

การใช้สารสกัดจากกากงาเป็นสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติ
ในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร

THE USE OF SESAME CAKE EXTRACTION AS NATURAL ANTIOXIDANT
IN HERBAL FRESH SAUSAGE

นำพน ใจสุทธิ
NAMFON JAISUT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

KMITL-2019-AG-M-031-308

การใช้สารสกัดจากกากงาเป็นสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติ
ในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร

**THE USE OF SESAME CAKE EXTRACTION AS NATURAL ANTIOXIDANT
IN HERBAL FRESH SAUSAGE**

นำพน ใจสุทธิ

NAMFON JAISUT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

KMITL-2019-AG-M-031-308

**THE USE OF SESAME CAKE EXTRACTION AS NATURAL ANTIOXIDANT
IN HERBAL FRESH SAUSAGE**

NAMFON JAISUT

**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**

2019

KMITL-2019-AG-M-031-308

COPYRIGHT 2019

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABAN

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้สารสกัดจากกากงาเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ
นักศึกษา	ธรรมชาติในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร
รหัสประจำตัว	นางสาวน้ำฝน ใจสุทธิ
ปริญญา	60604047
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
พ.ศ.	สัตวศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	2562
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รศ.ดร. कमแข พิลาสมบัติ
	ผศ.ดร. มณฑินี ชีรารักษ์

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากงา และการนำมาใช้ในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพรเพื่อเพิ่มคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยแบ่งการศึกษาเป็น 3 การทดลอง การทดลองที่ 1 ศึกษาสูตรในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพรจำนวน 15 สูตร จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรทั้งที่ไม่ปรุงสุกและปรุงสุก โดยผู้ทดสอบจำนวน 30 คน มีช่วงการให้คะแนนความพึงพอใจ 7 ระดับ (7-Point Hedonic Scale) ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรไม่ปรุงสุก พบว่า ผู้บริโภคให้คะแนนความพึงพอใจโดยรวมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรสูตรไส้กรอกสดลาบสมุนไพรและไส้กรอกสดเหลืองขมิ้นมากที่สุด รองลงมาคือ ไส้กรอกสดคั่วหอม ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูด และไส้กรอกสดบาบีคิว มีคะแนนเท่ากับ 5.73, 5.73, 5.57, 5.53 และ 5.37 คะแนน ตามลำดับ ($P > 0.05$) และผลการศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรปรุงสุก พบว่า ผู้บริโภคให้คะแนนความพึงพอใจโดยรวมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรสูตรไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดมากที่สุด รองลงมาคือ ไส้กรอกสดเหลืองขมิ้น และไส้กรอกสดน้ำตาตก มีค่าเท่ากับ 5.80, 5.57 และ 5.45 คะแนน ตามลำดับ ($P > 0.05$) ไส้กรอกสดสูตรที่มีคะแนนสูงสุดถูกคัดเลือกเพื่อนำไปศึกษาในการทดลองที่ 3 ต่อไป

การทดลองที่ 2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากกากงา (Sesame cake extract : SCE) และ น้ำมันงาเชิงการค้า (Commercial sesame oil : CSO) โดยทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่า SCE มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 1,276.93 mg GAE/100 g sample ซึ่งสูงกว่า CSO ที่มีค่าเท่ากับ 67.62 mg GAE/100 g sample ($P < 0.05$) การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (% IC₅₀) ด้วยวิธี DPPH และ ABTS และ (% EC_{0.5}) ด้วยวิธี

reducing power พบว่า SCE มีค่าความเข้มข้นของสารที่ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 0.2033 และ 0.3631% และค่าความเข้มข้นของสารที่ลดอนุมูลอิสระเท่ากับ 0.4315 % ตามลำดับ และ CSO มีค่าความเข้มข้นของสารที่ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 0.811 และ 1.6597 และค่าความเข้มข้นของสารที่ลดอนุมูลอิสระเท่ากับ 10.0635 % ตามลำดับ และการทดสอบการต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่า SCE ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสัตว์

การทดลองที่ 3 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ SCE และ CSO ในไส้กรอกสดสมุนไพรสดทอดมันมะกรูดที่ผู้บริโภคให้คะแนนความพึงพอใจโดยรวมมากที่สุด โดยเปรียบเทียบ SCE ที่ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 % และ CSO ที่ความเข้มข้น 0, 1 และ 2 % จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสต่อการยอมรับของผู้บริโภค พบว่า ความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเสริม SCE และ CSO คือ 1% ซึ่งมีคะแนนความพึงพอใจโดยรวมเท่ากับ 5.42 และ 5.23 คะแนนตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่เสริมพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) จากนั้นศึกษาการเสริม SCE และ CSO ในไส้กรอกสดทอดมันมะกรูด โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Control, 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3 และ 6 วัน และ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2 และ 3 เดือน โดยศึกษาคุณสมบัติทางด้านกายภาพ ด้านเคมี และด้านชีวภาพ จากการทดลอง พบว่า ค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) ค่าสีเหลือง (b^*) ค่าความสดใส (chroma) และ องศาของสี (hue angle) ในกลุ่ม Control, 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO ไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) เมื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH, ABTS และ reducing ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร พบว่ากลุ่ม 1% SCE มีสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุดและมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด และพบว่ากลุ่ม 0.01% BHT มีค่าการออกซิเดชันของไขมันน้อยที่สุด นอกจากนี้ ในไส้กรอกสดสมุนไพรทุกกลุ่มตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *E. coli*, *Salmonella spp.* และ *S. aureus*

Thesis	The use of sesame cake extraction as natural antioxidant in herbal fresh sausage
Student	Miss Namfon Jaisut
Student ID.	60604047
Degree	Master of Science
Program	Animal Science
Year	2019
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Komkhae Pilasombut
Thesis Co-advisor	Asst. Prof. Dr. Montinee Teerarak

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the antioxidant activities of sesame (*Sesamum indicum* L.) cake extraction in herbal fresh sausage in order to increase the antioxidant properties. The study was divided into three experiments. The first experiment, the production of herbal fresh sausages were done using 15 recipes and the sensory evaluation of uncooked and cooked herbal fresh sausages was tested by 30 panelists.

Sensory attributes were evaluated using a seven-point hedonic scale. The sensory evaluation results of uncooked herbal fresh sausage recipes in Lap Sa Mun Prai, Leuang Ka Min, Kua Hom, Tot Man Ma Groot and Barbecue were scored at 5.73, 5.73, 5.57, 5.53 and 5.37 respectively with non – significant difference ($P > 0.05$). while, the sensory evaluation results of cooked herbal fresh sausage recipes in Tot Man Ma Groot, Leuang Ka Min and Nam Ta Tok were accepted as score 5.80, 5.57 and 5.45 respectively with non-significant difference in statistic ($P > 0.05$). The highest overall score of the cooked sausage was selected to use in the third experiment.

The second experiment, the antioxidant properties in sesame cake extract (SCE) and commercial sesame oil (CSO) were studied. The total phenolic content of SCE at 1,276.93 mg GAE/100 g sample was higher than CSO at 67.62 mg GAE/100 g sample ($P < 0.05$). The antioxidant activities (IC_{50} : the half maximal inhibitory concentration by DPPH, ABTS assays and $EC_{0.5}$: the half maximal effective concentration by reducing power assays were measured. SCE inhibitions exhibited as 0.2033, 0.3631 and 0.4315 % While inhibition ability of CSO was 0.8114,

1.6597 and 10.0635 % respectively. Moreover, there was no inhibition zone on pathogenic and spoilage bacteria growth on SCE test by Agar well diffusion for the antimicrobial activity.

The third experiment, the optimum concentration of SCE and CSO in Tot Man Ma Groot fresh sausage recipe was demonstrated. The study was compared for optimum concentration of SCE at 0, 0.5 and 1% whereas, CSO was compared at 0, 1 and 2%. The sensory evaluation of consumer acceptance of both SCE and CSO were at 1% with an overall score of 5.42 and 5.23 respectively, with non-significant difference ($P > 0.05$) to Tot Man Ma Groot fresh sausage recipe without SCE or CSO. The last experiment in Tot Man Ma Groot fresh sausage recipe was designed in 4 traits which were control (no additive), adding 0.01% BHT, 1% SCE and 1% CSO. The herbal fresh sausages were stored at 4°C for 0, 3 and 6 days and -18°C for 1, 2 and 3 months to physical, chemical and biological properties analysis. The results showed non-significant difference ($P > 0.05$) in lightness (L^*), redness (a^*), yellowness (b^*), chroma and hue angle in all traits. Whereas, the amount of the phenolic compound, antioxidant activity of DPPH, ABTS and reducing power were also demonstrated. The highest total phenolic compound and antioxidant properties were measured in sausage with 1% SCE, however sausage with 0.01% BHT had the lowest lipid oxidation. In addition, no pathogenic microorganisms including *E. coli*, *Salmonella* spp. and *S. aureus* was detected in Tot Man Ma Groot fresh sausage recipe.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. คมแข พิลาสมบัติ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง และ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผศ. ดร. มณฑิณี ชีรารักษ์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำชี้แนะช่วยแก้ปัญหาตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์จากท่านและขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณ รศ. ดร. วิชัย สุภลักษณ์ และ ผศ.ดร. ปิยะดา ทวีขศรี ประธานและกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนข้อชี้แนะในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณ ทูตสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรมและผู้ให้ร่วมทุน สหกรณ์เครือข่ายโคเนื้อ จำกัด ที่ให้การสนับสนุนและโอกาสในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอขอบคุณ รศ.ดร. นवलพรรณ งามยี่สุ่น ได้กรุณาช่วยชี้แนะ ให้คำปรึกษาและตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณ คุณภัทริน วิจิตรตระการ คุณสุภาพรรณ ศฤงฆาร คุณเอื้องพร สมศรี คุณธีรน้อย ทิพวรรณ คุณประภัสสร มาลาบาน เพื่อน และน้องนักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชาสัตวศาสตร์ทุกคน และบุคคลที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ช่วยเหลือในการทำวิจัย ให้คำปรึกษา ให้กำลังใจที่ดีเสมอ ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้ด้วยดี

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดามารดา ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแก่ทุกท่านที่สามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไป

น้ำฝน ใจสุทธิ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	X
สารบัญภาพ.....	XII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์.....	3
1.3 สถานที่ดำเนินงาน.....	3
1.4 ขั้นตอนการศึกษา.....	3
1.5 ระยะเวลาการศึกษา.....	4
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 งา (Sesame)	5
2.1.1 ชนิดและพันธุ์งา.....	6
2.1.2 คุณค่าทางอาหารของงา.....	7
2.1.3 กระบวนการผลิตน้ำมันงา.....	7
2.1.4 การแปรรูปงา.....	8
2.2 กากงา (Sesame cake).....	9
2.2.1 คุณค่าทางอาหารของกากงา.....	10
2.2.2 ข้อกำหนดตามพระราชบัญญัติอาหาร เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน.....	10
2.2.3 คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของกากงา.....	11
2.3 สารสกัดจากกากงา (Sesame cake extract).....	12
2.3.1 คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากงา.....	12
2.4 ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด (Fresh sausage).....	14

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4.1	ไส้กรอกสดสมุนไพร.....	14
2.4.2	อายุการเก็บรักษาของไส้กรอกสด.....	14
2.5	จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของเนื้อสัตว์และเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์.....	15
2.5.1	จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค.....	15
2.5.2	จุลินทรีย์ที่ทำให้เนื้อสัตว์เน่าเสีย.....	16
2.5.3	จุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงลักษณะของเนื้อสัตว์.....	16
2.6	เครื่องเทศและสมุนไพร (Spices and Herbs)	16
2.6.1	คุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระในเครื่องเทศและสมุนไพร.....	17
2.7	อนุมูลอิสระ (free radicals).....	18
2.7.1	แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ (Sources of free radical)	18
2.7.2	อันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ.....	19
2.7.3	การออกซิเดชันของไขมัน (Lipid oxidation)	19
2.8	สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)	21
2.8.1	แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ (Sources of antioxidants)	21
2.8.2	ความสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระต่อสุขภาพ.....	22
2.8.3	กลไกการเกิดการต้านอนุมูลอิสระของสารอนุมูลอิสระในอาหาร.....	23
บทที่ 3	วิธีดำเนินงานวิจัย.....	24
3.1	ตัวอย่างกากงา.....	24
3.2	สารสกัดจากกากงา.....	24
3.3	แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ.....	25
3.4	อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี.....	26
3.5	วัสดุ - อุปกรณ์ และเครื่องมือ.....	27
3.6	วิธีดำเนินงานวิจัย.....	31
3.6.1	การทดลองที่ 1 ศึกษาสูตรในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร.....	31
3.6.2	การทดลองที่ 2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหารในสารสกัดจากกากงา.....	32

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.6.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาการใช้สารสกัดจากกากงาในการผลิตไส้กรอกสด สมุนไพร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเป็นอาหารเพื่อสุขภาพที่มี คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ.....	34
บทที่ 4 ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง.....	42
4.1 ศึกษาสัดส่วนเครื่องเทศในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพรเพื่อสุขภาพ.....	42
4.1.1 ศึกษาสูตรที่ใช้ในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร 15 สูตร.....	42
4.1.2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด สมุนไพร.....	44
4.2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ในสารสกัดจากกากงา....	47
4.2.1 ทดสอบอะฟลาทอกซินในสารสกัดจากกากงา.....	47
4.2.2 ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระใน สารสกัดจากกากงา.....	48
4.2.3 ศึกษาคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ในสารสกัดจากกากงา.....	51
4.3 ศึกษาการใช้สารสกัดจากกากงาในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพรเพื่อเพิ่ม ประสิทธิภาพการเป็นอาหารเพื่อสุขภาพที่มีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ.....	52
4.3.1 การใช้สารสกัดจากกากงาในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร.....	52
4.3.2 ศึกษาคุณภาพทางด้านกายภาพ ด้านเคมี และด้านชีวภาพ รวมถึงการศึกษาอายุ การเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร.....	53
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	79
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	79
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	80
บรรณานุกรม.....	81
ภาคผนวก.....	93
ภาคผนวก ก.....	94
ภาคผนวก ข.....	102
ภาคผนวก ค.....	104

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ง.....	105
ภาคผนวก จ.....	108
ภาคผนวก ฉ.....	110
ประวัติผู้วิจัย.....	113

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 คุณค่าสารอาหารชนิดต่าง ๆ ในเมล็ดงาสีต่าง ๆ.....	6
2.2 กรดไขมันชนิดต่าง ๆ ในเมล็ดงา.....	7
2.3 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดงาและผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตน้ำมันงา.....	8
2.4 คุณค่าสารอาหารชนิดต่าง ๆ ในกากงา.....	10
2.5 แร่ธาตุชนิดต่าง ๆ ในกากงา.....	10
2.6 อุณหภูมิที่ต่างกันเป็นเวลา 10 นาทีต่อปริมาณลิคนเนนและลิคนินไกลโคไซด์ของสารสกัดจากกากงาที่สกัดด้วยเมทานอล.....	11
2.7 ผลผลิตของเมล็ดงาและกากงาที่ได้จากการใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน.....	12
2.8 อายุการเก็บรักษาของไส้กรอกสด.....	15
3.1 แบคทีเรียทดสอบ อาหารที่ใช้เลี้ยงและอุณหภูมิสำหรับการเจริญของแบคทีเรีย.....	25
3.2 การตรวจเชื้อ <i>Salmonella</i> spp. โดยวิธีทางชีวเคมี.....	40
4.1 ส่วนผสมที่ใช้ในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร.....	43
4.2 ความพึงพอใจของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรไม่ปรุงสุก 15 สูตร.....	46
4.3 ความพึงพอใจของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรปรุงสุก 15 สูตร.....	47
4.4 ผลการตรวจอะฟลาทอกซินในกากงาคำ.....	48
4.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากงาน้ำมันงาเชิงการค้า และสารมาตรฐาน.....	50
4.6 ผลของการใช้สารสกัดจากกากงาในการยับยั้งแบคทีเรียในเนื้อสัตว์ (5 log CFU/ml) โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใส (มิลลิเมตร).....	51
4.7 การประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของการเสริมสารสกัดจากกากงาและน้ำมันงาในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดปรุงสุก.....	53
4.8 ค่าความสว่าง (L*) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	55
4.9 ค่าสีแดง (a*) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	56
4.10 ค่าสีเหลือง (b*) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	57

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.11 ค่าความสดใส (Chroma) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	59
4.12 ค่าองศาของสี (Hue angle) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	60
4.13 ค่าความเป็นกรด-ด่างในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	61
4.14 การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	64
4.15 การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	65
4.16 การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี reducing power ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	66
4.17 การหาปริมาณฟีนอลิกรวมทั้งหมด ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	68
4.18 การออกซิเดชันของไขมัน (TBARS; mg MDA/kg sample) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	70
4.19 อะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรที่เสริมสารสกัดจากกากงา.....	71
4.20 จำนวนจุลินทรีย์รวม (Total Plate Count) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	74
4.21 จำนวนเชื้อ Coliforms ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	75
4.22 จำนวนเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	76
4.23 จำนวนเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	77
4.24 จำนวนเชื้อ <i>Salmonella</i> spp. ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส.....	78

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ลักษณะลำต้นและดอกของงา (ภาพซ้าย) ลักษณะของผลงา (ภาพขวา)	5
4.1 กากงาก่อนสกัด (ภาพซ้าย) กากงาหลังสกัด (ภาพขวา)	24

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

งา (sesame) จัดอยู่ในวงศ์ (family) Pedaliaceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Sesamum indicum* L. เป็นพืชล้มลุกประเภทไม้พุ่มเนื้ออ่อน ปลูกได้ทั่วไปในเขตร้อนและกึ่งร้อน (ศศิธร จารุสมบัติ, 2545) เป็นพืชน้ำมันที่สำคัญทั่วโลก เมล็ดถูกนำมาใช้เพื่อเพิ่มความหลากหลายในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น การผลิตน้ำมันสำหรับปรุงอาหาร การทำเบียร์เกอร์รี่และในอุตสาหกรรมยาและยังเป็นพืชน้ำมันที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศ (Gadri *et al.* 2019) เพราะเป็นพืชที่มีศักยภาพในการผลิตและการตลาดสูง สามารถปลูกขึ้นง่าย ลงทุนน้อย และทนต่อสภาพความแห้งแล้งได้ดี (ออมฤทัย มั่นนุช และมงคล ภาคสุวรรณ. มปป) งาได้ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางและสามารถบริโภคได้ในส่วนของน้ำมันงา เนยงา กากงา และแป้งงา เนื่องจากปริมาณน้ำมันมีความเสถียรสูง และมีโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการ (อุดมไปด้วยเมทไธโอนีน (methionine) ทริปโตเฟน (tryptophan) และวาลีน (valine) (Zebib *et al.* 2015) งามีสารลิกแนน (lignans) สำคัญ 2 ชนิด คือ เซซามิน (sesamin) และเซซาโมลิน (sesamol) จึงทำให้มีความเสถียรในการต้านออกซิเดชันมากกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่น (Jeong *et al.* 2004) จากผลการวิจัยพบว่า สารเซซามินมีฤทธิ์ในการกำจัดสารพิษต้านแบคทีเรีย เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งช่วยยับยั้งการดูดซึมของคอเลสเตอรอลและยับยั้งการสร้างคอเลสเตอรอลในตับ และไม่เกิดการสะสมในร่างกาย (ศัลยา คงสมบูรณ์เวช, 2547) ในอุตสาหกรรมน้ำมันงา เมล็ดงาได้ถูกใช้เป็นตัวดูดซับในการสกัดน้ำมัน กระบวนการสกัดน้ำมันมีหลายวิธี เช่น ใช้เครื่องจักรกล (mechanical extract) ช่วยบีบอัด-สกัดด้วยเครื่องแบบไฮดรอลิก (hydraulic press) หรือเครื่องแบบเกลียวอัด (screw press) หรือใช้สารเคมี (solvent extract) ในการละลายสกัดน้ำมันออกมา (กาญจนา บันสิทธิ์ และธีระพล บันสิทธิ์, 2557) ซึ่งกากงาเป็นผลพลอยได้หลังจากการสกัดน้ำมัน มีคุณค่าทางอาหารสูง แต่มีราคาถูกจึงมักจะถูกนำไปใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ (Onsaard *et al.* 2010) ในปัจจุบันกากงามีความสำคัญมากขึ้นเรื่อย ๆ ในอาหารของมนุษย์ เนื่องจากมีคุณสมบัติพิเศษ คือ ปริมาณโปรตีนสูง มีระดับธาตุกำมะถันที่ประกอบไปด้วยกรดอะมิโนซีสทีน (cysteine) และเมทไธโอนีน (methionine) สูง จึงถูกใช้เป็นอาหารเสริมในอาหารของเด็กที่เป็นโรคขาดพลังงานและโปรตีน (Kwashiorakor) แต่รสชาติยังไม่เป็นที่น่าพอใจ (Hegde, 2012) ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะนำกากงา ซึ่งมีใยอาหารและมีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์อื่น ๆ ที่พบในกากงา เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ สารเคมีตามธรรมชาติที่พบในพืช กรดฟีนอลิกและลิกแนนที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระจำนวนมาก ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถนำมาใช้ทดแทนสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ได้ (Lee *et al.* 2017) มาใช้ร่วมกับผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร

เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ถือเป็นสิ่งสำคัญต่อการเจริญเติบโตของร่างกายด้วย คุณสมบัติทางโภชนาการที่ให้ระดับโปรตีน กรดไขมัน วิตามิน แร่ธาตุ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ (Slima *et al.* 2017) ในปัจจุบันอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ได้มีการเติบโตขึ้นอย่างมาก และมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปใหม่ ๆ เพิ่มขึ้น (Park *et al.* 2010) ความสำเร็จของธุรกิจแปรรูปเนื้อสัตว์ที่สำคัญประการหนึ่ง คือ การใช้เนื้อที่มีมูลค่าต่ำ หรือเนื้อจากชิ้นส่วนที่เหนียวหรือเศษเนื้อที่ได้จากการตัดแต่งมาเพิ่มมูลค่าให้สูงขึ้น และเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคด้วย โดยเนื้อที่จัดว่าเป็นผลพลอยได้ นอกจากจะเป็นเนื้อจากโคอายุมาก หรือแก่ปลดระวางแล้ว ยังมีเนื้อจากชิ้นส่วนที่ไม่สามารถนำไปทำสเต็ก ย่าง หรืออบ ได้แก่ เนื้อพื่นท้อง เนื้อซี่ข้าง และเนื้อบริเวณคอ ซึ่งถ้ามาจากเนื้อโคขุนแล้ว จะมีไขมันปนอยู่มาก จึงนิยมนำไปทำแฮมเบอร์เกอร์ และวัตถุดิบในการทำไส้กรอก (กองส่งเสริมและพัฒนาปศุสัตว์. 2555) ไส้กรอกเป็นหนึ่งในรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่รู้จักกันดีของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปและเป็นที่ยอมรับมากในหลายพื้นที่ เช่น fresh pork sausage, country-style pork sausage, fresh kielbasa, Korr, Italian sausage, bratwurst, bockwurst, chorizo และ thuringer (Liu *et al.* 2009)

ไส้กรอกสดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีอายุการเก็บรักษาสั้นเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เนื่องจากผลิตจากเนื้อสัตว์สดเป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ มีปริมาณไขมันมากทำให้เกิดการออกซิเดชันของไขมันจึงต้องเก็บไว้ในบรรจุภัณฑ์และเก็บแช่เย็นไว้ ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้ต้องเติมวัตถุเจือปนเพื่อรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ (Hugo and Hugo. 2015) วัตถุเจือปนในอาหารหลายชนิดถูกใช้ในกระบวนการผลิตเนื้อสัตว์เป็นปกติ เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชันและลดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา ผู้บริโภคมีความตระหนักเกี่ยวกับผลกระทบที่อาจเป็นพิษและส่งผลกระทบต่อสุขภาพมากขึ้น ในการใช้ในไตรท์และสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ Butylated hydroxytoluene (BHT), Butylated hydroxyanisole (BHA) และ Tertiary Butyl Hydro Quinone (TBHQ) ให้น้อยลง ขณะที่ผู้บริโภคมีความต้องการใช้สารเติมแต่งจากธรรมชาติเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Šojić *et al.* 2018) ความกังวลของผู้บริโภคได้กระตุ้นให้ผู้ผลิตอาหารตรวจสอบประโยชน์ของสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติมาทดแทนสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Kulkarni *et al.* 2011) นอกจากนี้ มีการวิจัยว่าผู้บริโภคบริโภคผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่ปราศจากสารกันบูดเพิ่มขึ้น จึงได้กระตุ้นให้มีการค้นหาสารใหม่ๆ ที่มาจากธรรมชาติ โดยมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อใช้เป็นทางเลือกในการใช้เติมวัตถุเจือปนสังเคราะห์ในอุตสาหกรรมอาหารเกษตร (Mariem *et al.* 2014) สารสกัดจากพืชธรรมชาติบางชนิด เช่น โรสแมรี่ ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางในการป้องกันประสิทธิภาพในอาหารและน้ำมันจากพืช นอกจากนี้ยังมีรายงานจากแหล่งอื่น ๆ เช่น สารสกัดจากข้าวโอ๊ต และสารสกัดจากเปลือกถั่วลิสงมีการป้องกันสารอนุมูลอิสระต่อไขมันพืชในระหว่างเก็บรักษา เป็นต้น (Suja *et al.* 2004)

ดังนั้น งานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากงา และการนำมาใช้ในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพรเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเป็นอาหารเพื่อสุขภาพที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ

1.2 ความมุ่งหมาย และวัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสูตรในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร
2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากงา
3. เพื่อศึกษาการใช้สารสกัดจากกากงาในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร เพื่อเพิ่มการเป็นอาหารที่มีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

1.3 สถานที่ดำเนินงาน

1. ห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์เนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
2. ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
3. ห้องปฏิบัติการโภชนศาสตร์สัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
4. ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังเก็บเกี่ยวไม้ดอกและไม้ใบ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.4 ขั้นตอนการศึกษา

1. ศึกษาสูตรในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพรเพื่อสุขภาพ
2. ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในสารสกัดจากกากงา
3. ศึกษาการใช้สารสกัดจากกากงาในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเป็นอาหารเพื่อสุขภาพที่มีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

1.5 ระยะเวลาการศึกษา

ใช้เวลาในการศึกษาทั้งสิ้น 2 ปี เริ่มทำการทดลอง ตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2561 เสร็จสิ้นการศึกษาเดือนธันวาคม พ.ศ. 2562

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถผลิตเป็นสูตรไส้กรอกสดสมุนไพรเพื่อการจำหน่าย
2. เพิ่มมูลค่าของกากงาที่เหลือจากการสกัดน้ำมันมาผลิตสารสกัดเพื่อสุขภาพได้
3. สามารถนำพืชมาสกัด เพื่อเพิ่มประโยชน์ในไส้กรอกสดสมุนไพรได้
4. ผลิตไส้กรอกสดที่มีคุณภาพดีมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ
5. เพิ่มมูลค่ากากงาที่มีราคาตกต่ำ ทำให้มีมูลค่าที่สูงขึ้น
6. สามารถนำเศษเนื้อหรือเนื้อที่เหลือจากการสไลด์มาเพิ่มมูลค่าได้

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 งา (Sesame)

งาจัดอยู่ในวงศ์ (family) Pedaliaceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Sesamum indicum* L. มีจำนวนโครโมโซม $2n = 26$ มีชื่อหลากหลาย เช่น seame, benne oil seed, sim-sim, benni seed, Bambara, bene benefin และ sesamier เป็นต้น (อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์. 2556) มีลำต้นตั้งตรงและเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสตัดตามแนวขวาง มีร่องแนวยาวชัดเจน ลำต้นมีลักษณะเรียบและมีขนดก ก้านมีช่วงสีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม ใบมีลักษณะเรียวยาวแหลม มีสีเขียวเข้ม (Geremew *et al.* 2012) ดอกงาเป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นกลุ่มตรงซอกใบ จำนวน 1 - 3 ดอก ดอกย่อยมีก้านดอกสั้น มีกลีบรองดอกจำนวน 5 กลีบ ส่วนกลีบดอก แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ กลีบล่าง และกลีบบน โดยกลีบล่างจะยาวกว่ากลีบบน ภายในดอกมีเกสรตัวผู้ 2 คู่ มี 1 คู่ยาว ส่วนอีกคู่สั้นกว่า ส่วนเกสรตัวเมียมี 1 อัน มีปลายก้านเกสรแหว่งเป็น 4 แฉก (Najeeb *et al.* 2012) ดังแสดงในภาพที่ 2.1 งาเป็นพืชล้มลุกประเภทไม้พุ่มเนื้ออ่อน พบปลูกทั่วไปในเขตร้อนและกึ่งร้อน สันนิษฐานว่ามีถิ่นกำเนิดของงาอยู่แถบบริเวณประเทศเอธิโอเปียในทวีปแอฟริกา ต่อมาแพร่กระจายมาทางตะวันออกเข้าสู่ทวีปเอเชียแถบประเทศอินเดียและจีน (ศศิธร จารุสมบัติ. 2545; Baraki *et al.* 2019)



(a)

(b)

ภาพที่ 2.1 ลักษณะลำต้นและดอกของงา (ภาพซ้าย) ลักษณะของผลงา (ภาพขวา)

ที่มา : Joshi. (2012)

2.1.1 ชนิดและพันธุ์งา

งาที่มีปลูกอยู่ในประเทศไทย เป็นงาพันธุ์เมืองที่มีทั้งพันธุ์หนักและพันธุ์เบา ซึ่งสามารถแบ่งงาที่ปลูกในประเทศไทยออกเป็น 3 ชนิด (ทรงยศ ดันพิพัฒน์. 2529; ศศิธร จารุสมบัติ. 2545) คือ งาขาว งาดำ และงาแดง ปกติงาที่ใช้บริโภคได้แก่ งาขาวธรรมชาติ งาดำและงาขาวขัด การบริโภคเมล็ดงาส่วนใหญ่จะเป็นงาขาวและงาดำที่นำมาแปรรูปอาหาร และผลิตน้ำมันงา ส่วนงาแดงนิยมใช้อัดน้ำมัน (กัษมาพร ปัญตะบุตร. 2555)

2.1.2 คุณค่าทางอาหารของงา

Hwang (2005) อ้างโดย อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์ (2556) รายงานว่า คุณค่าสารอาหารของเมล็ดงาขึ้นกับพันธุ์ แหล่งผลิต สีและขนาดของเมล็ด โดยเมล็ดงาที่มีสีต่าง ๆ มีคุณค่าสารอาหารแสดงในตารางที่ 2.1 เมื่อดอกเปลือกของเมล็ดออก จะพบว่าปริมาณน้ำมันและโปรตีนสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ลอกเปลือก

ตารางที่ 2.1 คุณค่าสารอาหารชนิดต่าง ๆ ในเมล็ดงาสีต่าง ๆ

ชนิดงา	ปริมาณสารอาหาร (%)					
	ไขมัน	โปรตีน	คาร์โบไฮเดรต	เยื่อใย	เถ้า	ความชื้น
งาดำ	35.5	17.2	9.19	19.6	4.01	4.73
งาขาว	34.6	20.8	9.19	14.2	10.1	4.14
งาดำ-แดง	41.3	20.2	10.3	18.6	5.19	4.12
งาทิ้งเมล็ด	51.5	20.0	12.5	6.0	5.0	5.0
งาลอกเปลือก	55.0	24.3	10.4	2.0	3.0	5.3

ที่มา : Hwang (2005) อ้างโดย อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์ (2556)

งาเป็นพืชน้ำมันที่มีเมล็ดขนาดเล็กกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่น เช่น ปาล์มน้ำมันและละหุ่งงาจัดเป็นพืชน้ำมัน (oil crops) ที่มีการนำเมล็ดมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง เนื่องจากน้ำมันงาเป็นน้ำมันที่มีคุณภาพดี ในเมล็ดงาประกอบด้วยกรดไขมันชนิดต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.2 น้ำมันงาประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว 2 ชนิด คือ กรดโอเลอิกและกรดลิโนเลอิก ซึ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งสองชนิดนี้ร่างกายของมนุษย์ไม่สามารถสร้างได้เอง แต่เป็นกรดไขมันที่ร่างกายต้องการ งาจึงเป็นพืชที่มีการนำมาใช้ประโยชน์เป็นน้ำมันทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศรวมทั้งเป็นพืชน้ำมันที่เป็นที่ต้องการของตลาดภายในประเทศและต่างประเทศ (ศานิต สวัสดิกาญจน์. 2558)

