

อภิธานการ

สัญญาเลขที่ R2557B097



สำนักหอสมุด

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการผลของสารเคลือบผสมโคโตซานและสารสกัดสาหร่าย
สไปโรไจราในการต้านจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระ
ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วันลงทะเบียน 25 มี.ค. 2559

เลขทะเบียน 16907611

เลขเรียกหนังสือ 9 TP

199

35

11373

2558

คณะผู้วิจัย

รศ. กมลวรรณ โรจน์สุนทรกิตติ

ผศ.ดร. นิติพงศ์ จิตรีโกชน์

รศ.ดร. อีรพร กงบังเกิด

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์

ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประกาศคุณูปการ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อมหาวิทยาลัยนเรศวรที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2557 จนทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์และทรงคุณค่า

คุณค่าและคุณประโยชน์อันพึงจะมีมาจากรายงานวิจัยฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบและอุทิศแด่ผู้มีพระคุณทุก ๆ ท่าน ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า งานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้ประโยชน์ทางการเผยแพร่ความรู้แก่ผู้ประกอบการและผู้สนใจที่ถูกต้อง

กมลวรรณ โรจน์สุนทรกิตติ



ชื่อเรื่อง

ผลของสารเคลือบผสมโคโตซานและสารสกัดสาหร่ายสไปโรไจรา
ในการต้านจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

ผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ กมลวรรณ โรจนสุนทรกิตติ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิตพงษ์ จิตรโกษณ์ และ

รองศาสตราจารย์ ดร. อีรพร กงบังเกิด

คำสำคัญ

การยับยั้งแบคทีเรีย กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ สาหร่ายเทาน้ำ

ไส้กรอกอิมัลชัน

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายเทาน้ำ โดยการสกัดด้วยตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำ และเอทานอลร้อยละ 95 ในอัตราส่วนตัวอย่าง น้ำหนักแห้งต่อตัวทำละลาย 1.0 กรัมต่อ 30 มิลลิลิตร(น้ำหนักต่อปริมาตร) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดด้วยวิธี disc diffusion และวิธี Broth Dilution และทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS และ วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายเทาน้ำสกัดด้วย ร้อยละ 95 เอทานอล มีปริมาณร้อยละผลผลิต และปริมาณคลอโรฟิลล์สูงที่สุด คือ 41.78 ± 0.59 ของน้ำหนักแห้ง และ 10.48 ± 1.52 กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ($P < 0.05$) ตามลำดับ และมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* และการทดสอบความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) ของสารสกัด มีค่าเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดด้วยน้ำมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด คือ 122.45 ± 0.20 mg GAE/100 กรัม น้ำหนักแห้ง และมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS และ DPPH เท่ากับ $25.89 \pm 0.01\%$ และ $22.52 \pm 0.01\%$ ($P < 0.05$) ตามลำดับ

การศึกษาผลของสารเคลือบผสมโคโตซานและสารสกัดสาหร่ายสไปโรไจราในการต้านจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอิมัลชัน โดยพิจารณาจากค่า TBARS pH ปริมาณความชื้น ค่าวอเตอร์แอคทีวิตี ลักษณะเนื้อสัมผัส และจุลินทรีย์ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า ไส้กรอกอิมัลชันที่ไม่ผ่านการเคลือบมีค่า TBARS เพิ่มขึ้นเมื่อการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ ($P < 0.05$) เมื่อพิจารณาปริมาณจุลินทรีย์ พบว่าตัวอย่างที่มีการเคลื่อนมีปริมาณจุลินทรีย์ต่ำกว่าไส้กรอก
อิมัลชันที่ไม่มีการเคลื่อน ($P < 0.05$) โดยไส้กรอกอิมัลชันที่ผ่านการเคลื่อนด้วยสารสกัดจากสาหร่ายเทาน้ำที่
ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ร่วมกับโคโคซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ไม่น้อยกว่า
56 วัน



Title Effect of chitosan coating incorporated with *Spirogyra* spp. extract as antimicrobial and antioxidant agents for meat product

Authors Associate Professor Kamonwan Rojsuntornkitti, M.S.

Assistant Professor Nitipong Jittrepotch, Ph.D.

Associate Professor Teeraporn Kongbangkerd, Dr. nat. techn.

Keywords antibacterial activity, antioxidant activity, *Spirogyra* spp, emulsion sausage



ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the antibacterial and antioxidant activities of *Spirogyra* spp. extracts. The solvents for extraction were water and 95% ethanol and the ratio of dried *Spirogyra* spp.: solvent was 1.0 g: 30.0 ml (w/v). *Spirogyra* spp. extracts were analyzed in term of disc diffusion and broth dilution methods for antibacterial activities. Antioxidant activities were analyzed using DPPH and ABTS assays. It was found that *Spirogyra* spp. extracts by using 95% ethanol had the highest yield and chlorophyll content of 41.78 ± 0.59 % dry weight and 10.48 ± 1.52 g/ 100 g dry weight ($P < 0.05$), respectively. The result showed that 95% ethanol extract of *Spirogyra* spp. had the antibacterial activity against *S. aureus* with the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of 50 mg/ml whereas, the water extract of *Spirogyra* spp. had the highest total phenolic, ABTS and DPPH content of 122.45 ± 0.02 mg GAE/100 g dry weight, 25.89 ± 0.01 % and 22.52 ± 0.01 % ($P < 0.05$), respectively.

Effect of chitosan coating incorporated with *Spirogyra* spp. extract as antimicrobial and antioxidant agents for emulsion sausage were investigated. The emulsion sausage were analyzed in term of TBARS value, pH value, moisture content, a_w , texture analysis and microbiological during storage at 4°C. It was found that products without coating incorporated with *Spirogyra* spp. extract had the highest TBARS value during storage time ($P < 0.05$). While products with coating incorporated with *Spirogyra* spp. extract had lower microbiological

during storage at 4°C ($P < 0.05$). It was found that the products with 0.1% *Spirogyra* spp. extracts and 1.0% chitosan had shelf life more than 56 days at 4°C.



สารบัญ

	หน้า
คำนำ.....	1
วัตถุประสงค์.....	3
เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
โคโคแซน.....	4
จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและการเสื่อมเสียในอาหาร.....	5
สารต้านจุลินทรีย์.....	9
สารต้านออกซิเดชัน.....	9
สาหร่ายน้ำจืด (เทา).....	11
ไส้กรอก.....	12
ขั้นตอนการทำไส้กรอก.....	13
ส่วนประกอบของไส้กรอก.....	19
การเสื่อมเสียของเนื้อ.....	22
อุปกรณ์และวิธีการ.....	34
วิธีการดำเนินงาน.....	36
ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและอภิปรายผล.....	41
การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียและกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ.....	41
การหากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำด้วยวิธี DPPH.....	44
การศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำด้วยวิธี ABTS.....	45
การศึกษาอายุการเก็บรักษาของไส้กรอกอิมัลชันกับโคโคซานและสารสกัดเทาน้ำ.....	47
บทสรุป.....	58
เอกสารอ้างอิง.....	59
ภาคผนวก ก.....	63

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	จุลินทรีย์ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เน่าเสีย.....	28
2	ร้อยละผลได้ ลักษณะของสารสกัด และปริมาณคลอโรฟิลล์ของสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ เมื่อสกัดด้วยน้ำและเอทานอลร้อยละ 95.....	41
3	ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากสาหร่ายเทาน้ำที่สกัดด้วยด้วยน้ำและเอทานอลร้อยละ 95.....	42
4	ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุด (MIC) ของสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย.....	42
5	ปริมาณ <i>Salmonella</i> spp. ในตัวอย่างไส้กรอกด้วยสารผสมระหว่างสารละลายโคโตซานและเทาน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4 °C	54
6	ปริมาณ <i>Clostridium perfringens</i> ในตัวอย่างไส้กรอกด้วยสารผสมระหว่างสารละลายโคโตซานและเทาน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4 °C	55
7	ปริมาณ <i>Staphylococcus aureus</i> ในตัวอย่างไส้กรอกด้วยสารผสมระหว่างสารละลายโคโตซานและเทาน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4 °C	56
8	ปริมาณ <i>Escherichia coli</i> ในตัวอย่างไส้กรอกด้วยสารผสมระหว่างสารละลายโคโตซานและเทาน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4 °C	57

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
1	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากเหาน้ำในตัวอย่างละลายเอทานอล ร้อยละ 95 และน้ำ.....	43
2	สมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเหาน้ำด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และน้ำ โดยวัดค่าเป็น % ของการวิเคราะห์หาอนุมูล DPPH.....	45
3	สมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเหาน้ำด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 และน้ำ โดยวัดค่าเป็น % ของการวิเคราะห์หาอนุมูล ABTS.....	46
4	ค่า TBARS ($\mu\text{g Malonaldehyde/Kg sample}$) ของไส้กรอกอิมัลชันที่เคลือบโคโตซานและสารสกัดสาหร่ายเหาน้ำ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C.....	47
5	ค่าความเป็นกรดต่างของไส้กรอกอิมัลชันที่เคลือบโคโตซานและสารสกัดสาหร่ายเหาน้ำ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C.....	48
6	ปริมาณความชื้น (%) ของไส้กรอกอิมัลชันที่เคลือบโคโตซานและสารสกัดสาหร่ายเหาน้ำ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C	49
7	ค่า a_w ของไส้กรอกอิมัลชันที่เคลือบโคโตซานและสารสกัดสาหร่ายเหาน้ำ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C	50
8	ค่า Hardness ในตัวอย่างไส้กรอกด้วยสารผสมระหว่างสารละลายโคโตซานและเหาน้ำ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C.....	51
9	ค่า Gumminess ในตัวอย่างไส้กรอกด้วยสารผสมระหว่างสารละลายโคโตซานและเหาน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C	52
10	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างไส้กรอกด้วยสารผสมระหว่างสารละลายโคโตซานและเหาน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C	53

ผลของสารเคลือบผสมไคโตซานและสารสกัดสาหร่ายสไปโรไจรา
ในการต้านจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

Effect of chitosan coating incorporated with *Spirogyra* spp. extract as antimicrobial
and antioxidant agents for meat product

คำนำ

ในปัจจุบันความปลอดภัยด้านอาหาร (Food safety) มีความสำคัญอย่างยิ่งในประเทศที่พัฒนาแล้ว ซึ่งต้องมีการควบคุมกระบวนการผลิตตลอดห่วงโซ่อาหาร สำหรับประเทศไทยยุทธศาสตร์คนไทยแข็งแรง เมืองไทยแข็งแรง และครัวไทยสู่โลก เป็นยุทธศาสตร์แห่งชาติ ที่ภาครัฐและภาคเอกชนให้ความสนใจเป็นอย่างสูง เพราะผู้ซื้อ/ผู้บริโภคในปัจจุบันได้คำนึงถึงคุณภาพและความปลอดภัย รวมถึงเรียกร้องระบบคุณภาพที่สูงมากขึ้นเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคเอง

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ส่งอาหารที่สำคัญประเทศหนึ่งของโลก กลุ่มอาหารสดและผลิตภัณฑ์อาหารแช่เย็นและแช่เยือกแข็ง นับว่าเป็นกลุ่มสินค้าที่มีศักยภาพในตลาดต่างประเทศ แต่ยังคงประสบกับปัญหาในด้านความปลอดภัยของอาหาร ที่ผลิตทั้งในเรื่องการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค การตกค้างของสารเคมี สารปฏิชีวนะ และสารพิษ ซึ่งเป็นอันตรายสำคัญที่อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชนในประเทศและกระทบต่อเศรษฐกิจของประเทศได้ อันตรายที่สำคัญ และก่อให้เกิดความเสี่ยงในห่วงโซ่อาหารซึ่งเป็นกลุ่มอาหารหลักๆของผู้บริโภคชาวไทย 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มปศุสัตว์ และผลิตภัณฑ์ กลุ่มสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์ กลุ่มผัก ผลไม้และผลิตภัณฑ์ กลุ่มธัญพืช ถั่วเมล็ดและผลิตภัณฑ์อันตรายสำคัญที่ทำให้เกิดความเสี่ยงในห่วงโซ่อาหารของไทยที่พบได้แก่ จุลินทรีย์ชนิดก่อโรคทางเดินอาหารและสารปฏิชีวนะตกค้างในปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์ และในสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์ จุดเสี่ยงคือ การเพาะเลี้ยงและขั้นตอนการแปรรูป การนำเนื้อสัตว์มาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ มากมาย อาทิ เช่น กุนเชียง ไส้กรอก แฮม เบคอน หมูแผ่น เป็นต้น แต่มักพบปัญหาเนื่องจากผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดการเสื่อมเสียได้ง่าย ทั้งทางด้านจุลินทรีย์และเคมี โดยเฉพาะทางด้านเคมีนั้น ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวสามารถเกิดการเสื่อมเสียได้หลายรูปแบบ ทั้งการเปลี่ยนสี การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง และปฏิกิริยาเคมีที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อสัตว์ในระหว่างการเก็บรักษา

เทคโนโลยีทางด้านอุตสาหกรรมอาหารได้มีการพัฒนาก้าวไปอย่างรวดเร็ว เทคโนโลยีใหม่ๆ มักใช้สารเคมีช่วยในการเก็บถนอมอาหารเป็นส่วนใหญ่ เพราะใช้ปริมาณเพียงเล็กน้อยก็สามารถป้องกันการเน่าเสียของอาหารได้ ยิ่งไปกว่านั้นไม่ทำให้คุณภาพของอาหารเปลี่ยนแปลงไป แต่สารเคมีเหล่านี้เองที่เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดปัญหาของอาหารเป็นพิษขึ้น บางประเภทเมื่อร่างกายได้รับจะแสดงอาการป่วยออกมาทันทีที่เรียกว่าพิษเฉียบพลัน ซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่อร่างกายได้รับสารเคมีเหล่านั้นเป็นจำนวนมากในคราวเดียวกัน แต่ไม่พบบ่อยมากนัก แต่ที่เป็นปัญหาและน่ากลัวคือความเป็นพิษแบบค่อยเป็นค่อยไป เกิดจากการที่ร่างกายได้รับสารเคมีที่เป็นพิษครั้งละไม่มากแต่บ่อยๆ ทำให้เกิดการสะสมสารพิษนั้นในร่างกาย เมื่อสะสมถึงระดับหนึ่งที่ร่างกายทนไม่ได้ก็จะแสดงอาการออกมา โรคที่พบบ่อยๆ จากการที่ร่างกายสะสมสารพิษบางอย่างไว้คือ โรคมะเร็ง

ปัจจุบันการใช้วัสดุจากธรรมชาติที่มีความปลอดภัยต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมกำลังได้รับความสนใจอย่างสูง หนึ่งในนั้นคือ สารพอลิเมอร์ธรรมชาติ (natural polymer) ได้แก่ สารพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ที่มาจากผลผลิตทางการเกษตรหรือเปลือกแข็งของสัตว์น้ำที่เหลือทิ้ง เช่น เซลลูโลส (cellulose) แป้ง เพกติน (pectin) รวมทั้งไคตินและไคโตซาน (chitin and chitosan) ประโยชน์และข้อดีของ

สารพอลิเมอร์ธรรมชาติดังกล่าวมีหลายประการ เช่น ผลิตจากวัตถุดิบที่มีอยู่มากมายในธรรมชาติทั้งจากผลผลิตทางการเกษตรหรือผลิตผลทางทะเล นอกจากนี้สารพอลิเมอร์ธรรมชาติยังเข้ากับธรรมชาติได้ดีและย่อยสลายได้เองจึงมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมและสามารถดัดแปลงโดยใช้ปฏิกิริยาทางเคมีหรือเอนไซม์ให้มีคุณสมบัติที่เหมาะสมกับการใช้งานเฉพาะอย่างได้ ซึ่งไคตินและไคโตแซนเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่น่าสนใจสามารถผลิตได้จากเปลือกแข็งของสัตว์น้ำจำพวกกุ้งและปูเป็นหลัก และยังสามารถสกัดไคตินและไคโตแซนโดยใช้จุลินทรีย์จำพวกพวกเห็ดรา (fungi) ได้ด้วย โดยไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต มีคุณสมบัติยับยั้งหรือชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราบางชนิด สามารถผลิตได้จากของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตอาหารทะเลแช่แข็ง โดยเฉพาะกุ้ง ปู และปลาหมึก อาทิ เปลือกหัวกุ้ง กระดองปู และแกนปลาหมึก เป็นต้น แม้ว่าที่ผ่านมามีการใช้ไคโตซานในการยืดอายุการเก็บผลไม้แต่ยังไม่มีการนำมาใช้เคลือบผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะสัตว์น้ำจืดอย่างแพร่หลาย

สาหร่ายน้ำจืด (เทาน้ำ) พบมากบริเวณภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (รัชนี, 2535) ซึ่งมีรายงานการวิจัยพบว่า สาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ *Spirogyra* spp. ซึ่งเก็บรวบรวมมาจากบ่อเลี้ยงสาหร่ายเตาบ้านนาคูหา ต.สวนเขื่อน อ.เมือง จ.แพร่ โดยนำตัวอย่างสาหร่ายมาอบจนแห้งแล้วสกัดด้วยน้ำ นำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดที่ลดปริมาณอนุมูลอิสระเริ่มต้นลงได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC₅₀) เป็น 0.05, 0.24, 0.88, 1.58, 1.97 และ 7.61 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระจากวิธี reducing power มีค่า 1.73 จากตัวอย่าง 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เทียบเท่ากับ garlic acid 0.08 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ฐิติกานต์ และคณะ 2550)

ดังนั้นเพื่อเป็นทางเลือกในการพัฒนาและปรับปรุงคุณภาพมาตรฐานผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ของประเทศไทย และยังเป็นส่วนช่วยลดการสูญเสียค่าใช้จ่ายในด้านการใช้สารเคมีในกระบวนการผลิต และลดปัญหาการตกค้างของสารเคมีในอาหารได้อีกด้วย การวิจัยครั้งนี้จึงมีจุดมุ่งหมายในการพัฒนาสารกันเสียจากธรรมชาติที่มีความสามารถในการป้องกันจุลินทรีย์และปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยศึกษาผลของการใช้ไคโตซานผสมกับสารสกัดจากสาหร่ายเทาดต่อการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางเคมีกายภาพ จุลินทรีย์ และคุณสมบัติทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

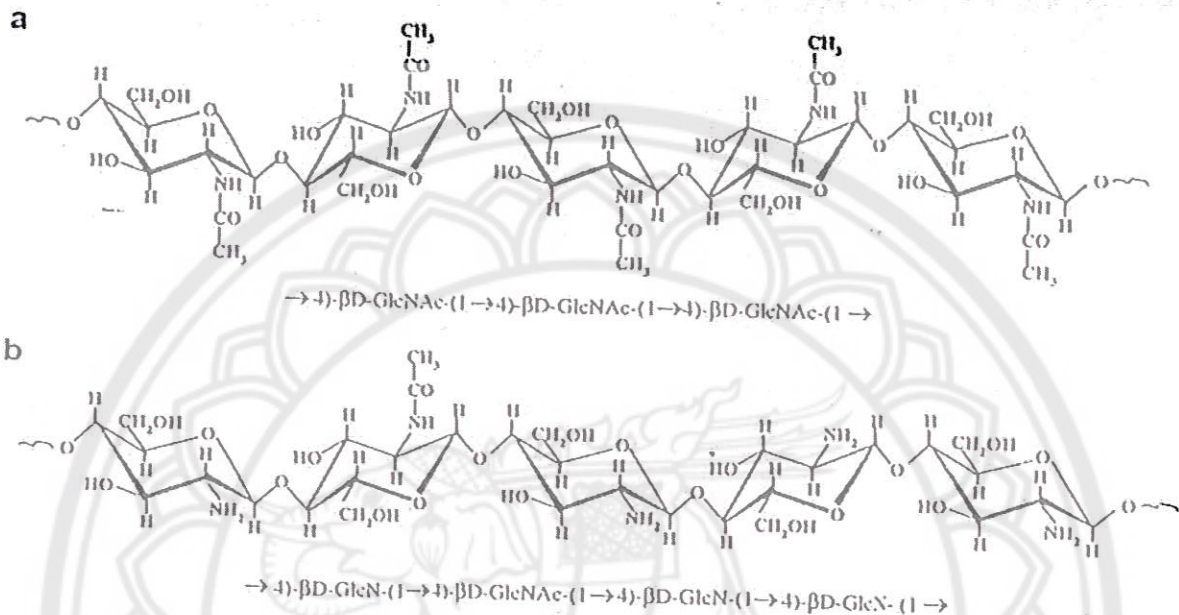
วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายทะเล และศึกษาฤทธิ์การต้าน
ปฏิกิริยาออกซิเดชันจากสาหร่ายทะเล
2. ศึกษาผลของสารผสมระหว่างโคโคซานกับสารสกัดจากสาหร่ายทะเลต่อสมบัติทางด้านเคมี กายภาพ
และ จุลชีววิทยาต่อผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์



เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โคโตแซนจัดเป็นสารพอลิเมอร์ธรรมชาติและเป็นอนุพันธ์ของไคติน ไคโตแซนมีองค์ประกอบเป็น กลูโคซามีน (glucosamine) และ เอ็น-แอซิติลกลูโคซามีน (N-acetyled glucosamine) เป็นหน่วยย่อยที่เรียงต่อกันเป็นสายด้วยพันธะ (1-4) - กลูโคซิดิก [(1-4) glucosidic bonds] (รูป) จำนวนและลำดับของหน่วยย่อยในสายพอลิเมอร์จะเป็นตัวกำหนดคุณสมบัติทางเคมี กายภาพและชีวภาพของโคโตแซน



รูป โครงสร้างของไคติน (a) และโคโตแซน (b) (Harish Prashanth, KV. and Tharanathan, RN., 2007)

ลักษณะเฉพาะของโคโตแซน (Characteristics of chitosan)

ระดับการกำจัดหมู่แอซิติล (Degree of deacetylation, DD)

โคโตแซนเกิดจากปฏิกิริยากำจัดหมู่แอซิติลของไคติน (พอลิเมอร์สายยาวที่มีองค์ประกอบเป็น เอ็น-แอซิติลกลูโคซามีน) สภาพของการเป็นโคโตแซนจึงขึ้นอยู่กับปริมาณการเกิดปฏิกิริยากำจัดหมู่แอซิติล ซึ่งวัดได้จากค่าระดับการกำจัดหมู่แอซิติล การลดลงของหมู่แอซิติลในไคตินเป็นการเพิ่มขึ้นของหมู่อะมิโนของกลูโคซามีนซึ่งเป็นการเพิ่มประจุบวกบนสายพอลิเมอร์ทำให้เกิดสภาพของการเป็นโคโตแซนเพิ่มขึ้น การจัดระดับของการกำจัดหมู่แอซิติลของโคโตแซนมีค่าเป็นร้อยละหรือที่เรียกว่า Percent Deacetylation (% DD) ค่าระดับการกำจัดหมู่แอซิติลของโคโตแซนมีผลต่อคุณสมบัติต่างๆ ของโคโตแซน

คุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial properties) (Harish Prashanth and Tharanathan, 2007)

โคโตแซนและอนุพันธ์ของโคโตแซนมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น แบคทีเรีย ยีสต์และรา โคโตแซนจึงได้รับความสนใจอย่างมากในการนำมาใช้ประโยชน์เพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพและยืดระยะเวลาในการเก็บรักษาอาหารหลายชนิด เช่น อาหารทะเล เนื้อสัตว์ ผักและผลไม้ นมขมขมปัง และน้ำผลไม้ (No, HK., et al., 2007)

จากการศึกษาฤทธิ์ของโคโตแซน (94% DD, 43 kDa) ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่พบในอาหารที่ความเข้มข้น 40-750 mg/l (Devlieghere, F., Vermeulen, A., and Debevere, J., 2004) พบว่าแบคทีเรียแกรมลบมีความไวสูงต่อโคโตแซน ในขณะที่ความไวของแบคทีเรียแกรมบวกจะแตกต่างกันมากและ

ยีสต์มีความไวปานกลาง นอกจากนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของไคโตแซนลดลงเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) สูงขึ้น องค์ประกอบของอาหาร เช่น แป้ง โปรตีน และเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) มีผลเสียต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ส่วนไขมันไม่พบว่ามีผลกระทบใดๆงานวิจัยของ บุญศรีจิ่งเสรีจิตต์ และคณะ (2547) พบว่าไคโตแซนที่ความเข้มข้น 100-3,000 ส่วนในล้านส่วน (part per million, ppm) สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus*, *E.coli*, *S. typhimurium* ได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยมีค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของไคโตแซน (minimal inhibitory concentration, MIC) ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเท่ากับ 100, 500 และ 1,000 ppm ตามลำดับ แต่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้เพียง 70% และยับยั้งเชื้อ *V. cholerae* ได้ต่ำมากสำหรับกลไกการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ได้มีผู้รวบรวมเสนอไว้หลากหลาย (Harish Prashanth, KV. and Tharanathan, RN., 2007) ไคโตแซนอาจยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยอนุภาคประจุบวกบนโมเลกุลของไคโตแซนสามารถจับกับอนุภาคประจุลบบนผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้ผนังเซลล์เกิดความเสียหายขึ้นจนไม่สามารถควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร จึงเกิดการรั่วไหลของสารต่างๆในเซลล์และทำให้เซลล์ตายในที่สุดนอกจากนี้ยังพบว่าฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์อาจเป็นผลมาจากการขัดขวางสารอาหารเข้าสู่เซลล์ ไคโตแซนบางชนิดโดยเฉพาะชนิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เมื่อเคลื่อนเข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์จะไปจับกับ DNA จึงยับยั้งการสังเคราะห์ RNA และโปรตีน หรืออาจจับกับอออนของโลหะ (chelation) และสารอาหารที่จำเป็น นอกจากนี้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับขนาดน้ำหนักโมเลกุล ค่าระดับการกำจัดหมู่อะซิทธิลชนิดของจุลินทรีย์หรือแบคทีเรีย ชนิดของสารละลายกรดที่ใช้ ชนิดของอาหารและอุณหภูมิในการเก็บรักษาองค์ประกอบของอาหาร เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เกลือแร่ เกลือ อาจทำปฏิกิริยากับไคโตแซนและส่งผลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ (นภาพร เชี่ยวชาญ และธนารัตน์ ศรีธรรวณิช, 2547) การดัดแปลงโมเลกุลของไคโตแซนมีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยเช่นกัน อนุพันธ์ของไคโตแซนหลายตัว เช่น dietylmethylchitosan, N,O-acylchitosan และ hydroxypropylchitosan มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อราได้ดีกว่าไคโตแซน

การผสมสารบางชนิด เช่น น้ำมันหอมระเหยกรดสเตอริก (steric acid) และสารเชื่อมโยง (cross-linking agent) มีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ การผ่านเข้าออกของน้ำตลอดจนความยืดหยุ่นและความทนทานของแผ่นฟิล์มไคโตแซน (Mi, FL., et al., 2006; Moller, H., et al., 2004; Zivanovic, S., Chi, F., Draughon, AF., 2005) น้ำมันหอมระเหยออริกาโน (oregano essential oil) ทำให้แผ่นฟิล์มหนาและชุ่มชื้นมีความแข็งแรงลดลงแต่มีความยืดหยุ่นสูงขึ้น และลดการซึมผ่านของน้ำได้ดีรวมทั้งเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogene* และ *E. Coli* ในแผ่นไส้กรอก (bologna slice) เก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน ได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นฟิล์มไคโตแซนเดี่ยวๆ (Zivanovic, S., Chi, F., Draughon, AF., 2005) นอกจากนี้ยังสามารถผลิตเป็นแผ่นฟิล์มแบบผสม (composite film) กับเซลลูโลส (chitosan-hydroxypropyl methyl cellulose film) ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่พบในอาหาร (Moller, H., et al., 2004)

จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและการเสื่อมเสียในอาหาร

จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ หรือทำให้อาหารเกิดการเสื่อมเสียก่อปัญหาให้กับหลายประเทศทั่วโลก โดยทำให้เกิดความเสียหายทั้งชีวิต ทรัพย์สินและความเชื่อมั่นของผู้บริโภค ทั้งยังก่อให้เกิดการสูญเสียดุลทางการค้าของประเทศ จึงถือเป็นปัญหาที่มีความสำคัญอย่างมาก ในช่วงเวลาที่ผ่านมามีรายงานจากองค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO) เกี่ยวกับการเกิดโรคทางอาหารซึ่งมีปริมาณสูงขึ้นในประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่นสหรัฐอเมริกาและญี่ปุ่น จึงทำให้ผู้บริโภคทั่วโลกเริ่มตระหนักถึงบทบาท

ความสำคัญของจุลินทรีย์ที่เจริญ หรือปนเปื้อนในอาหารซึ่งก่อให้เกิดโรคและการเสื่อมเสียในอาหารมากขึ้น จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษมีมากมายหลายชนิด โรคอาหารเป็นพิษในมนุษย์เกิดได้จากการบริโภคอาหาร หรือน้ำที่มีการปนเปื้อนด้วยเซลล์จุลินทรีย์ที่มีชีวิต หรืออาหาร/เครื่องดื่มที่มีการปนเปื้อนของสารพิษ (toxins) ที่สร้างจากจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรียและรา (สุดสาย, 2545) คณะกรรมการนานาชาติสำหรับเกณฑ์ทางด้านจุลชีววิทยาทางอาหาร (The International Commission on Microbiological Specifications For Foods; ICMSF) ได้แบ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหารตามระดับความรุนแรงออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ ดังนี้

1. อันตรายขั้นรุนแรง มีผลกระทบต่อสุขภาพ เช่น *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *Clostridium botulinum* และ *Salmonella typhi* เป็นต้น
2. อันตรายปานกลาง แต่อาจแพร่กระจายได้ เช่น *Salmonella* sp., pathogenic *E. coli* (เช่น enterotoxigenic) และ *Shigella* sp. เป็นต้น
3. อันตรายปานกลาง สามารถควบคุมได้ เช่น *S. aureus*, *B. cereus*, *Y. enterocolitica* *Campylobacter jejuni*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Clostridium perfringens* เป็นต้น

จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอาหารที่ผู้บริโภคไม่สามารถยอมรับได้ ทั้งในแง่ของกลิ่น สี รสชาติ เนื้อสัมผัสและรูปลักษณ์ของอาหาร เป็นต้น ในบางกรณี จุลินทรีย์ไม่ได้ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอาหารโดยตรงแต่จะส่งผลให้จุลินทรีย์ธรรมชาติ (microflora) สามารถเจริญและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้น เช่น กรณีของแบคทีริโอฟาจ (bacteriophages) ซึ่งจะเข้าไปเจริญภายในเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ประโยชน์และทำให้จุลินทรีย์นั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงไปและเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารได้ (วราวุฒิ, 2548)

Aeromonas hydrophila

Aeromonas hydrophila แบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนสั้นตรง ขนาด 1.0-1.5 ไมครอน (2-4.5 เท่าของความกว้าง) เคลื่อนที่โดยใช้หนวด (flagellum) ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างสารสี ไม่มีแคปซูล โคโลนีมีลักษณะกลม ผิวเรียบ ตรงกลางคิงนูน สีขาวนวล มักอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว หรือเป็นคู่ บางครั้งพบเป็นสายสั้น ๆ เจริญได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน สามารถใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งอาหารและให้พลังงาน เปลี่ยนไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญประมาณ 25-30 องศาเซลเซียสและสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ เช่น 4 องศาเซลเซียส ช่วงพีเอช 5.5-9.0 ไม่เจริญในสภาพที่มีเกลือร้อยละ 4-5 สามารถถูกทำลายโดยอุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์ พบมากในอาหารทะเล (เช่น ปลา กุ้ง หอยนางรม) เนื้อสัตว์ หอยทาก ผัก ผลไม้และน้ำดื่ม

Bacillus cereus

Bacillus cereus แบคทีเรียแกรมบวก ลักษณะเป็นรูปท่อนตรง ขนาด 0.3-2.2 x 1.2-7.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้ สร้างสปอร์และสร้างสารพิษ โดยจะขับสารพิษออกมาขณะปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ช่วงอุณหภูมิในการเจริญอยู่ระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ 4-5 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อชนิดนี้อยู่ระหว่าง 6-7 ช่วง aw มากกว่า 0.92 เจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจน และจะสร้างสารพิษเมื่ออยู่ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนน้อย สปอร์ของแบคทีเรียนี้ทนความร้อนปานกลาง ทนต่อสภาวะแช่เยือกแข็งและสภาวะแห้ง เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่เรียกว่า *B. cereus gastroenteritidis* เกิดจากสารพิษ (toxin) ที่แบคทีเรียสร้างขึ้นระหว่างเจริญในอาหาร พบได้ในผลิตภัณฑ์จาก

พืช เช่น ข้าว ธัญพืช แป้ง ผลิตภัณฑ์จากแป้ง ผลิตภัณฑ์จากวานิลลาที่ทำในลักษณะยัดไส้ครีม เครื่องเทศ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์และเครื่องปรุงแต่งรสต่าง ๆ

Escherichia coli

Escherichia coli แบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ในสภาพที่มีอากาศและไม่มีอากาศ เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophile) ในช่วง 7-10 องศาเซลเซียสจนถึง 50 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส พีเอช 4.4-8.5 ค่า aw ต่ำที่สุดที่สามารถเจริญได้คือ 0.95 เชื้อชนิดนี้ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ อาการอุจจาระร่วง โดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ Enterotoxigenic (ETEC) Enteroinvasive (EIEC) Enteropathogenic (EPEC) Enterohemorrhagic (EHEC) และ Enteroaggregative (EaggEC) ซึ่งในแต่ละกลุ่มมีลักษณะแตกต่างกันในด้านพยาธิสภาพ การเกิดโรค คุณสมบัติเฉพาะด้านความรุนแรงของเชื้อและลักษณะพิเศษตาม O:H Serotypes ในบางกรณีอาจมีความแตกต่างในกลุ่มอาการคลินิกและลักษณะทางระบาดวิทยา เป็นเชื้อที่บ่งชี้ถึงการปนเปื้อนที่เกี่ยวข้องกับระบบขับถ่าย(อุจจาระ) ในอาหาร หรือเครื่องดื่ม เช่น เนื้อบด น้่านมดิบ ผักสด ขณะเดียวกันแบคทีเรียชนิดนี้สามารถต้านการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นโทษต่อร่างกายได้อีกด้วย

