



## ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

### 4.1 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมสารสกัดชาเขียว

#### 4.1.1 การศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของสารสกัดชาเขียวโดยแปรเวลาเป็น 10, 20 และ 30 นาที และอุณหภูมิเป็น 50, 60 และ 70 °C ได้ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.1 จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมต่อการสกัดชาเขียว พบว่าอุณหภูมิ เวลาสกัด และอิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิและเวลาการสกัดมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยเมื่ออุณหภูมิและเวลาเพิ่มขึ้นทำให้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

จากผลการทดลองพบว่าภาวะการสกัดที่เหมาะสมในการสกัดชาเขียวในงานวิจัยครั้งนี้คือ ที่อุณหภูมิ 70 °C เวลา 20 นาที ซึ่งเป็นภาวะที่ให้ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ไม่แตกต่างจากการใช้อุณหภูมิ 70 °C เวลา 30 นาที ที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด ซึ่งการเพิ่มเวลาในการสกัดจาก 20 นาที เป็น 30 นาที ไม่ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการสกัด สารประกอบฟีนอลิกจะแพร่ออกมายังส่วนของตัวทำละลายได้ดีขึ้น แต่เมื่อสกัดต่อไปปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในชาเขียวจะมีค่าลดลงปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกในตัวทำละลายจึงเริ่มคงที่ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ เจษฎา ตั้งจิตวิไลกุล, ดาราวรรณ จิตตั้งตรง และ วชิรา ไชยบุญเรือง (2548) ที่ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการสกัดสาร epigallocatechin gallate จากชาอูหลงโดยใช้น้ำในการสกัดซึ่งพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 30 เป็น 50 °C ปริมาณ epigallocatechin gallate เพิ่มขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้การละลายสารที่อยู่ในชาเขียวดีขึ้น

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเมื่อใช้เวลาและอุณหภูมิในการสกัดแตกต่างกัน

เวลา (นาที)	อุณหภูมิ ( $^{\circ}\text{C}$ )		
	50	60	70
10	140.23 $\pm$ 0.13	146.44 $^{\text{e}}$ $\pm$ 0.42	153.55 $^{\text{bc}}$ $\pm$ 0.71
20	140.80 $\pm$ 1.70	152.09 $^{\text{cd}}$ $\pm$ 0.19	154.77 $^{\text{ab}}$ $\pm$ 0.71
30	141.03 $\pm$ 0.03	150.80 $^{\text{d}}$ $\pm$ 1.83	156.48 $^{\text{a}}$ $\pm$ 1.70

หมายเหตุ: อักษร a, b,...แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.1.2 การศึกษาผลของอัตราส่วนของปริมาณชาเขียวต่อตัวทำละลายต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านอนุมูล DPPH

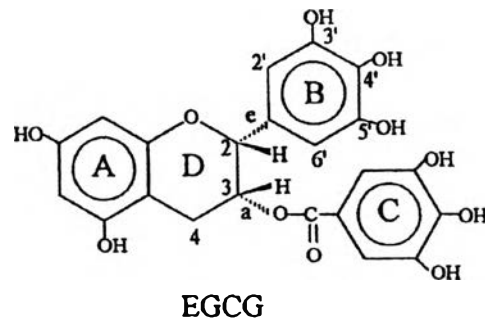
จากการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของชาเขียวที่ภาวะการสกัดที่ได้จากข้อ 4.1.1. พบว่าอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมต่อการสกัดชาเขียวคือ อุณหภูมิ  $70^{\circ}\text{C}$  เวลา 20 นาที ดังนั้นขั้นตอนนี้จึงเป็นการศึกษาผลของปริมาณชาเขียวที่ใช้ในการสกัดต่อค่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติต้านอนุมูล DPPH ได้ผลการทดลองดังแสดงใน ตารางที่ 4.2 โดยพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของชาเขียวจาก 2 ถึง 20% ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เพิ่มขึ้นตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) และเมื่อพิจารณาสมบัติต้านอนุมูล DPPH พบว่ามีค่าแปรผันตรงกับปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยจะเห็นได้ว่าเมื่อปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของชาเขียวเพิ่มขึ้นจาก 2 ถึง 10 % ค่าการต้านอนุมูล DPPH เพิ่มขึ้นจาก 68.51 เป็น 70.32 % ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของชาเขียวเป็น 20 % สมบัติต้านอนุมูล DPPH กลับลดลงเป็น 67.72% ซึ่งมีค่าน้อยที่สุดและแตกต่างจากความเข้มข้นของชาเขียวที่ระดับอื่นๆ ทั้งนี้อาจเนื่องจาก สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จะทำปฏิกิริยากับอนุมูล DPPH ได้ง่ายกว่าเมื่อความเข้มข้นของชาเขียวมีปริมาณไม่มาก (2, 5 และ 10%) แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของชาเขียวมากขึ้น (20%) สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีการกระจายตัวอยู่อย่างหนาแน่นมากขึ้นจนอาจส่งผลให้เกิด steric hindrance (การบดบัง) ของสารประกอบฟีนอลิกจนไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูล DPPH และส่งผลให้ปฏิกิริยารีดักชัน (reduction reaction) ของ DPPH มีค่าลดลง การเกิด steric hindrance นี้สามารถอธิบายได้จากรายงาน การวิจัยของ Guo และคณะ (1999) ที่ได้ศึกษาผลของการเกิด steric hindrance ต่อประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ของสารประกอบฟีนอลิก EGCG ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ catechins ในชาเขียว แล้วติดตามผลโดยใช้ Electron Spin Resonance Spectroscopy (ESR) พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ EGCG 0.1, 0.2 และ 1.0 mmol/L ค่า ESR มีค่าเพิ่มขึ้น แต่จะมี

ค่าลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ EGCG เป็น 2.0 mmol/L ส่งผลให้ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชันลดลงเนื่องจากเกิด steric hindrance ของ EGCG ทั้งนี้ผู้วิจัยได้อธิบายว่าการเกิด steric hindrance นี้จะส่งผลต่อประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชัน โดยตรงเนื่องจาก EGCG มีขนาดโมเลกุลใหญ่จึงสามารถเกิด steric hindrance ได้ง่ายกว่าอนุพันธ์อื่นของ catechins นอกจากนี้ EGCG ยังมีวงแหวน D (D ring) โดยจะพบ axial bond (e bond) ที่ตำแหน่งที่ 2 ของ pyrogallol groups และตำแหน่ง ที่ 3 ของ gallate groups อยู่ในโครงสร้าง (รูปที่ 4.1) และการที่มีทั้ง equatorial bond (a bonds) และ e bonds อยู่ภายในโมเลกุล ของ EGCG ก็ยังสามารถทำให้เกิด steric hindrance ได้มากกว่าอนุพันธ์อื่นของ catechins ได้เช่นกัน ทั้งนี้ชาเขียวที่ใช้ในการทดลองนี้ เป็นชาเขียวญี่ปุ่นซึ่งในกระบวนการผลิตจะถูกนำมานึ่งด้วยไอน้ำร้อนเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ catechol oxidase ใบชาจึงยังคงมีสารประกอบฟีนอลิกอยู่มากโดยเฉพาะอย่างยิ่งสาร EGCG ซึ่งมีอยู่สูงที่สุด (Wang และคณะ, 2000) ดังนั้นจากการทดลองนี้สามารถอธิบายได้ว่า การที่ประสิทธิภาพการต้านอนุมูล DPPH มีค่าต่ำที่สุดเมื่อความเข้มข้น ของสารสกัดชาเขียวเป็น 20% (w/v) อาจเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดชาเขียวที่มีขนาดใหญ่ และมีปริมาณความเข้มข้นที่สูง อาจส่งผลให้เกิด steric hindrance ได้ ทำให้ประสิทธิภาพการต้านอนุมูล DPPH ลดลง จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าที่ปริมาณความเข้มข้นของชาเขียว 10 % ให้ผลในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นในระดับอื่นๆ

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติต้านอนุมูล DPPH เมื่อแปรอัตราส่วนความเข้มข้นของชาเขียว

ความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียว (% w/v)	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g)	DPPH Scavenging (%)
2	155.08 <sup>d</sup> ±0.86	68.51 <sup>c</sup> ±0.06
5	164.72 <sup>c</sup> ±3.38	69.58 <sup>b</sup> ±0.23
10	335.00 <sup>b</sup> ±2.4	70.32 <sup>a</sup> ±0.23
20	605.61 <sup>a</sup> ±0.86	67.72 <sup>d</sup> ±0.11

หมายเหตุ: อักษร a, b,...แสดงความแตกต่างกันตามแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )



รูปที่ 4.1 โครงสร้างของ EGCG ซึ่งมี carbon-hydrogen bonds ใน D ring ที่ประกอบด้วย a bonds และ e bond

ที่มา : Guo และ คณะ (1999)

#### 4.1.3 การศึกษาผลของอัตราส่วนของปริมาณชาเขียวต่อตัวทำลายต่อสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดชาเขียวเมื่อแปรความเข้มข้นของชาเขียว เป็น 0 (control), 2, 5, 10 และ 20% (w/v) ต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค คือ *P. fluorescens*, *S. aureus*, *E. coli* และ *S. Enteritidis* ติดตามผลโดยการเปรียบเทียบบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 บริเวณที่ยับยั้ง *S. aureus*, *E. coli*, *P. fluorescens* และ *S. Enteritidis* เมื่อแปรอัตราส่วนความเข้มข้นของชาเขียว

ความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียว (%w/v)	Inhibition zone (mm)			
	<i>S. aureus</i> (Contact surface)	<i>E. coli</i> (Contact surface)	<i>P. fluorescens</i> (Contact surface)	<i>S. Enteritidis</i> (Contact surface)
Control	0.00 <sup>d</sup> ± 0.00 (-)	0.00 <sup>c</sup> ± 0.00 (-)	0.00 ± 0.00 (-)	0.00 ± 0.00 (-)
2	1.00 <sup>d</sup> ± 0.00 (+)	0.00 <sup>c</sup> ± 0.00 (+)	0.00 ± 0.00 (+)	0.00 ± 0.00 (+)
5	4.25 <sup>c</sup> ± 0.35 (+)	1.00 <sup>b</sup> ± 0.00 (+)	0.00 ± 0.00 (+)	0.00 ± 0.00 (+)
10	7.50 <sup>b</sup> ± 0.71 (+)	2.25 <sup>a</sup> ± 0.35 (+)	0.00 ± 0.00 (+)	0.00 ± 0.00 (+)
20	11.00 <sup>a</sup> ± 0.71 (+)	2.63 <sup>a</sup> ± 0.18 (+)	2.00 ± 0.00 (+)	2.00 ± 0.00 (+)

หมายเหตุ: อักษร a, b,... แสดงความแตกต่างกันตามแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

(+) เชื้อไม่เจริญบริเวณใต้แผ่นทดสอบ

(-) เกิดเชื้อบริเวณใต้แผ่นทดสอบ

เมื่อพิจารณาบริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรียที่ทดสอบของสารสกัดชาเขียวที่มีความเข้มข้นของชาเขียว คือ 0 (control), 2, 5, 10 และ 20% (w/v) พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของชาเขียวเพิ่มขึ้น โดยสารสกัดชาเขียวให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ดีที่สุดโดยสังเกตจาก inhibition zone กว้างที่สุด (11.00 ± 0.71 mm) ที่ความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียว 20% (w/v) รองลงมาคือ *E. coli* และพบว่าสารสกัดชาเขียวที่ความเข้มข้น 2.5 และ 10 % ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *P. fluorescens* และ *S. Enteritidis* แต่ยับยั้งได้เล็กน้อยที่ความเข้มข้น 20% และเมื่อพิจารณาการเจริญของ *S. aureus*, *E. coli*, *P. fluorescens* และ *S. Enteritidis* บริเวณใต้แผ่นทดสอบพบว่าไม่พบการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิดบริเวณใต้แผ่นทดสอบที่มีสารสกัดชาเขียวทุกความเข้มข้น แต่เมื่อเทียบกับแผ่นทดสอบที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุมพบว่ามี การเจริญ

ของแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิดบริเวณใต้แผ่นทดสอบซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดชาเขียวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้

การที่สารสกัดชาเขียวสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ อาจเนื่องมาจากสารประกอบฟีนอลิกที่พบในชาเขียวได้แก่ EGCG, ECG, EGC และ EC สามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียให้ได้รับความเสียหายแต่ทั้งนี้ยังไม่มีรายงานกลไกการทำลายที่แน่ชัดซึ่งในทางสมมติฐานสามารถอธิบายได้ว่าสารต่างๆเหล่านี้จะสามารถซึมผ่านชั้นไขมัน (lipid bilayers) ของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียได้ทำให้ชั้นไขมันเกิดความไม่เป็นระเบียบ และส่งผลกระทบต่อการทำงานของผนังเซลล์และเอนไซม์ของจุลินทรีย์ทำให้ระบบการทำหน้าที่การผ่านเข้าออกของสารต่างๆที่อยู่ในเซลล์ของจุลินทรีย์สูญเสียไป (Cushnie และ Lamb, 2005) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารประกอบ EGCG ซึ่งพบได้มากที่สุดในการชงชาเขียวนั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* ได้ (Si และคณะ, 2006)

ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าสารสกัดชาเขียวที่ศึกษาในงานวิจัยนี้ สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*, *P. fluorescens* และ *S. Enteritidis*) ทั้งนี้เนื่องจาก ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบประกอบด้วย lipid ไลโปโปรตีน (lipo protein) ไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipo polysaccharide) pimilic amino acid และมีเมมเบรนชั้นนอก ซึ่งมีปริมาณไขมันมากถึง 11-22 % ของน้ำหนักแห้งผนังเซลล์ ในขณะที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย แกรมบวกจะมี lipid น้อยมากหรือเกือบจะไม่มีเลย (Mandelstam, Mcquillen และ Dawes, 1982) ด้วยเหตุนี้ทำให้ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบมีโครงสร้างที่ซับซ้อนจึงทำหน้าที่เป็นตัวกั้นสารเคมีและเอนไซม์จากภายนอกไม่ให้เข้าไปทำลายเซลล์ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ, 2547; Jeyhanipour, Karimi และ Taherzadeh, 2007)

#### 4.2 การศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากชาเขียวต่อสมบัติของฟิล์มไคโตซาน

ในการเติมสารสกัดชาเขียวลงในฟิล์มไคโตซานมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชัน และการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของฟิล์มโดยติดตามสมบัติทางด้านต่างๆ ดังต่อไปนี้

## 4.2.1 สมบัติทางกายภาพ

### 4.2.1.1 ความหนา

จากการศึกษาพบว่าความหนาในแต่ละภาวะนั้นมีค่าใกล้เคียงกัน เนื่องจากใช้ปริมาณสารละลายฟิล์มเท่าๆกันในการขึ้นรูปให้เป็นแผ่นฟิล์ม โดยมีช่วงความหนาเฉลี่ยของทุกภาวะคือ 49.11 – 62.11 ไมโครเมตร การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียว จาก 0 ถึง 5 % ไม่ส่งผลต่อความหนาของฟิล์ม แต่การเพิ่มความเข้มข้นจาก 5 เป็น 10 % ส่งผลให้มีความหนาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียวทำให้ฟิล์มที่ได้มีปริมาณของแข็งเพิ่มขึ้น ฟิล์มจึงมีความหนาเพิ่มมากขึ้นด้วย

ตารางที่ 4.4 ค่าความหนาของฟิล์มโคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียวความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียว (% w/v)	ความหนา (ไมโครเมตร)
0	49.11 <sup>b</sup> ± 1.20
2	50.46 <sup>b</sup> ± 0.45
5	52.32 <sup>b</sup> ± 0.08
10	58.37 <sup>a</sup> ± 2.10
20	62.11 <sup>a</sup> ± 3.25

หมายเหตุ: อักษร a, b,... แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

### 4.2.1.2 ค่าทางสี (L\* a\* b\*)

ผลการศึกษาค่าทางสีของฟิล์มโคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียวที่ความเข้มข้น 2, 5, 10 และ 20% (w/v) ต่อค่า L\* (ความเข้ม-สว่าง) และ b\* (น้ำเงิน-เหลือง) และค่า a\* (เขียว-แดง) พบว่าค่า L\* มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียวที่เติมลงในฟิล์มเพิ่มขึ้น โดยฟิล์มโคโตซานที่ไม่เติมสารสกัดชาเขียวมีค่า L\* มากที่สุด (90.89) และมีค่าลดลงเมื่อเติมสารสกัดชาเขียวเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจาก สีของน้ำชาได้จาก pheophorbide, phaeophytin และ chlorophyllide ซึ่งเกิดจากการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ และ theaflavins กับ thearubigins ซึ่งได้จากการออกซิไดซ์ catechins การเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ในใบชา เกิดขึ้นได้ 2 แบบคือเกิดจากการสูญเสียแมกนีเซียมอะตอม จากโครงสร้างเกิดเป็นสารประกอบที่เรียกว่า phaeophytin ซึ่งมีสีดำ และการเปลี่ยนจากคลอโรฟิลล์ไปเป็นสารประกอบ chlorophyllide ซึ่งมีสีเขียวมะกอก (olive green) จากนั้น chlorophyllide เองจะสูญเสีย