ตารางที่ 2.2 กรดไขมันชนิดต่าง ๆ ในเมล็ดงา

กรดไขมัน	ร้อยละ
กรดปาล์มมิติก (palmitic acid ; 16:0)	11.7
กรดสเตียริก (stearic acid ; 18:0)	5.2
กรดโอเลอิก (oleic acid ; 18:1)	41.4
กรดลิโนเลอิก (Linoleic acid ; 18:2)	39.4
กรดลิโนเลนิก (Linolenic acid ; 18:3)	0.4
กรดอะแรคคิโคนิก (arachidic acid ; 20:0)	0.4
กรดบีเฮนิก (behenic acid ; 22:0)	0.6

ที่มา : ดัดแปลงจาก Anitakumar *et al.* (2010)

2.1.3 กระบวนการผลิตน้ำมันงา

น้ำมันงามี 2 ชนิด คือน้ำมันงาดิบ เป็นน้ำมันงาที่ถูกบีบจากงาดิบ และน้ำมันงาสุก เป็นน้ำมันงาที่ถูกบีบจากงาที่คั่ว น้ำมันงาสุกจะมีสีน้ำตาลแดงมีกลิ่นหอมเป็นที่นิยมนำมาปรุงอาหาร ส่วนน้ำมันงาดิบนั้นมีสีเหลืองแกมเขียว กลิ่นไม่หอมเท่าน้ำมันงาสุก ซึ่งในการผลิตน้ำมัน มีวิธีการที่นิยมทำ 2 วิธี คือ

1) การบีบ (Pressing หรือ Expelling)

เป็นวิธีการแยกน้ำมันออกจากวัตถุดิบ มี 2 กระบวนการคือ กระบวนการบีบเย็น (cold pressing) และการบีบร้อน (hot pressing) ในการบีบเย็น นิยมใช้กับเมล็ดพืชที่มีปริมาณน้ำมันสูง เช่น งา ถั่วลิสง ถั่วเหลือง มะกอก และมะพร้าว เป็นต้น แรงกดที่กระทำต่อเนื้อเยื่อของเมล็ดพืชจะทำให้ผนังเซลล์แตกและบีบน้ำมันออกมา สามารถนำไปใช้ได้เลย โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ น้ำมันที่ได้จะมีคุณภาพดีและคงสภาพเหมือนอยู่ในเมล็ด และไม่มีปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีเกิดขึ้นได้ในน้ำมัน เช่น น้ำมันงา น้ำมันถั่วลิสงและน้ำมันมะกอก โดยวิธีนี้จะมีกลิ่นหอม (nutty flavor) แต่มีประสิทธิภาพต่ำ เพราะในกากยังมีน้ำมันเหลืออยู่อีกมาก ส่วนการบีบร้อน มีประสิทธิภาพดีกว่าการบีบเย็น กากที่เหลือจากการบีบเย็นจะมากกระทำขั้นตอนต่อไปโดยใช้การบีบร้อน อาจใช้เป็นเครื่องอัดแบบไฮดรอลิก (hydraulic press) หรือเครื่องอัดแบบเกลียวอัด (screw press) การสกัดน้ำมันด้วยวิธีนี้จะมีน้ำมันเหลืออยู่ในกากเพียง 2 - 4 % เท่านั้น

2) การสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลาย

การสกัดน้ำมันออกจากวัตถุดิบด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมาก และใช้สกัดน้ำมันออกจากเมล็ดพืชที่มีปริมาณน้ำมันต่ำ หรือสกัดน้ำมันออกจากกากที่เหลือจากการบีบด้วยเครื่องอัด ตัวทำละลายที่ใช้จะต้องไม่เป็นพิษต่อร่างกาย ได้แก่ เฮกเซน (hexane) คาร์บอนได

ซัลไฟด์ (carbon disulfide) และ ไดเอทิลอีเทอร์ (dimethyl ether) เป็นต้น ตัวทำละลายที่นิยมใช้กันมากที่สุดคือ เฮกเซน

วิธีการสกัดทำได้โดยให้ตัวทำละลายไหลซึมผ่านเมล็ดที่บดละเอียด น้ำมันที่อยู่ในเมล็ดจะละลายออกมากับตัวทำละลาย เมื่อน้ำมันละลายออกมาแล้วนำไปกลั่นแยกเอาตัวทำละลายออก สารละลายของน้ำมันในตัวทำละลายประกอบด้วยตัวทำละลายน้ำ หรือความชื้น น้ำมัน และกาก ซึ่งกากจะแยกออกจากน้ำมันโดยการกรอง ส่วนเฮกเซนและน้ำ แยกออกโดยการระเหย (evaporation) ที่ความดันต่ำ ขั้นตอนการระเหยเอาตัวทำละลายออกต้องใช้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำที่สุด เพราะหากใช้อุณหภูมิสูงเกินไป จะเร่งให้เกิดการออกซิเดชัน ทำลายสารต้านออกซิเดชันและทำให้ไขมันที่ได้มีสีเข้มขึ้น (นิธิยา รัตนาปนนท์. 2548)

อย่างไรก็ตาม การเลือกวิธีการผลิตน้ำมันงานั้น ขึ้นอยู่กับคุณภาพของน้ำมันงาเป็นหลัก แต่ยักรวมถึงเรื่องอื่น ๆ เช่น ค่าใช้จ่าย ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และลักษณะเฉพาะคุณภาพของน้ำมันที่ต้องการสกัดสามารถประเมินได้ โดยการกำหนดพารามิเตอร์ทางเคมี กายภาพ ชนิด และปริมาณของกรดไขมันและการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 2.3 (Benítez and Ortega-Bonilla. 2016)

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดงาและผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตน้ำมันงา

พารามิเตอร์ (%)	เมล็ดงา	ผลพลอยได้ (กากงา)	
		วิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย	วิธีการบีบ
ความชื้น	-	4.618 ± 0.077	1.172 ± 0.046
เถ้า	5.7367 ± 0.0530	11.098 ± 0.136	10.938 ± 0.092
น้ำมัน	51.1724 ± 0.2960	1.068 ± 0.023	5.342 ± 0.057
โปรตีน	19.5440 ± 0.4690	37.757 ± 1.081	37.456 ± 1.090
ใยอาหาร	1.8371 ± 0.1689	3.521 ± 0.137	3.490 ± 0.237
คาร์โบไฮเดรต	21.7098 ± 0.7484	41.939 ± 1.399	41.602 ± 1.273

ที่มา : คัดแปลงจาก Benítez and Ortega-Bonilla. (2016)

2.1.4 การแปรรูปงา

อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์ (2556) และसानิต สวัสดิ์กาญจน์ (2558) ได้กล่าวว่าการแปรรูปงาเพื่อการบริโภคในรูปแบบต่าง ๆ มีดังนี้

1) น้ำมันงา การสกัดน้ำมันงาทำได้หลายวิธี กรรมวิธีในการสกัดแตกต่างกันก็จะได้คุณภาพและปริมาณน้ำมันงาแตกต่างกัน น้ำมันงาที่สมควรได้รับการตรวจสอบคุณภาพ โดยวัดค่าต่าง ๆ และนำมาเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของน้ำมันงา ซึ่งค่ามาตรฐานของงามีดังนี้

ค่า acid value	:	< 0.2
ค่า iodine value	:	103 - 118
ค่า saponification value	:	187 - 194
ค่า unsaponification value	:	< 0.2 %

นอกจากนี้ การผลิตน้ำมันงาสำหรับบริโภคนิยมผลิต 2 รูปแบบ คือ น้ำมันงาดิบบริสุทธิ์ (refined sesame oil) ซึ่งเป็นน้ำมันงาที่สกัดมาจากเมล็ดงาที่มีเปลือก หรือไม่มีเปลือกก็ได้ น้ำมันงาชนิดนี้บริโภคเป็นน้ำมันสลัด และอีกชนิดหนึ่งคือ น้ำมันงาคั่ว (roasted sesame oil) ซึ่งเป็นน้ำมันงาที่สกัดมาจากเมล็ดงาคั่วสุก ซึ่งน้ำมันงาชนิดนี้จะมีกลิ่นหอมมาก และนิยมบริโภคในประเทศจีน ญี่ปุ่น และเกาหลี

2) งาคั่ว นำไปคั่วตามวิธีในแต่ละท้องถิ่น โดยนำเมล็ดงาที่ผ่านการล้างสะอาดมาผึ่งแดดให้พอหมาด แล้วนำไปคั่วโดยใช้ไฟปานกลางและคนพลิกงาตลอดเวลา คั่วจนเมล็ดงาเริ่มแตกและมีกลิ่นหอม และสังเกตลักษณะของเมล็ดพองโตเป็นมันวาว

3) งาขัด หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า งาล้าง เป็นเมล็ดงาที่แยกเปลือกออกให้ได้เมล็ดงาสีขาวนารับประทาน และไม่มีรสขม เนื่องจากเปลือกงามีแคลเซียมออกซาเลต และเยื่อใยสูงถูกกำจัดออกไป งาขุดนิยมใช้โรยหน้า หรือปรุงแต่งขนมต่าง ๆ หลายชนิด

4) กากงา ซึ่งเป็นผลพลอยได้มาจากการสกัดน้ำมันงา มีคุณค่าทางอาหารสูงแต่มีราคาถูกจึงมักจะถูกนำไปใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์

2.2 กากงา (Sesame cake)

กากงาเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมน้ำมันงาและมืองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่สมดุล โดยกากงาแบ่งออกเป็น 4 แบบคือ กากงาทิ้งเมล็ด (whole seed meal) กากงาจากเมล็ดงาที่ผ่านการกำจัดเปลือก (dehull seed meal) กากงาจากงาทิ้งเมล็ดที่ผ่านการกำจัดไขมัน (defatted whole seed meal) และกากงาจากงากำจัดเปลือกที่ผ่านการกำจัดไขมัน (defatted dehull seed meal) ซึ่งจะมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน ส่วนแบ่งงาคือการนำกากงาไปสกัดน้ำมันด้วยสารละลาย แล้วระเหยสารทำละลายออก และนำไปบดให้ละเอียด หลังจากการสกัดน้ำมันจากเมล็ดงา กากงาที่ได้จะมีปริมาณเส้นใยและกรดออกซาลิกจำนวนมาก และมีปริมาณเมไทโอนีนสูง และยังคงมีไปด้วยแคลเซียม ฟอสฟอรัส และวิตามินอี กากงามีลิกนินที่ละลายน้ำได้ ซึ่งแสดงคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระในอาหารของสัตว์และในอาหารของมนุษย์ (Mondal, 2012) ในการศึกษาครั้งนี้ จึงมีความสนใจที่จะนำกากงามาใช้ประโยชน์ เนื่องจากมีโภชนาการต่าง ๆ เหลืออยู่มากแล้วยังมีประโยชน์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เพื่อเสริมในอาหารมีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้อีกด้วย

2.2.1 คุณค่าทางอาหารของกากงา

กากงาที่เหลือหลังจากการสกัดน้ำมันมักจะถูกใช้เป็นอาหารสัตว์หรือใช้เป็นส่วนผสมในปุ๋ย ซึ่งมีโปรตีนประมาณ 30 % ดังแสดงในตารางที่ 2.4 และผลพลอยได้นี้ยังอุดมไปด้วยแร่ธาตุต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.4 คุณค่าสารอาหารชนิดต่าง ๆ ในกากงา

ปริมาณสารอาหาร (%)						อ้างอิงจาก
ไขมัน	โปรตีน	คาร์โบไฮเดรต	เยื่อใย	เถ้า	ความชื้น	
9.3	34.0	30.4	8.2	8.9	9.2	Sunil <i>et al.</i> (2015)
11.2	35	14.4	22.7	8.6	8.1	Nascimento <i>et al.</i> (2012)
27.83	30.56	28.14	6.22	5.27	7.92	Onsaard <i>et al.</i> (2010)

ตารางที่ 2.5 แร่ธาตุชนิดต่าง ๆ ในกากงา

ปริมาณแร่ธาตุ (มิลลิกรัม/100 กรัม)					อ้างอิงจาก
เหล็ก (Fe)	สังกะสี (Zn)	โซเดียม (Na)	โพแทสเซียม (P)	แคลเซียม (Ca)	
55.6	13.0	23.3	117.0	560.9	Sunil <i>et al.</i> (2015)
14.55	10.23	39	406	153	Nagendra Prasad <i>et al.</i> (2012)

2.2.2 ข้อกำหนดตามพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน

อาหารที่มีสารปนเปื้อนต้องมีมาตรฐาน โดยตรวจพบสารปนเปื้อนได้ไม่เกินข้อกำหนดดังต่อไปนี้

1) โลหะ

(ก) ดีบุก	250	มิลลิกรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม
(ข) สังกะสี	100	มิลลิกรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม
(ค) ทองแดง	20	มิลลิกรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม
(ง) ตะกั่ว	1	มิลลิกรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เว้นแต่อาหารที่มีสาร

ตะกั่วปนเปื้อนตามธรรมชาติในปริมาณสูง ให้มีได้ตามที่ได้รับความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

(จ) สารหนูในรูปอนินทรีย์ (Inorganic Arsenic) 2 มิลลิกรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม สำหรับสัตว์น้ำและอาหารทะเล และสารหนูทั้งหมด (Total Arsenic) 2 มิลลิกรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัมสำหรับอาหารอื่น

(ค) ปรอท 0.5 มิลลิกรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม สำหรับอาหารทะเลและไม่เกิน 0.02 มิลลิกรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม สำหรับอาหารอื่น

2) อะฟลาทอกซิน 20 ไมโครกรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

3) สารปนเปื้อนอื่น ตามที่ได้รับความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

2.2.3 คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของกากงา

กากงาคั่วที่ได้จากเมล็ดงาที่ไม่ถูกคั่ว เมื่อนำมาสกัดสารต้านออกซิเดชันพบว่า ในสารสกัดหยาบ (methanolic crude extract) มีสารลิกแนน (lignans) และลิกแนนไกลโคไซด์ (lignan glycosides) สูงกว่าในสารสกัดจากกากงาคั่วที่เมล็ดผ่านการคั่วด้วยอุณหภูมิสูง (180, 200 และ 220 องศาเซลเซียส) ก่อนนำไปสกัดน้ำมันออก และในเมล็ดงามีสารต้านออกซิเดชันน้อยกว่าในสารสกัดหยาบ ดังแสดงในตารางที่ 2.6 (กาญจนา บันสิทธิ์ และธีระพล บันสิทธิ์, 2557)

ตารางที่ 2.6 อุณหภูมิคั่วที่ต่างกัน ในเวลา 10 นาทีต่อปริมาณลิกแนนและลิกแนนไกลโคไซด์ของสารสกัดจากกากงาที่สกัดด้วยเมทานอล

อุณหภูมิที่ใช้ในการคั่ว	Sesaminol triglucoside (มิลลิกรัม/กรัม)	Sesaminol diglucoside (มิลลิกรัม/กรัม)	Sesamin (มิลลิกรัม/กรัม)	Sesamolin (มิลลิกรัม/กรัม)
ไม่คั่ว	82.77 ± 3.29 ^a	9.84 ± 0.37 ^{ab}	9.21 ± 0.78 ^a	4.44 ± 0.55 ^a
180 องศาเซลเซียส	78.36 ± 4.03 ^a	8.94 ± 0.36 ^b	5.41 ± 0.31 ^b	1.64 ± 0.28 ^b
200 องศาเซลเซียส	46.91 ± 1.61 ^b	3.52 ± 0.84 ^c	3.20 ± 0.08 ^c	0.84 ± 0.09 ^c
220 องศาเซลเซียส	38.97 ± 0.88 ^c	2.73 ± 0.62 ^c	2.50 ± 0.08 ^c	0.14 ± 0.03 ^c

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{a-c} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ที่มา : กาญจนา บันสิทธิ์ และธีระพล บันสิทธิ์ (2557)

ในการศึกษาของบังอรและคณะ (2546) พบว่าส่วนที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมากที่สุดคือกากที่เหลือจากการผลิต เมื่อเทียบกับเมล็ดงาคั่ว และน้ำมันงาคั่วตามลำดับ นอกจากนี้ Naksungnern

et al. (2016) ได้รายงานถึงความสามารถในการลดระดับไขมันและคอเลสเตอรอลที่สะสมภายในร่างกายได้อีกด้วย

2.3 สารสกัดจากกากงา (Sesame cake extract)

ในกากงายังคงมีสารต้านอนุมูลอิสระเหลืออยู่ เมื่อนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เช่น เฮกเซน (hexane) เอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) เมทิลแอลกอฮอล์ (methyl alcohol) และน้ำ (water) ดังแสดงในตารางที่ 2.7 (Reshma *et al.* 2012; Lieu and Dang. 2015) สารสกัดจากกากงาที่ได้ จะมีสารลิแกแนนหลายชนิดเป็นสารประกอบฟีนอลที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Suja *et al.*, 2004; Lieu and Dang. 2015) ซึ่งสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากเอทานอลและน้ำ แต่น้ำเป็นตัวทำละลายที่สามารถนำมารับประทานได้ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย (Hussain *et al.* 2018)

ตารางที่ 2.7 ผลผลิตของเมล็ดงาและกากงาที่ได้จากการใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

ตัวทำละลาย	ผลผลิต (%)	
	เมล็ดงา	กากงา
เฮกเซน	47.90	-
เอทิลอะซิเตท	1.81	3.78
เมทิลแอลกอฮอล์	2.70	9.46
น้ำ	1.89	4.98

ที่มา : ดัดแปลงจาก Reshma *et al.* (2012)

2.3.1 คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากงา

กาญจนา บันสิทธิ์ และ ชีระพล บันสิทธิ์ (2557) กล่าวว่า การอบหรือคั่วเมล็ดงาด้วยความร้อนสูงก่อนสกัด จะทำให้ได้น้ำมันสำหรับปรุงอาหารที่มีกลิ่นหอมมากขึ้น แต่คุณภาพของกากและน้ำมันจะลดลง โดยพบว่าการอบเมล็ดงา ที่ 180 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ก่อนสกัดน้ำมันด้วยสารเคมี ทำให้ได้น้ำมันมากกว่าสกัดจากเมล็ดงาดิบ (ได้ 53 และ 45 % ของน้ำหนักเมล็ด) ซึ่งเป็นผลจากการที่โปรตีนถูกทำลายด้วยความร้อน ทำให้ประสิทธิภาพของการสกัดน้ำมันเพิ่มขึ้น และพบว่า ความร้อนที่ใช้อบทำให้วิตามินอี (tocopherols) และสารกลุ่มลิแกแนน (lignans) ในน้ำมันต่ำลง

Suja *et al.* (2004) ทำการทดลองสกัดกากงา (crude) ด้วยเมทานอล โดยกากงาที่ไม่ผ่านกระบวนการกำจัดไขมันและน้ำตาลสามารถละลายได้ดีใน โพรตีน เมื่อเปรียบเทียบกับกากงาที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ จะได้สารสกัดบริสุทธิ์ (purified) พบว่าปริมาณสารประกอบลิกแนน และสารประกอบลิกแนนไกลโคไซด์ของสารสกัดบริสุทธิ์มีปริมาณสูงกว่าสารสกัดงา (crude) และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระกับ BHT ที่ระดับ 200 ppm พบว่าค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ BHT ต่ำกว่าสารสกัดจากกากงา ทั้งการใช้ที่ปริมาณน้อยกว่าและที่ระดับเดียวกัน โดยสารสกัดจากกากงา มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดที่ความเข้มข้น 50 และ 100 ppm ซึ่งทดสอบด้วยวิธี DPPH free radical scavenging

Mohdaly *et al.* (2011) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากงาในการรักษาเสถียรภาพของน้ำมันดอกทานตะวันและน้ำมันถั่วเหลือง พบว่า สารสกัดจากกากงามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงในระหว่างช่วงเริ่มต้นและช่วงสุดท้ายของการเกิดออกซิเดชันในที่มีดีในเตาอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ดังนั้นสามารถแนะนำได้ว่าสารสกัดจากกากงา เป็นแหล่งที่มีสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ สำหรับการรักษาเสถียรภาพความคงตัวของอาหาร โดยเฉพาะน้ำมันพืชที่ไม่อิ่มตัว นอกจากนี้ ยังพบว่าสารสกัดจากกากงาที่ความเข้มข้น 200 ppm มีประสิทธิภาพในการรักษาเสถียรภาพเทียบเท่ากับสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่ใช้กันทั่วไป ได้แก่ BHT และ BHA ตามกฎหมาย แต่มีประสิทธิภพน้อยกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ TBHQ

Majdalawieh *et al.* (2017) ศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติการต้านมะเร็งและกลไกการออกฤทธิ์ของ sesamin lignan ในเมล็ดงา (*Sesamum indicum*) แสดงให้เห็นว่า sesamin สามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน นอกจากนี้ เซซามินยังมีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยให้สามารถออกฤทธิ์ป้องกันผลกระทบต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ สามารถชะดเชยปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชันได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยการลดการสะสมของ lipid peroxides ในเซลล์ และมีบทบาทในการป้องกันโรคหัวใจโดยการยับยั้งภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชันที่เกิดจากคอเลสเตอรอล

Kugo *et al.* (2019) ศึกษาการใช้สารสกัดจากงาจะช่วยลดความเสื่อมโทรมของเส้นใยคอลลาเจนและอีลาสตินในผนังหลอดเลือดของหนูที่ได้รับสารนิโคติน พบว่าสารสกัดจากงาอาจยับยั้งการสลายตัวของเส้นใยคอลลาเจนและอีลาสตินในหนูที่ได้รับสารนิโคติน โดยลดการแสดงออกของเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเอส 12 และความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของ sesamin และ sesamol ในสารสกัดจากงาอาจลดความเครียดจากอนุมูลอิสระและการอักเสบในผนังหลอดเลือด อาหารที่มี sesamin และ sesamol มีประสิทธิภาพป้องกันการพัฒนาหลอดเลือดเออร์ตาส่วนท้องให้มีขนาดใหญ่กว่าปกติ

2.4 ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด (Fresh sausage)

ไส้กรอกสดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากเนื้อสัตว์สดที่หยาบหรือบดละเอียด นำมาผสมกับเครื่องเทศ และอัดเข้าไปในไส้ธรรมชาติหรือไส้เทียม (Hugo and Hugo, 2015) ผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ต้องแช่เย็นและนำมาปรุงสุกก่อนรับประทาน โดยทั่วไปไส้กรอกสดมักเตรียมจากเนื้อหนึ่งชนิดหรือสองชนิด แต่ไม่ใช่ส่วนหัวใจ ไต หรือตับมาทำ (น้ำไม่เกิน 3 % ของส่วนผสมทั้งหมดในผลิตภัณฑ์) ซึ่งคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดตามข้อกำหนด USDA. (2013) กล่าวว่า Fresh Pork Sausage ทำจากเนื้อหมูและมีไขมันไม่เกิน 50 % ของน้ำหนัก Fresh Beef Sausage ทำจากเนื้อวัวและมีไขมันไม่เกิน 30 % ของน้ำหนัก Breakfast Sausage ทำจากเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์และมีไขมันไม่เกิน 50 % ของน้ำหนัก และ Whole Hog Sausage มีปริมาณของเนื้อสัตว์ที่ทำมาจากเนื้อหมู และมีไขมันไม่เกิน 50 % ของน้ำหนัก

2.4.1 ไส้กรอกสดสมุนไพร

สำหรับประเทศไทยมีไส้กรอกหลายชนิดที่ผลิตและบริโภค แต่ในนี้จะกล่าวถึงไส้กรอกสดสมุนไพร หรือ ที่นิยมเรียกกันว่า ไส้อั่ว เป็นไส้กรอกอย่างทางภาคเหนือของประเทศไทย เป็นอาหารต้นตำรับจากจังหวัดเชียงใหม่ และเป็นที่ยอมรับทั่วประเทศไทย (Kapadia, 2016) ไส้อั่ว เป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากเนื้อหมู มันหมู ปรุงรสด้วยเครื่องปรุงรส และเครื่องเทศหรือสมุนไพร เช่น เกลือ น้ำตาล ซีอิ้วขาว พริกแห้ง ตะไคร้ กระเทียม หอม ใบมะกรูด ขมิ้น บดหรือโขลก ผสมให้เข้ากัน บรรจุในไส้หมูที่สะอาดแล้วหรือไส้ชนิดอื่นที่บริโภคได้ แล้วนำไปทำให้สุก (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2557)

ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะนำเนื้อวัวและไขมันวัวมาทำไส้กรอกสดสมุนไพร เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์แปรรูปที่สามารถเพิ่มมูลค่ารับประทานได้ง่าย และยังสามารถเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกให้กับผู้บริโภคที่ไม่รับประทานหมูได้อีกด้วย

2.4.2 อายุการเก็บรักษาของไส้กรอกสด

ไส้กรอกสดจะเสื่อมเสียได้ง่ายกว่าไส้กรอกประเภทอื่น ๆ จึงควรได้รับการเก็บรักษาเป็นพิเศษ ไส้กรอกสดเสื่อมเสียได้ง่าย เนื่องจากการเสื่อมเสียทางจุลินทรีย์และการหืนจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน จึงต้องเก็บไว้ในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 0 - 4 องศาเซลเซียส ส่วนการเก็บรักษาแบบแช่แข็งจะช่วยป้องกันการเสื่อมเสียทางจุลินทรีย์ได้ แต่ไม่ป้องกันการออกซิเดชันของไขมัน (Savic, 2011) ซึ่ง USDA. (2013) ได้รายงานอายุการเก็บรักษาของไส้กรอกสด ดังแสดงตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 อายุการเก็บรักษาของไส้กรอกสด

ไส้กรอกสด	ไม่ปรุงสุก	ปรุงสุก
เก็บรักษาแบบแช่เย็น		
- เปิดผลิตภัณฑ์แล้ว	1 - 2 วัน	3 - 4 วัน
- ยังไม่เปิดผลิตภัณฑ์	1 - 2 วัน	-
เก็บรักษาแบบแช่แข็ง	1 - 2 เดือน	2 - 3 เดือน

ที่มา : ดัดแปลงจาก USDA. (2013)

2.5 จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของเนื้อสัตว์และเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์

จุลินทรีย์มีความเกี่ยวข้องกับการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ได้หลายทาง ซึ่งมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยแหล่งปนเปื้อนของจุลินทรีย์เริ่มตั้งแต่สัตว์ยังมีชีวิต กระบวนการฆ่าและชำแหละ การแปรรูป และการขนส่ง ซึ่งในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เป็นแหล่งอาหารที่อุดมสมบูรณ์ของจุลินทรีย์ ทำให้เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เสื่อมเสียได้ง่าย (มุสดี ตังวัชรินทร์. 2558) การปนเปื้อนจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์เป็นปัญหาสำคัญที่ประเทศทั่วโลกให้ความสำคัญ เนื่องจากส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค ซึ่งจุลินทรีย์ที่มักพบบนเนื้อสัตว์สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ ได้แก่

2.5.1 จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

เนื้อสัตว์เป็นแหล่งการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย เนื่องจากมีสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ซึ่งเชื้อก่อโรคเหล่านี้ ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ มี 2 ลักษณะ คือ

1) การรับจุลินทรีย์ผ่านอาหาร

โรคที่เกิดจากการกินอาหารที่ปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ก่อโรคเป็นลักษณะของอาหารเป็นพิษที่เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่และเพิ่มปริมาณขึ้นเป็นจำนวนมาก โดยการบริโภคเชื้อเหล่านี้เข้าไปพร้อมอาหารเป็นสาเหตุของอาหารเป็นพิษ ทำให้เกิดอาการท้องร่วง คลื่นไส้ อาเจียนและปวดท้อง จุลินทรีย์ที่สำคัญที่ทำให้เกิดอาการดังกล่าวเช่น *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitic*, *Campylobacter jejuni/coli*, *Listeria* spp., *E. coli* และ *E. coli* O157:H7

2) การรับพิษผ่านอาหาร

เป็นโรคที่เกิดจากการรับเอาสารพิษที่มีอยู่แล้วในอาหารเข้าไป โดยสารพิษนั้นได้ถูกสร้างขึ้น ขณะที่จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนในอาหาร ได้แก่ *C. botulinum*, *S. aureus* และ *B. cereus* เป็นต้น

2.5.2 จุลินทรีย์ที่ทำให้เนื้อสัตว์เน่าเสีย

เนื้อสัตว์จัดเป็นอาหารที่เน่าเสีย เนื่องจากประกอบด้วยสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน แร่ธาตุ และวิตามิน ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์สามารถนำสารอาหารเหล่านั้นไปใช้เพิ่มจำนวน ทำให้เนื้อสัตว์มีกลิ่น สี และรสชาติผิดปกติ

2.5.3 จุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงลักษณะของเนื้อสัตว์

จากผลผลิตทางการเกษตรและอาหารปศุสัตว์สำเร็จมักมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนมาด้วยเสมอ คุณภาพและความปลอดภัยของอาหารขึ้นอยู่กับปริมาณของจุลินทรีย์เหล่านี้ จุลินทรีย์ทำให้อาหารเปลี่ยนแปลงไป แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดมีอันตรายรุนแรง แม้ว่าจะมีจำนวนที่ไม่สูงมากนัก ก็สามารถก่ออันตรายให้ผู้บริโภคได้ การระบาดของโรคอาหารเป็นพิษทำให้นักจุลชีววิทยาทางอาหารพยายามป้องกัน เนื่องจากจุลินทรีย์ในอาหารเป็นสิ่งที่มองไม่เห็น การตรวจวิเคราะห์จึงถูกนำมาใช้ เพื่อป้องกันถึงคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร (คมเช พิลาสมบดี. 2559)

2.6 เครื่องเทศและสมุนไพร (Spices and Herbs)

เครื่องเทศ หมายถึง สารที่มีกลิ่นหอมและมีรสชาติที่ได้จากพืชเขตร้อนหรือเขตหนาว นิยมนำมาใช้เพื่อประโยชน์ปรุงแต่งกลิ่นและรสชาติอาหาร หรือใช้ถนอมอาหาร ในอุตสาหกรรมอาหารระดับนานาชาติ เรียก พืชเครื่องเทศว่า “Herb and Spices” โดยจำแนก ความแตกต่างว่า Herb หมายถึง พืชเครื่องเทศที่มีทรงพุ่มเล็ก ลำต้นอ่อน (soft-stem plants) สามารถใช้ประโยชน์จากส่วนเหนือดินทั้งหมดในการเป็นเครื่องเทศได้ และส่วนใหญ่หมายถึง พืชเครื่องเทศที่มาจากเขตหนาวของโลก (temperate zone crops) เช่น โรสแมรี่ ลาเวนเดอร์ ไทม์ มินต์ เป็นต้น ส่วน Spices มักหมายถึง พืชเครื่องเทศที่มีจากเขตร้อนของโลกเป็นหลัก ถึงแม้จะเป็นชนิดที่มีส่วนเหนือดินที่อ่อน เช่น ขมิ้น ขิง ข่า ตะไคร้ ก็ตาม โดยปกติ spices มักได้จากเฉพาะส่วนของพืช เช่น เปลือกลำต้น (อบเชย) ราก (กระชาย) ใบ (โหระพา กระเทียม กะเพรา) ผล (พริก พริกไทย ดีปลี ผักชี ยี่ห่วย โป๊ยกั๊ก วานิลลา) ดอก (กานพลู) เมล็ด (จันทน์เทศ กระวาน) และเยื่อหุ้มเมล็ด (ดอกจันทน์เทศ) เป็นต้น (พิทยา สรวมศิริ. 2551) พืชที่มีกลิ่นนำมาใช้ปรุงแต่งอาหาร หรือยาบางชนิดได้นั้น ในภาษาไทยจะเรียกเป็นเครื่องเทศหมด (นิจศิริ เรืองรังสี. 2542) ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้นำเครื่องเทศ ได้แก่ ใบมะกรูด พริก ขมิ้น หอมแดง กระเทียม ข่า ตะไคร้ รากผักชี และมะกรูด เป็นต้น มาใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร

2.6.1 คุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระในเครื่องเทศและสมุนไพร

