล่าวผลิตจากเนื้อหมู หรือเนื้อวัวดิบที่มีการปนเปื้อนเชื้อดังกล่าว เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค ผู้ผลิตผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้จึงต้องผลิตซาลามิให้ได้ตามมาตรฐาน เช่น มีค่า pH ต่ำ ค่า a_w ต่ำ และมีความเค็มสูง ซึ่งสภาวะดังกล่าวในผลิตภัณฑ์ ทำให้เชื้อ *E. coli* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้

2.4.4.3 *Listeria monocytogenes*

Listeria spp. เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ และพบได้ทุกที่เนื่องจากสามารถปรับตัวตามสภาวะแวดล้อมได้ดี แบ่งออกเป็น 6 สปีชีส์ คือ *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* และ *L. welshimeri* (Pesavento *et al.* 2010) โดย *L. monocytogenes* เป็นสปีชีส์หลักที่ก่อโรค Listeriosis ในคน พบทั่วไปตามสภาพแวดล้อม และอาหาร ซึ่งสามารถพบได้ในเนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ ผลิตภัณฑ์นม และผัก ซึ่งเชื่อดังกล่าวก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่รุนแรงนอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *L. monocytogenes* สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ในอาหารที่เก็บในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส และยังสามารถมีชีวิตอยู่ได้ในสภาวะแช่แข็ง สหภาพยุโรปซึ่งเป็นหนึ่งในประเทศผู้นำเข้าสินค้าการเกษตรรายใหญ่ของโลกได้จัดทำข้อกำหนดด้านจุลชีววิทยา (Commission regulation (EC) No 2073/2005) โดยอาหารพร้อมบริโภคต้องไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* ซึ่งสอดคล้องกับเกณฑ์ด้านจุลชีววิทยาของสินค้าปศุสัตว์เพื่อการส่งออกของกรมปศุสัตว์ ปี 2551 ที่ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ต้องตรวจไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* (ฉฉฉฉ ฉฉฉฉ และ วงศ์วัณู จิตนุพงศ์. 2552)

Fatima-Borges *et al.* (1999) ได้ตรวจหาเชื้อ *L. monocytogenes* ในซาลามิ โดยทำการศึกษาจาก 81 ตัวอย่าง จากซาลามิ 4 ชนิด (Friolan Salami, Hamburguese Salami, Italian Salami และ Milanese Salami) ซึ่งจากตลาด Rio de Janeiro จากการตรวจสอบพบ *L. monocytogenes* 13.3 เปอร์เซ็นต์ ใน Italian Salami ในขณะที่พบ *L. innocua* 6.5 เปอร์เซ็นต์ ใน Italian Salami และ 16.6 เปอร์เซ็นต์ ใน Milanese Salami การเกิดขึ้นของเชื้อ *L. monocytogenes* ในซาลามิพบว่า 5-23 เปอร์เซ็นต์ เกิดจากอุณหภูมิและการหมักที่มีความแปรปรวน จึงทำให้คุณลักษณะในซาลามิไม่เป็นไปตามเงื่อนไข ที่ควรมีค่า pH สุกทำยระหว่าง 4.8-5.2 และค่า a_w เท่ากับ 0.85-0.90 ในกระบวนการหมักยังสามารถเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่เรียกว่าเกลือเสริม ซึ่งมีส่วนทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณสมบัติที่ไม่เหมาะสมในการอยู่รอดของเชื้อ *L. monocytogenes* สามารถลดการเสี่ยงของผู้บริโภคด้วย

บุษกร อุดรชาติ (2552) กล่าวว่าปัจจัยภายในเนื้ออาหารที่มีผลต่อการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (intrinsic factor) ได้แก่ ค่า pH ปริมาณความชื้น (moisture content) ค่าออกซิเดชันรีดักชัน (oxidation reduction potential ; Eh) สารอาหารที่มีในอาหาร (nutrient content) องค์ประกอบของสารต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่มีในอาหาร (antimicrobial constituents) และโครงสร้างทางชีวภาพของอาหาร (biological structure) ปัจจัยแต่ละชนิดดังกล่าวมีอิทธิพลต่อการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ดังนี้

1) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (ค่า pH) เป็นที่ทราบกันดีว่าเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่เติบโตได้ดีที่สุด ที่ค่า pH ประมาณ 6.6-7.5 โดยเฉพาะแบคทีเรียก่อโรคนั้นจะเติบโตได้ดี และกลุ่มที่เติบโตได้ที่ค่า pH ต่ำกว่า 4.0 เช่น กลุ่มของเชื้อราและยีสต์ ดังนั้นระดับความเป็นกรด-ด่างจึงมีความสำคัญต่อการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

2) ปริมาณความชื้น (moisture content) การลดนอมอาหารโดยการทำให้แห้งเป็นผลจากการเอาน้ำที่มีอยู่ในอาหารออกไป (removal) หรือใส่สารลงไปเพื่อยึดกับน้ำ (binding of moisture) ทำให้น้ำในอาหารมีไม่มากพอที่เชื้อจุลินทรีย์จะเติบโตได้

3) ค่า Water activity หรือ Available water (a_w) ความต้องการน้ำในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นสัดส่วนของความดันไอของอาหารกับความดันไอของน้ำบริสุทธิ์ที่อยู่ในอุณหภูมิเดียวกัน ซึ่งค่า a_w ของอาหารสด ส่วนใหญ่มีค่าสูงกว่า 0.99 โดยทั่วไปแบคทีเรียต้องการค่า a_w ในการเจริญเติบโตสูงกว่าเชื้อรา แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย

ไม่สามารถเติบโตในที่มีค่า a_w ต่ำกว่า 0.91 ในขณะที่แบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *S. aureus* สามารถเติบโตได้ในที่มี a_w 0.86

2.5 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับชา

กล่าวถึงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของชาไว้ว่า ชาเป็นพืชยืนต้น ใบเลี้ยงคู่อยู่ใน Order Guttiferales วงศ์ Theaceae หรือ Ternstoremiaceae พืชวงศ์นี้มีประมาณ 20 สกุล ประกอบด้วยพืชชนิดต่าง ๆ ถึง 200 ชนิด ลักษณะเป็นใบเดี่ยว ใบเรียงตัวสลับกัน 1 ข้อ มีใบ 1 ใบ แผ่นใบหนา มีสีเขียวสด เส้นใบเป็นแบบ Pinnately-nerved ไม่มีหูใบ ดอกออกเป็นดอกเดี่ยวตามตำแหน่งของดอกเกิดบริเวณซอกใบเป็นดอกสมบูรณ์เพศ พืชในวงศ์นี้ มีสกุล (genus) ที่สำคัญคือพืชในสกุล *Camellia* เป็นพืชไม่ผลัดใบ มีลักษณะต้นเป็นไม้พุ่ม และเป็นต้น พืชในสกุล *Camellia* มีอยู่ 12 หมวด 45 ชนิด กระจายอยู่ในเขตร้อน และเขตอบอุ่นของทวีปเอเชีย ชาชนิดที่ปลูกเป็นการค้ามีชื่อสามัญว่า tea ชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Camellia sinensis* (ยูติกา สร้อยระยะยา. 2551)

ชา (*Camellia sinensis*) ได้รับความนิยมนบริโภคไปทั่วโลก ซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกาย (Martínez *et al.* 2006) มีคุณสมบัติเป็นยาขับยั้งการเกิดมะเร็ง โรคลมแดดเลือดหัวใจ และต้านไวรัส (Dalluge and Nelson 2000) ชาเขียวยังมีคุณสมบัติเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรียและต้านอนุมูลอิสระ (Bozkurt. 2006) ชาเขียวมีองค์ประกอบทางเคมีมากมายซึ่งสารที่สำคัญได้แก่ สารกลุ่มฟอลิฟินอล เช่น Catechin, Gallates catechin ซึ่งสาร Catechin มีคุณสมบัติเป็นสารที่มีศักยภาพต้านอนุมูลอิสระ (Taylor *et al.* 2005)

2.5.1 ประเภทของชา

ชาที่อยู่ด้วยกันสามประเภทใหญ่ คือชาเขียว ชาอู่หลง และชาดำ ซึ่งแต่ละชนิดจะแตกต่างกันกระบวนการผลิต อาจแบ่งประเภทของชาได้ดังนี้

1. ชาเขียวหรือชาไม่หมัก เป็นชาที่ไม่มีขั้นตอนการหมักใบชาสครระหว่างกระบวนการผลิต การยับยั้งเอนไซม์ในใบชาสครทำโดยการคั่วด้วยกระทะร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 300-350 องศาเซลเซียส หรือนึ่งชาด้วยไอน้ำอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเกิด enzymaticoxidation ของ catechins แล้วนำไปนวดอบไอร้อนเพื่อลดปริมาณความชื้นในใบลง ต่อจากนั้นนำมานวดในอุณหภูมิห้องปกติเพื่อทำให้เซลล์แตก และ/หรือนวดด้วยความร้อนอีกครั้งเพื่อทำให้ใบชาม้วนตัวสวยงาม แล้วนำไปอบแห้งให้ความชื้นในใบชาลดเหลือ 4 เปอร์เซ็นต์ สีของน้ำชาประเภทนี้จะมีสีเขียวถึงเขียวอมเหลืองเนื่องจากยังมีคลอโรฟิลล์อยู่

2. ชาอู่หลง หรือ ชากึ่งหมัก เป็นชาที่มีการหมักชาสครในระหว่างกระบวนการผลิตเพียงบางส่วน โดยนำยอดชามาผึ่งแดด 20-40 นาที ทำให้อุณหภูมิในยอดชาสูงขึ้น เกิดกลิ่นหอม แล้วนำเข้าไอน้ำในร่มอีกครั้ง พร้อมเขย่ากระตุ่นยอดชาให้ต้นตัวเร่งการหมัก ความแก่อ่อนของการ

หมักขึ้นกับระยะเวลาการผึ่งและเขย่ากระตุ้น ทัวไปหมักที่ 10-80 เปอร์เซ็นต์ ซาอุหลงที่ผ่านการหมักไม่เกิน 20 เปอร์เซ็นต์ จะถือว่าเป็นสารสำคัญที่เป็นประโยชน์เทียบเคียงชาเขียว ชาประเภทนี้รสชาติน้ำชาเข้มข้นและมีกลิ่นหอม น้ำชาที่มีสีเหลืองอมเขียว น้ำตาลอมเขียว น้ำตาลอมเหลือง น้ำตาลส้ม ขึ้นอยู่กับวิธีการผลิต

3. ชาดำ หรือชาแดง หรือชาหมัก เป็นชาที่เกิดกระบวนการหมักอย่างเต็มที่ (full fermented tea) โดยปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ของโพลีฟีนอล (polyphenol) โดยเอนไซม์ polyphenol oxidase เกิดเป็นสารอนุพันธ์ quinone เช่น theaflavins และ thearubigins ซึ่งแสดงลักษณะรสชาติ กลิ่น และสีที่เฉพาะของชาดำ ชาชนิดนี้จะให้สีและรสชาติเข้มข้นที่สุด น้ำชาเป็นสีส้มหรือน้ำตาลแดง (ยูติกา สร้อยระย้า. 2551)

2.5.2 สารประกอบที่พบจากชาเขียว

Cabrera *et al.* (2006) ได้ศึกษาคุณสมบัติของชาเขียว พบว่ามีสารประกอบที่เป็นโปรตีนอยู่ 15-20 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีกรดอะมิโนอยู่ประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ซีอะนิน กรดกลูตามิก ทรีปโตเฟน ไกลซีน ซีรีน กรดแอสปาดิก ไทโรซีน วาลีน ลิวซีน ทรีโอนีน อาร์จินีน ไลซีน ส่วนที่เป็นคาร์โบไฮเดรตประมาณ 5-7 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้งซึ่งประกอบด้วย cellulose, pectin, glucose, fructose และ sucrose ในส่วนที่เป็นกรดไขมันก็จะพบ linoleic และ linolenic ในปริมาณที่เท่ากัน ส่วนสีเหลืองของใบชายังพบว่ามี สาร คาเฟอีน และทีออฟิลลีน (theophylline) วิตามินที่พบมากในใบชาเขียวได้แก่ วิตามินบี อี และซี สารอื่นที่พบ เช่น กลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ มีสารระเหยกลุ่ม แอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์ อีเทอร์ และกลุ่มไฮโดรคาร์บอน และองค์ประกอบในส่วนที่เป็นแร่ธาตุคิดเป็น 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง พบแร่ธาตุที่สำคัญได้แก่ Ca, Mg, Cr, Mn, Cu, Zn, Mo, Se, Na, P, Co, Sr, Ni, K และ F ในส่วนของใบอ่อนชาเขียวจะมีสารพอลิฟีนอล (Polyphenol) ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงเคมีธรรมชาติที่สามารถพบได้ในใบชา ชาเขียวเป็นชาที่มีสารพอลิฟีนอลมากกว่าชาชนิดอื่นๆ เนื่องจากชาเขียวไม่ผ่านกระบวนการหมัก จึงทำให้เกิดการสูญเสียสารพอลิฟีนอลน้อยกว่าชาชนิดอื่นที่ผ่านกระบวนการหมัก สารพอลิฟีนอลหลักที่พบในชาเขียวคือ คาเทชิน (Catechins) ซึ่งเป็นสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) ชนิดพิเศษ ที่พบในชาโดยเฉพาะในชาเขียว คาเทชินเหล่านี้สามารถพบได้ในทุกส่วนของต้นชา แต่จะพบในปริมาณมากตรงส่วนยอดของใบชาวมไปถึงใบที่สองและที่สามถัดมาจากยอด ใบชาเขียวมีปริมาณคาเทชินประมาณ 30-40 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักใบชาสดแห้ง (Wheeler and Wheeler. 2004; Nihal *et al.* 2005)

2.6 คุณสมบัติของชาเขียว

2.6.1 ประโยชน์ที่ได้รับจากชาเขียวทางด้านสุขภาพ

Cabrera *et al.* (2006) กล่าวว่า ชาเขียวมีสารคาเทชิน (Catechins) มากกว่าชาอูหลง และชาดำ และพบว่าเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกายหลายด้าน เช่น

1) ด้านสาเหตุการเกิดมะเร็ง ซึ่งทำการทดลองในสัตว์ทดลองพบว่าชาเขียวมีฤทธิ์ยับยั้ง การเกิดมะเร็งที่ผิวหนัง ปอด ช่องปาก หลอดอาหาร ท้อง ตับ ไต และต่อมลูกหมาก ยังพบว่าชาเขียวยังช่วยให้เซลล์มะเร็งลดลงด้วย จากการศึกษพบว่าสารคาเทชินในใบชาเขียวช่วยลดการแพร่กระจาย และลดการเจริญของเซลล์มะเร็งเต้านมในหนู และยังพบว่าผู้หญิงที่ดื่มเครื่องดื่มที่มีชาเขียว มีความเสี่ยงที่จะเป็นมะเร็งเต้านมลดลง เมื่อเทียบกับผู้หญิงที่ไม่ดื่มเครื่องดื่มชาเขียวอย่างสม่ำเสมอ (เช่น น้อยกว่าเดือนละ 1 ครั้ง) แล้วพบว่ายิ่งดื่มชาเขียวมากขึ้นก็ยิ่งลดความเสี่ยงของโรคเพิ่มขึ้นด้วย

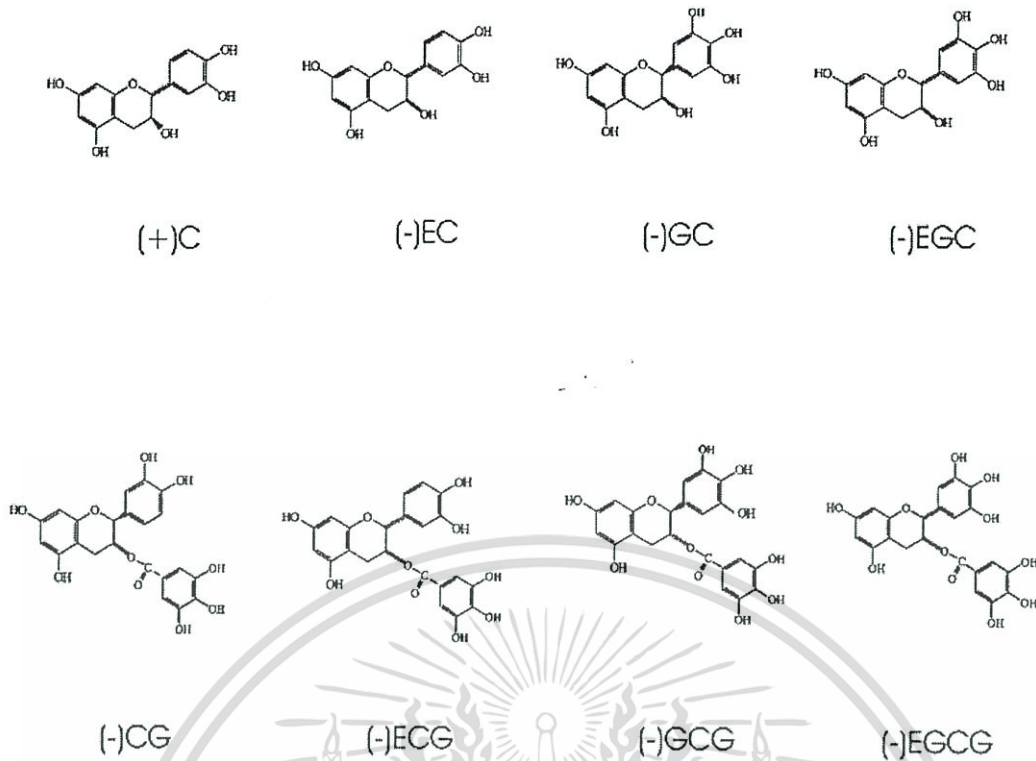
2) ด้านสุขภาพช่องปาก พบว่าการบริโภคชาเขียวช่วยลดโรคฟันผุ ซึ่งพบว่าทั้งสีเขียวและสีดําจากชาเขียวเป็นแหล่งฟลูออไรด์ เนื่องจากสารสกัดจากชาเขียวสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก เช่น เชื้อ *Escherichia coli*, *Streptococcus salivarius* และ *Streptococcus mutans* ได้ด้วย

3) ด้านการควบคุมน้ำหนักในหนูทดลองพบว่าสารสกัดจากชาเขียวที่มีความเข้มข้นของสารคาเทชิน 25 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากชาเขียวมีคุณสมบัติไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยไขมันอย่าง ไลเปส จึงทำให้ไม่สามารถดูดซึมไขมันที่ลำไส้เล็กได้ นอกจากนี้ยังพบว่า สารคาเฟอีน และสารคาเทชิน มีส่วนช่วยในกระบวนการเผาไหม้ไขมัน

2.6.2 สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากชาเขียว

Dalluge and Nelson (2000) รายงานว่า สารคาเทชินเป็นสารสำคัญที่พบในชาเขียว จัดอยู่ในกลุ่มสารพอลิฟีนอล คาเทชินที่พบในชาเขียว มี 8 อนุพันธุ์ได้แก่

1. คาเทชิน (Catechin, C)
2. อีพิกคาเทชิน (Epicatechins, EC)
3. แกลโลคาเทชิน (Gallocatechin, GC)
4. อีพิกแกลโลคาเทชิน (Epigallocatechin, EGC)
5. คาเทชินแกลเลต (Catechin gallate, CG)
6. แกลโลคาเทชินแกลเลต (Gallocatechin gallate, GCG)
7. อีพิกคาเทชินแกลเลต (Epicatechin gallate, ECG)
8. อีพิกแกลโลคาเทชินแกลเลต (Epigallocatechin gallate, EGCG)



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของคาเทชินทั้ง 8 อนุพันธ์

ที่มา : Dalluge and Nelson. (2000)

คาเทชิน (catechins) เป็นสารพอลิฟีนอลที่สกัดได้จากชาเขียวมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ในเนื้อสัตว์ที่มีปริมาณไขมันสูงมักพบการเกิดออกซิไดซ์ของไขมัน โดยปริมาณไขมันของเนื้อสัตว์ขึ้นอยู่กับอิทธิพลหลายประการ เช่น ชนิดของสัตว์ เพศ และอายุสัตว์ ปัจจุบันมีการศึกษาถึงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของคาเทชินในเนื้อสัตว์ เช่นเนื้อโค เนื้อสุกร และเนื้อปลา รวมถึงในน้ำมันและผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อเป็นส่วนประกอบ ตัวอย่างการวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าคาเทชินมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ (antioxidant) (Higdon and Frei. 2003)

Perumalla and Hettiarachchy (2011) กล่าวว่าชาเขียวได้รับความสนใจมากขึ้นในปีที่ผ่านมา เนื่องจากมีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีคุณสมบัติต้านจุลชีพ มะเร็ง และต้านการอักเสบ ชาเขียวจึงเป็นพืชที่มีศักยภาพในการนำมาเป็นสารเติมแต่งในอาหารที่มีประสิทธิภาพ สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรค และมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่เป็นประโยชน์แก่ผู้บริโภค ในการลดการใช้ยาปฏิชีวนะ หรือสารเคมี โดยหันมาใช้สารจากธรรมชาติแทน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.3 การใช้สารสกัดชาเขียวในเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์

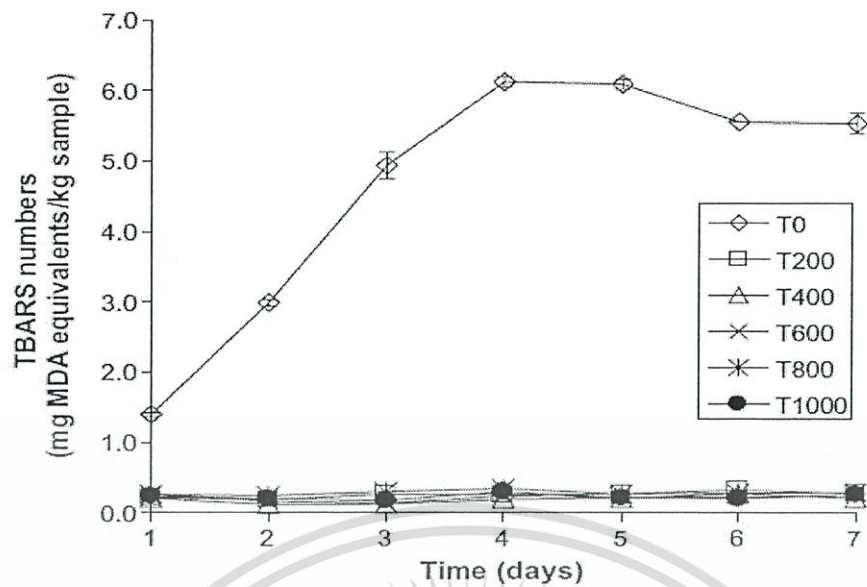
ปัจจุบันมีงานวิจัยที่ทำการทดสอบคุณสมบัติของสารคาเทชิน อาทิเช่น งานวิจัยของ He and Shahidi (1997) ทำการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเนื้อปลา โดยใช้สารคาเทชินที่สกัดจากชาเขียว ซึ่งได้แก่ อีพิกาทะชิน (EC) อีพิกัลโลคาเทชิน (EGC) อีพิกาทะชินแกลเลต (ECG) และอีพิกัลโลคาเทชินแกลเลต (EGCG) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ เปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่นิยมใช้ในอาหาร คือ α -tocopherol, Butylated hydroxyl toluene (BHT), Butylated hydroxyanisole (BHA) และ *Tert*-butylhydroquinone (TBHQ) โดยการนำเนื้อปลาทู 80 กรัม มาปั่นผสมกับน้ำกลั่น จากนั้นเติมสารต้านอนุมูลอิสระ 2 มิลลิลิตร ที่มีเอทานอล 100 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำเนื้อปลาที่ได้ไปทำให้สุกที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส แล้วนำไปลดอุณหภูมิลงในอ่างน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเนื้อไปบรรจุลงถุงพลาสติก นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำเนื้อปลามาวิเคราะห์ด้วยการทำ 2-Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) พบว่า สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ อีพิกัลโลคาเทชินแกลเลต (EGCG) มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดอนุมูลอิสระในเนื้อปลาได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มตัวอย่าง α -tocopherol, BHT, BHA และ TBHQ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bozkurt (2006) ได้การศึกษาดังการใช้ประโยชน์จากสารสกัดจากธรรมชาติคือสารสกัดชาเขียวและน้ำมันไทม์ และสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากสารสังเคราะห์คือ BHT (Butylated hydroxy anisole) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อการใช้ประโยชน์จากสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากสารสกัดชาเขียวและไทม์ในการผลิต Sucuk ที่มีผลต่อความปลอดภัย (ค่าไปโอจินิกเอมีน และ TBARS) และคุณภาพ (ค่า pH สี และความพอใจของผู้บริโภค) ของ Sucuk (ไส้กรอกหมักแห้งของตุรกี) ในช่วงการบ่มและเปรียบเทียบผลของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติกับ BHT เพื่อเป็นแนวทางในการใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติเพิ่มมากขึ้น และลดการใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากสารสังเคราะห์

ในการเตรียมตัวอย่าง Sucuk ทำได้จากการผสมเนื้อแกะกับเนื้อวัวและส่วนผสมต่างๆ ให้เข้ากันตามสูตร อัดใส่ในไส้คอลลาเจน อันละประมาณ 100 กรัม แบ่งการทดลองเป็น 5 กลุ่ม ในแต่ละกลุ่มจะใส่สารต่างชนิดกัน คือ กลุ่ม S1 เป็นกลุ่มควบคุม ไม่ใส่สารต้านอนุมูลอิสระใดๆ กลุ่ม S2 เป็นกลุ่มที่ใส่สารสกัดชาเขียว 300 ppm กลุ่ม S3 เป็นกลุ่มที่ใส่สาร BHT กลุ่ม S4 ใส่น้ำมันไทม์ 300 ppm กลุ่ม S5 ใส่สารสกัดชาเขียว 150 ppm ผสมกับ น้ำมันไทม์ 150 ppm จากนั้นนำไปบ่มเป็นเวลา 15 วันทุกกลุ่ม แต่ละกลุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลดังกล่าวข้างต้นในวันที่ 2 , 4 , 6 , 8 , 10 , 13 และ 15 ซึ่งผลจากการทดลองพบว่า ค่า TBARS จากตัวอย่างทดสอบที่เสริมสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติลดลงมากกว่า กลุ่มที่เสริมสาร BHT ส่วนทางด้านคุณภาพพบว่า ค่าสี L^* , a^* ค่า pH และการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยรวมแล้วไม่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tang *et al.* (2002) ศึกษาถึงประสิทธิภาพการยับยั้งการออกซิไดซ์ของไขมันในเนื้อไก่ส่วนอกไก่ด้วยสารคาเทชิน โดยแบ่งไก่เนื้อออกเป็น 6 กลุ่ม เพื่อเลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมสารคาเทชินลงในอาหาร ซึ่งแบ่งเป็น 6 สูตรดังนี้ กลุ่มควบคุม (C) กลุ่มที่เสริมคาเทชินความเข้มข้น 50 (TC50), 100 (TC100), 200 (TC200), 300 (TC300) มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และกลุ่มที่เสริมด้วยสาร α -tocopheryl acetate 200 (VEA200) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง นำไก่เข้าเชือดและแยกชิ้นส่วน โดยนำเนื้อส่วนหน้าอกที่ได้เก็บใส่ถุงพลาสติกแบบสุญญากาศ นำไปเก็บรักษาแบบแช่แข็ง (-20 องศาเซลเซียส) นาน 12 เดือน เมื่อครบกำหนดจึงนำเนื้อหน้าอกออกมาวิเคราะห์ค่า TBARS พบว่ากลุ่มที่เสริมคาเทชินที่ระดับความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร สามารถยับยั้งการออกซิไดซ์ของไขมันได้ดีที่สุด เนื่องจากค่า TBARS ต่ำที่สุด ส่วนกลุ่มเสริมด้วยสาร α -tocopheryl acetate 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นกลุ่มที่มีค่า TBARS ต่ำเป็นอันดับที่สอง ตามด้วย กลุ่ม 200 (TC200), 100 (TC100), 50 (TC50) และ กลุ่มควบคุมมีค่า TBARS สูงที่สุด

Tang *et al.* (2006) ศึกษาความสามารถของคาเทชินในการยับยั้งการเกิดออกซิไดซ์ของไขมันในเนื้อโคบด โดยทำการผสมสารคาเทชินลงในเนื้อสันนอกโคที่ผ่านการบดแล้วที่ระดับความเข้มข้น 0, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของเนื้อ จากนั้นเก็บรักษาเนื้อโคบดแบบแช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส โดยการบรรจุแบบมีอากาศ และแบบสุญญากาศ พบว่าการเติมคาเทชินที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถยับยั้งการเกิดออกซิไดซ์ของไขมันในเนื้อโคได้ โดยมีค่า TBARS 0.5 มิลลิกรัมมาโลนอลดีไฮด์ต่อเนื้อ 1 กิโลกรัม ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาทั้งการบรรจุแบบมีอากาศ และแบบสุญญากาศ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าเนื้อโคที่ไม่เติมคาเทชิน โดยในวันที่ 0 จะมีค่า TBARS 1.5 มิลลิกรัมมาโลนอลดีไฮด์ต่อเนื้อ 1 กิโลกรัม และในวันที่ 7 จะมีค่า TBARS 5.5 มิลลิกรัมมาโลนอลดีไฮด์ ต่อเนื้อ 1 กิโลกรัม นอกจากนี้ยังไม่พบความแตกต่างกันทางนัยสำคัญทางสถิติของค่า TBARS ที่ระดับความเข้มข้น 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของเนื้อในการบรรจุแบบมีอากาศ และแบบสุญญากาศ



ภาพที่ 2.4 แสดงค่า TBARS ที่ระดับของสารคาเทชิน ที่ 0 (T0), 200 (T200), 400 (T400), 600 (600), 800 (T800) และ 1000 (T1000) mg/kg

ที่มา : Tang *et al.* (2006)

Martínez *et al.* (2006) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบอิทธิพลการใช้สารต้านอนุมูลอิสระ ที่ได้จากรอสแมรี่ (rosemary) ชาเขียว (green tea) ชาฟูเอ้อ (pu-erh tea) โบรราจ (borage) กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) ในไส้กรอกหมูสด โดยจะทำการวัดค่าการออกซิเดชันในไส้กรอกหมูสด ทุกๆวันที่ 4 ของการเก็บรักษา ขั้นตอนการเตรียมไส้กรอกหมูสด ใช้ส่วนของเนื้อแดงที่มีค่า pH อยู่ระหว่าง 5.5-5.7 หลังจากฆ่าประมาณ 48 ชั่วโมง โดยการทดลองนี้จะแบ่งไส้กรอกหมูสดออกเป็น 8 กลุ่ม ดังนี้ 1.) กลุ่มที่ไม่มีสารต้านอนุมูลอิสระ 2.) กลุ่มเสริมชาเขียวผง 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 3.) กลุ่มเสริมชาเขียวผง 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 4.) กลุ่มเสริมชาเขียวผง 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 5.) กลุ่มเสริมชาฟูเอ้อผง 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 6.) กลุ่มเสริมโบรราจ 1 กรัมต่อกิโลกรัม 7.) เสริมโบรราจ 5 กรัมต่อกิโลกรัม และ 8.) เสริมโบรราจ 10 กรัมต่อกิโลกรัม หลังจากนั้นตีเนื้อผสมกับเครื่องปรุง และสารต้านอนุมูลอิสระเสริมตามปริมาณที่กำหนด แล้วนำไปอัดใส่ไส้บรรจุคลอลาเจน แล้วนำไปบรรจุในถุงที่มีการเติมออกซิเจน 4 ส่วน และ คาร์บอนไดออกไซด์ 1 ส่วน (V/V) นำไปเก็บที่มืด ที่มีอุณหภูมิ 2 ± 1 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์ค่าการออกซิเดชัน ของไส้กรอกหมูสด ในวันที่ 0, 4, 8, 12, 16 และ 20 ของการเก็บ ผลการทดลองพบว่า ชาดำผงมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด ตามด้วยชาเขียว และกากโบรราจ

นิพนธ์ ลิ้มสงวน (2547) รายงานว่ากลไกของสารต้านอนุมูลอิสระที่เติมลงไปนั้นจะ ทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นแบบลูกโซ่หยุดชะงักไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อสารต้านอนุมูลอิสระที่เติมลงไปทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน จะเหลืออนุมูลของสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่าอนุมูลอิสระมาก และจะเปลี่ยนเป็นสารประกอบที่คงตัว จึงสามารถช่วยป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในน้ำมันหรือไขมัน หรืออาหารที่มีน้ำมันและไขมันเป็นส่วนประกอบได้

นอกจากคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระแล้ว สารคาเทชินที่ได้จากสารสกัดชาเขียวยังมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดได้ด้วย ซึ่งก็มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารต้านเชื้อจุลินทรีย์

2.6.4 สารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากชาเขียว

คาเทชิน (Catechins) เป็นสารพอลิฟีนอลที่สกัดได้จากชาเขียว มีคุณสมบัติในการเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ความต้านทานต่อสารพอลิฟีนอลของแบคทีเรียแกรมลบนั้นมีมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก อาจเนื่องมาจากการมีผนังเซลล์ที่ต่างกัน (Negi *et al.*, 2003)

Ji-Sun and Yangha (2007) ศึกษาการต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคโดยใช้สารออกฤทธิ์ชีวภาพ จากโคอโคซาน อีพิกอลโลคาเทชินกอลเกต (Epigallocatechin gallate, EGCG) และกระเทียม เปรียบเทียบกับการใช้กรดอะซิติกที่มี 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.5, 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ใช้วิธีทดสอบด้วยวิธี หยอดสารทดสอบบนกระดาษ (paper disc method) โดยหยอดสารทดสอบบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงบนจานที่มีเชื้อ *E. coli* หรือ *S. Typhi* อยู่ปริมาณ 10^6 cfu/g ส่วนในกลุ่มที่ควบคุมจะหยดน้ำที่ผ่านความร้อนฆ่าเชื้อหยดลง 5 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษ เช่นกัน จากนั้นนำเข้าตู้บ่ม ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการวัดขนาดของเคลียโซน พบว่าสารที่สามารถต้านการเจริญเติบโตของ *E. coli* ได้สูงที่สุดคือ กรดอะซิติก ที่ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ขนาดของเคลียโซน 24.7 มิลลิเมตร ตามด้วย อีพิกอลโลคาเทชินกอลเกต (Epigallocatechin gallate, EGCG) ที่ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีขนาดของเคลียโซน 21 มิลลิเมตร สารโคอโคซานที่ระดับความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งได้สูงสุด มีขนาดของเคลียโซน 17 มิลลิเมตร ส่วนกระเทียมพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดเคลียโซนใหญ่ที่สุดคือ 11.7 มิลลิเมตร ในส่วนของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. Typhi* พบว่าสารที่ยับยั้งได้ดีที่สุดคือ อีพิกอลโลคาเทชินกอลเกต (Epigallocatechin gallate, EGCG) กรดอะซิติก โคอโคซาน และกระเทียม ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น สารโคอโคซานที่สามารถยับยั้งได้สูงสุดที่ระดับความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์

Yoda *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาถึงฤทธิ์ของ อีพิกอลโลคาเทชินกอลเกต (Epigallocatechin gallate, EGCG) ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus* sp. และแบคทีเรียแกรมลบ ประกอบด้วย *E. coli*, *Klebsiella Pneumoniae* และ *S. Typhimurium* พบว่าระดับความเข้มข้น 50

และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus* sp. ได้ และระดับความเข้มข้นที่มากกว่า 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ สารสกัดจากชาเขียว ได้แก่ Proanthocyanidins (Catechin), Epigallocatechin epicatechin และ Epigallocatechin gallate มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* K 12 (Amarowicz *et al.* 2000)

Ku *et al.* (2008) ที่ทำการทดลองนำสารสกัดชาเขียว และสารคาเทชินเคลือบที่กระดาศห่อขนมปัง เพื่อชะลดการเจริญเติบโตของยีสต์ รา ในขนมปัง โดยแบ่งขนมปังออกเป็น 3 กลุ่ม คือ 1.) กลุ่มควบคุม 2.) กลุ่มที่เคลือบกระดาศห่อขนมปังด้วยสารคาเทชิน 3.) กลุ่มที่เคลือบกระดาศห่อขนมปังด้วยสารสกัดชาเขียว และทำการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ทุกวันที่ 0, 1, 2 และ 3 ของการเก็บ พบว่าปริมาณของสารคาเทชินที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดชาเขียวที่ระดับ 2.83 และ 5.60 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 1, 2 และ 3 ของการตรวจเชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนยีสต์และราต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

Mbata *et al.* (2008) ศึกษาความสามารถของสารสกัดจากชาเขียวที่สกัดด้วยน้ำและสกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* และพบว่า สารสกัดชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อมากกว่าสารสกัดชาเขียวที่สกัดด้วยน้ำ โดยความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล คือ 0.26 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดชาเขียวที่สกัดด้วยน้ำ 0.68 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

นิพนธ์ ลิ้มสงวน (2547) ศึกษาความสามารถของคาเทชินที่สกัดได้จากชาเขียวของไทยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธีแพร่ผ่านกระดาศกลมที่ระดับความเข้มข้น 100, 200, 300, 400 และ 500 ไมโครกรัมต่อแผ่น พบว่าคาเทชินที่สกัดได้นั้นมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ และประสิทธิภาพในการยับยั้งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของคาเทชินที่ใช้ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของคาเทชิน ประสิทธิภาพในการยับยั้งก็เพิ่มมากขึ้นด้วย โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* มากกว่า *S. typhi* มากกว่า *P. fluorescens* มากกว่า *S. aureus* มากกว่า *S. faecalis* แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* ได้

2.6.5 กลไกการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากชาเขียว

Ikigai *et al.* (1993) ได้ทำการศึกษากลไกของการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดชาเขียว-Epigallocatechin gallate (EGCG) และ Epicatechin (EC) พบว่า EGCG ซึ่งมีผลฆ่าเชื้อที่แรง มีผลทำให้เกิดการรั่วไหลของ 5,6-carboxyfluorescein ออกจาก phosphatidylcholine liposomes (PC) แต่ EC ซึ่งมีผลฆ่าเชื้อที่อ่อน มีผลทำลายเมมเบรนเพียงเล็กน้อยเท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเติม phosphatidylserine และ diacetyl phosphate ลงไปในเมมเบรนของ liposome กับ PC สามารถป้องกันเมมเบรนจากการถูกทำลายโดย EGCG ได้ สำหรับ EGCG ยังมีผลให้ PC-liposomes เกาะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มแน่น และเกิด NPN - fluorescence quenching (ไม่พบใน EC) พบว่า หากมีไขมันซึ่งมีประจุลบ อยู่ด้วย ผลเหล่านี้จะลดลงอย่างมาก โดยสรุปคือ catechins แสดงผลฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ โดยมีผล ทำลายเมมเบรนของเชื้อแบคทีเรีย และการที่เชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมลบคือต่อคาเทชิน มากกว่าเชื้อ แบคทีเรียชนิดแกรมบวก เนื่องจากมี lipopolysaccharide ชนิดประจุลบอยู่ด้วย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 สารทดสอบ

สารสกัดชาเขียวในรูปแบบผงได้รับความอนุเคราะห์จาก ภาควิชาเกษตรชีววิทย คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยในสารสกัดชาเขียว 100 มิลลิกรัม จะมีสารคาเทชินอยู่ 12.94 มิลลิกรัม มีองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ ดังนี้

- 1) คาเทชิน (Catechin, C) 5.16153 มิลลิกรัม
- 2) อีพิกาทะชิน (Epicatechins, EC) 3.65128 มิลลิกรัม
- 3) อีพิกาทะชินแกลเลต (Epicatechin gallate, ECG) 2.31287 มิลลิกรัม
- 4) อีพิกัลโลคาเทชินแกลเลต (Epigallocatechin gallate, EGCG) 1.81673 มิลลิกรัม

3.2 วัตถุดิบที่ใช้ผลิตซาลามิ ดัดแปลงมาจาก Fischer (2008)

1. เนื้อพืบนอกโคพื้นเมือง (Bottom Round)	1	กิโลกรัม
2. เนื้อสีพืบนอก (Plate)	2.5	กิโลกรัม
3. ไขมันสันหลังสุกร (Back Fat)	1.5	กิโลกรัม
4. เกลือไนไตรท์ (0.5 % nitrite)	120	กรัม
5. เกลืออิริโทเบท	5	กรัม
6. กลูโคส	15	กรัม
7. Mixed spices (Finnski Salami)	55	กรัม
8. กล้าเชื้อจุลินทรีย์ (Almi, Germany)	2.5	กรัม

3.2.1 วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือในการผลิตซาลามิ

1. ไม้บรรจุเซลลูโลส (Meat loam 65 G, Futamura chemical Co., LTD, Japan)
2. เครื่องอัดไส้กรอก (Talsa #0542, model H26PA 380/50/3, EU)
3. เครื่องมัดไส้กรอก (Max Sealing Machine รุ่น HR – PSII, MAX Co., LTD, Japan)
4. ตู้บ่มซาลามิ Type KA 50 air- conditioned maturing cabinet (Sudtronic M. Schaa Co., LTD, Germany)
5. เครื่องสับผสม (Seydelmann K41Ras, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 อุปกรณ์ และเครื่องมือในการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ ทางเคมี และกายภาพ

1. ตู้เขี่ยเชื้อ (Dwyer instruments INC, U.S.A)
2. ตู้บ่มเพาะเชื้อ (WTB Binder, Germany)
3. ไมโครปิเปต (Finnpipette, Finland)
4. เครื่องตีบดตัวอย่าง (Bag Mixer, France)
5. ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot air oven: Memmert, Belgium)
6. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Fx-2000i, Japan)
7. เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง (Vortex mixer, Korea)
8. ไมโครเวฟ (Turbora, Korea)
9. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Hirayama, Japan)
10. ตู้แช่แข็ง -20 °C (Sanden, Thailand)
11. เครื่อง Homogenizer (Ultra tarrax, Germany)
12. เครื่องวัดอุณหภูมิ (Ebro, Germany)
13. เครื่องวัดสีของเนื้อ (Minolta Chromameter, Japan)
14. เครื่องวัดค่า pH ในเนื้อ (Mettler Toledo, China)
15. เครื่องวัดค่า water activity (Novasina, Switzerland)
16. เครื่องบรรจุสุญญากาศ (Ramon, Germany)
17. เครื่องกลั่น โปรตีน (Gerhardt, Germany)
18. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Shimadzu, Japan)

3.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. MRS broth (Merck, Germany)
2. Agar (Criterion, U.S.A)
3. Tryptic soy broth (Merck, Germany)
4. Agglutinating antiserum (S&A Reagents LAB, Thailand)
5. Triple sugar iron agar (Merck, Germany)
6. Tryptone (BIO BASIC INC, Canada)
7. Peptone (Merck, Germany)
8. Xylose lysine deoxycholate (XLD) agar (Merck, Germany)
9. Salmosyst broth base, SB (Merck, Germany)
10. Salmosyst selective supplement tablet, SBST (Merck, Germany)
11. Plate Count Agar (Merck, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. Simmon's Citrate Agar (Merck, Germany)
13. Baird – Parker's media with egg yolk telluite (Merck, Germany)
14. Salmonella-Shigella (SS) agar (Merck, Germany)
15. Salmosyst broth base (SB) (Merck, Germany)
16. Triple Sugar iron (TSI) agar slant (Merck, Germany)
17. Lysine indole motility (LIM) medium (Merck, Germany)

3.3.2 สารเคมี

1. 2 - Thiobarbituric acid (TBA) (Sigma, Germany)
2. 1,1,3,3 – Tetraethoxypropane (Sigma, Germany)
3. ButylatedHydroxytoluene (Fluka, Japan)
4. Hydrochloric acid (Merck, Germany)
5. di-Potassium Dihydrogen Orthophosphate, K_2HPO_4 (Univer, New Zealand)
6. Potassium Dihydrogen Orthophosphate, KH_2PO_4 (Univer, New Zealand)
7. 2,2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl (Sigma, Germany)
8. Potassiumhydroxide (KOH) ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ (Merck, Germany)
9. Acitic acid glacial (J. T. Backer, Thailand)
10. Ethanol 95 เปอร์เซ็นต์
11. $CaCO_3$ (Scharlau Chemie S.A., Spain)
12. โซเดียมคลอไรด์ (Ajax Finechem, Australia)
13. 1 – octanal ความเข้มข้น 99 เปอร์เซ็นต์ (Panreac, Spain)
14. น้ำมันพาราฟิน (Metha Group Trading Ltd., Part., Thailand)
15. แอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์

3.4 การวางแผนการทดลอง

3.4.1 ทางด้านเชื้อจุลินทรีย์

ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากชาเขียวที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์รวม

1. แบคทีเรียกรดแลคติก (LAB)
2. เชื้อจุลินทรีย์รวม (Total microbial count)
3. Yeast/Mold
4. Coliform

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. *E. coli*

6. *S. aureus*

7. *Salmonella* spp.

วิเคราะห์ข้อมูลแบบ Proc T-Test ซึ่งใช้ในการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน

3.4.2 ทางด้านเคมี และกายภาพของผลิตภัณฑ์ชาลามี

ศึกษาค่าการออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์ชาลามี ค่า pH ค่า a_w ค่าสี (L^* , a^* และ b^*) ประเมินค่าทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation) และเปอร์เซ็นต์ความชื้น โดยจัดกลุ่มการทดลองแบบ factorial in RCBD วางแผนการทดลองแบบ 2 x 6 factorial in RCBD ใช้จำนวนครั้งที่ทำการทดลองซ้ำเป็น Block ซึ่งกำหนดให้ สาเหตุที่ใช้ Block เนื่องจากเนื้อโคพื้นเมืองที่นำมาเป็นวัตถุดิบหลักนั้น ไม่ใช่เนื้อที่มาจากฟาร์มเดียวกัน จึงอาจส่งผลให้คุณลักษณะ หรือคุณภาพของเนื้อโคพื้นเมืองไม่เหมือนกัน

ปัจจัยที่ A คือ ระดับความเข้มข้นสารสกัดจากชาเขียวคือ กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 10 กรัม ต่อ 5 กิโลกรัมเนื้อและไขมันของผลิตภัณฑ์ชาลามี หรือคิดเป็น 0.2 เปอร์เซ็นต์

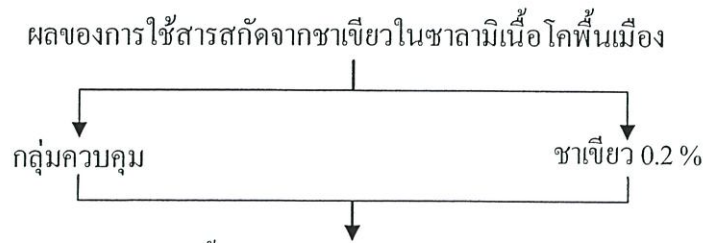
$$\% \text{ชาเขียว} = \frac{\text{ปริมาณชาเขียวที่ใช้ (กรัม)} \times 100}{\text{ปริมาณเนื้อและไขมันที่ใช้ทำชาลามี (กรัม)}}$$

ปัจจัยที่ B คือ ระยะเวลาการบ่มทำการเก็บผลิตภัณฑ์ชาลามีในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์

3.5 วิธีการดำเนินงานวิจัย

เหตุที่เลือกใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ นั้นอ้างอิงมาจากงานวิจัยเรื่อง “ผลของการใช้สารสกัดจากชาเขียวต่อคุณภาพชาลามีเนื้อโคที่บ่มในเวลาที่แตกต่างกัน” ซึ่งมีการเสริมสารสกัดจากชาเขียวอยู่ 3 ระดับคือ 0, 10 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัมเนื้อ พบว่าการใช้สารสกัดชาเขียว 10 กรัมต่อกิโลกรัมเนื้อ สามารถลดการออกซิเดชันของไขมันในชาลามีเนื้อโคได้ดีที่สุด เนื่องจากการออกซิเดชันของไขมันในชาลามีเป็นปัญหาหลักที่ทำให้ชาลามีเสื่อมเสีย เราจึงเลือกใช้สารสกัดชาเขียว 10 กรัมต่อกิโลกรัมเนื้อ หรือคิดเป็น 0.2 เปอร์เซ็นต์ มาใช้ในงานวิจัยนี้

การศึกษาแบ่งออกเป็น 4 ส่วน คือ ทางด้านเชื้อจุลินทรีย์ ทางเคมี ทางกายภาพ และการประเมินค่าทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation) ในชาลามีเนื้อโค 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ดังในภาพแสดงที่ 3.1



(1) กระบวนการหมักเปรี้ยว (Fermentation)

ขั้นตอน 1: อุณหภูมิ 24°C ความชื้นสัมพัทธ์ 96 เปอร์เซ็นต์ 36 ชั่วโมง

ขั้นตอน 2: อุณหภูมิ 22°C ความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์ 24 ชั่วโมง

ขั้นตอน 3: อุณหภูมิ 20°C ความชื้นสัมพัทธ์ 85 เปอร์เซ็นต์ 30 ชั่วโมง

(2) กระบวนการบ่ม (Ripening)

ขั้นตอน 4: อุณหภูมิ 14°C ความชื้นสัมพัทธ์ 74 เปอร์เซ็นต์ 4 สัปดาห์

ขั้นตอน 5: อุณหภูมิ 14°C ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ 5 สัปดาห์



1. ทางด้านเชื้อจุลินทรีย์ แบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) เชื้อจุลินทรีย์รวม (Total microbial count) Yeast/ Mold, Coliform, *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella* spp.
2. ทางเคมี ได้แก่ ค่า TBARS
3. ทางกายภาพ ได้แก่ ค่า pH, a_w ค่าสี (L^* , a^* และ b^*) และ เปอร์เซ็นต์ความชื้น
4. ประเมินค่าทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation)

ภาพที่ 3.1 แสดงลำดับขั้นตอนในการศึกษาการเสริมสารสกัดชาเขียวในชาลามีเนื้อโค 2 กลุ่ม ได้แก่กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์

3.5.1 การเตรียมวัตถุดิบสำหรับทำซาลามิ ดัดแปลงมาจาก Fischer (2008)

เนื้อพืบนอกโคพื้นเมือง (Bottom Round)	1	กิโลกรัม
เนื้อพืบนอกพื้นเมือง (Plate)	2.5	กิโลกรัม
ไขมันสันหลังสุกร (Back Fat)	1.5	กิโลกรัม
เกลือไนไตรท์ (0.5 % nitrite)	120	กรัม
เกลืออีริโทรเบท (Erythobate)	5	กรัม
กลูโคส	15	กรัม
Mixed spices (Finnski Salami)	55	กรัม
กล้าเชื้อจุลินทรีย์ (Almi, Germany)	2.5	กรัม

(กล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ประกอบไปด้วยเชื้อจุลินทรีย์ 4 ชนิดหลัก ดังนี้ *Staphylococcus*

carneus, *Debaryomyces hansenii*, *Lactobacillus curvatus* และ *Pediococcus pentosaceus*)

1) เนื้อสะโพก และเนื้อพืบนอกโคพื้นเมืองของจังหวัดอุบลราชธานี ที่เลี้ยงแบบปล่อยตามธรรมชาติ อายุประมาณ 2 ปี น้ำหนักเข้าฆ่าประมาณ 140-150 กิโลกรัม ที่ผ่านการบ่มเนื้อ 7-10 วัน

2) นำเนื้อดังกล่าวมาหั่นเป็นชิ้นขนาดประมาณ 2 × 2 ตร. นิ้ว วางเรียงบนถาด นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อให้เนื้อมีอุณหภูมิใจกลางเนื้อไม่สูงกว่า หรือต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส

3) ไขมันสันหลังสุกร นำมาตัดเป็นชิ้นเนื้อ และนำไปแช่แข็งเช่นเดียวกัน แบ่งซาลามิออกเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 5 กิโลกรัม คือ

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม (ไม่เติมสารสกัดชาเขียว)

กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่เติมสารสกัดชาเขียวผง 10 กรัมต่อ 5 กิโลกรัมของเนื้อและไขมัน ซึ่งคิดเป็น 0.2 เปอร์เซ็นต์

3.5.2 วิธีการทำซาลามิ

1) ลดอุณหภูมิในอ่างสับผสมโดยใช้น้ำแข็งแช่ไว้อย่างน้อย 1 ชั่วโมง ก่อนการทำ จากนั้นนำเอาน้ำแข็งออก และเช็ดด้วยกระดาษทิชชูให้อ่างแห้ง

2) ใส่วัตถุดิบเนื้อสับด้วยความเร็วรอบต่ำ 2-3 รอบ จากนั้นตามด้วยความเร็วรอบสูงจนครบประมาณ 10 รอบ

3) ใส่ไขมันแข็งสับด้วยความเร็วรอบสูงอีกประมาณ 5 รอบ พร้อมกับเติมกล้าเชื้อจุลินทรีย์ (Starter culture) ซึ่งนำไปละลายในน้ำกลั่น (15 มิลลิลิตร) ก่อนเติมลงในอ่าง

4) เติม Mixed spices สารสกัดชาเขียวในรูปของผงตามปริมาณที่กำหนดไว้ในแต่ละกลุ่ม และเกลือไนไตรท์ สับต่อด้วยความเร็วรอบต่ำ สังเกตดูให้มีไขมันกระจายทั่วๆในส่วนผสมทั้งหมด

5) วัตถุดิบมีส่วนผสมเมื่อกระบวนการสับผสมสิ้นสุดมีค่าประมาณ -3 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถึง -1 องศาเซลเซียส

6) นำลงใส่ในเครื่องอัดไส้ที่ลดอุณหภูมิลง โดยการใช้ น้ำแข็งหล่อให้เย็นก่อน จากนั้น เช็ดให้แห้งก่อนจึงเติมส่วนผสมของซาลามิ

7) อัดในไส้บรรจุเซลลูโลส (Cellulose casing) สำหรับซาลามิขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร

8) นำไปแขวนไว้ในตู้บ่ม (Ripening Chamber) โดยปรับอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ในกระบวนการผลิตดังนี้ คัดแปลงมาจาก Fischer (2008)

(1) กระบวนการหมักเปรี้ยว (fermentation)

ขั้นตอน 1 : อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 96 เปอร์เซ็นต์ 36 ชั่วโมง

ขั้นตอน 2 : อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์ 24 ชั่วโมง

ขั้นตอน 3 : อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85 เปอร์เซ็นต์ 30 ชั่วโมง

(2) กระบวนการบ่ม (ripening)

ขั้นตอน 4 : อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 74 เปอร์เซ็นต์ จนครบ 4

สัปดาห์

ขั้นตอน 5 : อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ จนครบ 5

สัปดาห์

3.6 การวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ซาลามิ

สุ่มตัวอย่างซาลามิแต่ละตัวอย่างจำนวน 25 กรัม ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เพื่อตรวจ วิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ Coliforms และ *E. coli*, Yeast/Mold, *S. aureus* แบคทีเรียกรดแลคติก *Salmonella* spp. และจุลินทรีย์รวม (Total plate count)

(1.1) การตรวจวิเคราะห์เชื้อ Coliforms และ *E. coli* ด้วยอาหาร Chromocult agar (AOAC. 2006a)

สุ่มตัวอย่างซาลามิเนื้อโค 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ เทน้ำยาเจือจางปริมาตร 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่อง Stomacher ทำการเจือจางตัวอย่าง เพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับตามความเหมาะสม โดยใช้ปิเปตดูดตัวอย่างเจือจาง 1:10 ในขั้นต้น 1 มิลลิลิตร ใส่ ในหลอด หรือขวดบรรจุน้ำยาเจือจาง NaCl 0.85 % ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าหลอดหรือขวด ด้วยเครื่องเขย่าไฟฟ้า (mixer) หรือใช้มือเขย่าขึ้นลงอย่างแรง 25 ครั้ง ให้เข้ากันดี จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางเท่ากับ 10^2 (1:100) ถ้าต้องการเตรียมตัวอย่างให้เจือจางในระดับต่อไปนี้ คือ 10^3 (1:1,000) และ 10^4 (1:10,000) ตามลำดับ ถ่ายตัวอย่างแต่ละความเจือจางลงบนอาหารโดยวิธี Pour plate เมื่ออาหาร แข็งตัวนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การตรวจผลโดยโคโลนีที่ขึ้นบน อาหาร Chromocult ที่เป็นสีชมพู คือ Coliforms ส่วนโคโลนีที่เป็นสีม่วงเป็น *E.coli* สำหรับโคโลนีที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สงสัยทำการทดสอบ IMViC test (indole, MR, VP และ citrate) โดยนำงานเพาะเชื้อที่มีเชื้อ *E. coli* มาเก็บ โคโลนีเดี่ยวจำนวน 2 โคโลนี และถ่ายลงใน Plate Count Agar slant หลอดละ 1 โคโลนี นำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การทดสอบแบ่งออกเป็น

1) การทดสอบ indole โดยการถ่ายเชื้อจากอาหาร plate count agar slant ลงในอาหารเลี้ยง เชื้อ tryptophan broth แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย kovac จำนวน 0.2-0.3 มิลลิลิตร ถ้าให้ผลบวกจะปรากฏสีแดงที่ส่วนบนของ tryptophan broth

(1.2) การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. (AOAC. 2006b)

นำตัวอย่างซาลามีจำนวน 25 กรัม ใส่ลงใน Salmosyst broth base (SB) 225 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อจาก SB 10 มิลลิลิตร ลงในหลอด ทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วเติม Salmosyst selective supplement tablet (SBST) 1 เม็ด เขย่า SBST ละลายใน SB จนหมด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วนำไปเพาะ เชื้อลงบนอาหารแข็ง โดยใช้ XLD agar และ SS agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18- 24 ชั่วโมง นำโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *Salmonella* spp. มาทดสอบทางชีวเคมี โดยการถ่ายโคโลนีต้อง สงสัยลงในอาหาร TSI และ LIM

การทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมี

คู่มือปฏิกิริยาทางชีวเคมีในหลอด TSI agar slant และ LIM medium เชื้อ *Salmonella* spp. จะ

ให้คุณสมบัติทางชีวเคมีดังนี้

- K = alkaline ปลายหลอด (slant) ของอาหาร TSI จะมีสีแดง
- A = acid ก้นหลอด (butt) ของ TSI จะมีสีเหลือง
- H_2S^+ = ในหลอด TSI จะเกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่ง *Salmonella* spp. ส่วน ใหญ่จะให้ผล +
- H_2S^- = ในหลอด TSI จะไม่เกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์
- Gas^+ = มีฟองอากาศคั้นวุ้นของ TSI เนื่องจาก *Salmonella* spp. ส่วนใหญ่สามารถหมักย่อย น้ำตาลกลูโคสแล้ว ได้กรดและแก๊สเพียงเล็กน้อย
- Gas^- = ไม่มีฟองอากาศคั้นวุ้นของ TSI
- $Lysine^+$ = จะมีสีม่วงทั้งหลอดเนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. มีเอนไซม์ lysine decarboxylase ไปย่อย lysine ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีความเป็นด่างมากขึ้น มีผลทำให้ brom cresol purple ซึ่งใช้เป็น indicator ในอาหารดังกล่าว และมีค่า pH เป็นกลาง มี สีม่วงเข้มมากยิ่งขึ้นซึ่ง *Salmonella* spp. จะมีเอนไซม์นี้
- $Lysine^-$ = หลอดอาหารจะมีสีเหลืองเนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. ไม่มีเอนไซม์ lysine decarboxylase ไปย่อย lysine ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีค่า pH ต่ำมากขึ้น มีผล ทำให้สีม่วงของ brom cresol purple เปลี่ยนไปเป็นสีเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Indole⁺ = จะมีสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังหยดน้ำยา Kovac
- Indole⁻ = จะไม่มีสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังหยดน้ำยา Kovac ซึ่ง *Salmonella* spp. ไม่มีเอนไซม์ tryptophanase จึงไม่เกิดปฏิกิริยากับ Kovac
- Motile⁺ = หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM จะขุ่นทั้งหลอด ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. ส่วนมากจะมีแฟลกเจลลาในการเคลื่อนที่ ดังนั้นเมื่อทำการ stab เชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเกิดการเคลื่อนที่จากรอย stab ไปทุกทิศทุกทางจึงทำให้หลอดขุ่น
- Motile⁻ = หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM จะมีการเจริญบริเวณรอย stab เท่านั้น ส่วนบริเวณอาหารรอบรอย stab จะใส ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อไม่มีแฟลกเจลลาในการเคลื่อนที่ จึงเจริญบริเวณรอย stab เท่านั้น

(1.3) การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Staphylococcus aureus* (BAM, 2001a)

สุ่มตัวอย่างชาลามี 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ เทน้ำยาเจือจางปริมาตร 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่อง Stomacher ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับ ตามความเหมาะสม โดยใช้ปิเปตเชื้อดูตัวอย่างเจือจาง 1:10 ในขั้นต้น 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดหรือขวดบรรจุน้ำยาเจือจางเปปโตน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าหลอดหรือขวดด้วยเครื่องเขย่าไฟฟ้า (mixer) หรือใช้มือเขย่าขึ้นลงอย่างแรง 25 ครั้งให้เข้ากันดี จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางเท่ากับ 10^{-2} (1:100) ถ้าต้องการเตรียมตัวอย่างให้เจือจางในระดับต่อไปนี้ คือ 10^{-3} (1:1,000) และ 10^{-4} (1:10,000) เรื่อยไปตามลำดับ ถ่ายตัวอย่างแต่ละความเจือจางลงบนอาหาร Baird-Parker (ที่เติมสาร Potassium Tellurite 1 เปอร์เซ็นต์ โดยเติมปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ของอาหาร Baird-Parker) ระดับความเจือจางละ 3 จาน จานละ 0.1 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วรูปตัว L ทำการเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่ว ตามวิธี spread plate นำเชื้อเข้าสู่บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45-48 ชั่วโมง ตรวจนับเฉพาะโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S. aureus* โดยโคโลนีของเชื้อ *S. aureus* มีลักษณะกลมมน สีดำเป็นมัน ผิวเรียบ ขอบขาว มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-3 มิลลิเมตร มีตะกอนขุ่นรอบๆ โคโลนี ซึ่งเกิดจากเอนไซม์ lecithinase ทำให้เกิดปฏิกิริยากับเลซิทินในไข่แดงที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้เกิดตะกอนของเกลือฟอสเฟต เห็นเป็นตะกอนขุ่นที่เรียกว่า opaque หรือ creamy zone และมักพบโซนใสในอาหารเลี้ยงเชื้อถัดจาก opaque zone ในตัวอย่างอาหารแช่แข็งและอาหารแห้ง โคโลนีของเชื้ออาจเกิดสีดำซ้ำกว่าปกติและขอบไม่เรียบได้

Subculture เชื้อลงใน Brain heart infusion broth (BHI broth) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ลงในหลอดทดลองขนาด 13x100 มิลลิลิตร หลอดละ 0.3 มิลลิลิตร นำไปบ่มเพาะเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง ใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ปราศจากเชื้อ เขี่ยโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S. aureus* เพาะเชื้อในหลอดที่มี BHI broth และหลอดอาหาร TSA slant (สำหรับการทดสอบซ้ำ) บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง คุก Coagulase plasma with EDTA ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ลงในหลอดเพาะเชื้อที่มี BHI broth บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง อ่านผลโดยดูการแข็งตัวของ plasma อัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากเอนไซม์ Coagulase (Coagulase positive) ที่เชื้อ *S. aureus* สร้างขึ้น ซึ่งอาจจะมีลักษณะต่างๆ กัน

(1.4) การตรวจวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก (Pouch-Downes, 2001)

สุ่มตัวอย่างซาลามี ตัวอย่างละ 25 กรัม ผสมด้วยน้ำยาเจือจางปริมาตร 225 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:100 ทำจนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม จากนั้นคัดสารละลายที่เจือจางแล้ว ทั้ง 3 ระดับความเจือจางสุดท้ายความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร และถ่ายลงในจานเพาะเชื้อ เทอาหาร MRS Agar ที่เติม CaCO_3 (0.5 เปอร์เซ็นต์) ลงจานเพาะเชื้อปริมาตรจานละ 15-20 มิลลิลิตร ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ รอกจนอาหารแข็งแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ นับจำนวนโคโลนีที่มีบริเวณใส (clear zone) รอบๆ โคโลนี และรายงานผลเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี

(1.5) การตรวจวิเคราะห์เชื้อยีสต์ รา (BAM, 2001b)

สุ่มตัวอย่างซาลามี 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ เทน้ำยาเจือจางปริมาตร 225 มิลลิลิตร ตีบดให้เข้ากันด้วยเครื่อง Stomacher ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับ ตามความเหมาะสม โดยใช้ปิเปตดูดตัวอย่างเจือจาง 1:10 ในขั้นต้น 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดหรือขวดบรรจุน้ำยาเจือจางเปปโตเนอ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าหลอดหรือขวดด้วยเครื่องเขย่าไฟฟ้า (mixer) หรือใช้มือเขย่าขึ้นลงอย่างแรง 25 ครั้ง ให้เข้ากันดี จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางเท่ากับ 10^2 (1:100) ถ้าต้องการเตรียมตัวอย่างให้เจือจางในระดับต่อไปนี้ คือ 10^3 (1:1,000) และ 10^4 (1:10,000) เรื่อยไปตามลำดับ ถ่ายตัวอย่างแต่ละความเจือจางลงบนอาหาร โดยวิธี Pour plate เทอาหาร Malt agar เมื่ออาหารแข็งแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน จึงตรวจนับเชื้อที่ขึ้น

(1.6) การศึกษาจำนวนจุลินทรีย์รวมทั้งหมด (Total microbial count) (AOAC, 2006c)

สุ่มตัวอย่างชิ้นเนื้อที่บ่มในระยะเวลาต่างๆ ที่กำหนดมาตัวอย่างละ 25 กรัม ในสารละลายเปปโตเนอปริมาตร 225 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเปปโตเนอที่มีความเข้มข้น 1:10 ทำจนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสมในแต่ละช่วงเวลากการบ่มเนื้อ จากนั้นคัดสารละลายเปปโตเนอที่ 3 ระดับความเจือจางสุดท้าย ความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร และถ่ายลงในจานเพาะเชื้อ เทอาหาร Plate Count Agar ลงจานเพาะเชื้อปริมาตรจานละ 15-20 มิลลิลิตรที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ รอกจนอาหารแข็งแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมานับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และรายงานผลเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี

3.7 การตรวจวิเคราะห์ทางเคมี และกายภาพของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาลามิ

1) การหาค่าการออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์ชาลามิ การหาค่าการออกซิเดชันของเนื้อ โดยวิธี 2-Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) โดยค่า TBARS value เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงการเกิดกลิ่นของเนื้อสัตว์ โดยชั่งเนื้อ 10 กรัม ใส่บีกเกอร์ เติม 50 mM potassium phosphate buffer จำนวน 9 มิลลิลิตร ตามด้วย Butylatedhydroxytoluene (BHT) 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ปั่นด้วยเครื่อง homogenizer (13,000 rev./ min) นาน 30-40 วินาที จากนั้นเทตัวอย่างทั้งหมดในบีกเกอร์ลงในหลอดกลั่น ก่อนกลั่นเติม HCL 4 N จำนวน 1.25 มิลลิลิตร และ antiform จำนวน 6 หยด ลงในตัวอย่าง โดยใช้เวลาในการกลั่น 190 วินาที จากนั้นดูดสารละลายที่ได้จากการกลั่นมา 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติม 0.069 M Thiobarbituric acid (TBA) 5 มิลลิลิตรแล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือด 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 นาที เขย่าทุกๆ 5 นาที เมื่อครบเวลาทำให้เย็นในทันที แล้วจึงนำออกมาวางไว้ในที่อุณหภูมิห้อง เพื่อวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่า TBARS value ซึ่งมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมมาโลนอลดีไฮด์ต่อเนื้อ 1 กิโลกรัม (ดัดแปลงจาก Castellini *et al.*, 2002)

2) วัดค่า pH โดยใช้ probe แทรกลงในชิ้นชาลามิ ด้วยเครื่องมือวัดค่า pH ในเนื้อ (Mettler Toledo, model SG-2)

3) การวัดค่า a_w ใช้เครื่องวัด (LabMaster- a_w , Novasina) นำตัวอย่างชาลามิที่จะทำการวัดค่า a_w ปริมาณ 3 กรัม บดชาลามิให้ละเอียด ใส่ลงในภาชนะสำหรับใช้วิเคราะห์ ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ ทำการวัดด้วยเครื่องวัดค่า a_w แล้วบันทึกผลที่ได้

4) การวัดค่าสี ดัดแปลงจากวิธีการของ Visessanguan *et al.* (2004) นำตัวอย่างชาลามิที่จะทำการวัดค่าสี จำนวน 1 แท่ง โดยวัดสีผิวด้านในชาลามิ ด้วยการตัดผิวสัมผัสหน้าตัดของชาลามิที่แบ่งไว้ทำการวัดด้วยเครื่องวัดสีของเนื้อ แล้วบันทึกค่าความสว่าง, ค่าสีแดง และ ค่าความเหลือง จำนวน 3 ครั้ง ทำการวัดค่าสีในวันที่ 0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42 ของการหมักชาลามิ

5) วัดค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น (%MC) ด้วยเครื่องวัด (Moisture analyzer, Hobart, USA.)

6) การทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของชาลามิ นำตัวอย่างมาทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสโดยทำการทดสอบทาง ด้านสี (color) กลิ่นแปลกปลอม (off odor) การยอมรับรวม (overall acceptability) ใช้การทดสอบแบบ Different-from-Control Test

3.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ปริมาณจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวม แบคทีเรียกรดแลคติก Yeast/Mold และ Coliforms ทั้งหมดที่ตรวจนับได้ จะถูกนำมาแปลงข้อมูลให้อยู่ในค่าลอการิทึม ($y = \log x$) วิเคราะห์ข้อมูลแบบ ProcT-Test ซึ่งใช้ในการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกันโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป โดยมีสมมติฐาน

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

$$H_A : \mu_1 \neq \mu_2$$

เมื่อ μ_1 และ μ_2 เป็นจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวม แบคทีเรียกรดแลคติก Yeast/Mold และ Coliforms ทั้งหมดที่ตรวจนับได้เฉลี่ยของแต่ละกลุ่ม ซึ่งมี 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม และ กลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์

ส่วนค่า pH ค่าสี เปอร์เซ็นต์ความชื้น ค่า a_w และ ค่าการออกซิเดชันของซาลามีเนื้อโคที่ได้จากการศึกษา มาวิเคราะห์หาความแปรปรวนของกลุ่มด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป วิธีการวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Least Significant Difference Test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป กำหนดให้โดยวิเคราะห์ข้อมูลตามการจัดกลุ่มทดลองแบบ 2 x 6 factorial arrangement in RCBD (Randomized Complete Block Design) ใช้จำนวนครั้งที่ทำการทดลองซ้ำเป็น Block ซึ่งกำหนดให้

ปัจจัยที่ A คือ ระดับความเข้มข้นสารสกัดจากชาเขียวคือ 0, 10 กรัม ต่อ กิโลกรัมเนื้อและไขมันของผลิตภัณฑ์ซาลามี

ปัจจัยที่ B คือ ระยะเวลาการบ่มทำการเก็บผลิตภัณฑ์ซาลามีไว้ในตู้บ่ม เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์

ผลการทดลอง

4.1 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ชาalami

4.1.1 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) ในชาalamiเนื้อโศ

จากตารางที่ 4.1 พบว่าการเสริมสารสกัดจากชาเขียว มีผลต่อจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก โดยการใช้สารสกัดชาเขียวที่ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ พบจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียวในสัปดาห์ที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 ของระยะเวลาการบ่ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งในสัปดาห์ที่ 0 ของการบ่ม พบว่าทั้ง 2 กลุ่ม มีจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งในกลุ่มควบคุมมีค่า $5.78 \log \text{cfu/g}$ และกลุ่มที่เสริมชาเขียวที่ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่า $5.87 \log \text{cfu/g}$

อย่างไรก็ตามเมื่อระยะเวลาการบ่มชาalamiนานขึ้น พบจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งสองกลุ่มมีค่าสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 1 ซึ่งกลุ่มควบคุมมีค่าอยู่ที่ $7.55 \log \text{cfu/g}$ และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอยู่ที่ $7.90 \log \text{cfu/g}$ หลังจากนั้นพบแนวโน้มการลดลงของจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งสองกลุ่มจากสัปดาห์ที่ 2, 3, 4 และ 5 ของการบ่ม ซึ่งในกลุ่มควบคุมมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกอยู่ที่ 6.91, 6.42, 6.11 และ $5.55 \log \text{cfu/g}$ ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกอยู่ที่ 7.27, 6.81, 6.63 และ $6.43 \log \text{cfu/g}$ ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 (Mean±SD)

Treatment	LAB (log cfu/g)					
	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	5.78 ± 0.13	7.55 ± 0.37^b	6.91 ± 0.46^b	6.42 ± 0.53^b	6.11 ± 0.55^b	5.55 ± 0.39^b
Tea 0.2%	5.87 ± 0.13	7.90 ± 0.13^a	7.27 ± 0.28^a	6.81 ± 0.19^a	6.63 ± 0.09^a	6.43 ± 0.47^a

^{a-b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Control = กลุ่มควบคุมไม่ใส่สารสกัดชาเขียว

Tea 0.2 % = กลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่อκιโลกรัมเนื้อและไขมันชาalami

4.1.2 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวม ในชาลามีเนื้อโค

ผลจากการศึกษาในตารางที่ 4.2 พบว่าสารสกัดชาเขียวมีผลต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมในชาลามี โดยพบว่า กลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียวมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมต่ำกว่ากลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยในสัปดาห์ที่ 2, 3, 4 และ 5 ของการบ่ม ในกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมมากกว่า กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนในสัปดาห์ที่ 0 และ 1 ของการบ่ม พบว่าทั้ง 2 กลุ่ม มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งในสัปดาห์ที่ 0 กลุ่มควบคุมมีค่าอยู่ที่ 6.02 log cfu/g กลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอยู่ที่คือ 5.98 log cfu/g และพบว่าในสัปดาห์ที่ 1 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมทั้งสองกลุ่ม มีค่าสูงที่สุด โดยกลุ่มควบคุมมีค่าอยู่ที่ 7.01 log cfu/g กลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอยู่ที่คือ 7.26 log cfu/g ตามลำดับ

เมื่อระยะเวลาการบ่มชาลามีนานขึ้นจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมทั้งสองกลุ่มจะสูงที่สุดในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ของการบ่ม ซึ่งในกลุ่มควบคุมมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวม อยู่ที่ 7.01 log cfu/g และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมอยู่ที่ 7.26 log cfu/g หลังจากนั้นจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวม จะมีแนวโน้มการลดลงเมื่อระยะเวลาของการบ่มนานขึ้น

ตารางที่ 4.2 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวม (Total plate count)

ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 (Mean±SD)

Treatment	Total plate count (log cfu/g)					
	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	6.02±0.08	7.01±0.12	6.57±0.31 ^b	6.51±0.50 ^b	6.13±0.52 ^b	5.56±0.39 ^b
Tea 0.2%	5.98±0.12	7.26±0.12	6.83±0.15 ^a	6.91±0.15 ^a	6.40±0.32 ^a	6.38±0.53 ^a

^{a,b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Control = กลุ่มควบคุมไม่ใส่สารสกัดชาเขียว

Tea 0.2 % = กลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่ออีก โกลรัมเนื้อและไขมันชาลามี

4.1.3 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนยีสต์ รา ในชาลามีเนื้อโค

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดชาเขียวมีผลต่อจำนวนยีสต์ ราในชาลามีเนื้อโค ในสัปดาห์ที่ 5 ของการบ่ม เนื่องจากจำนวนยีสต์ รา ในกลุ่มควบคุมมีจำนวนสูงกว่ากลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) มีค่าอยู่ที่ 4.78 และ 4.24 log cfu/g ตามลำดับ ส่วนในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3 และ 4 ของการบ่ม ในชาลามีเนื้อโค พบว่าในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยีสต์ รา ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ

($P>0.05$) โดยพบว่าจำนวนยีสต์ราในกลุ่มควบคุมค่า อยู่ที่ 4.70, 5.41, 5.59, 5.22 และ 4.93 log cfu/g ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ใช้สารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยีสต์รา มีค่า อยู่ที่ 4.61, 5.28, 5.35, 4.94 และ 4.72 log cfu/g ตามลำดับ

พบว่าเมื่อระยะเวลาการบ่มชาลามีนานขึ้น จำนวนยีสต์ รา เพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 0 และสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 2 ของการบ่ม และหลังจากนั้นจำนวนยีสต์ รา มีแนวโน้มเริ่มลดลง จากสัปดาห์ที่ 3 ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 5 ของการบ่ม

ตารางที่ 4.3 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อปริมาณยีสต์ รา ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3,4 และ 5 (Mean \pm SD)

Treatment	Yeast /Mold (log cfu/g)					
	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	4.70 \pm 0.71	5.41 \pm 0.37	5.59 \pm 0.28	5.22 \pm 0.21	4.93 \pm 0.12	4.78 \pm 0.07 ^a
Tea 0.2 %	4.61 \pm 0.57	5.28 \pm 0.46	5.35 \pm 0.38	4.94 \pm 0.16	4.72 \pm 0.11	4.24 \pm 0.28 ^b

^{a,b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

Control = กลุ่มควบคุมไม่ใส่สารสกัดชาเขียว

Tea 0.2 % = กลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่อ กิโลกรัมเนื้อและไขมันชาลามี

4.1.4 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวน Coliforms ในชาลามีเนื้อโค

จากผลการวิเคราะห์ในตารางที่ 4.4 พบว่าการเสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อจำนวน Coliforms ในชาลามีเนื้อโค โดยพบว่ากลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน Coliforms ต่ำกว่า กลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 1 ซึ่งมีค่าอยู่ที่ 4.17 และ 4.27 log cfu/g ตามลำดับ และพบว่าในสัปดาห์ที่ 0 และ 2 ของการบ่มจำนวน Coliforms ของทั้งสองกลุ่ม ไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) ซึ่งกลุ่มควบคุม และกลุ่มเสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 0 มีค่าอยู่ที่ 3.74 และ 3.66 log cfu/g และสัปดาห์ที่ 2 มีจำนวน Coliforms ในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ อยู่ที่ 3.67 และ 3.55 log cfu/g

และตรวจไม่พบที่ระดับความเจือจาง 1:10 ทั้งสองกลุ่มตัวอย่างชาลามีเนื้อโค ในสัปดาห์ที่ 3, 4 และ 5 ของการบ่ม

ตารางที่ 4.4 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อจำนวน Coliforms ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 (Mean±SD)

Treatment	Coliforms (log cfu/g)					
	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	3.74±0.22	4.27±0.04 ^a	3.67±0.25	<10	<10	<10
Tea 0.2%	3.66±0.20	4.17±0.11 ^b	3.55±0.18	<10	<10	<10

^{a,b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Control = กลุ่มควบคุมไม่ใส่สารสกัดชาเขียว

Tea 0.2 % = กลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่อกิโลกรัมเนื้อและไขมันชาลามี

<10 = ตรวจไม่พบที่ระดับความเจือจาง 1: 10

4.1.5 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวน *E. coli* ในชาลามีเนื้อโค

ผลการวิเคราะห์จำนวน *E. coli* ในชาลามีเนื้อโค กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ตรวจไม่พบที่ระดับความเจือจาง 1: 10 ในทุกสัปดาห์ที่ทำการตรวจ

ตารางที่ 4.5 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อจำนวน *E. coli* ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5

Treatment	<i>E. coli</i> (log cfu/g)					
	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Tea 0.2%	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Control = กลุ่มควบคุมไม่ใส่สารสกัดชาเขียว

Tea 0.2 % = กลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่อกิโลกรัมเนื้อและไขมันชาลามี

<10 = ตรวจไม่พบที่ระดับความเจือจาง 1: 10

4.1.6 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวน *S. aureus* ในซาลามีเนื้อโค

ผลการวิเคราะห์จำนวน *S. aureus* ในซาลามีเนื้อโค กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ตรวจไม่พบที่ระดับความเจือจาง 1: 10 ในทุกสัปดาห์ที่ทำการตรวจ

ตารางที่ 4.6 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อจำนวน *S. aureus* ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5

Treatment	<i>S. aureus</i> (log cfu/g)					
	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Tea 0.2%	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Control = กลุ่มควบคุมไม่ได้สารสกัดชาเขียว

Tea 0.2 % = กลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่ออีกโลกรัมเนื้อและไขมันซาลามี

<10 = ตรวจไม่พบที่ระดับความเจือจาง 1: 10

4.1.7 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวน *Salmonella* spp. ในซาลามีเนื้อโค

จากการวิเคราะห์ผล *Salmonella* spp. ในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ตรวจไม่พบในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ของการบ่มซาลามี

ตารางที่ 4.7 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อจำนวน *Salmonella* spp. ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5

Treatment	<i>Salmonella</i> spp.					
	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	-	-	-	-	-	-
Tea 0.2%	-	-	-	-	-	-

Control = กลุ่มควบคุมไม่ได้สารสกัดชาเขียว

Tea 0.2 % = กลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่ออีกโลกรัมเนื้อและไขมันซาลามี

- = ตรวจไม่พบ

4.2 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อคุณภาพของชาลามีเนื้อโค

4.2.1 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่าสีของชาลามีเนื้อโค

1) ค่าความสว่าง

พบว่า การเสริมสารสกัดชาเขียวไม่มีผลต่อค่าความสว่างในชาลามี ทั้งกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความสว่างที่ 47.91 และ 48.11 ตามลำดับ โดยมีค่าไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$)

ด้านอิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มชาลามีต่อค่าความสว่างของชาลามีนั้น พบว่า เมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นค่าความสว่างของชาลามีจะเริ่มลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยที่ค่าความสว่างของชาลามีจะสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 1 มีค่าเท่ากับ 54.33 หลังจากนั้นค่าความสว่างจะเริ่มลดลงอีกในสัปดาห์ที่ 2 จะมีค่าอยู่ที่ 49.56 และพบว่าในสัปดาห์ที่ 3, 4, และ 5 จะมีค่าความสว่างที่ลดลงแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 46.26, 46.36 และ 46.21 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.8

นอกจากนี้ยังพบอิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดจากชาเขียวและระยะเวลาการบ่มต่อค่าความสว่างของชาลามี ($P<0.05$) โดยพบว่าเมื่อระยะเวลาบ่มนานขึ้นทำให้ค่าความสว่างของชาลามีลดลง และพบว่าในกลุ่มที่มีเสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความสว่างสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ใช้สารสกัดจากชาเขียว ($P<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 3, 4 และ 5 กลุ่มควบคุมมีค่าความสว่างที่ 45.73, 45.86 และ 45.84 ตามลำดับ กลุ่มที่มีเสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความสว่าง 46.79, 46.41 และ 46.57 ตามลำดับ ดังข้อมูลในตารางที่ 4.9

2) ค่าสีแดง

จากการศึกษาพบว่าค่าสีแดงของชาลามีได้รับอิทธิพลจากการใช้สารสกัดชาเขียว ในกลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียว และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสีแดงที่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) โดยกลุ่มควบคุมมีค่าสีแดงสูงกว่า ซึ่งมีค่าอยู่ที่ 12.60 และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสีแดงอยู่ที่ 12.31 ดังแสดงในตารางที่ 4.8

พบว่าค่าสีแดงของชาลามีได้รับอิทธิพลจากระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้นด้วย ($P<0.05$) โดยค่าสีแดงของชาลามีจะต่ำที่สุดในสัปดาห์ที่ 0 ซึ่งเท่ากับ 7.3 และค่อยเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 1, 2, และ 3 จนถึงในสัปดาห์ที่ 4 และ 5 ค่าสีแดงเริ่มคงที่ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 12.75, 13.47, 13.96, 13.66 และ 13.59 ดังที่ได้แสดงในตารางที่ 4.8 แต่ไม่พบอิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อระยะเวลาในการบ่มชาลามี

3) ค่าสีเหลือง

จากการศึกษาพบว่า การเสริมสารสกัดชาเขียวไม่มีผลต่อค่าสีเหลืองของชาลามี พบว่ากลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียวมีค่าสีเหลืองเท่ากับ 10.61 ส่วนกลุ่มชาลามีที่ใช้สารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเหลืองเท่ากับ 10.51 ซึ่งมีค่าไม่ต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านอิทธิพลของระยะเวลาของการบ่มชาลามี พบว่ามีผลต่อค่าสีเหลืองของชาลามี โดยพบว่าเมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้ค่าสีเหลืองของชาลามีลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งพบว่าในวันที่ 0 จะมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 14.05 และหลังจากนั้นจะค่อยลดลงจากสัปดาห์ที่ 1 ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 5 ของการบ่ม มีค่าสีเหลืองเท่ากับ 9.98, 9.95, 9.87, 9.83 และ 9.69 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบอิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดจากชาเขียวต่อระยะเวลาของการบ่มอีกด้วย โดยพบว่าค่าสีเหลืองของชาลามีในกลุ่มควบคุมในสัปดาห์ที่ 0 ของการบ่มสูงกว่ากลุ่มที่ใช้สารสกัดจากชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ แต่ในระยะเวลาการบ่มชาลามีที่นานขึ้นพบว่าค่าสีเหลืองของกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสีเหลืองสูงกว่าชาลามีกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 5 ของการบ่มชาลามี ดังข้อมูลที่ได้แสดงในตารางที่ 4.10

4.2.2 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นในชาลามีเนื้อโค

จากการศึกษาพบว่า การเสริมสารสกัดชาเขียว ไม่มีผลต่อค่าความชื้นในชาลามี ในกลุ่มที่เสริมสารสกัดจากชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มควบคุมมีค่าความชื้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งทั้งสองกลุ่มมีค่าความชื้นอยู่ที่ 40.05 เท่ากันทั้งสองกลุ่ม

ส่วนอิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มชาลามี พบว่ามีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นในชาลามี จากการศึกษพบว่า เมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้ ค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นของชาลามีลดลงจากสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และสัปดาห์ที่ 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นเท่ากับ 53.58, 45.71, 40.71, 36.35, 34.03 และ 30.17 ตามลำดับ และไม่พบอิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดจากชาเขียวต่อระยะเวลาของการบ่มชาลามี ดังข้อมูลในตารางที่ 4.11

4.2.3 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่า pH ในชาลามีเนื้อโค

จากการศึกษาพบว่า การเสริมสารสกัดชาเขียว ไม่มีผลต่อค่า pH ของชาลามี โดยพบว่าค่า pH ในชาลามีกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งมีค่าอยู่ที่ 4.89 และ 4.90 ตามลำดับ

พบว่าระยะเวลาของการบ่มชาลามีมีผลต่อค่าความเป็นกรดด่างของชาลามี ($P < 0.05$) โดยเมื่อระยะเวลาบ่มนานขึ้นทำให้ค่า pH ลดลง และต่ำที่สุดให้สัปดาห์ที่ 1 ของการบ่ม ซึ่งมีค่าอยู่ที่ 4.60 หลังจากนั้นค่า pH ของชาลามีจะค่อยเพิ่มสูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 2, 3, 4 และ 5 ซึ่งมีค่า pH เท่ากับ 4.76, 4.81, 4.70 และ 4.83 ตามลำดับ ดังตัวเลขที่แสดงไว้ในตารางที่ 4.12 และไม่พบอิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อระยะเวลาของการบ่มชาลามี

4.2.4 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่า a_w ในชาลามีเนื้อโค

จากตารางที่ 4.8 พบว่าค่า a_w ของชาลามีพบว่าในกลุ่มที่ใช้สารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่า a_w มากกว่าชาลามีกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งในกลุ่มที่ควบคุม จะมีค่า a_w เท่ากับ 0.927 และกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่า a_w เท่ากับ 0.929

ด้านของอิทธิพลของระยะเวลาการบ่ม พบว่าเมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้ค่า a_w ลดลง เมื่อเทียบกับสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ซึ่งมีค่า a_w เท่ากับ 0.965, 0.956, 0.941, 0.922 และ 0.883 ตามลำดับ ซึ่งมีความต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้ยังไม่พบอิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อระยะเวลาของการบ่มชาลามี

4.2.5 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่าการออกซิเดชันของไขมันในชาลามี TBARS

(mg MDA/kg)

จากการศึกษาพบว่า สารสกัดชาเขียวมีผลต่อค่าการออกซิเดชันของไขมันในชาลามี โดยพบว่ากลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการออกซิเดชันต่ำกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งมีค่า 1.199 และ 1.561 mg MDA/kg

เมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้ค่าการออกซิเดชันของไขมัน โดยพบว่าในสัปดาห์ที่ 0 และ 1 ทั้งสองกลุ่ม มีค่าการออกซิเดชันของไขมันในชาลามี ไม่ต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งมีค่า 0.164 และ 0.202 mg MDA/kg เมื่อระยะเวลาบ่มนานขึ้น มีผลทำให้ค่าการออกซิเดชันของไขมันในชาลามีเพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในสัปดาห์ที่ 2, 3, 4 และ 5 ซึ่งมีค่าการออกซิเดชันของไขมัน เท่ากับ 0.844, 1.965, 2.169 และ 2.933 ตามลำดับ ซึ่งมีความต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบอิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อระยะเวลาของการบ่มชาลามี โดยพบว่าในกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการออกซิเดชันของไขมันเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้น แต่เพิ่มขึ้นในปริมาณที่ต่ำกว่ากลุ่มอย่างเห็นได้ชัด ดังข้อมูลในตารางที่ 4.14

ตารางที่ 4.8 อิทธิพลของระดับปริมาณสารสกัดชาเขียว และระยะเวลาการบ่มซาลามิต่อคุณภาพของซาลามิเนื้อโค

Parameter	Treatment of green tea (C) g/kg		Time (T) (weeks)						Effect		
	Control	Tea 0.2 %	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks	C	T	C×T
color of salami											
L*	47.91	48.11	48.57 ^E	51.33 ^C	49.56 ^D	46.26 ^F	46.36 ^F	46.21 ^F	0.2518	<0.0001	<0.0001
a*	12.6 ^A	12.31 ^B	7.3 ^F	12.75 ^E	13.47 ^D	13.96 ^C	13.66 ^{CD}	13.59 ^{CD}	0.0062	<0.0001	0.4262
b*	10.61	10.51	14.05 ^C	9.98 ^D	9.95 ^D	9.87 ^{DE}	9.83 ^{DE}	9.69 ^E	0.1184	<0.0001	<0.0001
% Moisture	40.05	40.05	53.58 ^C	45.47 ^D	40.71 ^E	36.35 ^F	34.03 ^G	30.17 ^H	0.9862	<0.0001	0.5790
pH	4.89	4.90	5.67 ^C	4.60 ^G	4.76 ^E	4.81 ^D	4.70 ^F	4.83 ^D	0.6136	<0.0001	0.9359
a _w	0.927 ^B	0.929 ^A	0.965 ^C	0.956 ^D	0.941 ^E	0.922 ^F	0.903 ^G	0.883 ^H	0.0305	<0.0001	0.2014
TBARS	1.561 ^A	1.199 ^B	0.164 ^G	0.202 ^G	0.844 ^F	1.965 ^E	2.169 ^D	2.933 ^C	<0.0001	<0.0001	<0.0001

^{A-B} ตัวอักษรที่ต่างกันภายใต้อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารสกัดชาเขียวที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{C-H} ตัวอักษรที่ต่างกันภายใต้อิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 4.9 อิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียว และระยะเวลาในการบ่มชาลามิต่อค่าความสว่าง (LSE±SE)

Treatment	Lightness					
	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	49.57±0.30 ^c	50.81±0.30 ^b	49.65±0.30 ^c	45.73±0.30 ^f	45.86±0.30 ^f	45.84±0.30 ^f
Tea 0.2%	47.57±0.30 ^d	51.86±0.30 ^a	49.47±0.30 ^c	46.79±0.30 ^{dc}	46.41±0.30 ^c	46.57±0.30 ^c

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในตารางเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Control = กลุ่มควบคุมไม่ใส่สารสกัดชาเขียว

Tea 0.2% = กลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่อ กิโลกรัมเนื้อและไขมันชาลามิ

ตารางที่ 4.10 อิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาในการบ่มชาลามิต่อค่าสีเหลือง (LSE±SE)

Treatment	Yellowness					
	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	14.55±0.11 ^a	9.85±0.11 ^d	9.94±0.11 ^d	9.95±0.11 ^d	9.66±0.11 ^d	9.55±0.11 ^d
Tea 0.2%	13.70±0.11 ^b	10.25±0.11 ^c	10.11±0.11 ^c	9.93±0.11 ^d	10.13±0.11 ^c	9.98±0.11 ^{cd}

^{a-d} ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในตารางเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Control = กลุ่มควบคุมไม่ใส่สารสกัดชาเขียว

Tea 0.2% = กลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่อ กิโลกรัมเนื้อและไขมันชาลามิ

ตารางที่ 4.11 อิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มชาลามิต่อเปอร์เซ็นต์ความชื้น (LSE±SE)

Treatment	% Moisture					
	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	53.50±0.85 ^a	45.77±1.70 ^b	40.75±1.31 ^c	36.23±1.46 ^d	33.89±1.44 ^c	30.15±0.56 ^f
Tea 0.2%	53.65±0.96 ^a	45.16±1.30 ^b	40.67±0.86 ^c	36.46±1.93 ^d	34.17±1.41 ^c	30.17±0.46 ^f

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในตารางเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Control = กลุ่มควบคุมไม่ใส่สารสกัดชาเขียว

Tea 0.2% = กลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่อ กิโลกรัมเนื้อและไขมันชาลามิ

ตารางที่ 4.12 อิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มชาลามีต่อค่า pH (LSE±SE)

Treatment	pH					
	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	5.57±0.06 ^a	4.60±0.04 ^c	4.78±0.08 ^{bc}	4.80±0.08 ^c	4.71±0.03 ^d	4.83±0.05 ^b
Tea 0.2%	5.66±0.06 ^a	4.60±0.06 ^c	4.78±0.08 ^{bc}	4.82±0.06 ^c	4.71±0.03 ^d	4.83±0.03 ^b

^{a-c} ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในตารางเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Control = กลุ่มควบคุมไม่ใส่สารสกัดชาเขียว

Tea 0.2% = กลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่อ กิโลกรัมเนื้อและไขมันชาลามี



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 อิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มชาลามีต่อค่า a_w (LSE±SE)

Treatment	a_w					
	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	0.964±0.003 ^a	0.955±0.005 ^b	0.942±0.005 ^c	0.921±0.005 ^d	0.902±0.007 ^e	0.882±0.005 ^f
Tea 0.2%	0.966±0.003 ^a	0.957±0.006 ^b	0.940±0.006 ^c	0.922±0.005 ^d	0.904±0.006 ^e	0.884±0.005 ^f

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในตารางเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Control = กลุ่มควบคุมไม่ใส่สารสกัดชาเขียว

Tea 0.2% = กลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่อ กิโลกรัมเนื้อและไขมันชาลามี

ตารางที่ 4.14 อิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาในการบ่มชาลามีต่อค่า TBARS (mg MDA/kg)

Treatment	TBARS (mg MDA/kg)					
	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	0.165±0.01 ^h	0.206±0.05 ^h	0.990±0.16 ^f	2.315±0.51 ^c	2.440±0.47 ^{bc}	3.251±0.23 ^a
Tea 0.2%	0.163±0.01 ^h	0.201±0.04 ^h	0.699±0.23 ^e	1.615±0.48 ^c	1.900±0.39 ^d	2.616±0.16 ^b

^{a-h} ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในตารางเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Control = กลุ่มควบคุมไม่ใส่สารสกัดชาเขียว

Tea 0.2% = กลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่อ กิโลกรัมเนื้อและไขมันชาลามี

4.2.6 ผลการประเมินความพึงพอใจทางประสาทสัมผัสของชาลามีเนื้อโค

โดยศึกษาการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยทดสอบการชิมจากกลุ่มผู้บริโภครวมที่ไม่ได้รับการฝึก ทำการทดสอบผลิตภัณฑ์เนื้อชาลามีเนื้อโคทั้งหมด 2 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 คือ กลุ่มควบคุม (Control)

สูตรที่ 2 คือ กลุ่มที่เสริมสารสกัดจากชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์

จำนวนผู้ทดสอบทั้งหมด 51 คน อาชีพ อาจารย์ และนักศึกษาคณะเทคโนโลยีการเกษตรสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง แบ่งเป็นเพศชายจำนวน 20 คน คิดเป็นร้อยละ 39.21 และเพศหญิง 31 คน คิดเป็นร้อยละ 60.78 โดยชาลามีที่นำมาทดสอบนี้ได้ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน ในการทดสอบความพึงพอใจทำการทดสอบ 4 ลักษณะ ได้แก่ สี กลิ่น รสชาติ และความพึงพอใจโดยรวม โดยใช้คะแนนระดับความพึงพอใจ 5 ระดับคือ 1-5 ดังรายละเอียดต่อไปนี้คือ

- 1 หมายถึง ไม่ชอบมาก
- 2 หมายถึง ไม่ชอบ
- 3 หมายถึง เฉยๆ
- 4 หมายถึง ชอบ
- 5 หมายถึง ชอบมาก

ผลการทดสอบในตารางที่ 4.15 แสดงให้เห็นว่าในด้านความพึงพอใจโดยรวมของผู้บริโภค มีความชอบผลิตภัณฑ์เนื้อชาลามีที่เสริมสารสกัดชาเขียวที่ 0.2 เปอร์เซ็นต์ มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนความพึงพอใจในเรื่องของสี กลิ่น และรสชาติพบว่าผู้บริโภคมีความพึงพอใจไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) และพบว่าผู้บริโภคที่ได้ทดสอบไม่ชอบกลิ่นของชาลามีเนื้อโค ทั้งกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.15 ผลการประเมินความพึงพอใจของผู้บริโภคด้านคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เนื้อชาลามี (LSE \pm SE)

Treatment	Sensory attributes			
	Color	Odor	Flavor	Overall
Control	3.82 \pm 0.10	2.86 \pm 0.10	3.19 \pm 0.12	3.41 ^b \pm 0.08
Tea 0.2 %	3.84 \pm 0.10	2.78 \pm 0.10	3.37 \pm 0.12	3.75 ^a \pm 0.08

^{a,b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในตารางเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Control = กลุ่มควบคุมไม่ใส่สารสกัดชาเขียว

Tea 0.2% = กลุ่มที่ทดสอบด้วยสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ต่อกิโลกรัมเนื้อและไขมันชาลามี

ระดับความพึงพอใจของผู้บริโภครังแสดงในแบบประเมิน

- 1 = ไม่ชอบมาก
- 2 = ไม่ชอบ
- 3 = เฉยๆ
- 4 = ชอบ
- 5 = ชอบมาก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 ผลของสารสกัดชาเขียวและระยะเวลาบ่มต่อจำนวนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ชาลามี

5.1.1 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) ในชาลามีเนื้อโค

จากตารางที่ 4.1 พบว่าการเสริมสารสกัดจากชาเขียวมีผลต่อจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกโดยการเสริมสารสกัดชาเขียวที่ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ พบจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียว ในสัปดาห์ที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 ของระยะเวลาการบ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งในสัปดาห์ที่ 0 ของการบ่ม พบว่าทั้ง 2 กลุ่ม มีจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากชาเขียวมีสารอาหารที่แบคทีเรียกรดแลคติกใช้ในการเจริญเติบโต Archibald and Duong. (1984) พบว่าแมงกานีส (Mn) เป็นสารอาหารที่แบคทีเรียกรดแลคติก เช่น *Lactobacillus plantarum* นำไปใช้ในการเจริญเติบโต มีรายงานว่า ชาเขียวเป็นพืชที่มีแร่ธาตุแมงกานีส (Mn) อยู่สูง (Matsushita *et al.* 1993) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ishihara *et al.* (2001) ที่ศึกษาผลของการเสริมสารสกัดชาเขียวในอาหารสัตว์ ต่อปริมาณแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ (microflora) พบว่าสารสกัดชาเขียวเมื่อผสมในอาหารสัตว์ (โค) มีผลให้ปริมาณแบคทีเรียที่ดี คือ *Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp. เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของ Hara *et al.* (1995) เมื่อเลี้ยงสุกรด้วยอาหารซึ่งเสริมสารพอลิฟีนอลจากชา 0.2 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ปริมาณ *Lactobacilli* spp. ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 7 และ 14 นอกจากนี้ Burecnok *et al.* (2007) ทำการศึกษาอิทธิพลจากการใช้ชาเขียวเสริมลงในน้ำผลไม้ ที่อาศัยแบคทีเรียกรดแลคติกในการหมัก ปริมาณ 50 กรัม ต่อลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ในสภาพไร้อากาศ นาน 3 วัน ตรวจนับเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก จากผลวิเคราะห์พบว่า ในสูตรน้ำผลไม้ที่เสริมชาเขียวมีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกมากกว่า กลุ่มน้ำผลไม้ไม่เสริมชาเขียว ($P < 0.05$) จากผลการวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเสริมสารสกัดชาเขียว ลงในอาหาร หรือเครื่องดื่ม สามารถช่วยส่งเสริมการอยู่รอดของแบคทีเรียกรดแลคติกได้เป็นอย่างดี

เมื่อระยะเวลาการบ่มชาลามีนานขึ้น พบว่าจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในชาลามีเนื้อโคทั้งสองกลุ่มมีค่าสูงที่สุดใน สัปดาห์ที่ 1 ซึ่งกลุ่มควบคุมมีค่าอยู่ที่ 7.55 log cfu/g และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอยู่ที่ 7.90 log cfu/g โดยทั่วไปแล้วจะพบจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในชาลามี อยู่ที่ 10^6 - 10^8 ต่อกรัมของชาลามี ในช่วง 3-5 วันแรก เนื่องจากในช่วงเวลาดังกล่าวมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ กล่าวคือ อุณหภูมิที่สูง 22-24 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90-96 เปอร์เซ็นต์ เรียกสภาวะในการผลิตชาลามีดังกล่าวนี้ว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการหมักเปรี้ยว (Fermentation) หลังจากนั้นจึงเข้าสู่กระบวนการบ่ม (Ripening) ซึ่งจะลดอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ เพื่อให้ซาลามิแห้ง และทำให้ค่า a_w ในซาลามิลดลง ซึ่งการลดลงของค่า a_w นี้เป็นปัจจัยที่ควบคุม การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดย นุชกร อุตระชาติ (2552) กล่าวว่า การถนอมอาหารโดยการทำให้แห้ง เป็นผลจากการเอาน้ำที่มีอยู่ในอาหารออกไป (removal) เพื่อให้ค่าความต้องการน้ำในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ลดลง (Water activity หรือ Available water) ซึ่งค่า a_w ของอาหารสดส่วนใหญ่มีค่าสูงกว่า 0.99 ค่า a_w เป็นปัจจัยสำคัญที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตเมื่อค่า a_w ต่ำกว่า 0.90 (Gould and Christian. 1988) เป็นผลให้เมื่อระยะเวลาการบ่มซาลามินานขึ้นจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งสองกลุ่มจึงลดลงจากสัปดาห์ที่ 2, 3, 4 และ 5 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Samelis *et al.* (1998) ได้ศึกษาความปลอดภัยในทางจุลชีววิทยาของ Greek Salami ซึ่งทำการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลง ทางด้านเชื้อจุลินทรีย์ ทางกายภาพ ในระหว่างกระบวนการหมัก และบ่ม ในวันที่ 0, 3, 4, 7, 14 และ 28 วัน เมื่อสิ้นสุดการบ่ม มีค่า pH อยู่ที่ 5.0-5.2 มีเปอร์เซ็นต์ความชื้น เท่ากับ 22.7-30.3 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 0, 3, 4, 7, 14 และ 28 วัน มีค่าอยู่ที่ 4.39-6.04, 6.82-8.59, 7.94-8.66, 8.07-8.81, 8.07-8.69 และ 7.78-8.23 log cfu/g ตามลำดับ และพบว่าในสัปดาห์ที่ 1 หรือวันที่ 7 มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกสูงที่สุด มีค่าอยู่ที่ 8.07-8.81 log cfu/g และหลังจากนั้น จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกจึงมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาบ่มที่นานขึ้น และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Aquilanti *et al.* (2007) ทำการศึกษาทางด้านเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในตัวอย่างซาลามิของอิตาลีที่หมักตามธรรมชาติ ซึ่งพบว่าปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่เริ่มการหมักมีจำนวน 5.85 log cfu/g จากนั้นจะเพิ่มปริมาณขึ้นสูงที่สุดในช่วงวันที่ 3-7 ของการหมักมีจำนวน 8.56 log cfu/g หลังจากนั้นจึงค่อยลดลงจำนวนลง มีรายงานว่า แบคทีเรียกรดแลคติกที่มีความสำคัญมากในกระบวนการหมักของซาลามิ ได้แก่ *Lactobacillus* spp. ซึ่งมีคุณสมบัติที่มีประโยชน์ในการสร้างกรด อีกทั้งยังช่วยให้เกิดความสม่ำเสมอทางด้านสี และรสชาติของผลิตภัณฑ์ด้วย (Herreros *et al.* 2005) นอกจากนี้ยังช่วยควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ดีในไส้กรอกหมักเปรี้ยวแบบแห้ง ซึ่งพบว่าเมื่อมีการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus* spp. > 7 log cfu/g จะพบการลดลงอย่างมากของเชื้อ Enterobacteria, Staphylococci และ *Pseudomonas* (Sidira *et al.* 2014)

5.1.2 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมในซาลามิเนื้อโค

ผลจากการศึกษาพบว่า การเสริมสารสกัดชาเขียวมีผลต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมในซาลามิ โดยกลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียว มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมต่ำกว่า กลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยพบว่าในสัปดาห์ที่ 2, 3, 4 และ 5 ของการบ่ม ในกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมมากกว่า กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับผลการวิเคราะห์จำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในซาลามีเนื้อโค ในกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์รวมที่พบในเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์ นั้นมีทั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ดี และจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น แบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งสารสกัดชาเขียวมีแร่ธาตุแมงกานีส (Mn) ที่กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้ จึงทำให้ซาลามีกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียวมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมมากกว่ากลุ่มควบคุม

เมื่อระยะเวลาการบ่มซาลามีนานขึ้นจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมทั้งสองกลุ่มจะเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 0 และมีจำนวนสูงที่สุดในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ของการบ่ม ซึ่งในกลุ่มควบคุมมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวม อยู่ที่ $7.01 \log \text{ cfu/g}$ และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวม อยู่ที่ $7.26 \log \text{ cfu/g}$ เนื่องจากในช่วงเวลาดังกล่าวมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ เช่น อุณหภูมิที่สูง 22-24 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90-96 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ในการผลิตซาลามีเรียกสภาวะดังกล่าวว่าเป็นการเข้าสู่กระบวนการหมักเปรี้ยว (Fermentation) จึงทำให้ช่วงสัปดาห์ที่ 1 พบจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมสูงที่สุดโดยทั่วไปเชื้อจุลินทรีย์รวมในซาลามีจะมีค่าอยู่ที่ 10^6 ต่อกรัมของซาลามี (Feiner, 2006) หลังจากนั้นจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวม จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาของการบ่มนานขึ้น เนื่องจากเข้าสู่กระบวนการบ่ม (Ripening) ซึ่งจะลดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ลง เพื่อให้ซาลามีแห้ง และทำให้ค่า a_w ในซาลามีลดลงอย่างต่อเนื่อง จึงเป็นผลทำให้เมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้จำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมจึงลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Papa *et al.* (1995) ได้ศึกษาเรื่องการผลิต Milano Salami จากเนื้อโคและสุกร เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ ระยะเวลาในการหมักบ่ม 70 วัน ทำการตรวจวัด เชื้อจุลินทรีย์ ค่า pH และค่า a_w ในวันที่ 0, 3, 7, 21, 45 และ 70 ของการบ่ม พบจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมเท่ากับ 6.52, 7.96, 8.67, 8.77, 8.66 และ 8.52 $\log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ ซึ่งมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวม สูงในช่วงวันที่ 7 และ 21 ของการบ่ม และหลังจากนั้นจะมีแนวโน้มการลดลงของเชื้อ ส่วนค่า pH เท่ากับ 5.82, 5.54, 5.13, 5.05, 5.19 และ ตามลำดับ

5.1.3 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนยีสต์ ราในซาลามีเนื้อโค

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดชาเขียวมีผลต่อจำนวนยีสต์ ราในซาลามีเนื้อโค ในสัปดาห์ที่ 5 ของการบ่ม โดยจำนวนยีสต์ รา ในกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) มีค่าอยู่ที่ 4.78 และ 4.24 $\log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ ส่วนในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3 และ 4 ของการบ่ม ในซาลามีเนื้อโคพบว่าในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยีสต์ รา ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) ทั้งนี้สารคาเทชินสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้หลายชนิด รวมทั้งเชื้อรา Hirasawa and Takada. (2004) ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อรา และยีสต์สารพันธุ์ *Candida albicans* ที่เพาะเลี้ยงไว้ในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้สารสกัดอพิแกลโลคาเทชิน แกลเลต (Epigallocatechin gallate,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EGCG) ผสมกับยาด้านเชื้อรา ผลการทดลองพบว่าสารสกัดคอปิเกลโลคาเทซิน แกลเลต 2.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อราได้มากกว่ากลุ่มควบคุมเป็น ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ Ku *et al.* (2008) นำสารสกัดชาเขียว และสารคาเทชินเคลือบที่กระดาษห่อขนมปัง เพื่อลดการเจริญเติบโตของยีสต์ และรา จากผลการทดลองพบว่าปริมาณของสารคาเทชินที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร และสารสกัดชาเขียวที่ระดับ 2.83 และ 5.60 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 1, 2 และ 3 ของการตรวจเชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนยีสต์ และราต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) จำนวนยีสต์ รา จะเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 0 และสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 2 ของการบ่มโดยกลุ่มควบคุมมีจำนวนอยู่ที่ 5.59 log cfu/g กลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยีสต์ รา เท่ากับ 5.35 log cfu/g หลังจากนั้น มีแนวโน้มเริ่มลดลง จากสัปดาห์ที่ 3 ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 5 ของการบ่มที่นานขึ้น Feiner (2006) กล่าวว่า ยีสต์ ราเจริญได้ดีที่มีความเป็นกรด หรือมีค่า pH ประมาณ 4.5 และอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 25 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญได้ดีในผลิตภัณฑ์ที่มีค่า a_w ต่ำกว่ากลุ่มแบคทีเรียชนิดอื่นๆ จึงทำให้พบมากในช่วงสัปดาห์ที่ 2 ของการบ่มผลิตภัณฑ์ซาลามิ ซึ่งมีค่า a_w อยู่ที่ประมาณ 0.920-0.940 จึงทำให้ช่วงเวลาดังกล่าวพบปริมาณยีสต์ที่สูง และหลังจากนั้นยีสต์ ราจะเริ่มลดลงตามจำนวนวันที่เพิ่มขึ้น และค่า a_w ที่ต่ำลงด้วย โดยปกติแล้วจะพบยีสต์ ในปริมาณมากถึง 10^6 cfu/g .ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักแห้ง (Cocolin *et al.* 2011) หลังจากกระบวนการบ่มสิ้นสุดลงพบปริมาณยีสต์ และรา จำนวน 3.0 และ 5.0 log cfu/g ตามลำดับ ในซาลามิ Felino (Tabanelli *et al.* 2012) และพบเชื้อยีสต์ในซาลามิ Ciauscolo มีค่าอยู่ที่ 2.70-5.95 log cfu/g สายพันธุ์ที่พบมากคือ *Debaryomyce hansenii* (Silvertri *et al.* 2007) ถึงแม้ว่ายีสต์ จะไม่ใช่กลุ่มเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในกระบวนการหมักตามธรรมชาติ แต่การเพิ่มจำนวนในปริมาณมากยังชี้ให้เห็นว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้อาจมีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมัก (Andrade *et al.* 2010) ปัจจุบันจึงมีการคัดแยกสายพันธุ์ยีสต์จากผลิตภัณฑ์เนื้อหมักแห้ง คือ *Debaryomyces hansenii* ซึ่งมีเอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนสูง (Durá *et al.* 2004) มีการรายงานว่ามีอิทธิพลทางบวกต่อสารระเหยที่เกี่ยวข้องในการพัฒนาทางด้านรสชาติ (Flores *et al.* 2010) อีกทั้งยังช่วยชะลอการเหม็นหืนและป้องกันการสลายตัวของไมโอโกลบินในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักแห้ง *Debaryomyces hansenii* เป็นยีสต์สายพันธุ์ที่สามารถทนต่อค่า a_w ที่ต่ำ และสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่ ค่า a_w 0.86 นอกจากนี้ยังพบรา *Penicillium spp.* ทำให้เกิดเส้นใยสีขาว หรือเทาขาวบริเวณพื้นผิวของซาลามิ ราที่พบบนพื้นผิวซาลามิไม่ควรมีสีเขียว ดำ หรือเหลือง นอกจากนี้ราที่ขึ้นบนพื้นผิวซาลามิยังมีประโยชน์ในการพัฒนารสชาติ และช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในตัวผลิตภัณฑ์ได้ด้วย เนื่องจากการเจริญบนผิวซาลามิ ทำให้เกิดการป้องกัน แสง และออกซิเจนเข้าไปทำปฏิกิริยากันไขมันในผลิตภัณฑ์ และยังช่วยป้องกันการแข็งตัวของไส้บรรจุ (case hardening) (Feiner. 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.1.4 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวน Coliforms ในชาลามีเนื่อโค

จากการศึกษาพบว่า การเสริมสารสกัดชาเขียวที่ 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อจำนวน Coliforms ในชาลามีเนื่อโค โดยกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน Coliforms ต่ำกว่า กลุ่มควบคุม ในสัปดาห์ที่ 1 ($P < 0.05$) เนื่องจาก Coliforms เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) จากการศึกษาของ Amarowicz *et. al.* (2000) พบว่าสารสกัดจากชาเขียว ได้แก่ proanthocyanidins (catechins), epigallocatechin epicatechin, และ epigallocatechin gallate ที่ระดับความเข้มข้นที่มากกว่า 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ และมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* K 12 ได้อีกด้วย นอกจากนี้การตรวจพบเชื้อ Coliforms ในสัปดาห์ที่ 0, 1 และ 2 อาจเป็นเพราะว่าเชื้อเหล่านี้ปนเปื้อนในขั้นตอนกระบวนการผลิต ที่มีการใช้น้ำแข็งหล่อในเครื่องสับผสม และเครื่องอัดใส่บรรจุเพื่อลดอุณหภูมิตัวเครื่องลง และทำความสะอาดเครื่องไม่ดีพอหลังจากเอาน้ำแข็งออก การตรวจพบ Coliforms เป็นดัชนีบ่งชี้ว่าเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์นั้นมีสุขลักษณะที่ไม่ดี มีการปนเปื้อนอุจจาระ หรือผ่านกระบวนการผลิตที่ไม่สะอาด (คมแห พิลาสสมบัติ. 2550) Fontana *et al.* (2005) กล่าวว่า Coliforms สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีหรือไม่มีอากาศก็ได้ (facultatively anaerobic) อุณหภูมิที่เหมาะสม 35 องศาเซลเซียส ซึ่งในกระบวนการบ่มชาลามีเนื่อโคในช่วงสัปดาห์ที่ 3, 4 และ 5 อุณหภูมิของการบ่มอยู่ที่ 14 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ อยู่ที่ 65 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่เหมาะกับการเจริญของเชื้อ Coliforms จึงมีส่วนทำให้ตรวจไม่พบ Coliforms ที่ระดับความเจือจาง 1: 10 ทั้งสองกลุ่มตัวอย่างชาลามีเนื่อโคในสัปดาห์ที่ 3, 4 และ 5 เนื่องจากในช่วงเวลาการบ่มที่นานขึ้นตามขั้นตอนกระบวนการผลิต มีหลายปัจจัย ที่มีส่วนยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เช่น ค่า pH, a_w , และความชื้นในผลิตภัณฑ์ต่ำลง ทำให้สภาวะดังกล่าวไม่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอีกต่อไป Silvertri *et al.* (2007) ตรวจสอบทางด้านจุลินทรีย์ใน ชาลามี Ciauscolo โดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ และเทคนิค PCR-DGGE จากการนำชาลามี Ciauscolo ที่ขายทั่วไปจาก 22 ร้านค้า โดยเก็บมาตรวจเชื้อร้านละ 1 ตัวอย่าง ทำการตรวจวัดเชื้อจุลินทรีย์ Coliforms, *E. coli*, CNC (coagulase negative cocci), ยีสต์ และแบคทีเรียกรดแลคติก ผลจากการตรวจเชื้อ Coliforms พบว่า 18 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 22 ตัวอย่าง พบเชื้อ Coliforms $< 10 \log \text{ cfu/g}$ มี 4 ตัวอย่างที่พบ Coliforms มีจำนวนเท่ากับ 1.0-2.43 $\log \text{ cfu/g}$ ผลทางด้านเชื้อ *E. coli* 20 ตัวอย่าง พบว่ามีค่า $< 10 \log \text{ cfu/g}$ มีเพียง 2 ตัวอย่างที่พบ *E. coli* มีค่า 1.0 และ 1.6 $\log \text{ cfu/g}$ ซึ่งการตรวจไม่พบ หรือพบในปริมาณที่น้อยของเชื้อ Coliforms และ *E. coli* แสดงให้เห็นถึงความปลอดภัย และสุขลักษณะที่ดีในการผลิตชาลามี Ciauscolo ส่วนเชื้อ CNC พบมีค่าอยู่ระหว่าง 3.0-6.60 $\log \text{ cfu/g}$ ในส่วนของเชื้อยีสต์ มีค่าอยู่ที่ 2.70-5.95 $\log \text{ cfu/g}$ สายพันธุ์ที่พบมากคือ *Debaryomyce hansenii* และพบปริมาณเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมีค่าอยู่ที่ 6.77-8.65 $\log \text{ cfu/g}$ ส่วนมากเป็น *L. sakei* และ *L. curvatus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.1.5 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวน *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella* spp.

