กระบวนการผลิตน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องโดยเทคโนโลยีเฮอร์เดิล

นางสาวอรอง จันทร์ประสาทสุข

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-3115-9

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

HURDLE TECHNOLOGY FOR CANNED RED CURRY-PASTE PROCESS

Miss On-ong Chanprasartsuk

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Food Technology

Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-17-3115-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์	กระบวนการผลิตน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องโดยเทคโนโลยีเฮอร์เดิล
โดย	นางสาวอรอง จันทร์ประสาทสุข
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา เลาหสงคราม

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร.วันชัย โพธิ์พิจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. พันธิพา จันทวัฒน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา เลาหสงคราม)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร)

..... กรรมการ
(คุณวราภรณ์ ภาณุไพศาล)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อรอง จันทร์ประสาทสุข : กระบวนการผลิตน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องโดยเทคโนโลยีเฮอร์เดิล. (HURDLE TECHNOLOGY FOR CANNED RED CURRY-PASTE PROCESS) อ. ที่ปรึกษา : รศ.ดร.สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร.กัลยา เลาหสงคราม, 63 หน้า. ISBN xxx-xxx-xxx-x.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการแปรรูปผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องโดยใช้เทคโนโลยีเฮอร์เดิลเพื่อช่วยลดปริมาณความร้อนที่ต้องการในการทำลายจุลินทรีย์ โดยในขั้นตอนแรก ศึกษาผลของการล้างเครื่องเทศที่ใช้เป็นองค์ประกอบในสูตรน้ำพริกแกงเผ็ด ได้แก่ พริกหยวกแห้ง พริกขี้หนูแห้ง กระเทียม หัวหอมแดง มะกรูด ตะไคร้ และข่า ด้วยน้ำ พบว่า การล้างพริกหยวกแห้ง พริกขี้หนูแห้ง กระเทียม หัวหอมแดง มะกรูด และข่า ด้วยน้ำในสัดส่วนเครื่องเทศต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จำนวน 2 ครั้งขึ้นไป และการล้างตะไคร้จำนวน 3 ครั้งขึ้นไปช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และลดปริมาณเชื้อ *C. botulinum* ได้ และเมื่อนำเครื่องเทศที่ผ่านการล้างน้ำดังกล่าวมาผลิตน้ำพริกแกงเผ็ดแล้ววิเคราะห์สมบัติของน้ำพริกแกงเผ็ด พบว่า มีค่า pH, a_w และปริมาณความชื้น เท่ากับ 5.3, 0.96 และ 63.95% ตามลำดับ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 4.93 log CFU/g และไม่พบ viable *C. botulinum* จากนั้นศึกษาผลของค่า pH และ a_w ต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและ viable *C. botulinum* ในน้ำพริกแกงเผ็ด โดยปรับค่า pH ในน้ำพริกแกงเผ็ดที่ระดับ 4.0, 4.5 และ 5.0 ด้วยกรดซิตริก และค่า a_w ที่ระดับ 0.83, 0.88 และ 0.93 ด้วยเกลือแกง บ่มที่อุณหภูมิ 55°C นาน 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน พบว่า น้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH เท่ากับ 4.0 และ a_w เท่ากับ 0.83, 0.88 และ 0.93 มีการลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงสุดและไม่พบ viable *C. botulinum* ในน้ำพริกแกงเผ็ดทุกสภาวะ และจากการวิเคราะห์ชนิดจุลินทรีย์ที่สามารถมีชีวิตรอดในน้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH เท่ากับ 4.0 และ a_w เท่ากับ 0.93 โดยการจัดจำแนกสายพันธุ์ของจุลินทรีย์พบว่าเป็นแบคทีเรียชนิด *B. stearothermophilus* จากการศึกษาการแทรกผ่านความร้อนของน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องที่อุณหภูมิ 110°C เพื่อคำนวณหาเวลาที่ต้องการในการทำลายเชื้อ *B. stearothermophilus* พบว่า เวลาในการฆ่าเชื้อสำหรับ 3D- และ 5D-process มีค่าเท่ากับ 61 และ 87 นาที ตามลำดับ โดยไม่พบการเจริญของเชื้อ *B. stearothermophilus* ในน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องดังกล่าวหลังการบ่มที่อุณหภูมิห้อง, 35°C และ 55°C นาน 1 เดือน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร	ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา 2545	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

 # # 4272466023 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORD: CANNED FOOD / CURRY-PASTE / HURDLE TECHNOLOGY / STERILIZATION / THERMAL PROCESS

ON-ONG CHANPRASARTSUK: HURDLE TECHNOLOGY FOR CANNED RED CURRY-PASTE PROCESS. THESIS ADVISOR: ASSOC.PROF.SAIWARUN CHAIWANICHSIRI,Ph.D., THESIS COADVISOR: ASSOC.PROF.KALAYA LAOHASONGKRAM,Ph.D., 63 pp. ISBN 974-17-3115-9

The objective of this research was to apply the hurdle technology to the canned red curry-paste process in order to reduce the heat required to destroy microorganisms. Spices used included dried big chilli, dried chilli, garlic, red onion, kaffir, lemongrass and galanga. The optimum number of washing the spices was investigated. The washed spices were then ground into red curry-paste. The chemical, physical and microbiological properties of the red curry-paste were analysed. The paste was then adjusted to pH 4.0-5.0 using citric acid and a_w 0.83-0.93 using salt. The samples were incubated at 55°C up to 20 days for microbiological investigation. The results showed that washing dried big chilli, dried chilli, garlic, red onion, kaffir and galanga 2 times and lemongrass 3 times were optimum to reduce the Total Plate Count (TPC) and *C. botulinum*. The prepared red curry-paste had pH, a_w and moisture content of 5.3, 0.96 and 64%, respectively. The TPC was 4.93 log CFU/g and viable *C. botulinum* was not detectable. For the adjusted pH and a_w red curry-paste, the red curry-paste having pH of 4.0 and a_w of 0.83-0.93 had the lowest TPC. There was no viable *C. botulinum* in all red curry-paste samples. And the microorganism survived in the red curry-paste having pH of 4.0 and a_w of 0.93 was found to be *B. stearothermophilus*. The process time of the red curry-paste at 110°C with 3D- and 5D-process was 61 and 87 minutes, respectively. After incubation at ambient temperature, 35°C and 55°C up to 1 month, there was no *B. stearothermophilus* detected.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department Food Technology	Student's signature……
Field of study Food Technology	Advisor's signature……
Academic year 2002	Co-advisor's signature……..

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา เลาหสงคราม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยและการดำเนินชีวิตประจำวัน ตลอดจนช่วยตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สมบูรณ์มากขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.พันธิพา จันทวัฒน์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร และคุณวราภรณ์ ภานุไพศาล ที่กรุณาสละเวลาในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์และเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ให้กับผู้วิจัย

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์ อาจารย์ ดร.ชิดพงศ์ ประดิษฐ์สุวรรณ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นัยนา ชวนเกริกกุล รองศาสตราจารย์ ดร.ชูชาติ ธรรมเจริญ อาจารย์พนวสันต์ เอี่ยมจันทน์ ภาควิชาเคมี และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ภาควิชาจุลชีววิทยา ซึ่งกรุณาให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย ตลอดจนเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และสถานที่สำหรับปฏิบัติงานวิจัย

ขอขอบพระคุณบริษัทสตรองแพ็ค จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ถุงบรรจุภัณฑ์ ห้างหุ้นส่วนจำกัด น้ำพริกแม่ศรี และบริษัทรอยัลแคนอินดัสตรี ที่ให้ความอนุเคราะห์กระป๋องพร้อมฝาสำหรับใช้ในงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ กรมปศุสัตว์ ที่อนุญาตให้ผู้วิจัยใช้เครื่องบรรจุสุญญากาศ

ขอขอบพระคุณอาจารย์และพี่ ๆ ฝ่ายกิจการนิสิต, หน่วยยานพาหนะ, หน่วยซ่อมบำรุง, หน่วยรักษาความปลอดภัย และ เจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่เป็นกำลังใจและให้ความกรุณาช่วยเหลือมาโดยตลอด

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ชมรมค่ายอาสาพัฒนา และภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ที่เป็นกำลังใจและให้ความช่วยเหลือมาโดยตลอด และเนื่องจากทุนการวิจัยนี้บางส่วนได้รับมาจากทุนอุดหนุนและส่งเสริมวิทยานิพนธ์ฯ ของทบวงมหาวิทยาลัย และทุนอุดหนุนโครงการวิจัยฯ ของบัณฑิตวิทยาลัย จึงขอขอบพระคุณทบวงมหาวิทยาลัยและบัณฑิตวิทยาลัยมา ณ ที่นี้ด้วย

และสุดท้ายใคร่ขอกราบขอบพระคุณบิดา-มารดา ตลอดจนญาติพี่น้อง ที่ให้โอกาสทางการศึกษา คำแนะนำ กำลังกาย กำลังใจ ความช่วยเหลือสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จ ลุล่วงลงด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ฌ
สารบัญรูป.....ฐ
บทที่
1. บทนำ.....1
2. วารสารปริทัศน์.....3
2.1 น้ำพริกแกงเผ็ด.....3
2.2 การสเตอริไลซ์(Sterilization).....5
2.3 เทคโนโลยีเฮอร์เดิล (Hurdle technology).....7
2.4 ผลของค่า pH และ a_w ต่อการเจริญของจุลินทรีย์.....13
3. การทดลอง.....15
3.1 ศึกษาจำนวนครั้งที่เหมาะสมในการล้างทำความสะอาดเครื่องเทศ.....15
3.2 เตรียมน้ำพริกแกงเผ็ด.....15
3.3 วิเคราะห์สมบัติของน้ำพริกแกงเผ็ด.....16
3.4 ศึกษาผลของการปรับ pH และ a_w ต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และ viable *C. botulinum* ในน้ำพริกแกงเผ็ด.....17
3.5 วิเคราะห์ชนิดจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในน้ำพริกแกงเผ็ด ที่มีค่า pH และ a_w ที่เลือก.....17
3.6 ศึกษาการแทรกผ่านความร้อนของน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋อง.....18
3.7 ศึกษาการเจริญของเชื้อ *B. stearothermophilus* ในน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋อง.....18
4. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....19
4.1 การศึกษาจำนวนครั้งที่เหมาะสมของการล้างทำความสะอาด เครื่องเทศ.....19
4.2 สมบัติของน้ำพริกแกงเผ็ด.....22

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3 ผลของการปรับค่า pH และ a_w ต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ของน้ำพริกแกงเผ็ดและ viable *C. botulinum*.....22
4.4 การแยกและวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้จากน้ำพริกแกงเผ็ด ...26
4.5 การศึกษาการแทรกผ่านความร้อนของน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋อง 26
4.6 การศึกษาการเจริญของเชื้อ *B. stearothermophilus* ในน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องที่ปรับค่า pH และ a_w 27
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....31
5.1 สรุปผลการทดลอง.....31
5.2 ข้อเสนอแนะ.....31
รายการอ้างอิง.....32
ภาคผนวก.....37
ภาคผนวก ก.....38
ภาคผนวก ข.....44
ภาคผนวก ค.....53
ภาคผนวก ง.....56
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....63

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตาราง หน้า

2.1 สารสำคัญที่มีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ของเครื่องเทศต่างๆ.....4

2.2 ค่า F_0 ของผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิดที่ใช้กันทั่วไป.....6

2.3 hurdles ที่ใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร.....7

3.1 สูตรน้ำพริกแกงเผ็ดที่ใช้ในงานวิจัย.....16

4.1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเครื่องเทศต่างๆ ที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง.....20

4.2 viable *C. botulinum* ของเครื่องเทศต่างๆ ที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง.....21

4.3 สมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์โดยเฉลี่ยของน้ำพริกแกงเผ็ด.....22

4.4 ค่า pH และความดันสุญญากาศของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋อง ที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55°C นาน 20 วัน.....24

4.5 สมบัติเบื้องต้นของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากน้ำพริกแกงเผ็ด.....27

4.6 ปริมาณเชื้อ *B. stearothermophilus* ของน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋อง ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110°C.....30

ข.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ของพริกหยวกแห้งที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง.....44

ข.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ของพริกขี้หนูแห้งที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง.....44

ข.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ของกระเทียมที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง.....44

ข.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ของหัวหอมแดงที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง.....45

ข.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ของผิวมะกรูดที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง.....45

ข.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ของข่าที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง.....45

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง หน้า

ข.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ของตะไคร้ที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง.....46

ข.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ด บรรจุกระป๋องที่ไม่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....46

ข.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ด บรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 5.0 และ 0.93 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....46

ข.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ด บรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 5.0 และ 0.88 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....47

ข.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ด บรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 5.0 และ 0.83 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....47

ข.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ด บรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.5 และ 0.93 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....47

ข.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ด บรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.5 และ 0.88 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....48

ข.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ด บรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.5 และ 0.83 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....48

ข.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ด บรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.0 และ 0.93 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....48

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง หน้า

ข.16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ด บรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.0 และ 0.88 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....49

ข.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ด บรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.0 และ 0.83 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....49

ข.18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศ ของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ไม่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....49

ข.19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของ น้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 5.0 และ 0.93 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....50

ข.20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของ น้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 5.0 และ 0.88 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....50

ข.21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของ น้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 5.0 และ 0.83 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....50

ข.22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของ น้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.5 และ 0.93 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....51

ข.23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของ น้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.5 และ 0.88 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....51

ข.24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของ น้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.5 และ 0.83 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....51

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง หน้า

ข.25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.0 และ 0.93 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....52

ข.26 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.0 และ 0.88 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....52

ข.27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.0 และ 0.83 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน.....52

ค.1 รายละเอียดการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่แยกได้จากน้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH 4.0 และ a_w 0.93.....53

ง.1 Heat penetration data ของน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋อง กำหนดอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อที่ 110°C.....57

ง.2 การคำนวณหาเวลาที่ต้องใช้ในการฆ่าเชื้อน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋อง.....60

ง.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง log g กับ fh /U.....61

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปประกอบ หน้า

2.1 Hurdle effect……9

2.2 ผลของการใช้ hurdle ต่อคุณภาพของอาหาร……10

4.1 กราฟปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55°C นาน 20 วัน……25

4.2 Heat penetration curve ของน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋อง……29

ง.2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า f_h/U กับ log g……62

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันน้ำพริกแกงเผ็ดสำเร็จรูปได้รับความนิยมจากผู้บริโภคอย่างมากทั้งตลาดภายในประเทศและต่างประเทศ เพราะสะดวกต่อการนำไปปรุงเป็นอาหารโดยทุ่นเวลาและค่าใช้จ่ายกว่าการเตรียมน้ำพริกแกงเผ็ดเอง โดยเฉพาะในต่างประเทศซึ่งค่อนข้างยากที่จะหาเครื่องเทศต่างๆที่ใช้เป็นส่วนประกอบได้ครบ อีกทั้งน้ำพริกแกงเผ็ดยังสามารถนำไปปรุงเป็นอาหารไทยได้หลายประเภท เช่น แกงเผ็ด แกงป่า แกงพะแนง ผัดเผ็ด และ ห่อหมก เป็นต้น

ประเทศไทยนับเป็นผู้ผลิตสินค้าประเภทเครื่องแกงสำเร็จรูปรายใหญ่ของโลก ดังนั้นปริมาณการส่งออกน้ำพริกแกงของไทยจึงเพิ่มขึ้นทุกปีตามปริมาณร้านอาหารไทยที่เปิดบริการในต่างประเทศและคนไทยที่พำนักในต่างประเทศตลอดจนผู้อพยพจากประเทศแถบอินโดจีน ถึงแม้ว่าปริมาณและมูลค่าการส่งออกสินค้าประเภทเครื่องแกงสำเร็จรูปจะมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับอาหารประเภทอื่นๆ แต่ข้อมูลการส่งออกในระยะ 3 ปีที่ผ่านมามีแนวโน้มสูงขึ้น โดยในปี 2542 มีปริมาณการส่งออก 4,245 เมตริกตัน มูลค่าการส่งออก 373.0 ล้านบาท ปี 2543 มีปริมาณการส่งออก 5,773 เมตริกตัน มูลค่าการส่งออก 480.3 ล้านบาท สำหรับปี 2544 ถึงแม้ว่าปริมาณการส่งออกจะลดลงเป็น 5,177 เมตริกตัน แต่มูลค่าการส่งออกยังคงเพิ่มขึ้นเป็น 553.9 ล้านบาท และในปี 2545 ช่วงเดือนมกราคมถึงตุลาคมมีปริมาณการส่งออก 4,669 เมตริกตัน มูลค่าการส่งออก 489.7 ล้านบาท (Available from : http://intra2.moc.go.th/prog/eng/exctr3.asp) และคาดว่าจะมีมูลค่าการส่งออกเพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดปี 2545 สำหรับบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ในการบรรจุน้ำพริกแกงเพื่อการจำหน่ายนั้นมีทั้งแบบบรรจุภัณฑ์อ่อนตัว (retort pouch) และกระป๋อง ซึ่งกระป๋องนับว่าเป็นภาชนะบรรจุที่เหมาะสมเพราะสะดวกต่อการนำไปใช้และมีความทนทานต่อการขนส่ง อย่างไรก็ตามน้ำพริกแกงบรรจุกระป๋องต้องผ่านการให้ความร้อนระดับสเตอริไลส์เนื่องจากเป็นอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ ซึ่งความร้อนระดับสูงจะทำให้คุณภาพของน้ำพริกแกงลดลง ดังนั้นการใช้กระบวนการถนอมอาหารอื่นๆ เช่น การใช้สารกันเสีย การปรับค่า pH และค่า a_wที่มีผลต่อการเจริญ การอยู่รอด และ เมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ (Booth and Kroll, 1989) อาจเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถจำกัดชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในน้ำพริกแกงเผ็ดก่อนผ่านกระบวนการให้ความร้อนเพื่อทำให้ปริมาณความร้อนที่ต้องการใช้ในการทำลายจุลินทรีย์น้อยลง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนากระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องโดยใช้เทคโนโลยีเฮอร์เดิลซึ่งเป็นเทคโนโลยีการถนอม

อาหารที่ถูกพัฒนาขึ้นโดยใช้พารามิเตอร์ที่มีผลในการถนอมอาหารระดับที่เหมาะสม เพื่อช่วยลดปริมาณความร้อนที่ต้องการในการทำลายจุลินทรีย์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

เครื่องแกงหรือบางครั้งเรียกว่าน้ำพริกแกง เป็นส่วนผสมของเครื่องเทศชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการปรุงอาหารประเภทแกง ได้แก่ ข่า ตะไคร้ ผิวมะกรูด กระเทียม และพริกแห้ง ซึ่งให้สารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายทั้งในด้านป้องกันการเกิดมะเร็ง (แก้ว กังสดาลอำไพ, 2544; สมศรี เจริญเกียรติกุล และคณะ, 2545; Murakami, Ohigashi and Koshimizu, 1994) เป็นตัวต้านการออกซิไดซ์ (ชัยรัชฎ์ พานิช และอวันวี เพชรคงแก้ว, 2541) และต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, สายศิริ ศิลป์วุฒิ และมยุรา วงษ์ยี่หวา, 2543; นิศาวรรณ ศิรินาวิน และณัฐินี ติรโชติ, 2543) เครื่องแกงไทยมีหลายชนิด เช่น แกงเผ็ด แกงเลียง แกงส้ม แกงเขียวหวาน แกงพะแนง และแกงมัสมั่น เป็นต้น โดยเครื่องแกงแต่ละอย่างจะมีวิธีการเตรียมเครื่องเทศที่เป็นส่วนประกอบเหมือนกัน แตกต่างกันที่ชนิดและปริมาณของเครื่องเทศที่ผสมลงไป (กรรณิการ์ พรมเสาร์ และนันทา เบญจศิลารักษ์, 2542) ซึ่งกรรมวิธีในการผลิตน้ำพริกแกงจะนำเครื่องเทศมาโขลกรวมกันจนแหลกละเอียด และน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศที่ถูกบดจนแหลกจะส่งกลิ่นหอมซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของน้ำพริกแกงชนิดนั้นๆ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, สมโภช พจนพิมล และคณะ, 2543; กรรณิการ์ พรมเสาร์ และนันทา เบญจศิลารักษ์, 2542)

2.1 น้ำพริกแกงเผ็ด

น้ำพริกแกงเผ็ดเป็นน้ำพริกแกงที่ใช้ในการเตรียมอาหารไทยประเภทแกงเผ็ดและยังสามารถนำไปปรุงเป็นอาหารไทยได้อีกหลายประเภท เช่น แกงป่า ผัดเผ็ด และห่อหมก เป็นต้น (กรรณิการ์ พรมเสาร์ และนันทา เบญจศิลารักษ์, 2542) ทำให้น้ำพริกแกงเผ็ดได้รับความนิยมจากผู้บริโภคเป็นอย่างมาก เครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำพริกแกงเผ็ด ได้แก่ ข่า ตะไคร้ ผิวมะกรูด กระเทียม หัวหอมแดง และพริกแห้ง โดยอาจผสมเครื่องเทศบางชนิด เช่น พริกไทย ลูกผักชี และยี่หร่าด้วย (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, สมโภช พจนพิมล และคณะ, 2543)

2.1.1 สารที่มีสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ในเครื่องเทศ

เครื่องเทศมีน้ำมันหอมระเหย ซึ่งเป็นสารผสมระหว่างเรซิน (resin) กับกัม (gum) พบเฉพาะในโครงสร้างของพืชบางชนิด เช่น พืชในตระกูล Zingiberaceae, Orchidaceae,

Myristaceae, Lauraceae, Rutaceae, Umbelliferae และ Compositae เป็นต้น สารที่พืชเหล่านี้หลั่งออกมาเป็นสารที่มีความสำคัญและมาจากธรรมชาติซึ่งไม่มีพิษมีภัยต่อร่างกาย (Hardman, 1972) สำหรับเครื่องเทศที่ใช้เป็นองค์ประกอบของน้ำพริกแกงเผ็ดจะมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งมีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 สารสำคัญที่มีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ของเครื่องเทศต่างๆ

เครื่องเทศ	ชื่อวิทยาศาสตร์	สารประกอบสำคัญ	จุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้ง
พริก	*Capsicum annuum* Linn.	Capsaicin	แบคทีเรีย
กระเทียม	*Allium sativum* Linn.	Allicin, Dially trisulfide	แบคทีเรีย ยีสต์และรา
หัวหอมแดง	*Allium ascalonicum* Linn.	Methylpropyl disulfide Dipropyl trisulfide Allyl propyl disulfide	แบคทีเรีย และรา
มะกรูด	*Citrus hystrix* D.C.	Beta-pinene Limonene Sabinene	แบคทีเรีย และรา
ตะไคร้	*Cymbopogon citratus* Stapf.	Citral Linalool Myrcene Eugenol Geraniol	แบคทีเรีย ยีสต์และรา
ข่า	*Alpinia nigra* (Gaertn.) B.L. Burtt	Cineol Eugenol Methyl cinnamate	แบคทีเรีย ยีสต์และรา

ที่มา: บัญญัติ สุขศรีงาม (2527); สมศรี เจริญเกียรติกุล และคณะ (2545)

2.2 **การสเตอริไลซ์** (Sterilization)

เป็นการใช้อุณหภูมิ 100°C หรือสูงกว่า เพื่อทำลายจุลินทรีย์ทุกชนิดรวมทั้งสปอร์ ทำให้สามารถเก็บรักษาอาหารไว้ได้นานที่อุณหภูมิห้อง (อัญชลี ศิริโชติ, 2531)

2.2.1 <u>การสเตอริไลซ์แบบการค้า</u> (Commercial sterilization)

เป็นการใช้ความร้อนในการทำลายจุลินทรีย์ในอาหารโดยที่อาหารนั้นยังมีจุลินทรีย์เหลืออยู่แต่ไม่สามารถเจริญได้ และสามารถเก็บอาหารนั้นไว้ได้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่เกิดการเสื่อมเสีย เนื่องจากกระบวนการผลิตอาหารกระป๋องนั้นไม่สามารถฆ่าเชื้ออาหารให้ปราศจากจุลินทรีย์ได้ตามหลักการสเตอริไลซ์เพราะต้องใช้ปริมาณความร้อนสูงมาก ซึ่งจะทำให้อาหารสูญเสียคุณภาพ (Doyle, Beuchat and Montville, 1997) โดยทั่วไปจะใช้ 12D-process ในอาหารกระป๋องที่มีความเป็นกรดต่ำ (low-acid food) เพื่อทำลายสปอร์ของเชื้อ *C. botulinum* ซึ่งมีความทนทานต่อความร้อนสูง และเป็นเชื้อที่สามารถสร้างสารพิษเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ (Ray, 2001)

2.2.2 <u>ค่า F_0</u>

เป็นค่าของการทำลาย (lethal value) ใช้เปรียบเทียบความสามารถในการทำลายสปอร์ของเชื้อ *C. botulinum* โดยมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการกำหนดค่า F_0 ในกระบวนการแปรรูปอาหารกระป๋อง ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นของวัตถุดิบ จำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นระหว่างการเตรียม และลักษณะของอาหาร (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก, 2532) ดังนั้นค่า F_0 ของอาหารแต่ละชนิดจึงมีค่าไม่เท่ากัน ตารางที่ 2.2 เป็นตัวอย่างค่า F_0 ของผลิตภัณฑ์ต่างๆ

กุลวดี ตรองพาณิชย์, กาญจนกิจ วาจนะวินิจ และอุไร เผ่าสังข์ทอง (2533) ศึกษาหาความต้านทานของจุลินทรีย์ที่สามารถทนความร้อนได้สูงสุดที่แยกได้จากน้ำพริกแกงเผ็ดแดงและน้ำพริกแกงเขียวหวาน พบว่าแบคทีเรียที่สามารถทนความร้อนได้สูงสุดของน้ำพริกแกงเผ็ดแดงบรรจุกระป๋องคือ *Corynebacterium sp.* โดยมีค่า decimal reduction time (D_{230}) เท่ากับ 3.3-3.8 นาที ค่า thermal resistance (Z) เท่ากับ 37.5-40°F และผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกงเผ็ดแดงมีค่า F_{250} เท่ากับ 1.59-1.83 นาที แบคทีเรียที่สามารถทนต่อความร้อนได้สูงสุดของน้ำพริกแกงเขียวหวานบรรจุกระป๋องคือ *Bacillus firmus* โดยมีค่า D_{230} เท่ากับ 2.5-3.0 นาที

ค่า Z เท่ากับ 25-29°F และผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกงเขียวหวานมีค่า F_{250} เท่ากับ 0.83-0.95 นาที ในการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนของน้ำพริกแกงเผ็ดแดงและแกงเขียวหวานบรรจุกระป๋องที่อุณหภูมิหม้อนึ่ง 230°F ถ้าน้ำพริกแกงเผ็ดมีอุณหภูมิเริ่มต้น (T_{ih}) ไม่ต่ำกว่า 131.7°F และค่าความชันของกราฟการแทรกผ่านความร้อน (f_h) ไม่มากกว่า 26 นาที จะต้องใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ (B_B) ไม่ต่ำกว่า 50 นาที ในขณะที่น้ำพริกแกงเขียวหวานที่มี T_{ih} ไม่ต่ำกว่า 128.6°F และ f_h ไม่มากกว่า 26 นาที จะต้องใช้เวลาในการฆ่าเชื้อไม่ต่ำกว่า 40 นาที

ตารางที่ 2.2 ค่า F_0 ของผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิดที่ใช้กันทั่วไป

ผลิตภัณฑ์	ขนาดกระป๋อง	ค่า F_0
อาหารเด็ก	202 x 308	3 – 5
ถั่วในซอสมะเขือเทศ	ทุกขนาด	4 – 6
ถั่วลันเตาในน้ำเกลือ	307 x 409 หรือเล็กกว่า	6
	307 x 409 ถึง 603 x 700	6 - 8
แครอท	ทุกขนาด	3 - 4
ถั่วแขกในน้ำเกลือ	307 x 409 หรือเล็กกว่า	4 - 6
เห็ดในน้ำเกลือ	300 x 410	8 - 10
เนื้อในน้ำแกรวี	ทุกขนาด	12 - 15
ไส้กรอกในน้ำมัน	300 x 410 และเล็กกว่า	4 - 6
ไส้กรอกในน้ำเกลือ	300 x 410 และเล็กกว่า	3 - 4
แกงเนื้อใส่ผัก	300 x 410 และเล็กกว่า	8 – 12
ไก่ทั้งชิ้นในน้ำเกลือ	401 x 411 ถึง 603 x 700	15 – 18
ปลาในซอสมะเขือเทศ	300 x 410 และเล็กกว่า	10
ซุปมะเขือเทศ	ทุกขนาด	3
อาหารสัตว์เลี้ยง	300 x 410	15 - 18
ซุปข้าวโพด	307 x 409	5 - 6
หน่อไม้ฝรั่ง	ทุกขนาด	2 – 4
ข้าวโพดอ่อนในน้ำเกลือ	307 x 409	9

ที่มา : ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก (2532)

2.3 **เทคโนโลยีเฮอร์เดิล** (Hurdle technology)

เทคโนโลยีเฮอร์เดิลเป็นเทคโนโลยีการถนอมอาหารที่ถูกพัฒนาขึ้นโดยใช้พารามิเตอร์ที่มีผลในการถนอมอาหารในระดับที่เหมาะสมร่วมกันอย่างน้อย 2 อย่าง เพื่อให้ผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้มีความปลอดภัยต่อการบริโภค มีคุณค่าทางอาหาร มีรสชาติที่ดี สามารถเก็บไว้ได้เป็นเวลานาน และประหยัดค่าใช้จ่ายในการผลิตและการเก็บรักษา (Leistner and Gorris, 1995) ซึ่งจะทำให้ผู้บริโภคได้รับอาหารที่มีคุณภาพและช่วยลดค่าใช้จ่ายให้กับผู้ผลิตด้วย

วิธีการถนอมอาหารที่นำมาใช้ เช่น การให้ความร้อน, การแช่เย็น, การแช่แข็ง, การทำแห้ง ฯลฯ จะมีความสัมพันธ์กับพารามิเตอร์หรือ hurdle บางอย่าง เช่น การใช้อุณหภูมิสูงมีความสัมพันธ์กับค่า F-value การใช้อุณหภูมิต่ำมีความสัมพันธ์กับค่า t-value การลดค่า water activity มีความสัมพันธ์กับค่า a_w และการเติมกรดในอาหาร (acidification) มีความสัมพันธ์กับค่า pH เป็นต้น (Leistner, 1999) โดย hurdle ที่นำมาใช้มีผลทำให้การเจริญของจุลินทรีย์เปลี่ยนไปทำให้อาหารที่ได้ปลอดภัยจากการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ ตัวอย่าง hurdles ที่ใช้ในกระบวนการผลิตอาหารแสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 Hurdles ที่ใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร

Hurdles	ตัวอย่างของ hurdles
Temperature	low or high
pH	low or high
a_w	low or high
Redox potential (Eh)	low or high
Modified atmosphere	carbon dioxide, oxygen, etc.
Packaging	vacuum packing, aseptic packing, new edible coating, etc.
Radiation	microwaves, UV, ionizing, etc.
Other physical process	high electric field pulses, ohmic heating, etc.
Competitive flora	lactic acid bacteria, etc.
Preservative	organic acids, lactate, acetate, sorbate, ascorbate, etc.

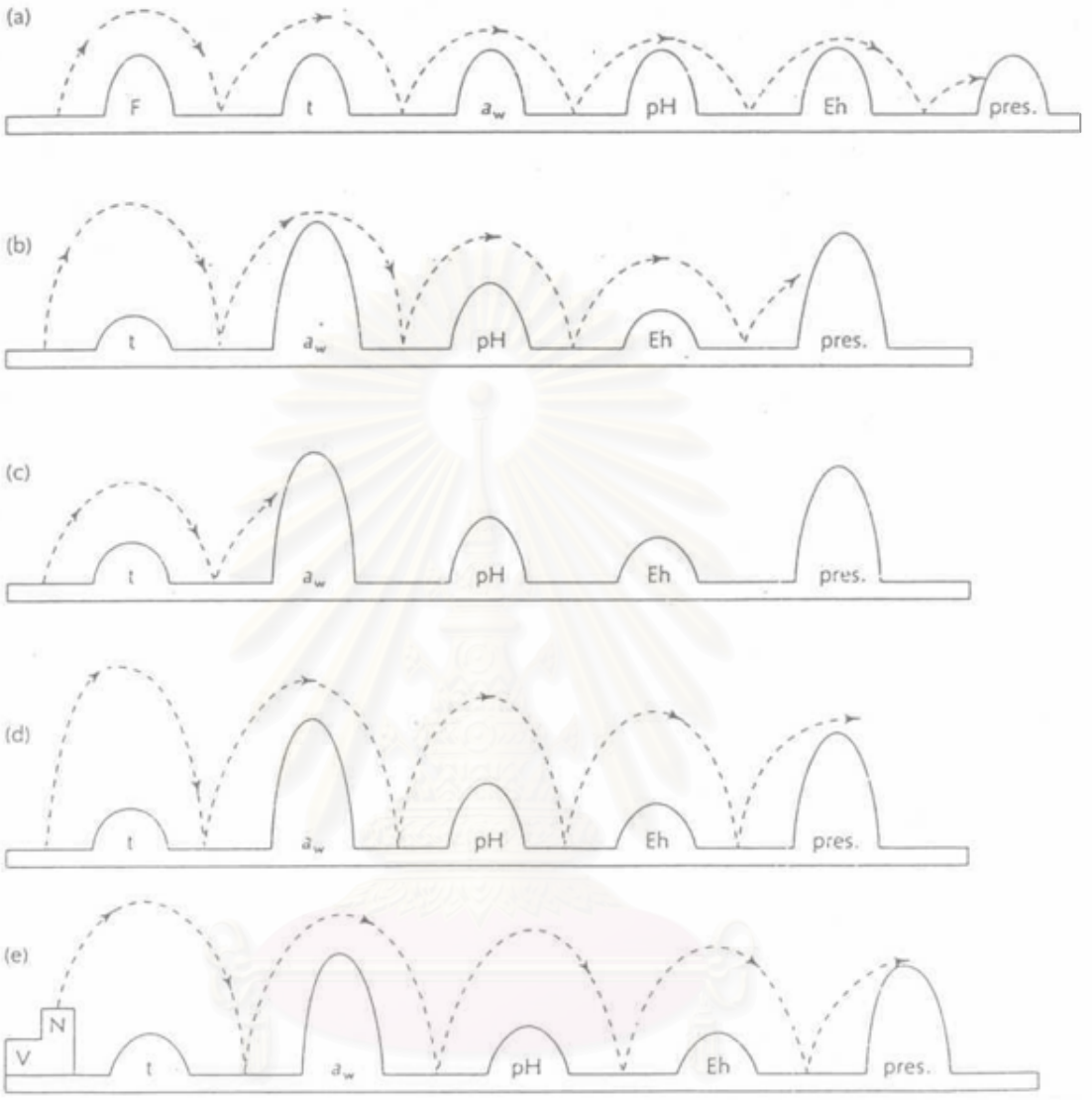
ที่มา: Leistner (1994b)

2.3.1 Hurdle effect

การผลิตอาหารให้ปลอดภัยจากการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์โดยใช้เทคโนโลยีเฮอร์เดิลเป็นวิธีการเฉพาะของอาหารแต่ละชนิด ขึ้นอยู่กับระดับความรุนแรงของ hurdle ที่นำมาใช้ (Leistner, 1999) ซึ่งผลของ hurdle ที่เสริมกันสามารถอธิบายได้ด้วย hurdle effect (Leistner, 1992) ดังรูปที่ 2.1-a แสดงการถนอมอาหารโดยใช้ hurdle 6 อย่าง ซึ่งแทนด้วยภูเขา 6 ลูก ได้แก่ F-value, t-value, a_w, pH, Eh และการใช้วัตถุกันเสีย และเส้นประแทนจุลินทรีย์ที่สามารถกระโดดข้ามผ่าน hurdle บางอย่างได้ แต่อาจไม่สามารถผ่าน hurdle ทั้งหมดที่นำมาใช้ร่วมกันได้ hurdle แต่ละอย่างจะมีระดับความรุนแรงที่ต่างกัน เช่น รูปที่ 2.1-b ค่า a_w และการใช้วัตถุกันเสียเป็น hurdle หลัก ส่วนค่า t-value, pH และ Eh เป็น hurdle รอง ในกรณีที่มีจุลินทรีย์เริ่มต้นปริมาณไม่มาก (รูป 2.1-c) การใช้ hurdle เพียงไม่กี่อย่างหรือ hurdle ที่มีระดับไม่รุนแรงสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ แต่ถ้าจุลินทรีย์เริ่มต้นมีปริมาณมากอันเนื่องมาจากการขาดสุขลักษณะที่ดีในการผลิตอาหารหรืออาหารที่มีปริมาณสารอาหารและวิตามินมากซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่ดีให้กับจุลินทรีย์ทำให้มีการเจริญเพิ่มมากขึ้น (booster effect) hurdle ที่นำมาใช้อาจไม่สามารถป้องกันอาหารจากจุลินทรีย์ได้ (รูป 2.1-d และ e) (Leistner and Gorris, 1995)

2.3.2 Total quality

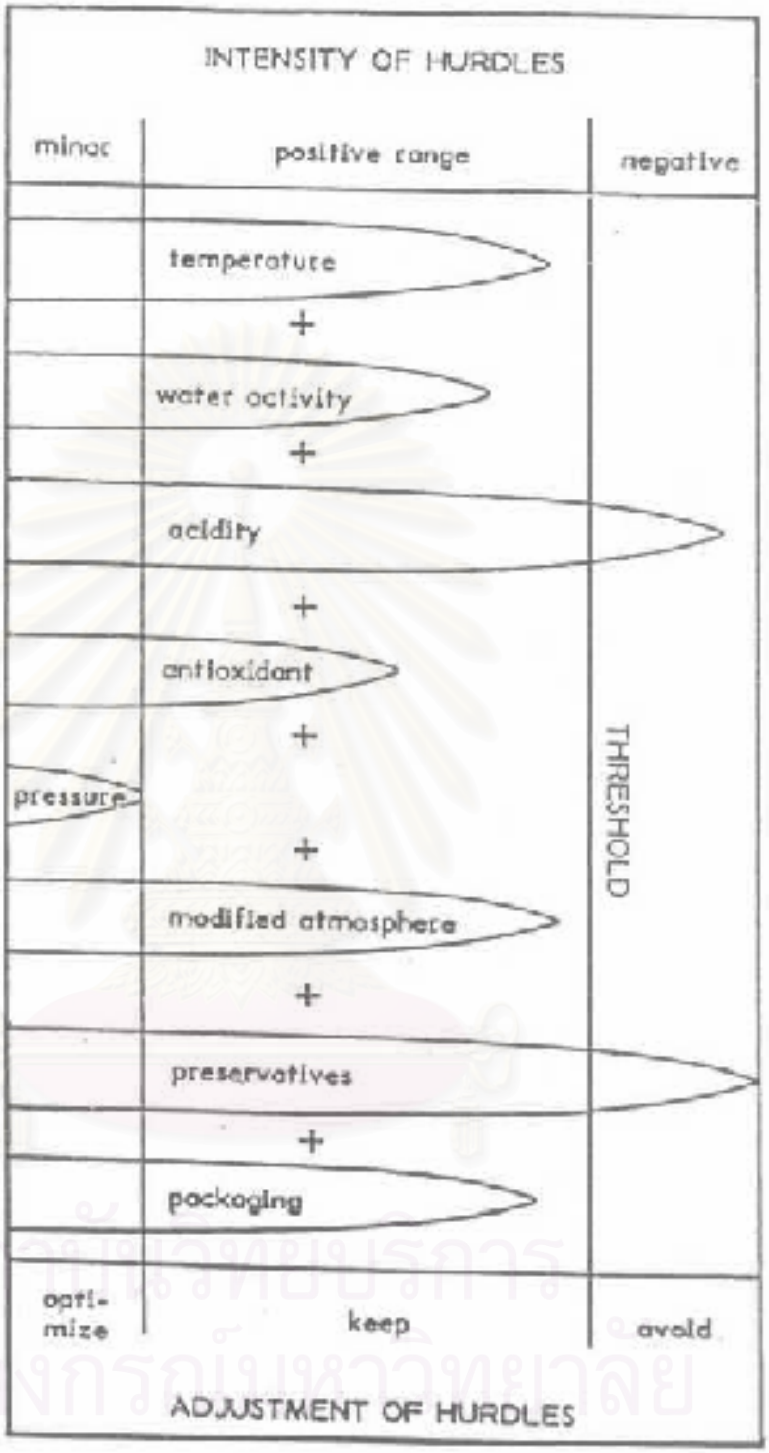
hurdle ที่นำมาใช้ในการถนอมอาหารนอกจากจะมีผลต่อความปลอดภัยของอาหารเนื่องจากมีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์แล้ว ยังอาจมีผลต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสและคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ด้วย (Leistner, 1999) รูปที่ 2.2 แสดงผลของระดับความรุนแรงของ hurdle ที่ให้แก่อาหาร ถ้าแท่งแนวนอนแต่ละแท่งแทน hurdle ที่ใช้ จะเห็นได้ว่าการใช้ระดับความรุนแรงของ hurdle ในช่วงที่เหมาะสมทำให้สามารถเก็บรักษาคุณลักษณะที่ดีของอาหารไว้ได้ แต่ถ้าเพิ่มระดับความรุนแรงของ hurdle ให้สูงเกินช่วงที่เหมาะสมจะทำให้เกิดผลเสียต่อคุณภาพโดยรวมของอาหารที่ได้ ดังนั้นการปรับระดับความเข้มของ hurdle ให้กับอาหารควรพิจารณาทั้งด้านความปลอดภัยและคุณภาพของอาหารที่ได้ด้วย (Leistner, 1994a)



รูปที่ 2.1 Hurdle effect

ที่มา : Leistner and Gorris (1995)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.2 ผลของการใช้ hurdle ต่อคุณภาพของอาหาร

ที่มา : Leistner (1994a)

2.3.3 พฤติกรรมของจุลินทรีย์ระหว่างการถนอมอาหาร

การถนอมอาหารเป็นการสร้างสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมให้กับจุลินทรีย์ เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทำให้จุลินทรีย์มีชีวิตสั้นลงหรือตายในที่สุด (Leistner, 1999) การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการถนอมอาหารแบ่งเป็น 3 ลักษณะ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลง homeostasis, การเกิด metabolic exhaustion และการเกิด stress reaction (Leistner, 2000)

2.3.3.1 การเปลี่ยนแปลง Homeostasis

Homeostasis เป็นค่าคงที่ทางสรีรวิทยาที่มีความสัมพันธ์กับค่าแรงดันออสโมติกภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ที่เซลล์พยายามรักษาไว้ให้คงที่ การนำ hurdle มาใช้ในการถนอมอาหารเป็นการสร้างสภาวะที่ไม่เหมาะสมให้จุลินทรีย์ โดยอาจรบกวนระบบ homeostasis ของเซลล์เพียงระบบเดียวหรือพร้อมกันหลายระบบ (Leistner, 1999) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกลไกของระบบ homeostasis เพื่อปรับตัวให้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ (Leistner and Gorris, 1995) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงกลไกของระบบ homeostasis ต้องการใช้พลังงานเป็นจำนวนมาก ทำให้จุลินทรีย์เหลือพลังงานในปริมาณจำกัด ไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้และอยู่ในสภาวะ lag phase (Gould, 1995)

2.3.3.2 การเกิด Metabolic exhaustion

Metabolic exhaustion คือ ภาวะเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์อ่อนแอ ซึ่งเกิดขึ้นหลังการเปลี่ยนแปลงกลไกของระบบ homeostasis โดยจุลินทรีย์จะใช้พลังงานที่เหลือจนหมดและตายลงทำให้เกิด autosterilization ในอาหาร ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้ปลอดภัยจากจุลินทรีย์เมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้อง (Leistner, 1999)

2.3.3.3 การเกิด Stress reaction

Stress reaction เป็นข้อจำกัดของการนำ hurdle technology มาใช้ในอาหาร โดยจุลินทรีย์ที่มีความต้านทานความร้อนสูงหรือทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้จะสร้าง stress shock protein ซึ่งทำให้เซลล์สามารถทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้มากขึ้น การสร้าง

stress shock protein ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดได้ด้วยความร้อน, pH, a_w และสภาวะขาดแคลนอาหาร แต่การกระตุ้นยีนของจุลินทรีย์ให้เกิดการสร้าง stress shock protein จะทำให้เซลล์ต้องใช้พลังงานมากขึ้นส่งผลให้กระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ลดลงได้ (Leistner, 2000)

2.3.4 การนำเทคโนโลยีเฮอร์เดิลมาใช้ในอาหาร

สุมณฑา วัฒนสินธุ์ และคณะ (2543) ศึกษาการพัฒนาเทคโนโลยีการเก็บรักษาเครื่องแกงเผ็ดโดยใช้เทคโนโลยีเฮอร์เดิล โดยนำเครื่องแกงเผ็ดมาเติมน้ำ (deionized water) และ humectant (Fruit rin ® Liquid ϕ 4148 OU) ร้อยละ 20 เก็บที่อุณหภูมิ 35°C จากผลการประเมินทางประสาทสัมผัสพบว่าการเติมน้ำลงในเครื่องแกงเผ็ดทำให้ค่า a_w เพิ่มขึ้น ความเข้มข้นของกลิ่นเครื่องเทศลดลงและมีอายุการเก็บสั้นลง ส่วน humectant ที่นำมาใช้ในการศึกษาไม่เหมาะสมเนื่องจากมีกลิ่นผลไม้ จึงทำให้เครื่องแกงเผ็ดมีอายุการเก็บสั้นลงเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ไม่เติม humectant ทำให้เกิดการหายไปของกลิ่นเครื่องเทศและเกิดกลิ่นหมักขึ้นมาแทนที่

Guerrero, Alzamora และ Gerschenson (1994) ศึกษาการยืดอายุการเก็บของ banana puree โดยใช้เทคโนโลยีเฮอร์เดิล พบว่าเมื่อนำ banana puree มาปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 3.4 และ 0.97 ตามลำดับ เติม ascorbic acid 250 ppm potassium sorbate 100 ppm และsodium bisulphite 400 ppm บรรจุใน pouch ชนิด Cryovac CN530 R film และผ่านการให้ความร้อนที่ 100°C นาน 1 นาที จะสามารถเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 25°C ได้เป็นเวลาอย่างน้อย 120 วัน

Karthikeyan และคณะ (2000) ศึกษาการยืดอายุการเก็บของ Caprine keema ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อแกะท้องถิ่นของประเทศอินเดียด้วยเทคโนโลยีเฮอร์เดิล โดยปรับค่า pH ของผลิตภัณฑ์ด้วยกรดแลกติก และปรับค่า a_w ด้วย humectant ร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศ การเติมวัตถุกันเสีย และการให้ความร้อน พบว่าอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งกลุ่มที่ใช้และไม่ใช้ออกซิเจนในผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่อุณหภูมิห้องลดลง และ hurdle ที่ใช้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้

Lombard และคณะ (2000) ศึกษาการยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ South African steamed bread บรรจุกระป๋องด้วยเทคโนโลยีเฮอร์เดิล โดยการเติมเกลือและกลีเซอรอล

เพื่อลดค่า a_w เติมกรดแลกติกผงเพื่อลดค่า pH เติมไขมันพืชบริสุทธิ์เพื่อรักษาความสด และเติม calcium propionate เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ลงในสูตร steamed bread มาตรฐาน ให้ความร้อนเพื่อทำลายจุลินทรีย์จนกระทั่ง steamed bread มีอุณหภูมิภายในถึง 90°C เก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 30°C แล้วนำมาวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total viable plate count) และปริมาณยีสต์และราหลังการเก็บเป็นเวลา 0-21 วัน พบว่าปริมาณยีสต์และรามีค่าต่ำเนื่องจากยีสต์และราเป็นเชื้อที่ไวต่อความร้อน และการบรรจุแบบสุญญากาศจะทำให้ราไม่สามารถเจริญได้เนื่องจากไม่มี O_2 นอกจากนี้ calcium propionate ยังช่วยควบคุมการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และค่า a_w ที่ลดลงสามารถยับยั้งการเจริญและการงอกของสปอร์เชื้อ *C. botulinum* ในผลิตภัณฑ์ได้

2.4 ผลของค่า pH และ a_w ต่อการเจริญของจุลินทรีย์

การลดค่า pH ให้ต่ำกว่าระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ร่วมกับการลดค่า a_w ทำให้อัตราการเจริญของจุลินทรีย์ลดลง (Troller, 1995) โดยที่ค่า pH ต่ำเป็นภาวะที่มีความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนสูงซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Baird-Parker, 1980) และที่สภาวะ a_w ต่ำ จุลินทรีย์จะสูญเสียแรงดันเต่งภายในเซลล์ทำให้เกิดอาการเซลล์เหี่ยว (plasmolysis) เซลล์จึงไม่สามารถเจริญหรืออยู่ในสภาวะ lag phase (Ray, 2001)

Genigeorgis และ Sadler (1966) ศึกษาผลการใช้ปริมาณ NaCl ร่วมกับการปรับค่า pH ต่อการเจริญและการสร้าง enterotoxin B ของเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ S-6 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion (BHI) ที่แปรปริมาณ NaCl เป็น 2-16% (น้ำหนักต่อปริมาตร) และปรับค่า pH ให้เป็น 5.1-6.9 บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 10 วัน เก็บตัวอย่างวัดค่าความหนาแน่นของเชื้อที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร พบว่าอัตราการเจริญและการสร้าง enterotoxin B ของเชื้อ *S. aureus* ลดลง เมื่อค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าต่ำลงหรือเมื่อความเข้มข้นของปริมาณ NaCl เพิ่มขึ้น

Genigeorgis และคณะ (1971) ศึกษาผลการใช้ปริมาณ NaCl ร่วมกับการปรับค่า pH ต่อการเจริญและการสร้าง enterotoxin C ของเชื้อ *S. aureus* strain 137 (ATCC 19095) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ protein hydrolysate powder (PHP) 3% ร่วมกับ N-Z amine NAK 3% ที่แปรปริมาณ NaCl เป็น 0-12% และปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 4.00-9.83 บ่มที่อุณหภูมิ 37°C แล้ว

นำมาเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง blood-agar พบว่าปริมาณ NaCl ที่เพิ่มขึ้นจะช่วยจำกัดช่วงค่า pH ที่เชื้อสามารถเจริญได้ให้แคบลงและช่วยลดการสร้าง enterotoxin C ได้

Montville (1983) ศึกษาผลของค่า pH และปริมาณ NaCl ต่ออัตราการเจริญของเชื้อ *C. botulinum* 62A โดยนำสปอร์ของเชื้อ *C. botulinum* 62A ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ botulinum assay medium (BAM) ที่แปรปริมาณ NaCl เป็น 0-6 % และปรับค่า pH เป็น 5.0-7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 30°C นาน 30 วัน นำมาวัดค่าความหนาแน่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 610 นาโนเมตร พบว่าการเพิ่มปริมาณ NaCl ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่า pH ต่ำสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. botulinum* 62A ได้ และการลดค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อมีปริมาณ NaCl คงที่จะทำให้เชื้อมีช่วง lag phase นานขึ้น

Montville (1984) ศึกษาผลของ pH และปริมาณเกลือต่อการเจริญของสปอร์เชื้อ *C. botulinum* 62 A โดยเตรียม botulinum assay medium (BAM) ที่แปรปริมาณเกลือเป็น 0-3% และปรับค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อให้อยู่ในช่วง 5.5-7.0 นำสปอร์เชื้อ *C. botulinum* 62 A spread ลงอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ บ่มที่อุณหภูมิ 30°C นับจำนวนเซลล์หลังจากบ่มไว้ 7 วัน พบว่าการลดค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับการเพิ่มปริมาณเกลือจะช่วยลดการเจริญของสปอร์เชื้อ *C. botulinum* 62 A ได้

Dodds (1989) ศึกษาผลร่วมกันของ a_w และ pH ต่อการสร้างสารพิษโดย *C. botulinum* ในมันฝรั่งสุกบด โดยผสมสารละลายสปอร์เชื้อ *C. botulinum* 10 สายพันธุ์ใส่ลงในมันฝรั่งสุกบดที่ปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 5.0-6.0 และ 0.960-0.980 ตามลำดับ บรรจุแบบสุญญากาศ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25°C สุ่มตัวอย่างวิเคราะห์การสร้างสารพิษหลังการบ่ม พบว่าการลดค่า pH ร่วมกับการลดค่า a_w ให้ต่ำลงสามารถยับยั้งการสร้างสารพิษ botulin ในมันฝรั่งสุกบดได้

บทที่ 3

การทดลอง

3.1 ศึกษาการลดปริมาณจุลินทรีย์โดยการล้างทำความสะอาดเครื่องเทศ

3.1.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำเครื่องเทศที่ใช้เป็นส่วนประกอบของน้ำพริกแกงเผ็ด ได้แก่ พริกหยวกแห้ง พริกขี้หนูแห้ง กระเทียม หัวหอมแดง มะกรูด ตะไคร้ และข่า ซึ่งซื้อมาจากปากคลองตลาด กรุงเทพมหานคร มาคัดแยกของเสียออก และตัดแต่ง โดยพริกหยวกแห้งเด็ดขั้วออกและผ่าครึ่งตามแนวยาวของผล พริกขี้หนูแห้งเด็ดขั้วออก กระเทียมผ่านการแยกเปลือกที่ร่อนออก หัวหอมแดงผ่านการตัดรากและปอกเปลือก และตะไคร้ผ่านการตัดส่วนใบและรากออก

3.1.2 การลดปริมาณจุลินทรีย์บนวัตถุดิบโดยการล้างทำความสะอาด

ล้างเครื่องเทศโดยใช้ปริมาณเครื่องเทศ 200 กรัม ต่อน้ำประปา 4 ลิตร โดยแปรจำนวนครั้งที่ล้างเป็น 0-4 ครั้ง หลังการล้างแต่ละครั้ง วางพักบนตะแกรงให้สะเด็ดน้ำนาน 5 นาที สุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Plate Count) โดยดัดแปลงวิธีจากสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม (2523) (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.2) และ viable *C. botulinum* (FDA, 1992) (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.4) ในเครื่องเทศ

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test

3.2 เตรียมน้ำพริกแกงเผ็ด

น้ำพริกแกงเผ็ดเตรียมที่ อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี โดยนำเครื่องเทศทั้งหมดมาคัดแยกของเสียออก และตัดแต่ง จากนั้นแบ่งเครื่องเทศครั้งละ 1 กก. ใส่บนตาข่ายไนล่อนแล้วนำไปล้างในน้ำที่มีการหมุนกวนในอัตรา 2 รอบ ต่อ 1 วินาที ปริมาตร 20 ลิตร นาน 15 วินาที ตามจำนวนครั้งที่

ได้จากการทดลองข้อ 3.1.2 หลังล้างเสร็จนำขึ้นมาพักให้สะเด็ดน้ำนาน 10 นาที สำหรับมะกรูด ตะไคร้ และข่าหลังผ่านการล้างจะนำมาตัดแต่ง โดยปอกเอาเฉพาะผิวมะกรูด และหั่นตะไคร้และข่าให้มีขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร และ 0.5 เซนติเมตร ตามลำดับ นำส่วนผสมทั้งหมดตามสัดส่วนที่แสดงในตารางที่ 3.1 เข้าเครื่องโม่หินซึ่งมีลักษณะเป็นหินโม่แนวตั้ง 2 อันประกบกัน โดยหินโม่แต่ละอันมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 30 เซนติเมตร และมีความหนาเท่ากับ 8 เซนติเมตร มีอัตราเร็วในการโม่เท่ากับ 1 กิโลกรัมต่อ 1 นาที บรรจุน้ำพริกแกงเผ็ดที่ผลิตได้ในถุง polyethylene 2 ชั้น ขนส่งถึงภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารซึ่งใช้เวลาเดินทางประมาณ 2 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.1 ปริมาณองค์ประกอบในน้ำพริกแกงเผ็ดที่ใช้ในการทดลอง

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (%)
กระเทียม	28.1
ตะไคร้	15.9
หัวหอมแดง	15.0
ข่า	11.0
พริกหยวกแห้ง	11.0
กะปิ	6.7
พริกขี้หนูแห้ง	4.9
ผิวมะกรูด	4.4
เกลือแกง	3.0

ที่มา: ดัดแปลงจากสถาบันอาหารตวงทิพย์ (2539)

3.3 วิเคราะห์สมบัติของน้ำพริกแกงเผ็ด

วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของน้ำพริกแกงเผ็ดที่เตรียมได้ตามข้อ 3.2 โดยวัดและวิเคราะห์ค่าต่างๆ จำนวน 3 ซ้ำ ดังนี้

3.3.1 ค่า pH โดยใช้ pH meter Thermo Orion model 210A+

3.3.2 ค่า water activity (a_w) โดยใช้เครื่องวัดค่า a_w NOVASINA AW SPRINT(TH500)

3.3.3 ปริมาณความชื้น โดยดัดแปลงจากวิธี A.O.A.C. (1995) section 43.1.04 (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.1)

3.3.4 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

3.3.5 ปริมาณยีสต์และรา โดยดัดแปลงวิธีจากศิริโฉม ทุ่งเก้า (2543) (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.3)

3.3.6 viable *C. botulinum*

3.4 ศึกษาผลของการปรับค่า pH และ a_w ต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และ viable *C. botulinum* ในน้ำพริกแกงเผ็ด

ปรับค่า pH และ a_w ของน้ำพริกแกงเผ็ดเท่ากับ 4.0, 4.5 และ 5.0 ด้วยกรดซิตริก (food grade) และ 0.83, 0.88 และ 0.93 ด้วยเกลือแกง ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องปั่นผสม (KENWOOD A9070) บรรจุน้ำพริกแกงเผ็ดลงกระป๋องเคลือบแลกเกอร์ขนาด 300x108 ให้มีน้ำหนักสุทธิกระป๋องละ 114 กรัม โดยควบคุมให้มี headspace ประมาณ 0.5$\pm$0.1 มิลลิเมตร ผ่านเครื่องไล่อากาศด้วยไอน้ำจนกระทั่งอุณหภูมิที่จุดกึ่งกลางของน้ำพริกแกงเผ็ดในกระป๋องไม่ต่ำกว่า 75°C ปิดฝากระป๋องทันที นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 55°C นาน 20 วัน สุ่มตัวอย่างตรวจทุก 5 วัน ประเมินผลโดยการวัดและวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้

3.4.1 ความดันสุญญากาศโดยใช้ vacuum guage

3.4.2 pH

3.4.3 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

3.4.4 viable *C. botulinum*

เลือกค่า pH และ a_w ที่ทำให้น้ำพริกแกงเผ็ดมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำที่สุด และไม่มี viable *C. botulinum* เพื่อศึกษาต่อไป

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test

3.5 วิเคราะห์ชนิดจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในน้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH และ a_w ที่เลือก

3.5.1 คัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้จากน้ำพริกแกงเผ็ด

เลือกน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องสภาวะที่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำที่สุดจากข้อ 3.4 มาแยกจุลินทรีย์ให้บริสุทธิ์โดยดัดแปลงวิธีจากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น (2529) (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.5) แล้วนำไปวิเคราะห์ชนิด จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้

3.5.2 วิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากน้ำพริกแกงเผ็ด

นำจุลินทรีย์ที่แยกได้มาวิเคราะห์สมบัติเบื้องต้นโดยทดสอบการย้อมติดสีแกรม รูปร่างของเซลล์ การสร้างสปอร์ การเจริญในสภาวะที่มีออกซิเจน การเจริญในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน การเจริญที่อุณหภูมิ 37 และ 55°C และการสร้างเอนไซม์ catalase (catalase test) สำหรับการจัดจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียได้ส่งจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในหลอดอาหารเอียง NA ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 2 วัน ไปจัดจำแนกที่ศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.)

3.6 ศึกษาการแทรกผ่านความร้อนในน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋อง

นำกระป๋องเคลือบแลกเกอร์ขนาด 300x108 มาเจาะรูด้านข้างที่ตำแหน่ง ½ ของความสูงของกระป๋องสำหรับเสียบ thermocouple ใส่อุปกรณ์ที่ใช้ยึด thermocouple ให้แน่น บรรจุ น้ำพริกแกงเผ็ดใส่กระป๋อง 114 กรัม โดยควบคุมให้มี headspace ประมาณ 0.5±0.1 มิลลิเมตร ผ่านเครื่องไล่อากาศด้วยไอน้ำจนกระทั่งอุณหภูมิที่จุดกึ่งกลางของน้ำพริกแกงเผ็ดในกระป๋องไม่ต่ำกว่า 75°C ปิดฝากระป๋องทันที นำเข้าเครื่องฆ่าเชื้อ (HISAKA simulator retort model RCS-40RTGN) ที่อุณหภูมิ 110°C บันทึกอุณหภูมิที่เวลาต่างๆ คำนวณหาเวลาที่ต้องการใช้ในการฆ่าเชื้อโดยใช้ Formula method (Stumbo, 1973) กำหนดให้ค่า F=3D และ 5D โดยใช้ $D_{120°C}$ ของสปอร์เชื้อที่ตรวจพบในข้อ 3.5.2 (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ง)

3.7 ศึกษาการเจริญของเชื้อที่ตรวจพบในข้อ 3.5.2 ในน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w ตามที่เลือกได้จาก 3.4 และผ่านการฆ่าเชื้อ

บรรจุน้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH และ a_w ตามที่เลือกได้จากข้อ 3.4 ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110°C ตามเวลาที่คำนวณได้จากข้อ 3.6 เก็บผลิตภัณฑ์ตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง, 35°C และ 55°C นาน 30 วัน สุ่มตัวอย่างทุก 5 วันเพื่อตรวจปริมาณเชื้อที่พบในข้อ 3.5.2 (ดัดแปลงวิธีจากสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม, 2523) (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.6)

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การศึกษาการลดปริมาณจุลินทรีย์โดยการล้างทำความสะอาดเครื่องเทศ

จากการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเครื่องเทศต่างๆ ที่ผ่านการล้างทำความสะอาด (ตารางที่ ข.1-ข.7) พบว่า จำนวนครั้งของการล้างเครื่องเทศมีผลต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยเมื่อเพิ่มจำนวนครั้งของการล้างทำความสะอาด ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเครื่องเทศทุกชนิดลดลง โดยพริกหยวกแห้ง พริกขี้หนูแห้ง กระเทียม หัวหอมแดง ผิวมะกรูด และข่า ที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 2, 3 และ 4 ครั้งมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และตะไคร้ที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 3 และ 4 ครั้งมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.1 โดยการล้างทำความสะอาดพริกหยวกแห้ง พริกขี้หนูแห้ง กระเทียม หัวหอมแดง ผิวมะกรูด และข่า จำนวน 2 ครั้งขึ้นไป ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงได้มากที่สุดเท่ากับ 1.24, 1.40, 0.99, 1.61, 1.59 และ 0.75 log cycle ตามลำดับ ยกเว้นตะไคร้เมื่อผ่านการล้างทำความสะอาดจำนวน 3 ครั้งขึ้นไปจะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงได้มากที่สุดเท่ากับ 0.62 log cycle ซึ่งตะไคร้ต้องผ่านจำนวนครั้งการล้างมากกว่าเครื่องเทศอื่นๆ และมีการลดลงของปริมาณจุลินทรีย์น้อยที่สุด เนื่องจากลำต้นของตะไคร้มีลักษณะเป็นกาบใบซ้อนกัน (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2527) ทำให้ไม่สามารถล้างกำจัดจุลินทรีย์ที่อยู่ภายในออกได้ และเมื่อพิจารณาผลของการตรวจสอบ viable *C. botulinum* ในเครื่องเทศหลังผ่านการล้างทำความสะอาด (ตารางที่ 4.2) พบว่า เมื่อล้างทำความสะอาดเครื่องเทศทุกชนิดจำนวน 2 ครั้งขึ้นไปจะตรวจไม่พบเชื้อ *C. botulinum* แสดงว่าจำนวนครั้งของการล้างที่มากพอสามารถลดปริมาณเชื้อ *C. botulinum* บนเครื่องเทศได้ ดังนั้นเมื่อพิจารณาร่วมกับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเครื่องเทศที่ลดลงหลังผ่านการล้างทำความสะอาด สรุปได้ว่าจำนวนครั้งที่เหมาะสมสำหรับการล้างทำความสะอาดพริกหยวกแห้ง พริกขี้หนูแห้ง กระเทียม หัวหอมแดง ผิวมะกรูด และข่าคือ การล้างด้วยน้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง และจำนวนครั้งที่เหมาะสมสำหรับการล้างทำความสะอาดตะไคร้ คือ การล้างด้วยน้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง

ตารางที่ 4.1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเครื่องเทศต่างๆ ที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง

จำนวนครั้งของการล้าง	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเฉลี่ย (log CFU/g)						
	พริกหยวกแห้ง	พริกขี้หนูแห้ง	กระเทียม	หัวหอมแดง	ผิวมะกรูด	ตะไคร้	ข่า
0	4.54[a]	5.52[a]	6.15[a]	5.80[a]	6.77[a]	5.42[a]	6.84[a]
1	4.21[b]	4.66[b]	5.56[b]	4.69[b]	5.87[b]	5.30[a]	6.53[a]
2	3.30[c]	4.12[c]	5.16[c]	4.19[c]	5.18[c]	4.98[b]	6.09[b]
3	3.28[c]	4.01[c]	5.16[c]	4.12[c]	5.13[c]	4.80[c]	6.01[b]
4	3.25[c]	3.90[c]	5.01[c]	4.09[c]	5.12[c]	4.72[c]	5.88[b]

a, b, c, d ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวตั้งเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.2 Viable *C. botulinum* ของเครื่องเทศต่างๆ ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำ 0-4 ครั้ง

จำนวนครั้งของการล้าง	viable *C. botulinum*						
	พริกหยวกแห้ง	พริกขี้หนูแห้ง	กระเทียม	หัวหอมแดง	ผิวมะกรูด	ตะไคร้	ข่า
0	+	+	+	+	+	+	+
1	+	+	+	+	+	+	+
2	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-

+ = positive, - = negative

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2 สมบัติของน้ำพริกแกงเผ็ด

จากการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของน้ำพริกแกงเผ็ดที่เตรียมจากเครื่องเทศที่ผ่านการล้างน้ำตามจำนวนครั้งที่ได้จากข้อ 4.1 (ตารางที่ 4.3) พบว่าน้ำพริกแกงเผ็ดที่ผลิตได้มีปริมาณความชื้น, ค่า pH และ a_w เป็น 63.95%, 5.3 และ 0.96 ตามลำดับ จึงจัดเป็นอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ และมีค่า a_w สูง เนื่องจากมีค่า pH อยู่ระหว่าง 5.0-6.8 (อัญชลี ศิริโชติ, 2531) และมีค่า a_w สูงกว่า 0.90 (Hocking and Christian, 1995) มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 4.93 log CFU/g ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลรายงานวิจัยของ สุมณฑา วัฒนสินธุ์, สมโภช พจนพิมล และคณะ (2543) พบว่ามีค่าต่ำกว่าน้ำพริกแกงเผ็ดแบบวางขายในตลาดสดที่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 5.6 log CFU/g และมีค่าสูงกว่าน้ำพริกแกงเผ็ดแบบบรรจุซองที่วางขายในซุปเปอร์มาร์เก็ตที่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 4.3 log CFU/g และไม่พบการเจริญของยีสต์และรา เนื่องจากเครื่องเทศที่นำมาใช้เป็นองค์ประกอบในการผลิตน้ำพริกแกงเผ็ดมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์และราได้ (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2527; สมศรี เจริญเกียรติกุล และคณะ, 2545) และไม่พบเชื้อ *C. botulinum*

ตารางที่ 4.3 สมบัติทางเคมี และจุลินทรีย์ ของน้ำพริกแกงเผ็ด

สมบัติ	ค่าเฉลี่ย ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน
ค่า pH	5.3 ± 0.1
ค่า water activity (a_w)	0.96 ± 0.01
ปริมาณความชื้น (%)	63.95 ± 0.01
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/g)	4.93
ปริมาณยีสต์และรา (CFU/g)	negative
viable *C. botulinum*	negative

4.3 ผลของการปรับค่า pH และ a_w ต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของน้ำพริกแกงเผ็ดและ viable *C. botulinum*

จากการวัดและวิเคราะห์ค่าความดันสุญญากาศ, ค่า pH, ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และ viable *C. botulinum* (ตารางที่ ข.8-ข.27) และจากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely Randomized Design พบว่า ค่าความดันสุญญากาศและ pH ของน้ำพริกแกงเผ็ดหลังการเก็บที่

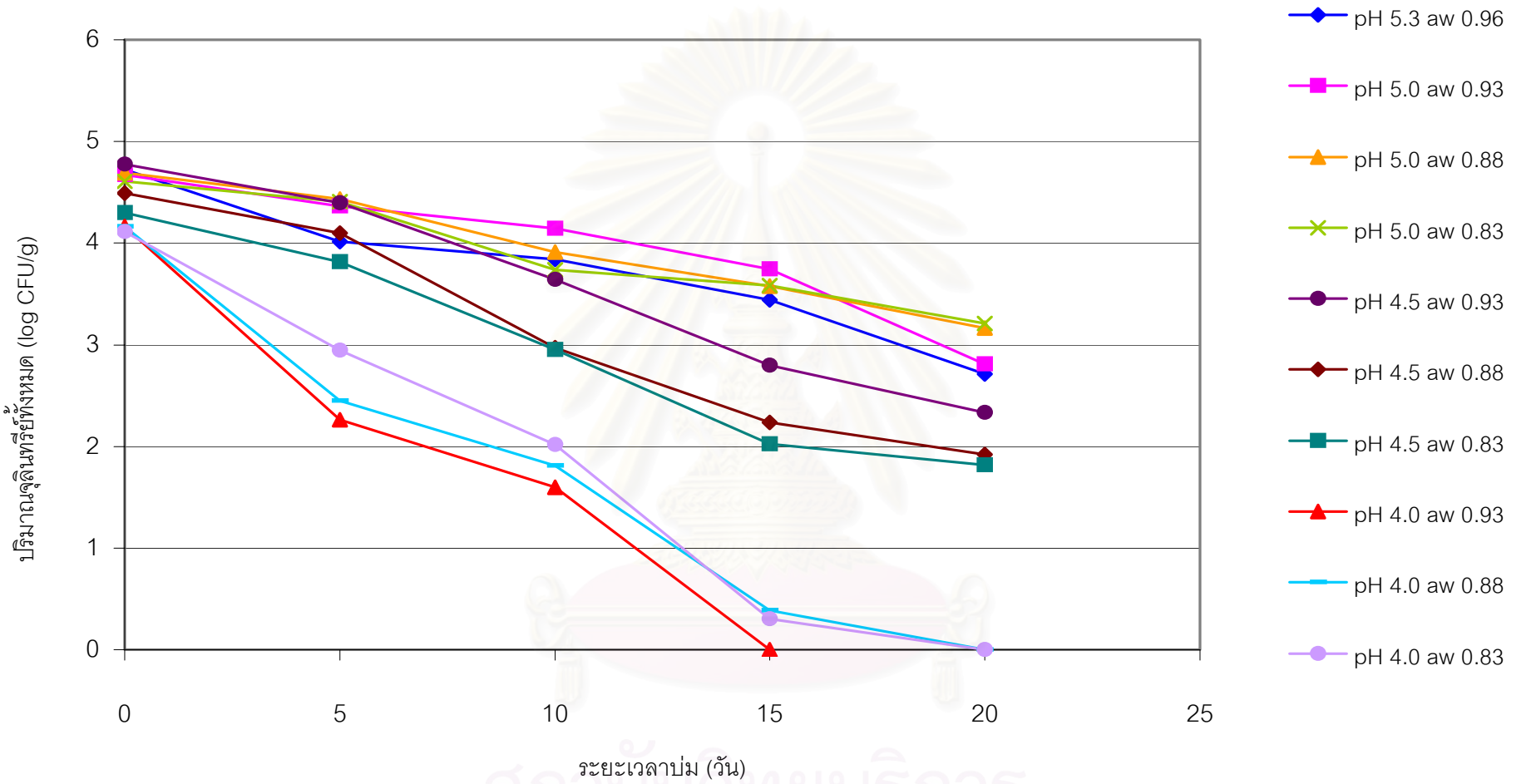
อุณหภูมิ 55 °C นาน 0, 5, 10, 15 และ 20 วัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4.4) และเมื่อพิจารณาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่มีค่าลดลงตามระยะเวลาการเก็บ (รูปที่ 4.1) แสดงว่าสภาพสุญญากาศภายในกระป๋องสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ โดยน้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH เท่ากับ 4.0 ในทุกค่า a_w มีการลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงสุดอยู่ในช่วง 4.1-4.2 log cycle หลังเก็บน้ำพริกแกงเผ็ดที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน โดยเฉพาะน้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH เท่ากับ 4.0 และ a_w เท่ากับ 0.93 พบว่าไม่มีการเจริญของจุลินทรีย์หลังเก็บน้ำพริกแกงเผ็ดที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 15 วัน ส่วนน้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH เท่ากับ 4.5 ในทุกค่า a_w มีการลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 2.4-2.6 log cycle แต่น้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH เท่ากับ 5.0 ในทุกค่า a_w มีการลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (1.4-1.9 log cycle) น้อยกว่าน้ำพริกแกงเผ็ดที่เป็นตัวอย่างควบคุมที่มีค่า pH เท่ากับ 5.3 และ a_w เท่ากับ 0.96 (2.0 log cycle) อาจเนื่องจากเกิดการเจริญของเชื้อกลุ่มที่สามารถทนเกลือได้ในน้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH เท่ากับ 5.0 ซึ่งเป็นค่า pH ของอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ และเชื้อจะถูกยับยั้งการเจริญได้มากขึ้นเมื่อปรับค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ดเป็น 4.5 และ 4.0 เพราะกรดซิตริกที่ใช้ในการลดค่า pH จะเพิ่มปริมาณกรดที่อยู่ในรูปไม่แตกตัวมากขึ้น จึงแพร่ผ่านเข้าไปภายในเซลล์ของเชื้อและทำลายสมดุลภายในเซลล์ส่งผลให้เชื้อถูกทำลายมากขึ้น (Baird-Parker, 1980; Gould, 1995) และจากการตรวจ viable *C. botulinum* พบว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ *C. botulinum* ในน้ำพริกแกงเผ็ดทุกภาวะ ดังนั้น จึงเลือกน้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH เท่ากับ 4.0 และ a_w เท่ากับ 0.93 เป็นภาวะที่เหมาะสมที่จะศึกษาในขั้นต่อไป เนื่องจากเป็นภาวะที่มีการลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำพริกแกงเผ็ดสูงสุด ใช้ปริมาณเกลือแกงในการปรับค่า a_w น้อยที่สุด และไม่มีการเจริญของเชื้อ *C. botulinum*

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.4 ค่า pH และความดันสุญญากาศ ของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 ^{o}C นาน 0-20 วัน

pH	a_w	pH ของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่เก็บนาน^{ns}					ความดันสุญญากาศของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่เก็บนาน^{ns} (นิ้วปรอท)				
		0 วัน	5 วัน	10 วัน	15 วัน	20 วัน	0 วัน	5 วัน	10 วัน	15 วัน	20 วัน
5.3	0.96	5.3±0.1	5.2±0.1	5.1±0.1	5.1±0.1	5.1±0.1	6.1±0.5	5.6±0.8	5.9±0.7	5.5±0.1	5.7±0.6
5.0	0.93	5.0±0.1	5.0±0.1	4.9±0.1	4.9±0.1	4.9±0.1	6.0±0.2	6.1±1.2	5.4±0.6	6.0±0.3	5.6±0.1
5.0	0.88	5.0±0.1	5.0±0.2	4.9±0.1	4.8±0.1	4.8±0.1	5.7±0.9	6.1±0.8	6.0±0.1	6.1±0.4	5.9±0.3
5.0	0.83	5.0±0.1	4.9±0.1	4.9±0.1	4.8±0.0	4.8±0.1	5.6±0.1	6.5±0.0	5.9±0.3	5.8±1.1	5.6±0.8
4.5	0.93	4.6±0.1	4.6±0.1	4.6±0.1	4.6±0.1	4.5±0.0	6.2±0.6	5.4±0.6	5.7±0.3	5.7±0.8	5.4±0.4
4.5	0.88	4.6±0.1	4.6±0.1	4.6±0.1	4.5±0.1	4.6±0.1	5.9±0.1	6.2±0.2	5.6±0.4	5.5±0.7	5.9±0.1
4.5	0.83	4.6±0.1	4.6±0.1	4.6±0.1	4.5±0.1	4.5±0.1	6.3±0.5	6.1±0.6	5.9±0.2	6.0±0.9	5.9±0.2
4.0	0.93	4.1±0.0	4.1±0.1	4.2±0.1	4.1±0.1	4.1±0.1	6.2±0.6	5.5±0.6	6.0±0.2	5.8±0.4	5.8±0.4
4.0	0.88	4.1±0.1	4.1±0.1	4.1±0.0	4.1±0.0	4.0±0.0	5.9±0.1	6.1±0.1	5.7±0.3	5.8±0.4	6.0±0.3
4.0	0.83	4.1±0.1	4.1±0.1	4.1±0.1	4.1±0.1	4.0±0.0	6.1±0.1	5.9±0.5	5.4±0.5	5.5±0.6	5.7±0.2

ns ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)



รูปที่ 4.1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของน้ำพริกแกงเผ็ดที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w บรรจุกระป๋อง และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55°C นาน 20 วัน

4.4 การแยกและวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในน้ำพริกแกงเผ็ดที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w

เมื่อนำน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่มีค่า pH เท่ากับ 4.0 และ a_w เท่ากับ 0.93 ที่ยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ไปบ่มที่อุณหภูมิ 55°C นาน 20 วัน แล้วคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ให้บริสุทธิ์ พบว่าจุลินทรีย์ที่แยกได้มีจำนวน 1 สายพันธุ์ซึ่งมีสมบัติเบื้องต้นดังแสดงในตารางที่ 4.5 ซึ่งสามารถสรุปในเบื้องต้นได้ว่าเป็นแบคทีเรียชนิด Bacillus เนื่องจากเป็นแบคทีเรียรูปแท่ง ย้อมติดสีแกรมบวก (positive) และสามารถสร้างเอนไซม์ catalase ได้ (Buchanan and Gibbon, 1974) และเมื่อนำไปจำแนกสายพันธุ์ด้วยระบบจัดจำแนกจุลินทรีย์ API 50 CHB (Analytical Profile Index Software) ที่อุณหภูมิ 37°C (ผลการตรวจวิเคราะห์แสดงในตารางที่ ค.1) สรุปได้ว่าเป็นแบคทีเรีย *B. stearothermophilus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ที่อุณหภูมิสูง (Thermophilic bacteria) สามารถสร้างกรดได้จากการหมักคาร์โบไฮเดรต จัดเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย แต่ไม่ก่อให้เกิดโรค (Ray, 2001) ซึ่งผลการทดลองที่ได้แตกต่างจากรายงานวิจัยของกุลวดี ตรองพาณิชย์และคณะ (2530) ที่พบว่าเชื้อที่สามารถทนความร้อนได้สูงที่สุดในน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องคือเชื้อ *Corynebacterium* sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic bacteria) (Buchanan and Gibbon, 1974) และทนความร้อนได้น้อยกว่าเชื้อ *B. stearothermophilus* เนื่องจากน้ำพริกแกงเผ็ดหลังผ่านการใช้เทคโนโลยีเฮอร์เดิลแล้วมีค่า pH เท่ากับ 4.0 และ a_w เท่ากับ 0.93 จัดเป็นอาหารที่เป็นกรด (Acid food) (อัญชลี ศิริโชติ, 2531) และพบเชื้อที่สามารถเจริญได้ในน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่มีค่า pH และ a_w ดังกล่าวที่ยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อเพียงชนิดเดียวคือ *B. stearothermophilus* ซึ่งเป็นเชื้อที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียได้แต่ไม่ก่อให้เกิดโรค ดังนั้นในการฆ่าเชื้อน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องจึงทดลองใช้กระบวนการฆ่าเชื้อแบบ 3D-process หรือ 5D-process โดยกำหนดให้ $D_{120°C}$ ของสปอร์เชื้อ *B. stearothermophilus* เท่ากับ 1 นาที (Doyle, Beuchat and Montville 1997)

4.5 การศึกษาการแทรกผ่านความร้อนของน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋อง

เพื่อรักษาคุณภาพของน้ำพริกแกงเผ็ด ในการศึกษาการแทรกผ่านความร้อนของน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องเพื่อหาระยะเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ *B. stearothermophilus* จึงใช้อุณหภูมิในการฆ่าเชื้อที่ 110°C โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระหว่างการฆ่าเชื้อ พบว่า น้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องมีค่า f_h เท่ากับ 19.5 นาที (รูปที่ 4.2) จัดได้ว่าน้ำพริกแกงเผ็ดมีอัตราการถ่ายโอนความร้อนช้า (Holdsworth, 1997) และเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องด้วย 3D-process

และ 5D-process คือ 61 และ 87 นาที ตามลำดับ (ตารางที่ ง.2) ซึ่งผลการทดลองที่ได้ใกล้เคียงกับงานวิจัยของกุลวดี ตรองพาณิชย์ และคณะ (2530) ที่ทดลองฆ่าเชื้อน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ 110°C ในระยะเวลาต่างๆ แล้วนำไปวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ พบว่าไม่มีการเจริญของจุลินทรีย์ในน้ำพริกแกงเผ็ดเมื่อใช้เวลาในการฆ่าเชื้อไม่น้อยกว่า 50 นาที เมื่ออุณหภูมิเริ่มต้นของน้ำพริกแกงเผ็ดไม่ต่ำกว่า 55.4°C และค่า f_h ของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องขนาด 300x201 มีค่าเท่ากับ 25 นาที โดยมีค่า F_0 เท่ากับ 1.83 นาที

ตารางที่ 4.5 สมบัติเบื้องต้นของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากน้ำพริกแกงเผ็ด

สมบัติของจุลินทรีย์	ผลการทดสอบ
1. รูปร่างของเซลล์	รูปแท่ง
2. การย้อมติดสีแกรม	+ve
3. การสร้างสปอร์	+
4. การเจริญที่สภาวะมีออกซิเจน	+
5. การเจริญที่สภาวะไม่มีออกซิเจน	+
6. การเจริญที่อุณหภูมิ 37°C	+
7. การเจริญที่อุณหภูมิ 55°C	+
8. catalase test	+

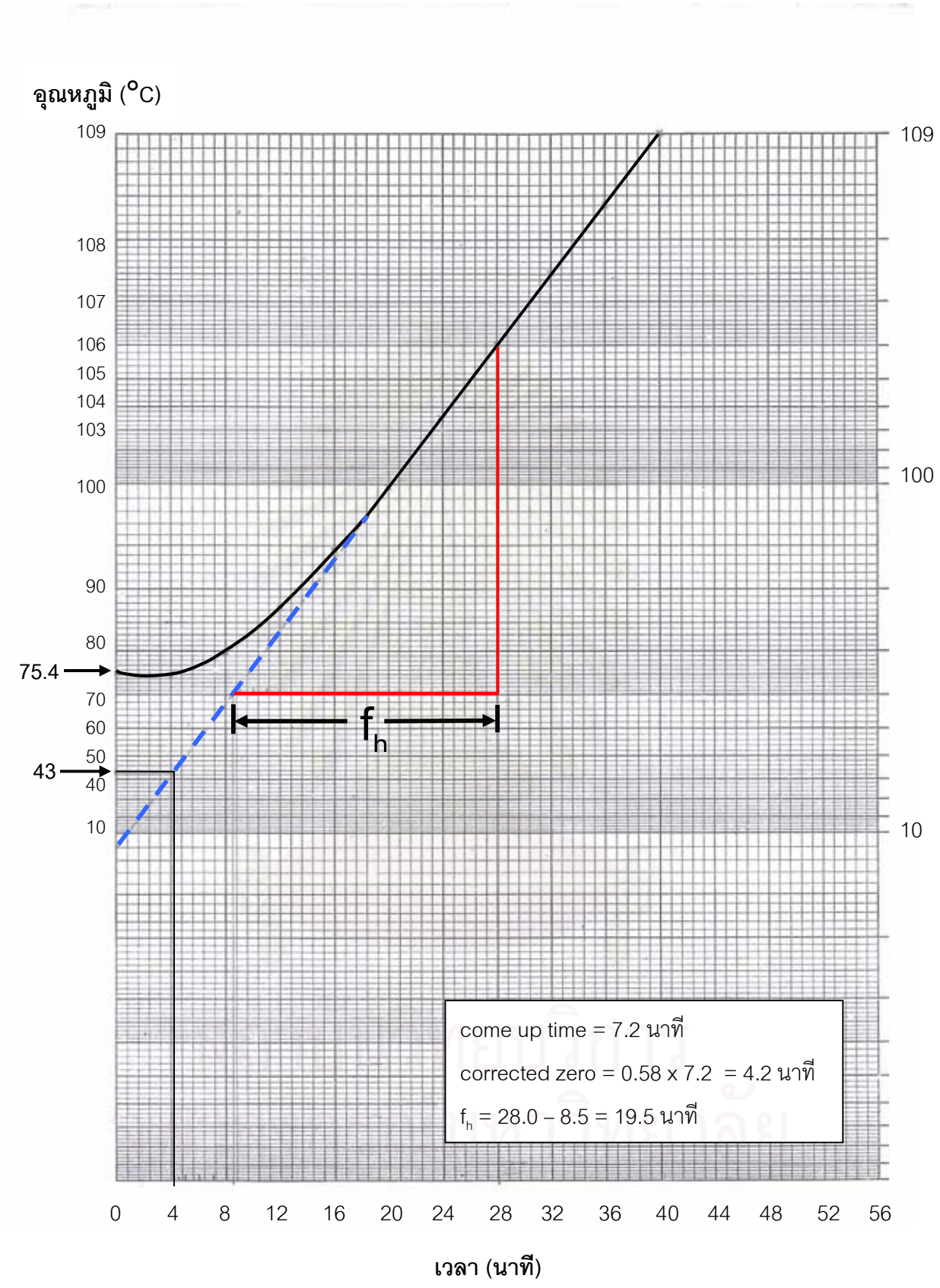
+ve = gram positive bacteria, + = positive reaction

4.6 การศึกษาการเจริญของเชื้อ *B. stearothermophilus* ในน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องที่ปรับค่า pH และ a_w และผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110°C

จากการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *B. stearothermophilus* ในน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110°C ด้วย 3D-process และ 5D-process หลังเก็บที่อุณหภูมิห้อง, 35°C และ 55°C นาน 1 เดือน พบว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ *B. stearothermophilus* ในขณะที่ ผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกงเผ็ดที่ไม่ได้ผ่านการปรับค่า pH และ a_w ซึ่งเป็นตัวอย่างควบคุมมีการเจริญของเชื้อ *B. stearothermophilus* หลังเก็บที่อุณหภูมิ 55°C นาน 10 วัน (ตารางที่ 4.6) แสดงว่าการปรับค่า pH และ a_w ของน้ำพริกแกงเผ็ดและปริมาณความร้อนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. stearothermophilus* ได้

เนื่องจากภาวะที่เป็นกรดทำให้สปอร์ของเชื้อสูญเสีย cation และถูกแทนที่ด้วยโปรตอนซึ่งมีผลทำให้ความสามารถในการทนต่อความร้อนของสปอร์ต่ำลง (Gould, 1995) สปอร์จึงถูกทำลายด้วยความร้อนได้ง่ายขึ้น จึงไม่พบการเจริญของเชื้อ *B. stearothermophilus* ในตัวอย่างน้ำพริกแกงเผ็ด ดังนั้น การฆ่าเชื้อน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.0 และ 0.93 ที่อุณหภูมิ 110°C นาน 61 นาที (3D-process) จึงเพียงพอที่จะยับยั้งการเจริญของเชื้อ ***B. stearothermophilus*** ได้ เพราะสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ *B. stearothermophilus* ในผลิตภัณฑ์ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกงเผ็ดที่ไม่ได้ผ่านการปรับค่า pH และ a_w

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.2 Heat penetration curve ของน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋อง

ตารางที่ 4.6 ปริมาณเชื้อ *B. stearothermophilus* ของน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110°C

จำนวนวัน	ปริมาณเชื้อ *B. stearothermophilus* (log CFU/g)							
	น้ำพริกแกงที่ไม่ได้ผ่านการปรับค่า pH และ a_w		น้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.0 และ 0.93					
	3D-process	5D-process	3D-process			5D-process		
	55°C	55°C	อุณหภูมิห้อง	35°C	55°C	อุณหภูมิห้อง	35°C	55°C
0	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-
10	<1	<1	-	-	-	-	-	-
15	ไม่ได้ตรวจนับ	ไม่ได้ตรวจนับ	-	-	-	-	-	-
20	ไม่ได้ตรวจนับ	ไม่ได้ตรวจนับ	-	-	-	-	-	-
25	ไม่ได้ตรวจนับ	ไม่ได้ตรวจนับ	-	-	-	-	-	-
30	<1	<1	-	-	-	-	-	-

- = negative

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การล้างทำความสะอาดเครื่องเทศอย่างน้อย 2 ครั้งเหมาะสมสำหรับ พริกหยวกแห้ง พริกขี้หนูแห้ง กระเทียม หัวหอมแดง มะกรูด และข่า ส่วนตะไคร้ควรผ่านการล้างทำความสะอาดอย่างน้อย 3 ครั้ง เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและกำจัดเชื้อ *C. botulinum* ในเครื่องเทศก่อนนำไปผลิตน้ำพริกแกงเผ็ด ซึ่งน้ำพริกแกงเผ็ดที่ผลิตได้มีค่า pH และ a_w เท่ากับ 5.3 และ 0.96 จัดเป็นอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำและมีค่า a_w สูง และเมื่อปรับค่า pH และ a_w ของน้ำพริกแกงเผ็ด พบว่าการปรับค่า pH มีผลต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จึงเลือกน้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.0 และ 0.93 มาคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ พบว่าเป็นเชื้อ *B. stearothermophilus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูง

จากการศึกษาการแทรกผ่านความร้อนของน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋อง โดยฆ่าเชื้อด้วยกระบวนการ 3D-process และ 5D-process เมื่อกำหนดให้ $D_{120°C}$ ของสปอร์เชื้อ *B. stearothermophilus* เท่ากับ 1 นาที ใช้เวลา 61 และ 87 นาที ตามลำดับ และพบว่าการปรับค่า pH และ a_w ของน้ำพริกแกงเผ็ดเท่ากับ 4.0 และ 0.93 ร่วมกับการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110°C นาน 61 นาที (3D-process) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. stearothermophilus* ในผลิตภัณฑ์ได้ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างน้ำพริกแกงเผ็ดที่ไม่ได้ปรับค่า pH และ a_w และผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อแบบ 3D-process และ 5D-process พบว่าการปรับค่า pH และ a_w สามารถช่วยลดปริมาณความร้อนที่ต้องการใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. stearothermophilus* ได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาการใช้ humectant อื่นในการปรับค่า a_w ของน้ำพริกแกงเผ็ด

2. ควรหาค่า D และ z ของเชื้อ *B. stearothermophilus* ที่พบเพื่อใช้คำนวณหาระยะเวลาที่ต้องการฆ่าเชื้อที่แน่นอน

3. ควรศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ได้

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กรรณิการ์ พรมเสาร์ และนันทา เบญจศิลารักษ์. 2542. แกะรอยสำรับไทย. เชียงใหม่: สำนักพิมพ์วรรณรักษ์.

กาญจนารัตน์ ทวีสุข. 2539. กระบวนการฆ่าเชื้ออาหารกระป๋องที่มีความเป็นกรดต่ำด้วยความร้อน. การฝึกอบรมเรื่องความเสี่ยงจากจุลินทรีย์ในอาหารกระป๋องที่มีความเป็นกรดต่ำ. กลุ่มอุตสาหกรรมอาหาร สภาอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทย, มูลนิธิอิลซี ประเทศไทย และสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: 1-61.

กุลวดี ตรองพาณิชย์, กาญจนกิจ วาจนะวินิจ และ อุไร เผ่าสังข์ทอง. 2533. การศึกษากรรมวิธีการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนของน้ำพริกแกงบรรจุกระป๋อง. การประชุมเสนอผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยศิลปากร ครั้งที่ 2 สาขาสังคมศาสตร์ มนุษยศาสตร์และวิทยาศาสตร์. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร: 302-314.

แก้ว กังสดาลอำไพ. 2544. อาหารไทยต้านภัยมะเร็ง. การสัมมนาเรื่องคุณค่าของอาหารไทยและโอกาสทางการตลาด. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

ชัยรัชฎ์ พานิช และอวันวี เพชรคงแก้ว. 2541. ประสิทธิภาพการเป็นสารกันหืนของเครื่องเทศ. รายงานประกอบวิชาปัญหาพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร (กอ.492) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

นิศาวรรณ ศิรินาวิน และณัฐินี ติรโชติ. 2543. สมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์บางชนิดของสารสกัดจากเครื่องเทศสดที่ใช้เป็นอาหาร. รายงานประกอบวิชาปัญหาพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร (กอ.492) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527. เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร. เล่มที่ 2,หน้า 39. กรุงเทพมหานคร: ศิลปาบรรณาคาร.

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก. 2532. กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2529. คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ศิริโฉม ทุ่งเก้า. 2543. ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

สถาบันอาหารตวงทิพย์. 2539. แกงเผ็ดรวมรส. พิมพ์ครั้งที่ 2, หน้า 8. กรุงเทพมหานคร: เนเจอรัล บุคส์.

สมศรี เจริญเกียรติกุล, วงสวาท โกศัลวัฒน์, วิสิฐ จะวะสิต, สมเกียรติ โกศัลวัฒน์, วนิภา โรจน์รุ่งวศินกุล และอทิตดา บุญประเดิม. 2545. รายงานการวิจัยคุณค่าอาหารไทยเพื่อสุขภาพ. สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์, สมโภช พจนพิมล, วรางคณา สมพงษ์, ศิริพร พิพัฒน์สัตยานุวงษ์ และ สายสนม ประดิษฐ์ดวง. 2543. รายงานการวิจัยเรื่องการพัฒนาเทคโนโลยีการเก็บรักษาเครื่องแกงเผ็ดและอาหารเครื่องปรุงแต่งกลิ่น-รสของไทย. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์, สายศิริ ศิลป์วุฒิ และมยุรา วงษ์ยี่หวา. 2543. สมบัติเป็นสารยับยั้งแบคทีเรียบางชนิดของเครื่องเทศสดในสูตรเครื่องแกงเผ็ด. รายงานการประชุมสัมมนาวิชาการโครงการสมองไหลกลับ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร ครั้งที่ 2. คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. 2523. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม วิธีวิเคราะห์อาหารทางจุลชีววิทยา, มอก.335 เล่ม 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม.

อัญชลี ศิริโชติ. 2531. กรรมวิธีการแปรรูปอาหารโดยใช้ความร้อนสูง. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

ภาษาอังกฤษ

American Can Company, Technical Survice Division Memorandum. 1964. Calculation of processes for canned food. Maywood, Illinois: American Can Company, Research and Technical Department.

A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official methods of analysis of AOAC international. 16th ed. Arlington, Virgenia: AOAC International.

Baird-Parker, A.C. 1980. Organic acids. Microbial ecology of foods: Vol.1 factors affecting life and death of microorganisms, pp.35-126. London: Academic Press.

Booth, I.R., and Kroll, R.G. 1989. The preservation of foods by low pH. In G.W. Gould (ed.), Mechanisms of action of food preservation procedures, p.120. New York: Elsevier Applied Science.

Buchanan, R.E., and Gibbon, N.E. 1974. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. Baltimore, Md.: The William & Wilkins Company.

Dodds, K.L. 1989. Combined effect of water activity and pH on inhibition of toxin production by *Clostridium botulinum* in cooked, vacuum-packed potatoes. Appl. Environ. Microbiol. 55(3): 656-660.

Doyle, M.P., Beuchat, L.R., and Montville, T.J. 1997. Food microbiology fundamentals and frontiers, p. 51. Washington, D.C.: ASM Press.

FDA (Food and Drug Administration). 1992. Bacteriological analytical manual, 7th ed. Arlington, Virgenia: AOAC International.

Genigeorgis, C. and Sadler, W.W. 1966. Effect of sodium chloride and pH on enterotoxin B production. J. Bacteriol. 92(5): 1383-1387.

Genigeorgis, C., Foda, M.S., Mantis, A., and Sadler, W.W. 1971. Effect of sodium chloride and pH on enterotoxin C production. Appl. Microbiol. 21(5): 862-866.

Gould, G.W. 1995. Combination of factors to obtain the microbiological safety of foods. In G.V. Barbosa-Canovas and J. Welti-Chanes (ed.), Food preservation by moisture control: Fundamentals and application, pp.535-551. Lancaster, Pennsylvania: Technomic Publishing.

Guerrero, S., Alzamora, S.M., and Gerschenson, L.N. 1994. Development of a shelf-stable banana puree by combined factors: microbial stability. J. Food Prot. 57(10): 902-907.

Hardman, R. 1972. Spices and herbs: their families, secretory tissues and pharmaceutical aspects. Proceedings of the conference on spices. Tropical Products Institute, London School of Pharmacy, U.K.

Hocking, A.D. and Christian, J.H.B., 1995. Microbial ecology interactions in the processing of foods. In G.V. Barbosa-Canovas and J. Welti-Chanes (ed.), Food preservation by moisture control: Fundamentals and application, pp.553-574. Lancaster, Pennsylvania:Technomic Publishing.

Holdsworth, S.D. 1997. Thermal processing of packaged foods, p.124. Boundary Row, London: Blackie Academic & Professtional.

Information and communication technology center cooperation of the customs department. Exports of Thailand[Online]. (n.d.). Available from: http://intra2.moc.go.th/prog/eng/exctr3.asp[2002 December 9]

Karthikeyan, J., Kumar, S., Anjaneyulu, A.S.R., and Rao, K.H. 2000. Application of hurdle technology for the development of Caprine keema and its stability at ambient temperature. Meat Sci. 54: 9-15.

Leistner, L. 1992. Food Preservation by combined methods. Food Res. Int. 25: 151-158.

Leistner, L. 1994a. Food design by hurdle technology and HACCP. Kulmbach, Germany: Adalbert-RAPS-Foundation.

Leistner, L. 1994b. Further developments in the utilization of hurdle technology for food preservation. J. Food Eng. 22: 421-432.

Leistner, L. 1999. Combined method for food preservation. In M.S. Rahman (ed.), Handbook of food preservation, pp.457-485. New York: Marcel Dekker.

Leistner, L. 2000. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. Int. J. Food Microbiol. 55: 181-186.

Leistner, L. and Gorris, L.G.M. 1995. Food preservation by hurdle technology. Trends Food Sci. Technol. 6: 41-46.

Lombard, G.E., Weinert, A.G., Minnaar, A., and Taylor, J.R.N. 2000. Preservation of South African steamed bread using hurdle technology. Lebensm.- Wiss.u.-Technol. 33:138-143.

Montville, T.J. 1983. Interaction of pH and NaCl on culture density of *Clostridium botulinum* 62A. Appl. Environ.Microbiol. 46(4): 961-963.

Montville, T.J. 1984. Quantitation of pH - and salt – tolerant subpopulations from *Clostridium botulinum*. Appl. Environ.Microbiol. 47(1): 28-30.

Murakami, M., Ohigashi, H., and Koshimizu, K. 1994. Possible antitumor promoting properties of traditional Thai food items and some of their active constituents. Asia Pacific J. Clin. Nutr. 3: 185-191.

National Canners Association. 1986. Laboratory manual for food canners and processors: Vol.1-Microbiology and processing. Westport, Connecticut: The AVI Publishing.

Ray, B. 2001. Fundamental food microbiology, 2nd ed. Boca Raton, Florida: CRC Press LLC.

Stumbo, C.R. 1973. Thermobacteriology in food processing, 2nd ed. New York: Academic Press.

Troller, J.A. 1995. Combination of factors to obtain the microbiological safety of foods. In G.V. Barbosa-Canovas and J. Welti-Chanes (ed.), Food preservation by moisture control: Fundamentals and application, pp.535-551. Lancaster, Pennsylvania:Technomic Publishing.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์ทางเคมี และจุลินทรีย์

ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (ดัดแปลงจาก A.O.A.C. (1995) section 43.1.04)

อุปกรณ์

1. ฟลาสก์ก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร
2. ชุดกลั่น
3. Dean and Stark tube

สารเคมี

Toluene (A.R. grade)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนจำนวน 5 กรัม ใส่ในขวดก้นกลม
2. เติม toluene ให้ท่วมตัวอย่างหรือไม่น้อยกว่า 75 มิลลิลิตร
3. ต่อขวดก้นกลมเข้ากับ Dean and Stark tube และชุดกลั่น พร้อมทั้งปิดด้านบนของcondenser ด้วยจุกสำลี
4. ต้มให้เดือดและปล่อยให้กลั่นอย่างช้าๆ ประมาณ 2 หยดต่อวินาที จนกระทั่งน้ำที่กลั่นได้มีปริมาณมากขึ้นให้เพิ่มอัตราการกลั่นเป็น 4 หยดต่อวินาทีโดยให้ความร้อนเพิ่มขึ้น
5. อ่านปริมาตรน้ำที่กลั่นได้ทุก 15 นาที จนกระทั่งระดับน้ำไม่เปลี่ยนแปลง
6. ไล่น้ำที่อาจระเหยมาเกาะที่ condenser ด้วยการเท toluene ประมาณ 5 มิลลิลิตร ลงทางด้านบนของ condenser
7. กลั่นต่อไปอีกประมาณ 3-5 นาที แล้วหยุดให้ความร้อน
8. ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งมองเห็นชั้นน้ำและ toluene แยกจากกันอย่างชัดเจน
9. อ่านปริมาตรน้ำที่กลั่นได้และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์โดย

$$\% \text{ ความชื้น} = \frac{\text{ปริมาตรน้ำที่กลั่นได้}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

ก.2 การตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (ดัดแปลงจากสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม, 2523)

อุปกรณ์

1. ตู้สำหรับเขี่ยเชื้อ (ISSCO, BVT-123)
2. ตู้บ่มเชื้อช่วงอุณหภูมิ 25-80°C (Memmert, B30)
3. ฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร
4. ปิเปตขนาด 2 และ 5 มิลลิลิตร
5. จานเพาะเชื้อ
6. ตะเกียงแอลกอฮอล์

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Plate Count Agar (PCA) (Scharlau)
2. Sodium chloride (A.R. grade)

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมตัวอย่างอาหารเจือจาง 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ลงในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.85% จำนวน 225 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างอาหารเจือจาง 10^{-1} ตีตัวอย่างอาหารด้วย stomacher ให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปเตรียมตัวอย่างเจือจาง 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4}

2. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่หลอมเหลวแล้วอุณหภูมิประมาณ 45°C ลงในจานเพาะเชื้อ จานละประมาณ 15 ลูกบาศก์เซนติเมตร ผสมให้เข้ากัน

4. ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง กลับจานเพาะเชื้อและนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37°C นาน 48 ชั่วโมง

5. นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อซึ่งมีประมาณ 30-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยแล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัม

ก.3 การตรวจนับปริมาณยีสต์และรา (ดัดแปลงจากศิริโฉม ทุ่งเก้า, 2535)

อุปกรณ์

1. ตู้สำหรับเขี่ยเชื้อ (ISSCO, BVT-123)
2. ตู้บ่มเชื้อช่วงอุณหภูมิ 25-80°C (Memmert, B30)

3. ฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร
4. ปิเปตขนาด 2 และ 5 มิลลิลิตร
5. จานเพาะเชื้อ
6. ตะเกียงแอลกอฮอล์

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Potato Dextrose Agar (PDA) (Scharlau)
2. Sodium chloride (A.R. grade)
3. Tartalic acid (A.R. grade)

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมตัวอย่างอาหารเจือจาง 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ลงในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.85% จำนวน 225 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างอาหารเจือจาง 10^{-1} ตีตัวอย่างอาหารด้วย stomacher ให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปเตรียมตัวอย่างเจือจาง 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4}
2. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ
3. ปรับ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เท่ากับ 3.5 ± 0.2 โดยใช้ tartalic acid 10%
4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อุณหภูมิประมาณ 45°C ลงในจานเพาะเชื้อจานละประมาณ 15 ลูกบาศก์เซนติเมตร ผสมให้เข้ากัน
4. ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30°C นาน 3-5 วัน โดยไม่ต้องกลับจานเพาะเชื้อ
6. นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อซึ่งมีประมาณ 30-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยแล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัม

ก.4 การตรวจสอบ viable *C. botulinum* (FDA, 1992)

อุปกรณ์

1. ตู้สำหรับเขี่ยเชื้อ (ISSCO, BVT-123)
2. ตู้บ่มเชื้อช่วงอุณหภูมิ 25-80°C (Memmert, B30)
3. ฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร
4. ปิเปตขนาด 2 และ 5 มิลลิลิตร
5. หลอดเพาะเชื้อฝาเกลียว

6. ตะเกียงแอลกอฮอล์

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี</u>

1. Cooked meat medium (Hi-media)
2. Trypticase
3. Bacto-peptone
4. Yeast extract
5. Dextrose
6. Sodium thioglycollate

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. นำอาหารเลี้ยงเชื้อ Cooked meat medium และ Trypticase-peptone-glucose-yeast extract (TPGY) broth ต้มในน้ำเดือด 10-15 นาที เพื่อไล่ก๊าซออกซิเจนที่ละลายอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อและทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว

2. ใส่ตัวอย่างอาหาร 1-2 กรัม (มิลลิลิตร) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Cooked meat medium บ่มที่อุณหภูมิ 35°C และในอาหารเลี้ยงเชื้อ TPGY broth บ่มที่อุณหภูมิ 26°C นาน 7 วัน

3. ตรวจสอบความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ การสร้างก๊าซ การย่อยของชิ้นเนื้อ และกลิ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ

4. นำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่พบว่ามีการเจริญของเชื้อมาย้อมสีแกรม (gram strain) ด้วยสารละลาย crystal violet แล้วส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ สังเกตรูปร่างเซลล์ของจุลินทรีย์ การสร้างสปอร์ ตำแหน่งของสปอร์ภายในเซลล์ โดยเชื้อ *C. botulinum* ที่สามารถสร้างสปอร์ได้จะมีรูปร่างเซลล์คล้ายไม้เทนนิส

ก.5 การแยกจุลินทรีย์ให้บริสุทธิ์ (ดัดแปลงจากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2529)

<u>อุปกรณ์</u>

1. จานเพาะเชื้อ
2. ลูป
3. ตะเกียงแอลกอฮอล์

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อ</u>

1. Nutrient agar (NA)

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. เผาลูปให้ร้อนแดง ทิ้งไว้ให้เย็น ใช้ลูปแตะเชื้อเพียงเล็กน้อย

2. ใช้ลูปขีดลากไปบนผิวหน้าอาหารแข็ง NA ประมาณหนึ่งในสามของจานเพาะเชื้อ จากนั้นเปลี่ยนทิศทางการขีดลากอีก 2-3 ครั้ง โดยเผาลูปทุกครั้งที่เปลี่ยนทิศทางการขีดลาก

3. นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 24 ชั่วโมง

ก.6 การหาปริมาณเชื้อ *B. stearothermophilus* (ดัดแปลงจากสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม, 2523)

อุปกรณ์

1. ตู้สำหรับเขี่ยเชื้อ (ISSCO, BVT-123)
2. ตู้บ่มเชื้อช่วงอุณหภูมิ 25-80°C (Memmert, B30)
3. จานเพาะเชื้อ
4. ตะเกียงแอลกอฮอล์

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Trypticase
2. Dextrose
3. Bromcresol purple
4. Agar

วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างจำนวน 2 กรัมเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Dextrose tryptone bromcresol purple agar

2. อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37°C และ 55°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ถ้ามีเชื้อพวกแฟลตซาวร์จะทำให้เกิดกรดขึ้น ซึ่งจะเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อบริเวณรอบโคโลนีจากสีม่วงเป็นสีเหลือง นับจำนวนโคโลนี หาค่าเฉลี่ยแล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัม

ก.6 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Trypticase-peptone-glucose-yeast extract (TPGY) broth

Trypticase	50	กรัม
Yeast extract	20	กรัม
Bacto-peptone	5	กรัม

Dextrose	4	กรัม
Sodium thioglycollate	1	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกันแล้วบรรจุใส่หลอดฝาเกลียว หลอดละ 10 มิลลิลิตร ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที

2. Dextrose tryptone bromcresol purple agar

Tryptone	10	กรัม
Dextrose	5	กรัม
Bromcresol purple	0.04	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกันแล้วบรรจุใส่หลอดฝาเกลียว หลอดละ 10 มิลลิลิตร ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ข.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของพริกหยวกแห้งที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนครั้งของการล้าง	4	1.125	899.756*
error	10	0.00125	
total	14		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของพริกขี้หนูแห้งที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนครั้งของการล้าง	4	1.279	47.272*
error	10	0.02706	
total	14		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของกระเทียมที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนครั้งของการล้าง	4	0.666	49.690*
error	10	0.01340	
total	14		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของหัวหอมแดงที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนครั้งของการล้าง	4	1.590	547.297*
error	10	0.002905	
total	14		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของผิวมะกรูดที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนครั้งของการล้าง	4	1.545	1002.359*
error	10	0.001541	
total	14		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของข่าที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนครั้งของการล้าง	4	0.482	16.153*
error	10	0.02982	
total	14		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของตะไคร้ที่ผ่านการล้างทำความสะอาด 0-4 ครั้ง

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนครั้งของการล้าง	4	0.279	53.665*
error	10	0.005191	
total	14		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ไม่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.014	1.750
error	5	0.008	
total	9		

ตารางที่ ข.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 5.0 และ 0.93 ตามลำดับและยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.006	1.200
error	5	0.005	
total	9		

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 5.0 และ 0.88 ตามลำดับและยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.02	1.538
error	5	0.013	
total	9		

ตารางที่ ข.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 5.0 และ 0.83 ตามลำดับและยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.0125	1.786
error	5	0.007	
total	9		

ตารางที่ ข.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.5 และ 0.93 ตามลำดับและยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.0035	0.350
error	5	0.01	
total	9		

ตารางที่ ข.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.5 และ 0.88 ตามลำดับและยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.006	1.200
error	5	0.005	
total	9		

ตารางที่ ข.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.5 และ 0.83 ตามลำดับและยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.006	1.200
error	5	0.005	
total	9		

ตารางที่ ข.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.0 และ 0.93 ตามลำดับและยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.0035	0.500
error	5	0.007	
total	9		

ตารางที่ ข.16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.0 และ 0.88 ตามลำดับและยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.004	0.800
error	5	0.005	
total	9		

ตารางที่ ข.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า pH ของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.0 และ 0.83 ตามลำดับและยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.001	0.250
error	5	0.004	
total	9		

ตารางที่ ข.18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ยังไม่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.122	0.363
error	5	0.335	
total	9		

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 5.0 และ 0.93 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.163	0.425
error	5	0.382	
total	9		

ตารางที่ ข.20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 5.0 และ 0.88 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.054	0.163
error	5	0.332	
total	9		

ตารางที่ ข.21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 5.0 และ 0.83 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.279	0.717
error	5	0.389	
total	9		

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.5 และ 0.93 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.228	0.788
error	5	0.290	
total	9		

ตารางที่ ข.23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.5 และ 0.88 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.148	1.039
error	5	0.142	
total	9		

ตารางที่ ข.24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.5 และ 0.83 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.060	0.200
error	5	0.300	
total	9		

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.0 และ 0.93 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 $^{\circ}$C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.154	0.755
error	5	0.204	
total	9		

ตารางที่ ข.26 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.0 และ 0.88 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 $^{\circ}$C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.056	0.862
error	5	0.065	
total	9		

ตารางที่ ข.27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความดันสุญญากาศของน้ำพริกแกงเผ็ดบรรจุกระป๋องที่ผ่านการปรับค่า pH และ a_w เท่ากับ 4.0 และ 0.83 ตามลำดับ และยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 55 $^{\circ}$C นาน 20 วัน

SOV	d.f.	MS	F
จำนวนวันที่บ่ม	4	0.164	0.868
error	5	0.189	
total	9		

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

รายละเอียดการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์

ตารางที่ ค.1 รายละเอียดการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่แยกได้จากน้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH 4.0 และ a_w 0.93

Characteristics	Reaction
Gram reaction	+ ve
Fermentative production of acid from:	
- glycerol	-
- erythritol	-
- D-arabinose	-
- L-arabinose	-
- ribose	-
- D-xylose	-
- L-xylose	-
- adonitol	-
- β-methyl-D-xyloside	-
- galactose	-
- D-glucose	+
- D-fructose	+
- D-mannose	+
- L-sorbose	-
- rhamnose	-
- dulcitol	-
- inositol	-
- mannitol	-
- sorbitol	-

+ ve = Gram positive bacteria, + = positive reaction, - = negative reaction

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ค.1 รายละเอียดการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่แยกได้จากน้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH เท่ากับ 4.0 และ a_w เท่ากับ 0.93 (ต่อ)

Characteristics	Reaction
Fermentative production of acid from:	
- α-methyl-D-mannoside	-
- α-methyl-D-glucoside	-
- N-acetyl-glucosamine	+
- amygdaline	-
- arbutine	-
- esculine	+
- salicine	+
- cellobiose	+
- maltose	+
- lactose	-
- melibiose	-
- sucrose	-
- trehalose	-
- inuline	-
- melezitose	-
- D-raffinose	-
- starch	-
- glycogene	-
- xylitol	-
- β-gentiobiose	-
- D-turanose	+
- D-lyxose	-
- D-tagatose	-
- D-fucose	-

+ = positive reaction, - = negative reaction

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ค.1 รายละเอียดการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่แยกได้จากน้ำพริกแกงเผ็ดที่มีค่า pH เท่ากับ 4.0 และ a_w เท่ากับ 0.93 (ต่อ)

Characteristics	Reaction
Fermentative production of acid from:	
- L-fucose	-
- D-arabitol	-
- L-arabitol	-
- gluconate	-
- 2-keto-gluconate	-
- 5-keto-gluconate	-

+ = positive reaction, - = negative reaction

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

การคำนวณเวลาที่ต้องการใช้ในการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน

การหาระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ (ดัดแปลงจาก National Canners Association, 1986)

1. นำกระป๋องเคลือบแลกเกอร์ขนาด 300x108 มาเจาะรูด้านข้างที่ตำแหน่ง ½ ของความสูงของกระป๋อง แล้วใส่อุปกรณ์ที่ใช้ในการยึด thermocouple ให้แน่น บรรจุน้ำพริกแกงเผ็ดใส่กระป๋อง 114 กรัม ให้เหลือ headspace ประมาณ 0.5±0.1 มิลลิเมตร
2. ผ่านเครื่องไล่อากาศด้วยไอน้ำจนกระทั่งอุณหภูมิที่จุดกึ่งกลางของกระป๋องไม่ต่ำกว่า 75°C ปิดฝากระป๋องทันที
3. เสียบ thermocouple เข้ากระป๋องโดยให้ส่วนปลายอยู่ที่จุดกึ่งกลางของกระป๋อง นำตัวอย่างเข้าเครื่องฆ่าเชื้อ ปิดฝาเครื่อง แล้วเปิดไอน้ำ บันทึกเวลาเมื่ออุณหภูมิภายในเครื่องฆ่าเชื้อเป็น 110°C (RT) ซึ่งเวลาดังกล่าวนี้เรียกว่า Come-up time (CUT) บันทึกอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารกระป๋องที่จุด cold point (IT) ตั้งแต่เริ่มเปิดไอน้ำเข้าเครื่องฆ่าเชื้อ ซึ่งเป็น zero time บันทึกอุณหภูมิและเวลาทุก 1 นาที (ตารางที่ ง.1)
4. บันทึกอุณหภูมิจนกระทั่งจุดที่ร้อนช้าที่สุดเท่ากับเครื่องฆ่าเชื้อหรือมีค่าคงที่แล้วปิดไอน้ำเริ่มการ cooling ข้อมูลที่บันทึกระหว่างเวลาอุณหภูมิที่ได้คือ Heat penetration data
5. นำข้อมูล Heat penetration data มาเขียนกราฟ Heating curve
6. จากกราฟหาค่า j และ f_h
7. คำนวณหาเวลาในการฆ่าเชื้อดังแสดงในตาราง ง.2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ง.1 Heat penetration data ของน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋อง กำหนดอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อที่ 110°C

เวลา (นาที)	อุณหภูมิ ณ จุด cold point (°C)
0	75.4
1	74.3
2	73.4
3	73.5
4	74.6
5	75.7
6	76.9
7	78.3
8	79.8
9	81.6
10	83.4
11	85.3
12	87.3
13	89.1
14	90.9
15	92.7
16	94.4
17	96.0
18	97.3
19	98.6
20	99.8
21	100.9
22	101.9
23	102.7
24	103.5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ง.1 Heat penetration data ของน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋อง กำหนดอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อที่ 110°C (ต่อ)

เวลา (นาที)	อุณหภูมิ ณ จุด cold point (°C)
25	104.2
26	104.9
27	105.4
28	106.0
29	106.4
30	106.8
31	107.1
32	107.5
33	107.7
34	108.0
35	108.2
36	108.4
37	108.6
38	108.7
39	108.9
40	109.0
41	109.1
42	109.2
43	109.3
44	109.4
45	109.4
46	109.5
47	109.6
48	109.7
49	109.6

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ง.1 Heat penetration data ของน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋อง กำหนดอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อที่ 110°C (ต่อ)

เวลา (นาที)	อุณหภูมิ ณ จุด cold point (°C)
50	107.7
51	104.1
52	99.8
53	95.9
54	91.3
55	87.5
56	83.9
57	80.6
58	77.4
59	74.7
60	72.2
61	69.9
62	67.8
63	65.7
64	64.1
65	62.7
66	61.3
67	60.1
68	59.0
69	58.0
70	57.2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ง.2 การคำนวณหาเวลาที่ต้องใช้ในการฆ่าเชื้อน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋อง

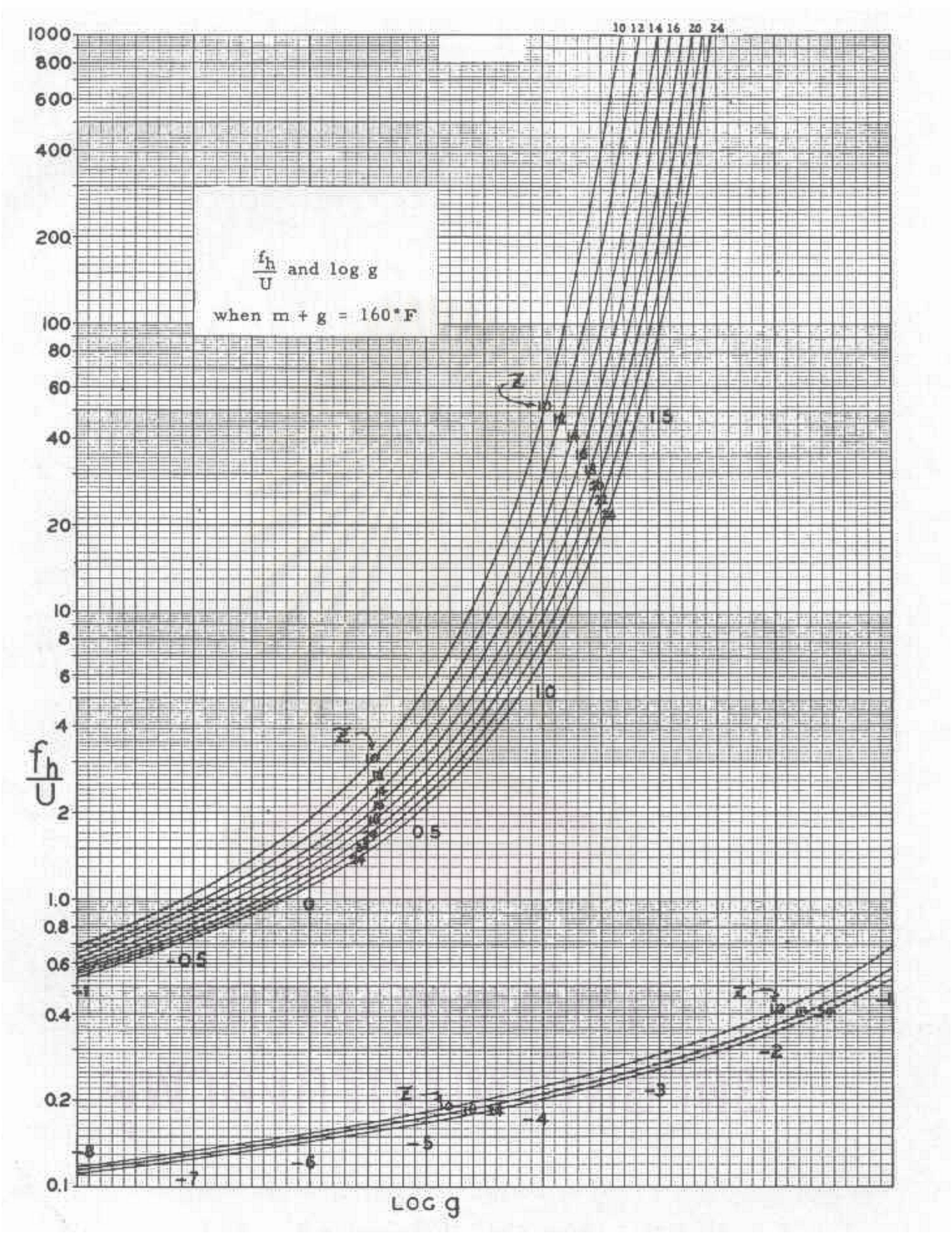
	3D-process	**5D-process**
j	1.9	1.9
f_h	19.5	19.5
F_0	**3**	**5**
RT	110	110
IT	75.4	75.4
I	34.6	34.6
jI	67.0	67.0
F_i	12.92	12.92
$U=FF_i$	**38.76**	**64.60**
f_h/U	**0.503**	**0.302**
log g	**-1.278**	**-2.6**
log jI	1.83	1.83
$B_B= f_h (\log jI - \log g)$	**61**	**87**

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ง.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง log g กับ f_h / U (American Can Company,1964)

f_h / U	log g	f_h / U	log g	f_h / U	log g	f_h / U	log g
0.350	-2.147	0.440	-1.563	0.530	-1.172	0.620	-0.907
0.352	-2.131	0.442	-1.552	0.532	-1.170	0.622	-0.903
0.354	-2.115	0.444	-1.542	0.534	-1.163	0.624	-0.898
0.356	-2.099	0.446	-1.532	0.536	-1.156	0.626	-0.894
0.358	-2.083	0.448	-1.522	0.538	-1.149	0.628	-0.890
0.360	-2.068	0.450	-1.512	0.540	-1.142	0.630	-0.886
0.362	-2.052	0.452	-1.502	0.542	-1.135	0.632	-0.881
0.364	-2.037	0.454	-1.493	0.544	-1.128	0.634	-0.877
0.366	-2.022	0.456	-1.483	0.546	-1.122	0.636	-0.873
0.368	-2.007	0.458	-1.473	0.548	-1.115	0.638	-0.868
0.370	-1.993	0.460	-1.464	0.550	-1.108	0.640	-0.864
0.372	-1.978	0.462	-1.455	0.552	-1.102	0.642	-0.860
0.374	-1.964	0.464	-1.445	0.554	-1.095	0.644	-0.856
0.376	-1.950	0.466	-1.436	0.556	-1.089	0.646	-0.851
0.378	-1.936	0.468	-1.427	0.558	-1.082	0.648	-0.847
0.380	-1.922	0.470	-1.418	0.560	-1.076	0.650	-0.843
0.382	-1.908	0.472	-1.408	0.562	-1.069	0.652	-0.838
0.384	-1.894	0.474	-1.400	0.564	-1.063	0.654	-0.834
0.386	-1.881	0.476	-1.391	0.566	-1.057	0.656	-0.830
0.388	-1.867	0.478	-1.382	0.568	-1.051	0.658	-0.825
0.390	-1.854	0.480	-1.373	0.570	-1.044	0.660	-0.821
0.392	-1.851	0.482	-1.365	0.572	-1.038	0.662	-0.817
0.394	-1.828	0.484	-1.356	0.574	-1.032	0.664	-0.812
0.396	-1.815	0.486	-1.348	0.576	-1.026	0.666	-0.808
0.398	-1.803	0.488	-1.339	0.578	-1.020	0.668	-0.804

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ ง.1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า f_h/U กับ log g (National Canners Association, 1986)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวอรอง จันทร์ประสาทสุข เกิดวันที่ 3 กรกฎาคม 2520 ที่ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2541 และศึกษาต่อในระดับปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2542

ผลงานทางวิชาการ

- อรอง จันทร์ประสาทสุข, สายวรุฬ์ ชัยวานิชศิริ และกัลยา เลาหสงคราม. กระบวนการผลิตน้ำพริกแกงเผ็ดกระป๋องโดยเทคโนโลยีเฮอร์เดิล. การเสนอผลงานวิชาการแบบบรรยาย. การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 11. 18-19 มีนาคม 2546. กรุงเทพมหานคร: คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย