บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

สำนักงานวิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.1 ชาเขียว

ชาเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Theaceae สกุล Camellia มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Camellia sinensis* (Linn.) O.Ktze. มีถิ่นกำเนิดในแถบประเทศจีนและญี่ปุ่น นิยมใช้ใบชาในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม ชาที่มีจำหน่ายทั่วไปในท้องตลาดมาจากพืชชนิดเดียวกันคือ *Camellia sinensis* ซึ่งอาจเป็นพันธุ์อัสสัม หรือชาจีนก็ได้ โดยทั่วไปสามารถจำแนกประเภทของชาได้ 3 ประเภท ได้แก่ ชาเขียว (green tea, non-fermented tea), ชาอูหลง (ชากึ่งหมัก, semi-fermented tea, partially-fermented tea) และชาฝรั่ง (black tea, full-fermented tea) ทั้งนี้ชามีชื่อเรียกต่างกันเนื่องจากมีระดับกระบวนการหมักในกระบวนการผลิตที่แตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 2.1

รูปที่ 2.1 ประเภทของชา

ที่มา : Wang, Provan และ Helliwell (2000)

ชาเขียว เป็นชาที่ไม่มีขั้นตอนการหมักใบชาสดระหว่างกระบวนการผลิต ใบชาที่เก็บมาได้จะถูกนำมานึ่งด้วยไอน้ำร้อน (steaming) ได้เป็นชาเขียวแบบญี่ปุ่น หรือคั่วด้วยกะทะร้อน (pan firing) ได้เป็น ชาเขียวแบบจีน เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ catechol oxidase (polyphenol oxidase) ทันที ใบชาจึงยังคงมีสารประกอบฟีนอลิกอยู่สูง (Wickremasinghe, 1978) ชาเขียวมีสารสำคัญต่างๆ ที่คล้ายกับใบชาสดอาทิเช่น สารอนินทรีย์ (inorganic constituents) และสารอินทรีย์ (organic constituents) สารอนินทรีย์ที่พบในใบชาส่วนใหญ่อยู่ในรูปเกลือภายใน cell sap โพแทสเซียม (K) เป็นธาตุที่พบในปริมาณสูงที่สุด ประมาณ 1.76 % ของน้ำหนักแห้ง รองลงมาได้แก่ ธาตุแคลเซียม (Ca), ฟอสฟอรัส (P) และแมกนีเซียม (Mg) ส่วนธาตุเหล็ก (Fe), แมงกานีส (Mn), ซัลเฟอร์ (S), อะลูมิเนียม (Al), โซเดียม (Na), ซิลิคอน (Si), สังกะสี (Zn) และทองแดง (Cu) พบในปริมาณต่ำ สารอินทรีย์ที่พบในปริมาณสูง และมีผลต่อคุณภาพของใบชา ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก, โปรตีน, คาเฟอีน, กรดอะมิโน และสารให้กลิ่น (Hilal และ Engelhardt, 2007)

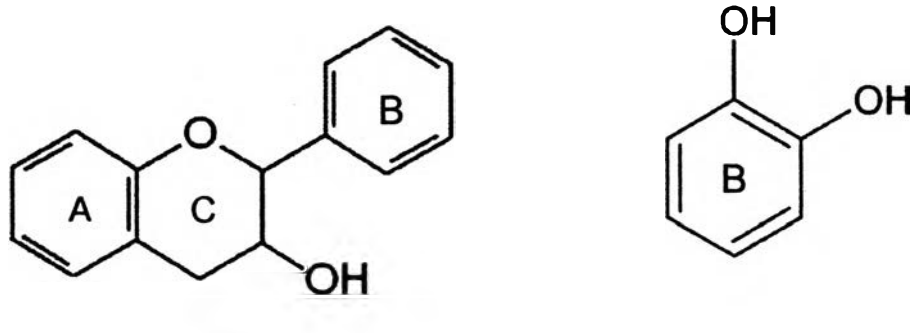
2.1.1 สารประกอบฟีนอลิกในชาเขียว

สารประกอบฟีนอลิก จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พบได้มากในธรรมชาติได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ไวน์แดง ชาดำ และชาเขียวเป็นต้น โดยในใบชาสดสารประกอบฟีนอลิกจะอยู่ใน cell sap ของเซลล์ชั้น palisade ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดรสฝาด (astringent taste) และสีของน้ำชา โดยส่วนใหญ่แล้วสารประกอบฟีนอลิก ที่พบมากในชาเขียวได้แก่ แทนนิน (tannins) ซึ่งจำแนกได้ 3 กลุ่ม กลุ่มแรกคือแทนนินที่ไฮโดรไลซ์ได้ (hydrolysable tannins) ซึ่งเป็นกลุ่มของสารประกอบฟีนอล ที่เป็นส่วนหนึ่งของโครงสร้างอนุพันธ์ของ catechins เช่น กรดแกลลิก (gallic acid) และกรดแอลลาจิก (ellagic acid) กลุ่มที่สองคือ แทนนินที่ไฮโดรไลซ์ไม่ได้ (nonhydrolyzable tannins) หรือลูโคแอนโทไซยานิน (leucoanthocyanin) เป็นรงควัตถุที่ไม่มีสี มีสูตรโครงสร้างคล้ายแอนโทไซยานิน (anthocyanin) เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดร้อนจะได้เป็นแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) leucoanthocyanin เป็นสารที่ทำให้ผลไม้ดิบและชามีรสฝาด และกลุ่มสุดท้ายคือ condensed tannins คือกลุ่มของสารประกอบแทนนินที่เป็นอนุพันธ์ของ catechins (Schofield, Mbugua และ Pell, 2001) แทนนินที่พบในใบชาส่วนใหญ่ อยู่ในรูปของ catechins นอกจากนี้ยังมีสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นกรดไฮดรอกซี (hydroxyl acid) ซึ่งได้แก่ กรดคาเฟอิก (caffeic acid) และอนุพันธ์เอสเทอร์ของกรดคาเฟอิก เช่น กรดคลอโรจินิก (chlorogenic acid) และฟีนิลคาฟเฟเอต (phenyl caffeate) สารประกอบเหล่านี้สามารถรวมตัวกับโลหะไอออนให้สารที่มีสีได้ ซึ่งในใบชาพบ คาเฟอิน (caffeine) ประมาณ 2.5-4.5 % ของ

น้ำหนักแห้ง ไม่มีสี มีรสขม โดยเป็นสารประกอบอินทรีย์สำคัญที่ช่วยในการกระตุ้นประสาท และทำให้รสชาติของชาดีขึ้น (ศูนย์ส่งเสริมอุตสาหกรรมภาคเหนือ กระทรวงอุตสาหกรรม, 2532)

2.1.2 การใช้ประโยชน์ของ Catechins ในชาเขียว

catechins จัดเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) พบได้ทั่วไปในพืชผัก ผลไม้ และเครื่องดื่ม เช่นชา ไวน์ ในพืชพบได้ในเมล็ด ผิว หรือเปลือกของผลไม้ และจะพบมากในชาเขียว ซึ่งสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์นั้นมีสูตรโครงสร้างหลัก เป็น 2-ฟีนิลเบนโซไพแรน (2-phenylbenzopyran) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม เรียงต่อกันเป็นระบบ $C_6C_3C_6$ โดยมีวงเบนซีน (benzene rings) 2 วงจับกันด้วยคาร์บอนอะตอม ทั้งนี้สารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่มตามความแตกต่างของสูตรโครงสร้าง โดย catechins ในใบชาอยู่ในกลุ่มของฟลาวานอล (flavanol) จัดเป็นสารประกอบที่เกิดจากวงเบนซีน และหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl groups) โดยโครงสร้างหลักของสารกลุ่มนี้จะเป็น flavan-3-ol ซึ่งวง C จะอิ่มตัวไม่มีพันธะคู่ทำให้อิเลคตรอนไม่สามารถเคลื่อนที่ไปมาระหว่างวง A และ B ได้ ดังรูปที่ 2.2 (a) ดังนั้นฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันจึงอยู่ขึ้นกับจำนวนหมู่ฟีนอลิก โดยสารที่มีจำนวนหมู่ฟีนอลิกมากกว่าจะให้ฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันได้ดีกว่า (Rice-Evans และคณะ, 1996) ไอโซเมอร์ของ catechins คือ อิพิแคทิชิน (epicatechin) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ที่อยู่ในรูปรีดิวซ์ของ flavanes ในใบชาจะมี catechins และ epicatechin ที่เอสเทอริไฟด์กับ gallic acid ได้เป็นอนุพันธ์ของ catechins ชนิดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.1 และรูปที่ 2.3 ทั้งนี้การสังเคราะห์ (biosynthesis) สาร catechins รูปต่างๆ ของใบชาสดนั้นจะมี shikimic acid เป็นสารตั้งต้น (Wickremasinghe, 1978)



(a) (b)

รูปที่ 2.2 (a) โครงสร้างหลักของ flavanol และ

(b) catechol หรือ ortho-diphenolic group โดย B เป็นตำแหน่งและลักษณะโครงสร้างพื้นฐานที่จำเป็นต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของ flavanol

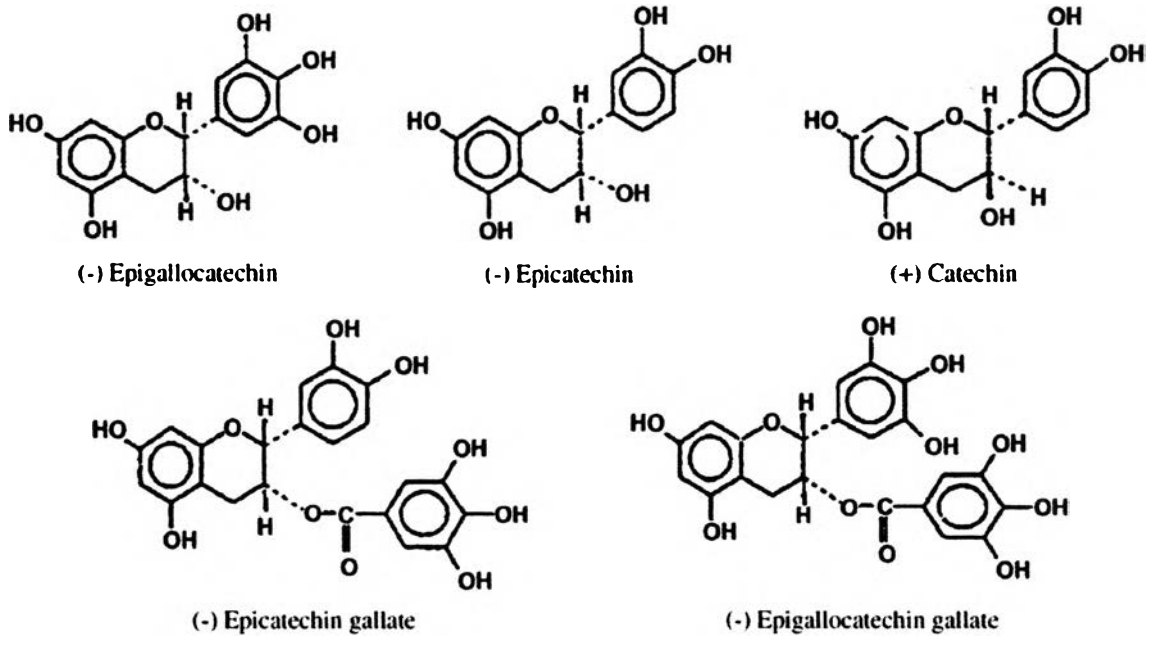
ที่มา : โอภา วัชระคุปต์ และคณะ (2549)

ปริมาณของสาร catechins ในชา ขึ้นอยู่กับฤดูกาล ชาในฤดูใบไม้ผลิมีปริมาณของสาร catechins ร้อยละ 12-13 โดยน้ำหนัก ส่วนชาในฤดูร้อนมีปริมาณสาร catechins ร้อยละ 13-14 โดยน้ำหนักและเมื่อเปรียบเทียบ ระหว่างใบอ่อนและใบแก่พบว่าชาใบอ่อนจะมีปริมาณสาร catechins สูงกว่า เนื่องจากปริมาณของ catechins ในยอดชาสดจะผันแปรตาม อายุใบ, ฤดูกาล, พื้นที่ปลูกและสายพันธุ์ ซึ่งสารนี้มีปริมาณลดลงเมื่อใบมีอายุมากขึ้น จึงเป็นเหตุผลหนึ่งที่ใบชาแก่ไม่เหมาะสมในการนำมาผลิตชา (สัณห์ ละอองศรี, 2535)

ตารางที่ 2.1 สาร catechins ในใบชา

Catechins และอนุพันธ์	สูตรโมเลกุล	น้ำหนักโมเลกุล
(-) Epicatechin(EC)	$C_{15}H_{14}O_6$	290
(-) Epicatechin gallate (ECG)	$C_{22}H_{18}O_{10}$	442
(-) Epigallocatechin (EGC)	$C_{15}H_{14}O_7$	306
(-) Epigallocatechin gallet (EGCG)	$C_{22}H_{18}O_{11}$	458
(+) Catechin (C)	$C_{15}H_{14}O_6$	290

ที่มา : (สัณห์ ละอองศรี, 2535)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของ catechins และอนุพันธ์ในใบชา

ที่มา : Almajano และคณะ (2008)

ปัจจุบันได้มีการศึกษาอย่างกว้างขวาง ถึงคุณประโยชน์ของ catechins ต่อร่างกายของมนุษย์และสัตว์ และมีการนำ catechins มาใช้เป็นสารที่เติมในอาหารคนและอาหารสัตว์เพื่อวัตถุประสงค์ต่างๆกัน เช่น ใช้เป็นสารต้านออกซิเดชัน เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลิพิดออกซิเดชัน (lipid oxidation) ในอาหาร ใช้เป็นสารต้านจุลินทรีย์ และใช้เป็นสารเสริมสุขภาพของสัตว์เนื่องจาก catechins มีคุณสมบัติที่สำคัญดังต่อไปนี้