เครื่องเทศและสมุนไพร มีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพรช่วยรักษาหรือบรรเทาอาการเจ็บป่วยต่าง ๆ ได้และที่สำคัญมีสารต้านอนุมูลอิสระ หรือสารแอนติออกซิแดนท์ (Antioxidant) จัดเป็นสารที่ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดการออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งทำให้เกิดอนุมูลอิสระโดยจะช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้มีผลทำลายเซลล์ ซึ่งในทางการแพทย์ สารต้านอนุมูลอิสระนี้สามารถลดสาเหตุของการเกิดโรคหลายๆ โรคได้ (Chomsawan *et al.* 2018) และยังสามารถป้องกันการเหม็นหืนของอาหาร ที่เกิดจากไขมันหรือน้ำมันในอาหารเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเป็นปฏิกิริยาทางเคมีที่ส่งผลทำให้อาหารเกิดกลิ่นและรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ในอาหาร ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค ได้มีการศึกษามากมายถึงการนำเครื่องเทศและสมุนไพรมาใช้ในอาหารเพื่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร (Embuscado. 2015)

Chohan *et al.* (2008) ได้ทำการศึกษาผลของการทำอาหาร โดยใช้สมุนไพรและเครื่องเทศหลายชนิด เช่น อบเชย กานพลู ยี่ห่วย ฝรั่ง ผักชีฝรั่ง โรสแมรี่ เฉากและไธม์ ในปริมาณ 0.2-1 กรัม พบว่า การอบด้วยไมโครเวฟ การต้มและการเคี้ยว ช่วยเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอาจเป็นผลมาจากความร้อนที่ปลดปล่อยสารต้านอนุมูลอิสระ ในทางตรงกันการทำอาหารโดยการอบแห้ง ย่างและทอด ทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลง ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาลและอาจแสดงให้เห็นถึงปฏิกิริยา Maillard ในผลิตภัณฑ์ที่มีอิทธิพลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

Changtam. (2015) ศึกษาวิจัยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผงแห้งพืชสมุนไพรในวงศ์ Zingiberaceae จำนวน 5 ชนิด ประกอบด้วย ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) ขมิ้นอ้อย (*C. zedoaria*) อาวแดง (*C. angustifolia*) ว่านนางคำ (*C. aromatica*) และขมิ้นขาวป่า (*C. amada*) พบว่า ขมิ้นชัน แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด 74.61 % รองลงมาคือขมิ้นอ้อย 63.27 % อาวแดง 58.35 % ว่านนางคำ 55.38 % และขมิ้นขาวป่า 52.61 % ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณความเข้มข้นของสารเคอร์คิวมินและสารฟีนอลในพืชแต่ละชนิดนั้นคือ ขมิ้นชันมีสารเคอร์คิวมินและสารฟีนอลมากที่สุดจึงทำให้แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด

Jayawardana *et al.* (2015) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านจุลชีพของใบมะรุมนในไส้กรอกไก่สมุนไพรในระหว่างการเก็บรักษาแช่เย็น (4 องศาเซลเซียส) ผลที่ได้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้น ใบมะรุมนที่ความเข้มข้น 0.50 % ช่วยยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันรวมทั้งลดการมีอยู่ของจุลินทรีย์โดยไม่เปลี่ยนแปลงและคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสในไส้กรอกไก่สมุนไพร ซึ่งเป็นสารจากพืชธรรมชาติสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ จะช่วยให้ผู้บริโภคได้รับอาหารที่มีส่วนผสมจากธรรมชาติมีผลต่อสุขภาพที่ดีขึ้น

อรุณ จันทร์คำ และกาญจนา วงศ์กระจ่าง (2560) ได้ทำการศึกษาการสารสกัดสมุนไพรไทยต่อการต้านมะเร็งและต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรไทย 10 ชนิด พบว่า มีสารสกัดจากสมุนไพร

3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากใบต้ว สารสกัดจากลูกจันทน์ผา และสารสกัดจากดอกแสดบง แสดงค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในช่องปาก นอกจากนี้สารสกัดจากลูกจันทน์ผาและดอกแสดบงเท่านั้นที่แสดงฤทธิ์การต้านเซลล์มะเร็งเต้านมได้

Buenaventura *et al.* (2016) ได้ทำการศึกษาผลของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยพริกไทยดำ (*Piper nigrum* L.) ในไส้กรอกหมูสดแช่แข็ง ซึ่งให้เห็นว่าสารสกัดของพริกไทยดำ 200 ppm และน้ำมันหอมระเหยของพริกไทยดำ 600 ppm เป็นสารปรุงแต่งที่ดีกว่าสารสังเคราะห์ NaNO 200 ppm ในไส้กรอกหมูแช่แข็ง สามารถยับยั้งไขมันออกซิเดชันและการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ สำหรับน้ำมันหอมระเหยของพริกไทยดำที่มีความเข้มข้นสูงยังมีผลกระทบต่อการยับยั้งออกซิเดชันของไขมันและการเจริญของแบคทีเรีย

2.7 อนุมูลอิสระ (free radicals)

อนุมูลอิสระ หมายถึง สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอมหรือโมเลกุล พบได้ทุกที่ในสิ่งแวดล้อมในสิ่งมีชีวิตและในเซลล์ โดยเฉพาะในกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์ หรือจากกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจน ทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุลกลายเป็นอนุมูลอิสระและไวต่อการทำปฏิกิริยามาก สามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุล ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา (บุหรัน พันธุ์สุวรรณค์, 2556) เมื่อกระบวนการเริ่มต้นขึ้นจะส่งผลให้เซลล์มีชีวิตหยุดชะงัก อนุมูลอิสระบางอย่างเกิดขึ้นในระหว่างการเผาผลาญ โดยจะมีเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันต่อต้านไวรัสและแบคทีเรีย ตามปกติร่างกายสามารถรับมือกับอนุมูลอิสระได้ แต่ถ้าสารต้านอนุมูลอิสระไม่สามารถใช้ได้หรือหากการผลิตอนุมูลอิสระมากเกินไปไม่สามารถกำจัดได้ จะเกิดภาวะที่เรียกว่า oxidative stress ขึ้น ทำให้เซลล์เกิดความเสียหายและรุนแรงไปถึงการเกิดโรคขึ้นได้ (Sarma *et al.* 2010)

2.7.1 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ (Sources of free radical)

ในระบบของสิ่งมีชีวิต อนุมูลอิสระเป็นผลิตผลจากการเผาผลาญของเซลล์ ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ จะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจนเกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา (Kehrer *et al.* 2015) อนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่ไวในการทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุล สามารถแบ่งได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species: ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (reactive nitrogen species: RNS) และ กลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive chlorine species: RCS) ซึ่งจะไปกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้เกิดอนุมูลอิสระตลอดเวลาและเกิดเป็นลูกโซ่ในสิ่งมีชีวิตที่หายใจโดยใช้ออกซิเจน (สรมน สุ

ทิน. 2559; อนงนาฏ โพนุพงศ์. 2560) ซึ่งการเกิดอนุมูลอิสระเหล่านี้ มีสาเหตุมาจากปัจจัยทั้งภายในและภายนอกในร่างกาย ดังนี้

1) ปัจจัยภายในร่างกาย (Endogenous Sources)

ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตจะมีปฏิกิริยามากมาย ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างและการสลายโมเลกุลของสารที่เรียกว่ากระบวนการเมตาบอลิซึม ซึ่งถือเป็นสาเหตุหลักอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ตัวอย่างปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเอง (autooxidation) ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง กระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว และปฏิกิริยาที่เกิดจากโลหะทรานสิชัน เป็นต้น

2) ปัจจัยภายนอกในร่างกาย (Exogenous Sources)

ปัจจัยแวดล้อมนั้นมีส่วนอย่างมากในการกระตุ้นให้เกิด ROS ได้แก่ ยารักษาโรครังสี ควันทูบหรี่ และไอโซน เป็นต้น (เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหนาม. 2554; อธิป สกุลเผือก. 2559)

2.7.2 อันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ

ในร่างกายเมื่อมีอนุมูลอิสระมากจนสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายมีปริมาณที่ไม่เพียงพอ เรียกว่า ภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) ส่งผลให้เกิดการทำลายออกซิเดชัน (oxidative damage) ต่อดีเอ็นเอ โปรตีน ไขมัน และโมเลกุลขนาดต่าง ๆ โรคบางโรคมีสาเหตุจากการที่ดีเอ็นเอโปรตีน และ ไขมัน ถูกทำลายด้วยกระบวนการออกซิเดชัน ในขณะที่บางโรคนั้นภาวะเครียดออกซิเดชันไม่ได้เป็นสาเหตุเบื้องต้นแต่เป็นผลสืบเนื่องมาจากกระบวนการของโรคที่ส่งผลให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อ เช่น การติดเชื้อ (infection) การบาดเจ็บ (trauma) หรือการได้รับสารพิษ (toxins) ซึ่งเป็นต้นเหตุของการสร้างและสะสมอนุมูลอิสระที่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพของโรคภาวะไม่สมดุลของปฏิกิริยารีดอกซ์ในร่างกายมีผลรบกวนการแสดงออกของยีนและภาวะของโรคต่าง ๆ เช่น โรคระบบหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular diseases) โรคมะเร็ง (cancer) โรคระบบภูมิคุ้มกัน (immune diseases) โรคระบบประสาท (neurological diseases) โรคตา (eye diseases) และภาวะชราภาพ (aging process) เป็นต้น (กนกวรรณ จารุกัจจรและคณะ. 2557)

2.7.3 การออกซิเดชันของไขมัน (Lipid oxidation)

การออกซิเดชันของไขมันเป็นกระบวนการหลักที่แสดงถึงการเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เนื่องจากทำให้มีอายุการเก็บรักษาสั้นลง มีผลต่อสีเนื้อสัตว์ คุณค่าทางโภชนาการ รสชาติและกลิ่นที่ทำให้เกิดกลิ่นหืน นั้นเป็นเหตุผลสำคัญที่ทำให้ผู้บริโภคเลือกปฏิบัติ

ที่จะรับประทานอาหารที่มีรสชาติและกลิ่นหืน ซึ่งเป็นปัจจัยหลักสำคัญที่มีอิทธิพลในการพิจารณาเลือกอาหารที่มีคุณภาพและมีผลต่อสุขภาพที่ดี โดยสามารถพิจารณาได้ถึงคุณภาพ และสุขภาพ (Amaral *et al.* 2018)

กลไกการเกิดออกซิเดชันของไขมันในอาหารเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

1) ปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น (Initiation)

ปฏิกิริยาออกซิเดชันเริ่มเกิดขึ้นเมื่อโมเลกุลของไฮโดรเจนถูกดึงออกจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นอนุมูลอิสระ โดยมีออกซิเจน อลูมิเนียม แสง หรือรังสี เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เกิดเป็นอนุมูลอิสระของกรดไขมัน เรียกว่า อนุมูลอัลคิล (alkyl radical : R•) ดังสมการ (1)

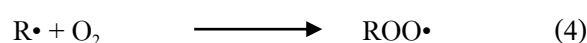
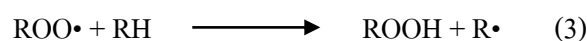


2) ปฏิกิริยาขั้นระยะเพิ่มจำนวน (Propagation)

เป็นระยะที่อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับออกซิเดชัน เกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxy radical : ROO•) ดังสมการ (2)



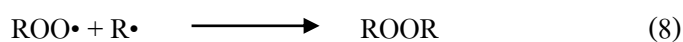
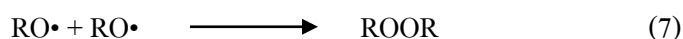
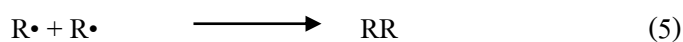
อนุมูลเปอร์ออกซิลทำปฏิกิริยาต่อกับกรดไขมันไม่อิ่มตัวอื่น ๆ เกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydro peroxide : ROOH) และอนุมูลอัลคิล (R•) ดังสมการ (3) ซึ่งถ้ามีแสงและความร้อนเป็นตัวเร่งจะเกิดปฏิกิริยาต่อทำให้อนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นและสามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนใหม่ได้ต่อเนื่องไปเรื่อย ๆ ดังสมการ (4)



3) ปฏิกิริยาขั้นสิ้นสุด (Termination)

เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระเกิดการรวมตัวกันในรูปต่าง ๆ ทำให้เกิดสารประกอบที่ไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระ (non-radical product) ดังสมการ (5) ถึง (9) เช่น ไดเมอร์ หรือไตรเมอร์ของกรดไขมัน รวมทั้งเกิดสารประกอบออกซิไดซ์ (oxidized compounds) จำพวกแอลดีไฮด์ คีโตน กรด

และแอลกอฮอล์ ซึ่งส่งผลต่อกลิ่นรสที่ไม่ต้องการในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Min and Ahn, 2005; เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม, 2554; ศุภลักษณ์ สรภักดี, 2561)



2.8 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย ROS เกิดขึ้นมาจากกระบวนการต่าง ๆ ในการดำรงชีวิต ดังนั้นร่างกายจึงต้องสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาเพื่อกำจัดและลดความรุนแรงของ ROS ที่เกิดขึ้น (อิธิป สกกุลเฟือก, 2559) สารต้านอนุมูลอิสระช่วยให้ร่างกายต้านอนุมูลอิสระได้ดีต้องสามารถถูกดูดซึมส่งผ่านเข้าสู่เซลล์ เนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ดี และมีความเข้มข้นเพียงพอในการออกฤทธิ์ (สรมน สุทิน, 2559) ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี วิตามินเอลูทีน (Lutein) และพฤษเคมีต่าง ๆ (Phytochemical) เช่น โพลีฟีนอล (Polyphenols) ไอโซฟลาโวน (Isoflavone) เบต้าแคโรทีน (β -carotene) คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) เป็นต้น สามารถพบสารเหล่านี้ได้จากพืช ผัก และผลไม้ที่มีอยู่ตามธรรมชาติหรืออาจพบได้ในสาหร่ายและยีสต์ เช่น สารแอสตาแซนธิน แต่การที่จะรับประทานพืชหรือผักเหล่านี้ในปริมาณมากคงเป็นไปได้ยากจึงต้องทำการสกัดหรือดึงสารเหล่านี้ออกมาทำให้เข้มข้นและอยู่ในรูปแบบที่รับประทานได้ง่าย เช่น แคปซูล หรือเม็ด (ดวงกมล เรืองงาม, 2557; สรมน สุทิน, 2559)

2.8.1 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ (Sources of antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระมีที่มาจาก 2 แหล่ง ได้แก่ จากการสังเคราะห์ (synthetic antioxidant) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เกิดจากการกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีได้เป็นสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ Propyl gallate (PG), Butylated hydroxyanisole (BHA), Butylated hydroxytoluene (BHT) และ Tertiary butylhydroquinone (TBHQ) สารกลุ่มนี้ถูกนำมาใช้โดยทั่วไปในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เนื่องจากมีสภาพคงตัว และมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ โดยทั่วไป แต่สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ยังมีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยในการใช้ในระยะเวลาของผู้บริโภค และจากธรรมชาติ (natural antioxidant) สารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการค้นคว้าอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากมีความเชื่อมั่นว่าปลอดภัยในการบริโภคมากกว่าสารต้าน

อนุมูลอิสระสังเคราะห์ สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ พบได้ทั้งในจุลชีพสัตว์และพืช ซึ่งมีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (non-nutrient) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิก โดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) เช่น แชนโธน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สารเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้น หรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยการให้อนุมูลแก่อนุมูลอิสระเหล่านั้น (เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม, 2554; อธิป สกฤตเฝือก, 2559; Siramon and Wongsheree, 2019)

2.8.2 ความสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระต่อสุขภาพ

สารต้านอนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการก่อให้เกิดอันตรายกับร่างกาย โดยรับประทานอาหารจากพืช มีการยอมรับว่า การบริโภคผักและผลไม้เป็นประจำช่วยลดความเสี่ยงของการเจ็บป่วยในระยะยาว จากการวิจัยมากมายพบว่าอนุมูลอิสระมีผลต่อการเสื่อมสภาพของเซลล์และการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ อาหารที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระนั้นมีผลดีต่อสุขภาพในระยะยาว (Suleman *et al.* 2019)

ประสงค์ เทียนบุญ. (2553) ได้กล่าวว่า โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตันเกิดขึ้นจาก lipid peroxidation โดยมีการสร้างโพรซีสต์ขึ้นที่ชั้นในของหลอดเลือดแดง ส่งผลให้ชั้นในของหลอดเลือดแดงหนาตัวเรื่อย ๆ ทำให้เกิดเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน สารอาหารต้านอนุมูลอิสระ (วิตามินอี วิตามินซี และเบต้าแคโรทีน) สามารถชะลอการเกิดขบวนการเหล่านี้ได้ โดยพบว่าวิตามินอีจะช่วยลดการเกาะตัวของไขมันกับผนังชั้นในของหลอดเลือด เมื่อคนมีอายุมากขึ้นระดับวิตามินอีในเกล็ดเลือดจะต่ำลง ทำให้มีการเกาะตัวของเกล็ดเลือดเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจมีผลทำให้เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตันและยังพบว่าวิตามินซีจะทำให้ไขมันที่มีความหนาแน่นสูง (High Density Lipoprotein Cholesterol : HDLC) เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นไขมันดี นอกจากนี้ จากงานวิจัยบางแห่งพบว่าเบต้าแคโรทีนสามารถช่วยลดการเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจตายได้

สภาเภสัชกรรม. (2560) ได้กล่าวว่า ฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ในการยับยั้ง nitrosamine และฤทธิ์ในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน เชื่อว่าการรับประทานวิตามินซีอาจช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง จากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่าการรับประทานผักและผลไม้ที่มีปริมาณวิตามินซีในขนาดตั้งแต่ 200 mg/day มีความสัมพันธ์กับการลดลงของอุบัติการณ์การเกิดโรคมะเร็งช่องปาก มะเร็งหลอดอาหาร มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งลำไส้และมะเร็งปอด โดยมีประโยชน์ชัดเจนที่สุดในการป้องกันมะเร็งกระเพาะอาหาร อย่างไรก็ตาม ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าประโยชน์ที่ได้รับมาจากวิตามินซีเพียงอย่างเดียว เนื่องจากประโยชน์ที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลมาจากสารอื่น ๆ ที่มีประโยชน์ในผักและผลไม้ด้วยเช่นกัน รวมถึงบางการศึกษาที่ใช้วิตามินซีเดี่ยว ๆ ในรูปแบบผลิตภัณฑ์เสริมอาหารก็ไม่พบว่าช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารได้

2.8.3 กลไกการเกิดการต้านสารอนุมูลอิสระของสารอนุมูลอิสระในอาหาร

กลไกการที่สารอาหารสามารถต้านอนุมูลอิสระและป้องกันโรคได้ เนื่องจาก

- 1) การทำลายสารอนุมูลอิสระ โดย ROS scavenging สารต้านอนุมูลอิสระจะให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ และทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรมากขึ้น
- 2) ขบวนการรีดักชันของเปอร์ออกไซด์และการซ่อมแซมเมมเบรนที่ถูกเปอร์ออกซิไดซ์
- 3) การทำลายเหล็ก (sequestration of iron) เพื่อลดการสร้างสารอนุมูลอิสระ เนื่องจากโลหะหนักเช่น Fe^{2+}/Fe^{3+} และ Cu^{2+} มีผลเร่งให้เกิดปฏิกิริยา oxidation ในร่างกาย ดังนั้นการที่มีสารไปจับกับโลหะหนักเหล่านี้จะช่วยชะลอการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกายได้
- 4) การใช้ไขมันในอาหาร โดยการผลิตพลังงานอย่างรวดเร็วและการทำลาย (scavenging) สารอนุมูลอิสระด้วยกรดไขมันสายสั้นๆ และคอเลสเตอรอลเอสเทอร์ (รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย, 2545; อธิป สกฤตเฝือก, 2559)

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างกากงา

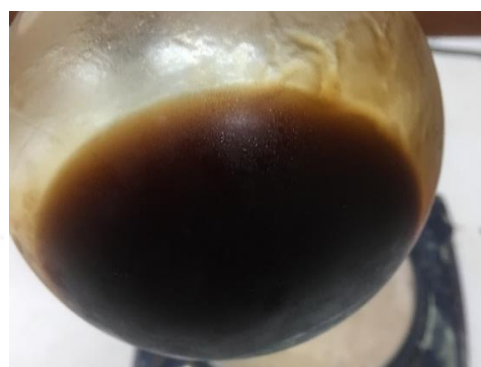
กากงาที่นำมาใช้ในงานวิจัยได้มาจากโรงงานน้ำมันทรากล้วยไม้ จังหวัดแม่ฮ่องสอน เป็นกากงาที่ได้จากกระบวนการทำน้ำมันงาสกัดเย็นด้วยเครื่องอัดแบบเกลียวอัด (screw press cold process) โดยทำการแยกน้ำมันออกจากเมล็ดงา ด้วยวิธีการใช้เครื่องจักรที่อุณหภูมิปกติของเมล็ดงาจนได้น้ำมันออกมา จากนั้นนำกากงาที่ได้ไปตากแดดร้อนจัดในโรงเรือนที่มีแดดส่องถึง 2 - 3 วัน แล้วจึงได้ตัวอย่างกากงามาใช้ในการทดลอง

3.2 สารสกัดจากกากงา

การสกัดเริ่มจากการนำเอากากงาที่ได้ไปอบไล่ความชื้น ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน แล้วส่งไปตรวจสอบการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซินในกากงาก่อนการนำมาสกัด โดยส่งตัวอย่างไปตรวจที่บริษัท ศูนย์วิทยาศาสตร์ เบทาโกร จำกัด โดยใช้วิธี ELISA ROMERLAB การสกัดเลือกใช้วิธีการสกัดแบบแช่ (maceration) โดยใช้ น้ำเป็นตัวทำละลาย ในอัตราส่วนของกากงาต่อน้ำ เท่ากับ 1 : 9 (กรัมต่อมิลลิลิตร) ทำการแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วันในตู้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเขย่า 3 - 4 ครั้งต่อวัน เมื่อครบ 3 วัน นำสารที่สกัดได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 93 แล้วนำไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สภาวะสุญญากาศ (rotary evaporator) อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่า ร้อยละของผลผลิต (% yield) เท่ากับ 84.24 สารสกัดที่ได้มีสีน้ำตาลเข้มและมีลักษณะเป็นของเหลวหนืด เก็บสารสกัดในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สำหรับนำไปใช้วิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป (สุชาดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ. 2558; กิตติพัฒน์ โสภิตธรรมคุณ และปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลชาญ. 2560) ดังภาพที่ 4.1



(a)



(b)

ภาพที่ 4.1 กากงาก่อนสกัด (a) กากงาหลังสกัด (b)

3.3 แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

แบคทีเรียทดสอบได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ. ดร. คมแข พิลาสัมบัติ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากเนื้อหมู โดย Somsri *et al.* (2017) ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แบคทีเรียทดสอบ อาหารที่ใช้เลี้ยง และอุณหภูมิสำหรับการเจริญของแบคทีเรีย

แบคทีเรียทดสอบ	อาหาร*	อุณหภูมิ (°C)
แบคทีเรียก่อโรคที่แยกได้จากเนื้อหมู		
<i>Salmonella</i> spp.	TSB	37
<i>E. coli</i>	Chromocult	37
เชื้อมาตรฐาน		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	TSB-0.6% YE	37
<i>Pseudomonas fluorescens</i> TISTR 5963 ^T	TSB-0.6% YE	37

* TSB = Tryptic Soy Broth Enriched

YE = Yeast Extract

ATCC = American Type Culture Collection, Rockville, Md

TISTR = Thailand Institute of Scientific and Technological Research, Thailand

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

- 1) 1, 1, 3, 3 – Tetraethoxypropane (Sigma, Germany)
- 2) 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) (Sigma, Canada)
- 3) 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate (DPPH) (Sigma, Germany)
- 4) 2, 6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (butylated hydroxytoluene: BHT) (Acros, Belgium)
- 5) Agar (Criterion, USA)
- 6) Alcohol (Scharlau Chemie S.A., Spain)
- 7) Alpha Tocopherol (Sigma, USA)
- 8) Bactident Coagulase (Rabbit plasma with EDTA) (Merck, Germany)
- 9) Baird-Parker agar (BP-agar) (Merck, Germany)
- 10) Chloroform (stabilized with 1% Ethanol) (RCI Labscan, Thailand)
- 11) Chromocult (Merck, Germany)
- 12) DEV Tryptophan Broth (Merck, Germany)
- 13) Di-Sodium hydrogen orthophosphate (Na_2HPO_4) (Sigma, Germany)
- 14) Folin-Ciocalteu reagent (VER, France)
- 15) Gallic acid (Sigma, Germany)
- 16) Hydrochloric acid (Merck, Germany)
- 17) Iodine (VWR Chemicals BDH, Japan)
- 18) Kovac's indole reagent (Merck, Germany)
- 19) Lysine-Indole-Motility (LIM) medium (Merck, Germany)
- 20) Plate count agar (Merck, Germany)
- 21) Potassium ferricyanide [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] (Sigma, Germany)
- 22) Potassium persulfate ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) (Unilab, New Zealand)
- 23) Potassium tellurite-hydrate (Merck, Germany)
- 24) Salmonella-Shigella (SS) agar (Merck, Germany)
- 25) Selenite cysteine broth (SCB) (Merck, Germany)
- 26) Sodium carbonate (Na_2CO_3) (Sigma, Germany)
- 27) Sodium Chloride (NaCl) (Merck, Germany)
- 28) Sodium dihydrogen phosphate anhydrous (NaH_2PO_4) (Unilab, New Zealand)
- 29) Tetrathionate broth (TTB) (Merck, Germany)
- 30) Thiobarbituric acid (TBARs) (Sigma, Germany)

- 31) Trichloroacetate acid, Iron (III) chloride (FeCl₃) (Unilab, New Zealand)
- 32) Trichloroacetic acid (TCA) (Merck, Germany)
- 33) Triple sugar Iron (TSI) agar slant (Merck, Germany)
- 34) Tryptic Soy Broth (Merck, Germany)
- 35) Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar (Merck, Germany)

3.5 วัสดุ – อุปกรณ์ และเครื่องมือ

- 1) เครื่อง Centrifuge (Beckman Coulter model Avanti J-E, USA)
- 2) เครื่อง Homogenizer (Ultra tarrax, Germany)
- 3) เครื่องกลั่นโปรตีน (Gerhardt model Vapodest 30, Germany)
- 4) เครื่องชั่งชนิดละเอียด (Sartorius, Basic, Germany)
- 5) เครื่องชั่งชนิดหยาบ (Tanita model 1144, Japan)
- 6) เครื่องตีปั่นไฟฟ้า (Stomacher Bag Mixer 400 model VW, France)
- 7) เครื่องบดเนื้อ (Biro model 346-3, USA)
- 8) เครื่องบรรจุสุญญากาศ (Ramon, Germany)
- 9) เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง (Vortex Mixer KMC-1300V, Korea)
- 10) เครื่องวัดค่า กรด-ด่าง (Mettler Toledo model SG-2, Switzerland)
- 11) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (GENESYS 20, Thermo Scientific, USA)
- 12) เครื่องวัดค่าสีของเนื้อ (Hunterlab Mini Scan EZ)
- 13) เตาฆ่า (Homemate model HOM-112371, Thailand)
- 14) ไมโครเวฟ (Toshiba model ER-G8C, Thailand)
- 15) ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Laminar Flow (Dwyer model merk II, USA)
- 16) ตู้บ่มเพาะเชื้อจุลินทรีย์ (WTB Binder model BD, Germany)
- 17) ตู้อบเครื่องแก้ว (Mettmert model CM500, Germany)
- 18) ตู้อบลมร้อน (Binder, Model FD 115, Germany)
- 19) ปิเปต ขนาด 100, 200 และ 1000 ไมโครลิตร (Finnpipette F3, USA)
- 20) หม้อนึ่งความดันสำหรับฆ่าเชื้อ (Hirayama model HVE 50, Japan)
- 21) อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath, Metmert, Germany)

ในการทดลองครั้งนี้แบ่งออกเป็น 3 การทดลอง ดังนี้

วัตถุประสงค์	กิจกรรม
<p>การทดลองที่ 1 ศึกษาสูตรในการผลิตไส้กรอกสด สมุนไพร</p>	<p>1.1 ศึกษาการเลือกใช้เครื่องเทศในสูตรที่ใช้ผลิต ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร 15 สูตร</p> <p>1.2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสใน ผลิตภัณฑ์ไม่ปรุงสุก และผลิตภัณฑ์ปรุงสุก โดยการ ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์ไม่ปรุงสุก ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่น ลักษณะความน่าซื้อ และความ พึงพอใจโดยรวม และทดสอบการชิมในผลิตภัณฑ์ปรุงสุก ได้แก่ การทดสอบการชิม โดยทดสอบการยอมรับด้าน ลักษณะปรากฏ กลิ่นรส ลักษณะของเนื้อสัมผัส และความ พึงพอใจโดยรวม โดยผู้ทดสอบเป็นกลุ่มนักศึกษา อาจารย์ และบุคคลทั่วไป จำนวน 30 คน ซึ่งมีช่วงการให้คะแนน ความพึงพอใจ 7 ระดับ (7-Point Hedonic Scale)</p> <p>1.3 คัดเลือกสูตรที่ผู้บริโภคพึงพอใจมากที่สุด เพื่อนำไป ศึกษาในการทดลองต่อไป</p>
<p>การทดลองที่ 2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูล อิสระและความสามารถในการ ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ ก่อให้เกิดโรค และจุลินทรีย์ที่ทำให้ เกิดการเน่าเสียในสารสกัดจากกา งา</p>	<p>2.1 ทดสอบอะฟลาทอกซินในกากงา</p> <p>2.2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัด จากกากงา</p> <p>2.2.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay</p> <p>2.2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS Radical Cation Decolorization Assay</p> <p>2.2.3 การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์สาร โดยวิธี reducing power</p> <p>2.3 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total Phenolic Compound)</p> <p>2.4 ทดสอบความสามารถของสารสกัดจากกากงาใน การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค และ จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย โดยวิธี agar well diffusion method</p>

วัตถุประสงค์ (ต่อ)	กิจกรรม (ต่อ)
<p>การทดลองที่ 3</p> <p>ศึกษาการใช้สารสกัดจากกากงาในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเป็นอาหารเพื่อสุขภาพที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ</p>	<p>3.1 ศึกษาการใช้สารสกัดจากกากงาในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร โดยหาความเข้มข้นของสารสกัดจากกากงาที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร จากการศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสในผลิตภัณฑ์ปรุงสุก โดยทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่นรส ลักษณะของเนื้อสัมผัส และความพึงพอใจโดยรวม</p> <p>3.2 ศึกษาคุณภาพทางด้านกายภาพ ด้านเคมี และด้านชีวภาพ รวมถึงศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. กลุ่มควบคุม 2. กลุ่มที่เสริม BHT ร้อยละ 0.01 3. กลุ่มที่เสริมสารสกัดจากกากงา 4. กลุ่มที่เสริมน้ำมันงาเชิงการค้า <p>โดยการเก็บรักษาแช่เย็นและปิดด้วยพลาสติกใส ระยะเวลา 0, 3 และ 6 วัน และแช่แข็งบรรจุแบบสุญญากาศ ระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน ตรวจสอบวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร โดยศึกษาคุณภาพด้านต่าง ๆ ดังต่อไปนี้</p> <p>3.2.1 คุณภาพทางด้านกายภาพ ได้แก่</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) ค่าสี (CIE L*, a* และ b*) 2) ค่าความสดใส (Chroma) และ องศาของสี (Hue angle) <p>3.2.2 คุณภาพทางด้านเคมี</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 2) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay 3) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS Radical Cation Decolorization Assay

วัตถุประสงค์ (ต่อ)	กิจกรรม (ต่อ)
	<p>4) การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์สาร โดยวิธี reducing power</p> <p>5) การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total Phenolic Compound)</p> <p>6) การทดสอบการออกซิเดชันของไขมันด้วยเทคนิค Triobarbituric acid reactives (TBARs)</p> <p>7) การทดสอบการตกค้างของอะฟลาทอกซินในไส้กรอกสดสมุนไพร</p> <p>3.2.3 คุณภาพทางด้านชีวภาพ</p> <p>1) วิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์รวม (Total Plate Count)</p> <p>2) วิเคราะห์ Coliforms และ <i>Escherichia coli</i></p> <p>3) วิเคราะห์ <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>4) วิเคราะห์ <i>Salmonella</i> spp.</p>