ในซาลามิเนื้อโค

ผลจากการศึกษาการตรวจเชื้อ *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella* spp. ในซาลามิเนื้อโคทั้งสองกลุ่ม ไม่พบเชื้อ *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella* spp. ใน 25 กรัมของซาลามิเนื้อโคในทุกระยะเวลาของการตรวจ เนื่องจากในขั้นตอนการผลิตผลิตภัณฑ์ซาลามิ เริ่มต้นตั้งแต่วัตถุดิบที่ไม่มีการปนเปื้อน และขั้นตอนการนำไปแช่แข็งเนื้อ และไขมันที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนนำมาผลิต ทั้งนี้การแช่แข็งเนื้อสามารถฆ่า และลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Feiner, 2006) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Heir *et al.* (2013) นำไส้กรอกเปรี้ยวหมักแห้ง 2 ชนิด ได้แก่ Salami และ Morr ที่มีการเติมเชื้อ *E. coli* ลงในผลิตภัณฑ์ปริมาณ 10^7 cfu/g แล้วบรรจุในถุงสุญญากาศ (vacuum) จากนั้นนำไปแช่แข็ง ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 17 ชั่วโมง แล้วนำออกมาละลาย (thawing) ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 7 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแช่เย็นต่อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือน แล้วนำมาตรวจเชื้อ *E. coli* พบอัตราการลดลงของเชื้อ 0.7-2.6 log (Feiner (2006) รายงานว่า *S. aureus* และ เชื้อ *Salmonella* spp. สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิต่ำสุดที่ 7 และ 5 องศาเซลเซียส เพราะฉะนั้น เชื้อดังกล่าวอาจถูกทำลายไปตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ ในช่วงแรกของการผลิต สำหรับการตรวจเชื้อ *S. aureus* ในซาลามิต้องไม่เกิน 10^3 - 10^4 ต่อกรัมของซาลา ในช่วงแรกของการผลิต และต้องไม่พบ *S. aureus* หลังจากกระบวนการผลิตเสร็จสิ้น Papa *et al.* (1995) ได้ศึกษาเรื่องการผลิต Milano Salami ที่มีคุณภาพดีและปลอดภัย ตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ในทุกระยะของการตรวจเชื้อ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Aquilanti *et al.* (2007) ทำการศึกษาระบบนิเวศของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในตัวอย่างซาลามิของอิตาลีที่หมักตามธรรมชาติ ในระหว่างการหมัก ได้เก็บตัวอย่างซาลามิมาวิเคราะห์ทางกายภาพ และทางเคมี วัด ค่า pH และ a_w ตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวม แบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งพบว่าปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่เริ่มการหมักมีจำนวน 5.85 log cfu/g จากนั้นจะเพิ่มปริมาณขึ้นสูงที่สุด ในช่วงวันที่ 3 ของการหมักมีจำนวน 8.56 log cfu/g หลังจากนั้นจึงค่อยลดจำนวนลง ส่วนเชื้อยีสต์พบว่าในวันแรกของการหมักจะมีจำนวน 3.10 log cfu/g และจะค่อยเพิ่มจำนวนมากขึ้น สูงสุด ในช่วง 30-45 วันของการบ่ม มีจำนวน 5.89 log cfu/g ส่วน *Staphylococcus aureus* และ *E. coli* มีจำนวน <2 log cfu/g และ <1 log cfu/g ตามลำดับ ในขณะที่ *L. monocytogenes* และ *Salmonella* spp. นั้น ไม่พบใน 25 กรัม ของผลิตภัณฑ์ และมีการจำแนกชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อที่พบในซาลามิด้วยวิธีการทางชีวโมเลกุล จากผลการศึกษาพบความหลากหลายของเชื้อจุลินทรีย์ พบเชื้อ *Lactobacillus curvatus*, *Lb. plantarum* และ *Staphylococcus xylosus* ส่วนยีสต์ที่พบจะเป็นกลุ่มของ *Debaryomyces hansenii* สำหรับงานวิจัยนี้ไม่พบเชื้อ *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella* spp. ในทุกระยะเวลาของการหมักบ่มถือเป็นผลิตภัณฑ์ที่ดีและปลอดภัย

5.2 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อคุณภาพของชาลามีเนื้อโค

5.2.1 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่าความสว่าง สีแดง และสีเหลืองในชาลามีเนื้อโค

การเสริมสารสกัดชาเขียวไม่มีผลต่อค่าความสว่าง และสีเหลืองในชาลามี ทั้งกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ แต่ระยะเวลาในการบ่มนานขึ้น มีผลทำให้ค่าความสว่าง และค่าสีเหลือง ของทั้งกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ เริ่มลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เนื่องจากระยะเวลาของการเก็บรักษามีผลต่อสีของเนื้อ ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลา ด้านความสว่างของเนื้อสุกรและเนื้อ โคพบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาที่นานขึ้น จะส่งผลให้ค่าความสว่างของเนื้อลดลง สีของเนื้อจะคล้ำลง จากวันที่เริ่มต้นการผลิต (Ledward. 1992) การที่ค่าความสว่าง และค่าสีเหลืองที่มีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาในการบ่มนั้น เกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล โดยไม่ใช่เอนไซม์ (non-enzymatic browning reaction) ซึ่งเกิดจากน้ำตาลรีดิวซ์ทำปฏิกิริยากับสารประกอบไนโตรเจนจากเนื้อสัตว์ เป็นสาเหตุทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดเป็นสีน้ำตาล หรือมีสีคล้ำด้วย (Cämmerer *et al.* 1999)

จากการศึกษาพบว่า การเสริมชาเขียวในชาลามีมีผลทำให้ค่าสีแดง ของชาลามี ที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าต่ำกว่า กลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) โดยกลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียวมี และกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ค่าสีแดงอยู่ที่ 12.60 และ 12.31 ตามลำดับ เหตุผลที่เป็นเช่นนี้ เป็นผลมาจากสารสกัดชาเขียวมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านการออกซิเดชันของโปรตีนและไขมันในเนื้อ ซึ่งมีผลทำให้ออกซิเจนไม่สามารถเข้าไปจับกับไมโอโกลบินที่มีอยู่ในเนื้อได้ การเกิดการออกซิเดชันของ oxymyoglobin จึงไม่สามารถเกิดได้ ส่งผลให้ชาลามีที่เสริมสารสกัดชาเขียวมีสีแดงต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (Akamittath *et al.* 1990) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นมีผลทำให้ค่าสีแดงของชาลามี มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นด้วย ($p < 0.05$) โดยค่าสีแดงของชาลามีจะต่ำที่สุดในสัปดาห์ที่ 0 ซึ่งเท่ากับ 7.3 และค่อยเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 1, 2, และ 3 จนถึงในสัปดาห์ที่ 4 และ 5 ของการบ่ม เกิดจากการพัฒนาสีที่ปรากฏในช่วงเวลาการหมัก เป็นผลมาจากการที่มีค่า pH ลดลงในช่วงแรกของการหมักและอยู่ในสภาพรีดิวซ์ไนโตรที่ ไนโตรที่ จึงถูกเปลี่ยนไปเป็นก๊าซไนตริกออกไซด์ ซึ่งทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบิน ได้สาร nitrosomyoglobin ซึ่งก่อให้เกิดสีชมพู (light pink) ในผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้ผู้บริโภคส่วนใหญ่มักสังเกตดูที่สีของผลิตภัณฑ์ เป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจในการเลือกซื้อ โดยสีของผลิตภัณฑ์สามารถบ่งบอกถึงการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์ได้อีกด้วย (ไพโรจน์ วิริยจารี และคณะ. 2538)

5.2.2 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นในชาลามีเนื้อโค

จากการศึกษาพบว่า การเสริมสารสกัดชาเขียวไม่มีผลต่อค่าความชื้นในชาลามี ในกลุ่มที่เสริมสารสกัดจากชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มควบคุมมีค่าความชื้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ (> 0.05) ซึ่งทั้งสองกลุ่มมีค่าความชื้นอยู่ที่ 40.05 เท่ากันทั้งสองกลุ่ม เมื่อระยะเวลาการบ่มชาลามี

นานขึ้นทำให้ เเปอร์เซ็นต์ความชื้นของซาลามิลดลงจากสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และสัปดาห์ที่ 5 ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นอยู่ที่ 53.58, 45.47, 40.71, 36.35, 34.03 และ 30.17 ตามลำดับ (<0.05) Feiner (2006) กล่าวว่าจากกระบวนการผลิตซาลามิ ต้องมีการควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ให้อยู่ที่ประมาณ 90-93 เเปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิที่ 22-26 องศาเซลเซียส ซึ่งในช่วงแรกของการหมักต้องเตรียมความชื้นให้เพียงพอต่อการเจริญของจุลินทรีย์กล้าเชื้อที่เติมลงในซาลามิ และขั้นตอนต่อไปก็จะมี การควบคุมความเร็วลมในเครื่องบ่มให้สูงขึ้น เพื่อเข้าสู่กระบวนการทำให้ผลิตภัณฑ์แห้งโดยลดความชื้นสัมพัทธ์ในการบ่มอย่างต่อเนื่อง กระบวนการทำให้ซาลามิแห้ง ขึ้นอยู่กับความเสถียรของผลิตภัณฑ์ ซาลามิชนิดแบบหมักเร็ว (fast-fermented salami) โดยทั่วไปจะเริ่มแห้งหลังจาก 36-48 ชั่วโมง ซาลามิชนิดหมักกึ่งเร็ว (medium-fast fermented salami) จะเริ่มแห้ง หลังจาก 76-96 ชั่วโมง เมื่อค่า pH อยู่ที่ 5.2 หรือต่ำกว่า ขณะที่เข้าสู่กระบวนการทำให้ผลิตภัณฑ์แห้ง อุณหภูมิในตูบ่มถูก ลดลงอยู่ที่ 12-15 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ลดลงอยู่ที่ 72-75 เเปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เปอร์เซ็นต์ความชื้นของผลิตภัณฑ์ซาลามิจะลดลงจากวันเริ่มต้น ซึ่งมีค่าเท่ากับ 55.17 เเปอร์เซ็นต์ เหลือ 30.68 เเปอร์เซ็นต์ คิดเป็นปริมาณการสูญเสียน้ำหนักประมาณ 44 เเปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Samelis *et al.* (1998) ได้ศึกษาเกี่ยวกับความเสถียร และความปลอดภัยใน Greek salami โดยวัดค่า เเปอร์เซ็นต์ความชื้นในตัวผลิตภัณฑ์ ในวันที่ 0, 3, 4, 7, 14 และ 28 วัน ของการบ่ม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 52.4, 50, 48.8, 44.5, 37.2 และ 30.3 เเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

5.2.3 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่า pH ในซาลามิเนื้อโค

จากการศึกษาพบว่า การเสริมสารสกัดชาเขียวไม่มีผลต่อค่า pH ของซาลามิ โดยพบว่าค่า pH ในซาลามิกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมสารสกัดจากชาเขียว 0.2 เเปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (> 0.05) ซึ่งมีค่าอยู่ที่ 4.89 และ 4.90 ตามลำดับ แต่พบว่าระยะเวลาของการบ่มซาลามิมีผลต่อค่า pH ของซาลามิ (<0.05) เมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้ค่า pH ลดลง และค่าต่ำสุดในสัปดาห์ที่ 1 ของการบ่ม โดยมีค่าอยู่ที่ 4.60 เนื่องจากการสร้างกรดของแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งสอดคล้องกับจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในซาลามิเนื้อโคทั้งสองกลุ่มมีค่าสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 1 เนื่องจากมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เรียกสภาวะดังกล่าวนี้ว่า กระบวนการหมักเปรี้ยว (Fermentation) หลังจากนั้นค่า pH ของซาลามิจะค่อยเพิ่มสูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 2, 3, 4 และ 5 ของการบ่ม โดยค่าอยู่ที่ 4.76, 4.81, 4.70 และ 4.83 ตามลำดับ ซึ่งแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ไปในทิศทางเดียวกับ ค่า pH ในซาลามิ Milano ที่ทำการวัดค่าในวันที่ 0, 7, 14, 21, 28 และ 42 ของการบ่ม แล้วพบว่า ค่า pH ในซาลามิ Milano วันที่ 0 มีค่าเท่ากับ 5.60 และลดลงต่ำสุดในวันที่ 7 ของการบ่ม มีค่าอยู่ที่ 4.97 หลังจากนั้นค่า pH จึงมีแนวโน้มสูงขึ้น (Maristela-Cortez *et al.* 2008) เป็นผลมาจากการเข้าสู่กระบวนการบ่ม (Ripening) ซึ่งจะลดอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ เพื่อให้ซาลามิแห้ง และค่า a_w ลดลง ซึ่งส่งผลต่อการลดลงของแบคทีเรียกรดแลคติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และการสร้างกรดจึงลดลงด้วย ส่งผลให้ค่า pH ในซาลามิเริ่มสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ercan *et al.* (2007) ได้ทำการทดลองในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบแห้ง Sucuk พบการลดลงของค่า pH อย่างรวดเร็วในสัปดาห์แรกของการบ่ม การที่ค่า pH มีแนวโน้มสูงขึ้นภายหลังการบ่มที่นานขึ้น เป็นผลมาจากการสูญเสียน้ำออกจากผลิตภัณฑ์มีผลทำให้ค่า a_w ของผลิตภัณฑ์ซาลามิลดลงตามระยะการบ่มที่เพิ่มขึ้น Aquilanti *et al.* (2007) ได้ศึกษาทางด้านเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในตัวอย่างซาลามิของอิตาลีที่หมักตามธรรมชาติ ในระหว่างการหมักได้เก็บตัวอย่างซาลามิมาวีเคราะห์ทางกายภาพและทางเคมี วัดค่า pH, a_w ตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวม และแบคทีเรียกรดแลคติก พบว่าปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่เริ่มการหมักมีจำนวน 5.85 log cfu/g จากนั้นจะเพิ่มปริมาณขึ้นสูงที่สุดในช่วงวันที่ 3 ของการหมักมีจำนวน 8.56 log cfu/g ส่งผลให้ค่า pH ลดลงต่ำสุดในวันที่ 3 ของการหมักเช่นกัน และค่า pH อยู่ที่ประมาณ 4.6 หลังจากนั้น ค่า pH จะค่อยสูงขึ้นมาอยู่ที่ 5.04 ในช่วงสุดท้ายของการหมัก Feiner (2006) กล่าวว่าค่า pH ที่ลดลงถึง 5.2 จะช่วยป้องกันเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Staphylococcus aureus* ในผลิตภัณฑ์ได้ ตามข้อกำหนดของ USDA-FSIS (2011) กล่าวว่าในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวหมักแห้ง ควรมีค่า pH ต่ำกว่า 5.2 จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวและปลอดภัย

5.2.4 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่า a_w ในซาลามิเนื้อโค

จากผลการทดลองพบว่าค่า a_w ของซาลามิพบว่าในกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่า a_w มากกว่าซาลามิกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งในกลุ่มที่ควบคุม จะมีค่า a_w เท่ากับ 0.927 และกลุ่มที่เสริมสารสกัดจากชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่า a_w เท่ากับ 0.929 ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดชาเขียวไปเคลือบผิวสัมผัสของเนื้อทำให้การระเหยน้ำเกิดขึ้นได้ยาก

ส่วนอิทธิพลของระยะเวลาการบ่ม พบว่าเมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้ค่า a_w ลดลง เมื่อเทียบสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มีค่า a_w เท่ากับ 0.965, 0.956, 0.941, 0.922 และ 0.883 ตามลำดับ ซึ่งมีความต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Moretti *et al.* (2004) ทำการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของ Sicilian Salami ในรูปแบบการบ่มที่แตกต่างกัน 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่หนึ่ง (TR salami) บ่มในห้องแบบดั้งเดิม นาน 90 วัน ที่อุณหภูมิระหว่าง 6.5-18.3 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 67-82 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่สอง (RR salami) ใช้ห้องบ่มแบบโรงงานอุตสาหกรรม ที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 69 เปอร์เซ็นต์ ใน 7 วันแรก หลังจากนั้นบ่มต่อด้วยอุณหภูมิ 9.2-10.5 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 72-85 เปอร์เซ็นต์ อีก 83 วัน จากการวัดค่า a_w ของทั้งสองกลุ่ม พบว่า กลุ่ม (TR salami) มีค่า a_w เท่ากับ 0.97-0.81 ซึ่งต่ำกว่า กลุ่ม (RR salami) มีค่าเท่ากับ 0.97-0.83 ($P < 0.05$) Feiner (2006) กล่าวว่า ซาลามิที่มีการใช้ปริมาณไขมันที่สูงขึ้นจะทำให้ค่า a_w เริ่มต้นของซาลามิต่ำลง และต้องใช้ความชื้นสัมพัทธ์ที่สูงขึ้นในกระบวนการหมัก โดยเฉพาะในช่วง 24-48 ชั่วโมงแรก เพื่อป้องกันการแข็งตัวของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไ้บรจุ โดยทั่วไปซาลามีจะมีค่า a_w หลังจากบรจุไ้อยู่ที่ 0.96-0.97 หลังจากผ่านกระบวนการบ่ม ซึ่งใช้เวลาประมาณ 30 วัน ค่า a_w จะลดลงที่ 0.88 ค่า a_w ที่ต่ำกว่า 0.95 จะสามารถช่วยป้องกันเชื้อ *Salmonella* spp. ค่า a_w ต่ำกว่า 0.89 จะช่วยยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ตามข้อกำหนดของ USDA-FSIS (2011) กล่าวว่ในผลิตภัณฑ์ไ้กรอกเปรี้ยวหมักแห่ง ควรมีค่า a_w ต่ำกว่า 0.91 จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวและปลอดภัย สำหรับในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักแห้งที่มีค่า pH สูง (> 5.3) เช่น ไ้กรอก Chorizo ค่า a_w จะเป็นปัจจัยสำคัญมากสำหรับความปลอดภัย ซึ่งค่า a_w จะต้องต่ำกว่า 0.91 (Sánchez-Zapata *et al.* 2013) สุมณฑา วัฒนสินธุ์ (2545) กล่าวว่ ค่า a_w เป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร ซึ่งค่า a_w ต่ำสุดที่จุลินทรีย์ต้องการในการเจริญเติบโตของแต่ละชนิดนั้นมีค่าแตกต่างกัน โดยมีหลักการว่าต้องปรับค่า a_w ของอาหารให้ต่ำกว่า จึงจะสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้

5.2.5 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อค่าการออกซิเดชันของไขมันในซาลามี (mg MDA/kg)

จากการศึกษาพบว่า สารสกัดชาเขียวมีผลต่อค่าการออกซิเดชันของไขมันในซาลามี โดยพบว่ากลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการออกซิเดชันต่ำกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งมีค่า 1.199 และ 1.561 mg MDA/kg ตามลำดับ เนื่องจากชาเขียวมีองค์ประกอบทางเคมีมากมาย และสารที่สำคัญ ได้แก่ สารกลุ่มฟอลิฟินอล เช่น Catechin, Gallates catechin ซึ่งสาร Catechin มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพ (Taylor *et al.* 2005) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Bozkurt (2006) ที่ศึกษาการใช้ประโยชน์จากสารสกัดจากธรรมชาติ คือ สารสกัดชาเขียวและน้ำมันไ้ โดยเปรียบเทียบกับการใช้สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ คือ BHT (Butylated hydroxy anisole) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ประโยชน์จากสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติเพิ่มมากขึ้น และลดการใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์จากสารเคมี โดยทดสอบในไ้กรอก Sucuk (ไ้กรอกหมักแห่งของตุรกี) ด้วยการวิเคราะห์ค่า TBARS ค่า pH และ สี ในวันที่ 2, 4, 6, 8, 10, 13 และ 15 ของการบ่ม ผลการทดสอบพบว่า ค่า TBARS ของไ้กรอก Sucuk ที่เสริมสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติมีค่าต่ำกว่า กลุ่มที่เสริมสาร BHT ส่วนทางด้านคุณภาพ และพบว่า ค่าสี L^* , a^* ค่า pH และการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยรวมแล้วไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Tang *et al.* (2002) ศึกษาถึงความสามารถในยับยั้งการออกซิเดชันของไขมันในเนื้อไก่ส่วนอก ด้วยการเสริมสารคาเทชินลงในอาหารเลี้ยงไก่ โดยแบ่งเป็น 6 สูตร ดังนี้ กลุ่มควบคุม (C) กลุ่มที่เสริมคาเทชินความเข้มข้น 50 , 100 , 200 , 300 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และกลุ่มที่เสริมด้วยสาร α -tocopheryl acetate 200 (VEA200) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง นำเนื้อส่วนหน้าอกที่ได้เก็บใส่ถุงพลาสติกแบบสุญญากาศ นำไปเก็บรักษาแบบแช่แข็ง (-20 องศาเซลเซียส) นาน 12 เดือน เมื่อครบกำหนดจึงนำเนื้อหน้าอกออกมามาวิเคราะห์ค่า TBARS พบว่ากลุ่มที่เสริมคาเทชินที่ระดับความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร สามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยับยั้งการออกซิไดซ์ของไขมันได้ดีที่สุด เนื่องจากค่า TBARS ต่ำที่สุด ส่วนกลุ่มเสริมด้วยสาร α -tocopheryl acetate 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในด้านระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้นมีผลทำให้ค่าการออกซิเดชันของไขมันในซาลามิเพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มีค่าการออกซิเดชันของไขมันเท่ากับ 0.164, 0.202, 0.844, 1.965, 2.169 และ 2.933 mg MDA/kg ตามลำดับ ในซาลามิ Poličan จะมีค่า TBARS ในวันที่ 0 ของการบ่มเท่ากับ 0.330 mg MDA/kg เมื่อสิ้นสุดการบ่มในวันที่ 30 มีค่า TBARS เท่ากับ 2.220 mg MDA/kg (Kamenik *et al.* 2012) ในระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้นมีผลทำให้ค่าการออกซิเดชันของไขมันในซาลามิเพิ่มขึ้น เนื่องจากไขมันในผลิตภัณฑ์สัมผัสกับออกซิเจนเป็นระยะเวลานานขึ้น ซึ่งการออกซิเดชันของไขมัน เกิดจากออกซิเจนเป็นปัจจัยหลัก นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น ทั้งจากภายนอก เช่น แสง อุณหภูมิ ความชื้น และปัจจัยภายในตัวผลิตภัณฑ์ คือสารประกอบต่างๆ ในตัวผลิตภัณฑ์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีในระหว่างการหมักบ่ม และการเก็บรักษา (Jayasingh and Cornforth. 2003) Wójciak and Dolatowski (2012) พบว่าการเสื่อมเสียของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเกิดการแตกตัวของกรดไขมันจำนวนมาก เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน นำไปสู่การเกิด peroxides ได้เป็นผลิตภัณฑ์ปฐมภูมิ (primary product) การสลายตัวของ peroxides ที่ลดลง ทำให้เกิด malondialdehyde (MDA) ขึ้นเป็นผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิ (secondary product) ทำให้ค่า TBARS สูงขึ้น Feiner (2006) กล่าวว่า การทดสอบกรดไทโอบาร์บิturic (Thiobarbituric acid, TBA) เป็นวิธีการหาค่าการออกซิเดชันที่นิยมใช้กันทั่วไปในผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยค่าการหีนจะเริ่มต้นที่ 0.8-1.0 mg MDA/kg Petron *et al.* (2013) พบว่าการออกซิเดชันของไขมันเป็นปัญหาในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักแบบแห้ง ที่ส่งผลเสียทางด้านคุณภาพของผลิตภัณฑ์ การออกซิเดชันของไขมันสามารถเกิดขึ้นได้ตั้งแต่กระบวนการผลิต และการเก็บรักษา ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของสี โดยสีของผลิตภัณฑ์เป็นตัวบ่งชี้ถึงอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ จึงมีความจำเป็นต้องยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาการออกซิเดชันของไขมัน ทั้งขณะทำการผลิต และจัดเก็บ หากต้องการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้นานขึ้น มีหลายวิธีที่นิยมนำมาใช้ เช่นการควบคุมอุณหภูมิ Kamenik *et al.* (2012) ทดสอบอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ซาลามิ Poličan และพบว่าการเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส ผลิตภัณฑ์สามารถเก็บได้นานถึง 120 วัน และ Ščetar *et al.* (2013) ทดสอบอายุการเก็บใส่กรอกหมักแบบแห้ง โดยนำไปสไลด์แล้วบรรจุเก็บแบบสุญญากาศ เปรียบเทียบกับการเก็บแบบเดิมแก๊สไนโตรเจน พบว่าการเก็บแบบสุญญากาศสามารถเก็บได้ 95 วัน ส่วนการเก็บแบบเดิมแก๊สไนโตรเจน สามารถเก็บผลิตภัณฑ์ได้มากกว่า 120 วัน