แมกนีเซียมอะตอมกลายเป็นสารประกอบ pheophorbide ซึ่งมีสีน้ำตาล (Walker, 1964) ดังนั้นสีของผลิตภัณฑ์ชาจะขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่าง pheophytin กับ pheophorbide ทั้งนี้ในสารสกัดชาเขียว จะพบว่า มี pheophorbide สูงกว่า pheophytin น้ำชาที่ได้จึงมีสีน้ำตาล (ศูนย์ส่งเสริมอุตสาหกรรมภาคเหนือ กระทรวงอุตสาหกรรม, 2532) สอดคล้องกับผลการทดลองนี้ที่พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียว ค่า  $L^*$  ที่แสดงถึงค่าความสว่างมีค่าลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าค่า  $a^*$ , ค่า  $b^*$  และการเปลี่ยนแปลงของค่าทางสี ( $\Delta E$ ) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4 ยกเว้นที่ความเข้มข้น ของสารสกัดชาเขียว 10 และ 20 % फिल्मที่ได้มีค่า  $a^*$  ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการเติมสารสกัดชาเขียวลงไปในฟิล์มโคโตะซานจึงทำให้สีของฟิล์มเปลี่ยนไปตามความเข้มข้นของปริมาณชาเขียวที่เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.5 ค่าทางสีของฟิล์มโคโตะซานที่เติมสารสกัดชาเขียวความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารสกัด ชาเขียว(% w/v)	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E$
0	90.89 <sup>a</sup> ±0.08	-2.18 <sup>d</sup> ±0.02	10.06 <sup>e</sup> ±0.04	8.94 <sup>e</sup> ±0.02
2	78.74 <sup>b</sup> ±0.24	3.73 <sup>c</sup> ±0.17	32.14 <sup>d</sup> ±0.54	34.71 <sup>d</sup> ±0.55
5	73.82 <sup>c</sup> ±0.40	4.8 <sup>b</sup> ±0.25	35.88 <sup>c</sup> ±0.19	39.64 <sup>c</sup> ±0.35
10	70.24 <sup>d</sup> ±0.07	6.03 <sup>a</sup> ±0.06	38.15 <sup>b</sup> ±0.06	43.54 <sup>b</sup> ±0.09
20	69.32 <sup>e</sup> ±0.25	6.29 <sup>a</sup> ±0.22	39.89 <sup>a</sup> ±0.16	45.54 <sup>a</sup> ±0.19

หมายเหตุ: อักษร a, b,...แสดงความแตกต่างกันตามแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.2.1.3. ค่าการซึมผ่านไอน้ำ

จากการศึกษาผลของการเติมสารสกัดชาเขียวต่อค่า WVP ของฟิล์มโคโตะซาน ในตารางที่ 4.6 พบว่า การเติมสารสกัดชาเขียวทำให้ค่า WVP ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม การเพิ่มปริมาณชาเขียวจาก 2 ถึง 20 % ทำให้ค่า WVP ของฟิล์มโคโตะซานมีแนวโน้มลดลงแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \geq 0.05$ )

การเติมสารสกัดชาเขียวทำให้ค่า WVP ลดลงอาจมาเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกในชาเขียวสามารถเกิดพันธะกับหมู่ฟังก์ชันในโครงสร้างของฟิล์มโคโตะซาน ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับน้ำได้ จึงเป็นการจำกัดหมู่ฟังก์ชันของฟิล์มที่จะทำปฏิกิริยากับน้ำให้ลดลง ผลการทดลอง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Siripatrawan และ Harte (2010) ที่ศึกษาการเกิดอันตรกิริยา (interaction) ระหว่างสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดชาเขียวกับโคโตะซานฟิล์มด้วยวิธี Fourier



Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) และพบว่าสารประกอบฟีนอลิก สามารถสร้างพันธะกับหมู่  $\text{NH}_3^+$  ในโครงสร้างของไคโตซาน โดยพบว่า absorption band ของหมู่  $\text{NH}_3^+$  ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับน้ำได้ดีลดลง ส่งผลให้ค่า WVP ของฟิล์มลดต่ำลง

ตารางที่ 4.6 ค่าการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียวความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียว (% w/v)	WVP (g.mm/Pa.day.m <sup>2</sup> )
0	0.86 <sup>a</sup> ±0.03
2	0.61 <sup>b</sup> ±0.03
5	0.59 <sup>b</sup> ±0.07
10	0.59 <sup>b</sup> ±0.15
20	0.56 <sup>b</sup> ±0.03

หมายเหตุ: อักษร a, b,...แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.2.2 สมบัติทางเคมี

##### 4.2.2.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านอนุมูล DPPH

##### อนุมูล DPPH

จากการศึกษาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติต้านอนุมูล DPPH ของฟิล์มไคโตซาน เมื่อเติมสารสกัดชาเขียวที่มีปริมาณชาเขียว 2, 5, 10 และ 20% (w/v) ได้ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.7 พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียว ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) และเมื่อพิจารณาสมบัติต้านอนุมูล DPPH พบว่ามีค่าแปรผันตามปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยจะเห็นได้ว่าเมื่อปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของชาเขียวเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดในช่วง 2 ถึง 10% ค่าการต้านอนุมูล DPPH จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของชาเขียวเป็น 20 % ค่าการต้านอนุมูล DPPH ลดลงและ แตกต่างจากที่ 10 % เพียงเล็กน้อย เท่านั้น อาจเนื่องจาก เกิด steric hindrance ของสารประกอบฟีนอลิกกับอนุมูล DPPH (ดังที่ได้อธิบายไว้ในข้อ 4.1.2) ทำให้การปลดปล่อยไฮโดรเจนอะตอม (hydrogen donation) เกิดได้ช้าลง ส่งผลให้ความสามารถในการเข้าจับอนุมูลของ DPPH ลดลง

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang และ Kosaraju (2007) ซึ่งศึกษาปฏิกิริยาระหว่างไคโตซานกับ catechins และพบว่าเกิด อันตรกิริยาระหว่าง

catechins กับโครงสร้างของ chitosan matrix ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าเมื่อเติมสารสกัดจากชาเขียวลงไปในฟิล์มไคโตซาน สาร catechins หรือสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆ สามารถแทรกอยู่ภายในโครงสร้างร่างแหของไคโตซานได้ เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Siripatrawan และ Harte (2010) ซึ่งพบการเกิดอันตรกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดชาเขียวกับฟิล์ม โดยสังเกตได้จาก absorption bands ที่ 1700 และ 1660  $\text{cm}^{-1}$  ของการเกิดพันธะดังกล่าว ใน FT-IR spectra ของฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียว ส่งผลให้ฟิล์มที่เติมชาเขียวมีสมบัติต้านอนุมูล DPPH สูงขึ้น ทั้งนี้จากการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูล DPPH ของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียวที่ภาวะต่างๆ พบว่าการใช้ความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียว 10% ให้ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูล DPPH สูงที่สุด ฟิล์มที่ภาวะดังกล่าวจึงมีความเหมาะสมสำหรับการนำมาประยุกต์ใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารในการทดลองขั้นต่อไป

ตารางที่ 4.7 ค่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติต้านอนุมูล DPPH ของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียวความเข้มข้นระดับต่างๆ

ความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียว (% w/v)	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดชาเขียว (mg GAE/g)	DPPH Scavenging (%)
0	3.75 <sup>e</sup> ±0.03	2.56 <sup>e</sup> ±0.12
2	9.08 <sup>d</sup> ±0.47	40.58 <sup>d</sup> ±0.28
5	15.17 <sup>c</sup> ±0.05	58.54 <sup>c</sup> ±0.34
10	31.77 <sup>b</sup> ±0.44	63.74 <sup>a</sup> ±0.45
20	37.14 <sup>a</sup> ±0.47	62.44 <sup>b</sup> ±0.37

หมายเหตุ: อักษร a, b,...แสดงถึงความแตกต่างกันตามแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.2.3 สมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดชาเขียวในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) และแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli P. fluorescens* และ *S. Enteritidis*) ซึ่งมักพบในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียและทำให้เกิดโรค โดย *E. coli* เป็นแบคทีเรียที่มักปนเปื้อนมากับน้ำที่ไม่สะอาด จัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค และใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ (index microorganisms) การปนเปื้อนของอุจจาระในอาหารและน้ำ *Pseudomonas spp.* สามารถสร้างเอนไซม์ ย่อยสลายโมเลกุลของโปรตีน หรือเพปไทด์หรือ

กรดอะมิโนอิสระซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในเนื้อสัตว์ ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นเน่าของผลิตภัณฑ์ไส้กรอก *S. aureus* สามารถสร้างสารพิษที่ทนความร้อน เมื่อบริโภคอาหารที่มีเซลล์ของแบคทีเรียชนิดนี้จะทำให้เกิดอาหารเป็นพิษได้และสารพิษสามารถทนความร้อนได้สูงโรคที่เกิดจากเชื้อนี้มีชื่อ ว่า staphyloenterotoxiosis หรือ staphyloenterotoxemia (Notermans และ Otterdijk, 1985) ส่วน *Salmonella* เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค salmonellosis แบคทีเรียชนิดนี้ สามารถเจริญได้ในร่างกายของผู้บริโภคและสามารถผลิตสารพิษเก็บไว้ภายในเซลล์ มักพบแบคทีเรียนี้ในเนื้อเยื่อระบบทางเดินอาหารและลำไส้ของสัตว์มักปนเปื้อนจากกระบวนการผลิตอาหารที่ไม่สะอาดหรือไม่ถูกสุขลักษณะอย่างเพียงพอ (Borch และ Arinder, 2002)

การศึกษาค้นคว้าทำโดยเปรียบเทียบบริเวณที่ยับยั้งของฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวที่มีปริมาณชาเขียว 2, 5, 10 และ 20% (w/v) ดังแสดงในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 บริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรียที่ทดสอบด้วยฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียว

ความเข้มข้นของ สารสกัด ชาเขียว (% w/v)	Inhibition zone (mm)			
	<i>S. aureus</i> (Contact surface)	<i>E.coli</i> (Contact surface)	<i>P.fluorescens</i> (Contact surface)	<i>S. Enteritidis</i> (Contact surface)
0	0.00 (+)	0.00 (+)	0.00 (+)	0.00 (+)
2	1.00 (+)	0.67 (+)	0.00 (+)	0.00 (+)
5	1.00 (+)	1.00 (+)	1.00 (+)	1.00 (+)
10	1.00 (+)	1.00 (+)	1.00 (+)	1.00 (+)
20	1.00 (+)	1.00 (+)	1.00 (+)	1.00 (+)

(+) เชื้อไม่เจริญบริเวณใต้แผ่นทดสอบ

(-) เกิดเชื้อบริเวณใต้แผ่นทดสอบ

เมื่อพิจารณาบริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรียที่ทดสอบด้วยฟิล์มที่เติมและไม่เติมสารสกัดชาเขียว พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ดีกว่าฟิล์มที่ไม่มีการเติมสารสกัดชาเขียว โดยพบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียวจาก 2 ถึง 20 % ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ไม่เปลี่ยนแปลง ส่วนประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *P. fluorescens*, *S. Enteritidis* และ *E. coli* ไม่เปลี่ยนแปลงที่ความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียวจาก 5 ถึง 20 % แต่สามารถยับยั้ง *E.coli* ได้

เล็กน้อยที่ความเข้มข้น 2 % ทั้งนี้อาจเนื่องจาก *P. Fluorescens*, *S. Enteritidis* และ *E.coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีผนังเซลล์ที่มีโครงสร้างที่ซับซ้อนจึงทำหน้าที่เป็นตัวกั้นสารเคมีและเอนไซม์จากภายนอกไม่ให้เข้าไปทำลายเซลล์ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (ดังอธิบายในข้อที่ 4.1.3) ดังนั้นแบคทีเรียแกรมบวกจึงมีความไวต่อสารต่อต้านจุลินทรีย์มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ สามารถสังเกตได้จากขนาดของ inhibition zone หากมีวงกว้างแสดงว่าสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ได้ดีแต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาขนาดของ inhibition zone ที่วัดได้พบว่ามีความกว้างมากน้อย อาจเนื่องจากไคโตซานมี หมู่อะมิโน (-NH<sub>2</sub>) ที่สามารถแตกตัวให้ประจุบวก ซึ่งสามารถเกิดพันธะกับประจุลบในสารประกอบฟีนอลิกในชาเขียวซึ่งมีส่วนสำคัญต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น EGCG, ECG, EGC และ EC (Chen และ Chan, 1996; Sakanaka และคณะ, 2000; Wu และคณะ, 2007) และอยู่ในโครงสร้างร่างแหของฟิล์มไคโตซาน อย่างไรก็ตามการแพร่ของ active compounds เหล่านี้อาจเกิดได้น้อยบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบจึงส่งผลให้เกิดบริเวณที่ยับยั้งน้อย แต่เมื่อพิจารณาบริเวณใต้แผ่นฟิล์มทดสอบจะพบว่า สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิดได้เนื่องจากไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์บริเวณใต้แผ่นฟิล์ม ทั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tripathi และคณะ (2008) ที่ศึกษาการยับยั้ง *E-coli*, *S.aureus* และ *B.Subtilis* ของแผ่นฟิล์ม chitosan-starch film และ chitosan-starch solution ซึ่งพบว่าไม่เกิด inhibition zone ของแผ่นฟิล์ม แต่บริเวณใต้แผ่นฟิล์มทดสอบเกิดการยับยั้งแบคทีเรียดังกล่าว ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากผลการทดลองหากมีการนำมาใช้ห่ออาหารจริงอาจเป็นไปได้ว่าสามารถลดเชื้อจุลินทรีย์ในส่วนของอาหารที่สัมผัสกับแผ่นฟิล์มได้ ดังนั้นการทดลองขั้นต่อไปคือ นำฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัด ชาเขียวมาใช้ห่อผลิตภัณฑ์อาหารและได้ติดตามผลของการใช้ฟิล์มไคโตซานในการรักษาคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารดังต่อไปนี้

#### 4.3. การศึกษาการใช้ฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียวในการยืดอายุผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู

ในขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนการศึกษาการใช้ฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียวที่มีปริมาณความเข้มข้นของชาเขียว 10 % เปรียบเทียบกับการใช้ฟิล์มไคโตซานที่ไม่เติมสารสกัดชาเขียวในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอก โดยมีผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ไม่มีการห่อด้วยฟิล์มเป็นตัวควบคุมจากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพ, ทางเคมี, ทางจุลินทรีย์ และทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ ทุกๆ 4 วัน ดังต่อไปนี้

### 4.3.1. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู

#### 4.3.1.1 ค่าทางสี

ในการเปรียบเทียบผลของการห่อฟิล์มไคโตซานที่เติมและไม่เติม สารสกัดชาเขียวเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมในการยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ไส้กรอก โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงของ ค่า  $L^*$  (ความเข้ม-สว่าง), ค่า  $a^*$  (เขียว-แดง) และค่า  $b^*$  (น้ำเงิน-เหลือง) ของผลิตภัณฑ์ได้ผลการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 4.9 พบว่าฟิล์มที่ใช้ในการห่อ ระยะเวลาการเก็บและอิทธิพลร่วมของฟิล์มที่ใช้ในการห่อและระยะเวลาการเก็บ มีผลต่อค่า  $L^*$   $a^*$  และ  $b^*$  อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาเฉพาะผลของฟิล์มที่ใช้ในการห่อเพียงอย่างเดียวพบว่า มีความแตกต่างกันของค่าทางสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ด้วยเช่นกัน อย่างไรก็ตามค่า  $a^*$  และค่า  $b^*$  ของตัวอย่างไส้กรอกที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานที่เติมและไม่เติมสารสกัดชาเขียวไม่มีความแตกต่างกัน ( $p > 0.05$ )

นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้นค่า  $L^*$  และ  $b^*$  ของตัวอย่างควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์มีความสว่างและความเป็นสีเหลืองมากขึ้น จึงส่งผลให้สีของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกในตัวอย่างควบคุมมีสีซีดจางลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างไส้กรอก ที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานที่เติมและไม่เติมสารสกัดชาเขียว ทั้งนี้อาจเนื่องจากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ไม่มีการห่อด้วยฟิล์มมีโอกาสสัมผัสกับออกซิเจนได้มากกว่า ซึ่งโดยปกติแล้วผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเมื่อผ่านกระบวนการทำให้สุก รัศควัตถุสีแดงพวก myoglobin จะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูป nitrosohemochrome ซึ่งมีสีชมพูและเสถียรต่อความร้อน แต่จะไม่เสถียรต่อออกซิเจนและแสง เมื่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้รับออกซิเจนหรือแสงก็พร้อมที่จะออกซิไดส์  $Fe^{2+}$  ไปเป็น  $Fe^{3+}$  ทำให้สีของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกมีสีซีดจางลง นอกจากนี้เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างผลิตภัณฑ์ที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานกับฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวจะพบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บเพิ่มขึ้น ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียวจะมีการเปลี่ยนแปลงของค่า  $L^*$  และค่า  $b^*$  น้อยกว่าไส้กรอกที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารสกัดชาเขียวที่เติมลงในฟิล์มมีสมบัติต้านอนุมูล DPPH ดังสังเกตได้จากค่าการต้านอนุมูล DPPH (ตารางที่ 4.7) ที่พบว่าการเติมชาเขียวลงในฟิล์มไคโตซานช่วยให้ค่า DPPH เพิ่มขึ้นจาก 2.56 เป็น 63.74 % ดังนั้นจึงทำให้สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ส่งผลให้ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ อันเนื่องมาจากปฏิกิริยาดังกล่าวได้

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาค่า  $a^*$  ของผลิตภัณฑ์พบว่าการใช้ฟิล์มไคโตซานที่เติมและไม่เติมสารสกัดชาเขียวทำให้ค่า  $a^*$  มีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) และเมื่ออายุการเก็บเพิ่มขึ้น ไส้กรอกทุกตัวอย่างจะมีค่า  $a^*$  ลดลง โดยตัวอย่างควบคุมจะมีค่า  $a^*$  ที่ต่ำกว่าตัวอย่างอื่นตลอดอายุการเก็บรักษาซึ่งค่า  $a^*$  ในผลิตภัณฑ์

ไส้กรอกที่ลดลงนี้แสดงให้เห็นว่ามีสีแดงลดลงและเปลี่ยนเป็นสีเขียวมากขึ้นทั้งนี้เนื่องจากโดยธรรมชาติอาหารต่างๆ ไปเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นปริมาณจุลินทรีย์ย่อมจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย และในกรณีของไส้กรอกก็เช่นเดียวกัน ซึ่งจุลินทรีย์เป็นสาเหตุหนึ่งที่สำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเม็ดสีในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกและการเปลี่ยนเป็นสีเขียวในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่เกิดขึ้นนั้น เนื่องจากจุลินทรีย์จะผลิตสารจำพวก peroxide ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับเม็ดสี nitric oxide hemochromogen หรือ nitric oxide myoglobin ได้สาร oxidized porphyrin ซึ่งมีสีเขียว (Jjaberg และคณะ, 1970) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานที่เติมและไม่เติมสารสกัดชาเขียวจะมีการเปลี่ยนแปลงค่าทางสี  $L^*$   $a^*$  และ  $b^*$  น้อยกว่าตัวอย่างควบคุมตลอดอายุการเก็บรักษา และการใช้ฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียวในการห่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกจะสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงของค่าทางสี ( $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$ ) ได้ดีกว่าตัวอย่างอื่นๆ

ตารางที่ 4.9 ค่า L\* a\* b\* และ  $\Delta E$  ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมูระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

Storage time(days)	Treatment	L*	a*	b*	$\Delta E$
0	All treatments	57.08 <sup>cd</sup> ±0.40	22.08 <sup>a</sup> ±0.18	15.50 <sup>bc</sup> ±0.18	-
4	C	56.70 <sup>de</sup> ± 0.35	21.80 <sup>ab</sup> ± 0.45	15.59 <sup>abc</sup> ±0.32	1.80 <sup>c</sup> ±0.02
	CT	56.20 <sup>de</sup> ±0.29	21.78 <sup>ab</sup> ±0.11	15.41 <sup>bc</sup> ±0.19	1.89 <sup>c</sup> ±0.22
	CT + GT	54.59 <sup>f</sup> ±0.21	21.72 <sup>abc</sup> ±0.11	15.40 <sup>bc</sup> ±0.62	2.95 <sup>ab</sup> ±0.28
8	C	57.92 <sup>bc</sup> ±0.28	21.47 <sup>abcd</sup> ±0.35	15.62 <sup>abc</sup> ±0.20	1.91 <sup>c</sup> ±0.27
	CT	56.06 <sup>de</sup> ±0.46	21.66 <sup>abcd</sup> ±0.34	15.42 <sup>bc</sup> ±0.14	2.51 <sup>bc</sup> ±0.62
	CT + GT	56.03 <sup>de</sup> ±1.62	21.47 <sup>abcd</sup> ±0.28	15.60 <sup>abc</sup> ±0.35	2.40 <sup>bc</sup> ±0.48
12	C	58.27 <sup>b</sup> ±0.22	21.16 <sup>bcde</sup> ±0.12	15.76 <sup>ab</sup> ±0.05	2.01 <sup>c</sup> ±0.34
	CT	57.86 <sup>bc</sup> ±0.12	21.34 <sup>bcde</sup> ±0.04	15.32 <sup>bcd</sup> ±0.47	1.82 <sup>c</sup> ±0.22
	CT + GT	55.65 <sup>a</sup> ±0.24	21.50 <sup>abcd</sup> ±0.46	15.28 <sup>bcd</sup> ±0.64	2.42 <sup>bc</sup> ±0.09
16	C	58.55 <sup>b</sup> ±0.34	20.74 <sup>ef</sup> ±0.33	16.21 <sup>a</sup> ±0.20	2.53 <sup>bc</sup> ±0.31
	CT	56.86 <sup>cd</sup> ±0.30	21.02 <sup>de</sup> ±0.43	15.32 <sup>bcd</sup> ±0.61	1.92 <sup>c</sup> ±0.35
	CT + GT	54.32 <sup>f</sup> ±0.57	21.31 <sup>bcde</sup> ±0.42	15.08 <sup>bcd</sup> ±0.45	3.22 <sup>ab</sup> ±0.72
20	C	59.56 <sup>a</sup> ±0.65	20.19 <sup>f</sup> ±0.76	16.24 <sup>a</sup> ±0.11	3.41 <sup>a</sup> ±1.24
	CT	56.89 <sup>cd</sup> ±1.14	21.08 <sup>cde</sup> ±0.47	15.03 <sup>cd</sup> ±0.44	2.03 <sup>c</sup> ±0.21
	CT + GT	54.47 <sup>f</sup> ±0.22	21.25 <sup>bcde</sup> ±0.15	14.70 <sup>d</sup> ±0.30	3.18 <sup>ab</sup> ±0.23

หมายเหตุ: อักษร a, b,... แสดงความแตกต่างกันตามแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

C (control) = ตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน

CT (chitosan film) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซาน

CT + GT (chitosan film + green tea) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียว 10 %

#### 4.3.1.2 ลักษณะเนื้อสัมผัส

ในการศึกษาผลของการห่อฟิล์มไคโตซานที่เติมและไม่เติมสารสกัดชาเขียวเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมในการยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ไส้กรอก โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าแรงตึงตัวของเนื้อสัมผัสในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้ผลการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 4.10 จากผลการทดลองพบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างฟิล์มไคโตซานและระยะเวลาการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยการเก็บรักษาในระหว่าง 8 วันแรกค่าแรงตึงตัวของผลิตภัณฑ์ไม่แตกต่างกันมากนักแต่เมื่อเก็บรักษาไว้นาน 12 วันตัวอย่างควบคุมมีค่าแรงตึงตัวลดลง ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าเป็นผลมาจากการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ เพราะ เมื่อปริมาณจุลินทรีย์สูงขึ้นจนเกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมไส้กรอกฮอตดอก (มอก.ไส้กรอกฮอตดอก, 2549) จะส่งผลให้ค่า pH ลดต่ำลงเนื่องจากปริมาณกรดแลคติกที่จุลินทรีย์ผลิตจะเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ไอรส รักษาติ (2537) ที่ศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาไส้กรอกเวียนนาแล้วพบว่าค่าแรงตึงตัวที่ลดลงสอดคล้องกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้การแยกตัวของน้ำและไขมันที่เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้เนื้อสัมผัสเริ่มยุ่ย ค่าแรงตึงตัวที่ได้จึงลดลงเช่นเดียวกัน และเมื่อพิจารณาตัวอย่างไส้กรอกที่ใช้ฟิล์มไคโตซานทั้งที่เติมและไม่เติมสารสกัดชาเขียวในการห่อ พบว่าค่าแรงตึงตัวมีค่าไม่แตกต่างกันตลอดอายุการเก็บรักษาโดยตัวอย่างที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียว มีการเปลี่ยนแปลงของค่าแรงตึงตัวน้อยกว่าตัวอย่างที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน ดังนั้นการห่อด้วยฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวช่วยรักษาคุณภาพด้านเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้ดีกว่าการห่อด้วยฟิล์มไคโตซานและที่ไม่มีการห่อด้วยฟิล์ม ตามลำดับ



ตารางที่ 4.10 ค่าแรงตัดขาดของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

Storage time (days)	Treatment	Texture (gram force)
0	All treatments	1975.28 <sup>a</sup> ±35.44
4	C	1828.75 <sup>ab</sup> ±31.10
	CT	1869.38 <sup>ab</sup> ±22.63
	CT + GT	1891.25 <sup>ab</sup> ±41.37
8	C	1759.65 <sup>ab</sup> ±56.64
	CT	1848.98 <sup>ab</sup> ±44.43
	CT + GT	1877.75 <sup>ab</sup> ±43.29
12	C	1512.00 <sup>bcd</sup> ±40.50
	CT	1726.30 <sup>ab</sup> ±37.17
	CT + GT	1687.89 <sup>ab</sup> ±32.34
16	C	1153.98 <sup>de</sup> ±20.28
	CT	1588.33 <sup>abc</sup> ±37.46
	CT + GT	1625.69 <sup>ab</sup> ±23.01
20	C	916.53 <sup>e</sup> ±50.44
	CT	1520.45 <sup>bcd</sup> ±42.02
	CT + GT	1544.49 <sup>abcd</sup> ±45.41

หมายเหตุ: อักษร a, b,... แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

C (control) = ตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน

CT (chitosan film) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซาน

CT + GT (chitosan film + green tea) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียว 10 %

### 4.3.2 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู

#### 4.3.2.1 ค่า pH

เมื่อพิจารณาค่า pH ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกพบว่าฟิล์มที่ใช้ในการห่อ ระยะเวลาการเก็บ และอิทธิพลร่วมของฟิล์มที่ใช้ในการห่อและระยะเวลาการเก็บ มีผลต่อค่า pH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.11 โดยพบว่าทุกตัวอย่างมีค่า pH ลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยเฉพาะตัวอย่างควบคุมมีค่า pH ลดลงมากกว่าตัวอย่างอื่น ทั้งนี้อาจเกิดจากการเจริญของจุลินทรีย์ที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งจุลินทรีย์บางชนิดสร้างกรดในระหว่างการเจริญได้ เช่น แบคทีเรียแลคติก หากมีจำนวนสูงขึ้นก็จะส่งผลให้ค่า pH ของผลิตภัณฑ์ลดต่ำลง ส่วนตัวอย่างที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานที่เติมและไม่เติมสารสกัด มีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH น้อยกว่า ทั้งนี้เนื่องจากฟิล์มไคโตซานมี chitosonium acetate (Nunthanid และคณะ, 2001) ส่วนฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวยังมีองค์ประกอบของ phenolic acid ซึ่งช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Viuda-Martos และคณะ (2010) ที่ได้ศึกษาค่า pH ของ bologna sausages เมื่อเติม orange dietary fibre, และ oregano essential oil ซึ่งประกอบด้วย สารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกเช่นเดียวกัน และพบว่า ค่า pH มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้นโดยค่า pH ของตัวอย่างควบคุมมีค่าลดลงมากกว่าตัวอย่างอื่นๆตลอดอายุการเก็บรักษาโดยผู้วิจัยได้อธิบายว่าการลดลงของ pH มีส่วนสัมพันธ์กับการเจริญของแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียแลคติกซึ่งสามารถผลิตกรดแลคติกในระหว่างการเจริญ เช่นเดียวกับ Dykes, Cloete และ Holy (1991) ที่ได้อธิบายไว้ว่าการลดลงของ pH ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์นั้นมีอิทธิพลมาจากแบคทีเรียแลคติก

ตารางที่ 4.11 ค่า pH ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

Storage time (days)	Treatment	pH
0	All treatments	6.56 <sup>a</sup> ±0.02
4	C	6.54 <sup>ab</sup> ±0.02
	CT	6.53 <sup>ab</sup> ±0.02
	CT + GT	6.47 <sup>c</sup> ±0.01
8	C	6.50 <sup>bc</sup> ±0.01
	CT	6.48 <sup>c</sup> ±0.00
	CT + GT	6.40 <sup>def</sup> ±0.01
12	C	6.50 <sup>bc</sup> ±0.01
	CT	6.48 <sup>c</sup> ±0.01
	CT + GT	6.39 <sup>ef</sup> ±0.00
16	C	6.41 <sup>de</sup> ±0.01
	CT	6.50 <sup>bc</sup> ±0.01
	CT + GT	6.41 <sup>de</sup> ±0.00
20	C	6.36 <sup>f</sup> ±0.00
	CT	6.44 <sup>d</sup> ±0.01
	CT + GT	6.39 <sup>ef</sup> ±0.00

หมายเหตุ: อักษร a, b,...แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

C (control) = ตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน

CT (chitosan film) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซาน

CT + GT (chitosan film + green tea) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียว 10 %

#### 4.3.2.2 ค่า TBA

การเกิด lipid oxidation เป็นปฏิกิริยาทางเคมีที่ซับซ้อน และมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพและทางเคมีของ lipid การตรวจสอบเพื่อวัดการเกิด lipid oxidation ที่นิยมใช้วัดในอาหารผลิตภัณฑ์เนื้อและไส้กรอกคือการทดสอบกรดโทโอบาปิฟูริก หรือ TBA ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยา oxidation ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ทำปฏิกิริยากับกรดโทโอบาปิฟูริกทำให้เกิดสี ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา condensation ของมาโลนาลดีไฮด์ (malonaldehyde) กับกรดโทโอบาปิฟูริก (นิริยา รัตนพานนท์, 2545)

จากผลการศึกษาผลของการใช้ฟิล์มโคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียว ต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า TBA ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู พบว่าฟิล์มที่ใช้ในการห่อ ระยะเวลาการเก็บ และอิทธิพลร่วมของฟิล์มที่ใช้ในการห่อและระยะเวลาการเก็บ มีผลต่อค่า TBA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.12 โดยพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้นค่า TBA มีค่าเพิ่มขึ้น และตัวอย่างไส้กรอกที่ห่อด้วยฟิล์มโคโตซานทั้งที่เติมและไม่เติมสารสกัดชาเขียว จะมีค่า TBA ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมตลอดอายุการเก็บรักษาซึ่งแสดงว่าการห่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกด้วยฟิล์มทั้ง 2 ประเภทช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ การที่ฟิล์มโคโตซานสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เนื่องจากในโครงสร้างของโคโตซาน มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ที่อะตอมไนโตรเจนในหมู่อะมิโน  $\text{NH}_3^+$  (รายงานการประชุมเชิงปฏิบัติการโคติน โคโตซาน, 2544) ดังนั้นจึงสามารถจับออกซิเจนและอาจสร้างพันธะไฮดรอกซิลกับโลหะ ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา lipid oxidation ที่อยู่ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้ ทั้งนี้ การเปลี่ยนแปลงพันธะของโลหะเป็นการเริ่มต้นกระบวนการ lipid peroxidation และปฏิกิริยาอื่นๆที่ต่อเนื่องกันซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่น, สี และรสชาติในอาหาร (Gordon, 2001) Yen และคณะ (2007) พบว่า โคโตซานมีความสามารถในการคีเลต (chelate)  $\text{Fe}^{2+}$  เท่ากับ 88.7% เมื่อเทียบกับ EDTA ที่มีประสิทธิภาพในการคีเลตเท่ากับ 97.9 % ทั้งนี้ Inoue และคณะ, 1988 ได้อธิบายการกลไกการคีเลตของโคโตซานกับโลหะโดยยกตัวอย่างการคีเลต  $\text{Cu}^{2+}$  ว่าเกี่ยวข้องกับกำบังของหมู่ hydroxyl group ตรงตำแหน่งคาร์บอนที่ 6 และ หมู่ amino group ตรงตำแหน่งคาร์บอนที่ 2 ในโมเลกุลของโคโตซาน (รูปที่ 2.4) ซึ่งความสามารถในการคีเลตโลหะของโคโตซานโดยเฉพาะ  $\text{Fe}^{2+}$  ที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก จึงน่าจะเป็นประโยชน์ต่อการนำโคโตซานไปใช้ในการยับยั้งปฏิกิริยา oxidation ของผลิตภัณฑ์อาหารได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Darmadji และ Izumimoto (1994) และ Shahidi, Arachchi และ Jeon (1999) ที่ได้อธิบายว่าโคโตซานมีผลต่อการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา oxidation โดยกลไกการยับยั้งที่เกิดขึ้น สัมพันธ์กับกระบวนการ chelation ของ free iron กับ hemoproteins ที่เกี่ยวข้องกับกำบังโลหะ  $\text{Fe}^{2+}$  ดังที่กล่าวไว้ข้างต้น

เมื่อพิจารณาตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน พบว่าตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียวมีค่า TBA ต่ำกว่าตัวอย่างที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน ทั้งนี้อาจเนื่องจากสาร catechins และสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆ ที่อยู่ในชาเขียวสามารถยับยั้งหรือขจัดอนุมูลอิสระ โดยทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระในปฏิกิริยา oxidation ที่เกิดขึ้นได้ (Gadow และคณะ, 1997) สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Rice-Evans และคณะ (1996) ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาเขียวและพบว่าค่า TEAC (ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน trolox ที่ให้ฤทธิ์เท่ากับสารที่ความเข้มข้น 1mM) ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถของสารในการเป็น hydrogen donating โดยพบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของชาเขียวเกือบ 90 % มาจากสารประกอบในกลุ่ม catechins นอกจากนี้การที่ฟิล์มไคโตซานมีคุณสมบัติเป็น hydrophilic เนื่องจากมีหมู่ไฮดรอกซิล (OH) อยู่ในโครงสร้างพอลิเมอร์ ดังนั้นจึงสามารถละลายน้ำได้ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกสามารถแพร่จากฟิล์มไปสู่ผิวหน้าของอาหารที่สัมผัสกับฟิล์มได้ดี ฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวจึงมีประสิทธิภาพการต้านการเกิดการหืนได้ดีกว่าการใช้ฟิล์มไคโตซานที่ไม่มีการเติมสารสกัดชาเขียว

จะเห็นได้ว่าการใช้ฟิล์มไคโตซานช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้และการเติมชาเขียวลงในฟิล์มช่วยเพิ่มประสิทธิภาพและป้องกันการเกิดกลิ่นหืนได้ดียิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามเนื่องจากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกมีอายุการเก็บรักษาสั้นโดยจะเกิดจากการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์เป็นหลัก แต่หากมีการนำมาใช้กับการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องเก็บเป็นระยะเวลาานาน เช่นผลิตภัณฑ์อาหารทอดและอาหารแช่เยือกแข็ง การใช้ฟิล์มไคโตซานที่เติมชาเขียวจึงน่าจะช่วยป้องกันการเกิดการหืนในระหว่างการเก็บรักษาได้ดี

ตารางที่ 4.12 ค่า TBA ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

Storage time(days)	Treatment	TBA (mg malonaldehyde/kg)
0	All treatments	0.01 <sup>j</sup> ±0.02
4	C	0.06 <sup>h</sup> ±0.01
	CT	0.05 <sup>hi</sup> ±0.01
	CT + GT	0.04 <sup>i</sup> ±0.01
8	C	0.12 <sup>ef</sup> ±0.01
	CT	0.09 <sup>g</sup> ±0.01
	CT + GT	0.08 <sup>g</sup> ±0.01
12	C	0.15 <sup>c</sup> ±0.01
	CT	0.12 <sup>f</sup> ±0.00
	C T + GT	0.10 <sup>g</sup> ±0.01
16	C	0.17 <sup>b</sup> ±0.01
	CT	0.13 <sup>de</sup> ±0.01
	CT + GT	0.12 <sup>ef</sup> ±0.01
20	C	0.20 <sup>a</sup> ±0.00
	CT	0.16 <sup>bc</sup> ±0.01
	CT + GT	0.15 <sup>cd</sup> ±0.01

หมายเหตุ: อักษร a, b,...แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

C (control) = ตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน

CT (chitosan film) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซาน

CT + GT (chitosan film + green tea) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียว 10 %

### 4.3.3. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู

#### 4.3.3.1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด, ยีสต์ ราและแบคทีเรียแลคติกทั้งหมด

ตารางที่ 4.13 ปริมาณจุลินทรีย์ชนิดต่างๆในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู (CFU/g) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