Escherichia coli O157:H7

Escherichia coli O157:H7 แบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนตรง เจริญได้ในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ไม่สามารถใช้น้ำตาลซอร์บิทอลจึงสามารถใช้ลักษณะนี้เป็นตัวคัดแยก *E. coli* O157:H7 ออกจาก *E. coli* ทั่วไป *E. coli* O157:H7 เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส ไม่เจริญ หรือเจริญน้อยมากที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษในหลายประเทศทั่วโลก ก่อโรคโดยสร้าง Shiga toxin (Stx) ซึ่งมีคุณสมบัติเหมือนกับ Stx ของเชื้อ *Shigella dysenteriae* ทำให้เกิดอุจจาระร่วงได้ในมนุษย์และสัตว์ สร้างสารพิษที่มีผลทำให้เกิดการระคายเคืองเยื่อเมือกลำไส้ โดยการปนเปื้อนของเชื้อจากอาหารและเครื่องดื่ม เช่น เนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์นม อาหารปรุงสุก ๆ ดิบ ๆ (มาลัย, 2545)

Enterococcus faecalis

Enterococcus faecalis แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นทรงกลม หรือรูปไข่เส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่า 2 ไมโครเมตร เจริญได้ในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนต้องการสารอาหารที่มีโครงสร้างซับซ้อน ไม่สร้างสปอร์และมักจะไม่เคลื่อนที่ ส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 48-50 องศาเซลเซียส แบคทีเรียชนิดนี้ทนความร้อนและสามารถอยู่รอดในน้ำนมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ เจริญได้ในสภาพต่างพีเอช 9.6 ทนเกลือได้ที่ร้อยละ 6.5 พบในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ อาหารสัตว์ พืชบางชนิด เครื่องมือที่ใช้ในโรงนม น้ำลาย และอุจจาระ เป็นต้น เชื้อชนิดนี้เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียในนมและผลิตภัณฑ์นม น้ำผลไม้เข้มข้นครีม ผลไม้บรรจุกระป๋อง เป็นต้น

Listeria monocytogenes

Listeria monocytogenes แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างขนาด 1.0-2.0 x 0.5 มิลลิเมตรเคลื่อนที่ได้โดยอาศัยหนวด ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ ทนต่ออุณหภูมิต่ำ (psychotroph) เจริญได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 3-42 องศาเซลเซียส เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส พีเอช 5.0-9.0 ค่า aw ต่ำสุดที่เจริญได้ คือ 0.92 ทนเกลือได้ดี เชื้อชนิดนี้สามารถถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปัจจุบันพบเชื้อ *L. monocytogenes* 5 สายพันธุ์ คือ *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seligeri*, *L. ivanovii* และ *L. monocytogenes* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคลิสเทอริโอซิส (listeriosis) สามารถพบได้

ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เช่น แม่น้ำ ดิน สิ่งปลูกต่าง ๆ อาหารสัตว์และพบมากในทางเดินอาหารของสัตว์ปีก วัว หมู และปลา หอย นํ้านมและอาหารแช่แข็ง (สุมนททา, 2545)

Micrococcus luteus

Micrococcus luteus แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-3.5 ไมโครเมตร โคลินีสีเหลือง ต้องการออกซิเจนในการเจริญ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 25-30 องศาเซลเซียส เจริญในที่ที่มีเกลือสูงถึงร้อยละ 5 สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรดแต่ไม่ผลิตก๊าซ สามารถพบเชื้อชนิดนี้ได้ดิน ผุ่น น้ำและบนผิวหนังของมนุษย์และสัตว์เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ ปลา หอย รวมทั้งไส้กรอกและหมูแฮม

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa แบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน หรือโค้งเล็กน้อย ขนาด 0.5-1 x 1.5-4 ไมโครเมตร โคลินีสีขนาดใหญ่ กระจายและมักเป็นเงาคล้ายโลหะ (metallic sheen) เคลื่อนที่ได้โดยอาศัยหนวด ซึ่งอยู่ที่ปลายเซลล์ ไม่สร้างสปอร์ จำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในการเจริญทนต่อความเข้มข้นของเกลือได้สูง เจริญในช่วงอุณหภูมิกว้างตั้งแต่ 10-42 องศาเซลเซียส แต่โดยส่วนใหญ่เชื้อชนิดนี้สามารถเจริญได้ในที่อุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เช่น น้ำ ดิน ผักและอุจจาระของคน เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารที่แช่หรือเก็บในตู้เย็น หรือที่อุณหภูมิต่ำ

Salmonella Enteritidis

Salmonella Enteritidis แบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้โดยใช้หนวดที่อยู่รอบเซลล์ เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสให้ผลผลิตเป็นกรดและก๊าซ เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 6-45.6 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญประมาณ 37 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียสเชื้อชนิดนี้จะสามารถเจริญแข่งกับแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ได้ดีกว่า ช่วงพีเอชในการเจริญอยู่ระหว่าง 4.1-9.0 ค่า aw ต่ำสุดสำหรับการเจริญอยู่ที่ 0.93-0.95 เชื้อชนิดนี้ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เมื่อบริโภคอาหารที่มีเซลล์ที่มีชีวิต เชื้อชนิดนี้สามารถเพิ่มจำนวนในอาหารได้และมักพบปนเปื้อนในอาหารหลายชนิด เช่น เนื้อสัตว์ นม ไข่ อาหารทะเลและผัก โดยเฉพาะสัตว์ปีกซึ่งเป็นแหล่งปนเปื้อนที่สำคัญ

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม มักพบเป็นคู่เกาะกันด้วยสายสั้น ๆ เป็นกิ่ง หรือเป็นลักษณะพวงอวบน้ำ โคลินีสีเหลือง หรือทอง ไม่เคลื่อนที่ เจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจน ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 35-40 องศาเซลเซียส ช่วงพีเอชที่เหมาะสมคือ 7-7.5 ค่า aw ต่ำที่สุดสำหรับการเจริญในสภาพที่มีออกซิเจนประมาณ 0.86 สภาพไม่มีออกซิเจน 0.90 เชื้อชนิดนี้บางสายพันธุ์ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ผลิตสารพิษที่เรียกว่าเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) สามารถพบได้ในอากาศ ผุ่นละออง ขยะมูลฝอย น้ำ อาหารและนม หรืออาหารบรรจุเสร็จ อาหารที่มักพบเชื้อชนิดนี้ ได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อเนื้อสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์จากไข่ อาหารประเภทสลัด ผลิตภัณฑ์ขนมอบและผลิตภัณฑ์นม เป็นต้น

Vibrio parahaemolyticus

Vibrio parahaemolyticus แบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 9.5-45 องศาเซลเซียส ค่าพีเอช 5-11 สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.5-8 สามารถพบเชื้อชนิดนี้ได้ตามแหล่งธรรมชาติในน้ำทะเลและนํ้ากร่อย เชื้อชนิดนี้ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ หรือกระเพาะและลำไส้อักเสบ ข้อมูลจากสำนักกระบาดวิทยาประเทศไทยในปี พ.ศ. 2545 พบว่าเชื้อชนิดนี้เป็นสาเหตุอันดับ 1 ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษคิดเป็นร้อยละ 78 โดยเกิดจากการรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไป

โดยเฉพาะอาหารทะเล เช่น กุ้ง ปู ปลา หอย อาหารที่ผ่านความร้อนไม่เพียงพอ หรืออาหารปรุงสุกที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ

Candida albicans

Candida albicans ยีสต์ รูปร่างกลม รูปไข่ รูปทรงกระบอก หรือทรงยาว สืบพันธุ์ด้วยการแตกหน่อแบบมัลติโพลาร์ บัดดิ้ง (multipolar budding) ไม่มีการสร้างแอสโคสปอร์ ไม่มีเม็ดสี่แคะโรทีนอยด์จึงทำให้เห็นการสร้างสีของเซลล์ได้ อาจมีการสร้างโพลีแซคคาไรด์ชั้นภายนอกเซลล์จึงอาจเกิดปฏิกิริยาเชิงบวกกับไอโอดีนได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 37 องศาเซลเซียส ยีสต์ชนิดนี้สามารถพบได้ในอาหารทั้งประเภทเนื้อสัตว์ สัตว์ปีกและประเภทผักและผลไม้

Saccharomyces cerevisiae

Saccharomyces cerevisiae ยีสต์ รูปร่างกลม รูปทรงแบนอย่างไข่ ทรงกระบอกหรือทรงยาว สืบพันธุ์ด้วยการแตกหน่อแบบมัลติแลตเทอรัล บัดดิ้ง (multilateral budding) สร้างสปอร์ที่มีรูปร่างกลมภายในเซลล์ของยีสต์ (ascus) สามารถหมักน้ำตาลได้อย่างดี ยกเว้นน้ำตาลแล็กโทส ยีสต์สายพันธุ์นี้ถูกใช้เพื่อยีสต์ขนมปัง (bread yeast) และยีสต์ทำเบียร์ (brewers' yeast) โดยทั่วไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ ไวน์ เอนไซม์อินเวอร์เทส (invertase) กลีเซอรอลและแอลกอฮอล์ นอกจากนี้ยังเป็นยีสต์ที่ทนต่อวัตถุดิบเสียอีกด้วย

Zygosaccharomyces rouxii

Zygosaccharomyces rouxii ยีสต์ รูปร่างกลม รูปรี ทรงกระบอก หรือยาวสืบพันธุ์ทั้งแบบสร้างสปอร์และแตกหน่อหลายขั้ว หมักน้ำตาลได้ดี สามารถเจริญในที่ที่มี aw ต่ำมากเท่ากับ 0.62 ค่าพีเอช 1.8 หรือในสภาวะที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลและเกลือสูง (บุษกร, 2550)

สารต้านจุลินทรีย์

สารต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial compounds) หมายถึงสารประกอบเคมีที่ได้จากธรรมชาติหรือจากการสังเคราะห์ขึ้นด้วยวิธีทางเคมี ซึ่งไปมีผลต่อต้านหรือทำลายจุลินทรีย์อื่นๆ ในหลายปีที่ผ่านมาผลงานการศึกษาด้านจุลชีวะได้มีการตีพิมพ์เผยแพร่ออกมาเป็นจำนวนมากทั้งในด้านการค้นหาสารใหม่ วิธีการสังเคราะห์ทางเคมี และผลข้างเคียงของสารที่ใช้อยู่เดิม ผลงานเหล่านี้ได้นำมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ การเกษตร และอุตสาหกรรม สารต้านจุลชีพที่ใช้อยู่ในปัจจุบันมากกว่าครึ่งจะได้จากสิ่งมีชีวิต เช่น จากพืช สัตว์ และจุลินทรีย์โดยส่วนใหญ่จะได้จากจุลินทรีย์โดยเฉพาะแอกทีโนมัยซีต (actinomycetes) ปัจจุบันนี้ความต้องการใช้สารต้านจุลชีพมีมากขึ้น ในขณะที่อัตราการพบสารต้านจุลชีพชนิดใหม่ๆ มีอัตราการลดลงและสารต้านจุลชีพที่ใช้อยู่เดิมเริ่มเกิดปัญหาทั้งในเรื่องการดื้อยาของเชื้อและอันตรายจากการใช้ยาติดต่อกันเป็นเวลานาน ดังนั้นจึง เป็นที่ที่จะต้องเร่งหาสารต้านจุลชีพชนิดใหม่ๆ เพิ่มขึ้นโดยเริ่มมุ่งความสนใจไปที่สิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ นอกจากสิ่งมีชีวิตเดิม และสิ่งมีชีวิต การศึกษาด้านจุลชีวะจากสาหร่ายตามรายงานพบว่ามีการศึกษามาเป็นเวลานานพอสมควร โดยพบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* และ *Chlamydomonas pyrenoidosa* สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ต่อมา มีรายงานว่ามี การศึกษาหาสารต้านจุลชีพในสาหร่ายอีกหลายชนิดทั้งที่เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวและที่เป็นเส้นสายเพื่อหาสายพันธุ์สาหร่ายที่สามารถสร้างสารต้านจุลชีพ

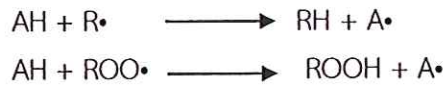
สารต้านออกซิเดชัน

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสามารถแบ่งได้ตามกลไกการเกิดปฏิกิริยา คือ กลุ่มสารประกอบที่ชะงักการเกิดปฏิกิริยาถูกโอซิของอนุมูลอิสระต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันโดยการให้อิเล็กตรอน หรือ

ไฮโดรเจนกับไขมันที่มีอนุมูลอิสระ ทำให้เกิดความเสถียรในโครงสร้างและไม่เกิดการแตกตัวอีกเมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน นอกจากนี้ยังสามารถแบ่งได้ตามชนิดของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนี้

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันปฐมภูมิ (primary antioxidants)

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน คือ สารที่ไปต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการทำให้ปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเพื่อขัดขวางการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ในขั้นตอน propagation ดังนี้



อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยาเกิดเป็นสารประกอบที่มีความเสถียร



(เมื่อ AH = สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน)

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะให้ผลในปฏิกิริยาอ้อโตออกซิเดชัน (autooxidation) เช่น การหืนของไขมัน หรือน้ำมันเนื่องจากออกซิเจนในอากาศแต่จะไม่เกิดผลในปฏิกิริยารีดอกซ์โดยสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะป้องกันไม่ให้เกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide; ROOH) ซึ่งเป็นผลผลิตปฐมภูมิของปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (primary lipid oxidation product) สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันปฐมภูมิสังเคราะห์ประเภทฟีนอลิก เช่น บิวทิลเลต ไฮดรอกซีอะนิโซล (butylate hydroxyanisole; BHA) บิวทิลเลต ไฮดรอกซีโทลูอีน (butylatedhydroxytoluene; BHT) และพรอพิล แกลเลต (propyl gallate; PG) เป็นต้น

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันทุติยภูมิ (secondary antioxidants)

เป็นสารพวกคีเลต (chelate) หรือซีควีสเทน (sequesten) มีประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเล็กน้อย หรือไม่มีเลย แต่สามารถเสริมฤทธิ์ของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันปฐมภูมิโดยทำปฏิกิริยากับไอออนของโลหะซึ่งเป็นตัวกระตุ้นในปฏิกิริยาออกซิเดชัน เพื่อยับยั้งไม่ให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ หรือสามารถลดค่าพีเอชของสารละลาย เช่น กรดซิตริก กรดแอสคอร์บิก กรดฟอสฟอริกและเอทิลีนไดเอมีนเตตราอะซีติก แอซิด (ethylenediaminetetraacetic acid; EDTA) เป็นต้น ตัวอย่างการใช้สารผสมระหว่างสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันปฐมภูมิและทุติยภูมิ เช่น PG ร่วมกับกรดซิตริกและกรดฟอสฟอริก หรือ BHA ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริกและกรดฟอสฟอริก เป็นต้น

ปัจจุบันได้มีการนำสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือสารต้านอนุมูลอิสระมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหาร เช่น การเติม BHA หรือ BHT ในอุตสาหกรรมน้ำมันพืช ทางทางการแพทย์และสุขภาพในการป้องกันและรักษาโรค เช่น การชะลอการเกิดโรคหัวใจ โรคหลอดเลือด เป็นต้น และในอุตสาหกรรมอื่น ๆ เช่น การใช้สารแทนนินในอุตสาหกรรมเครื่องหนัง เป็นต้น และได้มีการขยายตัวและศึกษากันอย่างแพร่หลาย โดยการนำมาเติมลงในวัสดุบรรจุ หรือทำเป็นสารเคลือบบริโภคได้ ซึ่งมีการใช้ทั้งสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์และจากธรรมชาติ แต่เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติมีความปลอดภัยและปราศจากการตกค้างจากสารเคมีต่าง ๆ ในร่างกายและไม่เป็นอันตราย ดังนั้นจึงมีการใช้สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ได้จากธรรมชาติทดแทนสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์ เช่น น้ำมันหอมระเหย สารสกัดจากพืช โปรตีน โพลีแซคคาไรด์ เป็นต้น (Ouattara et al., 2002; Lacroix et al., 2004; Akkasit et al., 2008; Alejandra et al., 2008; Oliu et al., 2008)

สาหร่ายน้ำจืด (เทา)

สไปโรจิริยา (Spirogyra) นี้มีชื่อสามัญว่า “เตา” หรือ “เทา” หรือ “เทาน้ำ” นำมารับประทานได้ โดยเฉพาะในแถบภาคเหนือนิยมนำมาปรุงอาหารที่เรียกว่า “ยำเตา” คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายชนิดนี้ บัญชี (2530) พบว่าประกอบด้วยโปรตีน 23.76 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 2.86 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 53.98 เปอร์เซ็นต์ เส้นใย 6.24 เปอร์เซ็นต์ โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ส่วน ยูวดี (2535) พบว่า ประกอบด้วยโปรตีน 18.63 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 5.21 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 56.31 เปอร์เซ็นต์ เส้นใย 7.66 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 11.78 เปอร์เซ็นต์ นับว่ามีคุณประโยชน์ทางโภชนาการพอสมควร

สาหร่ายชนิดนี้เป็นที่รู้จักกันดีที่สุดใน Division Chlorophyta ด้วยกัน มักเกิดรวมกันเป็นกลุ่มอาจจะ อยู่กันบ่อเกาะอยู่กับก้อนหิน หรืออาจจะลอยอยู่บริเวณผิวน้ำ จีนี่สนี่มีประมาณ 289 ชนิด (แต่ละชนิดมีความ แตกต่างกันตามขนาด และรูปร่างของเซลล์ จำนวนคลอโรพลาสต์ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ รูปร่าง ขนาด และสีของไซโทท

ลักษณะของสาหร่ายชนิดนี้จะเป็นเส้นสายยาวมากคล้ายเส้นผมสีเขียวสด จับดูจะรู้สึกลื่นมือ เนื่องจาก มีเมือกหุ้มอยู่ภายนอก เซลล์จะมีรูปร่างทรงกระบอก ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ความยาวเท่าความกว้าง จนกระทั่งถึง ความยาวมากกว่าความกว้างหลายเท่า ผนังเซลล์มี 3 ชั้น ชั้นในและชั้นกลางเป็นพวกเซลลูโลส ส่วนชั้นนอก เป็นพวกเพคโตส (Pectose) ภายในเซลล์มีแวคิวโอลตรงกลางอันใหญ่ มีนิวเคลียสแขวนลอยอยู่ โดยมีสายไซ โทพลาสซึม (Cytoplasmic Strand) เชื่อมโยง และยึดไว้กับผนังเซลล์ ภายในไซโทพลาสซึมอาจเกิดปรากฏ การไซโคลซิส คลอโรพลาสต์อาจมีตั้งแต่ 1 อันหรือหลาย ๆ อันขึ้นอยู่กับอายุและชนิดมีลักษณะเป็นเส้นขดจาก ปลายเซลล์ข้างหนึ่งไปยังอีกข้างหนึ่ง ลักษณะการขดของคลอโรพลาสต์เป็นลวดลายสวยงามมาก บนสายคลอโรพ ลาสต์จะมีไฟรินอยด์เรียงเป็นแถวตลอดสาย ผนังเซลล์ด้านขวาจะเชื่อมโยง โดยมีความกว้างระหว่างเซลล์ต่อ เซลล์ มองดูเป็นรูปตัว “H” สาหร่ายจีนี่สนี่บางชนิดสามารถเคลื่อนที่ได้แบบร่อน (Gliding) กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่าย

ฐิติกานต์ และคณะ (2550) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ *Spirogyra* spp. ซึ่งเก็บรวบรวมมาจากบ่อเลี้ยงสาหร่ายเตา บ้านนาคูหา ต.สวนเขื่อน อ.เมือง จ.แพร่ โดยนำ ตัวอย่างสาหร่ายมาอบจนแห้งแล้วสกัดด้วยน้ำ นำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 7 วิธี ได้แก่ Scavenging activity of ABTS⁺ radical cation, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, Hydroxyl (OH) radical scavenging activity Lipid peroxidation Metal chelating activity Reducing power และ Superoxide radical-scavenging activity พบว่าวิธีทดสอบสารสกัดที่มี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดคือ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity รองลงมาคือ Metal chelating activity, Superoxide radical-scavenging activity, Scavenging activity of ABTS⁺ radical cation Hydroxyl (OH) radical scavenging activity และ Lipid peroxidation ตามลำดับ โดยมีความเข้มข้นของสารสกัดที่ลดปริมาณอนุมูลอิสระเริ่มต้นลงได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC₅₀) เป็น 0.05, 0.24, 0.88, 1.58, 1.97 และ 7.61 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระจากวิธี reducing power มีค่า 1.73 จากตัวอย่าง 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เทียบเท่ากับ garlic acid 0.08 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ปาวลี (2550) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายสีเขียว *Caulerpa recemosa* var. *corynephora* (Montagne) weber-van Bosse ด้วยตัวทำละลายต่างๆ 5 ชนิด พบว่า ปริมาณ % yield ในสาหร่ายที่สกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือเอทานอล โดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และอะซิโตน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.673, 1.839, 1.273, 0.440 และ 0.126 ตามลำดับ สำหรับการ

ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS⁺ radical พบว่าสารสกัดสาหร่ายด้วยอะซีโตน มีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท สารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน สารสกัดด้วยเอทานอล และสารสกัดด้วยเมทานอล โดยมีค่าเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox เท่ากับ 0.525 ± 0.022 , 0.396 ± 0.005 , 0.388 ± 0.008 , 0.297 ± 0.002 และ 0.280 ± 0.006 $\mu\text{mol Trolox/g}$ ของสารสกัดตามลำดับ

ไส้กรอก

ไส้กรอก ไส้กรอก (Sausage) มาจากคำภาษาลาตินว่า salsus ซึ่งหมายถึงเนื้อที่บดให้ละเอียดผสมกับเกลือ ในสมัยก่อนส่วนผสมของไส้กรอกจะถูกบรรจุในลำไส้ของสัตว์หรือกระเพาะอาหารสัตว์ ซึ่งทำให้มีรูปร่างทรงกระบอก ดังนั้น เมื่อมีการทำไส้สังเคราะห์ขึ้นมาเพื่อใช้แทนไส้จากสัตว์ ก็มักจะทำให้ไส้กรอกมีลักษณะทรงกระบอกคล้ายไส้กรอกจากธรรมชาติ

ชนิดของไส้กรอก

ปัจจุบันมีไส้กรอกหลายร้อยชนิดแตกต่างกันไปตามความต้องการของผู้บริโภคในส่วนต่างๆของโลกไส้กรอกแบ่งเป็นประเภทใหญ่ได้ดังนี้

1. ไส้กรอกสด (Fresh sausage) ทำจากเนื้อสดโดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้อหมูบดและผสมเครื่องปรุงบรรจุในไส้เก็บไว้ในตู้เย็นก่อนที่จะรับประทานก็นำมาทำให้สุกเสียก่อนไส้กรอกชนิดนี้รสชาติเนื้อสัมผัสความนุ่มและสีเกี่ยวข้องโดยตรงกับอัตราส่วนของไขมันและเนื้อแดงตัวอย่างไส้กรอกสดได้แก่

- ไส้กรอกหมูสด (Fresh pork Sausage) ผลิตจากเนื้อหมูสดหรือเนื้อหมูแช่แข็งหรือทั้งสองอย่างรวมกันรวมทั้งเนื้อหมูที่ผ่านการเอากระดูกออก (debaned pork) แต่ไม่รวมผลพลอยได้จากเนื้อหมู (Beef by product) ผลิตภัณฑจะต้องมีไขมันไม่เกิน 50 % เติมน้ำหรือน้ำแข็งได้ถึง 3 %

- ไส้กรอกอาหารเช้า (Breakfast Sausage) อาจทำจากเนื้อหมูหรือเนื้อวัวสดหรือทำจากผลพลอยได้จากเนื้อสัตว์ (meat by-products) ก็ได้อาจเติมสารที่ช่วยการรวมตัว (binder) ได้ถึง 3 % ของผลผลิตที่ได้ ไขมันไม่เกิน 50 % และเติมน้ำเกลือหรือน้ำแข็งได้ถึง 3 %

- บราทเวอร์สท (Bratwurst) ทำจากเนื้อลูกวัวหรือเนื้อหมูใช้ผิวหรือน้ำมันในการปรุงรสนิยมลวกก่อนจำหน่าย

2. ไส้กรอกรมควันแต่ไม่สุกไส้กรอกชนิดนี้มีลักษณะคล้ายกับไส้กรอกสดแต่ผ่านการรมควันจึงทำให้สีและรสชาติเปลี่ยนแปลงไปจากไส้กรอกสดเมื่อจะรับประทานต้องนำมาทำให้สุกเสียก่อนไส้กรอกชนิดนี้สามารถเก็บรักษาได้นานกว่าไส้กรอกสดธรรมดาได้ 1-2 วันแต่อย่างไรก็ตามควรเก็บไว้ในตู้เย็นเช่นไส้กรอกหมูสดรมควัน (Fresh smoked pork sausage)

3. ไส้กรอกสุก (Cooked Sausage) ไส้กรอกประเภทนี้ทำจากเนื้อสัตว์ชนิดเดียวหรือหลายชนิดก็ได้ไม่ว่าเนื้อวัวเนื้อหมูหรือเนื้อสัตว์ปีกอาจรมควันหรือไม่รมควันก็ได้ทำให้สุกพร้อมที่จะรับประทานได้ทันทีแบ่งเป็น

- กลุ่มแฟรงเฟอร์เตอร์ (Frankfurter) แนคเวอร์สท์ (Knackwurst) โบโลญา (Bologna) และอื่นๆที่คล้ายคลึงแฟรงเฟอร์เตอร์ (Frankfurter) ทำจากเนื้อหมูและเนื้อวัวผสมกันหมักด้วยส่วนผสมและเครื่องเทศเป็นที่นิยมมากบรรจุในไส้แกะหากบรรจุในไส้พลาสติกเรียกว่าเวียนนา (Vienna) หากบรรจุในไส้หมูเรียกว่า แนคเวอร์สท์

- กลุ่มไส้กรอกตับและไส้กรอกเลือดไส้กรอกตับ (Liver sausage) ทำจากการบดมันหมูแข็งตับหมูผสมเจลาตินปรุงรสด้วยหัวหอมและเครื่องเทศบรรจุในไส้และทำให้สุกมีรสชาติดีและคุณค่าทางโภชนาการสูงไส้

กรอกเลือด (Blood Sausage) ทำจากมันหมูแข็งต้มสุกหั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมและเนือบดละเอียดผสมเจลาตินรวมกับเลือดวัวและเครื่องเทศบรรจุในไส้และทำให้สุก

4. ไส้กรอกแห้งและไส้กรอกกึ่งแห้ง (Dry and Semidry Sausage) ไส้กรอกชนิดนี้ผลิตจากการหมักทำจากเนื้อที่มีตามธรรมชาติหรือเชื้อบริสุทธิ์ที่เติมลงไปการผลิตกรดแลคติกในไส้กรอกไม่เพียงแต่ช่วยในการถนอมอาหารโดยการลด pH และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการแล้วยังช่วยให้ไส้กรอกมีรสเปรี้ยวด้วยหลังจากที่ผสมเนื้อที่ผ่านการบดแล้วกับส่วนผสมต่างๆเช่นเกลือเครื่องเทศและเชื้อบริสุทธิ์แล้วจะเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำจนกระทั่งมีปริมาณกรดตามที่ต้องการจากนั้นจึงบรรจุในไส้และทำให้แห้งในอากาศผลิตภัณฑ์บางชนิดผ่านการรมควันเล็กน้อยมาก่อน

ไส้กรอกกึ่งแห้งทำให้สุกโดยการรมควันและในขณะที่เดียวกันก็ทำให้ไส้กรอกสุกไปด้วยโดยทั่วไปมีผลผลิต 70-80% ของน้ำหนักเดิมและมีลักษณะค่อนข้างนุ่มเนื่องจากการหมักโดยแบคทีเรียและมีความชื้นมากกว่าไส้กรอกแห้งตัวอย่างเช่นทิวริงเจอร์ (Thuringer) และซัมเมอร์ (Summer sausage)

ไส้กรอกแห้งผ่านการรมควันเล็กน้อยหรือไม่ผ่านเลยทำให้แห้งในอากาศมีผลผลิตประมาณ 60-70 % ของน้ำหนักเดิมมีลักษณะแห้งกว่าแน่นกว่าและราคาแพงกว่าไส้กรอกกึ่งแห้งตัวอย่างเช่นซาลามิ (salami)

5. ผลิตภัณฑ์ที่คล้ายคลึงไส้กรอกเป็นผลิตภัณฑ์ที่หมักเนื้อที่ผ่านการบดคล้ายกับไส้กรอกแต่อาจมีขั้นตอนบางขั้นตอนที่ไม่เหมือนการทำไส้กรอกเช่นไม่ได้บรรจุในไส้เป็นต้นยกตัวอย่างเช่น

ลันเชียนมีท (Luncheon meat) เป็นผลิตภัณฑ์เนือบดละเอียดหรืออาจสับให้เข้ากันบรรจุกระป๋องผ่านกระบวนการให้ความร้อนเมื่อจะรับประทานก็เปิดกระป๋องรับประทานได้ทันทีที่ทโลฟ (Meat Loaves) ทำจากเนือบดผสมเครื่องปรุงต่างๆเช่นหอมหัวใหญ่ไข่เครื่องเทศแห้งและนมผงบรรจุในแบบหรือพิมพ์นำไปอบให้สุกหรือบรรจุกระป๋อง (บทที่ 11 ผลิตภัณฑ์เนื้อ, 2557. Online)

ขั้นตอนการทำไส้กรอก

การทำไส้กรอกเป็นกระบวนการที่มีขั้นตอนการผลิตที่ต่อเนื่องและสัมพันธ์กันแต่ละขั้นตอนมีความสำคัญต่อคุณภาพวัตถุดิบแบ่งเป็นขั้นตอนต่างๆดังนี้

1. การลดขนาดบดผสมและทำอิมัลชัน

การลดขนาดหมายถึงการดำเนินการเพื่อลดขนาดของชิ้นส่วนย่อยของเนื้อ (particle) ลงเพื่อจะสามารถนำไปรวมตัวกันเป็นรูปแบบอื่นๆตามต้องการได้การลดขนาดชิ้นส่วนย่อยนี้สามารถทำได้หลายระดับด้วยกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์เป็นสำคัญผลิตภัณฑ์บางชนิดอาจต้องการลดขนาดลงถึงเพียงระดับหยากก็พอแต่บางชนิดลดขนาดมากกว่านี้จนถึงขั้นละเอียดและสามารถสร้างอิมัลชัน(emulsion)ไปด้วยแต่ถ้าพิจารณาถึงผลดีของการลดขนาดชิ้นส่วนเนื้อแล้วอาจกล่าวได้ว่า

- ช่วยปรับปรุงความสม่ำเสมอของผลิตภัณฑ์โดยที่มีชิ้นส่วนในขนาดที่น้อยสม่ำเสมอและทำให้ส่วนประกอบต่างๆกระจายไปได้อย่างทั่วถึง

- ทำให้เนื้อซึ่งเดิมอาจจะเหนียวจนเคี้ยวไม่ลงนั้นมีความนุ่มถูกใจผู้บริโภคเพราะถูกลดขนาดลง

เครื่องมือที่ใช้ในการลดขนาดชิ้นส่วนเนื้อได้แก่เครื่องบด (meat grinder) เครื่องสับละเอียด (silent cutter) และเครื่องปั่นอิมัลชัน (emulsion mill) เป็นต้นในการทำผลิตภัณฑ์เนื้อหลายๆชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกไส้กรอกนั้นขั้นตอนแรกๆจะประกอบไปด้วย

การบดเนื้อ (grinding) เพื่อลดขนาดเนื้อลงโดยนำเนื้อไปผ่านการหั่นเป็นชิ้นเล็กๆเข้าเครื่องบดเนื้อ (meat grinder) ทำให้เนื้อมีขนาดเล็กลงเพิ่มพื้นที่ผิวในการสกัดโปรตีนที่ละลายได้ในเกลือการทำผลิตภัณฑ์ทั้งบดหยากและบดละเอียดจะต้องผ่านขั้นตอนการบด

การผสมในเครื่องผสม (Mixing) หลังจากการบดแล้วจะนำเครื่องปรุงมาคลุกเคล้า ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยมีความมุ่งหมายให้ส่วนประกอบทุกอย่างมีการกระจายตัวออกไปในส่วนผสมทั้งหมดอย่างทั่วถึง และสม่ำเสมอโดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนประกอบที่มีปริมาณน้อย ๆ ได้แก่ ไนโตรต ไนเตรต เครื่องเทศและสารเร่งปฏิกิริยาซีเช่น พวกแอสคอร์เบท เป็นต้น ถ้าเป็นไส้กรอกประเภทบดหยาบก็เป็นการปั่นผสมก่อนที่จะอัดลงใส่ ส่วนไส้กรอกประเภทละเอียดอิมัลชันนั้นก็จะเป็นผสมในช่วงก่อนการสับละเอียดเพื่อสร้างอิมัลชัน

การสับละเอียด (chopping) และการทำอิมัลชัน (Emulsifying) ไส้กรอกประเภทละเอียดเป็นอิมัลชันจะนำมาสับละเอียดโดยเครื่องสับ (chopper หรือ silent cutter) ในอุตสาหกรรมขนาดเล็กจะใช้เครื่องสับละเอียดเพียงเครื่องเดียวทำการสับเนื้อสัตว์เพื่อลดขนาดลงไปอีกในขณะเดียวกันก็สร้างอิมัลชันของเนื้อและไขมันในโรงงานอุตสาหกรรมขนาดใหญ่จะใช้เครื่องสับเพื่อลดขนาดเนื้อสัตว์ให้เล็กลงไปอีกเท่านั้นและการสร้างอิมัลชันจะใช้เครื่องสร้างอิมัลชันโดยตรงทั้งนี้เพราะเครื่องมือมีอัตราความเร็วของใบมีดสูงกว่ามากจึงสามารถทำให้สร้างอิมัลชันได้ภายในระยะเวลาสั้นและนอกจากนั้นยังทำให้ขนาดชิ้นส่วนไขมันละเอียดกว่าเดิมมากแต่เนื่องจากใบมีดมีอัตราความเร็วสูงมากนี้เองจึงทำให้อุณหภูมิของเนื้อผสมนั้นสูงขึ้นอย่างรวดเร็วโดยเป็นผลมาจากการเสียดสีอย่างรุนแรงและรวดเร็วนั่นเองจึงควรต้องระมัดระวังทั้งนี้เพราะอุณหภูมิของส่วนผสมอาจทำให้ไขมันแยกตัวออกมาจากระบบอิมัลชันได้

ไส้กรอกแบบอิมัลชันนี้มักเตรียมจากเนื้อแดงน้ำแข็งหรือน้ำเกลือเครื่องปรุงรสและส่วนประกอบที่ช่วยในการหมักได้แก่โซเดียมไนไตรท์โซเดียมไนไตรท์และโซเดียมอีโรเรบอบทส่วนผสมต่างๆประมาณ 1-5 นาทีแล้วจึงเติมไขมันแล้วสับต่อไปอีกหลายนาทีจนกระทั่งอิมัลชันคงตัว

การเติมน้ำและเกลือจะทำให้เกิดน้ำเกลือซึ่งจะละลายโปรตีนที่ละลายในน้ำเกลือออกมาเครื่องปรุงรสและส่วนประกอบในการหมักอื่นๆที่ช่วยให้เกิดสีของการหมักจะเต็มไปด้วยไขมันเพื่อให้เห็นว่าสามารถกระจายได้อย่างทั่วถึงหากมีการเติมสารที่ช่วยให้เกิดการรวมตัวอื่นๆ (nonmeat binder) จะเต็มไปด้วยไขมันกับการบดเนื้อแดงหรืออาจเติมไขมันก่อนที่จะเติมไขมันจึงจะได้ผลดีในการช่วยอิมัลซิไฟไขมันและจับน้ำหากมีการเติมแป้งจะเติมหลังจากการเติมไขมันจะช่วยจับน้ำได้ดีการสับส่วนผสมน้อยเกินไปหรือมากเกินไปก็จะมีผลต่อคุณภาพของไส้กรอก

การสกัดโปรตีนออกมาเป็นสิ่งสำคัญในการสร้างอิมัลชันเนื้อแดงจะต้องถูกสับนานพอที่จะทำให้โปรตีนที่ละลายออกมามีปริมาณมากพอที่จะหุ้มหยาบไขมันการสับจะต้องใช้เวลาสั้นหากใช้เวลานานเกินไปความคงตัวของอิมัลชันจะลดลงเนื่องจากใบมีดที่เสียดสีกับเนื้อในอัตราเร็วสูงทำให้อุณหภูมิของส่วนผสมร้อนขึ้นกว่าเดิมหากร้อนมากเกินไปทำให้อิมัลชันแตกตัวได้ดังนั้นหากใช้เครื่องสับละเอียดเพียงตัวเดียวกับการสับและสร้างอิมัลชันอุณหภูมิสุดท้ายควรอยู่ในช่วง 10-16 °C แต่ถ้าใช้เครื่องทำอิมัลชันด้วยอุณหภูมิสุดท้ายอาจถึง 16 °C แต่ไม่ควรเกิน 21 °C เพื่อให้ได้อิมัลชันที่คงตัว

อิมัลชัน (emulsion) หมายถึงการผสมและอยู่รวมกันของของเหลว 2 ชนิดที่ปกติเข้ากันไม่ได้ทั้งนี้โดยของเหลวชนิดหนึ่งกระจายอยู่โดยทั่วไปในส่วนผสมในรูปของหยดเล็กละเอียด (droplets) ของเหลวชนิดที่กล่าวถึงนี้เรียกว่าเป็น disperse phase ส่วนของเหลวอีกส่วนหนึ่งที่ disperse phase กระจายตัวอยู่เรียกว่าเป็น continuous phase และขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของหยดเล็กละเอียดดังกล่าวประมาณ 0.1-0.5 ไมโครเมตร (μm) เท่านั้น

ในไส้กรอกประเภทอิมัลชันโปรตีนของเนื้อจะถูกสกัดละลาย (solubilize) ออกจากภายในเส้นใยกล้ามเนื้อมาอยู่รวมกันกับตัวถูกละลายอื่นๆ และน้ำซึ่งอาจเรียกกันทั้งหมดนี้ว่าเป็น continuous phase ในขณะที่ไขมันจะถูกปั่นละเอียดให้เป็นหยดเล็กละเอียดกระจายอยู่โดยทั่วไปในส่วนผสมแรกและเราเรียกไขมันว่าเป็น disperse phase นั่นเอง อิมัลชันโดยทั่วไปแล้วมักจะอยู่ได้ไม่นาน ถ้าขาด emulsifying หรือ

stabilizing agent เมื่อหยดไขมันสัมผัสกับระบบน้ำมันจะมีแรงตึงผิวสูงมาก (interfacial tension) จึงต้องการ emulsifying agent มาลดแรงนี้ลง และทำให้สภาพของอิมัลชันอยู่ได้นาน ในอิมัลชันของผลิตภัณฑ์เนื้อนั้น โปรตีนไมโอซินที่ถูกละลายออกมานั้นเอง ที่จะไปทำหน้าที่เป็น emulsifying agent ซึ่งเป็นรูปแบบของอิมัลชันที่มีหยดไขมันเล็กละเอียดถูกห่อหุ้มไว้ด้วย โมเลกุลของ emulsifying agent โดยส่วนที่เป็น hydrophobic ของโมเลกุลจะสัมผัสอยู่กับไขมันภายในและส่วน hydrophilic ก็จะไปสัมผัสกับน้ำที่อยู่รอบนอก หยดไขมันและถ้าในระบบนั้นมี emulsifying agent มากพอเพียง ก็จะทำให้ทั้งระบบนั้นเป็นอิมัลชันที่คงทนได้นาน ถ้าโปรตีนไมโอซิน (หมายความรวมถึงโปรตีนแอคตินและอื่น ๆ ด้วย ยกเว้นโปรตีนเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน) ถูกละลายออกมามากพอแล้วก็จะทำให้อิมัลชันมีความคงทน ส่วนการที่จะสามารถละลายโปรตีนไมโอซินและแอคตินออกมาได้มากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับขั้นตอนการดำเนินการ เนื่องจากโปรตีนเหล่านี้มีคุณสมบัติละลายได้ในน้ำเกลืออ่อน ดังนั้นการผสมเกลือเข้าไปในขั้นตอนแรกโดยเฉพาะอย่างยิ่งขณะบดหยาบแล้วหมักไว้ก่อนชั่วระยะหนึ่ง จึงเป็นวิธีการที่ใช้ได้ดี

ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างและความคงทนของอิมัลชัน

ในระหว่างการสับละเอียดและสร้างอิมัลชันนั้น เนื่องจากการเสียดสีระหว่างใบมีดกับเนื้อผสมอยู่ตลอดเวลาในอัตราเร็วสูง ดังนั้นอุณหภูมิของส่วนผสมจึงร้อนขึ้นกว่าเดิม อย่างไรก็ตามการที่มีอุณหภูมิสูงขึ้นก็เป็นประโยชน์ในแง่ที่จะช่วยให้โปรตีนของเนื้อถูกปลดปล่อยออกมานอกเส้นใยกล้ามเนื้อได้มากขึ้นด้วย ตลอดจนช่วยเร่งปฏิกิริยาการสร้างสีและทำให้ลักษณะของส่วนผสมเป็นเนื้อเดียวกันยิ่งขึ้น แต่ถ้าหากอุณหภูมิสูงเกินไปก็จะทำให้เกิดผลเสียคือ emulsion แตกตัว ซึ่งหมายถึงการที่ไขมันแยกออกจากส่วนผสม ทำให้ไม่เป็นเนื้อเดียวกันอีกต่อไปได้ ในกรณีที่ใช้เครื่องปั่นอิมัลชันซึ่งมีความเร็วสูงนั้น ไม่ควรให้อุณหภูมิเกิน 20 °C แต่ถ้าเป็นเครื่องบดละเอียดซึ่งมีอัตราความเร็วของใบมีดช้ากว่านั้น ก็ไม่ควรให้อุณหภูมิเกิน 15 °C เป็นดีที่สุด การที่อุณหภูมิสูงขึ้นเกินไปและทำให้เกิดการแตกตัวของอิมัลชันนี้อธิบายได้ว่า เนื่องจากโปรตีนไมโอซินและแอคตินทำหน้าที่เป็นตัวทำให้เกิดเป็นอิมัลชันขึ้นมา ดังนั้นเมื่อใดก็ตามที่โปรตีนเหล่านี้เกิดการ denature ไม่ว่าจะเพราะสาเหตุใดก็ตาม และในที่นี้เป็นเพราะอุณหภูมิขึ้นสูงดังกล่าวมาแล้วจึงทำให้โปรตีนหดตัวและหมดความสามารถในการเชื่อมติดระหว่างระบบไขมันกับน้ำได้อีกต่อไป และขณะนั้นประกอบกับอุณหภูมิส่วนผสมสูงอยู่แล้ว จึงทำให้ไขมันหยดเล็กละเอียดจำนวนมากละลาย และไหลเข้ารวมกันเป็นหยดไขมันขนาดใหญ่แยกตัวออกจากระบบเดิมของอิมัลชันได้ ในการป้องกันและการแก้ไขนั้นเราสามารถเติมน้ำแข็งเกล็ดเข้าไปในระหว่างการสับละเอียดหรือปั่นอิมัลชันทั้งนี้เพื่อทำหน้าที่ลดความร้อนโดยตรงนอกจากนั้นอาจทำได้โดยใช้เนื้อและไขมันที่แช่เย็นหรือแช่แข็งมาก่อนการทำผลิตภัณฑ์

ในระหว่างการสร้างอิมัลชันนั้นไขมันจะถูกแบ่งแยกให้มีขนาดเล็กย่อยลงไปเรื่อย ๆ จนกว่าส่วนผสมนั้นจะมีลักษณะเป็นอิมัลชันที่แท้จริงได้ แต่ในระหว่างที่ไขมันถูกลดขนาดนี้ก็จะมีอีกสิ่งหนึ่งที่เปลี่ยนแปลงตามไปด้วยนั่นก็คือจำนวนรวมของพื้นที่ผิว (surface area) ก็จะมีค่าสูงมากขึ้นด้วย ยิ่งขนาดชิ้นส่วนไขมันเล็กละเอียดลงมากเท่าใดก็ยิ่งจะมีพื้นที่ผิวมากขึ้น ขณะที่ยังมีโปรตีนแอคตินและไมโอซินพอเพียงที่จะหุ้มรอบๆ ทุกหยดของไขมัน อิมัลชันจะยังคงรูปและคงทนต่อไป ถ้าหากมีการปั่นละเอียดหรือแม้แต่สับละเอียดเพิ่มเติมก็จะเป็นที่แน่นอนว่าจำนวนโปรตีนแอคตินและไมโอซินที่มีอยู่ไม่เพียงพอที่จะหุ้มหยดไขมันต่อไป และผลลัพธ์ที่ได้จึงกลายเป็นไขมันที่ไม่มีโปรตีนห่อหุ้มหรือมีหุ้มไม่ทั่วถึงนั่นเอง ที่จะเป็นสาเหตุให้อิมัลชันแตกตัวไม่คงทนอีกต่อไป (ผลิตภัณฑ์ลดขนาด, 2557. Online)

ปริมาณของโปรตีนที่จะสามารถละลายออกมานอกเส้นใยมากหรือน้อยนั้นก็ยังมีปัจจัยหลายประการด้วยกันได้แก่

1. ค่าความเป็นกรดต่างหรือ pH ของเนื้อซึ่งถ้ามีค่าสูงเท่าใดก็ยิ่งจะทำให้มีโปรตีนถูกละลายออกมาได้มากขึ้นเท่านั้น

2. สภาพของการเกร็งตัว (rigor) ของกล้ามเนื้อถ้าเราใช้เนื้อที่ยังไม่ได้ผ่านความสมบูรณ์ของการเกร็งตัวหรือเรียกว่า pre - rigor ซึ่งหมายถึงเนื้อสัตว์ที่ถูกฆ่าตายใหม่ๆ (เนื้อยังกระตุกอยู่) มาทำอิมัลชันก็จะทำให้ได้โปรตีนละลายออกมานอกเส้นใยสูงกว่าถ้าเปรียบเทียบจากเนื้อที่ผ่านความสมบูรณ์ของการเกร็งแข็งตัวแล้วถึง 50 % และในแง่ของชนิดโปรตีนแล้วกล่าวได้ว่าถ้าเป็นโปรตีนเส้นใยฝอยที่ละลายในเกลือได้ (myofibrillar salt soluble) แล้วก็จะมีความสามารถในการทำอิมัลชันได้ดีกว่าพวกซาร์โคพลาสมิคโปรตีนในกรณีที่ต้องใช้เนื้อที่ผ่านการเกร็งแข็งตัวสมบูรณ์ (post rigor) นั้นอาจใช้เทคนิคโดยสับละเอียดเนื้อกับเกลือไนไตรต์และน้ำแข็งแล้วเก็บที่ 0 - 4 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมงก่อนปั่นละเอียดหรือสับละเอียดก็จะได้ผลดีเช่นกัน ทั้งนี้เพราะช่วงเวลา 12 ชั่วโมงนั้นจะช่วยให้มีโปรตีนถูกละลายออกมานอกเส้นใยมากพอเพียงเหมือนกันได้

การแตกตัวของอิมัลชันหรือการกลับไปรวมตัวกันของหยดไขมันเล็กๆอีกครั้งจะทำให้ผลิตภัณฑ์สำเร็จมีลักษณะเนื้อสัมผัสและความสม่ำเสมอตลอดจนรูปลักษณ์ที่ไม่น่ารับประทานคือปรากฏเป็นรูโหว่หรือที่เรียกว่า fat pocket ภายในผลิตภัณฑ์สำเร็จหรืออาจปรากฏที่ส่วนปลายของไส้กรอกเรียกว่า fat cap

การสร้างสูตรผสม

ในการทำผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์นั้นส่วนประกอบต่างๆที่ผสมจนเป็นเนื้อเดียวกันหรือเติมเข้าไปในเนื้อเป็นก้อนๆ นั้นได้แก่เนื้อสัตว์เกลือไนไตรต์เครื่องปรุงรสสารช่วยจับน้ำ (binder) filler และน้ำการที่จะทำเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่งนั้นก็ขึ้นอยู่กับผู้ทำว่าจะเลือกใช้ส่วนประกอบใดบ้างโดยมีเป้าหมายสุดท้ายคือให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคทั้งนี้โดยมีสัดส่วนที่แน่นอนมีลักษณะผลิตภัณฑ์ที่น่ากินรสชาติสม่ำเสมอและอร่อยดังนั้นการที่จะสร้างสูตรผสมให้ดีขึ้นนั้นจึงขึ้นอยู่กับข้อมูลที่มีอยู่ว่าถูกต้องและมีจำนวนมากพอเพียงหรือไม่โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแง่ของคุณสมบัติและส่วนประกอบทางเคมีหรือกายภาพของวัสดุที่ใช้เป็นส่วนผสมทุกชนิดตัวอย่างเช่นวัสดุเนื้อสัตว์ซึ่งมีความแปรปรวนในแง่ส่วนประกอบสีกคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพเป็นต้นเครื่องเทศมีความแปรปรวนในแง่ของความบริสุทธิ์ปราศจากการปนปลอมและความฉุนรุนแรงของกลิ่นรสตัวประสานซึ่งอาจมีข้อจำกัดปริมาณการใช้ตามกฎหมายมาตรฐานหรือแม้แต่ความสามารถของตัวประสานเองตลอดจนน้ำและไขมันที่ใช้เป็นวัตถุดิบต่างก็มีความแปรปรวนแปรด้วยกันทั้งนั้นเนื้อสัตว์ที่ใช้เป็นวัตถุดิบหลักเองก็มีราคาไม่สม่ำเสมอ ดังนั้นจึงต้องทำให้ถูกหลักเศรษฐกิจและมีความแม่นยำในการใช้วัสดุทดแทนไม่ว่าจะเป็นในระดับใดที่จะให้ได้ผลผลิตสุดท้ายสม่ำเสมอในคุณภาพ

2. การบรรจุและผูกไส้

ส่วนผสมจะถูกนำมาเข้าเครื่องบรรจุและผูกไส้ เครื่องบรรจุที่ดีควรมีที่กำจัดอากาศออก ทำให้ไส้กรอกแน่นปราศจากอากาศ เครื่องผูกไส้มีทั้งชนิดใช้เชือกผูกสำหรับไส้กรอกขนาดเล็ก และขลิบโลหะสำหรับปิดหรือมัดปลายไส้กรอกขนาดใหญ่ ไส้ที่ใช้บรรจุอาจเป็นไส้ธรรมชาติจากสัตว์หรือไส้สังเคราะห์ก็ได้ เนื้อแปรรูปส่วนใหญ่ที่แปลงรูปร่างเป็นแบบใหม่เฉพาะตัว ผลิตภัณฑ์จะมีความสม่ำเสมอในรูปร่างลักษณะจนผู้บริโภคสามารถจำและรู้จักโดยอัตโนมัติ ไส้กรอกชนิดต่าง ๆ เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทลดขนาดจนกระทั่งเหลว และเหนียวขึ้นเป็นเนื้อเดียวกัน ดังนั้นจึงต้องการสิ่งบรรจุที่จะสามารถรับเอาเนื้อผสมเข้าไปอัดอยู่ภายในและเป็นรูปร่างตามแบบที่ต้องการ และสามารถนำไปดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปโดยไม่เสียหายรูปร่างและแบบของผลิตภัณฑ์จะแตกต่างกันออกไปมากมายชนิดทั้งนี้โดยได้สืบทอดกันมานานจนกลายเป็นธรรมเนียมปฏิบัติและแบบสำหรับอัดให้เป็นรูปร่างต่าง ๆ

ไส้บรรจุแบ่งออกเป็น 2 ประเภท

1. ไส้บรรจุธรรมชาติหมายถึงไส้บรรจุที่ทำมาจากลำไส้หรือส่วนของสัตว์ที่มีรูปร่างแน่นอนมีความคงทนตลอดทุกขั้นตอนของการทำผลิตภัณฑ์นั้นๆ ได้ส่วนใหญ่ได้จากลำไส้และกระเพาะของสุกรโคกระบือแพะและไส้บรรจุจากสุกรทำมาจากกระเพาะ (stomach), ลำไส้เล็ก (small intestine), ลำไส้ใหญ่ (large intestine) และปลายลำไส้ใหญ่(colon) จากโคกระบือได้แก่หลอดอาหาร (weasandหรือesophagus) ลำไส้เล็กลำไส้ใหญ่ลำไส้ขั้วถ่าย (bung) และกระเพาะปัสสาวะ (bladder) ส่วนจากแพะและแกะนั้นจะใช้เฉพาะลำไส้เล็กไส้บรรจุธรรมชาตินี้มีคุณสมบัติที่ปล่อยให้ความชื้นและควันทิ้งเข้าไปซึมเข้าภายในเนื้อไส้กรอกได้ง่ายมากและนอกจากนั้นมันยังสามารถหดตัวได้จึงทำให้ไส้รัดแน่นเข้ากับเนื้อได้อย่างสนิทมากจนอาจสูญเสียความชื้นได้ง่ายกว่าไส้สังเคราะห์ส่วนใหญ่จึงใช้ในการทำกุนเชียงและdry sausage ซึ่งสามารถรับประทานได้เข้าไปด้วยได้

2. ไส้สังเคราะห์หมายถึงไส้ที่ผลิตขึ้นมาจำหน่ายโดยแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด

ก. ไส้บรรจุเซลลูโลสทำมาจากใยฝ้ายสั้นชนิดที่อยู่ติดกับเมล็ดฝ้าย (cotton linters) ซึ่งเตรียมไม่ได้โดยการละลายใยเหล่านี้ก่อนแล้วจึงดำเนินการสร้างให้เป็นไส้บรรจุขึ้นมาใหม่นอกจากใยฝ้ายชนิดนี้แล้วได้มีการทำมาจากแหล่งอื่นด้วยเหมือนกันแต่ไม่แพร่หลายไส้บรรจุเซลลูโลสมีตั้งแต่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง1.5ซม. สำหรับไส้กรอกขนาดเล็กๆไปจนถึง15ซม. สำหรับโบลญาไส้ชนิดนี้ผู้ผลิตจะทำให้มีความสามารถยืดและหดได้คล้ายๆกับไส้ธรรมชาติผิวหนังด้านในของไส้ส่วนมากจะฉาบไว้ด้วยสีซึ่งละลายน้ำได้ (dye) และสีนี้จะไปติดอยู่กับเนื้อของไส้กรอกทำให้สีสวยขึ้นกว่าเดิมได้ข้อได้เปรียบของไส้ชนิดนี้ก็คือใช้ได้ง่ายโดยไม่จำเป็นต้องมีข้อควรระวังมากนักหลายขนาดที่จะเลือกใช้ได้อย่างกว้างขวางขนาดของไส้มีความเป็นเอกรูป (uniform) มีปริมาณจุลินทรีย์ต่ำมากและมีความแข็งแรงทนทานมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งในปัจจุบันซึ่งมีการใช้เครื่องมือผูกไส้กรอกอัตโนมัติกันอย่างแพร่หลายจึงเหมาะกับไส้ชนิดนี้ที่มีความแข็งแรงมากอยู่แล้วส่วนในกรณีของไส้กรอกขนาดใหญ่เช่นโบลญ่านั้นก็จะมีการใช้กระดาษเป็นวัสดุพื้นแล้วนำเซลลูโลสมาฉาบไว้ในระดับที่พอเหมาะจึงทำให้ได้ไส้บรรจุเส้นใยเซลลูโลส (fibrous cellulose casings) ที่แข็งแรงมากเหมาะสำหรับไส้กรอกโบลญาหรือแฮมแบบอัดไส้ (cook-in-ham)

ข. ไส้บรรจุคอลลาเจนชนิดบริโกลได้และไส้บรรจุคอลลาเจนที่บริโกลไม่ได้ทำมาจากการสร้างขึ้นใหม่ (regenerated) ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันคอลลาเจนจากหนังสัตว์ไส้บรรจุชนิดบริโกลไม่ได้นั้นมีข้อได้เปรียบที่รวมมาจากข้อดีของไส้บรรจุเซลลูโลสและไส้ธรรมชาติคือมีความแข็งแรงสม่ำเสมอและหดตัวได้อย่างเหมาะสมและไส้ชนิดนี้ก่อนบริโกลควรลอกออกทิ้งเสียก่อนเหมือนกับไส้เซลลูโลสส่วนไส้ชนิดบริโกลได้นั้นส่วนมากจะใช้สำหรับไส้กรอกหมูสดและแฟรงค์เฟอร์เตอร์โดยมีขนาดที่แตกต่างกันหลายแบบและมีความแข็งแรงกว่าไส้ธรรมชาติ

ค. ไส้พลาสติกใช้สำหรับไส้กรอกบางชนิดเช่นไส้กรอกหมูสดแบบขนาดโต (fresh pork sausage) หรือไส้กรอกดับไส้กรอกเหล่านี้ไม่ต้องการนำไปรมควันและทำให้สุกพลาสติกที่ใช้ทำเป็นชนิดที่ควันทิ้งไม่ สามารถผ่านเข้าออกได้อยู่แล้วและนอกจากนั้นก็อาจใช้กับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการนำไปต้มสุกก่อนนำออกจำหน่ายเช่นไส้กรอกหัวหมู (head cheese)

3. การรมควันและการทำให้สุก

การรมควันวิธีการรมควันนี้แท้จริงแล้วได้เริ่มต้นมาจากการทำให้เนื้อแห้งโดยแขวนไว้บนเตาไฟหรือกองไฟและต่อมาจึงหันมาเป็นการรมควันเพื่อให้มีรสชาติเฉพาะตัวและให้มีรูปร่างสีสนที่นำกินมากกว่าที่จะ

เป็นไปเพื่อการถนอมรักษาควันไฟจากการเผาซึ่งเสื่อยไม้เนื้อแข็งจะไปผลิตกัณฑ์ทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติเฉพาะตัวของกรรมควันและมีสีสนับรับประทานควันไฟอาจช่วยในแง่การเก็บรักษาได้บ้างเนื่องจากสารเคมีในควันไฟบางชนิดมีคุณสมบัติในการทำลายจุลินทรีย์และบางชนิดช่วยชะลอการเหม็นหืนได้แต่ปริมาณของสารเหล่านั้นที่แทรกซึมอยู่ในเนื้อสัตว์ที่ถูกรมควันก็มีอยู่ในปริมาณน้อยมากควันไฟประกอบด้วยสารประกอบเคมีประมาณ 200 กว่าชนิดโดยส่วนใหญ่เป็นพวกอัลดีไฮด์ (aldehydes) คีโตนส์ (ketones) ฟีนอลส์ (phenols) กรดอินทรีย์ (organic acids), ครีโซล (cresol) และ acyclic hydrocarbon ถึงแม้ว่าสารประกอบเหล่านี้จะมีคุณสมบัติทำลายแบคทีเรียได้แต่เชื่อกันว่าฟอร์มาดีไฮด์ (formaldehyde) เป็นสาเหตุสำคัญในการนี้มากกว่าและนอกจากนั้นฟีนอลส์ยังมีคุณสมบัติในการชะลอการเกิดกลิ่นหืนแบบออกซิเดทีฟได้ด้วยจึงถือว่าเป็น antioxidant ได้ถ้ามองในแง่รสชาติและกลิ่นของกรรมควันสารประกอบทั้งหมดที่กล่าวมาต่างมีส่วนในการสร้างรสชาติและกลิ่นของเนื้อรมควันด้วยทั้งนั้น

กรรมควันมีอยู่หลายวิธีด้วยกันวิธีที่ทำกันมานานและแพร่หลายมากก็คือกรรมควันในตู้รมควัน (smoke house) ซึ่งทำได้โดยนำเอาผลิตภัณฑ์ไปแขวนไว้บนราวในตู้รมควันแล้วปิดให้สนิทควันไฟจากการเผาซึ่งเสื่อยไม้เนื้อแข็งบนเตาที่อยู่ภายนอกตู้ก็จะถูกดูดเข้าไปด้วยพัดลมหรืออาจจะตั้งเตาไว้ภายในตู้เลยโดยตรงก็ได้แต่ต้องมีแผ่นรองรับหยดน้ำมันหรือไขมันที่อาจจะละลายลงไปบนเตาไว้ด้วยเพื่อป้องกันไฟดับห้องรมควันในปัจจุบันจะมีการควบคุมความหนาแน่นของควันความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิได้ค่อนข้างแน่นอนความหนาแน่นของควันและอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในห้องรมควันนานมากน้อยเพียงใด โดยเฉพาะการผลิตไส้กรอกแฟรงค์เฟอร์เตอร์นั้นกรรมควันจะต้องใช้ความหนาแน่นสูงและรมเป็นเวลาสั้นคือระหว่าง 30-60 นาทีความชื้นสัมพัทธ์ซึ่งต้องควบคุมด้วยนั้นจะเป็นปัจจัยที่ช่วยลดเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในขณะรมควันซึ่งตามปกติควรจะเสียน้ำหนักได้ระหว่าง 5-10 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นหมายความว่ามีความชื้นสัมพัทธ์สูงและมีความหนาแน่นของควันไฟสูงพอควรแต่ควรระวังมิให้ความชื้นสูงมากเกินไปเพราะอาจทำให้เกิดการแตกตัวของอิมัลชันขึ้นได้และผลลัพธ์ก็คือผิวเป็นมันเยิ้มภายในเป็นรูกลวงและอาจมีลักษณะเป็นวุ้นอยู่ภายในไส้กรอกด้วยก็ได้

นอกจากนี้อาจมีการใช้ควันเหลว (liquid smoke) เพื่อทดแทนก็ได้เช่นกันควันเหล่านี้ทำมาจากการกลั่นตัวเป็นหยดเหลวของควันไฟธรรมชาติวิธีที่ใช้ก็คือนำไปผสมน้ำแล้วฉีดพ่นลงไปบนผิวของผลิตภัณฑ์เลยโดยตรงห้องรมควันปัจจุบันนอกจากจะทำหน้าที่รมควันแล้วยังทำหน้าที่ให้ความร้อนจนผลิตภัณฑ์สุกได้ดีทีเดียวโดยทั่วไปแล้วไส้กรอกที่ถูกรมควันจนสุกนั้นจะต้องให้ได้รับความร้อนในตู้อบรมควันจนอุณหภูมิภายในไส้กรอกสูงถึงประมาณ 68-72 °C การทำให้สุกไส้กรอกที่ทำให้สุกไม่ว่าจะด้วยความร้อนชื้นหรือความร้อนแห้งก็ตามมีวัตถุประสงค์ดังนี้ 1) ทำให้ไส้กรอกมีเนื้อแน่นโดยทำให้โปรตีนตกตะกอนและทำให้แห้งบางส่วนทำให้สีของการหมักคงทนโดยการทำให้ไมโอโกลบินเสียสภาพธรรมชาติและสุดท้ายสร้างสารไนโตรโซฮีโมโครม

พลาสเจอร์ไรซ์ไส้กรอกเพื่อยืดอายุการเก็บไส้กรอกส่วนใหญ่จะได้รับความร้อนมากพอที่จะฆ่าจุลินทรีย์ที่ปรากฏอยู่ก่อนวันสปอร์ของมัน ไส้กรอกที่ไม่ได้ผ่านการรมควันหรือรมควันไม่ถึงระดับการทำให้สุกเช่นรมควันจนอุณหภูมิภายในประมาณ 50-60 °C นาน 30-50 นาทีจะต้องนำมาต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิประมาณ 70 °C นาน 20-25 นาทีเพื่อทำลายจุลินทรีย์บางส่วนที่เหลืออยู่ที่จะเป็นสาเหตุให้ไส้กรอกเน่าเสียการทำให้เย็นนำไส้กรอกมาแช่ในน้ำเย็นที่สะอาดเพื่อช่วยลดความร้อนที่สะสมในชั้นไส้กรอก ทำให้เนื้อภายในหดตัวอย่างรวดเร็วและลอกเปลือกง่าย

การเก็บรักษาควรบรรจุไส้กรอกในภาชนะที่เหมาะสมในห่อที่สะอาดและเย็นเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และเก็บไว้ในห้องเย็นตลอดเวลาการจำหน่าย

ส่วนประกอบของไส้กรอก

1. เนื้อเยื่อจากสัตว์ เนื้อแดงเป็นเนื้อที่ต้องการเพื่อให้โปรตีนทำหน้าที่ประสานน้ำและน้ำมันให้เข้ากันดีในส่วนผสมที่เป็นมวลเหนียวโดยทั่วไปพบว่าโปรตีนในเนื้อที่สามารถละลายได้ดีในน้ำเกลือมีประสิทธิภาพเป็นตัวอิมัลซิไฟเออร์ได้ดียิ่งขึ้นตามเนื้อแดงเพียงอย่างเดียวก็ไม่ได้ทำให้ไส้กรอกอร่อยได้ดังนั้นไขมันก็เป็นส่วนที่ต้องการเช่นกันนอกจากนั้นส่วนประกอบของสัตว์ที่ไม่ได้มาจากกล้ามเนื้อโครงกระดูกเช่นลิ้นกระเพาะตับก็อาจนำมาเป็นส่วนประกอบของไส้กรอกได้เนื้อเยื่อจากสัตว์ที่มาจากตำแหน่งที่ต่างกันในตัวสัตว์จะมีความแตกต่างกันในอัตราส่วนของความชื้นและโปรตีนไขมันและเนื้อแดงและจำนวนรงควัตถุดังนั้นจึงแตกต่างกันในส่วนที่เรียกว่าความสามารถในการรวมตัว (binding properties) กับน้ำและอิมัลซิไฟเออร์เนื้อที่มีไขมันมากและส่วนอื่นๆที่ไม่ใช่เนื้อที่มาจากกล้ามเนื้อโครงกระดูกเช่นเครื่องในจะมีความสามารถในการรวมตัวกับน้ำต่ำ เรียกว่า filler meat แต่กลุ่มนี้จะมีคุณค่าทางโภชนาการสูงสำหรับเนื้อแดงมีความสามารถในการรวมตัวกับน้ำสูงเรียกว่าเป็น binder meat

ความชื้นความชื้นเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของไส้กรอกเพราะมีปริมาณถึง 45-55 % ของน้ำหนักทั้งหมดปริมาณความชื้นขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างเนื้อแดงและไขมันของไส้กรอกรวมทั้งปริมาณน้ำที่เติมลงไปผู้ผลิตมักจะเติม 20-30 % ของน้ำหรือน้ำแข็งลงในส่วนผสมโปรตีนจากส่วนผสมจะละลายในน้ำกระจายอยู่ทั่วไปและเป็นตัวอิมัลซิไฟเออร์น้ำจะทำหน้าที่ในการละลายโปรตีนที่ละลายในน้ำและสร้างน้ำเกลือเพื่อละลายโปรตีนที่ละลายในน้ำเกลือถ้าหากปริมาณน้ำไม่มากพอความสามารถในการอิมัลซิไฟเออร์ในส่วนผสมของเนื้ออาจจะถูกจำกัด

น้ำมีส่วนช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความอร่อยเพราะทำให้ผลิตภัณฑ์มีความนุ่มและชุ่มน้ำน้ำและไขมันเป็นองค์ประกอบสำคัญที่ก่อให้เกิดความนุ่มและความชุ่มน้ำเพราะเมื่อปริมาณน้ำและไขมันในส่วนผสมมีมากขึ้นก็ทำให้ผู้บริโภคเกิดความรู้สึกว่าเนื้อนั้นมีความนุ่มและความชุ่มน้ำมากขึ้นไปด้วย

ตลอดระยะเวลาที่มีการทำส่วนผสมให้เป็นอิมัลชันโดยใช้โบริดเดอร์ในเครื่องสับละเอียดหรือเครื่องตีอิมัลชันจะมีความร้อนเกิดขึ้นหากความร้อนมากเกินไปจะทำให้โปรตีนไม่มีความคงตัวดังนั้นก็มีการเติมน้ำแข็งขณะที่สับหรือตีอิมัลชันนอกจากนั้นความชื้นที่เกิดขึ้นยังช่วยให้โปรตีนไม่ขึ้นจนเกินไปจนทำให้ไส้กรอกแตกระหว่างการผลิต

โปรตีนโปรตีนในการผลิตไส้กรอกหมายถึงเนื้อแดงนั่นเองเนื้อแดงทำให้ไส้กรอกมีความคงตัวและมีลักษณะต่างๆของไส้กรอกสุกในขณะที่มีการเตรียมอิมัลชันโปรตีนจากเนื้อสัตว์ทำหน้าที่ 2 อย่างคืออิมัลซิไฟเออร์และจับน้ำไว้หากโปรตีนไม่ทำหน้าที่อย่างใดอย่างหนึ่งใน 2 อย่างนี้ไส้กรอกจะแตกระหว่างการผลิต

ในการทำไส้กรอกองค์ประกอบของกล้ามเนื้อที่มีโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อที่ละลายเกลือได้ดีมีความสำคัญมากกว่าส่วนคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำแทรกอยู่ในกล้ามเนื้อโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อมีประมาณร้อยละ 60 ของโปรตีนในกล้ามเนื้อทั้งหมดซึ่งประกอบด้วยไมโอซินและแอกตินเป็นส่วนใหญ่ในระหว่างการแข็งตัวของกล้ามเนื้อหลังจากสัตว์ตาย (rigor mortis) ไมโอซินและแอกตินจะยึดกันแน่นอย่างถาวรกลายเป็นแอกโตไมโอซินในช่วงระยะนี้มักมีการนำเนื้อสัตว์มาทำไส้กรอกความสามารถในการอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนในเนื้อสัตว์ส่วนหนึ่งขึ้นอยู่กับรูปร่างและประจุของโมเลกุลโปรตีน

โปรตีนที่พบอยู่ทั่วไปในเนื้อเยื่อจากสัตว์ได้แก่คอลลาเจนซึ่งเป็นโปรตีนส่วนใหญ่ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหากมีคอลลาเจนในส่วนผสมของไส้กรอกมากเกินไปเป็นที่ยอมรับเพราะจะมีผลต่อลักษณะทางกายภาพของไส้กรอกเนื่องจากคอลลาเจนไม่ละลายน้ำและเมื่อให้ความร้อนจนอุณหภูมิถึง 60-65 °C หากมีความชื้นอยู่ด้วยคอลลาเจนจะหดตัวประมาณหนึ่งในสามของความยาวเดิมและเมื่อให้ความร้อนต่อไปที่อุณหภูมิสูงกว่า 65

0 C คอลลาเจนจะแปลงสภาพกลายเป็นเจลาตินดังนั้นผลิตภัณฑ์ไส้กรอกจึงไม่ควรมียูเรียเกิน 25 % ของปริมาณโปรตีนในไส้กรอกทั้งหมด

ไขมันไขมันเป็นตัวทำให้ไส้กรอกมีรสอร่อยแต่ในขณะเดียวกันก็เป็นตัวที่ทำให้เกิดปัญหาในการผลิตเช่นกันผู้ผลิตจะต้องควบคุมให้ไขมันที่ไม่ถูกอิมัลซิไฟมีน้อยที่สุดไขมันจากเนื้อหมูมีความนุ่มมากกว่าไขมันจากวัวและสามารถละลายได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าและสามารถบดให้ละเอียดได้ง่ายกว่าไขมันจากวัวอย่างไรก็ตามอิมัลชันจากไขมันวัวมีแนวโน้มที่จะคงตัวกว่าเพราะไขมันจากวัวสามารถบดได้ที่อุณหภูมิสูงกว่าถ้าสามารถรักษาอุณหภูมิของไขมันจากเนื้อหมูไว้ที่อุณหภูมิต่ำตลอดระยะเวลาการเตรียมอิมัลชันก็จะทำให้อิมัลชันมีความคงตัวไม่ต่างจากอิมัลชันที่ทำจากไขมันวัวไส้กรอกหลายชนิดจะถูกควบคุมให้มีไขมันไม่เกิน 30 %

2. เกลือ เกลือเป็นองค์ประกอบที่มักเติมลงไปในส่วนผสมของไส้กรอกราว 1-5 % โดยมีวัตถุประสงค์ต่างๆคือให้รสชาติกลมอมอาหารและละลายโปรตีน

ปริมาณเกลือที่เติมลงไปแล้วแต่ชนิดของไส้กรอกตัวอย่างเช่นไส้กรอกเปรี้ยว (fermented sausage) มักเติมเกลือ 3-5 % ขณะที่ไส้กรอกสดเติมประมาณ 1.5-2.0 % ไส้กรอกสุกส่วนใหญ่ที่ผลิตกันมักเติมเกลือ 2-3 % เช่นแฟรงค์เฟอร์เตอร์และโบโลญญาโดยเฉลี่ยแล้วเติมประมาณ 2.3 % เนื้อสัมผัสของไส้กรอกมีผลต่อความรู้สึกเค็มหรือไม่เค็มหากเติมเกลือปริมาณเดียวกันลงในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไส้กรอกที่บดหยาบจะให้ความรู้สึกเค็มน้อยกว่าไส้กรอกที่บดละเอียดเกลือใช้เป็นวัตถุดิบอาหารโดยยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเกลือจะขึ้นกับความเข้มข้นของเกลือในไส้กรอก ปริมาณ 4-5 % ของเกลือก็จะช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้โดยเกลือจะทำหน้าที่นี้ร่วมกับไนไตรท์

หน้าที่สำคัญของเกลืออีกอย่างคือการละลายโปรตีนจากกล้ามเนื้อเพื่อให้โปรตีนสามารถละลายออกมาอิมัลซิไฟไขมันและยึดเกาะกับน้ำและสร้างอิมัลชันที่คงตัวในการช่วยยึดเกาะกับน้ำก็จะช่วยให้ผลิตภัณฑ์มี % ผลผลิตสูงองค์ประกอบในเกลือที่ช่วยในการยึดเกาะกับน้ำคือคลอไรด์ไอออน

อย่างไรก็ตามเกลือก็อาจทำให้เกิดสิ่งที่ไม่พึงประสงค์ในไส้กรอกได้เช่นกันนั่นก็คือเกลือจะไปเร่งปฏิกิริยาการเหม็นหืนในไขมันทำให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บสั้นทั้งในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดไส้กรอกแช่แข็งไส้กรอกผ่านการหมักหรือไม่ผ่านการหมักก็ตาม

3. สารให้ความหวาน ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการทำไส้กรอกมี 4 ชนิดคือ

- 1) น้ำตาลทราย
- 2) เดกโตรส
- 3) แลคโตส

4) น้ำเชื่อมหรือน้ำตาลจากข้าวโพด (corn syrup or corn syrup solid) ที่นิยมที่สุดคือน้ำตาลทรายสำหรับเดกโตรสมีความหวานประมาณ 1/2 ถึง 2/3 เท่าของน้ำตาลทรายและใช้ประมาณ 10 % ในไส้กรอกเดกโตรสเป็นน้ำตาลรีดิวซึ่งมักใช้ในไส้กรอกกึ่งแห้งโดยเฉพาะที่เตรียมจากหัวเชื้อบริสุทธิ์ซึ่งจะช่วยให้เกิดการหมักที่ดีขึ้น

นมผงพร่องมันเนยจะมีองค์ประกอบของแลคโตสในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกนิยมใช้เป็นตัว binder ในอุตสาหกรรมดังนั้นจึงพบน้ำตาลแลคโตสในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้แต่ความหวานของมันก็ต่ำมาก น้ำเชื่อมจากข้าวโพดหรือน้ำตาลจากน้ำเชื่อมข้าวโพดก็เป็นที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการทำไส้กรอกในต่างประเทศน้ำเชื่อมประกอบด้วยส่วนผสมของเดกซ์โทรสมอลโทสและแซคคารไรด์อื่น ๆ มีความหวานประมาณ 40% ของน้ำตาลทรายมักใช้เป็นสารที่ช่วยเพิ่มน้ำหนัก

4. เกลือไนไตรท์และ/หรือเกลือไนเตรท เกลือไนไตรท์และเกลือไนเตรททำให้ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักมีสีแดงและสีชมพูคงตัวได้ระยะหนึ่งหลังจากทำให้สุกทำให้ผลิตภัณฑ์นำมารับประทานทำให้ผลิตภัณฑ์

เฉพาะตัวของอาหารหมักเกลือ(cured) เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษพวกClostridium botulinumและยังยับยั้งการเกิดการเหม็นหืนขึ้นโดยการเติมออกซิเจนของไขมัน

5. เครื่องปรุงรส คือ ส่วนประกอบที่มีหน้าที่ให้รสชาติแก่ผลิตภัณฑ์อาหารซึ่งในผลิตภัณฑ์ประเภทไส้กรอกได้แก่พวกเครื่องเทศต่างๆผงชูรสโปรตีนจากพืชและสารชูรส

ผงชูรสและสารชูรสช่วยทำให้รู้สึกถึงรสชาติดีขึ้นในขณะที่โปรตีนจากพืชจะส่งเสริมกลิ่นรสของเนื้อ เครื่องเทศจะให้กลิ่นรสเฉพาะแก่ไส้กรอกและเครื่องเทศบางชนิดยังช่วยป้องกันการเหม็นหืนขึ้นตัวอย่างเช่น พริกไทยขิงกานพลู เป็นต้น

เครื่องเทศที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอาจใช้ในรูปของเครื่องเทศทั้งชิ้นเครื่องเทศบดเป็นผงน้ำมันหอมระเหยและoleoresin เครื่องเทศที่บดอาจบดให้ละเอียดแตกต่างกันไปเครื่องเทศผงจะมีความสม่ำเสมอในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกแต่จะสูญเสียกลิ่นรสง่ายกว่าเครื่องเทศทั้งชิ้น (whole spices) เครื่องเทศที่ยังบดละเอียดเท่าใดก็จะกระจายในส่วนผสมที่จะผลิตไส้กรอกอย่างสม่ำเสมอได้อย่างรวดเร็วรสชาติและกลิ่นที่ได้จากเครื่องเทศส่วนใหญ่มาจากสารที่สกัดจากเครื่องเทศคือน้ำมันหอมระเหย (Essential Oil) และOleoresin ดังนั้นผู้ผลิตอาจใช้ทั้งสองส่วนผสมในการทำไส้กรอกซึ่งจะมีข้อดีในแง่ที่ว่าสารที่ได้จากการสกัดจะช่วยกำจัดจุดหรือรอยตำหนิในผลิตภัณฑ์ปราศจากแบคทีเรียและยังช่วยลดค่าขนส่งและพื้นที่ในการเก็บรักษาน้ำมันหอมระเหยเป็นน้ำมันที่ระเหยจากพืชโดยการกลั่นในขณะที่oleoresin เป็นยางเหนียวที่ได้จากการสกัดจากเครื่องเทศบดโดยใช้ตัวทำละลายน้ำมันหอมระเหยและoleoresinอาจใช้ได้ ในรูปของเหลวหรือรูปผงโดยทำอยู่ในรูปที่สามารถละลายได้ในน้ำอย่างรวดเร็วเพื่อง่ายต่อการทำอิมัลชันของไส้กรอกโดยถ้าเป็นของเหลวจะผสมกับตัวที่ช่วยในการละลายเช่นpolysorbate80 ในรูปผงจะผสมกับเกลือหรือเดกซ์โตรส

6. สารที่ช่วยการรวมตัวและเพิ่มน้ำหนัก

นอกจากส่วนประกอบต่างๆที่กล่าวมาแล้วผู้ผลิตไส้กรอกอาจมีการเติมสารอื่นๆลงไปเพื่อเหตุผลต่างๆคือ

- 1) ช่วยให้อิมัลชันมีความคงตัว
- 2) เพิ่มผลผลิต
- 3) เพื่อให้การฉีกไส้กรอกง่ายขึ้น
- 4) เพื่อปรับปรุงรสชาติ
- 5) เพื่อลดต้นทุนการผลิต

สารต่างๆเหล่านั้นส่วนใหญ่ได้แก่สารที่ช่วยการรวมตัว (binder) และนอกจากนั้นอาจมีการเติมสารที่ช่วยในการเพิ่มน้ำหนัก (fillers)

สารที่ช่วยการรวมตัว (Binder) จะต้องมีคุณสมบัติทั้งในด้านยึดเหนี่ยวโมเลกุลของน้ำและอิมัลซิไฟไขมันได้ซึ่งได้แก่สารที่มีส่วนประกอบของโปรตีนอยู่ binder ที่ได้จากสัตว์มาจากผลิตภัณฑ์นมได้แก่เนยผงขาดมันเนยหางนมผงและโซเดียมเคเวเนตสำหรับจากพืชแล้ว binder ที่ใช้ในอุตสาหกรรมแปรรูปเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่มาจากถั่วเหลืองเช่นแป้งถั่วเหลืองโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลือง เป็นต้น

สารที่ช่วยเพิ่มน้ำหนัก (Filler) มีคุณสมบัติในการดูดน้ำได้หลายเท่าของน้ำหนักตัวเองเช่นแป้งสาลีและธัญชาติอื่นๆ (ยกเว้นถั่วเหลือง) มีองค์ประกอบของโปรตีนต่ำและมีคาร์โบไฮเดรตสูงดังนั้นจึงไม่มีคุณสมบัติเป็นตัวอิมัลซิไฟเออร์ด้วย

อย่างไรก็ตามหากไม่ระมัดระวังขณะทำให้ไส้กรอกสุกความสามารถในการอุ้มน้ำของแป้งอาจเกิดผลในทางตรงกันข้ามอะไมเลสที่ปะปนในเนื้อสัตว์สามารถทำให้แป้งสูญเสียความสามารถในการจับน้ำไว้ได้ซึ่งเกิดขึ้นเมื่อแป้งถูกให้ความร้อนจนเกินจุดที่จะทำให้น้ำกลายเป็นไอ (ผลิตภัณฑ์สดขนาด, 2557. Online)

การเสื่อมเสียของเนื้อ

เนื้อของสัตว์ที่มีสุขภาพดีนั้นไม่มีจุลินทรีย์ภายในก้อนเนื้อ โดยทั่วไปแล้วจุลินทรีย์จะอยู่ที่ผิวหนังและทางเดินอาหารของสัตว์ เมื่อสัตว์ถูกฆ่าแล้ว มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากหนังและทางเดินอาหาร บนก้อนเนื้อ ดังนั้นโดยทั่วไปแล้วก้อนเนื้อจึงมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ภายนอก การเน่าเสียของเนื้อจะเป็นการเน่าเสียจากภายนอกเนื่องจากจุลินทรีย์เป็นส่วนใหญ่ จุลินทรีย์ที่มีอยู่กับเนื้อจะเป็นพวก *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Proteus*, *Clostridium* และ *Escherichia* เนื้อสัตว์ปีกมีลักษณะทางจุลินทรีย์ใกล้เคียงกับเนื้อวัวและเนื้อหมู

การเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัตว์ระหว่างการแปรรูป

เนื่องจากเนื้อสัตว์มีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางเคมีและทางจุลินทรีย์ แต่จะเกิดจากจุลินทรีย์เป็นส่วนใหญ่ จุลินทรีย์ติดมากับเนื้อได้เนื่องจากการปนเปื้อนจากแต่ละขั้นตอนของการฆ่าและกระบวนการต่างๆ เพื่อป้องกันการเสื่อมเสียเราจำเป็นต้องทำการแปรรูปซึ่งทำได้ทั้ง การใช้ความร้อน การแช่แข็ง การทำแห้ง การรมควัน การหมักและการอบรังสี ซึ่งผลของกระบวนการแปรรูปต่างๆมีผลกับเนื้อดังนี้

การใช้ความร้อน เนื่องจากเนื้อสัตว์จัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นกรดต่ำ ดังนั้นจะต้องผ่านกระบวนการให้ความร้อนแบบ commercial sterilization ซึ่งใช้ความร้อนสูง ความร้อนดังกล่าวมีผลต่อรสชาติและเนื้อสัมผัสของเนื้อ แต่สำหรับผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่ผ่านการหมักหรือมีการเติมสารเคมีบางชนิด เช่น ไส้กรอกหรือแฮม นั้นไม่จำเป็นต้องผ่านการให้ความร้อนที่ใช้อุณหภูมิสูง แต่จะต้องเก็บรักษาในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำเพื่อป้องกันการเน่าเสีย

การแช่แข็ง จะทำให้เนื้อสัตว์สูญเสียลักษณะปรากฏที่ดี เช่น มีผิวหนังแห้ง เหี่ยวยุบ และมีสีคล้ำ หรือเกิดกลิ่นหืนในเนื้อแช่แข็งขึ้นได้

การลดปริมาณน้ำในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยการทำให้แห้ง จะทำให้เนื้อมีการเปลี่ยนแปลงจากสภาพเดิมมาก แม้มาทำการ rehydrate แล้ว ผลิตภัณฑ์ที่ได้ก็มีลักษณะแตกต่างออกไป ดังนั้นจึงไม่นิยมนำผลิตภัณฑ์ชนิดนี้มาทำการ rehydrate แต่การทำแห้งสามารถเก็บผลิตภัณฑ์แห้งได้นาน

การรมควัน เป็นการแปรรูปที่นิยมใช้กันมากกับผลิตภัณฑ์เนื้อ การรมควันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นที่ผิวของเนื้อสัตว์เนื่องจากการสูญเสียน้ำออกจากเนื้อและไขมันอาจเกิดกลิ่นหืน สารประกอบเคมีในควันซึ่งเป็นสารระเหยจากไม้เนื้อแข็ง และสารพวกฟีนอล กรดอินทรีย์ แอลกอฮอล์ และสารประกอบคาร์บอนิล ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

การหมักส่วนใหญ่จะเป็นการหมักด้วยเกลือ ในระหว่างการหมักเกลือจะซึมเข้าไปในเนื้อ โดยทั่วไปจะเติมเกลือในเตรทในการหมักด้วย เพื่อป้องกันการเจริญของพวก *Clostridium* เกลือจะทำหน้าที่ยับยั้งและลดกิจกรรมของแบคทีเรีย

การอบรังสี โดยใช้รังสีจากธาตุโคบอลต์ 60 กับอาหารเนื้ออาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอาหารได้แก่ กลิ่นและรสชาติ ความนุ่ม pH และสีของผลิตภัณฑ์ โดยที่การปริมาณการใช้รังสีจะขึ้นอยู่กับผลิตภัณฑ์ ในประเทศไทยผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการอบรังสี และมีขายในตลาด ได้แก่ แหนม เป็นต้น

จุลินทรีย์สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ตามความต้องการปริมาณออกซิเจนได้ดังนี้

Aerobic Bacteria คือแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนสำหรับการเจริญเติบโต เช่น *Escherichia* และ *Pseudomonas*

Anaerobic Bacteria คือแบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนเช่น *Clostridium*

Facultative Bacteriaคือแบคทีเรียที่เจริญได้ทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนเช่น *Staphylococcus*

แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่เป็นสาเหตุของอาหารเน่าเสียและอาหารเป็นพิษมักเป็นแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต แต่อย่างไรก็ตาม *Clostridium botulinum* เป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศซึ่งมีพิษร้ายแรงมาก มักพบในอาหารกระป๋องที่ปฏิบัติไม่ถูกสุขลักษณะและฆ่าเชื้อไม่เพียงพอ

สาเหตุของการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์และการป้องกัน

1. จากตัวของสัตว์เอง ชนิดของจุลินทรีย์ที่สำคัญ ได้แก่ แบคทีเรียพวกโคลิฟอร์มที่มีอยู่ในเศษอุจจาระและอวัยวะในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งสามารถปนเปื้อนเข้าไปในซากได้ ทำให้เนื้อสัตว์นั้นไม่ปลอดภัยที่จะบริโภค โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าซากเกิดการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* O157:H7 และเนื้อนั้นนำไปผ่านความร้อนสูงไม่เพียงพอที่จะทำลาย ก็สามารถทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ ตัวอย่างเช่น การเกิดโรคอาหารเป็นพิษเนื่องจากเชื้อ *E. coli* O157:H7 ในประเทศสหรัฐอเมริกา เนื่องจากบริโภคเนื้อวัวบดที่ผ่านการให้ความร้อนไม่เพียงพอ ดังนั้นในปี ค.ศ.1993 FSIS-USDA (The Food Safety and Inspection Service of the U.S. Department of Agriculture) จึงได้กำหนดให้โรงงานฆ่าสัตว์มีการติดตั้งเอาพวกเศษอุจจาระและสิ่งปนเปื้อนอื่น ๆ ออกไปจากซากให้หมดก่อนที่จะทำการล้าง และจำหน่ายให้แก่ผู้บริโภคหรือลูกค้าต่อไป นอกจากนี้งานทดลองของ Smith และ Graham (1978) พบว่า การแช่ซากในน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 10 วินาที จะช่วยลดปริมาณแบคทีเรียพวกโคลิฟอร์มลงไปได้ถึงร้อยละ 99

2. จากน้ำใช้ต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นน้ำที่ใช้ในการล้างและลวกขนสุกรก่อนการชำแหละ หรือน้ำที่ใช้ในการล้างเครื่องมือต่าง ๆ เช่น ในกรณีที่ใช้แช่และสุกร จะมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากมิดที่ใช้เช็ดคอ ดังนั้นน้ำที่ใช้ในการล้างต้องมีคลอรีนที่ตกค้างอยู่ในปริมาณที่กำหนด และการใช้น้ำร้อนลวกขนสุกรก่อนการชำแหละ เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้จุลินทรีย์ปนเปื้อนเข้าสู่ซาก โดยผ่านจากหนังและขนสุกรเข้าไปยังเลือดและจากเลือดเข้าสู่กล้ามเนื้อ และเข้าไปยังไขกระดูก ทั้งนี้เพราะหัวใจสุกรยังมีการเต้นอยู่ภายหลังจากเชือดใหม่ ๆ จะทำให้เกิดการดูดน้ำลวกขนเข้าไปในซากได้ นอกจากนี้น้ำที่ใช้เป็นส่วนผสมในการทำผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ควรจะเป็นน้ำที่ได้มาตรฐานตามมาตรฐานน้ำบริโภค เช่น น้ำหรือน้ำแข็งที่ใช้เป็นส่วนผสมในการทำไส้กรอก

3. จากอากาศ รอบ ๆ ช่าง ซากหรือเนื้อสัตว์ หรือในห้องที่ทำการแปรรูป อาจจะมีปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในอากาศตามธรรมชาติได้ ดังนั้นโรงงานต้องมีการสุขาภิบาลที่ดี โดยในห้องเย็นที่เก็บรักษาเนื้อ ผ่าครึ่งหรือผ่าสี่ อาจมีการใช้ตะเกียงลำแสงอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet ray lamp) ติดตั้ง เพื่อช่วยทำลายแบคทีเรียที่ปนเปื้อนบนผิวหนังของซาก ทำให้สามารถเก็บรักษาซากได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 15.6 องศาเซลเซียส เพื่อทำการบ่มให้เนื้อนุ่ม แต่การใช้ตะเกียงลำแสงอัลตราไวโอเล็ตจะผลิตก๊าซโอโซนขึ้น ซึ่งมีผลต่อการทำลายจุลินทรีย์ได้และยังอาจก่อให้เกิดการออกซิไดซ์ของกรดไขมันขึ้นได้ จึงต้องคำนึงถึงข้อเสียนี้ไว้ด้วย

รักษาอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในห้องตัดแต่งเนื้อสด ในห้องตัดแต่งเนื้อสดจะมีอุณหภูมิสูงกว่าห้องเก็บเล็กน้อย เพื่อให้ความชื้นภายในชั้นเนื้อซึมผ่านออกมาที่ผิวหน้าออกได้ ทำให้เนื้อที่ชำแหละได้จะดูสดกว่าเมื่อนำออกจากห้องเก็บ อุณหภูมิห้องตัดแต่งควรใช้ประมาณ 10 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ในห้องตัดแต่งควรรักษาให้ต่ำ เพื่อป้องกันการกลั่นตัวของความชื้นจากอากาศบนชั้นเนื้อ (sweating) ซึ่งจะส่งผลให้แบคทีเรียเจริญได้ดี และทำให้เกิดการเน่าเสียได้

รักษาอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในห้องเก็บชั้นเนื้อที่ตัดแต่งแล้ว ต้องเก็บรักษาให้อุณหภูมิต่ำที่สุดเท่าที่จะทำได้โดยไม่เกิดการหลอมละลายของน้ำแข็งและเกิดเป็นน้ำแข็งขึ้นอีกสลับกัน ดังเช่น อุณหภูมิระหว่าง -2.2 ถึง -1.1 องศาเซลเซียส ซึ่งจะทำให้คุณภาพของเนื้อสดเสียไป ดังนั้นห้องเก็บในช่วงนี้ควรใช้อุณหภูมิ

ระหว่าง -1.1 ถึง 1.7 องศาเซลเซียส และควรรักษาความชื้นสัมพัทธ์ในห้องเก็บเนื้อสดให้อยู่ระหว่างร้อยละ 90-95 โดยต้องพยายามรักษาความชื้นสัมพัทธ์ในห้องเก็บเนื้อสดให้มีค่าสูงสุด เพื่อป้องกันน้ำหนักสูญหาย เนื่องจากการระเหยของน้ำ และต้องควบคุมความเร็วลมหมุนเวียนในห้องเก็บให้เหมาะสมด้วย ยกตัวอย่างการเก็บเนื้อในห้องเก็บ ให้เนื้อมีผิวหน้าแห้งพอเหมาะสำหรับในห้องเก็บขนาด

115,000-120,000 ลูกบาศก์ฟุต จะต้องให้ความเร็วลมหมุนเวียนประมาณ 135,000 ลูกบาศก์ฟุตต่อนาที ในห้องเย็นช่วงแรก (cool room) และ 40,000 ลูกบาศก์ฟุตต่อนาทีในห้องเก็บผู้ปฏิบัติงาน โดยเฉพาะจาก ผู้ปฏิบัติงานที่มีอนามัยส่วนบุคคลไม่ดี เกิดได้จากมือและเสื้อผ้าของผู้ปฏิบัติงานในการเคลื่อนย้ายซาก การตัด แต่งซากและการบรรจุ ดังนั้นผู้ปฏิบัติงานควรล้างมือทุกครั้งก่อนและหลังปฏิบัติงาน สวมเสื้อผ้าที่สะอาด ทำ ความสะอาดที่คลุมผมและรองเท้าย่างสม่ำเสมอ ไม่เป็นโรคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจหรือโรคผิวหนัง ควรตรวจสอบความสะอาดของคณงานทางจุลชีวะวิทยา

4. เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ เช่น มีด ใบเลื่อย ที่ใช้ในการชำแหละและตัดแต่งซาก รวมทั้งเครื่องมือ และเครื่องใช้อื่น ๆ ที่ใช้ในระหว่างการดำเนินการแต่ละขั้นตอนไปจนถึงผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่พร้อมรับประทาน ควรมีการตรวจสอบเครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ทุกวัน โดยการตรวจสอบด้วยสายตา (visual inspection) และมีการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อวัสดุอุปกรณ์ที่สัมผัสกับเนื้อและผลิตภัณฑ์อย่างสม่ำเสมอและทั่วถึง ตลอดเวลา เช่น กำหนดให้ทำความสะอาดวัสดุและอุปกรณ์ที่ต้องใช้ในการฆ่าและชำแหละและการตัดแต่งซาก ทุกครั้งที่ปฏิบัติการเสร็จด้วยน้ำผสมคลอรีนหรือกรดแลคติก

5. จากกระบวนการผลิต ได้แก่ สภาพต่าง ๆ ชวนนำไปแปรรูปหรือประกอบอาหาร ทำให้เพิ่มพื้นที่ผิว ของเนื้อที่จุลินทรีย์จะปนเปื้อนได้มาก เช่น การตัดชิ้นเนื้อให้มีขนาดเล็กลงหรือการบดสับให้ละเอียด เหล่านี้ เป็นสาเหตุให้จุลินทรีย์ปนเปื้อนลงไปเนื้อได้มาก และการบดสับหรือการบดผสมยังเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวของ เนื้อที่สัมผัสกับอากาศ ค่า oxidation-reduction potential จะสูงขึ้น ซึ่งจะเหมาะแก่การเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ ดังนั้นเนื้อบดละเอียดควรนำไปแปรรูปทันที ไม่ควรเก็บรักษาไว้ในห้องเย็นนาน เกินไป และในการผลิตไส้กรอกสุก เช่น แพรงค์เฟอร์เตอร์ หรือโบโลญา ควรให้ความร้อนที่กึ่งกลางชิ้นเนื้อมี อุณหภูมิถึง 71.1 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังอาจป้องกันได้โดย

-เนื้อที่จะนำมาใช้สำหรับการหมักเกลือหรือเพื่ออุตสาหกรรมไส้กรอกหรืออื่น ๆ ควรทำให้เย็นทันที ภายหลังการชำแหละให้อุณหภูมิภายในเป็น 1.7 องศาเซลเซียส ผลิตภัณฑ์ เช่น แฮม หรือเบคอน ควรทำการฉีดด้วยสารละลายน้ำเกลือในวันเดียวกับที่ชำแหละ หรือควรเก็บ ไว้ที่อุณหภูมิ -3.3 ถึง -2.2 องศาเซลเซียส ถ้าต้องใช้เพื่อการผลิตในวันต่อไป

-เนื้อสดที่จะนำไปหมักหรือนำไปแปรรูปทำผลิตภัณฑ์ไส้กรอกต่าง ๆ ไม่ควรนำออกจากอุณหภูมิห้อง เก็บ ไปยังบริเวณที่มีอุณหภูมิสูงกว่า และมีความชื้นสัมพัทธ์สูงกว่า เพราะสภาพการณนี้จะเป็นผลทำให้เกิดการ กลั่นตัวของความชื้นบนชิ้นเนื้อ (sweating) ซึ่งจะเป็นผลให้แบคทีเรียเจริญได้ดี

-เนื้อที่ใช้สำหรับโรงงานอุตสาหกรรมไส้กรอกไม่ควรเสียหรือเป็นเมือกมาก่อน และควรมีจุลินทรีย์ ปนเปื้อนในปริมาณต่ำ

-น้ำหมัก (pickle solution) ที่ใช้ฉีดและแช่เนื้อในการหมัก ไม่ควรนำกลับมาใช้สำหรับการผลิตแบบ short cure

-ไส้กรอกสดหรือไส้กรอกสุก เมื่อทำเสร็จควรนำเข้าเก็บรักษาในห้องเย็นทันที

-ผลิตภัณฑ์จากการขายปลีกที่เก็บคืนกลับมาถึงโรงงาน ไม่ควรนำมาใช้ในส่วนผสมของการผลิตครั้ง ต่อไป (บทที่ 12 การปนเปื้อนและการเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์, 2557.Online)

16907611



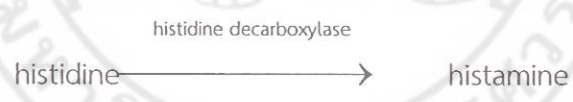
สำนักหอสมุด
25 ส.ค. 2559
IP
159
55
ภาควิชา
อาหาร

ลักษณะการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์

เกิดการเหม็นหืน (rancidity)เกิดจากแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันได้ (lipolytic bacteria) ได้แก่ "เอนไซม์ออกซิเดส" จะเข้าทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับกรดไขมันในองค์ประกอบที่เป็นไขมันในเนื้อสัตว์ "เอนไซม์ไลเปส" จะไฮโดรลิซิส (hydrolysis) โมเลกุลของไขมัน เป็นต้น ทำให้เกิดเป็นสารประกอบต่าง ๆ ได้แก่ กรดไขมันอิสระ กลีเซอรอลอัลดีไฮด์คีโตน แอลกอฮอล์ เปอร์ออกไซด์ เป็นต้น ซึ่งเป็นสารประกอบที่ระเหยได้ ทำให้อาหารมีกลิ่นรสผิดปกติไป แบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันได้ ได้แก่ *Pseudomonas spp.* *Achromobactor spp.*

โดยทั่วไปจุลินทรีย์เป็นสาเหตุใหญ่ประการหนึ่งที่ทำให้เกิดการเหม็นหืน แต่ไม่ค่อยสำคัญมากในเนื้อ เพราะสารประกอบต่างๆที่ได้จากการย่อยสลายของไขมัน จะยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หลาย ๆ ชนิด โดยเฉพาะสารพวกเปอร์ออกไซด์ (peroxides) ที่เกิดขึ้นระหว่างการออกซิเดชันของกรดไขมัน จะเป็นพิษอย่างยิ่งต่อจุลินทรีย์ และนอกจากนี้ยังมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดสีในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักอีกด้วย และพบว่าเอนไซม์จากแบคทีเรียสามารถย่อยโปรตีนได้ดีกว่า ดังนั้นกลิ่นและรสต่าง ๆ ที่เกิดจากการย่อยโปรตีนหรือกลิ่นเหม็นเน่า จึงบดบังกลิ่นและรสที่เกิดการกระบวนการเติมออกซิเจนหรือกลิ่นเหม็นหืนทั้งหมด แต่ถ้าเป็นเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำ ๆ ซึ่งไม่เหมาะสมกับกระบวนการย่อยโปรตีน กลิ่นและรสที่เกิดจากการเติมออกซิเจนจะเด่นชัดขึ้น

เกิดการเหม็นเน่า (putrefaction) เกิดจากแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนได้ (proteolytic bacteria) เช่น *Proteus sp.*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas sp.* จะไปย่อยสลายโมเลกุลของโปรตีนหรือสายเปปไทด์หรือกรดอะมิโนอิสระ ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในเนื้อสัตว์ ทำให้เกิดเป็นสารที่ระเหยได้ ได้แก่ พวกไฮโดรเจนซัลไฟด์ (hydrogen sulphide) เมอร์แคปแทน(mercaptans) อินโดล (indoles) แอมโมเนีย(ammonia) เอมีน(amines)และอื่น ๆ เกิดเป็นกลิ่นเหม็นเน่าขึ้นมา เช่น การเกิด bone-taint หรือ bone-souring ซึ่งมักเกิดกับบริเวณใกล้ ๆ กระดูก ซึ่งได้รับความเย็นไม่เพียงพอ



การเกิดก๊าซและรสเปรี้ยว (gassing and souring)เกิดจากแบคทีเรียพวกที่ไม่ต้องการอากาศ (anaerobic bacteria) เช่น พวก lactic acid bacteria ชนิดต่าง ๆ ,*Streptococcus faecium*,*Streptococcus faecalis*, *Microbacterium thermosphactum* ไปย่อยสลายองค์ประกอบที่เป็นคาร์โบไฮเดรตในเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์ เช่น แป้ง น้ำตาล ทำให้เกิดสารประกอบพวกกรดอินทรีย์ต่าง ๆ เช่น กรดอะซิติก ทำให้น้ำมันมีค่า pH ลดลง และเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับแอลกอฮอล์ขึ้นมาในเวลาเดียวกัน มักพบในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกขนาดใหญ่ หรือในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุแบบสุญญากาศ เช่น พบในแฮมและเบคอนที่นำมาหั่นบาง ๆ บรรจุพลาสติกแบบสุญญากาศ

การเกิดเมือกที่ผิวหน้า (slime surface)เมือกเป็นสารพวก polysaccharides ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นมาและสะสมอยู่ภายในเซลล์ เมื่อเราสามารถมองเห็นโคโลนีของจุลินทรีย์ด้วยตาเปล่าได้ ก็จะมองเห็นเป็นเมือกเกิดขึ้น อาจมีสีขาวหรือสีเหลืองเกิดขึ้นบนผิวหน้าของชิ้นเนื้อ และมีกลิ่นเหม็นด้วย มักเกิดภายใต้สภาวะที่มีอากาศ มักเกิดจากแบคทีเรียพวก *Pseudomonas sp.*, *Achromobactor sp.* ในเนื้อสัตว์ที่แขวนไว้ในห้องเย็นที่มีความชื้นสูง แต่ถ้ามีความชื้นต่ำในห้องเย็นจะพบพวก *micrococcus* เช่น

Microbacteriumthermosphactum หรือ *Streptococcus sp.* หรือยีสต์ปะปน เช่น ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสุกพวกเฟรนช์เฟอ์เตอร์และโปโลญา

ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่บรรจุแบบสุญญากาศมักไม่ค่อยพบการเน่าเสียในลักษณะนี้ เพราะการปนเปื้อนของ anaerobic bacteria ในธรรมชาติมีน้อยกว่าพวก aerobic bacteria และพวก aerobic bacteria โดยปรกติจะผลิตกรดอินทรีย์ขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโต ปริมาณกรดที่เกิดขึ้นจากบักเตรีเหล่านี้จะมีผลยับยั้งการเจริญของพวก anerobic bacteria ด้วย แต่ถ้าผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาสภาพสุญญากาศ มีการปนเปื้อนจาก anaerobic bacteria ขึ้น และเก็บรักษาไว้ในชั่วระยะเวลาหนึ่ง ก็อาจเกิดการเน่าเสียที่สังเกตได้ เป็นเมือกสีขาวคล้ายน้ำนม (whitish liquid) ในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุธรรมดา เมือกของแบคทีเรียจะปรากฏเห็นเป็นรูปลูกปัดเล็ก ๆ ละเอียด ตะขุดจะเป็นยางเหนียว และมีกลิ่นเหม็น (off odor) บางครั้งมองเห็นคล้ายยีสต์

การเกิดสีต่าง ๆ บนผิวหน้า (discoloration) ของชั้นเนื้อ เกิดเนื่องจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่เจริญเติบโตแล้วสร้างเม็ดสีขึ้นมา ทำให้มองเห็นเป็นจุดสีต่าง ๆ เช่น จุดสีแดงจาก *Serratiamarcescens* จุดสีฟ้าจาก *Pseudomonas syncyanea* จุดสีน้ำเงินแกมเขียว หรือดำแกมน้ำตาลจาก *Chromobacteriumlividum* เป็นต้น

การเปลี่ยนแปลงสีของเม็ดสีในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก จุลินทรีย์ตัวที่มีบทบาทสำคัญคือ *Lactobacillus viridescens* หรืออาจเป็นพวก *Leuconostoc sp.* ที่ปนเปื้อนเข้ามาในส่วนผสมของเนื้อในขณะเตรียมการในการอบและการรมควันผลิตภัณฑ์ใช้ความร้อนไม่เพียงพอต่อการทำลายบักเตรีที่ปนเปื้อนได้หมด บักเตรีที่เหลือรอดอยู่จะเจริญเติบโตและสามารถสร้างสารพวกเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นสารออกซิไดซ์อย่างแรง สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลเฟอร์รัสในโครงสร้างวงแหวนพอไพรินของเม็ดสีไมโอโกลบิน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของไนโตรโซฮีโมโครม ไปเป็น cholemyoglobin ซึ่งอยู่ในรูปของverdoheme ทำให้เกิดเป็นสีเขียว (greening) ขึ้นในไส้กรอก ลักษณะการเกิดสีเขียวส่วนใหญ่มิ 3 ลักษณะคือ

1 การเกิดสีเขียวบริเวณแกน (core greening) การเกิดจุดสีเขียวเล็ก ๆ ขึ้นที่กึ่งกลางของชั้นไส้กรอก และจะขยายวงกว้างจากจุดนี้ไปรอบ ๆ มักพบในไส้กรอกขนาดใหญ่ เช่น โปโลญา ที่ถูกตัดและผิวหน้าถูกปล่อยทิ้งไว้สัมผัสกับอากาศ

2 การเกิดสีเขียวบริเวณผิวหน้า (surface greening) พบมาก คือการเกิดเป็นสีเขียวเทา ๆ ที่ผิวหน้าไส้กรอก มักเกิดขึ้นพร้อม ๆ กับการเกิดเมือก สาเหตุเพราะสขลักษณะในการผลิตไม่ดี เกิดการปนเปื้อนที่ผิวหน้าหลังจากการทำให้สุก โดยเฉพาะในช่วงของการลอกไส้และการบรรจุ หรือเกิดการปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์หลังการผลิตเสร็จใหม่ ๆ กับการปนเปื้อนข้าม (cross contamination)

3 การเกิดวงแหวนสีเขียว (green ring) คือ การเกิดวงแหวนสีเขียวขึ้นภายในไส้กรอกที่ช่วงความลึก 2-3 มิลลิเมตร จากผิวหน้าของไส้กรอก ปกติแล้วไม่ค่อยพบ สาเหตุที่ทำให้เกิดยังไม่ทราบแน่ชัด แต่พบว่ามักเกิดกับผลิตภัณฑ์ที่ใช้วัตถุดิบ ซึ่งมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์มาก จุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะถูกทำลายในระหว่างการอบและรมควัน แต่สิ่งที่ได้จากกระบวนการเมตาโบลิซึมของจุลินทรีย์ยังคงอยู่ ได้แก่ เอนไซม์ที่ถูกสร้างขึ้น และสามารถออกซิไดซ์เม็ดสีได้ จะเกิดมีปฏิกิริยาต่อไปได้ ประกอบกับสภาพต่าง ๆ เหมาะสม ทำให้ hemochromeเปลี่ยนแปลงไปเป็นverdoheme ทำให้เกิดเป็นวงแหวนสีเขียวขึ้น โดยปกติการเปลี่ยนแปลงนี้จะเกิดขึ้นภายใน 1-2 วัน หลังจากทำไส้กรอกเสร็จ ซึ่งไม่สามารถสังเกตเห็นได้ จนกระทั่งทำการผ่าหรือตัดออกดูภายใน

นอกจากนี้ยังอาจเกิดการซีดจางของสี (color degradation) ได้ เนื่องจากการเก็บที่อุณหภูมิสูงและการที่สขลักษณะในการผลิตไม่ดี ทำให้มีแบคทีเรียเริ่มต้นสูง และเมื่อเก็บที่อุณหภูมิสูงแบคทีเรียก็ยิ่ง

เจริญเติบโตได้ดี และผลิตสารประกอบที่สามารถทำลายเม็ดสีได้ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากแบคทีเรียพวก *Lactobacillus viridescens*, *Leuconostoc spp.* เป็นต้น

การเกิดเชื้อราที่ผิวหนังโดยทั่วไปเป็นเชื้อราพวก *Cladosporium* ทำให้เกิดจุดสีดำ *Thamnidium*, *Mucor*, หรือ *Rhizopus* ทำให้เกิด "whisker" ที่ผิวหนังของเนื้อวัว *Penicillium* ทำให้เกิด green patch และ *Sporotrichum* ทำให้เกิดจุดสีขาว มักพบในเนื้อที่ตัดแบ่งครึ่งหรือแบ่งสี่ที่เก็บรักษาในห้องเย็น ที่อุณหภูมิใกล้ 0 องศาเซลเซียส เพื่อการบ่มเนื้อให้นุ่ม (aging) วัตถุประสงค์ของการบ่มเนื้อเพื่อให้เนื้อมีความนุ่มตามต้องการและมีการผลิตกลิ่นรสเฉพาะขึ้นเรียกว่า "aged flavor" ซึ่งยังไม่มี การสำรวจหรือตรวจหาจุลินทรีย์พวกนี้ในเนื้อว่าทำให้เนื้อมีความนุ่มเพิ่มขึ้น หรือมีกลิ่นของเนื้อเพิ่มมากขึ้นอย่างไร แต่การขึ้นราในเนื้อเป็นผลให้ต้องตัดแต่งเนื้อทิ้งไป เมื่อนำไปทำผลิตภัณฑ์อื่นต่อไป



ตาราง 1 จุลินทรีย์ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เน่าเสีย

ผลิตภัณฑ์	จุลินทรีย์	ชนิดของการเน่าเสีย
เนื้อสด	<u>Pseudomonas</u>	มีเมือกเปลี่ยนเป็นสีเขียว มีรังควันที่เรืองแสง
	<u>Achromobacter</u>	มีจุดสีขาว หรือจุดสี ซึ่งเป็นโคโลนีของแบคทีเรีย
	<u>Flavobacterium</u>

	<u>Lactobacillus</u>	เกิดเมือกหรือลักษณะเหนียวรสเปรี้ยว หรือเน่าเสีย
	<u>Microbacterium</u>
เนื้อที่ผ่านการแปรรูป แฮมที่ผ่านการหมักเกลือ	<u>Micrococcus</u>

	<u>Achromobacter</u>	รสเปรี้ยว
	<u>Pseudomonas</u>
	<u>Bacillus</u>
	<u>Lactobacillus</u>
เบคอน
	<u>Streptococcus</u>	เกิดก๊าซ ขึ้นเนื้อมีอาการบวม เปลี่ยนเป็นสีเขียว
	<u>Clostridium</u>

	<u>Micrococcus</u>	มีเมือกตรงผิวหน้า
	<u>Microbacterium</u>
ไส้กรอกที่ผ่านการหมักเกลือ
	<u>Streptococcus</u>	เกิดเมือก มีจุดสีขาวหรือจุดสี
	Molds

	<u>Lactobacillus</u>	มีรสเปรี้ยวเล็กน้อยในเบคอนที่บรรจุโดยระบบสุญญากาศ
	<u>Micrococcus</u>
ไส้กรอกที่ผ่านการหมักเกลือ	<u>Streptococcus</u>
	<u>Micrococcus</u>

	Yeasts	มีเมือกตรงผิวหน้า

	<u>Lactobacillus</u>	ผลิตก๊าซในไส้กรอกแพรงค์เฟอร์เตอร์ที่บรรจุโดยระบบสุญญากาศ
.....	
.....	<u>Leuconostoc</u>	สีซีดบริเวณผิว
.....	<u>Micrococcus</u>
.....

ไส้กรอกเปรี้ยว	<u>Lactobacillus</u>ร า แ ล ะ	สีเปลี่ยนเป็นสีเขียว
.....ผลิตภัณฑ์	ยีสต์	มีเมือกและเปลี่ยนสี
ที่ผ่านการหมักโดยเติมน้ำส้มสายชู
.....ผลิตภัณฑ์	<u>Lactobacillus</u>	น้ำหมักมีลักษณะขุ่น
เนื้อกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อชนิด commercially sterilizationส ป อ ร์
.....	ของ <u>Bacillus</u>	จุลินทรีย์พวก thermophillic เจริญเติบโต
ผลิตภัณฑ์เนื้อกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อชนิด semi-preserved หรือ Pasteurization	สปอร์ของ <u>Clostridium</u>	เนื่องมาจากการทำให้เย็นไม่เพียงพอ และจำนวนจุลินทรีย์ที่เริ่มต้นมีมากเกินไป

	<u>Streptococcus</u>	มีรสเปรี้ยวและเปลี่ยนสี

	<u>Bacillus</u>
	<u>Clostridium</u>	ถ้าเก็บไว้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 10 ⁰ ซ จะผลิตก๊าซ มีเจลาตินเยิ้มออกมา และมีการเน่าจากการสลายตัวของโปรตีน

ที่มา : ดัดแปลงจาก Price and Schweight (1978)

ลักษณะการเสื่อมเสียเนื่องจากปฏิกิริยาเคมีและการป้องกัน

1. การเหม็นหืน (rancidity) สาเหตุใหญ่ของการเหม็นหืนในเนื้อสัตว์เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยออกซิเจนจะมีบทบาทสำคัญในการเกิดปฏิกิริยานี้ ออกซิเจนอาจมีอยู่ในภาชนะบรรจุ และจะมีตัวเร่งปฏิกิริยา ได้แก่ อุณหภูมิในการเก็บรักษา แสงสว่าง สารแคตตาไลต์ (prooxidant catalyst) ซึ่งได้แก่ เกลือ ก๊าซโอโซน สารพวกเปอร์ออกไซด์ และสารพวก strong oxidizing agents ต่าง ๆ โลหะหนัก เช่น ทองแดง พบว่าไขมันในเนื้อสัตว์เมื่อเก็บไว้นาน ๆ จะมีการแตกตัว ทำให้เกิดการเหม็นหืนได้ ทำให้เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เสื่อมเสียได้ ส่วนใหญ่จะเกิดแบบ "hydrolytic rancidity" เกิดจากสารพวกฟอสโฟไลปิด ซึ่งอยู่ในเนื้อเยื่อและไตรกลีเซอไรด์ที่พบสะสมอยู่ในร่างกาย อาจถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในสภาวะที่มีน้ำหรือความชื้น กลายเป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล กรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นก่อให้เกิดการเหม็นหืนได้ สามารถป้องกันได้โดยการลดปริมาณออกซิเจนในภาชนะบรรจุ เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ และพยายามให้ผลิตภัณฑ์โดนแสงสว่างน้อยที่สุดเป็นต้น

2. การเกิด color defect ในผลิตภัณฑ์เนื้อบ่ม color defect ที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์เนื้อบ่มที่ผ่านกระบวนการทำให้สุกแล้ว ส่วนใหญ่มักเกิดขึ้น เนื่องจากไมโอโกลบินเปลี่ยนไปเป็นไนโตรโซฮีโมโครมไม่หมดหรือเกิดจากการที่ไนโตรโซฮีโมโครม เปลี่ยนไปเป็นสารประกอบอื่น

ลักษณะของ color defect เนื่องจากปฏิกิริยาเคมีที่พบมีดังนี้คือ ผลิตภัณฑ์มีสีซีด การซีดจางของสีในระหว่างการเก็บรักษา การเกิดลักษณะเป็นแผ่นสีเขียวและการเกิดสีน้ำตาล รายละเอียดของ color defect ต่าง ๆ มีดังต่อไปนี้คือ

2.1 ผลิตภัณฑ์มีสีซีด (pale color) เนื่องจากการบ่มไม่เพียงพอ มักพบในผลิตภัณฑ์พวกแฮม ไส้กรอกแฟรงค์เฟอร์เตอร์(Gillespie 1960) จะเห็นที่ผิวหน้าของผลิตภัณฑ์มีสีซีดจางลงอย่างรวดเร็ว ส่วนภายในผลิตภัณฑ์จะมีลักษณะเป็นสีเทาหรือสีเขียวจาง ๆ เกิดขึ้น (Holland 1980) การบ่มที่ไม่เพียงพออาจเกิดขึ้นได้เนื่องจากสาเหตุดังต่อไปนี้คือ การใช้ไนโตรเจนน้อยเกินไป, อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเนื้อต่ำเกินไป, เวลาที่ใช้ในการบ่มเนื้อและการทำให้เนื้อสุกน้อยเกินไป, ใช้ PSE (pale soft and exudative meat) และการที่ pH ของเนื้อสูงเกินไป ซึ่งสามารถลดปัญหานี้ลงได้โดยการใช้สารเร่งการหมักเช่น โซเดียมเออร์ริธโรเบทและแอสคอร์เบทและโซเดียมแอสซิดไฟโรฟอสเฟต เป็นต้น หรือรักษาอุณหภูมิในการบ่มเนื้อไม่ให้ต่ำเกินไป โดยควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 2-3 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับการ ใช้ PSE meat ซึ่งดูดซึ่มสารที่ใช้ในการหมักได้ไม่ดี อาจแก้ไขได้โดยการเพิ่ม brine retention ในเนื้อโดยการปรับปรุงกระบวนการผลิต เช่น การเพิ่มเวลาในการผสมและการนวด และเพิ่มปริมาณเกลือที่ใช้เป็นต้น ซึ่งจะช่วยให้เม็ดสีหรือรงควัตถุในเนื้อได้มีโอกาสสัมผัสกับสารที่ใช้ในการหมักได้มากขึ้น (อย่างน้อยร้อยละ 70)การซีดจางของสีในระหว่างการเก็บรักษา (fading during storage)เป็นปัญหาใหญ่ที่พบในระหว่างการวางขายและการเก็บรักษาโดยการแช่เย็น สีของผลิตภัณฑ์จะเปลี่ยนจากสีชมพูสดใสเป็นสีเทาอมชมพูซีด ๆ สาเหตุใหญ่เกิดจาก 2 สาเหตุคือ แสงและออกซิเจนในอากาศ การป้องกันไม่ให้ถูกแสงโดยการบรรจุผลิตภัณฑ์ในวัสดุบรรจุที่ทึบแสง (opaque) ซึ่งเป็นไปได้ค่อนข้างยากสำหรับผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ วิธีที่เป็นไปได้คือ การป้องกันไม่ให้ผลิตภัณฑ์สัมผัสกับออกซิเจน ซึ่งออกซิเจนทำให้เกิดการซีดจางของสีได้โดยออกซิเจนไปทำให้ไนโตรโซฮีโมโครมเกิดการออกซิเดชันไปเป็นสารประกอบอื่นได้ การป้องกันไม่ให้ผลิตภัณฑ์สัมผัสกับออกซิเจนทำได้โดยใช้วิธีการบรรจุที่เหมาะสมดังนี้คือ

- ใช้การบรรจุแบบสุญญากาศ (Andersen และคณะ 1988) โดยการบรรจุผลิตภัณฑ์ในพลาสติก ซึ่งมีอัตราการซึมผ่านของออกซิเจนต่ำ แล้วบรรจุแบบสุญญากาศที่ระดับสุญญากาศมากกว่าร้อยละ 95 หลังจากนั้นจึงเก็บในที่เย็นและมีดนาน 4 วัน เพื่อลดปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ให้อยู่ในระดับต่ำพอที่จะไม่เกิดการสลายตัวของรงควัตถุเนื่องจากแสง วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้กันน้อยทั่วไป

- การ flushing ใน high barrier film ที่ใช้ slight overpressure (Andersen และคณะ, 1990) เป็นการเจือจางปริมาณออกซิเจนที่เหลืออยู่ในระดับที่ต่ำพอ วิธีนี้เป็นวิธีที่เสียค่าใช้จ่ายสูงและวิธีการปฏิบัติค่อนข้างจะยุ่งยากซับซ้อน

- การใช้วิธี interactive packaging (Adersan และ Rasmusson, 1992) เป็นวิธีที่ค่อนข้างใหม่สำหรับระบบของการบรรจุอาหาร โดยการใช้สารดูดออกซิเจน (oxygen absorber) ร่วมกับการใช้พลาสติก ซึ่งมีอัตราการซึมผ่านของออกซิเจนต่ำ แล้วเก็บในที่เย็นและมีดนาน 10 ชั่วโมง เพื่อลดปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่ให้ต่ำกว่าจุดที่จะเกิดการสลายตัวของรงควัตถุ เนื่องจากแสงได้ สารดูดออกซิเจนมีลักษณะเป็นผง ส่วนใหญ่จะประกอบด้วย active iron oxide ซึ่งหลังจากดูดออกซิเจนและทำปฏิกิริยากับไอน้ำในอากาศแล้วจะเปลี่ยนไปเป็น iron oxides และ hydroxides สารดูดออกซิเจนจะบรรจุในถุงเล็ก ๆ คล้ายกับสารดูดความชื้น (desiccant) วิธีใช้ก็โดยวางถุงนี้ลงในถุงพลาสติกที่บรรจุผลิตภัณฑ์อยู่ การบรรจุอาจใช้แรงงานคนหรือใช้

เครื่องมือก็ได้ ในผลิตภัณฑ์จะมีปริมาณออกซิเจนอยู่น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 0.01 ซึ่งมีปริมาณออกซิเจนในระดับนั้นนอกจากจะช่วยป้องกันการซีดจางของสีแล้ว ยังช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา, แมลง บักเตรีทั้งพวก aerobic และ facultative anaerobic (ยกเว้น lactic acid bacteria) และช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมันอีกด้วย ตัวอย่างของสารดูดออกซิเจน ได้แก่ Ageless[®] GM-50, Ageless[®] SS-50 เป็นต้น

การเกิดการซีดจางของสีนอกจากจะเกิดจากแสงและออกซิเจนในอากาศแล้ว ยังอาจเกิดจากสาเหตุอื่น ๆ ได้อีก ได้แก่

การใช้ไขมันที่เหม็นหืน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากไขมันที่เหม็นหืน เช่น พวกเปอร์ออกไซด์จะทำลายรงควัตถุ การเก็บที่อุณหภูมิสูงและการที่สุลลักษณะในการผลิตไม่ดี ทำให้มีบักเตรีเริ่มต้นสูง และเมื่อเก็บก็ยิ่งเจริญเติบโตได้ดี และผลิตสารที่สามารถทำลายรงควัตถุได้ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) จากแบคทีเรียพวก *Lactobacillus viridescens*, *Leuconostoc spp.* เป็นต้น

การที่เนื้อสัมผัสกับสารประกอบออกซิไดซ์ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไฮโปคลอไรท์ (hypochlorite) เป็นต้น

2.2 การเกิดลักษณะเป็นแผ่นสีเขียว (green patch) มักพบในผลิตภัณฑ์เนื้อที่มีความเป็นกรดสูง เช่น พวก ไส้กรอกเปรี้ยว, pickled pig feet เป็นต้น ซึ่งที่ pH ต่ำนี้พบว่าไนไตรต์จะสามารถเกิดปฏิกิริยาได้สูง (Gillespie, 1960) ทำให้เกิดลักษณะเป็นสีเขียวในผลิตภัณฑ์หรือที่เรียกว่า nitrite burn อาจเกิดจากการใช้ในไตรต์ในปริมาณที่สูงเกินไป การกระจายตัวของไนไตรต์ไม่ทั่วถึงอาจเพราะใช้แรงดันในการฉีดต่ำเกินไป การผสมหรือการนวดไม่ทั่วถึง นอกจากนี้อาจเกิดขึ้นเนื่องจากการบ่มที่น้อยเกินไปเนื่องจากใช้อุณหภูมิและเวลาในการบ่มต่ำเกินไป

2.3 ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักรมควรมีสีน้ำตาล เกิดขึ้นที่ผิวด้านนอกเนื่องจากการสูญเสียน้ำ การปนเปื้อนเนื่องจากสารเคมี สารเคมีในที่นี้หมายถึง สารเคมีที่สัตว์กินเข้าไป หายใจเข้าไปและซึมเข้าไปทางผิวหนัง หรือจากวัตถุเจือปนอาหารที่ใช้มากเกินไป จนอาจตกค้างในร่างกาย หรือทำให้เกิดสารก่อมะเร็ง (carcinogens) กากเหลือจากสารเคมีที่มาจากอาหารสัตว์ ได้แก่ ยาปฏิชีวนะ ฮอร์โมนส์ และสารเหมือนฮอร์โมนส์ เช่น โปรเจสเตอโรน (progesterone) แร่ธาตุเช่น เซเลเนียม จากอาหารสัตว์ที่ปลูกในที่ที่มีแร่เซเลเนียมในดินสูง สารเคมีที่มาจากยาฆ่าแมลง ยาฆ่าหญ้า และยาป้องกันกำจัดศัตรูพืชอื่น ๆ เป็นต้น

กากเหลือจากสารเคมีอาจสะสมและทำให้เนื้อเยื่อเฉพาะส่วนของร่างกายเสียหาย ดังนั้นการนำเนื้อจากสัตว์เหล่านี้ไปบริโภคจึงควรหลีกเลี่ยง และใช้ความระมัดระวังเป็นอย่างมากยาปฏิชีวนะ (antibiotics) ได้แก่ ยาปฏิชีวนะในกลุ่ม ซัลโฟนาไมด์ ที่พบตกค้างในเนื้อสุกร โดยทั่วไปการใช้ยาปฏิชีวนะในการผลิตสัตว์ อาจใช้ในปริมาณสูงเพื่อรักษาสัตว์ป่วย หรือใช้ในปริมาณต่ำในอาหารสัตว์ เพื่อป้องกันหรือลดโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ และปรับปรุงประสิทธิภาพของอาหารสัตว์ และการเจริญเติบโตของสัตว์ ซึ่งจะเป็นการลดต้นทุนในการผลิต แต่การใช้ยาปฏิชีวนะอาจมีผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ได้ โดยอาจทำให้เกิดบักเตรีที่ดื้อยานี้ขึ้นในร่างกายของมนุษย์ หรืออาจทำให้เกิดการตกค้างของยาปฏิชีวนะในร่างกาย ซึ่งอาจทำให้เกิดอาการแพ้ในผู้ที่แพ้ยาชนิดนี้ได้ เช่น พบว่าผู้ที่ได้รับยาเพนิซิลินเพียง 10 ไมโครกรัม ก็จะก่อให้เกิดอาการแพ้ได้ ดังนั้นจึงได้มีการกำหนดชนิดและปริมาณสูงสุดที่ให้ได้ในอาหารสัตว์ และได้กำหนดช่วงเวลาระหว่างการให้ยาสัตว์กับการฆ่า ซึ่งต้องนานพอที่จะทำให้ยาปฏิชีวนะถูกขับออกไปจากร่างกายสัตว์ได้หมด ชนิดของยาปฏิชีวนะที่ห้ามใช้ในอาหาร ได้แก่ เพนิซิลิน และเตตราไซคลิน- เนื่องจาก 2 ตัวนี้เป็นยาที่ใช้ในการรักษาโรคในมนุษย์ จึงเกรงว่า ถ้าหากมนุษย์ได้รับยา 2 ตัวนี้ที่ตกค้างในเนื้อสัตว์ อาจทำให้ร่างกายสามารถสร้างเชื้อที่ดื้อยา 2 ตัวนี้ขึ้นมาได้

ทำให้เมื่อใช้ยา 2 ตัวนี้รักษาโรคจะไม่ได้ผล คลอแรมเฟนิคอล- เนื่องจากอาจทำให้เกิดโรคโลหิตจางได้
ฮอร์โมนส์ จุดประสงค์ของการใช้ฮอร์โมนส์ในสัตว์เพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของ

สัตว์ (growth promoting) ลดปริมาณอาหารสัตว์ที่ต้องใช้ ซึ่งเป็นการลดต้นทุนการผลิตทำให้
สามารถจำหน่ายเนื้อสัตว์ได้ในราคาที่ถูกลง และช่วยลดปริมาณไขมันในเนื้อสัตว์ซึ่งเป็นข้อดีแก่ผู้บริโภค ปกติมี
การใช้ในเนื้อวัว เนื้อแกะ วิธีการใช้ฮอร์โมนส์ไม่ได้ใส่เข้าไปในอาหารสัตว์ แต่ใช้โดยการฉีดเข้าไปที่หลังหู ซึ่ง
ตามปกติไม่ได้นำมาบริโภค

ชนิดของฮอร์โมนส์ที่ FDA อนุญาตให้ใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกาอยู่ด้วยกัน 5 ชนิด
ได้แก่เอสตราไดออล (estradiol) , เทสโทสเตอโรน (testosterone) , โปรเจสเตอโรน (progesterone) ,
เทรนโบลอน อะซีเตท (trenbolone acetate) และเซอรานอล (zeranol) ส่วนฮอร์โมนส์ที่ห้ามใช้ไปแล้วคือ
ไดเอทิลstilbestrol (DES) เนื่องจากอาจทำให้เกิดโรคมะเร็งได้
ฮอร์โมนเอสตราไดออลเทสโทสเตอโรนและโปรเจสเตอโรน เป็นฮอร์โมนที่ปกติร่างกายต้องสร้างขึ้นมาเพื่อใช้
ในการเจริญเติบโตตามปกติ พบว่าจะไม่เกิดอันตรายต่อร่างกายเพราะปริมาณที่รับประทานเข้าไปจากเนื้อสัตว์
ถือว่าน้อยมาก น้อยกว่าร้อยละ 1 ของฮอร์โมนที่ร่างกายผลิตตามปกติ และฮอร์โมนที่รับประทานเข้าไป
ร่างกายจะดูดซึมได้เพียงร้อยละ 10 นอกจากนี้ยังพบว่าในอาหารบางชนิดมีฮอร์โมนเอสโตรเจนอยู่ในปริมาณ
มากกว่าเนื้อวัว

3. สารเร่งเนื้อแดง จากความต้องการของผู้บริโภคที่นิยมเลือกซื้อสุกรแต่เนื้อแดงและไม่มัน ทำให้
ผู้เลี้ยงสุกรหาวิธีที่จะเลี้ยงสุกรให้มันน้อยที่สุดและมีปริมาณเนื้อมากที่สุด เพราะจะได้ราคาดีและเป็น
ที่ต้องการของตลาด จึงทำให้ผู้เลี้ยงสุกรนิยมใช้ยาในการเร่งเนื้อแดงในสุกร โดยใช้ยาในกลุ่ม Beta-agonists เช่น
Salbutamol หรือ Clenbuterol ซึ่งมีคุณสมบัติในการขยายหลอดลมและช่วยให้กล้ามเนื้อขยายตัว แต่อาจมี
ผลข้างเคียงคือทำให้มีอาการกล้ามเนื้อหัวใจสั่น หัวใจเต้นแรงกว่าปกติ กระวนกระวาย วิงเวียน ปวดศีรษะ
ดังนั้นจึงห้ามใช้กับผู้ป่วยโรคหัวใจ และใช้อย่างระมัดระวังในผู้ที่มีความดันโลหิตสูง ผู้ป่วยโรคเบาหวานและ
ผู้ป่วย Hyperthyroidism ดังนั้นการเลี้ยงสุกรโดยใช้ยาเหล่านี้จึงเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคเพราะอาจตกค้างใน
เนื้อสัตว์ และเป็นการเลี้ยงที่ทารุณสัตว์เพราะมีผลทำให้สุกรที่ได้รับสารเร่งดังกล่าวมีลักษณะแตกต่างไปคือ
เวลาเดินจะตัวมึนตึ๋มและมีอาการสั่นอยู่ตลอดเวลาเนื่องจากได้รับยา เมื่อฆ่าและชำแหละเนื้อแล้ว เนื้อจะมีสี
แดงเข้มค่อนข้างแห้ง ไม่เหมือนเนื้อสุกรปลอดสาร ซึ่งจะออกสีชมพูอมแดง

4. ยาฆ่าแมลง รวมทั้งยาฆ่าหญ้าและยาป้องกันกำจัดศัตรูพืชอื่น ๆ ใช้ในการผลิตพืชที่เป็นอาหารสัตว์
เมื่อสัตว์กินเข้าไปจะสามารถตกค้างในเนื้อสัตว์ได้ โดยเฉพาะในเนื้อเยื่อที่เป็นไขมัน เมื่อมนุษย์รับประทาน
เนื้อสัตว์ที่มีสารตกค้างจากยาฆ่าแมลง แม้จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อยแต่ยาฆ่าแมลงก็จะสะสมในร่างกาย และ
อาจมากขึ้นจนก่อให้เกิดอันตรายถึงตายได้ ที่สำคัญคือยาฆ่าแมลงในกลุ่มของ chlorinated hydrocarbon
ได้แก่ DDT, lindane, heptachlor, aldrin, และ chlordane เป็นต้น

5. วัตถุเจือปนอาหารที่ใช้มากเกินไป มีวัตถุเจือปนอาหารที่นิยมเติมเข้าไปในการทำ
ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์หลายชนิด ได้แก่ ไนเตรตและไนไตรต์ เดิมทีเติมในรูปของดินประสิว คนไทยรู้จักดิน
ประสิวกันดีเพราะเป็นส่วนผสมในดินปืนด้วย แต่สำหรับที่ใช้ในอาหารทราบกันดีว่า
เป็นสารกันเสียช่วยทำให้เนื้อสัตว์เก็บได้นานและมีสีแดงสด ดินประสิวมียี่ห้อทางเคมีว่าโพแทสเซียมไนเตรต ซึ่ง
ผลของการกันเสียเนื่องจากอนุพันธ์ไนเตรต ดังนั้นในการถนอมอาหารสามารถใช้ไนเตรตในรูปอื่นได้ด้วยคือ
โซเดียมไนเตรต นอกจากไนเตรตแล้วยังสามารถใช้ไนไตรต์ได้ด้วย การใช้มากเกินไปจนความจำเป็นโดย
รู้เท่าไม่ถึงการณ์นั้น ก็อาจก่อผลเสียขึ้นมาได้ และการใช้ในปริมาณที่เกินกำหนดเช่นนี้จะถือว่าเป็นการ

ปนเปื้อนอย่างหนึ่ง กระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้ใช้ในไตรต์ได้โดยให้มีอยู่ในผลิตภัณฑ์สำเร็จไม่เกิน 125 ส่วนในล้านส่วน (ppm) และไนเตรตไม่เกิน 500 ppm ซึ่งกำหนดเช่นนี้ก็เพราะเป็นที่ทราบกันดีว่า ถ้าใช้ระดับสูงกว่านี้แล้วจะเป็นอันตรายแก่ผู้บริโภคมากกว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะหลัง ๆ มานี้ มีการค้นพบว่า ถ้าใช้เกินเช่นนี้จะทำให้เกิดสารไนโตรซามีน ซึ่งเป็นตัวการให้เกิดมะเร็งขึ้นมาได้ การเกิดไนโตรซามีนนั้นอาจเกิดมาจากไนเตรตเปลี่ยนเป็นไนไตรต์โดยแบคทีเรียบางชนิด แล้วไนไตรต์ก็จะถูกกรดในกระเพาะไนตรัสซึ่งจะไปทำปฏิกิริยากับอามีนในเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสภาวะที่เป็นกรดได้ไนโตรซามีน ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง (ท อ 470 เทคโนโลยีผลิตเนื้อ, 2557. Online)



อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัตถุดิบ

1.1 สาร่ายเตาหน้า (*Spirogyra* spp.) จากบ้านนาคูหา ตำบลเขื่อน อำเภอเมือง จังหวัดแพร่ ช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนมิถุนายน 2557

1.2 แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Echerichia coli* และ *Salmonella typhimurium* ซึ่งได้จากภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

2. เครื่องมือ

2.1 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Metler-Toledo รุ่น AG 204)

2.2 เครื่องปั่น Blender

2.3 อุปกรณ์เครื่องครัว

2.4 เครื่องวัดค่าเนื้อสัมผัส QTS 25 Texture Analyzer (Brookflid Engineering Lab., USA)

2.5 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Buchi-Kjeldahl system รุ่น B-414)

2.6 ถ้วยวิเคราะห์ความชื้น moisture can

2.7 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (Velp รุ่น Fine)

2.8 ชุดอุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

2.9 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Buchi, B-810)

2.10 เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (Novasina รุ่น Aw-center200)

2.11 เครื่องวัดค่าสี (Hunter Lab, DP900)

2.12 เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Metler-Toledo รุ่น AG 204)

2.13 เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (HETTICH รุ่น D78532)

2.14 อ่างควบคุมอุณหภูมิ Water bath (Buchi รุ่น B-480)

2.15 ตู้บ่มเชื้อ (Revco รุ่น RI-50-555V)

2.16 เครื่องตีป่นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ (Lab System Stomacher รุ่น AG 400)

2.17 ตู้อบลมร้อนแบบถาด (Tray dryer รุ่น Model KPO-700)

2.18 เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง drum dry

2.19 หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) (ALP รุ่น KT30)

2.20 อุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับปฏิบัติทางชีววิทยา

3. สารเคมี

3.1 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) (MERCK)

3.2 โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium hydroxide) (Ajax Finechem)

3.3 เอ็น-ออกทานอล (N-octagon) (Fluka)

3.4 อะซิโตน (Acetone) (LAB-SCAN)

3.5 คะตะลิสต์ผสม (Selenium reagent mixture) (MERCK)

3.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) (Ajax Finechem)

3.7 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid) (LAB-SCAN)

- 3.8 เมทิลเรด (Methyl red) (Fluka)
- 3.9 กรอบอริก (Boric acid) (Fisher)
- 3.10 อาหารเลี้ยงเชื้อ DRBC agar (Merck)
- 3.11 อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (Merck)
- 3.12 Peptone Water (CRITERION)



วิธีดำเนินการ

ตอนที่ 1 การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียและกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ

1.1 การเตรียมสาหร่ายเทาน้ำ

นำสาหร่ายเทาน้ำมาล้างทำความสะอาด คัดแยกสิ่งแปลกปลอมออก นำไปอบด้วยตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสาหร่ายมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 นำสาหร่ายไปบดละเอียด และร่อนด้วยตะแกรงร่อนเบอร์ 25 จะได้สาหร่ายผง นำมาเก็บในขวดสีชาเพื่อใช้ในการสกัดขั้นต่อไป

1.2 การสกัดสารจากสาหร่ายเทาน้ำ

นำผงสาหร่ายเทาน้ำที่บดละเอียด จำนวน 5 กรัม ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำทำละลายได้แก่ น้ำ และเอทานอลร้อยละ 95 (อย่างใดอย่างหนึ่ง) ปริมาตร 150 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 นำของเหลวที่ได้ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (rotary evaporator) จนไม่มีตัวทำละลายเหลืออยู่ นำสารสกัดที่ได้มาชั่งน้ำหนักและบันทึกปริมาตร ก่อนเก็บในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส) เพื่อเตรียมไว้วิเคราะห์ต่อไป โดยเก็บไว้ในตู้เย็นไม่เกิน 3 วัน

1.3 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากสาหร่ายเทาน้ำด้วยวิธี disc diffusion method

เพาะเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบไว้ 1 วัน เชื้อโคโลนีจำนวน 2-3 โคโลนีจากอาหารเลี้ยงเชื้อใสในอาหารเหลวชนิด Tryptic soy broth (TSB, Difco, USA) ที่เตรียมไว้หลอดละ 2 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาเจือจางให้ได้แบคทีเรียความเข้มข้นประมาณ 10^5-10^7 เซลล์/มิลลิลิตร ใช้สำลีพันปลายไม้ที่ปราศจากเชื้อชุบแบคทีเรียนำไปเลี้ยงบน MullerHinton agar (MHA, Difco, USA) นำสารสกัดที่ต้องการทดสอบหยดบนกระดาษกรองปราศจากเชื้อซึ่งตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 มิลลิเมตร วางแผ่นกระดาษ จำนวน 5 แผ่นต่อ 1 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ไปบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 18-24 ชั่วโมง วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใสที่ไม่มีแบคทีเรียขึ้นรอบแผ่นกระดาษกรอง (inhibitory zone) โดยวัดหน่วยเป็นมิลลิเมตร

1.4 การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากสาหร่ายเทาน้ำด้วยวิธี Broth Dilution

เตรียม TSB 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 13x100 มิลลิเมตร 8 หลอด ใส่สารสกัดสาหร่ายเทาน้ำความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ลงในหลอดที่ 1 และทำ serial dilution จำนวน 12 หลอด โดยหลอดที่ 12 จะมีแต่อาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียว จากนั้นเติมแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงไปทุกหลอด โดยเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 1.5×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง สังเกตความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อไม่ขุ่นเป็นค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

1.5 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดของสาหร่ายโดยใช้สารละลาย Folin-Ciocalteu ตามวิธีการของ Shahidi and Naczki (1995) ดังนี้ ใช้สารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ 2 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง เติมหาสารละลาย Folin-Ciocalteu ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมหาสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ลงไป 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้น นำไปวัดความยาวคลื่นที่ 764 นาโนเมตร คำนวณปริมาณกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก

ของสารสกัดจากสาหร่ายเทาน้ำ 1 กรัม แสดงผลเป็นค่า gallic acid equivalents (GAE) โดยค่า GAE หมายถึง สารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ 1 กรัม มีค่า ฟีนอลิกเท่ากับ gallic acid ที่มีหน่วยเป็นมิลลิกรัม

1.6 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ด้วยวิธี Turkmen และคณะ (2005) โดยชั่งตัวอย่าง 0.3 กรัม ผสมด้วยเครื่องผสมในเมทานอล 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง นำส่วนใส 1 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสาร DPPH ในเมทานอล 0.1 มิลลิลิตร ปริมาณ 2 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 60 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปคำนวณหา % inhibition หรือการยับยั้งอนุมูลอิสระตามสมการดังนี้

$$\% \text{ inhibition} = [(\text{Abs.control} - \text{Abs.test sample}) / \text{Abs.control}] \times 100$$

Abs.control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

Abs.test sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบ

1.7 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

วิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS โดยดัดแปลงวิธีการของ Re และคณะ (1999) ดังนี้ ผสมสารละลาย 2, 2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร กับสารละลาย $K_2S_2O_8$ ความเข้มข้น 140 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 88 ไมโครลิตร ในขวดสีชาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง จะได้ stock ABTS radical cation ก่อนการทดสอบ เจือจาง stock ABTS radical cation ด้วยน้ำกลั่น ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 0.700 ± 0.05 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เริ่มการทดสอบโดยเตรียมสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง และใช้น้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม ต่อมาเติมสารละลาย ABTS ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 6 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร หลังจากนั้น นำค่าที่ได้ไปคำนวณหา % inhibition หรือการยับยั้งอนุมูลอิสระตามสมการดังนี้

$$\% \text{ Inhibition} = [(\text{Abs.control} - \text{Abs.test sample}) / \text{Abs.control}] \times 100$$

Abs.control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

Abs.test sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบ

เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารทดสอบหรือสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ 1 กรัมกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานคือ trolox ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิตามินอี ที่มีหน่วยเป็น mM หรือเรียกว่าค่า TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) ที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากัน

1.8 การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

การวิเคราะห์ ปริมาณคลอโรฟิลล์ตามวิธี Vonshak (1997) โดยนำสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ 0.1 กรัม ละลายในเมทานอล 20 มิลลิลิตร นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำตะกอนที่ได้มาเติมเมทานอล 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที นำส่วนใสไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 665 นาโนเมตร

ตอนที่ 2 การศึกษาผลของการใช้โคโตซานร่วมกับสารสกัดจากสาหร่ายทะเลที่มีผลต่อคุณลักษณะทางเคมี
กายภาพ และลักษณะประสาทสัมผัสของไส้กรอกหมูระหว่างการเก็บรักษา

2.1 ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างโคโตซานและสารสกัดจากสาหร่ายทะเล

การเตรียมสารเคลือบผสมโคโตซานและสารสกัดจากสาหร่ายทะเล

โคโตซาน ที่อัตราส่วนร้อยละ 0 0.5 0.75 และ 1.0



ละลายในกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 0.5



กลีเซอรอล ร้อยละ 0.75



เติมสารสกัดจากสาหร่ายทะเลที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 1.0 และ 1.5



ผสมกับ Tween 20 ร้อยละ 0.2



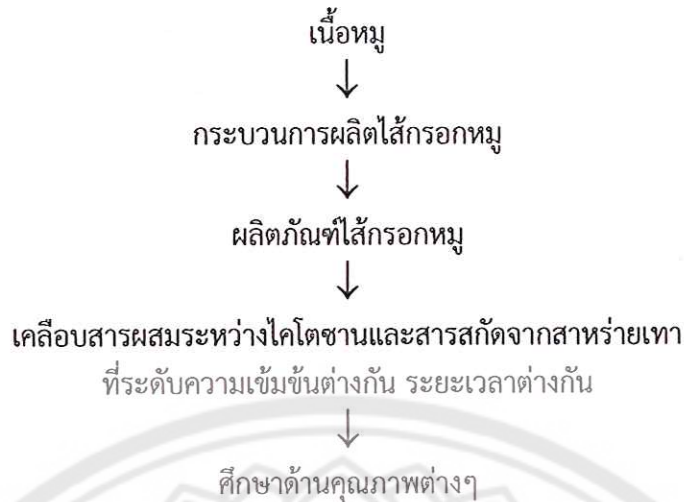
ผสมรวมกันเป็นเวลา 30 นาที



สารเคลือบผสม

ตัวอย่าง	อัตราส่วนความเข้มข้น (%)	
	โคโตซาน	สารสกัดจากเต้าน้ำ
ควบคุม	0	0
1	0.5	0.1
2	0.5	0.2
3	0.5	0.3
4	1.0	0.1
5	1.0	0.2
6	1.0	0.3
7	1.5	0.1
8	1.5	0.2
9	1.5	0.3

การศึกษาผลของการใช้โคโตซานร่วมกับสารสกัดจากสาหร่ายทะเลที่มีผลต่อคุณลักษณะทางเคมี
กายภาพ และลักษณะประสาทสัมผัสของไส้กรอกหมูระหว่างการเก็บรักษา



- ความชื้น (AOAC., 2000)
- Aw (AOAC., 2000)
- TBARS (Buge and Augt, 1978)
- วัดค่าสี L* a* b* ด้วยเครื่องวัดสี Hunter LAB (DP 9000)
- Texture profile analysis
- จุลินทรีย์ (APHA., 2000)

ตอนที่ 3 ศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารผสมระหว่างไคโตซานร่วมกับสารสกัดจากสาหร่ายและอายุเก็บรักษา

นำไส้กรอกหมูที่ผลิตได้จากสภาวะที่เหมาะสมที่ผลิตได้จากข้อ 13.4.1 นำมาบรรจุในถุงพลาสติก PE/Nylon ความหนา 80 ไมครอน เก็บรักษาในสภาพบรรยากาศปกติ บรรจุในถุงพลาสติก PE/Nylon ความหนา 80 ไมครอน เก็บรักษาในสภาพสุญญากาศ โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส)

ในระหว่างการเก็บรักษา สุ่มตัวอย่างทุกๆ 3 วัน โดยศึกษาจนกระทั่งผลิตภัณฑ์ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

ค่าที่ใช้ในการวิเคราะห์

- ความชื้น (AOAC., 2000)
- Aw (AOAC., 2000)
- TBARS (Buege and Augt, 1978)
- จุลินทรีย์ (APHA., 2000)
- pH (pH meter)
- วัดค่าสี L* a* b* ด้วยเครื่องวัดสี Hunter LAB (DP 9000)
- Texture profile analysis

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล
ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000



ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและอภิปรายผล

ตอนที่ 1 การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียและกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ

จากการศึกษาร้อยละผลได้ (% yield) ของสาหร่ายเทาน้ำที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอลร้อยละ 95 พบว่า การสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ให้ร้อยละผลได้เท่ากับ 41.78 ± 0.59 และการสกัดด้วยน้ำให้ร้อยละผลได้เท่ากับ 39.94 ± 0.43 ($P < 0.05$) ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ อีร์วัฒน์ และคณะ (2555) ที่พบว่า การสกัดสาหร่ายเทาน้ำด้วยน้ำจะมีร้อยละผลได้อยู่ในช่วง 28.02-33.30 และลักษณะของสารที่สกัดได้พบว่าจะมีลักษณะสีเขียวออกน้ำตาลเข้มเมื่อสกัดด้วยน้ำ และมีสีเขียวเข้มเมื่อสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 เมื่อพิจารณาปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่า สารสกัดสาหร่ายเทาน้ำที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงกว่าสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำที่สกัดด้วยน้ำ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 1) ทั้งนี้สาเหตุที่สารสกัดสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำมีปริมาณคลอโรฟิลล์น้อยกว่าสารสกัดสาหร่ายที่สกัดด้วยเอทานอล อาจเนื่องมาจากสาหร่ายเทาน้ำมีองค์ประกอบที่เป็นเมือกซึ่งเป็น Complex polysaccharide ที่ไม่ละลายน้ำ ทำให้สารที่สกัดได้มีลักษณะข้นเหนียวยากต่อการแยกตัวทำละลายออกจากสารสกัดและการนำไปใช้ในการทดสอบ ในขณะที่ตัวทำละลายเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารจากพืชสมุนไพร เนื่องจากแยกตัวทำละลายได้ง่ายและสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในการสกัด ประกอบกับตัวทำละลายชนิดนี้สามารถละลายสารสี (pigment) ออกมาได้มากกว่าตัวทำละลายน้ำ ดังนั้นเมื่อนำมาวัดปริมาณคลอโรฟิลล์จึงมีปริมาณมากกว่าสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำ (พิมพร, 2547)

ตาราง 2 ร้อยละผลได้ ลักษณะของสารสกัด และปริมาณคลอโรฟิลล์ของสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ เมื่อสกัดด้วยน้ำและเอทานอลร้อยละ 95

ตัวอย่างที่ศึกษา ค่า	ตัวทำละลาย	ลักษณะของสารสกัด	ร้อยละผลได้ (%น้ำหนักต่อ น้ำหนัก)	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (กรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)
สาหร่ายเทาน้ำ (<i>Spirogyra</i> sp.)	น้ำ	มีสีเขียวออกน้ำตาลเข้ม หนืด	39.94 ± 0.43^b	6.48 ± 1.81^b
	เอทานอลร้อยละ 95	มีสีเขียวเข้ม	41.78 ± 0.59^a	10.48 ± 1.52^a

** โดยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

จากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ ด้วยวิธี Disc diffusion เปรียบเทียบกับคลอแรมเฟนิคอล ซึ่งใช้เป็น positive control พบว่า สารสกัดสาหร่ายเทาน้ำด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้เพียงชนิดเดียวเท่านั้นคือ *S. aureus* และมีบริเวณ inhibitory zone เท่ากับ 10.79 ± 0.05 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำที่สกัดด้วยน้ำพบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิด (ตารางที่ 2) เนื่องมาจากในสาหร่ายมีรงควัตถุที่สำคัญคือคลอโรฟิลล์ซึ่งคลอโรฟิลล์มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยทำลายสิ่งแวดล้อมในเซลล์ (Mowbray, 1957) สอดคล้องกับปริมาณคลอโรฟิลล์ในสารสกัดสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำมีน้อยกว่าสาร

สกัดสาหร่ายที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 จึงทำให้สารสกัดสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ และเมื่อพิจารณาถึงชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดที่มีสภาพขั้วต่างกัน เมื่อนำไปสกัดสารสำคัญที่พบในพืชจะได้สารสำคัญที่แตกต่างกันด้วย ส่งผลให้ได้ผลทดสอบการต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่แตกต่าง

ตาราง 3 ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากสาหร่ายเทาน้ำที่สกัดด้วยด้วยน้ำ และเอทานอลร้อยละ 95

ตัวอย่างที่ศึกษา	ตัวทำละลาย	ขนาดบริเวณใสของการยับยั้งการเจริญ (inhibitory zone) (มิลลิเมตร)			
		<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>
สาหร่ายเทาน้ำ	น้ำ	0	0	0	0
	เอทานอลร้อยละ 95	10.79 ± 0.05	0	0	0
คลอแรมเฟนิคอล		23.38 ± 0.05	22.45 ± 0.19	22.15 ± 1.1	22.78 ± 0.12

MIC เป็นค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่นำมาทดสอบได้อย่างสมบูรณ์ ในการศึกษารั้งนี้ใช้วิธี Broth Dilution โดยใช้สารสกัดที่สาหร่ายเทาน้ำที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ทดสอบกับเชื้อ *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* และ *S. typhimurium* จากการศึกษาพบว่า สารสกัดสาหร่ายเทาน้ำที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ 50.0 mg/ml กล่าวคือต้องใช้สารสกัดสาหร่ายเทาน้ำที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่มีความเข้มข้นต่ำที่สุดเท่ากับ 50.0 mg/ml จึงจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดังตารางที่ 3

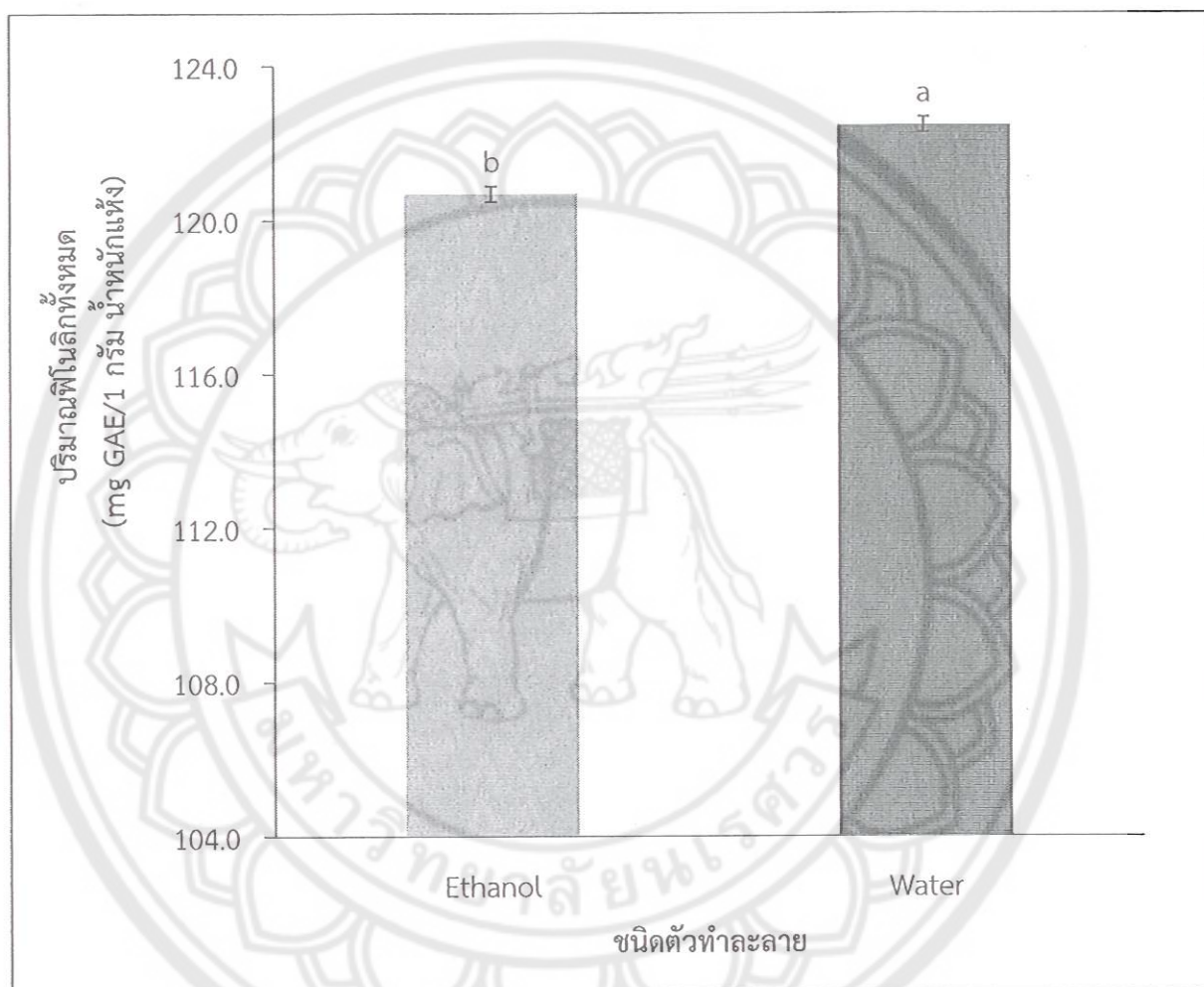
ตาราง 4 ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุด (MIC) ของสารสกัดจากสาหร่ายเทาน้ำที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

ตัวอย่างที่ศึกษา	ตัวทำละลาย	ค่า MIC ของสารสกัดจากสาหร่ายเทาน้ำ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			
		<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>
สาหร่ายเทาน้ำ	เอทานอลร้อยละ 95	50	ND	ND	ND

ND หมายถึง ไม่สามารถหาค่า MIC ได้

ในส่วนของการศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำโดยการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้เอทานอลและน้ำเป็นตัวทำละลาย พบว่า การใช้ตัวทำละลายที่ต่างกันมีผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัด ($P < 0.05$) โดยค่าที่วัดได้อยู่ในช่วง $120.67 \pm 0.37 - 122.45 \pm 0.20$ mg GAE/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ซึ่งน้ำเป็นตัวทำละลายที่สกัดให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าเอทานอลร้อยละ 95 โดยให้

ปริมาณ ฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 122.455 ± 0.20 mg GAE/100 กรัม น้ำหนักแห้ง (ภาพ 1) โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดขึ้นอยู่กับสมบัติการมีขี้และไม่ขี้ในตัวทำละลาย โดยสารประกอบฟีนอลิกจกสหาย่ายเทาน้ำสามารถละลายในตัวทำละลายที่มีขี้สูง น้ำเป็นตัวทำละลายมีขี้สูง เมื่อสกัดจะได้สารประกอบฟีนอลิกออกมาเป็นจำนวนมาก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ursula และคณะ (2005) ที่รายงานว่าคลอโรฟิลล์และสารกลุ่มไกล์เคียงกันมีความสามารถในกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และมีสมบัติที่ละลายน้ำได้



ภาพ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากเทาน้ำในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 และน้ำ

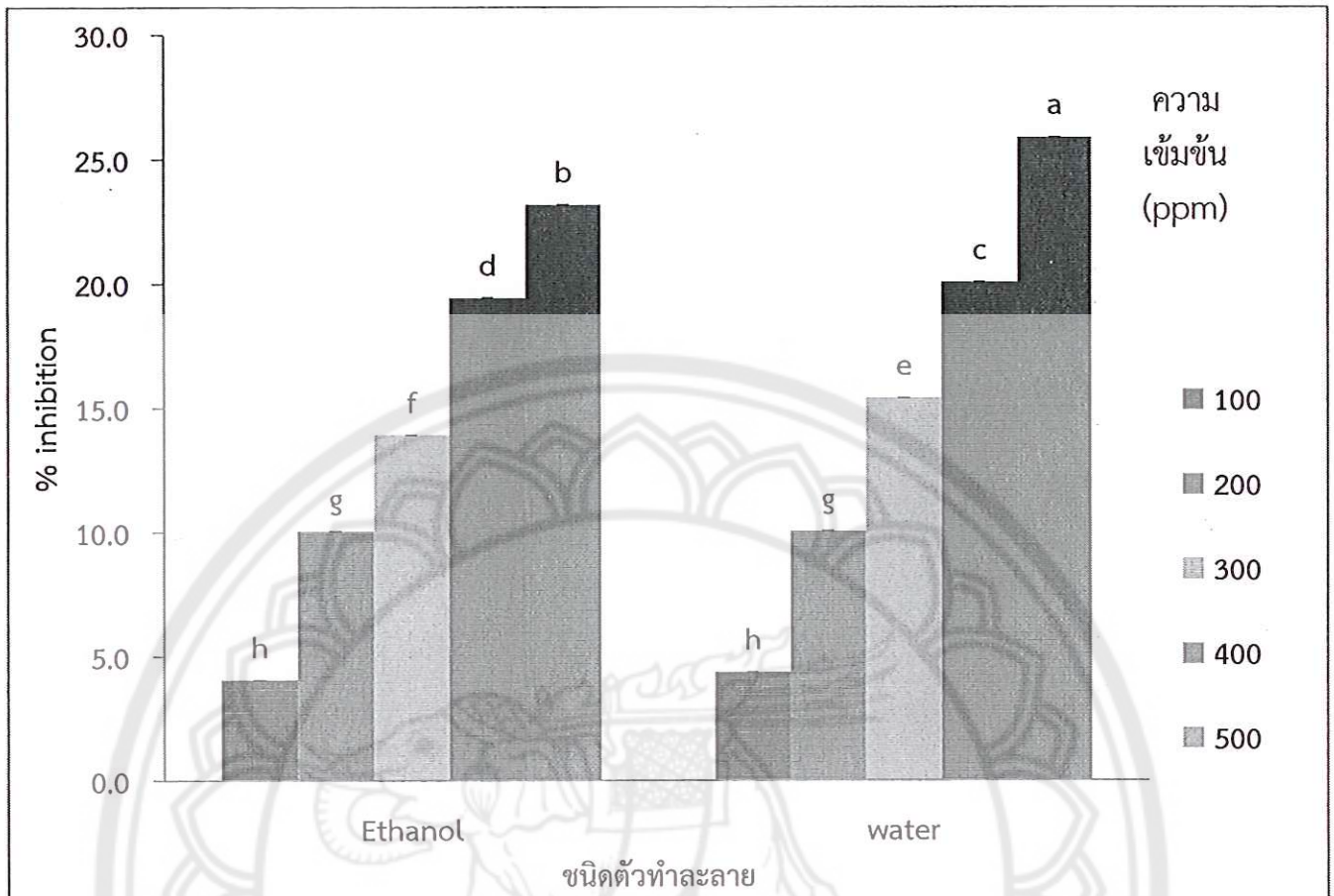
** โดยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

การหากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเท้าน้ำด้วยวิธี DPPH

ในการศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเท้าน้ำด้วยวิธี DPPH โดยทดสอบความสามารถในการยับยั้ง DPPH radical ของสารสกัด หากพบว่าสารละลายสีม่วงของ DPPH radical เปลี่ยนไปเป็นสีเหลืองมากขึ้นหรือมีการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ต่ำลงเรื่อยๆ และเมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณเป็น % inhibition ของการยับยั้ง DPPH radical แสดงว่าในสารสกัดสาหร่ายเท้าน้ำดังกล่าวมีสารซึ่งเป็นตัวให้อิโคโนเจนแก่ DPPH radical (ชวนพิศ, 2556)

จากการศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเท้าน้ำด้วยน้ำและเอทานอลร้อยละ 95 ด้วยวิธี DPPH พบว่าการใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน มีผลต่อ % inhibition ของสารสกัดสาหร่ายเท้าน้ำ โดยให้ค่า % inhibition ที่แตกต่างกันในช่วง 4.07 ± 0.01 - $25.89 \pm 0.01\%$ และตัวทำละลายที่ให้ค่า % inhibition สูงที่สุดคือน้ำ ที่ความเข้มข้นของสารสกัดสาหร่ายเท้าน้ำที่สกัดด้วยน้ำ 500 ppm ให้ค่า % inhibition เท่ากับ $25.89 \pm 0.01\%$ (ภาพ 2) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ชวนพิศ (2556) พบว่า % inhibition แปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารสกัดสาหร่ายเท้าน้ำด้วยน้ำ แสดงว่าในสารสกัดสาหร่ายเท้าน้ำดังกล่าว มีสารซึ่งเป็นตัวให้อิโคโนเจนแก่ DPPH radical



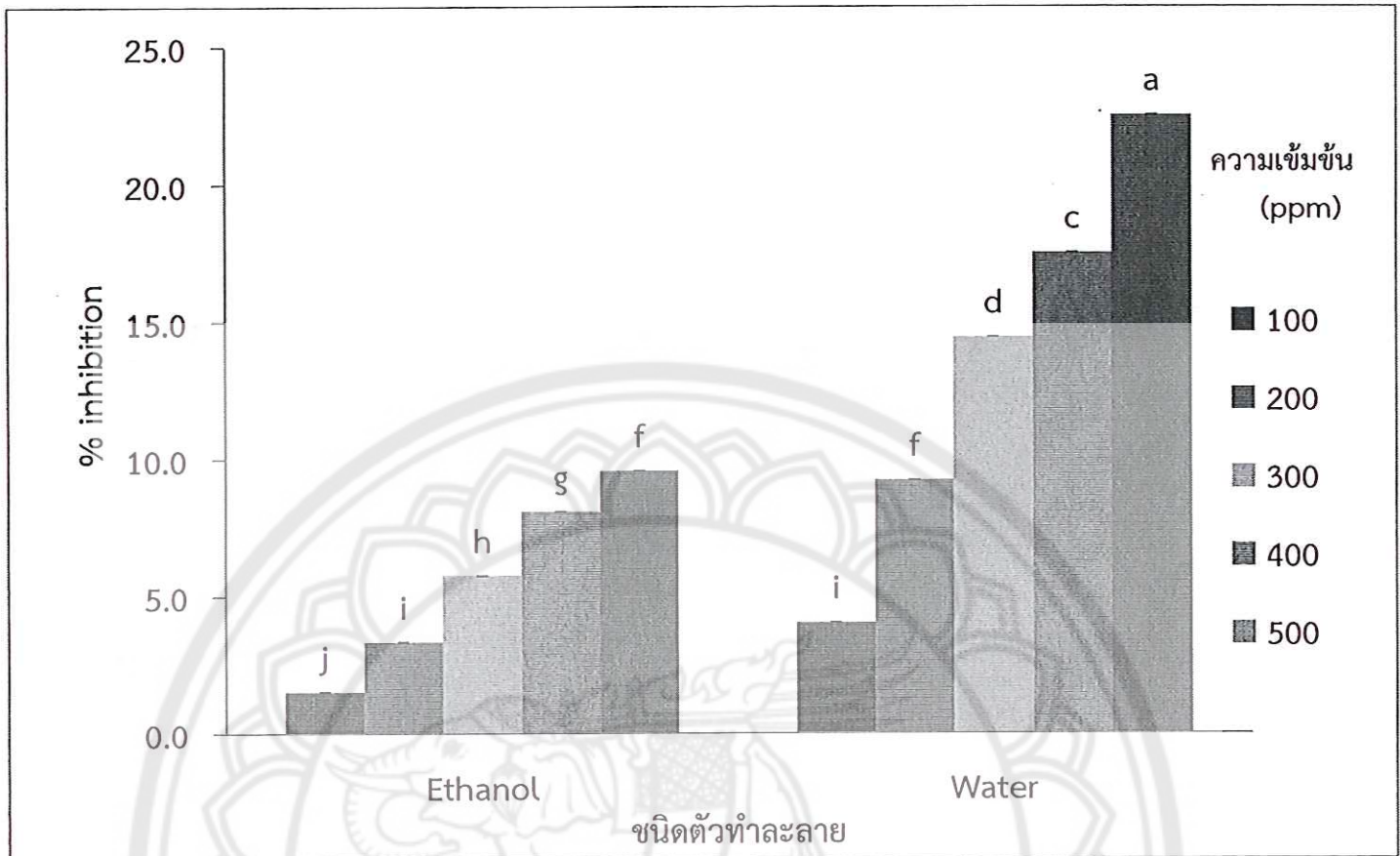


ภาพ 2 สมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และน้ำ โดยวัดค่าเป็น % ของการวิเคราะห์หาอนุมูล DPPH

** โดยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

การศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำด้วยวิธี ABTS

จากการศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ ด้วยวิธี ABTS โดยใช้เอทานอล ร้อยละ 95 และน้ำ เป็นตัวทำละลาย พบว่าการใช้ตัวทำละลายที่ต่างกัน มีผลต่อ % inhibition ของสารสกัด สาหร่ายเทาน้ำ โดยให้ค่า % inhibition ที่แตกต่างกันและค่าที่วัดได้อยู่ในช่วงร้อยละ 1.54 ± 0.01 - 22.52 ± 0.01 ตัวทำละลายที่ให้ค่า % inhibition สูงที่สุด คือ น้ำ ที่ความเข้มข้นของสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำที่ สกัดด้วยน้ำ 500 ppm ให้ค่า % inhibition เท่ากับร้อยละ 22.52 ± 0.01 (ดังภาพ 3) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย ของธนัชฐา และยุวดี (2550)



ภาพ 3 สมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเท้าน้ำด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 และน้ำ โดยวัดค่าเป็น % ของการวิเคราะห์หาอนุมูล ABTS

** โดยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

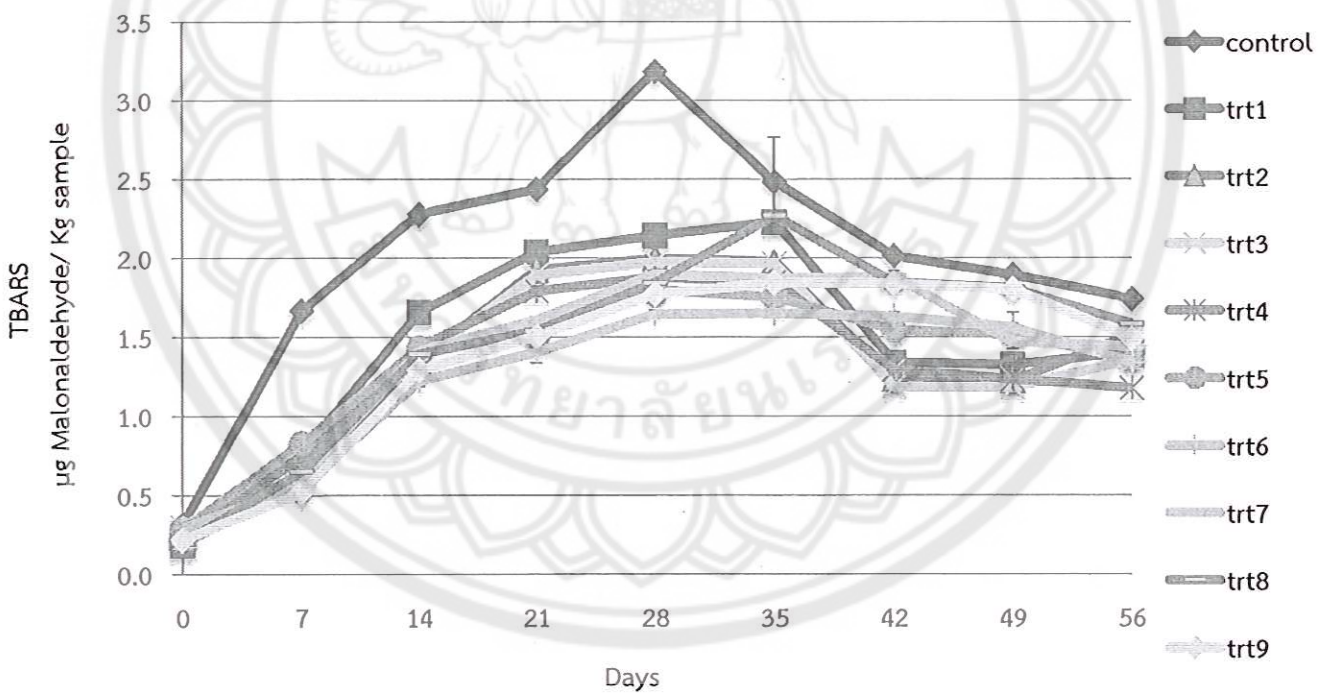
สรุปผลตอนที่ 1

การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดสาหร่ายเท้าน้ำด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 และน้ำ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดสาหร่ายเท้าน้ำด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีส่วนในการทำให้อาหารเน่าเสีย จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำสารสกัดสาหร่ายเท้าน้ำด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ไปพัฒนาเป็นสารถนอมอาหาร เพื่อช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้ ในขณะที่ตัวทำละลายน้ำเป็นตัวทำละลายที่ให้กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการยับยั้งกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระได้

ตอนที่ 2 การศึกษาอายุการเก็บรักษาของไส้กรอกอิมัลชันกับโคโตซานและสารสกัดเหาน้ำ

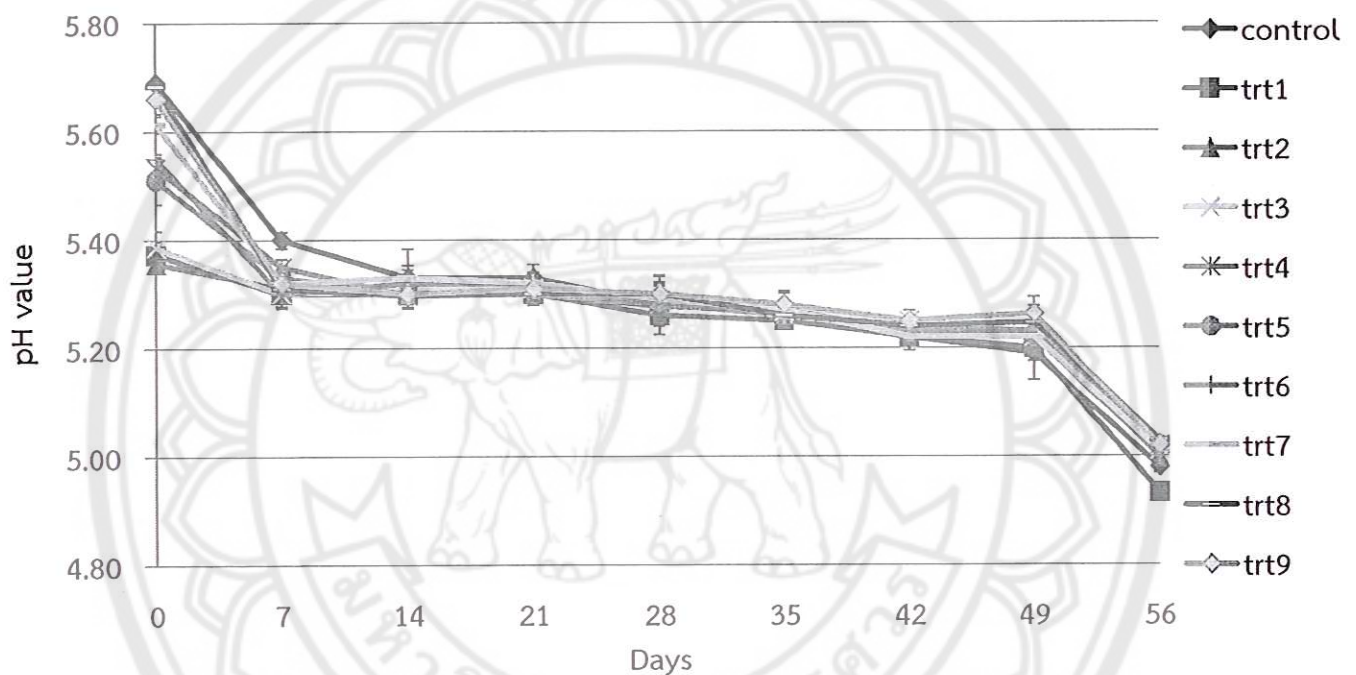
การวัดปริมาณกรดโรโอบาบิฟูริก (TBARS) เป็นการวัดค่าคุณภาพทางเคมีที่ทำการตรวจสอบในการศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอิมัลชัน เพื่อตรวจสอบค่าความหืน และค่า TBARS นี้ เป็นค่าที่ใช้ในการบ่งชี้ระดับความหืนของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอิมัลชัน หากค่า TBARS สูง ความหืนจะสูงตามไปด้วย ชวนพิศ เรืองพันธ์ (2556) จากการหาค่า TBARS ในไส้กรอกอิมัลชันที่เคลือบโคโตซานและสารสกัดสาหร่ายเหาน้ำ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสค่า TBARS เป็นการวัดปริมาณผลิตภัณฑ์อันดับสอง คือ มาโลนอลดีไฮด์ โดยเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในผลิตภัณฑ์

จากการศึกษาการหาค่า TBARS ในไส้กรอกอิมัลชันที่เคลือบโคโตซานและสารสกัดสาหร่ายเหาน้ำ พบว่า ค่า TBARS มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ชุดควบคุมมีค่า TBARS สูงกว่า ชุดตัวอย่างที่เคลือบโคโตซานและสารสกัดสาหร่ายเหาน้ำ ที่ระยะเวลาเก็บรักษา 56 วัน เนื่องจากสารสกัดสาหร่ายเหาน้ำ มีคุณสมบัติเป็นสารแอนติออกซิเดนต์ มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงทำให้ชุดตัวอย่างมีค่า TBARS ต่ำกว่าชุดควบคุม โดยมีค่าอยู่ในช่วง $0.185 \pm 0.012 - 2.267 \pm 0.024 \mu\text{g Malonaldehyde/ Kg sample}$ ซึ่งที่ระดับความเข้มข้นของโคโตซานต่อสารสกัดสาหร่ายเหาน้ำที่ความเข้มข้นต่างกัน มีผลต่อค่า TBARS โดยให้ค่าที่แตกต่างกันตามไปด้วยและชุดตัวอย่างให้ค่า TBARS ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) (ดังภาพ 4)



ภาพ 4 ค่า TBARS ($\mu\text{g Malonaldehyde/Kg sample}$) ของไส้กรอกอิมัลชันที่เคลือบโคโตซานและสารสกัดสาหร่ายเหาน้ำ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

จากการหาค่าความเป็นกรด - ด่าง ในไส้กรอกอิมัลชันที่เคลือบไคโตซานและสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา มีการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ของไส้กรอกอิมัลชัน เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลงซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของชวลิต, 2531 เนื่องจากค่าความเป็นกรด-ด่าง จะลดลงเรื่อยๆและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ก็จะเพิ่มขึ้น ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ผลิตกรดแลกติกออกมามากขึ้นตามไปด้วยจากจากการศึกษาความเป็นกรด - ด่าง ของไส้กรอกอิมัลชัน ในระหว่างการเก็บรักษา วันที่ 0 ถึง วันที่ 56 ค่าความเป็นกรด-ด่างของไส้กรอก มีค่าลดลงอย่างต่อเนื่อง แต่ชุดของตัวอย่างมีค่าความเป็นกรดสูงกว่าชุดควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ดังภาพ 5)

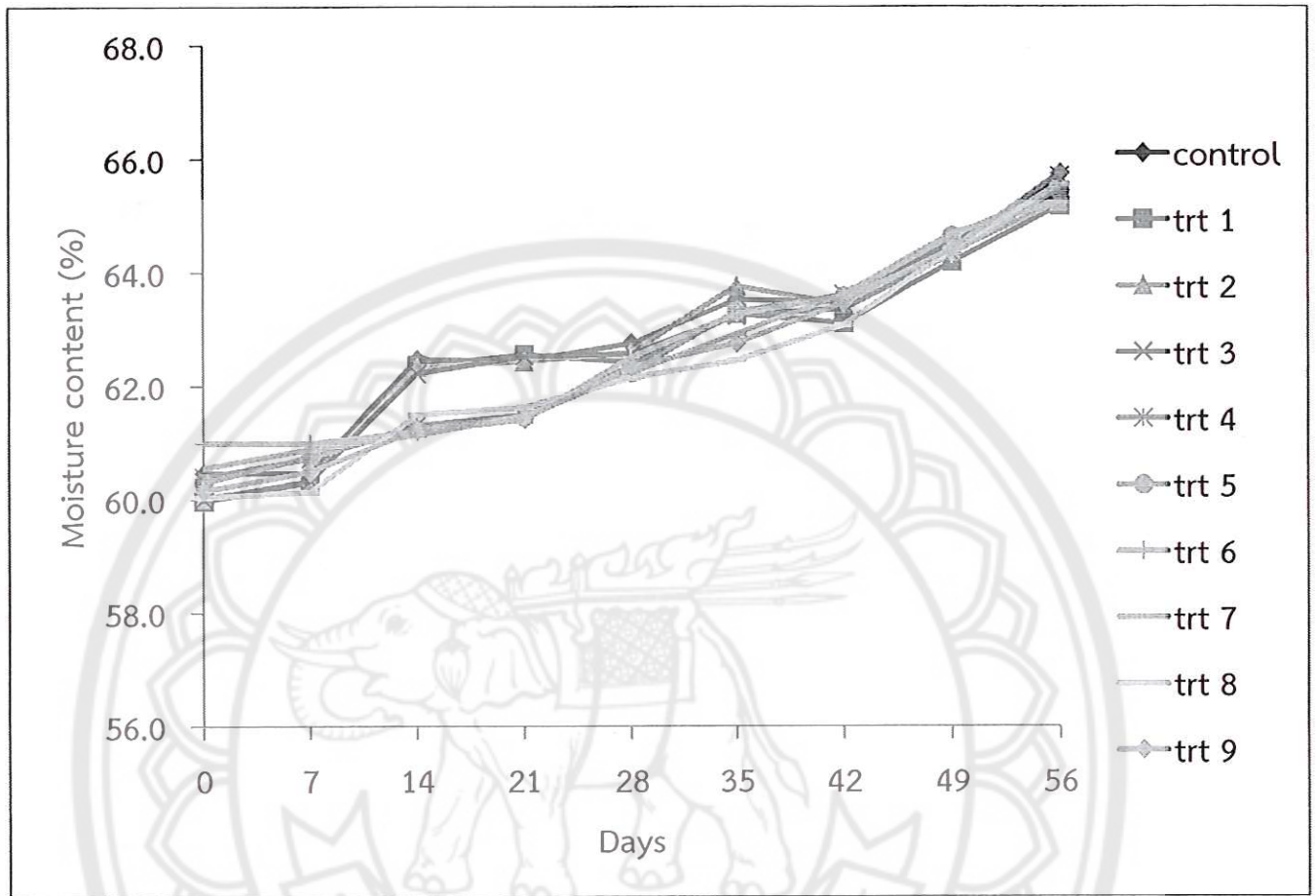


ภาพ 5 ค่าความเป็นกรดต่างของไส้กรอกอิมัลชันที่เคลือบไคโตซานและสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

ความชื้นมีผลต่อการเสื่อมเสียของอาหาร โดยเฉพาะการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ ซึ่งมีผลต่อกระทบต่ออายุของผลิตภัณฑ์ อาหารที่มีความชื้นหรือปริมาณน้ำสูงจะเป็นอาหารที่เสื่อมเสียง่าย เนื่องจากมีสภาวะเหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ และรา ซึ่งมีผลต่อความปลอดภัย อาหารที่มีน้ำสูงเหมาะกับการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค และการสร้างสารพิษ ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ รวมถึงการสร้างสารพิษของรา เช่น aflatoxin และ patulin ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

จากการศึกษาผลของไคโตซานและสารสกัดจากเทาน้ำต่ออายุการเก็บรักษาไส้กรอกอิมัลชันต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้น พบว่าไส้กรอกอิมัลชันมีปริมาณความชื้นเริ่มต้นอยู่ในช่วงร้อยละ 59.97 – 60.99 โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่าไส้กรอก

อิมัลชันมีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นทุกตัวอย่าง โดยมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 65.17 – 65.74 ($p>0.05$) แสดงดังภาพ 6

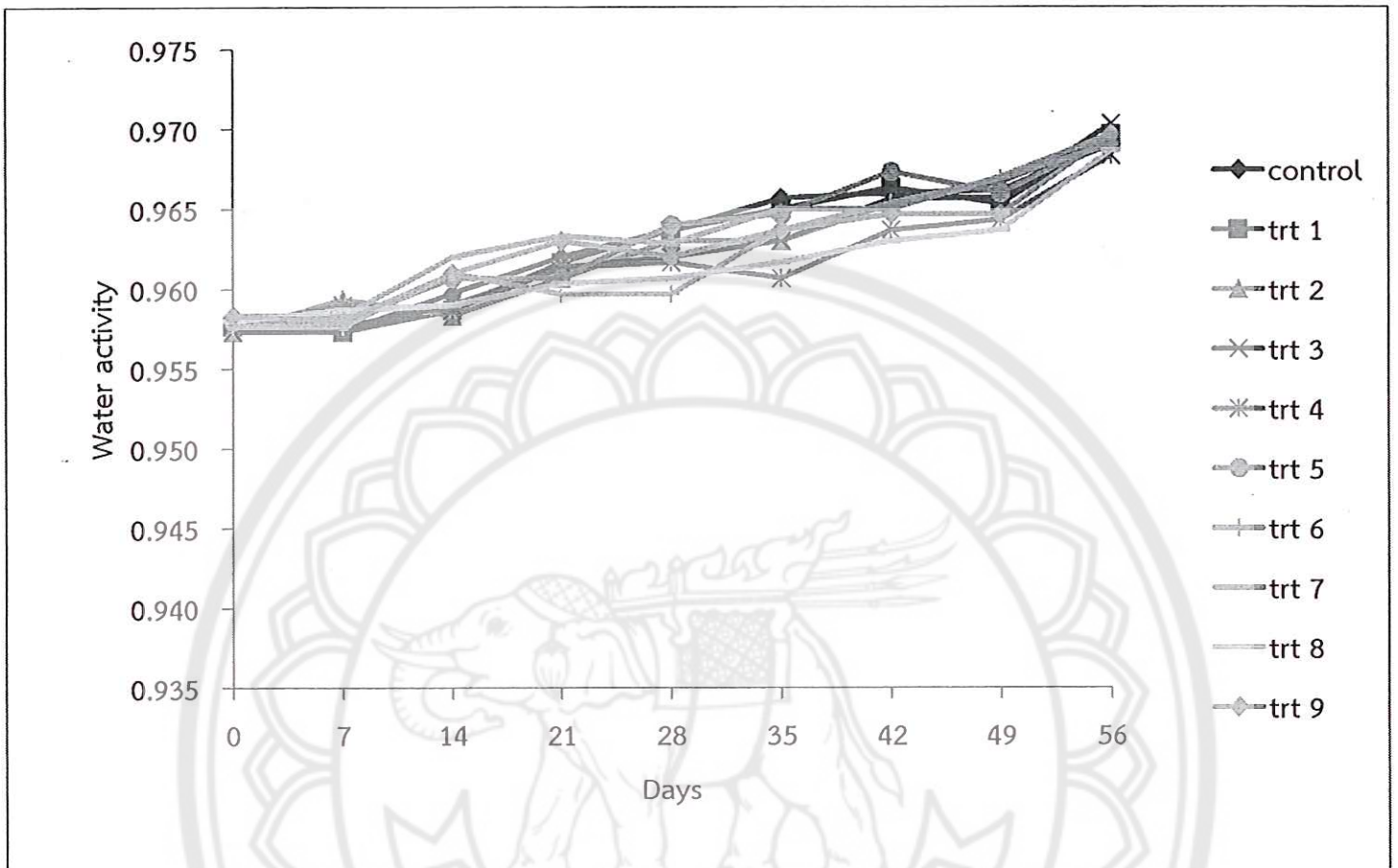


ภาพ 6 ปริมาณความชื้น (%) ของไส้กรอกอิมัลชันที่เคลือบโคโตซานและสารสกัดสำหรับเหาน้ำ ที่ความชื้นต่างกัน ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

วอเตอร์แอกทิวิตี้ เขียนย่อว่า aw เป็นค่าที่แสดงระดับพลังงานของน้ำ มีความสำคัญต่ออายุการเก็บ การเสื่อมเสีย และความปลอดภัยของอาหาร โดยที่ ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ เป็นอัตราส่วนของความดันไอ ของน้ำ ในอาหาร ทหารด้วยความดันไอน้ำบริสุทธิ์ ที่อุณหภูมิและความดันเดียวกัน

จากการศึกษาผลของโคโตซานและสารสกัดจากเหาน้ำต่ออายุการเก็บรักษาไส้กรอกอิมัลชันต่อการเปลี่ยนแปลงค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ พบว่าไส้กรอกอิมัลมีวอเตอร์แอกทิวิตี้ เริ่มต้นอยู่ในช่วงร้อยละ 0.957 – 0.958 โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่าไส้

กรอกอิมัลชันมีค่าวอเตอร์แอกทีวิตี้ เพิ่มขึ้นทุกตัวอย่าง โดยมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 0.968 - 0.970 ($p>0.05$) แสดงดังภาพ.....

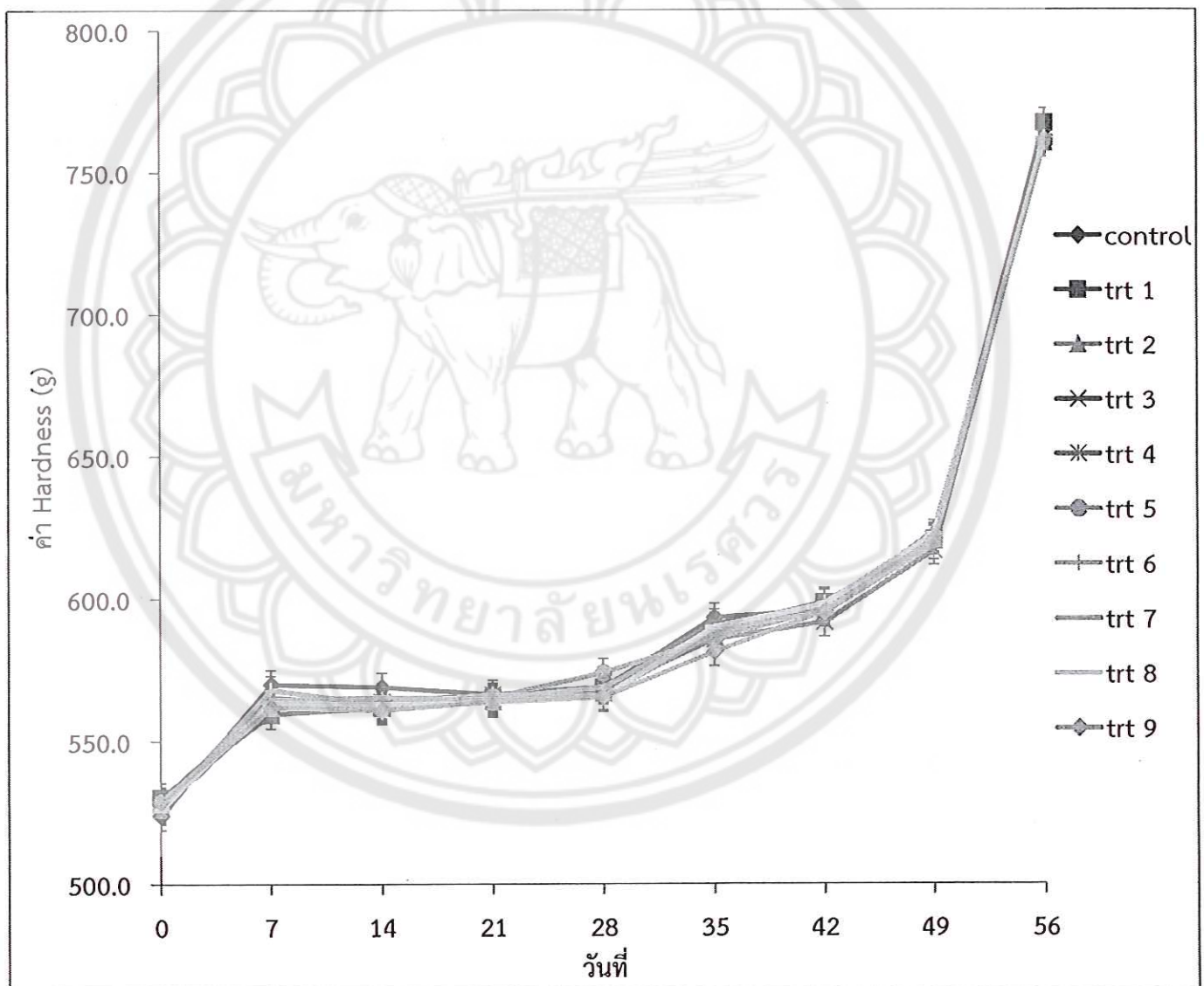


ภาพ 7 ค่า a_w ของไส้กรอกอิมัลชันที่เคลือบโคโคซานและสารสกัดสาหร่ายทะเลน้ำ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

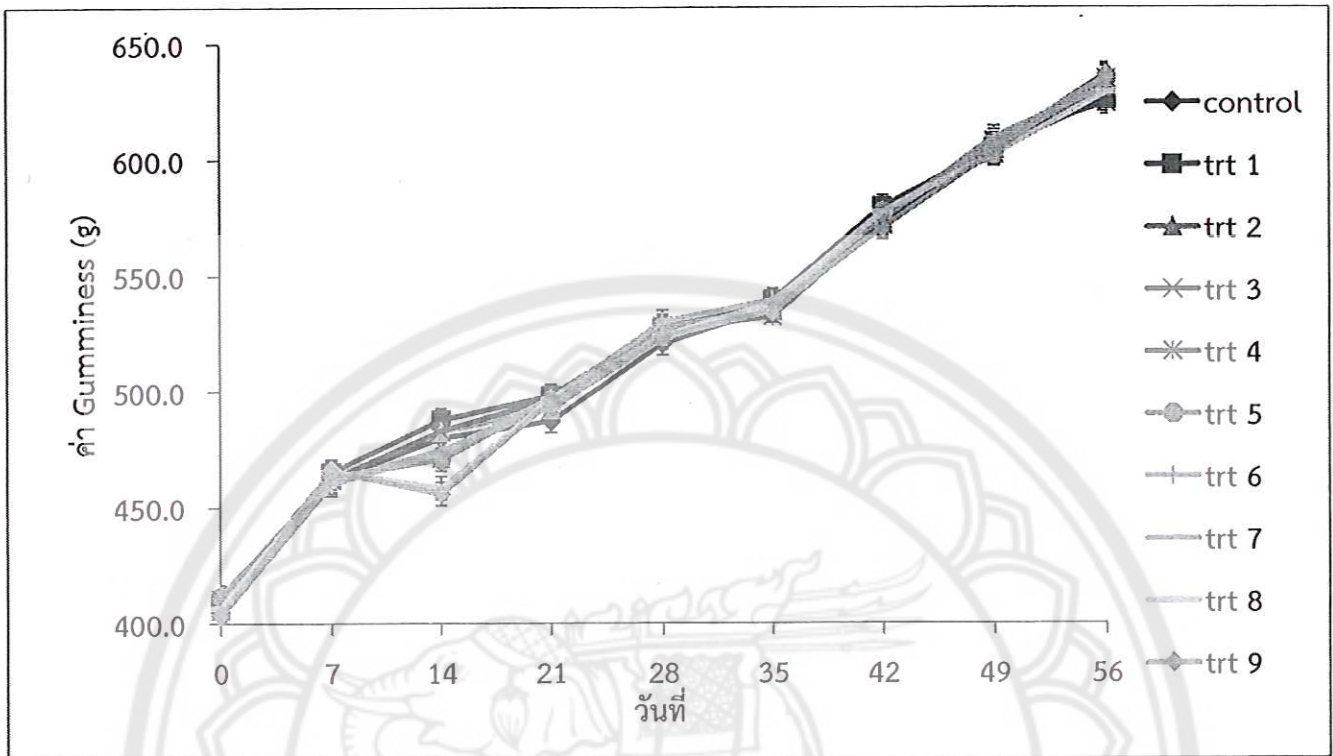
เนื้อสัมผัส (texture) หมายถึง ลักษณะที่มนุษย์สามารถรับรู้ได้ด้วยการสัมผัส ผู้บริโภครับรู้เนื้อสัมผัสของอาหารได้ด้วยการสัมผัสด้วยมือ โดยการจับ ตะบอง บีบ บี ระหว่างการปอกเปลือก การสัมผัสด้วยฟัน เพดานปาก ลิ้น และอาจรับรู้ด้วย การฟังเสียงจากการตัด การเคี้ยว เนื้อสัมผัสเป็นสมบัติเชิงรีโอโลยี (rheological properties) ของวัสดุ คำว่าเนื้อสัมผัสของอาหาร มักใช้กับอาหารแข็ง หรืออาหารกึ่งแข็ง หากเป็นอาหารเหลว มักอธิบายด้วย ความหนืด (viscosity) สมบัติด้านเนื้อสัมผัสของอาหาร มีความสัมพันธ์กับคุณภาพของอาหารโดยตรง และเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อ การยอมรับของผู้บริโภค อาหารหลายชนิดที่ผู้บริโภคใช้เนื้อสัมผัสเป็นเกณฑ์หลักเพื่อพิจารณา ตัดสินการยอมรับ และมีผลอย่างยิ่งกับระดับความชอบ

จากการศึกษาผลของโคโตซานและสารสกัดจากเท้าน้ำต่ออายุการเก็บรักษาไส้กรอกอิมัลชันต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้น โดยศึกษาค่า Hardness คือ ความแน่นแข็ง ซึ่งพบว่าไส้กรอกอิมัลชันมีค่า Hardness เริ่มต้นอยู่ที่ 524.0 – 530.5 g เมื่อเก็บตัวอย่างไส้กรอกอิมัลชันไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 56 วัน พบว่า ค่า Hardness เพิ่มขึ้นทุกอย่าง โดยมีค่าอยู่ในช่วง 760.33 – 767.33 g (ภาพ 8) โดยทุกตัวอย่างไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

จากการศึกษาผลของโคโตซานและสารสกัดจากเท้าน้ำต่ออายุการเก็บรักษาไส้กรอกอิมัลชันต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้น โดยศึกษาค่า Gumminess คือ ความเหนียวติดยึด ซึ่งพบว่าไส้กรอกอิมัลชันมีค่า Gumminess เริ่มต้นอยู่ที่ 403.45 – 411.64 g เมื่อเก็บตัวอย่างไส้กรอกอิมัลชันไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 56 วัน พบว่า ค่า Gumminess เพิ่มขึ้นทุกอย่าง โดยมีค่าอยู่ในช่วง 624.69 – 636.66 g (ภาพ 9) โดยทุกตัวอย่างไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)



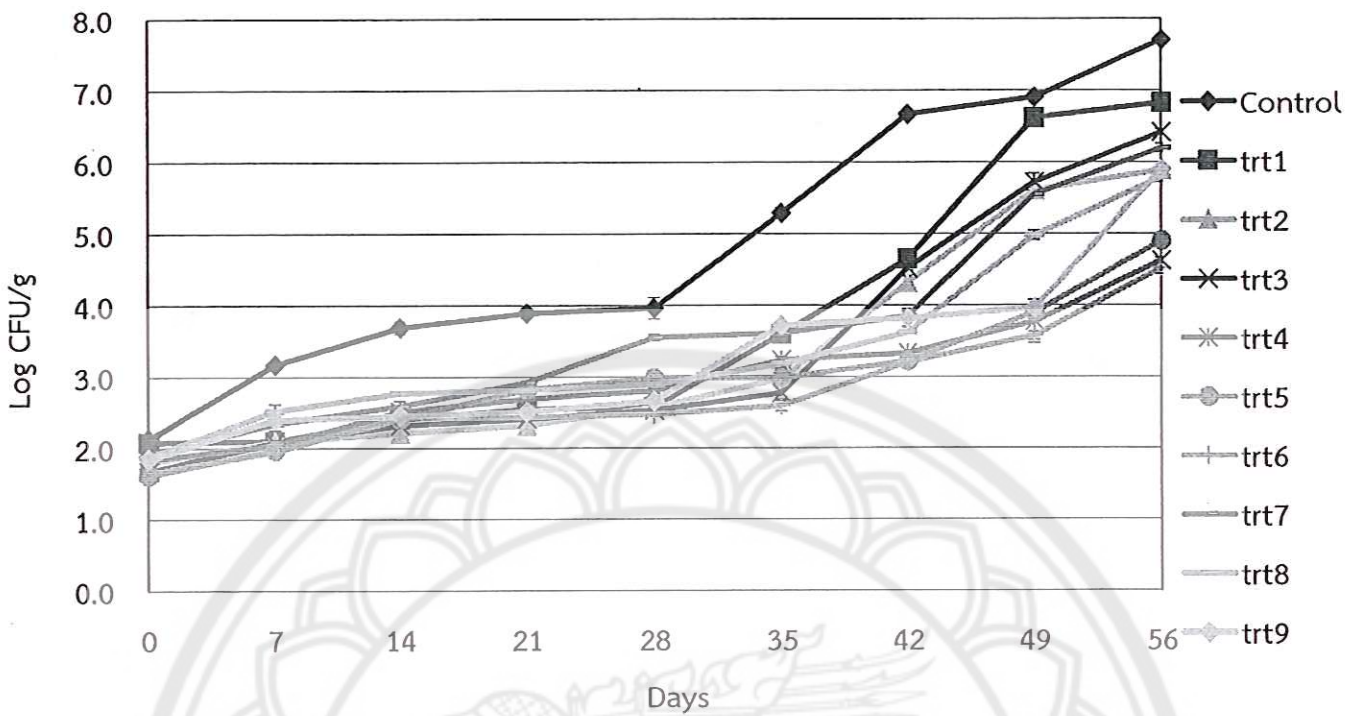
ภาพ 8 ค่า Hardness ในตัวอย่างไส้กรอกด้วยสารผสมระหว่างสารละลายโคโตซานและเท้าน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C



ภาพ 9 ค่า Gumminess ในตัวอย่างไส้กรอกด้วยสารผสมระหว่างสารละลายโคโตซานและเทาน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

จากมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเรื่องกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมไส้กรอกแพรงก์เฟอร์เตอร์ ระบุไว้ว่า จะต้องมียานวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 10^5 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม เชื้อเอสเชอริเชีย โคลไล (*Escherichia coli*) โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN) น้อยกว่า 3 ในตัวอย่าง 1 กรัม เชื้อแซลโมเนลลา (*Salmonella*) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม เชื้อสแตฟีโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม เชื้อคลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (*Clostridium perfringens*) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.01 กรัม (มอก. 2299 – 2549)

ซึ่งจากการศึกษา พบว่า ตัวอย่างที่เคลือบโคโตซานและสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ต่ำกว่าตัวอย่างที่เป็นชุดควบคุม เนื่องจากโคโตซาน มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ ชุดตัวอย่างที่ผ่านการเคลือบ จึงมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่าชุดควบคุมและพบว่า ในการทดลองนี้ในทุกตัวอย่างมีปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* น้อยกว่า 3 CFU/g ในตัวอย่าง 1 กรัม ไม่พบ *Salmonella*, *Clostridium perfringens* และ *Staphylococcus aureus* ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐาน (ดังภาพ 10) (ตาราง 2, 3, 4 และ 5)



ภาพ 10 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างไส้กรอกด้วยสารผสมระหว่างสารละลายโคโคซานและแทน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

ตาราง 5 ปริมาณ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างไส้กรอกด้วยสารผสมระหว่างสารละลายโคโคซานและเทาน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

ระยะเวลาเก็บ (วัน)	<i>Salmonella</i> spp. (Log CFU/g)									
	Control	Trt1	Trt2	Trt3	Trt4	Trt5	Trt6	Trt7	Trt8	Trt9
0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
14	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
21	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
28	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
35	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
42	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
49	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
56	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

หมายเหตุ ND = Not detect

ตาราง 6 ปริมาณ *Clostridium perfringens* ในตัวอย่างไส้กรอกด้วยสารผสมระหว่างสารละลายโคโตซาน และเทาน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

ระยะเวลาเก็บ (วัน)	<i>Clostridium perfringens</i> (Log CFU/g)									
	Control	Trt1	Trt2	Trt3	Trt4	Trt5	Trt6	Trt7	Trt8	Trt9
0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
14	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
21	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
28	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
35	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
42	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
49	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
56	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

หมายเหตุ ND = Not detect

ตาราง 7 ปริมาณ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างไส้กรอกด้วยสารผสมระหว่างสารละลายโคโตซาน และเทาน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

ระยะเวลาเก็บ (วัน)	<i>Staphylococcus aureus</i> . (Log CFU/g)									
	Control	Trt1	Trt2	Trt3	Trt4	Trt5	Trt6	Trt7	Trt8	Trt9
0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
14	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
21	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
28	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
35	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
42	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
49	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
56	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ตาราง 8 ปริมาณ *Escherichia coli* ในตัวอย่างไส้กรอกด้วยสารผสมระหว่างสารละลายโคโตซานและเทาน้ำ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างอายุการเก็บรักษา 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4°C

ระยะเวลาเก็บ (วัน)	<i>Escherichia coli</i> (MPN/g)									
	Control	trt1	trt2	trt3	trt4	trt5	trt6	trt7	trt8	trt9
0	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
7	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
14	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
21	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
28	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
35	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
42	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
49	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
56	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3

ดังนั้น จึงเลือกตัวอย่างที่ 4 เป็นตัวอย่างที่ดีที่สุด โดยตัวอย่างที่ 4 มีอัตราส่วนของโคโตซาน 1.0% ต่อสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำ 0.1% มีค่า TBARS ค่าความเป็นกรด - ด่าง และมีค่าเชื้อจุลินทรีย์เป็นไปตามมาตรฐาน อย่างไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$)

บทที่ 5

บทสรุป

1. การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 และน้ำ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดสาหร่ายเทาน้ำด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีส่วนในการทำให้อาหารเน่าเสีย จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำสารสกัดสาหร่ายเทาน้ำด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ไปพัฒนาเป็นสารถนอมอาหาร เพื่อช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้ ในขณะที่ตัวทำละลายน้ำเป็นตัวทำละลายที่ให้กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการยับยั้งกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระได้

2. ผลของไคโตซานและสารสกัดจากเทาน้ำต่ออายุการเก็บรักษาไส้กรอกอิมัลชันต่ออายุการเก็บรักษา พบว่าตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาสารสกัดจากสาหร่ายเทาน้ำไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ระหว่างไส้กรอกที่เคลือบด้วยสารสกัดจากเทาน้ำและไคโตซานกับไส้กรอกควบคุม ($p > 0.05$) สำหรับการทดสอบ TBARS พบว่าไส้กรอกที่ผ่านการเคลือบสารสกัดจากสาหร่ายเทาน้ำทั้งหมด ($p > 0.05$) สามารถยับยั้งการเสื่อมเสียจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าชุดควบคุม ($p < 0.05$) ตลอดในระยะเวลาเก็บรักษา เมื่อพิจารณาการศึกษาอายุการเก็บรักษาของไส้กรอกอิมัลชันจากปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า ไส้กรอกที่ผ่านการเคลือบด้วยสารสกัดจากเทาน้ำที่มีความเข้มข้น 0.1 % ร่วมกับไคโตซานที่มีความเข้มข้น 1.0 % เป็นชุดตัวอย่างที่มีแนวโน้มของอัตราการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ต่ำที่สุด ($p < 0.05$) สามารถเก็บรักษาได้ไม่น้อยกว่า 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยเป็นไปตามข้อกำหนดมาตรฐานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมไส้กรอกแพรร่งค์เฟอร์เตอร์ มอก. 2299-2549 ซึ่งสามารถเก็บรักษาได้นานกว่าไส้กรอกที่ไม่ผ่านการเคลือบ ที่เก็บรักษาได้เพียงไม่เกิน 35 วันเท่านั้น

เอกสารอ้างอิง

- ชวนพิศ เรืองพันธ์. 2556. ผลของสภาวะการอบแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายเท้าน้ำอบแห้ง ปรุณรส. วิทยานิพนธ์ วบ.ม. มหาวิทยาลัยนเรศวร. พิษณุโลก.
- ธนัชฐา มาลัยวรรณ และยุวดี พีรพรพิศาล. 2550. มีนาคม. การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่ายเกลอองและเตา. ในเอกสารการประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติครั้งที่ 3 (หน้า 120). เชียงใหม่: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ธีระวัฒน์ รัตนพจน์ เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน ชุตติมา ศรีมะเริง รัตนภรณ์ จันทรทิพย์ และดวงพร อมรเลิศพิศาล. 2555.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและผลการเสริมสาหร่ายเตาต่อการเจริญเติบโตของปลานิลในกระชัง. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง, 6, 23-34.
- ฐิติกานต์ ปัญญาใหญ่. 2551. กิจกรรมต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเตา *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- ฐิติกานต์ ปัญญาใหญ่ ยุวดี พีรพรพิศาล ชยากร ภูมาศ และปานมุก วัชรปิยะโสภณ. 2550. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ *Spirogyra* spp. เอกสารการประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 3 วันที่ 21-23 มีนาคม 2550. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- นภาพร เชี่ยวชาญ และ ธนารัตน์ ศรีธรรมาวิช. 2547. โคโตแซนกับการยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหาร. อาหาร. เมษายน-มิถุนายน. 34 (2) :120-124.
- บุญมี ปิยะจันทร์. 2530. การวิเคราะห์สารอาหารพื้นบ้าน เส้นใย และเถ้า ใน *Spirogyra* sp. การค้นคว้าแบบอิสระ วิทยาศาสตร์บัณฑิต. ภาควิชาชีววิทยา และวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- บุญศรี จงเสรีจิตต์, ผุสดี นาคพลายพันธ์ และสุวบุญ จิรชาญชัย. 2547. การยับยั้งแบคทีเรียในอาหารโดยโคโตแซน :Antibacterial activity of chitosan against food microorganisms. วารสารวิทยาศาสตร์. มีนาคม-เมษายน. 88-94.
- บุษกร อุดรภิชชาติ. 2547. จุลชีววิทยาทางอาหาร. มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา.
- ปาวลี ศรีสุขสมวงศ์. 2550. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่ายทะเล *Caulerpa racemosa* var. *corynephora* (Montagne) Weber-van Bosse. การค้นคว้าแบบอิสระ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- พิมพ์ สีสภาพพิสิฐ. 2547. เครื่องสำอางธรรมชาติ ผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหน้า. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.
- มาลัย วรวิจิตร. 2545. แบคทีเรียก่อโรค. สยามศิลป์การพิมพ์, กรุงเทพฯ.
- ยุวดี พีรพรพิศาล. 2535. คุณค่าทางโภชนาการและการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirogyra* spp. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, กรุงเทพมหานคร.
- เยาวดี รุ่งเรือง และสุพิชญา จันทะชุม 2552. กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดคลอโรฟิลล์ด้วยเอทานอลจากผักเหมียง. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 47 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (หน้า 314-321). กรุงเทพฯ
- รัชนี เชี่ยวเงิน. 2535. การศึกษาชนิดสาหร่ายและคุณภาพของน้ำในสระแก้ว และบึงราชนก. ปริญญาโท วท.บ., มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก.
- วราวุฒิ ครุสง. 2548. จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- สุดสาย ตรีวานิช. 2545. จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Akkasit, J., S. Benjakul, W. Visessanguan, T. Prodpran and M. Tanaka. 2006. Characterization of edible films from skin gelatin of brownstripe red snapper and bigeye snapper. *Food Hydrocolloids*. 20 :492-501
- Alejandra, G.P., S.I. Roura, C.E.D. Valle and M.R. Moreira. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: *In vitro* and *in vivo* studies. *Postharv. Biol. Technol.* 49: 294-300.
- AOAC 2000. Official Methods of Analysis. 15th ed., A.O.A.C. Inc., Washington, D.C. 1141 p.
- APHA. 2000. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3ed., American Public Health Association, Washinton, D.C. 1219 p.
- Buege J.A. and Aust S.D. 1978. Microsomal lipid peroxidation, *Method in Enzymology*.52: 302-310.
- Devlieghere, F., Vermeulen, A., and Debevere, J. 2004. Chitosan : antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*. 21:703-714.
- Debro, L. H. and H. B. Ward. 1979. Antibacterial Activity of freshwater Green algae. *Planta Med.* 36: 375-378.
- Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C. and Almeida, L. M. 1994. Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Architecture of Biochem... and Biophysical*, 315:161-169.
- Harish Prashanth, KV. and Tharanathan, RN. 2007. Chitin/chitosan : modifications and their unlimited application potential – an overview. *Trends in Food Science & Technology*. 18 (3) :117-131.
- Hou, W. C. Chen, Y. C., Lin, Y. H., Yang, L. L. and Lee, M. H. 2001. Antioxidant activities of trypsin inhibitor a 33 KDa root storage protein of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam cv. Tainong 57. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 2978-2981.
- Lacroix, M., B. Ouattara, L. Saucier, M. Giroux and W. Smoragiewicz. 2004. Effect of gamma irradiation in presence of ascorbic acid on microbial composition and TBARS concentration of ground beef coated with an edible active coating. *Radiat. Phys. Chem.*71: 71-75.
- Mi, FL., et al. 2006. Physicochemical, antimicrobial, and cytotoxic characteristics of a chitosan film cross-linked by a naturally occurring cross-linking agent, aglycone geniposidic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54 (9) : 3290-3296.
- Moller, H., et al. 2004. Antimicrobial and physicochemical properties of chitosan-HPMC-based films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52 : 6585-6591.
- No, HK., et al. 2007. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods : a review. *Journal of Food Science*. 72 (5) : R87-R100.

- Mowbray, S. 1957. The antibacterial activity of chlorophyll. *British Medicine Journal*, 2, 268-270.
- Oliu, G.O., R.S. Fortuny and O.M. Belloso. 2008. Using polysaccharide-based edible coatings to enhance quality and antioxidant properties of fresh-cut melon. *LWT*. 41: 1862-1870
- Ouattara, B., M. Giroux, R. Yefsah, W. Smoragiewicz, L. Saucier, J. Borsa and M. Lacroix. 2002. Microbiological and biochemical characteristics of ground beef as affected by gamma irradiation, food additives and edible coating film. *Radiat. Phys. Chem.* 63: 299-304.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannale, A., Yang, M., and Rice-Evan, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorisation assay. *Journal of Free Radical Biology and Medicine*, 26(9/10): 1231-1237.
- Shahidi, F. and Naczk, M. 1995. *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications*, Technomic Publishing Company Inc., Lancaster PA., pp: 231-245.
- Terada, S., Maeda, Y., Masui, T., Suzuki Y. and Ina, K. 1987. Comparison of caffeine and catechin components in infusion of various tea and tea drinks. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, Japan*, 34: 20-2
- Turkmen, N., Sari, F. and Velioglu, S. 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*, 93(4), 713-718.
- Ursula, M.L.M., Barros, R.M.C. and Sinnecker, P. 2005. Antioxidant activity of chlorophylls and their derivatives. *Food Research International*. 38 (8-9), 885-891.
- Vonshak, A. 1997. *Spirulina*, Growth, Physiology and Biochemistry. In: Vonshak, A.(ed) *Spirulina Platensis (Arthospira) Physiology, Cell biology and Biotechnology*. London: Taylor and Francis. 43-66.
- Zivanovic, S., S. Chi and A.F. Draughon. 2005. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *J. Food Sci.* 70: 45-51.





มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ไส้กรอกแฟรงค์เฟอร์เตอร์

1. ขอบข่าย

- 1.1 มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้ครอบคลุมเฉพาะไส้กรอกแฟรงค์เฟอร์เตอร์ โดยไม่รวมถึงไส้กรอกแฟรงค์เฟอร์เตอร์ที่บรรจุในภาชนะที่ปิดสนิทที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนสูง

2. บทนิยาม

- ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้ มีดังต่อไปนี้
- 2.1 ไส้กรอกแฟรงค์เฟอร์เตอร์ ซึ่งต่อไปในมาตรฐานนี้จะเรียกว่า “แฟรงค์เฟอร์เตอร์” หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเนื้อสัตว์และไขมัน เครื่องเทศ เครื่องปรุงรส และวัตถุเจือปนอาหารอื่น โดยการนำมาบดผสมกันอย่างละเอียดจนอยู่ในรูปอิมัลชัน แล้วบรรจุในไส้แกะหรือแพะ ขนาดเบอร์ 18/20 ถึง 20/22 ยาวประมาณ 13 เซนติเมตร ถึง 17 เซนติเมตร อาจรมควันหรือโดยวิธีอื่นที่เทียบเท่า แล้วทำให้สุกโดยอุณหภูมิภายในไม่ต่ำกว่า 72 องศาเซลเซียส
- 2.2 เนื้อสัตว์ (meat) หมายถึง เนื้อจากกล้ามเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle) ของโค กระบือ สุกรหรือไก่ที่ปราศจากกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ สิ่งแปลกปลอม และเหมาะสมสำหรับเป็นอาหารบริโภคได้
- 2.3 ไขมัน หมายถึง ไขมันจากสุกร ไก่ เป็ด หรือน้ำมันพืช
- 2.4 ไบน์เดอร์ (binder) หมายถึง สิ่งผสมในไส้กรอกเพื่อช่วยปรับปรุงเนื้อของไส้กรอก ได้แก่ โปรตีนนม (milk protein) และโปรตีนถั่วเหลือง (soy protein)
- 2.5 ขนาดเบอร์ หมายถึง เส้นรอบวงของไส้ที่ใช้บรรจุเป็นมิลลิเมตร

3. ส่วนประกอบ

- 3.1 ส่วนประกอบหลัก
- 3.1.1 เนื้อสัตว์ ต้องได้จากโรงฆ่าสัตว์ที่ถูกต้องตามกฎหมาย
- 3.1.2 ไขมัน
- 3.1.3 เครื่องปรุง เช่น เกลือบริโภค เครื่องเทศ เครื่องปรุงรส
- 3.2 ส่วนประกอบอื่นที่อาจมีได้
- 3.2.1 น้ำตาล
- 3.2.2 ไบน์เดอร์ ใช้ได้ไม่เกินร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก สำหรับโปรตีนนมและโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลต ยกเว้น โปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้น ใช้ได้ไม่เกินร้อยละ 3.5 โดยน้ำหนัก

4. คุณลักษณะที่ต้องการ

- 4.1 ลักษณะทั่วไป
- 4.1.1 สี
ต้องมีสีสม่ำเสมอตามชนิดเนื้อสัตว์ที่ใช้ทำและกรรมวิธีที่ทำ
- 4.1.2 กลิ่นรส
ต้องมีกลิ่นหอมน่ารับประทาน รสชาติดี ปราศจากกลิ่นบูด เน่า หรือกลิ่นแปลกปลอมอื่นๆ
- 4.1.3 ลักษณะเนื้อสัมผัส

ต้องมีลักษณะเนื้อละเอียด เป็นเนื้อเดียวกัน ไม่ยุ่ย ไม่มีฟองอากาศ
เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ 10.1 แล้ว ต้องได้คะแนนจากผู้ตรวจสอบแต่ละคนในแต่ละ
ลักษณะไม่น้อยกว่า 3 คะแนน และต้องได้คะแนนรวมเฉลี่ยของทุกลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคน ไม่น้อยกว่า 12 คะแนน

4.2 ไขมัน

ต้องไม่เกินร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 35.1.23

4.3 โปรตีน

ต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 13 โดยน้ำหนัก

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 39.1.15

4.4 แคลเซียม

ต้องไม่เกิน 15 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 33.7.08

5. วัตถุเจือปนอาหาร

ห้ามใช้วัตถุเจือปนอาหารอื่นใดนอกจากชนิดและปริมาณที่กำหนดต่อไปนี้

5.1 ฟอสเฟตในรูปโมโน-ได-และพอลิของเกลือโซเดียมหรือเกลือโพแทสเซียมในผลิตภัณฑ์สำเร็จ

(คำนวณเป็นฟอสฟอรัสทั้งหมดในรูป P₂O₅) ไม่เกิน 3 000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การทดสอบให้ปฏิบัติตามข้อ 10.2

5.2 โมโนโซเดียม แอล-กลูตาเมต (คำนวณเป็นกรดกลูตามิก) ไม่เกินร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนัก

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 47.6.17

5.3 โซเดียมไนเตรตหรือโพแทสเซียมไนเตรต และหรือโซเดียมไนไตรต์ หรือโพแทสเซียมไนไตรต์ (คำนวณเป็นโซเดียมไนไตรต์) อย่างใดอย่างหนึ่งหรือผสมกัน ไม่เกินร้อยละ 0.0125 โดยน้ำหนัก

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 33.7.16

5.4 กรดหรือเกลือแอล-แอสคอร์บิก หรือกรดเกลืออีริทโทเบต ในปริมาณที่เหมาะสม

5.5 ต้องไม่เจือสีใดๆ

การทดสอบให้ปฏิบัติตามข้อ 10.3

6. สุขลักษณะ

6.1 สุขลักษณะในการทำแฟรงก์เฟอร์เตอร์ให้เป็นไปตาม มอก.34

6.2 ใส่ที่ใช้ต้องสะอาดถูกสุขลักษณะ

6.3 แฟรงก์เฟอร์เตอร์อาจมีจุลินทรีย์ได้ไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนดดังนี้

6.3.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง ต้องไม่เกิน 10⁵ โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 17.2.01

6.3.2 เอสเชอริเชีย โคลิ (*Escherichia coli*) โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN) น้อยกว่า 3 ในตัวอย่าง 1 กรัม

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 17.2.02

- 6.3.3 แซลโมเนลลา (*Salmonella*) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม
การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 17.9.01
- 6.3.4 สแตฟีโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม
การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 17.5.02
- 6.3.5 คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (*Clostridium perfringens*) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.01
กรัม
การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 17.7.02

7. การบรรจุ

- 7.1 ภาชนะบรรจุที่ใช้ต้องสะอาด ห่อหุ้มได้เรียบร้อย และป้องกันสิ่งปนเปื้อนได้ ภาชนะบรรจุส่วนที่สัมผัส
กับแฟรงก์เฟอร์เตอร์ต้องไม่มีสีหรือสิ่งแปลกปลอมอื่นๆ
- 7.2 หากมิได้ตกลงกันเป็นอย่างอื่นน้ำหนักสุทธิของแฟรงก์เฟอร์เตอร์ในแต่ละภาชนะบรรจุ เป็น 100 กรัม
150 กรัม 180 กรัม 200 กรัม 250 กรัม 400 กรัม 500 กรัม 1000 กรัม และต้องไม่น้อยกว่า ที่ระบุ
ไว้ที่ฉลาก

8. เครื่องหมายและฉลาก

- 8.1 ที่ภาชนะบรรจุแฟรงก์เฟอร์เตอร์ทุกหน่วยอย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียด
ต่อไปนี้
ให้เห็นได้ง่าย ชัดเจน
- (1) ชื่อผลิตภัณฑ์ตามมาตรฐานนี้หรือชื่ออื่นที่สื่อความหมายว่าเป็นผลิตภัณฑ์ตามมาตรฐานนี้
 - (2) ส่วนประกอบและวัตถุเจือปนอาหาร
 - (3) ข้อความว่า “ควรบริโภคก่อน (วัน เดือน ปี)”
 - (4) คำว่า “พร้อมบริโภค”
 - (5) ใส้ต้องระบุว่าเป็นไส้แกะหรือแพะ
 - (6) น้ำหนักสุทธิ เป็นกรัมหรือกิโลกรัม
 - (7) ข้อแนะนำในการบริโภคและการเก็บรักษา เช่น “ควรลวกในน้ำเดือดก่อนบริโภค” “ควร
เก็บไว้ที่ อุณหภูมิ ประมาณ 4 องศาเซลเซียส”
 - (8) ชื่อผู้ทำหรือโรงงานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน
 - (9) ประเทศที่ทำ

ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

9. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

- 9.1 การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสินให้เป็นไปตามภาคผนวก ก.

10. การทดสอบ

- 10.1 สี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัส

- 10.1.1 คณะผู้ตรวจสอบ ประกอบด้วยผู้มีความชำนาญในการตรวจสอบแฟรงก์เฟอร์เตอร์อย่างน้อย 5 คน ทุกคน จะแยกกันตรวจสอบและให้คะแนนโดยอิสระ
- 10.1.2 หลักเกณฑ์การให้คะแนนให้เป็นไปตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 หลักเกณฑ์การให้คะแนน
(ข้อ 10.1.2)

สมบัติที่ตรวจสอบ	ระดับการตัดสิน	คะแนนที่ได้
สี	สีสม่ำเสมอและเป็นสีตามธรรมชาติของเนื้อสัตว์ที่ใช้ทำและสีภายนอกของแฟรงก์เฟอร์เตอร์ต้องสม่ำเสมอ	5
	สีใกล้เคียงกับสีตามธรรมชาติ อาจซีดหรือเข้มกว่าสีตามธรรมชาติเล็กน้อย	4
	สีใกล้เคียงกับสีตามธรรมชาติ และสีภายนอกไม่สม่ำเสมอเนื่องจากกรรมวิธีการผลิต	3
	สีผิดไปจากสีตามธรรมชาติอย่างเห็นได้ชัด	2
	สีเขียวคล้ำ หรือสีผิดปกติเนื่องจากจุลินทรีย์	1
กลิ่นรส	กลิ่นหอมารับประทาน ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของแฟรงก์เฟอร์เตอร์ และมีรสชาติดี	5
	กลิ่นหอมารับประทาน ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของแฟรงก์เฟอร์เตอร์ แต่อาจมีรสจัดหรืออ่อนไปเล็กน้อย	4
	กลิ่นรสเฉพาะของแฟรงก์เฟอร์เตอร์ แต่ไม่หอมชวนรับประทาน หรือกลิ่นรสจัดหรืออ่อนไปมาก	3
	กลิ่นรสแปลกปลอมเล็กน้อย	2
	กลิ่นหืน เหม็นเปรี้ยว หรือบูดเน่า	1
	ลักษณะเนื้อสัมผัส	ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันดี แน่น นุ่ม เนียน ไม่มีฟองอากาศ
ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันค่อนข้างดี ค่อนข้างแน่น นุ่ม เนียน อาจมีฟองอากาศได้บ้างเล็กน้อย		4
ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันดีพอใช้ ไม่แน่น มีฟองอากาศบ้าง		3
ยุ่ย มีฟองอากาศมาก เมื่อถูกความร้อนแล้วนำมาบีบจะมีน้ำและน้ำมันแยกตัวออกมา		2
ยุ่ยมาก มีน้ำและน้ำมันแยกตัวออกมา		1

หมายเหตุ การตรวจสีและลักษณะเนื้อสัมผัส ให้ตรวจจากผิวหน้าตัด โดยผ่าตามความยาวของแท่งไส้กรอก

- 10.2 ฟอสเฟต (คำนวณเป็นฟอสฟอรัสทั้งหมดในรูป P2O5)
วิเคราะห์ด้วยวิธีคัลเลอร์เมตรี (วานาโด-โมลิบเดต)
- 10.2.1 เครื่องมือ
สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่มีช่วงความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร
- 10.2.2 สารละลายและวิธีเตรียม

10.2.2.1 สารละลายวานาโด-โมลิบเดต

ละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต 20 กรัม ในน้ำอุ่น (ประมาณ 50 องศาเซลเซียส) 400 ลูกบาศก์เซนติเมตรแล้วทำให้เย็นละลายแอมโมเนียมวานาเดต 1.0 กรัม ในน้ำกลั่นต้มเดือด 300 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทำให้เย็นเติมกรดไนตริกเข้มข้น 140 ลูกบาศก์เซนติเมตรที่ล้นน้อยขณะคน และตามด้วยสารละลายโมลิบเดตที่ล้นน้อยขณะที่คนอยู่นั้น แล้วเติมน้ำให้ได้ปริมาตรครบ 1 000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

10.2.2.2 สารละลายมาตรฐานฟอสเฟต

เตรียมสารละลายเก็บไว้ใช้ (stock solution) ละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 3.834 กรัม ในน้ำให้ได้ปริมาตรครบ 1 000 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใช้ปิเปตต์ดูดสารละลายเก็บไว้ใช้ 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ในขวดปริมาตรขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมน้ำจนถึงขีดปริมาตร สารละลายนี้ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร มี P_2O_5 อยู่ 0.2 มิลลิกรัม

10.2.2.3 สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น

(ความหนาแน่น 0.91 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร)

10.2.3 การสร้างกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ปิเปตต์ดูดสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต 0,2.5,5,10,20,30,40 และ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ในขวดแก้วปริมาตรขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 8 ใบตามลำดับ นำแต่ละใบมาเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ถึง 60 ลูกบาศก์เซนติเมตร หยดสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2 ถึง 3 หยด แล้วทำให้เป็นกรดด้วยกรดไนตริก(1+2) เติมสารละลายวานาโด-โมลิบเดต 25.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าแอบซอร์เบ้นซ์ด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

10.2.4 วิธีวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่าง 3 กรัม ถึง 5 กรัม ให้ทราบน้ำหนักแน่นอน เติมน้ำกลั่นเป็นแก้ว เติมน้ำกลั่นจนเต็มสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 5 โมลต่อลูกบาศก์เซนติเมตร 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มจนเดือด แล้วกรองใส่ขวดปริมาตรขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ล้างด้วยน้ำกลั่น ทำให้เป็นกลางด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นสารละลายควรมีปริมาตร 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ถึง 60 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทำให้เป็นกรดด้วยสารละลายกรดไนตริก 1+2 เติมน้ำกลั่นจนเต็มสารละลายวานาโด-โมลิบเดต 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที นำไปวัดค่าแอบซอร์เบ้นซ์ด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

10.3 สีสันวิเคราะห์

10.3.1 วิธีตรวจสอบชนิดของสี

10.3.1.1 เครื่องมือ

- (1) เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับโครมาโทกราฟีแบบแผ่นกระดาษ (paper chromatography)
- (2) กระดาษวัตแมนเบอร์ 1 สำหรับทำโครมาโทกราฟีแบบแผ่นกระดาษ

(chromatographic paper Watman No.1)

- (3) โหมพรหมชนสัตว์สีขาวที่สกัดไขมันออกแล้ว
ตัดโหมพรหมชนสัตว์ยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร นำไปตัดกับสารละลาย
แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นประมาณ 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น แล้ว
นำไปตัดกับน้ำกลั่นจนหมดความเป็นด่าง บีบน้ำออก นำไปผึ่งลมให้แห้ง เก็บ
ไว้ใช้ในการวิเคราะห์

(4) เครื่องเป่าลม

(5) หลอดรูเล็ก (capillary tube)

(6) เครื่องอังน้ำ

(7) จานกระเบื้องสีขาว

10.3.1.2 สารเคมี สารละลายและวิธีเตรียม

(1) กรดเกลือเข้มข้น ความหนาแน่น 1.049 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

(2) กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ความหนาแน่น 1.19 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

(3) กรดซัลฟิวริกเข้มข้น ความหนาแน่น 1.84 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

(4) สารละลายแอมโมเนีย 300 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

(5) สารละลายแอมโมเนีย 10 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

นำสารละลายแอมโมเนีย 300 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตรมา 3.3 ลูกบาศก์
เซนติเมตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น แล้วเติมน้ำกลั่นจนปริมาตรเป็น 100 ลูกบาศก์
เซนติเมตร

(6) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 100 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตรละลาย
โซเดียมไฮดรอกไซด์ 100 กรัม ในน้ำกลั่นเล็กน้อยแล้วเติมน้ำกลั่นจน
ปริมาตรเป็น 1 000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

(7) สารละลายสีผสมอาหารมาตรฐานชนิดต่างๆ

(8) เอทานอลร้อยละ 70 โดยปริมาตร

นำสารละลายเอทานอลร้อยละ 95 โดยปริมาตร 73.68 ลูกบาศก์เซนติเมตร
เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

(9) ตัวทำละลายดีเวลอปิง (developing solvent)

ผสมบิวทานอล น้ำกลั่น สารละลายแอมโมเนีย 300 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
และเอทานอล ร้อยละ 70 โดยปริมาตรในกรวยแยกด้วยอัตราส่วน 100 : 44 :

1 : 20 โดยปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายแยกออกเป็น 2 ชั้น ไช
สารละลายชั้นล่างซึ่งเป็นชั้นของน้ำใส่บีกเกอร์ขนาด 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้ง
ทิ้งไว้ในถังแก้ว (developing tank) แล้วถ่ายสารละลายที่เหลือลงในถังแก้ว ปิด
ฝาให้สนิท ใช้ไขมัน (grease) ทาที่ขอบถังแก้วเพื่อมิให้สารละลายระเหยออก

10.3.1.3 การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วประมาณ 30 ถึง 50 กรัม ละลายด้วยเอทานอล ร้อย
ละ 70 โดยปริมาตร ประมาณ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วกรอง

10.3.1.4 วิธีวิเคราะห์

(1) วิธีสกัดสี

นำสารละลายตัวอย่างจากข้อ 10.2.1.3 ใส่ลงในจานกระเบื้องขาว ระเหยจนหมดแอลกอฮอล์แล้วทำให้เป็นกรดด้วยกรดเกลือแอซีติก ใส่ใหม่พรหมขนสัตว์สีขาว 5 ถึง 10 เส้น ตั้งบนเครื่องอังน้ำจนสีจับใหม่พรหมขนสัตว์ ล้างใหม่พรหมด้วยน้ำเย็นให้สะอาดแล้วใส่ใหม่พรหมขนสัตว์ลงในจานกระเบื้องสีขาว เติมสารละลายแอมโมเนีย (ข้อ 10.3.1.2(5)) ปริมาตร 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ถึง 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้งบนเครื่องอังน้ำให้สีละลายออกจากใหม่พรหมขนสัตว์ นำสารละลายที่มีสีไประเหยจนแห้ง แล้วเก็บไว้เพื่อนำไปทำโครมาโท กราฟีแบบแผ่นกระดาษต่อไป

(2) วิธีแยกสีผสมโดยใช้โครมาโทกราฟีแบบแผ่นกระดาษ

ตัดกระดาษวัดแมน เบอร์ 1 สำหรับทำโครมาโทกราฟีให้มีขนาดความยาวพอเหมาะกับถังแก้วหยดเอทานอลร้อยละ 70 โดยปริมาตร 2 ถึง 3 หยด ลงในจานสีที่ระเหยแห้ง (ข้อ 10.3.1.4(1)) ใช้หลอดรูเล็กดูดสารละลายสีตัวอย่าง จุดลงบนกระดาษห่างจากขอบด้านล่าง ประมาณ 2 เซนติเมตร ให้มีขนาดเท่าๆ กัน ห่างกันจุดละประมาณ 1.5 เซนติเมตร ใช้เครื่องเป่าลมเป่าให้จุดสีแห้ง จุดสารละลายสีตัวอย่างซ้ำที่จุดเดิมอีก เป่าให้จุดสีแห้ง ทำเช่นนี้จนได้สีเข้มตามต้องการ เมื่อสีแห้งดีแล้วนำกระดาษจุ่มลงในถังแก้วที่ใส่ตัวทำละลายดีเวลอปิงให้ปลายกระดาษจุ่มลงในตัวทำละลายดีเวลอปิงประมาณ 2 มิลลิเมตร แซ่ทิ้งไว้จนสีแยกจากกันชัดเจน(ในกรณีที่เป็นสีส้ม) หรือให้ระดับสีสูงจากเดิมประมาณ 12 เซนติเมตร นำกระดาษออกผึ่งลมจนแห้ง ตัดกระดาษส่วนที่ติดสีออกจากกัน แล้วแยกใส่จานระเหยขนาดเล็ก ใช้น้ำกลั่นล้างสีออกจากกระดาษจนหมด ระเหยสารละลายสีตัวอย่างให้แห้ง แล้วเก็บไว้เพื่อใช้ตรวจสอบชนิดของสีต่อไป

(3) วิธีทดสอบชนิดของสี

(3.1) วิธีเปรียบเทียบค่า Rf

นำกระดาษวัดแมน เบอร์ 1 สำหรับทำโครมาโทกราฟีแผ่นใหม่ มาจุดสารละลายสีตัวอย่าง(ข้อ 10.3.1.4(2)) แล้วจุดสารละลายสีผสมอาหารมาตรฐานที่คาดว่าจะเป็นสีเดียวกันไว้ใกล้กับจุดสีตัวอย่างโดยให้ความเข้มข้นของสีใกล้เคียงกับสีตัวอย่าง นำกระดาษจุ่มลงในถังแก้วที่เตรียมไว้ แซ่ทิ้งไว้ จนตัวทำละลายดีเวลอปิงขึ้นถึงระดับที่กำหนด นำกระดาษออกผึ่งลมจนแห้ง ถ้าระดับสีตัวอย่างสูงเท่ากับสีผสมอาหารมาตรฐานแสดงว่าอาจเป็นสีชนิดเดียวกัน

(3.2) วิธีเคมี

เตรียมสารละลายสีผสมอาหารมาตรฐานกับสารละลายสีตัวอย่างที่เก็บไว้ (ข้อ 10.3.1.4(2)) ให้ความเข้มข้นของสีใกล้เคียงกัน หยดลงในหลุมกระเบื้องอย่างละ 4 หลุม นำไปประเหยให้แห้งบนเครื่องอังน้ำ ทิ้งไว้ให้เย็น หยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น กรดซัลฟิวริกเข้มข้น สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และสารละลายแอมโมเนีย (ข้อ 10.3.1.2(4)) ลงในแต่ละหลุมตามลำดับหลุมละ 1 ถึง 2 หยด แล้วคนให้เข้ากัน เปรียบเทียบสีตัวอย่างแต่ละหลุมกับสีมาตรฐานแต่ละคู่

ถ้าสี่แต่ละคู่มีการเปลี่ยนแปลงเหมือนกันหมดแสดงว่าเป็นสี่ชนิดเดียวกัน

11. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

(ข้อ 9.1)

- ก.1 รุ่น ในที่นี้ หมายถึง แฟรงก์เฟอร์เตอร์ที่มีส่วนประกอบอย่างเดียวกัน ทำโดยกรรมวิธีเดียวกัน มีลักษณะการบรรจุแบบเดียวกัน และทำในคราวเดียวกัน
- ก.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้ หรืออาจใช้แผนการชักตัวอย่างอื่นที่เทียบเท่ากันทางวิชาการกับแผนที่กำหนดไว้
- ก.2.1 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบการบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก
- ก.2.1.1 ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันตามจำนวนที่กำหนดในตารางที่ 1 นำไปทดสอบเครื่องหมายและฉลากก่อน แล้วจึงทดสอบการบรรจุ
- ก.2.1.2 จำนวนตัวอย่างที่ไม่เป็นไปตามข้อ 7. ต้องไม่เกินเลขจำนวนที่ยอมรับที่กำหนดในตารางที่ ก.1 และตัวอย่างทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 8. จึงจะถือว่าแฟรงก์เฟอร์เตอร์รุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

ตารางที่ ก.1 แผนการชักตัวอย่างสำหรับการทดสอบการบรรจุและเครื่องหมายและฉลาก
(ข้อ ก.2.1)

ขนาดรุ่น หน่วยภาชนะบรรจุ	ขนาดตัวอย่าง หน่วยภาชนะบรรจุ	เลขจำนวนที่ยอมรับ
ไม่เกิน 150	2	0
151 ถึง 500	8	1
501 ถึง 1 200	13	2
1 201 ถึง 10 000	20	3
10 001 ถึง 35 000	32	5

- ก.2.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบสี กลิ่นรส และลักษณะ เนื้อสัมผัส
- ก.2.2.1 ให้ชักตัวอย่างจากข้อ ก.2.1.1 ทุกภาชนะบรรจุในปริมาณเท่าๆ กัน ให้ได้น้ำหนักรวมประมาณ 500 กรัม ในกรณีที่ตัวอย่างไม่พอให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันเพิ่มเติมจนได้น้ำหนักตามต้องการ
- ก.2.2.2 ตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 4.1 จึงจะถือว่าแฟรงก์เฟอร์เตอร์รุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด
- ก.2.3 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบไขมัน โปรตีน แคลเซียม และวัตถุเจือปนอาหาร

- ก.2.3.1 ให้ชั่งตัวอย่างจากข้อ ก.2.1.1 ทุกภาชนะบรรจุในปริมาณเท่าๆ กัน ให้ได้ น้ำหนักรวมประมาณ 1 000 กรัม
- ก.2.3.2 ตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 4.2 ข้อ 4.3 ข้อ 4.4 และข้อ 5.ทุกข้อ จึงจะถือว่าแฟรงก์เฟอร์เตอร์รุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด
- ก.2.4 การชั่งตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบจุลินทรีย์
- ก.2.4.1 ให้ชั่งตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันจำนวน 5 หน่วยภาชนะบรรจุ แล้ว ทำเป็นตัวอย่างรวม
- ก.2.4.2 ตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 6.3 จึงจะถือว่าแฟรงก์เฟอร์เตอร์รุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

ก.3 เกณฑ์ตัดสิน

ตัวอย่างแฟรงก์เฟอร์เตอร์ต้องเป็นไปตามข้อ ก.2.1.2 ข้อ ก.2.2.2 ข้อ ก.2.3.2 และข้อ ก.2.4.2 ทุกข้อ จึงจะถือว่าแฟรงก์เฟอร์เตอร์รุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้