5.2.6 ผลการประเมินความพึงพอใจทางประสาทสัมผัสของซาลามิเนื้อโค

จากการประเมินความพึงพอใจทางประสาทสัมผัส แสดงให้เห็นว่าในด้านความพึงพอใจโดยรวมของผู้บริโภค มีความชอบผลิตภัณฑ์เนื้อซาลามิที่เสริมสารสกัดชาเขียวที่ 0.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 3.75 ซึ่งมากกว่ากลุ่มควบคุม ที่มีค่า 3.41 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนความพึงพอใจในเรื่องของสี กลิ่น และรสชาติ พบว่าผู้บริโภคมีความพึงพอใจไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) โดยความพึงพอใจในด้านกลิ่นจากการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสพบว่า ได้คะแนนน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ การทดสอบทางด้าน สี รสชาติ และความชอบโดยรวม โดยมีคะแนนเท่ากับ 2.86 และ 2.87 ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะซาลามิเนื้อ โคที่นำมาทดสอบนี้ ได้ผ่านการเก็บรักษาแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน หลังจากกระบวนการบ่มสิ้นสุด จึงทำให้ค่าการออกซิเดชันในซาลามิสูงขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ขึ้นได้ เช่นเดียวกับการทดสอบความพึงพอใจทางประสาทสัมผัสของ Italian salami พบว่าคนส่วนมากไม่ชอบกลิ่นของ Italian salami มีค่าอยู่ที่ 1.1 ส่วนค่าการยอมรับของผลิตภัณฑ์ซาลามิกับคนทั่วโลกมีค่าเท่ากับ 3.8 และความพึงพอใจทางด้านสีของซาลามิ มีค่าเท่ากับ 2.9 (Zanardi *et al.* 2010)



สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของการใช้สารสกัดชาเขียวต่อคุณสมบัติทางจุลินทรีย์ และทางด้านคุณภาพชามีเนื้อโคพื้นเมือง พบว่าสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก และจุลินทรีย์รวม โดยพบว่ากลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว มีจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกและจุลินทรีย์รวมสูงกว่ากลุ่มควบคุม ส่วนยีสต์ รา ในชามีกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับจำนวน Coliforms ในชามีกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และหลังจากนั้นจะเริ่มลดลง และตรวจไม่พบ Coliforms ในสัปดาห์ที่ 3, 4 และ 5 ของการบ่ม นอกจากนี้ในการทดลองครั้งนี้ตรวจไม่พบการเจริญของ *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella* spp. ตลอดระยะเวลาของการบ่มชามีเนื้อโคพื้นเมือง

ส่วนการศึกษาทางด้านคุณภาพในด้านของสีพบว่าสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลต่อค่าความสว่าง และค่าสีเหลืองในชามีเนื้อโค แต่พบว่าระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้ค่าความสว่าง และค่าสีเหลืองในชามีลดลง นอกจากนี้ยังพบอิทธิพลร่วมของการเสริมสารสกัดชาเขียวกับระยะเวลาการบ่มต่อค่าความสว่าง และค่าสีเหลืองด้วย โดยพบว่าเมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้ความสว่าง และสีเหลืองในชามีทั้งสองกลุ่มลดลง แต่สำหรับกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ พบการลดลงของความสว่าง และสีเหลืองในปริมาณที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และพบว่าค่าสีแดงในกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่า กลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้ค่าสีแดง ในชามีเริ่มเพิ่มขึ้น ทางด้านค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น และค่า pH ในชามี ทั้งสองกลุ่ม ไม่แตกต่างกันและเมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้ ค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น และค่า pH ในชามีลดลง ส่วนค่า a_w พบว่าในกลุ่มควบคุมมีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$) เมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้ค่า a_w ในชามีลดลง และพบว่าการใช้สารสกัดชาเขียวเติมลงในผลิตภัณฑ์ชามีสามารถชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (TBARS) ได้ โดยค่าการออกซิเดชันของไขมันในชามีกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้นทำให้ค่าการออกซิเดชันของไขมันในชามีเพิ่มขึ้น ทั้งนี้การออกซิเดชันมีผลทำให้ผู้บริโภคสามารถรับรู้ถึงการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์ได้ จึงส่งผลให้ความพึงพอใจโดยรวมของผู้บริโภคชอบชามีที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0.2 เปอร์เซ็นต์ มากกว่ากลุ่มควบคุม จากผลการทดลองในด้านต่างๆ ทำให้เห็นสมควรที่จะเสริมสารสกัดชาเขียวลงในผลิตภัณฑ์ชามี เนื่องจากสามารถชะลอการออกซิเดชันของไขมันในชามี ซึ่งถือว่าเป็นปัญหาหลักที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมเสีย อีกทั้งยังทำให้ผู้บริโภคได้รับประโยชน์จากชาเขียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยตรง เนื่องจากกระบวนการผลิตชาลามีใช้กระบวนการหมักคิบ ซึ่งไม่ผ่านการให้ความร้อนใดๆ ที่จะไปทำลายสารอาหารและแร่ธาตุที่มีประโยชน์ในชาเขียว เป็นการเพิ่มคุณค่า และมูลค่าให้ผลิตภัณฑ์ได้ด้วย

6.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในการทดลองชาลามีเนื้อ โคลครั้งต่อไปควรเพิ่มระยะเวลาในการบ่มให้มากขึ้น เพื่อให้ค่า a_w ในผลิตภัณฑ์ลดลงต่ำกว่านี้ เพื่อเพิ่มความปลอดภัย ทางด้านเชื้อจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ รา ที่พบว่าสามารถเจริญได้ดีที่ ค่า a_w สูงกว่า 0.88
2. เมื่อสิ้นสุดกระบวนการบ่มชาลามีแล้ว ควรรีบนำไปทำการทดสอบความพึงพอใจ ทางด้านประสาทสัมผัสได้เลย ไม่ควรนำไปเก็บแช่เย็นไว้ก่อน เนื่องจากอาจทำให้ปฏิกิริยาการออกซิเดชันของไขมันในชาลามีเพิ่มขึ้น และเกิดกลิ่นหืนในชาลามี ซึ่งมีผลต่อความพึงพอใจในด้านกลิ่นของชาลามีด้วย
3. ควรมีการทดสอบอายุการเก็บรักษาชาลามี หลังจากกระบวนการหมักบ่มสิ้นสุดลง
4. ควรมีการตรวจจำแนกเชื้อยีสต์ และราที่พบในชาลามีด้วยว่าเป็นสายพันธุ์อะไรเนื่องจากเชื้อยีสต์ และราที่พบในชาลามีมีทั้งชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อผลิตภัณฑ์ และเป็นโทษกับผลิตภัณฑ์ รวมถึงผู้บริโภคด้วย
5. ควรศึกษาเพิ่มเติมว่า สารสกัดจากชาเขียวที่นำมาใช้นี้ สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่นำมาใช้เป็นกล้าเชื้อจุลินทรีย์ได้หรือไม่

บรรณานุกรม

- คมแห พิลาสมบัติ. 2550. เอกสารประกอบการสอน วิชาสุขศาสตร์เนื้อสัตว์. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- จณัญญา สุขเพสน์ และวงศ์ขวัญ จิตนุพงศ์. 2552. “การปนเปื้อนของเชื้อลิสเตอร์เรียในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์แช่แข็ง.” วารสารสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์. 5(1) : 1-15.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2539. เอกสารประกอบการสอน วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ขั้นสูง. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2552. “การใช้ประโยชน์จากเนื้อโคไทย.” หน้า 5-34. ใน จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และพรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ (บรรณาธิการ). คุณค่าเนื้อโคไทย. กรุงเทพฯ : อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.
- ชัยณรงค์ คันทพิณิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. กรุงเทพฯ : ไทยวัฒนาพานิช.
- ณัฐนันท์ มณีนิล. 2554. “ผลของสารสกัดชาเขียวต่อคุณภาพเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ธงชัย พุฒทองศิริ. 2546. “การเก็บรักษาเส้นก๋วยเตี๋ยวสดโดยใช้เทคโนโลยีเฮอริเซลล์.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- นิพัฒน์ ลิ้มสงวน. 2547. “การศึกษากระบวนการสกัดคุณสมบัติในการเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์และสารต้านอนุมูลอิสระของคาเทชินจากชาเขียวของไทย.” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- นิธิยารัตนาปนนท์. 2545. เคมีอาหาร. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- บุษกร อุดรชาติ. 2552. จุลชีววิทยาทางอาหาร. สงขลา : นำศิลป์โฆษณา.
- ไพโรจน์ วิริจารี, ลักษณ์า รุจนะไกรกานต์ และสุชาดา อุนตรกุล. 2538. “การพัฒนาผลิตภัณฑ์แฮมโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม 6. ผลของโซเดียมไนเตรท โซเดียมไนไตรท์ และเชื้อ *Micrococcus varians* ต่อสีที่ปรากฏของผลิตภัณฑ์.” วารสารเกษตร มช. 11(1) : 69-81.
- มาลัยพร ศรีวิระ. 2551. “ผลของสารแบคทีริโอซินและสารสกัดโรสแมรี่ต่อคุณภาพทางจุลินทรีย์และเคมี-กายภาพของลูกชิ้นไก่.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ยูติกา สร้อยระย้า. 2551. “ผลของกระบวนการผลิตต่อปริมาณคาเทชินและโพลีฟีนอลในชาอู่หลง. การค้นคว้าแบบอิสระ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิสุทธิ์. 2536. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์สหมิตรออฟเซต
- รุจริน ลิ้มสุภวานิช และจุฑารัตน์ เสรษฐกุล. 2552. คุณค่าเนื้อโคไทย. กรุงเทพฯ : อมรินทร์ตั้งแอนด์พับลิชชิง.
- ศิพัตม์ รักษ์เผ่า. 2539. “ผลของเชื้อเริ่มต้นในการหมักแห้งนมต่อการลดปริมาณ *Staphylococcus aureus*.” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาลัษเฐียรศาสตร์.
- สมพร ดวนใหญ่, สุนทรี ดวนใหญ่, วรวิทย์ ธรสุนทรสุทธิ และปิยศักดิ์ สุวรรณณี. 2552. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการวิจัยการผลิตเนื้อโคธรรมชาติ. กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- สุมาลี เหลืองสกุล. 2539. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.
- สมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- อัจฉรา เพิ่ม. 2550. แบคทีเรียแลคติก. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : ภาพพิมพ์.
- Akamittath, J.G, Brekke, C.J. and Schanus, E.G. 1990. “Lipid oxidation and color stability in restructured meat systems during frozen storage.” *J. Food Sci.* 55(6) : 1513-1517.
- Alamed, J. 2008. “Impact of Chemical and Physical Properties on the Ability of Antioxidants to Inhibit Lipid Oxidation in Foods.” Masters Degree Thesis Food Science Department, University of Massachusetts.
- Amarowicz, R. Pegg, R.B. and Bautista, D.A. 2000. “Antibacterial activity of green tea polyphenols against *Escherichia coli* K12.” *Nahrung.* 44(1) : 60-62.
- Andrade, M.J. Córdoba, J.J. Casado, E.M. Córdoba, M.G. and Rodríguez, M. 2010. “Effect of selected strains of *Debaryomces hansenii* on the volatile compound production of fermented sausage “salchichón”.” *Meat Sci.* 85(2) : 256-264.
- AOAC. 2006a. “Chapter 17 AOAC Official Method 966.24 Coliform Group and *Escherichiacoli*.” in Horwitz, W. and Latimer, G.W.b. (Editors). **Official methods of analysis of AOAC international.** Maryland : AOAC international.

- AOAC. 2006b. "Chapter 17 AOAC Official Method 967.25 *Salmonella* in Foods." in Horwitz, W. and Latimer, G.W.b. (Editors). **Official methods of analysis of AOAC international**. Maryland : AOAC international.
- AOAC. 2006c. "Chapter 17 AOAC Official Method 988.18 Aerobic Plate Count in Food" . in Horwitz, W. and Latimer, G.W.b. (Editors). **Official methods of analysis of AOAC international**. Maryland : AOAC international.
- Aquilanti, L. Santarelli, S. Silvestri, G. Osimani, A. Petruzzelli, A. and Clementi, F. 2007. "The microbial ecology of a typical Italian salami during its natural fermentation". **Int. J. Food Microbiol.** 120(1-2) : 136-145.
- Archibald, F.S. and Duong, M. 1984. "Manganese acquisition by *Lactobacillus plantarum*." **J. Bacteriol.** 158(1) : 1-8.
- Axelsson, L. 1998. "Lactic acid bacteria : classification and physiology." 1-72. in Salminen, S. and Wright, A. (Editors). **Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects**. New York : Marcel Dekker.
- BAM. 2001a. **Bacteriological Analytical Manual online, Chapter 12 in *Staphylococcus aureus*. U.S. Food and Drug Administration. January 2001.** [Online] available : [http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/Bacteriological Analytical Manual \(BAM\)](http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManual(BAM)). [19/05/54].
- BAM. 2001b. **Bacteriological Analytical Manual online, Chapter 18 in Yeasts, Molds and Mycotoxins. U.S. Food and Drug Administration. January 2001.** [Online] available : [http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/Bacteriological Analytical Manual \(BAM\)](http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManual(BAM)). [10/03/54].
- U.S. Food and Drug Administration. January 2001.** [Online] available : [http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/Bacteriological Analytical Manual \(BAM\)](http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManual(BAM)). [19/05/54].
- Bozkurt, H. 2006. "Utilization of natural antioxidant : Green tea extract and *Thymbraspicata* oil in Turkish dry-fermented sausage." **Meat Sci.** 73(3) : 442-450.
- Buckley, D.J. Morrissey, P.A. and Gray, J.I. 1995. "Influence of Dietary Vitamin E on the Oxidative Stability and Quality of Pig Meat." **J. Anim. Sci.** 73(10) : 3122-3130.
- Bureenok, S. Tamaki, M. Kawamoto, Y. and Nakada, T. 2007. "Additive effects green tea on fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria and the fermentative quality of Rhodes grass silage." **Asian-Australas J. Anim. Sci.** 20(6) : 920-924.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Cabrera, C. Artacho, R. and Giménez, R. 2006. "Beneficial effects of green tea." **J. Am Coll Nutr.** 25(2), 79-99.
- Campbell-Platt, G. 1995. "Fermented meats-a world perspective." 39-52. in Campbell-Platt, G. and Cook, P.E. (Editors). **Fermented Meat.** London : Blackie Academic & Professional.
- Cämmerer, B. Wedzicha, L.B. and Kroh, W.L. 1999. "Nonenzymatic browning reactions of retro-aldol degradation products of carbohydrates." **Eur. Food Res. Technol.** 209(3-4) : 261-265.
- Castellini, C. Mungnai, C. and Bosco, A.D. 2002. "Effect of organic production system on broiler carcass and meat quality." **Meat Sci.** 60(3) : 219-225.
- Chizzolini, R. Novelli, E. and Zanardi, E. 1998. "Oxidation in traditional mediterranean meat Products." **Meat Sci.** 49(1) : 87-99.
- Cocconcelli, P.S. and Fontana, C. 2008. "Chapter 5 Characteristics and applications of microbial starters in meat fermentation." 129-148. in Toldra, F. (Editor). **Meat biotechnology.** New York : Springer.
- Cocolin, L. Dolci, P. and Rantsiou, K. 2011. "Biodiversity and dynamics of meat fermentations: The contribution of molecular methods for a better comprehension of a complex ecosystem." **Meat Sci.** 89(3) : 296-302.
- Coleman, P. and Williams, J.Jr. 2007 "Antioxidants: Scratching the surface in functional foods." **Food Prod. Design.** 1 : 4.
- Dalluge, J.J. and Nelson, B.C. 2000. "Determination of tea catechins." **J. Chromatogr. A.** 881(1) : 411-424.
- Dong, U. and Min, B. 2007. "Packaging and Storage" 289-300 in Toldrá, F. Hui, Y.H. Nip, W-K. Sebranek, J.G. Silvenira, E-T.F. Stahnke, L.H. and Talon, R. (Editors). **Handbook of Ferment Meat and Poultry.** Iowa, USA : Blackwell Publishing.
- Durá, M.A. Flores, M. and Toldrá, F. 2004. "Effect of *Debaryomyces* spp. on the proteolysis of dry-fermented sausage." **Meat Sci.** 68(2) : 319-328.
- Emberland, K.E. Nygard, K. Heier, B.T. Aavitsland, P. Lassen, J. Stavens, T.L. and Gondrosen, B. 2006. "**Outbreak of *Salmonella* kedougou in Norway associated with salami, April-June 2006.**" [Online]. Available : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=2995>. [15/04/55].

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Ercan, S.S. Bozkurt, H. and Soysal, Ç. 2013. "Safety and Quality Attributes of Sucuk-Like product made with mechanically deboned broiler/beef." **J. Food Sci. Eng.** 3(5) : 246-254.
- Estévez, M. Morcuende, D. and Ventans, S. 2009. "Determination of Oxidation." 141-162. in Leo, M.L. and Toldrá, F. (Editors). **Hand book of Processed Meats and Poultry Analysis.** Boca Raton : CRC Press.
- Fatima-Borges, M.D. Siqueira-de, R.S. Bittencourt, A.M. Venetti, D.M.C. and Gomide, L.A.M. 1999. "Occurrence of *Listeria monocytigenes* in Salami." **Revista de Microbiologia.** 30(4) : 362-364.
- Fischer, A. 2008. **Workshop on Western Fermented Meat Processing.** [Slide]. Bangkok : Meat Technology Network Center, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang.
- Feiner, G. 2006. **Meat product handbook Practical science and technology.** Cambridge : Woodhead Publishing.
- Flores, M. and Toldrá, F. 2010. "Microbial enzymatic activities for improved fermented meats." **Trends Food Sci. Tech.** 22(2-3) : 81-90.
- Fontana, C. Cocconelli, P.S. and Vignolo, G. 2005. "Monitoring the bacterial population dynamics during fermentation of artisanal Argentinean sausages." **Int. J. Food Microbiol.** 103(2) : 131-142.
- Getty, K.K. 2010. **Dry and semi-dry fermented and direct acidified sausage validation.** [Online]. Available : http://www.extension.org/pages/27343/dry-and-semi-dry-fermented-and-direct-acidified-sausage-validation#.VHyH7cJ_tm4.
- Gould, G.W. and Christian, J.H B. 1988. "Characterization of the state of water in food biological aspects." 43-56. in Soew, C.C. (Editor). **Food preservation by moisture control.** London : Elsevier Applied Science.
- Hara, H. Orita, N. Hatano, S. Ichikawa, H. Hara, Y. Matsumoto, N. Kimura, Y. Terada, A. and Mitsuoka, T. 1995. "Effect of tea polyphenols on fecal flora and fecal metabolic products of pigs." **J. Vet. Med. Sci.** 57(1) : 45-49.
- He, Y. and Shahidi, F. 1997. "Antioxidant activity of green tea and Its catechins in a fish meat Model System." **J. Agric. Food Chem.** 45(11) : 4262-4266.
- Heir, E. Holck, A.L. Omer, M.K. Alvseike, O. Måge, I. Høy, M. Rode, T.M. Sidhu, M.S. and Axelsson, L. 2013. "Effects of post-processing treatments on sensory quality and

- Shiga toxigenic *Escherichia coli* reductions in dry-fermented sausages.” **Meat Sci.** 94(1) : 47-54.
- Herreros, M.A. Sandoval, H. González, L. Castro, J.M. Fresno, J.M. and Tornadijo, M.E. 2005. “Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats’ milk cheese).” **Food Microbiol.** 22(5) : 455-459.
- Higdon, J.V. and Frei, B. 2003. “Tea catechins and polyphenols : health effects, metabolism, and antioxidant functions.” **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 43(1) : 89-143.
- Hirasawa, M. and Takada, K. 2004. “Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against *Candida albicans*.” **J. Antimicrob. Chemother.** 53(2) : 225-229.
- Ikigai, H. Nakae, T. Hara Y. and Shimamura, T. 1993. “Bactericidal catechins damage the lipid bilayer.” **Bichim. Biophys. Acta.** 1147(1) : 132-136.
- Ishihara, N. Chu, D. Akachi, S. and Juneja, L. 2001. “Improvement of intertinal microfora balance and prevention of digestive and respiratory organ diseases in calves by green tea extract.” **Livest. Prod. Sci.** 68(2) : 217-229.
- Jayasingh, P. and Cornforth, D.P. 2003. “Comparison of antioxidant effects of milk mineral, butylatedhydroxytoluene and sodium tripolyphosphate in raw and cooked ground pork.” **Meat Sci.** 66(1) : 83-89.
- Ji-Sun, K. and Yangha, K. 2007. “The inhibitory effect of natural bioactives on the growth of pathogenic bacteria.” **Nutr Res Pract.** 1(4) : 273-278.
- Kameník, J. Saláková, A. Borilová, G. Pavlík, Z. Standarová, E. and Steinhauser, L. 2012. “Effect of storage temperature on the quality of dry fermented sausage Polican.” **Czech J. Food Sci.** 30(4) : 293-301.
- Ku, K.J. Hong, Y.H. and Seo, K.B. 2008. “Packaging of bread in paper made from edible red algae and coated with antimicrobials retards microbial growth in bread during ripening.” **J. Food Sci. Nutr.** 13(1) : 51-53.
- Ledward, D.E. 1992. “Color of raw and cooked meat.” 128-144. in Ledward, E.D. Johnson, D.E. and Knight, M.K. (Editors). **Chemistry of Muscle-Based Food.** Cambridge : The Royal Society of Chemistry.
- Love, J.D. and Pearson, A.M. 1971. “**lipid oxidation in meat and meat products-a review.**” Michigan : Food Science Department of Michigan State University.

- Maestri, D.M. Nepote, V. Lameque, A.L. and Zygadlo J.A. 2006. "Natural products as antioxidants." 105-135. In Imperato, F. (Editor). **Phytochemistry Advances in Research**. Kerala, India : Research signpost.
- Maristela, C.S. Ângela, M.F. Anildo, C.J. Teresinha, M.B. and Ernani, S.S.A. 2008. "Lactobacillus plantarum A12 isolated from naturally fermented sausage and its effects on the technological properties of Milano-type salami." **Tecnol Aliment.** 28(3) 709-717.
- Martínez, L. Lrene, C. José, A.B. and Pedro, R. 2006. "Antioxidant effect of rosemary, borage, green tea, pu-erh tea and ascorbic acid on fresh pork sausages packaged in a modified atmosphere: Influence of the presence of sodium chloride." **J. Sci. Food Agric.** 86(9) : 1298-1307.
- Matsushita, F. Meshitsuka, S. and Nose, T. 1993. "Contents of aluminum and manganese in tea leaves and tea infusion." **Nippon Eiseigaku Zasshi** 48(4) : 864-872.
- Mbata, T. I. Debiao, L.U. and Saikia, A. 2008. "Antibacterial activity of the crude extract of Chinese green tea (*Camellia sinensis*) on *Listeria monocytogenes*." **Afr. J. Biotechnol.** 7(10) : 1571-1573.
- Messier, S. Smith, H.J. and Tittiger, F. 1989. "Survival of *Salmonella* Typhimurium and *Staphylococcus aureus* in Genoa salami of varying salt concentration." **Can. J. Vet. Res.** 53(1) : 84-86.
- Moretti, V.M. Madonia, G. Diaferia, C. Mentasti, T. Paleari, A.V. Panseri, S. and Gandini, G. 2004. "Chemical and microbiological parameters and sensory attributes of a typical Sicilian salami ripened in different conditions." **Meat Sci.** 66(4) : 845-854.
- Muyanja, C.M.B.K. Narvhus, J.A. Treimo, J. and Langsrud, T. 2003. "Isolation, characterization and identification of lactic acid bacteria from bushera : a Ugandan traditional fermented beverage." **Int. J. Food Microbiol.** 80(3) : 201-210.
- Negi, P.S. Jayaprakasha, G.K. and Jena, B.S. 2003. "Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts." **Food Chem.** 80(3) : 393-397.
- Nihal, M. Ahmad, N. Mukhtar, H. and Wood, G.S. 2005. "Antiproliferative and proapoptotic effects of epigallocatechin-3-gallate on human melanoma: Possible implications for the chemoprevention of melanoma." **Int. J. Cancer.** 114(4) : 513-521.

- Novelli, E. Zanardi, E. Ghiretti, G.P. Campanini, G. Dazzi, G. Madarena, G. and Chizzolini, R. 1997. "Lipid and cholesterol oxidation in frozen stored pork, salame milano and mortadella." **Meat Sci.** 48(1-2) : 29-40.
- Papa, F. Zambonelli, C. and Grazia, L. 1995. "Production of Milano style salami of good quality and safety." **J. Food Microbiol.** 12 : 9-12.
- Perumalla, A.V.S. and Hettiarachchy, N.S. 2011. "Green tea and grape seed extracts-Potential applications in food safety and quality." **J. Food Res. Int.** 44(4) : 827-839.
- Pesavento, G. Ducci, B. Nieri, D. Comodo, N. and Lonostro, A. 2010. "Prevalence and antibiotic susceptibility of *Listeria* spp. isolated from raw meat and retail foods." **Food Cont.** 21(5) : 708-713.
- Petrón, M.J. Brocano, J.M. Otte, J. Martín, L. and Timón, M.L. 2013. "Effect of commercial proteases on shelf-life extension of Iberian dry-cured sausage." **Food Sci Tech.** 53(1) : 191-197.
- Pouch-Downes, F. Lto, K. and American Public Health Association, 2001. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** American Public Health Association.
- Rogerie, F. Marecat, A. Gambade, S. Dupond, F. and Beaubois, M. 2001. "Characterization of shiga toxin producing *E. coli* and O157 serotype *E. coli* isolated in France from healthy domestic cattle." **Int. J. Food. Microbiol.** 63(3) : 217-223.
- Rust, R.E. 2007. "U.S. Product." 303-306. in Toldrá, F., Huí., Y.H., Nip, W-K., Sebranek, J.G., Silvenira, E-T.F., Stahnke, L.H. and Talon, R. (Editors). **Handbook of Ferment Meat and Poultry.** Iowa, USA : Blackwell Publishing
- Sahl, H.G. Jack, R.W. and Bierbaum, G. 1995. "Biosynthesis and biological activities of lantibiotics with unique post-translational modification." **Eur. J. Biochem.** 230(3) : 827-853.
- Samelis, J. Metaxopoulos, J. Vlassi, M. and Aristeia, P. 1998. "Stability and safety of traditional Greek salami a microbiological ecology study." **Int. J. Food Microbiol.** 44(1-2) : 69-82.
- Sánchez-Zapata, E. Zunino, V. Pérez-Alvarez. J.A. and Fernández-López, J. 2013. "Effect of tiger nut fibre addition on the quality and safety of a dry-cured pork sausage ("Chorizo") during the dry-curing process." **Meat Sci.** 95(3) : 562-568.

- Ščetar, M. Kovačić, E. Kurek, M. and Galić, K. 2013. “Shelf life of packaged slice dry ferment sausage under different temperature.” **Meat Sci.** 93(4) : 802-809.
- Sidira, M. Karapetsas, A. Galanis, A. Kanellaki, M. and Kourkoutas, Y. 2014. “Effective survival of immobilized *Lactobacillus casei* during ripening and heat treatment of probiotic dry-fermented sausages and investigation of the microbial dynamics.” **Meat Sci.** 96(2) : 948-955.
- Silavestri, G. Santarelli, S. Aquilanti, L. Beccaceci, A. Osimani, A. Tonucci, F. and Clementi, F. 2007. “Investigation of the microbial ecology of Ciauscolo, a traditional Italian salami, by culture-dependent techniques and PCR-DGGE.” **Meat Sci.** 77(3) : 413-423.
- Tabanelli, G. Coloretti, F. Chiavari, C. Grazia, L. Lanciotti, R. and Gardini, F. 2012. “Effects of starter cultures and fermentation climate on the properties of two types of typical Italian dry fermented sausages produced under industrial conditions.” **Food Cont.** 26(2) : 416-426.
- Tang, S.Z. Kerry, J.P. Sheehan, D. and Buckley, D.J. 2002. “Antioxidants mechanisms of tea catechins in chicken meat systems.” **Food Chem.** 76 : 45-51.
- Tang, S.Z. Ou, S.Y. Huang, X.S. Kerry, J.P. and Buckley, D.J. 2006 “Effects of added tea catechins on colour stability and lipid oxidation in minced beef patties held under aerobic and modified atmospheric packaging conditions.” **J. Food Eng.** 77(2) : 248-253.
- Taylor, P.W. Hamilton-Miller, J.M.T. and Stapleton, P.D. 2005. “Antimicrobial properties of green tea catechins.” **J. Food Sci. Technol.** 2 : 71-81.
- Toldrá, F. Hui, Y.H. and Nip, W.K. 2007. “Dry-Fermented Sausages.” 321-327. in Toldrá, F., Hui, Y.H., Nip, W-K., Sebranek, J.G., Silvenira, E-T.F., Stahnke, L.H. and Talon, R. (Editors). **Handbook of Ferment Meat and Poultry.** Iowa, USA : Blackwell Publishing.
- USDA-FSIS (United States Department of Agriculture/ Food Safety and Inspection Service).
2001. **Performance standards for the production of processed meat and poultry products; proposed rule.** Fed. Regist. 66:12590–12636.
- USDA-FSIS (United States Department of Agriculture/ Food Safety and Inspection Service).
2003. **Control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat and poultry products; Final rule.** Fed. Regist. 68:34207-34254.

- USDA-FSIS (United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service). 2011. **Principle of preservation of shelf-stable dried meat products.** [Online]. Available:http://www.fsis.usda.gov/shared/PDF/FSRE_SS_7Principles.pdf. [19/02/57].
- Visessanguan, W. Benjakul, S. Rirbroy, S. and Thepkasikul, P. 2004. "Change in composition and functional properties of protein and their contributions to Nham characteristics." **Meat Sci.** 66(3) : 579-588.
- Wallin-Carlquist, N. Márta, D. Borch, E. and Rådström, P. 2010. "Prolonged expression and production of *Staphylococcus aureus* enterotoxin A in processed pork meat." **Int. J. Food Microbiol.** 141(1) : 69-74.
- Wheeler, D.S. and Wheeler, W.J. 2004. "The medicinal chemistry of tea." **Drug Develop. Res.** 61(2) : 45-65.
- Williams, R.C. Isaacs, S. Decou, M.L. Richardson, E.A. Buffett, M.C. Slinger, R.W. Brodsky, M.H. Ciebin, B.W. Ellis, A. and Hockin, J. 2000. "**Illness outbreak associated with *Escherichia coli* O157:H7 in Genoa salami.**" Ontario, Canada : Regional Niagara Public Health Department of McMaster University.
- Wójciak, K.M. and Dolatowski, Z.J. 2012. "Oxidative stability of fermented meat products." **Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.** 11(2) : 99-109.
- Yanishlieva, N.V. and Marinova, E.M. 2001. "Stabilization of edible oils with natural antioxidants." **Eur. J. Lipid Sci. Technol.** 103(11) : 752-767.
- Yoda, Y. Hu, Z.Q. Zhao, W.H. and Shimamura, T. 2004. "Different susceptibilities of *Staphylococcus* and Gram-negative rods to epigallocatechingallate." **J. Infect. Chemother.** 10(1) : 55-58.
- Zanardi, E. Ghidini, S. Conter, M. and Ianieri, A. 2010. "Mineral composition of Italian salami and effect of NaCl partial replacement on compositional, physico-chemical and sensory parameters." **Meat Sci.** 86(3) : 742-747.

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมสารละลายสำหรับการสกัด malonaldehyde ในกล้ามเนื้อ

1.1 0.069 M 2-Thiobarbituric acid (1000 มิลลิลิตร)

- 2-Thiobarbituric acid	10.0	กรัม
- conc. HCL	20.0	มิลลิลิตร
- 90% Acetic acid	1000	มิลลิลิตร

ทำการละลาย 2-Thiobarbituric acid 10.0 กรัม ใน 90% Acetic acid ปริมาตร 600 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ magnetic พร้อมทั้งให้ความร้อน จากนั้นเติม conc. HCL 20.0 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย 90% Acetic acid ให้ครบ 1000 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร เก็บในขวดสีชา ในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

1.2 1 M Potassium dihydrogen orthophosphate (KH_2PO_4) (100 มิลลิลิตร)

- Potassium dihydrogen orthophosphate (KH_2PO_4)	13.609	กรัม
- Distilled water	100	มิลลิลิตร

ทำการละลาย KH_2PO_4 13.609 กรัม ใน Distilled water 70 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ครบ 100 มิลลิลิตร เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

1.3 50 mM Potassium phosphate (1000 มิลลิลิตร)

- Dipotassium hydrogen orthophosphate (K_2HPO_4)	7.05	กรัม
- Potassium dihydrogen orthophosphate (KH_2PO_4)	1.30	กรัม
- Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ทำการละลาย K_2HPO_4 7.05 กรัม และ KH_2PO_4 1.30 กรัม ใน Distilled water 970 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 7.4 ด้วย 1 M KH_2PO_4 แล้วปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ครบ 1000 มิลลิลิตร เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

1.4 4 N Hydrochloric acid (HCL) (250 มิลลิลิตร)

- Hydrochloric acid	82.81	มิลลิลิตร
- Distilled water	250	มิลลิลิตร

เท Distilled water ลงในขวดปรับปริมาตร จากนั้นค่อยๆเติม HCL 82.81 มิลลิลิตร ลงไป แล้วปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ครบ 250 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา ในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

1.5 0.2% Butylatedhydroxytoluene (BHT) (100 มิลลิลิตร)

- Butylatedhydroxytoluene 0.2 กรัม
- Ethanol 100 มิลลิลิตร

ทำการละลาย Butylatedhydroxytoluene 0.2 กรัมใน Ethanol 70 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย Ethanol ให้ครบ 100 มิลลิลิตร ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งเมื่อใช้งาน

1.6 Stock MDA 100 mM 1,1,3,3-Tetraethoxypropane (TEP) (1000 มิลลิลิตร)

- 1,1,3,3-Tetraethoxypropane 24.47 ไมโครลิตร
- HCL 6 หยด
- Distilled water 1000 มิลลิลิตร

ทำการผสม 1,1,3,3-Tetraethoxypropane 24.47 ไมโครลิตร ลงใน Distilled water 950 มิลลิลิตร แล้วเติม HCL 5-6 หยด แล้วปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ครบ 1000 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา ในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2. การวิเคราะห์หาความเข้มข้น malonaldehyde ในกล้ามเนื้อ

2.1 วิธีการสกัด malonaldehyde ในกล้ามเนื้อด้วยเทคนิค TBARs test

- 1) นำตัวอย่างเนื้อมาบดให้ละเอียด จากนั้นลุ่มซั่งตัวอย่างเนื้อบดมาตัวอย่างละ 10.00 กรัม
- 2) เติม 50 mM Potassium phosphate 9 มิลลิลิตร BHT 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างเนื้อบด จากนั้นนำมา homogenized ด้วยเครื่อง homogenizer ที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 1 นาที ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน
- 3) นำ stock MDA มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 ไมโครโมลต่อไมโครลิตร มาเป็นตัวเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน (standard curve) จากนั้นนำไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่น โปรตีน
- 4) ก่อนกลั่นจะเติม 4N HCL 1.25 มิลลิลิตร และ anti-foaming agent 5-6 หยด
- 5) นำหลอดย่อยโปรตีนต่อเข้ากับเครื่องกลั่น โปรตีน กลั่นจนได้ของเหลวในขวดลูกหมูปู ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วปิดด้วยอลูมิเนียมฟอยล์
- 6) นำสารละลายที่กลั่นได้มาปริมาณ 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเกลียวแล้วเติม 0.069 MTBA 5 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7) นำมาต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 55 นาที เขย่าทุกๆ 5 นาที เพื่อเร่งให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์

8) เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดแล้ว นำออกจากอ่างควบคุมอุณหภูมิ แล้วนำไปทำให้เย็นลงทันทีในน้ำแข็ง แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 10 นาที

9) นำตัวอย่างไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร

10) คำนวณค่า TBARs Value

2. การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของ malonaldehyde (MDA)

ทำกราฟมาตรฐานของสารละลาย MDA ในเนื้อ โดยนำ stock MDA มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 ไมโครโมลต่อไมโครลิตรจากนั้นนำสารละลาย stock MDA ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน และคำนวณสมการถดถอย $y = ax + b$ โดยค่า y เป็นค่าการดูดกลืนแสง และค่า x เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลาย stock MDA แล้วนำไปคำนวณค่า TBARs Value จากสูตร

$$\text{TBARs Value (mg MDA / kg sample)} = \frac{(X \cdot 10 \cdot 72)}{\text{น้ำหนักเนื้อตัวอย่าง}}$$

เมื่อ X = ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร

10 = dilution

72 = น้ำหนักโมเลกุลของ MDA

ภาคผนวก ข

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของชาลามี

วันที่

หมายเลขแบบประเมิน.....

1. รายละเอียดของผู้ประเมิน

เพศ ชาย หญิงช่วงอายุ ต่ำกว่า 20 ปี 20-25 ปี มากกว่า 26 ปี

คุณจะได้รับตัวอย่างทั้งหมด 2 ชุดตัวอย่าง เพื่อประกอบการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

1. ตัวอย่าง

2. ตัวอย่าง

ให้ผู้ประเมินทำการประเมินระดับความชอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสตัวอย่างเนื้อชาลามี
แต่ละตัวอย่างจากนั้นทำเครื่องหมาย X ลงใน ที่ตรงกับระดับความชอบของผู้ประเมิน

@@@ กรุณากรอกรับปากด้วยน้ำดื่มก่อนชิมตัวอย่างแรก และก่อนชิมตัวอย่างถัดไป @@@

ตัวอย่าง.....

1. ความชอบด้านสี

○ ○ ○ ○ ○
 ไม่ชอบมาก ไม่ชอบ เฉยๆ ชอบ ชอบมาก

เหตุผล :

.....

2. ความชอบด้านกลิ่น

○ ○ ○ ○ ○
 ไม่ชอบมาก ไม่ชอบ เฉยๆ ชอบ ชอบมาก

เหตุผล :

.....

3. ความชอบด้านรสชาติ

○ ○ ○ ○ ○
 ไม่ชอบมาก ไม่ชอบ เฉยๆ ชอบ ชอบมาก

เหตุผล :

.....

4. ความชอบโดยรวม

○ ○ ○ ○ ○
 ไม่ชอบมาก ไม่ชอบ เฉยๆ ชอบ ชอบมาก

เหตุผล :

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ ค1 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้านผลของสารสกัดชาเขียว และระยะเวลาการการบ่มชาลามีต่อค่าความสว่าง (Lightness, L*) ของชาลามี

Source	DF	Type I SS	MS	F	Pr>F
Green Tea	1	2.446220	2.4462204	1.32	0.2518
Time	5	942.6147471	188.5229494	101.74	<0.0001
B	3	22.0170704	7.3390235	3.96	0.0089
Green Tea*Time	5	68.6122171	13.7224434	7.41	<0.0001
C.V.	2.835254				

ตารางภาคผนวกที่ ค2 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้านผลของสารสกัดชาเขียว และระยะเวลาการการบ่มชาลามีต่อค่าสีแดง (Redness, a*) ของชาลามี

Source	DF	Type I SS	MS	F	Pr>F
Green Tea	1	5.343150	5.343150	7.62	0.0062
Time	5	1308.338897	261.667779	373.30	<0.0001
B	3	54.651411	18.2171.37	25.99	<0.0001
Green Tea*Time	5	3.460477	0.692095	0.99	<0.0001
C.V.	6.722497				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค3 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้านผลของสารสกัดชาเขียวและ
ระยะเวลาการการบ่มชาลามีต่อค่าสีเหลือง (Yellowness, b*) ของชาลามี

Source	DF	Type I SS	MS	F	Pr>F
Green Tea	1	0.5850937	0.5850937	2.46	0.1184
Time	5	587.0340921	117.4068184	492.97	<0.0001
B	3	30.0829194	10.0276398	42.10	<0.0001
Green Tea*Time	5	12.6453188	2.5290638	10.62	<0.0001
C.V.		4.621279			

ตารางภาคผนวกที่ ค4 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้านผลของสารสกัดชาเขียว
และระยะเวลาการการบ่มชาลามีต่อค่า a_w (Water activity) ของชาลามี

Source	DF	Type I SS	MS	F	Pr>F
Green Tea	1	0.00011070	0.00011070	4.74	0.0305
Time	5	0.20061387	0.04012277	1718.02	<0.0001
B	3	0.00141338	0.00047113	20.17	<0.0001
Green Tea*Time	5	0.00017137	0.00003427	1.47	<0.0001
C.V.		0.520477			

ตารางภาคผนวกที่ ค5 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้านผลของสารสกัดชาเขียว
และระยะเวลาการการบ่มชาลามีต่อค่า pH ของชาลามี

Source	DF	Type I SS	MS	F	Pr>F
Green Tea	1	0.00066667	0.00066667	0.26	0.6136
Time	5	29.88921833	5.97784367	2292.78	<0.0001
B	3	0.15409028	0.05136343	19.70	<0.0001
Green Tea*Time	5	0.00335333	0.00067067	0.26	<0.0001
C.V.		1.043218			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค6 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้านผลของสารสกัดชาเขียว และระยะเวลาการการบ่มชาลามีต่อค่าความชื้น (% Moisture) ของชาลามี

Source	DF	Type I SS	MS	F	Pr>F
Green Tea	1	0.00043	0.00043	0.00	0.9862
Time	5	14418.57374	2883.71475	2032.89	<0.0001
B	3	44.76467	14.92156	10.52	<0.0001
Green Tea*Time	5	5.39601	1.07920	0.76	0.5790
C.V.	2.973800				

ตารางภาคผนวกที่ ค7 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้านผลของสารสกัดชาเขียว และระยะเวลาการการบ่มชาลามีต่อค่าการออกซิเดชันของไขมัน (TBARS) ในชาลามี

Source	DF	Type I SS	MS	F	Pr>F
Green Tea	1	4.7270007	4.7270007	61.97	<0.0001
Time	5	156.7422742	31.3484548	410.94	<0.0001
B	3	1.5544499	0.5181500	6.79	0.0003
Green Tea*Time	5	2.8834031	0.5766806	7.56	<0.0001
C.V.	20.01607				

ตารางภาคผนวกที่ ค8 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้านความพึงพอใจของผู้บริโภค ทางด้านสี (Color) ของชาลามี

Source	DF	Type I SS	MS	F	Pr>F
Green Tea	1	0.00980392	0.00980392	0.02	0.8903
B	50	40.66666667	0.81333333	1.60	0.0509
C.V.	18.62623				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค 9 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้านความพึงพอใจของผู้บริโภค
ทางด้านกลิ่น (Odour) ของชาลามี

Source	DF	Type I SS	MS	F	Pr>F
Green Tea	1	0.15686275	0.15686275	0.29	0.5912
B	50	73.82352941	1.47647059	2.75	0.0002
C.V.	25.95012				

ตารางภาคผนวกที่ ค 10 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้านความพึงพอใจของผู้บริโภค
ทางด้านรสชาติ (Flavor) ของชาลามี

Source	DF	Type I SS	MS	F	Pr>F
Green Tea	1	0.79411765	0.79411765	1.11	0.2967
B	50	70.25490195	1.40509804	1.97	0.0092
C.V.	25.73003				

ตารางภาคผนวกที่ ค 11 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้านความพึงพอใจโดยรวมของ
ผู้บริโภค (Over all) ของชาลามี

Source	DF	Type I SS	MS	F	Pr>F
Green Tea	1	2.8333333	2.8333333	8.02	0.0067
B	50	30.37254902	0.6745098	1.72	0.0291
C.V.	16.61115				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาว ดาวใจ ตันห์สุระ
วัน เดือน ปีเกิด	15 ตุลาคม 2525
ที่อยู่	1618/40 ซ. สุขุมวิท 101/1 แขวงบางจาก เขตพระโขนง กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	2548. สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ วิทยาเขตพระนครศรีอยุธยา หันตรา
ผลงานวิชาการ	1. ผลงานตีพิมพ์ “ผลของการใช้สารสกัดจากชาเขียวต่อคุณภาพชาลามีเนื้อโคที่ป่มในเวลาที่แตกต่างกัน.” ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อสัตว์ ครั้งที่ 3. วันที่ 21-23 มิถุนายน พ.ศ. 2555 ศูนย์แสดงสินค้าและการประชุม อิมแพ็ค เมืองทองธานี นนทบุรี หน้า 165-170.
ทุนวิจัยที่ได้รับ	ทุนสนับสนุนจากศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเพื่อสัตว์ โดยความร่วมมือระหว่าง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล) และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้