2.1.2.1 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

กลไกหลักในการออกฤทธิ์ของสารประกอบฟีนอกลิกที่สำคัญของชาเขียว คือ เป็นสารต้านออกซิเดชันทำหน้าที่ในการยับยั้งหรือขจัดอนุมูลอิสระต่างๆ โดยสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain breaking) ด้วยการทำหน้าที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ(hydrogen donating) (Gadow, Joubert และ Hansmann,1997) โดยRice-Evans และคณะ(1996) ซึ่งศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาเขียวได้รายงานว่าค่า TEAC (trolox equivalent antioxidant activity) ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถของชาเขียวในการเป็น hydrogen donating ในการขจัดหรือยับยั้งอนุมูลอิสระ ในสารสกัดชาเขียวมีค่าเท่ากับ 3.78 mM ในขณะที่สารประกอบในกลุ่ม catechins ให้ค่า TEAC สูงถึง 2.76 mM (มากกว่า73%ของสารต้านออกซิเดชันของสารสกัดทั้งหมด) และเมื่อพิจารณาค่าที่ได้จากสารสกัดที่เป็นเฉพาะสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่ามีค่า TEAC เท่ากับ 3.36 mM ชี้ให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของชาเขียวเกือบ 90 % มาจากกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ทั้งนี้โครงสร้างที่สำคัญที่ทำให้ catechins มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ คือ catechol หรือ ortho-diphenolic group ในวง B แสดงในรูปที่ 2.2 (b) ซึ่งทำหน้าที่เป็นทั้ง hydrogen donating และยังสามารถจับหรือคีเลตโลหะหนักโดยเฉพาะ Cu และ Fe ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการสร้างและเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระได้

มีการศึกษาถึงประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ของ catechins ในใบชาในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยา oxidation ในเนื้อไก่ หมู วัว และปลารวมทั้งในน้ำมัน ซึ่งมักเกิดปัญหาของการเกิดการหืนเนื่องจากปฏิกิริยา lipid oxidation นอกจากนี้ยังมีการนำ GTC มาใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ (natural antioxidant) เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation และยืดอายุของเนื้อสัตว์ได้หลายชนิดโดย Tang และคณะ (2001) รายงานว่าการเติม catechins ลงในเนื้อสัตว์ที่ปริมาณ 300 mg/kg ช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation ในเนื้อแดงและสัตว์ปีกได้ อย่างไรก็ตามสำหรับเนื้อปลาที่มี กรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) สูงต้องใช้ catechins ในปริมาณที่สูงกว่า 300 mg/kg Mitsumoto และคณะ (2005) พบว่าการใช้ GTC ปริมาณ 200-400 ppm ให้ผลยับยั้งการเกิด lipid oxidation ในเนื้อวัวได้ดีกว่าการใช้ sodium ascorbic acid (vitaminC) ที่ความเข้มข้นเดียวกัน และยังพบว่า

การเติม GTC ปริมาณ 1000 ppm ลงในเนื้อสเต็กจะช่วยทำให้สีและความคงตัวของไขมันในเนื้อวัวดีขึ้นด้วย นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการนำ catechins ไปใช้ในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation ในเนื้อปลาซึ่งมีปริมาณ unsaturated fatty acid สูง โดย Seto และคณะ (2005) ได้ทดลองแช่ปลา blue sprat ในชาเขียว ชาดำ ชาอูหลง พบว่าชาทั้งสามชนิดช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation ของเนื้อปลาได้ โดยชาเขียวและชาอูหลงจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งได้ดีที่สุดซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gadow, Joubert และ Hansmam (1997) ที่พบว่าชาเขียวมีประสิทธิภาพในการเข้าจับอนุมูล.DPPH (DDPH freeradical scavenging) ได้ดีกว่าชาอูหลง ชาดำ และชาหมัก นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ของ GTC ปริมาณ 300 ppm ในการยับยั้งปฏิกิริยา lipid oxidation ของเนื้อแดง เนื้อไก่ และปลาในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4^{0} C เป็นเวลา 10 วันพบว่าการเกิดปฏิกิริยา oxidation จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญและมีฤทธิ์ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ α-tocopherol ในปริมาณที่เท่ากัน (Tang และคณะ, 2001) เช่นเดียวกันกับ O'Sullivan และคณะ (2005) ซึ่งทดลองใช้ GTC เป็น สารต้านออกซิเดชัน เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation ในน้ำมันตับปลาและเนื้อปลา และพบว่าได้ผลดีกว่าการใช้ α-tocopherol ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ ส่วนการใช้สารสกัดชาเขียว ในน้ำมันก็ให้ผลดีเช่นเดียวกันโดย Chen และ Chan (1996) พบว่า EGC จากชาเขียวสามารถลด การเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation ใน canola oil ได้

นอกจากนี้ยังได้มีการนำ catechins มาใช้เป็นสารเสริมในอาหารสัตว์ โดยทั่วไปการเติมสารอาหารต่างๆ ในอาหารสัตว์นั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อให้สัตว์นั้นมีสุขภาพดีและมีภูมิต้านทานต่อการเกิดโรค ซึ่งก็จะส่งผลให้ผลผลิตจากสัตว์นั้นมีคุณภาพดีด้วย ทั้งนี้การเติมสารเสริมเหล่านั้นต้องคำนึงถึงความปลอดภัยของสัตว์และผู้บริโภค เพราะสารเสริมอาจตกค้างอยู่ในเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสัตว์ได้ Tang และคณะ (2000) เปรียบเทียบผลของการเติมสารเสริมอาหารสัตว์โดยใช้ GTC ปริมาณ 300 mg/kg ผสมลงในอาหารสัตว์พบว่า GTC มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิด ปฏิกิริยา lipid oxidation ในเนื้อไก่แช่เยือกแข็งได้ผลดีเท่ากับการเติม α-tocopherol ปริมาณ 200 mg/kg โดยสามารถเก็บเนื้อไก่แช่เยือกแข็งไว้ได้นานถึง 9 เดือนในขณะที่การเติม GTC ในอาหารสัตว์ที่ปริมาณสูงกว่า 200 mg/kg จะช่วยลดการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation ในตับและหัวใจ สำหรับการผสม GTC ในอาหารสุกร พบว่าสามารถลดการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation ในเนื้อสุกรชำแหละที่บรรจุทั้งภายใต้บรรยากาศปกติและการดัดแปรบรรยากาศในบรรจุภัณฑ์ (modified atmosphere packaging) ที่มีอัตราส่วนของก๊าซเป็น 40 % CO_2 : 60 % O_2 และส่งผลให้เกิดความคงตัวของสีในเนื้อสุกร ระหว่างการเก็บที่ 4^{0} C เป็นเวลา 10 วัน (Mason และคณะ, 2005)

2.1.2.2 สมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

สารประกอบฟีนอลิกจากชาเขียวนอกจากมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ดีเยี่ยมแล้วยังมีสมบัติการต้านการเจริญของจุลินทรีย์อีกด้วย โดยกลไกในการยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ของชาเขียวนั้น อาจเกิดจากสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากในชาเขียวซึ่งได้แก่ EGCG, ECG, EGC และ EC มีฤทธิ์ในการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ให้ได้รับความเสียหาย แต่ทั้งนี้ยังไม่มีรายงานกลไกการทำลายที่แน่ชัดแต่โดยสมมติฐาน สามารถอธิบายได้ว่าสารต่างๆ เหล่านี้จะทะลุผ่านชั้นไขมัน (lipid bilayers) โดยตรง ส่งผลให้ชั้นไขมันเกิดความไม่เป็นระเบียบ ทำให้ระบบการทำหน้าที่ในการผ่านเข้าออกของสารต่างๆที่อยู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์สูญเสียไป จึงส่งผลต่อการทำงานของผนังเซลล์และเอนไซม์ของจุลินทรีย์ (Cushnie และ Lamb, 2005)