3.6 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.6.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาสูตรในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร

3.6.1.1 ศึกษาการเลือกใช้เครื่องเทศในสูตรที่ใช้ผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร 15

สูตร ทำการทดลองสูตรต่าง ๆ โดยเลือกส่วนผสมและเครื่องเทศต่าง ได้แก่ พริกแห้ง หอมแดง กระเทียม ข่า ตะไคร้ รากผักชี ผิวมะกรูด ใบผักชี ใบมะกรูด ใบผักชีฝรั่ง พริกไทย ปาปริก้า ขมิ้น พริกชี้หนู กระชาย ใบโหระพา จิง ใบพาร์สลีย์ ใบกะเพรา ใบกระวาน กานพลู ยี่หระ ลูกผักชี ต้นหอม แป้งมัน (ตรา ปลาไทย 5 ดาว) แป้งข้าวเจ้า (ตรา เจริญทองก้าน้ำ) เกลือ น้ำตาล น้ำตาลโตนด กะทิ วัตถุดิบปรุงแต่งอาหารรสหมู (รสดี) ผงชูรส น้ำปลา และน้ำมะนาว เป็นต้น ที่เลือกเครื่องเทศหลาย ๆ ชนิดมาทำการศึกษา เนื่องจากรสชาติเฉพาะที่เป็นเอกลักษณ์ด้วยการใช้เครื่องเทศต่าง ๆ ที่มีกลิ่นหอมและยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพด้วย โดยเลือกใช้เนื้อวัว 80 % และไขมันวัว 20 % (โคสายพันธุ์ลูกผสมเลือดยุโรป (พื้นเมือง 25% บราห์มัน 25% และชาโรเลส์ 50%) ได้รับมาจากสหกรณ์เครือข่ายโคเนื้อ จำกัด) มาใช้เป็นวัตถุดิบในการทดลองครั้งนี้

3.6.1.2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส คัดแปลงมาจากวิธีการของ Pimental *et al.* (2016)

ศึกษาความพึงพอใจของผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรไม่ปรุงสุก ได้แก่ ด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น ลักษณะความน่าซื้อ และความพึงพอใจโดยรวม และในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรปรุงสุก โดยทดสอบการยอมรับด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความพึงพอใจโดยรวม ประเมินโดยวิธี Consumer test ซึ่งใช้ผู้ทดสอบชิมเป็นกลุ่มนักศึกษา อาจารย์ และผู้บริโภคทั่วไป จำนวน 30 คน โดยแบ่งการชิมออกเป็น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 สูตร ซึ่งผู้ชิมทำการชิมครั้งที่ 1 จำนวน 5 สูตร พักเป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงทำการชิมครั้งที่ 2 พักเป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงชิมครั้งที่ 3 และมีช่วงการให้คะแนนความพึงพอใจ 7 ระดับ (7-Point Hedonic Scale) ตั้งแต่ 1 - 7 ต่อไปนี้

1	หมายถึง	ไม่ชอบมากที่สุด
2	หมายถึง	ไม่ชอบมาก
3	หมายถึง	ไม่ชอบ
4	หมายถึง	เฉยๆ
5	หมายถึง	ชอบ
6	หมายถึง	ชอบมาก
7	หมายถึง	ชอบมากที่สุด

3.6.1.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) ทำ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรม SPSS Version 23

3.6.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในสารสกัดจากกากงา

ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มสารมาตรฐาน ได้แก่ BHT และ α -tocopherol และกลุ่มตัวอย่าง ได้แก่ สารสกัดจากกากงา และน้ำมันงาเชิงการค้า (เป็นน้ำมันงา 100% ตรา นกกระเรียนคู่)

3.6.2.1 ทดสอบอะฟลาทอกซินในกากงา

เตรียมตัวอย่างกากงา ไปอบไล่ความชื้น 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน แล้วส่งตัวอย่างกากงาไปตรวจที่บริษัท ศูนย์วิทยาศาสตร์ เบทาโกร จำกัด โดยใช้วิธี ELISA ROMERLAB

3.6.2.2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

1) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay

ความสามารถของสารสกัดจากกากงา (Sesame cake extract : SCE) ในการกำจัดอนุมูลอิสระ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) โดยการเตรียม 0.1 mM DPPH ในเอทานอล นำสารละลาย DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร (A) น้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอลปริมาตร 2 มิลลิลิตร (B) สารละลาย DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตรผสมกับ SCE ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (C) และ SCE ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอลปริมาตร 2 มิลลิลิตร (D) บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร โดยใช้ BHT และ α -tocopherol เป็นตัวควบคุมเชิงบวก ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และคำนวณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (%) = $[(A-B) - (C-D) / (A-B)] \times 100$

กำหนดให้ A = ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับ SCE

B = ค่าดูดกลืนแสงของเอทานอลหรือน้ำกลั่น

C = ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ทำปฏิกิริยากับ SCE

D = ค่าดูดกลืนแสงของ SCE ในเอทานอลหรือน้ำกลั่น

คำนวณค่า IC_{50} จากกราฟระหว่างค่า \log ความเข้มข้นของ SCE กับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เพื่อหาความสัมพันธ์และสมการเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของ SCE กับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและค่า regression คัดแปลงมาจากวิธีการของ Chen *et al.* (2016)

2) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS Radical Cation Decolorization Assay

เตรียมอนุมูลอิสระ 7 mM ABTS (2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)] และ 2.45 mM potassium persulfate ในน้ำกลั่น เก็บในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 - 16 ชั่วโมง จากนั้นปรับความเข้มข้นด้วยเอทานอลแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง 0.70 ± 0.02 ที่ 734 นาโนเมตร นำสารละลาย ABTS^{•+} ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร (A) น้ำกลั่นปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอลปริมาตร 3 มิลลิลิตร (B) สารละลาย ABTS^{•+} ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมกับ SCE ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร (C) และ SCE ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอลปริมาตร 3 มิลลิลิตร (D) เก็บในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร โดยใช้ BHT และ α -tocopherol เป็นตัวควบคุมเชิงบวก ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และคำนวณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (%) = $[(A-B) - (C-D) / (A-B)] \times 100$

กำหนดให้

- A = ค่าดูดกลืนแสงของ ABTS ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับ SCE
- B = ค่าดูดกลืนแสงของเอทานอลหรือน้ำกลั่น
- C = ค่าดูดกลืนแสงของ ABTS ที่ทำปฏิกิริยากับ SCE
- D = ค่าดูดกลืนแสงของ SCE ในเอทานอลหรือน้ำกลั่น

คำนวณค่า IC_{50} จากกราฟระหว่างค่า \log ความเข้มข้นของ SCE กับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เพื่อหาความสัมพันธ์และสมการเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของ SCE กับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและค่า regression คัดแปลงมาจากวิธีการของ Nguyen *et al.* (2019)

3) การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์สาร โดยวิธี reducing power

เจือจาง SCE แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เติม 0.2 M phosphate puffer pH 6.6 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย Potassium ferricyanide 1 % ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยใช้อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ แล้วเติม Trichloroacetic acid 10 % ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยง โดยใช้ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นดูดสารละลายส่วนใสปริมาตร 2.5

มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และ Ferric Chloride 0.1 % ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร คัดแปลงมาจากวิธีการของ Djenidi *et al.* (2019)

3.6.2.3 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total Phenolic Compound)

นำ SCE แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตรผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 4.5 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Folin - Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และ Sodium carbonate 7.5 % ปริมาตร 4 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยเปรียบเทียบกับกราฟเส้นตรงมาตรฐานของกรดแกลลิก คัดแปลงมาจากวิธีการของ Shan *et al.* (2019)

3.6.2.4 ศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค และ จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย โดยวิธี agar well diffusion method

ทำการเจือจางสารสกัดแบบ two fold dilution กำหนดระดับความเข้มข้นของ สารสกัดที่ต้องการทดสอบ เตรียมสารละลายแบคทีเรียที่มีความเข้มข้นสุดท้ายในจานอาหาร 5×10^5 cfu/มิลลิลิตร นำ sterile cotton จุ่มในสารละลายแบคทีเรีย และ swab บนจานอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ เจาะหลุมด้วย cork-borer (เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) จากนั้น ใช้ปิเปตดูดสารสกัดลงในหลุม 50 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมของแต่ละเชื้อ เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง ทำการทดลอง จำนวน 3 ซ้ำ วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งด้วยหน่วยมิลลิเมตร (รวมกับเส้นผ่านศูนย์กลางของหลุม) คัดแปลงมาจากวิธีการของ Nalawade *et al.* (2016)

3.6.2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized design : CRD) ทำ 3 ซ้ำโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรม SAS

3.6.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาการใช้สารสกัดจากกากงาในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร เพื่อเพิ่ม ประสิทธิภาพการเป็นอาหารเพื่อสุขภาพที่มีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

3.6.3.1 ศึกษาการใช้สารสกัดจากกากงาในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร

จากการทดลองที่ 1 ผู้บริโภคจะให้คะแนนความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอก สดสมุนไพรสูตรที่พึงพอใจ จากนั้น จึงเลือกสูตรที่ผู้บริโภคพึงพอใจมากที่สุดมาศึกษาต่อในการ

ทดลองที่ 3 และหาความเข้มข้นของสารสกัดจากกากงาที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร โดยการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในผลิตภัณฑ์ปรุงสุก โดยทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่นรส ลักษณะของเนื้อสัมผัส และความพึงพอใจโดยรวม เป็นวิธีการที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Pimental *et al.* (2016) (รายละเอียดตั้งข้อ 3.5.1.2) ซึ่งแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริม BHT ร้อยละ 0.01 กลุ่มที่เสริมสารสกัดจากกากงา และกลุ่มที่เสริมน้ำมันงาเชิงการค้า และทำการศึกษาคุณภาพทางด้านกายภาพ ด้านเคมี และด้านชีวภาพ รวมถึงศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร โดยการเก็บรักษาแช่เย็นบรรจุใส่ถาดโฟมและปิดด้วยพลาสติกใส ระยะเวลา 0, 3 และ 6 วัน และแช่แข็งบรรจุแบบสุญญากาศ ระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน

3.6.3.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized design : CRD) ทำ 3 ซ้ำ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรม SPSS Version 23

3.6.3.3 ศึกษาคุณภาพทางด้านกายภาพในไส้กรอกสดสมุนไพร ได้แก่

1) ค่าสี (CIE L*, a* และ b*)

การวัดคุณภาพด้านสีของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร ทำการวัดแต่ละตัวอย่าง 3 ครั้ง ด้วยระบบ CIE (L*, a*b*) โดยใช้เครื่องวัดสี Hunter Lab Mini Scan EZ 4000L (Hunter Lab Inc, Reston, VA, USA) แล้วบันทึกผล ค่าที่ได้แสดงผลเป็นค่า L* (Lightness), a* (Redness) และ b* (Yellowness) ปรับเทียบค่าเครื่อง (calibrate) ด้วยแผ่นสีมาตรฐานก่อนการวัดทุกครั้ง

2) ค่าความสดใส (Chroma) และค่าองศาของสี (Hue angle)

ทำการวัดค่าความสดใส (Chroma) และค่าองศาของสี (Hue angle) โดยนำค่า L* (Lightness), a* (Redness) และ b* (Yellowness) ที่วัดด้วยเครื่องวัดสี Colorimeter Mini Scan EZ 4000L (Hunter Lab Inc, Reston, VA, USA) มาคำนวณหาค่าความสดใส (Chroma) (1) และ Hue angle (2) ได้จากสูตร ดังต่อไปนี้

$$\text{Chroma} = (a^2/b^2) \quad (1)$$

$$\text{Hue angle} = \tan^{-1} (b^*/a^*) \quad (2)$$

3.6.3.4 ศึกษาคุณภาพทางด้านเคมีในไส้กรอกสดสมุนไพร ได้แก่

1) การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

นำตัวอย่างวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง โดยการปรับค่ามาตรฐานในการวัดแต่ละครั้งด้วยสารละลายที่มีค่าความเป็นกรด 4.0 และด่าง 7.0 วัดค่า 3 ชั่วโมง บันทึกผลการทดลอง

2) การสกัดสารละลายจากไส้กรอกสดสมุนไพร เพื่อไปวิเคราะห์ DPPH, ABTS, reducing power และ Total Phenolic Compound ตามวิธีการของ Jung *et al.* (2010); Jaisut *et al.* (2018)

นำไส้กรอกสดสมุนไพรไปอบที่อุณหภูมิ 180 เซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นสับหั่นตัวอย่าง 3 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 15 มิลลิลิตร นำไปโฮโมจิไนซ์ความเร็วรอบ 9,500 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงเติมคลอโรฟอร์ม 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 4,000 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 15 นาที จะได้สารละลายส่วนใส (supernatant) 20 % (ร้อยละ โดยมวลต่อปริมาตร : W/V) ซึ่งสารละลายส่วนใสความเข้มข้น 3 % (W/V) เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมของไส้กรอกสดสมุนไพรสำหรับการนำไปวิเคราะห์

3) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH Radical Scavenging

เตรียม 0.2 mM DPPH ในเอทานอล นำสารละลาย DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตรผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร (A) น้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอลปริมาตร 2 มิลลิลิตร (B) สารละลาย DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายส่วนใส 3 % (W/V) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (C) และสารละลายส่วนใส 3 % (W/V) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอลปริมาตร 2 มิลลิลิตร (D) บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง (Abs) ที่ 517 นาโนเมตร ทำการทดลองทั้งหมด 3 ชั่วโมง และคำนวณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (%) = $[(A-B) - (C-D) / (A-B)] \times 100$ คัดแปลงมาจากวิธีการของ Alam *et al.* (2013); Jaisut *et al.* (2018)

กำหนดให้

- A = ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง
- B = ค่าดูดกลืนแสงของเอทานอลหรือน้ำกลั่น
- C = ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง
- D = ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างในเอทานอลหรือน้ำกลั่น

4) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS Radical Cation Decolorization Assay

เตรียมอนุมูลอิสระ 7 mM ABTS (2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)] และ 2.45 mM potassium persulfate ในน้ำกลั่น เก็บในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็น

เวลา 12 - 16 ชั่วโมง จากนั้น ปรับความเข้มข้นด้วยเอทานอล แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง 0.70 ± 0.02 ที่ 734 นาโนเมตร นำสารละลาย ABTS^{•+} ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร (A) น้ำกลั่นปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอล 3 มิลลิลิตร (B) สารละลาย ABTS^{•+} ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายส่วนใส 3 % (W/V) ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร (C) และ สารละลายส่วนใส 3 % (W/V) ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอลปริมาตร 3 มิลลิลิตร (D) เก็บในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง (Abs) ที่ 734 นาโนเมตร ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และคำนวณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (%) = $[(A-B) - (C-D) / (A-B)] \times 100$ คัดแปลงมาจากวิธีการของ Mancini *et al.* (2015)

กำหนดให้

- A = ค่าดูดกลืนแสงของ ABTS ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง
- B = ค่าดูดกลืนแสงของเอทานอลหรือน้ำกลั่น
- C = ค่าดูดกลืนแสงของ ABTS ที่ทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง
- D = ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างในเอทานอลหรือน้ำกลั่น

5) ทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์สาร โดยวิธี reducing power

ปีเปตสารละลายส่วนใสความเข้มข้น 3 % (W/V) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เติม 0.2 M phosphate buffer pH 6.6 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย Potassium ferricyanide 1 % ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยใช้อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ แล้วเติม Trichloroacetic acid 10 % ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยง โดยใช้ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้น ดูดสารละลายส่วนใส ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และ Ferric Chloride 0.1 % ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร คัดแปลงมาจากวิธีการของ Gallego *et al.* (2018)

6) การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total Phenolic Compound)

ปีเปตสารละลายส่วนใสความเข้มข้น 3 % (W/V) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง เติมสารละลาย 2 N Folin-Ciocalteu 0.5 มิลลิลิตร และสารละลาย Na_2CO_3 7.5 % 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ มาคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยเปรียบเทียบกับกราฟเส้นตรงมาตรฐานของกรดแกลลิก คัดแปลงมาจากวิธีการของ ILYASOĞLU. (2014)

7) ทดสอบการออกซิเดชันของไขมัน โดยวิธี Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARs)

สุ่มซั่งตัวอย่างเนื้อ 10 กรัม ใส่ในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 48 มิลลิลิตร และสารละลาย 0.2 % BHT ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปโฮโมจีไนซ์ด้วยความเร็วรอบ 9,500 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 1 นาที ในระหว่างโฮโมจีไนซ์ควบคุมอุณหภูมิให้เย็นด้วยน้ำแข็ง จากนั้นนำไปกลั่น โดยเติมสารละลายกรด 5 N HCL ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ก่อนนำไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่น เป็นเวลา 190 นาที ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส แล้วจึงเปิดสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการกลั่น 5 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย TBA ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 16 - 20 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์บันทึกผลการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าการดูดกลืนแสงของ TBARs ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐาน 1, 1, 3, 3-Tetraethoxypropane (TEP) และคำนวณค่า TBARs ที่ได้ในหน่วย mg MDA/kg meat คัดแปลงมาจากวิธีการของ Díaz *et al.* (2014)

8) ทดสอบอะฟลาทอกซิน ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรที่เสริมสารสกัดจากกากงา

ก่อนนำผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรที่เสริมสารสกัดจากกากงาไปให้ผู้บริโภคทดสอบทางประสาทสัมผัส นำไปทดสอบอะฟลาทอกซิน โดยส่งตัวอย่างไปตรวจที่บริษัท ศูนย์ห้องปฏิบัติการและวิจัยทางการแพทย์และการเกษตรแห่งเอเชีย จำกัด ด้วยวิธี TM-CH-008 based on AOAC official Methods of Analysis, 19th ed., 2012, method 991.31

3.6.3.5 ศึกษาคุณภาพทางด้านชีวภาพในไส้กรอกสดสมุนไพร ได้แก่

1) วิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์รวม (Total Plate Count)

ตรวจวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรีย์รวม ตามวิธีของ AOAC (2005) ซั่งตัวอย่าง 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อเจือจางในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.85 % ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 นาที จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 แล้วเจือจางตัวอย่างให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม จากนั้น ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเจือจางปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อ แล้วจึงเทอาหาร Plate Count Agar ปริมาตรจานละ 15 - 20 มิลลิลิตร ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ รอจนอาหารแข็ง คั่วจานเพาะเชื้อแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง นับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมทั้งหมด โดยรายงานผลจำนวนจุลินทรีย์เฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30 - 300 โคโลนี หน่วยเป็น log cfu/g

2) วิเคราะห์ Coliforms และ *Escherichia coli*

ตรวจวิเคราะห์หาจำนวน *E. coli* และ Coliform ตามวิธีของ AOAC (2006) ซึ่งตัวอย่าง 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อเจือจางในสารละลายเกลือ โซเดียมคลอไรด์ 0.85 % ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 แล้วเจือจางตัวอย่างให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม จากนั้นใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 0.1 ปริมาตรมิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Chromocult agar ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ ใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมที่ผ่านการฆ่าเชื้อ spread ที่ผิวหน้าอาหาร คว่างานเพาะเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยรายงานผลจำนวน *E. coli* และ Coliform เฉพาะงานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30 - 300 โคโลนี หน่วยเป็น log cfu/g ทำการทดสอบเพื่อยืนยันว่าเป็นเชื้อ *E. coli* โดยการสุมโคโลนีสีม่วงน้ำเงินเขี่ยลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptophan Broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย Kovac ปริมาตร 0.2 - 0.3 มิลลิลิตร ถ้าให้ผล + จะปรากฏสีแดงที่ส่วนบนของ Tryptophan Broth

3) วิเคราะห์ *Staphylococcus aureus*

ตรวจวิเคราะห์หาจำนวนเชื้อ *S. aureus* ตามวิธีของ FDA-BAM (2016) ซึ่งตัวอย่าง 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อเจือจางในสารละลายเกลือ โซเดียมคลอไรด์ 0.85 % ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 แล้วเจือจางตัวอย่างให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม จากนั้นใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 0.1 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Baird Parker ที่เติม Potassium tellurite 1 % และไข่แดง ปริมาตรจานละ 15 - 20 มิลลิลิตรที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ ใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมที่ผ่านการฆ่าเชื้อ spread ที่ผิวหน้าอาหาร คว่างานเพาะเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง นับจำนวนเชื้อ *S. aureus* โดยรายงานผลจำนวนเชื้อ *S. aureus* เฉพาะงานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30 - 300 โคโลนีหน่วยเป็น log cfu/g ทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์ของ *S. aureus* โดย Subculture เชื้อลงใน Brain heart infusion broth (BHI broth) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วหลอดละ 0.30 มิลลิลิตร เขี่ยโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S. aureus* เพาะเชื้อในหลอดที่มี BHI broth และหลอดอาหาร TSA slant (สำหรับการทดสอบซ้่า) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง ดูด Coagulase plasma ปริมาตร 0.30 มิลลิลิตรลงในหลอดเพาะเชื้อที่มี BHI broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 - 6 ชั่วโมง อ่านผลโดยดูการแข็งตัวของ plasma อันเนื่องมาจากเอนไซม์ Coagulase (Coagulase positive) ที่เชื้อ *S. aureus* สร้างขึ้นซึ่งอาจจะมีลักษณะต่าง ๆ กัน สำหรับเชื้อที่ให้ Coagulase ไม่เท่ากัน

4) วิเคราะห์ *Salmonella* spp.

ตรวจวิเคราะห์หาจำนวนเชื้อ *Salmonella* spp. ตามวิธีของ FDA-BAM (2007) ซึ่งตัวอย่าง 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่อาหาร Tryptic Soy Broth (TBS) ปริมาตร 225

มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นใช้ไมโครปิเปตดูดเชื้อ ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Tetrathionate Broth (TTB) + Iodine solution และ Selenite Cysteine Broth (SCB) นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วถ่ายเชื้อลงในอาหาร Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar และ Salmonella-Shigella (SS) agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยสังเกตลักษณะโคโลนี สีน้ำเงินเขียว และตรงกลางมีสีดำ กลม นูน ผิวเรียบเป็นมัน อาจพบจุดหรือไม่พบจุดตรงกลาง นำโคโลนีที่ได้ไปทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีโดยใช้เข็มเย็บเชื้อ โคโลนีที่สงสัยไปเพาะในอาหาร Triple sugar Iron (TSI) Agar slant และ Lysine-Indole-Motility (LIM) medium บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปดูผลปฏิกิริยาทางชีวเคมีในหลอด TSI agar slant และ LIM medium คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Salmonella* spp. ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 การตรวจเชื้อ *Salmonella* spp. โดยวิธีทางชีวเคมี

TSI				LIM		
Slant	Butt	H ₂ S	Gas	Lysine	Indole	Motile
K	A	+/-	+/-	+	-	+/-

- K = การเกิด alkaline โดยบริเวณปลายหลอด (slant) ของอาหาร TSI จะมีสีชมพูบานเย็น-แดง
- A = การเกิด Acid บริเวณก้นหลอด (butt) ของ TSI จะมีสีเหลือง
- H₂S (+) = ภายในหลอดอาหาร TSI เกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่ง *Salmonella* spp. ส่วนใหญ่จะให้ผล +
- H₂S (-) = ภายในหลอดอาหาร TSI ไม่เกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์
- Gas (+) = มีฟองอากาศคั่งวุ้นของอาหาร TSI เนื่องจาก *Salmonella* spp. ส่วนใหญ่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วได้กรดและแก๊สเพียงเล็กน้อย
- Gas (-) = ภายในหลอดอาหารไม่มีฟองอากาศคั่งวุ้นของอาหาร TSI
- Lysine (+) = หลอดอาหารจะมีสีม่วงทั้งหลอดเนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. มีเอนไซม์ lysine decarboxylase ปล่อย lysine ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีความเป็นด่างมากขึ้น มีผลทำให้ bromocresol purple ซึ่งเป็น Indicator ในอาหารดังกล่าว และมีค่าความเป็นกรดต่างต่ำเป็นกลาง มีสีม่วงเข้มขึ้นซึ่งเชื้อจะมีเอนไซม์นี้
- Lysine (-) = หลอดอาหารจะมีสีเหลืองเนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. มีเอนไซม์ lysine decarboxylase ปล่อย Lysine ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีความเป็นด่างต่ำมากขึ้น มีผลทำให้ bromocresol purple เปลี่ยนเป็นสีเหลือง

- Indole (+) = อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังหยดน้ำยา kovac ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ
- Indole (-) = อาหารเลี้ยงเชื้อไม่เกิดสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังหยดน้ำยา kovac ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่ง *Salmonella* spp. ไม่มีเอนไซม์ tryptophanase จึงไม่เกิดปฏิกิริยากับ kovac
- Motile (+) = หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM จะขุ่นทั้งหลอด ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. ส่วนมากมีแฟลเจลลัมในการเคลื่อนที่ ดังนั้นเมื่อทำการ stab เชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเกิดการเคลื่อนที่จากรอย stab ไปทุกทิศทางจึงทำให้หลอดขุ่น
- Motile (-) = หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM จะมีการเจริญบริเวณรอย stab เท่านั้น ส่วนบริเวณอาหารรอบรอย stab จะใส ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อไม่มีแฟลเจลลัมในการเคลื่อนที่ จึงเจริญบริเวณรอย stab เท่านั้น

3.5.3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design : RCRD) ทำ 3 ซ้ำ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรม SAS

บทที่ 4

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาสูตรในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร

4.1.1 ศึกษาสูตรที่ใช้ในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร 15 สูตร

ผลการศึกษาสูตรที่ใช้ในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพรทั้ง 15 สูตร ได้ส่วนผสมที่เหมาะสมสำหรับผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร (ดังแสดงในตารางที่ 4.1) ดังนี้

- 1) ส่วนผสมของพริกแกงเผ็ดที่ใช้ในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร ได้แก่ พริกแห้งแดงจินดา หัวหอมแดง กระเทียม ข่า ตะไคร้ รากผักชี ผิวมะกรูด เกลือ และกะปิ
- 2) ส่วนผสมของพริกแกงไส้กรอกสดคั่วหอม ได้แก่ พริกแห้งแดงจินดา หัวหอมแดง กระเทียม ตะไคร้ ขมิ้นสด ผิวมะกรูด เกลือ และพริกไทยดำบดหยาบ
- 3) ส่วนผสมของพริกแกงไส้กรอกสดคั่วสมุนไพร ได้แก่ พริกแห้งแดงจินดา กระเทียม หัวหอมแดง ขิง ข่า ขมิ้น ลูกผักชี ยี่หระป่น กานพลู กระวาน และเกลือ
- 4) สูตร 1 ส่วนผสมของไส้กรอกสดคั่วขิง
- 5) สูตร 2 ส่วนผสมของไส้กรอกสดคั่วไส้สมุนไพร
- 6) สูตร 3 ส่วนผสมของไส้กรอกสดคั่วพริกแกง
- 7) สูตร 4 ส่วนผสมของไส้กรอกสดคั่วโหระพา
- 8) สูตร 5 ส่วนผสมของไส้กรอกสดคั่วสมุนไพร
- 9) สูตร 6 ส่วนผสมของไส้กรอกสดคั่วสามสหาย
- 10) สูตร 7 ส่วนผสมของไส้กรอกสดคั่วหอม
- 11) สูตร 8 ส่วนผสมของไส้กรอกสดคั่วพริกตากแห้ง
- 12) สูตร 9 ส่วนผสมของไส้กรอกสดคั่วหอมตะไคร้
- 13) สูตร 10 ส่วนผสมของไส้กรอกสดคั่วน้ำเต้าหู้
- 14) สูตร 11 ส่วนผสมของไส้กรอกสดคั่วสมุนไพร
- 15) สูตร 12 ส่วนผสมของไส้กรอกสดคั่วทอดมันมะกรูด
- 16) สูตร 13 ส่วนผสมของไส้กรอกสดคั่วเหลืองขมิ้น
- 17) สูตร 14 ส่วนผสมของไส้กรอกสดคั่วสมุนไพร
- 18) สูตร 15 ส่วนผสมของไส้กรอกสดคั่วบาบิคว

ตารางที่ 4.1. ส่วนผสมที่ใช้ในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพร (ต่อ)

ส่วนผสม	สูตร														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
31. ข้า	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32. หัวหอมแดง	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-
33. กระเทียม	✓	✓	-	✓	-	✓	-	✓	✓	✓	-	-	-	✓	✓
34. กระชาย	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35. ต้นหอม	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	✓	-
36. พริกขี้หนู	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-
37. พริกแห้งแดงจินดา	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38. พริกป่นแดง	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39. พริกแห้งป่น	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	✓	-	-	-	-
40. ขมิ้นสด	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	✓	-	-
41. ผิวมะกรูด	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42. ตะไคร้	-	✓	✓	-	✓	-	-	-	✓	✓	-	-	✓	-	-
43. ซอสมะเขือเทศ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
44. ซอสพริก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
45. วูสเตอร์ซอส	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
46. มัสตาร์ดครีม	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
47. น้ำผึ้ง	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
48. Apple sider	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓

4.1.2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร

ผลการศึกษาการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของจากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรทั้งที่ไม่ปรุงสุกและปรุงสุก โดยผู้ทดสอบที่เป็นกลุ่มนักศึกษา อาจารย์ และผู้บริโภคทั่วไป จำนวน 30 คน โดยแบ่งการชิมออกเป็น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 สูตร ซึ่งผู้ชิมทำการชิมครั้งที่ 1 จำนวน 5 สูตร พักเป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงทำการชิมครั้งที่ 2 พักเป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงชิมครั้งที่ 3 และมีช่วงการให้คะแนนความพึงพอใจ 7 ระดับ (7-Point Hedonic Scale) ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรไม่ปรุงสุก ในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น ลักษณะความน่าซื้อ และความพึงพอใจโดยรวม พบว่า คะแนนด้านลักษณะปรากฏ ผู้บริโภคให้คะแนนความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรสูตรไส้กรอกสดลาบสมุนไพรมากที่สุด รองลงมาคือ ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูด ไส้กรอกสดหัวหอม ไส้กรอกสดเหลืองขมิ้นและไส้กรอกสดบาบีคิว ซึ่งมีคะแนนเท่ากับ 5.93, 5.83, 5.77, 5.70 และ 5.33 คะแนนตามลำดับ ด้านกลิ่น ผู้บริโภคให้คะแนน

ความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรสูตรไส้กรอกสดเหลืองขมิ้นมากที่สุด รองลงมาคือ ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูด ไส้กรอกสดคั่วหอม ไส้กรอกสดลาบสมุนไพร และไส้กรอกสดบาบิคว ซึ่งมีคะแนนเท่ากับ 5.37, 5.23, 5.23, 5.07 และ 4.90 คะแนนตามลำดับ ด้านลักษณะความน่าซื้อ ผู้บริโภคให้คะแนนความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรสูตรไส้กรอกสดลาบสมุนไพรมากที่สุด รองลงมาคือ ไส้กรอกสดเหลืองขมิ้น ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูด ไส้กรอกสดคั่วหอม และไส้กรอกสดบาบิคว ซึ่งมีคะแนนเท่ากับ 5.83, 5.77, 5.60, 5.53 และ 5.27 คะแนนตามลำดับ และด้านความพึงพอใจโดยรวม ผู้บริโภคให้คะแนนความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรสูตรไส้กรอกสดลาบสมุนไพรและไส้กรอกสดเหลืองขมิ้นมากที่สุด รองลงมาคือ ไส้กรอกสดคั่วหอม ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูด และไส้กรอกสดบาบิคว ซึ่งมีคะแนนเท่ากับ 5.73, 5.73, 5.57, 5.53 และ 5.27 คะแนนตามลำดับ เนื่องจากส่วนผสมของเครื่องเทศทั้ง 5 สูตร แสดงให้เห็นสีสันของไส้กรอกสดสมุนไพรที่นำรับประทานมากกว่าสูตรอื่น ๆ เมื่อเปรียบเทียบทั้ง 15 สูตร แล้ว พบว่า 5 สูตรที่กล่าวมาข้างต้นนั้น ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ผลการศึกษาคูณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรปรุงสุกในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัส และความพึงพอใจโดยรวม พบว่า คะแนนด้านลักษณะปรากฏ ผู้บริโภคให้คะแนนความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรสูตรไส้กรอกสดน้ำเต้าตอกมากที่สุด รองลงมาคือ ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูด และไส้กรอกสดเหลืองขมิ้น ซึ่งมีคะแนนเท่ากับ 5.22, 5.00 และ 5.00 คะแนนตามลำดับ ด้านกลิ่นรสและด้านลักษณะเนื้อสัมผัส ผู้บริโภคให้คะแนนความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรสูตรไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดมากที่สุด ซึ่งมีคะแนนเท่ากับ 5.70 และ 5.47 คะแนนตามลำดับ รองลงมาคือ ไส้กรอกสดน้ำเต้าตอก ซึ่งมีคะแนนเท่ากับ 5.48 และ 5.32 คะแนนตามลำดับ และไส้กรอกสดเหลืองขมิ้น ซึ่งมีคะแนนเท่ากับ 5.37 และ 5.00 คะแนนตามลำดับ และด้านความพึงพอใจโดยรวม ผู้บริโภคให้คะแนนความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรสูตรไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดมากที่สุด รองลงมาคือ ไส้กรอกสดเหลืองขมิ้น และไส้กรอกสดน้ำเต้าตอก ซึ่งมีคะแนนเท่ากับ 5.80, 5.57 และ 5.45 คะแนนตามลำดับ ทำการเปรียบเทียบทั้ง 15 สูตร พบว่า ทั้ง 3 สูตรที่กล่าวมาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แสดงว่าผู้บริโภคมีแนวโน้มชอบมากกว่าสูตรอื่น ๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.3

จากผลการศึกษาคูณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรไม่ปรุงสุกในไส้กรอกสดลาบสมุนไพรและไส้กรอกสดเหลืองขมิ้น ผู้บริโภคให้คะแนนความพึงพอใจโดยรวมมากที่สุด ถึงแม้ว่า ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดจะมีคะแนนรองลงมา แต่ผู้บริโภคก็ให้คะแนนความพึงพอใจอยู่ในช่วง 5 – 7 คะแนน ซึ่งเป็นคะแนนที่ยอมรับได้ แต่ในขณะเดียวกัน

คุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรปรุงสุกในไส้กรอกสดทอดมันมะกรูด ผู้บริโภคให้คะแนนความพึงพอใจโดยรวมมากที่สุด จึงได้เลือกสูตรไส้กรอกสดทอดมันมะกรูด ไปใช้ในการทดลองที่ 3 ต่อไป

ตารางที่ 4.2 ความพึงพอใจของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรไม่ปรุงสุก 15 สูตร

ตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ	กลิ่น	การตัดสีนใจซื้อ	ความพึงพอใจโดยรวม
ไส้กรอกสดคอกุจิง	4.17 ± 1.43 ^E	4.03 ± 1.03 ^E	4.17 ± 1.34 ^E	4.10 ± 1.27 ^F
ไส้กรอกสดยัดไส้สมุนไพร	4.47 ± 1.20 ^{DE}	4.23 ± 1.28 ^{DE}	4.17 ± 1.21 ^E	4.30 ± 1.12 ^{EF}
ไส้กรอกสดผัดพริกแกง	4.70 ± 1.15 ^{CDE}	4.53 ± 1.07 ^{BCDE}	4.70 ± 1.26 ^{BCDE}	4.70 ± 1.26 ^{DE}
ไส้กรอกสดโหระพา	4.93 ± 1.36 ^{CD}	4.47 ± 1.17 ^{CDE}	4.73 ± 1.08 ^{BCDE}	4.77 ± 1.14 ^{DE}
ไส้กรอกสดคอกุญ	4.87 ± 1.38 ^{CD}	4.87 ± 1.20 ^{ABC}	4.83 ± 0.99 ^{BCD}	4.80 ± 1.06 ^{CDE}
ไส้กรอกสดสามสหาย	5.17 ± 1.18 ^{BC}	4.80 ± 1.16 ^{ABCD}	4.93 ± 1.23 ^{BC}	5.07 ± 1.05 ^{BCD}
ไส้กรอกสดคั่วหอม	5.77 ± 1.14 ^{AB}	5.23 ± 1.04 ^A	5.53 ± 1.04 ^A	5.57 ± 0.97 ^{AB}
ไส้กรอกสดพริกตากแห้ง	5.00 ± 1.05 ^{CD}	4.60 ± 0.72 ^{BCDE}	4.67 ± 1.03 ^{BCDE}	4.87 ± 0.97 ^{CDE}
ไส้กรอกสดหอมตะไคร้	4.20 ± 1.19 ^E	4.37 ± 0.93 ^{CDE}	4.23 ± 1.19 ^{DE}	4.27 ± 1.17 ^{EF}
ไส้กรอกสดน้ำตาตก	4.50 ± 1.22 ^{DE}	4.43 ± 0.97 ^{CDE}	4.37 ± 1.16 ^{CED}	4.77 ± 0.94 ^{ED}
ไส้กรอกสดลาบสมุนไพร	5.93 ± 0.91 ^A	5.07 ± 0.83 ^{AB}	5.83 ± 0.95 ^A	5.73 ± 0.91 ^A
ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูด	5.83 ± 0.83 ^A	5.23 ± 0.90 ^A	5.60 ± 0.86 ^A	5.53 ± 0.90 ^{AB}
ไส้กรอกสดเหลืองขมิ้น	5.70 ± 0.70 ^{AB}	5.37 ± 0.81 ^A	5.77 ± 0.82 ^A	5.73 ± 0.78 ^A
ไส้กรอกสดลุยสวน	4.50 ± 0.86 ^{DE}	4.43 ± 1.01 ^{CDE}	4.27 ± 1.17 ^{DE}	4.50 ± 1.07 ^{DEF}
ไส้กรอกสดบาบิคว	5.33 ± 0.80 ^{ABC}	4.90 ± 0.84 ^{ABC}	5.27 ± 0.74 ^{AB}	5.37 ± 0.76 ^{ABC}

^{A-F} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

คะแนนความพึงพอใจ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบ 4 = เฉย ๆ 5 = ชอบ 6 = ชอบมาก 7 = ชอบมากที่สุด

ตารางที่ 4.3 ความพึงพอใจของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรปรุงสุก 15 สูตร

ตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ	กลิ่น	การตัดสินใจซื้อ	ความพึงพอใจโดยรวม
ไส้กรอกสดลูกขิง	4.00 ± 1.17 ^D	4.08 ± 1.22 ^{DE}	4.25 ± 1.29 ^E	4.00 ± 1.23 ^{CDE}
ไส้กรอกสดขี้ไส้สมุนไพรมะขาม	4.30 ± 1.06 ^{CD}	4.30 ± 1.42 ^{DE}	4.47 ± 1.36 ^{BCDE}	4.37 ± 1.22 ^{CD}
ไส้กรอกสดผักพริกแกง	4.77 ± 1.14 ^{ABC}	5.12 ± 1.24 ^{ABC}	5.12 ± 0.89 ^{AB}	5.17 ± 0.95 ^{AB}
ไส้กรอกสดโหระพา	3.97 ± 1.13 ^D	3.62 ± 1.45 ^E	3.52 ± 1.28 ^F	3.43 ± 1.17 ^E
ไส้กรอกสดลูกขมิ้น	4.00 ± 1.23 ^D	4.23 ± 1.25 ^{DE}	3.97 ± 1.30 ^{EF}	3.87 ± 1.25 ^{DE}
ไส้กรอกสดสามสหาย	4.70 ± 1.15 ^{ABC}	4.23 ± 1.50 ^{DE}	4.30 ± 1.15 ^{DE}	4.10 ± 1.35 ^{CD}
ไส้กรอกสดคั่วหอม	4.97 ± 1.25 ^{AB}	4.52 ± 1.12 ^{CD}	4.48 ± 1.09 ^{BCDE}	4.52 ± 0.99 ^{CD}
ไส้กรอกสดพริกตากแห้ง	4.45 ± 0.95 ^{BCD}	4.37 ± 1.07 ^D	4.40 ± 1.00 ^{CDE}	4.30 ± 1.02 ^{CD}
ไส้กรอกสดหอมตะไคร้	4.00 ± 1.60 ^D	4.53 ± 1.50 ^{CD}	4.50 ± 1.43 ^{BCDE}	4.43 ± 1.55 ^{CD}
ไส้กรอกสดน้ำตาตัก	5.22 ± 1.03 ^A	5.48 ± 1.07 ^A	5.32 ± 1.02 ^A	5.45 ± 1.00 ^A
ไส้กรอกสดลาบสมุนไพร	4.80 ± 1.13 ^{ABC}	5.33 ± 1.32 ^{AB}	4.97 ± 1.00 ^{BCD}	5.20 ± 1.10 ^{AB}
ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูด	5.00 ± 0.95 ^{AB}	5.70 ± 0.88 ^A	5.47 ± 0.97 ^A	5.80 ± 0.85 ^A
ไส้กรอกสดเหลืองขมิ้น	5.00 ± 1.08 ^{AB}	5.37 ± 1.07 ^{AB}	5.00 ± 1.02 ^{ABC}	5.57 ± 1.03 ^A
ไส้กรอกสดลุยสวน	4.17 ± 1.12 ^{CD}	4.70 ± 1.09 ^{CD}	4.60 ± 1.10 ^{BCDE}	4.63 ± 1.10 ^{ABC}
ไส้กรอกสดบาบิควิ	4.33 ± 0.99 ^{BCD}	4.40 ± 1.38 ^D	4.43 ± 1.25 ^{CDE}	4.50 ± 1.20 ^{CD}

^{A-F} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

คะแนนความพึงพอใจ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบ 4 = เฉย ๆ 5 = ชอบ 6 = ชอบมาก 7 = ชอบมากที่สุด

4.2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ในสารสกัดจากกากงา

4.2.1 ทดสอบอะฟลาทอกซินในกากงา

ก่อนการศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากกากงา ได้ทำการตรวจสอบอะฟลาทอกซินในกากงาก่อนการนำมาสกัด โดยส่งตัวอย่างไปตรวจที่บริษัท ศูนย์วิทยาศาสตร์ เบทาโกร จำกัด โดยใช้วิธี ELISA ROMERLAB ในการตรวจ พบว่า ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินที่พบน้อยกว่า 4 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$) ซึ่งไม่เกินจากค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ (ไม่เกิน 20 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$)) ดังแสดงในตารางที่ 4.4 (ภาคผนวก จ)

ตารางที่ 4.4 ผลการตรวจอะฟลาทอกซินในกากงาคั่ว

ตัวอย่าง	วิธีที่ใช้ตรวจ	ปริมาณสารพิษ อะฟลาทอกซิน ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
กากงาคั่ว	ELISA ROMERLAB	< 4.00

ppb คือ part per billion

4.2.2 ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากกากงา

ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH, ABTS และ reducing power ในสารสกัดจากกากงา (sesame cake extract : SCE) โดยเปรียบเทียบกับน้ำมันงาเชิงการค้า (commercial sesame oil : CSO) ซึ่งเป็นน้ำมันงาทางการค้าที่ใช้ในการปรุงอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 4.5 จากการทดสอบปริมาณสารพิษเคมีเบื้องต้นของตัวอย่าง โดยการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่า SCE มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 1,276.93 mg GAE/100 g sample ซึ่งสูงกว่า CSO ที่มีค่าเท่ากับ 67.62 mg GAE/100 g sample ($P < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lieu and Dang (2015) ที่ทำการศึกษาคูสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากงาที่สกัดด้วยเมทานอล พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 1,386.3 mg GAE/100 g sample นอกจากนี้ Xuan *et al.* (2018) ได้ทำการศึกษาคูสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันงาแล้วพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกใกล้เคียงกัน ซึ่งเท่ากับ 10.46 mg GAE/g oil extract และ Hussain *et al.* (2018) ได้กล่าวว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากเอทานอลและน้ำ ซึ่งในการทดลองนี้เลือกน้ำเป็นตัวทำละลาย เพราะสามารถนำมารับประทานได้ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย โดย Mohdaly *et al.* (2011) ได้รายงานว่ สารประกอบฟีนอลิกมีอยู่กระจายทั่วไปในอาณาจักรพืช สารประกอบเหล่านี้จะทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ เพราะมีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมหรืออิเล็กตรอนเพื่อให้เกิดอนุมูลอิสระที่เสถียร ซึ่งสามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันของโมเลกุลชีวภาพต่าง ๆ ได้

ต่อมาเป็นผลของการศึกษาคูสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของ SCE และ CSO ด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่า SCE มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ที่ 50 % (IC_{50}) เท่ากับ 0.2033 และ 0.3631 % ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่า CSO ที่มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ที่ 50 % (IC_{50}) เท่ากับ 0.8114 และ 1.6597 % ตามลำดับ และวิธี reducing power พบว่า SCE มีค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถลดการเกิดอนุมูลอิสระวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 0.5 ($\text{EC}_{0.5}$) ได้ดีกว่า CSO ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.4315 และ 10.0635 % ตามลำดับ ($P < 0.05$) เนื่องจากสารสกัดจากกากงาเป็นส่วนที่ได้จากเชื้อหุ้มเมล็ดงาที่มีสารประกอบฟีนอลิกและส่วนประกอบ

อื่น ๆ ที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ ประกอบไปด้วยสารลิกแนน (เซซามิน เซซาโมลิน และเซซาโมล) ซึ่งเป็นสารประกอบ ฟีนอลที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง (Shamurad *et al.* 2019) โดย Elleuch *et al.* (2011) กล่าวว่า เซซามินและเซซาโมลิน เป็นสารลิกแนนที่สำคัญในงาที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น มีฤทธิ์ในการลดความดันโลหิต ลดคอเลสเตอรอล และมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง สามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ ได้ นอกจากนี้ Sriket *et al.* (2018) รายงานว่า กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH และ ABTS มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณฟีนอลิกรวม กล่าวคือ ปริมาณฟีนอลิกรวมมีปริมาณมาก ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มากขึ้นตามไปด้วย

อย่างไรก็ตาม เมื่อนำ SCE และ CSO มาเปรียบเทียบกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐาน BHT (butylated hydroxytoluene) และ α -tocopherol พบว่า SCE และ CSO มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่า ($P < 0.05$) เนื่องจากวิตามินอี (α -tocopherol) เป็นสารชีวโมเลกุลที่มีการใช้งานมากที่สุด เป็นวิตามินที่สำคัญในร่างกายและออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูง เมื่อ α -Tocopherol ทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระของกรดไขมันเปอร์ออกไซด์ โดยไปสกัดกั้นปฏิกิริยาลูกโซ่ ซึ่งสิ่งที่ทำให้ α -tocopherol เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูงคือ ไปทำปฏิกิริยากับอนุมูลเปอร์ออกไซด์เร็วมากจนอนุมูลเปอร์ออกไซด์ไม่สามารถทำปฏิกิริยาอื่น ๆ ได้และไปกำจัดอนุมูลอิสระที่รุนแรงออกไปจากการออกซิไดซ์ของไขมันและป้องกันไม่ให้เกิดปฏิกิริยาที่รุนแรงขึ้น ในปฏิกิริยาการต่อต้านอนุมูลอิสระ α -tocopherol จะกลายเป็นอนุมูลที่ค่อนข้างเสถียร เพื่อไปทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระอื่นเท่านั้น เพื่อสร้างผลิตภัณฑ์ที่เสถียร และ BHT ที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ มีประสิทธิภาพและความคงตัวสูงเกิดจากการกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี ช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมัน เนื่องจากความไม่แน่นอนของสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ และถูกยอมรับว่าเป็นสารทั่วไปที่มีความปลอดภัย แต่มีบางรายงานกล่าวว่า BHT สามารถเป็นตัวก่อมะเร็งเมื่อได้รับในปริมาณมาก (Atta *et al.* 2017)

ตารางที่ 4.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากงา น้ำมันงาเชิงการค้า และสารมาตรฐาน

ตัวอย่าง	วิธีการทดสอบ			
	Total Phenolic content (mg GAE/100g sample)	DPPH IC ₅₀ (%)	ABTS IC ₅₀ (%)	reducing power EC _{0.5} (%)
SCE	1,276.93 ± 0.0032 ^A	0.2033 ± 0.0286 ^B	0.3631 ± 0.0355 ^B	0.4315 ± 0.11 ^B
CSO	67.6216 ± 0.0600 ^B	0.8114 ± 0.0219 ^A	1.6597 ± 0.0109 ^A	10.0635 ± 0.33 ^A
สารมาตรฐาน				
BHT	-	0.0026 ± 0.0001 ^C	0.0014 ± 0.0001 ^C	0.0052 ± 0.0001 ^C
α-tocopherol	-	0.0002 ± 0.0000 ^C	0.0013 ± 0.0000 ^C	0.0059 ± 0.0000 ^C

SCE คือ สารสกัดจากกากงา

CSO คือ น้ำมันงาเชิงการค้า

^{a-c} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำการทดลอง

IC₅₀ คือ ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ 50 %

EC_{0.5} คือ ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ที่ 50 % (วัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 0.5)

4.2.3 ศึกษาคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ในสารสกัดจากกากงา

ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสัตว์ด้วยวิธี Agar Well Diffusion สุ่มเชื้อที่มาทดสอบ ได้แก่ เชื้อที่คัดแยกได้จากหมู (*Salmonella* spp. และ *E.coli*) และแบคทีเรียมาตรฐาน (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 และ *Pseudomonas fluorescens* TISTR 5963^T) โดยวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่เกิดการยับยั้ง (clear zone) จากการใส่ SCE ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 50, 25, 12.5, 6.25 และ 3.123 % พบว่า SCE ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสัตว์ ดังแสดงในตารางที่ 4.6

ณภัช พิมพีดี (2560) กล่าวว่า การละลายของสารในตัวทำละลาย ถ้าสารชนิดเดียวกัน ละลายในตัวทำละลายต่างชนิดกันจะได้สารออกมาแตกต่างกัน โดยสารบางชนิดอาจไม่ละลายน้ำ แต่สามารถละลายในตัวทำละลายชนิดอื่นได้ โดย Ogunsola and Fasola. (2014) กล่าวว่า สารสกัดที่ได้จากเอทานอลเป็นตัวทำละลายสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้เมื่อใช้ความเข้มข้นที่ 400 mg/ml เป็นต้นไป แต่สารสกัดจากงาที่นำมาทดสอบได้จากน้ำเป็นตัวทำละลายไม่สามารถต้านจุลินทรีย์ได้ ถึงแม้จะทำการทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่ง Ahmed *et al.* (2009) และ Sharma *et al.* (2014) รายงานว่า อาจเกี่ยวข้องกับการเก็บรักษาสารออกฤทธิ์ คือ sesame lignan เช่น sesaminol และ glucosides ที่ถูกสกัดด้วยน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตารางที่ 4.6 ผลของการใช้สารสกัดจากกากงาในการยับยั้งแบคทีเรียในเนื้อสัตว์ (5 log CFU/ml) โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใส (มิลลิเมตร)

แบคทีเรียทดสอบ	ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากกากงา (%)				
	50	25	12.5	6.25	3.125
เชื้อที่แยกจากเนื้อหมู					
<i>Salmonella</i> spp.	NI	NI	NI	NI	NI
<i>E.coli</i>	NI	NI	NI	NI	NI
เชื้อมาตรฐาน					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	NI	NI	NI	NI	NI
<i>Pseudomonas fluorescens</i> TISTR 5963 ^T	NI	NI	NI	NI	NI

NI (Non-inhibition) คือ ไม่เกิดการยับยั้ง

4.3 ศึกษาการใช้สารสกัดจากกากงาในการผลิตไส้กรอกสดผสมไพร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเป็นอาหารเพื่อสุขภาพที่มีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

4.3.1 ศึกษาการใช้สารสกัดจากกากงาในการผลิตไส้กรอกสดผสมไพร

จากผลการทดลองที่ 1 ได้เลือกสูตรที่นำมาทดลองคือ ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูด ทำการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสเพื่อหาความเข้มข้นของสารสกัดจากกากงาและน้ำมันงาเชิงการค้าที่เหมาะสมมาเสริมในไส้กรอกสดทอดมันมะกรูด ซึ่งความเข้มข้นที่เลือกมาทดสอบผ่านการประเมินทางคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสเบื้องต้น โดยได้ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากงาที่ 0.5 และ 1 % และความเข้มข้นของน้ำมันงาเชิงการค้าที่ 1 และ 2 % ผลการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดภายหลังการปรุงสุก ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความพึงพอใจโดยรวม โดยผู้ทดสอบเป็นกลุ่มนักศึกษา อาจารย์ และผู้บริโภครวมไป จำนวน 30 คน และมีช่วงการให้คะแนนความพึงพอใจ 7 ระดับ (7-Point Hedonic Scale) พบว่า การเสริมสารสกัดจากกากงาที่ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 % ในไส้กรอกสดทอดมันมะกรูด ในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัสและความพึงพอใจโดยรวมไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) และการเสริมน้ำมันงาเชิงการค้าที่ความเข้มข้น 0, 1 และ 2 % ในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัสและความพึงพอใจโดยรวมไม่มีความแตกต่างเช่นกัน ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.7 จากผลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดที่เสริมและไม่เสริมสารสกัดจากกากงาและน้ำมันงาเชิงการค้าไม่ได้มีความแตกต่างกัน จึงได้เลือกความเข้มข้นของสารสกัดจากกากงาที่ 1 % เนื่องจากผู้บริโภคระบุให้คะแนนความพึงพอใจโดยรวมมากที่สุดและความเข้มข้นของน้ำมันงาเชิงการค้าที่ 1 % เนื่องจากผู้บริโภคระบุให้คะแนนความพึงพอใจโดยรวมซึ่งใกล้เคียงกับไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดที่ไม่ได้เสริมน้ำมันงาเมื่อได้ความเข้มข้นของสารสกัดจากกากงาและน้ำมันงาเชิงการค้าที่เหมาะสมต่อการเสริมในไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดแล้ว จึงนำไปทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพ โดยการเก็บรักษาแบบแช่เย็นบรรจุใส่ถาดโฟมและปิดด้วยพลาสติกใส ระยะเวลา 0, 3 และ 6 วัน และแช่แข็งบรรจุแบบสุญญากาศ ระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน

ตารางที่ 4.7 การประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของการเสริมสารสกัดจากกากงาและน้ำมันงาเชิงการค้าในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดปรุงสุก

ตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ	กลิ่นรส	ลักษณะเนื้อสัมผัส	ความพึงพอใจโดยรวม
0% SCE	5.33 ± 0.96 ^A	5.47 ± 0.97 ^A	5.17 ± 0.79 ^A	5.37 ± 0.97 ^A
0.5% SCE	5.07 ± 0.98 ^A	5.37 ± 0.93 ^A	5.30 ± 1.09 ^A	5.37 ± 0.89 ^A
1% SCE	5.13 ± 1.07 ^A	5.33 ± 1.09 ^A	4.93 ± 1.05 ^A	5.42 ± 1.03 ^A
0% CSO	5.33 ± 0.99 ^A	5.43 ± 1.04 ^A	5.37 ± 1.07 ^A	5.58 ± 1.10 ^A
1% CSO	5.13 ± 0.86 ^A	5.23 ± 1.07 ^A	5.00 ± 1.05 ^A	5.23 ± 0.94 ^A
2% CSO	5.37 ± 1.00 ^A	4.87 ± 1.41 ^A	4.93 ± 1.05 ^A	5.17 ± 1.37 ^A

SCE คือ สารสกัดจากกากงา และ CSO คือ น้ำมันงาเชิงการค้า

^A คือ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง

คะแนนความพึงพอใจ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบ 4 = เฉย ๆ 5 = ชอบ 6 = ชอบมาก 7 = ชอบมากที่สุด

4.3.2 ศึกษาคุณภาพทางด้านกายภาพ ทางด้านเคมี และด้านชีวภาพ รวมถึงการศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร

4.3.2.1 คุณภาพทางด้านกายภาพ

1) ค่าสี (CIE L*a* และ b*)

การศึกษาค่าสีของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3 และ 6 วัน และภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ 1) กลุ่มควบคุม (Control) คือ ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูด 2) กลุ่ม 0.01% BHT คือ ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดที่เสริม BHT 0.01 % 3) กลุ่ม 1% SCE คือ ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดที่เสริมสารสกัดจากกากงา 1 % และ 4) กลุ่ม 1% CSO คือ ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดที่เสริมน้ำมันงาเชิงการค้า 1 % ดังแสดงในตารางที่ 4.8, 4.9 และ 4.10 จากผลการทดลองค่าความสว่าง (Lightness : L*) ของแต่ละกลุ่มเมื่อเปรียบเทียบกับในวันที่ 0 พบว่ากลุ่ม Control, 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO มีค่าเท่ากับ 47.16, 47.47, 47.95 และ 47.60 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 และ 6 วัน พบว่า ระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น ไม่มีผลต่อค่าความสว่างของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทั้ง 4 กลุ่ม ($P > 0.05$) แต่มีแนวโน้มที่จะทำให้ค่าความสว่างลดลง เนื่องจากการลดลงของค่าความสว่างนั้นเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ

myoglobin เปลี่ยนไปเป็น metmyoglobin (Hawashin *et al.* 2016) และการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน พบว่า ค่าความสว่างของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทั้ง 4 กลุ่มไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) แต่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทั้ง 4 กลุ่มมีค่าความสว่างลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Boruzi and Nour. (2019) ที่กล่าวว่า ในระหว่างการเก็บรักษาในตู้เย็นกลุ่มที่ไม่เสริมสารต้านอนุมูลอิสระมีค่าความสว่างเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในขณะที่กลุ่มที่เสริมสารต้านอนุมูลอิสระมีค่าความสว่างลดลง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนสีของเนื้อสัตว์เกิดจากระบวนการออกซิเดชัน

ค่าสีแดง (redness : a*) ของแต่ละกลุ่มเมื่อเปรียบเทียบกันในวันที่ 0 พบว่า กลุ่ม Control, 1% BHT, 1% SCE และ 1% CSO มีค่าเท่ากับ 8.78, 8.76, 8.62 และ 8.84 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 และ 6 วัน พบว่า ค่าสีแดงของกลุ่ม Control, 1% BHT และ 1% CSO ค่าสีแดงไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) ในขณะที่กลุ่ม 1% SCE มีค่าสีแดงที่เพิ่มขึ้นจาก 8.49 ในวันที่ 3 เป็น 9.83 ในวันที่ 6 ($P < 0.05$) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า กลุ่ม 1% SCE ที่เสริมสารต้านอนุมูลอิสระช่วยให้สีของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมบูรณ์มีความคงทน โดยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ myoglobin ในผลิตภัณฑ์ได้ (Gallo *et al.* 2012; Kim *et al.* 2013) ส่วนการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน เมื่อเปรียบเทียบกันในแต่ละกลุ่ม พบว่า ค่าสีแดงไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น พบว่า ค่าสีแดงในกลุ่ม 1% BHT, 1% SCE และ 1% CSO ไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) ในขณะที่กลุ่ม Control มีค่าสีแดงลดลง ($P < 0.05$) โดย Velasco and Williams. (2011) กล่าวว่า การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อเกิดจากการออกซิเดชันของ oxymyoglobin สีแดงไปเป็น metmyoglobin สีน้ำตาลในระหว่างการเก็บรักษา ทำให้ค่าสีแดงในกลุ่ม control ลดลง

ค่าสีเหลือง (yellowness : b*) เมื่อทำการเปรียบเทียบของแต่ละกลุ่มในวันที่ 0 พบว่า กลุ่ม Control, 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO มีค่าเท่ากับ 20.35, 21.42 และ 20.65 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 และ 6 วัน และที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2 และ 3 เดือน พบว่า ค่าสีเหลืองไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) เมื่อเก็บรักษาระยะเวลาที่นานขึ้น

ตารางที่ 4.8 ค่าความสว่าง (L*) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	กลุ่มการทดลอง			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	47.16 ± 0.82 ^{a,A}	47.47 ± 1.00 ^{a,A}	47.95 ± 1.39 ^{a,A}	47.60 ± 1.19 ^{a,A}
	วันที่ 3	44.46 ± 0.38 ^{c,B}	45.74 ± 0.32 ^{a,B}	45.04 ± 0.60 ^{b,B}	44.61 ± 0.09 ^{bc,B}
	วันที่ 6	43.15 ± 0.55 ^{a,B}	43.02 ± 0.62 ^{a,C}	45.01 ± 0.33 ^{a,B}	43.58 ± 1.59 ^{a,B}
-18 °C	เดือนที่ 0	47.16 ± 0.63 ^{a,A}	47.47 ± 0.24 ^{a,A}	47.95 ± 0.08 ^{a,A}	47.60 ± 1.17 ^{a,A}
	เดือนที่ 1	43.38 ± 0.13 ^{a,B}	44.06 ± 0.58 ^{a,B}	43.65 ± 0.72 ^{a,B}	44.42 ± 1.16 ^{a,B}
	เดือนที่ 2	43.15 ± 0.69 ^{a,B}	43.19 ± 0.74 ^{a,B}	42.84 ± 0.20 ^{a,B}	42.95 ± 0.80 ^{a,B}
	เดือนที่ 3	44.54 ± 0.90 ^{a,B}	43.60 ± 1.21 ^{a,B}	43.95 ± 1.27 ^{a,B}	44.39 ± 0.36 ^{a,B}

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกกงา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำการทดลอง

^{a-c} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

^{A-B} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ตารางที่ 4.9 ค่าสีแดง (a*) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	กลุ่มการทดลอง			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	8.78 ± 0.07 ^{a,A}	8.76 ± 0.53 ^{a,A}	8.62 ± 0.48 ^{a,B}	8.84 ± 2.16 ^{a,A}
	วันที่ 3	8.77 ± 1.73 ^{a,A}	8.52 ± 2.03 ^{a,A}	8.49 ± 0.25 ^{a,B}	7.91 ± 1.84 ^{a,A}
	วันที่ 6	10.08 ± 0.52 ^{a,A}	9.97 ± 0.64 ^{a,A}	9.83 ± 0.46 ^{a,A}	10.14 ± 0.21 ^{a,A}
-18 °C	เดือนที่ 0	9.11 ± 0.07 ^{a,A}	9.19 ± 0.34 ^{a,A}	8.60 ± 0.47 ^{a,A}	8.84 ± 2.16 ^{a,A}
	เดือนที่ 1	7.69 ± 0.50 ^{a,B}	7.90 ± 1.04 ^{a,A}	7.84 ± 1.08 ^{a,A}	8.12 ± 1.44 ^{a,A}
	เดือนที่ 2	8.00 ± 0.01 ^{a,B}	8.12 ± 0.31 ^{a,A}	7.89 ± 0.39 ^{a,A}	7.57 ± 0.09 ^{a,A}
	เดือนที่ 3	7.63 ± 0.65 ^{a,B}	8.02 ± 0.66 ^{a,A}	7.68 ± 0.28 ^{a,A}	7.84 ± 0.54 ^{a,A}

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกกงา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำการทดลอง

^a คือ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแถวเดียวกัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05)

^{A-B} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ตารางที่ 4.10 ค่าสีเหลือง (b*) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	กลุ่มการทดลอง			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	20.35 ± 0.23 ^{a,A}	21.02 ± 0.95 ^{a,A}	21.42 ± 0.98 ^{a,A}	20.65 ± 0.24 ^{a,A}
	วันที่ 3	19.70 ± 0.21 ^{a,A}	19.99 ± 1.09 ^{a,A}	20.74 ± 2.08 ^{a,A}	20.54 ± 1.56 ^{a,A}
	วันที่ 6	19.72 ± 1.37 ^{a,A}	20.06 ± 0.23 ^{a,A}	21.68 ± 1.34 ^{a,A}	19.09 ± 1.65 ^{a,A}
-18 °C	เดือนที่ 0	20.35 ± 0.23 ^{a,A}	21.02 ± 0.95 ^{a,A}	21.42 ± 0.98 ^{a,A}	20.65 ± 0.24 ^{a,A}
	เดือนที่ 1	20.92 ± 0.76 ^{a,A}	21.79 ± 0.70 ^{a,A}	22.23 ± 1.62 ^{a,A}	20.94 ± 2.37 ^{a,A}
	เดือนที่ 2	20.27 ± 0.14 ^{a,A}	21.03 ± 0.14 ^{a,A}	21.24 ± 0.71 ^{a,A}	20.22 ± 1.10 ^{a,A}
	เดือนที่ 3	19.93 ± 0.97 ^{a,A}	20.96 ± 1.45 ^{a,A}	20.11 ± 0.28 ^{a,A}	20.38 ± 0.84 ^{a,A}

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกกงา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำการทดลอง

^a คือ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแถวเดียวกัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05)

^A คือ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05)

2) ค่าความสดใส (Chroma) และ องศาของสี (Hue angle)

การวิเคราะห์ค่าความสดใส เป็นค่าบ่งบอกสีของผลิตภัณฑ์ โดยค่าเข้าใกล้ 0 ผลิตภัณฑ์มีสีซีด (เทา) และค่าเข้าใกล้ 60 ผลิตภัณฑ์มีสีเข้ม และองศาของสี เป็นค่าบ่งบอกเฉดสีของผลิตภัณฑ์ ซึ่งมีค่า 0 – 360 โดยแต่ละองศา มีค่าแตกต่างกัน (ภาคผนวก ค) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3 และ 6 วัน และ ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Control 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO ดังแสดงในตารางที่ 4.11 และ 4.12 เมื่อเปรียบเทียบกันของแต่ละกลุ่มในวันที่ 0 พบว่า กลุ่ม Control, 1% BHT, 1% SCE และ 1% CSO มีค่าความสดใสเท่ากับ 22.51, 22.83, 23.61 และ 22.08 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และค่าองศาของสีเท่ากับ 66.87, 67.61, 67.68 และ 66.53 ตามลำดับ ($P > 0.05$) ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 และ 6 วัน และภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน พบว่า ระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น ค่าความสดใสและองศาสีไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$)

4.3.2.2 คุณภาพทางด้านเคมี

1) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

การวิเคราะห์คุณภาพค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3 และ 6 วัน และ ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Control, 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO ดังแสดงในตารางที่ 4.12 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มการทดลองภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0, 3 และ 6 พบว่า ค่า pH ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ในเดือนที่ 1, 2 และ 3 พบว่า เมื่อเปรียบเทียบกันในแต่ละกลุ่มการทดลองค่า pH ไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น พบว่า ค่า pH ไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) โดย ผุสดี ดังวัชรินทร์. (2558) กล่าวว่า ค่า pH ของอาหารขึ้นอยู่กับความสามารถในการแตกตัวให้โปรตอน (H^+) เมื่อละลายน้ำ อาหารที่แตกตัวให้ H^+ มาก จะมีค่า pH ต่ำ อาหารประเภทนี้จุลินทรีย์จะเจริญได้ไม่ดี ในขณะที่อาหารที่แตกตัวให้ H^+ น้อย จะมีค่า pH สูง จุลินทรีย์เจริญได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับ Jayawardana *et al.* (2015) ที่รายงานว่า ค่า pH ต่ำช่วยให้อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น เนื่องจากการลดลงของจุลินทรีย์ และ Elhadi *et al.* (2016) ได้รายงานว่า การลดลงหรือเพิ่มขึ้นของค่า pH มีผลต่ออายุการเก็บรักษา เนื่องจากเกิดการยับยั้งหรือการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ตารางที่ 4.11 ค่าความสดใส (chroma) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	กลุ่มการทดลอง			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	22.51 ± 0.23 ^{a,A}	22.83 ± 1.01 ^{a,A}	23.61 ± 1.75 ^{a,A}	22.08 ± 1.36 ^{a,A}
	วันที่ 3	21.60 ± 0.90 ^{a,A}	21.78 ± 1.80 ^{a,A}	22.20 ± 2.62 ^{a,A}	22.05 ± 2.12 ^{a,A}
	วันที่ 6	22.17 ± 1.44 ^{a,A}	21.66 ± 0.60 ^{a,A}	22.53 ± 0.27 ^{a,A}	21.81 ± 1.38 ^{a,A}
-18 °C	เดือนที่ 0	22.51 ± 0.23 ^{a,A}	22.83 ± 1.01 ^{a,A}	23.61 ± 1.75 ^{a,A}	22.08 ± 1.36 ^{a,A}
	เดือนที่ 1	22.30 ± 0.89 ^{a,A}	23.81 ± 1.63 ^{a,A}	23.59 ± 1.89 ^{a,A}	22.47 ± 2.73 ^{a,A}
	เดือนที่ 2	21.61 ± 0.09 ^{a,A}	22.26 ± 0.16 ^{a,A}	22.33 ± 0.53 ^{a,A}	21.61 ± 0.99 ^{a,A}
	เดือนที่ 3	21.39 ± 0.67 ^{a,A}	22.46 ± 1.58 ^{a,A}	21.38 ± 0.30 ^{a,A}	21.84 ± 0.98 ^{a,A}

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกกงา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำการทดลอง

^a คือ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแถวเดียวกัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05)

^A คือ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05)

ตารางที่ 4.12 ค่าองศาของสี (hue angle) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	กลุ่มการทดลอง			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	66.87 ± 0.69 ^{a,A}	67.61 ± 0.09 ^{a,A}	67.68 ± 1.83 ^{a,A}	66.53 ± 4.65 ^{a,A}
	วันที่ 3	66.07 ± 4.04 ^{a,A}	67.27 ± 3.86 ^{a,A}	67.98 ± 2.10 ^{a,A}	67.93 ± 1.83 ^{a,A}
	วันที่ 6	64.71 ± 1.32 ^{a,A}	64.32 ± 0.63 ^{a,A}	64.53 ± 0.18 ^{a,A}	64.49 ± 0.37 ^{a,A}
-18 °C	เดือนที่ 0	66.87 ± 0.69 ^{a,A}	67.61 ± 0.09 ^{a,A}	67.68 ± 1.83 ^{a,A}	66.53 ± 4.65 ^{a,A}
	เดือนที่ 1	67.16 ± 0.94 ^{a,A}	68.23 ± 1.04 ^{a,A}	69.41 ± 1.56 ^{a,A}	68.30 ± 2.18 ^{a,A}
	เดือนที่ 2	68.42 ± 0.70 ^{a,A}	68.57 ± 0.45 ^{a,A}	69.65 ± 0.38 ^{a,A}	69.72 ± 0.94 ^{a,A}
	เดือนที่ 3	68.34 ± 2.90 ^{a,A}	69.49 ± 0.73 ^{a,A}	69.99 ± 0.39 ^{a,A}	69.33 ± 0.76 ^{a,A}

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกกงา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำการทดลอง

^a คือ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแถวเดียวกัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

^A คือ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 4.13 ค่าความเป็นกรด-ด่างในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	5.85 ± 0.05 ^{a,A}	5.84 ± 0.07 ^{a,A}	5.81 ± 0.05 ^{a,A}	5.88 ± 0.11 ^{a,A}
	วันที่ 3	5.81 ± 0.02 ^{a,A}	5.83 ± 0.10 ^{a,A}	5.80 ± 0.09 ^{a,A}	5.84 ± 0.10 ^{a,A}
	วันที่ 6	5.73 ± 0.08 ^{a,A}	5.72 ± 0.15 ^{a,A}	5.82 ± 0.03 ^{a,A}	5.79 ± 0.05 ^{a,A}
-18 °C	เดือนที่ 0	5.85 ± 0.05 ^{a,A}	5.84 ± 0.07 ^{a,A}	5.81 ± 0.05 ^{a,A}	5.88 ± 0.11 ^{a,A}
	เดือนที่ 1	5.87 ± 0.11 ^{a,A}	5.85 ± 0.04 ^{a,A}	5.82 ± 0.10 ^{a,A}	5.81 ± 0.09 ^{a,A}
	เดือนที่ 2	5.90 ± 0.08 ^{a,A}	5.93 ± 0.06 ^{a,A}	5.86 ± 0.05 ^{a,A}	5.91 ± 0.10 ^{a,A}
	เดือนที่ 3	5.81 ± 0.09 ^{a,A}	5.82 ± 0.06 ^{a,A}	5.80 ± 0.06 ^{a,A}	5.85 ± 0.12 ^{a,A}

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกกงา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำการทดลอง

^a คือ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแถวเดียวกัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05)

^A คือ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05)

2) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด โดยวิธี DPPH

การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 0, 3 และ 6 วัน และ ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Control, 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO ดังแสดงในตารางที่ 4.14 เมื่อเปรียบเทียบแต่ละกลุ่มภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0 พบว่า กลุ่มที่เสริม 1% SCE มีค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 39.04 % ($P < 0.05$) ซึ่งสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม 0.01% BHT, 1% CSO และ Control มีค่าเท่ากับ 31.98, 30.81 และ 30.80 % ตามลำดับ ($P > 0.05$) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 และ 6 วัน และภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน พบว่า กลุ่มที่เสริม 1% SCE ยังคงมีค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shamurad *et al.* (2019) ที่ระบุว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากงาขึ้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่เสริมเข้าไป โดยสารสกัดบริสุทธิ์จะมีประสิทธิภาพมากกว่า BHT นอกจากนี้ Suja *et al.* (2005) รายงานว่า SCE ประกอบด้วย sesamol, sesamin, sesamolin, sesaminol diglucoside และ sesaminol triglucoside ที่สามารถเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้กับผู้บริโภคที่ต่อต้านการใช้สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชันที่เกิดจากกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยการทดสอบอนุมูลอิสระ DPPH นั้นอาศัยกลไกการถ่ายโอนอิเล็กตรอนเดี่ยวและกลไกการถ่ายโอนไฮโดรเจนอะตอม ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรมีสีม่วง เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระจากสีม่วงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยทั่วไปความสามารถในการลดอนุมูลอิสระ DPPH จะถูกกำหนดโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร (Kenair *et al.* 2014)

3) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด โดยวิธี ABTS

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 0, 3 และ 6 วัน และภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Control, 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO ดังแสดงในตารางที่ 4.15 เมื่อเปรียบเทียบแต่ละกลุ่มภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0 พบว่า กลุ่มที่เสริม 1% SCE มีค่าการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 43.88 % ($P < 0.05$) ซึ่งสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม 0.01% BHT, 1% CSO และ Control มีค่าเท่ากับ 38.51, 37.75 และ 37.27 % ตามลำดับ ($P > 0.05$) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 และ 6 วัน และภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน

พบว่า กลุ่มที่เสริม 1% SCE ยังคงมีค่าการต้านอนุมูลอิสระ ABTS สูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แม้ว่าอนุมูลอิสระ DPPH จะถูกใช้อย่างแพร่หลายในการประเมินกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพในผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ แต่เมื่อมีปัญหาการละลายหรือมีการรบกวนเกิดขึ้น ABTS•+ ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระสีเขียวมักจะถูกใช้ในการกำจัดอนุมูลอิสระของโปรตอนเป็นคุณสมบัติสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ ABTS•+ ที่มีโปรตอนที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 734 นาโนเมตร ซึ่งค่าจะลดลง (มีสีเขียวจางลง) ด้วยการกำจัดอนุมูลอิสระของโปรตอน (Mohdaly *et al.* 2010)

4) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด โดยวิธี reducing power

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี reducing power ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3 และ 6 วัน และภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Control, 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO ดังแสดงในตารางที่ 4.16 เมื่อเปรียบเทียบแต่ละกลุ่มภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0 พบว่า กลุ่มที่เสริม 1% SCE มีค่าการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 0.244 ($P < 0.05$) ซึ่งสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม 1% CSO, 0.01% BHT และ Control มีค่าเท่ากับ 0.231, 0.218 และ 0.210 ตามลำดับ ($P > 0.05$) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 และ 6 วัน พบว่ากลุ่ม Control และ 0.01% BHT มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) แต่กลุ่ม 1% SCE และ 1% CSO มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน ($P < 0.05$) และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2 และ 3 เดือน พบว่า กลุ่มที่เสริม 1% SCE ยังคงมีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Shamurad *et al.* (2019) รายงานว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี reducing power จะสูงขึ้นตามปริมาณที่เพิ่มขึ้นของสารสกัด ซึ่งสอดคล้องกับ Xie *et al.* (2012) ที่รายงานหาว่า ความเข้มข้นของสารสกัดเป็นปัจจัยสำคัญในการเสริมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดย reducing power เป็นวิธีที่ใช้วัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารอนุมูลอิสระ โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะกำจัดไอออนของ ferric (Fe^{3+}) ที่มีสีเหลือง เปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ ferrous (Fe^{2+}) เป็นสีเขียว ซึ่งการวัดค่ากิจกรรมของ reducing power จะวัดจากการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร (Reshma *et al.* 2012)

ตารางที่ 4.14 การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	% การยับยั้ง			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	30.80 ± 0.62 ^{b,A}	31.98 ± 0.01 ^{b,A}	39.04 ± 1.47 ^{a,A}	30.81 ± 0.48 ^{b,A}
	วันที่ 3	23.84 ± 0.99 ^{b,B}	23.55 ± 1.14 ^{b,B}	30.57 ± 1.82 ^{a,B}	23.93 ± 2.33 ^{b,B}
	วันที่ 6	20.04 ± 2.43 ^{c,C}	21.60 ± 2.43 ^{b,B}	28.41 ± 2.76 ^{a,B}	21.13 ± 2.53 ^{b,C}
-18 °C	เดือนที่ 0	30.80 ± 0.62 ^{b,A}	31.98 ± 0.01 ^{b,A}	39.04 ± 1.47 ^{a,A}	30.81 ± 0.48 ^{b,A}
	เดือนที่ 1	26.86 ± 1.45 ^{b,B}	26.37 ± 3.34 ^{b,B}	32.14 ± 1.06 ^{a,B}	26.27 ± 1.41 ^{b,B}
	เดือนที่ 2	25.58 ± 0.23 ^{ab,B}	24.34 ± 1.42 ^{b,BC}	27.05 ± 2.35 ^{a,C}	23.68 ± 1.23 ^{b,C}
	เดือนที่ 3	18.34 ± 2.82 ^{b,C}	21.07 ± 2.64 ^{a,C}	21.13 ± 1.17 ^{a,D}	19.35 ± 0.16 ^{ab,D}

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกกงา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำการทดลอง

^{a-c} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

^{A-C} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ตารางที่ 4.15 การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	% การยับยั้ง			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	37.27 ± 1.66 ^{b,A}	38.51 ± 0.97 ^{b,A}	43.88 ± 2.00 ^{a,A}	37.75 ± 1.01 ^{b,A}
	วันที่ 3	35.41 ± 1.13 ^{c,A}	34.47 ± 2.07 ^{c,B}	43.50 ± 2.80 ^{a,A}	37.41 ± 2.09 ^{b,A}
	วันที่ 6	35.75 ± 0.34 ^{b,A}	35.10 ± 1.38 ^{b,B}	40.37 ± 1.11 ^{a,A}	35.64 ± 3.43 ^{b,A}
-18 °C	เดือนที่ 0	37.27 ± 1.66 ^{b,B}	38.51 ± 0.97 ^{b,A}	43.88 ± 2.00 ^{a,A}	37.75 ± 1.01 ^{b,B}
	เดือนที่ 1	41.64 ± 0.25 ^{bc,A}	40.39 ± 1.46 ^{c,A}	46.86 ± 1.30 ^{a,A}	42.50 ± 0.73 ^{b,A}
	เดือนที่ 2	40.79 ± 1.31 ^{b,A}	38.84 ± 0.46 ^{b,A}	45.27 ± 0.20 ^{a,A}	40.24 ± 0.91 ^{b,A}
	เดือนที่ 3	35.15 ± 0.76 ^{b,B}	33.61 ± 2.75 ^{b,B}	37.76 ± 1.82 ^{a,B}	34.19 ± 1.78 ^{b,C}

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกกงา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำการทดลอง

^{a-b} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

^{A-C} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ตารางที่ 4.16 การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี reducing power ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	0.210 ± 0.02 ^{c,A}	0.218 ± 0.02 ^{bc,A}	0.244 ± 0.02 ^{a,A}	0.231 ± 0.01 ^{b,A}
	วันที่ 3	0.199 ± 0.03 ^{a,A}	0.207 ± 0.02 ^{a,A}	0.213 ± 0.03 ^{a,B}	0.204 ± 0.02 ^{a,B}
	วันที่ 6	0.202 ± 0.01 ^{b,A}	0.205 ± 0.01 ^{ab,A}	0.220 ± 0.02 ^{a,B}	0.208 ± 0.01 ^{ab,AB}
-18 °C	เดือนที่ 0	0.210 ± 0.02 ^{c,A}	0.218 ± 0.02 ^{bc,A}	0.244 ± 0.02 ^{a,A}	0.231 ± 0.01 ^{b,A}
	เดือนที่ 1	0.186 ± 0.00 ^{b,B}	0.182 ± 0.01 ^{b,B}	0.209 ± 0.01 ^{a,B}	0.190 ± 0.01 ^{b,B}
	เดือนที่ 2	0.177 ± 0.00 ^{b,B}	0.178 ± 0.01 ^{b,B}	0.203 ± 0.00 ^{a,B}	0.184 ± 0.01 ^{b,B}
	เดือนที่ 3	0.184 ± 0.00 ^{b,B}	0.183 ± 0.01 ^{b,B}	0.206 ± 0.00 ^{a,B}	0.190 ± 0.00 ^{b,B}

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกกางา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำการทดลอง

^{a-c} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

^{A-B} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

5) การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด (Total Phenolic Compound)

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3 และ 6 วัน และภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Control, 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO ดังแสดงในตารางที่ 4.17 เมื่อเปรียบเทียบแต่ละกลุ่มภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่ากลุ่มที่เสริม 1% SCE มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด เท่ากับ 58.12 mg GAE/100 g ($P < 0.05$) รองลงมาคือ กลุ่ม 1% CSO มีค่าเท่ากับ 51.70 mg GAE/100 g ($P < 0.01$) ซึ่งกลุ่ม 0.01% BHT และ Control มีค่าเท่ากับ 42.78 และ 41.88 mg GAE/100 g ตามลำดับ ($P > 0.05$) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 และ 6 วัน และภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน พบว่า กลุ่มที่เสริม 1% SCE ยังคงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบสำคัญของพืชที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารสกัดที่ได้จากพืชและผลไม้สะท้อนให้เห็นถึงความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่มีประสิทธิภาพเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไปยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในอาหาร (Falowo *et al.* 2014) โดย Boeira *et al.* (2018) รายงานว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในผักผลไม้และสมุนไพร มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ ยาต้านจุลชีพและต้านมะเร็ง นอกจากนี้ ยังสามารถลดความเสี่ยงต่อการเสียชีวิตที่เกิดจากโรคหัวใจและหลอดเลือดได้อีกด้วย

6) ทดสอบการออกซิเดชันของไขมันในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรด้วยเทคนิค TBARs

การวิเคราะห์การออกซิเดชันของไขมันในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3 และ 6 วัน และภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Control, 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO ดังแสดงในตารางที่ 4.18 พบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มการทดลองภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0 ค่าการออกซิเดชันของไขมันในกลุ่ม 1% SCE, 1% CSO, 0.01% BHT และ Control มีค่าเท่ากับ 0.303, 0.297, 0.284 และ 0.282 mg MDA/kg sample ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 และ 6 วัน พบว่า กลุ่ม 0.01% BHT มีค่าการออกซิเดชันน้อยที่สุดในขณะที่กลุ่ม 1% CSO มีค่าการออกซิเดชันมากที่สุด เท่ากับ 0.353 mg MDA/kg sample และภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เมื่อ

เปรียบเทียบกันในแต่ละกลุ่มการทดลองของเดือนที่ 1 พบว่า ค่าการออกซิเดชันของไขมัน ไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) และระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นในเดือนที่ 2 และ 3 พบว่า ในกลุ่ม 0.01% BHT มีค่าการออกซิเดชันน้อยที่สุด ($P < 0.05$) ในทางกลับกัน กลุ่ม 1% CSO มีค่าการออกซิเดชันของไขมันเพิ่มขึ้นมากที่สุด เนื่องจากมีองค์ประกอบของไขมันที่มีผลไปเร่งให้เกิดกระบวนการออกซิเดชันจะเห็นได้ว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นมีผลทำให้ค่าการออกซิเดชันเพิ่มขึ้นตามไปด้วย (Mariem *et al.* 2014)

Mason *et al.* 2006 และ Sojić *et al.* 2019 กล่าวว่า ระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการหืนของเนื้อสัตว์มีข้อจำกัดคือระดับของ MDA ไม่เกิน 0.5 mg MDA/kg sample ด้วยการทดสอบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบชิมที่ได้รับการฝึกฝน และ Alakali *et al.* 2010 รายงานว่า ระดับของ MDA ไม่เกิน 1 mg MDA/kg sample สามารถยอมรับทางประสาทสัมผัสได้ โดย Allen และ Cornforth. (2010) ได้รายงานว่ สารประกอบฟีนอลิกสามารถยับยั้งกระบวนการออกซิเดชันได้ โดยทำหน้าที่เป็น scavenger เพื่อยับยั้งการเกิดออกซิเดชันและการสร้างอนุมูลอิสระ ซึ่งสอดคล้องกับ Gallo *et al.* (2012) และ Kim *et al.* (2013) ที่กล่าวว่า สารต้านอนุมูลอิสระที่เสริมเข้าไปในผลิตภัณฑ์สามารถทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระ เพราะสามารถไปยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดกลิ่นหืนและชะลอการสูญเสียของรสชาติได้

ตารางที่ 4.17 การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยการหาปริมาณฟีนอลิกรวมทั้งหมด ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	ปริมาณฟีนอลิกรวมทั้งหมด (mg GAE/100 g)			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	41.88 ± 2.93 ^{c,A}	42.78 ± 1.61 ^{c,A}	58.12 ± 2.78 ^{a,A}	51.70 ± 1.73 ^{b,A}
	วันที่ 3	40.99 ± 2.45 ^{a,A}	39.11 ± 2.04 ^{b,A}	48.42 ± 3.85 ^{a,B}	38.96 ± 2.56 ^{b,B}
	วันที่ 6	34.12 ± 1.04 ^{b,B}	34.39 ± 3.22 ^{b,B}	43.29 ± 4.58 ^{a,C}	36.72 ± 1.13 ^{b,B}
-18 °C	เดือนที่ 0	41.88 ± 2.93 ^{c,A}	42.78 ± 1.61 ^{c,A}	58.12 ± 2.78 ^{a,A}	51.70 ± 1.73 ^{b,A}
	เดือนที่ 1	36.21 ± 1.49 ^{b,B}	34.57 ± 1.43 ^{b,B}	43.97 ± 0.10 ^{a,B}	36.69 ± 2.46 ^{b,B}
	เดือนที่ 2	32.33 ± 2.66 ^{b,B}	34.03 ± 1.63 ^{b,B}	44.54 ± 0.16 ^{a,B}	37.65 ± 4.08 ^{b,B}
	เดือนที่ 3	34.06 ± 1.49 ^{b,B}	32.84 ± 2.41 ^{b,B}	42.24 ± 1.91 ^{a,B}	34.54 ± 0.77 ^{b,B}

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกกางา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำการทดลอง

^{a-c} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

^{A-B} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ตารางที่ 4.18 การออกซิเดชันของไขมัน (TBARs ; mg MDA/kg sample) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	mg MDA/kg sample			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	0.282 ± 0.06 ^{a,B}	0.284 ± 0.06 ^{a,A}	0.303 ± 0.05 ^{a,A}	0.297 ± 0.05 ^{a,A}
	วันที่ 3	0.319 ± 0.05 ^{a,A}	0.290 ± 0.03 ^{a,A}	0.299 ± 0.03 ^{a,A}	0.336 ± 0.06 ^{a,A}
	วันที่ 6	0.314 ± 0.04 ^{a,A}	0.304 ± 0.06 ^{a,A}	0.326 ± 0.05 ^{a,A}	0.353 ± 0.05 ^{a,A}
-18 °C	เดือนที่ 0	0.282 ± 0.06 ^{a,B}	0.284 ± 0.06 ^{a,AB}	0.303 ± 0.05 ^{a,B}	0.297 ± 0.05 ^{a,B}
	เดือนที่ 1	0.260 ± 0.02 ^{a,B}	0.248 ± 0.03 ^{a,B}	0.283 ± 0.01 ^{a,B}	0.290 ± 0.01 ^{a,B}
	เดือนที่ 2	0.330 ± 0.02 ^{ab,AB}	0.310 ± 0.02 ^{b,AB}	0.319 ± 0.00 ^{b,B}	0.344 ± 0.01 ^{a,B}
	เดือนที่ 3	0.388 ± 0.02 ^{ab,A}	0.367 ± 0.05 ^{b,A}	0.382 ± 0.06 ^{ab,A}	0.451 ± 0.05 ^{a,A}

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกกางา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำการทดลอง

^a คือ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแถวเดียวกัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05)

^{a-B} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

7) วิเคราะห์อะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรที่เสริมสารสกัดจากกากงา

การตรวจสอบอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรที่เสริมสารสกัดจากกากงา ก่อนนำไปให้ผู้บริโภคทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยส่งตัวอย่างไปตรวจที่บริษัท ศูนย์ห้องปฏิบัติการและวิจัยทางการแพทย์และการเกษตรแห่งเอเชีย จำกัด ด้วยวิธี TM-CH-008 based on AOAC official Methods of Analysis, 19th ed., 2012, method 991.31 ในการตรวจ พบว่า ไม่พบสารพิษอะฟลาทอกซินทุกชนิด ($\mu\text{g}/\text{kg}$) ดังแสดงในตารางที่ 4.19 (ภาคผนวก ฉ) โดย บดินทร์ บุตรอินทร์ (2555) กล่าวว่า ประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศแบบร้อนชื้น จึงมีสถานะอากาศ และสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารและวัตถุดิบต่าง ๆ ในการประกอบอาหาร เช่น อาหารจำพวกแป้ง ผลิตภัณฑ์จากพืช เครื่องเทศและสมุนไพรต่าง ๆ เป็นต้น เกิดเชื้อราได้โดยเฉพาะเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* ที่มีสีเขียว หรือสีเขียวแกมเหลือง เป็นเชื้อราที่สร้างสารอะฟลาทอกซิน (Aflatoxin) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในระดับที่ร้ายแรง เนื่องจากปริมาณของอะฟลาทอกซินเพียง 1 ไมโครกรัม สามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในแบคทีเรียและทำให้เกิดมะเร็งในสัตว์ทดลองได้หากได้รับอย่างต่อเนื่อง และกองเภสัชกรรม (2559) รายงานว่า ในปี พ.ศ. 2540 องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้กำหนดให้มีการควบคุมระดับการปนเปื้อนของสารพิษนี้ในอาหาร ซึ่งทางกระทรวงสาธารณสุขของไทยได้ประกาศกำหนดให้สารอะฟลาทอกซินปนเปื้อนในอาหารได้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมอาหารเท่านั้น

ตารางที่ 4.19 อะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรที่เสริมสารสกัดจากกากงา

ตัวอย่าง	ผลการทดสอบ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)				Total Aflatoxin (B1, B2, G1, G2)
	Aflatoxin B1	Aflatoxin B2	Aflatoxin G1	Aflatoxin G1	
ไส้กรอกสด ทอดมันมะกรูด (กลุ่มควบคุม)	ND	ND	ND	ND	ND
ไส้กรอกสด ทอดมันมะกรูด (เสริมสารสกัด จากกากงา 1%)	ND	ND	ND	ND	ND

ND = Not Detected

4.3.2.3 คุณภาพทางด้านชีวภาพ

1) วิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์รวม (Total Plate Count)

จากการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์รวมทั้งหมดของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตั้งที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3 และ 6 วัน และ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Control, 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO ดังแสดงในตารางที่ 4.20 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองที่อุณหภูมิตั้งที่ 4 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0 พบว่า จำนวนจุลินทรีย์รวมทั้งหมด มีค่าเท่ากับ 6.17, 6.13, 5.98 และ 6.01 log CFU/g ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นเป็นเวลา 3 และ 6 วัน พบว่า ในกลุ่ม Control, 0.01% BHT และ 1% SCE มีจำนวนจุลินทรีย์รวมทั้งหมดไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ในขณะที่กลุ่ม 1% CSO มีจำนวนจุลินทรีย์รวมทั้งหมดเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองที่อุณหภูมิตั้งที่ -18 องศาเซลเซียส ในเดือนที่ 1 พบว่า กลุ่ม Control, 0.01 % BHT และ 1% CSO มีจำนวนจุลินทรีย์รวมทั้งหมดไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ในขณะที่กลุ่ม 1% SCE มีจำนวนจุลินทรีย์รวมเพิ่มขึ้นมากที่สุด ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และในเดือนที่ 2 และ 3 พบว่า กลุ่ม Control, 0.01 % BHT, 1% SCE และ 1% CSO มีจำนวนจุลินทรีย์รวมทั้งหมดไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2560) ได้กำหนดไว้ว่า อาหารดิบที่ยังบริโภคไม่ได้ ต้องผ่านการปรุงสุกหรือการเตรียมด้วยกรรมวิธีใด ๆ ก่อนบริโภค ต้องมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมน้อยกว่า 5×10^6 CFU/g และ Sharma *et al.* (2017) กล่าวว่า เชื้อจุลินทรีย์รวมอนุญาตให้พบได้ไม่เกิน 1×10^7 CFU/g ในผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์สด

2) วิเคราะห์ Coliforms และ *Escherichia coli*

จำนวนเชื้อโคลิฟอร์มในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตั้งที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3 และ 6 วัน และ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Control, 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO ดังแสดงในตารางที่ 4.21 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองที่อุณหภูมิตั้งที่ 4 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0 พบว่า จำนวนเชื้อโคลิฟอร์มมีค่าเท่ากับ 5.09, 5.05, 5.04 และ 4.99 log CFU/g ตามลำดับ และในวันที่ 3 มีจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มมีค่าเท่ากับ 4.82, 4.79, 4.82 และ 4.90 log CFU/g ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) ในขณะที่วันที่ 6 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่ม พบว่า กลุ่ม 0.01 % BHT มีจำนวนเชื้อโคลิฟอร์ม เท่ากับ 4.67 log CFU/g ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองที่อุณหภูมิตั้งที่ -18 องศาเซลเซียส ในเดือนที่ 1, 2 และ 3 พบว่า มีจำนวนเชื้อโคลิฟอร์ม

ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) แบคทีเรียโคลิฟอร์มมักตรวจพบในอาหาร เช่น เนื้อสัตว์ อาหารพร้อมรับประทาน และอาจปนเปื้อนมากับพืชผักต่าง ๆ หรืออยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารที่ไม่มีสุขลักษณะในการผลิต อัตราการเจริญของโคลิฟอร์มนั้นรวดเร็วในช่วงอุณหภูมิกว้างตั้งแต่อุณหภูมิต่ำถึงปานกลาง เมื่อจำนวนของโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนในอาหารเจริญในระดับหนึ่ง จะผลิตกรดไขมันที่ทำให้อาหารผิดปกติแล้วจำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์มจะลดลง ซึ่งถือได้ว่าเป็นตัวบ่งชี้คุณภาพของอาหารที่บ่งบอกถึงความสะอาด (Tominaga, 2019)

จำนวนเชื้อ *E.coli* ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3 และ 6 วัน และ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Control, 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO ผลการวิเคราะห์ไม่พบเชื้อ *E. coli* ดังแสดงในตารางที่ 4.21

3) วิเคราะห์ *Staphylococcus aureus*

จากการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3 และ 6 วัน และ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Control, 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO ผลการวิเคราะห์ไม่พบเชื้อ *S. aureus* ดังแสดงในตารางที่ 4.22 โดย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2560) ได้กำหนดไว้ว่าอาหารดิบที่ยังบริโภคไม่ได้ ต้องผ่านการปรุงสุกหรือการเตรียมด้วยกรรมวิธีใด ๆ ก่อนบริโภค ต้องมีจำนวนเชื้อ *S. aureus* น้อยกว่า 100 CFU/g

4) วิเคราะห์ *Salmonella* spp.

การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3 และ 6 วัน และ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Control, 0.01% BHT, 1% SCE และ 1% CSO ผลการวิเคราะห์ไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ดังแสดงในตารางที่ 4.23 โดย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2560) ได้กำหนดไว้ว่าอาหารดิบที่ยังบริโภคไม่ได้ ต้องผ่านการปรุงสุกหรือการเตรียมด้วยกรรมวิธีใด ๆ ก่อนบริโภค ต้องตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่าง 25 กรัม

ตารางที่ 4.20 จำนวนจุลินทรีย์รวม (Total Plate Count) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	จำนวนเชื้อ (log CFU/g)			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	6.17 ± 0.19 ^{a,A}	6.13 ± 0.13 ^{a,A}	5.98 ± 0.07 ^{a,A}	6.01 ± 0.09 ^{a,B}
	วันที่ 3	6.10 ± 0.08 ^{a,A}	5.99 ± 0.09 ^{a,A}	5.93 ± 0.21 ^{a,A}	6.10 ± 0.10 ^{a,B}
	วันที่ 6	6.69 ± 0.52 ^{a,A}	6.56 ± 0.54 ^{a,A}	6.71 ± 0.55 ^{a,A}	7.01 ± 0.35 ^{a,A}
-18 °C	เดือนที่ 0	6.17 ± 0.19 ^{a,A}	6.13 ± 0.13 ^{a,A}	5.98 ± 0.07 ^{a,A}	6.01 ± 0.09 ^{a,A}
	เดือนที่ 1	5.96 ± 0.26 ^{ab,A}	5.84 ± 0.17 ^{b,AB}	6.11 ± 0.28 ^{a,A}	5.97 ± 0.28 ^{ab,A}
	เดือนที่ 2	5.98 ± 0.32 ^{a,A}	5.55 ± 0.43 ^{a,B}	5.61 ± 0.53 ^{a,A}	5.95 ± 0.04 ^{a,A}
	เดือนที่ 3	6.02 ± 0.21 ^{a,A}	5.96 ± 0.01 ^{a,AB}	5.90 ± 0.11 ^{a,A}	5.90 ± 0.06 ^{a,A}

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกกงา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำการทดลอง

^{a-b} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

^{A-B} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ตารางที่ 4.21 จำนวนเชื้อ Coliforms ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	จำนวนเชื้อ (log CFU/g)			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	5.09 ± 0.87 ^{a,A}	5.05 ± 1.07 ^{a,A}	5.04 ± 0.94 ^{a,A}	4.99 ± 0.92 ^{a,A}
	วันที่ 3	4.82 ± 0.43 ^{a,A}	4.79 ± 0.70 ^{a,A}	4.82 ± 0.54 ^{a,A}	4.90 ± 0.66 ^{a,A}
	วันที่ 6	4.78 ± 0.49 ^{a,A}	4.67 ± 0.52 ^{b,A}	4.72 ± 0.55 ^{ab,A}	4.72 ± 0.48 ^{ab,A}
-18 °C	เดือนที่ 0	5.09 ± 0.87 ^{a,A}	5.05 ± 1.07 ^{a,A}	5.04 ± 0.94 ^{a,A}	4.99 ± 0.92 ^{a,A}
	เดือนที่ 1	4.69 ± 0.75 ^{a,AB}	4.41 ± 0.64 ^{a,AB}	4.47 ± 0.55 ^{a,AB}	4.43 ± 0.51 ^{a,AB}
	เดือนที่ 2	4.07 ± 0.26 ^{a,B}	4.01 ± 0.28 ^{a,B}	3.96 ± 0.22 ^{a,B}	4.07 ± 0.10 ^{a,B}
	เดือนที่ 3	4.23 ± 0.47 ^{a,AB}	3.99 ± 0.31 ^{a,B}	4.01 ± 0.13 ^{a,B}	4.00 ± 0.11 ^{a,B}

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกกงา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

± คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำการทดลอง

^{a-b} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

^{A-B} คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ตารางที่ 4.22 จำนวนเชื้อ *Escherichia coli* ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	จำนวนเชื้อ (log CFU/g)			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	<1	<1	<1	<1
	วันที่ 3	<1	<1	<1	<1
	วันที่ 6	<1	<1	<1	<1
-18 °C	เดือนที่ 0	<1	<1	<1	<1
	เดือนที่ 1	<1	<1	<1	<1
	เดือนที่ 2	<1	<1	<1	<1
	เดือนที่ 3	<1	<1	<1	<1

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกากงา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

<1 = น้อยกว่า 1 CFU/g (ต่ำกว่าระดับที่ตรวจนับได้)

ตารางที่ 4.23 จำนวนเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	จำนวนเชื้อ (log CFU/g)			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	<1	<1	<1	<1
	วันที่ 3	<1	<1	<1	<1
	วันที่ 6	<1	<1	<1	<1
-18 °C	เดือนที่ 0	<1	<1	<1	<1
	เดือนที่ 1	<1	<1	<1	<1
	เดือนที่ 2	<1	<1	<1	<1
	เดือนที่ 3	<1	<1	<1	<1

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกกงา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

<1 = น้อยกว่า 1 CFU/g (ต่ำกว่าระดับที่ตรวจนับได้)

ตารางที่ 4.24 จำนวนเชื้อ *Salmonella* spp. ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา	จำนวนเชื้อ (log CFU/g)			
		Control	0.01% BHT	1% SCE	1% CSO
4 °C	วันที่ 0	ND	ND	ND	ND
	วันที่ 3	ND	ND	ND	ND
	วันที่ 6	ND	ND	ND	ND
-18 °C	เดือนที่ 0	ND	ND	ND	ND
	เดือนที่ 1	ND	ND	ND	ND
	เดือนที่ 2	ND	ND	ND	ND
	เดือนที่ 3	ND	ND	ND	ND

Control คือ ไส้กรอกสดสมุนไพร

SCE คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมสารสกัดจากกกงา

CSO คือ ไส้กรอกสดสมุนไพรเสริมน้ำมันงาเชิงการค้า

ND (Not Detected) = ตรวจไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 การศึกษาการเลือกใช้เครื่องเทศที่เหมาะสมในการผลิตไส้กรอกสดสมุนไพรในผลิตภัณฑ์ปรุงสุกและไม่ปรุงสุก จำนวน 15 สูตร ผู้บริโภคมีแนวโน้มชอบ (คะแนนอยู่ในช่วงชอบถึงชอบมาก) โดยให้คะแนนความพึงพอใจโดยรวมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดไม่ปรุงสุก ได้แก่ สูตรไส้กรอกสดลาบสมุนไพรและไส้กรอกสดเหลืองขมิ้น และในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดปรุงสุก ได้แก่ สูตรไส้กรอกสดทอดมันมะกรูดมากที่สุด

5.1.2 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกใน SCE และ CSO พบว่า SCE มีสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่า CSO และการทดสอบคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของ SCE และ CSO ด้วยวิธี DPPH, ABTS และ reducing power โดยเปรียบเทียบกับ BHT และ α -tocopherol พบว่า α -tocopherol มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมาคือ BHT, SCE และ CSO ตามลำดับ เมื่อนำ SCE ไปทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรค

5.1.3 การนำ 1% SCE และ 1% CSO ไปใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร พบว่า ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เสริม 1% SCE มีสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด รองลงมาคือ กลุ่มที่เสริม 1% CSO และ 0.01% BHT และกลุ่มที่เสริม 1% SCE มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 และ 6 วันและที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2 และ 3 เดือนมีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลง และการต้านออกซิเดชันของไขมันเมื่อเก็บรักษาไว้เวลานานทำให้เกิดค่าการออกซิเดชันของไขมันได้มาก อย่างไรก็ตาม พบว่ากลุ่มที่เสริม 0.01% BHT มีแนวโน้มชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ดีที่สุดในทางกลับกันกลุ่มที่เสริม 1% CSO มีแนวโน้มการเกิดกลิ่นหืนได้มากที่สุด และการศึกษาด้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกทั้ง 4 กลุ่มตรวจไม่พบเชื้อก่อโรคที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสามารถนำสารสกัดจากกากงามาใช้ทดแทนสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การทำทดลองที่เกี่ยวข้องกับอาหารต้องเป็นไปตามหลักของ GMP คือเลือกใช้วัตถุดิบ สถานที่ และเครื่องมือในการผลิตที่สะอาด ผู้ปฏิบัติล้างมือให้สะอาดก่อนปฏิบัติงานทุกครั้ง จึงจะสามารถผลิตอาหารได้อย่างปลอดภัย

5.2.2 จากการศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดในการเสริมสารสกัดจากกากงาลงในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร คือ ถ้าใช้ในปริมาณที่มาก จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติขม จึงควรนำไปศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ

5.2.3 กากงาที่นำมาสกัดต้องทำการตรวจสอบการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซินก่อน เพื่อให้แน่ใจว่าจะไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค

บรรณานุกรม

- กนกวรรณ จารุกัจฉา วิไลดา สนิทร และชรินญา พิมพ์สอน. 2557. “ความสัมพันธ์ของภาวะเครียด ออกซิเดชั่นและภาวะไขมันในเลือดสูง.” วารสารพิษวิทยาไทย. 29(1-2) : 57 - 69.
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2560. **เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3**. กรุงเทพฯ: บริษัท พิทู ดีไซน์ แอนด์ พรินท์ จำกัด.
- กองส่งเสริมและพัฒนาปศุสัตว์. 2555. การใช้ประโยชน์จากเนื้อโค. [ออนไลน์]. http://extension.dld.go.th/th1/index.php?option=com_content&view=article&id=208:2012-03-12-07-00-08&catid=49:2012-03-05-10-24-38&Itemid=40. [สืบค้นวันที่ 12 เมษายน 2561]
- กองเภสัชกรรม. 2559. “ข่าวสาร ด้านยาและผลิตภัณฑ์สุขภาพ.” **สำนักอนามัย กรุงเทพมหานคร. 5** : (172)
- กาญจนา บันสิทธิ์ และธีระพล บันสิทธิ์. 2557. “คุณค่าของกากงาดำดิบ.” **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 16(2) : 42 - 57.**
- กิตติพัฒน์ ไสภิตธรรมคุณ และปานทิพย์ รัตนศิลป์ภัทลชาญ. 2560. “การสกัดและวิธีวัดความสามารถ การต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร.” **วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. 3(1) : 86 - 94.**
- กัษมาพร ปัญตะบุตร. 2555. “งา ธัญพืชเพื่อสุขภาพ.” **Food. 42(4) : 297 - 301.**
- คมแข พิลาสมบัติ. 2559. **จุลชีววิทยาเนื้อสัตว์**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ห้างหุ้นส่วน จำกัด มิน เซอร์วิส ซัพพลาย.
- เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหนาม. 2554. “อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา.” **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี. 1(1) : 59 - 70.**
- ณภัช พิมพ์ดี. 2560. สารละลาย (solution). [ออนไลน์]. <https://www.scimath.org/lesson-chemistry/item/7077-solution>. [สืบค้นวันที่ 15 ธันวาคม 2562]
- ดวงกมล เรือนงาม. 2557. “การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ.” **วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. 23(2) : 120 - 139.**
- ทรงยศ ดันพิพัฒน์. 2529. **พืชน้ำมัน**. กรุงเทพมหานคร : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- บดินทร์ บุตรอินทร์. 2555. “สารพิษจากเชื้อรา: อะฟลาท็อกซิน.” **วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่. 45(2) : 1 - 8.**

- ประสงค์ เทียนบุญ. 2553. “บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระกับสุขภาพ.” วารสารคลินิกอาหารและโภชนาการ. 4(2) : 69 - 76.
- นิจศิริ เรืองรังสี. 2542. เครื่องเทศ. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นิธิยา รัตนาปนนท์. 2548. วิทยาศาสตร์การอาหารและไขมัน. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพมหานคร.
- บังอร ศรีพานิชกุลชัย นาถธิดา วีระปรียาภูร และแคทริยา สุทธานุช. 2546. รายงานผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในเมล็ดงา กากงา และน้ำมันงาที่ได้จากกระบวนการบดอัดเย็น. ใน รายงานของศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ. คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- บุหรัน พันธุ์สุวรรณค์. 2556. “อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ.” วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 21(3) : 275 - 286.
- ศุสดี ตั้งวัชรินทร์. 2558. จุลินทรีย์ในเนื้อและผลิตภัณฑ์ในเนื้อ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ห้างหุ้นส่วนจำกัด มิน เซอร์วิส ซัพพลาย.
- พิทยา สรวมศิริ. 2551. อุตสาหกรรมพืชเครื่องเทศ. พิมพ์ครั้งที่ 3. เชียงใหญ่ : วนิดาเพลส.
- รัตนา บรรเจิดพงษ์ชัย. 2545. “แอนติออกซิเดนท์และกลไกการป้องกัน.” เชียงใหม่เวชสาร. 41(2) : 101 - 108.
- สุชาดา มานอก และปวีณา ลี้มเจริญ. 2558. “การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหอมเทพจิตร.” ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์. 15(1) : 106 - 117.
- สภาเภสัชกรรม. 2560. “ประโยชน์ของวิตามินในทางการแพทย์.” วงการยา. 1 - 8.
- ศรมน สุทิน. 2559. “วิตามินกับอนุมูลอิสระ.” วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. 2(1) : 80 - 92.
- ศศิธร จารุสมบัติ. 2545. พืชน้ำมัน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : งานตำราและเอกสารการพิมพ์คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม.
- ศานิต สวัสดิกาญจน์. 2558. พืชน้ำมัน: งา. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร. โรงพิมพ์ โอ. เอส. พรินต์ติ้ง เฮ้าส์.
- ศัลยา คงสมบูรณ์เวช. 2547. “Sesamin and health.” วารสารโภชนบำบัด. 15(2) : 98 - 105.
- ศุภลักษณ์ สรภักดี. 2561. ส่วนผสมและวัตถุดิบอาหารในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ห้างหุ้นส่วนจำกัด มิน เซอร์วิส ซัพพลาย.
- ออมฤทัย มั่นนุช และมงคล ภาคสุวรรณ. มปป. น้ำมันงาสกัดเย็น กล่องความรู้กินได้. วิทยาลัยชุมชนแม่ฮ่องสอน. กรุงเทพมหานคร.

- อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์. 2556. **งา การผลิต การปรับปรุงพันธุ์ และการแปรรูป**. พิมพ์ครั้งที่ 1. อุดรราชธานี : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยอุดรราชธานี.
- อรุณ จันทร์คำ และกาญจนา วงศ์กระจ่าง. 2560. “สารสกัดสมุนไพรไทยต่อการต้านมะเร็งและต้านอนุมูลอิสระ.” **วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 9(9) : 112 - 122.
- อนงนาฏ ไพนุพงศ์. 2560. “อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระกับสุขภาพ.” **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต**. 1(2) : 20 - 27.
- อชิป สกุกเผือก. 2559. **อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ**. คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- Ahmed, T., Shittu, L. A. J., Bankole, M. A., Shittu, R. K., Adesanya, O. A., Bankole, M. N. and Ashiru, O. 2009. “Comparative studies of the crude extracts of sesame against some common pathogenic microorganisms.” **Scientific Research and Essay**. 4(6) : 584 - 589.
- Allen, K. and Cornforth, D. 2010. “Comparison of spice-derived antioxidants and metal chelators on fresh beef color stability.” **Meat Science**. 85 : 613 - 619.
- AOAC 2005. Official Methods of Analysis. 18th ed. Microbiological Methods No.966.23. Maryland. USA. 252 p.
- AOAC. 2006. AOAC Official Methods: Chapter 17. In Horwitz, W. & Latimer, G.W. Official methods of analysis of AOAC international. Maryland. USA.
- Alakali, J. S. Irtwange, S. V. and Mzer, M. T. 2010. “Quality evaluation of beef patties formulated with bambara groundnut (*Vigna subterranean* L.) seed flour.” **Meat Science**. 85 : 215 - 223.
- Amaral, A. B., Silva, M. V. and Lannes, S. C. S. 2018. “Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors – a review.” **Food Science and Technology Campinas**. 38(1) : 1 - 15.
- Atta, E. M., Mohamed, N. H. and Abdelgawad, A. A. M. 2017. “Antioxidants: an overview on the natural and synthetic types.” **European Chemical Bulletin**. 6(8) : 365 - 375.
- Anitakumar, K. R., Pal, A., Khanum, F. and Bawa, A. S. 2010. “Nutritional, medicinal and industrial uses of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds - An Overview.” **Agriculturae Conspectus Scientificus**. 75(4) : 159 - 168.
- Alam, M. N., Bristi, N. J. and Rafiquzzaman, Md. 2013. “Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity.” **Saudi Pharmaceutical Journal**. 21 : 143 - 152.

- Baraki, F., Tsehaye, Y. and Abay, F. 2019. "Grain Yield Performance and Stability Analysis of Sesame (*Sesamum indicum* L.) Genotypes in Western Tigray, Ethiopia." **Journal of Experimental Agriculture International**. 29(6) : 1 - 9.
- Benítez, R. and Ortega-Bonilla, R. A. 2016. "Comparison of two sesame oil extraction methods: percolation and pressed." **Bioteconología en el Sector Agropecuario**. 14(1) : 10 - 18.
- Boruzi, A. I. and Nour, V. 2019. "Walnut (*Juglans regia* L.) leaf powder as a natural antioxidant in cooked pork patties." **CyTA-Journal of Food**. 17(1) : 431 - 438.
- Boeira, C. P., Piovesan, N., Soquetta, M. B., Flores, D. C. B., Lucas, B. N., Severo da Rosa, C. and Terra, N. N. 2018. "Extraction of bioactive compounds of lemongrass, antioxidant activity and evaluation of antimicrobial activity in fresh chicken sausage." **Food Technology**. 48(11) : 1 - 8.
- Buenaventura, A. A., Arradaza, A. A., Cassion, M.B.V., Daling, R.D. and Galeon, P.L. 2016. "Antioxidant and antibacterial effects of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil in frozen raw pork sausage." **Journal of Scientific Research and Development**. 3(5) : 172 - 177.
- Chen, Y., Zhang, R., Liu, C., Zheng, X. and Liu, B. 2016. "Enhancing antioxidant activity and antiproliferation of wheat bran through steam flash explosion." **Journal of Food Science and Technology**. 53(7) : 3028 - 3034.
- Chohan, M., Wilkins, G. F. and Opara, E. I. 2008. "Determination of the antioxidant capacity of culinary herbs subjected to various cooking and storage processes using the ABTS^{*+} radical cation assay." **Plant Foods for Human Nutrition**. 63 : 47 - 52.
- Changtam, C. 2015. "Usefulness and various biological activities of *Curcuma longa* L." **Huachiew Chalermprakiet Science and Technology Journal**. 1(2) : 94 - 109.
- Chomsawan, B., Thanasarn, T., Waiyaka, P. and Jaikla, S. 2018. "Antioxidant and Biological Activities of *Arisia polycephala* Wall." **Kasalongkham Research Journal**. 1 - 10.
- Djenidi, H., Khennouf, S. and Bouaziz, A. 2019. "Antioxidant activity and phenolic content of commonly consumed fruits and vegetables in Algeria." **Progress in Nutrition**. 21(2) : 1 - 12.
- Díaz, P., Linares, M. B., Egea, M., Auqui, S. M. and Garrido, M. D. 2014. "TBARs distillation method: Revision to minimize the interference from yellow pigments in meat products." **Meat Science**. 98 : 569 - 573.

- Embuscado, M. E. 2015. "Spices and herbs: Natural sources of antioxidants - a mini review." **Journal of functional foods.** 18 : 811 - 819.
- Elhadi, D. A. E., Elgasim, E. A. and Ahmed, I. A. M. 2016. "Microbial and oxidation characteristics of refrigerated chicken patty incorporated with moringa (*Moringa oleifera*) leaf powder." **CyTA-Journal of Food.** 15(2) : 234 - 240.
- Elleuch, M., Bedigian, D. and Zitoun, A. 2011. "Chapter 122-Sesame (*Sesamum indicum* L.) Seeds in Food, Nutrition, and Health." **Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention.** 1029 - 1036.
- Falowo, A. B., Fayemi, P. O. and Muchenje, O. 2014. "Natural antioxidants against lipid–protein oxidative deterioration in meat and meat products: a review." **Food Research International.** 64 : 171 - 181.
- FDA-BAM. 2007. Bacteriological analytical manual, *Salmonella*. Chapter, pp: 5, December. 2007 edition.
- FDA-BAM. 2016. Bacteriological analytical manual, *Staphylococcus aureus*. Chapter 12, March 2016 edition.
- Gallego, M., Mora, L., Escudero, E. and Toldrá, F. 2018. "Bioactive peptides and free amino acids profiles in different types of European dry-fermented sausages." **International Journal of Food Microbiology.** 276 : 71 - 78.
- Gadri, Y., Williams, L. E. and Peleg, Z. 2019. "Tradeoffs between yield components promote crop stability in sesame." **Plant Science.** 1 - 7.
- Gallo, M., Ferracane, R. and Naviglio, D. 2012. "Antioxidant addition to prevent lipid and protein oxidation in chicken meat mixed with supercritical extracts of *Echinacea angustifolia*." **The Journal of Supercritical Fluids.** 72 : 198 - 204.
- Geremew, T., Adugna, W., Muez, B. and Hagos, T. 2012. "Sesame production manual." **Ethiopian Institute of Agricultural Research.** 1 - 46.
- Hawashin, M. D., Al-Juhaimi, F., Ahmed, I. A. M., Ghaffoor, K. and Babiker, E. E. 2016. "Physicochemical, microbiological and sensory evaluation of beef patties incorporated with destoned olive cake powder." **Meat Science.** 122 : 32 - 39.
- Hegde, D. M. 2012. "Sesame" In **Handbook of Herbs and Spices (Second Edition)**. Washington, England.

- Hugo, C.G. and Hugo, A. 2015. "Current trends in natural preservatives for fresh sausage products." **Trends in Food Science & Technology**. 45 : 12 - 23.
- Hwang, L. S. 2005. "Chapter 12 Sesame oil." In **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. New Jersey. Canada.
- Hussain, S.M., Hameed, A., Ajmal, I., Nosheen, S., Suleria, H. A. R. and Son, Y. 2018. "Effects of sesame seed extract as a natural antioxidant on the oxidative stability of sunflower oil." **The Journal of Food Science and Technology**. 55(10) : 4099 - 4110.
- İLYASOĞLU, H. 2014. "Antioxidant effect of rosehip seed powder in raw and cooked meatballs during refrigerated storage." **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**. 38 : 73 - 76.
- Jaisut, N., Teerarak, M., Ngamyeesoon, N. and Pilasombut, K. 2018. "Comparison of antioxidant properties in different herbal fresh sausages." **International Journal of Agricultural Technology**. 14(7) : 1267 - 1278.
- Jeong, S. M., Kim, S. Y., Kim, D. R., Nam, K. C., Ahn, D. U. and Lee, S. C. 2004. "Effect of seed roasting conditions on the antioxidant activity of defatted sesame meal extracts." **Journal of Food Science**. 69(5) : 377 - 381.
- Jung, S., Choe, J. H., Kim, B., Yun, H., Kruk, Z. A. and Jo, C. 2010. "Effect of dietary mixture of gallic acid and linoleic acid on antioxidative potential and quality of breast meat from broilers." **Meat Science**. 86 : 520 - 526.
- Jayawardana, B. C., Liyanage, R., Lalantha, N., Iddamalgoda, S. and Weththasinghe, P. 2015. "Antioxidant and antimicrobial activity of drumstick (*Moringa oleifera*) leaves in herbal chicken sausages." **Food Science and Technology**. 64(2) : 1204 - 1208.
- Joshi, M. 2012. **Textbook of Field Crops Revised Edition**. Raj Press. New Delhi.
- Kapadia., J. 2016. Take A Trip Around the World In 80 Sausages. [online]. <https://www.Foodrepublic.com/2016/11/04/take-a-trip-around-the-world-in-80-sausages/>. [6 August 2019]
- Kehrer, J. P. and Klotz, L. O. 2015. "Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease:implications for Health." **Critical Reviews in Toxicology**. 45(9) : 765 - 798.
- Kenari, R. E., Mohsenzadeh, F. and Amiri, Z. R. 2014. "Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-assisted extraction methods." **Food Science and Nutrition**. 2(4) : 426 - 435.

- Kim, S. J., Cho, A. R. and Han, J. 2013. "Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation." **Food Control**. 29 : 112 - 120.
- Kulkarni, S., DeSantos, F. A., Kattamuri, S., Rossi, S. J. and Brewer, M. S. 2011. "Effect of grape seed extract on oxidative, color and sensory stability of a pre-cooked, frozen, re-heated beef sausage model system." **Meat Science**. 88 : 139 - 144.
- Kugo, H., Miyamoto, C., Sawaragi, A., Hoshino, K., Hamatani, Y., Matsumura, S., Yoshioka, Y., Moriyama, T. and Zaima, N. 2019. "Sesame extract attenuates the degradation of collagen and elastin fibers in the vascular walls of nicotine-administered mice." **Journal of Oleo Science**. 68(1) : 79 - 85.
- Lee, K. A., Min, K. Y., Lee, N. K., Chang, K. H., Cho, S.C., Chung, W. D. and Paik, H. D. 2017. "Antioxidant activity of sesame cake extracts obtaining using various ethanol extraction conditions." **Korean Journal of Food Science and Technology**. 49(3) : 338 - 342.
- Lieu, H. K. and Dang, T. Q. 2015. "Effect of black and white sesame cake extracts on retarding lipid oxidation in catfish fat." **Journal of Food and Nutrition Sciences**. 3(1-2) : 39 - 44.
- Liu, D.C., Tsau, R.T., Lin, Y.C., Jan, S.S. and Tan, F.J. 2009. "Effect of various levels of rosemary or Chinese mahogany on the quality of fresh chicken sausage during refrigerated storage." **Food Chemistry**. 117 : 106 - 113.
- Mason, L., Hogan, S., Lynch, A. M., O'Sullivan, K., Lawlor, P. and Keery, J. 2006. "Quality characteristics of cured ham produced from Landrace and Duroc pigs fed restricted energy diets with and without α -tocopheryl acetate or green tea catechins." **Animal Research**. 55 : 323 - 333.
- Min, B. and Ahn, D. U. 2005. "Mechanism of Lipid Peroxidation in Meat and Meat Products -A Review." **The Food Science and Biotechnology**. 14(1) : 152 - 163.
- Mariem, C., Sameh, M., Nadhema, S., Soumaya, Z. Najiba, Z. and Raoudha, G.E. 2014. "Antioxidant and antimicrobial properties of the extracts from *Nitrariaretusa* fruits and their applications to meat product preservation." **Industrial Crops and Products**. 55 : 295 - 303.
- Mancini, S., Preziuso, G., Bosco, A.D., Roscini, V., Szendrő, Z., Fratini, F. and Paci, G. 2015. "Effect of turmeric powder (*Curcuma longa* L.) and ascorbic acid on physical characteristics and oxidative status of fresh and stored rabbit burgers." **Meat Science**. 110 : 93 - 100.

- Mondal, N. 2012. Single Nucleotide Polymorphism SNP Markers in Sesame to study functional polymorphism of selected economically important traits. [online] : <https://shodhganga.inflibnet.ac.in/handle/10603/11604>. [15 December 2019]
- Mohdaly, A. A. A., Sarhan, M. A., Smetanska, I. and Mahmoud, A. 2010. "Antioxidant properties of various solvent extracts of potato peel, sugar beet pulp and sesame cake." **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 90 : 218 - 226.
- Mohdaly, A. A. A., Smetanska, I., Ramadan, M. F., Sarhanb, M. A. and Mahmoud, A. 2011. "Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils." **Industrial Crops and Products**. 34 : 952 - 959.
- Majdalawieh, A.F., Massri, M. and Nasrallah, G.K. 2017. "A comprehensive review on the anti-cancer properties and mechanisms of action of sesamin, a lignan in sesame seeds *Sesamum indicum*." **European Journal of Pharmacology**. 815 : 512 - 521.
- Nagendra Prasad, M. N., Sanjay, K. R., Deepika, S. P., Vijay, N., Kothari, R. and Nanjunda, S. S. 2012. "A review on nutritional and nutraceutical properties of sesame." **Journal of Nutrition and Food Science**. 2 : 1 - 6.
- Naksungnern, A., Karpkarn, J., Chukiatsiri, K. and Panatuk, J. 2016. "Effects of dietary sesame meal (*Sesamum indicum* L.) supplementation on productive performances and carcass characteristic in broiler." **KHON KAEN Agriculture Journal**. 44(1) : 53 - 57.
- Nalawade, T. M., Bhat, K. G. and Sogi, S. 2016. "Antimicrobial activity of endodontic medicaments and vehicles using agar well diffusion method on facultative and obligate anaerobes." **International Journal of Clinical Pediatric Dentistry**. 9(4) : 335 - 341.
- Najeeb, U., Mirza, M. Y., Jilani, G., Mubashir, A. G. and Zhou, W. J. 2012. "Chapter 5 Sesame." In **Technological Innovations in Major World Oil Crops Volume 1**. Springer New York Dordrecht Heidelberg. London.
- Nascimento, E. M. G. C., Carvalho, C. W. P., Takeiti, C. Y., Freitas, D. D. G. C. and Ascheri, J. L. R. 2012. "Use of sesame oil cake (*Sesamum indicum* L.) on corn expanded extrudates." **Food Research International**. 45 : 434 - 443.
- Nguyen, N. M. P., Le, T. T., Vissenaekens, H., Gonzales, G. B., Camp, J. V., Smagghe, G. and Raes, K. 2019. "*In vitro* antioxidant activity and phenolic profiles of tropical fruit by-products." **International Journal of Food Science and Technology**. 54(4) : 1169 - 1178.

- Onsaard, E., Pomsamud, P. and Audtum, P. 2010. "Functional properties of sesame protein concentrates from sesame meal." **Asian Journal of Food and Agro-Industry**. 3(4) : 420 - 431.
- Ogunsola, O. K. and Fasola, T. R. 2014. "The antibacterial activities of *Sesamum indicum* Linn. Leaf extracts." **Advances in Life Science and Technology**. 18 : 28 - 32.
- Park, J.G., Yoon, Y., Park, J.N., Han, I.J., Song, B.S., Kim, J.H., Kim, W.G., Hwang, H.J., Han, S.B. and Lee, J.W. 2010. "Effects of gamma irradiation and electron beam irradiation on quality, sensory, and bacterial populations in beef sausage patties." **Meat Science** 85 : 368 - 372.
- Pimental, T., Cruz, A. and Deliza, R. (2016). "Sensory evaluation: sensory rating and scoring methods." **The Encyclopedia of Food and Health**. 4 : 744 - 749.
- Reshma, M. V., Namitha, L. K., Sundaresan, A. and Kiran, C. R. 2012. "Total phenol content, antioxidant activities and α -glucosidase inhibition of sesame cake extract." **Journal of Food Biochemistry**. 37 : 723 - 731.
- Savic, I. V. 2011. "Small-scale sausage production." In **FAO Animal Production And Health Paper 52**. Rome. Italy.
- Said, T. M. A., Elgasim, E. A., Eltilib, H. H. A. B. Bekhit, A. E. A., Al-Juhaimi, F. Y. and Ahmed, I. A. M. 2018. "Antioxidant and antimicrobial potentials of Damsissa (*Ambrosia maritima*) leaf powder extract added to minced beef during cold storage." **CyTA-Journal of Food**. 16(1) : 642 - 649.
- Sarma, A. D., Mallick, A. R. and Ghosh, A. K. 2010. "Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview." **International Journal of Pharma Sciences and Research**. 1(3) : 185 - 192.
- Slima, S.B., Ktari, N., Trabelsi, I., Triki, M., Feki-Tounsi, M., Moussa, H., Makni, I., Herrero, A., Jimenez-Colmenero, F., Perez, C.R. and Salah, R.B. 2017. "Effect of partial replacement of nitrite with a novel probiotic *Lactobacillus plantarum* TN8 on color, physico-chemical, texture and microbiological properties of beef sausages." **LWT - Food Science and Technology**. 86 : 219 - 266.
- Šojić, B., Pavlić, B., Zeković, Zoran., Tomović, V., Ikonić, P., Tanackov, S.K. and Džinić, N. 2018. "The effect of essential oil and extract from sage (*Salvia officinalis* L.) herbal dust (food

- industry by-product) on the oxidative and microbiological stability of fresh pork sausages.” **LWT - Food Science and Technology** 89 : 749 - 755.
- Sunil, L., Appaiah, P., Kumar, P. and Krishna, A. G. 2015. “Preparation of food supplements from oilseed cake.” **Journal of Food Science and Technology**. 52 : 2998 - 3005.
- Sharma, H., Mendiratta, S. K., Agarwal, R. K., Kumar, S. and Soni, A. 2017. “Evaluation of antioxidant and anti-microbial activity of various essential oils in fresh chicken sausages.” **Journal of Food Science and Technology**. 54(2) : 279 - 292.
- Sharma, S., Gupta, P., Kumar, A., Ray, J., Aggarwal, B. K., Goya, P. and Sharma, A. 2014. “In vitro evaluation of roots, seeds and leaves of *Sesamum indicum* L. for their potential antibacterial and antioxidant properties.” **African Journal of Biotechnology**. 13(36) : 3692 - 3701.
- Shan, S., Huang, X., Shah, M. H. and Abbasi, A. M. 2019. “Evaluation of polyphenolics content and antioxidant activity in edible wild fruits.” **BioMed Research International**. 1(4) : 1 - 11.
- Sriket, C., Noptana, R., Sriwises, W., Payakkasirinawin, N., Sriket, P., Niwet, J., Tanpichai, C. and Senphan, T. 2018. “Chemical composition and antioxidant activities of black sesame (*Sesamum indicum*) seed pressed-cake.” **Rajabhat Agriculture Journal**. 17(2) : 1 - 11.
- Suleman, M., Khan, A., Baqi, A., Kakar, M. S., Samiullah and Ayub, M. 2019. “Antioxidants, its role in preventing free radicals and infectious diseases in human body.” **Pure and Applied Biology**. 8(1) : 380 - 388.
- Šojić, B., Pavlić, B., Tomović, V., Ikonić, P., Zeković, Z., Kocić-Tanackov, S., Đurović, S., Škaljac, S., Jokanović, M. and Ivić, M. 2019. “Essential oil versus supercritical fluid extracts of winter savory (*Satureja montana* L.) - Assessment of the oxidative, microbiological and sensory quality of fresh pork sausages.” **Food Chemist**. 287 : 280 - 286.
- Schilling, M. W., Pham, A. J., Williams, J. B., Xiong, Y. L., Dhowlaghar, N., Tolentino, A. C. and Kin, S. 2018. “Changes in the physiochemical, microbial, and sensory characteristics of fresh pork sausage containing rosemary and green tea extracts during retail display.” **Meat Science**. 143 : 199 - 209.

- Shamurad, H. Y., Khadom, M. J., Haider, F. A. and Shakir, K. A. 2019. "Evaluation the antioxidant activity of sesame coat and sesame cake extracts." **Iraqi Journal of Agricultural Sciences**. 50(3) : 776 - 782.
- Siramon, P. and Wongsheree, T. 2019. "Ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from *Paederia pilifera* Hook. f. leaves and its antioxidant activity." **Pawarun Agriculture Journal**. 16(1) : 182 - 189.
- Somsri, A., Pilasombut, K., Ngamyeesoon, N. and Rumjuankiat, N. 2017. "Detection and identification of bacterial contamination in meat by matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry." **International Journal of Agricultural Technology**. 13(7.1) : 1487 - 1504.
- Suja, K. P., Jayalekshmy, A. and Arumughan, C. 2005. "*In vitro* studies on antioxidant activity of lignans isolated from sesame cake extract." **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 85(10) : 1779 - 1783.
- Suja, K. P., Abraham, J. T., Thamizh, S. N., Jayalekshmy, A. and Arumughan, C. 2004. "Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection." **Food Chemistry**. 84 : 393 - 400.
- Tominaga, T. 2019. "Rapid detection of coliform bacteria using a lateral flow test strip assay." **Journal of Microbiological Methods**. 160 : 29 - 35.
- USDA. 2013. Sausages and Food Safety. [online] . <https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/meatpreparation/sausages-and-food-safety/ctindex>. [2 December 2018]
- Velasco, V. and Williams, P. 2011. "Improving Meat Quality Through Natural Antioxidants." **Chilean Journal of Agricultural Research**. 71(2) : 313 - 322.
- Xie, J. H., Shen, M. Y., Xie, M. Y., Nie, S. P., Chen, Y., Li, C., Huang, D. F. and Wang, Y. X. 2012. "Ultrasonic-assisted extraction, antimicrobial and antioxidant activities of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja polysaccharides." **Carbohydrate polymers**. 89(1) : 177 - 184.
- Xuan, T. D., Gangqiang, G., Minh, T. N., Quy, T. N. and Khanh, T. D. 2018. "An overview of chemical profiles, antioxidant and antimicrobial activities of commercial vegetable edible oils marketed in japan." **Foods**. 7(21) : 1 - 14.

Zebib, H., Bultosa, G. and Abera, S. 2015. "Physico-chemical properties of sesame (*Sesamum indicum* L.) varieties grown in northern area, Ethiopia." **Agricultural Sciences**. 6 : 238 - 246.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

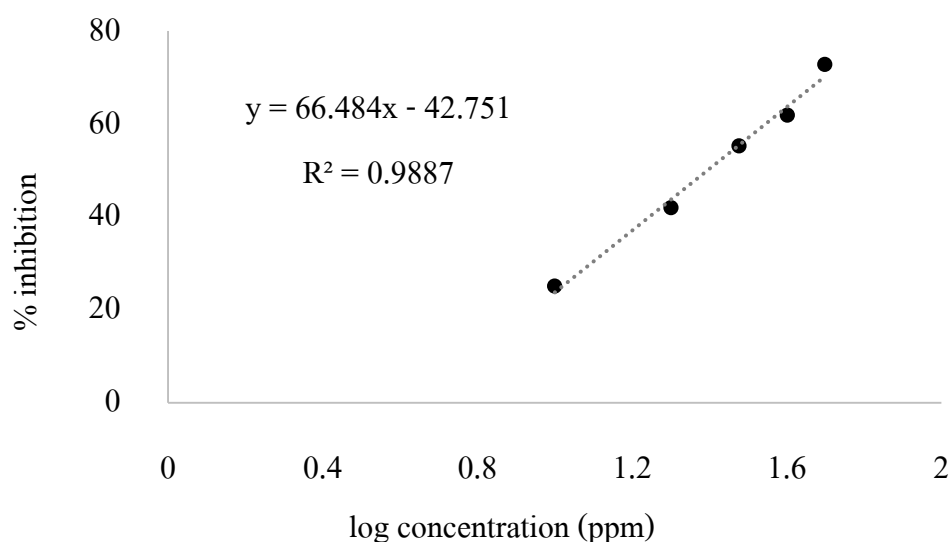
1. การเตรียมสารสำหรับวิเคราะห์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

1.1 สารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่ง DPPH 0.0038 กรัม (0.1 mM) ละลายในเอทานอล 95 % ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วจึงเก็บในที่มืด เตรียมก่อนใช้งานทุกครั้ง

1.2 สารละลายมาตรฐาน butylated hydroxytoluene (BHT) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่ง BHT 0.01 กรัม ละลายในเอทานอล 95 % ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐาน BHT ความเข้มข้น 100 ppm แล้วนำไปเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 50, 40, 30, 20 และ 10 ppm เพื่อทำกราฟมาตรฐาน โดยการสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง \log_{10} ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกน X) กับ % inhibition (แกน Y) คำนวณโดยหาค่า $y = 50$ ลงในสมการกราฟเส้นตรง จะได้ค่า x และ $\text{antilog } x$ เป็นค่า IC_{50}



หาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารที่ต้านอนุมูลอิสระได้ 50%)

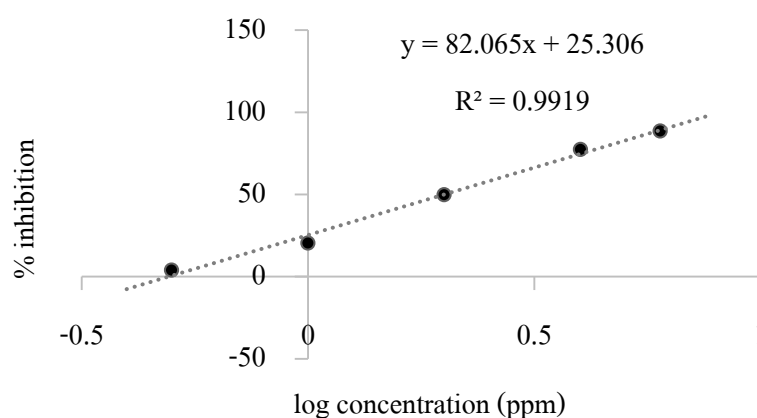
จากกราฟ สมการ $y = 66.484x - 42.751$, $R^2 = 0.9887$

แทนค่า $= (50 + 42.751) / 66.484$

$\text{IC}_{50} = 25.580 \text{ ppm}$

1.3 สารละลายมาตรฐาน α -Tocopherol ปริมาตร 100 มิลลิตร

ดูดสารละลาย α -Tocopherol ละลายในแอลกอฮอล์ 99.9 % ปริมาตร 100 มิลลิตร จะได้สารละลายมาตรฐาน α -Tocopherol ความเข้มข้น 100 ppm แล้วนำไปเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 6, 4, 2, 1 และ 0.50 ppm เพื่อทำกราฟมาตรฐาน โดยการสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง \log_{10} ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกน X) กับ % inhibition (แกน Y) กำหนดโดยค่า $y = 50$ ลงในสมการกราฟเส้นตรง จะได้ค่า x และ $\text{antilog } x$ เป็นค่า IC_{50}



หาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารที่ต้านอนุมูลอิสระได้ 50%)

จากกราฟ สมการ $y = 82.065x + 25.306$, $R^2 = 0.9919$

แทนค่า $= (50 - 25.306)/82.065$

$IC_{50} = 2.04$ ppm

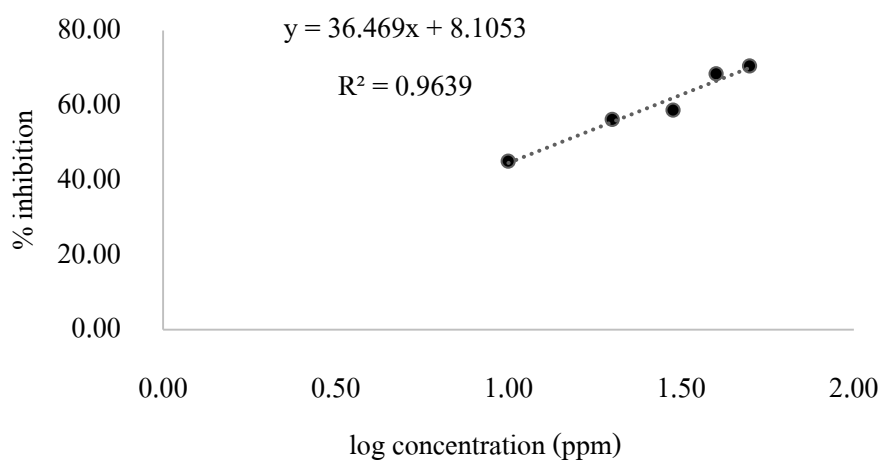
2. การเตรียมสารสำหรับวิเคราะห์ที่ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

2.1 สารละลาย 2, 2' - azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) ปริมาตร 100 ml

ชั่ง ABTS 0.0384 กรัม (7mM) และ potassium persulfate 0.0066 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิตร ไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 12 – 16 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเจือจางด้วยเอทานอล 95% โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ให้ค่าอยู่ในช่วง 0.70 ± 0.02 นาโนเมตร เตรียมก่อนใช้งานทุกครั้ง

2.2 สารละลายมาตรฐาน butylated hydroxytoluene (BHT) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่ง BHT 0.01 กรัม ละลายในเอทานอล 95 % ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐาน BHT ความเข้มข้น 100 ppm แล้วนำไปเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 50, 40, 30, 20 และ 10 ppm เพื่อทำกราฟมาตรฐาน โดยการสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง \log_{10} ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกน X) กับ % inhibition (แกน Y) คำนวณ โดยหาค่า $y = 50$ ลงในสมการกราฟเส้นตรง จะได้ค่า x และ $\text{antilog } x$ เป็นค่า IC_{50}



หาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารที่ต้านอนุมูลอิสระได้ 50%)

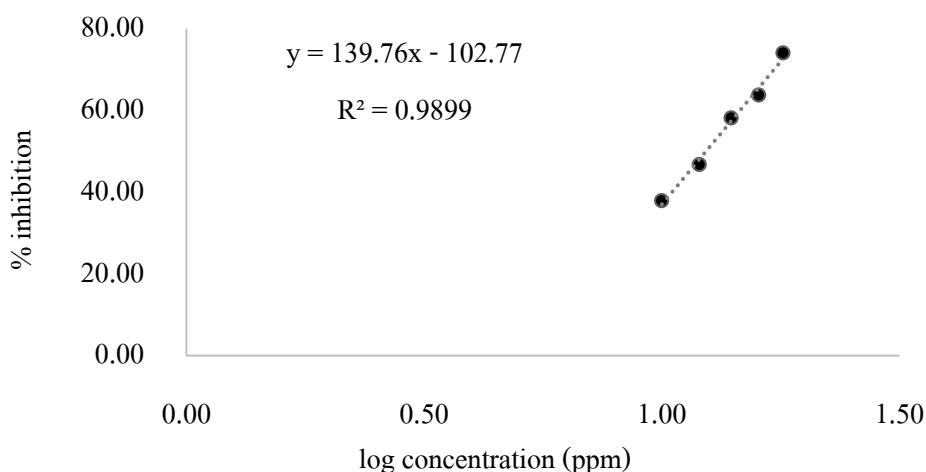
จากกราฟ สมการ $y = 36.469x + 8.1053$, $R^2 = 0.9639$

แทนค่า = $(50 - 8.1053) / 36.469$

$\text{IC}_{50} = 14.19 \text{ ppm}$

2.3 สารละลายมาตรฐาน α -Tocopherol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ดูดสารละลาย α -Tocopherol ละลายในแอลกอฮอล์ 99.9 % ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐาน α -Tocopherol ความเข้มข้น 100 ppm แล้วนำไปเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 6, 4, 2, 1 และ 0.50 ppm เพื่อทำกราฟมาตรฐาน โดยการสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง \log_{10} ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกน X) กับ % inhibition (แกน Y) คำนวณ โดยหาค่า $y = 50$ ลงในสมการกราฟเส้นตรง จะได้ค่า x และ $\text{antilog } x$ เป็นค่า IC_{50}



หาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารที่ต้านอนุมูลอิสระได้ 50%)

จากกราฟ สมการ $y = 139.76x - 102.77$, $R^2 = 0.9899$

แทนค่า $= (50 + 102.77) / 139.76$

$IC_{50} = 12.704$ ppm

3. การเตรียมสารสำหรับวิเคราะห์ที่ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี reducing power

3.1 สารละลาย phosphate buffer (pH 6.6) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

Sodium Dihydrogen Phosphate Anhydrous (NaH_2PO_4) 8.4 กรัม

Di-sodium Hydrogen Orthophosphate (Na_2HPO_4) 5.68 กรัม

ชั่ง NaH_2PO_4 8.4 กรัม (0.1 mM) ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตร 700 มิลลิลิตร และชั่ง Na_2HPO_4 5.68 กรัม (0.1 mM) ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตร 400 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลาย Na_2HPO_4 ปริมาตร 375 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย NaH_2PO_4 625 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย phosphate buffer (pH 6.6) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

3.2 สารละลาย potassium ferricyanide ($K_3Fe(CN)_6$) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งสารละลาย potassium ferricyanide 1 กรัมละลายในสารละลาย phosphate buffer (pH 6.6) ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.3 สารละลาย trichloroacetic (TCA) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

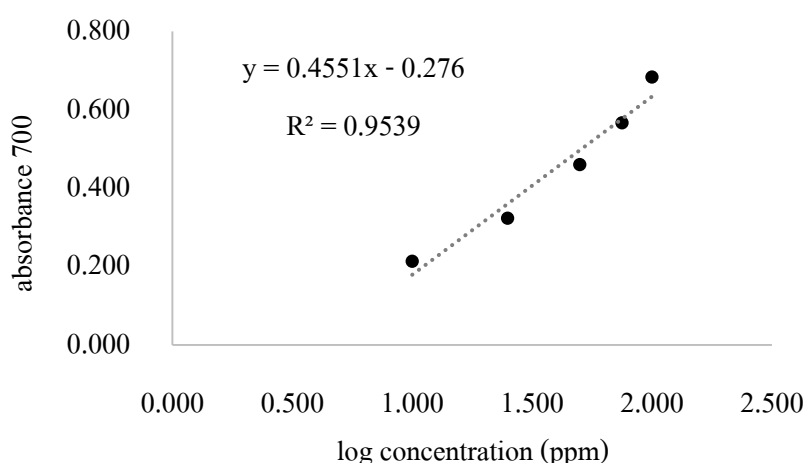
ชั่งสารละลาย trichloroacetic 10 กรัมละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

3.4. trichloroacetate acid, iron (III) chloride (FeCl₃) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่ง trichloroacetic acid 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.5 สารละลายมาตรฐาน butylated hydroxytoluene (BHT) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่ง BHT 0.01 กรัม ละลายในเอทานอล 95% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐาน BHT ความเข้มข้น 100 ppm จากนั้นเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 80, 70, 60, 50 และ 40 ppm เพื่อทำกราฟมาตรฐาน โดยสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง \log_{10} ของความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกน x) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร (แกน y) คำนวณ โดยหาค่า $y = 50$ ลงในสมการกราฟเส้นตรง จะหาได้ค่า x และ $\text{antilog } x$ จะเป็นค่า $EC_{0.5}$



หาค่า $EC_{0.5}$ (ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ 50%)

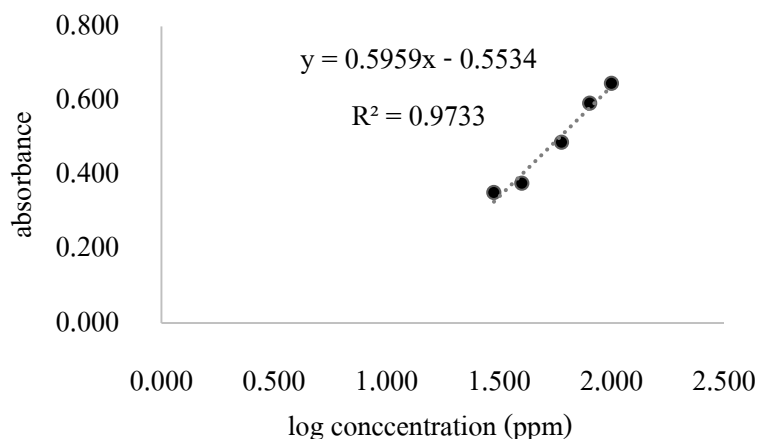
จากกราฟ สมการ $y = 0.4551x - 0.276$, $R^2 = 0.9539$

แทนค่า $= (0.5 + 0.276)/0.4551 = 1.71$

$EC_{0.5} = 51.33$ ppm

3.6 สารละลายมาตรฐาน α -Tocopherol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ดูดสารละลาย α -Tocopherol ละลายในแอลกอฮอล์ 99.9 % ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐาน α -Tocopherol ความเข้มข้น 100 ppm แล้วนำไปเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 6, 4, 2, 1 และ 0.50 ppm เพื่อทำกราฟมาตรฐาน โดยการสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง \log_{10} ของความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกน x) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร (แกน y) คำนวณ โดยหาค่า $y = 50$ ลงในสมการกราฟเส้นตรง จะหาได้ค่า x และ $\text{antilog } x$ จะเป็นค่า EC_{50}



หาค่า $EC_{0.5}$ (ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ 50%)

จากกราฟ สมการ $y = 0.5959x - 0.5534$, $R^2 = 0.9733$

แทนค่า $= (0.5 + 0.5534)/0.5959 = 1.76$

$EC_{0.5} = 58.52$ ppm

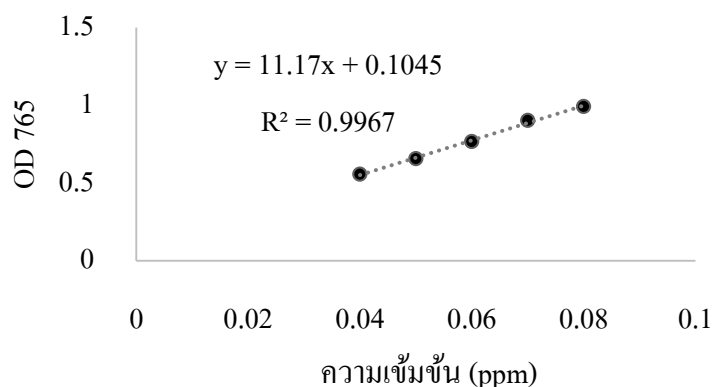
4. การเตรียมสารสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

4.1 สารละลาย sodium carbonate (Na_2CO_3) ปริมาตร 100 ml

ชั่ง sodium carbonate 7.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

4.2 สารละลายมาตรฐาน gallic acid ปริมาตร 100 ml

ชั่ง gallic acid 0.01 g ละลายน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐาน gallic acid ความเข้มข้น 0.1 mg/ml จากนั้นเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 0.08, 0.07, 0.06, 0.05 และ 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อทำกราฟมาตรฐาน โดยสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกน x) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร (แกน y) กำหนดค่าโดยใช้หน่วย mg GAE/100 mg sample



จากกราฟ สมการ $y = 11.17x + 0.1045$ $R = 0.9967$

แทนค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ในสมการ $= (OD - 0.1045)/11.17$

จะได้ $= \textcircled{R}$ mg/tube

จากนั้น ทำการเปรียบเทียบน้ำหนักของตัวอย่าง 100 กรัม

ถ้าตัวอย่าง 0.01 กรัม มี \textcircled{R} mg/tube

ตัวอย่าง 100 กรัม มี $(\textcircled{R} \times 100)/0.01 = \textcircled{C}$ mg GAE/100g sample

5. การเตรียมสารสำหรับวิเคราะห์การออกซิเดชันของไขมัน ด้วยเทคนิค Thiobarbituric acid reactives (TBARs)

5.1 สารละลาย Thiobarbituric acid (TBA) ปริมาตร 100 ml

ชั่งสาร Thiobarbituric acid 0.375 กรัมและชั่ง trichloroacetic acid 15 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นละลายสารโดยใช้เครื่อง magnetic stirrer และผสมกับสาร HCL 0.25 N ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

5.2 สารละลาย butylated hydroxytoluene (BHT) 0.2 % ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

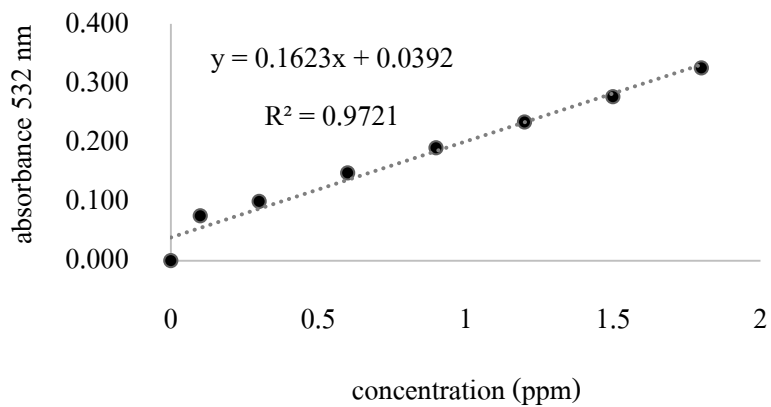
ชั่ง BHT 0.2 กรัม ละลายในเอทานอล 95% และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

5.3 สารละลาย hydrochloric acid (HCL) 5 N ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ปิเปต hydrochloric acid 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

5.4 การเตรียมสารมาตรฐาน malonaldehyde (MDA)

ปีเปต 1, 1, 3, 3-tetraethoxypropane 10.88 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล 95% เป็น 100 มิลลิตร จะได้สาร MDA 100 ppm จากนั้นเจือจางที่ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2, 1.5 และ 1.8 ppm เพื่อทำกราฟมาตรฐาน โดยสร้างกราฟเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกนx) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร (แกนy)



ภาคผนวก ข

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลายเกลือแกง (NaCl) 0.85% ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ชั่ง NaCl 8.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth 8 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker agar (BP) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ BP 50 กรัม และ agar 15 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติม egg yolk solution ปริมาตร 50 ml โดยมีการเตรียมดังนี้

การเตรียม เติม egg yolk solution

1. นำไข่ไก่แช่ฆ่าเชื้อด้วยเอทานอล 70% เป็นเวลา 15 นาที
2. ตอกเปลือกไข่โดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ โดยนำไข่แดงที่ได้ผสมกับสารละลาย NaCl 0.85% อัตราส่วน 3:7 จากนั้นเติม potassium tellurite 1% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

6. อาหารเลี้ยงเชื้อ chromocult coliform agar (CCA) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ CCA 26.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

7. อาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar (PCA) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA 22.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

8. อาหารเลี้ยงเชื้อ tetrathionate broth (TTB) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ TTB 46 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

9. อาหารเลี้ยงเชื้อ selenite cysteine broth (SCB) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ SCB 23 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

10. อาหารเลี้ยงเชื้อ Salmonella-Shigella (SS) agar ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ SS agar 60 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

11. อาหารเลี้ยงเชื้อ xylose lysine deoxycholate (XLD) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD 55 g ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

13. อาหารเลี้ยงเชื้อ Triple sugar iron (TSI) agar ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI 36.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

14. อาหารเลี้ยงเชื้อ lysine-inodole-motility (LIM) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM 68 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ค

การอ่านค่าสี

การวัดระบบสี CIE

1. lightness (L) คือค่าความสว่าง

วัตถุที่วัดจะมีสีขาวเมื่อค่าเข้าใกล้ 100

วัตถุที่วัดจะมีสีดำเมื่อค่าเข้าใกล้ 0

2. redness (a) คือ ค่าสีแดง

วัตถุที่วัดได้มีค่าเป็นบวก หมายถึง วัตถุมีสีแดง

วัตถุที่วัดได้มีค่าเป็นลบ หมายถึง วัตถุมีสีเขียว

3. yellowness (b*) คือค่าสีเหลือง

วัตถุที่วัดได้มีค่าเป็นบวก หมายถึง วัตถุมีสีเหลือง

วัตถุที่วัดได้มีค่าเป็นลบ หมายถึง วัตถุมีสีน้ำเงิน

4. chroma คือ ค่าความสดใส

วัตถุที่วัดได้มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึง วัตถุมีสีซีดจาง (เทา)

วัตถุที่วัดได้มีค่าเข้าใกล้ 60 หมายถึง วัตถุมีสีเข้ม

5. hue angle คือ ค่าเฉดของสี

วัตถุที่วัดได้มีค่า 0-45 หมายถึง วัตถุมีสีม่วงแดงถึงสีส้มแดง

วัตถุที่วัดได้มีค่า 45-90 หมายถึง วัตถุมีสีส้มแดงถึงสีเหลือง

วัตถุที่วัดได้มีค่า 90-135 หมายถึง วัตถุมีสีเหลืองถึงสีเหลืองเขียว

วัตถุที่วัดได้มีค่า 135-180 หมายถึง วัตถุมีสีเหลืองเขียวถึงสีเขียว

วัตถุที่วัดได้มีค่า 180-225 หมายถึง วัตถุมีสีเขียวถึงสีน้ำเงินเขียว

วัตถุที่วัดได้มีค่า 225-270 หมายถึง วัตถุมีสีน้ำเงินเขียวถึงสีน้ำเงิน

วัตถุที่วัดได้มีค่า 270-315 หมายถึง วัตถุมีสีน้ำเงินถึงสีม่วง

วัตถุที่วัดได้มีค่า 315-360 หมายถึง วัตถุมีสีม่วงถึงสีแดง

ภาคผนวก ง

แบบประเมินความพึงพอใจต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร

วันที่.....

แบบสอบถามชุดนี้จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาความพึงพอใจของผู้บริโภคต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร การศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัย
ผู้วิจัยขอขอบคุณทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการตอบแบบสอบถามครั้งนี้

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม

กรุณาทำเครื่องหมาย ในช่อง หน้าข้อความที่ตรงกับความเป็นจริงของท่าน

1. เพศ

ชาย หญิง

2. อายุ

ต่ำกว่า 20 ปี 20 – 35 ปี 36 – 50 ปี
 สูงกว่า 50 ปี

3. รายได้ต่อเดือน


น้อยกว่า 5,000 บาท 5,001 – 15,000 บาท
 15,001 – 25,000 บาท มากกว่า 25,000 บาท


4. อาชีพ

นักเรียน นักศึกษา รับราชการ พนักงานของรัฐ
 บริษัทเอกชน ธุรกิจส่วนตัว
 อื่น ๆ โปรดระบุ.....

5. คุณชอบรับประทานไส้กรอกสดสมุนไพรหรือไม่

ไม่ชอบมาก ไม่ชอบ ไม่ค่อยชอบ เฉยๆ
 ค่อนข้างชอบ ชอบ ชอบมาก

 กรุณาถูปากด้วยน้ำส้มก่อนชิมตัวอย่างแรก

 ก่อนชิมตัวอย่างถัดไป กรุณาทานแครกเกอร์เล็กน้อย ตามด้วยการถูปากด้วยน้ำส้มอีกเล็กน้อย (ท่านสามารถบ้วนทิ้งลงในถ้วยสูงที่เตรียมไว้ให้)

ส่วนที่ 2 กรุณาให้คะแนนระดับความพึงพอใจของท่าน (จาก 1 ถึง 7 คะแนน) ที่มีต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ท่านกำลังทดสอบ ชิมทีละตัวอย่าง โดยกรอกคะแนนลงให้ตรงกับรหัสตัวอย่างในตารางด้านล่าง

คะแนน	ระดับความพึงพอใจ
7	ชอบมากที่สุด
6	ชอบมาก
5	ชอบ
4	เฉยๆ
3	ไม่ชอบ
2	ไม่ชอบมาก
1	ไม่ชอบมากที่สุด

1. ผลิตภัณฑ์ปรุงสุก

ลักษณะ ของผลิตภัณฑ์	คะแนนความพึงพอใจ									
	ชุดที่ 1					ชุดที่ 2				
รหัสตัวอย่าง										
ลักษณะปรากฏ										
กลิ่นรส										
ลักษณะเนื้อสัมผัส										
ความพึงพอใจโดยรวม										

หมายเหตุ

- ลักษณะปรากฏ หมายถึง ความสม่ำเสมอของสี และความสม่ำเสมอของส่วนผสม
- กลิ่นรส หมายถึง กลิ่นรสเครื่องเทศของไส้กรอกสดสมุนไพร
- ลักษณะเนื้อสัมผัส หมายถึง ความนุ่มของไส้กรอกสดสมุนไพร
- ความพึงพอใจโดยรวม หมายถึง ความชอบโดยรวมของไส้กรอกสดสมุนไพร

ความคิดเห็นเพิ่มเติม.....

.....

.....ขอบคุณที่กรุณาใช้เวลาอันมีค่า😊

2. ผลลัพธ์ที่ไม่ประสงค์

ลักษณะ ของผลลัพธ์	คะแนนความพึงพอใจ									
	ชุดที่ 1					ชุดที่ 2				
รหัสตัวอย่าง										
ลักษณะปรากฏ										
กลิ่น										
การตัดสินใจซื้อ										
ความพึงพอใจโดยรวม										

หมายเหตุ

- ลักษณะปรากฏ หมายถึง สี
- กลิ่น หมายถึง กลิ่นเครื่องเทศของไส้กรอกสดสมุนไพร
- การตัดสินใจซื้อ หมายถึง ลักษณะความน่าซื้อของไส้กรอกสดสมุนไพร
- ความพึงพอใจโดยรวม หมายถึง ความชอบโดยรวมของไส้กรอกสดสมุนไพร

ความคิดเห็นเพิ่มเติม.....

.....

.....ขอบคุณที่กรุณาใช้เวลาอันมีค่า😊

ภาคผนวก จ

ใบรายงานผลการทดสอบอะฟลาทอกซินในกากงา

ภาคผนวก ฉ

ใบรายงานผลการทดสอบอะฟลาทอกซินใน
ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่ไม่เสริมสารสกัดจากกากงา
และที่เสริมสารสกัดจากกากงา 1%

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	นางสาวน้ำฝน ใจสุทธิ์
วันเดือนปีเกิด	18 มีนาคม 2537
ที่อยู่	73/37 ซอย เพชรเกษม 81/2 ตลาดศูนย์การค้าหนองแขม เขตหนองแขม แขวงหนองค้างพลู กรุงเทพมหานคร 10160
ประวัติการศึกษา	2556 มัธยมตอนปลายโรงเรียนนวมินทราชินูทิศ สตรีวิทยา พุทธมณฑล 2559 หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ สถาบัน เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 2562 หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ สถาบัน เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร
ผลงานทางวิชาการ	“Comparison of Antioxidant Properties in Different Herbal Fresh Sausages.” 7 th ICIST 2018, The Patra Bali Resort and Villas, Bali, Indonesia, November 26-29, 2018.
ทุนที่ได้รับ	โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ภายใต้การ ดำเนินการของ สกว. ประจำปีงบประมาณ 2561