การปรับสภาพเบื้องต้นของหอยนางรมแกะเปลือกด้วยการล้างร่วมกับการแช่ใน Epigallocatechin gallate จากชาเขียวเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา

นางสาวกาญจนา แขเพ็ญ

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2560

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHUCKED OYSTER PRETREATMENT BY COMBINATION OF RINSING AND EPIGALLOCATECHIN GALLATE FROM GREEN TEA SOAKING FOR SHELF-LIFE EXTENSION

Miss Kanchana Kaephen

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology
Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2017

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การปรับสภาพเบื้องต้นของหอยนางรมแกะเปลือกด้วยการล้างร่วมกับการแช่ใน Epigallocatechin gallate จากชาเขียวเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา
โดย	นางสาวกาญจนา แขเพ็ญ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.จันทร์ประภา อิ่มจงใจรัก)

....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร)

....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา)

....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัศตรกุล)

....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.วราวุฒิ ครูส่ง)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กาญจนา แขเพ็ญ : การปรับสภาพเบื้องต้นของหอยนางรมแกะเปลือกด้วยการล้างร่วมกับการแช่ใน Epigallocatechin gallate จากชาเขียวเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา (CHUCKED OYSTER PRETREATMENT BY COMBINATION OF RINSING AND EPIGALLOCATECHIN GALLATE FROM GREEN TEA SOAKING FOR SHELF-LIFE EXTENSION) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร.สุเมธ ตันตระเธียร, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. ดร.ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา, 88 หน้า.

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการใช้น้ำอิเล็กโทรไลต์ กรดแลคติก และสาร Epigallocatechin gallate (EGCG) จากชาเขียว ต่ออายุการเก็บรักษาหอยนางรมที่อุณหภูมิ 4±2 °C และติดตามคุณภาพทางจุลชีววิทยา กายภาพ และเคมี โดยศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus plantarum*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella* Typhimurium, และ *Escherichia coli*) ของ EGCG 2.5-5 μg/ml และกรดแลคติก 1.37-2.75 % w/w ศึกษาการทำความสะอาดเพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ในหอยนางรมโดยการแช่ 30 นาที ด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ กรดแลคติก โดยน้ำปลอดเชื้อ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10 ppm และ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 60 ppm เป็นตัวอย่างควบคุม พบว่าน้ำอิเล็กโทรไลต์ 60 ppm และกรดแลคติกที่ 0.17 % w/v (0.0625 MBC) คือความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียได้ และยังคงรักษาคุณภาพทางกายภาพและเคมีของหอยนางรม โดยน้ำอิเล็กโทรไลต์สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TPC), *Staph. aureus*, lactic acid bacteria (LAB) ได้ 1.36, 1.02, 0.20 $\log_{10}$ CFU/g ตามลำดับ และ *V. parahaemolyticus* ลดได้ 3.2 MPN/g ส่วนกรดแลคติกสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TPC), *Staph. aureus*, ได้ 0.08, 0.48 $\log_{10}$ CFU/g และตามลำดับ *V. parahaemolyticus* ลดได้ 3.2 MPN/g ขณะที่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10 ppm สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TPC), *Staph. aureus*, lactic acid bacteria (LAB) ได้ 0.14, 0.75, 0.16 $\log_{10}$ CFU/g ตามลำดับ ไม่สามารถลดเชื้อ *V. parahaemolyticus* สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 60 ppm สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TPC), *Staph. aureus*, lactic acid bacteria (LAB) ได้ 0.34, 1.13, 0.49 $\log_{10}$ CFU/g ตามลำดับ *V. parahaemolyticus* ได้ 0.3 MPN/g จากการทดลองเก็บรักษาหอยนางรมที่อุณหภูมิ 4±2 °C พบว่าหอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อร่วมกับการแช่หอยนางรมในโพแทสเซียมซอร์เบต มีอายุการเก็บรักษา 7 วัน หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 60 ppm ร่วมกับการแช่หอยนางรมในโพแทสเซียมซอร์เบต 0.1 % มีอายุการเก็บรักษา 9 วัน หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ 60 ppm ร่วมกับการแช่หอยนางรมกับสารละลายEGCG และหอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกร่วมกับการแช่หอยนางรมกับสารละลายEGCG โดยมีอายุการเก็บรักษา 15 วัน ส่วนหอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติก 0.17 % w/v (0.0625 MBC) ร่วมกับการแช่หอยนางรมกับสารละลายEGCG มีอายุการเก็บรักษา 17 วัน การติดตามลักษณะทางกายภาพ เคมีของทุกตัวอย่าง พบว่า ค่าสี (L* a* และ b*) ค่าแรงตัด และค่า pH มีแนวโน้มลดลง และไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ($p>0.05$) ส่วนค่าปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแต่ไม่เกิน 30 mg N/100g ดังนั้นการใช้น้ำอิเล็กโทรไลต์ ในการทำความสะอาด ร่วมกับการใช้สารละลายEGCG ในระหว่างการเก็บรักษาจึงเป็นทางเลือกที่สามารถควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ ในขณะที่ยังสามารถรักษาสมบัติทางกายภาพ และเคมีของหอยนางรมในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4±2 °C

ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร	ลายมือชื่อนิสิต	....
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก	....
ปีการศึกษา	2560	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม	....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

5771916623 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY
KEYWORDS: OYSTER; ELECTROLYZED WATER; LACTIC ACID; EPIGALLOCATECHIN GALLATE

KANCHANA KAEPHEN: CHUCKED OYSTER PRETREATMENT BY COMBINATION OF RINSING AND EPIGALLOCATECHIN GALLATE FROM GREEN TEA SOAKING FOR SHELF-LIFE EXTENSION. ADVISOR: ASSOC. PROF.SUMATE TANTRATIAN, Ph.D., CO-ADVISOR: ASSOC. PROF.CHEUNJIT PRAKITCHAIWATTANA, Ph.D., 88 pp.

This study was purposed to investigate the effect of electrolyzed water, lactic acid, and Epigallocatechin gallate (EGCG) from green tea on microbiological, physical, and chemical properties of the oysters. In this research, electrolyzed water, lactic acid were used as pretreatment whereas and green tea extract solution was used as the soaking solution. Minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC) of EGCG and lactic acid against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus plantarum, Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella* Typhimurium, and *Escherichia coli* were found at 2.5-5 µg/mL, whilst those of lactic acid were found at 1.37-2.75 % w/v. Pretreatments of oysters to reduce the proliferation of bacteria were conducted by soaking the oysters in electrolyzed water, and lactic acid for 30 minutes. Sterile water and 60 ppm sodium hypochlorite concentrations were used as controlled. The results showed that the lowest concentrations of electrolyzed water and lactic acid that could reduce the number of contaminated bacteria and help preserve physical and chemical properties of the oysters were 60 ppm and 0.17 % w/v (0.0625 MBC), respectively. Pretreatment of oyster with electrolyzed water reduced the number of Total Viable Count (TVC), *Staph. aureus*, and lactic acid bacteria (LAB) by 1.36, 1.02 and 0.20 $\log_{10}$ CFU/g respectively whereas that of *V. parahaemolyticus* was reducted by 3.2 MPN/g. Pretreating the oysters with 10 ppm sodium hypochlorite reduced the number of TVC, *Staph. aureus*, and lactic acid bacteria (LAB) by 0.14, 0.75 and 0.16 $\log_{10}$ CFU/g, respectively. At this concentration, the number of *V. parahaemolyticus* was reduced by 0.3 MPN/g. After pretreatment, the oysters were soaking in EGCG and kept at 4±2 °C. The shelf life of oyster that were separately pretreated with sterile water and 60 ppm sodium hypochlorite and then soaking in 0.1% potassium sorbate was not significantly different (7 and 9 day). While the shelf life of oysters that were pretreated with electrolyzed water and 5 µg/mL EGCG was found at 15 days and pretreated with electrolyzed water combination with lactic acid and soaking 5 µg/mL EGCG was found at 15 days Similar to 17 days of that oysters with were pretreated with 0.1% w/v (0.0625 MBC) lactic acid and 5 µg/ml EGCG. Physical and chemical properties of all sample were determined during storage. Color (L*, a* and b*), texture (cutting force) and pH were declined and were not different from those of controlled sample (p>0.05). However, total volatile basic nitrogen (TVB-N) was found to increase but less than 30 mg N/100g at the end storage. As a result, pretreatment of oyster with electrolyzed water combined with EGCG can be used as an alternative method to either to extend the shelf life of oysters or helps preserve their physical and chemical properties.

Department:	Food Technology	Student's Signature	....
Field of Study:	Food Technology	Advisor's Signature	....
Academic Year:	2017	Co-Advisor's Signature	....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลงได้โดยการสนับสนุนทุนวิจัยจาก ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช (THE 90th ANNIVERSARY OF CHULALONGKORN UNIVERSITY FUND (Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund)) และสำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และรองศาสตราจารย์ ดร.ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษา ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่ง และคอยอบรมสั่งสอน ให้ข้อคิดในการท้างานเสมอมา ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริงและความทุ่มเทของอาจารย์ ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.จันทร์ประภา อิ่มจงใจรัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัศตรกุล และศาสตราจารย์ ดร.วราวุฒิ ครูส่ง ที่กรุณาเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และกรุณาให้คำแนะนำ ตรวจสอบ กลั่นกรอง และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภา มหากาญจนกุล ที่อนุเคราะห์น้ำอิเล็กโทรไลต์ในการทำวิจัย และพี่ๆ ที่ค่อยอำนวยความสะดวก และให้การช่วยเหลือตลอดมา ณ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านที่ให้คำปรึกษาและข้อแนะนำ รวมถึงอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยต่าง ๆ จนงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารที่คอยเป็นกำลังใจ ให้การสนับสนุน ให้ความช่วยเหลือที่ดีตลอดมา

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัวที่ให้ความสนับสนุน เป็นกำลังใจ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านที่ดีเสมอมา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .... จ

กิตติกรรมประกาศ .... ฉ

สารบัญ .... ช

สารบัญรูปภาพ .... ฏ

สารบัญตาราง .... ฒ

บทที่ 1 บทนำ 1

  ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

บทที่ 2 วารสารปริทัศน์ 1

  2.1 หอยนางรม 1

    2.1.1 การทำความสะอาดหอยนางรม 1

    2.1.2 สารกันเสียที่ใช้ในการเก็บรักษาหอยนางรมสดแกะเปลือก 2

    2.1.3 การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในหอยนางรม 3

  2.2 น้ำอิเล็กโทรไลต์ 4

    2.2.1 น้ำอิเล็กโทรไลต์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ 6

    2.3.1 การใช้กรดแลคติกในการลดเชื้อจุลินทรีย์ 9

    2.4.1 สารสกัดชาเขียวในการฆ่าเชื้อจุลิทรีย์ 13

    2.4.2 สารสกัดชาเขียวที่ใช้ในอาหาร 14

บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย 15

  3.1 วัสดุ และอุปกรณ์ 15

  การเตรียม Epigallocatechin gallate 17

  3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย 18

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

3.2.1 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ของ Epigallocatechingallate 18

3.2.2 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ของกรดแลคติก 18

3.2.3 ศึกษาผลของน้ำอิเล็กโทรไลต์ต่อจุลชีววิทยา สมบัติทางเคมี และกายภาพของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์เทียบกับตัวอย่างควบคุม 18

3.2.4 ศึกษาผลของกรดแลคติกต่อต่อจุลชีววิทยา สมบัติทางเคมี และกายภาพของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกเทียบกับตัวอย่างควบคุม ... 18

3.2.5 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงต่อจุลชีววิทยา สมบัติทางเคมี และกายภาพของหอยนางรมเมื่อแช่ใน Epigallocatechin gallate ระหว่างการเก็บรักษาที่ 4±2 ℃.................... 19

3.2.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ 20

บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 21

4.1 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชาเขียว (Epigallocatechin gallate) 21

4.2 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของกรดแลคติก 22

4.3 ผลของน้ำอิเล็กโทรไลต์ต่อจุลชีววิทยา สมบัติทางเคมี และกายภาพของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ 25

4.4 ผลของกรดแลคติกต่อจุลชีววิทยา สมบัติทางเคมี และกายภาพของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติก 32

4.5 การศึกษาผลของสารสกัดชาเขียวต่อจุลชีววิทยา สมบัติทางเคมี และกายภาพของหอยนางรมระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃ 39

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 60

รายการอ้างอิง 62

ภาคผนวก ก 70

ภาคผนวก ข 71

ภาคผนวก ค 75

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

ภาคผนวก ง 81

ภาคผนวก จ 82

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 88

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1 หอยนางรมพันธุ์ปากจีบ....... 1

รูปที่ 2.2 การทำงานภายในเครื่องผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์ 5

รูปที่ 2.3 การเปลี่ยนแปลงของสารที่ขั้วแอโนด และแคโทดในการผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์....... 5

รูปที่ 2.4 Mode of action น้ำอิเล็กโทรไลต์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ 6

รูปที่ 2. 5 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของคลอรีนอิสระ (% AAC) ต่อค่า pH ประกอบไปด้วยก๊าซคลอรีน (Cl_2), กรดไฮโปคลอรัส(HOCl) และไฮโปคลอไรท์ (OCl^-) 7

รูปที่ 2.6 โครงสร้างในรูป L(+) และ D(-) ของกรดแลคติก 8

รูปที่ 2.7 โครงสร้างของสารสกัดชาเขียวทั้ง 8 อนุพันธ์....... 12

รูปที่ 2.8 กลไกลของสาร EGCG ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย 13

รูปที่ 2. 9 การเปลี่ยนแปลงของสีในเนื้อวัว 14

รูปที่ 4.1 องค์ประกอบของผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ 23

รูปที่ 4.2 จำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด, *Staphylococcus aureus* และ lactic acid bacteria (LAB) ที่ลดลงของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที 26

รูปที่ 4.3 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Vibrio. parahaemolyticus* ที่ลดลงของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที 26

รูปที่ 4.4 ค่าแรงตัดเฉือนส่วนท้องของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที 27

รูปที่ 4.5 ค่าแรงตัดเฉือนส่วนกล้ามเนื้อของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที 28

รูปที่ 4.6 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดในหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที 30

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 4.7 ค่าความเป็นกรดด่างของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที....31

รูปที่ 4.8 จำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด, *S. aureus* และ lactic acid bacteria (LAB) ที่ลดลงของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที....33

รูปที่ 4.9 จำนวนเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ลดลงในหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที....33

รูปที่ 4.10 ค่าแรงตัดเฉือนส่วนท้อง (belly) ของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที....34

รูปที่ 4.11 ค่าแรงตัดเฉือนส่วนกล้ามเนื้อ (adductor muscle) ของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที....35

รูปที่ 4.12 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดในหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที....37

รูปที่ 4. 13 ค่าความเป็นกรดด่างของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที....38

รูปที่ 4.14 ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดในหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃....40

รูปที่ 4.15 ปริมาณเชื้อ *E. coli* ในหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃....42

รูปที่ 4.16 ปริมาณเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃....43

รูปที่ 4.17 ปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. ในหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃....44

รูปที่ 4.18 ปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃....45

รูปที่ 4.19 ปริมาณเชื้อ Lactic acid bacteria (LAB) ในหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃....46

รูปที่ 4.20 ค่าแรงตัดส่วนของท้องหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃....48

รูปที่ 4.21 ค่าแรงตัดส่วนของกล้ามเนื้อหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃....49

รูปที่ 4.22 ค่า L* ส่วนท้องหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃....51

รูปที่ 4.23 ค่า L* ส่วนกล้ามเนื้อหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃....52

รูปที่ 4.24 ค่า a* ส่วนท้องหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃....53

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 4.25 ค่า a* ส่วนกล้ามเนื้อหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃ 54

รูปที่ 4.26 ค่า b* ส่วนท้องหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃ 55

รูปที่ 4.27 ค่า b* ส่วนกล้ามเนื้อหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃ 56

รูปที่ 4.28 ปริมาณด่างที่ระเหยทั้งหมดของเนื้อหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃ 57

รูปที่ 4. 29 ค่าความเป็นกรดด่างของเนื้อหอยนางรมเก็บที่อุณหภูมิ 4±2 ℃ 59

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ลำดับความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ (free radicals และ reactive oxygen species; ROS)....11

ตารางที่ 3.1 แสดงสภาวะต่างๆที่ใช้ในการเก็บรักษาหอยนางรม 19

ตารางที่ 4.1 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) 24

ตารางที่ 4.2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) 24

ตารางที่ 4.3 ค่าสี L* a* และ b* ส่วนท้อง (belly) ของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที 29

ตารางที่ 4.4 ค่าสี L* a* และ b* ส่วนกล้ามเนื้อ (adductor muscle) ของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที....29

ตารางที่ 4.5 ค่าสี L* a* และ b* ส่วนท้อง (belly) ของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที....36

ตารางที่ 4.6 ค่าสี L* a* และ b* ส่วนกล้ามเนื้อ (adductor muscle) ของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที 36

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันหอยนางรมได้รับความนิยมแพร่หลายในหมู่นักท่องเที่ยว และผู้บริโภคภายในประเทศ อย่างไรก็ตามความเสี่ยงจากการบริโภคหอยนางรมสดแกะเปลือก คือภัยทางจุลินทรีย์ ปัญหาดังกล่าวส่งผลกระทบทั้งด้านเศรษฐกิจของผู้เกี่ยวข้อง และคุณภาพชีวิตของผู้บริโภค ดังนั้นความปลอดภัยของอาหารเป็นข้อกังวลสำคัญของผู้บริโภคปัจจุบัน และเป็นสิทธิขั้นพื้นฐานที่ผู้บริโภคพึงได้รับมาตรฐานและกระบวนการขับเคลื่อนอาหารปลอดภัย เพื่อสร้างความเชื่อมั่นแก่ผู้บริโภค สะท้อนสู่แนวทางการผลิตอาหาร และรวมถึงการบ่งชี้สาเหตุของปัญหาที่อาจจะเกิดขึ้น หอยนางรมสดแกะเปลือกบรรจุกระปุกที่มีวางขายตามท้องตลาดทั่วไปพบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคทางเดินอาหาร *Vibrio parahaemolyticus, Vibrio vulnificus, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella* spp. *และ Bacillus* spp. เป็นต้น (กรมประมง, 2540) ทั้งนี้หอยนางรมมีการปนเปื้อนแบคทีเรียจากกระบวนการผลิต เนื่องจากขั้นตอนการทำความสะอาดพบว่ามีการทำความสะอาดด้วยน้ำประปา ซึ่งน้ำดังกล่าวไม่สามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในระดับที่ยอมรับได้ จึงมีแนวคิดในการนำน้ำอิเล็กโทรไลต์ และกรดแลคติกมาใช้ในการทำความสะอาด เนื่องจากสามารถลดปริมาณและยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นได้ อีกทั้งยังเป็นสารที่ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ และกรดแลคติกยังได้รับการยอมรับจากองค์การอนามัยโลก (WHO) ในการนำมาใช้ในการทำความสะอาดเบื้องต้นวัตถุดิบเพื่อลดปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวได้ โดยทั่วไปในท้องตลาดที่ขายหอยนางรมสดแกะเปลือกบรรจุกระปุกนั้นจะมีการแช่ด้วยสารกันเสียเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา ซึ่งใช้ความเข้มข้นที่เกินกฎหมายกำหนด คือ สารละลายโพแทสเซียมซอเบต 3% โดยกฎหมายอนุญาตให้ใช้ 0.1% ซึ่งการใช้สารดังกล่าวที่เกิดกฎหมายกำหนดจะก่อให้เกิดอันตรายที่จะเกิดขึ้นในผู้บริโภค คือ อาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย และอาจทำให้เสียชีวิต จึงมีความสนใจในสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อลดความเสี่ยงที่จะเกิดขึ้นในด้านสุขภาพของผู้บริโภค คือการใช้สารสกัดจากชาเขียว เนื่องจากมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในทางเดินอาหาร และจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ซึ่งอาจส่งผลต่อคุณลักษณะทางเคมี กายภาพ และสามารถช่วยยืดอายุการเก็บหอยนางรมสดแกะเปลือกบรรจุกระปุกให้นานขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อควบคุมการเสื่อมเสียในระหว่างการเก็บรักษาโดยใช้ Epigallocatechin gallate (EGCG) จากชาเขียวแทนวัตถุกันเสีย และการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ กรดแลคติกในการนำไปใช้กับหอยนางรมในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 หอยนางรม

หอยนางรมในประเทศไทยที่เลี้ยงอยู่โดยทั่วไป หอยนางรมพันธุ์เล็กหรือหอยปากจีบ หอยนางรมพันธุ์นี้มีการเลี้ยงกันมากทางภาคตะวันออกของประเทศ ส่วนอีก 2 พันธุ์ เป็นหอยนางรมที่ค่อนข้างมีขนาดใหญ่เรียกว่า หอยตะโกรมกรามขาว และหอยตะโกรมกรามดำ แม้จะมีการเลี้ยงกันบ้างในภาคตะวันออก แต่การเลี้ยงส่วนใหญ่อยู่ในเขตจังหวัดภาคใต้ โดยเฉพาะจังหวัดสุราษฎร์ธานี (สายวสันต์ กลิ่นสุคนธ์, 2548) สำหรับการศึกษาครั้งนี้จะทำการศึกษาหอยนางรมพันธุ์ปากจีบ ดังรูปที่ 2.1 หอยนางรมโดยทั่วไปมีเกณฑ์การจัดความสดโดยค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ต้องมีค่ามากกว่า 6 แสดงว่าหอยนางรมมีความสดดี ซึ่งถ้าหอยนางรมมีค่า pH น้อยกว่า 5 จะบ่งชี้ว่าหอยนางรมเริ่มมีการเน่าเสียเกิดขึ้น (Gacutan, 1974) และค่าปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ต้องมีค่าไม่เกิน 30 mgN/100g ซึ่งจัดว่าหอยนางรมมีความสด แต่ถ้ามีค่ามากกว่า 30 mgN/100g จัดว่าหอยนางรมมีการเน่าเสียเกิดขึ้น (Harpaz et al. 2003)

รูปที่ 2.1 หอยนางรมพันธุ์ปากจีบ

2.1.1 การทำความสะอาดหอยนางรม

การทำความสะอาดเบื้องต้นเป็นขั้นตอนที่สำคัญหลังการจับสัตว์น้ำเพื่อลดการปนเปื้อนที่ติดมาจากสิ่งแวดล้อม เช่น คน และอุปกรณ์ เป็นการลดปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น และจุลิทรีย์ก่อโรคที่มีโอกาสตรวจพบ เช่น faecal coliforms*, E. coli, Salmonella spp. และ Staph. aureus* เป็นต้น(พงษ์เทพ วิไลพันธ์, 2556) โดยทั่วไปนอกจากจะใช้น้ำที่มีอุณหภูมิต่ำแล้วยังต้องมีการเติมสารเคมีที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียในน้ำได้ สารเคมีที่เติมมีทั้งที่เป็นตัวฆ่าหรือยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย สารที่นิยมใช้ส่วนมาก คือ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ คลอรีนไดออกไซด์ เป็นต้น (Fabrizio & Cutter 2004; Donn & Cameron, 1991)

Park, Chung & Ha (2018) ศึกษาโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 20, 40, 60 และ 80 ppm โดยวิธีการเขย่า 50 rpm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (20-25 °C) ทำให้เชื้อ *V. vulnificus* ในหอยนางรมลดลง 0.2±0.02, 0.3±0.08, 0.8±0.07 และ 1.0±0.07 $\log_{10}$ CFU/g ตามลำดับ พบว่าที่ความเข้มข้น 60 และ 80 ppm ให้ผลในการลดเชื้อแตกต่างจากความเข้มข้น 20 และ 40 ppm อย่างมีนัยสำคัญ

2.1.2 สารกันเสียที่ใช้ในการเก็บรักษาหอยนางรมสดแกะเปลือก

การใช้สารกันเสียจัดเป็นวัตถุเจือปนอาหารเพื่อการถนอมอาหาร เนื่องจากสารกันเสียมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และช่วยถนอมอาหารให้มีอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น จึงได้มีการนำหอยนางรมหลังจากกระบวนการทำความสะอาดเบื้องต้นมาแช่ลงในสารกันเสีย เพื่อใช้ในขั้นตอนการเก็บรักษา ซึ่งสารกันเสียที่ใช้ ได้แก่ โพแทสเซียมซอร์เบต, โซเดียมเบนโซเอต, โพแทสเซียมอลูมิเนียมซัลเฟต เป็นต้น โดยกฎหมายอนุญาตให้ใช้ โพแทสเซียมซอร์เบต 0.1 %, โซเดียมเบนโซเอต 0.2 % และโพแทสเซียมอลูมิเนียมซัลเฟต 0.015 % (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2522) การใช้สารกันเสียเพื่อถนอมอาหารต้องคำนึงถึงความปลอดภัยของผู้บริโภคเป็นสำคัญ (Sharif et al. 2017; Sofos, 2000)

จากรายงานของ สวามินี ธีระวุฒิ และคณะ (2557) การใช้สารกันเสียโพแทสเซียมซอร์เบต 3% ในการแช่หอยนางรม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C เมื่อพิจารณาจากจำนวนจุลินทรีย์ไม่เกิน 6 $\log_{10}$ CFU/g พบว่ามีอายุการเก็บรักษา 8 วัน และยังคงพบ เชื้อ *E. coli* และ โคลิฟอร์มแบคทีเรียในตัวอย่างโดยมีค่าไม่เกินมาตรฐาน (2 $\log_{10}$ CFU/g) และปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) พบว่าหอยนางรมเริ่มต้นมีค่า 25-30 mgN/100g วันสุดท้ายของการเก็บรักษามีค่าอยู่ที่ 42.14 mgN/100g

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

จากรายงานของ รัตนาภรณ์ พิมพ์แน่น และคณะ (2557) การใช้สารกันเสียในการแช่หอยนางรมร่วมกับการปรับสภาพบรรยากาศ พบว่าการใช้สารกันเสียเป็นสารละลายผสมระหว่างโพแทสเซียมซอร์เบต 3% และโซเดียมแล็กเตต 2.5 % และปรับสภาพบรรยากาศภายในภาชนะบรรจุ 60%CO_2:20%O_2:20%N_2 โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C ผลการศึกษาพบว่าหอยนางรมสามารถเก็บรักษาได้นาน 10 วัน

Efiuvwevwere & Amadi (2015) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลชีววิทยา และทางเคมี ในหอยนางรมโดยใช้สารกันเสียประเภทต่างๆ ดังนี้ โซเดียมเบนโซเอต 0.1% (w/v) และโพแทสเซียมอลูมิเนียมซัลเฟต 1% (w/v) โดยใช้วิธีการจุ่ม และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30±2 °C พบว่าการใช้โซเดียมเบนโซเอต มีอายุการเก็บรักษา 2 วัน ไม่พบการเจริญของเชื้อ *Vibrio* spp. และ *E. coli* มีค่า pH วันแรกคือ 5.32±0.04 และวันสุดท้าย 4.78±0.03 และโพแทสเซียม

อลูมิเนียมซัลเฟต มีอายุการเก็บรักษา 3 วัน ไม่พบการเจริญของเชื้อ *Vibrio* spp. และ *E. coli* มีค่า pH วันแรกคือ 4.10±0.06 และวันสุดท้าย 4.00±0.06

2.1.3 การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในหอยนางรม

เนื่องจากหอยนางรมมีลักษณะการกินอาหารโดยการดูดและกรอง ทำให้สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ล่องลอยอยู่ในกระแสน้ำไม่ว่าจะเป็นแพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ แบคทีเรีย หรือแม้แต่เศษดิน ที่แขวนลอยอยู่ในน้ำมีโอกาสที่จะสะสมอยู่ในตัวหอยได้ง่าย ประกอบกับพื้นที่เลี้ยงหอยส่วนใหญ่มักตั้งอยู่บริเวณปากแม่น้ำ หรือในเขตที่ได้รับอิทธิพลจากน้ำจืดและการไหลหลากของแม่น้ำลำคลอง บริเวณดังกล่าวเป็นแหล่งรองรับของเสียต่างๆ ที่พัดมากับแม่น้ำลำคลอง ไม่ว่าจะเป็นของเสียจากชุมชน เกษตรกรรม หรืออุตสาหกรรม ทำให้มักมีรายงานการปนเปื้อนของแบคทีเรียในหอยอยู่เสมอ เนื่องจากหอยนางรมเป็นอาหารที่ผู้บริโภคนิยมบริโภคสดแบบสด กรมประมง, (2540) รายงานว่าผู้บริโภคที่มีการเจ็บป่วยหลังรับประทานหอยนางรมสด ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียดังนี้ *V. parahaemolyticus, V. vulnificus, E. coli, Staph. aureus, Salmonella* spp. และ *B. cereus* เป็นต้น

มณีย์ กรรณรงค์ และคณะ (2540) รายงานการปนเปื้อนของแบคทีเรียในหอยนางรม โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 3.6×10^{5} CFU/g, *Vibrio* spp. 1.0×10^{4} CFU/g, *V. parahaemolyticus* 1.8×10^{4} CFU/g และ *E. coli* 30.46 MPN/g

สุดสายชล หอมทอง และธดาภรณ์ วงศ์พุฒ (2549) รายงานการสำรวจการปนเปื้อนของ *Vibrio* spp. ในหอยนางรมที่เพาะเลี้ยงบริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม ถึงเดือนธันวาคม 2546 พบการปนเปื้อนของ *Vibrio* spp. 73.33 เปอร์เซ็นต์ และซึ่งสามารถแยก *Vibrio* ได้ 6 ชนิด 41 ไอโซเลท คือ *V. parahaemolyticus* จำนวน 13 ไอโซเลท, *V. alginolyticus* จำนวน 9 ไอโซเลท, *V. vulnificus* จำนวน 7 ไอโซเลท, *V. fluvialis* จำนวน 5 ไอโซเลท, *V. damsel* จำนวน 3 ไอโซเลท และ *V. hollisae* จำนวน 4 ไอโซเลท ดังนั้นจากการศึกษานี้ทำให้ทราบว่าการบริโภคหอยนางรมสดอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคกระเพาะอาหารลำไส้อักเสบได้

สุรีย์ นานาสมบัติ และคณะ (2556) ทำการประเมินการปนเปื้อนของ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลสด ได้แก่ กุ้ง ปลา ปลาหมึก หอยนางรม และหอยแมลงภู่ที่จำหน่ายในตลาดในกรุงเทพ โดยอาศัยวิธี Most Probable Number พบว่าปริมาณเชื้ออยู่ในช่วง 24 ถึงมากกว่า 11,000 MPN/g โดยพบการปนเปื้อนในหอยนางรมมากที่สุด คือ ร้อยละ 90 โดยตรวจพบ *V. parahaemolyticus* ในปริมาณที่สูง เนื่องจากเชื้อนี้มีถิ่นอาศัยอยู่แถบชายฝั่งทะเลในเขตร้อน โดยจะอยู่ในแพลงตอนเมื่อหอยนางรมกินแพลงตอนเข้าไปจึงทำให้เชื้อเข้าสู่หอยนางรม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

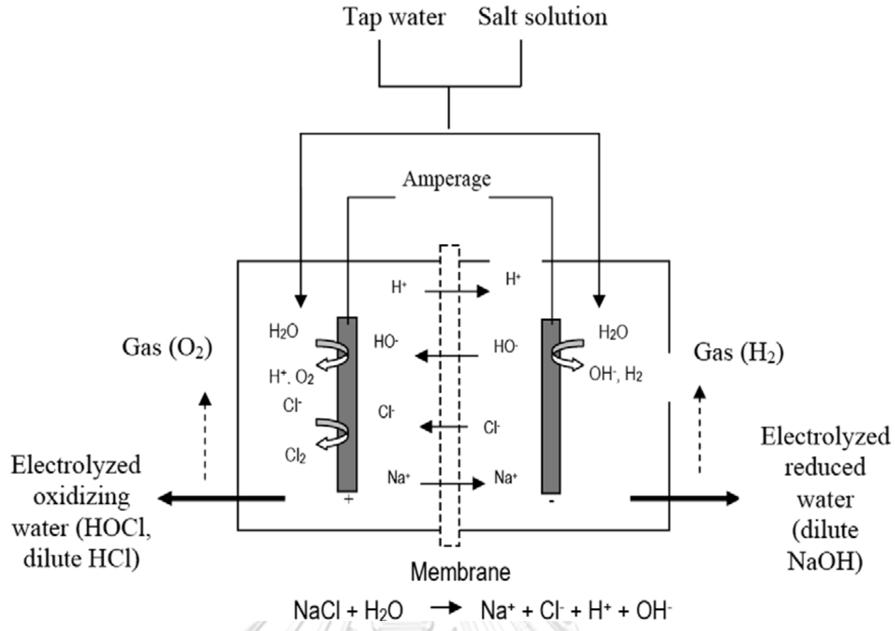
Lee et al. (2010) ทำการศึกษาสายพันธุ์ของเชื้อ *Lactobacillus* spp. ในหอยนางรมที่สำรวจในอ่าว Geunso ประเทศเกาหลีใต้ ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์- กรกฎาคม 2008 ด้วยวิธี molecular identification จากการสกัด RNA พบว่ามีทั้งหมด 83 สายพันธุ์ โดย สายพันธุ์ที่พบมากที่สุดเรียงตามลำดับดังนี้ *L. paracasei, L. johnsonii* และ *L. plantarum*

Silva et al. (2015) ศึกษาเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มก่อโรคทางเดินอาหารที่พบในหอยนางรมที่สำรวจในอ่าว Camamu ประเทศบลาซิล ในเดือนเมษายน, กรกฎาคม และตุลาคม 2012 ด้วยวิธี PCR-DGGE พบว่ามีเชื้อที่พบมากที่สุดได้แก่ *V. parahaemolyticus, E. coli, Staph. aureus* และ *S.* Typhimurium

2.2 น้ำอิเล็กโทรไลต์

น้ำอิเล็กโทรไลต์ หรือน้ำ EW กำลังเป็นที่นิยมในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม มีความปลอดภัยในการใช้งาน ประหยัดค่าใช้จ่าย และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Zhao, 2016) มีการใช้งานอย่างกว้างขวางในประเทศญี่ปุ่นโดยใช้ในการบำบัดกลิ่นและทำความสะอาดในโรงพยาบาล ปัจจุบันได้ทดลองมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมภาคการเกษตรเพื่อลดเชื้อแบคทีเรียที่ติดมากับผลิตผลทางการเกษตร เนื่องจากกรรมวิธีในการผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์ คือใช้โซเดียมคลอไรด์เป็นวัตถุดิบในการผลิต ร่วมกับการใช้ขั้วทางไฟฟ้าเคมีในการแยกประจุของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ โดยสามารถผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์ออกมาได้สองแบบ คือ แบบแรกผลิตจากขั้วแคโทด (ขั้วบวก) เป็น น้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดที่มีพีเอชมากกว่า 7 และมีโซเดียมไฮดรอกไซด์ละลายอยู่ ส่วนขั้วแอโนด (ขั้วลบ) ผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่มีพีเอชน้อยกว่า 7 และมีกรดไฮโปคลอรัส และไฮโปคลอไรท์ละลายอยู่ (Huang et al., 2006) ดังรูปที่ 2.2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 2.2 การทำงานภายในเครื่องผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์

ที่มา: Huang et al. (2006)

หลักการผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์ มีการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นดังรูปที่ 2.3

CHULALONGKORN UNIVERSITY

Positive pole : $2H_2O \longrightarrow 4H^+ + O_2 + 4e^-$

$2NaCl \longrightarrow Cl_2 + 2e^- + 2Na^+$

$Cl_2 + H_2O \longrightarrow HCl + HOCl$

Negative pole : $2H_2O + 2e^- \longrightarrow 20H^- + H_2$

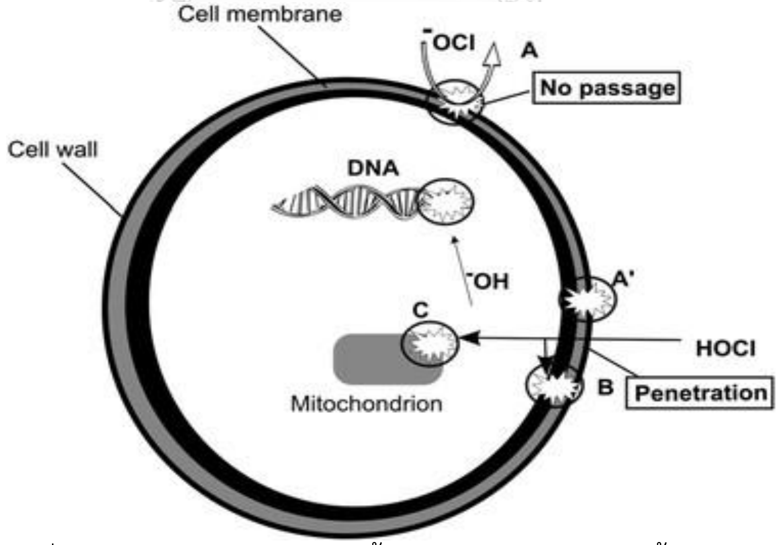
$2NaCl + 2OH \longrightarrow 2NaOH + Cl^-$

รูปที่ 2.3 การเปลี่ยนแปลงของสารที่ขั้วแอโนด และแคโทดในการผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์

ที่มา: Huang et al. (2006)

2.2.1 น้ำอิเล็กโทรไลต์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์

น้ำอิเล็กโทรไลต์มีสารสำคัญในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ คือกรดไฮโปคลอรัส (HOCl) และไฮโปคลอไรท์ (OCl^-) โดยน้ำอิเล็กโทรไลต์จะมีค่า pH อยู่ในช่วง 5-6 ทำให้มีปริมาณของกรดไฮโปคลอรัสที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งกรดไฮโปคลอรัสไม่มีประจุจึงสามารถแทรกซึมเข้าไปในเยื่อหุ้มด้านในของเซลล์แบคทีเรีย ส่วนไฮโปคลอไรท์เป็นสารที่มีประจุไม่สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องผนังเซลล์มีชั้นของ lipid bilayer เป็นชั้นที่ไม่ชอบน้ำ ดังนั้นจึงทำปฏิกิริยาจากภายนอกเซลล์เท่านั้น ดังในรูปที่ 2.4 (วงกลม A) โดยจะทำปฏิกิริยากับโปรตีนของผนังเซลล์ทำให้เกิดสารพิษในรูปของสารประกอบ *N*-chlorine ซึ่งจะยับยั้งเอมไซม์ที่ไวต่อการเกิดออกซิเดชัน และไปรบกวนเมตาบอลิซึมของเซลล์แบคทีเรียทำให้ตายในที่สุด และในทางตรงกันข้ามกรดไฮโปคลอรัสสามารถผ่านผนังเซลล์ และเยื่อหุ้มเซลล์ด้วยวิธีการแพร่ HOCl สามารถทำลายผนังเซลล์ (วงกลม A) และเข้ามาทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ (วงกลม B) นอกจากนี้เมื่อเข้ามาภายในเซลล์ (วงกลม C) พบว่า HOCl ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง DNA ทำให้กระบวนการสังเคราะห์ DNA เกิดขึ้นได้อย่างไม่สมบูรณ์ และเข้าทำลายในส่วน plasmid DNA ลดความสามารถในการ Transfromed ทำให้เกิด Double strand ที่ไม่สมบูรณ์ใน plasmid DNA และลด Transcription activity ด้วย และการทำลายเอนไซม์ของHOCl พบว่าจะทำลายเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase) และรบกวนแหล่งสร้างพลังงานของจุลินทรีย์จึงตายในที่สุด (Rahman, Khan & Oh 2016) ดังรูปที่ 2.4

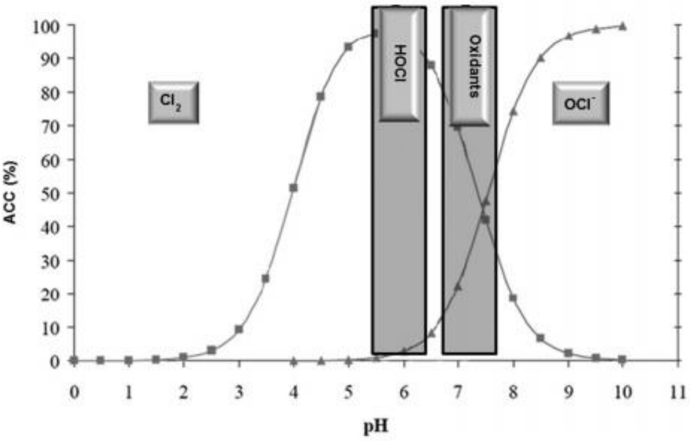


รูปที่ 2.4 Mode of action ของน้ำอิเล็กโทรไลต์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์

ที่มา: Rahman et al., (2016)

2.2.2 การใช้น้ำอิเล็กโทรไลต์ในอาหาร

น้ำอิเล็กโทรไลต์มีการใช้งานอย่างแพร่หลายในประเทศญี่ปุ่น โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ผัก ผลไม้ ไข่ เนื้อสัตว์ และอาหารทะเล เนื่องจากสามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร และจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียได้ (Huang et al., 2008) นอกจากนี้น้ำอิเล็กโทรไลต์มีต้นทุนต่ำกว่าการใช้ กลูตาราลดีไฮล์ (glutaraldehyde) และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite) และน้ำอิเล็กโทรไลต์มีค่าpH ที่น้อยว่า 7 ดังรูปที่ 2.5 ทำให้มีกรดไฮโปคลอรัส (HOCl) อยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อมากกว่าไฮโปคลอไรท์ (OCl^-) (Deza, Araujo, & Garrido, 2007) ดังนั้นน้ำอิเล็กโทรไลต์จึงมีประสิทธิภาพในการนำมาใช้ในลดเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร



รูปที่ 2. 5 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของคลอรีนอิสระ (% AAC) ต่อค่า pH ประกอบไปด้วยก๊าซคลอรีน (Cl_2), กรดไฮโปคลอรัส(HOCl) และไฮโปคลอไรท์ (OCl^-)

ที่มา: Rahman et al., (2016)

Park, Hung & Brackett (2002) ได้ศึกษาน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นของคลอรีนอิสระ 50 ppm ในการลดเชื้อ *Campylobacter jejuni* ที่ปีกไก่ โดยนำปีกไก่ใส่ลงในถุงที่มีน้ำอิเล็กโทรไลต์บรรจุอยู่นำไปเขย่าเป็นเวลา 10 และ30 นาที โดยแบ่งการทดลองออกเป็นสองอุณหภูมิ คือ 23 และ 4 ℃ ที่อุณหภูมิ 23 ℃ ที่เวลา 10 นาที โดยเชื้อลดลงจาก 5.05±0.14 เหลือ 2.09±0.09 log_{10} CFU/g และที่เวลา 30 นาที โดยเชื้อลดลงจาก 5.05±0.14 เหลือ 1.83±0.09 log_{10} CFU/g และที่อุณหภูมิ 4 ℃ เวลา 10 นาที โดยเชื้อลดลงจาก 5.03±0.08 เหลือ 2.23±0.13 log_{10} CFU/g

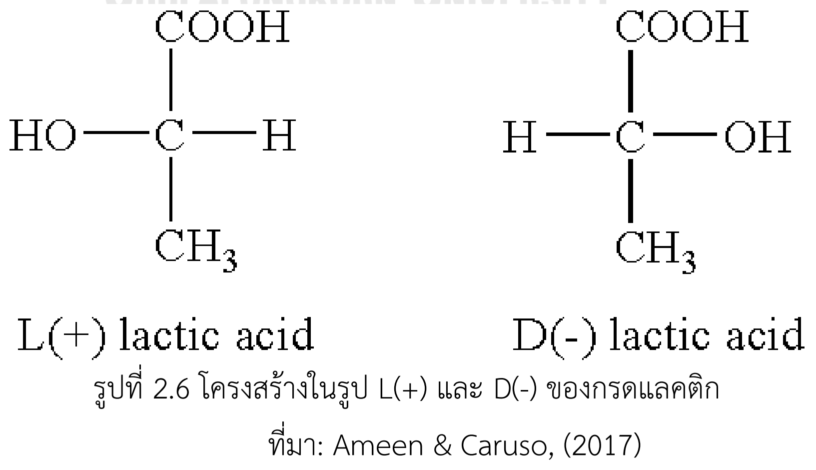
และที่เวลา 30 นาที โดยเชื้อลดลงจาก 5.03±0.08 เหลือ 2.08±0.08 $\log_{10}$ CFU/g ซึ่งพบว่าที่เวลาในการเขย่าที่เหมาะสมในการลดเชื้อคือ 30 นาที

Huang et al. (2006) ศึกษาการใช้น้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นของคลอรีนอิสระ 120±4 ppm ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *V. parahaemolyticus* ในปลานิล ด้วยวิธีการแช่ ที่เวลา 10 นาที พบว่าเชื้อลดลง 0.76 และ 2.61 $\log_{10}$ CFU/cm^2 ตามลำดับ

2.3 กรดแลคติก (Lactic acid)

กรดแลคติก หรือ 2-hydroxypropanic acid เปนกรดอินทรียที่โครงสรางประกอบดวยโมเลกุลของคารบอน 3 อะตอมเรียงตอกันที่คารบอนตัวกลางมีหมูเมธิล (-CH3) และหมูคารบอกซี (-COOH) มาเกาะอยูกรดแลคติกถูกค้นพบครั้งแรกโดย Carl Wilhelm Scheele ตั้งแตปีค.ศ. 1780 ที่พบวาเปนกรดที่ทำใหนมหมักมีรสเปรี้ยว ซึ่งตอมา Benninga (1990) รายงานว่าแบคทีแลคติก เปนแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกได

กรดแลคติกสามารถผลิตไดทั้งจากการสังเคราะหจากปฏิกิริยาเคมี และจากกระบวนการหมักของเชื้อจุลินทรีย์ กรดแลคติกที่ผลิตโดยจุลินทรียจะมีความจำเพาะมากกวา โดยแบคทีเรียแลคติกจะสามารถผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) หรือ D(-) อยางใดอยางหนึ่งหรือผสมกันขึ้นอยูกับสายพันธุของเชื้อ ดังรูป 2.5 อีกทั้งแบคทีเรียแลคติกจัดเปนกลุมจุลินทรียที่ปลอดภัย (Generally Recognized As Safe; GRAS) มีการนำมาใช้ประโยชน์ในการถนอมอาหารและผลิตภัณฑ์อาหารหมักต่างๆ ดังนั้นกรดแลคติกที่มาจากการหมักของแบคทีเรียแลคติกจึงปลอดภัยสำหรับการนำมาใชงานดานตางๆ (Ameen & Caruso, 2017)



รูปที่ 2.6 โครงสร้างในรูป L(+) และ D(-) ของกรดแลคติก

ที่มา: Ameen & Caruso, (2017)

2.3.1 การใช้กรดแลคติกในการลดเชื้อจุลินทรีย์

กรดแลคติกเป็นกรดอ่อนสามารถแทรกซึมเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย แล้วแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออน (H^+) ภายในเซลล์ของแบคทีเรีย และไปรบกวนเมตาบอลิซึมของเซลล์แบคทีเรีย จากนั้นเซลล์จะตายลงในที่สุด ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของกรดแลคติกได้แก่ ค่า pH, pKa และความเข้มข้นของกรดแลคติก (Mahmoud, 2014)

Snijder (1985) รายงานการใช้กรดแลคติกในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์มีการใช้เพื่อลดการปนเปื้อนในเนื้อวัว เป็ด ไก่ และซากหมูในโรงฆ่าสัตว์สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์พวก *Salmonella* spp. ได้เป็นอย่างดี การใช้กรดแลคติกในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ได้รับการยอมรับมากขึ้นเนื่องจากเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติและได้รับการรับรองความปลอดภัยในการใช้เป็นสารปรุงแต่งอาหาร กรดแลคติกมีผลในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทันที และชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทนกรดการทำงานของกรดแลคติก เริ่มจากกรดแลคติกจะรวมตัวกับน้ำบริเวณผิวของผลิตภัณฑ์อาหารและซึมเข้าไปในเซลล์ จะทำให้เซลล์มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นเกิดกระบวนการทางเคมียับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

Kim (1995) รายงานว่าการนำเนื้อปลาจุ่มในสารละลายกรดแลคติก (lactic acid) ความเข้มข้น 2 % และ 3 % ร่วมกับการใช้กรดแลคติกที่ลิตจากเชื้อแบคทีเรียแลกติก (lactic culture) ที่ความเข้มข้น 2.5 % โดยใช้เวลา 5 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่ามีการลดลงของแบคทีเรียแกรมลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) และสามารถเก็บเนื้อปลาได้นานถึง 9 วัน นอกจากนี้เนื้อปลาที่จุ่มในสารละลายกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียแลกติกจะให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าการใช้สารละลายกรดแลคติกอย่างเดียวถึงแม้ว่ากรดแลคติกจะสามารถควบคุมแบคทีเรียแกรมลบได้เป็นอย่างดีแต่กลับพบว่ากลิ่นของเนื้อปลาที่จุ่มในสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 3 ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคและถ้าใช้สารละลายกรดแลคติกความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 3 กับเนื้อปลาพบว่ากรดจะย่อยกล้ามเนื้อของปลา

สุแพรวพันธ์ โลหะลักษณาเดช และชุตินุช สุจริต (2556) ได้ศึกษาความเข้มข้นของกรดแลคติกต่อการยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อหอยนางรมโดยการจุ่มเนื้อหอยนางรมในสารละลายกรดแลคติก 4 ระดับ คือ 0% 1.5% 2% และ 2.5% และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5±1 °C พบว่าความเข้มข้นของกรดแลคติกที่เหมาะสมคือ 1.5% ไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ *V. parahaemolyticus* และ *Salmonella* spp. ส่วนจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC), *E. coli* และ *Staph. aureas* พบว่า มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ทั้งนี้ความเข้มข้นดังกล่าวสามารถยืดได้นาน 15 วัน และผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสเนื้อหอยนางรมสดที่จุ่มสารละลายกรดแลกติกที่ความเข้มข้น 1.5 % มีคะแนนการยอมรับสูงสุด สีของเนื้อหอยนางรมมีสีของเนื้อจางลงจากสีตามธรรมชาติมีตำหนิไม่มีกลิ่นเหม็นเน่า มีกลิ่นคาวปานกลาง เนื้อสัมผัสยืดหยุ่นค่อนข้างนิ่มและการยอมรับรวมอยู่ในระดับปานกลาง

2.4 สารสกัดชาเขียว

สารสกัดชาเขียว พบสารในกลุ่มของคาเทชินมากที่สุด เนื่องจากในการผลิตชาเขียวไม่มีขั้นตอนการหมัก (Friedman et al., 2009) กลุ่มของคาเทชินที่พบมากในชา ได้แก่ (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epicatechin-3-gallate (ECG) และ (-)-epicatechin (EC) คาเทชินเหล่านี้ มีอยู่ประมาณ 90% ของคาเทชินทั้งหมด กลุ่มของคาเทชินที่พบในปริมาณน้อยลงได้แก่ (+)-gallocatechin (GC), (+)-catechin (C) และคาเทชินอื่น ๆ เช่น (-)-gallocatechin gallate (GCG) และ (-)-catechin gallate (CG) แสดงโครงสร้างของคาเทชินแต่ละชนิดดังรูปที่ 2.6

ในบรรดาสารสกัดชาเขียวทั้งหมด EGCG พบมากที่สุด และเป็นสารสำคัญในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Das et al., 2014) เช่น *Enterococcus faecium, Staph. aureus*, *Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. และ *E. coli* เป็นต้น (Radji, Fauziah & Aribinuko, 2011; Rice, 2008; Duerink et al. 2008) และสาร EGCG มีสมบัติในการจับอนุมูลอิสระ superoxide anions (O2•-), singlet oxygen (1O2), และ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ความสามารถในการจับอนุมุลอิสระ (free radicals และ reactive oxygen species; ROS) ดังตารางที่ 2.1 (Lakenbrink et al., 2000)

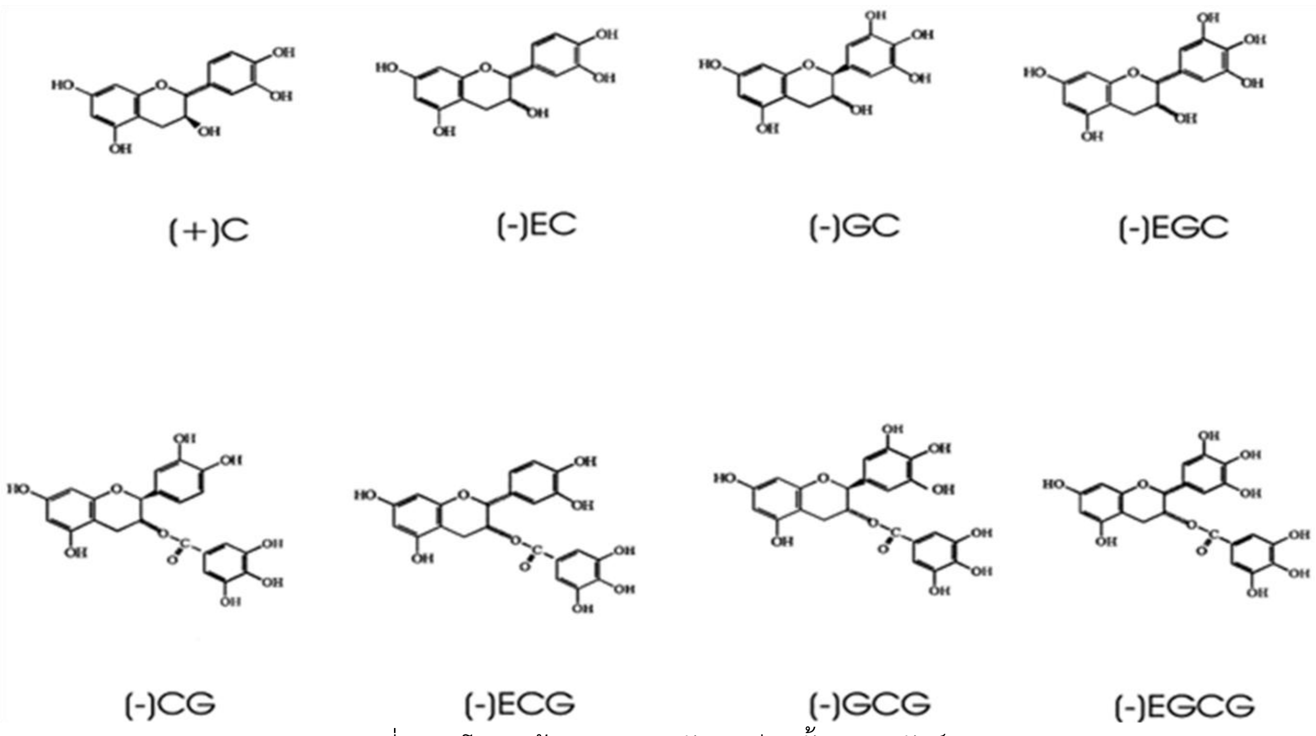
การใช้สารสกัดชาเขียวเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ โดยทั่วไปถือว่าปลอดภัย (GRAS; Generally recognized as safe) สำนักงานคณะกรรมอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (USFDA) ได้ยอมรับเป็นทางการในการนำมาใช้อุตสาหกรรมอาหาร (Perumalla & Hettiarachchy, 2011) เนื่องจากว่าสารสกัดชาเขียวมีการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ และยังเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชั่นได้ดีอีกด้วย จึงได้มีการนำสารสกัดชาเขียวมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆเพื่อใช้แทนสารกันเสีย เช่น เนื้อสัตว์ที่ยังไม่ผ่านการทำให้สุก อาหารทะเล อาหารพร้อมทาน ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ น้ำสลัด เนยเทียม น้ำมันพืช และเครื่องดื่มประเภทต่างๆ เป็นต้น (Hu, Chen & Ni, 2012)

ตารางที่ 2.1 ลำดับความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ (free radicals และ reactive oxygen species; ROS)

Free radicals/ROS	ลำดับความสามารถ
Singlet oxygen	EGCG>ECG>EGC>EC>C
Hydroxyl radical	ECG>EGCG>EC>GC>EGC>C
Lipid peroxyl radical	EGCG=ECG= EC=C>EGC
ABTS$\bullet^{+}$ radical cation	EGCG>ECG>EGC>EC
DPPH• radical	EGCG=ECG>EGC>EC

ที่มา: Lakenbrink et al., (2000)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

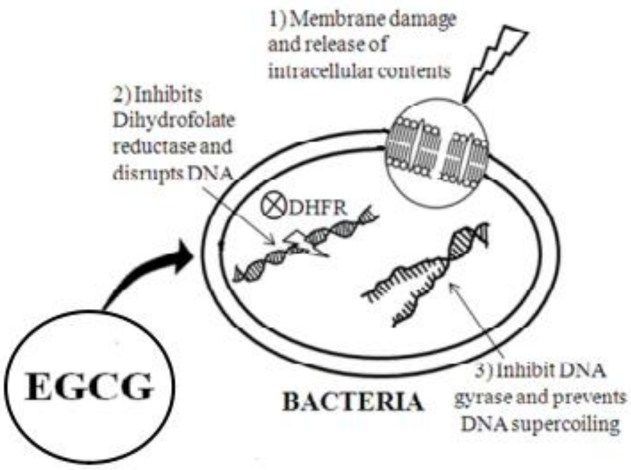


รูปที่ 2.7 โครงสร้างของสารสกัดชาเขียวทั้ง 8 อนุพันธ์

ที่มา: Dalluge & Nelson (2000)

2.4.1 สารสกัดชาเขียวในการฆ่าเชื้อจุลิทรีย์

สารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบของสารสกัดชาเขียวในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้แก่ EGCG ซึ่งจะไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดการรั่วของสารภายในเซลล์ออกมาภายนอกเซลล์ (intramembranous leakage) เป็นผลให้เซลล์ของแบคทีเรียตายในที่สุด จากการศึกษาในหลอดทดลองพบว่า สาร EGCG ไปจับกับเอนไซม์ 7, 8-dihydrofolate (DHF) ที่ใช้ในการสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์ ถูกเปลี่ยนไปเป็น 5, 6, 7, 8-tetrahydrofolate (THF) ส่งผลต่อการสร้าง DNA ส่งผลให้ไม่จุลินทรีย์ไม่เกิดการแบ่งเซลล์ สาร EGCG จะเข้าไปขัดขวางการทำงานของ DNA gyrase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่คลายเกลียวของสาย DNA จึงส่งผลให้การสังเคราะห์สาย DNA ไม่เกิดขึ้น ทำให้ไม่เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์แบคทีเรีย (Shrayanee et al., 2014) ดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.8 กลไกลของสาร EGCG ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

ที่มา: Shrayanee et al. (2014)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Yam et al., (1997) ได้ทำการศึกษาการต้มใบชา 2 g ในน้ำ 100 mL เป็นเวลา 10 นาที นำน้ำชาไปกรองเพื่อกำจัดตะกอน จากนั้นนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dried) โดยมีค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* USA12, *Staph. epidermidis* 17 และ *Yersinia enterrocolitica* 1 คือ 0.28, 0.41 และ 0.41 mg/mL ตามลำดับ และค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการการฆ่าเชื้อ คือ 0.41, 0.55 และ 0.83 mg/mL ตามลำดับ และเมื่อนำสารสกัดจากชาเขียวมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีพาร์ติชัน โครมาโทกราฟี (partition chromatography) ทำให้ทราบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับปริมาณของสาร EGCG

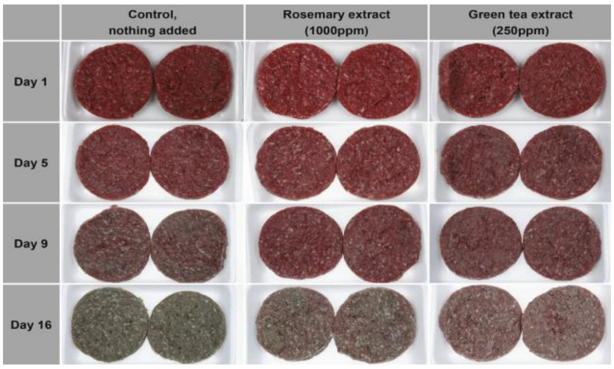
2.4.2 สารสกัดชาเขียวที่ใช้ในอาหาร

สารสกัดชาเขียวเป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมที่เป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายมากที่สุดในสหรัฐอเมริกา (Namal, 2013) มีคุณสมบัติที่โดดเด่นในด้านการต้านอนุมูลอิสระ (Lakenbrink et al., 2000) และยังมีคุณสมบัติในการลดเชื้อแบคทีเรีย (Das et al., 2014)

Xi, Liu, & Su (2012) ได้ศึกษาการอัตราส่วนของใบชาต่อน้ำในการต้มใบชาเพื่อนำมาใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด และเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในหอยนางรม โดยอัตราส่วนใบชาต่อน้ำ 9.1 g: 1L ใช้เวลาในการต้ม 10 นาที จากนั้นนำหอยนางรมมาแช่ในน้ำชาที่อัตราส่วน หอยนางรมต่อน้ำชา0.7 g: 1 mL เก็บที่อุณหภูมิ 5 °C สามารถลดเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดได้ 3-4 log CFU/g ของการเก็บรักษาในสี่วันแรก และเชื้อ *V. parahaemolyticus* 0.8 log_{10} reduction โดยมีอายุการเก็บรักษา 18 วัน

นอกจากสารสกัดชาเขียวจะเป็นสารลดเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารแล้ว สารสกัดชาเขียวยังสามารถช่วยปรับปรุงความเสถียรของสีในผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์สดซึ่งเกี่ยวข้องกับไมโอโกบิล (myoglobin) ซึ่งมีสีแดงในกล้ามเนื้อสัตว์ โดยมีธาตุเหล็กเป็นปัจจัยสำคัญในการเปลี่ยนแปลงของสี โดยออกซิเจนจะทำปฏิกิริยากับเหล็กทำให้ myoglobin เปลี่ยนไปเป็น metmyogolobin ที่เกิดขึ้นจากการออกซิเดชั่นของ oxymyoglobin ทำให้เนื้อสัตว์มีสีคล้ำลง จากรูปที่ 2.9 เนื้อวัวที่มีไขมัน 20 % เมื่อมีการใช้สารสกัดจากธรรมชาติ 1,000 ppm rosemary extract และ 250 ppm green tea extract พบว่าสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงของสีแดงจากเนื้อวัวอยู่ที่ 16 วัน และตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารใดเลยสีเกิดการเปลี่ยนแปลงในเวลา 9 วัน (Namal, 2013) อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าสารสกัดชาเขียวแม้ใช้ในปริมาณที่น้อยกว่าก็ช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชั่นของสีในอาหารได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 2. 9 การเปลี่ยนแปลงของสีในเนื้อวัว

(Namal, 2013)

บทที่ 3
การดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุ และอุปกรณ์

วัตถุดิบ

หอยนางรมสด ฟาร์มหอยนางรม จากจังหวัดชลบุรี

แบคทีเรียที่ใช้ทดลอบ

Staphylococcus aureus ATCC25923, *Lactobacillus plantarum* Plan10621, *Escherichia coli* ATCC25922, *Vibrio paraheamolyticus* ATCC17802, *Salmonella* Typhimurium ATCC13311 และ *Bacillus cereus* ATCC6633 จากห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

- Baird Parker Agar (Himedia laboratories, India)
- Calcium carbonate (Loba chemie, India)
- *E. coli* / Coliform Count Plate (3M Petrifilm, USA)
- Egg York tellurite emulsion (Himedia laboratories, India)
- Eosin Methylene Blue Agar (Himedia laboratories, India)
- Ferrous ammonium sulfate (Sigma-Aldrich, USA)
- Epigallocatechin gallate (Caymam, USA)
- Hydrochloric acid (Merck, Germany)
- Lactic acid 88% w/v (Chemepan, Thailand)
- *Lactobacillus* de Man, Rogosa and Sharpe Agar (Himedia laboratories, India)
- N,N-Diethyl-p-phenylenediamine oxalate salt (Sigma-Aldrich, USA)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

- Nutrient Agar (Himedia laboratories, India)
- Nutrient broth (Himedia laboratories, India)
- Mueller Hinton Broth (Himedia, India)
- Mueller Hinton agar (Himedia laboratories, India)
- Plate Count Agar (Himedia laboratories, India)
- Potassium sorbate (Chemepan, Thailand)
- *Salmonella* Express Plate (3M Petrifilm, USA)
- Sodium chloride (Loba chemie, India)
- Sodium hydroxide pellets (Qrec, New Zealand)
- Sodium hypochlorite (T.S. Inter Lab Limited Partnership, Thailand)

อุปกรณ์

- เครื่องวัดสี Chroma Meter (Konica minolta, CR-400, Japan)
- เครื่องวัดแรงตัดเฉือน texture analyzer (TA-XT2i, Stable Micro Systems, Goldaming, UK)
- เครื่องผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์ (ROX-10 WA E, Hoshizaki Electric CO., Ltd., Japan)
- เครื่อง pH meter (Mettler Toledo, FEP20 FiveEasy PlusTM, Switzerland)เครื่อง UV-visible spectrophotometer (Thermo Spectronic, GENESYS 10 UV, USA)
- อ่างน้ำร้อน (Memmert, WNB22, Germany)
- หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave; Tomy Kogyo, SX-700, Japan)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, ML1602, Switzerland)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, MS204S, Switzerland)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

- ตู้บ่ม (Memmert, IPP550, Germany)
- ตู้เย็น -20 °C (Sharp, FC-28U, Thailand)
- ตู้เย็น 4 °C (Pattana Intercool, LU-45YU, Thailand)

การเตรียมตัวอย่าง

หอยนางรมจากฟาร์มในจังหวัดชลบุรี แช่ในน้ำแข็งและบรรจุในกล่องโพลีสเตรียรีน (Polystyrene) และขนส่งมายังภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จากนั้นมาทำการทำความสะอาดที่บริเวณเปลือก และแกะเนื้อหอยนางรมออกจากเปลือก

การเตรียมน้ำอิเล็กโทรไลต์

น้ำอิเล็กโทรไลต์เตรียมจากเครื่องผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์ (ROX-10 WA E, Hoshizaki Electric CO., Ltd., Japan) โดยการใช้สารละลายเกลือ (10% NaC) จากนั้นปรับความเข้มข้นด้วยน้ำปลอดเชื้อเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของคลอรีนอิสระ ด้วยวิธี ISO 7393-3 (1995) (ภาคผนวก ข.3)

การเตรียมกรดแลคติก

กรดแลคติกเตรียมจากกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 88% w/v โดยปรับความเข้มข้นด้วยน้ำปลอดเชื้อเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของกรดแลคติกตามต้องการ โดยใช้วิธีคำนวณการเจือจางสารละลาย (ภาคผนวก ข.4)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

การเตรียม Epigallocatechin gallate

Epigallocatechin gallate (EGCG) (Caymam, USA) โดยใช้วิธีเตรียมสารละลายเริ่มต้น (ภาคผนวก ข.5)

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ของ Epigallocatechingallate

ทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดชาเขียวที่ยับยั้งการเจริญ และฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น 1×10^8 CFU/mL ตามวิธี CLSI (2006) (ภาคผนวก ค.1 และ ค.2)

3.2.2 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ของกรดแลคติก

ทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของกรดแลคติกที่ยับยั้งการเจริญ และฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น 1×10^8 CFU/mL ตามวิธี CLSI (2006) (ภาคผนวก ค.1 และ ค.2)

3.2.3 ศึกษาผลของน้ำอิเล็กโทรไลต์ต่อจุลชีววิทยา สมบัติทางเคมี และกายภาพของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์เทียบกับตัวอย่างควบคุม

นำหอยนางรมแกะเปลือกมาแช่ลงในน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้น 0 20 40 60 80 และ 100 ppm โดยมีค่า pH 7.12 6.71 6.20 5.83 5.36 และ 4.88 ตามลำดับ โดยแช่หอยนางรมต่อน้ำอิเล็กโทรไลต์ในอัตราส่วน 1 g:10 mL เป็นเวลา 30 นาที (สวามินี ธีระวุฒิ และคณะ 2557) และนำมาแช่ในน้ำปลอดเชื้อ 10 นาทีเพื่อกำจัดน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ติดมากับเนื้อหอยนางรม จากนั้นนำตัวอย่างหอยนางรม วิเคราะห์จำนวนเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC), ปริมาณแบคทีเรียแลคติก (LAB), *V. parahaemolyticus*, *E. coli*, *Staph. aureus* และ *Salmonella* spp. ประกอบกับ ทางเคมี ได้แก่ ค่าpH และปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) กายภาพ ได้แก่ ค่าสี และค่าแรงตัด (ภาคผนวก ก.1 และ ก.2 ข.1 และ ข.2 และ ค.3-ค8) คัดเลือกความเข้มข้นของน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่สามารถลดเชื้อแบคทีเรีย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.4 ศึกษาผลของกรดแลคติกต่อต่อจุลชีววิทยา สมบัติทางเคมี และกายภาพของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกเทียบกับตัวอย่างควบคุม

นำหอยนางรมที่แกะเปลือกมาแช่ลงในสารละลายกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 0 0.03125 0.0625 0.125 0.25 0.5 1 และ 2 MBC ซึ่งเท่ากับความเข้มข้นของกรดแลคติด 0 0.086 0.17 0.34 0.69 1.38 2.75 และ 5.50 % w/v โดยมีค่า pH 7.12 4.42 3.72 3.03 2.45 2.24 2.01 และ 1.63 ตามลำดับ โดยแช่หอยนางรมต่อสารละลายกรดแลคติกในอัตราส่วน 1 g:10 mL เป็นเวลา 30 นาที (สวามินี ธีระวุฒิ และคณะ 2557) และนำมาแช่ในน้ำปลอดเชื้อ 10 นาทีเพื่อกำจัดกรดแลคติกที่ติดมากับเนื้อหอยนางรม จากนั้นนำตัวอย่างหอยนางรม วิเคราะห์จำนวนเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC), ปริมาณแบคทีเรียแลคติก (LAB), *V. parahaemolyticus*, *E. coli*, *Staph. aureus* และ *Salmonella* spp. ประกอบกับ ทางเคมี ได้แก่ ค่าpH และปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) กายภาพ ได้แก่ ค่าสี

และค่าแรงตัด (ภาคผนวก ก.1 และ ก.2 ข.1 และ ข.2 และ ค.3-ค8) คัดเลือกความเข้มข้นของกรดแลคติกที่สามารถลดเชื้อแบคทีเรีย

3.2.5 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงต่อจุลชีววิทยา สมบัติทางเคมี และกายภาพของหอยนางรมเมื่อแช่ใน Epigallocatechin gallate ระหว่างการเก็บรักษาที่ 4±2 °C

นำหอยนางรมที่แกะเปลือกมาทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์จากความเข้มข้นที่ถูกคัดเลือกจากข้อ 3.2.3 จากนั้นนำมาสะเด็ดน้ำในตู้ปลอดเชื้อ 5 นาที และนำหอยนางรมมาใส่ในกระปุกพลาสติก (polypropylene) ที่มีสารละลายจาก Epigallocatechin gallate จากค่า MBC 5 µg/mL โดยใช้อัตราส่วนหอยนางรมต่อสารละลายจากสารสกัดชาเขียว 1 g:2 mL (สวามินี ธีระวุฒิ และคณะ 2557) เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C โดยวิเคราะห์สมบัติทางเคมี ได้แก่ ค่าpH และปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) กายภาพ ได้แก่ ค่าสี และค่าแรงตัด และจุลชีววิทยา ได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC), ปริมาณแบคทีเรียแลคติก (LAB), *V. parahaemolyticus*, *E. coli*, *Staph. aureus* และ *Salmonella* spp (ภาคผนวก ก.1 และ ก.2 ข.1 และ ข.2 และ ค.3-ค8) วิเคราะห์ผล ทุก 2 วัน และศึกษาสภาวะอื่นๆดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงสภาวะต่างๆที่ใช้ในการเก็บรักษาหอยนางรม

Treatment	Pretreatment	Soaking
1 (control)	Steriled water	0.1% Potassium sorbate[d]
2 (control)	60 ppm Sodium hypochlorite	0.1% Potassium sorbate[d]
3	60 ppm Electrolyzed water[a]	5 µg/mL Epigallocatechin gallate[c]
4	0.0625 MBC Lactic acid[b]	5 µg/mL Epigallocatechin gallate[c]
5	30 ppm Electrolyzed water + 0.03125 MBC Lactic acid	5 µg/mL Epigallocatechin gallate[c]

[a] เลือกจากผลการศึกษาข้อ 3.2.3

[b] เลือกจากผลการศึกษาข้อ 3.2.4

[c] เลือกจากผลการศึกษาข้อ 3.2.1

[d] สำนักงานคณะกรรมการอาการและยา, (2522)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ออกแบบการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) สำหรับการประเมินผลทางสถิติของสมบัติทางเคมี กายภาพ และจุลชีววิทยา โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ของทุกการทดลองด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 23, SPSS Inc., Chicago, USA เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's HSD ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชาเขียว (Epigallocatechin gallate)

Epigallocatechin gallate สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Escherichia coli* ATCC25922, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC17802, *Salmonella* Typhimurium ATTCC13311, *Bacillus cereus* ATCC6633 และ *Lactobacillus plantarum* Plan10621 ได้ค่าแตกต่างกัน ดังค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ที่แสดงในตารางที่ 4.1 โดยพบว่าสารสกัดชาเขียวสามารถยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus, L. plantarum* และ *B. cereus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC 1.25 µg/mL รองลงมาคือ *E. coli, V. parahaemolyticus* และ *S.* Ttphimurium โดยมีค่า MIC 2.5 µg/mL

ผลการศึกษา Epigallocatechin gallate ที่ความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแสดงในตารางที่ 4.1 และพบว่าค่า MBC ของเชื้อ *Staph. aureus B. cereus* และ *L. plantarum* 2.5 µg/mL และเชื้อ *E. coli, V. parahaemolyticus* และ *S.* Typhimurium มีค่า MBC 5 µg/mL

Ikigai et al. (1992) พบว่าสารสกัดชาเขียวสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staph. aureus* และ *E. coli* โดยมีค่า MIC 73 และ 573 µg/mL ตามลำดับ

Nakayama et al. (2011) พบว่าสารสกัดชาเขียวสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* NBRC13276 และ *E. coli* NBRC3972 ที่ความเข้มข้น 0.063 และ 0.250 mg/mL ตามลำดับ

จากการศึกษาพบว่าการใช้สารสกัดชาเขียวในการยับยั้งเชื้อโดยใช้ในปริมาณที่มากกว่า Epigallocatechin gallate (EGCG) เนื่องจาก EGCG ที่ใช้มีความบริสุทธิ์ถึง 100 % ซึ่งมากกว่าสารสกัดชาเขียวจึงใช้ในปริมาณที่น้อยกว่าก็สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.2 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของกรดแลคติก

กรดแลคติกสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *S. aureus, E. coli, V. parahaemolyticus, S.* Typhimurium, *B. cereus* และ *L. plantarum* ได้ค่าแตกต่างกัน ดังค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ที่แสดงในตารางที่ 4.2 โดยพบว่ากรดแลคติดสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC 0.34 % w/v (3.4 mg/mL) รองลงมาคือ *E. coli, V. parahaemolyticus* และ *S.* Ttphimurium โดยมีค่า MIC 1.37 % w/v (13.7 mg/mL)

จากผลการศึกษากรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ในตารางที่ 4.2 และพบว่าค่า MBC ของเชื้อ *S. aureus, B. cereus* และ *L. plantarum* 0.68 % w/v (6.8 mg/mL) และเชื้อ *E. coli, V. parahaemolyticus* และ *S.* Typhimurium มีค่า MBC 2.75 % w/v (27.5 mg/mL)

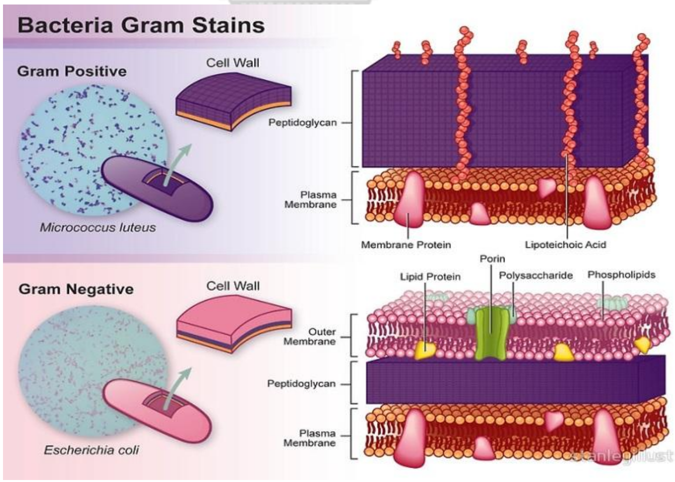
Mahmoud (2014) ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของกรดแลคติก (มีความบริสุทธิ์ 98 %) ในการยับยั้บเชื้อ *V. vulnificus* คือ 1 mg/mL

จากการศึกษาของ Wang et al. (2015) พบว่ากรดแลคติกที่ความเข้มข้น 0.5 mg/mL สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.* Enteritidis, *E. coli* และ *L. monocytogenes*

จากการศึกษาพบว่ากรดแลคติกที่อยู่ในรูปผงมีความเสถียรของสารในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์มากกว่ากรดแลคติกที่อยู่ในรูปของสารละลาย ซึ่งส่งผลให้ความเข้มข้นที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์มีปริมาณที่น้อยกว่าในรูปของสารละลาย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

เนื่องจากโครงสร้างของจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันส่งผลให้มีการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้แตกต่างกันซึ่งส่งผลต่อค่า MIC และ MBC ของเชื้อแต่ละชนิด โดยพบว่า Epigallocatechin gallate และกรดแลคติกสามารถยับยั้งการเจริญและฆ่าเชื้อ *Staph. aureus B. cereus L. plantarum* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *E. coli, V. parahaemolyticus* และ *S.* Typhimurium เนื่องจาก *Staph. aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive bacteria) ซึ่งมีโครงสร้างของผนังเซลล์ซับซ้อนน้อยกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Gram-negative bacteria) ซึ่งในการทดลองนี้ คือ *V. parahaemolyticus, S.* Typhimurium และ *E. coli* ส่งผลให้แบคทีเรียแกรมบวกต้านทานต่อสารได้น้อยกว่า ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาของ Cui et al. (2012) ที่ศึกษาประสิทธิภาพของ EGCG ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ พบว่าEGCG ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีที่สุด เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีเยื่อชั้นนอก (outer membrane) และ periplasmic space ซึ่งไม่พบในแบคทีเรียแกรมบวก และนอกจากนี้แบคทีเรียแกรมลบยังมีสารไลโพพอลิแซคคาไรด์ เป็นองค์ประกอบของเยื่อชั้นนอกจึงเป็นตัวกั้นการซึมผ่านของสารได้ดี ซึ่งแบคทีเรียแกรมบวกไม่มีโครงสร้างเหล่านี้ ทำให้สารต่างๆจึงซึมผ่านเข้าเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและทำให้เกิดรูพรุนได้ง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Shan et al., 2007) ดังแสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 องค์ประกอบของผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ

ที่มา: Hayat (2013)

ตารางที่ 4.1 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ของ Epigallocatechin gallate (EGCG) ในเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด

EGCG (µg/mL)	*Staph. aureus*	*B. cereus*	*L. plantarum*	*S.* Typhimurium	*E. coli*	*V. parahaemolyticus*
MIC	1.25	1.25	1.25	2.5	2.5	2.5
MBC	2.5	2.5	2.5	5	5	5

ตารางที่ 4.2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ของกรดแลคติก (LA) ในเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด

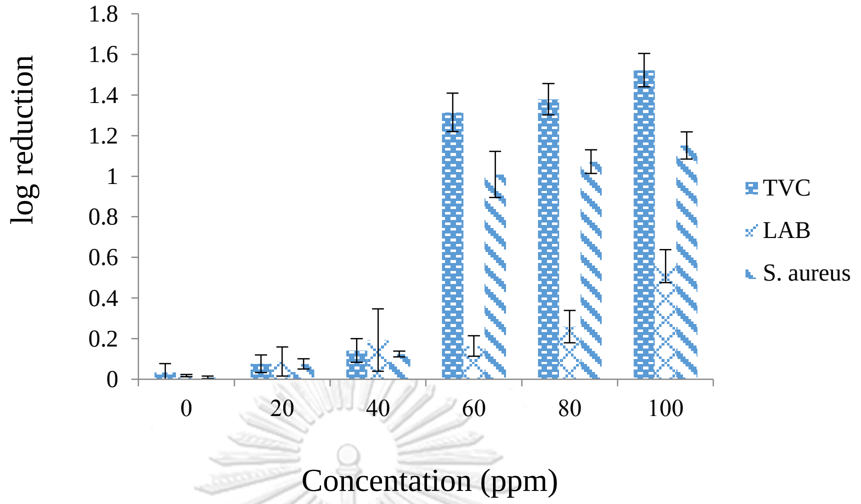
LA (% w/v)	*Staph. aureus*	*B. cereus*	*L. plantarum*	*S.* Typhimurium	*E. coli*	*V. parahaemolyticus*
MIC	0.34	0.34	0.34	1.37	1.37	1.37
MBC	0.68	0.68	0.68	2.75	2.75	2.75

4.3 ผลของน้ำอิเล็กโทรไลต์ต่อจุลชีววิทยา สมบัติทางเคมี และกายภาพของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์

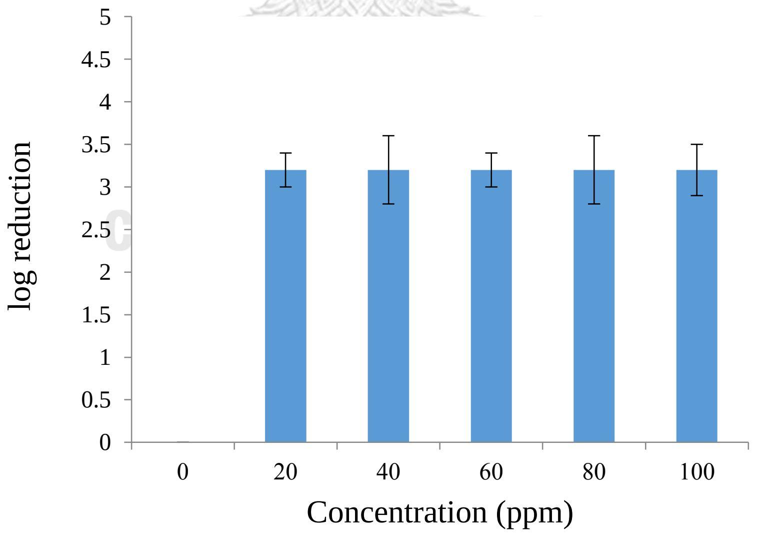
จากการศึกษาเพื่อคัดเลือกความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำอิเล็กโทรไลต์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของตัวอย่างหอยนางรมซึ่งประกอบไปด้วยหอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้น 20 40 60 80 100 ppm และน้ำปลอดเชื้อเป็นตัวอย่างควบคุม โดยแช่ในระยะเวลา 30 นาที พบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำอิเล็กโทรไลต์ 20 และ40 ppm ประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม (p>0.05) ส่วนที่ความเข้มข้นของน้ำอิเล็กโทรไลต์ 60 80 และ 100 ppm สามารถลดเชื้อแบคทีเรียได้แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05) โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ คือ 60 ppm โดยสามารถลดจำนวนเชื้อจุลิทรีย์ทั้งหมด 1.36±0.11 $\log_{10}$ CFU/g, *S. aureus* 1.02±0.08 $\log_{10}$ CFU/g และ *V. parahaemolyticus* 3.2±0.20 MPN/g โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05) และ lactic acid bacteria (LAB) 0.20±0.04 $\log_{10}$ CFU/g จากรูปที่ 4.2 และ 4.3

จากการศึกษาพบว่าน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้น 60 ppm มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของของ อัจฉรา และคณะ (2557) พบว่าการใช้น้ำอิเล็กโทรไลต์ในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ ที่ความเข้มข้นของน้ำอิเล็กโทรไลต์ 30 50 และ 70 ppm สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 76.47, 92.47 และ 19.42 % ตามลำดับ ซึ่งประสิทธิภาพของน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่สามารถลดเชื้อจุลินทรีย์มีความเข้มข้น 50 ppm

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

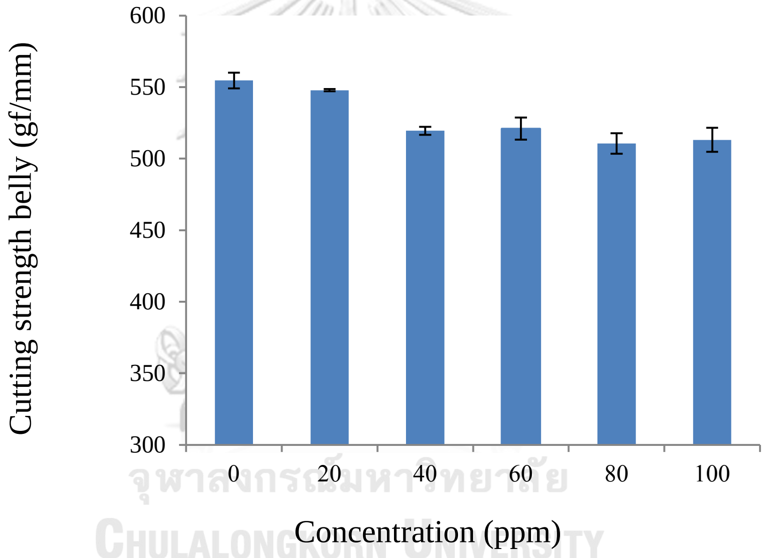


รูปที่ 4.2 จำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด, *Staphylococcus aureus* และ lactic acid bacteria (LAB) ที่ลดลงของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที



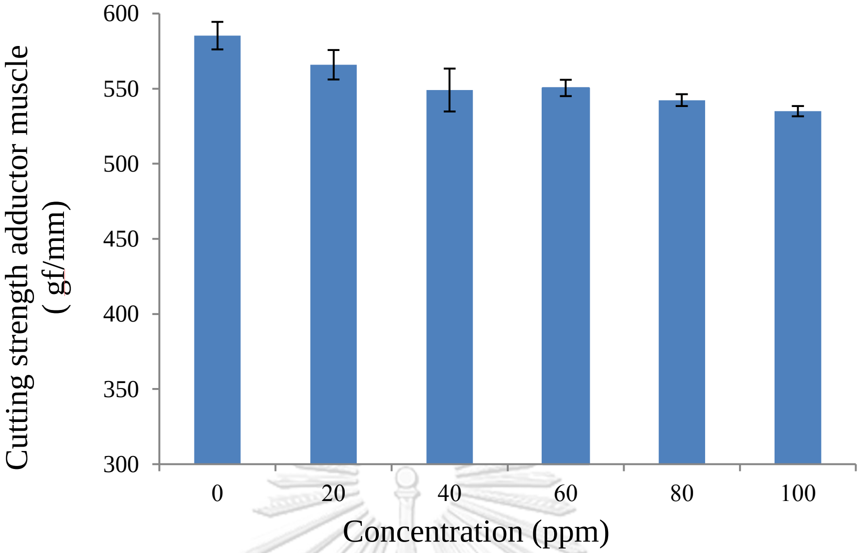
รูปที่ 4.3 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Vibrio. parahaemolyticus* ที่ลดลงของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

จากการศึกษาพบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ โดยค่าแรงตัดเนื้อหอยนางรม จากรูปที่ 4.4-4.5 และค่าแรงตัดทั้งส่วนท้อง (belly) และส่วนของกล้ามเนื้อ (adductor muscle) เมื่อความเข้มข้นของน้ำอิเล็กโทรไลต์เพิ่มขึ้นค่าแรงตัดจะมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากผลการทดลองพบว่าน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้น 60 ppm ของส่วนท้องมีค่า 521.01±7.12 gf/mm และส่วนกล้ามเนื้อมีค่า 550.44±3.90 gf/mm เนื่องจากการแปรสภาพของโปรตีน โดยไฮดรอกไซด์ไอออน (OH^-) ในน้ำอิเล็กโทรไลต์ส่งผลให้โปรตีนจับกับน้ำได้น้อยลง โปรตีนเกิดการคลายเกลียว ซึ่งจะสัมพันธ์กับค่า pH เมื่อมีค่าลดลงจะส่งผลต่อค่าแรงตัดให้ลดลง (Huang et al. 2008) โดยด้านหน้าท้องค่าแรงตัดจะน้อยว่าส่วนของกล้ามเนื้อ ซึ่งองค์ประกอบด้านหน้าท้อง (belly) จะเป็นกล้ามเนื้อเรียบ ส่วนของกล้ามเนื้อ (adductor muscle) กล้ามเนื้อลายและกล้ามเนื้อหัวใจจึงทำให้แรงการตัดจึงต่างกัน (Bouton et al., 1978)



รูปที่ 4.4 ค่าแรงตัดเฉือนส่วนท้องของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 4.5 ค่าแรงตัดเฉือนส่วนกล้ามเนื้อของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

จากผลการศึกษาค่า L* a* และ b* เมื่อทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ทุกความเข้มข้นไม่พบการเปลี่ยนแปลงทั้งส่วนท้อง (belly) และส่วนกล้ามเนื้อ (adductor muscle) ของหอยนางรมจากตัวอย่างควบคุม (p>0.05) เนื่องจากน้ำอิเล็กโทรไลต์ไม่ส่งผลต่อค่า L* a* และ b* ดังตารางที่ 4.3--4.4 โดยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้น 60 ppm ค่า L* a* และ b* ส่วนท้องมีค่า 64.23±2.35, -0.44±0.01 และ 6.24±0.50 ตามลำดับ ส่วนกล้ามเนื้อมีค่า 70.27±0.98, 0.72±0.09 และ 8.58±0.58 ตามลำดับ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม

ตารางที่ 4.3 ค่าสี L* a* และ b* ส่วนท้อง (belly) ของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

ความเข้มข้นของน้ำอิเล็กโทรไลต์ (ppm)	ค่าสีส่วนท้อง (belly) ของหอยนางรม		
	L* [ns]	a* [ns]	b* [ns]
0	63.98±3.31	-0.38±0.06	5.68±0.06
20	64.58±3.17	-0.35±0.04	5.46±0.46
40	64.94±3.47	-0.43±0.04	5.91±0.55
60	64.23±2.35	-0.44±0.01	6.24±0.50
80	63.96±4.18	-0.43±0.05	6.32±0.74
100	65.16±3.07	-0.40±0.02	5.77±0.31

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

[ns] ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (*p*>0.05)

ตารางที่ 4.4 ค่าสี L* a* และ b* ส่วนกล้ามเนื้อ (adductor muscle) ของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

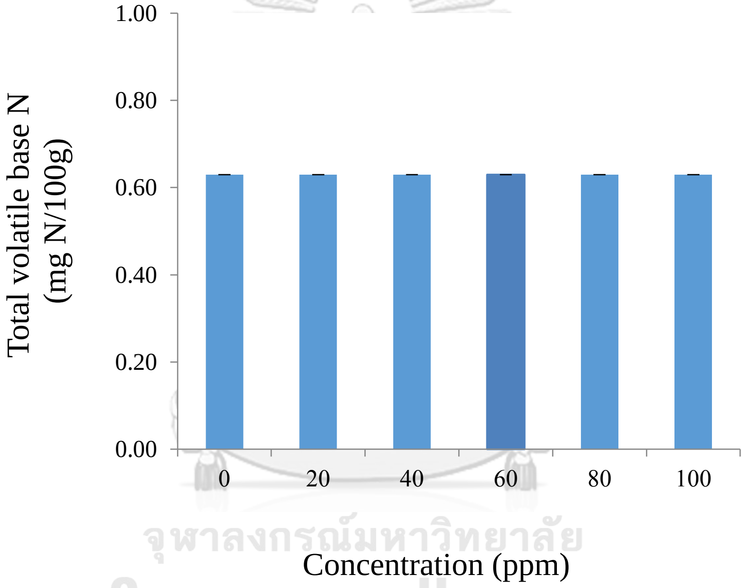
ความเข้มข้นของน้ำอิเล็กโทรไลต์ (ppm)	ค่าสีส่วนกล้ามเนื้อ (adductor muscle) ของหอยนางรม		
	L* [ns]	a* [ns]	b* [ns]
0	70.86±0.48	0.64±0.07	8.24±0.40
20	70.39±0.81	0.68±0.06	8.17±0.23
40	70.16±0.89	0.67±0.05	8.26±0.24
60	70.27±0.98	0.72±0.09	8.58±0.58
80	69.48±1.10	0.72±0.07	8.62±0.29
100	69.87±1.08	0.64±0.03	8.41±0.31

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

[ns] ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (*p*>0.05)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

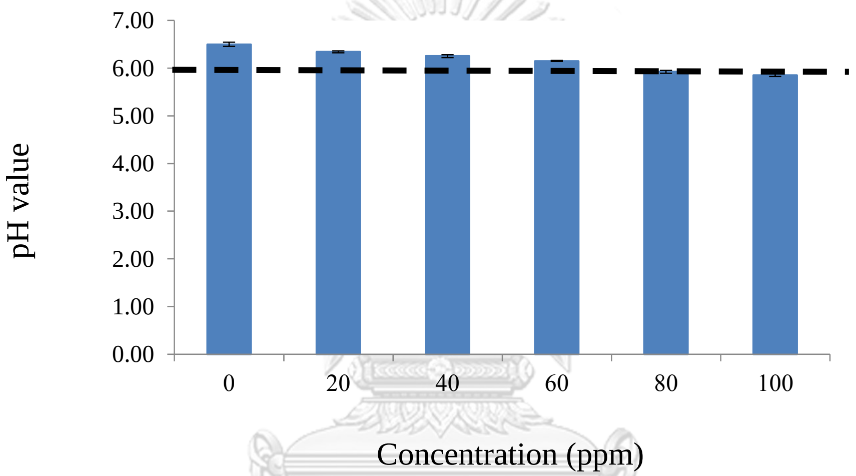
จากการศึกษาผลของปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total volatile base N: TVB-N) ไม่พบความแตกต่างของทุกความเข้มข้น (*p*>0.05) โดยมีค่าอยู่ที่ 0.63 mg N/100g ดังรูปที่ 4.6 เนื่องจากน้ำอิเล็กโทรไลต์ไม่ส่งผลให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบไนโตรเจรทั้งหมด ไม่ทำให้เกิดกลิ่นคาว และกลิ่นเหม็นเน่าของสัตว์น้ำ โดยทำการตรวจวัดปริมาณ แอมโมเนีย เอมีน ไตรเมทิลเอมีน (TMA), ไดเมทิลเอมีน (DMA) และสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทำให้ไม่เกิดกลิ่นคาว และกลิ่นเหม็นเน่าของสัตว์น้ำ โดยใช้ค่านี้เป็นดัชนีวัดการเน่าเสียของสัตว์น้ำ จากการศึกษาของ สวามินี ธีระวุฒิ และคณะ (2557) พบว่าหอยนางรมปากจีบมีค่า TVB-N 0.08 mg N/100g ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาแต่ยังไม่เกินค่าที่บ่งบอกถึงกลิ่นเน่าเสียของสัตว์น้ำคือ 30 mg N/100g (Marrakchi et al. 1990)



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 4.6 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดในหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

จากรูปที่ 4.7 การศึกษาการทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์พบว่าค่า pH ของหอยนางรมมีแนวโน้มลดลง เมื่อความเข้มข้นของน้ำอิเล็กโทรไลต์เพิ่มขึ้นจากตัวอย่างควบคุม จากผลการทดลองที่ความเข้มข้นของน้ำอิเล็กโทรไลต์ 60 ppm ค่า pH 6.25±0.03 ซึ่งอยู่ในช่วงที่หอยนางรมมีความสด เมื่อ pH ≥6 (Donn & Cameron, 1991) เนื่องจากว่าไฮดรอกไซด์ไอออนที่อยู่ในน้ำอิเล็กโทรไลต์ไปจับกับองค์ประกอบของโปรตีน และกรดนิวคลีอิก เกิดการสูญเสียหมู่อะซิดิก (acidic group) จึงส่งผลให้ค่า pH ลดลง (Hamm & Deatherage, 1960) จากการรายงาน Cruz-Romero, Kelly & Kerry (2007) ได้อธิบายว่าการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ที่ลดลงเนื่องจากเนื้อหอยนางรมเกิดการสูญเสีย acidic group จากโปรตีนในกล้ามเนื้อ จึงส่งผลให้ค่า pH ลดลง



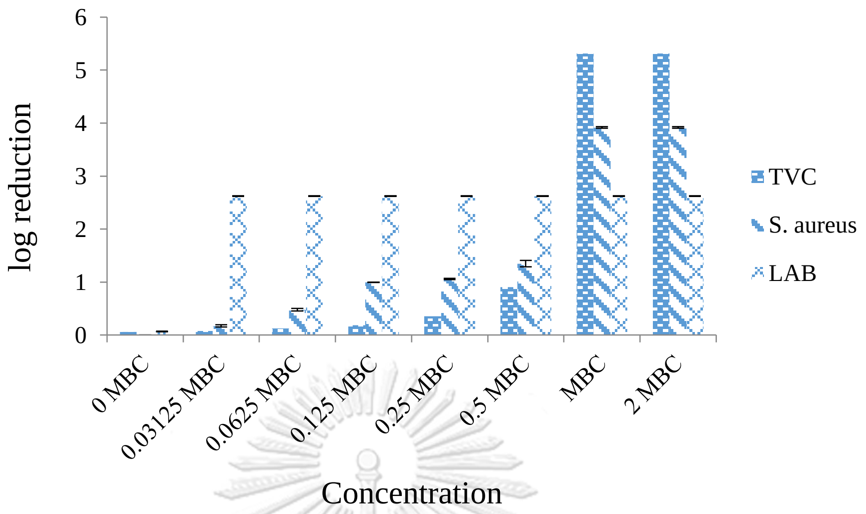
รูปที่ 4.7 ค่าความเป็นกรดด่างของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

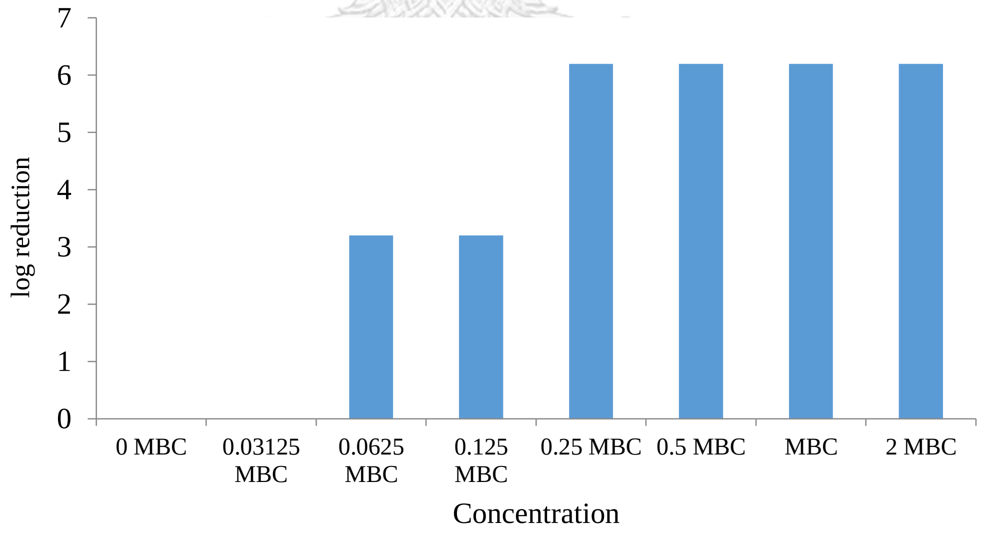
4.4 ผลของกรดแลคติกต่อจุลชีววิทยา สมบัติทางเคมี และกายภาพของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติก

การศึกษาจะคัดเลือกความเข้มข้นของกรดแลคติกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในตัวอย่างหอยนางรมซึ่งประกอบไปด้วยหอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 0.03125 0.0625 0.125 0.25 0.5 1 2 MBC และน้ำปลอดเชื้อเป็นตัวอย่างควบคุม โดยแช่ในระยะเวลา 30 นาที พบว่าที่ความเข้มข้น 0.0625 MBC จากรูปที่ 4.8 และ 4.9 สามารถลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 0.08±0.02 $\log_{10}$ CFU/g, *S. aureus* 0.48±0.03 $\log_{10}$ CFU/g ซึ่งการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *S. aureus* ไม่แต่กต่าง (p>0.05) แต่ในขณะที่เชื้อ *V. parahaemolyticus* ลดลง 3.2±0.20 MPN/g และไม่พบการเจริญของ lactic acid bacteria (LAB) โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) โดยพบว่ากรดแลคติกสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ LAB ได้ดี จากการศึกษากรดแลคติกที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.125MBC ขึ้นไปพบว่าเนื้อหอยนางรมมีลักษณะนิ่ม ซึ่งวิเคราะห์ผลได้จากค่าแรงตัดที่ลดลง ดังรูปที่ 4.10 และ 4.11 กรดแลคติก เมื่อแตกตัวทำให้มีไฮโดรเจนไอออน (H^+) หลุดออกมาจับกับโปรตีนที่ผนังเซลล์ของเนื้อหอยนางรมเป็นผลให้โปรตีนในหอยนางรมจับกันอย่างหลวมๆ (สุแพรวพันธ์ โลหะลักษณาเดช และ ชุตินุช สุจริต, 2556) เมื่อโปรตีนยึดเกาะกันอย่างหลวมๆจึงส่งผลให้เกิดการสูญเสียหมู่อะซิดิก (acidic group) ที่เนื้อหอยนางรมทำให้ค่า pH ลงลง ดังรูปที่ 4.13 จากการศึกษาของ สุแพรววดีธุ์ โลหะลักษณาเดช และ ชุตินุช สุจริต (2556) พบว่าที่การใช้กรดแลคติกร้อยละ 1.5 เนื้อสัมผัสค่อนข้างนิ่ม และการยอมรับโดยรวมอยู่ในระดับปานกลาง จากการศึกษาจึงมีการเลือกความเข้มข้นที่ต่ำลงมาจากค่า MBC ของกรแลคติก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

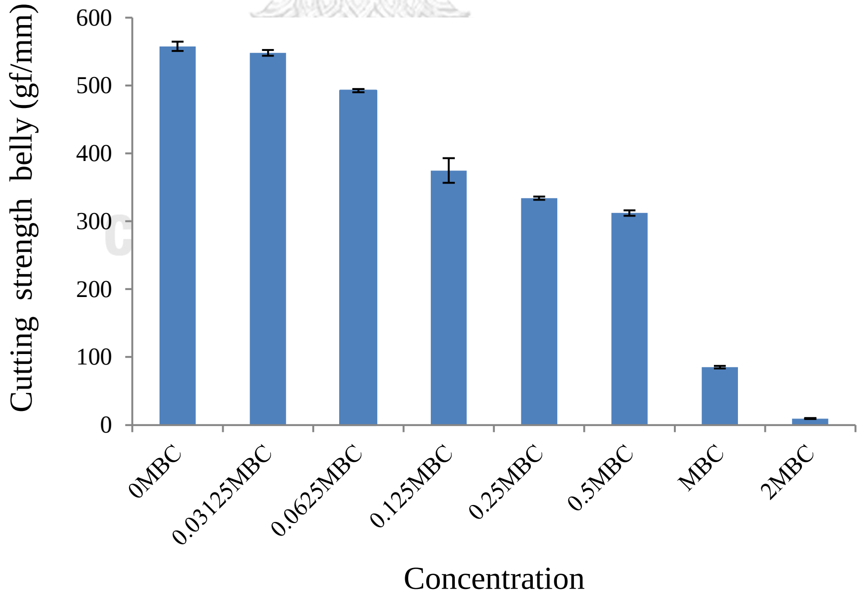


รูปที่ 4.8 จำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด, *S. aureus* และ lactic acid bacteria (LAB) ที่ลดลงของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

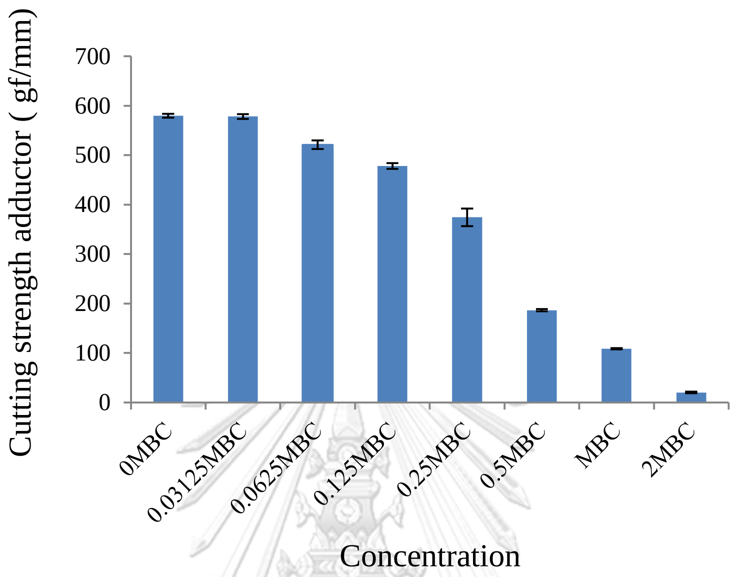


รูปที่ 4.9 จำนวนเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ลดลงในหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

จากการศึกษาค่าการแรงตัดของเนื้อหอยนางรม จากรูปที่ 4.10-4.11 และค่าแรงตัดทั้งส่วนท้อง (belly) และส่วนของกล้ามเนื้อ (adductor muscle) เมื่อความเข้มข้นของกรดแลคติกเพิ่มขึ้นค่าแรงตัดจะมีค่าลดลง โดยปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการแปรสภาพของโปรตีน เนื่องจากกรดแลคติกเกิดการแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออน ส่งผลให้โปรตีนจับกับน้ำได้น้อยลง โปรตีนเกิดการคลายเกลียว เส้นใยกล้ามเนื้ออยู่กันอย่างหลวมๆเป็นสาเหตุให้เนื้อนิ่มและอ่อนตัวลง (สุแพรวพันธ์ โลหะลักษณาเดช และ ชุตินุช สุจริต, 2556) โดยด้านหน้าท้องค่าแรงตัดจะน้อยว่าส่วนของกล้ามเนื้อ ซึ่งเกิดจากปริมาณของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน องค์ประกอบ และโครงสร้างของโปรตีนโดยด้านหน้าท้อง (belly) จะเป็นกล้ามเนื้อเรียบ ส่วนของกล้ามเนื้อ (adductor muscle) จะมีพวกกล้ามเนื้อลายและกล้ามเนื้อหัวใจจึงทำให้แรงการตัดต่างกัน Bouton et al. (1978) อธิบายว่าส่วนท้องจะประกอบไปด้วยระบบทางเดินอาหารต่างๆอยู่ และส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยกล้ามเนื้อเรียบ และในส่วนของกล้ามเนื้อ จะประกอบไปด้วยส่วนของหัวใจ และกล้ามเนื้อลายมัดใหญ่ ทำให้ค่าแรงตัดของทั้งสองตำแหน่งนี้แตกต่างกัน



รูปที่ 4.10 ค่าแรงตัดเฉือนส่วนท้อง (belly) ของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที



รูปที่ 4.11 ค่าแรงตัดเฉือนส่วนกล้ามเนื้อ (adductor muscle) ของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

จากผลการศึกษาค่า L* a* และ b* เมื่อทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกที่ทุกความเข้มข้นไม่พบการเปลี่ยนแปลงทั้งส่วนท้อง และส่วนกล้ามเนื้อของหอยนางรมจากตัวอย่างควบคุม (p>0.05) เนื่องจากกรดแลคติกไม่ส่งผลต่อค่า L* a* และ b* ดังรูปที่ 4.14-4.15 โดยกรดแลคติกที่ 0.0625MBC มีค่า L* a* และ b* ส่วนท้องมีค่า 66.40±3.61 -0.5.8±0.14 และ 7.39±0.30 ตามลำดับ ส่วนกล้ามเนื้อมีค่า 70.19±1.13 0.45±0.03 และ 7.88±1.54 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.5 ค่าสี L* a* และ b* ส่วนท้อง (belly) ของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

ความเข้มข้นของกรดแลคติก	ค่าสีส่วนท้อง (belly) ของหอยนางรม		
	L* ^{ns}	a* ^{ns}	b* ^{ns}
0 MBC	68.16±1.15	-0.58±0.17	7.08±0.32
0.03125 MBC	65.59±4.15	-0.64±0.13	8.98±0.83
0.0625 MBC	66.40±3.61	-0.58±0.14	7.39±0.30
0.125 MBC	67.08±1.16	-0.46±0.02	7.87±0.43
0.25 MBC	66.73±2.28	-0.65±0.03	8.40±0.70
0.5 MBC	66.89±4.88	-0.64±0.04	7.39±0.36
1 MBC	66.59±5.24	-0.68±0.09	8.38±0.49
2 MBC	66.54±7.12	-0.85±0.05	7.93±0.43

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

^{ns} ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

ตารางที่ 4.6 ค่าสี L* a* และ b* ส่วนกล้ามเนื้อ (adductor muscle) ของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

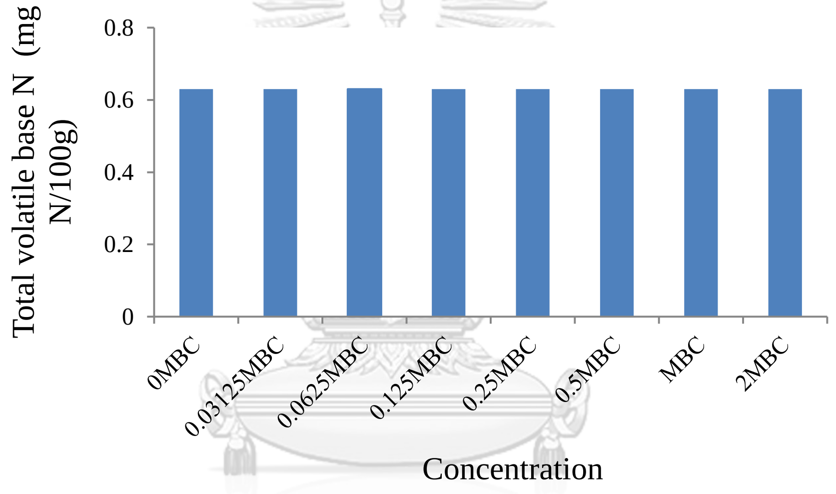
ความเข้มข้นของกรดแลคติก	ค่าสีส่วนกล้ามเนื้อ (adductor muscle) ของหอยนางรม		
	L* ^{ns}	a* ^{ns}	b* ^{ns}
0 MBC	69.48±0.47	0.70±0.05	7.54±0.97
0.03125 MBC	68.94±1.12	0.73±0.07	8.89±2.18
0.0625 MBC	70.19±1.13	0.45±0.03	7.88±1.54
0.125 MBC	68.88±1.77	0.46±0.03	7.57±0.21
0.25 MBC	68.63±3.21	0.81±0.07	8.03±0.10
0.5 MBC	68.72±3.64	0.81±0.09	7.20±0.14
1 MBC	68.35±3.60	0.80±0.08	10.12±0.41
2 MBC	67.50±3.15	0.79±0.09	8.46±0.53

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

^{ns} ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

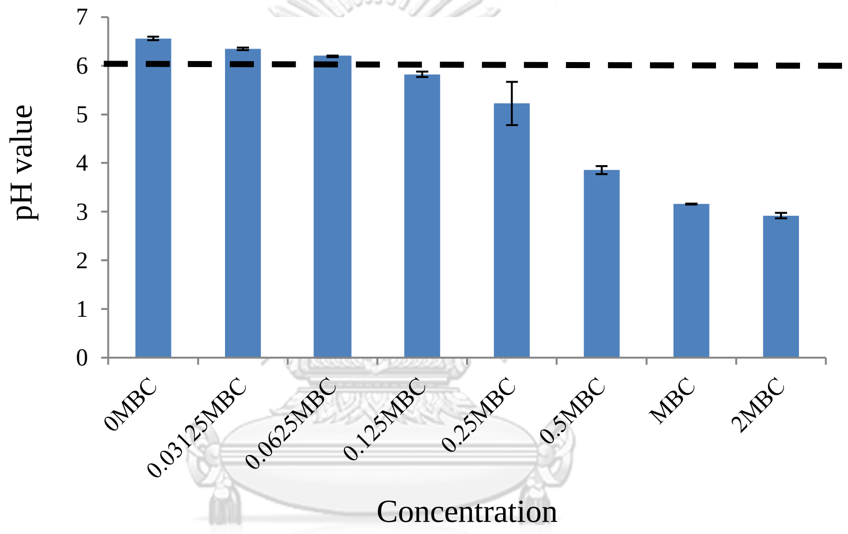
จากการศึกษาผลของปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total volatile base N: TVB-N) ไม่พบความแตกต่างของทุกความเข้มข้น (p>0.05) โดยมีค่าอยู่ที่ 0.63 mg N/100g ดังรูปที่ 4.16 เนื่องจากกรดแลคติกไม่ส่งผลให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบไนโตรเจนทั้งหมด ไม่ทำให้เกิดกลิ่นคาว และกลิ่นเหม็นเน่าของสัตว์น้ำโดยทำการตรวจวัดปริมาณ แอมโมเนีย เอมีน ไตรเมทิลเอมีน (TMA), ไดเมทิลเอมีน (DMA) และสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทำให้ไม่เกิดกลิ่นคาว และกลิ่นเหม็นเน่าของสัตว์น้ำ โดยใช้ค่านี้เป็นดัชนีวัดการเน่าเสียของสัตว์น้ำ โดยจากการศึกษาของ สวามินี ธีระวุฒิ และคณะ (2557) พบว่าหอยนางรมปากจีบมีค่า TVB-N 0.08 mg N/100g ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาแต่ยังไม่เกินค่า 30 mg N/100g (Marrakchi et al. 1990)



รูปที่ 4.12 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดในหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากรูปที่ 4.13 การศึกษาการทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกพบว่าค่า pH มีค่าลดลง เมื่อความเข้มข้นของกรดแลคติกเพิ่มขึ้นจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) จากผลการทดลองที่ความเข้มข้น 0.0625 MBC ค่า pH 6.19±0.02 ซึ่งอยู่ในช่วงที่หอยนางรมมีความสด เมื่อ pH ≥6 (Donn & Cameron, 1991) เนื่องจากว่าไฮโดรเจนไอออนที่มีอยู่ในกรดแลคติกไปจับกับองค์ประกอบของโปรตีน เช่น นิวคลีโอไทด์ เกิดการสูญเสียหมู่อะซิดิก (acidic group) จึงส่งผลให้ค่า pH ลงลง จากการรายงานของ สุแพรววดีธุ์ โลหะลักษณาเดช และ ชุตินุช สุจริต (2556) พบค่า pH ที่ลดลงเนื่องจากเนื้อหอยแครงที่ผ่านการจุ่มในสารละลายกรดแลคติกร้อยละ 2 ที่เวลา 3 นาที พบว่าเกิดการสูญเสีย acidic group จากโปรตีนในกล้ามเนื้อ จึงส่งผลให้ค่า pH ลดลง



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

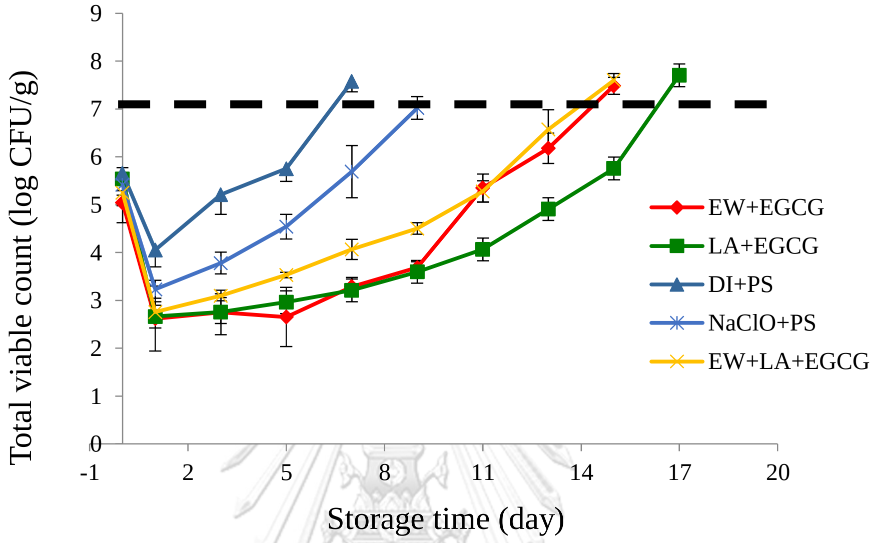
รูปที่ 4. 13 ค่าความเป็นกรดด่างของหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติก ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

4.5 การศึกษาผลของสารสกัดชาเขียวต่อจุลชีววิทยา สมบัติทางเคมี และกายภาพของหอยนางรมระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดชาเขียวในการนำมาใช้แช่หอยนางรมเพื่อช่วยชะลอการเสื่อมเสียและยืดอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 °C เมื่อเทียบกับสารกันเสียโพแทสเซียมซอร์เบต เมื่อเก็บตัวอย่างหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ 60 ppm โดยแช่ใน EGCGที่ค่า MBC สูงสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 5 µg/mL (EW+EGCG) ตัวอย่างหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยกรดแลคติก 0.0625 MBC โดยนำหอยนางรมมาแช่ลงใน EGCG 5 µg/mL (LA+EGCG) และตัวอย่างหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติก จากนั้นนำหอยนางรมมาแช่ลงใน EGCG 5 µg/mL (EW+LA+EGCG) ส่วนตัวอย่างควบคุมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่หอยนางรมลงในสารกันเสียโพแทสเซียมซอร์เบต 0.1% (DI+PS) และทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 60 ppmและแช่หอยนางรมลงในสารกันเสีย 0.1 % (60ppm NaClO+PS) พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดลดลงหลังการแช่โพแทสเซียมซอร์เบต และสกัดชาเขียว การทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ในEGCG (EW+EGCG) ลดจาก 5.04 เหลือ 2.62 $\log_{10}$ CFU/g การทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงใน EGCG (LA+EGCG) ลดจาก 5.53 เหลือ 2.66 $\log_{10}$ CFU/g การทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG (EW+LA+EGCG) ลดจาก 5.24 เหลือ 2.75 $\log_{10}$ CFU/g และตัวอย่างควบคุม DI+PS จาก 5.65 เหลือ 4.05 $\log_{10}$ CFU/g, 10ppm NaClO+PS จาก 5.60 เหลือ 3.92 $\log_{10}$ CFU/g และ 60ppm NaClO+PS จาก 5.41 เหลือ 3.23 $\log_{10}$ CFU/g โดยเมื่อพิจารณาเกณฑ์ในการเสื่อมเสียทางจุลินทรีย์ไม่เกิน 7 $\log_{10}$ CFU/g (ICMFS., 1974) พบว่าตัวอย่างควบคุม DI+PS มีอายุการเก็บที่น้อยที่สุดคือ 7 วัน ส่วน 60ppm NaClO+PS มีอายุการเก็บรักษา 9 วัน ส่วนหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ด้วย EGCG (EW+EGCG) และหอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงใน EGCG (EW+LA+EGCG) มีอายุการเก็บ 15 วัน และหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ด้วย EGCG (LA+EGCG) มีอายุการเก็บ 17 วัน ดังรูปที่ 4.14

จากผลการทดลองพบว่าการใช้ EGCG เมื่อพิจารณาการเสื่อมเสียจากปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่าการเก็บรักษาหอยนางรมที่ความเข้มข้น 5 µg/mL มีอายุการเก็บรักษา 15 วัน โดยไม่พบการเจริญของเชื้อ *E. coli* (ดังรูปที่ 4.5) จากการพิจารณาค่าความสด (TVB-N) ของหอยนางรมโดยมีเกณฑ์ไม่เกิน 30 mgN/100g พบว่าตลอดอายุการเก็บรักษา มีค่า TVB-N 1.89 mgN/100g ซึ่งเป็นคุณสมบัติหนึ่งของ EGCG ในการลดการเกิดออกซิเดชั่น (Lakenbrink et al. 2000) และจากผลการศึกษาของสวามินี ธีระวุฒิ และคณะ (2557) การใช้โพแทสเซียมซอร์เบต 3% ในการแช่

หอยนางรม มีอายุการเก็บรักษา 8 วัน โดยยังคงพบเชื้อ *E. coli* แต่ยังอยู่ในมาตรฐาน เมื่อพิจารณาค่า TVB-N ในวันแรกมีค่า 25-30 mgN/100g และวันสุดท้ายของการเก็บรักษาคือ 42.14 mgN/100g



รูปที่ 4.14 ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดในหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG

หอยนางรมจากการศึกษามีปริมาณแบคทีเรียก่อโรคในทางเดินอาหาร *Staph. aureus* 4.67 $\log_{10}$ CFU/g, *E. coli* 2.3 $\log_{10}$ CFU/g, *V. parahaemolyticus* 7.2 MPN/g และ *Salmonella* spp. 3.11 $\log_{10}$ CFU/g ซึ่งในทางจุลชีววิทยาไม่เหมาะสมต่อการบริโภค เนื่องจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2553) ได้ระบุเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารทะเลดิบที่เตรียมในสภาพบริโภคได้ทันทีว่าต้องมีแบคทีเรีย *E. coli* น้อยว่า 3 MPN/g *Staph. aureus* น้อยกว่า 2 $\log_{10}$ CFU/g และต้องไม่ตรวจพบ *Salmonella* spp. *V. parahaemolyticus* ในเนื้อหอยนางรม จากรูปที่ 4.15-4.17 พบว่าหลังแช่ด้วยEGCGไม่พบการเจริญของเชื้อ *E. coli*

V. parahaemolyticus และ *Salmonella* spp. ตลอดอายุการเก็บรักษา แต่ในตัวอย่างควบคุมยังคงพบการเจริญของเชื้อ *E. coli* *Staph. aureus* และ *Salmonella* spp.

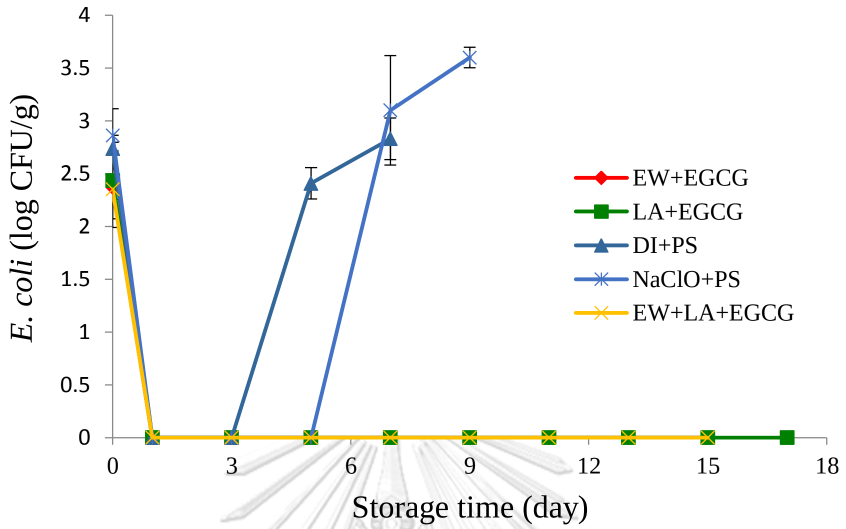
จากการศึกษาปริมาณเชื้อ *E. coli* จากรูป 4.15 พบว่าในวันที่ 1 ของการแช่ด้วยEGCG ไม่พบการเจริญของเชื้อนี้อีกอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ยังคงพบในตัวอย่างควบคุม (DI+PS) เมื่อแช่ด้วยสารกันเสียโพแทสเซียมซอเบต 0.1% พบการเจริญของเชื้อน้อยกว่า 30 CFU/g และพบการเจริญเพิ่มขึ้นในวันที่ 5 และ 7 ของการเก็บรักษา

เชื้อ *V. parahaemolyticus* ไม่พบการเจริญหลังจากแช่ในEGCG และสารกันเสียอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังรูปที่ 4.16

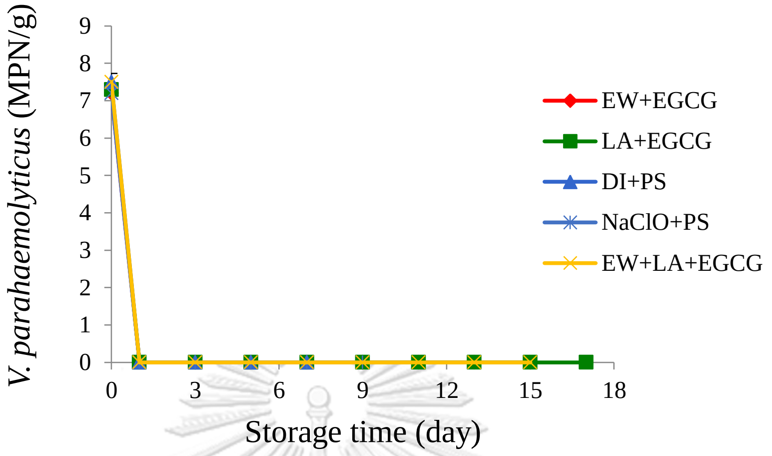
เชื้อ *Salmonella* spp. จากรูป 4.17 หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG (EW+EGCG) โดยลดได้ 2.92 $\log_{10}$ CFU/g อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และไม่พบการเจริญของเชื้อตลอดอายุการเก็บรักษา ส่วนหอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG (LA+EGCG) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อน้อยกว่า 30 CFU/g และพบการเจริญเพิ่มขึ้นในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG (EW+LA+EGCG) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อน้อยกว่า 30 CFU/g และพบการเจริญเพิ่มขึ้นในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา และในตัวอย่างควบคุม DI+PS, และ 60ppm NaClO+PS เมื่อแช่ด้วยสารกันเสีย โพแทสเซียมซอเบต 0.1% พบว่าเชื้อลดลง 0.6, และ 0.80 $\log_{10}$ CFU/g ตามลำดับ จากนั้นเชื้อเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา

จำนวนเชื้อ *Staph. aureus* ในเนื้อหอยนางรม โดยหลังการแช่ด้วยEGCG พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ ได้น้อยกว่า 30 CFU/g ส่วนตัวอย่างควบคุม DI+PS และ 60ppm NaClO+PS พบว่าเชื้อลดลง 1.02 และ 1.07 $\log_{10}$ CFU/g ตามลำดับ ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 °C จากรูปที่ 4.18

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

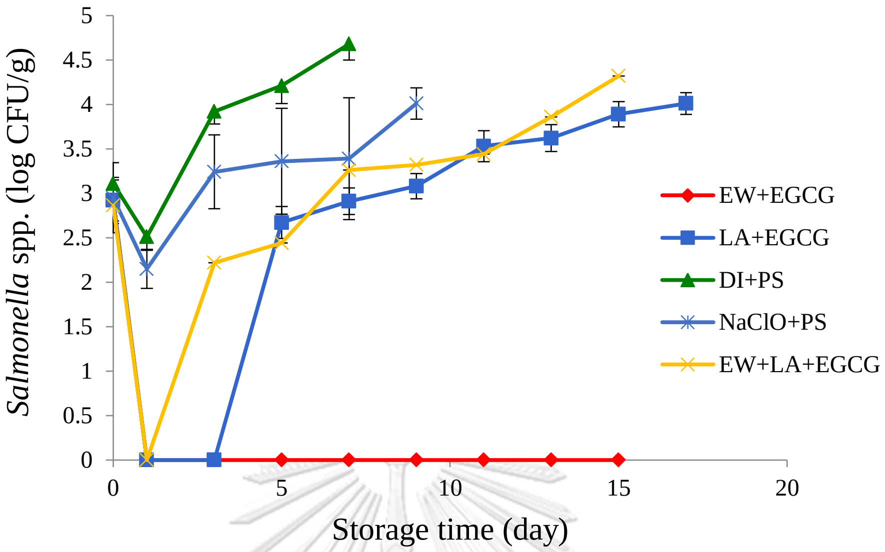


รูปที่ 4.15 ปริมาณเชื้อ *E. coli* ในหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG



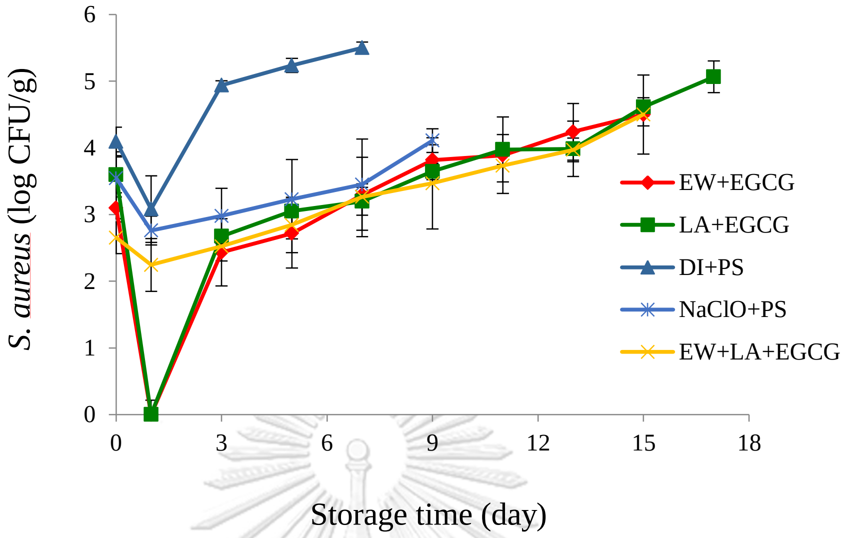
รูปที่ 4.16 ปริมาณเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



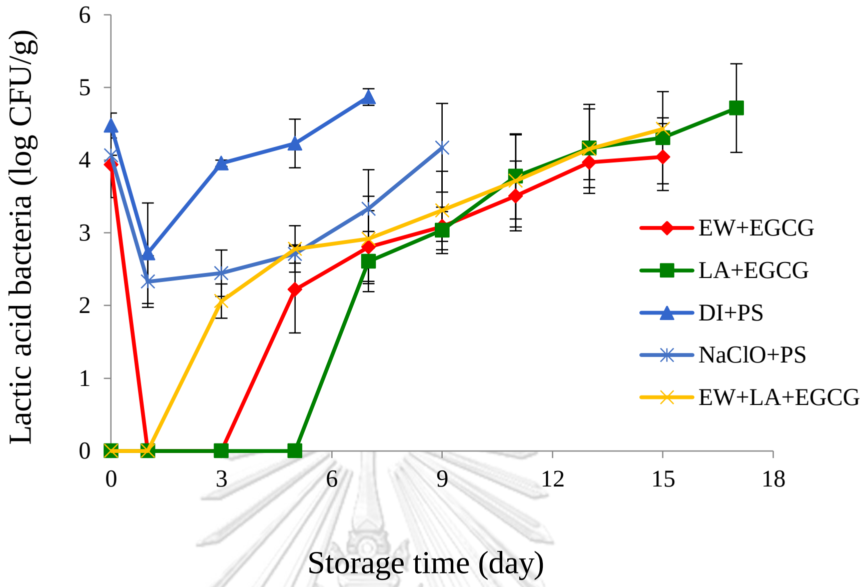
รูปที่ 4.17 ปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. ในหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 4.18 ปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG

เชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกจัดเป็นเชื้อแบคทีเรียหลักที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในหอยนางรม (Chen et al., 2017) โดยหลังจากการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG (LA+EGCG) ไม่พบการเจริญของเชื้อ และเชื้อเริ่มมีการเจริญเพิ่มขึ้นในวันที่ 4 ของการเก็บรักษา ส่วนการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์แช่ด้วย EGCG (EW+ EGCG) พบว่าเชื้อที่ผลิตกรดแลคติกสามารถลดจำนวนลง 3.92 $\log_{10}$ CFU/g และเพิ่มจำนวนขึ้นหลังจาก 7- 9 วัน ส่วนตัวอย่างควบคุมมีจำนวนเพิ่มขึ้นตลอดการเก็บรักษา ดังรูปที่ 4.19 โดย Leuck (1980) และ Smulder (1995) รายงานว่าการใช้สารจากธรรมชาติช่วยลดจุลินทรีย์ที่ติดมากับเนื้อปลา และทำให้ระยะการปรับตัวของจุลินทรีย์นานขึ้น โดยจะไปรบกวนเมทาบอริซึม และไปแข่งขันกับการทำงานของ Co-enzyme ทำให้เอนไซม์พวก s-s ไม่สามารถทำงานได้และหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นที่จะสร้างพลังงานของเซลล์ ทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ซึ่งเป็นการขนายช่วง Lag phase ออกไป

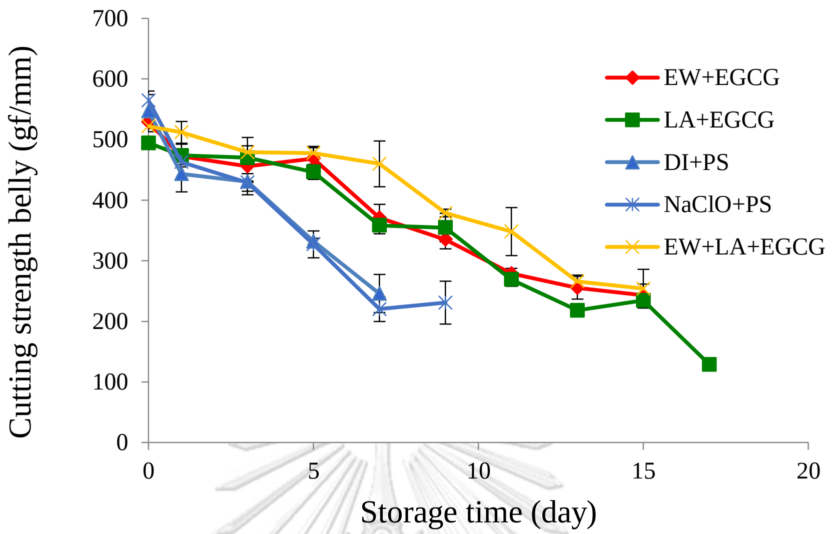


รูปที่ 4.19 ปริมาณเชื้อ Lactic acid bacteria (LAB) ในหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

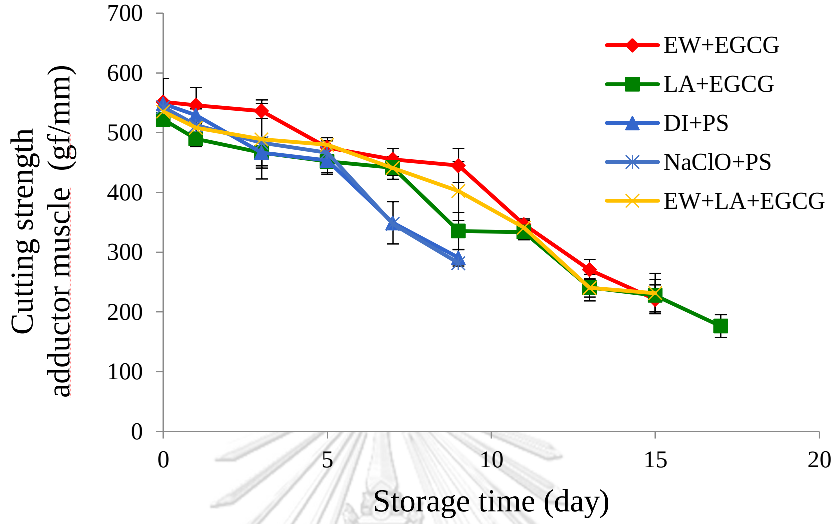
ค่าแรงตัดเนื้อหอยนางรมทั้งส่วนท้อง (belly) และส่วนของกล้ามเนื้อ (adductor muscle) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ค่าแรงตัดจะมีค่าลดลง ซึ่งแสดงถึงเนื้อสัมผัสที่นิ่มลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยพบว่าตัวอย่างควบคุมค่าแรงตัดจะมีแนวโน้มลดลงเร็วกว่าตัวอย่างที่แช่ด้วยEGCG ทั้งนี้เพราะEGCG สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก และเมื่อเริ่มเกิดการเน่าเสียกล้ามเนื้อหอยเกิดการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) จากเอนไซม์ที่มีอยู่แล้วในตัวหอย รวมถึงกิจกรรมของแบคทีเรีย (bacteria spoilage) ทำให้โปรตีนในกล้ามเนื้อเกิดการสูญเสียสภาพ กล้ามเนื้อจึงอ่อนตัวลง McMillin (2008) ให้เหตุผลว่า โดยปกติแล้วแบคทีเรียกลุ่มนี้หากมีการเจริญมากขึ้นจะมีการสร้างกรดแลคติก ส่งผลให้โปรตีนจับกับน้ำได้น้อยลง โปรตีนเกิดการคลายเกลียว เส้นใยกล้ามเนื้ออยู่กันอย่างหลวมๆเป็นสาเหตุให้เนื้อนิ่มและอ่อนตัวลง โดยตัวอย่างที่แช่ด้วยสารสกัดชาเขียว Somwang, Karrila & Siripongvutikorn (2017) เสนอว่าปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการแปรสภาพของโปรตีน โดยด้านหน้าท้องค่าแรงตัดเฉือนจะน้อยว่าส่วนของกล้ามเนื้อ ซึ่งเกิดจากปริมาณของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันธ์ องค์ประกอบ และโครงสร้างของโปรตีนโดยด้านหน้าท้อง (belly) จะเป็นกล้ามเนื้อเรียบ และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันธ์ ส่วนของกล้ามเนื้อ (adductor muscle) จะมีพวกกล้ามเนื้อลายและกล้ามเนื้อหัวใจจึงทำให้แรงการตัดต่างกัน ดังรูปที่ 4.20-4.21

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 4.20 ค่าแรงตัดส่วนของท้องหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

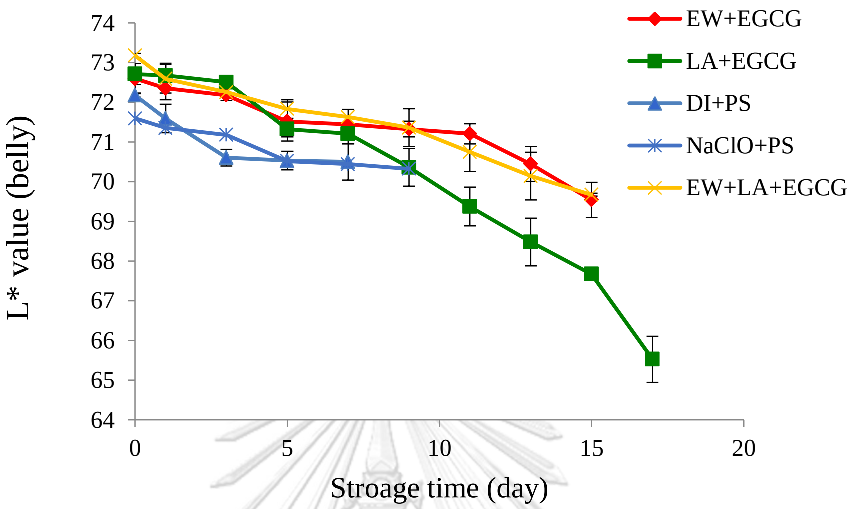


รูปที่ 4.21 ค่าแรงตัดส่วนของกล้ามเนื้อหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG

CHULALONGKORN UNIVERSITY

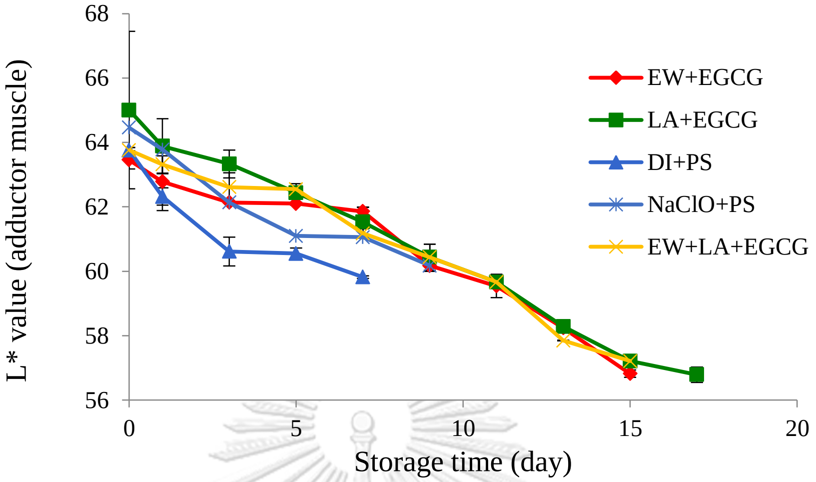
สีเป็นสมบัติทางกายภาพที่มองเห็นได้ของอาหารและมีบทบาทต่อความพึงพอใจของผู้บริโภค ค่า L* ที่แสดงถึงความสว่าง มีค่า 0-100 ค่า L* มากแสดงว่าสีสว่างมาก เมื่อ L* เท่ากับ 0 จะเป็นสีดำ จากการศึกษาพบว่าหอยนางรมที่แช่EGCG และตัวอย่างควบคุมมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะการเก็บรักษานานขึ้นทั้งส่วนท้องโดยตัวอย่าง EW+EGCG มีค่า L* 72.36 วันสุดท้าย 69.55 LA+EGCG มีค่า L* 72.71 วันสุดท้าย 65.53 และ EW+LA+EGCG มีค่า L* 73.19 วันสุดท้าย 69.68 ส่วนในตัวอย่างควบคุม DI+PS ค่า L* 72.19 วันสุดท้าย 70.32 และ NaClO+PS ค่า L* 71.60 วันสุดท้าย 70.33 ในส่วนของกล้ามเนื้อตัวอย่าง EW+EGCG ค่า L* 63.46 วันสุดท้าย 56.82 LA+EGCG ค่า L* 65.01 วันสุดท้าย 56.79 และ EW+LA+EGCG มีค่า L* 63.76 วันสุดท้าย 57.22 ส่วน DI+PS ค่า L* 63.76 วันสุดท้าย 58.18 และ NaClO+PS ค่า L* 64.46 วันสุดท้าย 60.18 ดัง

รูปที่ 4.22-4.23 ค่า a* ที่แสดงระดับสีแดง-เขียว เมื่อค่า a* มีค่าบวกจะแสดงลักษณะสีแดง และเมื่อค่าเป็นลบจะแสดงลักษณะสีเขียว โดยเมื่อค่าห่างจาก 0 มากแสดงถึงค่าสีแดงหรือสีเขียวมากขึ้น (Cruz, Kerry, & Kelly 2008) จากการศึกษาพบว่า ค่า a* ส่วนท้องของหอยนางรมมีแนวโน้มลดลง โดยตัวอย่าง EW+EGCG มีค่า a* -0.34 วันสุดท้าย -0.92 LA+EGCG มีค่า a* -0.37 วันสุดท้าย -1.07 EW+LA+EGCG a* -0.42 วันสุดท้าย -0.87 และ DI+PS ค่า a* -0.52 วันสุดท้าย -0.84 NaClO+PS ค่า a* -0.35 วันสุดท้าย -0.87 ในส่วนของกล้ามเนื้อมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตัวอย่าง EW+EGCG ค่า a* 2.43 วันสุดท้าย 4.49 LA+EGCG ค่า a* 2.39 วันสุดท้าย 5.12 EW+LA+EGCG a*2.21 วันสุดท้าย 4.28 และ DI+PS ค่า a* 3.21 วันสุดท้าย 4.60 NaClO+PS ค่า a* 2.43 วันสุดท้าย 4.35 ดังรูปที่ 4.24-4.25 ค่า b* ที่แสดงระดับสีเหลือง-น้ำเงิน เมื่อค่า b* มีค่าบวกจะแสดงลักษณะสีเหลือง และเมื่อค่าเป็นลบจะแสดงลักษณะสีน้ำเงิน โดยเมื่อค่าห่างจาก 0 มากแสดงถึงค่าสีเหลืองหรือสีน้ำเงินมากขึ้น จากการศึกษาพบว่าค่า b* ส่วนท้องของหอยนางรมมีค่าแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยตัวอย่าง EW+EGCG มีค่า b* 9.72 วันสุดท้าย 12.54 LA+EGCG มีค่า b* 8.55 วันสุดท้าย 14.97 EW+LA+EGCG b* 9.43 วันสุดท้าย 13.08 และ DI+PS ค่า b* 9.43 วันสุดท้าย 12.55 NaClO+PS ค่า b* 9.72 วันสุดท้าย 12.29 ในส่วนของกล้ามเนื้อมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตัวอย่าง EW+EGCG ค่า b* 13.65 วันสุดท้าย 17.27 LA+EGCG ค่า b* 11.97 วันสุดท้าย 16.78 EW+LA+EGCG b* 12.23 วันสุดท้าย 17.10 และ DI+PS ค่า b* 12.23 วันสุดท้าย 17.59 NaClO+PS ค่า b* 13.65 วันสุดท้าย 17. 52 ดังรูปที่ 4.26-4.27 อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาภาพรวมของค่าสีจะเห็นได้ว่าหอยนางรมในตัวอย่างควบคุม (DI+PS) นั้นมีสีคล้ำลงกว่าตัวอย่างที่มีการแช่สารสกัดชาเขียวตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น เนื่องจากรงควัตถุให้สีในเนื้อหอยที่ชื่อว่า ฮีโมไซยานินซึ่งเป็นการจับกันระหว่างฮีโมโกลบิน ทองแดง เหล็กและ โปรตีน โดยการเปลี่ยนแปลงสีของหอยนางรมจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นกับออกซิเจน ทั้งแบบที่เกิดจากเอนไซม์และไม่ได้เกิดจากเอนไซม์ โดยปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของลิพิด (lipid oxidation) จะส่งผลให้ ไอออนของ ทองแดง และเหล็กถูกปลดปล่อยออกมาจากกล้ามเนื้อของหอยนางรมส่งผลให้เนื้อหอยมีสีคล้ำลง (Cruz et al. 2008) และ (เนตรนรินทร์ ขุนสูงเนิน, 2546) และเนื้อวัวที่ใช้สารสกัดชาเขียวพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของสีที่ช้ากว่าตัวอย่างควบคุม Senanayake (2013) ให้เหตุผลว่าสารสกัดชาเขียวมีสารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของลิพิด ช่วยป้องกันออกซิเจนไม่ให้เกิดปฏิกิริยากับไอออนของทองแดง และเหล็กซึ่งเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้สีของหอยนางรมคล้ำลง



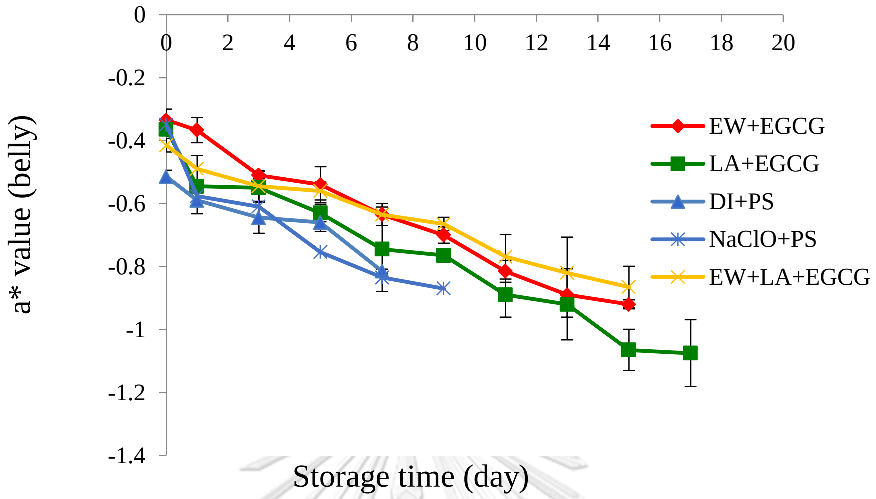
รูปที่ 4.22 ค่า L* ส่วนท้องหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



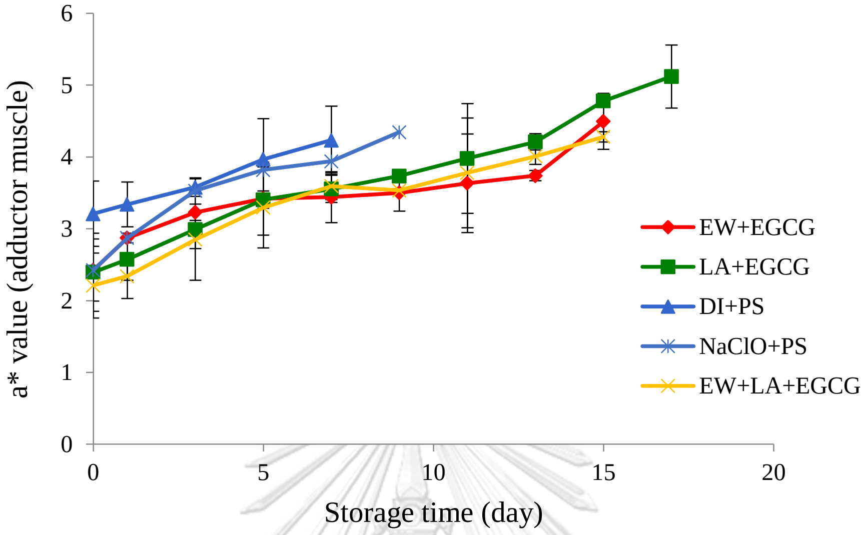
รูปที่ 4.23 ค่า L* ส่วนกล้ามเนื้อหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

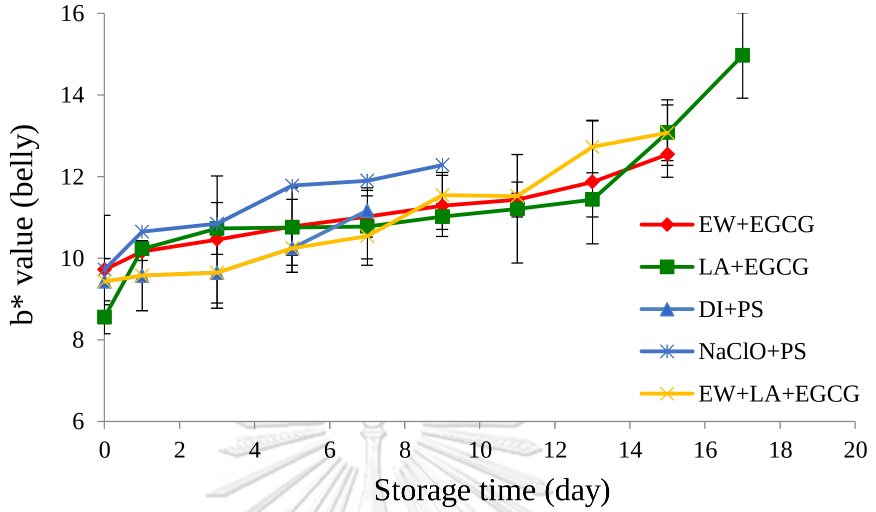


รูปที่ 4.24 ค่า a* ส่วนท้องหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

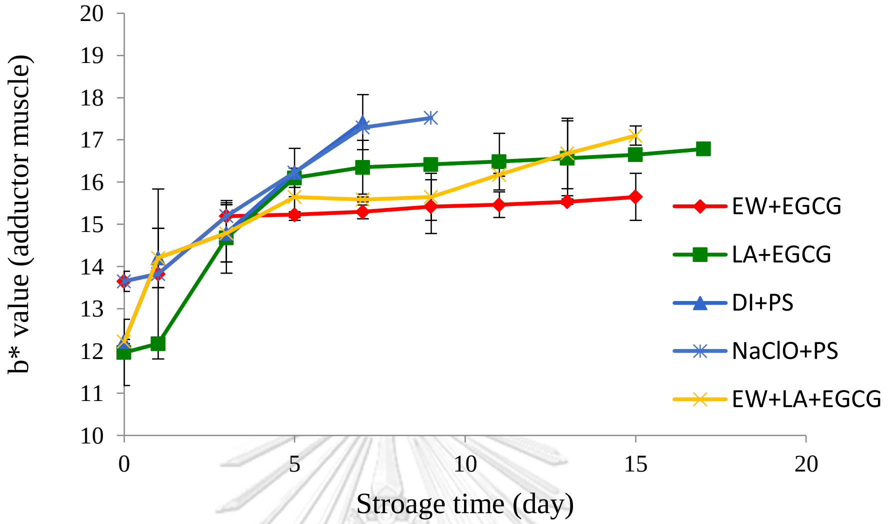


รูปที่ 4.25 ค่า a* ส่วนกล้ามเนื้อหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG



รูปที่ 4.26 ค่า b* ส่วนท้องหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG

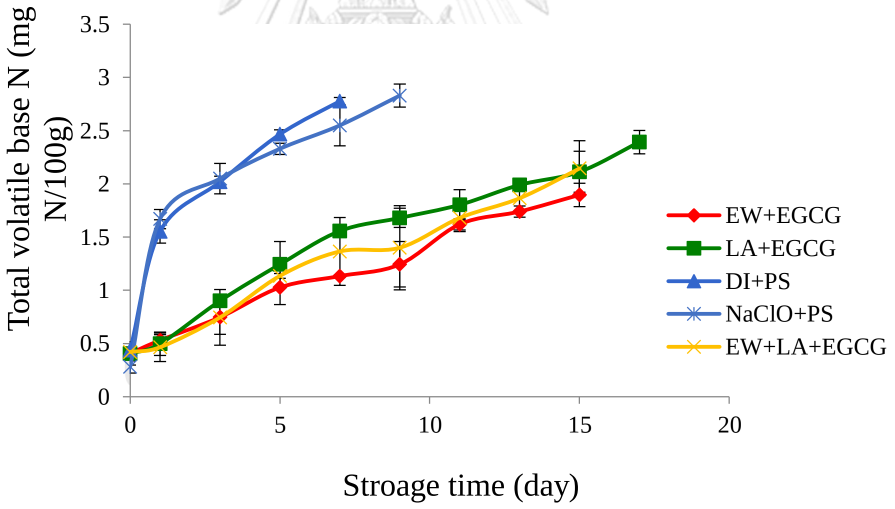
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 4.27 ค่า b* ส่วนกล้ามเนื้อหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

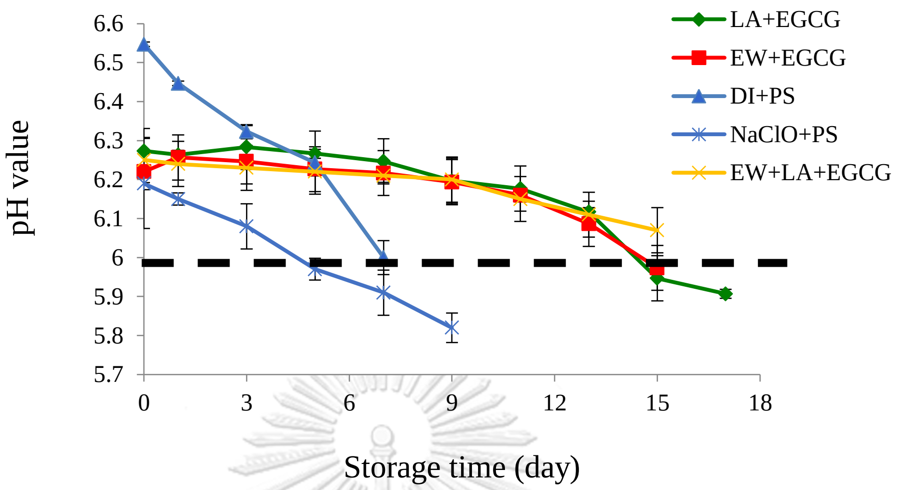
การตรวจสอบความสดของเนื้อหอยนางรมโดยวัดปริมาณด่างที่ระเหยทั้งหมด (Total volatile base nitrogen: TVB-N) เกิดการสลายตัวของสารประกอบไนโตรเจนทั้งหมดและให้สารระเหยที่ทำให้เกิดกลิ่นคาว และกลิ่นเหม็นเน่าของสัตว์น้ำโดยทำ การตรวจวัดปริมาณ แอมโมเนีย เอมีน ไตรเมทิลเอมีน (TMA), ไดเมทิลเอมีน (DMA) และสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ ซึ่งใช้ค่านี้เป็นดัชนีวัดการเน่าเสียของสัตว์น้ำ จากการศึกษาพบว่า ค่า TVB-N ของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น จากรูปที่ 4.28 พบว่าตัวอย่างวันเริ่มต้น EW+EGCG 0.41 วันสุดท้าย 1.89 mg N/100g, LA+EGCG 0.40 วันสุดท้าย 2.39 mg N/100g และ DI+PS 0.42 วันสุดท้าย 3.48 mg N/100g ตัวอย่างทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์ดี เนื่องจากว่า Harpaz et al. (2003) ได้ระบุว่าค่า TVB-N ของหอยนางรมควรมีค่าไม่เกิน 30 mg N/100g จากการศึกษาของ Marrakchi et al. (1990) พบว่าการทดสอบทางประสาทสัมผัสค่า TVB-N >30 mg N/100g พบว่าผู้บริโภคไม่ยอมรับ หอยจะมีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างจากปลา และกลุ่มครัสเตเชียน (crustacean) เนื่องจากมีคาร์โบไฮเดรต (ไกลโคเจน) และปริมาณของไนโตรเจนที่ต่ำ จึงเป็นเหตุผลที่ค่า TVB-N ต่ำตลอดอายุการเก็บรักษา



รูปที่ 4.28 ปริมาณด่างที่ระเหยทั้งหมดของเนื้อหอยนางรมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG

จากการศึกษาค่าความเป็นกรดด่าง (pH) โดยทุกตัวอย่างมีแนวโน้มของค่า pH ลดลง จากรูปที่ 4.33 พบว่าตัวอย่างค่า pH วันเริ่มต้น EW+EGCG 6.22 วันสุดท้าย 5.97, LA+EGCG 6.27 วันสุดท้าย 5.91 และ DI+PS 6.55 วันสุดท้าย 6.00 โดยตัวอย่างทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์ดีตลอดอายุการเก็บรักษา เนื่องจาก Gacutan, (1974) ได้เสนอว่าค่า pH ≥6 จัดว่าหอยนางรมอยู่ในคุณภาพที่ดี และหอยนางรมที่มีค่า pH <5 จัดว่าหอยนางรมเกิดการเน่าเสีย และการเปลี่ยนแปลงของค่า pH เกิดขึ้นจากไกลโคเจนในเนื้อหอยนางรมเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นกรดแลคติกเพิ่มมากขึ้น จากการปลดปล่อยองค์ประกอบของกล้ามเนื้อ เช่น โปรตีน และกรดนิวคลีอิก เกิดการสูญเสียหมู่อะซิดิก (acidic group) จึงส่งผลให้ค่า pH ลงลง และสัมพันธ์กับการเจริญของเชื้อที่ทำให้หอยนางรมเสื่อมเสีย คือ เชื้อ lactic acid bactrial ซึ่งเชื้อในกลุ่มนี้จะผลิตกรดแลคติก จึงส่งผลให้ค่า pH เพิ่มขึ้น Songsaeng, (2010) ได้อธิบายถึงค่า pH ที่ลดลงว่าเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของไกลโคเจนถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติก จากการย่อยสลายในองค์ประกอบของกล้ามเนื้อ เช่น โปรตีน และนิวคลีโอไทด์จะเกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้ผลจากเชื้อในกลุ่มของ lactic acid bacteria ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารแมตาบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) และขับออกมานอกเซลล์เป็นผลทำให้ค่า pH ลดลง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 4. 29 ค่าความเป็นกรดด่างของเนื้อหอยนางรมเก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C (1)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ลงในEGCG; EW+EGCG (2)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; LA+EGCG (3)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำปลอดเชื้อและแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต; DI+PS (4)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และแช่ลงในโพแทสเซียมซอร์เบต: NaClO+PS และ (5)หอยนางรมที่ทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ลงในEGCG; EW+LA+EGCG

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) พบว่า MIC และ MBC ของ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus, Lactobacillus plantarum*, *Salmonella* Typhimurium, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Escherichia coli* โดยEGCG และกรดแลคติกสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดยEGCG สารสกัดชาเขียวมีค่าอยู่ในช่วง MIC 1.25-2.5 µg/mL MBC 2.5-5 µg/mL และกรดแลคติกมีค่าอยู่ในช่วง MIC 0.34-1.37 % w/v (3.4-13.7 mg/mL) MBC 0.68-2.75 % w/v (6.8-27.5 mg/mL)

การศึกษาความเข้มข้นของน้ำอิเล็กโทรไลต์ 60 ppm และกรดแลคติก 0.0625 MBC ในการทำความสะอาดเบื้องต้นหอยนางรมพบว่า ไม่ส่งผลต่อค่าสี (L*, a* และ b*) และปริมาณด่างที่ระเหยทั้งหมด (Total volatile basic nitrogen: TVB-N) อย่างมีนัยสำคัญ ($p \le 0.05$) และความเข้มข้นของน้ำอิเล็กโทรไลต์ 60 ppm ลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 1.4 log CFU/g และไม่พบการเจริญของเชื้อ *E. coli* ส่วนที่ความเข้มข้นของกรดแลคติก 0.0625 MBC ลดเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria: LAB) น้อยว่า 30 CFU/g และไม่พบเชื้อ *E. coli* และ *V. parahaemolyticus*

เมื่อพิจารณาจากความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียของ EGCG จึงเลือกค่า MBC สูงสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ คือ 5 µg/mL มาใช้ในการแช่หอยนางรม จากการศึกษาจุลินทรีย์ สมบัติทางเคมี และกายภาพ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 °C โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม พบว่าหอยนางรมที่แช่ใน EGCG สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพ และลดปริมาณจุลินทรีย์ เมื่อพิจารณาปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดไม่เกิน 7 $\log_{10}$ CFU/g เป็นเกณฑ์ในการกำหนดอายุการเก็บ พบว่าตัวอย่างควบคุมมีอายุการเก็บที่น้อยที่สุดคือ 7 วัน ส่วนหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ด้วยEGCG และนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับกรดแลคติกและแช่ด้วยEGCG โดยมีอายุการเก็บ 15 วัน และหอยนางรมที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยกรดแลคติกและแช่ด้วยEGCG 17 วัน เนื่องจากการทำความสะอาดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์และแช่ด้วยEGCG ไม่พบเชื้อ *E. coli, V. parahaemolytius* และ *Salmonella* spp.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากงานวิจัยพบว่าการใช้น้ำอิเล็กโทรไลต์ร่วมกับEGCG มีประโยชน์ในการลดเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในหอยนางรม สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้มากกว่าวิธีที่ใช้สารกันเสียในการเก็บรักษาหอยนางรม และช่วยให้หอยนางรมอยู่ในเกณฑ์ความสดที่กำหนดไว้

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ หากต้องการนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรมจริงควรมีการศึกษาเพิ่มเติม ทั้งนี้การใช้น้ำอิเล็กโทรไลต์ กรดแลคติก และ EGCG ในหอยนางรมอาจมีทั้งจุดเด่นในด้านการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์ และข้อจำกัดในการเปลี่ยนแปลงทางเคมี และกายภาพ ซึ่งขึ้นอยู่กับการตัดสินใจ การยอมรับของผู้บริโภคเป็นหลัก และการตลาดในการให้ข้อมูลแก่ผู้บริโภค

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กรมประมง. (2540). คู่มือการเพาะเลี้ยงหอยตะโกรมเชิงการค้า: โครงการพัฒนาการผลิตหอยตะโกรมเชิงพาณิชย์ (Vol. 1). กรมประมง สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย กรุงเทพฯ.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2553). เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร.

เนตรนรินทร์ ขุนสูงเนิน. (2546). การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลานิลซึ่งเก็บรักษาภายใต้การปรับเปลี่ยนบรรยากาศ. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี,

พงษ์เทพ วิไลพันธ์. (2556). หอยนางรมปลอดภัย (Vol. 1): สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

มณีย์ กรรณรงค์, อนุวัฒน์ รัตนโชติ, & สุภาพร ทศพร้อม. (2540). การปนเปื้อนของแบคทีเรียในหอยนางรม น้ำทะเล และตะกอนดิน บริเวณแหล่งเลี้ยงอ่าวบ้านดอน จังหวัดสุราษฎร์ธานี. เอกสารวิชาการฉบับที่ 19/2540. กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

รัตนาภรณ์ พิมพ์แน่น, สวามินี ธีระวุฒิ, & โสภาวดี เมืองฮาม. (2557). ผลของการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศต่อคุณภาพทางกายภาพและจุลชีววิทยาของหอยนางรมสดแกะเปลือก. *KKU Science Journal,* 42(3), 551-560.

สวามินี ธีระวุฒิ, รัตนาภรณ์ พิมพ์แน่น, & โสภาวดี เมืองฮาม. (2557). ผลของการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศต่อคุณภาพทางกายภาพและจุลชีววิทยาของหอยนางรมสดแกะเปลือก. *วารสารวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น,* 42(3), 551-560.

สายวสันต์ กลิ่นสุคนธ์. (2548). ปรสิตในหอยนางรม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, วิทยาศาสตร์การประมง.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2522). พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2552 พร้อมกฎกระทรวง และประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับปรับปรุง ปี 2560). กระทรวงสาธรณสุข.

สุดสายชล หอมทอง, & ธดาภรณ์ วงศ์พุฒ. (2549). ความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. จากหอยนางรมบริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี. *วารสารวิชาการ ม.อบ,* ปีที่ 8(1), 41-50.

สุแพรวพันธ์ โลหะลักษณาเดช, & ชุตินุช สุจริต. (2556). ผลของการใช้กรดแลกติกต่อคุณภาพของเนื้อหอยนางรมสด (*Crassostrea belcheri*). การประชุมวิชาการ การพัฒนาชนบทที่ยั่งยืน 2556 ชุมชนท้องถิ่นฐานรากการพัฒนาประชาคมอาเซียน*,* 3.

สุรีย์ นานาสมบัติ, นวรัตน์ โพธิ์ราช, ประทุม แสนมา, วรรธนนท์ หาเพิ่มพูล, & สิทธิโชค ศิริศรชัย. (2556). การตรวจหาการปนเปื้อน *Vibrio parahaemolyticus* ในอาหารทะเลสดที่จา

หน่ายในกรุงเทพและการศึกษาการต้านทานความร้อน. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ, ปีที่ 16 (3), 175-184.

อัจฉรา แสนคม, น้ำทิพย์ ขันตยาภรณ์, & วราภา มหากาญจนกุล. (2553). การประยุกต์ใช้สารฆ่าเชื้อในกลุ่มออกซิไดส์ซิ่งเพื่อลดจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ. (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาษาอังกฤษ

A.O.A.C. (2012). *Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists International*. Washington DC, USA.

Ameen, S. M., Caruso, Giorgia. (2017). *Lactic Acid in the Food Industry*. Cairo, Egypt • Industrial Consultant, Palermo, Italy

BAM. (2004). Bacteriological Analytical Manual Online. Chapter 9: *V. parahaemolyticus*. Retrieved from http://www.cfsan.fda.gov

Bouton P. E., Harris P. V., Shorthose W. R., & Ellis R. W. (1978). Comparison of some properties of meat from normal steers and steers heterozygous for muscular hypertrophy. *Meat Science,* 2(3), 161-167.

Chen, H., Wang, M., Lin, X., Shi, C., & Liu, Z. (2017). Bacterial microbiota profile in gills of modified atmosphere-packaged oysters stored at 4 degrees C. *Food Microbiol,* 61, 58-65. doi:10.1016/j.fm.2016.08.006

CLSI. (2006). Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standard-seven edition. *Clinical and Laboratory Standards Institute USA*.

Conway E. J. (1950). Micro diffusion Analysis and volumetric Error, 3^{rd} ed London. *Lookwood and son*.

Cruz-Romero, M., Kelly, A., & Kerry, J. (2007). Effects of high-pressure and heat treatments on physical and biochemical characteristics of oysters (*Crassostrea gigas*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies,* 8, 30-38.

Cruz-Romero M., Kerry, J., & Kelly A. (2008). Changes in the microbiological and physicochemical quality of highpressure-treated oysters (*Crassostrea gigas*) during chilled storage. *Food Control,* 19, 1139-1147.

Cui Y., Oh Y. J., Lim J., Youn M., Lee I., Pak H. K., . . . Park S. (2012). AFM study of the differential inhibitory effects of the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Food Microbiol,* 29(1), 80-87. doi:10.1016/j.fm.2011.08.019

Dalluge, J. J., & Nelson, B. C. (2000). Determination of tea catechins. *Journal of Chromatography A,* 881(1), 411-424.

Das, S., Tanwar, J., Hameed, S., & Fatima, Z. (2014). *Antimicrobial potential of epigallocatechin-3-gallate (EGCG): A green tea polyphenol* (Vol. 2).

Deza, M. A., Araujo, M., & Garrido, M. J. (2007). Efficacy of neutral electrolyzed water to inactivate *Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa,* and *Staphylococcus aureus* on plastic and wooden kitchen cutting boards. *Journal of Food Protection,* 70(1), 102-108.

Donn R. Ward, & Cameron Hackney. (1991). *Microbiology of marine food products*. New York: Springer Science.

Duerink, D. O., Lestari, E. S., Hadi, U., Nagelkerke, N. J., Severin, J. A., Verbrugh, H. A., . . . van den Broek, P. J. (2007). Determinants of carriage of resistant Escherichia coli in the Indonesian population inside and outside hospitals. *J Antimicrob Chemother,* 60(2), 377-384. doi:10.1093/jac/dkm197

Efiuvwevwere, B., & Amadi, L. (2015). Effects of Preservatives on the Bacteriological, Chemical and Sensory Qualities of Mangrove Oyster (*Crassostrea gasar*). *British Journal of Applied Science & Technology,* 5(1), 76-84. doi:10.9734/bjast/2015/12158

Fabrizio, K. A., & Cutter, C. (2004). *Comparison of electrolyzed oxidizing water with other antimicrobial interventions to reduce pathogens on fresh pork* (Vol. 68).

Friedman, M., Levin, C., Choi, S.-H., Lee, S.-U., & Kozukue, N. (2009). *Changes in the Composition of Raw Tea Leaves from the Korean Yabukida Plant during High-Temperature Processing to Pan-Fried Kamairi-Cha Green Tea* (Vol. 74).

Gacutan R. Q. (1974). *Microbiology of Fresh and Cold Stored Oysters.* Quezon City, Philippines.

Hamm R., & Deatherage F. (1960). Changes in hydration, solubility and charges of muscle proteins during heating of meat. *journal of food science,* 25, 587-610.

Harpaz S., Glatman L., Drabkin V., & Gelman A. (2003). Effects of herbal essential oils used to extend the shelflife of freshwaterreared Asian sea bass fish (*Lates calcarifer*). *Journal of Food Protection,* 66, 410-417.

Hayat, K. (2013). Why is it more difficult to treat gram negative bacteria.

Hu, J., Chen, Y., & Ni, D. (2012). Effect of superfine grinding on quality and antioxidant property of fine green tea powders. *LWT - Food Science and Technology,* 45(1), 8-12. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.08.002

Huang, Y.-R., Hsieh, H.-S., Lin, S.-Y., Lin, S.-J., Hung, Y.-C., & Hwang, D.-F. (2006). Application of electrolyzed oxidizing water on the reduction of bacterial contamination for seafood. *Food Control,* 17(12), 987-993. doi:10.1016/j.foodcont.2005.07.003

Huang Yu-Ru, Hung Yen-Con, Hsu Shun-Yao, Huang Yao-Wen, & Hwang Deng-Fwu. (2008). Application of electrolyzed water in the food industry. *Food Control,* 19(4), 329-345. doi:10.1016/j.foodcont.2007.08.012

Ikigi H., Nakae T., Hara Y., & Shimamura T. (1993). Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochemica Acta,* 1147(1), 132-136.

ISO 7393-3:1990. (1990). Water quality -- Determination of free chlorine and total chlorine -- Part 3: Iodometric titration method for the determination of total chlorine. 2. Retrieved from https://www.iso.org/standard/14108.html

ISO 15214:1998. (2015). Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria -- Colony-count technique at 30 degrees C. Retrieved from https://www.iso.org/standard/26853.html

Kim C. . (1995). Gram-negative bacteria in refrigerated catfish fillets treated with lactic culture and lactic acid. *Journal of Food Protection,* 58(6), 639-643.

Lakenbrink, C., Lapczynski, S., Maiwald, B., & Engelhardt, U. H. (2000). Flavonoids and other polyphenols in consumers brews of tea and other caffeinated beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 48, 2848-2852.

Lee, H.-I., Kim, M. H., Kim, K. Y., & So, J.-S. (2010). Screening and selection of stress resistant *Lactobacillus* spp. isolated from the marine oyster (*Crassostrea gigas*). *Anaerobe,* 16(5), 522-526.

Leuck E. (1981). *Antimicrobial food additive* (Vol. 33). WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.

Mahmoud, B. S. (2014). Controlling *Vibrio vulnificus* and spoilage bacteria in fresh shucked oysters using natural antimicrobials. *Letters in Applied Microbiology,* 58(1), 1-7. doi:10.1111/lam.12152

Marrakchi E. A., Bennour B., Bouchriti N., Hamama A., & Tagafait H. (1990). Sensory, chemical, and microbiological assessments of moroccan sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. *Journal of Food Protection,* 53, 600-605.

Nakayama M., Shigemune N., Tsugukuni T., Tokuda H., & Miyamoto T. (2011). Difference of EGCg adhesion on cell surface between *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* visualized by electron microscopy after novel indirect staining with cerium chloride. *Journal of Microbiological Methods,* 86(1), 97-103. doi:10.1016/j.mimet.2011.04.010

Namal Senanayake, S. P. J. (2013). Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications – A review. *Journal of Functional Foods,* 5(4), 1529-1541. doi:https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.011

Okubo S., Sasaki T., Hara Y., Mori F., & MShimamura T. (1998). Bactericidal activity of EGCG on Escherichia coli. *Journal of the Japanese Association for infectious diseases,* 72(3), 211-217.

Park, H., Hung, Y.-C., & Brackett, R. (2002). *Antimicrobial effect of electrolyzed water for inactivating Campylobacter jejuni during poultry washing* (Vol. 72).

Park, H., Hung, Y.-C., & Chung, D. (2004). Effects of chlorine and pH on efficacy of electrolyzed water for inactivating Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes. *International Journal of Food Microbiology,* 91(1), 13-18. doi:10.1016/s0168-1605(03)00334-9

Park, S. Y., Chung, M.-S., & Ha, S.-D. (2018). Combined effect of sodium hypochlorite and gamma-irradiation for the control of *Vibrio vulnificus* in fresh oyster and clam. *LWT - Food Science and Technology,* 91, 568-572.

Perumalla, A., & Hettiarachchy, N. (2011). *Green tea and grape seed extracts—Potential applications in food safety and quality* (Vol. 44).

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Radji, M., Fauziah, S., & Aribinuko, N. (2011). Antibiotic sensitivity pattern of bacterial pathogens in the intensive care unit of Fatmawati Hospital, Indonesia. *Asian Pac J Trop Biomed,* 1(1), 39-42. doi:10.1016/s2221-1691(11)60065-8

Rahman, S. M. E., Khan, I., & Oh, D.-H. (2016). Electrolyzed Water as a Novel Sanitizer in the Food Industry: Current Trends and Future Perspectives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety,* 15(3), 471-490. doi:10.1111/1541-4337.12200

Rice, L. B. (2008). Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. *J Infect Dis,* 197(8), 1079-1081. doi:10.1086/533452

Senanayake N. S. P. J. (2013). Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications – A review. *Journal of Functional Foods,* 5(4), 1529-1541. doi:10.1016/j.jff.2013.08.011

Shan B., Cai Y. Z., Brooks J. D., & Corke H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology,* 117(1), 112-119.

Sharif, Z. I. M., Mustapha, F. A., Jai, J., Mohd Yusof, N., & Md Zaki, N. A. (2017). *Review on methods for preservation and natural preservatives for extending the food longevity* (Vol. 19).

Shrayanee Das, Jyoti Tanwar, Saif Hameed, & Zeeshan Fatima. (2014). Antimicrobial potential of epigallocatechin-3-gallate (EGCG): a green tea polyphenol. *Journal of Biochemical and Pharmacological Research,* 2(3), 167-174.

Silva, N. M. T., Maciel, B., Lopes, A. T. S., Marques, E., Rezende, R., & Boehs, G. (2015). *Microbiological quality and bacterial diversity of the tropical oyster Crassostrea rhizophorae in a monitored farming system and from natural stocks* (Vol. 14).

Smulder, F. J. M. (1995). Preservation by microbial decontamination; Surface treatment of meat by organic acid. *New methods of food preservation*, 253-279.

Snijder, J. M. A. (1985). Lactic acid as a decontamination in slaughter and processing procedure. *Vet. Quart,* 7(4), 277-282.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Sofos, J. (2000). *Sorbate food preservatives* (Vol. 1): Taylor & Francls Group.

Somwang Lekjing, Karrila Seppo, & Siripongvutikorn Sunisa. (2017). Thermal Inactivation of Listeria monocytogenes in Whole Oysters (*Crassostrea belcheri*) and Pasteurization Effects on Meat Quality. *Journal of Aquatic Food Product Technology,* 26(9), 1107-1120.

Songsaeng S. (2010). *Change in Qualities and Volatile Compounds of Oyster (Crassostrea belcheri) during Storage and Processing*. Retrieved from Songkhla, Thailand:

Wang C., Chang T., Yang H., & Cui M. (2015). Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control,* 47, 231-236.

Xi, D., Liu, C., & Su, Y.-C. (2012). Effects of green tea extract on reducing *Vibrio parahaemolyticus* and increasing shelf life of oyster meats. *Food Control,* 25(1), 368-373. doi:10.1016/j.foodcont.2011.11.002

Yam. T.S., Shah. S., Hamiton-Miller, & J.M.T. (1997). Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea and tea of components. *FEMS Microbiology Letters,* 152, 169-174.

Zhao, T. (2016). Reduction of Shiga Toxin-Producing *E. coli* and *Salmonella* Typhimurium on Cattle Hides by Spray Treatment with “Fit-L” (Levulinic Acid plus Sodium Dodecyl Sulfate). *MOJ Food Processing & Technology,* 2(5). doi:10.15406/mojfpt.2016.02.00049

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์ทางกายภาพ

ก.1 ค่าสีของหอยนางรม ตามวิธี Somwang et al. (2017)

วิธีวิเคราะห์

วัดสีของหอยนางรมด้วยเครื่อง Chroma meter (Model CR-400 series, Minolta, Japan) ระบบ CIELAB และบันทึกค่า L*, a* และ b* โดยปรับมาตรฐานเครื่องก่อนการวัดตัวอย่างหอยนางรมทุกครั้ง จากนั้นทำการจะวัดสีบริเวณ belly และ adductor muscle ของหอยนางรม

โดย ค่า L* แสดงถึง ค่าความสว่าง (lightness) มีค่าตั้งแต่ 0-100

0 แสดงถึง สีดำ

100 แสดงถึง สีขาว

ค่า a* แสดงถึง ค่าสีแดงและเขียว (redness/greenness)

+a* แสดงถึง สีแดง

- a* แสดงถึง สีเขียว

ค่า b* แสดงถึง ค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (yellowness/blueness)

+b* แสดงถึง สีเหลือง

- b* แสดงถึง สีน้ำเงิน

ก.2 ค่าแรงตัดของหอยนางรม ตามวิธี Cruz et al. (2008)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิธีวิเคราะห์

วัดแรงตัดด้วยเครื่อง texture analyzer (TA-XT2i, Stable Micro Systems, Goldaming, UK) โดยใช้ใบมีด (knife blade:HDP/BSK) กดด้วย speed of 2.00 mm/s, cutting distance of 5 mm and treatment and pertrial and expressed as the force (gf) required for cutting 1 mm จากนั้นทำการจะตัดเฉือนบริเวณ belly และ adductor muscle ของหอยนางรม

ภาคผนวก ข
วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

ข.1 ค่า pH ตามวิธี Somwang et al. (2017)

วัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter (Mettler toledo, Switzerland)

ข.2 ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total volatile basic nitrogen; TVB-N) ตามวิธี Conway E. J. (1950)

วิธีเตรียมสารละลาย 4% trichloroacetic acid

1. ละลาย trichloroacetic acid 4 g ในน้ำ 100 ml

วิธีเตรียมสารละลาย saturated K_2CO_3 solution

1. ละลาย K_2CO_3 60 g ในน้ำ 50 ml นำไปให้ความร้อนเพื่อเพิ่มอัตราการละลายจากนั้นทิ้งไว้ข้ามคืน
2. นำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

วิธีเตรียมสารละลาย 1% boric acid solution

1. ละลาย boric acid 10 g นำไปละลายในเอทานอล 200 ml ปรับปริมาตรให้เป็น 1 l ในขวดปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นต้ม
2. ละลาย bromocresol green 0.01 g และ methyl red 0.02 g ในเอทานอล 10 ml
3. นำสารละลายในข้อที่ 1 และ 2 มาผสมกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

วิธีเตรียม 0.01N Hydrochloric Acid (HCl)

ปิเปตสาร HCl 0.89 mL นำมาปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 1 L

วิธีวิเคราะห์

หอยนางรม 10 กรัม ใส่ 4% trichloroacetic acid solution 90 มิลลิลิตร บดตัวอย่างให้แตก จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรใส่ลงในวงกลมชั้นนอกของจานคอนเวย์ และ 1 มิลลิลิตร saturated K_2CO_3 solution ใส่ลงในวงกลมชั้นนอกของจานคอนเวย์แต่ให้อยู่คนละด้านกันกับตัวอย่าง ใส่ 1 mL 1% boric acid ลงในวงกลมชั้นในของจานคอนเวย์ ปิดฝาจานให้สนิท หมุนจานคอนเวย์เบาๆให้

K_2CO_3 solution ผสมกับตัวอย่าง นำไปบ่มที่ 37องศาเซลเซียส 60 นาที จากนั้นไตเตรทที่วงกลมชั้นในด้วย 0.01N HCl จนกระทั่งสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีชมพู blank ใช้ 1 มิลลิลิตร 4% trichloroacetic acid solution

วิธีคำนวณ TVB-N ในตัวอย่าง

$$\text{TVB-N (มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัมตัวอย่าง)} = \frac{(N)(14)(A-B)(V)(100)}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

N คือnormality ของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

A คือ มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

B คือ มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรท blank

V คือ ปริมาตรรวมของตัวอย่างและสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง

ข.3 วิธีหาปริมาณคลอรีนอิสระ ตามวิธี ISO 7393-3:1990 (1990)

วิธีเตรียมสาร Phosphate buffer solution

1. ชั่ง Na_2HPO_4 24 g KH_2PO_4 46 g และ EDTA 800 mg นำมาปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 1000 mL เก็บในขวดสีชา

วิธีเตรียมสาร N, N-Diethy-p-phenylenediamine (DPD) indicator solution

1. ชั่ง 1.1 g anhydrous DPD sulfate, 8 mL (1 mL น้ำกลั่น + 3 mL H_2SO_4) และ EDTA 200 mg ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 1000 mL เก็บในขวดสีชา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

วิธีเตรียมสาร Ferrous ammonium sulfate (FAS) titrant

1. ชั่ง 1.106 g $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2\cdot 6H_2O$ และ 1 mL (1 mL น้ำกลั่น + 3 mL H_2SO_4) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 1000 mL เก็บในขวดสีชา

วิธีวิเคราะห์

นำน้ำตัวอย่าง 50 mL ใส่ในขวดรูปชมพู่ 250 mL ใส่ Phosphate buffer solution 2.5 mL และใส่ indicator solution 2.5 mL ผสมให้เข้ากัน นำไปไตเตรทด้วย Ferrous ammonium sulfate จนสีชมพูเปลี่ยนเป็นไม่มีสี โดยปริมาตรของคลอรีนอิสระคือปริมาตรของน้ำอิเล็กโทรไลต์ในหน่วย ppm

ข.4 วิธีคำนวณการเจือจางสารละลาย

การเจือจางสารละลายเป็นการทำให้สารละลายมีความเข้มข้นลดลงตามที่ต้องการโดยจะต้องมีการเติมตัวทำละลายลงในสารละลายนั้นซึ่งสามารถคำนวณความเข้มข้นของสารละลายได้ดังนี้

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ C_1 = ความเข้มข้นเริ่มต้น

V_1 = ปริมาตรเริ่มต้น

C_2 = ความเข้มข้นสุดท้าย

V_2 = ปริมาตรสุดท้าย

การเตรียมสารละลายกรดแลคติกเพื่อใช้ในการทดสอบโดยใช้จากสารละลาย Stock solution 88 % (w/v)

วิธีเตรียมสาร

1. การเตรียมสารละลายกรดแลคติกตั้งต้น 88 % (w/v) จากนั้นปิเปตมา 1 mL เพื่อใช้ในวิธีทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และความเข้มข้นต่ำสุดที่ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (ภาคผนวก ค.1 และ ค.2)
2. การเตรียมสารละลายกรดแลคติกตั้งต้นจากความเข้มข้น 88 % (w/v) โดยการคำนวณจากสูตรการเจือจางสารละลาย เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 0.17 % (w/v) โดยจะปิเปตสารละลาย 1.93 mL ในปริมาตรน้ำ 1000 mL เพื่อใช้ในการแช่หอยนางรมในอัตราส่วนหอยนางรมต่อต่อปริมาตรสารละลายกรดแลคติก 1g: 10 mL

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ข. 5 วิธีเตรียม Epigallocatechin gallate (EGCG)

การเจือจางสารละลายเป็นการทำให้สารละลายมีความเข้มข้นลดลงตามที่ต้องการโดยจะต้องมีการเติมตัวทำละลายลงในสารละลายนั้นซึ่งสามารถคำนวณความเข้มข้นของสารละลายได้ดังนี้

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ C_1 = ความเข้มข้นเริ่มต้น

V_1 = ปริมาตรเริ่มต้น

C_2 = ความเข้มข้นสุดท้าย

V_2 = ปริมาตรสุดท้าย

วิธีการเตรียมสาร

1. การเตรียมสารละลาย EGCG เพื่อใช้ในวิธีทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และความเข้มข้นต่ำสุดที่ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยชั่งสาร EGCG 17.92 mg ต่อปริมาตรน้ำ 7mL เพื่อเป็นสารละลายตั้งต้น จากนั้นคำนวณจากสูตรการเจือจางสารละลายEGCG เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 2560 µg และปิเปตสารละลาย มา 1 mL (ภาคผนวก ค.1 และ ค.2)

2. การเตรียมสารละลาย EGCG เพื่อใช้ในวิธีการแช่หอยนางรมเพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษา โดยชั่ง 50 mg เติมตัวทำละลาย (น้ำปลอดเชื้อ) 10 L การคำนวณจากสูตรการเจือจางสารละลาย EGCG เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายในการแช่หอยนางรม 5 µg/mL คนให้สารละลายรวมเป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้อัตราส่วนหอยนางรมต่อปริมาตรน้ำ 1 g: 2mL

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ค
วิธีวิเคราะห์ทางชีวภาพ

ค.1 ความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยการวิเคราะห์ minimum inhibitory concentration (MIC) ตามวิธี CLSI (2006)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

ละลาย sodium chloride 0.85 g ในน้ำกลั่น 100 mL และฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

ชั่ง Mueller Hinton Broth 21.00 g และละลายในน้ำกลั่น 1000 mL บรรจุในหลอดทดลองปริมาตร 1mL ปิดฝา หลังจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

การเตรียมตัวอย่าง

ละลายผงของสารสกัดชาเขียว 2560 µg ในน้ำกลั่น 1 mL (ผ่านการฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที) จากวิธีการเตรียม (ภาคผนวก ข.5)

สารละลายกรดแลคติก 88% w/v 1 mL จากวิธีการเตรียม (ภาคผนวก ข.4)

การเตรียมแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

1. เขี่ยโคโลนีของเชื้อที่ต้องการทดสอบ (*Staphylococcus aureus* ATTCC25923, *Bacillus cereus* ATCC6633, *Lactobacillus plantarum* Plan10621, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC17802 , *Salmonella* Typhimurium ATTCC13311 และ *Escherichia coli* ATTCC25922) ประมาณ 4 - 5 โคโลนีใส่ในอาหารเหลว เขย่าเพื่อให้เชื้อกระจายตัวออกจากกัน และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±2 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

2. นำเชื้อในข้อ 1 มาปรับความเข้มข้นของเชื้อให้ได้ความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard (มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 1×10^{8} CFU/mL)

การวิเคราะห์

1. ปิเปตสารสกัดชาเขียวความเข้มข้น 2560 µg ปริมาตร 1 mL ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวอยู่ 1 mL แล้วเจือจางสารสกัดด้วยการทำ two fold dilution จนมีความเข้มข้น 1280, 640, 320, 160, 80, 40, 20, 10, 5, 2.5 และ 1.25 µg/mL ตามลำดับ และปิเปตสารละลายในหลอดสุดท้ายทิ้ง 1 mL เพื่อให้มีปริมาตรเท่ากับหลอดอื่น

2. ปิเปตเชื้อปริมาณ 1x10^8 CFU/mL ลงในหลอดทดลองทุกหลอด (ใช้หลอดทดลองที่มีสารสกัด 2560 µg ปริมาตร 1 mL และ เชื้อ 1 mL เป็น negative control และใช้หลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อและเชื้ออย่างละ 1 mL เป็น positive control)

3. เชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus plantarum, Vibrio parahaemolyticus* , *Salmonella* Typhimurium, และ *Escherichia coli* บ่มที่อุณหภูมิ 35±2 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

การวิเคราะห์

ค่าโดยสังเกตหลอดสุดท้ายที่ไม่มีจุลินทรีย์เจริญหรืออาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดไม่ขุ่น (เปรียบเทียบกับ negative control และ positive control) อ่านปริมาณของสารทดสอบของหลอดนี้เป็นค่า MIC ของการทดลองค่า โดยค่า MIC คือ ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดที่ใช้ทดสอบที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้

ค.2 ความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยการวิเคราะห์ minimum bactericidal concentration (MBC) ตามวิธี CLSI (2006)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชั่ง Mueller Hinton agar 38.00 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 mL บรรจุใน flask ปิดด้วยจุกสำลีหลังจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที และตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงจนถึง 45 °C เทลงในจานเพาะเชื้อปริมาตร 15-20 mL เขย่าหมุนจานเพาะเชื้อให้อาหารเลี้ยงเชื้อกระจายตัวและปล่อยให้อาหารแข็งตัว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การวิเคราะห์

1. นำหลอดทดลองที่ทำการทดสอบจากการหาค่า MIC ที่ไม่มีความขุ่นทุกหลอดไป streak plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA

2. บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3. ถ้าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้จะไม่พบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อดังนั้นความเข้มข้นดังกล่าวจึงเป็นค่า MBC

ค.3 การตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ตามวิธีของ A.O.A.C (2012)

การเตรียมตัวอย่าง อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย

ชั่งตัวอย่าง 50±0.1 g ผสม phosphate-buffered 450 mL นำไปตีปั่น 1.30 นาที

ละลาย sodium chloride 3 g ในน้ำกลั่น 100 mL และฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

ชั่ง Plate Count Agar 23.50 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 mL บรรจุใน flask ปิดด้วยจุกสำลีหลังจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

ชั่ง Na_2HPO_4 12 g และ $NaH_2PO_4 \cdot H_20$ 2.2 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 mL และฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

การวิเคราะห์

การตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี pour plate โดยใส่ตัวอย่างที่เจือจางแล้วด้วย phosphate-buffered ในระดับที่เหมาะสม และปิเปตมา 1.0 mL ลงในจานเพาะเชื้อ แล้วนำอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโซเดียมคลอไรด์ผสมอยู่ (plate count agar: PCA) ที่เป็นวุ้นหลอมละลายที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที และตั้งทิ้งไว้ในอ่างน้ำร้อนจนอุณหภูมิลดลงจนถึง 45 °C เททับลงไปบนตัวอย่างในจานเพาะเชื้อปริมาตร 15-20 mL เขย่าหมุนจานเพาะเชื้อให้ตัวอย่างกระจายตัว ปล่อยให้อาหารแข็งตัว นำจานเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 35±2 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นภายในช่วง 30-300 โคโลนี และรายงานค่าเป็น colony-forming units/g (CFU/g)

ค.4 ปริมาณแบคทีเรียแลกติก (Lactic acid bacteria) ตามวิธีของ ISO 15214:1998 (2015)

การเตรียมตัวอย่าง อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย

ชั่งตัวอย่าง 50±0.1 g ผสม phosphate-buffered 450 mL นำไปตีปั่น 1.30 นาที

ละลาย calcium carbonate 1.0 g ในน้ำกลั่น 100 mL และฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

ชั่ง Lactobacillus MRS Agar (MRS Agar) 67.15 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 mL บรรจุใน flask ปิดด้วยจุกสำลีหลังจากนั้นน้าไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

ชั่ง Na_2HPO_4 12 g และ $NaH_2PO_4 \cdot H_20$ 2.2 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 mL และฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

การวิเคราะห์

การตรวจนับปริมาณแบคทีเรียแลกติกด้วยวิธี pour plate โดยใส่ตัวอย่างที่เจือจางแล้วด้วย phosphate-buffered ในระดับที่เหมาะสม และปิเปตมา 1.0 mL ลงในจานเพาะเชื้อ แล้วน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อ Lactobacillus MRS Agar ที่ผสม Calcium Carbonate ที่เป็นวุ้นหลอมละลายที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที และตั้งทิ้งไว้ในอ่างน้ำร้อนจนอุณหภูมิลดลงจนถึง 45 °C เททับลงไปบนตัวอย่างในจานเพาะเชื้อปริมาตร 15-20 mL เขย่าหมุนจานเพาะเชื้อให้ตัวอย่าง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กระจายตัว ปล่อยให้อาหารแข็งตัว นำจานเพาะเชื้อไปบ่มใน anaerobic jar ที่อุณหภูมิ 30±2 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีที่มีลักษณะโซนใสเกิดขึ้น (clear zone) เกิดขึ้นภายในช่วง 30-300 โคโลนี และรายงานค่าเป็น colony-forming units/g (CFU/g)

ค.5 ปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus* ตามวิธีของ BAM (2004)

การตัวอย่าง เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย

ชั่งตัวอย่าง 50±0.1 g ผสม phosphate-buffered 450 mL นำไปตีปั่น 1 นาที

ชั่ง Na_2HPO_4 12 g $NaH_2PO_4 \cdot H_20$ 2.2 g และ NaCl 30 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 mL และฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

ชั่ง Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBS) 89.08 g และ NaCl 30 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ปลอดเชื้อ 1000 mL นำไปละลายในไมโครเวฟ จากนั้นนำไปตั้งไว้ในอ่านน้ำร้อนเพื่อลดอุณหภูมิ 45 °C เทลงในจานเพาะเชื้อปริมาตร 15-20 mL เขย่าหมุนจานเพาะเชื้อให้อาหารเลี้ยงเชื้อกระจายตัวและปล่อยให้อาหารแข็งตัว

ชั่ง Triple Sugar Saline Iron Agar (TSA) 92.62 g และ NaCl 30 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 mL และฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

การวิเคราะห์

นำตัวอย่างที่ตีปั่นมาใส่หลอดทดลอง 10 mL จำนวนสามหลอด จากนั้นเจือจางสารละลายตัวอย่าง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ให้ได้ระดับความเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-3} จำนวนระดับความเจือจางละ 3 หลอด บ่มที่อุณหภูมิ 35±2 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

หลอดที่มีการเจริญของเชื้อ 3 ระดับการเจือจางสูงสุด (อาหารเลี้ยงเชื้อขุ่น) โดยจุ่มลงไปประมาณ

1 เซนติเมตร มา streak บนเพลท Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBS) โดยไม่ต้องเขย่าหลอด นำเพลทไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±2 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

เลือกลักษณะโคโลนีจำนวน 3 โคโลนี streak บนอาหาร TSA+ 3 % NaCl นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±2 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง โดย *Vibrio parahaemolyticus* ให้ผล AGS เป็น K/A คือ เป็นสีม่วงในส่วน slant และเป็นสีเหลืองในส่วน butt ไม่สร้างแก๊สหรือ H2S

ค.6 ปริมาณ *Escherichia coli* ตามวิธีของ A.O.A.C (2012)

การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 50±0.1 g ผสม phosphate-buffered 450 mL นำไปตีปั่น 1.30 นาที

ชั่ง Na_2HPO_4 12 g และ $NaH_2PO_4 \cdot H_20$ 2.2 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 mL และฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

การวิเคราะห์

วิเคราะห์ปริมาณของ *Escherichia coli* ด้วย 3M™ Petrifilm™ โดยเจือจางตัวอย่างด้วย phosphate-buffered ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม แล้วปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้วปริมาตร 1 mL ใส่ลงบนแผ่นฟิล์ม บ่มที่อุณหภูมิ 35±2 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์บนจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีในช่วง 10–150 โคโลนี คำนวณค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีทั้ง 2 ซ้ำและรายงานจำนวนโคโลนีในหน่วย colony forming unit/g (CFU/g)

ค.7 ปริมาณ *Staphylococcus aureus* ตามวิธีของ A.O.A.C. (2012)

การเตรียมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชั่งตัวอย่าง 50±0.1 g ผสม phosphate-buffered 450 mL นำไปตีปั่น 1.30 นาที

ชั่ง Baird–Parker Agar (BPA) 63.00 g ละลายในน้ำกลั่น 950 mL บรรจุใน flask ปิดด้วยจุกสำลีหลังจากนั้นน้าไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที และตั้งทิ้งไว้ในอ่างน้ำร้อนจนอุณหภูมิลดลงจนถึง 45 °C เทลงในจานเพาะเชื้อปริมาตร 15-20 mL เขย่าหมุนจานเพาะเชื้อให้อาหารเลี้ยงเชื้อกระจายตัวและปล่อยให้อาหารแข็งตัว

ชั่ง Na_2HPO_4 12 g และ $NaH_2PO_4 \cdot H_20$ 2.2 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 mL และฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

การวิเคราะห์

ปริมาณของ *Staphylococcus aureus* ด้วยเทคนิค spread plate โดยเจือจางตัวอย่างด้วยphosphate-buffered ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม แล้วปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้วปริมาตร 0.1 mL ใส่จานเพาะเชื้อ ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird Parker Agar (BPA) ผสมกับ Egg York tellurite emulsion 50 mL จากนั้นทำการ spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 35±2 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์บนจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีในช่วง 30–300 โคโลนี คำนวณค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีทั้ง 2 ซ้ำและรายงานจำนวนโคโลนีในหน่วย colony forming unit/g (CFU/g)

ค.8 ปริมาณ *Salmonella* spp. ตามวิธีของ A.O.A.C. (2012)

การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 50±0.1 g ผสม phosphate-buffered 450 mL นำไปตีปั่น 1.30 นาที

ชั่ง Na_2HPO_4 12 g และ $NaH_2PO_4 \cdot H_20$ 2.2 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 mL และฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ℃ เป็นเวลา 15 นาที

การวิเคราะห์

วิเคราะห์ปริมาณของ *Salmonella* spp. ด้วย 3M™ Petrifilm™ โดยเจือจางตัวอย่างด้วย phosphate-buffered ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม แล้วปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้วปริมาตร 1 mL ใส่ลงบนแผ่นฟิล์ม บ่มที่อุณหภูมิ 35±2 ℃ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์บนจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีในช่วง 10–150 โคโลนี คำนวณค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีทั้ง 2 ซ้ำและรายงานจำนวนโคโลนีในหน่วย colony forming unit/g (CFU/g)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ง

ใบรายงานผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพชีววัตถุของกรดแลคติก

CHEMI เคมีภัณฑ์ CHEMIPAN.COM

purac

pure by nature

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Order nr	863581	**Cust order Ref**	FS570102/863581
Product	PURAC FCC 88 drum25 L(+)-Lactic Acid FCC Special 88%		
Lot No	1407001610		
Manufacturing Date	18-July-2014	**Retest Date**	17-July-2019

Test	Units	Specification	Results
Colour	APHA	<=50	13
Assay	%	87.5 - 88.5	88.2

Parameters not tested in all lots but validated through in-process or final testing.

Test	Units	Specification
Odour		Agreeable
Stereochemical purity	%	>=97
Sulphated ash LA	%	<=0.1
Heavy metals	ppm	<=10
Iron	ppm	<=10
Lead	ppm	<=0.50
Mercury	ppm	<=1.00
Cyanide	ppm	<=5.00
Citric, oxalic, phosphoric and tartaric		Passes test FCC
Arsenic	ppm	<=1
Positive test for lactate		1 in 10 in water litmus paper
Density (20°C)	g/ml	1.20 - 1.22
Calcium	ppm	<=20
Chloride	ppm.	<=10
Sulphate	ppm.	<=20
Sugars/reducing substances		Passes test FCC
Readily carbonizable substances		Passes test**
Volatile fatty acids		Passes test**
Ether insolubles	%ww	<=0.70
Methanol	%	<=0.200
Form		Syrupy liquid

**Passes test of latest version of FCC, JSFA, 231/2012/EC
This lot complies with: FCC / JSFA / 231/2012/EC

This document is generated by a validated system and therefore not signed.
Saowaphan Chansamuth
Lab Manager

Page 1 of 1
Print Date 30-July-2014

ภาคผนวก จ

ใบรายงานผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพชีววัตถุของสารสกัดชาเขียว

SAFETY DATA SHEET
Epigallocatechin Gallate

Revision: 05/05/2016
Supersedes Revision: 10/31/2012

1. Product and Company Identification

Product Code: 70935

Product Name: Epigallocatechin Gallate

Company Name: Cayman Chemical Company
1180 E. Ellsworth Rd.
Ann Arbor, MI 48108

Web site address: www.caymanchem.com

Emergency Contact: CHEMTREC Within USA and Canada: +1 (800)424-9300
CHEMTREC Outside USA and Canada: +1 (703)527-3887

Information: Cayman Chemical Company +1 (734)971-3335

Intended Use: For research use only, not for human or veterinary use.

Synonyms: 3,4-dihydro-5,7-dihydroxy-2R-(3,4,5-trihydroxyphenyl)-2H-1-benzopyran-3R-yl-3,4,5-trihydroxy-benzoate; EGCG; Tea catechin;

2. Hazards Identification

GHS Signal Word: **None**

GHS Hazard Phrases: Based on evaluation of currently available data this substance or mixture is not classifiable according to GHS.

GHS Precaution Phrases: No phrases apply.

GHS Response Phrases: No phrases apply.

GHS Storage and Disposal Phrases: Please refer to Section 7 for Storage and Section 13 for Disposal information.

Potential Health Effects (Acute and Chronic): Material may be irritating to the mucous membranes and upper respiratory tract.
May be harmful by inhalation, ingestion, or skin absorption.
May cause eye, skin, or respiratory system irritation.

3. Composition/Information on Ingredients

CAS #	Hazardous Components (Chemical Name)	Concentration	RTECS #
989-51-5	Epigallocatechin Gallate	100.0 %	KB5200000

4. First Aid Measures

Emergency and First Aid Procedures:

In Case of Inhalation: Remove to fresh air. If not breathing, give artificial respiration or give oxygen by trained personnel. Get immediate medical attention.

In Case of Skin Contact: Immediately wash skin with soap and plenty of water for at least 20 minutes. Remove contaminated clothing. Get medical attention if symptoms occur. Wash clothing before reuse.

In Case of Eye Contact: Hold eyelids apart and flush eyes with plenty of water for at least 20 minutes. Have eyes examined and tested by medical personnel.

In Case of Ingestion: Wash out mouth with water provided person is conscious. Never give anything by mouth to an unconscious person. Get medical attention. Do NOT induce vomiting unless directed to do so by medical personnel.

Signs and Symptoms Of Exposure: To the best of our knowledge, the toxicological properties have not been thoroughly investigated.

5. Fire Fighting Measures

Flash Pt: No data.

Explosive Limits: LEL: No data. UEL: No data.

Autoignition Pt: No data.

Suitable Extinguishing Media: Use alcohol-resistant foam, carbon dioxide, water, or dry chemical spray. Use water spray to cool fire-exposed containers.

Unsuitable Extinguishing Media: A solid water stream may be inefficient.

Fire Fighting Instructions: As in any fire, wear self-contained breathing apparatus pressure-demand (NIOSH approved or equivalent), and full protective gear to prevent contact with skin and eyes.

Flammable Properties and Hazards: No data available.

No data available.

6. Accidental Release Measures

Protective Precautions, Protective Equipment and Emergency Procedures: Avoid raising and breathing dust, and provide adequate ventilation. As conditions warrant, wear a NIOSH approved self-contained breathing apparatus, or respirator, and appropriate personal protection (rubber boots, safety goggles, and heavy rubber gloves).

Environmental Precautions: Take steps to avoid release into the environment, if safe to do so.

Steps To Be Taken In Case Material Is Released Or Spilled: Contain spill and collect, as appropriate. Transfer to a chemical waste container for disposal in accordance with local regulations.

7. Handling and Storage

Precautions To Be Taken in Handling: Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapours/spray. Avoid prolonged or repeated exposure.

Precautions To Be Taken in Storing: Keep container tightly closed. Store in accordance with information listed on the product insert.

8. Exposure Controls/Personal Protection

CAS #	Partial Chemical Name	OSHA TWA	ACGIH TWA	Other Limits
989-51-5	Epigallocatechin Gallate	No data.	No data.	No data.

Respiratory Equipment (Specify Type): NIOSH approved respirator, as conditions warrant.

Eye Protection: Safety glasses

Protective Gloves: Compatible chemical-resistant gloves

Other Protective Clothing: Lab coat

Engineering Controls (Ventilation etc.): Use process enclosures, local exhaust ventilation, or other engineering controls to control airborne levels below recommended exposure limits.

Work/Hygienic/Maintenance Practices: Do not take internally. Facilities storing or utilizing this material should be equipped with an eyewash and a safety shower. Wash thoroughly after handling.

5. Fire Fighting Measures

Flash Pt: No data.

Explosive Limits: LEL: No data. UEL: No data.

Autoignition Pt: No data.

Suitable Extinguishing Media: Use alcohol-resistant foam, carbon dioxide, water, or dry chemical spray.
Use water spray to cool fire-exposed containers.

Unsuitable Extinguishing Media: A solid water stream may be inefficient.

Fire Fighting Instructions: As in any fire, wear self-contained breathing apparatus pressure-demand (NIOSH approved or equivalent), and full protective gear to prevent contact with skin and eyes.

Flammable Properties and Hazards: No data available.

No data available.

6. Accidental Release Measures

Protective Precautions, Protective Equipment and Emergency Procedures: Avoid raising and breathing dust, and provide adequate ventilation.
As conditions warrant, wear a NIOSH approved self-contained breathing apparatus, or respirator, and appropriate personal protection (rubber boots, safety goggles, and heavy rubber gloves).

Environmental Precautions: Take steps to avoid release into the environment, if safe to do so.

Steps To Be Taken In Case Material Is Released Or Spilled: Contain spill and collect, as appropriate.
Transfer to a chemical waste container for disposal in accordance with local regulations.

7. Handling and Storage

Precautions To Be Taken in Handling: Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapours/spray.
Avoid prolonged or repeated exposure.

Precautions To Be Taken in Storing: Keep container tightly closed.
Store in accordance with information listed on the product insert.

8. Exposure Controls/Personal Protection

CAS #	Partial Chemical Name	OSHA TWA	ACGIH TWA	Other Limits
989-51-5	Epigallocatechin Gallate	No data.	No data.	No data.

Respiratory Equipment (Specify Type): NIOSH approved respirator, as conditions warrant.

Eye Protection: Safety glasses

Protective Gloves: Compatible chemical-resistant gloves

Other Protective Clothing: Lab coat

Engineering Controls (Ventilation etc.): Use process enclosures, local exhaust ventilation, or other engineering controls to control airborne levels below recommended exposure limits.

Work/Hygienic/Maintenance Practices: Do not take internally.
Facilities storing or utilizing this material should be equipped with an eyewash and a safety shower.
Wash thoroughly after handling.

SAFETY DATA SHEET
Epigallocatechin Gallate

Revision: 05/05/2016
Supersedes Revision: 10/31/2012

9. Physical and Chemical Properties

Physical States:	[ ] Gas [ ] Liquid [X] Solid
Appearance and Odor:	A crystalline solid
Melting Point:	No data.
Boiling Point:	No data.
Flash Pt:	No data.
Evaporation Rate:	No data.
Flammability (solid, gas):	No data available.
Explosive Limits:	LEL: No data. UEL: No data.
Vapor Pressure (vs. Air or mm Hg):	No data.
Vapor Density (vs. Air = 1):	No data.
Specific Gravity (Water = 1):	No data.
Solubility in Water:	No data.
Solubility Notes:	~25 mg/ml in PBS (pH 7.2); ~20 mg/ml in EtOH; ~25 mg/ml in DMSO; ~30 mg/ml in DMF;
Percent Volatile:	No data.
Autoignition Pt:	No data.
Molecular Formula & Weight:	$C_{22}H_{18}O_{11}$ 458.4

10. Stability and Reactivity

Stability:	Unstable [ ] Stable [X]
Conditions To Avoid:	No data available.
Incompatibility - Materials To Avoid:	strong oxidizing agents
Hazardous Decomposition or Byproducts:	carbon dioxide carbon monoxide
Polymerization:	Will occur [ ] Will not occur [X]
Stability Note(s):	Stable if stored in accordance with information listed on the product insert.

11. Toxicological Information

Toxicological Information:	The toxicological effects of this product have not been thoroughly studied. Epigallocatechin Gallate - Toxicity Data: Oral LD50 (mouse): 2,170 mg/kg;
Chronic Toxicological Effects:	Epigallocatechin Gallate - Investigated as a mutagen and tumorigen. Only select Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS) data is presented here. See actual entry in RTECS for complete information. Epigallocatechin Gallate RTECS Number: KB5200000

CAS #	Hazardous Components (Chemical Name)	NTP	IARC	ACGIH	OSHA
989-51-5	Epigallocatechin Gallate	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

12. Ecological Information

General Ecological Information:	Avoid release into the environment. Runoff from fire control or dilution water may cause pollution.

13. Disposal Considerations

Waste Disposal Method: Dispose in accordance with local, state, and federal regulations.

14. Transport Information

LAND TRANSPORT (US DOT):

DOT Proper Shipping Name: Not dangerous goods.
DOT Hazard Class:
UN/NA Number:

LAND TRANSPORT (European ADR/RID):

ADR/RID Shipping Name: Not dangerous goods.
UN Number:
Hazard Class:

AIR TRANSPORT (ICAO/IATA):

ICAO/IATA Shipping Name: Not dangerous goods.

Additional Transport Information: Transport in accordance with local, state, and federal regulations.

15. Regulatory Information

EPA SARA (Superfund Amendments and Reauthorization Act of 1986) Lists

CAS #	Hazardous Components (Chemical Name)	S. 302 (EHS)	S. 304 RQ	S. 313 (TRI)
989-51-5	Epigallocatechin Gallate	No	No	No

CAS #	Hazardous Components (Chemical Name)	Other US EPA or State Lists
989-51-5	Epigallocatechin Gallate	CAA HAP,ODC: No; CWA NPDES: No; TSCA: No; CA PROP.65: No

Regulatory Information Statement: This SDS was prepared in accordance with 29 CFR 1910.1200 and Regulation (EC) No.1272/2008.

16. Other Information

Revision Date: 05/05/2016

Additional Information About This Product: No data available.

Company Policy or Disclaimer: DISCLAIMER: This information is believed to be accurate and represents the best information currently available to us. However, we make no warranty of merchantability or any other warranty, express or implied, with respect to such information, and we assume no liability resulting from its use. Users should make their own investigations to determine the suitability of the information for their particular purposes.

รายการอ้างอิง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวกาญจนา แขเพ็ญ เกิดวันที่ 18 กันยายน 2534 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิตจาก ภาควิชาเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อปีการศึกษา 2556 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2557

นางสาวกาญจนา แขเพ็ญ ได้นำเสนอผลงานวิจัยภาคโปสเตอร์ในหัวข้อ Effect of electrolyzed water combined with lactic acid pretreatment on the reduction of foodborne pathogens in oyster ในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ International Conference of Agriculture and Natural Resources (ANRES) 2018 ในวันที่ 26 เมษายน 2561 ณ โรงแรมวินด์เซอร์ สูท กรุงเทพมหานคร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University