Sakanaka, Juneja และ Taniguchi (2000) รายงานว่า EGCG เป็นสารประกอบฟีนอลิกหลักในชาเขียวที่สามารถลดจำนวนเชื้อ *Bacillus stearothermophilus* และ *Clostridium thermoaceticum* ได้ Wu และคณะ (2007) พบว่าสารสกัด EC และ caffeine ในชาสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* และ *E. coli* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hamilton-Miller (1995) ที่รายงานว่าสารประกอบในใบชาสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหารเช่น *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* และ *Campylobacter jejuni*

Yam, Shah และ Hamilton-Miller (1997) พบว่าชาเขียวสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus*, *Staphylococci* และ *Yersinia enterocolitica* ได้ Chou, Lin และ Chung (1999) ศึกษาระดับของการหมักที่มีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ พบว่าชาที่ผ่านกระบวนการหมักในระดับที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ลดลง ชาเขียวซึ่งไม่ผ่านกระบวนการหมัก สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าชาดำ, ชา Longjing, ชา Tieh-Kuan-Ying, ชา Paochung และ ชาอูหลง

2.2 ฟิล์มและสารเคลือบที่บริโภคได้

ฟิล์มบริโภคได้ (edible film) หมายถึง วัสดุแผ่นบางที่บริโภคได้ นำมาใช้กับอาหารด้วยวิธีการห่อหุ้ม (wrapping) การจุ่ม (immersing) การทาด้วยแปรง (brushing) หรือการพ่นฝอย (spraying) เพื่อป้องกันไม่ให้ก๊าซ ไอระเหย และสารแปลกปลอม เคลื่อนที่ผ่านเข้าออกอาหารได้ (Gennadios and Weller,1990) โดยทั่วไปการเคลือบเป็นการนำเอาสารที่เป็นของเหลวมาเคลือบกับผิวของผลิตภัณฑ์โดยตรง แต่การใช้ฟิล์มจะต้องมีการผลิตเป็นแผ่นฟิล์มขึ้นก่อนแล้วจึงมาใช้กับผลิตภัณฑ์ได้ (Guilbert, 1986)

2.2.1 ประเภทของฟิล์มและสารเคลือบที่บริโภคได้

2.2.2.1 ฟิล์มโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide film)

โพลีแซคคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอยู่มากกว่า 10 หน่วยขึ้นไป ตัวอย่างของโพลีแซคคาไรด์บางชนิดที่สามารถผลิตเป็นฟิล์ม หรือสารเคลือบที่รับประทานได้ เช่น แอลจิเนต, เพกทิน, คาราจิแนน, สตาร์ช, สตาร์ชไฮโดรไลเซต, ไคโตซาน และอนุพันธ์ของเซลลูโลส แต่เนื่องจากธรรมชาติของโพลิเมอร์เหล่านี้ มีลักษณะเป็น hydrophilic จึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ป้องกันการซึมผ่านของความชื้น อย่างไรก็ตาม มีโพลีแซคคาไรด์บางชนิดที่สามารถผลิตเป็นฟิล์มหรือสารเคลือบให้มีลักษณะเหมือนวุ้น (gelatinous) และมีความชื้นสูงซึ่งจะช่วยชะลอการสูญเสียความชื้นได้ นอกจากนี้ในปัจจุบันมีความสนใจการใช้ฟิล์มโพลีแซคคาไรด์เพิ่มมากขึ้น ตัวอย่างเช่น การใช้ chitosan-potato starch film เพื่อเป็นฟิล์มยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Tripathi และคณะ, 2008), การใช้ฟิล์ม starch/chitosan blend film ที่ผ่านการฉายรังสีเพื่อเพิ่มสมบัติการต้านจุลินทรีย์ (Zhai และคณะ, 2004) หรือการใช้ฟิล์มไคโตซานที่เติม oregano essential oil เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการต้านจุลินทรีย์และคุณภาพทางประสาทสัมผัสของ bologna ภายหลังการห่อฟิล์มดังกล่าวให้ดีขึ้น (Chi, Zivanovic และ Penfield, 2006)

2.2.2.2 ฟิล์มโปรตีน (Protein film)

การศึกษาฟิล์มที่รับประทานได้จากโปรตีนยังมีน้อยมากเมื่อเทียบกับฟิล์มโพลีแซคคาไรด์ เนื่องจากฟิล์มโปรตีนบางชนิดมีคุณสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของสารต่างๆ ได้ไม่ดีเท่ากับฟิล์มโพลีแซคคาไรด์ ตัวอย่างของฟิล์มโปรตีน ได้แก่ ฟิล์มจากโปรตีนเวย์, เจลาติน, โปรตีนไข่ขาว และ ฟิล์มจากโปรตีนข้าวสาลี เป็นต้น (Ruban,2009) ในปัจจุบันได้มีการศึกษาถึงการปรับปรุงคุณสมบัติของฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนโดยใช้วิธีการต่างๆ เช่น การทำให้เสียสภาพของโปรตีน (protein denaturation) การเติมสารเชื่อมข้าม (cross-linking หรือ tanning agents) ได้แก่กรดอินทรีย์ กรดแทนนิก (tannic acid) หรือ divalent cations (ไอออนที่มีประจุ +2 สามารถทำให้เกิด protein denaturation ได้) หรือการใช้ความร้อนเป็นต้น ในปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์จากฟิล์มโปรตีน เช่น การใช้ whey protein isolate film ในการต้านจุลินทรีย์ของเนื้อวัวสด (Zinoviadou, Koutsoumanis และ Biliaderis, 2010)

2.2.2.3 ฟิล์มลิพิด (lipid film)

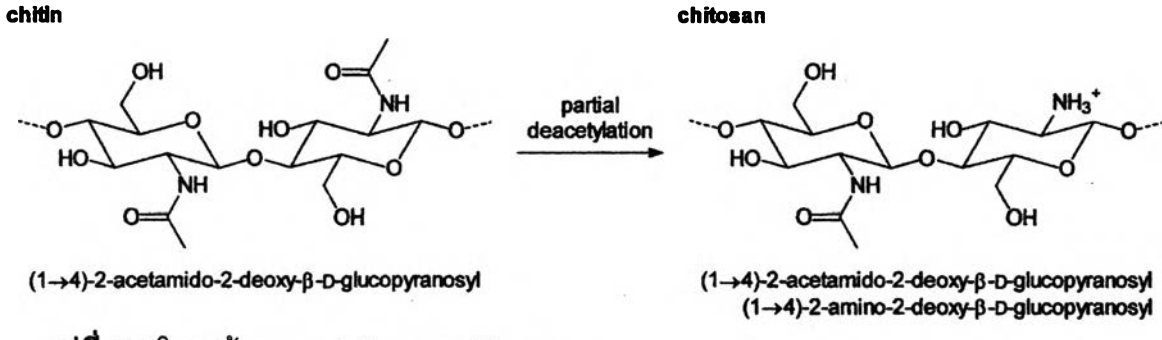
การใช้ไขมันห่อหุ้มผลิตภัณฑ์อาหารมีมานานแล้วในผลิตภัณฑ์ขนมหวาน เช่น การเคลือบช็อคโกแลต หรือใช้กับผักผลไม้ เช่น การเคลือบผลไม้ด้วยไข (wax) สารประกอบ lipid หลายชนิดรวมทั้ง อะเซททิลโมโนกลีเซอไรด์ (acetylate monoglyceride) ไขธรรมชาติ (natural wax) และสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ก็สามารถนำมาใช้เป็นสารเคลือบได้ และโดยทั่วไปการเคลือบอาหารด้วย lipid ก็เพื่อป้องกันการถ่ายเทความชื้น เนื่องจากเป็นสารที่มีขั้วต่ำ มีคุณสมบัติในการป้องกันการถ่ายเทความชื้นได้ดี การใช้ฟิล์มบริโภคได้จากไขมันจะไม่นิยมนำมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มแต่จะใช้เป็นสารเคลือบเนื่องจากมีคุณสมบัติในการป้องกันออกซิเจนและความชื้น รวมทั้งช่วยลดการเสียดสีระหว่างผลิตภัณฑ์และบรรจุภัณฑ์ได้อีกด้วย ตัวอย่างของ lipid film เช่น paraffin wax, carnauba wax, bees wax, candelilla wax และ polyethylene wax โดยตัวอย่างการใช้ lipid film ในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น การใช้ candelilla wax ซึ่งเป็น natural wax ในการยืดอายุการเก็บและรักษาคุณภาพของ avocado (Saucedo-Pompa และคณะ, 2009) เป็นต้น

