การต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ของน้ำส้มสายชูหมักและสารสกัดจากผลมะยมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ

ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF STAR GOOSEBERRY FRUIT (*PHYLLANTHUS ACIDUS*) VINEGAR AND ITS EXTRACTION IN TOM-YUM SAUSAGE

ธีรนัย ทิพวรรณ์

THEERANAI THIPPAWAN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

KMITL-2019-AG-M-031-290

การต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ของน้ำส้มสายชูหมักและสารสกัดจากผลมะยมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ

ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF STAR GOOSEBERRY FRUIT (*PHYLLANTHUS ACIDUS*) VINEGAR AND ITS EXTRACTION IN TOM-YUM SAUSAGE

ธีรนัย ทิพวรรณ์

THEERANAI THIPPAWAN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

KMITL-2019-AG-M-031-290

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF STAR GOOSEBERRY FRUIT (*PHYLLANTHUS ACIDUS*) VINEGAR AND ITS EXTRACTION IN TOM-YUM SAUSAGE

THEERANAI THIPPAWAN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN ANIMAI SCIENCE

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2019

KMITL-2019-AG-M-031-290

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2019

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ของน้ำส้มสายชูหมัก และสารสกัดจากผลมะยมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ
นักศึกษา	นายธีรนัย ทิพวรรณ์
รหัสประจำตัว	59604060
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สัตวศาสตร์
พ.ศ.	2561
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. คมแข พิลาสสมบัติ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผศ.ดร. มณทินี ธีรารักษ์

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ของน้ำส้มสายชูหมัก (star gooseberry vinegar; SGV) สารสกัดจากผลมะยม (star gooseberry extract; SGE) การนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำต่อคุณภาพ และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ เมื่อทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของ SGV และ SGE มีค่าเท่ากับ 319.70 mg GAE/100 ml sample และ 934.19 mg GAE/100 g crude extract และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระแสดงเป็นค่า IC_{50} คือ ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ 50% ด้วยวิธี DPPH, ABTS และ reducing power มีค่าการต้านอนุมูลอิสระของ SGV เท่ากับ 3.65, 7.94 และ 31.98% ตามลำดับ ส่วน SGE มีค่าการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 0.17, 0.33 และ 0.18% ตามลำดับ การทดสอบการต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่า SGV และ SGE สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสัตว์ โดยเชื้อที่คัดแยกได้จากเนื้อหมู ได้แก่ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Aeromonas caviae, Acinetobacter baumannii* และ *Citrobacter freundii* ยับยั้งเชื้อที่คัดแยกได้จากเนื้อไก่ ได้แก่ *Salmonella* spp., *S. epidermidis*, *Klebsiella pnenmonia* และ *Proteus mirabilis* และยับยั้งเชื้อมาตรฐาน ได้แก่ *Salmonella enterica* serovar Enteritidis DMST 17368, *Pseudomonas fluorescence* JCM 5963^T, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E. coli* O157: H7 และ *S. aureus* TISTR 118 เมื่อนำ SGV และ SGE ไปใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ แล้วทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสต่อการยอมรับของผู้บริโภค พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของ SGV และ SGE เท่ากับ 3% และ 1.5% ตามลำดับ โดยมีคะแนนความชอบโดยรวมเท่ากับ 5.55 และ 5.75 ตามลำดับ และเมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไส้กรอกสดรสต้มยำ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3, 6, และ 9 วัน ซึ่งการทดลองแบ่งเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เติม 3%artificial lime juice: ALJ, 3%lime juice: LJ, 3%LJ + 0.01%BHT, 3%SGV และ 1.5%SGE โดยศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ คุณภาพด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ จากการทดลองพบว่ากลุ่มที่เติม 1.5%SGE มีค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS และ reducing power สูงที่สุด ($P<0.05$) ในขณะที่กลุ่มที่เติม 3%LJ + 0.01%BHT มีค่า TBARs ต่ำที่สุด ($P<0.05$) ส่วนการศึกษาทางด้านจุลินทรีย์พบว่า ตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *E. coli, Salmonella* spp. และ *S. aureus*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Antioxidant and antimicrobial activities of star gooseberry fruit (*Phyllanthus acidus)* vinegar and its extraction in TOM-YUM sausage
Student	Mr. Theeranai Thippawan
Student ID.	59604060
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 purpose of this research was to investigate the antioxidant and antimicrobial activities of *Phyllanthus acidus* (L.) fruit vinegar (star gooseberry vinegar; SGV), its extraction (star gooseberry extract; SGE) and its application in TOM-YUM fresh sausage for quality and antioxidant properties. The total phenolic content value were approximately 319.70 mg GAE/100 ml sample and 934.19 mg GAE/100 g crude extract respectively. Subsequently, SGV was analyzed (IC_{50}: the half maximal inhibitory concentration) by DPPH, ABTS and reducing power method. Their inhibitions showed 3.65, 7.94 and 31.98% respectively. The SGE inhibitions exhibited 0.17, 0.33 and 0.18% respectively. Furthermore, SGV and SGE were tested for antimicrobial activity by agar well diffusion. Both agents could strongly inhibit growth of pathogenic and spoilage bacteria isolated form pork, including *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Aeromonas caviae, Acinetobacter baumannii* and *Citrobacter freundii*. The inhibition of bacteria isolated form chicken occurred in *Salmonella* spp., *S. epidermidis*, *Klebsiella pnenmonia* and *Proteus mirabilis*. The inhibition of standard bacteria against *Salmonella enterica* serovar Enteritidis DMST 17368, *Pseudomonas fluorescence* JCM 5963^T, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E. coli* O157: H7 and *S. aureus* TISTR 118 was observed. Moreover, the sensory test of 3%SGV and 1.5%SGE additions in TOM-YUM sausage were accepted. The overall acceptance exhibited 5.55 and 5.75 respectively. Finally, the TOM-YUM fresh sausage was stored at 4 °C for 0, 3, 6 and 9 days. Five sausage recipes were applied in this study as following 3%artificial lime juice: ALJ, 3%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3% lime juice: LJ, 3%LJ + 0.01%BHT, 3%SGV and 1.5%SGE. Analysis of antioxidant activity, physical, chemical and biological were determined. The results showed antioxidant activity especially DPPH ABTS and reducing power of 1.5%SGE was significantly highest ($P<0.05$), whereas the TBARS of 3%LJ + 0.01%BHT was significantly lowest ($P<0.05$). However, pathogenic bacteria including *E. coli, Salmonella* spp. and *S. aureus* in TOM-YUM sausage were undetectable.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ประสบความสำเร็จได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอขอบคุณ รศ.ดร. คมแข พิลาสมบัติ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง และ ผศ.ดร. มณทิณี ธีรารักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ที่ได้กรุณาให้ความรู้ในการทำวิจัย และกรุณาแนะนำแนวทาง ช่วยชี้แนะให้คำปรึกษา และแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ ทำให้ข้าพเจ้าสามารถดำเนินงานได้ลุล่วงตามเป้าหมายที่วางไว้ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์จากท่าน และขอขอบพระคุณท่านเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณ รศ.ดร. จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ ผศ.ดร. ปิยะดา ทวิชศรี ประธานและกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้การสนับสนุนโอกาสในครั้งนี้

ขอขอบคุณ รศ.ดร. รศ.ดร. นวลพรรณ งามยิ่งสุ่นผศ. ธนนันท์ ศุภกิจจานนท์ และ ดร. กฤตพร รำจวนเกียรติ ได้กรุณาให้ความรู้ในการทำวิจัย และช่วยชี้แนะให้คำปรึกษา และตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ระหว่างการทำวิทยานิพนธ์มาโดยตลอด

ขอขอบคุณคุณสุภาพรรณ ศฤงฆาร คุณเอื้องพร สมศรี คุณน้ำฝน ใจสุทธิ และ พี่ เพื่อน นักศึกษาปริญญาโท น้องๆนักศึกษาปริญญาตรี สาขาวิชาสัตวศาสตร์ทุกคน และบุคคลต่างๆที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ช่วยเหลือในการปฏิบัติงาน คอยอำนวยความสะดวกในทุก ๆ เรื่อง และให้กำลังใจเสมอ ซึ่งทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดา มารดา ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ถ่ายทอดความรู้ และประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า

คุณค่า และประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบแด่ทุกท่านที่สามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไป

นาย ธีรนัย ทิพวรรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III

กิตติกรรมประกาศ.....V

สารบัญ.....VI

สารบัญตาราง.....X

สารบัญภาพ.....XII

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความสำคัญและที่มา.....1

1.2 ความมุ่งหมาย และวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....2

1.3 สถานที่ดำเนินการ.....2

1.4 ขั้นตอนการศึกษา.....3

1.5 ระยะเวลาของการศึกษา.....3

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....4

2.1 มะยม.....4

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์.....5

2.1.2 การศึกษาทางพฤกษเคมี.....5

2.2 น้ำส้มสายชูหมัก.....6

2.2.1 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก.....6

2.2.2 ข้อกำหนดตามพระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหาร พ.ศ. 2543 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ (204) เรื่อง น้ำส้มสายชู.....7

2.2.3 คุณสมบัติของน้ำส้มสายชูหมักในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ.....8

2.2.4 คุณสมบัติน้ำส้มสายชูหมักในการเป็นสารต้านจุลินทรีย์.....8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.3 สารสกัดจากผลมะยม....10
2.3.1 คุณสมบัติของสารสกัดในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ....10
2.3.2 คุณสมบัติของสารสกัดในการเป็นสารต้านจุลินทรีย์....10
2.4 ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด....10
2.4.1 ลักษณะทั่วไปของไส้กรอกสด....11
2.5 จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์....12
2.5.1 กลุ่มที่ทำให้อาหารเน่าเสีย....12
2.5.2 กลุ่มที่ทำให้เกิดโรค....13
2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ....14
2.6.1 อนุมูลอิสระ....14
2.6.2 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ....15
2.6.3 การออกซิเดชันของไขมัน....15
2.6.4 สารต้านอนุมูลอิสระ....17
2.6.5 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ....19
2.6.6 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ....20
2.6.7 การวิเคราะห์ออกซิเดชันของไขมัน....24

บทที่ 3 วิธีดำเนินงาน....25
3.1 สารทดสอบ....25
3.1.1 น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม....25
3.1.2 สารสกัดมะยม....26
3.2 แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ....26
3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ....28
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี....29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.5 วิธีดำเนินงานวิจัย.....32
3.5.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และการต้านจุลินทรีย์ของน้ำส้มสายชูหมัก.....32
3.5.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลมะยม.....35
3.5.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาการนำน้ำส้มสายชูหมัก และสารสกัดจากผลมะยมมาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ เพื่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและความปลอดภัย.....36

บทที่ 4 ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง.....44
4.1 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และการต้านจุลินทรีย์ของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม.....44
4.1.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม.....44
4.1.2 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม.....44
4.1.3 คุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม.....46
4.2 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลมะยม.....55
4.2.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม.....55
4.2.2 คุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลมะยม.....56
4.3 การนำน้ำส้มสายชูหมัก และสารสกัดจากผลมะยมมาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ เพื่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและความปลอดภัย.....62
4.3.1 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำส้มสายชูหมัก และสารสกัดจากผลมะยมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส.....62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3.2 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกรสต้มยำ.....65
4.3.2.1 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านกายภาพ.....65
4.3.2.2 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านเคมี.....69
4.3.2.3 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านชีวภาพ.....79

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....86
5.1 สรุปผลการทดลอง.....86
5.2 ข้อเสนอแนะ.....87

บรรณานุกรม.....88
ภาคผนวก.....98
ภาคผนวก ก.....99
ภาคผนวก ข.....107
ภาคผนวก ค.....110
ภาคผนวก ง.....111
ประวัติผู้วิจัย.....113

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ปริมาณสารอาหาร แร่ธาตุ และวิตามินที่พบในผลมะยม ปริมาณ 100 g.....5
3.1 แบคทีเรียทดสอบ อาหารที่ใช้เลี้ยง และอุณหภูมิสำหรับการเจริญของแบคทีเรีย.....26
3.2 ส่วนผสมของไส้กรอกสดรสต้มยำ.....36
3.3 การตรวจเชื้อ *Salmonella* spp. โดยวิธีทางชีวเคมี.....42
4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมและ
น้ำส้มสายชูหมักจากข้าว.....44
4.2 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมและ
น้ำส้มสายชูหมักจากข้าว.....45
4.3 ผลการใช้น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมต่อการยับยั้งแบคทีเรียในเนื้อสัตว์
(5 log CFU/ml) โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใส (มิลลิเมตร) 48
4.4 ผลการใช้น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวต่อการยับยั้งแบคทีเรียในเนื้อสัตว์
(5 log CFU/ml) โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใส (มิลลิเมตร) 49
4.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ
ของสารสกัดจากมะยมโดยวิธีการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ.....55
4.6 ผลการใช้สารสกัดจากผลมะยมต่อการยับยั้งแบคทีเรียในเนื้อสัตว์
(5 log CFU/ml) โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใส (มิลลิเมตร) 58
4.7 การทดสอบด้านประสาทสัมผัสของการใช้น้ำส้มสายชูหมัก
และสารสกัดจากผลมะยมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดปรุงสุก.....64
4.8 การวัดค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (a*) และค่าสีเหลือง (b*)
ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....67
4.9 การวัดค่าความสดใส (chroma) และค่าองศาของสี (hue Angle)
ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....68
4.10 ค่าความเป็น กรด-ด่าง ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....70
4.11 การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด
ที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.12 การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด
ที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....74
4.13 การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี reducing power ในผลิตภัณฑ์
ไส้กรอกสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....76
4.14 การออกซิเดชันของไขมัน (TBARS) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด
ที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....78
4.15 จำนวนเชื้อ total plate count และ psychotrophic bacteria
ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....81
4.16 จำนวนเชื้อ coliform และ *E. coli* ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด
ที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....83
4.17 จำนวนเชื้อ *S. aureus* และ *Salmonella* spp. ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด
ที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอะซิติก....9
2.2 ปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันของไขมันไม่อิ่มตัว (RH)....15
2.3 โครงสร้างทางเคมีของสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์....18
2.4 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของอนุมูล DPPH กับสารต้านอนุมูลอิสระ....21
2.5 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของอนุมูล ABTS กับสารต้านอนุมูลอิสระ....22
2.6 กลไกการรีดิวซ์สาร $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$ ไปเป็น $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$....23
2.7 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการวิเคราะห์ TBARS....24
4.1 ผลการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 5 log CFU/ml....53
4.2 ผลการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 5 log CFU/ml....60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะยม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels สามารถพบได้ทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยนิยมรับประทานผลสด และนำไปแปรรูป เช่น นำไปกวน นำไปแช่อิ่ม และทำเป็นมะยมดอง ซึ่งมะยมเป็นพืชที่มีไม่ค่อยมีมูลค่าหรือมีมูลค่าต่ำ อีกทั้งมีรสเปรี้ยว จึงมีการนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหารค่อนข้างน้อย (นิดดา หงส์วิวัฒน์ และทวีทอง หงส์วิวัฒน์. 2550; ณภาภัช ไชยน้ำอ้อม และชูศรี ตลับมุข. 2555) มีงานวิจัยพบว่า มะยมเป็นพืชที่มีวิตามินซี และสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อีกทั้งยังช่วยลดระดับความดันโลหิต และรักษาระดับน้ำตาลในเลือด ด้วยคุณประโยชน์ต่าง ๆ เหล่านี้ทำให้มะยมมีคุณค่าและนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพต่าง ๆ มากขึ้น (อุไร จิรมงคลการ. 2551; พนิดา พานทอง. 2559; Jain *et al*. 2011; Rahman *et al.* 2011; Angamuthu *et al.* 2016) โดยน้ำส้มสายชูหมัก (vinegar) เป็นวัตถุปรุงแต่งรสอาหาร ที่ได้จากกระบวนการหมักตามธรรมชาติ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนคือ กระบวนการหมักเอทานอล (alcoholic fermentation) โดยยีสต์จะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส ให้เป็นเอทานอลในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจน (อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์. 2558) ส่วนกระบวนการหมักกรดน้ำส้ม (acetification) โดยแบคทีเรียน้ำส้ม จะทำการออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ให้กลาย เป็นกรดอะซิติกในสภาวะที่มีอากาศ (Budak *et al.* 2014) โดยน้ำส้มสายชูหมักที่ได้จากกระบวนการหมักตามธรรมชาติ จะมีคุณสมบัติที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ซึ่งกำลังเป็นที่นิยมในกลุ่มของคนรักสุขภาพ เช่น ช่วยในเรื่องการลดระดับความดันในเลือด เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ เป็นสารต้านมะเร็ง และใช้ยังเป็นเครื่องปรุงรสอาหารหลัก (ประวีณา ลาภา. 2555; ชญาณ์พิสุทธิ์ แก้วสุวรรณ์ และคณะ. 2555; Budak *et al.* 2014) ปัจจุบันการใช้สารสกัดจากผลมะยมยังไม่เป็นที่แพร่หลายนัก โดยการศึกษาครั้งนี้จึงนำน้ำส้มสายชูหมักมีคุณสมบัติเฉพาะตัว คือ รสชาติเปรี้ยว และมีกลิ่นที่ฉุนซึ่งเกิดจากกระบวนการหมัก และสารสกัดจากผลมะยมที่มีรสชาติเปรี้ยว มาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำที่มีรสเปรี้ยว

ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด (fresh sausage) เป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสัตว์ ซึ่งนิยมบริโภคกันทั่วโลก เนื่องจากขั้นตอนการทำไม่ยุ่งยาก โดยการใช้เนื้อกับไขมัน นำไปบดหยาบ จากนั้นผสมเกลือ เครื่องเทศ และสมุนไพร บรรจุในไส้ธรรมชาติ เช่น ไส้สุกร และ ไส้แกะ เป็นต้น หรือบรรจุในไส้คอลลาเจน โดยผู้บริโภคจะต้องนำไปทำให้สุกก่อนบริโภค โดยทั่วไปแล้ว รสชาติของไส้กรอกสด จะแตกต่างกันออกไป ซึ่งขึ้นอยู่กับวัฒนธรรมในการบริโภค ของแต่ละท้องถิ่น (Liu *et al.* 2009; Da Silveira *et al.* 2014; Hugo and Hugo. 2015) ลักษณะของไส้กรอกสดมักมีความชื้นสูง ทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้เหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค เช่น โรคอาหารเป็นพิษ นอกจากนี้ในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาไส้กรอกสด จะทำให้เกิดการออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งอาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เช่น สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และลดคุณค่าทางโภชนาการ (Crist *et al.* 2014; Salinas *et al.* 2014) ในประเทศไทยลักษณะไส้กรอกสดที่นิยมบริโภค เช่น ไส้อั่ว มักมีส่วนผสมของพริกแกง เครื่องเทศ และสมุนไพร (นพพล เล็กสวัสดิ์ และคณะ. 2556) โดยเครื่องเทศและสมุนไพรเหล่านี้มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง ทำให้สามารถควบคุมการเกิดออกซิเดชันของไขมัน การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ (เอนก หาลี และ บุณยกฤต รัตนพันธุ์. 2560; Jayawardana *et al.* 2015; Jin *et al.* 2015) จากปัญหาการออกซิเดชันของไขมัน และการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์สามารถควบคุมหรือทำให้ลดลงโดยการใช้วัตถุเจือปนอาหารสังเคราะห์หรือใช้สารจากธรรมชาติ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) และ tertbutyl hydroquinone (TBHQ) อย่างไรก็ตามผู้เชี่ยวชาญด้านสุขภาพและผู้บริโภคยังมีความตระหนักเกี่ยวกับความปลอดภัยของการใช้สังเคราะห์ดังกล่าว จึงมีการหันมาเลือกใช้สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่มีทั้งคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและต้านจุลินทรีย์ ซึ่งได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคว่ามีความปลอดภัย (Zhang *et al*. 2016; Sharma *et al.* 2017; Šojić *et al.* 2017)

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ของน้ำส้มสายชูหมัก และสารสกัดจากผลมะยม รวมถึงการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำต่อคุณภาพและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

1.2 ความมุ่งหมาย และวัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม

2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลมะยม

3. เพื่อศึกษาการนำน้ำส้มสายชูหมักและสารสกัดจากผลมะยมในการผลิตไส้กรอกสดรสต้มยำต่อคุณภาพ และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

1.3 สถานที่ดำเนินงาน

1. ห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์เนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3. ห้องปฏิบัติการโภชศาสตร์สัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตรสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

4. ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวไม้ดอกและไม้ใบ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.4 ขั้นตอนการศึกษา

1. ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม

2. ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์จากสารสกัดผลมะยม

3. ศึกษาการนำน้ำส้มสายชูหมักและสารสกัดจากผลมะยมในการผลิตไส้กรอกสดรสต้มยำ ต่อคุณภาพและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

1.5 ระยะเวลาการศึกษา

ใช้เวลาในการศึกษาทั้งสิ้น 24 เดือน เริ่มทำการศึกษาตั้งแต่เดือนกันยายน พ.ศ. 2559 เสร็จสิ้นการศึกษาเดือนกันยายน พ.ศ. 2561

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถเพิ่มมูลค่ามะยมโดยการผลิตเป็นสารสกัดและน้ำส้มสายชูหมัก

2. เพิ่มมูลค่าของสินค้าผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดโดยการผลิตอาหารเพื่อสุขภาพ

3. เผยแพร่ผลงานตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ จำนวน 1 เรื่อง หรือเผยแพร่ผลงานตีพิมพ์ในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ จำนวน 1 เรื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะยม (*Phyllanthus acidus* L.)

ในกลุ่มผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว หรือผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ในประเทศไทย มีหลายชนิดได้แก่ มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* L.).ลูกหม่อน(*Morus alba* L.) ลูกหว้า (*Syzygium cumini* L.) ตะขบ (*Flacourtia rukam* L.) และมะยม(*Phyllanthus acidus* L.) เป็นต้น ซึ่งผลไม้เหล่านี้มีคุณสมบัติทางยา และคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (ฉัตรภา หัตถโกศล. 2556) โดย ณพัฐอร บัวฉุน. (2560) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบมะขามป้อม จากผลการวิจัยพบว่า สารสกัดหยาบมะขามป้อมมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 89.32 mg GAE/100 g DE มีปริมาณแทนนินทั้งหมด เท่ากับ 421.56 µg/l และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 12.456 µg/l นอกจากนี้ Rahman *et al.* (2011) รายงานว่า มะยมมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ จากรายงานพบว่า มีค่า total flavonoid content เท่ากับ 24.8 mg/g ของเควอซิทิน มีค่า total antioxidant เท่ากับ 551.97 mg/g ของกรดแอสคอร์บิก และศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical Reducing power และ cupric ion reducing capacity โดยแสดงเป็นค่า IC_{50} มีค่าเท่ากับ 2,063.42, 0.1 และ 0.3 µg/ml ในการศึกษานี้ ให้ความสนใจผลมะยม เนื่องจากเป็นพืชที่ปลูกง่าย ทนแล้ง ทนแมลง ปลูกง่าย สามารถพบได้ในทุกภูมิภาคของประเทศไทย และเป็นพืชที่มีไม่ค่อยมีมูลค่าหรือมีมูลค่าต่ำ อีกทั้งมีรสเปรี้ยว จึงมีการนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหารค่อนข้างน้อย

มะยมเป็นผลไม้ที่มีรสเปรี้ยวอมฝาด มีชื่อสามัญ star gooseberry มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels เป็นพืชที่ให้ผลรับประทานได้ พบทั่วไปในหลายประเทศโดยเฉพาะแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ ประเทศไทย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย มาเลเซีย เวียตนาม ลาว และกัมพูชา ในประเทศไทยนิยมปลูกไว้บริเวณหน้าบ้านเพื่อความเป็นสิริมงคล (อุไร จิรมงคลการ. 2551; Devi and Paul. 2011) มีการใช้ส่วนต่าง ๆ เป็นยารักษาโรคตามภูมิปัญญาพื้นบ้าน และพบการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของมะยมในการต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา วัณโรค ต้านการอักเสบ ลดอาการปวด ลดระดับน้ำตาลในเลือด ขับปัสสาวะ และต้านอนุมูลอิสระ ด้วยคุณประโยชน์ต่างๆ เหล่านี้ทำให้มะยมมีคุณค่าและนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพต่างๆมากขึ้น (พนิดา พานทอง. 2559; Jain *et al*. 2011; Rahman *et al.* 2011; Angamuthu *et al.* 2016) ผลมะยมสามารถนำมากินสดๆ และนำมาประกอบอาหารได้ เช่น ตำกับพริกแห้ง แช่อิ่ม ดองหรือนำมากวนในมาเลเซียนิยมนำไปเชื่อม ในอินโดนีเซียและฟิลิปปินส์นิยมดองในเกลือ และทำเป็นน้ำส้มสายชูหมัก (นิดดา หงส์วิวัฒน์. 2550; ณภาภัช ไชยน้ำอ้อม และชูศรี ตลับมุข. 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มะยมเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลาง โดยมีลำต้นตั้งตรงสูงประมาณ 3 - 10 เมตร แตกกิ่งก้านสาขาบริเวณปลายยอด เปลือกต้นขรุขระสีเทาปนน้ำตาล ใบเป็นใบประกอบ แต่ละก้านมีใบย่อย 20 – 30 คู่ ออกเรียงแบบสลับ ใบรูปขอบขนานกลมปลายใบแหลม ฐานใบกลมหรือมนขอบใบเรียบ ออกดอกเป็นช่อตามกิ่ง ดอกย่อยสีเหลืองอมน้ำตาล ผลมะยมมีลักษณะเป็นพูเว้านูนรอบผล ประมาณ 6-8 พู (เหลี่ยมนูน) ผลค่อนข้างกลมแบน ผลกว้างประมาณ 1-3 ซม. มีขั้วผลสั้นประมาณ 0.5 ซม. ผลอ่อนมีสีเขียว ผลแก่มีสีเหลืองอมเขียวเล็กน้อย และแก่จัดจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองนวล เนื้อผลมีรสเปรี้ยว ผล 1 ผล มีเมล็ด 1 เมล็ด มีลักษณะเป็นพูคล้ายพูผล เมล็ดมีสีนวลอมน้ำตาล เนื้อเมล็ดแข็งมาก (อุไร จิรมงคลการ. 2551; พนิดา พานทอง. 2559)

2.1.2 การศึกษาทางพฤกษเคมี

Devi and Paul. (2011) รายงานปริมาณสารอาหารต่างๆที่อยู่ในผลมะยมสด พบว่าผลมะยมสดประกอบด้วยความชื้นในปริมาณสูงถึง 91.9 g ใน 100 g ของผลสด และมีปริมาณฟอสฟอรัส ธาตุเหล็ก และวิตามินซีสูง ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณสารอาหาร แร่ธาตุ และวิตามินที่พบในผลมะยม ปริมาณ 100 g

สาร	ปริมาณ
ความชื้น	91.9 g
โปรตีน	0.155 g
ไขมัน	0.52 g
เยื่อใย	0.8 g
เถ้า	0.51 g
แคลเซียม	5.4 mg
ฟอสฟอรัส	17.9 mg
เหล็ก	3.25 mg
แคโรทีน	0.019 mg
ไทอะมีน	0.025 mg
ไรโบฟลาวิน	0.013 mg
ไนอะซิน	0.292 mg
กรดแอสคอร์บิก	4.6 mg

ที่มา: Devi and Paul. (2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 น้ำส้มสายชูหมัก (fermented vinegar)

น้ำส้มสายชูหมัก (vinegar) มาจากภาษาฝรั่งเศสว่า vin aigre แปลว่า ไวน์ที่มีรสเปรี้ยว (vin = wine, aigre = รสเปรี้ยว) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการหมักในสภาพอาหารเหลว ทำจากวัตถุดิบที่เหมาะสมได้แก่ ธัญพืช ผลไม้ น้ำตาลหรือกากน้ำตาล มีสูตรทางเคมี คือ กรดอะซิติก (CH_3COOH) เป็นองค์ประกอบหลัก (ชญาณ์พิสุทธิ์ แก้วสุวรรณ์ และคณะ. 2555; Budak *et al.* 2014) น้ำส้มสายชูหมักจัดเป็นเครื่องปรุงรสอาหารชนิดหนึ่งที่ใช้กันมานานแล้ว อีกทั้งในปัจจุบันยังมีการบริโภคในรูปแบบของน้ำส้มสายชูผลไม้พร้อมดื่ม (fruit vinegar drink) เป็นผลิตภัณฑ์ประเภทเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพชนิดหนึ่ง เนื่องจากน้ำส้มสายชูมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเชื้อก่อโรคต่างๆในร่ายกาย บรรเทาอาการไขข้ออักเสบ ช่วยลดค่าดัชนีไกลซีมิก ช่วยลดระดับการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลกลูโคสและอินซูลิน ทำให้ความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเบาหวานลดลง และช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด (ประวีณา ลาภา. 2554)

2.2.1 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักแบ่งออกเป็น 2 กระบวนหลัก ๆ ดังนี้

2.2.1.1 กระบวนการหมักแอลกอฮอล์ (alcoholic fermentation)

ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จะหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ในสภาวะที่ไม่ใช้อากาศ หมักจนได้ปริมาณแอลกอฮอล์ตามที่ต้องการ ผลิตภัณฑ์ที่ได้นี้ เรียกว่า น้ำส่า (อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์. 2558)

$$\underset{\text{กลูโคส}}{C_6H_{12}O_6} \xrightarrow[\text{ยีสต์}]{} \underset{\text{แอลกอฮอล์}}{2C_2H_5OH} + \underset{\text{คาร์บอนไดออกไซด์}}{2CO_2}$$

ปริมาณของแอลกอฮอล์ที่พอเหมาะที่จะทำน้ำส้มสายชูต่อไป แอลกอฮอล์ควรอยู่ระหว่าง 10 – 13 % หรือควรจะมีปริมาณน้ำตาลในวัตถุดิบประมาณ 20 – 26 % ซึ่งถ้ามีปริมาณแอลกอฮอล์มากกว่า 14 % จะทำให้เกิดน้ำส้มสายชูเป็นไปอย่างช้า และบางครั้งปริมาณแอลกอฮอล์อาจถูกเปลี่ยนไปไม่หมด แต่ถ้าแอลกอฮอล์น้อยเกินไปจะทำให้สูญเสียความเป็นน้ำส้มสายชูไป เนื่องจากแอลกอฮอล์หมดไป จุลินทรีย์จะหันมาออกซิไดส์กรดน้ำส้มกลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำแทน (ประวีณา ลาภา. 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.2 กระบวนการหมักกรดน้ำส้ม (acetification)

การเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้กลายเป็นกรดอะซิติกโดยอาศัยแบคทีเรียน้ำส้ม acetic acid bacteria หรือ AAB ได้แก่ สกุล *Acetobacter* หรือ *Gluconobacter* (Budak *et al.* 2014) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนเพียงพอในการออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ไปเป็นกรดน้ำส้ม สามารถเขียนปฏิกิริยาทางด้านเคมี ดังสมการ (ชญาณ์พิสุทธิ์ แก้วสุวรรณ์ และคณะ. 2555)

C_2H_5OH	⟶	CH_3COOH	+	H_2O
เอทิลแอลกอฮอล์ AAB		กรดน้ำส้ม		น้ำ

2.2.2 ข้อกำหนดตามพระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหาร พ.ศ. 2543 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ (204) เรื่อง น้ำส้มสายชู

น้ำส้มสายชูหมักหรือกลั่น ต้องมีคุณภาพมาตรฐานดังต่อไปนี้

1) มีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 g /100 ml ที่ 27 องศาเซลเซียส

2) ตรวจพบสารปนเปื้อนได้ไม่เกินปริมาณที่กำหนด ดังต่อไปนี้

- สารหนูไม่เกิน 1 mg/kg
- ตะกั่วไม่เกิน 1 mg/kg
- ทองแดงและสังกะสีไม่เกิน 10 mg/kg
- เหล็กไม่เกิน 10 mg/kg

3) ไม่มีกรดน้ำส้มที่มิได้มาจากการผลิตน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น

4) ไม่มีกรดกำมะถัน (sulfuric acid) หรือกรดแร่อิสระอย่างอื่น

5) ใส ไม่มีตะกอนเว้นแต่ น้ำส้มสายชูหมักตามธรรมชาติ

6) ไม่มีหนอนน้ำส้ม (vinegar eel)

7) ใช้น้ำสะอาดเป็นส่วนผสม

8) ให้ใช้วัตถุเจือปนอาหาร (food additives) ได้ดังต่อไปนี้

- ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ไม่เกิน 70 mg/kg
- กรดแอล-แอสคอร์บิกไม่เกิน 400 mg/kg

9) มีแอลกอฮอล์ตกค้าง (residual alcohol) ไม่เกิน 0.5%

10) การแต่งสีให้ใช้น้ำตาลเคี่ยวไหม้หรือสีคาราเมล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 คุณสมบัติของน้ำส้มสายชูหมักในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากน้ำส้มสายชูหมักด้วยข้าวเหนียวดำโดยแบคทีเรียน้ำส้ม จำนวน 3 ชนิด ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากน้ำส้มสายชูหมักด้วย *A.aceti* TISTR 1074 และ *A. aceti* TISTR 103 ที่หมักด้วยแอลกอฮอล์เริ่มต้น 8 % มีความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH และ ABTS สูงสุดตามลำดับ (กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ และ สมจิตต์ ปาละกาศ. 2551)

Kowalczyk *et al.* (2015) รายงานว่า คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มสายชูหมักจากแอปเปิ้ล (apple cider vinegar) ในประเทศโปแลนด์ พบว่าการทดสอบด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.21±0.003 ถึง 0.30±0.004 mg/ml ของสาร gallic acid และการทดสอบด้วยวิธี 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) มีค่า 0.88±0.012 ถึง 1.24±0.015 mg/ml ของสาร trolox

Davis *et al.* (2017) ทำการศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกส้ม พบว่ามีปริมาณของ ascorbic acid 0.124 g/l มีปริมาณฟีนอลิกรวม 123.63 mg GAE/ 100 ml มีปริมาณแคร์โรทินอยด์ 0.024 mg GAE/ 100 ml การทดสอบด้วยวิธี DPPH มีค่า 53.24 mg AEAC/100 ml และการทดสอบด้วยวิธี ABTS มีค่า 85.84 mg AEAC/100 ml แสดงให้เห็นว่าน้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกส้มมีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงเนื่องจากเปลือกส้มมีปริมาณ ascorbic acid และสารประกอบฟีนอลิกสูง

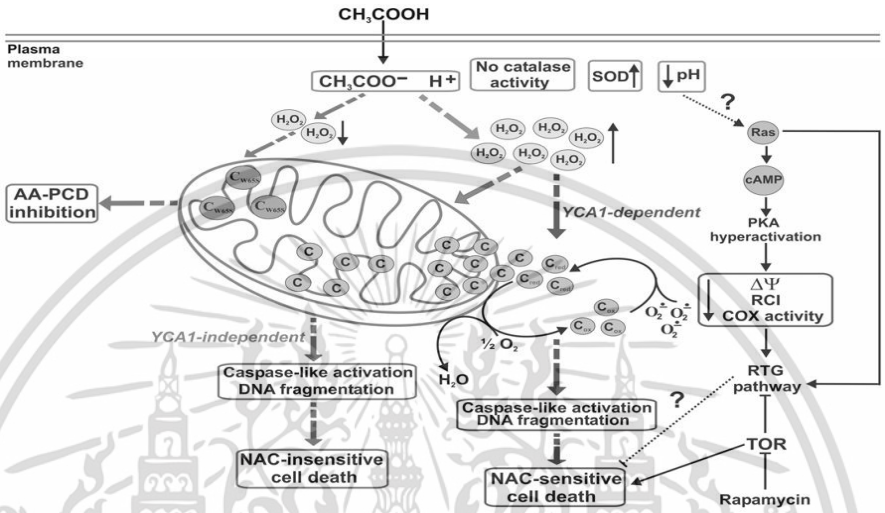
2.2.4 คุณสมบัติน้ำส้มสายชูหมักในการเป็นสารต้านจุลินทรีย์

น้ำส้มสายชูมีกรดอะซิติกหรือกรดน้ำส้มองค์ประกอบที่สำคัญ มีสูตรทางเคมี (CH_3COOH) ในรูปบริสุทธิ์จะไม่มีสี เป็นของเหลวใส มีกลิ่นฉุนที่เป็นเอกลักษณ์ และมีรสเปรี้ยว สามารถรวมตัวกับน้ำ แอลกอฮอล์ เช่น การใช้เป็นส่วนผสมของน้ำสลัด มายองเนส น้ำซอส หรือใช้ในการหมักไก่ เป็นต้น (แก้วกาญจน์ จันทนยิ่งยง. 2555)

กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอะซิติก เกี่ยวข้องกับค่าคงที่การแตกตัวของกรด (pKa) เมื่อกรดไหลผ่านเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียซึ่งมีสภาวะเป็นกลาง เมื่อกรดเกิดการแตกตัวและปลดปล่อย H^+ ออกมา ส่งผลภายในเซลล์เกิดความเป็นพิษ นอกจากนี้ CH_3COO^- จะรบกวนกระบวนการสร้างสารพันธุกรรม (DNA) ของเซลล์ เช่น ทำเกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน กรดนิวคลีอิค และฟอสโฟไลปิด เป็นต้น ดังภาพที่ 2.1 (อัจฉรา นิยมเดชา. 2559; Guaragnella *et al.* 2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกยังมีส่วนช่วยในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยมีกลไกในการทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรีย เยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม (cytoplasmic membrane) และเยื่อหุ้มเซลล์ของโปรตีน (membrane protein) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ให้เสียสภาพ และก่อให้เกิดการรั่วไหลของสารที่สำคัญต่อกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) ภายในเซลล์ เช่น ไอออน เอทีพี กรดนิวคลีอิก และกรดอะมิโน เป็นต้น (Cetin-Karaca and Newman. 2015)



ภาพที่ 2.1 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอะซิติก
ที่มา: Guaragnella *et al.* (2012)

การศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านจุลินทรีย์ของน้ำผลไม้หมัก (fermented fruit juices) คือ มะนาว ส้ม อะโวกาโด้ มะกรูด สับปะรด มะเฟือง และอ้อย โดยใช้วิธี Paper disc diffusion ทดสอบกับเชื้อ *Campylobacter jejuni* ATCC 29428, C. *jejuni* FBRL-S32, C. *jejuni* FBRL-S08, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* O157: H7 ผลการทดลอง พบว่า FF ทุกชนิดสามารถยับยั้งเชื้อได้ โดยน้ำผลไม้หมักจากอะโวกาโด้ยับยั้งเชื้อโรคได้ดีที่สุด น้ำผลไม้หมักมีค่า pH ในช่วง 3.1-3.4 และเมื่อนำน้ำผลไม้หมักมาปรับ pH เป็น 6.5-7.0 พบว่า มีบริเวณใส (clear zone) ลดลง แสดงถึงประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อโรคลดลง อย่างไรก็ตามน้ำผลไม้หมักทั้ง 5 ชนิด ยังให้บริเวณใสกับเชื้อทดสอบบางชนิดได้ จากการวิเคราะห์ทางเคมี ด้วยวิธี HPLC พบว่า น้ำผลไม้หมักประกอบด้วยกรดออกซาลิด กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก กรดแอสคอร์บิก กรดแลคติก กรดซิตริก กรดเบนโซอิก และกรดอะซิติก (กรรณิกา ศรีประย่า และ ณฐนนท์ ตราชู. 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 สารสกัดจากผลมะยม

จากที่ได้กล่าวมาแสดงให้เห็นถึงคุณประโยชน์ของผลมะยม มีการศึกษาด้านคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ การต้านจุลินทรีย์ และศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดจากผลมะยมที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ ดังนี้

2.3.1 คุณสมบัติของสารสกัดในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะยมที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 70 และ 30 % และสกัดโดยใช้น้ำ โดยทดสอบการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1lpikrilhidrazil (DPPH) และ cytotoxicity (ความเป็นพิษต่อเซลล์) โดยใช้วิธีทดสอบ BSLT (brine shrimp lethality test) จากการทดสอบพบว่าปริมาณผลผลิต (% extraction yield) ของสารสกัดจากผลมะยมอยู่ในช่วง 11.3% ถึง 20.25% โดยที่สกัดด้วยเอทานอลมีค่าปริมาณผลผลิตสูงที่สุด สารสกัดจากผลมะยมที่สกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอล โดยที่มีค่า IC_{50} 26.06 µg/ml และมีค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ (BSLT) LC_{50} ตั้งแต่ 473.26-908.98 µg/ml ซึ่งมีค่าต่ำกว่าเอทานอล ดังนั้นการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจึงมีศักยภาพมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายชนิดอื่นๆ (Andrianto *et al.* 2017)

Nguyen *et al.* (2017) โดยศึกษาการต้านอนุมูลอิสระและป้องกันการออกซิเดชันของไขมันของสารสกัดจากใบมะยม โดยศึกษาตราส่วนของน้ำและเอทานอลดังนี้ 100:0, 25:75, 50:50, 25:75 และ 0:100 พบว่าสารสกัดจากใบมะยมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกใกล้เคียงกันซึ่งมีค่าเท่ากับ 49.87, 49.82, 49.46, 48.54 และ 48.04 mg GAE/g sample ตามลำดับ ในกลุ่มที่ใช้น้ำเป็นเป็นตัวทำละลาย พบว่าการวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, Reducing power, Metal chelating และ Lipid peroxidation แสดงเป็นค่า IC_{50} มีค่าเท่ากับ 88.64, 932.25, 1,311.17 และ 716.32 mg/L ตามลำดับ

2.3.2 คุณสมบัติของสารสกัดในการเป็นสารต้านจุลินทรีย์

การศึกษาสารสกัดจากผลมะยมที่สกัดด้วยเมทานอลที่ระดับความเข้มข้น 400 และ 800 µg/disc ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี disc diffusion method ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากผลมะยมที่ระดับความเข้มข้น 400 µg/disc สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Shigella dysenteriae*, *Bacillus subtilis* และ *Bacillus megaterium* และ สารสกัดจากผลมะยมที่ระดับความเข้มข้น 800 µg/disc สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Shigella dysenteriae*, *Salmonella* Typhimurium, *S. aureaus*, *Bacillus subtilis* และ *Bacillus megaterium* (Rahman *et al.* 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ Kumar *et al.* (2011) สารสกัดเมทานอลจากใบมะยมมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *B. lichenformis, E. coli, M. flavum, M. leuteum, P. mirabilis, Rhodococcus terrae, S. typhi, S. sonnei* และ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 125 µg/ml, เชื้อ*แบคทีเรีย Brevibacterium luteum, K. pneumoniae, S. boydii* และ *S. faecalis* ที่ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 250 µg/ml, เชื้อแบคทีเรีย *Flavobacterium devorans* ที่ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 500 µg/ml, และ เชื้อ *S. flexneri* ที่ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 1,000 µg/ml

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลจากใบมะยม โดยวิธีการเจือจางสาร (The serial dilution technique) สารสกัดใบมะยมมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *P. stutzeri* และ *S. aureus* (MIC = 156±0.0 µg/ml), *B. spizizenii* (MIC = 307±5.2 µg/ml), *K. pneumoniae* (MIC = 315±3.8 µg/ml), *B. licheniformis* (MIC = 350±6.6 µg/ml) และ *E. coli* (MIC = 625±2.0 µg/ml) ซึ่งจากการทดสอบพบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบน้อยกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Eldeen *et al.* 2011)

2.4 ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด (fresh sausage)

2.4.1 ลักษณะทั่วไปของไส้กรอกสด

ไส้กรอก (sausage) มีรากศัพท์มาจากภาษาลาตินว่า “salsus” หมายถึง เนื้อสัตว์ที่มีการเก็บรักษาโดยใช้เกลือ และมีมากกว่า 1,500 ชนิด การจำแนกชนิดของไส้กรอกมีแบ่งเป็น 4 ประเภทใหญ่ๆ คือ ไส้กรอกสด (fresh sausage) ไส้กรอกสุก (cooked sausage) ไส้กรอกลวกหรือไส้กรอกขาว (scaided sausage) และ ไส้กรอกแฮม (ham) ส่วนผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสมุนไพร (fresh sausage) เป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสัตว์ ซึ่งนิยมบริโภคกันทั่วโลก เนื่องจากขั้นตอนการทำไม่ยุ่งยาก โดยการใช้เนื้อกับไขมัน นำไปบดหยาบ จากนั้นผสมเกลือ เครื่องเทศ และสมุนไพร บรรจุในไส้ธรรมชาติ เช่น ไส้สุกร และ ไส้แกะ เป็นต้น หรือบรรจุในไส้คอลลาเจน โดยผู้บริโภคจะต้องนำไปทำให้สุกก่อนบริโภค (Liu *et al.* 2009; Da Silveira *et al.* 2014; Hugo and Hugo. 2015; Baldin *et al.* 2016) ไส้กรอกสดต้องเก็บเย็นที่อุณหภูมิไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส และไม่ควรเก็บนานเกิน 3-4 วัน เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่ยังไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน ดังนั้นจุลินทรีย์ สามารถเพิ่มจำนวนได้เร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งตัววัตถุดิบหรือเครื่องเทศที่มีการนำมาใช้อาจมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ หรือเชื้อรา (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ พรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ. 2555) ซึ่งรสชาติและลักษณะของไส้กรอกสดของแต่ละประเทศนั้นจะมีลักษณะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับความนิยมในการบริโภคเครื่องเทศของประเทศนั้นๆ (Salinas *et al.* 2016) ไส้กรอกสดมีหลายชนิด เช่น Italian style fresh sausage ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ไส้กรอกพื้นเมืองของอิตาลี (Lannetti *et al.* 2017) Longaniza นิยมบริโภคในประเทศสเปน fresh Tuscan sausage นิยมบริโภคในประเทศบราซิล (Da Silveira *et*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

al. 2014) Bratwurst นิยมบริโภคในแถบยุโรป Merguez นิยมบริโภคในแถบแอฟริกาตอนเหนือและตอนกลาง ส่วน Boerewors นิยมบริโภคในแถบแอฟริกาตอนใต้ และ breakfast sausage นิยมบริโภคในประเทศอังกฤษ (Hugo and Hugo. 2015)

สำหรับประเทศไทย ลักษณะไส้กรอกสดสมุนไพรที่นิยมบริโภค เช่น ไส้อั่ว เป็นต้น การทำไส้อั่ว โดยทั่วไปแล้วทำจากเนื้อหมูบด ผสมพริกแห้ง กระเทียม ขมิ้น ข่า ใบมะกรูด หอมแดง และ เครื่องปรุงรสแล้วกรอกลงไปในไส้อ่อนของหมูที่เกลาจนบางแล้ว บิดให้เป็นท่อนพอประมาณ จากนั้นนำไปย่าง รสชาติของไส้อั่วจะมีรสเค็มนำและรสเผ็ดเล็กน้อยมีกลิ่นหอมของเครื่องเทศ ส่วนใหญ่จะรับประทานไส้อั่วกับข้าวเหนียวและข้าวสวย (นพพล เล็กสวัสดิ์ และคณะ. 2556) โดยทั่วไปแล้วการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดเกิดจากสาเหตุหลักคือ จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน และการออกซิเดชันของไขมัน (Zhang *et al.* 2016) ในงานวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยสนใจไส้กรอกสดรสต้มยำ เนื่องจากเพื่อเพิ่มความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ และสามารถนำไปเพิ่มมูลค่าให้กับชุมชนได้

2.5 จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า ต้องอาศัยกล้องจุลทรรศน์ช่วยขยายให้เห็นรูปร่าง จุลินทรีย์จำแนกออกได้ 6 ชนิด คือ แบคทีเรีย ยีสต์ รา โปรโตซัว สาหร่าย และไวรัส ยากที่จะหลีกเลี่ยงจากจุลินทรีย์ แม้กระทั่งในร่างกายมนุษย์และสัตว์ก็ยังมีจุลินทรีย์อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร โดยมีทั้งชนิดที่เป็นประโยชน์และเป็นโทษ สำหรับการมีจุลินทรีย์แปลกปลอมปนเปื้อนเข้ามาในอาหารถือว่าเป็นสิ่งที่ไม่พึงปรารถนา เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์เป็นแหล่งของสารอาหารที่จำเป็น ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน แร่ธาตุ น้ำ และวิตามิน ซึ่งเหมาะสมต่อจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้เพื่อเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวน โดยจุลินทรีย์มีความเกี่ยวข้องกับเนื้อสัตว์ได้หลายทาง โดยแหล่งปนเปื้อนจุลินทรีย์เริ่มตั้งแต่สัตว์มีชีวิต กระบวนการฆ่าและการชำแหละ การแปรรูป และการขนส่ง เป็นต้น (คมแข พิลาสมบัติ. 2559) ซึ่งจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ สามารถแบ่งได้เป็นประเภทต่างๆตามความสำคัญได้ดังนี้

2.5.1 กลุ่มที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (spoilage)

เนื้อสัตว์จัดได้ว่าเป็นอาหารที่ดีที่สุดต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มทำให้เกิดการเน่าเสียของเนื้อสัตว์ (spoilage microorganisms) มักปนเปื้อนบนซากสัตว์ภายหลังการฆ่ามีจุดเริ่มต้นจากผิวหนังสัตว์ สำไส้ และสภาพแวดล้อมภายในโรงฆ่าสัตว์ เช่น อากาศ น้ำ อุปกรณ์ต่างๆ รวมถึงจากผู้ปฏิบัติงานเองเมื่อจุลินทรีย์เจริญในผลิตภัณฑ์จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ไม่ต้องการ เช่น มีเมือก กลิ่นเหม็นเน่า เหม็นหืน และทำให้สีผลิตภัณฑ์ของเปลี่ยนไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 กลุ่มที่ทำให้เกิดโรค (pathogen)

โรคที่เกิดจากการบริโภคเนื้อสัตว์ที่ป่วยเป็นโรคติดต่อซึ่งสามารถถ่ายทอดถึงคนได้ (zoonosis) เช่น โรค Brucellosis, Tuberculosis และ วัวบ้า (BSE) เป็นต้น โรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) ที่เกิดจากการบริโภคเนื้อสัตว์ที่มีเชื้อแบคทีเรียเข้าไป ซึ่งเชื้อจะไปเจริญในทางเดินอาหารและเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ ซึ่งสาเหตุของโรคและการเจ็บป่วยจากอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์มี 2 แบบ ดังต่อไปนี้

2.2.2.1 เกิดจากสารพิษที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นในอาหาร (food intoxication)

จุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) สร้างสารพิษ (toxin) ในอาหารและส่งผลต่อทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) เช่น สารพิษจากแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ซึ่งมีพิษต่อระบบทางเดินอาหาร *Clostridium botulinum* มีพิษต่อระบบประสาท และสารพิษจากเชื้อรา (mycotoxin) เช่น อะฟลาทอกซิน พบในธัญพืชต่างๆ

2.2.2.2 เกิดจากตัวเซลล์จุลินทรีย์เอง (food infection)

แบ่งเป็น 2 พวก คือ อาหารที่ไม่ได้เป็นแหล่งให้จุลินทรีย์ก่อโรคเจริญ แต่เป็นตัวพาหะของจุลินทรีย์ก่อโรคเหล่านั้น เช่น วัณโรค คอตีบ ไทฟอยด์ อหิวาตกโรค ตับอักเสบ ส่วนอีกพวกหนึ่ง อาหารเป็นแหล่งให้จุลินทรีย์ก่อโรคเพิ่มจำนวนมากขึ้น จนเป็นพิษต่อผู้บริโภคอาหารนั้น จุลินทรีย์ก่อโรคเหล่านั้น เช่น *Salmonella* spp. และ *Vibrio parahemolyticus* เป็นต้น (ผุสดี ตังวัชริทร์. 2558)

นพพล เล็กสวัสดิ์ และคณะ (2556) ได้ทำการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในไส้อั่วในอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้ได้ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารในตัวอย่างไส้อั่วที่สุ่มเก็บจากการทำให้สุกจำนวน 3 แบบ ได้แก่ ไส้อั่วที่ย่างด้วยเตาถ่าน ทอด และอบเตาแก๊ส จากตลาดสดในเขตเทศบาลนครเชียงใหม่จำนวน 5 ตลาดและนอกเขตเทศบาลนครเชียงใหม่จำนวน 1 ตลาด จากผลการสำรวจพบว่าเชื้อไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่าง 25 g ไม่พบเชื้อ *S. aureus* นัวอย่าง 0.1 g ไม่พบเชื้อ *C. perfringen* ในตัวอย่าง 0.1 g และพบเชื้อ *E. coli* น้อยกว่า 3.0 MPN/g ซึ่งมีค่าตามเกณฑ์มาตรฐาน แต่ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดกับปริมาณยีสต์และรา มีค่ามากกว่าเกณฑ์มาตรฐานเล็กน้อย คิดเป็น 16.67 และ 8.33% ตามลำดับ นอกจากนี้ Rantsiou *et al.* (2005) ได้ทำการจำแนกเชื้อจากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด พบว่า มีการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* จำนวน 1.23 log CFU/g เชื้อ *S. aureus* จำนวน 2.26 log CFU/g เชื้อ Lactic acid bacteria จำนวน 3.68 log CFU/g เชื้อ *Micrococcaceae* จำนวน 3.22 log CFU/g และ Aerobic mesophilic bacterial count จำนวน 4 log CFU/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ

2.6.1 อนุมูลอิสระ (free radical)

อนุมูลหรืออนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุล หรือสารที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว ทำให้เกิดโมเลกุลที่ไม่เสถียร และว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา เนื่องจากขาดคู่อิเล็กตรอน จึงจำเป็นต้องหาอิเล็กตรอนเพื่อมาทำให้เกิดความเสถียร ดังนั้นจึงไปแย่งอิเล็กตรอนจากสารอื่นเพื่อมาทดแทน สารอื่นที่ถูกแย่งอิเล็กตรอนมาก็กลายเป็นสารที่สร้างปัญหา เนื่องจากจะต้องไปแย่งเอาอิเล็กตรอนมาทดแทนเช่นเดียวกัน อนุมูลอิสระมีทั้งเป็นกลางทางไฟฟ้า และอนุมูลในสภาวะที่มีประจุไฟฟ้า เช่น อนุมูล $A^{\cdot}$ อนุมูล $A^{-\cdot}$ และ อนุมูล $A^{+\cdot}$ ดังนั้นจึงเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ขึ้นต่อเนื่อง อนุมูลอิสระจะมีอายุสั้นมาก จึงจัดเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี โมเลกุลดังกล่าวนี่แหละเป็นตัวก่อเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ในร่างกาย ซึ่งการเผาผลาญอาหารประเภทเนื้อสัตว์จะมีของเสียที่เรียกว่าอนุมูลอิสระเป็นจำนวนมาก (อนันต์ สกุลกิม. 2551; Lobo *et al.* 2010) การเกิดอนุมูลอิสระมีหลายกลไกที่แตกต่างกันดังนี้

1) การแตกหักของพันธะโควาเลนท์แบบไมโอไลซิส

$$A : B \longrightarrow A^{\cdot} + B^{\cdot}$$

2) การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัวให้แก่อะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า

$$A + e^{-} \longrightarrow A^{-\cdot}$$

3) การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัวจากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า

$$A \longrightarrow A^{+\cdot} + e^{-}$$

อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องในทางชีววิทยา สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species: ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (Reactive Nitrogen Species: RNS) และกลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive chlorine species: RCS) เป็นต้น (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ. 2550)

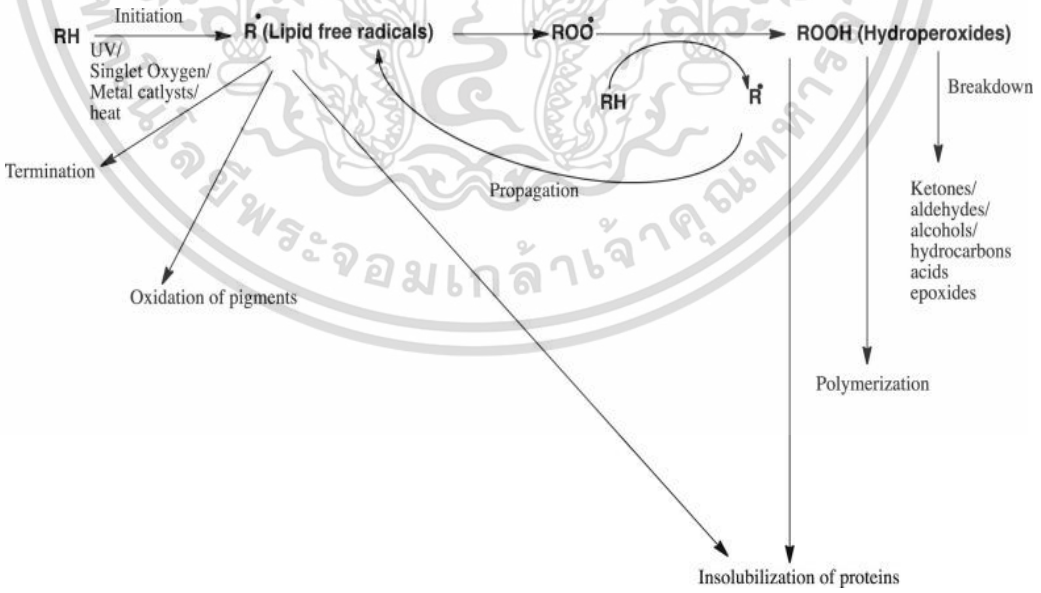
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ (sources of free radical)

การเกิดอนุมูลอิสระสามารถเกิดได้ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ จะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจน เกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์ หรือจากกระบวนการเมทาบอลิซึม (metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจนทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุลกลายเป็นอนุมูลอิสระ และว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามาก และสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และส่งผลต่อการออกซิเดชันของโปรตีน กรดนิวคลีอิก และไขมัน (บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556; Mohammed *et al.* 2015)

2.6.3 การออกซิเดชันของไขมัน (lipid oxidation)

การหืน (racidity) ในเนื้อสัตว์เกิดเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid oxidation) มากกว่าปฏิกิริยาไฮโดไลซีสของไขมัน (lipid hydrolysis) ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถเกิดขึ้นเอง เรียกว่าออโตออกซิเดชัน (autoxidation) โดยส่วนใหญ่จะเกิดที่พันธะคู่ของไขมันไม่อิ่มตัว (PUFAs) ซึ่งมีผลทำให้เกิดกลิ่นรสไม่พึงประสงค์ ลดการยอมรับด้านประสาทสัมผัส เช่น สี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส ลดคุณค่าทางโภชนาการ และทำให้อายุการเก็บรักษาสั้นลง (De Almeida *et al.* 2015; Shahidi and Ambigaipalan. 2015) ดังแสดงในภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 ปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันของไขมันไม่อิ่มตัว (RH)

ที่มา: Shahidi and Ambigaipalan. (2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.3.1 ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเอง (autoxidation)

การเกิดออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือ

1) ระยะเหนี่ยวนำเริ่มต้น (initiation) เป็น ระยะที่กรดไขมันแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระโดยมีความร้อน แสง รังสี อิออนของโลหะหรือฮีม (heam) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งเกิดอนุมูลอัลคิล (alkyl radical, $R^{\cdot}$) ดังสมการ

$$RH + O_2 \longrightarrow R^{\cdot} + H^{\cdot}$$

2) ระยะเพิ่มจำนวน (propagation) เป็นระยะที่อนุมูลอัลคิลทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซี่ (peroxy radical) แล้วทำปฏิกิริยาต่อกับกรดไขมันเกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydro peroxide) และอนุมูลอิสระ ซึ่งถ้ามีแสงและความร้อนเป็นตัวเร่งก็จะเกิดปฏิกิริยาต่อทำให้อนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น แล้วอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นก็สามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนใหม่ได้ต่อเนื่องไปเรื่อยๆ แบบลูกโซ่ ดังสมการ

$$R^{\cdot} + O_2 \longrightarrow ROO^{\cdot}$$

$$ROO^{\cdot} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\cdot}$$

3) ระยะสิ้นสุด (termination) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นรวมตัวกันกลายเป็นโมเลกุลที่เสถียร ดังสมการ

$$R^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow RR$$

$$RO^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow ROR$$

$$RO^{\cdot} + RO^{\cdot} \longrightarrow ROOR$$

$$ROO^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow ROOR$$

$$ROO^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow \text{various product}$$

ในระหว่างที่มีการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน คุณภาพของส่วนไขมันจะค่อยๆเสื่อมสภาพลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น (เจนจิรา จิรัมย์ และ ประสงค์ สีหานาม. 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.4 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระคือสารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้ สารเหล่านี้มีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น ดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับกับโลหะ เพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ (อธิป สกุลเผือก. 2559; Lobo *et al.* 2010) คุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี ได้แก่ ต้องไม่มีโทษต่อร่างกาย ไม่ทำให้ไขมัน น้ำมัน หรืออาหารที่เติมสารต้านออกซิเดชันมีสี กลิ่น และรสชาติเปลี่ยนไป ให้ผลในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ความเข้มข้นต่ำ ละลายได้ดีในไขมันและน้ำมัน ทนต่อกระบวนการแปรรูปอาหาร นอกจากนี้ยังต้องหาซื้อได้ทั่วไปและมีราคาถูก บทบาทสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ คือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆของมนุษย์ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมคุณภาพในอาหาร ปัจจุบันองค์กรที่เกี่ยวข้องในอุตสาหกรรมอาหารและยา ได้พยายามพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติเช่น สาหร่ายทะเล แบคทีเรีย เชื้อรา และพืชชั้นสูง (ประสงค์ เทียนบุญ. 2553; เจนจิรา จิรัมย์ และ ประสงค์ สีหานาม. 2554)

อย่างไรก็ตามในภาวะปกติร่างกายของคนเราจะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระอยู่แล้วซึ่งแบ่งออกเป็นสองส่วน คือ ส่วนแรกเกิดจากร่างกายสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุล เช่น superoxide dismutases (SODs), catalases และ glutathione peroxidases และส่วนที่สองคือ กลุ่มของสารต้านอนุมูล อิสระที่มาจากวิตามินเอ ซี อี หรือเบต้าแคโรทีน (β-carotinoid) รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งเป็นพฤษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้ เพื่อเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบการต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายให้มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดียิ่งขึ้น (จันทนา ไพรบูรณ์ และ อนงค์ จีรภัทร์. 2555; บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556) สารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายมีหน้าที่คอยควบคุมอนุมูลอิสระต่างๆ ให้อยู่ในระดับพอเหมาะ แต่ถ้าเมื่อใดที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นใน ปริมาณมากเกินกว่าที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมด จะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “oxidative stress” ขึ้นภายใต้สภาวะดังกล่าวอนุมูลอิสระจะทำอันตรายต่อ อวัยวะและเนื้อเยื่อต่างๆ ของรางก่าย ซึ่งถ้าสะสมมากๆ อาจนำไปสู่ความผิดปกติหรือพยาธิสภาพหลายอย่าง (เจนจิรา จิรัมย์ และ ประสงค์ สีหานาม. 2554)

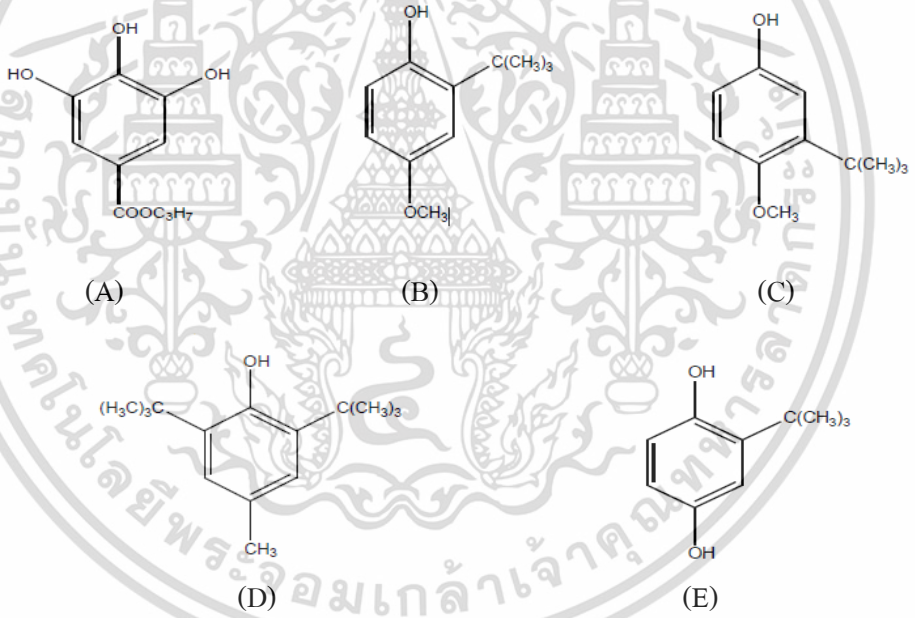
2.6.4.1 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ (sources of antioxidant)

1) สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์และได้รับอนุญาตให้ใช้ในอาหาร ประเภทเนื้อสัตว์ได้แก่ บิวทิลเลตไฮดรอกซีโทลูอีน หรือบีเอชที (butylated hydroxytoluene, BHT) สารบิวทิลเลตไฮดรอกซิลอะนิโซล หรือบีเอชเอ (butylated hydroxyanisole, BHA) เทอทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บิวทิลไฮโดรควิโนน หรือทีบีเอสคิว (2-tert-butylhydroxiquinone, TBHQ) โพรพิลแกลเลต (propyl gallate, PG) และโปรเพล (propyl) ดังแสดงในภาพที่ 2.3 (Kim *et al.* 2013; Cheng *et al.* 2017) สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถชะลอเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้ชะลอการเสื่อมคุณภาพของอาหาร เช่น การหืนทำให้อาหารมีสีผิดปกติ กลิ่น รส และลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารเปลี่ยนแปลงไป คุณค่าทางอาหารลดลง และบางครั้งอาจมีสารที่เป็นอันตรายต่อร่างกายเกิดขึ้นด้วย สารสังเคราะห์เหล่านี้มีประสิทธิภาพและความคงตัวสูงกว่าสารสกัดจาก ธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัดของการใช้เนื่องจากปัญหา ด้านความปลอดภัยในการบริโภค (Gülçin. 2012; Shebis *et al.* 2013) อย่างไรก็ตาม ผู้บริโภคยังมีความกังวลเกี่ยวกับความปลอดภัย ของการใช้สังเคราะห์ดังกล่าว ปัจจุบันจึงมีการหันมาเลือกใช้ สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติมากขึ้น เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติประกอบด้วยสารฟีนอลิก ซึ่งสามารถเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยการลดออกซิเดชันของไขมัน และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Zhang *et al.* 2016)



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (A) Propyl gallate, (B) 3-Butylated hydroxyanisole, (C) 2-Butylated hydroxyanisole, (D) Butylated hydroxytoluene, (E) Tertiary butyl hydroquinone

ที่มา: Gülçin. (2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants)

ปัจจุบันสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติได้รับความสนใจและมีการค้นคว้าอย่างมาก เนื่องจากผู้บริโภคมีความเชื่อมั่นเรื่องความปลอดภัยของมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้พบได้ทั้งในจุลชีพ สัตว์ และพืช ซึ่งในพืชบางชนิดมีสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ ได้แก่ แอนโทไซยานิน (anthocyanib) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เบต้าแคโรทีน (β- carotene) สารประกอบฟีโนลิก (phynolic compound) และสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (non-nutrient) ได้แก่ สารสกัดจากกานพลู (eugenol) สารสกัดจากองุ่น (resveratrol) ข่า (gingerol) และชาเขียว (epigallocatechin-3-gallate) เป็นต้น สารเหล่านี้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระทำหน้าที่ต่อต้านหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ (เจนจิรา จิรมย์ และ ประสงค์ สีหานาม. 2554; สุรางค์รัตน์ แดงจิระ. 2558; Nimse and Pal. 2015)

2.6.5 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ (mechanisms of antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภทตามลักษณะการออกฤทธิ์ คือ

2.6.5.1 สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ

เป็นสารที่หยุดปฏิกิริยาอนุมูลอิสระโดยการให้อนุมูลไฮโดรเจน ($H^{\cdot}$) หรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระโดยตรงเป็นผลให้อนุมูลนั้นกลายเป็นสารที่มีความเสถียรขึ้น ดังสมการสารออกฤทธิ์ในลักษณะดังกล่าว ได้แก่ สารประกอบกลุ่ม phenolic เช่น flavonoids, eugenol และ vanillin เป็นต้น มีรายงานว่าสารต้านอนุมูลอิสระชนิดนี้จะทำหน้าที่ได้ดีที่ความเข้มข้นต่ำๆ แต่เมื่อมีความความเข้มข้นสูงขึ้น อาจกลายเป็นสารเสริมฤทธิ์ออกซิเดชันได้

$$R^{\cdot} + AH \longrightarrow RH + A^{\cdot}$$

$$RO^{\cdot} + AH \longrightarrow ROH + A^{\cdot}$$

$$R^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow RA$$

$$RO^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow ROA$$

2.5.5.2 สารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ

สารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิมีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ เสริมฤทธิ์ และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ เป็นต้น ซึ่งแสดงรายละเอียดดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) ยับยั้งการทำงานของซิงเกล็ทออกซิเจน (singlet oxygen quenching, $^1O_2^*$) สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ สามารถยับยั้งการทำงานของซิงเกล็ทออกซิเจน โดยการเปลี่ยน ($^1O_2^*$) ให้อยู่ในรูปทริปเปร็ท (triplet oxygen, $3O_2$) และ ปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อน โดยที่แคโรทีนอยด์จำนวน 1 โมเลกุล สามารถทำปฏิกิริยากับซิงเกล็ทออกซิเจนได้ถึง 1,000 โมเลกุล

2) จับกับโลหะที่สามารถเร่งสารกลุ่มนี้ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (metal chelation) โลหะที่มีผลต่อการเกิดอนุมูลอิสระคือ Fe^{2+} และ Cu^{2+} ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ฟอสฟอริกแอซิด (phosphoric acid) และซิตริกแอซิด (citric acid) เป็นต้น สำหรับกลไกการจับโลหะของสารประกอบ ฟลาโวนอยด์

3) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) วิตามินอี (α-tocopherol; Toc-OH) สามารถป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid autooxidation) โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนจากอนุมูล peroxyl ($ROO^{\cdot}$)

4) เสริมฤทธิ์ (synergism) สารชนิดนี้จะช่วยสนับสนุนให้สารต้านอุนมูลอิสระทำงานได้ดีขึ้น เช่น การทำงานร่วมกันระหว่าง วิตามินอี (α-tocopherol) กับวิตามินซี (ascorbic acid) โดยที่วิตามินซีไม่สามารถทำงานในสภาวะไม่มีขั้ว ได้เหมือนกับวิตามินอี แต่จะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลแอลฟาโทโคฟีรอลเปอร์ออกซิล (α-tocopherol peroxyl) ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างแอลฟาโทโคฟีรอลกับอนุมูลเปอร์ออกซิล ($ROO^{\cdot}$) เพื่อเปลี่ยนรูปกลับไปเป็นแอลฟาโทโคฟีรอลที่สามารถทำงานได้อีกครั้ง

5) ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (enzyme inhibition) สารประกอบ ฟีนอลิก บางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และแกลเลต สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ลิโพออกซีจีเนส (lipoxygenase) โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ส่งผลให้เอนไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้ (เจนจิรา จิรมย์ และ ประสงค์ สีหานาม. 2554; อธิป สกุลเผือก. 2559; Nimse and Pal. 2015)

2.6.6 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity determination)

วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ ซึ่งแต่ละวิธีมีความจำเพาะแตกต่างกัน โดยปกติมักใช้หลายวิธีร่วมกันในการตรวจสอบและสรุปผล ซึ่งในงานวิจัยครั้งนี้ใช้วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณเนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็วในการทดสอบ ซึ่งจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือจากค่าการดูดกลืนแสง (บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556)

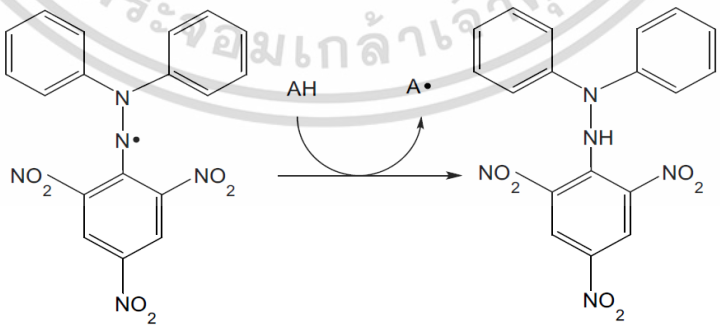
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.6.1 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณเป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่างๆ การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระหาได้จากอัตราส่วนของการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน (เช่น trolox, vitamin C และ ferrous sulfate) หน่วยของการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณแสดงได้ 2 แบบ คือ แบบปริมาณความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในตัวอย่าง ซึ่งค่าตัวเลขสูงก็แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และแบบปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลง 50 % (IC_{50}, 50 % of inhibitory concentration)โดยค่าตัวเลขต่ำแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ทั้งสองแบบสามารถแสดงหน่วยได้หลากหลาย ได้แก่ µM/mg, mM/mg, µM/mL, mM/mL เป็นต้น วิธีที่นิยมได้แก่ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ($DPPH^{\cdot}$) วิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส ($ABTS^{\cdot+}$) เป็นต้น(เจนจิรา จิรมย์และ ประสงค์ สีหานาม. 2554; บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556)

1) การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (diphenylpicryhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay)

เป็นวิธีทดสอบทางเคมีโดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระในที่นี้ก็คืออนุมูลอิสระดีพีพีเอช ($DPPH^{\cdot}$, diphenyl-picryhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปกโตโฟโตรมิเตอร์ (spectrophotometer) ซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา เมื่อ $DPPH^{\cdot}$ ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอล (สารที่ให้อิเล็กตรอน) จะทำให้สีม่วงจางลง จนเป็นสีเหลือง (DPPH-H) (Luo *et al.* 2007; Slima *et al.* 2017) ดังภาพที่ 2.4



$DPPH^{\cdot}$ (สีม่วง) DPPH-H (สีเหลือง)

ภาพที่ 2.4 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของอนุมูล DPPH กับสารต้านอนุมูลอิสระ

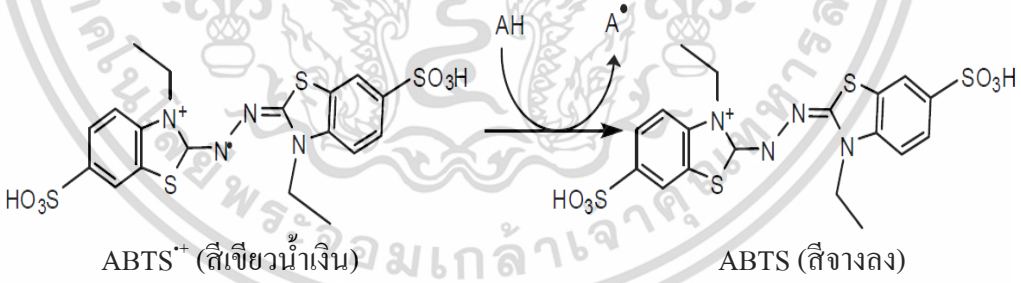
ที่มา: ปวีนา พันทอง. (2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อดีของวิธีนี้ คือ ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ส่วนข้อเสีย คือ DPPH˙ ค่อนข้างเสถียรไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง ไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือดได้ เพราะต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งทำให้โปรตีนตกตะกอนได้ อีกทั้งสารปนเปื้อนและโลหะจะรบกวน (interfere) ซึ่งสามารถเป็นตัวรีดิวซ์แล้วทำให้สีของอนุมูลอิสระ DPPH˙ จางลงได้เช่นกัน (บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556; สุรางค์รัตน์ แดงจิระ. 2558)

2) การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS radical cation decolorization assay)

เป็นวิธีการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส ABTS [2,2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical] เป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงินสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร การทำให้เกิด ABTS cation radical โดยใช้สารเคมี เช่น manganese dioxide และ potassium persufate เป็นต้น เนื่องจากสีของ $ABTS^{\bullet+}$ ปกติจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูง จึงต้องทำการเจือจาง $ABTS^{\bullet+}$ ด้วยเอทานอล จากนั้นนำ $ABTS^{\bullet+}$ ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง และตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา จึงสามารถหาความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ (Kim and Lee. 2009; Mi *et al.* 2016) ดังภาพที่ 2.5



$ABTS^{\bullet+}$ (สีเขียวน้ำเงิน) ABTS (สีจางลง)

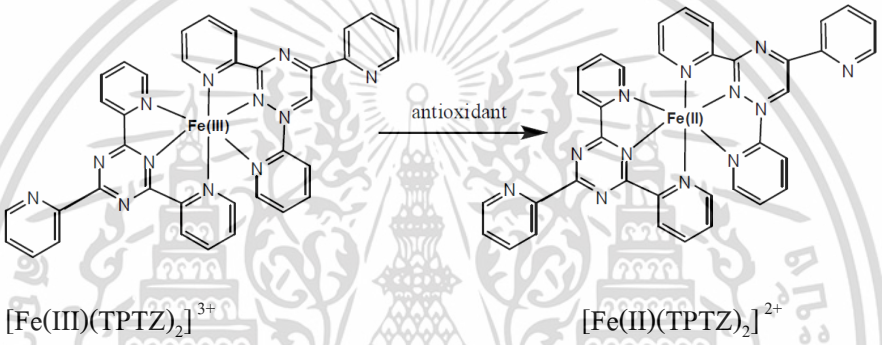
ภาพที่ 2.5 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของอนุมูล ABTS กับสารต้านอนุมูลอิสระ
ที่มา: ปวีนา พันทอง. (2559)

ข้อดีของวิธีการนี้ คือ $ABTS^{\bullet+}$ ละลายได้ดีในน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ จึงทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง ส่วนข้อเสีย คือ $ABTS^{\bullet+}$ ไม่ใช่สารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและต้องมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ (บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556; Slima *et al.* 2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์สาร (reducing power)

เป็นวิธีการวัดความสามารถในการรีดิวซ์สาร และตรวจความสามารถในการต้านการออกซิเดชัน โดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อน คือเมื่อสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$ สีเหลือง ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชัน แล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$ สีเขียว ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิที่ไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระ แต่จะช่วยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิโดยจับกับเหล็ก (Fe) ที่จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Vijayalakshmi and Ruckmani. 2016) ดังภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 กลไกการรีดิวซ์สาร $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$ ไปเป็น $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$
ที่มา: ปวีนา พันทอง. (2559)

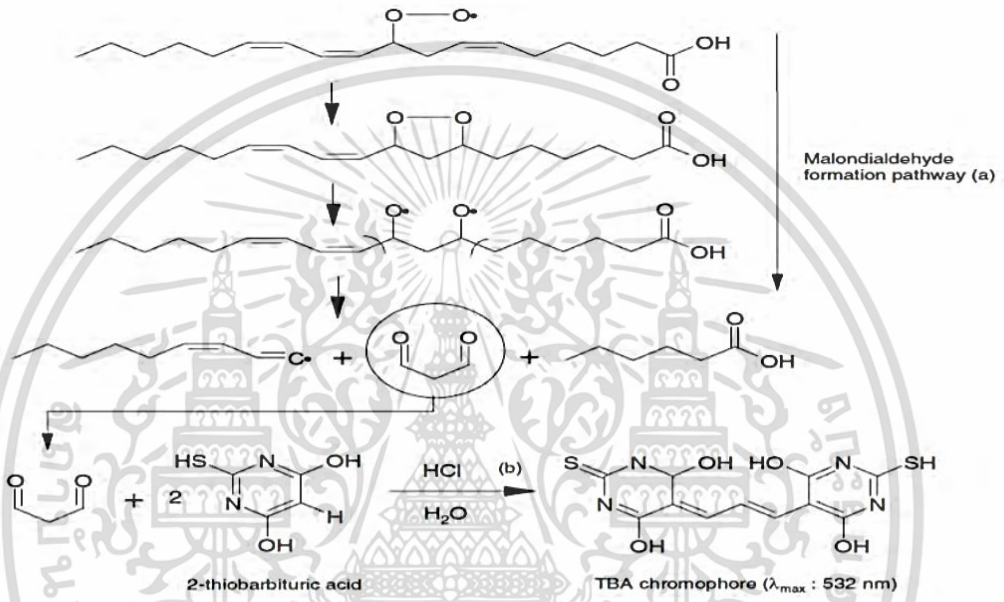
4) การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (total phenolic content)

เป็นการวัดปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบทั้งหมดที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ในโมเลกุล โดยไม่คำนึงถึงน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกนั้น ๆ ดังนั้นการวิเคราะห์ในรูปแบบนี้จึงไม่มีการระบุชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง โดยหลักการคือสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดทำปฏิกิริยากับ folin-ciocalteu reagent ซึ่งประกอบด้วย phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents สารดังกล่าวจะถูกรีดิวซ์โดย phenolic hydroxyl groups ของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเกิดเป็น phosphotungstic-phosphomolybdic complex ซึ่งมีสีน้ำเงินและสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยเปรียบเทียบจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (จันทนา ไพรบูรณ์ และ อนงค์ จีรภัทร์. 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.7 การวิเคราะห์ออกซิเดชันของไขมัน (thiobarbituric acid reactive substances: TBARS)

เป็นการทดสอบกลไกการต้านการออกซิเดชันของไขมันชนิดไม่อิ่มตัว โดยสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde: MDA) ซึ่งเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่กับกรดไทโอบาบิทูริก (thio barbituric acid: TBA) ได้เป็น MDA-TBA adduct ที่มีสีชมพู และนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 520 nm (Ghani *et al.* 2017) ดังภาพที่ 2.7



ภาพที่ 2.7 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการวิเคราะห์ TBARS และการเกิดปฏิกิริยา thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde: MDA) กับกรดไทโอบาบิทูริก (thiobarbituric acid: TBA)
ที่มา: ฤดีมาศ พุ่มกล่ำ. (2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 สารทดสอบ

3.1.1 น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม

น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร. กฤตพร รำจวนเกียรติ คณะเทคโนโลยีชีวภาพ วิทยาลัยนวัตกรรมเกษตร เทคโนโลยีชีวภาพ และอาหาร มหาวิทยาลัยรังสิต

โดยกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักแบ่งออกเป็น 2 กระบวนหลัก ๆ ดังนี้

1) กระบวนการหมักเอทานอล (alcoholic fermentation) เตรียมโดยนำมะยมมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า ผึ่งให้แห้ง จากนั้นจึงนำมาปั่นให้ละเอียด กรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วนำมาผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:1 ต้มให้เดือดเป็นเวลานาน 15 นาที วัดความหวานเริ่มต้นแล้วปรับความหวานให้เป็น 22 °Brix โดยใช้น้ำตาลทราย จากนั้นต้มให้เดือดอีกครั้งแล้วบรรจุลงในขวดหมักขณะยังร้อน ปิดฝาขวดด้วยจุกสำลี ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องข้ามคืน เติมกล้าเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่เลี้ยงด้วยอาหาร yeast malt extract broth ลงไปในขวดน้ำมะยม 10% ใช้เวลาในการหมัก 24 วัน โดยวัดปริมาณแอลกอฮอล์ ค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix) และค่า pH จากผลการทดลองพบว่ามีปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดเท่ากับ 11.8% ในขณะที่มีค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเริ่มต้นที่ 22 °Brix เมื่อวันที่ 24 ลดเหลือเพียง 5.9 °Brix ส่วนค่า pH จะลดลงในช่วงวันที่ 1-2 หลักจากนั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เมื่อวันที่ 24 จะมีค่า pH เท่ากับ 3.13 ซึ่งจะเรียกผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการหมักแอลกอฮอร์ว่า “น้ำส่า” (ประวีณา ลาภา. 2554)

2) กระบวนการหมักกรดน้ำส้ม (acetification) กระบวนการนี้จะเป็นการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้กลายเป็นกรดอะซิติ ด้วยวิธีการหมักแบบกึ่งกะ (Fed-Batch fermentation) โดยใช้กล้าเชื้อ *Acetobacter acetic* TISTR 354 เป็นกล้าเชื้อในกระบวนการหมัก เป็นเวลา 9 วัน เมื่อวัดปริมาณกรดอะซิติก ปริมาณแอลกอฮอล์และค่า pH พบว่าปริมาณกรดเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องซึ่งวันสุดท้ายของการหมักมีปริมาณกรดเท่ากับ 6.05% ในขณะที่ปริมาณแอลกอฮอล์และค่า pH ลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้นจากกระบวนการแรก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 11.60 % ได้ลดลงเหลือเพียง 0.35% และวันสุดท้ายของการหมักมีค่า pH เท่ากับ 2.92 (ชญาณ์พิสุทธิ์ แก้วสุวรรณ์ และคณะ. 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 สารสกัดมะยม

การสกัดสารจากผลมะยมด้วยวิธีการสกัดแบบแช่หมัก (maceration) โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย โดยนำผลมะยมมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า ผึ่งให้แห้ง จากนั้นแยกเอาเม็ดออก นำเนื้อมะยมที่ได้ไปอบที่ตู้อบอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน อบให้แห้ง การสกัดสารจากผลมะยมโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย อัตราส่วนของมะยมกับตัวทำละลาย 1 : 9 จากนั้นนำไปแช่ที่ตู้ควบคุมความเย็น 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน และทำการเขย่า 3-4 ครั้งต่อวัน เมื่อครบ 3 วัน นำสารมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 93 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่า ร้อยละของผลผลิต (%yield) เท่ากับ 78.50 และสารสกัดจะมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม จากนั้นเก็บสารสกัดที่ได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป (กิตติพัฒน์ โสภิตธรรมคุณ และ ปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลชาญ. 2560)

3.2 แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

แบคทีเรียทดสอบ โดยแบคทีเรียทดสอบ ได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ. ดร. คมแข พิลาสมบัติ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยคัดแยกเชื้อแบคทีเรียมาจากเนื้อหมูและเนื้อไก่ จำนวนทั้งหมด 15 สปีชีส์ (Somsri *et al.* 2017) ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แบคทีเรียทดสอบ อาหารที่ใช้เลี้ยง และอุณหภูมิสำหรับการเจริญของแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรีย	อาหาร	อุณหภูมิ (°C)
แบคทีเรียที่คัดแยกจากเนื้อหมู		
แบคทีเรียก่อโรค		
Escherichia coli	NB	37
Staphylococcus aureus	NB	37
Salmonella spp.	NB	37
แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย		
Citrobacter freundii	NB	37
Aeromonas. caviae	NB	37
Acinetobacter. baumannii	NB	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 (ต่อ) แบคทีเรียทดสอบ อาหารที่ใช้เลี้ยง และอุณหภูมิสำหรับการเจริญของแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรีย	อาหาร	อุณหภูมิ (°C)
แบคทีเรียที่คัดแยกจากเนื้อไก่		
แบคทีเรียก่อโรค		
Klebsiella pneumoniae	NB	37
Staphylococcus epidermidis	NB	37
Salmonella spp.	NB	37
แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย		
Proteus mirabilis	NB	37
แบคทีเรียมาตรฐาน		
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442	TSB-0.6% YE	37
Pseudomonas fluorescens JCM 5963^{T}	TSB-0.6% YE	37
Escherichia coli O157:H7	TSB-0.6% YE	37
Staphylococcus aureus TISTR 118	TSB-0.6% YE	37
Salmonella enterica serovar Enteritidis DMST 17368	TSB-0.6% YE	37

ATCC = American Type Culture Collection, Rockville, Md

JCM = Japan Culture of Microorganisms, Wako, Japan

TISTR = Thailand Institute of Scientific and Technological Research, Thailand

DMST = DMST Culture Collection, Thailand

TSB = Tryptic Soy Broth

NB = Nutrient broth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1) เครื่องบดเนื้อ (Biro model 346-3, USA)

2) ตู้อบลมร้อน (Binder, Model FD 115, Germany)

3) เครื่องชั่งชนิดหยาบ (Tanita model 1144, Japan)

4) เครื่องชั่งชนิดละเอียด (Sartorius, Basic, Germany)

5) ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Laminar Flow (Dwyer model merk II, USA)

6) ตู้บ่มเพาะเชื้อจุลินทรีย์ (WTB Binder model BD, Germany)

7) ตู้อบเครื่องแก้ว (Memmert model CM500, Germany)

8) หม้อนึ่งความดันสำหรับฆ่าเชื้อ (Hirayama model HVE 50, Japan)

9) อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath, Memmert, Germany)

10) เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง (Vortex Mixer KMC-1300V, Korea)

11) ไมโครเวฟ (Toshiba model ER-G8C, Thailand)

12) เครื่องวัดค่า กรด-ด่าง (Mettler Toledo medel SG-2, Switzerland)

13) ปิเปต ขนาด 100, 200 และ 1000 µl (Finnpipette F3, USA)

14) เตาย่าง (Homemate model HOM-112371, Thailand)

15) เครื่องสับอาหาร (Bosch model MMR08R2, Thailand)

16) เครื่องวัดค่าสีของเนื้อ (Hunterlab Mini Scan EZ LVA, USA)

17) เครื่อง Homogenizer (Ultra tarrax model IKA T25 digital, Germany)

18) เครื่องกลั่นโปรตีน (Gerhardt model Vapodest 30, Germany)

19) เครื่องปั่นเหวี่ยง (Beckman Coulter model Avanti J-E, USA)

20) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (GENESYS 20, Thermo Scientific, USA)

21) เครื่องตีป่นไฟฟ้า (Stomacher Bag Mixer 400 model VW, France)

22) เครื่องบรรจุสุญญากาศ (Ramon, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี

1) Agar (Criterion, USA)

2) Alcohol (Scharlau Chemie S. A., Spain)

3) Chromocult (Merck, Germany)

4) Di-Sodium hydrogen orthophosphate (Na_2HPO_4) (Sigma, Germany)

5) Folin-Ciocalteu regent (VER, France)

6) Gallic acid (Sigma, Germany)

7) Kovac's indole reagent (Merck, Germany)

8) L-ascorbic acid (Sigma, China)

9) Plate count agar (Merck, Germany)

10) Potassium hydroxide (KOH) (Sigma, Germany)

11) Potassium ferricynide [$K_3Fe(CN)_6$] (Sigma, Germany)

12) Potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) (Unilab, New Zealand)

13) Salmonella-Shigella (SS) agar (Merck, Germany)

14) Selenite cysteine broth (SCB) (Merck, Germany)

15) Sodium Chloride (NaCl) (Merck, Germany)

16) Sodium carbonate (Na_2CO_3) (Sigma, Germany)

17) Sodium dihydrogen phosphate anhydrous (NaH_2PO_4) (Unilab, New Zealand)

18) Sodium hydroxide (NaOH) (Sigma, Germany)

19) Tetrathionate broth (TTB) (Merck, Germany)

20) Trichloroacetate acid, Iron (III) chloride ($FeCl_3$) (Unilab, New Zealand)

21) Trichloroacetic acid (TCA) (Merck, Germany)

22) Tryptic soy broth (TSB) (Merck, Germany)

23) Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar (Merck, Germany)

24) 1,1,3,3 – Tetraethoxypropane (Sigma, Germany)

25) 2 – Thiobarbituric acid (TBAR) (Sigma, Germany)

26) 2,2-diphenyl-1-picryhydrazla hydrate (DPPH) (Sigma, Germany)

27) 2,2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) (Sigma, Canada)

28) 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (butylated hydroxytoluene: BHT) (Acros, Belgium)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการทดลองครั้งนี้แบ่งเป็น 3 การทดลอง ดังนี้

วัตถุประสงค์	กิจกรรม
การทดลองที่ 1 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และการต้านจุลินทรีย์ของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม	1.1 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ - DPPH radical scavenging assay - ABTS radical cation decolonization assay - reducing power - total phenolic compound 1.2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ 1.2.1 ศึกษาคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี agar well diffusion 1.2.3 ศึกษาการมีชีวิตรอดของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเมื่อสัมผัสกับสารสกัดจากผลมะยม (*In vitro*)
การทดลองที่ 2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลมะยม	2.1 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ - DPPH radical scavenging assay - ABTS radical cation decolonization assay - reducing power - total phenolic compound 2.2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ 2.2.1 ศึกษาคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี agar well diffusion 2.2.2 ศึกษาการมีชีวิตรอดของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเมื่อสัมผัสกับสารสกัดจากผลมะยม (*In vitro*)
การทดลองที่ 3 ศึกษาการนำน้ำส้มสายชูหมัก และสารสกัดจากผลมะยมมาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ ต่อคุณภาพและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ	3.1 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำส้มสายชูหมัก สารสกัดจากผลมะยม และการใช้ร่วมกันในการผลิตไส้กรอกสดรสต้มยำ โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส ดังนี้ - ลักษณะปรากฏ - กลิ่นและรสเปรี้ยว - ลักษณะเนื้อสัมผัส - ความชอบโดยรวม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	โดยใช้ผู้ทดสอบชิมเป็นกลุ่มนักศึกษา อาจารย์และผู้บริโภคทั่วไปจำนวน 30 คน โดยมีช่วงการให้คะแนนความพึงพอใจ 7 ระดับ (7-point hedonic scale) 3.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ แช่เย็นที่ 4 องศา เป็นเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน ดังนี้ 3.2.1 ทดสอบคุณสมบัติทางด้านกายภาพในไส้กรอกดิบ ได้แก่ - ค่าสี CIE (L*a* และ b*) 3.2.2 ทดสอบคุณสมบัติทางด้านเคมี ในไส้กรอกสุก ได้แก่ - ค่าความเป็นกรด-ด่าง - DPPH radical scavenging assay - ABTS radical cation decolorization assay - reducing power - TBARS 3.2.3 ทดสอบคุณสมบัติทางด้านชีวภาพในไส้กรอกดิบ ได้แก่ - Total plate count - Psychotropic - Coliforms และ *E. coli* - *S. aureus* - *Salmonella* spp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.5.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และการต้านจุลินทรีย์ของน้ำส้มสายชูหมัก

3.5.1.1 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

1) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging assay ตามวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีการของ Ebrahimzadeh *et al.* (2010)

น้ำกลั่นปริมาตร 2 ml ผสมกับสารละลาย 100 µM DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ปริมาตร 2 ml ที่เตรียมจากเอทานอล (A) เอทานอลปริมาตร 2 ml ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 2 ml (B) นำตัวอย่าง SGV ปริมาตร 2 ml ที่เจือจางแล้วในแต่ละความเข้มข้น ผสมกับสารละลาย DPPH ปริมาตร 2 ml (C) และตัวอย่าง SGV ปริมาตร 2 ml ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 2 ml (D) บ่มในที่มืดอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และนำมาคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สูตรคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (%) = [(A-B) – (C-D) / (A-B)] x 100

โดยกำหนดให้

A = ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับ SGV

B = ค่าดูดกลืนแสงของเอทานอลหรือน้ำกลั่น

C = ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ทำปฏิกิริยากับ SGV

D = ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดในเอทานอลหรือน้ำกลั่น

คำนวณค่า IC_{50} จากกราฟระหว่างค่า log ของความเข้มข้น และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อหาความสัมพันธ์และสมการเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและค่า regression

2) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS radical cation decolorization assay ตามวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีการของ Ullaha *et al.* (2017)

เตรียมสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ (7 mM ABTS และ 2.45 mM potassium persulfage) นำไปเก็บในที่มืด เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง แล้วปรับความเข้มข้นให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 0.7 ± 0.02 ที่ 734 nm ด้วยเอทานอล จากนั้นนำน้ำกลั่นปริมาตร 0.3 ml ผสมกับสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ปริมาตร 3 ml ที่ (A) เอทานอลปริมาตร 3 ml ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 0.3 ml (B) นำตัวอย่าง SGV ปริมาตร 0.3 ml ที่เจือจางแล้วในแต่ละความเข้มข้น ผสมกับสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ปริมาตร 3 ml (C) และตัวอย่าง SGV ปริมาตร 0.3 ml ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 3 ml (D) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และนำไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบ นำไปคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สูตรคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (%) = [(A-B) – (C-D) / (A-B)] x 100

โดยกำหนดให้

A = ค่าดูดกลืนแสงของ ABTS ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับ SGV

B = ค่าดูดกลืนแสงของเอทานอลหรือน้ำกลั่น

C = ค่าดูดกลืนแสงของ ABTS ที่ทำปฏิกิริยากับ SGV

D = ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดในเอทานอลหรือน้ำกลั่น

คำนวณค่า IC_{50} จากกราฟระหว่างค่า log ของความเข้มข้น และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อหาความสัมพันธ์และสมการเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและค่า regression

3) ทดสอบความสารถในการรีดิวซ์สาร โดยวิธี reducing power ตามวิธีการของ Shahdadi *et al.* (2015)

เจือจางตัวอย่าง SGV แต่ละความเข้มข้นลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 1 ml เติม 200 mM ของสารละลาย phosphate buffer pH 6.6 ปริมาตร 2.5 ml และสารละลาย 1 % ของ potassium ferriccyanide ปริมาตร 2.5 µl นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ใน water bath เติม 10 % ของ TCA ปริมาตร 2.5 ml จากนั้นนำไป ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายใสปริมาตร 2.5 ml เติมน้ำกลั่น 2.5 ml และเติม 0.1 % ferric chloride ปริมาตร 0.5 ml บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร

4) การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (total phenolic content) ตามวิธีการของ Ebrahimzadeh *et al.* (2010)

ในตัวอย่าง SGV ที่เจือจางแล้วในแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 1 ml ผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 ml ในหลอดทดลอง ทิ้งไว้เป็นเวลาประมาณ 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7.5% ปริมาตร 4 ml บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นจึงนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 765 nm ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยเปรียบเทียบจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.1.2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์

1) ศึกษาคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี agar well diffusion ตามวิธีของ (Zhang *et al.* 2016)

- วิธีการเตรียมจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบได้จากห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์ โดยทำการจัดเก็บ stock culture ไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการนำมาทดลอง นำ stock culture มาละลายน้ำแข็ง และทำการเจริญบนอาหารที่เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิด เป็นเวลา 22-24 ชั่วโมง เพื่อให้อยู่ใต้สภาวะ late log phase (non-stressed cell) จากนั้นเตรียมสารละลายแบคทีเรียให้มีความเข้มข้นแบคทีเรีย 10^8 cfu/ml (เปรียบเทียบกับ McFarland standard of 0.5) แล้วนำมาเจือจางให้มีความเข้มข้นของแบคทีเรียประมาณ 10^5 cfu/ml แล้วนำไปใช้ในการทดลอง

- ศึกษาการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของสารสกัดด้วยวิธี agar well diffusion โดยทำการเจือจาง SGV แบบ two fold dilution ที่ความเข้มข้น 5.0 2.5 1.25 0.625 0.031 และ0.015%กรดอะซิติก นำ sterile cotton จุ่มในสารละลายแบคทีเรียและ swab บนจานอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ เจาะหลุมด้วย cork-borer (เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm) ปิเปตสารสกัดลงในหลุมปริมาตร 100 µl บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมของเชื้อทดสอบ เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในหน่วยเซนติเมตร (รวมกับเส้นผ่านศูนย์กลางของหลุม) เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ศึกษาเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค และแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ดังตารางที่ 3.1

2) ศึกษาการมีชีวิตรอดของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเมื่อสัมผัสกับน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม *(In vitro)* ตามวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีการของ (Dansi and Krusong. 2011)

- การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ เชื้อที่นำมาทดสอบ ได้แก่ *E. coli* และ *S. aureus* วิธีการเตรียมจุลินทรีย์โดยทำการจัดเก็บ stock culture ไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการนำมาทดลอง นำ stock culture มาละลายน้ำแข็ง และทำการเลี้ยงเชื้อให้เจริญบนอาหารที่เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิด เป็นเวลา 22-24 ชั่วโมง เพื่อให้อยู่ใต้สภาวะ late log phase (non-stressed cell) จากนั้นเตรียมสารละลายแบคทีเรียให้มีความเข้มข้นแบคทีเรียประมาณ 10^8 cfu/ml (เปรียบเทียบกับ Mcfarland standard of 0.5) จากนั้นนำมาเจือจางให้มีความเข้มข้นของแบคทีเรียประมาณ 10^6 cfu/ml แล้วนำไปใช้ในการทดลอง

- ทดสอบผลของน้ำส้มสายชูหมักต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *(In vitro)* โดยเลือกความเข้มข้นสุดท้ายที่สามารถยับยั้งเชื้อได้จากวิธี agar well diffusion ตรวจสอบเชื้อที่เหลือรอดในระยะเวลา 0, 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง และเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมโดยปิเปตเชื้อปริมาตร 2 ml ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อและตัวอย่าง SGV ปริมาตร 18 ml ในแต่ละเวลาตัวอย่างปริมาตร 1 ml ออกมาเจือจางด้วยสารละลายเปปโตน 0.1 % ปริมาตร 9 ml ให้ได้ระดับความเข้มข้นที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหมาะสม นับปริมาณเชื้อโดยวิธี spread plate บนอาหาร และนำไปบ่มตามอุณหภูมิที่เหมาะสมของแบคทีเรีย นำมาตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 30-300 โคโลนี ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อหนึ่งความเข้มข้น

3.5.1.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design : CRD) ทำ 3 ซ้ำโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี duncan's multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรม SAS

3.5.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลมะยม

3.5.2.1 ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (ตามวิธีของการทดลองที่ 1)

1) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging assay ตามวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีการของ Ebrahimzadeh *et al.* (2010) รายละเอียดดังข้อ 3.5.1.1

2) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS radical cation decolorization assay ตามวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีการของ Ullaha *et al.* (2017) รายละเอียดดังข้อ 3.5.1.1

3) ทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์สาร โดยวิธี reducing power ตามวิธีการของ Shahdadi *et al.* (2015) รายละเอียดดังข้อ 3.5.1.1

4) การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (total phenolic content) ตามวิธีการของ Ebrahimzadeh *et al.* (2010) รายละเอียดดังข้อ 3.5.1.1

3.5.2.2 ศึกษาคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ (ตามวิธีของการทดลองที่ 1)

1) ศึกษาคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี agar well diffusion ตามวิธีของ (Zhang *et al.* 2016) โดยทำการเจือจาง SGE ที่ความเข้มข้น 100 50 25 12.5 6.25 mg/ml รายละเอียดดังข้อ 3.5.1.2

2) ศึกษาการมีชีวิตรอดของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเมื่อสัมผัสกับสารสกัดจากผลมะยม *(In vitro)* ตามวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีการของ (Dansi and Krusong. 2011) รายละเอียดดังข้อ 3.5.1.2

3.5.2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design : CRD) ทำ 3 ซ้ำโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี duncan's multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรม SAS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาการนำน้ำส้มสายชูหมัก และสารสกัดจากผลมะยมมาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ ต่อคุณภาพและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

3.5.3.1 การผลิตไส้กรอกสดรสต้มยำ

ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสำหรับประเทศไทย ลักษณะไส้กรอกสดที่นิยมบริโภค เช่น ไส้อั่ว เป็นต้น ในงานวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยสนใจไส้กรอกสดรสต้มยำ เนื่องจาก SGV และ SGE มีคุณสมบัติเฉพาะตัวคือ รสชาติเปรี้ยว จึงเหมาะแก่การนำมาเป็นส่วนผสมเพื่อทดแทนการใช้มะนาว และเป็นการใช้ประโยชน์จากผลมะยมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด นอกจากนี้ยังเพิ่มความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ และสามารถนำไปเพิ่มมูลค่าให้กับชุมชนได้ โดยไส้กรอกสดสมุนไพรรสต้มยำมีส่วนผสมหลักดังตารางที่ 3.2 คือ เนื้อสุกรส่วนสะโพก 80% และไขมันสุกร 20% (เนื้อสุกรและไขมันสุกรที่ใช้ในการศึกษาซื้อจากบริษัทสยามแมคโคร จำกัด สาขาบางพลี) ขั้นตอนการผลิตไส้กรอกสดมีลำดับขั้นตอนดังต่อไปนี้ นำเนื้อสุกรและไขมันสุกรมาบดหยาบ จากนั้นผสมสุมนไพรและเครื่องเทศที่เตรียมไว้นวดให้เข้ากัน บรรจุลงในไส้แกะ (ขนาด 16/18 mm จากบริษัท บี.โอ.ที. จำกัด) มัดเป็นท่อนๆ แต่ละท่อนยาวประมาณ 10 cm จากนั้นนำไปย่างให้สุก และทำการทดสอบประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

ตารางที่ 3.2 ส่วนผสมของไส้กรอกสดรสต้มยำ

ส่วนผสม	น้ำหนัก (g) / ปริมาตร (ml)
เนื้อหมูบดหยาบ	800
ไขมันหมูบดหยาบ	200
เกลือ	14
น้ำตาลทราย	10
พริกเผา	80
พริกสด	10
หอมแดง	30
กระเทียม	10
ข่า	20
ตะไคร้	60
ใบมะกรูด	10
ต้นหอมผักชี	20
ผักชีฝรั่ง	10
น้ำมะนาว	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3.2 การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ตามวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Šojić *et al.* (2017)

ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำส้มสายชูหมัก สารสกัดจากผลมะยม และการใช้ร่วมกันในการผลิตไส้กรอกสด โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส ของผู้บริโภคต่อไส้กรอกสดรสต้มยำ โดยทดสอบ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่นและรสเปรี้ยว ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ประเมินโดยวิธี consumer test และได้แนบตัวอย่างแบบประเมินความพึงพอใจต่อคุณภาพไส้กรอกสดเพื่อสุขภาพ โดยใช้ผู้ทดสอบชิมซึ่งเป็นกลุ่มนักศึกษา อาจารย์ และผู้บริโภคทั่วไป จำนวน 30 คนโดยมีช่วงการให้คะแนนความพึงพอใจ 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

3.5.3.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) ทำ 3 ซ้ำโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี duncan's multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรม SPSS version 23

3.5.3.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ

1) ศึกษาคุณสมบัติทางด้านกายภาพ

- ค่าสี (CIE L*a* และ b*)

ทำการประเมินคุณภาพทางด้านสีของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดจำนวน 2 ชิ้น ขนาด 3 x 8 x 0.5 เซนติเมตร เนื่องจากเป็นขนาดที่พอดีกับรูรับแสง (aperture size) ของเครื่องวัดสี ซึ่งแต่ละตัวอย่างทดลองจะทำการวัดค่า 3 ครั้งและแสดงผลเป็นค่า L* (Lightness), a* (Redness), b* (Yellowness) ในรูปแบบ CIE ด้วยเครื่องวัดสี Colorimeter Mini Scan EZ 4000L (Hunter Lab Inc., Reston, VA, USA) ปรับเทียบค่าเครื่อง (calibrate) ด้วยแผ่นสีมาตรฐานก่อนการวัดทุกครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) ศึกษาคุณสมบัติทางด้านเคมี

- ค่าความเป็นกรดด่าง

ทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ทำการวัดค่า 3 ครั้งและบันทึกผล

- การเตรียมสารสกัดจากไส้กรอกสด ตามวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีการของ (Jung *et al.* 2010)

- การสกัดสารออกจากตัวอย่าง โดยนำไส้กรอกไปอบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นชั่งตัวอย่างไส้กรอกสด 3 g ในน้ำกลั่นปริมาตร 15 ml นำไปโฮโมจีไนท์ที่ความเร็วรอบ 9500 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 1 นาที หยดคลอโลฟอร์ม ปริมาตร 10 ml ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 4000 รอบต่อวินาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นจะได้สารละลายส่วนใส (supernatant) โดย Thippawan *et al.* (2017) ได้ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของไส้กรอกสดสำหรับการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ รายงานว่าสารละลายส่วนใสที่ได้มีการจะนำไปหาความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยทำการเจือจางที่ความเข้มข้น 20, 10, 5 และ 2.5% (W/V) สำหรับการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS และ reducing power ซึ่งความเข้มข้น 3%(W/V) เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ

- การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavening assay ตามวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีการของ (Qwele *et al.* 2013; Thippawan *et al.* (2017)

น้ำกลั่นปริมาตร 2 ml ผสมกับสารละลาย 100 µM DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ปริมาตร 2 ml ที่เตรียมจากเอทานอล (A) เอทานอลปริมาตร 2 ml ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร(B) นำสารละลายส่วนใสความเข้มข้น 3%(W/V) ปริมาตร 2 ml ที่เจือจางแล้วในแต่ละความเข้มข้น ผสมกับสารละลาย DPPH ปริมาตร 2 ml (C) และสารละลายส่วนใสความเข้มข้น 3%(W/V) ปริมาตร 2 ml ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 2 ml (D) บ่มในที่มืดอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และนำมาคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สูตรคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (%) = [(A-B) – (C-D) / (A-B)] x 100

โดยกำหนดให้

A = ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง

B = ค่าดูดกลืนแสงของเอทานอลหรือน้ำกลั่น

C = ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง

D = ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดในเอทานอลหรือน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS radical cation decolorization assay ตามวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีการของ (Ullaha *et al.* 2017; Thippawan *et al.* (2017)

เตรียมสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ (7 mM ABTS และ 2.45 mM potassium persulfage) นำไปเก็บในที่มืด เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง แล้วปรับความเข้มข้นให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 0.7 ± 0.02 ที่ 734 nm ด้วยเอทานอล จากนั้นนำน้ำกลั่นปริมาตร 0.3 ml ผสมกับสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ปริมาตร 3 ml ที่ (A) เอทานอลปริมาตร 3 ml ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 0.3 ml (B) นำตัวอย่าง SGV ปริมาตร 0.3 ml ที่เจือจางแล้วในแต่ละความเข้มข้น ผสมกับสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ปริมาตร 3 ml (C) และตัวอย่าง SGV ปริมาตร 0.3 ml ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 3 ml (D) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และนำไปเปรียบเทียบ นำไปคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สูตรคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (%) = [(A-B) – (C-D) / (A-B)] x 100 โดยกำหนดให้

A = ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง

B = ค่าดูดกลืนแสงของเอทานอลหรือน้ำกลั่น

C = ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง

D = ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดในเอทานอลหรือน้ำกลั่น

- ทดสอบความสารถในการรีดิวซ์สาร โดยวิธี reducing power ตามวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีการของ (Vijayalakshmi and Ruckmani. 2016; Thippawan *et al.* (2017)

ปิเปตสารละลายส่วนใสความเข้มข้น 3%(W/V) ปริมาตร 1 ml เติม 200 mM ของสารละลาย phosphate buffer pH 6.6 ปริมาตร 2.5 ml และสารละลาย 1 % ของ potassium ferriccyanide ปริมาตร 2.5 µl บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เติม 10 % ของ TCA ปริมาตร 2.5 ml จากนั้นนำไป ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายใสปริมาตร 2.5 ml เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2.5 ml และ 0.1% ferric chloride ปริมาตร 0.5 ml บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร

- ทดสอบการออกซิเดชันของไขมันด้วยเทคนิค thio barbituric acid reactive (TBARS) ตามวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีของ Díaz *et al.* (2014)

ชั่งตัวอย่างจานวน 10 g ใส่ในหลอด centrifugal tube 50 ml บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นเติมน้ำกลั่น 48 ml และสารละลาย BHT 1 mlโฮโมจีไนท์ที่ความเร็วรอบ 9500 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เปลี่ยนใส่หลอดสำหรับการกลั่น เติมกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 5 N ปริมาตร 1 ml จากนั้นนำไปเข้าเครื่องกลั่น 190 วินาที ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ดูดสารละลายที่ได้จากการกลั่นผสมกับสารละลาย TBA อย่างละ 5 ml จากนั้นให้ความร้อนในน้ำเดือด (95 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 35 นาที ทำให้เย็นโดยการเปิดน้ำไหลผ่าน เก็บสารละลายส่วนใสไปทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 532 nmโดยใช้น้ำกลั่นเป็น สารละลายมาตรฐาน (blank) จากนั้นคำนวณค่าความเข้มข้นของ TBARS ที่ได้โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสาร 1,1,3,3 tetra-ethoxypropane และคำนวณค่า TBARS ที่แสดงในหน่วย mg MDA/kg meat

3) ศึกษาคุณสมบัติทางด้านจุลินทรีย์

- ตรวจวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรีย์รวม (total plate count)

ตรวจวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรียร์วมโดยวิธีการที่อ้างอิงจาก AOAC (2005) โดยนำตัวอย่างน้ำหนัก 25 g ใส่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 % ปริมาตร 225 ml นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 60 วินาที จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 จากนั้นเจือจางตัวอย่างให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม ใช้ปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 1 ml ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อเทอาหาร plate count agar ปริมาตรจานละ 15-20 ml ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ รอจนอาหารแข็ง คว่ำจานเพาะเชื้อนำ ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ทั้งหมด รายงานผลจำนวนจุลินทรีย์เฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300โคโลนี หน่วยเป็น log cfu/g

- ตรวจวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ (psychrotropic bacteria)

ตรวจวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรียร์วมโดยวิธีการที่อ้างอิงจาก AOAC (2006) โดยนำตัวอย่างน้ำหนัก 25 g ใส่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 % ปริมาตร 225 ml นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 60 วินาที จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 จากนั้นเจือจางตัวอย่างให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม ใช้ปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 0.1 ml ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อเทอาหาร plate count agar ปริมาตรจานละ 15-20 ml ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ แล้วใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วนั้น spread ที่ผิวหน้าอาหารแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน นับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ทั้งหมด รายงานผลจำนวนจุลินทรีย์เฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี หน่วยเป็น log cfu/g

- ตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *E.coli* และ coliform

ตรวจวิเคราะห์หาจำนวน *E. coli* และ coliform โดยวิธีการที่อ้างอิงจาก AOAC (2006) โดยนำตัวอย่างน้ำหนัก 25 g ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85% ปริมาตร 225 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 จากนั้นเจือจางตัวอย่าง จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 0.1 ml และถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร chomocult agar ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ แล้วใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วนั้น spread ที่ผิวหน้าอาหารแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รายงานผลจำนวน *E. coli* และ Coliform เฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30 – 300 โคโลนี หน่วยเป็น log cfu/g จากนั้นทดสอบเพื่อยืนยันว่าเป็นเชื้อ *E.coli* โดยทำการสุ่มโคโลนีสีม่วงน้ำเงิน เขี่ยลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptophan broth บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย Kovac จำนวน 0.2-0.3 ml ถ้าให้ผล + จะปรากฏสีแดงที่ส่วนบนของ tryptophan broth

- ตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *S. aureus*

ตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *S. aureus* โดยวิธีการที่อ้างอิงจาก FDA-BAM (2016) โดยนำตัวอย่างน้ำหนัก 25 g ใส่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 % ปริมาตร 225 ml นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 จากนั้นเจือจางตัวอย่างให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม ใช้ปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 0.1 ml ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Baird Parker ที่เติม Potassium tellurite 1 % และไข่แดง ปริมาตรจานละ 15-20 ml ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ ใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วนั้น Spread plate ที่ผิวหน้าอาหารแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนเชื้อ *S.aureus* รายงานผลจำนวนเชื้อ *S.aureus* เฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนีหน่วยเป็น log cfu/g การทดสอบการสร้างเอนไซม์ของ *S.aureus* โดย Subculture เชื้อลงใน Brain heart infusion broth (BHI broth) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วหลอดละ 0.30 ml เขี่ยโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S.aureus* เพาะเชื้อในหลอดที่มี BHI broth และหลอดอาหาร TSA slant (สำหรับการทดสอบซ้ำ) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ดูด coagulase plasma ปริมาตร 0.30 mlลงในหลอดเพาะเชื้อที่มี BHI broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง อ่านผลโดยดูการแข็งตัวของ plasma อันเนื่องมาจากเอนไซม์ coagulase (coagulase positive) ที่เชื้อ *S.aureus* สร้างขึ้นซึ่งอาจจะมีลักษณะต่าง ๆ กัน สำหรับเชื้อที่ให้ coagulase ไม่เท่ากัน

- การทดสอบหาจำนวนเชื้อ *Salmonella* spp.

การวิเคราะห์หาจำนวนเชื้อ *Salmonella* sp. ตามวิธีของ FDA-BAM (2007) สุ่มตัวอย่าง 25 g ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในอาหารtryptic soy broth (TSB) ปริมาตร 225 ml บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อปริมาตร 1 mlใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ tetrathionate broth (TTB) + iodine solution และ selenite cysteine

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

broth (SCB) นำหลอดเพาะเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อลงในอาหาร xylose lysine deoxycholate (XLD) agar และ salmonella-shigella (SS) agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตลักษณะโคโลนีสีน้ำเงินเขียว และตรงกลางมีสีดำ กลม นูน ผิวเรียบเป็นมัน อาจพบหรือไม่พบจุดตรงกลาง นำโคโลนีไปทำการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีโดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อโคโลนีที่สงสัยไปเพาะลงในอาหาร triple sugar iron (TSI) agar slant และ lysine-indole-motility (LIM) medium บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูผลปฏิกิริยาทางชีวเคมีในหลอด TSI agar slant และ LIM medium เชื้อ *Salmonella* sp. จะให้คุณสมบัติทางชีวเคมี ดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 การตรวจเชื้อ *Salmonella* spp. โดยวิธีทางชีวเคมี

TSI				LIM		
Slant	Butt	H_2S	Gas	Lysine	Indole	Motile
K	A	+/-	+/-	+	-	+/-

K = การเกิด alkaline โดยบริเวณปลายหลอด (slant) ของอาหาร TSI จะมีสีชมพูบานเย็น-แดง

A = การเกิด Acid บริเวณก้นหลอด (buff) ของ TSI จะมีสีเหลือง

H_2S (+) = ภายในหลอดอาหาร TSI เกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟต์ ซึ่ง *Salmonella* spp. ส่วนใหญ่จะให้ผล +

H_2S (-) = ภายในหลอดอาหาร TSI ไม่เกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟต์

Gas (+) = มีฟองอากาศดันวุ้นของอาหาร TSI เนื่องจาก *Salmonella* spp. ส่วนใหญ่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วได้กรดและแก๊สเพียงเล็กน้อย

Gas (-) = ภายในหลอดอาหารไม่มีฟองอากาศดันวุ้นของอาหาร TSI

Lysine (+) = หลอดอาหารจะมีสีม่วงทั้งหลอดเนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. มีเอนไซม์ lysine decarboxylase ไปย่อย lysine ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีความเป็นด่างมากขึ้น มีผลทำให้ bromcresol porple ซึ่งเป็น Indicator ในอาหารดังกล่าวและมีค่าความเป็นกรดด่างต่ำเป็นกลาง มีสีม่วงเข้มขึ้นซึ่งเชื้อจะมีเอนไซม์นี้

Lysine (-) = หลอดอาหารจะมีสีเหลืองเนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. มีเอนไซม์ lysine decar boxylase ไปย่อย Lysine ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีความเป็นด่างต่ำมากขึ้น มีผลทำให้ bromcresol porple เปลี่ยนเป็นสีเหลือง

Indole (+) = อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังหยดน้ำยา kovac ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Indole (-) = อาหารเลี้ยงเชื้อไม่เกิดสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังหยดน้ำยา kovac ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่ง *Salmonella* spp. ไม่มีเอนไซม์ trytophanase จึงไม่เกิดปฏิกิริยากับ kovac

Motile (+) = หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM จะขุ่นทั้งหลอด ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. ส่วนมากมีแฟลกเจลลาในการเคลื่อนที่ ดังนั้นเมื่อทำการ Stab เชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเกิดการเคลื่อนที่จากรอย stap ไปทุกทิศทางจึงทำให้หลอดขุ่น

Motile (-) = หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM จะมีการเจริญบริเวณรอย stap เท่านั้น ส่วนบริเวณอาหารรอบรอย stap จะใส ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อไม่มีแฟลกเจลลาในการเคลื่อนที่จึงเจริญบริเวณรอย stab เท่านั้น

3.5.3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อคอย่างสมบูรณ์ (randomized complete block design: RCBD) ทำ 3 ซ้ำโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี duncan's multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรม SAS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และการต้านจุลินทรีย์ของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม

4.1.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม

ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (total phenolic content) ของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม (star gooseberry vinegar: SGV) เปรียบเทียบกับน้ำส้มสายชูหมักจากข้าว (rice vinegar: RV) ซึ่งเป็นน้ำส้มสายชูหมักทางการค้า โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจะสอดคล้องกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ reducing power หมายความว่า เมื่อมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมาก แสดงว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระก็จะมากตามไปด้วย การต้านอนุมูลอิสระในวิธี DPPH และ ABTS จะแสดงผลเป็นค่า IC_{50} ซึ่งหมายถึง ความเข้มข้นของสารที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ 50% ส่วนวิธี reducing power จะแสดงผลเป็นค่า EC_{50} โดยหมายถึง ความเข้มข้นที่สามารถลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ 50% หากค่า IC_{50} และ EC_{50} ต่ำหมายความว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ดี จากผลการทดสอบพฤษเคมีเบื้องต้น พบว่า SGV มีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 320.70 mg GAE/100 ml sample โดยมีค่าต่ำกว่า RV ซึ่งมีค่าเท่ากับ 696.21 mg GAE/100 ml sample ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมและน้ำส้มสายชูหมักจากข้าว

ตัวอย่าง	total phenolic content (mg GAE/100 ml sample)[†]
SGV	319.70±0.04[B]
RV	696.21±0.03[A]

SGV คือ น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม, RV คือ น้ำส้มสายชูหมักจากข้าว

[†] คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

[A-B] คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม

ผลการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของ SGV และ RV ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picryhydrazla hydrate (DPPH) radical scavenging activity, 2,2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) และ reducing power พบว่า SGV มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH โดยมีค่าเท่ากับ 3.65% ในขณะที่ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่า RV ที่มีค่าเท่ากับ 3.34% ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และ การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของ SGV ด้วยวิธี ABTS และ reducing power มีค่าเท่ากับ 7.94 และ 31.98% ตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของ RV ที่มีค่าเท่ากับ 5.26 และ 12.63% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมและน้ำส้มสายชูหมักจากข้าว

ตัวอย่าง	วิธีการทดสอบ†		
	DPPH scavenger IC_{50} (%)	ABTS radical cation decolorization IC_{50} (%)	reducing power EC_{50} (%)
SGV	3.65±0.40^{A}	7.94±0.16^{A}	31.98±0.46^{A}
RV	3.34±0.08^{A}	5.26±0.11^{B}	12.63±0.06^{B}
สารมาตรฐาน ascorbic acid	0.0004±0.05^{B}	0.0016±0.11^{C}	0.0050±0.29^{C}

SGV คือ น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม, RV คือ น้ำส้มสายชูหมักจากข้าว

† คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

A-C คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

IC_{50} คือ ค่าความเข้มข้นของสารที่ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ได้ 50%

EC_{50} คือ ค่าความเข้มข้นของสารที่ลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ 50%

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า RV มีความสามารถในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระได้ดีกว่า SGV เนื่องจาก RV มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่า SGV จึงส่งผลต่อการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี เนื่องจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับ ชนิดของพืช และวิธีที่ใช้ในการทดลอง (อเนก หาลี และ บุณยกฤต รัตพันธุ์. 2560) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ju *et al.* (2010) ได้ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวพบว่า น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโอ๊ต มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 529 mg GAE/100 ml sample ซึ่งมีค่าสูงกว่า น้ำส้มสายชูหมักจากข้าว ที่มีค่าเท่ากับ 58 mg GAE/100 ml sample (P<0.05) ส่งผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโอ๊ต มีฤทธิ์ในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS มีค่าเท่ากับ 442 mg trolox eq./ml sample ซึ่งมีค่าสูงกว่าน้ำส้มสายชูหมักจากข้าว ที่มีค่าเท่ากับ 37 mg trolox eq./ml sample นอกจากนี้ Bakir *et al.* (2016) ได้ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระจากน้ำส้มสายชูหมักจากองุ่น และน้ำส้มสายชูหมักจากแอปเปิ้ล พบว่า น้ำส้มสายชูหมักจากองุ่นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 842 mg GAE/100 ml sample ซึ่งมีค่าสูงกว่า น้ำส้มสายชูหมักจากแอปเปิ้ล ที่มีค่าเท่ากับ 459 mg GAE/100 ml sample ทำให้น้ำส้มสายชูหมักจากองุ่นมีฤทธิ์ในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีค่าเท่ากับ 1,612 mg trolox eq./ml sample ซึ่งมีค่าสูงกว่า น้ำส้มสายชูหมักจากแอปเปิ้ลที่มีค่าเท่ากับ 1,087 mg trolox eq./ml sample ($P<0.05$)

การที่สารประกอบฟีนอลิกมีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระนั้น เนื่องจากโครงสร้างภายในประกอบด้วย วงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) และหมู่ไฮดรอกซี (-OH) หรือหมู่เมทอกซี (-OCH_3) ซึ่งทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนแก่สารที่เป็นอนุมูลอิสระได้อย่างรวดเร็ว ทำให้อนุมูลอิสระนั้นเกิดความเสถียร ส่วนสารประกอบฟีนอลิกเมื่อเสียอิเล็กตรอนไปแล้วจะเกิดเรโซแนนท์ภายในโครงสร้าง ทำให้โมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกกลับมาอยู่ในสภาพที่เสถียร (ชนันดา ศรีบุญไทย. 2559)

อย่างไรก็ตามเมื่อนำ SGV เปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐานวิตามินซี (ascorbic acid) พบว่า SGV มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าวิตามินซี ($P<0.05$) เนื่องจากวิตามินซีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ โดยทั่วไปแล้วจะมีประสิทธิภาพและความคงตัวสูง ถึงแม้ว่าการใช้สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยของผู้บริโภค เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ดังกล่าวมีความอาจมีความเป็นพิษ และส่งผลเสียต่อร่างกายมนุษย์ได้ เช่น โรคหัวใจ โรคหลอดเลือด และโรคมะเร็ง เป็นต้น (บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556; Jin *et al.* 2015; Abdulla *et al*. 2016)

4.1.3 คุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม

4.1.3.1 การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสัตว์ของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม โดยวิธี agar well diffusion

จากผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสัตว์ทั้งหมด 15 สปีชีส์ของ SGV ที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกเริ่มต้นเท่ากับ 5.0% โดยแบ่งออกเป็นเชื้อที่คัดแยกได้จากเนื้อหมู ได้แก่ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Aeromonas caviae, Acinetobacter baumannii* และ *Citrobacter freundii* ส่วนเชื้อที่คัดแยกได้จากเนื้อไก่ ได้แก่ *Salmonella* spp., *S. epidermidis*, *Klebsiella pnenmonia* และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Proteus mirabilis และเมื่อทดสอบกับเชื้อมาตรฐาน ได้แก่ *Salmonella enterica* serovar Enteritidis DMST 17368, *Pseudomonas fluorescence* JCM 5963^{T}, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E. coli* O157: H7 และ *S. aureus* TISTR 118 โดยวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่เกิดการยับยั้ง (clear zone) จากผลการทดลองพบว่า SGV ที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกเท่ากับ 5% สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกสายพันธุ์ โดย SGV สามารถยับยั้งเชื้อ *C. freundii* ที่คัดแยกได้จากเนื้อหมูได้สูงสุด (39.00 mm) รองลงมาคือ *A. caviae* (37.67 mm), *E. coli* (31.33 mm), *A. baumannii* (31.00 mm), *S. aureus* (30.67 mm) และ *Salmonella* spp. (22.00 mm) ตามลำดับ การยับยั้งเชื้อที่คัดแยกได้จากเนื้อไก่พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อ *P. mirabilis* (45.33 mm) ได้สูงสุด รองลงมาคือ *K. pneumoniae* (39.33 mm), *S. epidermidis* (39.33 mm) และ *Salmonella* spp. (25.00 mm) ตามลำดับ และทดสอบกับเชื้อมาตรฐานพบว่า สามารถยับยั้งเชื้อ *P. fluorescens* JCM 5963^{T} (37.00 mm) ได้สูงสุด รองลงมาคือ *P. aeruginosa* ATCC 9027 (35.67 mm), *E. coli* O157: H7 (32.33 mm), *S. enterica* serovar Enteritidis DMST 17368 (30.33 mm) และ *S. aureus* TISTR 118 (26.67 mm) ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.3

จากผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสัตว์ทั้งหมด 15 สปีชีส์ของ RV ที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกเริ่มต้นเท่ากับ 5% พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกสายพันธุ์ โดย RV สามารถยับยั้งเชื้อ *C. freundii* ที่คัดแยกได้จากเนื้อหมูได้สูงสุด (38.67 mm) รองลงมาคือ *A. caviae* (38.33 mm), *S. aureus* (32.33 mm), *E. coli* (31.00 mm), *A. baumannii* (31.00 mm) และ *Salmonella* spp. (22.00 mm) ตามลำดับ ส่วนการยับยั้งเชื้อที่คัดแยกได้จากเนื้อไก่พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อ *P. mirabilis* (45.33 mm) ได้สูงสุด รองลงมาคือ *S. epidermidis* (39.00 mm), *K. pneumoniae* (38.33 mm) และ *Salmonella* spp. (24.00 mm) ตามลำดับ และเมื่อทดสอบกับเชื้อมาตรฐานพบว่า สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC 9027 (35.67 mm) ได้สูงสุด รองลงมาคือ *P. fluorescens* JCM 5963^{T} (32.33 mm), *E. coli* O157: H7 (31.00 mm), *S. enterica* serovar Enteritidis DMST 17368 (30.33 mm) และ *S. aureus* TISTR 118 (26.00 mm) ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลการใช้น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมต่อการยับยั้งแบคทีเรียในเนื้อสัตว์ (5 log CFU/ml) โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใส (มิลลิเมตร)

แบคทีเรียทดสอบ	ระดับความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม (%กรดอะซิติก)[†]					
	5.0 (%)	2.5 (%)	1.25 (%)	0.625 (%)	0.031 (%)	0.015 (%)
ความเป็นกรด-ด่าง	2.99	3.09	3.17	3.27	3.31	3.43
เนื้อหมู						
แบคทีเรียก่อโรค						
E. coli	31.33±0.12	25.33±0.12	19.00±0.10	13.67±0.06	NI	NI
S. aureus	30.67±0.12	22.67±0.25	13.33±0.15	11.67±0.06	NI	NI
Salmonella spp.	22.00±0.10	16.00.±0.10	11.67±0.06	NI	NI	NI
แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย						
C. freundii	39.00±0.10	30.67±0.12	24.67±0.12	19.00±0.10	14.33±0.06	11.67±0.06
A. baumannii	31.00±0.10	22.33±0.06	19.67±0.06	14.67±0.06	12.33±0.06	NI
A. caviae	37.67±0.25	32.67±0.25	24.67±0.12	15.00±0.10	NI	NI

[†] คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

NI คือ ไม่เกิดการยับยั้ง

ตารางที่ 4.3 (ต่อ) ผลการใช้น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมต่อการยับยั้งแบคทีเรียในเนื้อสัตว์ (5 log CFU/ml) โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใส (มิลลิเมตร)

แบคทีเรียทดสอบ	ระดับความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม (%กรดอะซิติก)[†]					
	5.0 (%)	2.5 (%)	1.25 (%)	0.625 (%)	0.031 (%)	0.015 (%)
เนื้อไก่						
แบคทีเรียก่อโรค						
K. pneumoniae	39.33±0.12	31.33±0.12	25.00±0.10	19.33±0.06	NI	NI
S. epidermidis	39.33±0.12	34.67±0.06	25.67±0.12	14.67±0.06	NI	NI
Salmonella spp.	25.00±0.20	20.00±0.10	13.33±0.06	NI	NI	NI
แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย						
P. mirabilis	45.00±0.10	37.33±0.06	34.00±0.10	26.33±0.06	20.00±0.10	12.33±0.06
แบคทีเรียมาตรฐาน						
E. coli O157: H7	32.33±0.25	27.33±0.12	22.33±0.12	17.67±0.06	13.00±0.10	NI
S. enterica serovar Enteritidis DMST 17368	30.33±0.06	26.00±0.10	22.33±0.06	18.67±0.12	12.33±0.06	NI
P. fluorescens JCM 5963^{T}	37.00±0.10	30.33±0.25	20.33±0.06	14.67±0.06	NI	NI
P. aeruginosa ATCC 9027	35.67±0.12	29.00±0.10	21.33±0.15	13.33±0.06	NI	NI
S. aureus TISTR 118	26.67±0.12	20.67±0.06	12.67±0.06	NI	NI	NI

[†] คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

NI คือ ไม่เกิดการยับยั้ง

ตารางที่ 4.4 ผลการใช้น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวต่อการยับยั้งแบคทีเรียในเนื้อสัตว์ (5 log CFU/ml) โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใส (มิลลิเมตร)

แบคทีเรียทดสอบ	ระดับความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูหมักจากข้าว (%กรดอะซิติก)[†]					
	5.0 (%)	2.5 (%)	1.25 (%)	0.625 (%)	0.031 (%)	0.015 (%)
ความเป็นกรด-ด่าง	2.96	3.07	3.15	3.23	3.29	3.42
เนื้อหมู						
แบคทีเรียก่อโรค						
E. coli	31.00±0.10	24.33±0.12	17.67±0.06	12.67±0.06	NI	NI
S. aureus	32.33±0.25	22.67±0.31	13.00±0.10	NI	NI	NI
Salmonella spp.	21.00±0.10	16.00±0.10	11.67±0.06	NI	NI	NI
แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย						
C. freundii	38.67±0.12	30.67±0.12	24.67±0.15	16.67±0.06	11.67±0.06	NI
A. caviae	38.33±0.29	29.67±0.25	21.00±0.10	15.33±0.12	NI	NI
A. baumannii	29.67±0.06	21.00±0.10	17.67±0.06	11.67±0.06	NI	NI

[†] คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

NI คือ ไม่เกิดการยับยั้ง

ตารางที่ 4.4 (ต่อ) ผลการใช้น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวต่อการยับยั้งแบคทีเรียในเนื้อสัตว์ (5 log CFU/ml) โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใส (มิลลิเมตร)

แบคทีเรียทดสอบ	ระดับความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูหมักจากข้าว (%กรดอะซิติก)[†]					
	5.0 (%)	2.5 (%)	1.25 (%)	0.625 (%)	0.031 (%)	0.015 (%)
เนื้อไก่						
แบคทีเรียก่อโรค						
K. pneumoniae	38.33±0.15	32.33±0.25	23.33±0.15	18.33±0.15	NI	NI
S. epidermidis	39.00±0.10	31.67±0.15	19.67±0.06	12.33±0.06	NI	NI
Salmonella spp.	24.00±0.26	19.33±0.12	12.67±0.06	NI	NI	NI
แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย						
P. mirabilis	45.33±0.06	38.67±0.12	31.67±0.15	25.67±0.15	19.00±0.10	11.67±0.06
แบคทีเรียมาตรฐาน						
E. coli O157: H7	31.00±0.17	26.67±0.12	22.67±0.06	17.67±0.06	12.33±0.06	NI
S. enterica serovar Enteritidis DMST 17368	30.33±0.15	24.67±0.06	20.00±0.20	12.33±0.06	NI	NI
P. fluorescens JCM 5963^{T}	32.33±0.40	25.00±0.10	16.33±0.10	NI	NI	NI
P. aeruginosa ATCC 9027	35.67±0.25	23.00±0.10	12.00±0.06	NI	NI	NI
S. aureus TISTR 118	26.00±0.10	18.67±0.12	NI	NI	NI	NI

[†] คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

NI คือ ไม่เกิดการยับยั้ง

จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษที่สำคัญ ได้แก่ *Salmonella* spp., *E. coli* และ *S. aureus* เป็นต้น เมื่อผู้บริโภคที่ได้รับเชื้อเข้าสู่ร่างกายจะแสดงอาการปวดท้อง ท้องเสีย และอาจถึงขั้นเสียชีวิตได้ โดยเฉพาะในเด็กและผู้สูงอายุ ดังนั้นสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์จึงได้กำหนดมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของเนื้อสัตว์ดิบขึ้นมาเพื่อเป็นแนวทางในการป้องกัน และควบคุมอันตรายจากโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อดังกล่าว มีรายงานสำรวจการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์จากโรงฆ่าสัตว์และสถานที่จากการสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในเนื้อสุกรบด พบการปนเปื้อน *Salmonella* spp., *E. coli* และ *S. aureus* ในเนื้อสุกรบดเท่ากับ 58.24, 86.81 และ 31.87% ตามลำดับ (สรรเพชญ อังกิติตระกูล และคณะ. 2557)

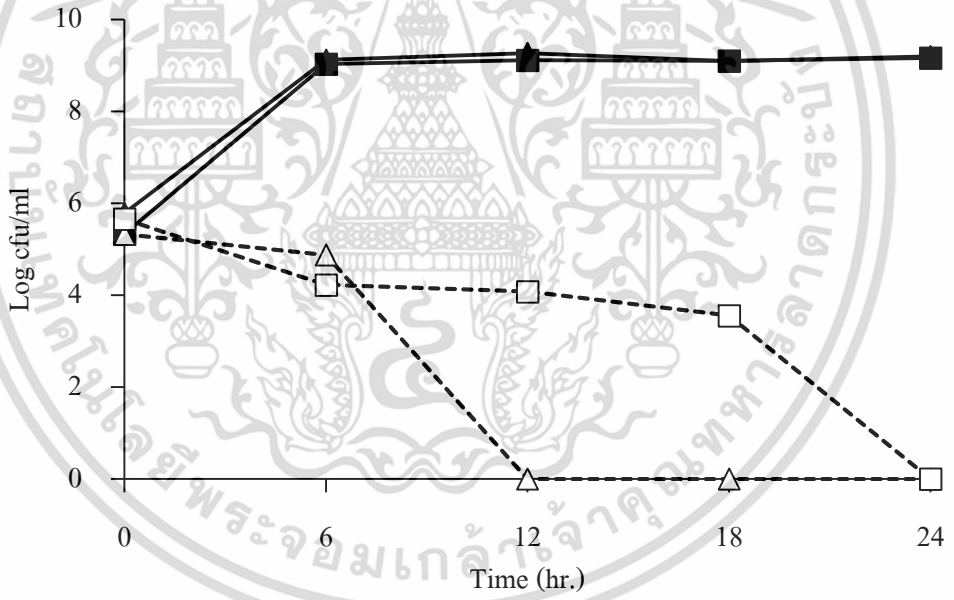
จากการทดลองที่ 4.1.2.1 แสดงให้เห็นว่า SGV และ RV สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่เป็นตัวบ่งชี้คุณภาพของเนื้อสัตว์ เช่น *Salmonella* spp., *S. aureus*, และ *E. coli* ได้ นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย เช่น *C. freundii, A. caviae, A. baumannii* และ *P. mirabilis* ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการสร้างสารประกอบไฮโดรเจนซัลไฟด์ (hydrogensulphide) ส่งผลให้เนื้อสัตว์เปลี่ยนเป็นสีเขียว (green sulphmyoglobin) ซึ่งไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลายกรดอะมิโน ซิสเทอีน (cystein) โดยเมื่อจุลินทรีย์ย่อยกลูโคสจนหมด จากนั้นก็จะทำการย่อยกรดอะมิโน ส่งผลให้เนื้อสัตว์มี กลิ่น สี และรสชาติผิดปกติ (คมแข พิลาสมบัติ. 2559) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Abbas *et al.* (2014) ซึ่งได้ทำการศึกษาการต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกจากแผลของผู้ป่วยโรคเบาหวานด้วยน้ำส้มสายชูหมักจากแอปเปิ้ล (ACV) ที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกเท่ากับ 5.0 และ 2.5% ด้วยวิธี agar well diffusion พบว่า ACV ที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกเท่ากับ 5.0 และ 2.5% สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa, P. mirabilis, K. pneumonia, E. coli, S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ดี นอกจากนี้ Lingham *et al.* (2012) รายงานว่า น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวมอลต์ (malt vinegar) ที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกเท่ากับ 0.5% สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม Enterobacteriaceae, *Aeromonas* และ *Pseudomonas*

โดย SGV และ RV มีองค์ประกอบหลัก คือ กรดอะซิติก (CH_3COOH) ซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ โดยกลไกการยับยั้งจะเกิดขึ้นเมื่อกรดไหลผ่านเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียซึ่งมีสภาวะเป็นกลาง เมื่อกรดเกิดการแตกตัวและปลดปล่อย H^+ ออกมา ส่งผลภายในเซลล์เกิดความเป็นพิษ นอกจากนี้ CH_3COO^- จะรบกวนกระบวนการสร้างสารพันธุกรรม (DNA) ของเซลล์ เช่น ทำเกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน กรดนิวคลีอิค และฟอสโฟไลปิด เป็นต้น (แก้วกาญจน์ จันทนยิ่งยง. 2555; อัจฉรา นิยมเดชา. 2559; Sultana *et al.* 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3.2 การมีชีวิตรอดของแบคทีเรียก่อโรคเมื่อสัมผัสกับน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม *(In Vitro)*

ศึกษาการมีชีวิตรอดของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* เมื่อสัมผัสกับ SGV โดยใช้ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้จากวิธี agar well diffusion โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 5 log CFU/ml จากผลการทดลอง พบว่ากลุ่มควบคุม (ไม่เติม SGV) จำนวนของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* เพิ่มขึ้น ในชั่วโมงที่ 0 ถึง ชั่วโมงที่ 6 โดยมีจำนวนเชื้อประมาณ 9 log CFU/ml และคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 24 ในขณะที่ SGV ที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกเท่ากับ 0.625% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ดี โดย SGV สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีแนวโน้มลดลง จนกระทั่งไม่สามารถตรวจพบเชื้อ *E. coli* ได้ในชั่วโมงที่ 12 ในขณะที่การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึง 6 พบว่า มีปริมาณเชื้อลดลง 1 log CFU/ml จากนั้นจำนวนเชื้อคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 18 และตรวจไม่พบเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 24 ดังแสดงในภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 ผลการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 5 log CFU/ml

—■— การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของกลุ่มควบคุม

--□-- การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของ SGV ที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติก 0.625%

—▲— การยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของกลุ่มควบคุม

--△-- การยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของ SGV ที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติก 0.625%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า SGV มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ โดยสามารถยับยั้งได้ดีกว่าเชื้อ *S. aureus* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hindi *et al.* (2016) ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้น้ำส้มสายชูหมักจากลูกเกดดำ (black raisins vinegar) พบว่าน้ำส้มสายชูหมักดังกล่าวสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ดีกว่า *S. aureus* ที่ความเข้มข้น 10% (v/v) นอกจากนี้ Miskiyah *et al.* (2016) ศึกษาคุณสมบัติในการต้านเชื้อ *E. coli* O157: H7 ของน้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกกล้วยที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติกเท่ากับ 1% ในเนื้อไก่พบว่า น้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกกล้วย มีความสามารถในการชะลอการเจริญของเชื้อ *E. coli* O157: H7 เท่ากับ 1.3 Log CFU/ml

โดย กิติพงศ์ อัศตรกุล และ นฤมล หิมะสุทธิเดช. (2560) กล่าวว่า ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกจะหนามากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากผนังของแบคทีเรียแกรมบวกนั้นประกอบด้วย peptidoglycan ส่งผลให้แบคทีเรียแกรมบวกสามารถทนต่อสภาวะความเป็นกรดด่างได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ นอกจากนี้น้ำส้มสายชูหมักมีองค์ประกอบหลัก คือ กรดน้ำส้มหรือกรดอะซิติก และกรดอินทรีย์อื่น ๆ ที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยกรดที่แตกตัวเป็นไอออนผ่านเข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์ไปยังไซโทพลาสซึม ทำให้สภาวะภายในเซลล์มีความเป็นกรดสูงเซลล์เกิดการเสียสมดุล และถูกทำลายในที่สุด (Budak *et al.* 2014; Ronaghi *et al.* 2016)

นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกยังมีส่วนช่วยในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยมีกลไกในการทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรีย เยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม (cytoplasmic membrane) และเยื่อหุ้มเซลล์ของโปรตีน (membrane protein) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ให้เสียสภาพ และก่อให้เกิดการรั่วไหลของสารที่สำคัญต่อกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) ภายในเซลล์ เช่น ไอออน เอทีพี กรดนิวคลีอิก และกรดอะมิโน เป็นต้น (Cetin-Karaca and Newman. 2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลมะยม

4.2.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะยม

ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (total phenolic content) และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของ (star gooseberry extract; SGE) จากการทดสอบพฤษเคมีเบื้องต้นของตัวอย่าง พบว่า SGE มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 934.19 mg GAE/100 g crude extract ซึ่งสูงกว่า SGV ที่มีค่าเท่ากับ 319.70 mg GAE/100 ml sample (จากตารางที่ 4.1) และผลการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ reducing power พบว่า SGE มีค่าการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 0.17, 0.33 และ 0.18% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อนำ SGE เปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐานวิตามินซี (ascorbic acid) และ BHT (butylated hydroxytoluene) พบว่า SGE มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าวิตามินซี และ BHT ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากมะยมโดยวิธีการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ตัวอย่าง	วิธีการทดสอบ†			
	total phenolic content (mg GAE/100g DW)	DPPH scavenger IC_{50}(%)[á]	ABTS radical cation decolorization IC_{50} (%)[í]	reducing power EC_{50} (%)
SGE	934.19±0.04	0.17±0.10[A]	0.33±0.04[A]	0.18±0.03[A]
สารมาตรฐาน				
BHT		0.0025±0.40[B]	0.0021±0.23[B]	0.0080±1.13[B]
ascorbic acid		0.0004±0.05[B]	0.0016±0.11[B]	0.0050±0.29[B]

SGE คือ สารสกัดจากผลมะยม

† คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

[A-B] คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

IC_{50} คือ ค่าความเข้มข้นของสารที่ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ได้ 50%

EC_{50} คือ ค่าความเข้มข้นของสารที่ลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ 50%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Padmapriya and Poonguzhali (2015) โดยศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะยมที่สกัดโดยใช้อะซิโตน พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 122.22 mg GAE/g และมีค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เท่ากับ 7.31 mg/l นอกจากนี้ Nguyen *et al.* (2017) ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระและป้องกันการออกซิเดชันของไขมันของสารสกัดจากใบมะยมในหมูบด โดยศึกษาอัตราส่วนของน้ำและเอทานอลดังนี้ 100:0, 25:75, 50:50, 25:75 และ 0:100 พบว่าสารสกัดจากใบมะยมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกใกล้เคียงกันซึ่งมีค่าเท่ากับ 49.87, 49.82, 49.46, 48.54 และ 48.04 mg GAE/g ตามลำดับ จากข้อมูลข้างต้นทำให้การศึกษาครั้งนี้ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารจากผลมะยม และการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายยังช่วยในเรื่องของรสชาติขมของสารสกัด ซึ่งเกิดจากเอทานอลได้อีกด้วย จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารมาตรฐานวิตามินซี และ BHT มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่า SGE เนื่องจากวิตามินซี และBHT เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ โดยทั่วไปแล้วจะมีประสิทธิภาพและความคงตัวสูงกว่าสารต้านอนุมูลจากธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัดในการใช้ เนื่องจากมีความเป็นพิษและอาจส่งผลเสียต่อร่างกายมนุษย์ได้ เช่น โรคความดันโลหิตสูง และมะเร็ง เป็นต้น (Gülçin. 2012; Shebis *et al.* 2013) ในขณะที่ SGE จะมีสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ โดยมีกลไกการต้านอนุมูลอิสระ 2 แบบ คือ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยที่สารจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอน ทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียร และทำหน้าที่เป็นสารดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล (เจนจิรา จิรมย์ และ ประสงค์ สีหานาม. 2554; ปิยาภรณ์ วรานุสันติกูล และคณะ. 2559; Nimse and Pal. 2015) ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (Abdulla *et al.* 2016).

4.2.2 คุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลมะยม

4.2.2.1 การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสัตว์ของสารสกัดจากผลมะยม โดยวิธี agar well diffusion

จากผลการศึกษาการใช้ SGE ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น เท่ากับ 100 mg/ml ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสัตว์ทั้งหมด 15 สปีชีส์ โดยแบ่งออกเป็นแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากเนื้อหมู ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp., *A. caviae, A. baumannii*, *C. freundii* ส่วนแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากเนื้อไก่ ได้แก่ *Salmonella* spp., *S. epidermidis*, *K. pnenmonia* และ *P. mirabilis* และแบคทีเรียมาตรฐาน ได้แก่ *S. enterica* serovar Enteritidis DMST 17368, *P. fluorescence* JCM 5963^{T}, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E.coli* O157: H7 และ *S. aureus* TISTR 118 โดยวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่เกิดการยับยั้ง (clear zone) จากผลการทดลองพบว่า SGV ความเข้มข้นเริ่มต้น เท่ากับ 100 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกสายพันธุ์ โดย SGE สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ที่คัดแยกได้จากเนื้อหมูได้สูงสุด (27.00 mm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รองลงมาคือ *S. aureus* (25.33 mm), *A. caviae* (25.33 mm), *A. baumannii* (22.00 mm), *C. freundii* (21.67 mm) และ *Salmonella* spp. (21.33 mm) ตามลำดับ การยับยั้งเชื้อที่คัดแยกได้จากเนื้อไก่พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* (30.67 mm) ได้สูงสุด รองลงมาคือ *P. mirabilis* (30.33 mm), *Salmonella* spp. (23.33 mm) และ *K. pneumoniae* (16.00 mm) ตามลำดับ และการยับยั้งเชื้อมาตรฐานพบว่า สามารถยับยั้งเชื้อ *P. fluorescens* JCM 5963^{T} (29.00 mm) ได้สูงสุด รองลงมาคือ *E. coli* O157: H7 (28.33 mm), *P. aeruginosa* ATCC 9027 (28.00 mm), *S. aureus* TISTR 118 (24.33 mm) และ *S. enterica* serovar Enteritidis DMST 17368 (24.00 mm) ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.6

มนัสกิจ พลศรี และ เอกชัย ก่อเกียรติสกุลชัย. (2560) ได้สำรวจการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์จากโรงฆ่าสัตว์และสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ เขตพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการ ปี 2557 ถึง 2560 พบว่า การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งจะทำให้เกิดความไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคได้ เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ total bacteria count, coliforms, *Salmonella* spp., *S. aureus*, *E. coli*, *Enterococcus* spp. และ yeasts/moulds ล้วนเป็นเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีความสำคัญทางสาธารณสุขเป็นอย่างมาก จากการทดลองที่ 4.2.2.1 แสดงให้เห็นว่า SGE สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคเช่น *Salmonella* spp., *S. aureus,* และ *E. coli* และยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียเช่น *C. freundii, A. caviae, A. baumannii* และ *P. mirabilis* โดยแบคทีเรียเหล่านี้สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้คุณภาพของเนื้อสัตว์ได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Rahman *et al.* (2010) โดยรายงานว่าการทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลมะยมที่สกัดโดยใช้เมทานอล ด้วยวิธี disc diffusion พบว่าสารสกัดจากผลมะยม ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 800 µg/disc มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *S.* Typhimurium และ *S. aureus* นอกจากนี้ Padmapriya and Poonguzhali (2015) ศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากผลมะยมที่สกัดโดยใช้อะซิโตน พบว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli P. aeruginosa, B. cereus* และ *S. aureus* ที่ความเข้มข้น 25 µg/ml แต่อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพการต้านเชื้อของสารสกัดมะยมนั้นมีฤทธิ์ต่ำกว่า kanamycin ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบการต้านจุลินทรีย์ นอกจากนี้ กมลลักษณ์ มาสำโรง และ วรพจน์ สุนทรสุข. (2557) กล่าวว่าสารสกัดจากพืชมีสารประกอบฟีนอลิกที่ช่วยในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยมีกลไกในการทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียให้เสียสภาพ ทำให้ของเหลวภายในเซลล์เกิดการรั่วไหล และเกิดการตกตะกอนภายในเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

แบคทีเรียทดสอบ	ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะยม (mg/ml)†				
	100 (mg/ml)	50 (mg/ml)	25 (mg/ml)	12.5 (mg/ml)	6.25 (mg/ml)
ความเป็นกรด-ด่าง	3.22	3.30	3.40	3.46	3.51
เนื้อหมู					
แบคทีเรียก่อโรค					
E. coli	27.00±0.10	23.33±0.12	18.33±0.06	12.33±0.06	NI
S. aureus	25.33±0.06	21.00±0.10	15.00 ±0.10	11.33±0.06	NI
Salmonella spp.	21.33±0.15	12.33±0.06	NI	NI	NI
แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย					
A. baumannii	22.00±0.17	18.67±0.12	12.33±0.06	NI	NI
C. freundii	21.67±0.15	19.33±0.06	12.00±0.10	NI	NI
A. caviae	25.33±0.06	19.00±0.10	NI	NI	NI

† คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

NI คือ ไม่เกิดการยับยั้ง

ตารางที่ 4.6 (ต่อ) ผลการใช้สารสกัดจากผลมะยมต่อการยับยั้งแบคทีเรียในเนื้อสัตว์ (5 log CFU/ml) โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนใส (มิลลิเมตร)

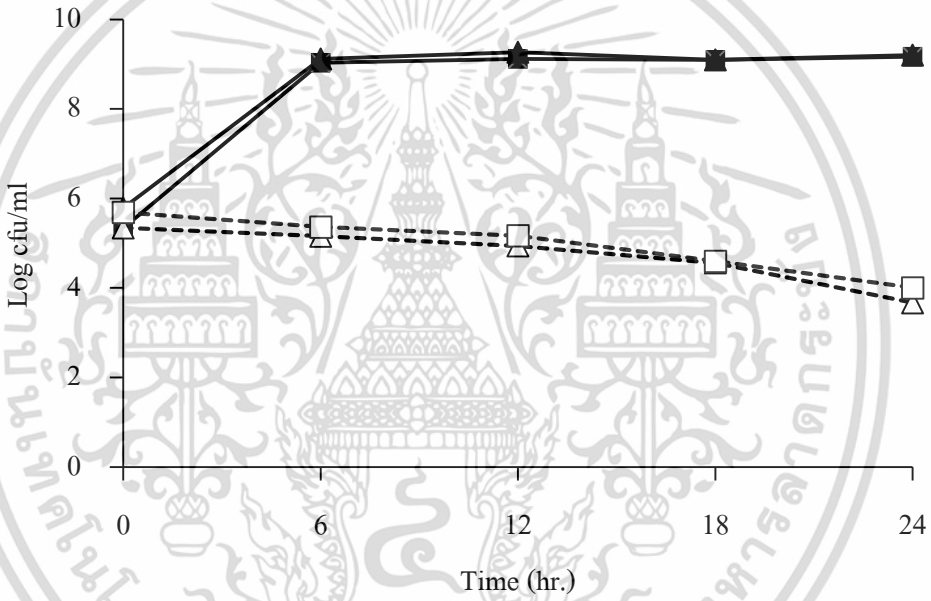
แบคทีเรียทดสอบ	ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะยม (mg/ml)†				
	100 (mg/ml)	50 (mg/ml)	25 (mg/ml)	12.5 (mg/ml)	6.25 (mg/ml)
เนื้อไก่					
แบคทีเรียก่อโรค					
S. epidermidis	30.67±0.12	25.33±0.06	14.67±0.06		
Salmonella spp.	23.33±0.06	13.00±0.10	NI	NI	NI
K. pneumoniae	16.00±0.10	11.67±0.06	NI	NI	NI
แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย					
P. mirabilis	30.33±0.06	26.33±0.06	22.00±0.20	17.33±0.25	11.67±0.06
แบคทีเรียมาตรฐาน					
P. aeruginosa ATCC 9027	28.00±0.10	21.67±0.15	NI	NI	NI
P. fluorescens JCM 5963^{T}	29.00±0.10	21.33±0.21	NI	NI	NI
E. coli O157: H7	28.33±0.15	20.67±0.21	NI	NI	NI
S. enterica serovar Enteritidis DMST 17368	24.00±0.10	19.67±0.15	NI	NI	NI
S. aureus TISTR 118	24.33±0.12	17.33±0.06	NI	NI	NI

† คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

NI คือ ไม่เกิดการยับยั้ง

4.2.3.2 การมีชีวิตรอดของแบคทีเรียก่อโรคเมื่อสัมผัสกับสารสกัดจากผลมะยม *(In-Vitro)*

ศึกษาการมีชีวิตรอดของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* เมื่อสัมผัสกับ SGE โดยใช้ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้จากวิธี agar well diffusion โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น เท่ากับ 5 log CFU/ml จากผลการทดลอง พบว่ากลุ่มควบคุม (ไม่เติม SGE) จำนวนของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมง 6 โดยมีจำนวนเชื้ออยู่ที่ 9 log CFU/ml และคงที่จนกระทั่งชั่วโมงที่ 24 ในขณะที่ SGE ความเข้มข้น เท่ากับ 12.5 mg/ml มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* สังเกตจากปริมาณของเชื้อที่ลดลง เริ่มตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมงที่ 24 ทำให้เชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ลดจำนวนลง 1 log CFU/ml ดังแสดงในภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 ผลการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 5 log CFU/ml

- การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของกลุ่มควบคุม
- การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของ SGE ที่ความเข้มข้น 12.5 mg/ml
- การยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของกลุ่มควบคุม
- การยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของ SGE ที่ความเข้มข้น 12.5 mg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า SGE มีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียได้ ซึ่งสอดคล้องกับ Jagessar *et al.* (2008) รายงานว่าสารสกัดจากใบมะยมสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ดีกว่า *S. aureus* ที่ความเข้มข้น 200 mg/ml โดยมีปัจจัยการยับยั้งเชื้อที่เกี่ยวข้อง คือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยทั่วไปเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* จะเจริญได้ดีในช่วง pH เท่ากับ 4.0-10 เนื่องจาก SGE ความเข้มข้น เท่ากับ 12.5 mg/ml มีค่า pH เท่ากับ 3.75 โดย อัจฉรา นิยมเดชา. (2559) และ Anh *et al.* (2007) กล่าวว่าค่า pH ที่ลดลง ส่งผลให้ H^+ เพิ่มขึ้น ทำให้เซลล์แบคทีเรียมีสภาวะความเป็นกรด และเกิดการสะสมของประจุบวกทำให้ระดับความเป็นพิษภายในเซลล์สูง นอกจากนี้ CH_3COO^- จะไปรบกวนกระบวนการสร้างสารพันธุกรรม (DNA) ส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ของจุลินทรีย์ (อัจฉรา นิยมเดชา. 2559; Anh *et al.* 2007) นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกยังมีส่วนช่วยในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยการทำลายโปรตีน และพลาสมาเมมเบรนของผนังเซลล์ให้เสียสภาพ และเกิดการรั่วไหลของสารที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ จึงก่อให้เกิดการไหลเข้าออกของสารเคมีต่าง ๆ ได้ง่าย ส่งผลให้อัตรา metabolism ภายในเซลล์ต่ำลง (Mayachiew and Devahastin. 2008) นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกยังมีส่วนช่วยในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยมีกลไกในการทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียให้เสียสภาพ ก่อให้เกิดการรั่วไหลของสารภายในเซลล์ (Cetin-Karaca and Newman. 2015) ถึงแม้ว่าสารประกอบฟีนอลิกจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่ช้ากว่ากรดอินทรีย์ แต่สามารถช่วยในการส่งเสริมประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของกรดอินทรีย์ให้เพิ่มมากขึ้น (Mailoa *et al.* 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การนำน้ำส้มสายชูหมัก และสารสกัดจากผลมะยมมาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ ต่อคุณภาพและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

4.3.1 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำส้มสายชูหมัก และสารสกัดจากผลมะยมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส

เนื่องจาก SGV มีคุณสมบัติเฉพาะตัว คือ รสชาติเปรี้ยว และมีกลิ่นที่ฉุนซึ่งเกิดจากกระบวนการหมัก (กฤตพร รำจวนเกียรติ และคณะ. 2561) ส่วน SGE จะมีรสชาติเปรี้ยว จึงทำให้ SGV และ SGE เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ จากผลการศึกษาคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์และการต้านอนุมูลอิสระของ SGV และ SGE เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสม ที่จะนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ พบว่า SGV และ SGE จะมีประสิทธิภาพดีเมื่อความเข้มข้นสูง แต่เมื่อทดสอบ Sensory test เบื้องต้น พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของ SGV และ SGE เป็นความเข้มต้นต่ำ และเมื่อทดสอบคุณสมบัติในการใช้ร่วมกันของ SGV และ SGE ในต้านจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้น พบว่ามีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ดังนั้นจึงแยกทำการศึกษาหาช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมของ SGV และ SGE โดยการทดสอบประสาทสัมผัสของผู้บริโภคของดังต่อไปนี้

4.3.1.1 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ SGV ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำปรุงสุก ดังนี้

ศึกษาคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดปรุงสุกที่เติม 0%SGV, 3%SGV, 6%SGV และ 9%SGV (จาก SGV ที่ความเข้มของกรดอะซิติก 5%) โดยทำการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่นและรสเปรี้ยว ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ภายหลังการทำให้สุกพบว่า ด้านลักษณะปรากฏผู้บริโภคให้คะแนนความชอบในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดกลุ่มที่เติม 0%SGV มากที่สุดที่ระดับคะแนนเท่ากับ 5.80 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รองลงมาคือ กลุ่มที่เติม 3%SGV และ 6%SGV ที่ระดับคะแนนเท่ากับ 5.30 และ 4.85 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แสดงว่าผู้บริโภคมีแนวโน้มชอบถึงชอบมาก และกลุ่มที่เติม 9%SGV ได้คะแนนความชอบน้อยที่สุดที่ระดับคะแนนเท่ากับ 4.65 คะแนน ($P<0.05$) แสดงว่าผู้บริโภคเฉยๆ ด้านกลิ่นและรสชาติเปรี้ยวผู้บริโภคให้คะแนนความชอบในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดกลุ่มที่เติม 3%SGV มากที่สุด รองลงมาคือ กลุ่มที่เติม 6%SGV และ 3%SGV ที่ระดับคะแนนเท่ากับ 5.20, 5.00 และ 4.85 ตามลำดับ ($P>0.05$) แสดงว่าผู้บริโภคมีแนวโน้มชอบถึงชอบมาก และกลุ่มที่เติม 9%SGV ได้คะแนนความชอบน้อยที่สุดที่ระดับคะแนนเท่ากับ 4.25 ($P<0.05$) แสดงว่าผู้บริโภคเฉยๆ ด้านลักษณะเนื้อสัมผัสผู้บริโภคให้คะแนนความชอบในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดกลุ่มที่เติม 0%SGV มากที่สุดที่ระดับคะแนนเท่ากับ 5.75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รองลงมาคือ กลุ่มที่เติม 3%SGV ที่ระดับคะแนนเท่ากับ 5.15 (P>0.05) แสดงว่าผู้บริโภคมีแนวโน้มชอบถึงชอบมาก และกลุ่มที่เติม 6%SGV และ 9%SGV ได้คะแนนความชอบน้อยที่สุดที่ระดับคะแนนเท่ากับ 4.40 และ 4.00 ตามลำดับ (P>0.05) แสดงว่าผู้บริโภคเฉยๆ ความชอบด้านความชอบโดยรวมผู้บริโภคให้คะแนนความชอบในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดกลุ่มที่เติม 3%SGV มากที่สุดที่ระดับคะแนน 5.55 รองลงมาคือ กลุ่มที่เติม 3%SGV ที่ระดับคะแนนเท่ากับ 5.40 (P>0.05) แสดงว่าผู้บริโภคมีแนวโน้มชอบถึงชอบมาก รองลงมาคือ กลุ่มที่เติม 6%SGV ที่ระดับคะแนนเท่ากับ 4.80 (P<0.05) และกลุ่มที่เติม 9%SGV ได้คะแนนความชอบน้อยที่สุดที่ระดับคะแนนเท่ากับ 4.25 (P<0.05) แสดงว่าผู้บริโภคเฉยๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.7 จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดปรุงสุกที่ใช้ SGV มากกว่า 3% อาจไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเนื่องจาก SGV มีคุณสมบัติเฉพาะตัว คือ รสชาติเปรี้ยว และมีกลิ่นที่ฉุนซึ่งเกิดจากกระบวนการหมัก

4.3.1.2 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ SGE ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำปรุงสุก ดังนี้

ศึกษาคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดปรุงสุกที่เติม 0%SGE, 1%SGE, 1.5%SGE และ 2%SGE โดยทำการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่นและรสเปรี้ยว ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ภายหลังการทำให้สุกพบว่า ด้านลักษณะปรากฏผู้บริโภคให้คะแนนความชอบในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดกลุ่มที่เติม 0%SGE มากที่สุดที่ระดับคะแนนเท่ากับ 5.80 รองลงมาคือกลุ่มที่เติม 1.5%SGE, 1%SGE และ 2%SGE ที่ระดับคะแนนเท่ากับ 5.35, 5.30 และ 5.05 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แสดงว่าผู้บริโภคมีแนวโน้มชอบถึงชอบมาก ด้านกลิ่นและรสชาติเปรี้ยวผู้บริโภคให้คะแนนความชอบในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดกลุ่มที่เติม 1.5%SGE มากที่สุดที่ระดับคะแนนเท่ากับ 5.30 แสดงว่าผู้บริโภคมีแนวโน้มชอบถึงชอบมาก รองลงมาคือ กลุ่มที่เติม 2%SGE ที่ระดับคะแนนเท่ากับ 4.90 (P>0.05) และกลุ่มที่เติม 1%SGE และ 0%SGE ได้คะแนนความชอบน้อยที่สุดที่ระดับคะแนนเท่ากับ 4.65 และ 4.30 ตามลำดับ (P>0.05) แสดงว่าผู้บริโภคเฉยๆ ด้านลักษณะเนื้อสัมผัสผู้บริโภคให้คะแนนความชอบในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดกลุ่มที่เติม 1.5%SGE มากที่สุดที่ระดับคะแนนเท่ากับ 5.95 รองลงมาคือ กลุ่มที่เติม 0%SGE, 2%SGE และ 1%SGE ที่ระดับคะแนนเท่ากับ 5.85, 5.60 และ 5.45 ตามลำดับ (P>0.05) แสดงว่าผู้บริโภคมีแนวโน้มชอบถึงชอบมาก ด้านความชอบด้านความชอบโดยรวมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดกลุ่มที่เติม 1.5%SGE มากที่สุดที่ระดับคะแนนเท่ากับ 5.75 รองลงมาคือ กลุ่มที่เติม 0%SGE ที่ระดับคะแนนเท่ากับ 5.20 ตามลำดับ (P>0.05) และกลุ่มที่เติม 1%SGE และ 2%SGE ได้คะแนนความชอบน้อยที่สุดที่ระดับคะแนนเท่ากับ 4.95 และ 4.90 (P>0.05) แสดงว่าผู้บริโภคมีแนวโน้มชอบถึงชอบมาก ดังแสดงในตารางที่ 4.7 จากผลดังกล่าวเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดปรุงสุกที่ใช้ SGE มากกว่า 1.5% อาจไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเนื่องจาก SGE จะมีรสชาติเปรี้ยว ทำให้มีข้อจำกัดในการใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองที่ 4.3.1.1 และ 4.3.1.2 การประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่นและรสเปรี้ยว ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดปรุงสุกที่ใช้ SGV และ SGE ความเข้มข้นที่เหมาะสมเท่ากับ 3 และ 1.5% ตามลำดับ และนำความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดไปทดสอบคุณสมบัติทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียว เป็นเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน

ตารางที่ 4.7 การทดสอบด้านประสาทสัมผัสของการใช้น้ำส้มสายชูหมักและสารสกัดจากผลมะยม ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดปรุงสุก

ตัวอย่าง	pH	ลักษณะปรากฏ	กลิ่นและรสเปรี้ยว	ลักษณะเนื้อสัมผัส	ความชอบโดยรวม
0%SGV	5.71	5.80 ± 0.95^{A}	4.85 ± 0.88^{AB}	5.75 ± 1.07^{A}	5.40 ± 1.50^{A}
3%SGV	5.04	5.35 ± 1.18^{B}	5.20 ± 1.09^{A}	5.15 ± 1.09^{A}	5.55 ± 1.36^{A}
6%SGV	4.95	4.85 ± 1.04^{B}	5.00 ± 0.97^{A}	4.40 ± 1.10^{B}	4.80 ± 0.95^{B}
9%SGV	4.84	4.65 ± 0.81^{C}	4.25 ± 1.29^{B}	$4.00\pm.086^{B}$	4.25 ± 1.07^{C}
0%SGE	5.70	5.45 ± 1.05^{A}	4.30 ± 0.80^{B}	4.85 ± 0.93^{A}	5.20 ± 1.01^{AB}
1%SGE	5.12	5.10 ± 0.91^{A}	4.65 ± 0.88^{B}	4.45 ± 0.89^{A}	4.95 ± 1.00^{B}
1.5%SGE	4.99	5.35 ± 0.75^{A}	5.30 ± 0.80^{A}	4.95 ± 0.89^{A}	5.75 ± 1.02^{A}
2%SGE	4.91	5.05 ± 0.76^{A}	4.90 ± 1.17^{AB}	$4.60\pm.099^{A}$	4.90 ± 1.12^{B}

SGV คือ น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม

SGE คือ สารสกัดจากผลมะยม

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

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

4.3.2 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ

4.3.2.1 ผลของ SGV และ SGE ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านกายภาพ

1) ค่าสี (colour)

คุณภาพสี CIE (L*a* และ b*) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ 1) กลุ่มที่เติมน้ำมะนาวเทียม (artificial lime juice: ALJ) 3% 2) กลุ่มที่เติมน้ำมะนาวแท้ (lime juice: LJ) 3% 3) กลุ่มที่เติม BHT 3%LJ ร่วมกับ 0.01%BHT 4) กลุ่มที่เติม SGV 3% และกลุ่มที่เติม SGE 1.5% ดังแสดงในตารางที่ 4.8 จากผลการทดลองค่าความสว่าง (lightness: L*) ของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มในวันที่ 0 พบว่า มีค่าความสว่างเท่ากับ 42.07, 42.48, 42.45, 42.73 และ 41.35 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3, 6 และ 9 วัน พบว่า ระยะการเก็บรักษาที่นานขึ้นจะทำให้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทั้ง 5 กลุ่มการทดลองมีค่าความสว่างเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยกลุ่มที่เติม 1.5%SGE มีค่าความสว่างสูงสุด (P<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4.8 การเพิ่มขึ้นของค่าความสว่าง เนื่องจากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดมีค่า pH ต่ำกว่า 5.8 และอยู่ในช่วง isoelectric point ประจุบวกและประจุลบเท่า ๆ กัน เกิดการดึงดูดกันของโปรตีนกับโปรตีน มากกว่าโปรตีนกับน้ำ ส่งผลให้เนื้อสูญเสียน้ำออกมา ทำให้แสงที่มาตกกระทบผิวผลิตภัณฑ์สะท้อนออกไปได้มากจึงทำให้เห็นว่าเนื้อมีสีซีดจางกว่าปกติ และทำให้ค่าความสว่างของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น (Lesiow *et al.* 2017) นอกจากนี้ Anh *et al.* (2007) รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงของค่าความสว่างในระหว่างการเก็บรักษาเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน และการสลายตัวของรงควัตถุ

ค่าสีแดง (redness: a*) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงระดับความเข้มของสีแดงของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด ดังแสดงในตารางที่ 4.8 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มในวันที่ 0 พบว่า มีค่าสีแดงเท่ากับ 8.69, 8.63, 8.93, 8.96 และ 8.89 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3, 6 และ 9 วันพบว่า ระยะการเก็บรักษาที่นานขึ้นจะทำให้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดมีค่าสีแดงลดลง (P>0.05) การลดลงของค่าสีแดง ซึ่งสอดคล้องกับค่าความสว่างที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ในระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เย็น เมื่อมีการสัมผัสกับออกซิเจน ส่งผลทำให้ oxymyoglobin (สีแดง) เปลี่ยนเป็น metmyoglobin (สีน้ำตาล) ซึ่งเป็นผลมาจากสารประกอบอัลดีไฮด์ชนิดไม่อิ่มตัว ที่เกิดขึ้นในกระบวนการออกซิเดชันของไขมันเป็นตัวเหนี่ยวนำ (Hugo and Hugo. 2015) ทั้งนี้การเติมสารต้านอนุมูลอิสระอาจมีส่วนช่วยในการรักษาความคงทนของสีในผลิตภัณฑ์โดยการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของฮีโมโกลบินในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Kim *et al.* 2013)

ค่าสีเหลือง (yellowness: b*) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงระดับความเข้มของสีเหลืองของผลิตภัณฑ์ ดังแสดงในตารางที่ 4.8 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มในวันที่ 0 พบว่า มีค่าสีเหลืองเท่ากับ 22.11, 22.23, 22.12, 22.27 และ 21.78 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3, 6 และ 9 วัน พบว่า ระยะการเก็บรักษาที่นานขึ้นแต่ละกลุ่มการทดลองมีค่าสีเหลืองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ค่าความสดใส (chroma) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงค่าสี 0-60 โดยค่า 0 ผลิตภัณฑ์มีสีซีดจาง (เทา) และ 60 ผลิตภัณฑ์มีสีเข้ม ดังแสดงในตารางที่ 4.9 จากผลการทดสอบเมื่อเปรียบเทียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มพบว่ามีค่าความสดใสในวันที่ 0 เท่ากับ 23.39, 23.40, 23.48, 23.24 และ 23.20 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3, 6 และ 9 วัน พบว่า ระยะการเก็บรักษาที่นานขึ้นแต่ละกลุ่มการทดลองมีค่าความสดใสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ค่าองศาของสี (hue angle) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงสีที่แท้จริงที่ปรากฏให้เห็นชัด ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 โดยแต่ละช่วงองศาแสดงสีที่มีความแตกต่างกัน (ภาคผนวก ค) ดังแสดงในตารางที่ 4.9 จากผลการทดสอบเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มพบว่ามีค่าองศาของสีในวันที่ 0 เท่ากับ 68.20, 68.23, 68.77, 67.87 และ 68.26 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3, 6 และ 9 วัน พบว่า ระยะการเก็บรักษาที่นานขึ้นแต่ละกลุ่มการทดลองมีค่าองศาของสีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 การวัดค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (a*) และค่าสีเหลือง (b*) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

พารามิเตอร์	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	กลุ่มการทดลอง[†]				
		3%ALJ	3%LJ	3%LJ+0.01%BHT	3%SGV	1.5%SGE
lightness (L*)	0	42.07±0.41 ^{a,B}	42.48±0.89 ^{a,B}	42.45±0.98 ^{a,B}	42.13±0.22 ^{a,B}	41.35±0.71 ^{a,C}
	3	42.13±0.80 ^{a,B}	42.47±0.34 ^{a,B}	43.39±0.80 ^{a,A}	42.94±0.74 ^{a,AB}	42.74±0.28 ^{a,B}
	6	43.57±0.46 ^{a,A}	43.39±0.99 ^{a,AB}	43.53±1.08 ^{a,A}	43.30±1.35 ^{a,A}	43.44±1.04 ^{a,B}
	9	43.80±0.68 ^{a,A}	44.07±0.66 ^{a,A}	44.56±0.98 ^{a,A}	43.76±0.95 ^{a,A}	45.01±0.37 ^{a,A}
redness (a*)	0	8.69±0.36 ^{a,A}	8.63±0.64 ^{a,A}	8.93±0.74 ^{a,A}	8.96±0.53 ^{a,A}	8.89±0.13 ^{a,A}
	3	8.26±0.53 ^{a,A}	8.37±0.59 ^{a,A}	8.70±0.14 ^{a,A}	8.68±0.14 ^{a,A}	8.41±0.06 ^{a,A}
	6	8.45±0.89 ^{a,A}	8.62±0.54 ^{a,A}	8.13±0.95 ^{a,A}	8.35±0.20 ^{a,A}	8.25±0.10 ^{a,A}
	9	8.28±0.76 ^{a,A}	8.26±1.35 ^{a,A}	8.49±1.04 ^{a,A}	8.24±0.69 ^{a,A}	8.26±0.78 ^{a,A}
yellowness (b*)	0	22.11±1.28 ^{a,A}	22.23±0.75 ^{a,A}	22.12±1.49 ^{a,A}	22.27±1.18 ^{a,A}	21.78±1.18 ^{a,A}
	3	21.56±0.94 ^{a,A}	21.71±0.88 ^{a,A}	22.28±0.19 ^{a,A}	22.01±0.95 ^{a,A}	21.75±0.71 ^{a,A}
	6	21.50±1.02 ^{a,A}	21.30±0.79 ^{a,A}	21.33±0.78 ^{a,A}	21.56±0.85 ^{a,A}	21.69±1.03 ^{a,A}
	9	22.18±0.91 ^{a,A}	21.60±0.08 ^{a,A}	21.32±1.60 ^{a,A}	22.10±0.79 ^{a,A}	22.62±0.12 ^{a,A}

ALJ คือ น้ำมะนาวเทียมจากกรดเริ่มต้น 5%, LJ คือ น้ำมะนาว, BHT ร่วมกับ LJ, SGV คือ น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมจากกรดเริ่มต้น 5%, SGE คือ สารสกัดจากผลมะยม

[†] คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

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

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

ตารางที่ 4.9 การวัดค่าความสดใส (chroma) และค่าองศาของสี (hue Angle) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

พารามิเตอร์	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	กลุ่มการทดลอง †				
		3%ALJ	3%LJ	3%LJ+0.01%BHT	3%SGV	1.5%SGE
chroma	0	23.39±0.93 ^{a,A}	23.40±1.21 ^{a,A}	23.48±0.89 ^{a,A}	23.24±0.45 ^{a,A}	23.20±0.12 ^{a,A}
	3	22.96±1.35 ^{a,A}	23.15±0.87 ^{a,A}	23.81±0.35 ^{a,A}	23.73±0.92 ^{a,A}	22.69±0.40 ^{a,A}
	6	23.05±1.38 ^{a,A}	23.14±0.79 ^{a,A}	22.62±0.56 ^{a,A}	23.03±0.61 ^{a,A}	23.20±0.95 ^{a,A}
	9	23.66±1.13 ^{a,A}	22.66±1.50 ^{a,A}	23.08±1.59 ^{a,A}	23.64±0.86 ^{a,A}	23.83±0.31 ^{a,A}
hue Angle	0	68.20±0.96 ^{a,A}	68.23±1.15 ^{a,AB}	68.77±1.58 ^{a,A}	67.87±1.00 ^{a,A}	68.26±1.17 ^{a,A}
	3	68.42±1.00 ^{a,A}	69.30±0.38 ^{a,AB}	69.24±0.41 ^{a,A}	68.25±0.24 ^{a,A}	68.87±0.46 ^{a,A}
	6	68.59±1.21 ^{a,A}	68.03±0.79 ^{a,B}	68.46±7.46 ^{a,A}	68.08±1.37 ^{a,A}	68.65±1.70 ^{a,A}
	9	69.77±1.12 ^{a,A}	69.58±1.45 ^{a,A}	68.78±1.91 ^{a,A}	69.66±1.71 ^{a,A}	69.55±1.90 ^{a,A}

ALJ คือ น้ำมะนาวเทียมจากกรดเริ่มต้น 5%, LJ คือ น้ำมะนาว, BHT ร่วมกับ LJ, SGV คือ น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมจากกรดเริ่มต้น 5%, SGE คือ สารสกัดจากผลมะยม

† คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

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

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

4.3.2.2 ผลของ SGV และ SGE ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านเคมี

1) ค่าความเป็นกรด-ด่าง

การวิเคราะห์คุณภาพความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เติม 3%ALJ, 3%LJ, 3%LJ+0.01%BHT, 3%SGV และ 1.5%SGE ดังแสดงในตารางที่ 4.10 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่ม พบว่า กลุ่มที่เติม 1.5%SGE มีค่า pH ต่ำที่สุดเท่ากับ 5.00 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รองลงมาคือ กลุ่มที่เติม 3%LJ, 3%SGV, 3%LJ+0.01%BHT และ 3%ALJ มีค่า pH เท่ากับ 5.14, 5.14, 5.17 และ 5.27 ตามลำดับ ($P>0.05$) เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3, 6 และ 9 วัน พบว่า ระยะการเก็บรักษาที่นานขึ้นส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทั้ง 5 กลุ่มการทดลองมีค่า pH เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Araújo *et al.* (2018) ที่ได้ศึกษาเรื่องผลของฟีนอลที่สกัดจากผลพลอยได้ในการผลิตน้ำมันต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดและปรุงสุกที่ไม่มีส่วนผสมของสารเคมี ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 7 และ 14 วัน พบว่า ระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีค่า pH เพิ่มขึ้น โดย De Silveira *et al.* (2014) กล่าวว่า การเพิ่มขึ้นของค่า pH ในผลิตภัณฑ์ เกิดจากจุลินทรีย์กลุ่ม *Pseudomonas* และกลุ่มจุลินทรีย์ที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำ (แกรมลบ) เช่น *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Aeromonas* และ *Serratia* เป็นต้น จะใช้โปรตีนเป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโต และผลิตแอมโมเนียทำให้ผลิตภัณฑ์มีค่า pH เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ค่าความเป็น กรด-ด่าง ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บ	กลุ่มการทดลอง[†]				
รักษา (วัน)	3%ALJ	3%LJ	3%LJ+0.01%BHT	3%SGV	1.5%SGE
0	5.27±0.08^{a,B}	5.14±0.14^{ab,B}	5.17±0.09^{a,B}	5.14±0.12^{ab,B}	5.00±0.01^{b,B}
3	5.31±0.03^{a,AB}	5.18±0.10^{b,AB}	5.21±0.04^{b,AB}	5.20±0.06^{b,AB}	5.09±0.11^{c,AB}
6	5.34±0.02^{a,A}	5.18±0.11^{bc,AB}	5.24±0.07^{ab,A}	5.26±0.06^{ab,A}	5.13±0.06^{c,A}
9	5.36±0.01^{a,A}	5.20±0.11^{bc,A}	5.26±0.06^{b,A}	5.28±0.04^{ab,A}	5.14±0.05^{c,A}

ALJ คือ น้ำมะนาวเทียมจากกรดเริ่มต้น 5%, LJ คือ น้ำมะนาว, BHT ร่วมกับ LJ, SGV คือ น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมจากกรดเริ่มต้น 5%, SGE คือ สารสกัดจากผลมะยม

[†] คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

[a-c] คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

[A-C] คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

2) การต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดด้วยวิธี DPPH

ผลการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เติม 3%ALJ, 3%LJ, 3%LJ+0.01%BHT, 3%SGV และ 1.5%SGE ดังแสดงในตารางที่ 4.11 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มพบว่า กลุ่มที่เติม 1.5%SGE มีค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุดเท่ากับ 46.16% ($P<0.05$) รองลงมาคือ กลุ่มที่เติม 3%LJ+0.01%BHT, 3%SGV และ 3%LJ มีค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 43.47, 40.71 และ 40.59% ตามลำดับ ($P>0.05$) และกลุ่มที่เติม 3%ALJ มีค่าต่ำที่สุดเท่ากับ 35.92% ($P<0.05$) เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3, 6 และ 9 วัน พบว่า ระยะการเก็บรักษาที่นานขึ้นส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทั้ง 5 กลุ่มการทดลอง มีค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า กลุ่มที่เติม 1.5%SGE มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิในการให้ไฮโดรเจนอะตอมสูง สอดคล้องกับ Nguyen *et al.* (2017) ซึ่งศึกษาการต้านอนุมูลอิสระและป้องกันการออกซิเดชันของไขมันของสารสกัดจากใบมะยมในหมูบด โดยเสริมสารสกัดจากใบมะยมที่ 0, 0.02, 0.25 และ 0.5% พบว่า การต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าเท่ากับ 22.16, 38.72, 61.15 และ 78.02% ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์ โดย บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556) กล่าวว่า การต้านอนุมูลอิสระ DPPH เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยใช้สาร DPPH ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วง สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (สารที่ให้ไฮโดรเจนอะตอม) ส่งผลให้ให้สีม่วงจางลง ๆ จนเป็นสีเหลือง (DPPH-H)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	กลุ่มการทดลอง†				
	3%ALJ	3%LJ	3%LJ+0.01%BHT	3%SGV	1.5%SGE
0	35.92±3.35^{c,A}	40.59±0.86^{b,A}	43.47±1.00^{ab,A}	40.71±1.07^{b,A}	46.16±1.58^{a,A}
3	33.53±3.59^{c,B}	36.96±2.49^{bc,B}	41.12±0.39^{ab,AB}	39.29±1.57^{b,A}	44.75±2.67^{a,AB}
6	34.91±2.64^{b,AB}	35.55±1.18^{b,B}	39.87±1.06^{a,B}	35.59±2.65^{b,B}	42.24±1.99^{a,B}
9	33.82±0.93^{c,B}	36.44±2.44^{bc,B}	38.66±2.71^{b,B}	36.05±1.99^{bc,B}	41.92±1.38^{a,B}

ALJ คือ น้ำมะนาวเทียมจากกรดเริ่มต้น 5%, LJ คือ น้ำมะนาว, BHT ร่วมกับ LJ, SGV คือ น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมจากกรดเริ่มต้น 5%, SGE คือ สารสกัดจากผลมะยม

† คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

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

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

3) การวิเคราะห์ค่าการต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดด้วยวิธี $ABTS^{+}$

การวิเคราะห์ผลการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เติม 3%ALJ, 3%LJ, 3%LJ+0.01%BHT, 3%SGV และ 1.5%SGE ดังแสดงในตารางที่ 4.12 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มในวันที่ 0 พบว่า กลุ่มที่เติม 1.5%SGE มีค่าการต้านอนุมูลอิสระ ABTS สูงสุดเท่ากับ 62.79% ($P<0.05$) รองลงมาคือ กลุ่มที่เติม 3%LJ+0.01%BHT, 3%SGV และ 3%LJ มีค่าเท่ากับ 54.20, 52.10 และ 51.64% ตามลำดับ ($P>0.05$) และกลุ่มที่เติม 3%ALJ มีค่าต่ำที่สุดเท่ากับ 42.52% ($P<0.05$) เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3, 6 และ 9 วัน พบว่า ระยะการเก็บรักษาที่นานขึ้นส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทั้ง 5 กลุ่มการทดลอง มีค่าการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยวิเคราะห์ค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS จะให้ผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกันกับการวิเคราะห์ค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ซึ่งผลที่ได้มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์ (Huang *et al.* 2011) โดยสาร ABTS เป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงินซึ่งดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ABTS assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยสาร ABTS จะต้องนำไปทำปฏิกิริยากับสาร potassium persulfage นำไปเก็บในที่มืด เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง เพื่อให้สาร ABTS เปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระ และเมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (สารที่ให้ไฮโดรเจนอะตอม) จะทำให้ ABTS มีสีจางลง โดยวิเคราะห์ค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS จะให้ผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกันกับการวิเคราะห์ค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิที่ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการให้ไฮโดรเจนอะตอม (บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556; Slima *et al.* 2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บรักษา	กลุ่มการทดลอง[†]				
(วัน)	3%ALJ	3%LJ	3%LJ+0.01%BHT	3%SGV	1.5%SGE
0	42.52±1.65 ^{c,A}	51.64±2.63 ^{b,A}	54.02±3.35 ^{b,A}	52.10±4.28 ^{b,A}	62.79±0.54 ^{a,A}
3	40.47±1.52 ^{c,AB}	47.76±3.35 ^{b,AB}	48.99±3.51 ^{b,B}	47.84±3.23 ^{b,B}	58.39±2.21 ^{a,B}
6	39.27±1.32 ^{c,AB}	44.88±3.33 ^{b,B}	46.59±1.94 ^{b,B}	47.06±1.57 ^{b,B}	57.50±1.70 ^{a,B}
9	37.27±1.65 ^{c,B}	44.97±1.40 ^{b,B}	49.00±1.73 ^{b,B}	47.42±3.81 ^{b,B}	57.61±1.58 ^{a,B}

ALJ คือ น้ำมะนาวเทียมจากกรดเริ่มต้น 5%, LJ คือ น้ำมะนาว, BHT ร่วมกับ LJ, SGV คือ น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมจากกรดเริ่มต้น 5%, SGE คือ สารสกัดจากผลมะยม

[†] คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

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

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

4) การต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดด้วยวิธี reducing power

ผลการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี reducing power ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เติม 3%ALJ, 3%LJ, 3%LJ+0.01%BHT, 3%SGV และ 1.5%SGE ดังแสดงในตารางที่ 4.13 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่ม พบว่า กลุ่มที่เติม 1.5%SGE มีค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี reducing power สูงสุดเท่ากับ 0.442 ($P<0.05$) รองลงมาคือ กลุ่มที่เติม 3%LJ+0.01%BHT, 3%LJ และ 3%SGV มีค่าเท่ากับ 0.345, 0.336 และ 0.332 ตามลำดับ ($P>0.05$) และกลุ่มที่เติม 3%ALJ มีค่าต่ำที่สุดเท่ากับ 0.296 ($P<0.05$) เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3, 6 และ 9 วัน พบว่า ระยะการเก็บรักษาที่นานขึ้นส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทั้ง 5 กลุ่มการทดลอง มีค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี reducing power ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) สอดคล้องกับ Nguyen *et al.* (2017) ซึ่งศึกษาการต้านอนุมูลอิสระและป้องกันการออกซิเดชันของไขมันของสารสกัดจากใบมะยมในหมูบด โดยเสริมสารสกัดจากใบมะยมที่ 0, 0.02, 0.25 และ 0.5% พบว่า การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี reducing power มีค่าเท่ากับ 0.42, 0.60, 0.72 และ 0.84% ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์ Vijayalakshmi and Ruckmani. (2016) กล่าวว่า reducing power เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ตรวจความสามารถในการต้านการออกซิเดชันโดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อน คือเมื่อสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$ สีเหลือง ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชัน แล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$ สีเขียว ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิที่ไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระ แต่จะช่วยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิโดย จับกับเหล็ก (Fe) ที่จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี reducing power (ค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	กลุ่มการทดลอง[†]				
	3%ALJ	3%LJ	3%LJ+0.01%BHT	3%SGV	1.5%SGE
0	0.296±0.04 ^{b,A}	0.336±0.01 ^{b,A}	0.345±0.04 ^{b,A}	0.332±0.03 ^{b,A}	0.442±0.09 ^{a,A}
3	0.290±0.04 ^{b,A}	0.345±0.05 ^{b,A}	0.327±0.03 ^{b,A}	0.335±0.01 ^{b,A}	0.440±0.05 ^{a,A}
6	0.296±0.04 ^{c,A}	0.349±0.03 ^{ab,A}	0.349±0.08 ^{ab,A}	0.321±0.03 ^{bc,A}	0.404±0.07 ^{a,A}
9	0.272±0.01 ^{c,A}	0.311±0.02 ^{bc,A}	0.321±0.02 ^{b,A}	0.310±0.03 ^{bc,A}	0.393±0.02 ^{a,A}

ALJ คือ น้ำมะนาวเทียมจากกรดเริ่มต้น 5%, LJ คือ น้ำมะนาว, BHT ร่วมกับ LJ, SGV คือ น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมจากกรดเริ่มต้น 5%, SGE คือ สารสกัดจากผลมะยม

[†] คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

[a-c] คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

[A] คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

5) การออกซิเดชันของไขมันในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดด้วยวิธี TBARS (thio barbituric acid reactive substances)

ผลการออกซิเดชันของไขมัน (TBARS) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เติม 3%ALJ, 3%LJ, 3%LJ+0.01%BHT, 3%SGV และ 1.5%SGE ดังแสดงในตารางที่ 4.14 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มพบว่าผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทั้ง 5 กลุ่มมีค่า TBARS เท่ากับ 0.48, 0.46, 0.46, 0.49 และ 0.46 mg MDA/kg meat ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเก็บรักษาที่ 6 และ 9 วัน พบว่า กลุ่มที่เติม 3%LJ+0.01%BHT มีค่า TBARS ต่ำที่สุด ($P<0.05$) ในขณะที่กลุ่มที่เติม 3%SGE, 3%SGV, 3%LJ และ3%ALJ มีค่า TBARS ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3, 6 และ 9 วัน พบว่า ระยะการเก็บรักษาที่นานขึ้นส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทั้ง 5 กลุ่มการทดลองมีค่า TBARS เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยกลุ่มที่เติม 3%LJ+0.01%BHT มีค่า TBARS เพิ่มขึ้นน้อยสุด ($P<0.05$) จากผลการทดลองค่า TBARS อยู่ในช่วง 0.46-1.49 mg MDA/kg meat แสดงว่าผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสามารถบริโภคได้ โดยทั่วไปค่า TBARS เป็นค่าที่บ่งบอกการหืนของไขมัน เมื่อมีค่า TBARS มากกว่า 2 mg MDA/kg meat ผลิตภัณฑ์จะมีกลิ่นหืนและไม่สามารถยอมรับได้ (Balzan *et al.* 2017) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Baldin *et al.* (2016) ที่ได้ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นบราซิลในผลิตภัณฑ์ไส้กรอสด โดยเก็บรักษาแบบแช่เย็น ที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 4, 8, 11 และ 15 วัน จากการทดลองพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นกลุ่มที่เติม 2%ของสารสกัด สามารถชะลอการเกิดการออกซิเดชันของไขมันได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม (ไม่เติมสาร) นอกจากนี้ Crist *et al.* (2014) รายงานว่าผลิตภัณฑ์ไส้กรอสดกลุ่มที่เติม 0.02%BHT/BHA เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น 18 วัน ที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อค่า TBARS โดย Jayawardana *et al.* (2015) และ Šojić *et al.* (2018) กล่าวว่ากลุ่มที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง สามารถชะลอการเกิดการออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์ได้ โดยสารประกอบฟีนอลิกจะทำหน้าที่ยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ อีกทั้งยังสามารถดักจับไอออนของโลหะซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ ส่วนอิทธิพลของระยะเวลาในการเก็บรักษาทำให้ค่า TBARS ของผลิตภัณฑ์สูงขึ้น เกี่ยวข้องกับปัจจัยจากการกระตุ้นของสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ในการเก็บรักษา เช่น แสง อุณหภูมิ และปริมาณออกซิเจนที่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ซึ่งสอดคล้องกับการต้านอนุมูลอิสระในวิธี DPPH, ABTS และ reducing power ที่ทำการทดลองในการทดลองก่อนหน้านี้ จึงส่งผลให้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลง เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากโมเลกุลของสารต้านอนุมูลอิสระเสียอิเล็กตรอนให้แก่อนุมูลอิสระในปฏิกิริยาการออกซิเดชันของไขมันได้ (ชนันดา ศรีบุญไทย. 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 การออกซิเดชันของไขมัน (TBARS; mg MDA/kg sample) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บรักษา	กลุ่มการทดลอง[†]				
(วัน)	3%ALJ	3%LJ	3%LJ+0.01%BHT	3%SGV	1.5%SGE
0	0.48±0.11 ^{a,C}	0.46±0.18 ^{a,C}	0.46±0.14 ^{a,C}	0.49±0.15 ^{a,C}	0.46±0.16 ^{a,C}
3	0.60±0.03 ^{a,C}	0.68±0.15 ^{a,C}	0.57±0.12 ^{a,BC}	0.65±0.11 ^{a,C}	0.56±0.16 ^{a,C}
6	1.06±0.20 ^{a,B}	1.02±0.13 ^{ab,B}	0.73±0.16 ^{b,B}	0.98±0.15 ^{ab,B}	0.82±0.24 ^{ab,B}
9	1.42±0.11 ^{a,A}	1.49±0.32 ^{a,A}	1.01±0.16 ^{b,A}	1.43±0.33 ^{a,A}	1.18±0.11 ^{ab,A}

ALJ คือ น้ำมะนาวเทียมจากกรดเริ่มต้น 5%, LJ คือ น้ำมะนาว, BHT ร่วมกับ LJ, SGV คือ น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมจากกรดเริ่มต้น 5%, SGE คือ สารสกัดจากผลมะยม

[†] คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

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

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

4.3.2.3 ผลของ SGV และ SGE ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านชีวภาพ

1) จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เติม 3%ALJ, 3%LJ, 3%LJ+0.01%BHT, 3%SGV และ 1.5%SGE ดังแสดงในตารางที่ 4.15 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มพบว่า มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 3.65, 3.66, 3.66, 3.57 และ 3.57 log CFU/g ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3, 6 และ 9 วัน พบว่า ระยะการเก็บรักษาที่นานขึ้นมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดในระหว่างการเก็บรักษามีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำกว่า 5 log CFU/g จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารที่เติมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทั้ง 5 กลุ่ม สามารถชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และยืดอายุการเก็บรักษาได้ ซึ่งสอดคล้องกับกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณะสุข ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2560) ได้ประกาศไว้ว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูและผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านการปรุงสุกจะต้องมีค่าไม่เกิน 6 log CFU/g หรือเทียบเท่า จึงจะเป็นที่ยอมรับว่าปลอดภัยต่อผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) จำนวนจุลินทรีย์ที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำ

จำนวนจุลินทรีย์ที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำ (psychotrophic bacteria) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เติม 3%ALJ, 3%LJ, 3%LJ+0.01%BHT, 3%SGV และ 1.5%SGE ดังแสดงในตารางที่ 4.15 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มพบว่า มีจำนวนจุลินทรีย์ที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำเท่ากับ 4.51, 4.63, 4.61, 4.54 และ 4.57 log CFU/g ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3, 6 และ 9 วัน พบว่า ระยะการเก็บรักษาที่นานขึ้นส่งผลให้มีจำนวนจุลินทรีย์ที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Scapin *et al.* (2015) ได้ศึกษาผลการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมล็ดเจียในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 28 วัน พบว่าเมื่อระยะการเก็บรักษานานขึ้นส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดมีจำนวนจุลินทรีย์ที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Baldin *et al.* (2016) ได้ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นบราซิลในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่า ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดสามารถเก็บรักษาไว้ได้ไม่เกิน 4 วัน เนื่องจากมีจำนวนจุลินทรีย์ที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำสูงกว่า 7 log CFU/g ซึ่งแสดงถึงการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ และส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารที่เติมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดทั้ง 5 กลุ่ม สามารถชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และยืดอายุการเก็บรักษาได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 จำนวนเชื้อ total plate count และ psychotrophic bacteria ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เชื้อที่ศึกษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	3%ALJ	3%LJ	3%LJ+0.01%BHT	3%SGV	1.5%SGE
total plate count (log CFU/g)†	0	3.65±0.17^{a,A}	3.66±0.22^{a,A}	3.66±0.22^{a,A}	3.57±0.15^{a,A}	3.57±0.19^{a,A}
	3	4.27±0.38^{a,A}	3.88±0.51^{a,A}	3.86±0.55^{a,A}	3.78±0.49^{a,A}	3.79±0.50^{a,A}
	6	4.10±0.14^{a,A}	3.80±0.53^{a,A}	3.73±0.48^{a,A}	3.72±0.56^{a,A}	3.72±0.56^{a,A}
	9	4.14±0.24^{a,A}	3.84±0.64^{a,A}	3.86±0.66^{a,A}	3.78±0.64^{a,A}	3.80±0.66^{a,A}
psychotropic bacteria (log CFU/g)	0	4.51±0.28^{a,B}	4.63±0.34^{a,B}	4.61±0.32^{a,B}	4.54±0.35^{a,B}	4.57±0.34^{a,B}
	9	4.91±0.18^{a,AB}	4.91±0.21^{a,B}	4.91±0.20^{a,B}	4.74±0.35^{a,B}	4.75±0.30^{a,B}
	6	5.25±0.67^{a,A}	5.47±0.73^{a,AB}	5.53±0.66^{a,AB}	4.98±0.37^{a,B}	4.98±0.35^{a,B}
	9	5.43±0.82^{a,A}	5.84±0.89^{a,A}	5.88±0.84^{a,A}	5.70±0.86^{a,A}	5.74±0.83^{a,A}

ALJ คือ น้ำมะนาวเทียมจากกรดเริ่มต้น 5%, LJ คือ น้ำมะนาว, BHT ร่วมกับ LJ, SGV คือ น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมจากกรดเริ่มต้น 5%, SGE คือ สารสกัดจากผลมะยม

† คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

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

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

3) จำนวนเชื้อ coliform

จำนวนเชื้อโคลีฟอร์ม (coliform) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เติม 3%ALJ, 3%LJ, 3%LJ+0.01%BHT, 3%SGV และ 1.5%SGE ดังแสดงในตารางที่ 4.16 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มพบว่า มีจำนวนเชื้อโคลีฟอร์มเท่ากับ 4.64, 4.54, 4.52, 4.50 และ 4.53 log CFU/g ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3, 6 และ 9 วัน พบว่า ระยะการเก็บรักษาที่นานขึ้นมีจำนวนเชื้อโคลีฟอร์มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งการตรวจพบจำนวนเชื้อโคลีฟอร์มเป็นการบ่งชี้ถึงสุขลักษณะของผลิตภัณฑ์ โดย Crist *et al.* (2015) รายงานว่า สามารถพบเชื้อโคลีฟอร์มได้ทั่วไปในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด เนื่องจากการปนเปื้อนของเชื้อมากับวัตถุดิบหรือไส้ที่ใช้บรรจุ

4) จำนวนเชื้อ *E. coli*

จำนวนเชื้อ *E. coli* ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เติม 3%ALJ, 3%LJ, 3%LJ+0.01%BHT, 3%SGV และ 1.5%SGE ดังแสดงในตารางที่ 4.16 ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาพบว่า ไม่ตรวจพบเชื้อ *E. coli* (น้อยกว่า 1 CFU/g) ซึ่งสอดคล้องกับกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณะสุข ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2560) ได้ประกาศไว้ว่าเชื้อ *E. coli* ที่พบในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูและผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านการปรุงสุกจะต้องมีค่าน้อยกว่า 100 CFU/g จึงจะเป็นที่ยอมรับว่าปลอดภัยต่อผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.16 จำนวนเชื้อ coliform และ *E. coli* ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เชื้อที่ศึกษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	3%ALJ	3%LJ	3%LJ+0.01%BHT	3%SGV	1.5%SGE
coliform (log CFU/g)[†]	0	4.64±0.31^{a,A}	4.54±0.25^{a,A}	4.52±0.22^{a,A}	4.50±0.21^{a,A}	4.53±0.23^{a,A}
	3	4.68±0.52^{a,A}	4.68±0.42^{a,A}	4.70±0.51^{a,A}	4.55±0.35^{a,A}	4.57±0.30^{a,A}
	6	4.64±0.44^{a,A}	4.42±0.43^{a,A}	4.45±0.42^{a,A}	4.35±0.42^{a,A}	4.37±0.42^{a,A}
	9	4.59±0.60^{a,A}	4.18±0.50^{a,A}	4.22±0.57^{a,A}	4.11±0.47^{a,A}	4.48±0.21^{a,A}
E. coli (log CFU/g[†]	0	<1[á]	<1	<1	<1	<1
	9	<1	<1	<1	<1	<1
	6	<1	<1	<1	<1	<1
	9	<1	<1	<1	<1	<1

ALJ คือ น้ำมะนาวเทียมจากกรดเริ่มต้น 5%, LJ คือ น้ำมะนาว, BHT ร่วมกับ LJ, SGV คือ น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมจากกรดเริ่มต้น 5%, SGE คือ สารสกัดจากผลมะยม

[†] คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

[á] คือ น้อยกว่า 1 CFU/g (ต่ำกว่าระดับที่ตรวจนับได้)

[a-c] คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

[A-C] คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

5) จำนวนเชื้อ *S. aureus*

จำนวนเชื้อ *S. aureus* ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เติม 3%ALJ, 3%LJ, 3%LJ+0.01%BHT, 3%SGV และ 1.5%SGE ดังแสดงในตารางที่ 4.17 ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาพบว่า ไม่ตรวจพบเชื้อ *S. aureus* (น้อยกว่า 1 CFU/g) ซึ่งสอดคล้องกับกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณะสุข ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2560) ได้ประกาศไว้ว่าปริมาณเชื้อ *S. aureus* ที่พบในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูและผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านการปรุงสุกจะต้องมีค่าน้อยกว่า 100 CFU/g จึงจะเป็นที่ยอมรับว่าปลอดภัยต่อผู้บริโภค

6) จำนวนเชื้อ *Salmonella* spp.

จำนวนเชื้อ *Salmonella* spp. ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสด ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เติม 3%ALJ, 3%LJ, 3%LJ+0.01%BHT, 3%SGV และ 1.5%SGE ดังแสดงในตารางที่ 4.17 ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาพบว่า ไม่ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่าง 25 g ซึ่งสอดคล้องกับกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณะสุข ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2560) ได้ประกาศไว้ว่าในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูและผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านการปรุงสุกจะต้องไม่ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่าง 25 จึงจะเป็นที่ยอมรับว่าปลอดภัยต่อผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.17 จำนวนเชื้อ *S. aureus* และ *Salmonella* spp. ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เชื้อที่ศึกษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	3%ALJ	3%LJ	3%LJ+0.01%BHT	3%SGV	1.5%SGE
S. aureus (log CFU/g) [†]	0	<1 [á]	<1	<1	<1	<1
	3	<1	<1	<1	<1	<1
	6	<1	<1	<1	<1	<1
	9	<1	<1	<1	<1	<1
Salmonella spp. (log CFU/g)	0	ND [á]	ND	ND	ND	ND
	9	ND	ND	ND	ND	ND
	6	ND	ND	ND	ND	ND
	9	ND	ND	ND	ND	ND

ALJ คือ น้ำมะนาวเทียมจากกรดเริ่มต้น 5%, LJ คือ น้ำมะนาว, BHT ร่วมกับ LJ, SGV คือ น้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยมจากกรดเริ่มต้น 5%, SGE คือ สารสกัดจากผลมะยม

[†] คือ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง 3 ซ้ำ การทดลอง

[á] คือ น้อยกว่า 1 CFU/g (ต่ำกว่าระดับที่ตรวจนับได้)

[á] คือ ตรวจไม่พบในตัวอย่าง 25 g

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 การทดสอบคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มสายชูหมักจากผลมะยม (SGV) เปรียบเทียบกับน้ำส้มสายชูหมักจากข้าว (RV) ซึ่งเป็นน้ำส้มสายชูหมักทางการค้า และสารมาตรฐาน ascorbic acid พบว่า RV มีสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่า SGV และการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี ได้แก่ DPPH scavenger, ABTS radical cation decolorization และ reducing power พบว่า ascorbic acid มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือ RV และ SGV เมื่อการทดสอบคุณสมบัติเป็นสารต้านจุลินทรีย์พบว่า SGV และ RV สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ใกล้เคียงกันที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกเริ่มต้นเท่ากับ 5% โดยแบ่งออกเป็นแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากเนื้อหมู ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp., *A. caviae, A. baumannii*, *C.r freundii* ส่วนแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากเนื้อไก่ ได้แก่ *Salmonella* spp., *S. epidermidis*, *K. pnenmonia* และ *P. mirabilis* และแบคทีเรียมาตรฐาน ได้แก่ *S. enterica* serovar Enteritidis DMST 17368, *P. fluorescence* JCM 5963^{T}, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E.coli* O157: H7 และ *S. aureus* TISTR 118 จากนั้นทดสอบการยับยั้งเชื้อด้วยวิธี time kill assay โดยเลือกเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ที่มีความไวต่อ SGV ที่ความเข้มข้น 0.625% พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ที่เวลา 12 ชั่วโมง และยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ที่เวลา 24 ชั่วโมง

5.1.2 การทดสอบคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะยม (SGE) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid และ BHT พบว่า SGE มีสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่า SGV และการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี ได้แก่ DPPH scavenger, ABTS radical cation decolorization และ reducing power พบว่า ascorbic acid และ BHT มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า SGE เมื่อการทดสอบคุณสมบัติเป็นสารต้านจุลินทรีย์พบว่า SGE สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 100 mg/ml โดยแบ่งออกเป็นแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากเนื้อหมู ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp., *A. caviae, A. baumannii*, *C.r freundii* ส่วนแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากเนื้อไก่ ได้แก่ *Salmonella* spp., *S. epidermidis*, *K. pnenmonia* และ *P. mirabilis* และแบคทีเรียมาตรฐาน ได้แก่ *S. enterica* serovar Enteritidis DMST 17368, *P. fluorescence* JCM 5963^{T}, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E.coli* O157: H7 และ *S. aureus* TISTR 118 จากนั้นทดสอบการยับยั้งเชื้อด้วยวิธี time kill assay โดยเลือกเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ที่มีความไวต่อ SGE ที่ความเข้มข้น 12.5 mg/ml พบว่า สามารถลดปริมาณของเชื้อ เริ่มตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมงที่ 24 โดยทำให้เชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ลดจำนวนลง 1 log CFU/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.1.3 การนำ SGV และ SGE มาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ เนื่องจาก SGV และ SGE มีคุณสมบัติเฉพาะตัว คือ รสชาติเปรี้ยว ทำให้เหมาะสำหรับการนำมาใช้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ จากผลการศึกษาคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์และการต้านอนุมูลอิสระของ SGV และ SGE เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสม พบว่า SGV และ SGE จะมีประสิทธิภาพดีในกรณีที่ใช้ความเข้มข้นสูง ดังนั้นจึงทำการศึกษาหาช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมของ SGV และ SGE จากการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่นและรสเปรี้ยว ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม พบว่าการใช้ SGV และ SGE ความเข้มข้นที่เหมาะสมเท่ากับ 3 และ 1.5% ตามลำดับ จากนั้นการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน โดยทดสอบคุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์พบว่า ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำพบว่า กลุ่มที่เติม 1.5%SGE มีค่าความเป็นกรดด่างต่ำที่สุด นอกจากนี้ยังมีค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS และ reducing power สูงที่สุด และกลุ่มที่เติม 3%LJ+0.01%BHT และ 1.5%SGE มีค่า TBARs ไม่แตกต่างกัน ส่วนการศึกษาทางด้านจุลินทรีย์พบว่า ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดแบ่งเป็น 5 กลุ่ม ไม่แตกต่างกันซึ่งสอดคล้องกับกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณะสุข ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2560) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการนำน้ำส้มสายชูหมักและสารสกัดจากผลมะยมมาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและชะลอการเติบโตของจุลินทรีย์ได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าน้ำส้มสายชูหมักและสารสกัดจากผลมะยมมีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและต้านจุลินทรีย์ จัดเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ (functional food) ซึ่งน้ำส้มสายชูหมักและสารสกัดจากผลมะยมนั้นมีรสเปรี้ยว จึงเหมาะสมกับการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำหรือรสลาบ เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถประยุกต์ใช้ในอาหารประเภทเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ หรือเติมลงไปในอาหาร เพื่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและต้านจุลินทรีย์ อีกทั้งยังใช้ทดแทนมะนาวที่ราคาค่อนข้างผันผวนตามฤดูกาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กมลลักษณ์ มาสำโรง และ วรพจน์ สุนทรสุข. 2557. “ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และต้านแบคทีเรียของสารสกัดเปลือกแก้วมังกร.” **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร.** 45(2): 269-272.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2560. **เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3**. กรุงเทพฯ: บริษัทพีทู ดีไซน์ แอนด์ พริ้นท์ จำกัด.

กรรณิกา ศรีประย่า และ ณฐนนท์ ตราชู. 2551. “กิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของน้ำผลไม้หมักต่อเชื้อโรคทางอาหารบางชนิด.” **วารสารวิจัยมหาวิยาลัยขอนแก่น.** 13: 906-918.

กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ และ สมจิตต์ ปาละกาศ. 2551. “**การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเหนียวดำกล้อง.**” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุสาหกรรม ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กฤตพร รำจวนเกียรติ คมแข พิลาสมบัติ สุภาพรรณ ศฤงคาร, และมณทินี ธีรารักษ์. 2561. “การศึกษาการต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เบอร์เกอร์หมูที่เติมน้ำส้มสายชูหมักมะยม.” *ใน* **การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ครั้งที่ 6**. หน้า 6-10. กรุงเทพฯ.

กิตติพัฒน์ โสภิตธรรมคุณ และ ปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลชาญ. 2560. การสกัดและวิธีวัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร. **วารสารวิชาการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ**. 3: 86-94.

กิติพงศ์ อัศตรกุล และ นฤมล หิมะสุทธิเดช. 2560. “ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากหัวหอมและการประยุกต์ใช้ในน้ำผักและผลไม้ผสม.” **วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม**. 1: 71-83.

แก้วกาญจน์ จันทนยิ่งยง. 2555. “**ผลของน้ำส้มสายชูกลั่นในการลดจำนวนของเชื้อ *Salmonella* Ratcburi. ในโหระพา.**” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสุขภิบาล คณะอุตสาหกรรมการเกษตร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

คมแข พิลาสมบัติ. 2559. **จุลชีววิทยาเนื้อสัตว์.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัด มีนเซอร์วิส ซัพพลาย.

จันทนา ไพรบูรณ์ และ อนงค์ จีรภัทร์. 2555. **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่ายทะเลบางชนิดในประเทศไทย**. รายงานการวิจัย. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ พรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ. 2555. **การแปรรูปเนื้อสัตว์ครั้งที่4**. กรุงเทพฯ: บริษัทอมรินทร์พรินติ้งแอนด์พลับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจนจิรา จิรัมย์. และ ประสงค์ สีหานาม. 2554. “อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา.” **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์.** 1: 59-70.

ฉัตรภา หัตถโกศล. 2556. ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่แบบไทยๆ กับการควบคุมน้ำหนัก. [Online]. Available:http://www.raipoong.com/media/news_file/341-20140604104015.pdf [สืบค้นวันที่ 20 มีนาคม 2562].

ชญาณ์พิสุทธิ์ แก้วสุวรรณ์ นรารัตน์ เทียนชัยทัศน์ สุดาวดี มโนรมณ์ และหนึ่งฤทัย ห้าวหาญ. 2555. “**การผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักเพื่อสุขภาพจากน้ำเชื่อมเปลือกสับปะรด.**” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

ชนันดา ศรีบุญไทย. 2559. “**ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสารทุติยภูมิของกระเจี๊ยบแดง.**” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

ณพัฐอร บัวฉุน. 2560. องค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบมะขามป้อม. วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก. 10(2):8-17.

ณภาภัช ไชยน้ำอ้อม และชูศรี ตลับมุข. 2555. “มะยมต้านเบาหวาน.” **วารสารวิจัยเพื่อชมชน.** 1: 25-28.

นพพล เล็กสวัสดิ์ 2556. **การเพิ่มมูลค่าผลผลิตทางการเกษตรอาหารภาคเหนือ: ไส้อั่ว.** [Online].Available:related:doi.nrct.go.th/ListDoi/Download/198206/d54087999448 22f49758f19c6f466515?Resolve_DOI=10.14457/CMU. [สืบค้นวันที่ 3 ธันวาคม 2560].

นิดดา หงส์วิวัฒน์ และทวีทอง หงส์วิวัฒน์. 2550. **ผลไม้ 111 ชนิด คุณค่าอาหารและการกิน.** กรุงเทพฯ: แสงแดด.

เนตรนภา เมยกลาง และเฉลิม เรืองวิริยะชัย. 2556. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำผลไม้. **วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น.** 14(4): 69-79

ประวีณา ลาภา เพ็ญขวัญ ชมปรีดา และ วิชัย หฤทัยธนาสันติ์. 2555. “การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเหนียวดำกล้อง.” **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร.** 43: 23-32.

ประสงค์ เทียนบุญ. 2553. “บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระกับสุขภาพ.” **วารสารคลินิกอาหารและโภชนาการ.** 4(2): 69-76.

ปวีณา พันทอง. 2559. “**การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี CUPRAC โดยใช้อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ**” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปิยาภรณ์ วรานุสันติกูล สุชาดา โทผล เจษฎา แพนาค นิวัฒน์ กังวานรังสรรค์ และศรีสุดา หาญภาคภูม. 2559. “การศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาบเสือ.” **วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยสวนดุสิต.** 9(2): 31-57.

ผุสดี ตังวัชริทร์. 2558. **จุลินทรีย์ในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัด มีน เซอร์วิส ซัพพลาย.

พนิดา พานทอง. 2559. **มะยม พืชมงคลของไทย.** [Online]. Available: http://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php?option=article_detail&subpage=article_detail&id=194. [สืบค้นวันที่ 3 สิงหาคม 2560].

มนัสกิจ พลศรี และ เอกชัย ก่อเกียรติสกุลชัย. 2560. “**การสำรวจการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์จากโรงฆ่าสัตว์และสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ เขตพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการ**.” เอกสารวิชาการ. สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดสมุทรปราการ.

ฤดีมาศ พุ่มกล่ำ. 2555. “**ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกอบเชยอินโดนีเซีย**” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร.

วรรณภา ทาบโลกา จินตนา เป็นรัมย์ และ นภาลัย ใยบัว. 2556. “**ผลของปริมาณแอลกอฮอล์และสภาวะการให้อากาศต่อปริมาณวิตามินซี และการผลิตน้ำส้มสายชูหมักมะขามป้อม**.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก.

สรรเพชญ อังกิติตระกูล พัชนี ศรีงาม และ อรุณี พลภักดี. 2557. “คุณภาพเนื้อสุกรบดที่จำหน่ายในเขตเทศบาลขอนแก่น.” **วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น.** 19(6): 900-904.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2547. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน **เรื่องน้ำส้มสายชู.** มผช.326/2547. กรุงเทพฯ: กระทรวงอุตสาหกรรม.

สุรางค์รัตน์ แดงจิระ. 2558. “**องค์ประกอบทางเคมี การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของบอนหอม.**” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

อธิป สกุลเผือก. 2559. **อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ.** [Online]. Available: http://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php?option=article_detail&subpage=article_detail&id=204 [สืบค้นวันที่ 5 ธันวาคม 2560].

อนันต์ สกุลกิม. 2551. “อนุมูลอิสระ สารอันตรายต่อสุขภาพและร่างกาย.” **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา.** 8: 28-33.

อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์. 2558. **ยีสต์และเทคโนโลยีของยีสต์.** กรุงเทพฯ: ก้าวไทยแอดเวอร์ไทยซิ่ง.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัจฉรา นิยมเดชา 2559. “การใช้กรดอินทรีย์ต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มก่อโรค (ซัลโมเนลลา) ในทางเดินอาหารของสัตว์ปีก.” **วารสารเกษตร.** 32: 139-149.

อุไร จิรมงคลการ. 2551. **ผลไม้ในสวน.** กรุงเทพฯ: บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พลับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน).

เอนก หาลี และ บุณยกฤต รัตพันธุ์. 2560. “การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด.” **วารสารวิจัยและพัฒนา.** 40: 283-292.

โอภา วัชระคุปต์. 2550. **สารต้านอนุมูลอิสระ.** กรุงเทพฯ: นิวไทยมิตรการพิมพ์.

Abbas, H. A., Abdo, I. M., and Moustafa, M. Z. 2014. “*In vitro* Antibacterial and antibiofilm activities of hibiscus *sabdariffa* L. extract and apple vinegar against bacteria isolated from diabetic foot infections.” **Research Journal of Pharmacy and Technology.** 7(2): 131-136.

Abdulla, G., Abdel-Samie, M. A. S. and Zaki, D. 2016. “Evaluation of the antioxidant and antimicrobial effects of ziziphus leaves extract in sausage during cold storage. Pakistan.” **Journal of Food Sciences.** 26(1): 10-20.

Ahn, J., Grün, I. U., and Mustapha, A. 2007. “Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef.” **Food Microbiology.** 24(1): 7-14.

Andrianto, D., Widianti, W., and Bintang, M. 2017. “Antioxidant and cytotoxic activity of *Phyllanthus acidus* fruit extracts.” *In* **IOP conference series: Earth and Environmental Science.** 1-6 March. 2017. Bogor, Indonesia.

Angamuthu, J., Ganapathy, M., and Evanjelene, V. K. 2016. “Evaluation of antioxidant activity of *Phyllanthus acidus*.” **World Journal Pharmacy and Pharmaceutical Science.** 5(10): 1011-1016.

AOAC. 2005. Official methods of analysis of 18th ed. Microbiological Methods No.966.23. Maryland, USA. 252 p.

AOAC. 2006. AOAC Official Methods: Chapter 17. *In* Horwitz, W. and Latimer, G.W. Official methods of analysis of AOAC international. Maryland: AOAC international.

Araújo, M. K., Gumiela, A. M., Bordin, K., Luciano, F. B., and de Macedo, R. E. F. 2018. “Combination of garlic essential oil, allyl isothiocyanate, and nisin Z as bio-preservatives in fresh sausage.” **Meat Science.** 143: 177-183.

Bakir, S., Toydemir, G., Boyacioglu, D., Beekwilder, J., and Capanoglu, E. 2016. “Fruit antioxidants during vinegar processing: changes in content and in vitro bio-accessibility.” **International Journal of Molecular Sciences.** 17(10): 1658-1670.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Baldin, J. C., Michelin, E. C., Polizer, Y. J., Rodrigues, I., de Godoy, S. H. S., Fregonesi, R. P. and Fernandes, A. M. 2016. "Microencapsulated jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) extract added to fresh sausage as natural dye with antioxidant and antimicrobial activity." **Meat Science.** 118: 15-21.

Balzan, S., Taticchi, A., Cardazzo, B., Urbani, S., Servili, M., Di Lecce, G. and Fasolato, L. 2017. "Effect of phenols extracted from a by-product of the oil mill on the shelf-life of raw and cooked fresh pork sausages in the absence of chemical additives." **LWT-Food Science and Technology.** 85: 89-95.

Budak, N. H., Aykin, E., Seydim, A. C., Greene, A. K., and Guzel‐Seydim, Z. B. 2014. "Functional properties of vinegar." **Journal of Food Science.** 79: 757-764.

Cetin-Karaca, H., and Newman, M. C. (2015). "Antimicrobial efficacy of plant phenolic compounds against *Salmonella* and *Escherichia coli.*" **Food Bioscience.** 11. 8-16.

Cheng, J. R., Liu, X. M., Zhang, Y. S., Zhang, Y. H., Chen, Z. Y., Tang, D. B., and Wang, J. Y. 2017. "Protective effects of *Momordica grosvenori* extract against lipid and protein oxidation-induced damage in dried minced pork slices." **Meat Science.** 133: 26-35.

Crist, C. A., Williams, J. B., Schilling, M. W., Hood, A. F., Smith, B. S., and Campano, S. G. 2014. "Impact of sodium lactate and vinegar derivatives on the quality of fresh Italian pork sausage links." **Meat Science.** 96: 1509-1516.

Da Silveira, S. M., Luciano, F. B., Fronza, N., Cunha, A., Scheuermann, G. N. and Vieira, C. R. W. 2014. "Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7 °C." **LWT-Food Science and Technology.** 59: 86-93.

Dansai, P., and Krusong, W. 2011. "Effect of turmeric extract, fermented vinegar and their mixture on *Salmonell*a Typhimurium Reduction *in vitro*." **International Conference on Biotechnology and Food Science.** 2: 81-85.

Davis, C. V., Gerard, L. M., Ferrreya, M. M., Schvab, M. D. C., and Solad, C. A. 2017. "Bioactive compounds and antioxidant activity analysis during orange vinegar production." **Food Science and Technology.** 37: 449-455.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

De Almeida, P. L., de Lima, S. N., Costa, L. L., de Oliveira, C. C., Damasceno, K. A., dos Santos, B. A., and Campagnol, P. C. B. 2015. "Effect of jabuticaba peel extract on lipid oxidation, microbial stability and sensory properties of bologna-type sausages during refrigerated storage." **Meat Science.** 110: 9-14.

Devi, S. S., and Paul, S. B. 2011. "An overview on *Cicca acida* (*Phyllanthus acidus*)." **Assam University Journal of Science and Technology.** 7: 156-160.

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.

Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. M., Nabavi, S. M. Eslami, B. and Asgarirad, H. 2010. "Antioxidant and antihemolytic activity of *Allium paradoxum*." **Central European Journal of Biology.** 5: 338-345.

Eldeen, I. M. S., Seow, E. M., Abdullah, R. and Sulaiman, S. F. *In vitro* antibacterial, antioxidant, total phenolic contents and anti-HIV-1 reverse transcriptase activities of extracts of seven *Phyllanthus sp*. **South African Journal of Botany.** 77(1):75-9.

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.

Guaragnella, N., Ždralević, M., Antonacci, L., Passarella, S., Marra, E., and Giannattasio, S. 2012. "The role of mitochondria in yeast programmed cell death." **Frontiers in Oncology.** 70: 1-8.

Gülçin, I. 2012. "Antioxidant activity of food constituents: an overview." **Archives of Toxicology.** 86: 345-391.

Hindi, N. K., Yasir, A. A., Al-Mahdi, Z. K. A., and Jebur, M. H. 2016. "Evaluation of antibacterial activity: anti adherence, anti-biofilm and anti-swarming of the aquatic extract of black raisins and vinegar of black raisins in Hilla City, Iraq." **International Journal of PharmTech Research.** 9(9): 271-280.

Huang, B., He, J., Ban, X., Zeng, H., Yao, X., and Wang, Y. 2011. Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts from edible lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome knot and leaf. **Meat Science.** 87(1); 46-53.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hugo, C. J. and Hugo, A. 2015. "Current trends in natural preservatives for fresh sausage products." **Trends in Food Science and Technology.** 45(1): 12-23.

Jagessar, R. C., Mohamed, A., and Gomes, G. 2008. "An evaluation of the Antibacterial and Antifungal activity of leaf extracts of Momordica Charantia against Candida albicans, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*." **Nature and Science.** 6(1): 1-14.

Jain, N. K., Lodhi, S., Jain, A., Nahata, A., and Singhai, A. K. 2010. "Effects *of Phyllanthus acidus* (L.) skeels fruit on carbon tetrachloride-induced acute oxidative damage in livers of rats and mice." **Journal of Chinese Integrative Medicine.** 9: 49-56.

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." **LWT-Food Science and Technology.** 64(2): 1204-1208.

Jin, S. K., Ha, S. R., Hur, S. J. and Choi, J. S. 2015. "Effect of various herbal medicine extracts on the physico-chemical properties of emulsion-type pork sausage." **Journal of Food and Nutrition Research.** 3: 290-296.

Ju, Q., Chang, Z. R., and Jun, F. F. 2010. "Antioxidant activities of aged oat vinegar in vitro and inmouse serumand liver." **Journal of the Science of Food and Agriculture.** 90: 1951-1958.

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.

Kim, J. S. and Lee, Y. S. 2009. "Antioxidant activity of Maillard reaction products derived from aqueous glucose/glycine, diglycine, and triglycine model systems as a function of heating time." **Food Chemistry.** 116(1): 227-232.

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.

Kowalczyk, A., Ruszkiewicz, M., and Biskup, I. 2015. "Total phenolic content and antioxidant capacity of polish apple ciders." **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences.** 77: 637.

Kumar, S., Bhattacharjee, C., Debnath, S. and Chandu, AN. *In-vitro* antimicrobial synergistic and anti-TB activities of *Phyllanthus acidus* methanolic extract. **Indo American Journal pharmaceutical Research.** 1(1):18-25.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lannetti, L., Salini, R., Sperandii, A.F.,Santerelli, G.A., Neri, D., Marzio, V.D., Romantini, R., Migliorati, G. and Baranyi, J. 2017. "Predicting the kinetics of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* under dynamic growth/death-inducing conditions, in Italian style fresh sausage." **Journal of Food Microbiology.** 240: 108–114.

Lesiow, T., Rentfrow, G. K., and Xiong, Y. L. 2017. "Polyphosphate and myofibrillar protein extract promote transglutaminase-mediated enhancements of rheological and textural properties of PSE pork meat batters." **Meat Science.** 128: 40-46.

Lingham, T., Besong, S., Ozbay, G. and Lee, JL. 2012. "Antimicrobial activity of vinegar on bacterial species isolated from retail and local channel catfish (*Ictalurus punctatus*)". **Journal of Food Process Technology.** 2: 25-28.

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.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., and Chandra, N. 2010. "Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health." **Pharmacognosy Reviews.** 4: 118-126.

Luo, H., Lin, S., Ren, F., Wu, L., Chen, L. and Sun, Y. 2007. "Antioxidant and antimicrobial capacity of Chinese medicinal herb extracts in raw sheep meat." **Journal of Food Protection.** 70: 1440-1445.

Mailoa, M.N., Mahendradatta, M.,Laga A. and Djide. 2014. "Effectiveness of tannins extract from leaf guava (*Psidium guajava* L.) on the growth and damage of cell morphology *Escherichia coli.*" **International Journal of Advanced Research.** 2(1): 908-914.

Mayachiew, P., and Devahastin, S. 2008. "Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts." **LWT-Food Science and Technology.** 41(7): 1153-1159.

Mi, H. B., Guo, X. and Li, J. R. 2016. "Effect of 6-gingerol as natural antioxidant on the lipid oxidation in red drum fillets during refrigerated storage." **LWT-Food Science and Technology.** 74: 70-76.

Miskiyah, M., Juniawati, J., and Andriani, A. 2016. "Inhibition of *Escherichia coli* O157: H7 contamination on chicken meat by natural vinegar prepared from banana peel and coconut water." **Journal of Indonesian Tropical Animal Agriculture.** 41(1): 21-27.

Mohammed, M. T., Jassimand, M., and Abbas, I. 2015. "Free radicals and human health." **International Journal of Innovation Sciences and Research.** 4: 218-223.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nguyen, T. T. K., Laosinwattana, C., Teerarak, M. and Pilasombut, K. 2017. "Potential antioxidant and lipid peroxidation inhibition of *Phyllanthus acidus* leaf extract in minced pork." **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences.** 30(9): 1323-1331.

Nimse, S. B., and Pal, D. 2015. "Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms." **RSC Advances.** 5: 27986-28006.

Padmapriya, N., & Poonguzhali, T. V. (2015). Antibacterial and Antioxidant Potential of the Acetone Extract of the Fruit of *Phyllanthus acidus L*. **International Journal of Current Research.** 17:64-72.

Qwele, K., Hugo, A., Oyedemi, S. O., Moyo, B., Masika, P. J. and Muchenje, V. 2013. "Chemical composition, fatty acid content and antioxidant potential of meat from goats supplemented with Moringa (*Moringa oleifera*) leaves, sunflower cake and grass hay." **Meat Science.** 93: 455-462.

Rahman M, Habib R, Hasan R, and Sayeed MA, S R. 2011. "Antibacterial, cytotoxic and antioxidant potential of methanolic extract of *Phyllanthus acidus* L." **International Journal of Drug Development and Research.** 3: 154-61.

Ronaghi, M., Beamer, S., Jaczynski, J., and Matak, K. E. 2016. "A comparison of the bactericidal effectiveness of hydrochloric and acetic acid on Staphylococcus aureus in silver carp during a pH-shift protein recovery process." **LWT-Food Science and Technology.** 66: 239-243.

Salinas, Y., Ros-Lis, J.V., Vivancos, J., Martinez-Manez, R. Marcos, M.D., Aucejo, S., Herranz, N., Lorente, I. and Garcia E. 2014. "A novel colorimetric sensor array for monitoring fresh pork sausages spoilage." **Food Control.** 35: 166–176.

Shahdadi, F., Mirzaei, H. O., and Garmakhany, A. D. 2015. "Study of phenolic compound and antioxidant activity of date fruit as a function of ripening stages and drying process." **Journal of Food Science and Technology.** 52: 1814-1819.

Shahidi, F., and Ambigaipalan, P. 2015. "Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects–a review." **Journal of Functional Foods.** 18: 820-897.

Sharma, H., Mendiratta, S. K., Agarwal, R. K., Kumar, S., and Soni, A. 2017. "Evaluation of anti-oxidant and anti-microbial activity of various essential oils in fresh chicken sausages." **Journal of Food Science and Technology.** 54: 279-292.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Shebis, Y., Iluz, D., Kinel-Tahan, Y., Dubinsky, Z., and Yehoshua, Y. 2013. “Natural antioxidants: function and sources.” **Food and Nutrition Sciences.** 4: 643-649.

Slima, S. B., Ktari, N., Trabelsi, I., Moussa, H., Makni, I., and Salah, R. B. 2018. “Purification, characterization and antioxidant properties of a novel polysaccharide extracted from *Sorghum bicolor* (L.) seeds in sausage.” **International Journal of Biological Macromolecules.** 106: 168-178.

Šojić, B., Pavlić, B., Zeković, Z., Tomović, V., Ikonić, P., Kocić-Tanackov, S., 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.** 89: 749-755.

Somsri, A., Pilasombut, K., Ngamyeesoon, N. and Rumjuankiat, K. 2017. Detection and identification of bacterial contamination in meat by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight-mass spectrometry. **Journal of Agricultural Technology.** 13(7.3): 1487-1504.

Thippawan, T., Teerarak, M., Ngamyeesoon, N., Supakitjanon, T., and Pilasombut, K. 2017. “Optimum concentration sample of herbal fresh sausage for antioxidant analysis.” **Journal of Agricultural Technology.** 13(7.3): 2415-2425.

Ullaha, F., Iqbal, N., Ayaz, M., Sadiq, A., Ullah, I., Ahmad, S., and Imran, M. 2017. “DPPH, ABTS free radical scavenging, antibacterial and phytochemical evaluation of crude methanolic extract and subsequent fractions of Chenopodium botrys aerial parts.” **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences.** 30(3): 761-766.

Vijayalakshmi, M. and Ruckmani, K. 2016. “Ferric reducing anti-oxidant power assay.” **Bangladesh Journal of Pharmacology.** 11: 570-572.

Zhang, H., Wu, J., and Guo, X. 2016. “Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality.” **Food Science and Human Wellness.** 5(1): 39-48.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารเคมี

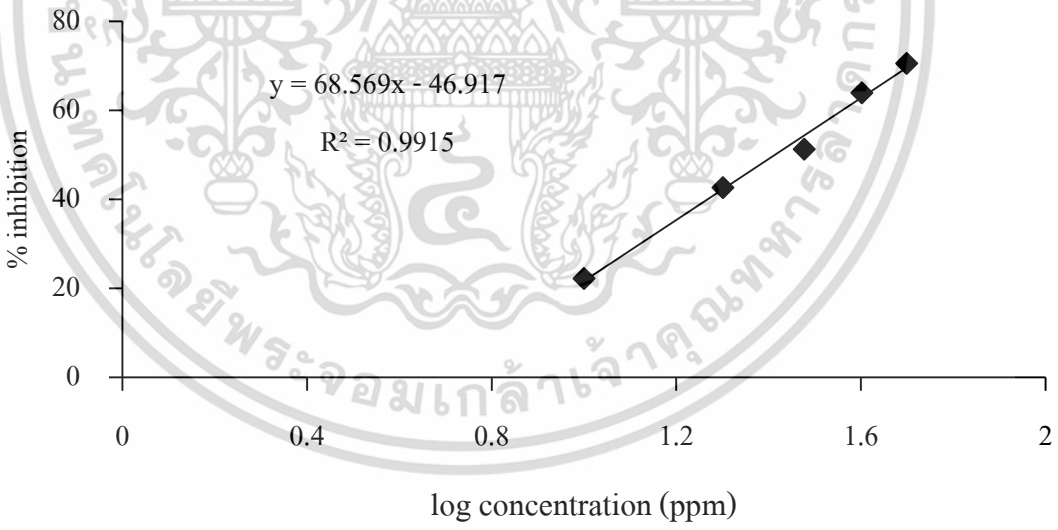
1. การเตรียมสารสำหรับวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

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

ชั่ง DPPH 0.0038 g (0.1 mM) ละลายในเอทานอล 95% ปรับปริมาตรเป็น 100 ml แล้วเก็บในที่มืด เตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้งาน

1.2 สารละลายมาตรฐาน butylated hydroxytoluene (BHT) ปริมาตร 100 ml

ชั่ง BHT 0.01 g ละลายในเอทานอล 95% และปรับปริมาตรเป็น 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐาน BHT ความเข้มข้น 100 ppm จากนั้นเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 50, 40, 30, 20 และ 10 ppm เพื่อทำกราฟมาตรฐาน โดยสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง $\log_{10}$ ของความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกนx) กับ % inhibition (แกน y) คำนวณ โดยหาค่า y = 50 ลงในสมการกราฟเส้นตรง จะหาได้ค่า x และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50}



หาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารที่ต้านอนุมูลอิสระได้ 50%)

จากกราฟ สมการ $y = 68.569x - 46.917$ $R^2 = 0.9915$

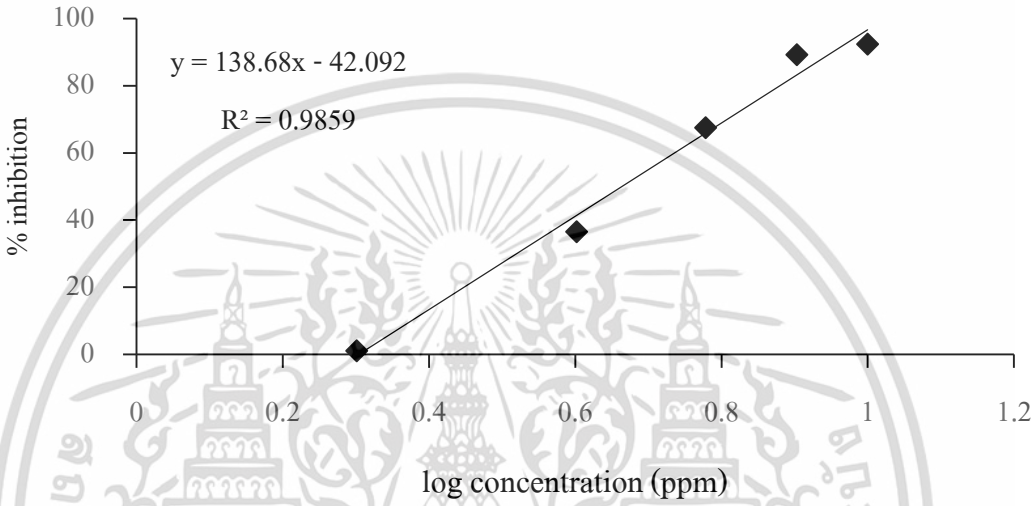
แทนค่า = (50+46.917)/68.569

IC_{50} = 25.907 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 สารละลายมาตรฐาน ascorbic acid ปริมาตร 100 ml

ชั่ง ascorbic acid 0.01 g ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐาน ascorbic acid ความเข้มข้น 100 ppm จากนั้นเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 10, 8, 6, 4 และ 2 ppm เพื่อทำกราฟมาตรฐาน โดยสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง $\log_{10}$ ของความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกนx) กับ % inhibition (แกน y) คำนวณโดยหาค่า y = 50 ลงในสมการกราฟเส้นตรง จะหาได้ค่า x และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50}



หาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารที่ต้านอนุมูลอิสระได้ 50%)

จากกราฟ สมการ y = 138.68x – 42.092 R^2 = 0.9859

แทนค่า = (50+42.092)/138.68

IC_{50} = 4.614 ppm

2. การเตรียมสารสำหรับวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

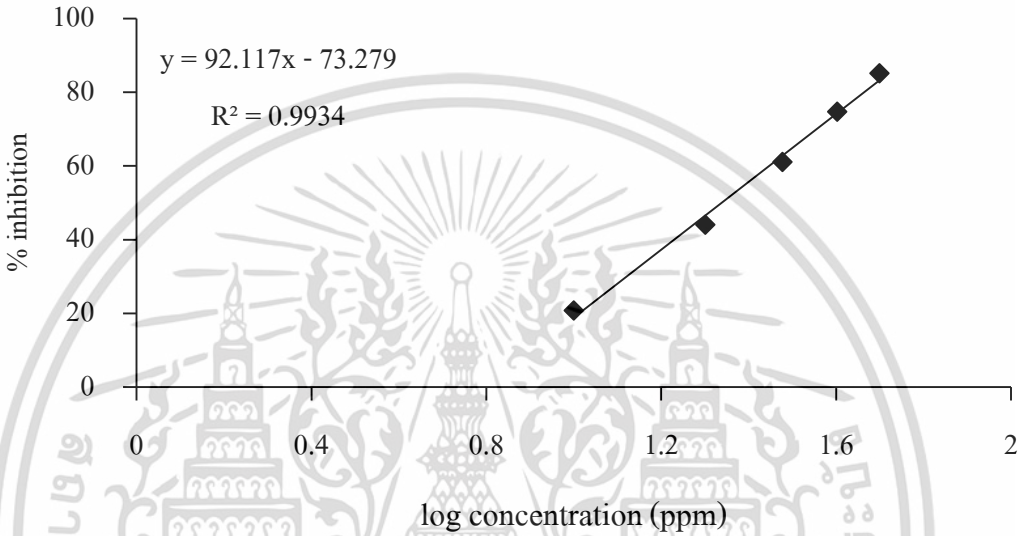
2.1 สารละลาย 2,2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) ปริมาตร 100 ml

ชั่ง ABTS 0.0384 g (7 mM) และ potassium persulfate 0.0066 g (2.45 mM) ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 10 ml แล้วเก็บในที่มืด เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางด้วยเอทานอล 95% โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ให้ค่าอยู่ในช่วง 0.7±0.02 nm แล้วเก็บในที่มืดและเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 สารละลายมาตรฐาน butylated hydroxytoluene (BHT) ปริมาตร 100 ml

ชั่ง BHT 0.01 g ละลายในเอทานอล 95% และปรับปริมาตรเป็น 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐาน BHT ความเข้มข้น 100 ppm จากนั้นเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 50, 40, 30, 20 และ 10 ppm เพื่อทำกราฟมาตรฐาน โดยสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง $\log_{10}$ ของความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกนx) กับ % inhibition (แกน y) คำนวณโดยหาค่า y = 50 ลงในสมการกราฟเส้นตรง จะหาได้ค่า x และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50}



หาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารที่ต้านอนุมูลอิสระได้ 50%)

จากกราฟ สมการ $y = 92.117x - 73.279$ $R^2 = 0.9934$

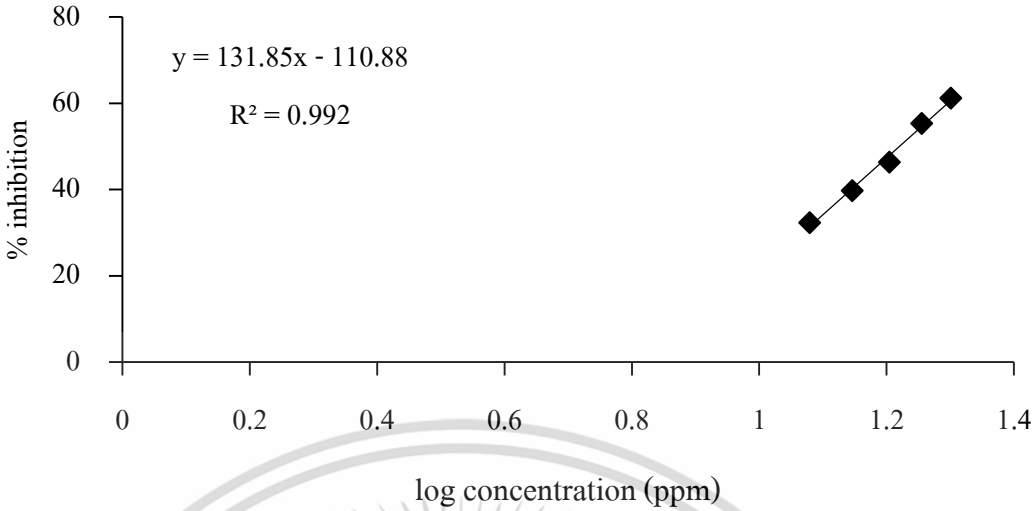
แทนค่า = (50+73.279)/92.117

IC_{50} = 21.792 ppm

2.3 สารละลายมาตรฐาน ascorbic acid ปริมาตร 100 ml

ชั่ง ascorbic acid 0.01 g ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐาน ascorbic acid ความเข้มข้น 100 ppm จากนั้นเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 20, 18, 16, 14 และ 12 ppm เพื่อทำกราฟมาตรฐาน โดยสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง $\log_{10}$ ของความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกนx) กับ % inhibition (แกน y) คำนวณโดยหาค่า y = 50 ลงในสมการกราฟเส้นตรง จะหาได้ค่า x และ antilog x จะเป็นค่า IC_{50}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



หาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารที่ต้านอนุมูลอิสระได้ 50%)

จากกราฟ สมการ $y = 131.85x - 110.88$ $R^2 = 0.992$

แทนค่า = (50+110.88)/131.85

IC_{50} = 16.603 ppm

3. การเตรียมสารสำหรับวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี reducing power

3.1 สารละลาย phosphate buffer (pH 6.6) ปริมาตร 1000 ml

sodium dihydrogen phosphate anhydrous (NaH_2PO_4)	8.4 g
di-sodium hydrogen orthophosphate (Na_2HPO_4)	5.68 g

ชั่ง NaH_2PO_4 8.4 g (0.1 mM) ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 700 ml และชั่ง Na_2HPO_4 5.68 g (0.1 mM) ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 400 ml จากนั้นนำสารละลาย NaH_2PO_4 ปริมาตร 375 ml ผสมกับสารละลาย Na_2HPO_4 ปริมาตร 625 ml จะได้ phosphate buffer (pH 6.6) ปริมาตร 1000 ml

3.2 สารละลาย potassium ferricynide ($K_3Fe(CN)_6$) ปริมาตร 100 ml

ชั่ง potassium ferricynide 1 g ละลายใน phosphate buffer (pH 6.6) ปรับปริมาตรเป็น 100 ml

3.3 สารละลาย trichloroacetic acid (TCA) ปริมาตร 100 ml

ชั่ง trichloroacetic acid 10 g ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 ml

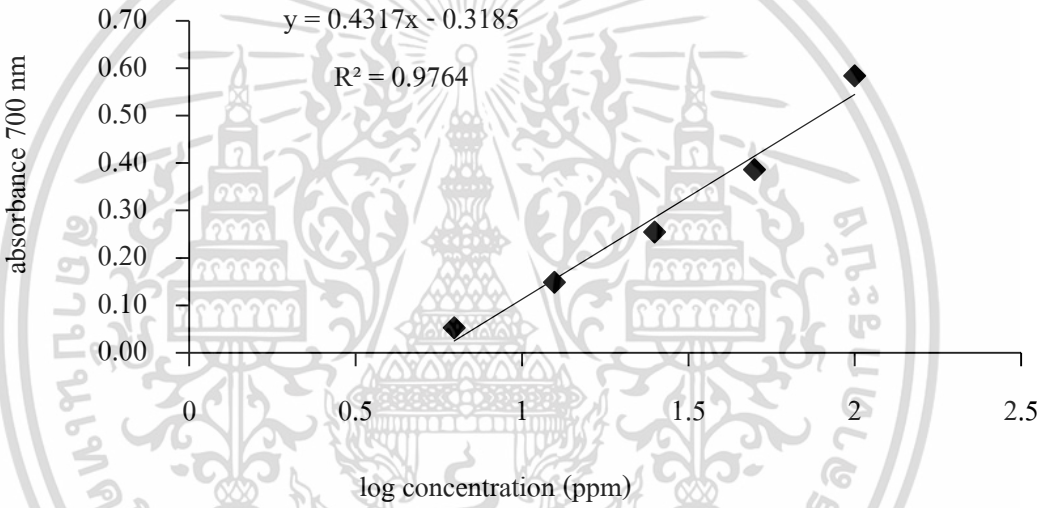
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4. trichloroacetate acid, iron (III) chloride ($FeCl_3$) ปริมาตร 100 ml

ชั่ง trichloroacetic acid 0.1 g ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 ml

3.5 สารละลายมาตรฐาน butylated hydroxytoluene (BHT) ปริมาตร 100 ml

ชั่ง BHT 0.01 g ละลายในเอทานอล 95% และปรับปริมาตรเป็น 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐาน BHT ความเข้มข้น 100 ppm จากนั้นเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 80, 70, 60, 50 และ 40 ppm เพื่อทำกราฟมาตรฐาน โดยสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง $\log_{10}$ ของความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกนx) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 nm (แกน y) คำนวณโดยหาค่า y = 50 ลงในสมการกราฟเส้นตรง จะหาได้ค่า x และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50}



หาค่า EC_{50} (ค่าความเข้มข้นที่ลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ 50%)

จากกราฟ สมการ y = 0.4317x – 0.3185 R^2 = 0.9764

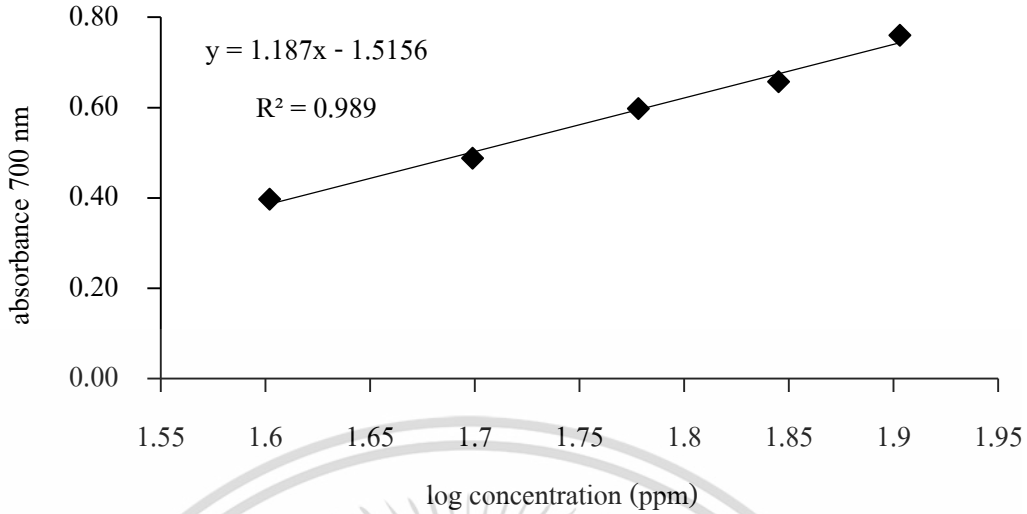
แทนค่า = (50+0.3185)/0.4317

EC_{50} = 78.70 ppm

3.6 สารละลายมาตรฐาน ascorbic acid ปริมาตร 100 ml

ชั่ง ascorbic acid 0.01 g ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐาน ascorbic acid ความเข้มข้น 100 ppm จากนั้นเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 80, 70, 60, 50 และ 40 ppm เพื่อทำกราฟมาตรฐาน โดยสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง $\log_{10}$ ของความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกนx) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 nm (แกน y) คำนวณโดยหาค่า y = 50 ลงในสมการกราฟเส้นตรง จะหาได้ค่า x และ antilog x จะเป็นค่า EC_{50}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



หาค่า EC_{50} (ค่าความเข้มข้นที่ลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ 50%)

จากกราฟ สมการ $y = 1.187x - 1.5156$ $R^2 = 0.989$

แทนค่า = (50+1.187)/1.5156

EC_{50} = 49.90 ppm

4. การเตรียมสารสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

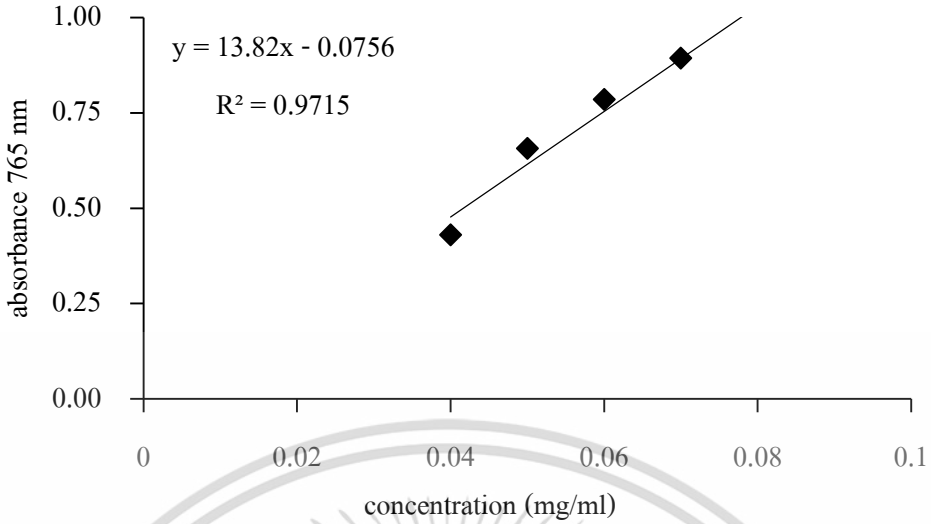
4.1 สารละลาย sodium carbonate (Na_2CO_3) ปริมาตร 100 ml

ชั่ง sodium carbonate 7.5 g ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 ml

4.2 สารละลายมาตรฐาน gallic acid ปริมาตร 100 ml

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



จากกราฟ สมการ y = 13.82x – 0.0756 R^2 = 0.9715

แทนค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ในสมการ = (OD+0.1262)/13.82 จะได้ = ® mg/tube จากนั้นทำการเปรียบเทียบน้ำหนักของตัวอย่าง 100 g

ถ้าตัวยอย่าง 0.01 กรัม มี ® mg/tube

แล้วตัวอย่าง 100 กรัม มี (®x100)/0.01 = © mg GAE/100g sample

5. การเตรียมสารสำหรับวิเคราะห์การออกซิเดชันของไขมัน ด้วยเทคนิค thio barbituric acid reactive (TBARS)

5.1 .สารละลาย thio barbituric acid (TBA) ปริมาตร 100 ml

ชั่งสาร thio barbituric acid 0.375 และชั่ง trichloroacetic acid 15 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 50 ml จากนั้นละลายสาร โดยใช่เครื่อง magnetic stirrer จากนั้นผมสมกับสาร HCL 0.25 N แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 ml

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

ชั่ง BHT 0.2 g ละลายในเอทานอล 95% และปรับปริมาตรเป็น 100 ml

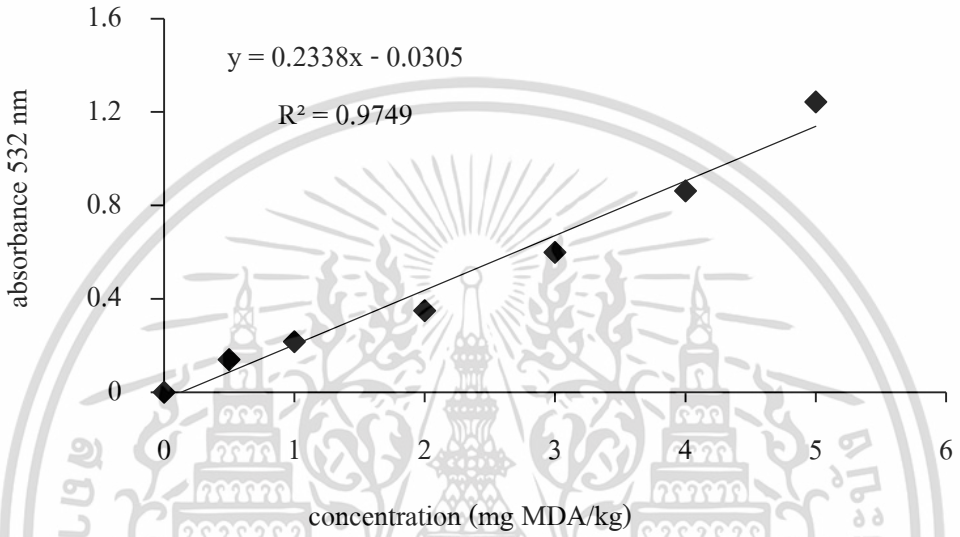
5.2 สารละลาย hydrochloric acid (HCL) 5 N ปริมาตร 100 ml

ปิเปต hydrochloric acid 25 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3 การเตรียมสารมาตรฐาน malonaldehyde (MDA)

ปิเปต 1,1,3,3-tetraethoxypropane 10.88 µl ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล 95 % เป็น 100 ml จะได้สาร MDA ความเข้มข้น 100 ppm จากนั้นเจือจากที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm เพื่อทำกราฟมาตรฐาน โดยสร้างกราฟเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกนx) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 nm (แกน y)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การเตรียมสารอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลาย peptone 0.1% ปริมาตร 1000 ml

ชั่ง peptone 1 g ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1000 ml จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. สารละลายเกลือแกง (NaCl) 0.85% ปริมาตร 1000 ml

ชั่ง peptone 8.5 g ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1000 ml จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth ปริมาตร 1000 ml

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth 8 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 ml จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy broth-yeast extract (TSB-YE) ปริมาตร 1000 ml

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 30 g และ YE 6 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 ml จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

5. อาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker agar (BP) ปริมาตร 1000 ml

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ BP 50 g และ agar 15 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 ml 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 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. อาหารเลี้ยงเชื้อ chomocult coliform agar (CCA) ปริมาตร 1000 ml

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ CCA 26.5 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

7. อาหารเลี้ยงเชื้อ DEV tryptophan broth (TB) ปริมาตร 1000 ml

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ TB 16 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 ml จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

8. อาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar (PCA) ปริมาตร 1000 ml

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA 22.5 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 ml จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

9. อาหารเลี้ยงเชื้อ tetrathionate broth (TTB) ปริมาตร 1000 ml

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ TTB 46 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

10. อาหารเลี้ยงเชื้อ selenite cystrine broth (SCB) ปริมาตร 1000 ml

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ SCB 23 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

11. อาหารเลี้ยงเชื้อ Salmlnella-Shigella (SS) agar ปริมาตร 1000 ml

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ SS agar 60 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

12. อาหารเลี้ยงเชื้อ xylose lysine deoxycholate (XLD) ปริมาตร 1000 ml

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD 55 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13. อาหารเลี้ยงเชื้อ Triple sugar iron (TSI) agar ปริมาตร 1000 ml

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI 36.5 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 ml จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

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

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM 68 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 ml จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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)

วัตถุที่วัดได้มีค่าเป็นลบ 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การประเมินความพึงพอใจต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดรสต้มยำ

วันที่...../...../.....

ลำดับที่.....

<u>ตอนที่ 1</u> รายละเอียดของผู้ประเมิน

1.1 เพศ

☐ ชาย ☐ หญิง

1.2 กรุณาระบุช่วงอายุของท่าน

☐ ต่ำกว่า 20 ปี ☐ 20 - 35 ปี

☐ 36 - 50 ปี ☐ สูงกว่า 50 ปี

1.3 รายได้ของท่านต่อเดือน

☐ น้อยกว่า 5,000 บาท ☐ 5,001 - 15,000 บาท

☐ 15,001 - 25,000 บาท ☐ มากกว่า 25,000 บาท

1.4 อาชีพ

☐ นักเรียน/นักศึกษา ☐ รับราชการ พนักงานของรัฐ

☐ บริษัทเอกชน ☐ ทำงานส่วนตัว

☐ อื่น ๆ โปรดระบุ……..

คุณชอบรับประทานไส้กรอกสดรสต้มยำหรือไม่

☐ ไม่ชอบมาก ☐ ไม่ชอบ

☐ ไม่ค่อยชอบ ☐ เฉยๆ

☐ ค่อนข้างชอบ ☐ ชอบ

☐ ชอบมาก

- กรุณากลั้วปากด้วยน้ำดื่มก่อนชิมตัวอย่างแรก
- ก่อนชิมตัวอย่างถัดไป กรุณาทานแครกเกอร์เล็กน้อย ตามด้วยการกลั้วปากด้วยน้ำดื่มอีกเล็กน้อย (ท่านสามารถบ้วนทิ้งลงในถ้วยสูงที่เตรียมไว้ให้)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตอนที่ 2</u> กรุณาให้คะแนนระดับความชอบของท่าน (จาก 1 ถึง 7 คะแนน) ที่มีต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ท่านกำลังทดสอบชิมทีละตัวอย่าง โดยกรอกคะแนนลงให้ตรงกับรหัสตัวอย่างในตารางด้านล่าง

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

ลักษณะของผลิตภัณฑ์	รหัสผลิตภัณฑ์				
ลักษณะปรากฏ					
กลิ่นรสเปรี้ยว					
ลักษณะเนื้อสัมผัส					
ความชอบโดยรวม					

<u>หมายเหตุ</u>

- ลักษณะปรากฏ หมายถึง ความสม่ำเสมอของสี และความสม่ำเสมอของส่วนผสม
- กลิ่นรสเปรี้ยว หมายถึง กลิ่นรสเปรี้ยวที่เหมาะสมสำหรับไส้กรอกสดรสต้มยำ
- ลักษณะเนื้อสัมผัส หมายถึง ความนุ่ม ความเหนียว ของไส้กรอกสดรสต้มยำ
- ความชอบโดยรวม หมายถึง ความชอบโดยรวมของไส้กรอกสดรสต้มยำ

ความคิดเห็นเพิ่มเติม

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	นาย ธีรนัย ทิพวรรณ์
วันเดือนปีเกิด	5 ตุลาคม 2536
ที่อยู่	110/1 หมู่ 10 ตำบล วังผาง อำเภอ เวียงหนองล่อง จังหวัด ลำพูน 51120
ประวัติการศึกษา	2555 มัธยมศึกษาตอนปลายโรงเรียนส่วนบุญโญปถัมภ์ ลำพูน 2558 หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 2561 หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร
ผลงานทางวิชาการ	“Optimum Concentration Sample of Herbal Fresh Sausage for Antioxidant Analysis.” 6th ICIST 2017, Hotel Supreme and Convention Plaza, Philippines, November 24-26, 2017
ทุนที่ได้รับ	ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้