Storage time(days)	Treatment (CFU/g)	Total plate count (CFU/g)	Yeast/moulds (CFU/g)	Lactic acid bacteria (CFU/g)
0	All treatments	<20	nd	nd
4	C	$3.6 \times 10^2$	nd	<20
	CT	<20	nd	nd
	CT + GT	<20	nd	nd
8	C	$4.2 \times 10^2$	<20	<20
	CT	<20	<20	<20
	CT + GT	<20	<20	nd
12	C	$1.8 \times 10^5$	$3.8 \times 10^3$	$3.4 \times 10^2$
	CT	<20	<20	<20
	CT + GT	<20	<20	<20
16	C	$3.5 \times 10^5$	$2.2 \times 10^4$	$1.0 \times 10^3$
	CT	<20	$6.9 \times 10^2$	<20
	CT + GT	<20	<20	<20
20	C	$>10^9$ *	$>10^9$ *	$>10^9$ *
	CT	$4.5 \times 10^3$	$1.1 \times 10^5$	<20
	CT + GT	$3.3 \times 10^2$	$1.5 \times 10^4$	<20

C (control) = ตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน

CT (chitosan film) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซาน

CT + GT (chitosan film + green tea) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียว 10 %

\*= ตัวอย่างเสื่อมเสีย, nd= ไม่พบ

จากการศึกษาผลของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียวต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู พบว่าปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นทั้งหมด มีจำนวนน้อยกว่า 20 CFU/g และตรวจไม่พบยีสต์ รา และแบคทีเรียแลคติก ซึ่งตัวอย่างไส้กรอกที่ไม่ได้ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานจะมีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น จนกระทั่งเมื่อเก็บรักษานาน 12 วัน ตัวอย่างควบคุมมีแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น  $1.8 \times 10^5$  CFU/g ซึ่งเกินกว่าที่มาตรฐานกำหนดไว้ คือ  $10^5$  (มอก.ไส้กรอกสอดดอก, 2549) และเมื่อพิจารณาผลิตภัณฑ์ที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานที่เติมและไม่เติมสารสกัดชาเขียวจะพบว่าแบคทีเรียทั้งหมดมีจำนวน น้อยกว่า 20 CFU/g จนกระทั่งถึงวันที่ 20 ของการเก็บรักษาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นเป็น  $3.3 \times 10^2$  และ  $4.5 \times 10^3$  CFU/g ซึ่งไม่เกินมาตรฐานที่กำหนดไว้แต่จำนวนยีสต์ ราเพิ่มขึ้นเป็น  $1.5 \times 10^4$  และ  $1.1 \times 10^5$  CFU/g ตามลำดับ ซึ่งตามข้อกำหนดปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารที่ผ่านกรรมวิธีและการปรุงสุกแล้วต้องมียีสต์น้อยกว่า  $10^4$  CFU/g และไม่ปรากฏราให้เห็นได้อย่างชัดเจน (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2536) และเมื่อพิจารณาแบคทีเรียแลคติกจะพบว่าไส้กรอกทุกตัวอย่างในวันที่ 0-8 แบคทีเรียแลคติกมีจำนวนน้อยกว่า 20 โคโลนี และเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้นเป็น 12-16 วันจำนวนแบคทีเรียแลคติกในตัวอย่างควบคุมจะอยู่ในช่วง  $3.4 \times 10^2$  -  $1.0 \times 10^3$  CFU/g ในขณะที่พบแบคทีเรียแลคติกน้อยกว่า 20 โคโลนีในตัวอย่างที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานที่เติมและไม่เติมสารสกัดชาเขียว ซึ่งโดยปรกติมักพบแบคทีเรียแลคติกได้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ต่างๆ เช่นแฮม, เบคอน และไส้กรอกซาลามิ (Steel และ Stiles, 1981) ส่วนตัวอย่างไส้กรอกที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานทั้งที่เติมและไม่เติมสารสกัดชาเขียวพบว่า มีจำนวนแบคทีเรียแลคติกน้อยกว่า 20 โคโลนี ตลอดอายุการเก็บรักษา ทั้งนี้ การห่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกด้วยฟิล์มไคโตซานสามารถชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ได้โดย Chung และ Chen (2008) และ Liu และคณะ (2004) ได้อธิบายถึงกลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของไคโตซานไว้ว่าเกิดจากประจุบวกในหมู่  $\text{NH}_3^+$  ของ glucosamine ในโครงสร้างของไคโตซานทำปฏิกิริยากับประจุลบในเซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์ดังนั้นจึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการซึมผ่านของผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ส่งผลให้สารต่างๆแพร่ออกจากภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ (Papineau และคณะ, 1991 ; Sudarshan, Hoover และ Knorr, 1992 ; Helander และคณะ, 2001) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Helander และคณะ (2001) ซึ่งพบการซึมผ่านของ glucose และ lactate dehydrogenase ออกจากเซลล์ของ *E-coli* โดยการวิเคราะห์ด้วย Transmission Electron Microscopy นอกจากนี้ การจับกัน (binding) ของไคโตซานกับ DNA ของจุลินทรีย์อาจทำให้เกิดกระบวนการยับยั้งการสังเคราะห์ RNA และขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ของจุลินทรีย์ ได้เช่นกัน (รายงานการประชุมเชิงปฏิบัติการไคตินไคโตซาน, 2544)



เมื่อเปรียบเทียบระหว่างฟิล์มโคโตซานที่เติมและไม่เติมสารสกัดชาเขียว พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทั้งหมด ยีสต์ รา และแบคทีเรียแลคติกได้ดีกว่าฟิล์มที่ไม่เติมสารสกัดชาเขียวโดยสังเกตได้จากจำนวนจุลินทรีย์ทุกชนิด มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นช้ากว่าตลอดอายุการเก็บรักษา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ของ catechins และสารประกอบฟีนอลิกต่างๆ ของชาเขียวที่เติมลงในฟิล์มโคโตซาน ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดชาเขียวในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus*, *E. coli*, *P. fluorescens* และ *S. Enteritidis* ดังแสดงในการทดลองที่ 4.1.3 และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wu และคณะ (2007) ที่พบว่าสารสกัด EC และ caffeine ในชาสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* และ *Escherchia coli* เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Hamilton-Miller (1995) ที่รายงานว่าสารประกอบในใบชาสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ ที่ทำให้เกิดโรค เช่น *Escherchia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* และ *Campylobacter jejuni* ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ของสารประกอบฟีนอลิกต่างๆของชาเขียว ได้กล่าวไว้แล้วในหัวข้อที่ 4.1.3 ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าฟิล์มโคโตซาน มีประสิทธิภาพในการยืดอายุการเก็บได้โดยเฉพาะฟิล์มโคโตซานที่มีการเติมสารสกัดชาเขียวจะมีประสิทธิภาพในการชะลอการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการใช้ฟิล์มโคโตซานเพียงอย่างเดียว

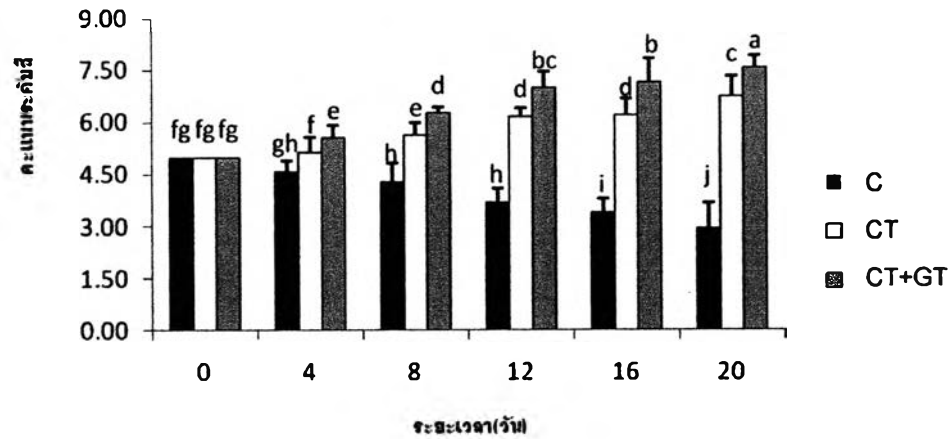
#### 4.3.4. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู

จากการศึกษาผลของการใช้ฟิล์มโคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียวต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู พบว่าตัวอย่างควบคุมมีคะแนนค่าทางสีลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยตัวอย่างไส้กรอกที่ใช้ฟิล์มโคโตซานทั้งที่เติมและไม่เติมสารสกัดชาเขียวจะมีคะแนนค่าทางสีสูงกว่าตัวอย่างควบคุม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น ตัวอย่างควบคุมซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มากกว่าตัวอย่างที่ห่อด้วยฟิล์มโคโตซาน ดังแสดงในตารางที่ 4.12 ที่พบว่ามีค่า TBA สูงกว่า ส่งผลให้รงควัตถุที่อยู่ในไส้กรอกเกิดการเปลี่ยนแปลง บริเวณผิวของไส้กรอกจึงมีสีซีดจางลง ทั้งนี้สอดคล้องกับผลการวัดค่าทางสีทางกายภาพของตัวอย่างไส้กรอกควบคุมที่พบว่า ค่าความสว่าง เพิ่มมากขึ้น ค่าความเป็นสีแดง ลดลง จึงทำให้ผู้ทดสอบ สามารถแยกความแตกต่างเหล่านี้ได้ ส่วนไส้กรอกที่ห่อด้วยฟิล์มโคโตซานที่เติมและไม่เติมสารสกัดชาเขียวพบว่า มีคะแนนทางประสาทสัมผัสสอดคล้องกับผลการวัดค่าทางสีทางกายภาพเช่นกัน คือมีค่าความสว่าง ลดลง ค่าความเป็นสีแดงเพิ่มมากขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของสีของผลิตภัณฑ์มีความสำคัญต่อคุณภาพและลักษณะปรากฏซึ่งส่งผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค

การทดสอบทางประสาทสัมผัสในด้านกลิ่นผิดปกติและการเกิดเมือกของไส้กรอก พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น ผลิตรภัณฑ์มีแนวโน้มการเกิดกลิ่นผิดปกติและการเกิดเมือกเพิ่มขึ้น โดยระยะเวลาการเก็บรักษาตั้งแต่เริ่มต้น (วันที่ 0) จนถึงวันที่ 8 ตัวอย่างไส้กรอกทุกตัวอย่าง ยังไม่มีกลิ่นผิดปกติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ (ตารางที่ 4.13) ที่พบเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดไม่เกินมาตรฐาน คือ  $10^5$  CFU/g (มอก.ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดตอก) และพบว่าในวันที่ 12, 16 และ 20 ตัวอย่างควบคุมที่เสื่อมเสียทางจุลินทรีย์ (พบเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดมากกว่า  $10^5$  CFU/g) มีคะแนนด้านกลิ่นผิดปกติและการเกิดเมือกที่สูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าตัวอย่างไส้กรอกที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานที่เต็มและไม่เต็มสารสกัดชาเขียว เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านกลิ่นผิดปกติเพียงเล็กน้อย ในวันที่ 16 และ 20 ของการเก็บรักษา และพบว่าการเก็บรักษาในช่วง 16 วันแรกผู้ทดสอบไม่พบการเกิดเมือกที่ผิวของผลิตภัณฑ์ไส้กรอก แต่อย่างไรก็ตามภายหลังจากการเก็บรักษานาน 20 วันผู้ทดสอบสามารถสังเกตการเกิดเมือกได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ห่อด้วยฟิล์มที่เต็มและไม่เต็มสารสกัดมีปริมาณยีสต์ที่สูงถึง  $1.5 \times 10^4$  และ  $1.1 \times 10^5$  CFU/g และมีปริมาณแบคทีเรียเพิ่มขึ้นเป็น  $3.3 \times 10^2$  และ  $4.5 \times 10^3$  CFU/g ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาด้านการยอมรับโดยรวม พบว่าตัวอย่างไส้กรอกที่ห่อด้วยฟิล์มไคโตซานที่เต็มและไม่เต็มสารสกัดชาเขียวมีคะแนนด้านการยอมรับโดยรวมไม่แตกต่างกัน แต่มีคะแนนแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) และพบว่าคะแนนด้านการยอมรับโดยรวมของตัวอย่างไส้กรอกทุกการทดลองมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ การเกิดกลิ่นเหม็นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน การเปลี่ยนแปลงด้านสีรวมทั้ง การเกิดเมือกและกลิ่นผิดปกติ ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อการยอมรับผลิตรภัณฑ์ของผู้ทดสอบ

### ระดับสีของไส้กรอก



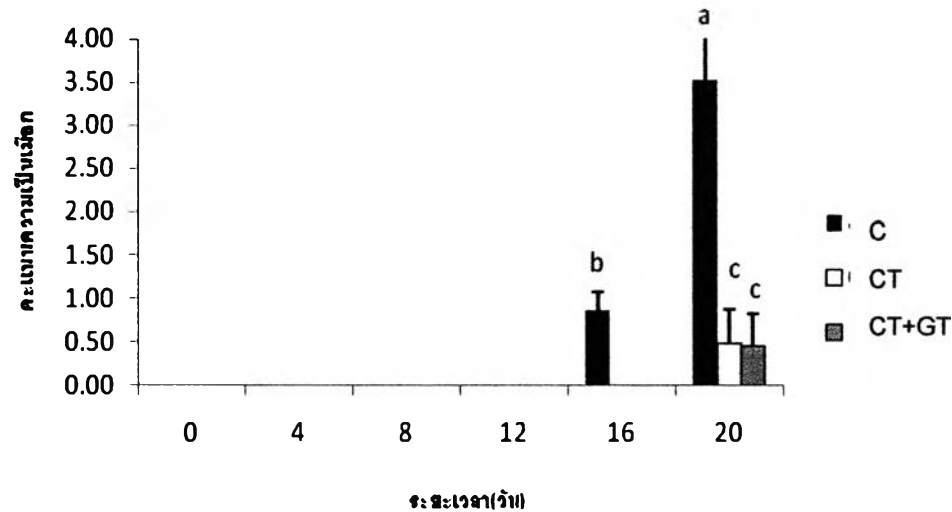
รูปที่ 4.2 คะแนนระดับสีของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C

C (control) = ตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน

CT (chitosan film) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซาน

CT + GT (chitosan film + green tea) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียว 10 %

### การเกิดเมือก

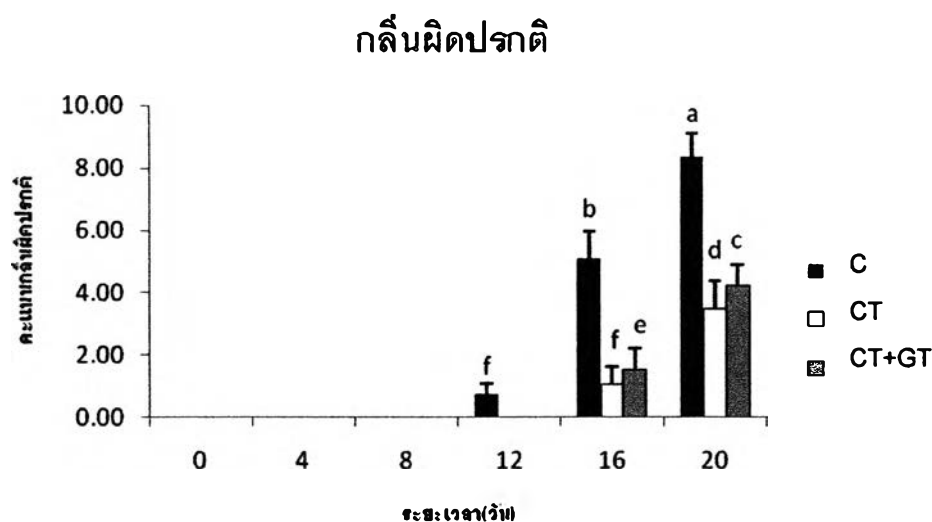


รูปที่ 4.3 คะแนนการเกิดเมือกของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C

C (control) = ตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน

CT (chitosan film) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซาน

CT + GT (chitosan film + green tea) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียว 10 %

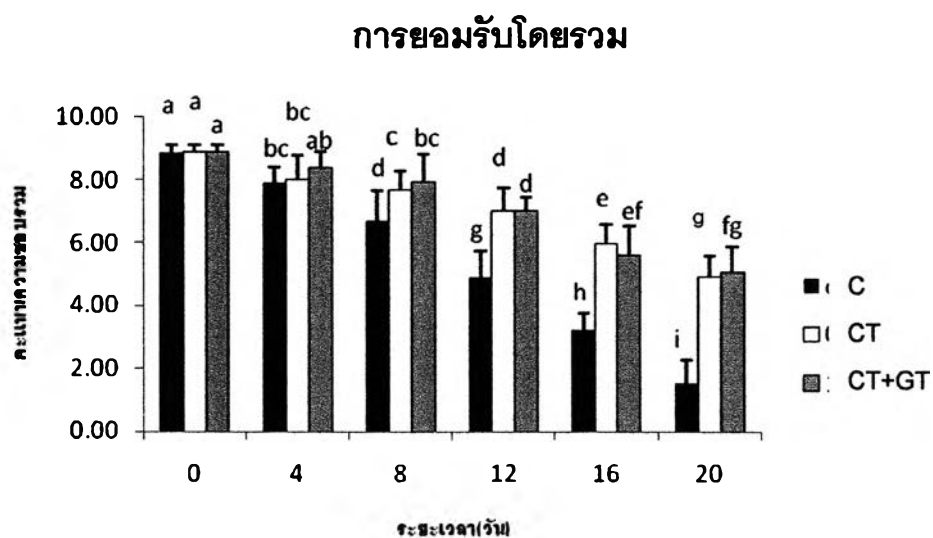


รูปที่ 4.4 คะแนนกลิ่นผิดปกติของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

C (control) = ตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน

CT (chitosan film) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซาน

CT + GT (chitosan film + green tea) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียว 10 %



รูปที่ 4.5 คะแนนการยอมรับโดยรวมของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

C (control) = ตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน

CT (chitosan film) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซาน

CT + GT (chitosan film + green tea) = ตัวอย่างที่ห่อฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดชาเขียว 10 %