2.2.2 ข้อดีของฟิล์มและสารเคลือบที่บริโภคได้

ฟิล์มบางประเภทอาจบริโภคไปพร้อมกับผลิตภัณฑ์ที่บรรจุได้ หรือในกรณีที่ไม่บริโภคฟิล์มเราสามารถทิ้งฟิล์มไปโดยที่ฟิล์มนั้นสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ซึ่งเป็นข้อดีของฟิล์มดังกล่าว ในการช่วยลดปัญหามลพิษได้ นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ ให้กลิ่นรส สีและเสริมคุณค่าทางอาหาร นอกจากนี้ฟิล์มบริโภคได้ยังสามารถทำหน้าที่เป็นสารป้องกันจุลินทรีย์ และยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน ตลอดจนลดการสูญเสียความชื้นได้ เช่น Chien, Sheu และ Yang (2007) ศึกษาการใช้ ฟิล์มไคโตซาน ในการเคลือบเพื่อรักษาคุณภาพของ มะม่วงที่ผ่านการตัดแต่ง พบว่าฟิล์มไคโตซานสามารถลดการสูญเสียความชื้น, เพิ่มปริมาณของแข็งทั้งหมด (total soluble solid content), ช่วยรักษาปริมาณของวิตามินซี (accorbic acid content) และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ Oussalah *et al.* (2006) ศึกษาการใช้ฟิล์มอัลจิเนตที่เติมน้ำมันออริกาโน หรือ อบเชย ในการห่อเนื้อวัวที่หั่นเป็นชิ้น และเก็บรักษาเป็นเวลา 5 วัน พบว่า ฟิล์มที่บรรจุน้ำมันออริกาโนหรืออบเชยมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง S. Typhimurium ได้ดี โดยสามารถลดจำนวนลงได้ 0.96 และ 0.64 log CFU/g ตามลำดับ

2.3 ไคโตซาน

ไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคตินซึ่งเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่พบได้ในโครงสร้างเปลือกนอกของสัตว์จำพวกกุ้ง และปู ไคโตซาน คือ ไคตินในรูปที่มีหมู่อะเซติล (acetyl) ต่ำ เกิดจากปฏิกิริยาการกำจัดหมู่ acetyl ของไคตินด้วยด่างเข้มข้น ทำให้โครงสร้างเปลี่ยนไป ดังแสดงในรูปที่ 2.3 ไคโตซานจัดเป็นพอลิเมอร์ของ D-glucosamine (2-amino-2-deoxy-D-glucose) มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง1×10^5 ถึง1.2×10^6 ไคโตซานไม่ละลายในน้ำ ด่าง หรือตัวทำละลายอินทรีย์ แต่จะละลายในสารละลายที่เป็นกรดอินทรีย์เกือบทุกชนิดที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่ำกว่า 6 นอกจากนี้ยังมีตัวบ่งชี้ความเป็นไคติน หรือไคโตซาน เรียกว่าค่า degree of deacetylation (DD) ซึ่งมีค่า 0-100 ถึงแม้ว่าการนำไคตินมาผ่านกระบวนการปรับโครงสร้างทางเคมีด้วยการเปลี่ยนหมู่อะเซตาไมด์ (acetamide) เป็นหมู่อะมิโนจะไม่ได้สายโซ่ของไคโตซาน 100 %แต่เกณฑ์ที่เข้าใจตรงกันคือ กรณีที่สายโซ่มีหน่วยของไคโตซานเกินกว่า 70-75 % ขึ้นไปจะเรียกว่า ไคโตซาน ถ้าสัดส่วนของมอนอเมอร์ของไคโตซานมีมากกว่า จะมีค่า DD สูงและจะแสดงสมบัติเด่นของไคโตซานมากกว่าไคติน (Li และคณะ, 1996) ทั้งนี้ปัจจัยที่ทำให้ค่า DD แตกต่างกันคือ อุณหภูมิ, ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา, ความเข้มข้นของด่าง, สภาวะในการผลิตไคติน, ความดันบรรยากาศ และ อัตราส่วนของไคตินต่อสารละลายด่างเข้มข้น เป็นต้น



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของ chitin และ chitosan
ที่มา : Begin และ Van Calsteren (1999)

ไคโตซานเป็นสารจากธรรมชาติที่ปัจจุบันนิยมนำมาใช้กับอาหาร เช่น ใช้ในรูปของผงไคโตซาน ผลิตเป็นฟิล์มหรือสารเคลือบเพื่อใช้ยืดอายุการเก็บอาหาร ไคโตซานมีฤทธิ์ยับยั้งหรือชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ โดยไคโตซานจะเข้าไปทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ (Liu และคณะ , 2004) ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของไคโตซาน คือ น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน ชนิดตัวทำละลายที่ใช้เตรียมสารละลายไคโตซาน ชนิดและ สายพันธุ์ของจุลินทรีย์

ลักษณะอาหาร และอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาอาหาร (นภาพร เชี่ยวชาญ และ ธนารัตน์ ศรีธุระวานิช, 2547) คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของไคโตซาน (รายงานการประชุมเชิงปฏิบัติการไคติน ไคโตซาน, 2544) สามารถสรุปได้ดังนี้

1. คุณสมบัติในการละลายน้ำ ไคโตซานส่วนใหญ่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นกรดเจือจาง แต่ไม่ละลายในสารอินทรีย์ที่เป็นกลางและด่าง (Kienzle, Sanchez และ Rha, 1982)

2. คุณสมบัติในด้านยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ พบว่ามีกลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างประจุบวกบนโมเลกุลของไคโตซานกับประจุลบบนผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ซึ่งทำให้เกิดการแตกและการซึมผ่านออกมาของโปรตีน และสารอื่นๆ จากภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ (Liu และคณะ, 2004) นอกจากนี้เมื่อมีการซึมผ่านของไคโตซาน เข้าสู่นิวเคลียสของเซลล์จุลินทรีย์และราบางชนิดไคโตซานสามารถจับกับ DNA ทำให้เกิดกระบวนการยับยั้งการสังเคราะห์ mRNA ส่งผลให้จุลินทรีย์ไม่สามารถสังเคราะห์โปรตีนภายในเซลล์ได้

3. คุณสมบัติเป็นสารคีเลต (chelating agent) ที่จำเพาะกับพวกจุลธาตุ (trace elements) บางชนิดและทำให้เกิดการยับยั้งการผลิตสารพิษ และขัดขวางการเจริญของจุลินทรีย์

4. คุณสมบัติเป็นสารจับตัวกับโมเลกุลของน้ำได้ดี โดย Pandya และ Knorr (1991) รายงานว่าไคโตซานมีคุณสมบัติในการจับน้ำได้ดีกว่าไคติน คุณสมบัติในการจับตัวกับโมเลกุลของน้ำเกี่ยวข้องกับปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ ซึ่งถ้าหากยังมีโปรตีนเหลืออยู่มากภายหลังกระบวนการกำจัดโปรตีนออก จะทำให้คุณสมบัติในการจับน้ำลดน้อยลง (Brine และ Austin, 1981) นอกจากนี้ การจับตัวกับโมเลกุลของน้ำอาจทำให้เกิดกระบวนการขัดขวางการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดในจุลินทรีย์ได้เช่นกัน

การใช้ประโยชน์จากไคโตซาน

Darmadji และ Izumimoto (1994) ศึกษาการใช้ไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.5 – 1.0% w/v ในการเก็บรักษาเนื้อวัว พบว่าไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญของ แบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียบางชนิด ลดการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation และยังช่วยรักษาสีแดงของเนื้อให้นานยิ่งขึ้น Huang และคณะ (2007) พบว่าการใช้ไคโตซานในส่วนผสมของเส้นก๋วยเตี๋ยวสด สามารถชะลอการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) อีกทั้งยังช่วยเพิ่มอายุการเก็บรักษาให้นาน

ขึ้นได้ นอกจากการใช้ไคโตซานในรูปผงแล้วยังมีการนำไคโตซานมาใช้เคลือบผลไม้ต่างๆ เนื่องจากไคโคซานสามารถควบคุมการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และรักษาความชื้นให้อยู่ในสภาพสมดุล สามารถควบคุมเมททาบอลิซึมของผลไม้และมีคุณสมบัติในการป้องกันเชื้อราและแบคทีเรีย นอกจากนี้สารเคลือบจากไคโตซานยังมีความข้นหนืดและคงตัวเหมาะกับการเคลือบบนผิวของผลิตผลโดย Jiang และ Li (2001) ได้ศึกษาการเคลือบผลลำไยภายหลังการเก็บเกี่ยวด้วยไคโตซาน พบว่าไคโตซานช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase, PPO) การเปลี่ยนแปลงของสีและการสูญเสียน้ำหนัก และยังช่วยลดการเน่าเสียของลำไยระหว่างการเก็บรักษาได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาการใช้ไคโตซานร่วมกับสารสกัดจากโรสแมรี่ พบว่าสามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในไส้กรอกหมูได้ดีกว่าการใช้ไคโตซานเพียงอย่างเดียว (Georgantelis และคณะ, 2007)

ฟิล์มบริโภคได้จากไคโตซาน

ไคโตซานสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม (film forming) ฟิล์มที่ได้จะมีลักษณะใส เหนียวและยืดหยุ่น สามารถใช้ห่อหุ้มอาหารได้ เนื่องจากไคโตซานเองก็สามารถบริโภคได้และมีเสถียรภาพดีที่อุณหภูมิสูง (Wong และคณะ,1992) โดยมีการศึกษาพบว่าฟิล์มไคโตซาน มีคุณสมบัติที่ดีในการป้องกันการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน (Conca และ Yang, 1993) นอกจากนี้ฟิล์มไคโตซานยังช่วยควบคุมปฏิกิริยาการแพร่ของยาและสารเคมีบางชนิด (Kaya และ Picard, 1996) เนื่องจากไคโตซานมีโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นร่างแห (matrix) และเป็นเจลจึงสามารถหุ้มสารต่างๆไว้ภายในโครงสร้างได้ อีกทั้งไคโตซานสามารถย่อยสลายได้ด้วย lysosome ซึ่งเป็นเอนไซม์ภายในร่างกาย ดังนั้นฟิล์มไคโตซานจึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่ก่อให้เกิดโทษแก่ร่างกาย ปัจจุบันมีการนำฟิล์มไคโตซานมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเช่น นำฟิล์มไคโตซานมาเคลือบแตงกวาและพริกหยวก โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 และ 20 องศาเซลเซียส (^{0}C) พบว่า ฟิล์มไคโตซานสามารถลดการสูญเสียน้ำหนักของแตงกวาและพริกหยวกได้ดี และสามารถลดอัตราการหายใจ, การเปลี่ยนแปลงสี และการเสื่อมเสียเนื่องจากราได้ (Ghaouth และคณะ, 1991)

Ouattara และคณะ (2000) ศึกษาการใช้ฟิล์มไคโตซานร่วมกับ acetic acid, propionic acid, cinnamaldehyde และ lauric acid ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าของผลิตภัณฑ์ bologna, ham และ pastrami พบว่าฟิล์มดังกล่าวช่วยชะลอการเจริญของ *Enterobacteriaceae* และ *Serratia liquefaciens* ได้ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ประเภทแบคทีเรียแลกติก (Lactic acid bacteria, LAB) ได้ นอกจากนี้

Zivanovic , Chi และ Draughon (2005) ได้ทดลองใช้ฟิล์มไคโตซานห่อ bologna และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ^{0}C เป็นเวลา 5 วัน พบว่าฟิล์มไคโตซานสามารถลดเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้ 2 log cycles ในขณะที่ฟิล์มไคโตซานที่เติม oregano สามารถลดจำนวนได้มากถึง 3.6 - 4 log cycles

2.4 ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกและการเสื่อมเสีย

ไส้กรอก (sausage) มีหลากหลายชนิดแบ่งเป็นประเภทใหญ่ๆ เช่นไส้กรอกสด ไส้กรอกรมควัน ไส้กรอกสุก ไส้กรอกแห้งและไส้กรอกกึ่งแห้ง เป็นต้น ไส้กรอกเวียนนาเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อประเภทบดละเอียดจนมีลักษณะของ meat emulsion จัดอยู่ในพวกไส้กรอกสุกพร้อมที่จะรับประทาน ได้ทันที ซึ่งผลิตภัณฑ์ไส้กรอกจัดอยู่ในกลุ่มอาหารที่มีความชื้นสูง (a_w > 0.90) และมีความเป็นกรดต่ำ (low acid food, pH > 4.5) ดังนั้นจึงเกิดการเสื่อมเสียได้ง่าย โดยมักมีสาเหตุจากการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ไม่พึงประสงค์ ในด้านกลิ่น, รสชาติ และลักษณะปรากฏ นอกจากนี้ยังอาจเกิดจากการหืน (rancidity) จากการออกซิเดชันของไขมัน เนื่องจากมีปริมาณไขมันสูง การเสื่อมเสียของไส้กรอกขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์และส่วนผสม, กระบวนการใช้ความร้อนในการแปรรูป, การปนเปื้อนระหว่างการแปรรูป, ภาชนะบรรจุ วิธีการบรรจุ และอุณหภูมิในการเก็บรักษา (Samelis, Kakouri และ Rementzis, 2000) การเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสุกสามารถแบ่งได้เป็น 2 ลักษณะได้แก่ การเปลี่ยนแปลงรสชาติและกลิ่น และการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏ (อิ่มเอิบ พันสด , 2549)

2.4.1. การเสื่อมเสียจากการเปลี่ยนแปลงกลิ่นรส

การเสื่อมเสียจากการเปลี่ยนแปลงกลิ่นรส จัดเป็นลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ซึ่งเกิดจาก กลิ่นเหม็นหืน กลิ่นเหม็นเน่า และ การเกิดก๊าซและรสเปรี้ยว

2.4.1.1 กลิ่นเหม็นหืน

กลิ่นเหม็นหืน ในเนื้อและผลิตภัณฑ์เกิดจาก 2 สาเหตุหลักๆ คือ เกิดปฏิกิริยากับออกซิเจน (autoxidation) ของไขมัน และจากจุลินทรีย์ โดยสาเหตุที่เกิดจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ เกิดจากแบคทีเรียในกลุ่มที่สามารถสร้างเอนไซม์ที่ย่อยไขมันได้ เช่น เอนไซม์ไลเปส (Lipase) จะไฮโดรไลซ์โมเลกุลของไขมัน และฟอสโฟลิพิด (phospholipid) ทำให้เกิดเป็นสารประกอบต่างๆ เช่น กรดไขมันอิสระ (free fatty acid), กลีเซอรอล (glycerol), คีโตน (ketone), อัลดีไฮด์(aldehyde), แอลกอฮอล์ (alcohol) และเปอร์ออกไซด์ (peroxide) หรือ

เอนไซม์ออกซิเดส (oxidase) ซึ่งทำปฏิกิริยา oxidation กับกรดไขมันในเนื้อได้เป็นสารประกอบที่ทำให้อาหารมีกลิ่นรสผิดปรกติแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ที่ย่อยไขมันได้ ได้แก่ *Pseudomonas* spp. และ *Achromobactor* spp. นอกจากนี้ การเกิดปฏิกิริยา oxidation ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวก็เป็นสาเหตุของการเกิดกลิ่นเหม็นหืนในเนื้อสัตว์ ซึ่งทำให้ไขมันจากสัตว์เกิดการเหม็นหืนได้เมื่อมีโมเลกุลของออกซิเจนอยู่ในบรรยากาศรอบๆ และสัมผัสกับไขมัน (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529) ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกซึ่งมีไขมันจากสัตว์ อาจเกิดกลิ่นเหม็นหืนได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ผ่านการทำให้สุกแล้ว จะเกิดปฏิกิริยาการเหม็นหืนได้ง่ายและรวดเร็ว จึงเรียกปฏิกิริยาดังกล่าวว่า การเกิดกลิ่นหืนในสภาพที่มีก๊าซออกซิเจน (oxidative rancidity) หรือเรียกว่าปฏิกิริยาออโต-ออกซิเดชัน (autoxidation) ดังนั้นการเกิดกลิ่นเหม็นหืนของไขมันสัตว์โดยทั่วไปนั้น ส่วนใหญ่จึงเป็นผลเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยา autoxidation ซึ่งสามารถป้องกันได้โดยการใช้สารต้านออกซิเดชัน เพื่อทำหน้าที่ไปยับยั้งการเกิดกระบวนการออกซิเดชัน (oxidation) ตัวอย่างสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ ที่นิยมใช้คือโพรพิลแกลเลต (propyl gallate) ซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ ที่มี free gallic ทั้งนี้มีรายงานว่าสามารถพบ free gallic ในใบชาได้เช่นกัน (Ji, Zhang และ Shen, 2006) จึงทำให้ใบชามีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ดี โดย propyl gallate ออกฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิประเภทฟีนอลิก (primary phenolic antioxidant) รวมทั้งเป็นสารเสริมฤทธิ์ (synergist) ของ BHA และ BHT อีกด้วย แม้ว่า propyl gallate จะเป็นสารกันหืนสังเคราะห์ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร อย่างไรก็ตามในปัจจุบันผู้บริโภคเริ่มให้ความสนใจสารกันหืนจากธรรมชาติมากขึ้น เพราะสารกันหืนสังเคราะห์อาจก่อให้เกิดสารพิษสะสมและเป็นอันตรายต่อร่างกายได้ ดังนั้นการใช้สารกันหืนจากธรรมชาติ เช่น α-tocopherol, ascorbic acid และสารประกอบฟีนอลิก ที่พบในพืช เช่น ชาเขียว องุ่น ไวน์ และอื่นๆ (Moure และคณะ, 2001) จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้ทดแทนสารกันหืนสังเคราะห์ ต่อไปได้ ตัวอย่างของสารต้านออกซิเดชัน ที่ได้จากธรรมชาติ เช่น ชาเขียวซึ่งจัดเป็น true antioxidant หรือเรียกว่าสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ คือสารที่ไปยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา oxidiation โดยทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระไปขัดขวางปฏิกิริยาลูกโซ่ในขั้นต่อเนื่อง (propagation) โดยโมเลกุลของสารต้านออกซิเดชัน (AH) จะสามารถเข้าไปทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ เช่น $R^{\cdot}$ และ $ROO^{\cdot}$ โดยจะให้โปรตอน ($H^{\cdot}$) แก่อนุมูลอิสระ และตัวมันเองจะกลายเป็นอนุมูลอิสระแทน ($A^{\cdot}$) ทำให้ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไปได้แสดงดังสมการที่ 2.1 และ 2.2 (Gordon, 2001) ส่วนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระด้วยกันเองเกิดเป็นสารประกอบที่มีความคงตัวและไม่เป็นอนุมูลอีกต่อไป แสดง ดังสมการที่ 2.3 และ 2.4 (Gordon, 2001)

$AH + R^{\cdot} \quad \text{----> } RH + A^{\cdot}$ 2.1

$AH + ROO^{\cdot} \quad \text{----> } ROOH + A^{\cdot}$ 2.2

$A^{\cdot} + A^{\cdot} \quad \text{----> } AA$ 2.3

$R^{\cdot} + A^{\cdot} \quad \text{----> } AR$ 2.4

2.4.1.2 กลิ่นเหม็นเน่า

กลิ่นเหม็นเน่าเกิดจากแบคทีเรียสร้างเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนได้ เช่น *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas* sp. และ *Proteus* sp.โดยจะย่อยสลายโมเลกุลของโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในเนื้อสัตว์ทำให้เกิดเป็นสาระเหยได้แก่ แอมโมเนีย (ammonia), อินโดล (indole), ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (hydrogen sulphide), เอมีน (amines), เมอร์แคปแตน (mercaptans) และอื่น ๆ องค์ประกอบเหล่านี้ทำให้เกิดเป็นกลิ่นเหม็นเน่าขึ้นมาซึ่งเกิดจากการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิไม่เหมาะสม หรือเนื้อที่ผ่านการเตรียมโดยใช้ความร้อนในการปรุงอาหารไม่สูงพอก็จะเกิดการเสื่อมเสียและอาจเกิดอาหารเป็นพิษจากจุลินทรีย์ได้ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

2.4.1.3 การเกิดก๊าซและรสเปรี้ยว

การเกิดกลิ่นและรสเปรี้ยวในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เกิดจาก formic acid, butyric acid, propionic acid, acetic acid และ lactic acid เป็นต้น มักเกิดจากแบคทีเรียชนิด *Streptococcus* spp. นอกจากนี้อาจเกิดจากแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต เช่น แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติก ได้แก่ *Streptococcus faecium* และ *Strepoccus faecali* ซึ่งทำให้เกิดการย่อยสลายองค์ประกอบที่เป็นคาร์โบไฮเดรตในเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์ได้เป็นสารประกอบพวกกรดอินทรีย์ เช่น lactic acid, ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และ alcohol ซึ่งมักพบในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่มีขนาดใหญ่ เช่น bologna หรือในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุแบบสุญญากาศ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

2.4.2 การเสื่อมเสียเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏ

การเสื่อมเสียเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏสามารถเกิดขึ้นได้หลายลักษณะเช่น การเกิดเมือก และการเปลี่ยนแปลงของเม็ดสีในผลิตภัณฑ์ ดังนี้

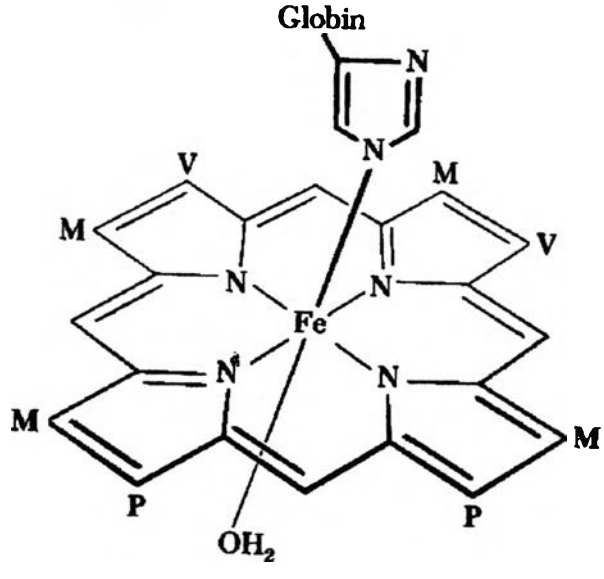
2.4.2.1. การเกิดเมือกที่ผิวหน้า

เมือกจัดเป็นสารพวกโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ซึ่งจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรียพวก *Pseudomonas alcaligenes* และ *Leuconostoc* สร้างขึ้นและสะสมอยู่ในเซลล์ มักเกิดในสภาวะที่มีออกซิเจน โดยเมื่อจุลินทรีย์มีจำนวนมากขึ้น จนสามารถมองเห็นโคโลนีของจุลินทรีย์ได้ด้วยตาเปล่าซึ่งจะเห็นเป็นเมือกเกิดขึ้นและจะมีกลิ่นเหม็น เมือกที่เกิดขึ้นอาจมีสีขาวหรือสีเหลืองบนผิวหน้าของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่มีความชื้นสูง Ogilvy และ Ayres (2006) พบว่า *Micrococcus* spp. สร้างเมือกบนผลิตภัณฑ์ไส้กรอกแฟรงค์เฟอร์เตอร์ (Frankfurter)ได้ อย่างไรก็ตามเชื้อพวกนี้จะถูกทำลายได้ง่ายโดยการใช้ความร้อนระดับหุงต้มธรรมดา นอกจากนี้ยังสามารถพบการเกิดเมือกจาก *Bacillus* spp. และยีสต์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้ โดยร้อยละ 56 ของยีสต์ที่พบคือ *Debaryomyces* spp. (Drakes, Evans และ Niven, 1958)

2.4.2.2. การเปลี่ยนแปลงของเม็ดสีในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก

จุลินทรีย์เป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเม็ดสีในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ซึ่งอาจเป็นพวกที่ปนเปื้อนมาในเนื้อสัตว์ในขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ หรือการใช้ความร้อนไม่เพียงพอในการอบและการรมควันเพื่อทำลายแบคทีเรีย ทำให้เหลือรอดและสามารถเจริญต่อไปได้ และสร้างสารพวก peroxide ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับเม็ดสีไนตริกออกไซด์ฮีโมโครโมเจน (nitric oxide hemochromogen) หรือไนตริกออกไซด์ไมโอโกลบิน (nitric oxide myoglobin) ได้สารออกซิไดซ์เพอไฟริน (oxidized porphyrin) ซึ่งมีสีเขียว เช่น การเปลี่ยนสีของ Norwegian salami sausage พบว่ามีสาเหตุมาจากเชื้อ *Lactobacillus* spp. (Jjaberg, Haugum และ Murmi, 1970) การเปลี่ยนสีที่เกิดขึ้นมี 4 ลักษณะ คือ การเกิดสีเขียวบริเวณแกน (core greening), การเกิดสีเขียวบริเวณผิวหน้า (surface greening), การเกิดวงแหวนสีเขียว (green ring) และ การเกิดสีซีดจาง (color degradation) เป็นต้น ซึ่งการซีดจางของสีในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกนั้นมักเกิดจากแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* และ *Leuconostoc* เนื่องจากการเก็บผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ไว้ที่อุณหภูมิสูง และมีสุขลักษณะในการผลิตไม่ดีพอจึงทำให้มีแบคทีเรียเจริญได้อย่างรวดเร็วและผลิตสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ซึ่งจะไปทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีซีดลง (Forrest และคณะ, 1975)

นอกจากการเปลี่ยนแปลงทางด้านจุลินทรีย์ที่กล่าวข้างต้นแล้ว การเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมี เช่นปฏิกิริยา oxidation ก็ส่งผลต่อการเปลี่ยนสีในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้เช่นกัน เนื่องจากรงควัตถุ (pigments)ในเนื้อสัตว์ประกอบไปด้วยโปรตีน 2 ชนิด คือ ฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ซึ่งเป็นรงควัตถุในเลือดและไมโอโกลบิน (myoglobin) ซึ่งเป็นรงควัตถุในกล้ามเนื้อ ซึ่ง myoglobin จะส่งผลต่อการเปลี่ยนสีของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกโดยตรงโมเลกุลของ myoglobin ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนโกลบิน (globin) ซึ่งเป็น globular protein (โปรตีนที่มีรูปร่างทรงกลม) ที่ไม่มีสี และ ฮีม (heme complex) ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ใช่โปรตีน โดย heme ประกอบไปด้วย วงแหวนพอร์ไฟริน (porphyrin ring) ที่เกาะกับ Fe โดยส่วนของ porphyrin ring จะประกอบด้วย methyl group (CH_3), propionic acid group (CH_2-CH_2-COOH) และ vinyl group ($CH=CH_2$) แสดงดังรูปที่ 2.4 ซึ่ง porphyrin มีความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะ เช่น Fe, Mg, Zn, Cu และ Co ให้สารประกอบที่มีสี (Veberg และคณะ, 2006) นอกจากนี้การเพิ่มหรือลดอิเล็กตรอนของอะตอมของ Fe ในโครงสร้างที่เกิดจากปฏิกิริยา oxidation หรือ reduction ก็อาจทำให้สีของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงได้เช่นกัน



รูปที่ 2.5 โครงสร้าง heme ของ myglobin โดยมี methyl group (M), propionic acid group (P) และ vinyl group (V) เกาะอยู่กับ porphyrin ring ซึ่งห่อหุ้ม Fe ไว้ภายในโครงสร้าง

ที่มา : ชัยณรงค์ คันธพนิต (2529)

การเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกยังอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของรงควัตถุ สีแดงพวก myoglobin ซึ่งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูป nitrosohemochrome เมื่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้รับความร้อนในขั้นตอนการทำให้สุก ซึ่ง nitrosohemochrome มีสีชมพูและเสถียรต่อความร้อน แต่ไม่เสถียรต่อออกซิเจนและแสง การที่มี nitric oxide อิสระเกาะอยู่กับ ferrous ion (Fe^{2+}) นั้นถ้าหากได้รับออกซิเจนหรือแสงก็พร้อมที่จะออกซิไดซ์ Fe^{2+} ไปเป็น ferric ion (Fe^{3+}) ทำให้สีของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกซีดจางลง