



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์การอาหาร

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อไก่หมักแบบแห้ง: การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันอิสระ
สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน และเปปไทด์ที่แสดงสมบัติต้านอนุมูลอิสระ
ในระหว่างกระบวนการผลิต

Dry Cured Ham Product from Chicken Thighs: Changes of Free Fatty Acids,
Non-Protein Nitrogen Compounds and Antioxidant Peptides during Processing

นามผู้วิจัย นางสาวสุริย์รัตน์ จอมเขียว

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์วรรณวิบูลย์ กาญจนบุญชร, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณิ จิรภาคย์กุล, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบุญย์ สัจจานันตกุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา นีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลิตภัณฑ์แฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง: การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันอิสระ สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน และเปปไทด์ที่แสดงสมบัติต้านอนุมูลอิสระในระหว่างกระบวนการผลิต

Dry Cured Ham Product from Chicken Thighs: Changes of Free Fatty Acids, Non-Protein Nitrogen Compounds and Antioxidant Peptides during Processing

โดย

นางสาวสุริย์รัตน์ จอมเขียว

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

พ.ศ. 2553

สุริย์รัตน์ จอมเจิว 2553: ผลผลิตภัณฑ์แฮมร่องไก่หมักแบบแห้ง: การเปลี่ยนแปลงกรดไขมัน
อิสระ สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน และเปปไทด์ที่แสดงสมบัติต้านอนุมูลอิสระใน
ระหว่างกระบวนการผลิต ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สาขา
วิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์วรรณวิบูลย์ กาญจนกุญชร, Ph.D. 107 หน้า

ประเทศไทยผลิตชิ้นส่วนเนื้อไก่สดในรูปแบบต่าง ๆ จำนวนมาก ผลผลิตภัณฑ์แฮมร่องไก่หมักแบบแห้ง
นิยมทำจากขาหมูโดยพบแพร่หลายในหลายประเทศแต่ยังไม่ค่อยเป็นที่รู้จักในกลุ่มผู้บริโภคของไทยเพื่อ
เพิ่มปริมาณการบริโภคเนื้อไก่จึงสนใจพัฒนาผลผลิตภัณฑ์แฮมร่องไก่หมักแบบแห้งจากเนื้อไก่ โดยศึกษาการ
เปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านเคมีและกายภาพในระหว่างการหมัก ปัจจัยในการหมักที่ส่งผลต่อการ
เปลี่ยนแปลงปริมาณเกลือ pH a_w และคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของแฮมร่องไก่หมักแบบแห้ง และ
เปรียบเทียบการวิเคราะห์ปริมาณเกลือโดยวิธี Volhard และวิธี Ion selective electrode (ISE) เพื่อใช้
วิเคราะห์ปริมาณเกลือในแฮม ซึ่งพบว่าวิธี ISE มีความเหมาะสมกว่าวิธี Volhard จากการศึกษาผลของ
ปัจจัยการหมักต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเกลือ pH a_w และคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของแฮมร่องไก่
หมักแบบแห้ง พบว่าปริมาณเกลือที่ใช้ในการหมัก 10 กรัม/กิโลกรัมเนื้อไก่ อุณหภูมิในการบ่มที่ 4 องศา
เซลเซียส บ่มต่อเนื่องโดยลดอัตราการเปลี่ยนน้ำจากแฮมหมักในช่วงสุดท้ายของการบ่มเป็นสภาวะที่ต้อง
ควบคุมเพื่อให้ได้แฮมร่องไก่หมักแบบแห้งที่มีคุณภาพด้านประสาทสัมผัสใกล้เคียงแฮมหมักแบบแห้ง
จากหมู และจากการติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างหมักเป็นเวลา 45 วัน พบว่าปริมาณ
เกลือในแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งเพิ่มขึ้นจาก 3.27 เป็น 14.93 เปอร์เซ็นต์ ส่วนความเป็นกรด-เบส
เพิ่มขึ้นจาก 6.48 เป็น 7.29 ค่าออกซิเดชันแอสคอร์บิก (a_w) ลดลงจาก 0.884 เป็น 0.685 และปริมาณไนโตรเจนที่
ไม่ใช่โปรตีนเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมักในขณะที่ปริมาณโปรตีนทั้งหมดลดลง ปริมาณกรดไขมัน
อิสระเพิ่มขึ้นแต่ปริมาณไขมันทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย นอกจากนั้น ตรวจพบว่าสารสกัดแฮม
ร่องไก่หมักแบบแห้งที่สกัดด้วย TCA ร้อยละ 7 แสดงสมบัติในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระ (ตรวจด้วย
วิธี DPPH) แต่สมบัติด้านการเกิดอนุมูลอิสระลดลงตามระยะเวลาการบ่มแฮมที่เพิ่มขึ้น ขณะเดียวกันสาร
สกัดที่ละลายน้ำได้จากแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งมีปริมาณโปรตีนที่มีขนาดเล็กที่มีขนาดโมเลกุลในช่วง
7-25 kDa ที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อบ่มเป็นเวลานานขึ้น

Sureerut Jomkiaw 2010; Dry Cured Ham Product from Chicken Thighs: Changes of Free Fatty Acids, Non-Protein Nitrogen Compounds and Antioxidant Peptides during Processing. Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Associate Professor Wunwiboon Garnjanagoonchorn, Ph.D. 107 pages.

Large quantities of products from fresh chicken meat are produced in Thailand. Dry cured ham from pork leg are found widespread in many countries but not well known among Thai consumer. To increase chicken meat consumption it is interesting to develop dry cured ham from chicken thigh. The changes of chemical and physical properties of ham during curing were also studied. The effect of processing conditions on salt content, pH, a_w and sensory attributes of ham were determined. The analysis of salt content by Volhard method and Ion selective electrode (ISE) were compared, where ISE method was found more suitable. The results showed that curing salt of 10 g/kg of chicken thigh, curing temperature of 4°C with control rate of moisture lost from ham are considered important in order to obtain sensory quality similar to dry cured ham from pork. Ham qualities were determined during 45 days curing. The results showed an increase in salt content from 3.27 to 14.93% and pH increased from 6.48 to 7.29. In addition, water activity (a_w) decreased from 0.884 to 0.685 and non protein nitrogen (NPN) content increased gradually whereas total protein decreased during curing. Furthermore, the percentage of total fat were slightly changed and free fatty acid (FFA) increased during curing. The filtrate of chicken thigh dry cured ham extract with 7%TCA showed a decrease in antioxidant activity (DPPH method) with an increase of curing time. Meanwhile the water soluble protein extract from chicken dry cured ham showed an increase in 7-25 kDa peptides during curing.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.วรรณวิบูลย์ กาญจนบุญชู อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ให้ความช่วยเหลือทั้งในด้านคำปรึกษา แนวคิด เป็นแบบอย่างในการทำงาน ทุนสำหรับงานวิจัย ตลอดจนตรวจสอบและให้คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรรณ จิรภาคย์กุล เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ดร.จิตศิริ ราชตะนะพันธุ์ ประธานการสอบ และรองศาสตราจารย์ ดร.รมณี สงวนดีกุล ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำแนะนำในการปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ในภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ต่างๆ แก่ข้าพเจ้า นอกจากนี้ข้าพเจ้าขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำงาน ขอขอบคุณในความห่วงใย ความมีน้ำใจ และความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้านของเพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ นิสิตปริญญาโท ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารทุกท่าน

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ของข้าพเจ้าที่มอบความรักความห่วงใยและกำลังใจ ตลอดจนสนับสนุนด้านกำลังทรัพย์จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ ประโยชน์อันเนื่องมาจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ จะพึงมีเพียงใด ขอมอบแด่ คุณพ่อ คุณแม่ และคณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้เมตตาอบรมสั่งสอนให้มีความรู้จนถึงปัจจุบัน

สุริย์รัตน์ จอมเขียว

สิงหาคม 2552

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	21
อุปกรณ์	21
วิธีการ	24
ผลและวิจารณ์	31
สรุปและข้อเสนอแนะ	61
สรุป	61
ข้อเสนอแนะ	62
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	63
ภาคผนวก	71
ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์ปริมาณเกลือ	72
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์ทางเคมี	76
ภาคผนวก ค วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH	81
ภาคผนวก ง วิธีการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบ SDS-PAGE	84
ภาคผนวก จ การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส	92
ภาคผนวก ฉ ผลการทดลอง	94
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	107

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สภาวะการทดลองของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง	26
2	ปริมาณเกลือจากเนื้อส่วนนอกและส่วนใน pH และ a_w ของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง บ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 36 และ 44 วัน หลังจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และบ่มที่ 4°C เป็นเวลา 45 วัน ที่หมักด้วยเกลือ 7 และ 10 g/kg	44
3	การลดลงของปริมาณของแข็งในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งที่ระยะเวลาต่าง ๆ จาก 0-45 วัน ของการหมัก กัน	52
4	การเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของไก่สด แฮมน่องไก่หมักแบบแห้งที่ระยะเวลาการบ่มต่าง ๆ และ ชวนเหว่ยแฮม	58
5	ร้อยละของสัดส่วนความชื้นของแถบเปปไทด์ในหน่วยย่อยของเนื้อไก่สด และแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่ระยะเวลาการบ่มต่าง ๆ	60
ตารางผนวกที่		
ง1	สูตรสำหรับการเตรียม SDS-PAGE Separating and Stacking Gel	86
ฉ1	ปริมาณเกลือในสารละลายวิเคราะห์โดยวิธี Volhard และวิธี ISE	95
ฉ2	ค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ปริมาณเกลือในสารละลายที่มีเกลือต่ำด้วยวิธี Volhard	95
ฉ3	ค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ปริมาณเกลือในสารละลายที่มีเกลือต่ำกว่าช่วงที่ทำการ calibrate เครื่องมือจากการวัดด้วยวิธี ISE	96
ฉ4	ปริมาณเกลือในเนื้อไก่บดวิเคราะห์โดยวิธี Volhard และวิธี ISE	96
ฉ5	ปริมาณเกลือในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 0-45 วัน	97
ฉ6	ปริมาณเกลือในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 50°C โดยหุ้มและไม่หุ้มพลาสติกใสห่ออาหาร เป็นเวลา 0-12 วัน	98

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ฉ7	ค่า pH ในแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 0-45 วัน	99
ฉ8	ค่า pH ในแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 50°C โดยหุ้มและไม่หุ้มพลาสติกใสห่ออาหาร เป็นเวลา 0-12 วัน	100
ฉ9	ค่า a_w ในแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 0-45 วัน	101
ฉ10	ค่า a_w ในแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 50°C โดยหุ้มและไม่หุ้มพลาสติกใสห่ออาหาร เป็นเวลา 0-12 วัน	102
ฉ11	ปริมาณความชื้นของแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C, 0-45 วัน	103
ฉ12	ปริมาณความชื้นของแฮมร่องไก่หมักแบบแห้ง หมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 50°C โดยหุ้มและไม่หุ้มพลาสติกใสห่ออาหาร เป็นเวลา 0-12 วัน	104
ฉ13	ปริมาณร้อยละของโปรตีน ไนโตรเจนทั้งหมด และไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน ของแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C 0-45 วัน	105
ฉ14	ปริมาณร้อยละของไขมันและกรดไขมันอิสระของแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C 0-45 วัน	106

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 โครงสร้างทางเคมีของไมโอโกลบิน (myoglobin)	8
2 ขั้นตอนการเกิดไนโตรโซฮีโมโกลบินในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์	9
3 แผนผังการผลิตชวนเหว่ยแฮม (Xuanwei ham)	11
4 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH	19
5 ความแตกต่างของปริมาณเกลือระหว่างค่าที่วัดได้โดยวิธี Volhard และวิธี ISE กับร้อยละของเกลือที่มีอยู่จริงในสารละลายที่ระดับ ร้อยละ 0.99 2.91 4.76 และ 6.54 โดยน้ำหนัก	32
6 ความแตกต่างของปริมาณเกลือระหว่างค่าที่วัดได้โดยวิธี Volhard กับสารละลายที่มีเกลือต่ำกว่าร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก	32
7 ความแตกต่างของปริมาณเกลือระหว่างค่าที่วัดโดยวิธี ISE กับค่าที่เป็นจริงเมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างสารละลายที่มีเกลือต่ำกว่าช่วงที่ทำการ calibrate เครื่องมือ โดยร้อยละของเกลือในสารละลายเท่ากับร้อยละ 0.99×10^{-6} 2.91×10^{-6} 4.76×10^{-6} และ 6.54×10^{-6} โดยน้ำหนัก	34
8 ความแตกต่างของปริมาณเกลือระหว่างค่าที่วัดได้โดยวิธี Volhard และวิธี ISE กับร้อยละของเกลือที่มีอยู่จริงในเนื้อไก่บด ร้อยละ 0.99 2.91 4.76 และ 6.54 โดยน้ำหนัก	34
9 ปริมาณเกลือในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน	36
10 ค่า pH ในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน	37
11 ค่า a_w ในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน	38
12 ลักษณะปรากฏของน่องไก่สด (A) แฮมน่องไก่หมักแบบแห้งที่บ่มเป็นเวลา 30 วัน (B) และชิ้นแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งที่บ่มเป็นเวลา 30 วัน (C)	39

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
13	แสมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 7 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C (A) และ (B) ส่วน ภาพ (C) และ (D) หมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ [(A) (C) บ่ม 30 วัน และ (B) (D) บ่ม 45 วัน]	40
14	ปริมาณเกลือในแสมน่องไก่หมักแบบแห้งระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน และ 50°C เป็นเวลา 12 วัน	41
15	pH ในระหว่างการหมักแสมน่องไก่หมักแบบแห้งระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน และ 50°C เป็นเวลา 12 วัน	42
16	ค่า a_w ในระหว่างการหมักแสมน่องไก่หมักแบบแห้งระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน และ 50°C เป็นเวลา 12 วัน	42
17	แสมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน (A) และ 50°C เป็นเวลา 12 วัน (B)	43
18	แสมน่องไก่หมักแบบแห้ง หมักด้วยเกลือ 7 g/kg ที่ 4°C 36 วัน ตามด้วย 50°C 24 ชั่วโมง (A) และ หมักด้วยเกลือ 10 g/kg ที่ 4°C 44 วันตามด้วย 50°C 24 ชั่วโมง (B)	45
19	การเปลี่ยนแปลงปริมาณเกลือระหว่างหมักแสมน่องไก่หมักแบบแห้งด้วยเกลือ 10 g/kg ที่อุณหภูมิ 50°C โดยหุ้มและไม่หุ้มน่องไก่ด้วยแผ่นพลาสติก (In Out=เนื้อ ด้านใน และด้านนอก)	46
20	ค่า pH ในแสมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 50°C โดยหุ้มและไม่หุ้มพลาสติกใสห่ออาหาร เป็นเวลา 0-12 วัน	47
21	ค่า a_w ในแสมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 50°C โดยหุ้มและไม่หุ้มพลาสติกใสห่ออาหาร เป็นเวลา 0-12 วัน	48
22	แสมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 50°C 12 วัน (A) หุ้ม พลาสติกใสและ (B) ไม่หุ้มพลาสติกใส	49
23	ปริมาณความชื้นของแสมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C 0-45 วัน (แต่ละจุดเกิดจากค่าเฉลี่ย $n = 4$)	50

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
24	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C 0-45 วัน (แต่ละจุดเกิดจากค่าเฉลี่ย n = 4)	53
25	ปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนของแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C 0-45 วัน (แต่ละจุดเกิดจากค่าเฉลี่ย n = 4)	54
26	ปริมาณไขมันของแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C 0-45 วัน (แต่ละจุดเกิดจากค่าเฉลี่ย n = 4)	55
27	ไขมันที่ไม่สามารถสกัดออกหมดเมื่อระยะเวลาการบ่มมากกว่า 32 วัน	55
28	ปริมาณกรดไขมันอิสระในรูป Oleic acid ของแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C 0-45 วัน (แต่ละจุดเกิดจากค่าเฉลี่ย n = 4)	56
29	ลักษณะบน 18% SDS-PAGE ของสารสกัดโปรตีนจากไก่สด (lane 1-2) แฮมร่องไก่หมักแบบแห้ง 15 วัน (lane 3-4) 45 วัน (lane 5-6) ชวนเหว่ยแฮม (lane 7-8) standard marker proteins (lane M) และ peptide marker (lane PM)	60
ภาพผนวกที่		
ค1	กราฟมาตรฐานของวิตามินซีสำหรับการตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	83

**ผลิตภัณฑ์แฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง: การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันอิสระ สารประกอบ
ไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน และเปปไทด์ที่แสดงสมบัติต้านอนุมูลอิสระในระหว่าง
กระบวนการผลิต**

**Dry Cured Ham Product from Chicken Thighs: Changes of Free Fatty Acids,
Non-Protein Nitrogen Compounds and Antioxidant Peptides during Processing**

คำนำ

แฮมหมักแบบแห้งนิยมทำจากขาหลังของสุกร มีบริโภคกันอย่างแพร่หลายในหลาย ๆ ประเทศ โดยมีชื่อเรียก วิธีผลิต กลิ่นรส แตกต่างกันไป เช่น ชวนเหว่ยแฮม จินหัวแฮมในประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ไอบอร์เรียนแฮมของประเทศสเปน พาร์มาแฮมของประเทศอิตาลี เป็นต้น จากสถิติประเทศไทยมีการนำเข้าแฮมหมักจากประเทศต่าง ๆ เช่น ประเทศจีน เยอรมัน สเปน ฝรั่งเศส และอิตาลี ซึ่งผลิตภัณฑ์ประเภทนี้มีกระบวนการบ่มยาวนาน 6-12 เดือน หรือมากกว่า จากการที่ประเทศไทยมีการผลิตเนื้อไก่สดจำนวนมาก แต่การแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ยังมีไม่หลากหลายเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ชนิดอื่น ดังนั้นจึงเห็นควรพิจารณาผลิตภัณฑ์แฮมหมักแบบแห้งจากเนื้อไก่ส่วนน่อง เนื่องจากมีขนาดชิ้นไม่ใหญ่มาก น่าจะมีระยะเวลาการหมักและการบ่มสั้นกว่าขาหลังของสุกร สามารถส่งเสริมการบริโภคได้ทั้งผู้บริโภคเนื้อสัตว์ทั่วไปและผู้ที่นับถือศาสนาอิสลาม ซึ่งมีข้อจำกัดในการบริโภคผลิตภัณฑ์จากเนื้อสุกร อนึ่งข้อมูลการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนากระบวนการผลิตที่เหมาะสมสำหรับวัตถุดิบอื่น ๆ นอกเหนือจากเนื้อไก่ รวมทั้งชี้แนะการผลิตที่ใช้ระยะเวลาการบ่มที่สั้นกว่าวิธีดั้งเดิม

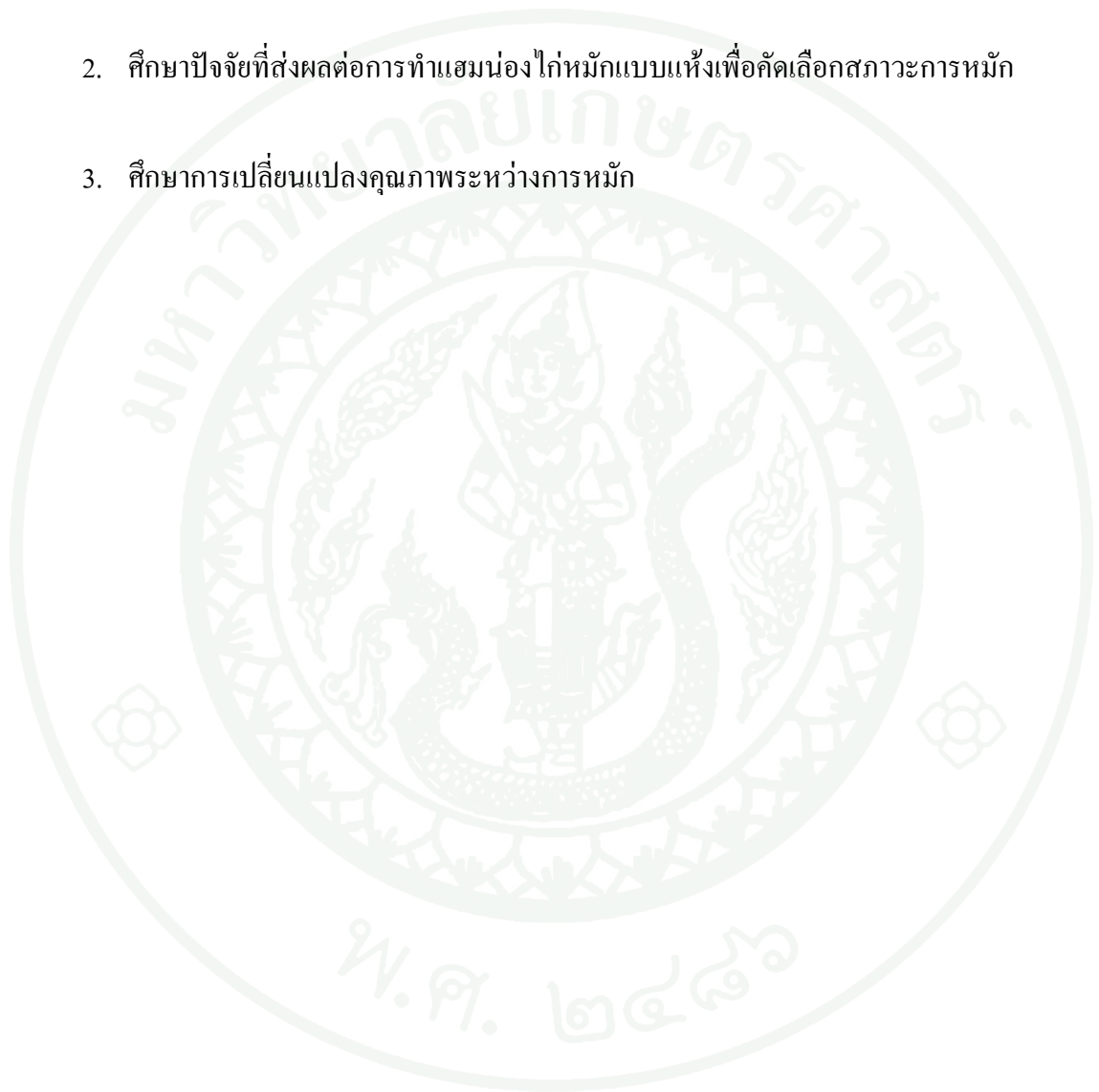
เนื่องจากผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่ที่บริโภคกันในประเทศไทย ส่วนมากนิยมบริโภคสดในรูปของไก่ทอด ไก่ย่าง เบคอนไก่ ลูกชิ้นไก่ เป็นต้น และการส่งออกนั้นประเทศไทยส่งออกผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ในรูปของผลิตภัณฑ์แช่เยือกแข็ง เช่น ไก่สดแช่เยือกแข็ง ชิ้นส่วนไก่แช่เยือกแข็ง เป็นต้น ผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่มีทั้งที่เป็นไก่สด กับผลิตภัณฑ์ไก่ปรุงสุก เช่น ไก่ห่อสาหร่าย ไก่เสียบไม้แช่เยือกแข็ง แนกเก็ต ไก่ป๊อป เป็นต้น ซึ่งจากที่กล่าวมาข้างต้นจะพบว่าการแปรรูปผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่ยังมีอยู่น้อย และในปัจจุบันกระแสนิยมในการรับประทานแฮมมีสูงขึ้น โดยส่วนใหญ่แล้วแฮมผลิตจากขาหลังของสุกร แฮมหมักแบบแห้งที่ทำจากเนื้อสุกรมีราคาแพง ในต่างประเทศมีการผลิตแฮมชนิดนี้เป็นเวลานานมาแล้ว และผลิตกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ผลิตภัณฑ์แฮมหมักแบบ

แห่งที่มีชื่อเสียงของประเทศต่าง ๆ เช่น Parma ham ของประเทศอิตาลี Teruel ham และ Iberian ham ของประเทศสเปน Zard Kuh ham ของประเทศอิหร่าน จินห้วแฮม และ ชวนเหว่ยแฮมของประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน เป็นต้น ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงเป็นที่มาของงานวิจัยในครั้งนี้



วัตถุประสงค์

1. ศึกษาวิธีวิเคราะห์เกลือในผลิตภัณฑ์แฮมม่อนไก่หมักแบบแห้ง
2. ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการทำแฮมม่อนไก่หมักแบบแห้งเพื่อคัดเลือกสภาวะการหมัก
3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการหมัก



การตรวจเอกสาร

แฮมเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเนื้อขาหลังของสุกร ซึ่งมีน้ำหนักตั้งแต่ 4.0-9.0 กิโลกรัม ตัดแยกจากซาก อาจจะมีกล้ามเนื้อส่วนอื่นปน หรือมีกระดูก กระดูกอ่อน เอ็น ฟังค์ หนังและไขมัน ติดอยู่ด้วยหรือไม่ก็ได้ซึ่งผ่านกรรมวิธีการหมักที่ดี (มอก, 2532)

แฮมจำแนกตามวิธีการหมักมี 2 ชนิดดังนี้ (ปัญญกรณ์, 2546)

1. การหมักแบบแห้ง (Dry Cure) เป็นการหมักที่ใช้ส่วนผสมสำหรับการหมักในรูปของแห้งโดยผสมส่วนต่างๆ ให้เข้ากันและคลุกเคล้าให้ทั่วบนผิวเนื้อสัตว์ การหมักแห้งแบ่งออกเป็น 2 แบบคือ การหมักด้วยเกลือบริสุทธิ์อย่างเดียว (dry salt cure) ความเข้มข้นของเกลือประมาณร้อยละ 7-10 ของน้ำหนักเนื้อ และการหมักด้วยเกลือบริสุทธิ์ร่วมกับน้ำตาลทราย (dry sugar cure) โดยใช้ความเข้มข้นของเกลือประมาณร้อยละ 5-8 และความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 2-5 อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มไม่เกิน 0-4 องศาเซลเซียส เวลาในการบ่มขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเกลือและขนาดของชิ้นเนื้อแต่ไม่ควรต่ำกว่า 24 ชั่วโมง ข้อดีของวิธีหมักแห้งคือรวดเร็วเนื่องจากใช้ความเข้มข้นของเกลือค่อนข้างสูงเพื่อให้เกลือแทรกซึมเข้าเนื้อโดยตรง

2. การหมักแบบเปียก แบ่งออกเป็น 3 ประเภทดังนี้

2.1 ในน้ำเกลือ (Pickle Cure) โดยการละลายส่วนผสมสำหรับการหมักในน้ำสะอาด ต้มสารละลายให้เดือดและทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส สารละลายที่ได้เรียกว่า น้ำเกลือ ในการหมักควรกดให้เนื้อจมในสารละลาย และบ่มที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส 3-7 วัน สารต่างๆ จะแทรกซึมเข้าไปในเนื้อโดยการแพร่ การหมักในน้ำเกลือ แบ่งออกเป็น 2 แบบคือ การหมักในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นสูงจากการใช้เกลือบริสุทธิ์อย่างเดียว เรียกว่า strong cure ความเข้มข้นของเกลือประมาณร้อยละ 10 - 12 ของปริมาณสารละลาย อีกแบบหนึ่งคือ การหมักในน้ำเกลือที่ประกอบด้วยเกลือบริสุทธิ์และน้ำตาล เรียกว่า sweet pickle cure ความเข้มข้นของเกลือประมาณร้อยละ 5-8 และความเข้มข้นของน้ำตาลประมาณร้อยละ 2-5 พบว่า การหมักแบบ sweet pickle cure ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีรสชาติกลมกล่อมกว่าการหมักแบบ strong cure แต่อายุการเก็บสั้นกว่า

2.2 การฉีด (Injection) เป็นวิธีที่ใช้น้ำเกลือฉีดเข้ากล้ามเนื้อหรือเส้นเลือดของสัตว์ การฉีดน้ำเกลือเข้าเส้นเลือดสัตว์ในขณะที่เป็นซาคช่วยให้ น้ำเกลือแพร่กระจายได้เร็วขึ้น

2.3 การหมักแบบผสม (Combination Cure) เป็นการนำวิธีการหมักข้างต้นมาใช้ร่วมกันเช่น การหมักแบบ semi-dry cure ซึ่งใช้วิธีการหมักแห้งในช่วงแรกประมาณ 1-3 วัน และการหมักในน้ำเกลือต่อจนครบกำหนดประมาณ 2-7 วัน อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักเนื้อไม่ควรเกิน 4 องศาเซลเซียส

การหมักเค็ม (Curing) เป็นวิธีการถนอมเนื้อสัตว์ที่นิยมใช้มีผลทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เนื้อที่มีกลิ่นรสเฉพาะตัว สีสวย และเนื้อสัมผัสดีส่วนประกอบหลักสำคัญที่ใช้ในการหมักเค็มได้แก่

1. เกลือ

เกลือที่ใช้ในการแปรรูปเนื้อสัตว์อยู่ในรูปของเกลือโซเดียมคลอไรด์หรือเกลือแกง เกลือให้รสชาติ ช่วยสกัดโปรตีนในกล้ามเนื้อ มีผลต่อการลดน้ำในผลิตภัณฑ์และทำให้แรงดันออสโมติกของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป เกลือปริมาณมากทำให้วอเตอร์แอคทีวี่ ลดลง จึงมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และป้องกันการเน่าเสีย ทำให้อายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ยาวนานขึ้น เกลือที่ใช้ในแฮมควรเป็นเกลือชนิดที่ใช้กับอาหารได้ (food grade) สะอาดผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้วนิยมใช้เกลือสินเธาว์ที่ปราศจากโลหะหนักมากกว่าเกลือสมุทร ทำให้ผลิตภัณฑ์ไม่เกิดปฏิกิริยาการหืนของไขมัน เนื่องจากโลหะหนักที่ปนมา (เขาวลัษณ์, 2536)

นอกจากนี้ยังมีส่วนประกอบอื่น ๆ เพื่อเร่งการหมักให้ใช้เวลาในการทำผลิตภัณฑ์สั้นลงเพื่อสร้างและรักษาสีของเนื้อให้คงทนรวมทั้งมีรสชาติและลักษณะเนื้อน่ารับประทาน การใช้เกลือในปัจจุบันใช้ที่ระดับต่ำเพื่อการสร้างรสชาติที่ดี โดยที่ระดับนี้เกลือก็ยังสามารถทำหน้าที่ในการเก็บรักษาได้เหมือนเดิม โดยที่เกลือจะละลายแทรกซึมเข้าไปในชิ้นเนื้อ ซึ่งจะมีผลต่อลักษณะคุณภาพด้านต่าง ๆ ของแฮม ดังนี้

ระยะแรก เกลือจะไปดึงน้ำจากเนื้อเยื่อเพื่อละลายตัวเอง ทำให้น้ำหนักของผลิตภัณฑ์ลดลง โดยโครงสร้างของเนื้อเยื่อจะเป็นตัวกำหนดความเร็วของปรากฏการณ์นี้ ถ้าเนื้อเยื่อที่มีความหนาแน่นมาก การดึงน้ำออกจะเป็นไปอย่างช้าๆ น้ำหนักของผลิตภัณฑ์จะลดลงอย่างช้า ๆ แต่ถ้า

เนื้อเยื่อที่เกาะกันอย่างหลวม ๆ การคั่งน้ำจะเป็นไปอย่างรวดเร็ว ทำให้น้ำหนักของผลิตภัณฑ์ลดลงอย่างรวดเร็ว

ระยะที่สอง กลีโอละลายแล้วจะไปทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติและเกิดการจับตัวกันเป็นก้อน ซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักมีลักษณะเหนียวแข็งขึ้น

ระยะที่สาม เป็นระยะที่ระบบทั้งหมดอยู่ในสภาพคงที่ บางส่วนของกลีโอละลายไปจับกับเนื้อเยื่อทำให้น้ำหนักเพิ่มขึ้นเล็กน้อย จากนั้นน้ำหนักจะเริ่มคงที่

จากการที่กลีโอละลายไปคั่งน้ำออกจากเนื้อเยื่อมีผลทำให้ค่าออกเตอร์แอกติวิตี (a_w) ของระบบลดลง ทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ นอกจากนี้อัตราการซึมผ่านของกลีโอละลายเข้าไปในเนื้อเยื่อของอาหารนั้นขึ้นกับความบริสุทธิ์ของกลีโอละลายด้วย โดยถ้ามีไอออนของแคลเซียมและแมกนีเซียมมากจะไปลดอัตราการซึมเข้าของกลีโอละลายโซเดียมคลอไรด์ ในขณะที่โซเดียมซัลเฟตจะช่วยเพิ่มอัตราการซึมผ่านของกลีโอละลาย และความบริสุทธิ์ของกลีโอละลายก็มีผลต่อกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์เสมอเช่นกัน การซึมผ่านของกลีโอละลายเข้าไปในอาหารนั้นเป็นกระบวนการแพร่ ฉะนั้นอุณหภูมิจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่ออัตราการแพร่ของกลีโอละลาย คือเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นอัตราการแพร่จะสูงขึ้น แต่ที่อุณหภูมิสูงคุณภาพของอาหารจะเสียไปได้ อันเนื่องมาจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ ดังนั้นการหมักแฮมด้วยกลีโอละลายจึงมักทำร่วมกับการใช้อุณหภูมิต่ำเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เพื่อเป็นการรักษาคุณภาพของแฮม (กล้าณรงค์, 2521; ไพบุลย์, 2532)

2. กลีโอละลายไนไตรท์และไนเตรต (Nitrite and Nitrate)

สารประกอบประเภทนี้นับว่ามีความสำคัญต่อการแปรรูปเนื้อสัตว์ให้เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อสำเร็จรูปชนิดต่าง ๆ เช่น แฮม เบคอน ไส้กรอก แหนม กุนเชียง มักจะเรียกผลิตภัณฑ์รวม ๆ ว่า “cured meat” ซึ่งมีวัตถุประสงค์ในการใช้คือป้องกันการงอกของสปอร์ของแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic bacteria) เช่น *Clostridium botulinum* และ *Cl. perfringens* นอกจากนั้นยังช่วยให้เกิดสีและกลิ่นในผลิตภัณฑ์พวก cured meat ซึ่งเป็นที่ถูกใจผู้บริโภคและช่วยให้สีนั้นคงอยู่นานในช่วงของการเก็บรักษาที่ถูกต้อง ซึ่งในผลิตภัณฑ์แฮมนั้น ประกาศกระทรวงสาธารณสุขในเรื่องวัตถุเจือปนอาหารอนุญาตให้ใช้ในรูปแบบของโซเดียมหรือโพแทสเซียมไนเตรดไม่เกิน 500

มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือใช้ในรูปแบบของโซเดียมหรือโพแทสเซียมไนไตรท์ไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

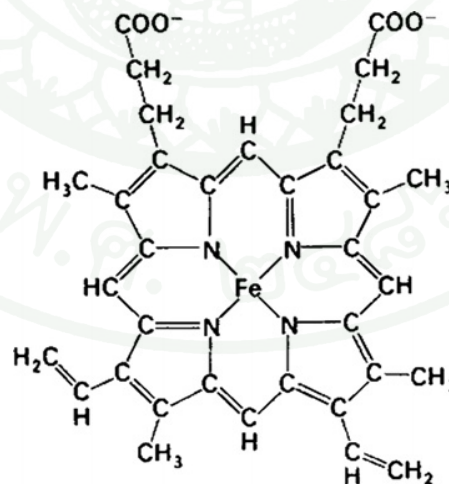
หน้าที่ของเกลือไนไตรท์และไนเตรตในผลิตภัณฑ์เนื้อ (เขาวลัษณ์, 2536; Russell and Gould, 2003)

1. ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดง และรักษาสีแดงของผลิตภัณฑ์ ทำให้มีความน่ารับประทานเพิ่มขึ้น
2. ช่วยเพิ่มรสชาติ (taste) และกลิ่นรส (flavor) แก่ผลิตภัณฑ์ทำให้มีกลิ่นเฉพาะตัว เป็นที่ยอมรับสำหรับผู้บริโภค
3. ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และป้องกันการงอกของสปอร์ของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ โดยเฉพาะพวก *Clostridium botulinum* ป้องกันจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย เช่น lactic acid bacteria เป็นต้น และช่วยป้องกันจุลินทรีย์ก่อโรคทางอาหาร เช่น *Escherichia coli*, *Achromobacter*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* และ *Pseudomonas* และเมื่อใช้ในไตรท์ร่วมกับเกลือที่มากกว่าร้อยละ 6 จะสามารถยับยั้งการเจริญของ *Streptococci* และ *Salmonella* ได้
4. ช่วยยับยั้งการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยจะไปยับยั้งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนของไขมัน (oxidative rancidity)

เกลือไนเตรตทำหน้าที่ช่วยให้เกิดสีใน cured meat ทางอ้อมโดยทำหน้าที่เป็นแหล่งกักเก็บ (reservoir) ไนไตรท์ไว้เพื่อสลายตัวออกมาได้ในระยะยาวโดยมีแบคทีเรียที่รีดิวส์ไนเตรต (nitrate reducing bacteria) ทำหน้าที่นั้นซึ่งการทำงานของเกลือไนเตรตจะจำเป็นเมื่อทำการหมักเนื้อนั้นไว้ในระยะยาวตามวิธีดั้งเดิมนิยมปฏิบัติกันอยู่ จึงจำเป็นต้องใช้เกลือไนเตรตควบคู่กันไปด้วยซึ่งมักผลิตจำหน่ายในรูปแบบของเกลือผสมอยู่แล้วเช่น เกลือผสมที่มีชื่อทางการค้าว่า ผงเพร็ก (prague powder) ส่วนประสิทธิภาพในการป้องกันแบคทีเรียนั้นเกลือไนเตรตจะดีกว่าเกลือไนไตรท์

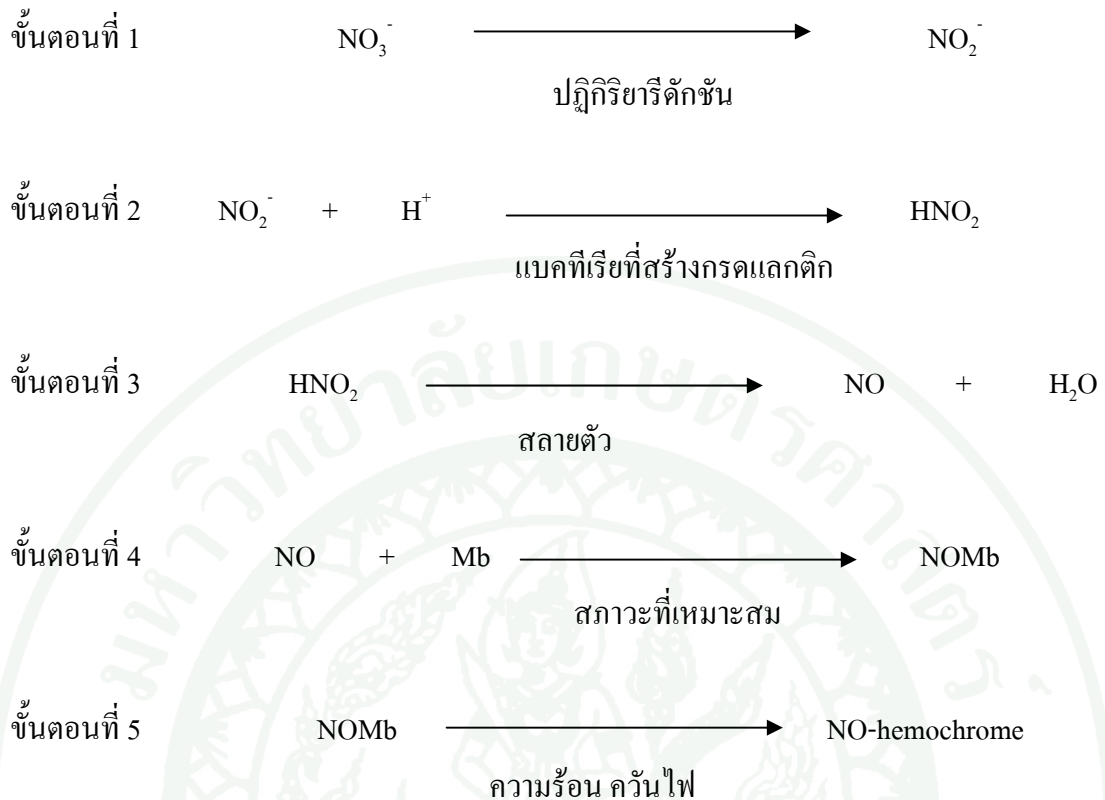
การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อสัตว์

สารสี (pigment) ที่สำคัญในร่างกายสัตว์ ได้แก่ ฮีโมโกลบิน ซึ่งมีมากในเลือดซึ่งมีหน้าที่ขนถ่ายออกซิเจนไปตามเส้นเลือดไปสู่ส่วนต่างๆ ของร่างกาย และสารสีที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งคือ ไมโอโกลบิน (myoglobin) (ภาพที่ 1) ที่มีมากในกล้ามเนื้อทำหน้าที่รับออกซิเจนจากฮีโมโกลบินมาสู่กล้ามเนื้อต่าง ๆ ในโมเลกุลไมโอโกลบินประกอบด้วยส่วนของวงแหวนพอร์ไฟริน (porphyrin ring) และฮีม (heme) ซึ่งมีธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบ โมเลกุลไมโอโกลบินจึงมีธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย ซึ่งไมโอโกลบินเป็นรงควัตถุที่ทำให้เนื้อสดเป็นสีแดงม่วงเมื่อไมโอโกลบินสัมผัสกับอากาศแล้วจับออกซิเจนไว้ในโมเลกุลเกิดสารประกอบออกซีไมโอโกลบิน (oxymyoglobin) ซึ่งมีสีแดงสด สีแดงสดของออกซีไมโอโกลบินถูกเปลี่ยนเป็นสารสีน้ำตาลของเมตไมโอโกลบิน (metmyoglobin) เมื่อสัมผัสกับอากาศนานๆ เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ให้ความร้อนเนื้อสด โปรตีนในรงควัตถุจะเสียสภาพและเกิดเป็นสีน้ำตาลแต่เนื้อที่หมักเค็มจะยังคงมีสีแดงแม้จะถูกความร้อนทั้งนี้เนื่องจากไนโตรที่แตกตัวให้ไนตริกออกไซด์และรวมตัวกับไมโอโกลบินได้เป็นสารประกอบไนตริกออกไซด์ไมโอโกลบิน (nitric-oxide myoglobin) ซึ่งเมื่อได้รับความร้อนแล้วก็ยังคงมีสีแดงของไนโตรโซฮีโมโครม (nitrosohemochrome) (คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, 2546) ขั้นตอนการเกิดสีโดยไนเตรตและไนไตรท์แสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของไมโอโกลบิน (myoglobin)

ที่มา: Honikel (2008)



ภาพที่ 2 ขั้นตอนการเกิดไนโตรโซฮีโมโครมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

ที่มา: คัดแปลงจาก Pearson and Gillett (1996)

ซึ่งสีในผลิตภัณฑ์แฮมหมักแบบแห้งนั้น จากการศึกษาของ Wakamatsu *et al.* (2004) พบว่า Parma ham ที่ไม่เค็มไนไตรต์สามารถให้สีแดงที่มีความคงตัว โดยทำการศึกษาสีแดงใน Parma ham ด้วยวิธี วัดค่าการเรืองแสง (fluorescence spectral) พบว่าสารสีแดงใน Parma ham มี fluorescence spectral ที่เหมือนกับ Zn-porphyrin และเมื่อนำไปตรวจสอบด้วย HPLC ยืนยันได้ว่า สารสีแดงใน Parma ham มี retention time ที่เท่ากับ Zn-porphyrin ผลสรุปว่าสารสีแดงที่เกิดขึ้นนั้นไม่ได้เกิดขึ้นจาก ไนไตรต์และพบว่ามีปัจจัยที่ส่งผลต่อโครงสร้างของ Zn-porphyrin คือ สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยปริมาณของ Zn-porphyrin มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการบ่มเพิ่มมากขึ้น และพบว่าไนไตรต์มีผลยับยั้งการเกิด Zn-porphyrin

การทำแฮมหมักมีเทคนิควิธีการที่แตกต่างกันออกไป กระบวนการผลิตชวนเหวี่ยงแฮมที่มีชื่อเสียงของประเทศจีนประกอบด้วยขั้นตอนดังแผนผังการผลิตในภาพที่ 3 โดยมีรายละเอียดดังนี้ (Wang *et al.*, 2005)

1. ขั้นตอนการหมักเกลือ (salting)

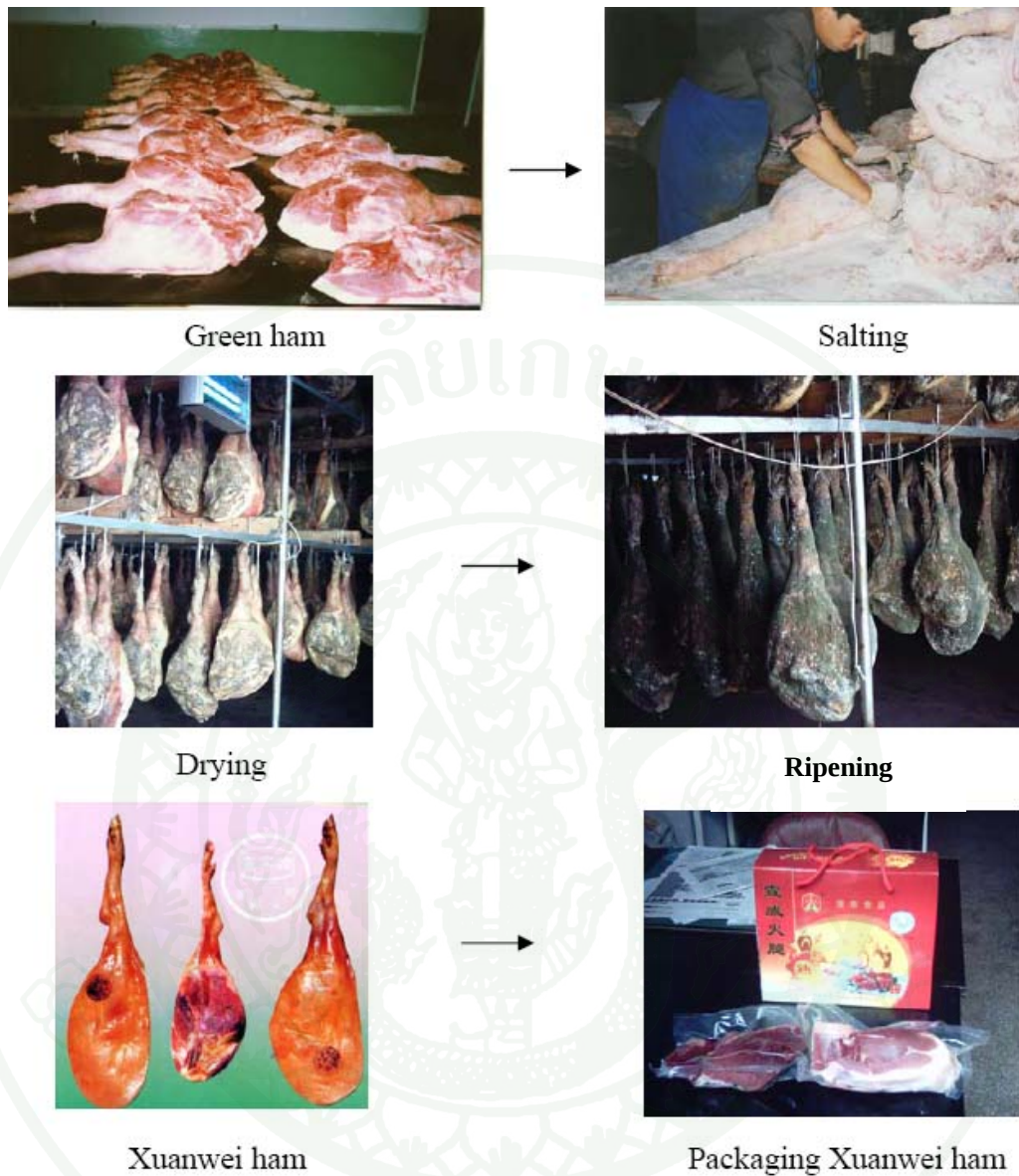
ตัดขาหมูที่มีน้ำหนักอยู่ในช่วง 8-12 กิโลกรัม ทำให้เย็น 10 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ $5-6^{\circ}\text{C}$ จนกว่าขาหมูจะมีอุณหภูมิลดลงเป็น $5-6^{\circ}\text{C}$ จากนั้นนำมาตัดแต่งให้เรียบร้อยและนำมานวดด้วยเกลือ 2 กิโลกรัม/100 กิโลกรัมแฮม และรีดเอาเกลือออกด้วยมือจนหมดทิ้งไว้ 2 วัน จากนั้นนำออกมานวดด้วยเกลืออีกครั้งโดยใช้เกลือ 4-5 กิโลกรัม/100 กิโลกรัมแฮม ทิ้งไว้นานกว่า 2 วัน นำออกมานวดด้วยเกลือครั้งสุดท้ายอีก 1-2 กิโลกรัม/100 กิโลกรัมแฮม และหมักทิ้งไว้ครึ่งเดือน

2. ขั้นตอนการทำแห้ง (drying)

นำขาหมูที่ผ่านการหมักเกลือชูเอาเกลือส่วนเกินออกและแขวนไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ $10-15^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ 50-60% เป็นเวลา 40 วัน โดยต้องควบคุมให้มีการระบายอากาศที่ดีและไม่มีสัตว์หรือแมลงรบกวน

3. ขั้นตอนการบ่ม (ripening)

หลังจากผ่านขั้นตอนการทำแห้ง (drying) แล้วจะเข้าสู่ช่วงของการบ่ม (Ripening) โดยอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จาก $15-25^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์จะเพิ่มขึ้นเป็น 70% ซึ่งจะใช้เวลาในการบ่มอย่างน้อย 180 วัน



ภาพที่ 3 แผนผังการผลิตชวนเหว่ยแฮม (Xuanwei ham)

ที่มา: Aixiang and Sirisansaneeyakul (n.d.)

การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของแฮมหมักแบบแห้ง (dry cured ham) ที่ใช้วิธีการหมักตามธรรมชาติ เริ่มจากการเปลี่ยนแปลงของไขมันและโปรตีนในเนื้อสัตว์ โดยในกระบวนการหมักเกิดการย่อยไขมันจากการทำงานของเอนไซม์ที่พบในกล้ามเนื้อสัตว์ และ/หรือ เกิดจากจุลินทรีย์ ในชวนเหว่ยแฮมซึ่งเป็นแฮมหมักที่มีชื่อเสียงของประเทศจีน การเกิดปฏิกิริยาย่อยสลายไขมันในส่วน

ของกล้ามเนื้อ biceps femoris ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณ phospholipid และกรดไขมันอิสระอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าไตรกลีเซอไรด์ในไขมันทั้งหมดของแฮมสดมีอยู่ 73.2% ฟอสโฟลิพิดลดลงจาก 25.3% เป็น 5.8% เมื่อสิ้นสุดกระบวนการผลิตที่ 12 เดือน โดยลิโปไลซิสมักจะเกิดเร็วมากในช่วง 4 เดือนแรกของการบ่มแฮม หลังจากนั้นจะลดลงตลอดกระบวนการ ซึ่งกระบวนการไฮโดรไลซิสส่วนใหญ่เกิดในส่วนของฟอสโฟลิพิดของ palmitic acids linoleic acids และ arachidonic acids ส่วนไตรกลีเซอไรด์พบว่าการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยตลอดกระบวนการผลิต ส่วนกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นจาก 2.3% เป็น 11.2% เมื่อสิ้นสุดกระบวนการผลิต (Yang *et al.*, 2005)

Coutron-Gambotti and Gandemer (1999) พบว่าลิโปไลซิสของ Corsican dry-cured ham จะเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิตตลอด 24 เดือน โดยเกิดมากใน 6 เดือนแรก และนำไปสู่การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของแฮม โดยเฉพาะสีและกลิ่นรส โดยพบว่า triglycerides ลดลงจาก 89.6% เป็น 75.8% ในขณะที่ปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นจาก 0.1% เป็น 10.5% เมื่อครบ 24 เดือน

ปี 2002 Gandemer รายงานว่าการเกิดลิโปไลซิสนั้นจะทำให้เกิดสารประกอบ aldehydes, ketones, hydrocarbons และ alcohols ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นหืน และ methylketone จะทำให้เกิดกลิ่นที่ผิดปกติเฉพาะตัวของแฮมหมักแบบแห้ง ขณะที่ Vestergaard (2000) ศึกษากรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ Parma ham พบว่าปริมาณกรดไขมันอิสระแปรผันตามกับกิจกรรมของเอนไซม์ acid lipase ที่เพิ่มขึ้นจาก 1.52 เป็น 2.28% และ neutral lipase ที่เพิ่มขึ้นจาก 0.33 เป็น 0.60% ขณะที่ปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นภายหลังการหมักนาน 10 เดือน โดยเพิ่มจาก 2.70% (บ่ม 3 เดือน) เป็น 9.33% จากการบ่มทั้งหมด 10 เดือน

ส่วนในผลิตภัณฑ์แฮมหมักของประเทศสเปนซึ่งทำจากหมูพันธุ์ Iberian พบการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมของเอนไซม์ acid lipase และ neutral lipase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดกระบวนการลิโปไลซิส พบว่าหมูที่มีสายพันธุ์ Iberian มีกิจกรรมของเอนไซม์ acid lipase และ neutral lipase สูงกว่าหมูสายพันธุ์ทางการค้าทั่วไป (Large White-Landrace×Large White) (Cava *et al.*, 2004)

ในประเทศไทยมีการศึกษาการทำจินหัวแฮม (Jinhua Ham) จากสุกรลูกผสมพันธุ์จินหัว โดยกลุ่มวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ สำนักพัฒนาการปศุสัตว์และถ่ายทอดเทคโนโลยีกรม

ปศุสัตว์ ทำการทดลองโดยใช้ขาหลังของสุกรลูกผสมพันธุ์จีนหัวน้ำหนัก 5-8 กิโลกรัม หมักเกลือ 3 ครั้ง ทำให้เนื้อแห้งที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส นาน 2 เดือน และแขวนในที่ที่มีอากาศไหลเวียนดี อุณหภูมิ 5-25 องศาเซลเซียส นาน 6 เดือน พบว่าค่า pH จะสูงขึ้นเมื่อเนื้อแห้งลง และถ้าค่า pH ของเนื้อสุกรสดที่มีค่า pH สูงกว่า 5.8 หลังจากการหมักเกลือแล้ว จะมีค่า pH สูงขึ้น เล็กน้อย แต่ถ้าค่า pH เริ่มต้นของเนื้อสุกรสดต่ำกว่า 5.8 หลังจากการหมักเกลือแล้ว จะมีค่า pH สูงขึ้นมาก ด้านคุณค่าทางอาหารของเนื้อแดงของจีนหัวแฮมพบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างจีนหัวแฮมที่ได้จากการทดลองและจีนหัวแฮมที่ผลิตจากจีน แต่เนื้อแดงของจีนหัวแฮมที่ได้จากการทดลองมีความชื้นสูงมากกว่าจีนหัวแฮมที่ผลิตจากจีน ทำให้สี กลิ่น และรสชาติของจีนหัวแฮมจากการทดลองไม่เข้มข้นเท่ากับจีนหัวแฮมที่ผลิตจากจีน แสดงว่าการระเหยน้ำและระยะเวลาของการเก็บป่ม (Ripening) ยังไม่เพียงพอ (Chungsiriwat, 2007)

การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในเนื้อสัตว์โดยปฏิกิริยาของเอนไซม์ในเนื้อสัตว์ และ/หรือ จากจุลินทรีย์ซึ่ง Toldra *et al.* (2000) ได้ทำการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ alanyl arginyl leucyl และ pyroglutamyl aminopeptidases จาก Spanish dry-cured ham ชนิด Serrano พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ทำให้เกิดเปปไทด์สายสั้น ๆ และกรดอะมิโนอิสระ โดยที่กิจกรรมของเอนไซม์ alanyl และ arginyl aminopeptidases เกิดได้ดีที่ pH เป็นกลาง และมีค่าใกล้เคียงกับค่า pH ของแฮมหมักแบบแห้ง โดยที่เปปไทด์สายสั้น ๆ และกรดอะมิโนอิสระนั้นทำให้เกิดกลิ่นรส และยังเป็นสารตั้งต้นที่ทำให้เกิดสารประกอบที่ระเหยง่ายในผลิตภัณฑ์แฮมหมักอีกด้วย

ในปี 2006 Larrea รายงานผลการศึกษา Teruel ham ในกล้ามเนื้อ Semi-membranosus ซึ่งอยู่ด้านนอกของเนื้อส่วนขาของหมูพบว่าปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำลดลงในระหว่างกระบวนการเค็มเกลือ และการเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar proteins เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการป่ม (ripening) ซึ่งจะพบมากใน 4 เดือนสุดท้ายของการป่ม โดยเอนไซม์ที่มีรายงานว่าทำให้เกิดการย่อยโปรตีน คือ cathepsins B, L และ D

Garcia-Garrido *et al.* (2000) รายงานว่าเอนไซม์จากกล้ามเนื้อ มีผลต่อเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์สุดท้ายของ Spanish dry-cured ham พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ cathepsins B+L มีอิทธิพลต่อการเกิดกระบวนการโปรติโอไลซิสของ Spanish dry-cured ham อย่างมาก โดยเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ cathepsins B+L และการเกิดไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนพบว่ามีความสัมพันธ์กันสูงถึงร้อยละ 88.8 ในกล้ามเนื้อส่วน Biceps

femoris และ ความสัมพันธ์ร้อยละ 84 ในกล้ามเนื้อส่วน Semimembranosus ซึ่งจากการทดลองจะพบว่า การเกิดโปรติโอไลซิสที่สูงมากนี้จะส่งผลให้เนื้อสัมผัสของ Spanish dry-cured ham นั้นมีลักษณะเนื้อเป็นแป้ง (pasty) แต่ในทางตรงกันข้ามถ้าพิจารณาจากกิจกรรมของเอนไซม์ cathepsins B เพียงตัวเดียวจะส่งผลดังกล่าวได้น้อยมาก คือความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์กับการเกิดไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนมีความสัมพันธ์กันคิดเป็นร้อยละ 25.8 ในกล้ามเนื้อส่วน Biceps femoris และ ความสัมพันธ์ร้อยละ 19.8 ในกล้ามเนื้อส่วน Semimembranosus ซึ่งหมายความว่าเมื่อมีกิจกรรมของเอนไซม์ cathepsins B+L เกิดขึ้นจะทำให้เกิดกระบวนการโปรติโอไลซิสสูง แต่เมื่อมีกิจกรรมของเอนไซม์ cathepsins B เพียงตัวเดียว การเกิดกระบวนการโปรติโอไลซิสจะต่ำมากจึงส่งผลให้เกิดปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนน้อย ความสัมพันธ์ที่ได้จึงมีค่าต่ำนั่นเอง

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในจินหัวแฮมพบว่า cathepsins B ลดลงจาก 11332.05 เป็น 9955.50 U/g ซึ่งคิดเป็น 9.31% จากทั้งหมด 100% และ cathepsins L ลดลงจาก 1359.90 เป็น 1055.32 U/g คิดเป็น 13.66% จากทั้งหมด 100% โดยเริ่มตั้งแต่กระบวนการหมักเกลือจนเสร็จสิ้นกระบวนการบ่มแฮม ซึ่งอุณหภูมิ ปริมาณเกลือ และ pH มีผลต่อกิจกรรมของ cathepsins B และ L แต่โซเดียมไนเตรดไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว (Zhao *et al.*, 2005)

ผลิตภัณฑ์แฮมหมักของประเทศสเปนซึ่งทำจากหมูพันธุ์ Iberian พบการเปลี่ยนแปลงเมื่อทดลองดูการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ที่ทำให้เกิดกระบวนการโปรติโอไลซิสพบว่าหมูที่มีสายพันธุ์ Iberian มีกิจกรรมของเอนไซม์ cathepsins H สูงกว่าหมูสายพันธุ์ทางการค้าทั่วไป แต่ในส่วนองกิจกรรมของเอนไซม์ cathepsins B และ L ไม่มีความแตกต่าง (Cava *et al.*, 2004)

Rodriguez-Nukz *et al.* (1995) พบว่าเปปไทด์ขนาดเล็กที่ละลายน้ำที่สกัดจาก Spanish Serrano dry cured ham ที่บ่มเป็นระยะเวลา 15 เดือน วิเคราะห์ด้วย HPLC มีเปปไทด์ขนาดเล็กเกิดขึ้น 5 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1: 4,500-2,700 Da กลุ่มที่ 2: 2,700-1,200 Da กลุ่มที่ 3: 1,200-500 Da กลุ่มที่ 4: 500-375 Da และกลุ่มที่ 5: 375-160 Da โดยเปปไทด์ที่มีขนาดต่ำกว่า 2,700 Da เพิ่มขึ้นมากในช่วง 3-5 เดือน ซึ่งสนับสนุนการเกิดโปรติโอไลซิสในระหว่างกระบวนการหมักแฮม

ในขณะเดียวกัน Cordoba *et al.* (1994) ได้ศึกษาการเกิดกรดอะมิโนอิสระใน Iberian cured ham จากกล้ามเนื้อส่วน semimembranosus และ biceps femoris ด้วย HPLC ปรากฏว่ากรดอะมิโนอิสระที่เพิ่มสูงขึ้นในผลิตภัณฑ์สุดท้าย ได้แก่ Glutamic acid Alanine Leucine และ Glycine ส่วน

สารประกอบเอมีนที่มีปริมาณสูงในผลิตภัณฑ์สุดท้ายนั้นพบว่ายังไม่สูงถึงระดับที่เป็นพิษต่อร่างกาย แต่สารประกอบเอมีนดังกล่าวนี้ส่งผลให้เกิดกลิ่นรสที่เฉพาะตัวของแฮมหมักแบบแห้งนั่นเอง

ในปี 2007 Sentandreu *et al.* ศึกษา proteomic ของ ใน Spanish dry-cured ham ที่ผ่านการบ่มเป็นระยะเวลา 1 ปี ซึ่งทำการตกตะกอนโปรตีนกล้ามเนื้อส่วน semimembranosus ด้วย เอทานอล นำส่วนใสไปวิเคราะห์ด้วย Reversed-Phase HPLC และ Mass Spectrometry พบโอลิโกเปปไทด์ 4 ชนิด ได้แก่ (1) TKQEYDEAGPSIVHR (2) ITKQEYDEAGPSIVHRK (3) DSGDGVTHNVPIYE และ (4) DSGDGVTHNVPIYEG (โดยที่ Alanine = A, Arginine = R, Asparagine = N, Aspartic acid = D, Cysteine = C, Glutamic acid = E, Glutamine = Q, Glycine = G, Histidine = H, Isoleucine = I, Leucine = L, Lysine = K, Methionine = M, Phenylalanine = F, Proline = P, Serine = S, Threonine = T, Tryptophan = W, Tyrosine = Y และ Valine = V) ซึ่งสามในสี่ชนิดของโอลิโกเปปไทด์ดังกล่าวนี้พบโดย Morzel *et al.*, (2004); Di Luccia *et al.*, (2005); HansenMoller *et al.*, (1997); Rodriguez-nunez *et al.*, (1995) จากการบ่มไมโอไฟบริลลาโปรตีนกับเอนไซม์ cathepsins D โดยเป็นผลผลิตจากการไฮโดรไลซิสของโปรตีนแอคติน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเปปไทด์สายสั้นที่เกิดขึ้นสุดกระบวนการหมักแฮมหมักแห้งเกิดจากการไฮโดรไลซิสของโปรตีนแอคติน

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า การเติมยีสต์ strain XY8621 ในชวนเหวแฮมทำให้เกิดกรดอะมิโนเพิ่มขึ้นร้อยละ 8 โดยเฉพาะ Valine, Alanine และ Tryptophane ซึ่งแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์มีส่วนเกี่ยวข้องกับการย่อยโปรตีนในแฮมหมักแบบแห้งเช่นกัน (Wang *et al.*, 2005)

ในระหว่างกระบวนการหมักแฮมแบบแห้งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีจนเกิดเป็นกลิ่นรสที่มีลักษณะเฉพาะตัว โดยในปี 1991 Berdague *et al.* รายงานว่าพบสารประกอบที่ระเหยง่ายในแฮมหมักแบบแห้งทั้งสิ้น 76 ชนิด จากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS ได้แก่ hydrocarbons 20 ชนิด Terpenoids 1 ชนิด aldehydes 15 ชนิด ketones 6 ชนิด alcohols 7 ชนิด carboxylic acids 10 ชนิด lactones 2 ชนิด ester 1 ชนิด Nitrogen Compounds 2 ชนิด Chloride Compounds 5 ชนิด อื่น ๆ 7 ชนิด

ต่อมาในปี 1992 Barbieri *et al.* ได้สกัดสารประกอบที่ระเหยง่ายใน Parma ham ด้วยวิธี dynamic headspace และวิเคราะห์ด้วย GC-MS และ GC-FID พบว่ามีสารประกอบทั้งสิ้น 122 ชนิด สารให้กลิ่นที่พบมากประกอบด้วยกลุ่มของ hydrocarbons 22 ชนิด aldehydes 16 ชนิด alcohols 25 ชนิด และ esters 28 ชนิด และมีหลายชนิดที่พบในการศึกษาครั้งนี้แต่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน ซึ่งสอดคล้องกับ Jurado ที่รายงานไว้ในปี 2007 ว่าการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนอิสระสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของสารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของกรด โดยจะเพิ่มขึ้นหลังจากทำการบ่มไปแล้ว 230 วัน นอกจากการเปลี่ยนแปลงของกลิ่น รส ของแฮมหมักแบบแห้งจากปฏิกิริยาที่กล่าวข้างต้น แล้วความแตกต่างยังเกิดจากถิ่นกำเนิดของสัตว์ สายพันธุ์ของสัตว์ (Sanchez-Pena and Luna, 2005) แต่อาหารสัตว์ไม่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบที่ระเหยง่าย (Cava, 1999)

สารต้านออกซิเดชัน (Antioxidants)

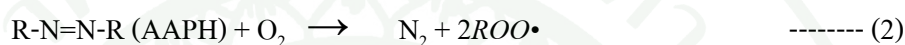
สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) คือสารที่มีสมบัติชะลอหรือป้องกันการออกซิเดชันของสารโมเลกุลอื่น ซึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่มีการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากสารตัวให้ไปสู่สารตัวรับ จึงผลิตอนุมูลอิสระซึ่งทำให้เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ หากเกิดขึ้นในระดับเซลล์จะก่อให้เกิดความเสียหายแก่เซลล์ได้ โดยสารต้านออกซิเดชันสามารถยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ดังกล่าวได้ สารเหล่านี้มีทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติ (natural antioxidant) ได้แก่ สารโพลีฟีนอลที่พบได้ในพืชทั่วไป และสารสังเคราะห์ (synthetic antioxidant) เช่น Butylated hydroxyanisole (BHA), Butylated hydroxytoluene (BHT) และ tert-butyl-hydroquinone (TBHQ) เป็นต้น

1. หลักการของวิธีการวัดกิจกรรมของการต้านออกซิเดชัน

1.1 หลักการที่ 1 คือ วัดการแลกเปลี่ยนอะตอมไฮโดรเจน (based on hydrogen atom transfer reaction, HAT)

การวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในการขจัดอนุมูลอิสระ ด้วยกลไกที่สารต้านออกซิเดชันให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ (สมการที่ 1) วิธีการในกลุ่มนี้ ได้แก่ วิธี oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay และ total radical trapping antioxidant parameter (TRAP) assay เป็นต้น (Prior *et al.*, 2005)

1.1.1 วิธี ORAC assay วัดปริมาณฟลูออเรสเซนส์ โดยสารอะโซ (AAPH) จะสลายตัวให้อนุมูลเพอร์ออกไซด์ ($ROO\cdot$) เมื่ออนุมูลเพอร์ออกไซด์ทำปฏิกิริยากับ Fluorescein (FL) ที่มีคุณสมบัติให้แสงฟลูออเรสเซนส์ จะทำให้ได้สารที่ไม่ให้แสงฟลูออเรสเซนส์ ดังนั้นการลดลงของอัตราการเกิดสารที่ให้แสงฟลูออเรสเซนส์ (สมการที่ 3) จึงบ่งชี้ความสามารถของสารต้านออกซิเดชัน (สมการที่ 4 และ 5)



เมื่อ $AAPH$ = สารอะโซ
 FL = สารฟลูออเรสซีน (fluorescein)
 AH = สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant)
 $ROO\cdot$ = อนุมูลเพอร์ออกไซด์ (peroxyl radical)

1.2 หลักการที่ 2 คือ วัดการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (Single electron transfer, SET)

เป็นการหาความสามารถในการส่งผ่านอิเล็กตรอนไปรีดิวซ์สารอื่นได้แก่ โลหะ คาร์บอนิล และอนุมูล ปฏิกิริยานี้จะมีการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อเกิดการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอน โดยการเปลี่ยนสีมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชัน คือถ้าสารต้านออกซิเดชันมีความเข้มข้นมากสีของสารละลายก็จะลดลงอย่างรวดเร็ว วิธีการในกลุ่มนี้ ได้แก่ total phenols assay by Folin-Ciocalteu reagent (FCR), 2,2diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH) assay, trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay หรือ ABTS และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay เป็นต้น (Prior *et al.*, 2005) โดยมีกลไกดังสมการที่ (6)



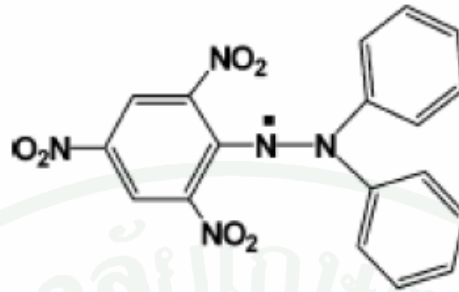
1.3 หลักการที่ 3 คือ วัดการแลกเปลี่ยนอะตอมไฮโดรเจน และวัดการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (Prior *et al.*, 2005)

โดยทั่วไปวิธี TEAC และ DPPH assays จัดอยู่ในหลักการที่ 2 แต่ในการวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ใช้ในวิธีการทั้งสองอาจเป็นทั้งแบบแลกเปลี่ยนอะตอมไฮโดรเจน และแบบส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (Jimenez *et al.*, 2004)

ในการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทำได้ทั้งทางตรงคือ การวัดปริมาณอนุมูลอิสระโดยตรง และการวัดทางอ้อมโดยการวัดจากความเสียหายจากการออกซิเดชัน หรือวัดปริมาณสารที่เกี่ยวข้อง ในการวัดโดยตรงทำได้ยากเนื่องจากอนุมูลอิสระมีครึ่งชีวิตที่สั้นมากในระดับวินาที และเครื่องมือที่ใช้ในการวัดมีความยุ่งยาก จึงนิยมการวัดโดยทางอ้อมนอกจากนี้ในการวัดการต้านอนุมูลอิสระควรทำการวัดในหลายวิธีเพื่อเป็นการยืนยันผลในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยรวมของสารต้านออกซิเดชัน ในการทดลองนี้ขอกล่าวถึงเฉพาะวิธี DPPH ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ในการทดลองนี้เท่านั้น

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity assay

วิธีนี้จะวัดความสามารถในการยับยั้ง 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) ดังภาพที่ 4 โดย DPPH เป็นสารอนุมูลในโตรเจนที่ค่อนข้างคงตัว โดยขณะเริ่มต้นการทดลองจะให้สารสีเข้ม เมื่อเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระกับสาร DPPH มากขึ้นสารจะมีสีซีดจางลง ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ตามระยะเวลาที่กำหนด หากในระบบมีปริมาณสารต้านออกซิเดชันมาก สีของสารละลายก็จะลดลงเร็ว ค่าที่ได้สามารถแสดงได้หลายรูปแบบ ได้แก่ แสดงเป็นร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% radical scavenging activity) ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ ร้อยละ 50 จากปริมาณอนุมูลอิสระเริ่มต้น (IC_{50}) หรือค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (Antiradical efficiency, AE) ข้อดีของวิธีนี้คือง่าย ใช้เครื่องมือสามัญทั่วไป นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านอนุมูลจากธรรมชาติ ยกเว้นสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีการดูดกลืนแสงใกล้เคียงกัน



ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH

ที่มา: Prior *et al.* (2005)

ปัจจุบันมนุษย์หันมาให้ความสำคัญกับสารต้านอนุมูลอิสระกันมากขึ้น เนื่องจากสามารถป้องกันหรือลดการเกิดปฏิกิริยาถูกไซ้ของการเกิดอนุมูลอิสระ (Free radical) ซึ่งอนุมูลอิสระนี้เป็นตัวการทำให้สุขภาพของมนุษย์เสื่อมถอยลง เป็นสาเหตุของความแก่ เนื่องจากเซลล์ของมนุษย์จะผลิตอนุมูลอิสระอย่างต่อเนื่อง อีกทั้งปัจจุบันมนุษย์ได้รับสารอันตรายต่าง ๆ เข้าไปในร่างกาย อาทิ โลหะ เช่น แคดเมียม ตะกั่ว เป็นต้น หรือการที่ได้รับสารเคมีที่เป็นพิษเข้าไป เช่น ยาฆ่าแมลง หรือเกิดจากการดื่มแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ สามารถไปกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นอีกทางหนึ่งเช่นกัน โดยอนุมูลอิสระในปริมาณมากนี้จะทำลาย หรือฆ่าเซลล์ในร่างกายให้ตายลง ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้มนุษย์แก่เร็วขึ้น ยิ่งไปกว่านั้นอนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถทำให้เกิดโรคหัวใจได้เช่นกัน โดยอนุมูลอิสระเข้าไปทำลายภายในเซลล์ของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่นำเลือดออกจากหัวใจ (Arteries) การถูกทำลายนี้ไม่สามารถรักษาได้ด้วยยาชนิดใด ๆ โดยปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระนี้ไม่มี ความจำเพาะเจาะจงกับเซลล์ชนิดใดชนิดหนึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยากับเซลล์อื่นอย่างต่อเนื่องเกิดเป็นปฏิกิริยาถูกไซ้ขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เซลล์ได้รับความเสียหาย ต่อมาเมื่อมีการศึกษาถึงการไ้สารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินอี และวิตามินซี พบว่าสามารถช่วยป้องกันหรือสามารถลดการเกิดปฏิกิริยาแบบถูกไซ้ของอนุมูลอิสระลงได้ ซึ่งส่งผลให้มนุษย์แก่ช้าลงด้วย ไม่เพียงแต่อนุมูลอิสระจะก่อให้เกิดความเสียหายแก่เนื้อเยื่อเท่านั้นยังส่งผลไปถึงความเสียหายที่เกิดภายในเซลล์ด้วย เช่น ไมโทคอนเดรีย หรือสารพันธุกรรมของคนเราด้วยเช่นกัน (Harmon, 1956) ยิ่งไปกว่านั้นอาหารยังสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงได้หลายลักษณะตามองค์ประกอบของอาหาร ไขมันในอาหารเมื่อเกิดออกซิเดชันจะทำให้เกิดอนุมูลอิสระ และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่น สี และสมบัติบาง

ประการของอาหาร สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) จะช่วยในการขัดขวางหรือลดการเกิดออกซิเดชันของไขมัน

สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติได้รับความสนใจและการยอมรับจากผู้บริโภคมากขึ้นจากการค้นพบของนักวิจัยพบว่าไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยโปรตีนกล้ามเนื้อแสดงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (Li *et al.*, 2007) และ Maikhunthod (2003) รายงานว่าในระหว่างกระบวนการผลิตแฮมหมักแบบแห้งจะเกิดเอนไซม์ชนิดหนึ่งย่อยเปปไทด์สายยาวให้กลายเป็นไดเปปไทด์ เอนไซม์ชนิดนั้นได้แก่ dipeptidyl peptidases ไดเปปไทด์ที่ได้เช่น คาร์โนซีน (Carnosine) เป็นไดเปปไทด์ที่สามารถละลายน้ำได้ มีขนาด 226 ดาลตัน ปกติจะพบในกล้ามเนื้อ สมอง และเนื้อเยื่อ ประกอบด้วยกรดอะมิโน 2 ชนิด ได้แก่ β - Alanine และ L-Histidine ซึ่งถือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติ สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันในเนื้อเยื่อที่มีชีวิตและในอาหารได้

จากการศึกษาของ Ferreira *et al.* (2006) พบว่า BHA และ BHT ความเข้มข้น 250 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ โดยมีความสามารถในการยับยั้งคิดเป็น 84.0 และ 83.0% ตามลำดับ ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ในขณะที่ Al-Dabbas *et al.* (2007) พบว่าเกลืออนินทรีย์ที่มี BHT ความเข้มข้น 25 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระโดยมีความสามารถในการยับยั้งคิดเป็น 16.9%

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

1.1 น่องไก่สด ซึ่งผ่านการชำแหละไก่อย่างถูกหลักอนามัยเป็นไปตามหลัก GMP โดยเก็บแช่เยือกแข็งไม่นานกว่า 1 วัน และทำละลายที่อุณหภูมิ 4°C ก่อนใช้

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีสำหรับทำน่องไก่หมักแบบแห้ง

2.1.1 เกลือบริสุทธิ์ 99.9% ยี่ห้อปรงทิพย์ (เกลือสินเธาว์)

2.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณเกลือตามวิธี Volhard และ ISE

2.2.1 ซิลเวอร์ไนเตรด (Merck, เยอรมนี)

2.2.2 กรดไนตริก (Lab-scan, ไทย)

2.2.3 โพแทสเซียมไทโอไซยาเนต (Univar, ออสเตรเลีย)

2.2.4 แอมโมเนียมไอรอนซัลเฟต (Ajax Finechem, ออสเตรเลีย)

2.2.5 โซเดียมคลอไรด์ (Merck, เยอรมนี)

2.2.6 Ion strength adjustor-940011 (Orion, สหรัฐอเมริกา)

2.2.7 คลอไรด์มาตรฐาน 1,000 ppm-941708 (Orion, สหรัฐอเมริกา)

2.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Total fat)

2.3.1 ปีโตรเลียมอีเทอร์ (J.T.Baker, ไทย)

2.4 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid)

2.4.1 โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (BDH, อังกฤษ)

2.4.2 ไดเอทิลอีเทอร์ (J.T.Baker, ไทย)

2.4.3 เอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 (Merck, เยอรมนี)

2.4.4 ฟีนอล์ฟทาลีน (Ajax Finechem, ออสเตรเลีย)

2.5 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

2.5.1 กรดซัลฟิวริก (Merck, เยอรมนี)

2.5.2 กรดบอริก (Merck, เยอรมนี)

2.5.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Merck, เยอรมนี)

2.5.4 คอปเปอร์ซัลเฟต (BDH, อังกฤษ)

2.5.5 โพแทสเซียมซัลเฟต (Univar, ออสเตรเลีย)

2.5.6 เมทิลเรด (BDH, อังกฤษ)

2.5.7 โบรโมครีซอลกรีน (Ajax Finechem, ออสเตรเลีย)

2.6 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (Non protein nitrogen)

2.6.1 กรดไตรคลอโรอะซิติกที่ร้อยละ 7 (Merck, เยอรมนี)

2.7 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay)

2.7.1 เมทานอลที่ร้อยละ 99.9 (Merck, เยอรมนี)

2.7.2 2,2 ไดฟีนิล-1-ไพคริล-ไฮดราซิล (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl, DPPH; (sigma-aldrich, สหรัฐอเมริกา)

2.7.3 กรดแอสคอร์บิก (L(+)-Ascorbic acid) (Polskie Odczynniki, สหรัฐอเมริกา)

2.8 สารเคมีสำหรับอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบ SDS-PAGE

2.8.1 โปรตีนมาตรฐาน-full range rainbow markers (Amersham Biosciences, อังกฤษ)

2.8.2 เปปไทด์มาตรฐาน- peptide marker (GE Healthcare, สหรัฐอเมริกา)

2.8.3 กรดอะซิติก (J.T.Baker, ไทย)

2.8.4 Acrylamide PAGE (Plus One, อังกฤษ)

2.8.5 Methylenebisacrylamide (Plus One, อังกฤษ)

2.8.6 Glycine (Plus One, อังกฤษ)

2.8.7 Mercaptoethanol (Plus One, อังกฤษ)

2.8.8 Sodium dodecyl sulfate (Sodium lauryl sulfate, SDS) (USB Corporation, สหรัฐอเมริกา)

2.8.9 Coomassie brilliant blue R-250 (USB Corporation, สหรัฐอเมริกา)

2.8.10 Ammonium persulphate (USB Corporation, สหรัฐอเมริกา)

2.8.11 N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine (TEMED) (USB Corporation, สหรัฐอเมริกา)

2.8.12 Bromophenol blue (Ajax Finechem, ออสเตรเลีย)

2.8.13 Tris (hydroxymethyl aminomethane) (Trizma®bass puriss, สหรัฐอเมริกา)

2.8.14 Glycerol (Univar, ออสเตรเลีย)

3. เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1 เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบทำความเย็น (refrigerated centrifuge) รุ่น RC 5C Plus (Sorvall, สหรัฐอเมริกา)

3.2 เทอร์โมมิเตอร์

3.3 ตู้เย็น Mitsubishi รุ่น MR-1405-BB

3.4 เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter) รุ่น Microcomputer pH-vision 6071 (Jenco, สหรัฐอเมริกา)

3.5 เครื่อง sonicator รุ่น Bransonic 32 (Branson Instruments, สหรัฐอเมริกา)

3.6 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) รุ่น 600 D 06060 (Mettler, เยอรมนี)

3.7 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) (Mettler, เยอรมนี)

3.8 เครื่องกวนแบบแม่เหล็ก (Hot plate stirrer) รุ่น T. Are 2 (VELP Scientifica, อิตาลี)

3.9 เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (water activity meter) (Testo, 650)

3.10 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (analytical balance) รุ่น Analytical Plus (Ohaus, สหรัฐอเมริกา)

3.11 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง รุ่น GT 4100 (Ohaus, สหรัฐอเมริกา)

3.12 เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบตั้งโต๊ะ (Desktop centrifuge) รุ่น Z 200 A (Hermle, เยอรมนี)

3.13 ชุดวิเคราะห์โปรตีน (BÜCHI, สวิตเซอร์แลนด์)

3.14 ชุดวิเคราะห์ไขมัน

3.15 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Model Spectronic Geneys 10 UV Scanning) (Thermo Electron Corporation, สหรัฐอเมริกา)

- 3.16 ไมโครปิเปต (Pipette Man, แคนาดา)
- 3.17 เครื่องอิเล็กโทรโฟริซิส รุ่น Mini-Protean II Electrophoresis Cell และ power supply (Bio-Rad, สหรัฐอเมริกา)
- 3.18 อุปกรณ์การทดสอบทางประสาทสัมผัส
- 3.19 อุปกรณ์เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ
- 3.20 พลาสติกใสห่ออาหารทนความร้อน ยี่ห้อ M-Wrap ผลิตจากเม็ดพลาสติกโพลีไวนิลคลอไรด์ ทนอุณหภูมิได้ตั้งแต่ -40°C ถึง 130°C ผ่านการรับรองจาก European Food Safety Authority (EFSA) ของยุโรปว่าสามารถใช้กับอาหารได้อย่างปลอดภัย
- 3.21 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณเกลือ Ion selective electrode ยี่ห้อ Orion รุ่น 940 และ 960

วิธีการ

1. ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการทำสมนองไก่หมักแบบแห้งเพื่อคัดเลือกสภาวะการหมัก

1.1. การหาล้อยละของเกลือในผลิตภัณฑ์

1.1.1. เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ปริมาณเกลือเพื่อหลีกเลี่ยงการก่อให้เกิดสารพิษที่เกิดจากวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน

1.1.1.1. วิเคราะห์ปริมาณเกลือในสารละลายที่ทราบปริมาณเกลือร้อยละ 0.99, 2.91, 4.76 และ 6.54 โดยน้ำหนัก, สารละลายเกลือที่มีปริมาณเกลือน้อยมากคือร้อยละ 0.01, 0.03, 0.05 และ 0.07 โดยน้ำหนัก และในเนื้อไก่บดที่ทราบปริมาณเกลือร้อยละ 0.99, 2.91, 4.76 และ 6.54 โดยน้ำหนัก โดยวิธี Volhard ดังวิธีในภาคผนวก ก1.1-1.2

1.1.1.2. วิเคราะห์ปริมาณเกลือในสารละลายที่ทราบปริมาณเกลือร้อยละ 0.99, 2.91, 4.76 และ 6.54 โดยน้ำหนัก, สารละลายเกลือที่มีปริมาณเกลือต่ำกว่าช่วงที่ทำการ calibrate เครื่องมือ คือร้อยละ 0.99×10^{-6} , 2.91×10^{-6} , 4.76×10^{-6} และ 6.54×10^{-6} โดยน้ำหนัก และในเนื้อไก่บดที่ทราบปริมาณเกลือร้อยละ 0.99, 2.91, 4.76 และ 6.54 โดยน้ำหนัก โดยวิธี ISE ดังวิธีในภาคผนวก ก1.3-1.4

1.1.2. วิเคราะห์ปริมาณเกลือในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง โดยวิเคราะห์จากเนื้อส่วนนอกสุดติดหนัง (Out) และเนื้อส่วนในสุดติดกระดูก (In) ดังวิธีในภาคผนวก ก2

1.2. ศึกษาผลของปัจจัยการผลิต

1.2.1. การผลิตแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งตัดแปลงวิธีการจากการผลิตชวนเหว่ยแฮมจากขาหลังของสุกร (Wang *et al.*, 2005)

นำน่องไก่สดมาล้างทำความสะอาดและสะเด็ดน้ำ ทำการตัดแต่งน่องไก่เพื่อเอาหนังและไขมันส่วนเกินออก จากนั้นชั่งน้ำหนักแต่ละน่องพร้อมทั้งจดบันทึกไว้ และนำมาขนาดกับผงเพรค (เกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 99.6 และโพแทสเซียมไนเตรดร้อยละ 0.4) ตามปริมาณที่กำหนดโดยแบ่งครึ่งสูตร นวดด้วยเกลือทีละ 1 น่องจนครบแล้วนำน่องไก่วางทับกันบนถาดพักไว้ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4°C ให้เกลือซึมเข้าไปแล้วจึงนวดซ้ำด้วยเกลืออีกครั้งสูตรที่เหลือ ทำครั้งละ 1 น่องเช่นเดิม จากนั้นจึงใช้เชือกแขวนไก่แต่ละน่องบนราวที่เตรียมไว้โดยเว้นระยะไม่ให้น่องไก่สัมผัสกัน

1.2.2. การจัดปัจจัยการผลิต

ปัจจัยที่ใช้ในการผลิตแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งได้แก่ อุณหภูมิในการบ่ม ร้อยละของเกลือที่ใช้ในการหมักแฮม ดังแสดงในตารางที่ 1 ทำการบ่มจนถึงจุดสุดท้าย ได้แก่ แฮมนำมีลักษณะที่ไม่ต้องการ (สีคล้ำถึงดำ และมีกลิ่นที่ไม่เหมือนแฮมหมักแบบแห้งโดยพิจารณาเปรียบเทียบกับชวนเหว่ยแฮม) หรือ a_w ต่ำกว่า 0.80 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับว่าลักษณะใดจะเกิดก่อน โดยทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงระหว่างการบ่มทุก ๆ 4 วัน ดังนี้

1.2.2.1. ปริมาณเกลือ ซึ่งวิเคราะห์ปริมาณเกลือด้วยวิธี ISE ดังภาคผนวก ก2

1.2.2.2. ศึกษาความเป็นกรด-เบส (pH) ของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง ดังภาคผนวก ข3 ทำการวิเคราะห์ทุก ๆ 4 วัน จนถึงจุดสุดท้ายของการบ่มแฮม

1.2.2.3. ศึกษาค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (Water activity, a_w) ของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง ดังภาคผนวก ข4 ทำการวิเคราะห์ทุก ๆ 4 วัน จนถึงจุดสุดท้ายของการบ่มแฮม

1.2.2.4. ประเมินคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง (ภาคผนวก จ) โดยผู้ที่ได้รับการฝึกจำนวน 3 คน โดยสุ่มตัวอย่างที่จุดสุดท้ายของการบ่มแฮมของชุดการทดลองที่มีจุดสุดท้ายเป็น a_w ต่ำกว่า 0.80 แต่ไม่ทดสอบชุดการทดลองที่มีจุดสุดท้ายที่มีลักษณะที่ไม่ต้องการคือเน่า มีสีคล้ำถึงดำ และมีกลิ่นที่ไม่เหมือนแฮมหมักแบบแห้ง จากนั้นทำการเลือกชุดการทดลองที่เหมาะสมที่สุดเพื่อทำการทดลองในข้อ 2 ต่อไป

ตารางที่ 1 สภาวะการทดลองของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง

ชุดการทดลอง	เกลือ (กรัม/กิโลกรัม)	อุณหภูมิ	จำนวนวัน
1	7	4°C	45
2	10	4°C	45
3	7	4°C, $a_w < 0.8$ นำไปบ่มที่ 50°C, 24 ชั่วโมง	36
4	10	4°C, $a_w < 0.8$ นำไปบ่มที่ 50°C, 24 ชั่วโมง	44

1.2.3 ศึกษาผลของการลดอัตราการสูญเสียน้ำโดยการหุ้มด้วยพลาสติกใสห่ออาหาร

โดยจัดชุดการทดลองออกเป็นอีกสองชุดการทดลองคือ ใช้เกลือ 10 กรัม/กิโลกรัม น่องไก่ จากนั้นหุ้มและไม่หุ้มพลาสติกใสห่ออาหาร และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 50°C เป็นระยะเวลา 12 วัน

2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของแสมน่องไก่หมักแบบแห้ง

เมื่อคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแสมน่องไก่หมักแบบแห้งได้แล้ว จากนั้นนำชุดการทดลองที่เหมาะสมที่สุดมาทำการผลิตและติดตามการเปลี่ยนแปลงทางเคมีดังนี้

2.1. ศึกษาปริมาณความชื้น โดยนำตัวอย่างแสมน่องไก่ที่บ่มตามระยะเวลาต่าง ๆ มาลอกหนังออก ใช้เฉพาะส่วนเนื้อมาปั่นละเอียดแล้วนำไปวิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (2000) ทุก ๆ 4 วัน จนถึงจุดสุดท้ายของการบ่มแสม

2.2. ศึกษาปริมาณไขมัน โดยนำตัวอย่างแสมน่องไก่ที่บ่มตามระยะเวลาต่าง ๆ มาลอกหนังออก ใช้เฉพาะส่วนเนื้อมาปั่นละเอียดแล้วนำไปวิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (2000) ทุก ๆ 4 วัน จนถึงจุดสุดท้ายของการบ่มแสม

2.3. ศึกษาปริมาณโปรตีน โดยนำตัวอย่างแสมน่องไก่ที่บ่มตามระยะเวลาต่าง ๆ มาลอกหนังออก ใช้เฉพาะส่วนเนื้อมาปั่นละเอียดแล้วนำไปวิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (2000) ทุก ๆ 4 วัน จนถึงจุดสุดท้ายของการบ่มแสม

2.4. ศึกษาปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (Non protein nitrogen, NPN)

นำตัวอย่างน่องไก่ที่บ่มตามระยะเวลาต่าง ๆ มาลอกหนังออก จากนั้นหั่นและชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ปั่นผสมกับกรดไตรคลอโรอะซิติก (TCA) ร้อยละ 7 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงโดยใช้ความเร็ว 3,500 x g เป็นเวลา 10 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และเก็บส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน คัดแปลงจากวิธีของ Aksu *et al.* (2005) ทำการวิเคราะห์ทุก ๆ 4 วัน จนถึงจุดสุดท้ายของการบ่มแสม

2.5. ศึกษาปริมาณของแข็งที่ลดลง

ชั่งน้ำหนักไก่สด และเมื่อระยะเวลาการหมักทุก ๆ 4 วัน นำน่องไก่ก่อนเดิมออกมาชั่งน้ำหนัก 1 น่อง จดบันทึกผลการทดลอง แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณของแข็งที่ลดลง

2.6. ศึกษาปริมาณไขมันอิสระ (Free fatty acid, FFA)

ซึ่งตัวอย่างที่ทำการปั่นละเอียดและลอกส่วนหนังออกแล้ว 5 กรัม ผสมกับ เอทิลแอลกอฮอล์ 25 มิลลิลิตร และไดเอทิลอีเทอร์ 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที เติมนีโอฟาลีนสำหรับเป็นอินดิเคเตอร์ จากนั้นไทเทรตด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์จนกระทั่งถึงจุดยุติ ตามวิธีของ Woods and Aurand (1977) ทำการวิเคราะห์ทุก ๆ 4 วัน จนถึงจุดสุดท้ายของการบ่มแอม

2.7. ศึกษาสมบัติต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (DPPH Radical Scavenging Capacity)

การตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยดัดแปลงจากวิธีของ Singh *et al.* (2002) คือนำสารสกัดจากข้อ 2.4 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร (หากต้องเจือจางให้ใช้ เมทานอล) จากนั้นเติมสารละลาย DPPH 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่า ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร แล้วจึงนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณเป็น % Radical scavenging activity ดังสมการที่ 7 โดยค่าการดูดกลืนแสงควบคุม (Control OD) หาได้จากการวิเคราะห์ตามวิธีข้างต้นแต่ใช้กรดไตรคลอโรอะซิติก (TCA) ร้อยละ 7 แทนตัวอย่าง เทียบกับกราฟมาตรฐานของวิตามินซีความเข้มข้น 20-160 ppm ดังภาคผนวก ค รายงานผลเป็นสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัมน้ำหนักเปียก และกรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) โดยวิเคราะห์ตัวอย่างทุก ๆ 15 วัน

$$\% \text{ radical scavenging} = \frac{\text{Control OD} - \text{OD sample}}{\text{Control OD}} \times 100 \quad \text{----- (7)}$$

เมื่อ Control OD = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม
Sample OD = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

2.8. ศึกษาหน่วยย่อยของโปรตีนในแฮมม่อนไก่หมักแบบแห้งโดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบ SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamine Gel)

ศึกษาหน่วยย่อยของโปรตีนในแฮมม่อนไก่หมักแบบแห้งที่สกัดจากน้ำกลั่น โดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบ SDS-PAGE (ดัดแปลงจากวิธีของ Laemmli, 1970) ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างไก่สด แฮมม่อนไก่หมักแบบแห้งที่บ่มนาน 15 และ 45 วัน เทียบกับชว่นเหว่ยแฮมจากประเทศจีน ซึ่งเตรียมตัวอย่างโดยปั่นตัวอย่าง 15 กรัม กับน้ำกลั่น 35 มิลลิลิตร ปั่นผสมให้เข้ากัน และทำการหมุนเหวี่ยงที่ 10,000 x g แยกส่วนที่เป็นของแข็งทิ้ง และกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 อีกครั้ง จากนั้นนำสารละลายดังกล่าวมาเจือจาง 1:4 เท่า ด้วย sample buffer (โดยใช้สารละลาย 50 ไมโครลิตร ต่อ sample buffer 200 ไมโครลิตร) โดย sample buffer ประกอบด้วย glycerol SDS 10% และ 2-mercaptoethanol นำสารละลายตัวอย่างต้มที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 1 นาที ทำให้เย็น ทันทึบนน้ำแข็ง จากนั้นใส่ตัวอย่าง 8 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม และทำอิเล็กโตรโฟรีซิสใน 18% separating gel และ 4% stacking gel และย้อมสีด้วย Coomassie blue R250 น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีน เปรียบเทียบกับ full range rainbow marker (Amersham Biosciences UK Limited, อังกฤษ) น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10-250 kDa ซึ่งประกอบด้วย Blue color (250 kDa) Red color (160 kDa) Green color (105 kDa) Yellow color (75 kDa) Purple color (50 kDa) Blue color (35kDa) Orange color (30 kDa) Green color (25 kDa) Blue color (15 kDa) และ Red color (10 kDa) และ peptide marker (GE Healthcare, สหรัฐอเมริกา) น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 2.5-16.9 kDa ซึ่งประกอบด้วย Globin III (2.5 kDa) Globin II (6.2 kDa) Globin I (8.2 kDa) Globin I+III (10.7 kDa) Globin I+II (14.4 kDa) และ Globin (16.9 kDa)

ศึกษาสัดส่วนของเปปไทด์ที่เป็นหน่วยย่อยบน SDS-PAGE ของแต่ละตัวอย่าง โดยประมาณความเข้มของแถบสีด้วย Densito-meter นำผลมาคำนวณเป็น ร้อยละของปริมาณแถบสีทั้งหมดใน 1 lane ตัวอย่าง โดยใช้โปรแกรม SigmaGel (SPSS Science, Chicaco, IL, USA)

3. สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

ห้องวิจัยปริญญโท ห้องปฏิบัติการเคมีทางอาหาร และห้องทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ

4. ระยะเวลาทำการวิจัย

การทดลองเริ่มเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2550 สิ้นสุดเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2552



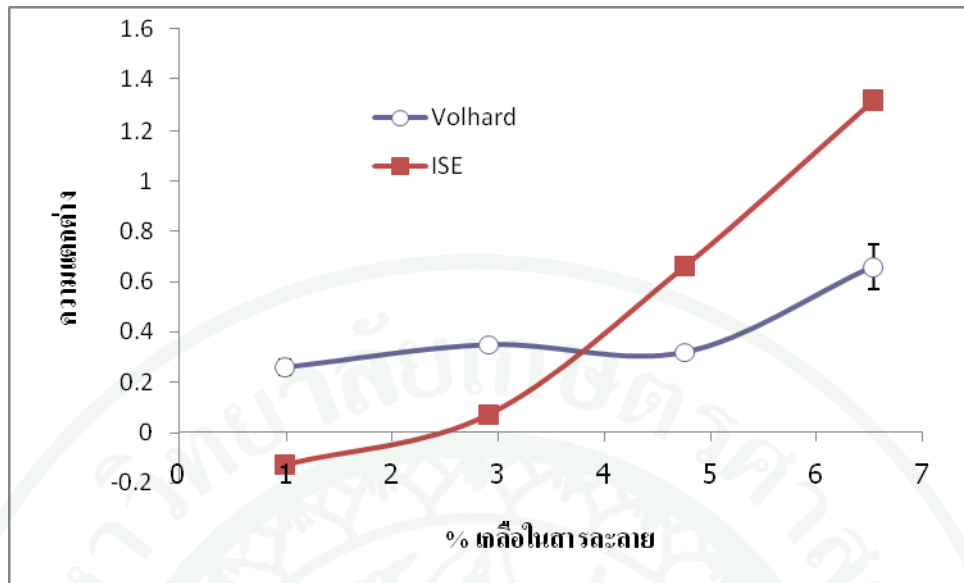
ผลและวิจารณ์

1. ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการทำเหมืองไคหมักแบบแห้งเพื่อคัดเลือกสภาวะการหมัก

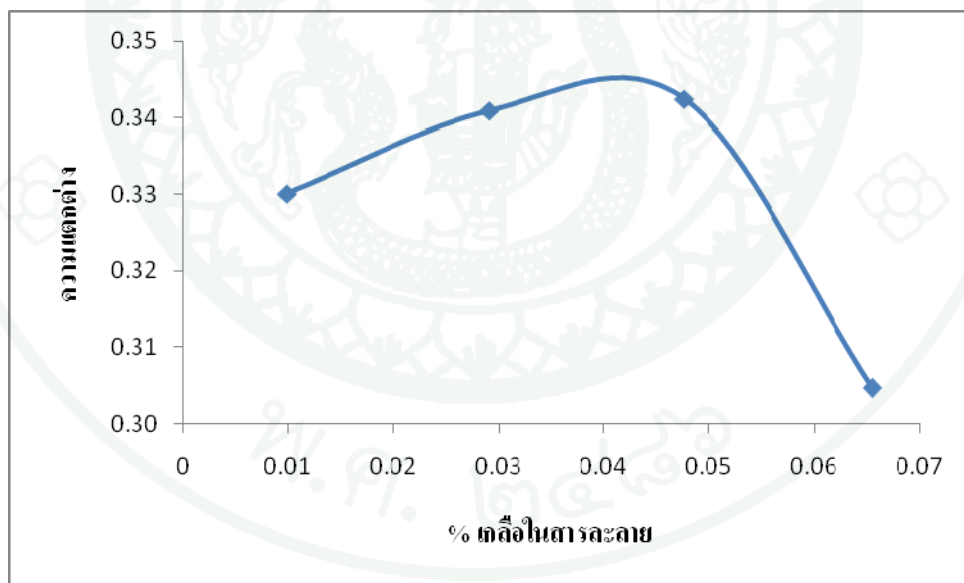
1.1. การหาร้อยละของเกลือในสมร่อนไคหมักแบบแห้ง

1.1.1. เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ปริมาณเกลือ

ในการวิเคราะห์ปริมาณเกลือของสารละลายที่ทราบปริมาณเกลือซึ่งมีความเข้มข้นเท่ากับร้อยละ 0.99, 2.91, 4.76 และ 6.54 (w/w) โดยวิธี Volhard และวิธี ISE พบว่าทั้งสองวิธีมีความแม่นยำของผลการวิเคราะห์ดังนี้คือการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะเดียวกัน 3 ครั้งให้ค่าที่ใกล้เคียงกันโดยมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็น 0.01 - 0.09 แต่ความถูกต้องของค่าที่ได้จะแตกต่างกัน ขึ้นกับวิธีวิเคราะห์และความเข้มข้นของสารละลายเกลือในตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ จากภาพที่ 5 แสดงความคลาดเคลื่อนของค่าที่วัดได้เทียบกับค่าที่มีอยู่จริงในสารละลาย เมื่อเส้นกราฟอยู่ห่างจากแกน x มากแสดงว่ามีความคลาดเคลื่อนสูง โดยถ้าวัดค่าความแตกต่างเป็นบวก แสดงว่าค่าที่ได้จากผลการวิเคราะห์มีค่ามากกว่าค่าจริงในสารละลาย และค่าความแตกต่างเป็นลบ แสดงว่าค่าที่ได้จากผลการวิเคราะห์ต่ำกว่าค่าที่เป็นจริงของสารละลาย ซึ่งพบว่าวิธี Volhard ให้ค่าที่ถูกต้องเมื่อสารละลายมีร้อยละของเกลือ เท่ากับ 0.99-4.76 (w/w) โดยมีความคลาดเคลื่อนจากค่าจริงประมาณ 0.26-0.35 เมื่อสารละลายมีปริมาณเกลือเพิ่มขึ้นถึง 6.54 ความคลาดเคลื่อนมีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่วิธี ISE จะให้ค่าที่ถูกต้องกว่า คือสารละลายมีร้อยละของเกลือ เท่ากับ 0.99-2.91 (w/w) มีความคลาดเคลื่อนจากค่าจริงประมาณ -0.13-0.07 และความคลาดเคลื่อนมีค่าเพิ่มขึ้นที่ปริมาณเกลือสูงขึ้นเช่นกัน ซึ่งการศึกษาของ Johnson และ Olson ปี 1985 รายงานว่าการวิเคราะห์ปริมาณเกลือด้วยวิธี Mohr, Volhard, Chloride analyzer ให้ผลการวิเคราะห์คล้ายกัน แต่วิธี ISE ให้ผลการวิเคราะห์ที่ต่ำกว่าวิธีอื่นๆ จากการศึกษาของ Beljaars และ Horwitz (1985) รายงานว่าวิธี Volhard จะมีความคลาดเคลื่อนสูงที่ความเข้มข้นของเกลือต่ำกว่าร้อยละ 1 และความคลาดเคลื่อนจะสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเกลือเจือจางมากดังแสดงในภาพที่ 6 และจากการศึกษาของ Haouet *et al.* (2006) พบว่าปัจจัยที่ทำให้ผลการวิเคราะห์ของวิธี Volhard มีความคลาดเคลื่อนมาจากสาเหตุหลักใหญ่ ๆ ได้แก่ ความถูกต้องของความเข้มข้นของแอมโมเนียมไทโอไซยาเนต และซิลเวอร์ไนเตรดที่ใช้ในการวิเคราะห์ ปริมาตรของ แอมโมเนียมไทโอไซยาเนต และซิลเวอร์ไนเตรด และปริมาณตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์

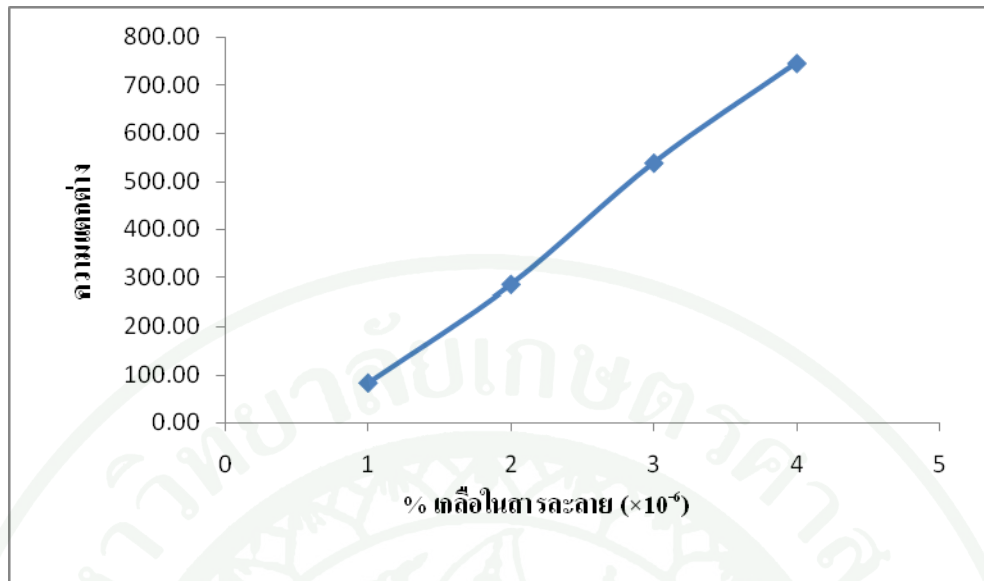


ภาพที่ 5 ความแตกต่างของปริมาณเกลือระหว่างค่าที่วัดได้โดยวิธี Volhard และวิธี ISE กับร้อยละของเกลือที่มีอยู่จริงในสารละลายที่ระดับ ร้อยละ 0.99 2.91 4.76 และ 6.54 โดยน้ำหนัก

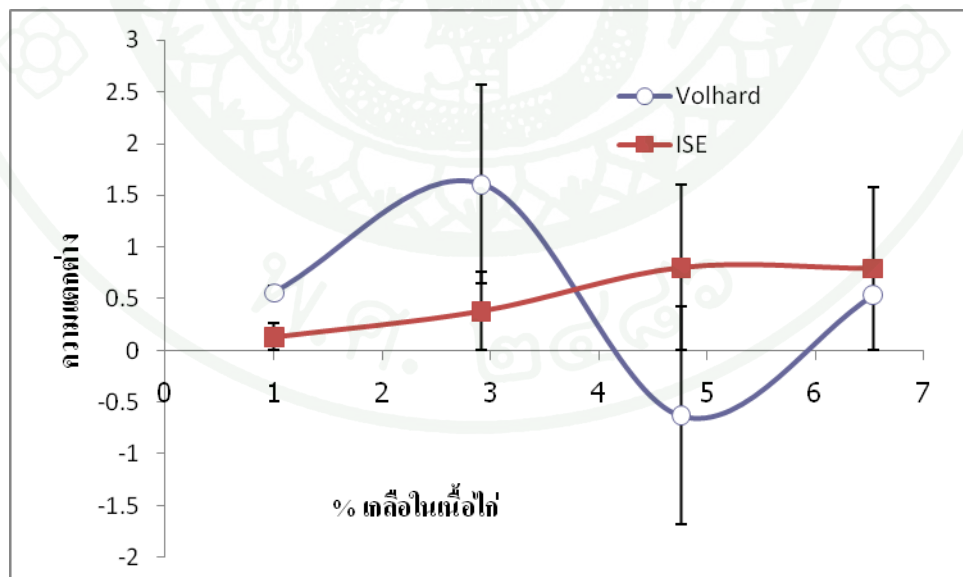


ภาพที่ 6 ความแตกต่างของปริมาณเกลือระหว่างค่าที่วัดได้โดยวิธี Volhard กับสารละลายที่มีเกลือต่ำกว่าร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก

สำหรับวิธี ISE นั้นพบว่าหากทำการเตรียมตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ให้มีความเข้มข้นของคลอไรด์ไอออนต่ำกว่าช่วงที่ได้ทำการ calibrate เครื่องไว้ซึ่งในการทดลองนี้คือที่ต่ำกว่า 1 ppm หรือ ร้อยละ 1×10^{-4} โดยเตรียมสารละลายเกลือที่มีความเข้มข้นเป็นร้อยละ 0.99×10^{-6} , 2.91×10^{-6} , 4.76×10^{-6} และ 6.54×10^{-6} จะทำให้ค่าความคลาดเคลื่อนสูงกว่า 700 โดยเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นความคลาดเคลื่อนก็ยิ่งสูงขึ้นซึ่งแสดงว่าผลวิเคราะห์มีความถูกต้องน้อยมากในช่วงความเข้มข้นต่ำกว่าช่วงที่ calibrate ไว้ (ภาพที่ 7) อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ด้วยวิธีที่ใช้ซิลเวอร์ในเตรตนั้นเป็นอันตรายต่อผู้วิเคราะห์เนื่องจากมีความเป็นพิษสูง และมีปัญหาในการกำจัดสารที่เหลือทิ้ง สำหรับวิธี ISE นั้นเครื่องมือราคาแพง แต่สารเคมีที่เกี่ยวข้องมีอันตรายน้อยกว่า ดังนั้นในการศึกษาปริมาณเกลือในแฮมมอนด์ไก่จึงน่าจะเลือกใช้วิธี ISE โดยปรับความเข้มข้นในสารละลายที่จะนำมาวิเคราะห์ให้มีความเข้มข้นในช่วง ร้อยละ 0.99-2.91 (w/w) ทั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการยืนยันข้อสรุปโดยจัดชุดตัวอย่างเนื้อไก่บด เติมเกลือในปริมาณร้อยละ 0.99, 2.91, 4.76 และ 6.54 (w/w) นำมาวิเคราะห์ปริมาณเกลือด้วยวิธี Volhard และ ISE พบว่าในตัวอย่างเนื้อไก่บดนั้นทั้งวิธี Volhard และวิธี ISE มีความแม่นยำของผลการวิเคราะห์ลดลงโดยมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานบางตัวอย่างสูงถึงร้อยละ 1.05 ซึ่งวิธี Volhard มีความถูกต้องลดลง ส่วนวิธี ISE มีความคลาดเคลื่อนอยู่ระหว่าง 0.13-0.80 โดยที่ความเข้มข้นของเกลือเท่ากับร้อยละ 0.99 มีความถูกต้องในการวิเคราะห์สูงที่สุด โดยจากภาพที่ 8 จะเห็นว่าวิธี ISE ให้ความถูกต้องในการวัดสูงกว่าวิธี Volhard ในช่วงความเข้มข้นร้อยละ 1-2.91 และเมื่อความเข้มข้นสูงกว่า 2.91 ความคลาดเคลื่อนของทั้งสองวิธีมีค่าใกล้เคียงกัน



ภาพที่ 7 ความแตกต่างของปริมาณเกลือระหว่างค่าที่วัดโดยวิธี ISE กับค่าที่เป็นจริงเมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างสารละลายที่มีเกลือต่ำกว่าช่วงที่ทำการ calibrate เครื่องมือ โดยร้อยละของเกลือในสารละลายเท่ากับร้อยละ 0.99×10^{-6} 2.91×10^{-6} 4.76×10^{-6} และ 6.54×10^{-6} โดยน้ำหนัก



ภาพที่ 8 ความแตกต่างของปริมาณเกลือระหว่างค่าที่วัดได้โดยวิธี Volhard และวิธี ISE กับร้อยละของเกลือที่มีอยู่จริงในเนื้อไก่บด ร้อยละ 0.99 2.91 4.76 และ 6.54 โดยน้ำหนัก

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าวิธี Volhard และวิธี ISE มีความถูกต้องของค่าที่ได้แตกต่างกัน ขึ้นกับวิธีวิเคราะห์และความเข้มข้นของสารละลายเกลือในตัวอย่งที่นำมาวิเคราะห์ แต่เมื่อเปรียบเทียบข้อดีข้อเสียของทั้งสองวิธีพบว่า วิธี Volhard มีข้อดีคือให้ค่าที่ค่อนข้างแม่นยำในช่วงความเข้มข้นสูง มีข้อเสียคือเป็นอันตรายต่อผู้วิเคราะห์เนื่องจากซิลเวอร์ไนเทรตมีความเป็นพิษสูงและมีราคาแพง ทำให้เกิดของเสียที่เป็นอันตรายที่ต้องทำลายเป็นปริมาณมากส่งผลให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการกำจัดของเสีย นอกจากนั้นเครื่องแก้วที่ใช้ในการวิเคราะห์ทำความสะอาดยากเนื่องจากมีคราบที่เกิดจากซิลเวอร์ไนเทรตเกาะติดแน่น ส่งผลให้เมื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์ครั้งต่อไปอาจเกิดความคลาดเคลื่อนได้ นอกจากนั้นขั้นตอนการวิเคราะห์ค่อนข้างยุ่งยากและใช้เวลานาน และอาจมีการผิดพลาดเนื่องจากการพิจารณาจุดยุติของการไทเทรต ส่วนวิธี ISE มีข้อดีคือขั้นตอนวิเคราะห์ไม่ยุ่งยากใช้เวลาน้อยกว่าและไม่เป็นอันตรายต่อผู้วิเคราะห์ ข้อเสียคือ อุปกรณ์ที่ใช้มีราคาแพง ซึ่งวิธี Volhard เหมาะกับการวิเคราะห์ปริมาณเกลือในเนื้อไก่บดเมื่อตัวอย่างมีความเข้มข้นของเกลือประมาณร้อยละ 4-7 ส่วนวิธี ISE เหมาะกับการวิเคราะห์ปริมาณเกลือในเนื้อไก่บดเมื่อตัวอย่างมีปริมาณเกลือประมาณร้อยละ 1-3 ดังนั้นจึงเลือกวิธี ISE ในการวิเคราะห์ปริมาณเกลือในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งในข้อ 1.2.1. ต่อไป

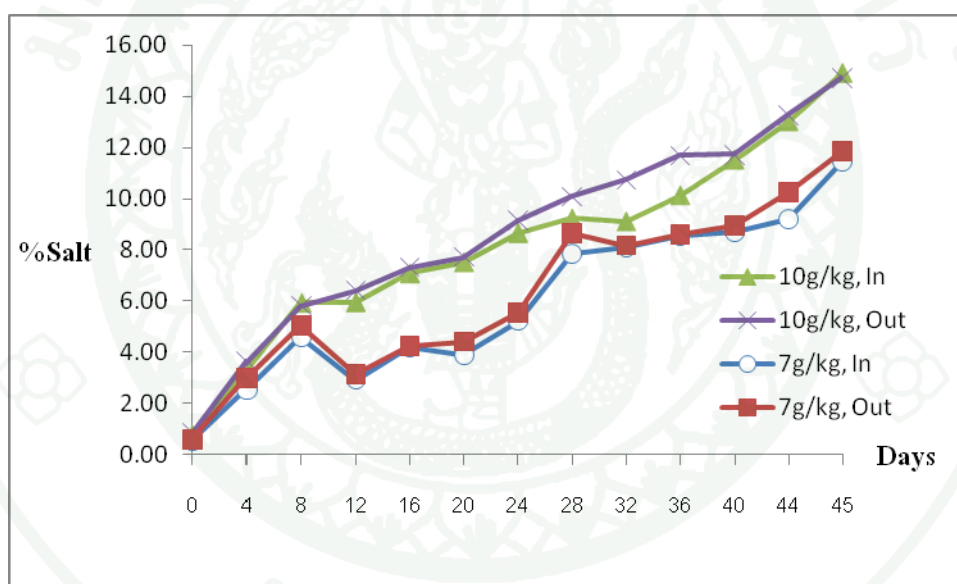
1.1. ผลของปัจจัยการหมักต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเกลือ, pH, a_w และคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง

ปัจจัยที่ศึกษาคือปัจจัยที่หนึ่งปริมาณเกลือเลือกใช้สองระดับคือ 7 และ 10 g/kg น่องไก่ ปัจจัยที่สองอุณหภูมิในการบ่มที่ 4 และ 50°C ปัจจัยที่สาม วิธีการหมักโดยบ่มที่ 4°C จน a_w น้อยกว่า 0.8 จึงบ่มต่อที่ 50°C 1 วัน เพื่อเร่งการเกิดกลิ่นหมัก เทียบกับการบ่มที่ 4°C ต่อเนื่องจนครบ 45 วัน ปัจจัยที่สี่ อัตราการสูญเสีย น้ำจากน่องไก่ระหว่างการบ่ม โดยทำการบ่มที่ 50°C โดยใช้พลาสติกใสปิดคลุมเทียบกับไม่หุ้มพลาสติกใส

1.2.1. ปริมาณเกลือที่ใช้ในการหมัก

การหมักแฮมแบบแห้งโดยทั่วไปใช้เกลือร้อยละ 80 ของน้ำหนักเนื้อหมูและใช้อุณหภูมิต่ำ แต่ในการหมักแฮมน่องไก่ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าขาหมูมาก จะทำการหมักด้วยเกลือ 5, 7 และ 10 g/kg น่องไก่ บ่มที่ 4°C ซึ่งพบว่าการใช้เกลือที่ 5 g/kg น่องไก่จะมีกลิ่นเหม็นนำหลังจากหมักแล้ว 1 สัปดาห์ ดังนั้นในการทดลองจึงเลือกใช้เกลือที่ 7 และ 10 g/kg ที่อุณหภูมิ 4°C ความชื้น

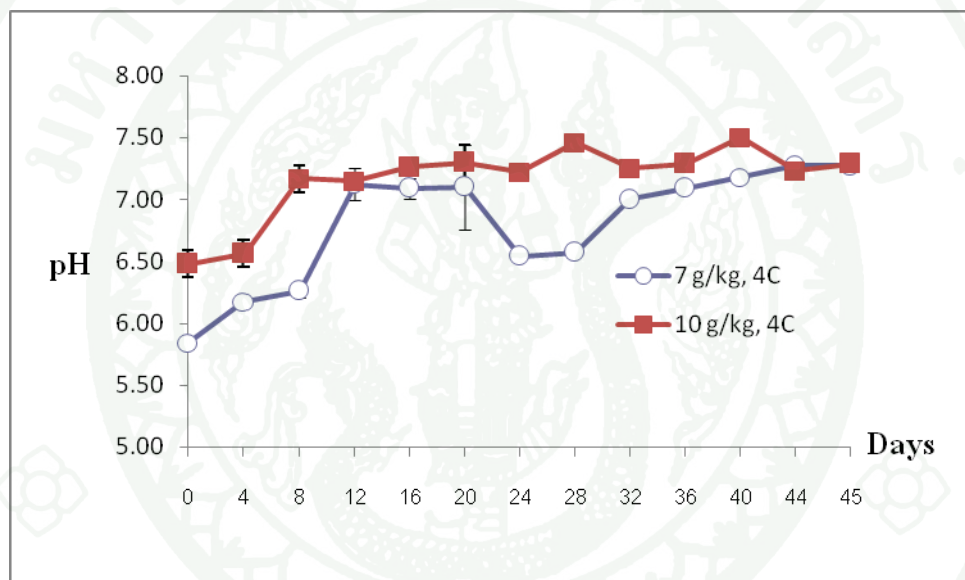
สัมพัทธ์ร้อยละ 63 พบว่าการนวดน่องไก่ด้วยเกลือป่นปริมาณดังกล่าวทำให้เกลือซึมเข้าสู่เนื้อไก่ได้ดีโดยไม่เหลือเศษเกลือติดอยู่ด้านนอก เกิดการแพร่ของเกลือจากด้านนอกเข้าสู่ด้านในน่องไก่ได้ดี ซึ่งแสดงค่าร้อยละของเกลือในช่วง 0-8 วันมีค่าใกล้เคียงกันระหว่างเนื้อด้านนอกและด้านในน่องไก่ เมื่อบ่มน่องไก่อานขึ้นเกลือจะดึงน้ำจากโปรตีนในเนื้อไก่ทำให้โปรตีนรวมตัวกันแน่น แข็ง และน่องไก่จะแห้งขึ้น ทำให้ร้อยละของเกลือในน่องไก่สูงขึ้น โดยการใช้เกลือ 10 g/kg จะทำให้ร้อยละของเกลือในเนื้อสูงกว่าการใช้เกลือ 7 g/kg โดยวันที่ 45 ของการบ่มวัดค่าร้อยละของเกลือด้านนอกมีค่าเป็น 14.73% และ 11.86% และปริมาณเกลือด้านในมีค่าเป็น 14.93% และ 11.45% ตามลำดับ ดังภาพที่ 9 ใกล้เคียงกับปริมาณเกลือในจินหัวแฮมที่ทำการทดลองในประเทศไทย คือ 11.12% (Chungsiriwat, 2007) และ Spanish dry-cured ham จากประเทศสเปนที่มีปริมาณเกลือเป็น 13.1% (Lorenzo *et al.*, 2008)



ภาพที่ 9 ปริมาณเกลือในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน

การหมักเกลือนั้นจะส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ของเนื้อหมักโดยจากภาพที่ 10 พบว่าระดับ pH ของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งที่ใช้เกลือ 7 และ 10 g/kg น่องไก่ บ่มที่อุณหภูมิ 4°C มีค่าเพิ่มขึ้นโดยช่วง 8- 12 วัน ค่า pH จะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน หลังจากนั้นจะมีค่าที่ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก ตลอดเวลาการบ่มพบว่าแฮมที่หมักด้วยเกลือ 7 g/kg จะมี pH ต่ำกว่าแฮมที่หมักด้วยเกลือ 10 g/kg เมื่อสิ้นสุดการบ่มที่ระยะเวลา 45 วัน ค่า pH ของ แฮมที่หมักด้วย

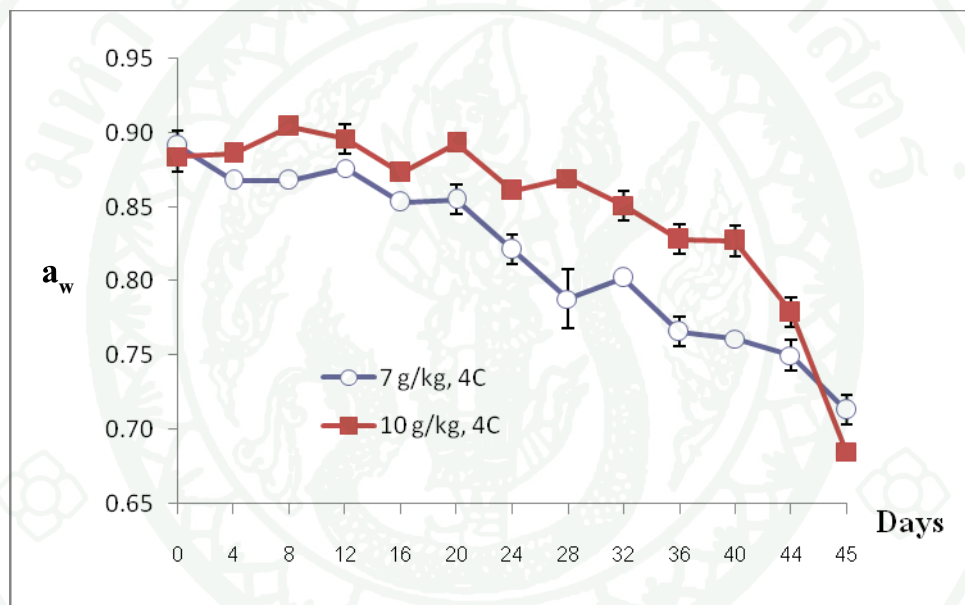
เกลือ 7 และ 10 g/kg มีค่าเท่ากับ 7.27 และ 7.29 ตามลำดับ การเพิ่มขึ้นของค่า pH แสดงให้เห็นว่าการผลิตสารที่มีฤทธิ์เป็นเบสเพิ่มขึ้นในระหว่างการหมักซึ่งจะเห็นได้จากผลการทดลองเรื่องการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน ในข้อ 2.3 การเพิ่มขึ้นของค่า pH ระหว่างการหมักพบในการผลิตแฮมอื่น ๆ ด้วยดังรายงานของ Chungsiwat (2007) พบการเพิ่มขึ้นของ pH ในจินหัวแฮม (แฮมจากเนื้อหมู) ขณะทำการบ่มเช่นกัน โดยค่า pH สูงขึ้นเมื่อเนื้อแห้งลง นอกจากนั้นยังพบว่าค่า pH ของเนื้อสุกสดที่มีค่า pH สูงกว่า 5.8 หลังจากการหมักเกลือแล้ว จะมีค่า pH สูงขึ้น เล็กน้อย แต่ถ้าค่า pH เริ่มต้นของเนื้อสุกสดต่ำกว่า 5.8 หลังจากการหมักเกลือแล้ว จะมีค่า pH สูงขึ้นมาก



ภาพที่ 10 ค่า pH ในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน

นอกจากนั้นในขณะบ่ม พบการเปลี่ยนแปลงของค่า a_w โดยมีค่าลดลงเรื่อย ๆ ซึ่ง ตลอด 44 วัน แฮมที่หมักด้วยเกลือ 10 g/kg มีค่าสูงกว่าแฮมที่หมักด้วยเกลือ 7 g/kg ทั้งนี้เนื่องจากผู้วิจัยไม่สามารถควบคุมขนาดของน่องไก่ที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งจึงทำให้ขนาดของน่องไก่ที่ใช้ในการหมักด้วยเกลือ 10 g/kg มีขนาดใหญ่กว่าน่องไก่ที่ใช้เกลือ 7 g/kg ซึ่งขนาดของน่องไก่นั้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า a_w ของผลิตภัณฑ์ โดยน่องไก่ขนาดใหญ่กว่าเกิดการเสียน้ำจากภายในช้ากว่าจึงทำให้ค่า a_w สูงกว่าที่เวลาการบ่มเท่ากัน แต่หลังการบ่มนาน 40 วันแฮมที่หมักด้วยเกลือ 10 g/kg มีการลดลงของค่า a_w อย่างรวดเร็วจนทำให้ที่วันที่ 45 ของการบ่ม ผลิตภัณฑ์มีค่า a_w ต่ำกว่าแฮมที่หมักด้วยเกลือ 7 g/kg โดยมี ค่า a_w เท่ากับ 0.685 ขณะที่แฮมที่หมักด้วยเกลือ 7 g/kg มี ค่า a_w

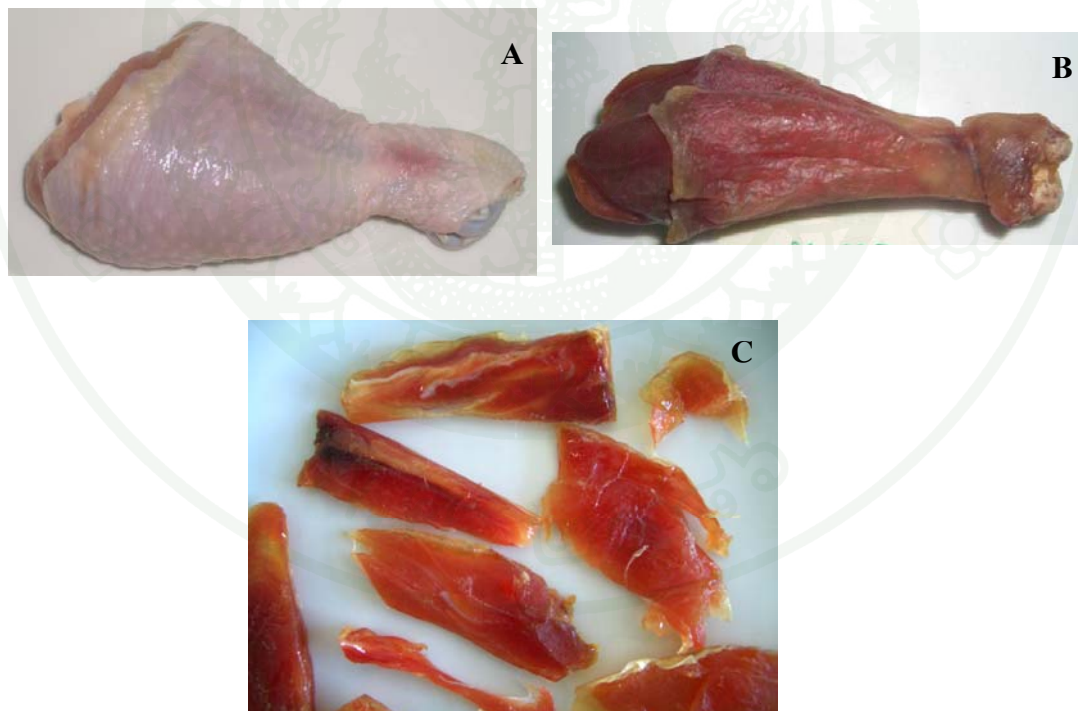
เท่ากับ 0.713 (ภาพที่ 11) ค่า a_w ในแฮมน่องไก่ในการทดลองจะมีค่าต่างจากผลิตภัณฑ์ประเภทเดียวกันที่ทำจากขาหมูจากสเปน คือ Spanish dry-cured ham มีค่า a_w สูงโดยมีค่าเท่ากับ 0.876 (Lorenzo *et al.*, 2008) ทั้งนี้เนื่องจากขาหมูมีขนาดใหญ่กว่าน่องไก่มากจึงสูญเสียให้น้ำน้อยกว่าในระหว่างการบ่ม ผลิตภัณฑ์ที่มีเกลื่อนนั้นจะช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และป้องกันการเน่าเสียเนื่องจากทำให้ค่า a_w ลดลง ทำให้อายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ยาวนานขึ้น ซึ่งค่า a_w ที่ต่ำกว่า 0.86 จะช่วยป้องกันการเจริญของแบคทีเรียและยับยั้งการสร้างสารพิษของแบคทีเรีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารพิษที่เกิดจาก *Staphylococcus aureus* ได้ (Adams and Moss, 2004) ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความปลอดภัยมากขึ้น



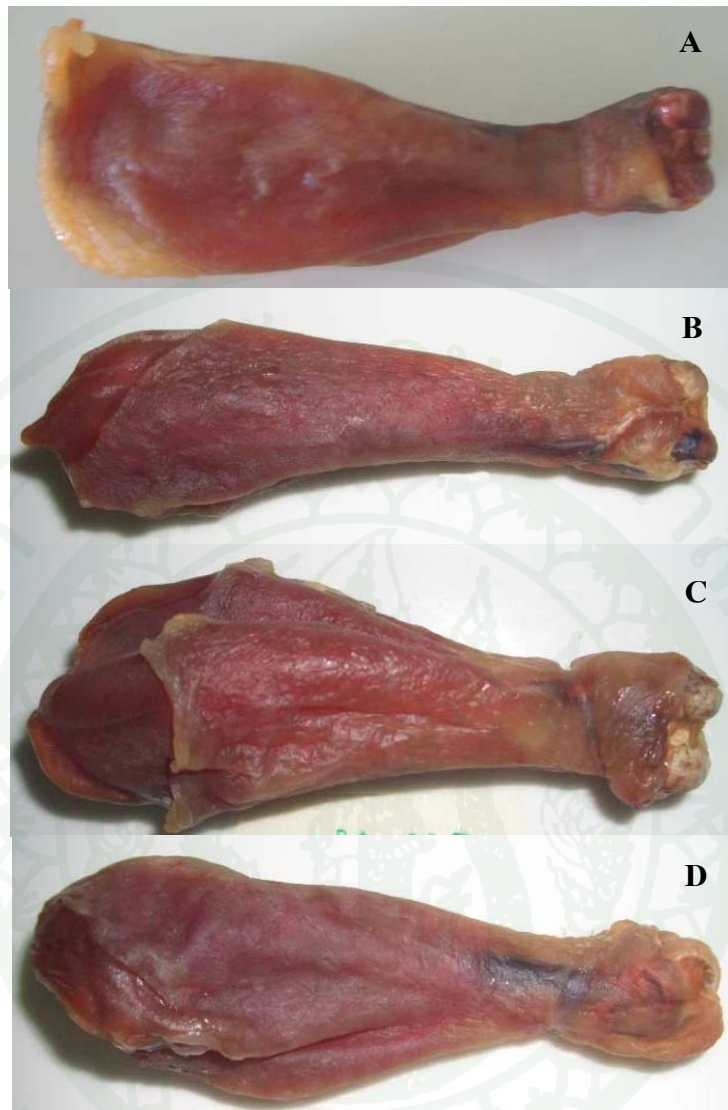
ภาพที่ 11 ค่า a_w ในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน

นอกจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีแล้วระหว่างการหมักแฮมน่องไก่อังมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพเกิดขึ้นกล่าวคือน่องไก่สดจะมีลักษณะเปลี่ยนไปโดยมีดกกล้ำเนื้อจะประสานรวมกันเป็นเนื้อเดียว มีสีแดงสด และมีความโปร่งแสงเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 12) นอกจากนั้นยังมีกลิ่นหอมของแฮมหมัก ในการหมักด้วยปริมาณเกลือต่างกันคือ 7 และ 10 g/kg หมักนาน 30 และ 45 วัน มีแนวโน้มที่คล้ายกัน คือในวันที่ 30 ของการบ่ม ภาพที่ 13(A) และ 13(C) ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์เป็นผลิตภัณฑ์แฮมแล้ว และมีเนื้อสัมผัสที่ชุ่มน้ำกว่าการบ่มนาน 45 วัน ภาพ 13(B) และ 13(D) ส่วนสีของการบ่มที่ 30 วัน ให้สีแดงสด ขณะที่การบ่มนาน 45 วัน สีของผลิตภัณฑ์มีลักษณะคล้ำขึ้น โดยเมื่อเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นเกิดการเสียน้ำจากผลิตภัณฑ์ทำให้เห็นเป็นสีแดงคล้ำ ซึ่ง

Wakamatsu *et al.* (2004) รายงานว่าสีของผลิตภัณฑ์ Parma ham ซึ่งเป็นแฮมหมักแบบแห้งมีสีแดง ซึ่งเกิดจากสาร Zn-porphyrin โดยพบว่าการเกิด Zn-porphyrin จะเกิดขึ้นเมื่อมีสภาวะที่เหมาะสม คือ ขาดออกซิเจน และระยะเวลาการบ่มที่เพิ่มขึ้นสามารถทำให้เกิด Zn-porphyrin ในปริมาณมากขึ้น จากการทดสอบโดยประสาทสัมผัส ในวันที่ 30 ของการบ่มผลิตภัณฑ์มีกลิ่นหมักที่อ่อนกว่า วันที่ 45 ดังนั้นผู้วิจัยจึงเสนอว่าแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งนั้นสามารถนำมาใช้ประโยชน์หรือสามารถรับประทานได้เหมือนแฮมหมักแบบแห้งชนิดอื่นที่มีขายตามท้องตลาดโดยเริ่มบริโภคได้เมื่อบ่มแฮมน่องไก่อาน 30 วัน ถ้าทำการบ่มต่อจนครบ 45 วัน ผลิตภัณฑ์จะมีกลิ่นแฮมหมักเพิ่มขึ้น แต่ผลิตภัณฑ์ในวันที่ 45 นั้นจะมีลักษณะที่แห้งและแข็งมากขึ้นจึงเหมาะสำหรับการนำไปต้มสุกเพื่อเพิ่มกลิ่นรสให้กับน้ำซุปต่าง ๆ เช่น ซุปหูลาม เป็นต้น ในด้านรสชาติของทั้งสองชุดการทดลองนั้น พบว่าในชุดการทดลองที่หมักด้วยเกลือ 7 g/kg มีรสที่จืดเกินไป เมื่อเปรียบเทียบกับซวนห่วยแฮม ซึ่งซื้อมาจากประเทศจีน ส่วนแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งที่หมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ มีรสชาติใกล้เคียงกับซวนห่วยแฮมมากกว่า



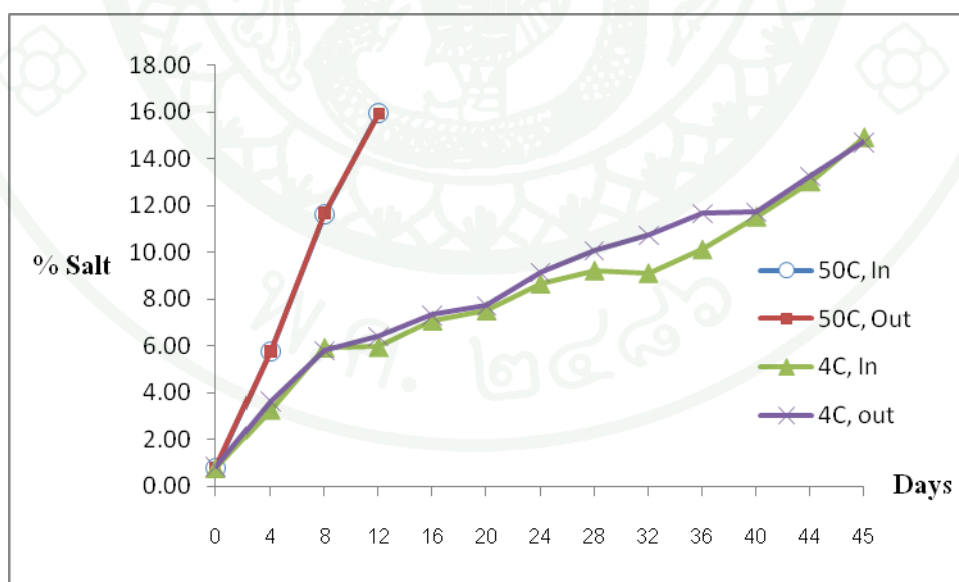
ภาพที่ 12 ลักษณะปรากฏของน่องไก่สด (A) แฮมน่องไก่หมักแบบแห้งที่บ่มเป็นเวลา 30 วัน (B) และชิ้นแฮม น่องไก่หมักแบบแห้งที่บ่มเป็นเวลา 30 วัน (C)



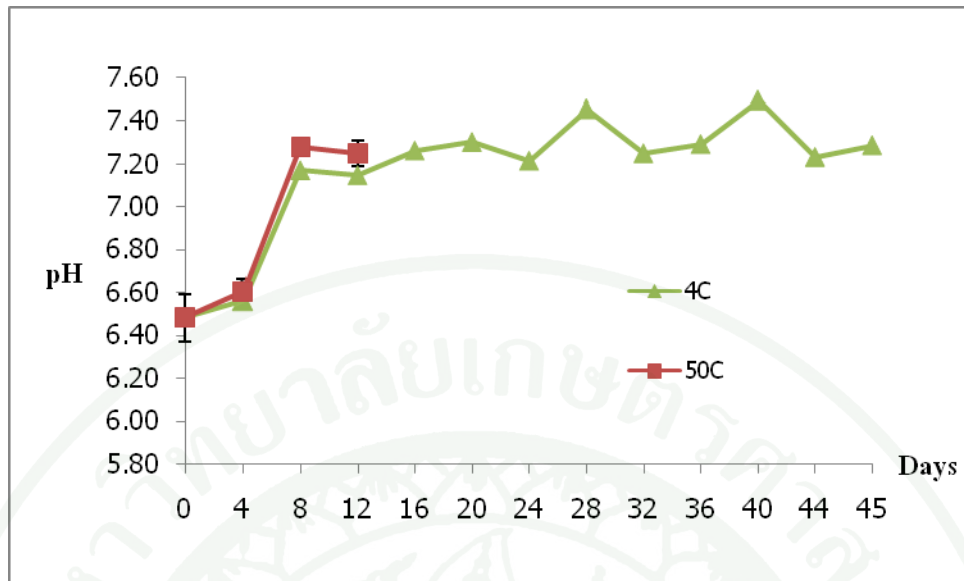
ภาพที่ 13 แสมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 7 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C (A) และ (B) ส่วน ภาพ (C) และ (D) หมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ [(A) (C) บ่ม 30 วัน และ (B) (D) บ่ม 45 วัน]

1.2.2. อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก

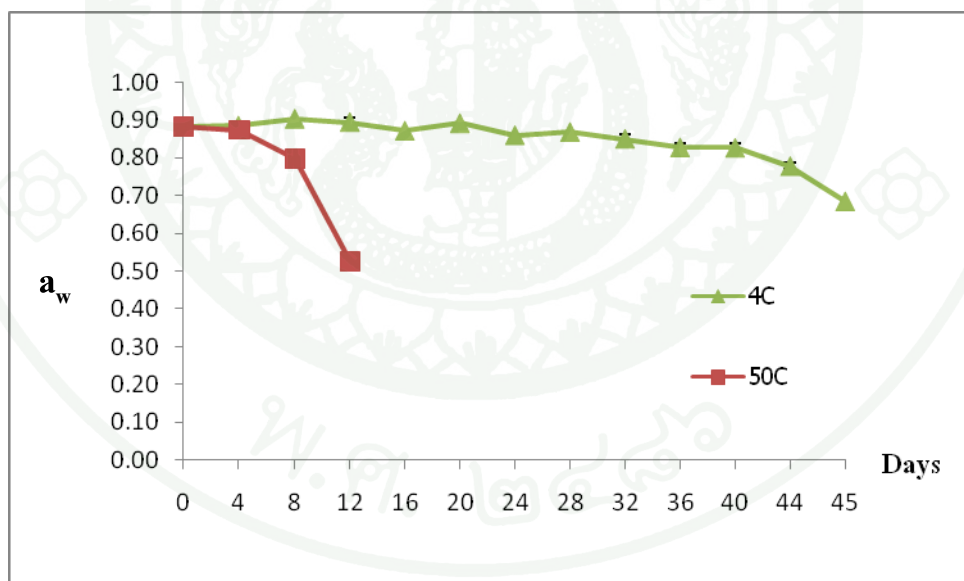
อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มมีผลต่อคุณภาพของแฮมหมักแบบแห้งเป็นอย่างมาก โดยทั่วไประยะเริ่มต้นของการหมักแห้งนั้นจะใช้การบ่มที่อุณหภูมิต่ำคือประมาณ $5-6^{\circ}\text{C}$ เพื่อป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์เนื่องจากระยะแรกเนื้อสัตว์ยังมีปริมาณน้ำในเนื้อสูง และเมื่อเริ่มบ่มจะเกิดความร้อนในก้อนเนื้อ หลังจากนั้น 15 ถึง 30 วันจะย้ายมาบ่มที่อุณหภูมิ $10-25^{\circ}\text{C}$ จนกระทั่งแฮมสุก ซึ่งในการทดลองนี้ได้ทำการหมักด้วยเกลือ 10 g/kg ที่ 4°C เป็นเวลา 45 วัน และ 50°C เป็นเวลา 12 วัน พบว่าการบ่มที่ 4°C ปริมาณเกลือของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งด้านนอกมีค่าสูงกว่าปริมาณเกลือด้านในน่องไก่ เมื่อสิ้นสุดการบ่มที่ 45 วันพบว่าปริมาณเกลือในแฮมน่องไก่หมักด้านนอกและด้านในมีค่าใกล้เคียงกันคือมีค่าเท่ากับ 14.73% และ 14.93% ตามลำดับ (ตารางผนวกที่ ๑5) ส่วนชุดการทดลองที่บ่มที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 12 วัน พบว่าปริมาณเกลือจะเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการบ่ม ซึ่งปริมาณเกลือของเนื้อไก่ด้านนอกและด้านในมีค่าใกล้เคียงกันตลอดระยะเวลาการบ่ม และเมื่อสิ้นสุดการบ่มที่ 12 วัน พบว่าปริมาณเกลือเท่ากับ 15.91% และ 15.98% ตามลำดับ (ภาพที่ 14) ซึ่งมีค่าสูงกว่าการบ่มที่ 4°C อันเนื่องมาจากการสูญเสียความชื้นจากน่องไก่ขณะทำการบ่มที่ 50°C มากกว่าที่ 4°C นั่นเอง



ภาพที่ 14 ปริมาณเกลือในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน และ 50°C เป็นเวลา 12 วัน



ภาพที่ 15 ค่า pH ในระหว่างการหมักแฮมร่อนไก่หมักแบบแห้งระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน และ 50°C เป็นเวลา 12 วัน



ภาพที่ 16 ค่า a_w ในระหว่างการหมักแฮมร่อนไก่หมักแบบแห้งระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน และ 50°C เป็นเวลา 12 วัน

ลักษณะของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งปรากฏดังภาพที่ 17 โดยการหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ บ่มที่อุณหภูมิ 4°C 45 วัน ได้ผลิตภัณฑ์ดังภาพที่ 17(A) และภาพที่ 17(B) คือน่องไก่ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 50°C 12 วัน พบว่าผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีลักษณะที่แตกต่างกันโดยสิ้นเชิง คือ การบ่มที่ 4°C มีลักษณะที่ชุ่มน้ำมีสีแดงมากกว่าการบ่มที่ 50°C และให้กลิ่นหมักที่คล้ายกับผลิตภัณฑ์ชวนเหว่ยแฮมของประเทศจีน ส่วนแฮมน่องไก่หมักที่ทำการบ่มที่ 50°C นั้นมีลักษณะที่แห้งและแข็งมาก มีสีน้ำตาลคล้ำอมดำและหนังแยกออกจากเนื้อบางส่วน



ภาพที่ 17 แฮมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน (A) และ 50°C เป็นเวลา 12 วัน (B)

1.2.3. วิธีการหมัก

ในการเร่งการเกิดกลิ่นหมักของแฮมน่องไก่หมักนั้นจะเร่งการบ่มในช่วงสุดท้ายโดยใช้อุณหภูมิที่ 50°C ซึ่งในปี 2002 Benito *et al.* ทำการสกัด Extracellular protease จาก *Penicillium chrysogenum* Pg222 จากแฮมหมักแบบแห้ง พบว่าเอนไซม์ที่ได้สามารถให้กิจกรรมของเอนไซม์สูงในช่วงอุณหภูมิ 40-55°C เมื่อทดสอบกับ myofibrillar โปรตีน จากข้อมูลดังกล่าว ในชุดการทดลองนี้จึงจัดการทดลองโดย ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 4°C จนกระทั่ง a_w น้อยกว่า 0.8 นำมาบ่มต่อที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 1 วัน เปรียบเทียบกับการบ่มที่อุณหภูมิ 4°C ตลอดระยะเวลาของการบ่มแฮมโดยเปรียบเทียบระหว่างการหมักที่ใช้เกลือ 7 และ 10 g/kg พบว่า แฮมมี a_w ต่ำกว่า

0.80 ในวันที่ 36 และ 44 ของการบ่มตามลำดับ จากนั้นนำไปบ่มต่อในตู้บ่มด้วยอุณหภูมิ 50°C เพื่อกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการหมัก ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าปริมาณเกลือในทั้ง 2 ชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลาของการบ่ม โดยสามารถวัดปริมาณเกลือในเนื้อไก่ได้ใกล้เคียงกันทั้งด้านนอกและด้านในเนื้อไก่ โดยด้านนอกเป็น 11.61 และ 13.17% และด้านในมีค่าเป็น 11.53 และ 13.11% ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ส่วนการหมักด้วยเกลือ 7 และ 10 g/kg อุณหภูมิ 4°C ตลอดระยะเวลาการบ่มนั้นให้ผลทำนองเดียวกัน คือวัดปริมาณเกลือในเนื้อไก่ด้านนอกเป็น 11.86 และ 14.73% และด้านในมีค่าเป็น 11.45 และ 14.93% ตามลำดับ (ตารางที่ 2) โดยแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งสูญเสียไอน้ำในช่องไถ่ระหว่างที่ทำการบ่ม ดังนั้นเมื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณเกลือค่าที่ได้จึงสูงขึ้นเมื่อบ่มแฮมนานขึ้น

ตารางที่ 2 ปริมาณเกลือจากเนื้อส่วนนอกและส่วนใน pH และ a_w ของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 36 และ 44 วัน หลังจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และบ่มที่ 4°C เป็นเวลา 45 วัน ที่หมักด้วยเกลือ 7 และ 10 g/kg

เกลือ(g/kg)	จำนวนวันที่ 4°C	+ จำนวนวันที่ 50°C	%เกลือ (In)	%เกลือ (Out)	pH	a_w
7	36	+ 1	11.53	11.61	7.02	0.701
7	45	-	11.45	11.86	7.27	0.713
10	44	+ 1	13.11	13.17	7.27	0.652
10	45	-	14.93	14.73	7.29	0.685

ส่วนการเปลี่ยนแปลงค่า pH และ ค่า a_w ของชุดการทดลองนี้พบว่า เมื่อสิ้นสุดกระบวนการบ่ม แฮมมีค่า pH อยู่ในช่วง 7.02 - 7.29 โดยการบ่มแฮมแบบสองชั้นตอนมีแนวโน้มทำให้ pH ของแฮมต่ำกว่าการบ่มแบบชั้นตอนเดียวที่อุณหภูมิ 4°C โดยเฉพาะเมื่อเติมเกลือเพียง 7 g/kg (ตารางที่ 2) แสดงว่าการบ่มที่อุณหภูมิต่างกัน และการเติมเกลือในระดับต่างกันมีผลต่อการผลิตสารในระหว่างการบ่มแฮม ซึ่งส่งผลให้ pH ของแฮมต่างกันเล็กน้อย และการลดลงของ ค่า a_w ในแฮมที่ใช้เกลือ 10 g/kg บ่มแบบสองชั้นตอนก็ให้ค่า ต่ำที่สุด (ตารางที่ 2) ซึ่งคาดว่าปริมาณเกลือในเนื้อสัตว์ทำให้

เกิดการแย่งน้ำจากโปรตีน โปรตีนเกิดการจับตัวกันและน้ำสูญเสียออกมาจากกล้ามเนื้อ ปริมาณเกลือมากเกิดการเสียน้ำได้มาก

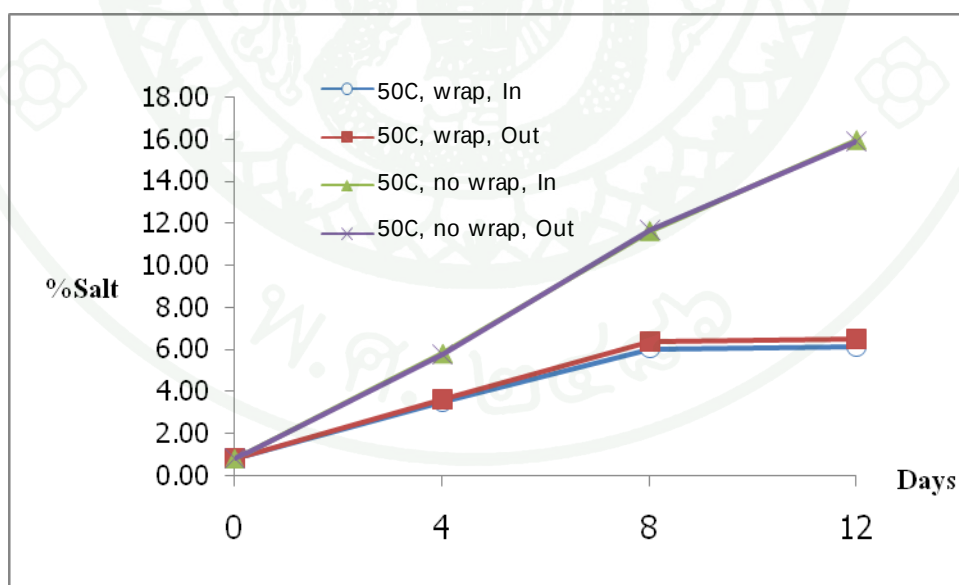
การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่เกิดขึ้นของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งจากชุดการทดลองดังกล่าวคือจากภาพที่ 18 เป็นการหมักแฮมน่องไก่แบบแห้ง ภาพที่ 18(A) ทำการหมักด้วยเกลือ 7 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C 36 วัน และ 50°C 24 ชั่วโมง และภาพที่ 18(B) หมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C 44 วัน และ 50°C 24 ชั่วโมง พบว่าผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีลักษณะที่คล้ายกัน คือ มีลักษณะที่แห้งและแข็งมาก มีสีน้ำตาลคล้ำอมดำ และเมื่อนำมาทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกพบว่าแฮมน่องไก่หมักชุดดังกล่าวมีลักษณะปรากฏที่ผู้ทดสอบทั้ง 3 คน ไม่ยอมรับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลิ่นหมักที่ได้จากการบ่มที่ 50°C ให้กลิ่นที่มีลักษณะคล้ายกลิ่นหมักในปลาเค็ม ซึ่งแตกต่างจากผลิตภัณฑ์ชวนเหว่ยแฮมโดยสิ้นเชิง ในขณะที่การบ่มที่ 4°C เพียงอย่างเดียวให้กลิ่นหอมของแฮมหมักแบบแห้ง ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่บ่มที่ 50°C ไม่ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบ การเกิดกลิ่นที่แตกต่างกันดังกล่าวข้างต้นบ่งชี้ว่าการบ่มที่อุณหภูมิต่างกันจะทำให้เกิดสารที่ให้กลิ่นแตกต่างกัน ซึ่งเป็นผลจากการย่อยสลายสารในแฮมที่อุณหภูมิต่างกันจะเกี่ยวข้องกับ เอนไซม์และจุลินทรีย์ที่ต่างกันอยู่บ้างนั่นเอง



ภาพที่ 18 แฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง หมักด้วยเกลือ 7 g/kg ที่ 4°C 36 วัน ตามด้วย 50°C 24 ชั่วโมง (A) และ หมักด้วยเกลือ 10 g/kg ที่ 4°C 44 วันตามด้วย 50°C 24 ชั่วโมง (B)

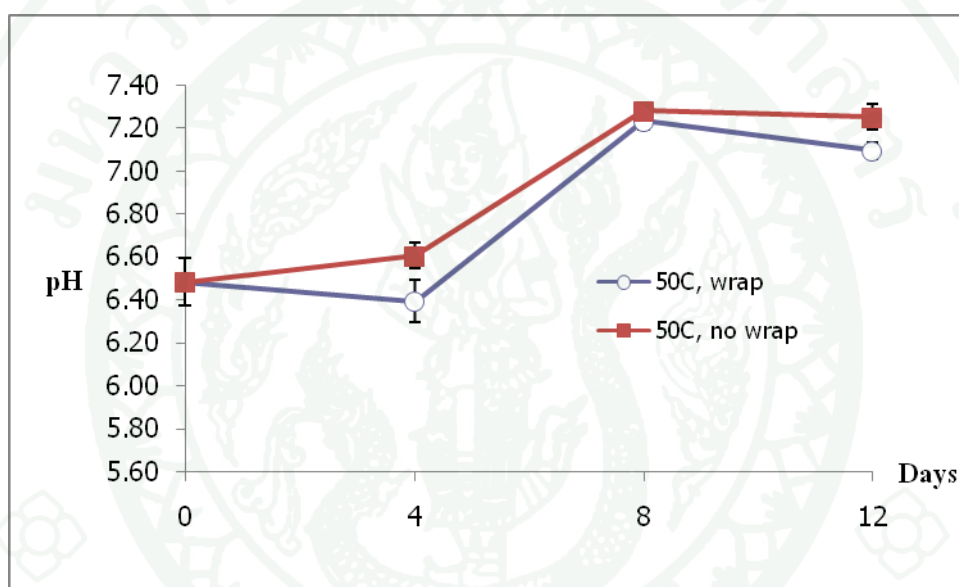
1.2.4. อัตราการสูญเสียน้ำจากน่องไก่อหว่างการบ่ม

การหมักแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งที่ 4°C ในตู้เย็นนั้นพบปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการบ่มคือ การสูญเสียน้ำขณะทำการบ่มทำให้แฮมที่ได้มีลักษณะแห้ง และแข็งมาก เนื่องจากในตู้เย็นมีความชื้นสัมพัทธ์เท่ากับร้อยละ 63% ซึ่งต่ำกว่าความชื้นสัมพัทธ์ที่ใช้ในการทำชวนห่วยแฮมคือร้อยละ 75 เมื่อทำการบ่มเป็นเวลานานแฮมจะยิ่งสูญเสียน้ำมากยิ่งขึ้น แต่การผลิตแฮมหมักแบบแห้งนั้นต้องใช้ระยะเวลาการบ่มที่ยาวนานเพื่อพัฒนากลิ่นหมักของแฮมให้สูงขึ้น ดังนั้นเพื่อลดอัตราการสูญเสียน้ำของแฮมหมักจึงทำการทดลองโดยหมักไก่ด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ และทำการหุ้มน่องไก่ด้วยฟิล์มพลาสติกใสห่ออาหารเพื่อลดการระเหยของน้ำ และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 12 วัน เปรียบเทียบกับน่องไก่ที่ไม่หุ้มด้วยพลาสติก พบว่าเมื่อเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นน่องไก่ที่หุ้มด้วยพลาสติกมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณเกลือช้ากว่าการไม่หุ้มพลาสติก เนื่องจากพลาสติกปิดกั้นการเสียน้ำออกจากรน่องไก่ได้บางส่วน จึงส่งผลให้สัดส่วนของเกลือในน่องไก่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างช้า ๆ และที่ 8-12 วันปริมาณเกลือค่อนข้างคงที่ เมื่อบ่มนาน 12 วันคือประมาณ 6% และ 15% ในน่องไก่ที่หุ้มและไม่หุ้มพลาสติกตามลำดับโดยปริมาณเกลือด้านในและนอกของน่องไก่มีค่าใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 19 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเกลือระหว่างหมักแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งด้วยเกลือ 10 g/kg ที่อุณหภูมิ 50°C โดยหุ้มและไม่หุ้มน่องไก่ด้วยแผ่นพลาสติก (In Out=เนื้อด้านใน และด้านนอก)

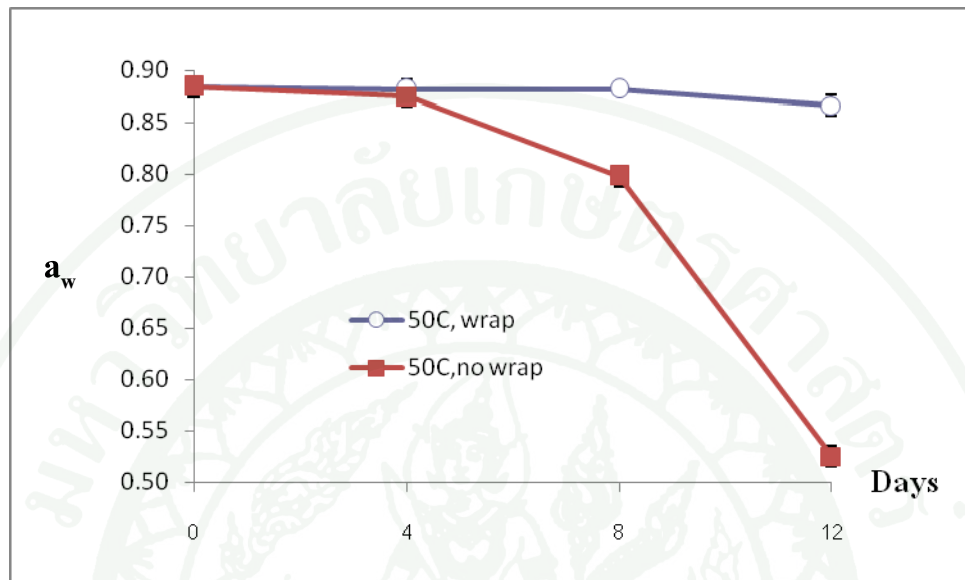
การเปลี่ยนแปลงของค่า pH จากภาพที่ 20 ค่า pH ของไก่ที่หมักเกลือ 10 g/kg ของชุดการทดลองที่หมักและทำการหุ้มด้วยพลาสติกใสห่ออาหารเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำมากเกินไป และชุดการทดลองที่ไม่ได้หุ้มพลาสติก เมื่อนำเข้าไปบ่มที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 12 วัน พบว่าทั้ง 2 ชุดการทดลองใน 4 วันแรกของการบ่ม pH ยังไม่ค่อยมีการเปลี่ยนแปลงมากนัก แต่หลังจาก 4 ถึง 8 วัน จะพบว่า pH มีค่าเพิ่มสูงขึ้น และเมื่อบ่ม 8 ถึง 12 วัน pH จึงเริ่มคงที่และค่อนข้างเป็นกลาง โดยเมื่อสิ้นสุดการบ่มชุดการทดลองที่หุ้มด้วยพลาสติกใสห่ออาหาร มีค่า pH เท่ากับ 7.10 ส่วนชุดการทดลองที่ไม่หุ้มพลาสติกใสห่ออาหาร มีค่า pH เท่ากับ 7.25



ภาพที่ 20 ค่า pH ในแฮมน้องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น้องไก่ ที่อุณหภูมิ 50°C โดยหุ้มและไม่หุ้มพลาสติกใสห่ออาหาร เป็นเวลา 0-12 วัน

การสูญเสียน้ำในระหว่างกระบวนการบ่มนั้นนอกจากจะทำให้เนื้อมีคุณลักษณะแห้ง และแข็งขึ้น ยังส่งผลต่อ a_w ของเนื้อด้วย โดยจากภาพที่ 21 ค่า a_w ของไก่ที่หมักด้วยเกลือ 10 g/kg และหุ้มด้วยพลาสติกใสห่ออาหารเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำมากเกินไป เมื่อนำเข้าไปบ่มที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 12 วัน พบว่า a_w มีค่าค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการบ่ม โดยเมื่อสิ้นสุดกระบวนการบ่ม ค่า a_w ที่ได้มีค่าเป็น 0.866 ซึ่งพบว่าเมื่อสามารถลดการระเหยของน้ำได้ก็จะสามารถลดการลดลงของ a_w ได้เช่นกัน ส่งผลให้เนื้อมีความชุ่มน้ำ ไม่แห้งและแข็งเกินไป ส่วนการบ่มที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 12 วัน โดยไม่หุ้มพลาสติกใสห่ออาหารนั้นพบว่า 4 วันแรกของการ

บ่มค่า a_w ก่อนข้างคงที่ แต่หลังจาก 4 วัน ค่า a_w ที่ได้ลดลงอย่างต่อเนื่องจนสิ้นสุดกระบวนการบ่ม โดยค่า a_w ที่ได้มีค่าเป็น 0.525



ภาพที่ 21 ค่า a_w ในแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg ร่องไก่ ที่อุณหภูมิ 50°C โดยหุ้มและไม่หุ้มพลาสติกใสห่ออาหาร เป็นเวลา 0-12 วัน

จากภาพที่ 22 เป็นการหมักแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg ร่องไก่ ที่อุณหภูมิ 50°C 12 วัน โดยภาพที่ 22(A) ทำการหุ้มด้วยพลาสติกใสห่ออาหาร ส่วนภาพที่ 22(B) ไม่ได้ทำการหุ้มด้วยพลาสติกใสห่ออาหาร ซึ่งจากผลการทดลองเมื่อบ่มครบ 12 วัน จากภาพจะเห็นว่ามึลักษณะที่แตกต่างกันโดยสิ้นเชิง ซึ่งในชุดการทดลองที่หุ้มด้วยพลาสติกใส ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะชุ่มน้ำผิวเป็นมัน สีส้มอมเหลือง ส่วนในชุดการทดลองที่ไม่ได้หุ้มด้วยพลาสติกใส นั้นพบว่าผลิตภัณฑ์มีลักษณะที่แห้งแข็งมาก ไม่สามารถที่จะรับประทานได้ สีของผลิตภัณฑ์มีสีน้ำตาลคล้ำอมดำ ส่วนบริเวณหนังไก่มีลักษณะแห้งและมีบางส่วนแยกไม่ติดกับเนื้อไก่ จะเห็นได้ว่าการเพิ่มกระบวนการบางอย่างเพื่อลดการสูญเสียในระหว่างกระบวนการผลิตนั้นสามารถทำให้ลักษณะของผลิตภัณฑ์ดีกว่า และมีความชุ่มน้ำมากกว่า แต่อย่างไรก็ตาม ในด้านของกลิ่นที่ได้ทั้งสองชุดการทดลองพบว่ากลิ่นที่ได้มีลักษณะคล้ายกลิ่นหมักในปลาเค็มซึ่งแตกต่างจากผลิตภัณฑ์ชวนเหว้ยแฮมโดยสิ้นเชิง จึงทำให้ผลิตภัณฑ์จากทั้ง 2 ชุดการทดลองนี้ไม่ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบเช่นกัน ทั้งนี้ที่ผู้ผลิตได้สร้างชุดการทดลองนี้ขึ้นมาเพื่อทดสอบปัจจัยที่ช่วยลดการสูญเสียระหว่างการบ่มและที่อุณหภูมิ 50°C นั้นจะสามารถกระตุ้นเอนไซม์และเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดจึงเกิดกลิ่นหมัก

ภายในเวลาเพียง 12 วันของการบ่มแฮม แต่กลิ่นที่ได้กลับไม่เป็นที่ต้องการกล่าวคือผลิตภัณฑ์มีกลิ่นหมักที่คล้ายกลิ่นของปลาเค็ม ซึ่งที่อุณหภูมิ 50°C โปรตีนโพลีคเอนไซม์ยังมีกิจกรรมการย่อยสลายโปรตีนดังรายงานของ Benito *et al.* (2002) ซึ่งทำการสกัด Extracellular protease จาก *Penicillium chrysogenum* Pg222 จากแฮมหมักแบบแห้ง และนำมาทดสอบกับ myofibrillar โปรตีน พบว่าเอนไซม์ที่สกัดได้สามารถให้กิจกรรมของเอนไซม์สูงในช่วงอุณหภูมิ $40-55^{\circ}\text{C}$



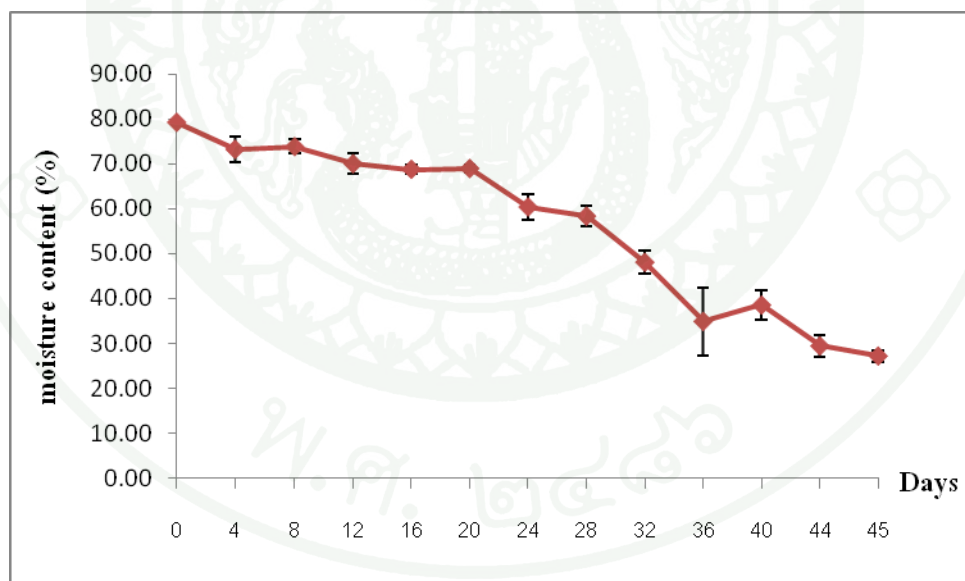
ภาพที่ 22 แฮมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 50°C 12 วัน (A) หุ้มพลาสติกใสและ (B) ไม่หุ้มพลาสติกใส

จากผลการทดลองข้างต้นผู้วิจัยจึงเลือกทำการผลิตแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง โดยใช้เกลือเกลือ 10 g/kg ที่อุณหภูมิ 4°C เนื่องจากมีรสชาติและกลิ่นที่คล้ายกับซวนห่วยแฮมที่ผลิตจากขาหลังของสุกรมากที่สุด แต่ในการหมักแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้มีเนื้อสัมผัสที่แห้งแข็งถ้าบ่มถึง 45 วัน ดังนั้นควรบ่มเพียง 30 วัน แล้วบรรจุผลิตภัณฑ์ในถุงที่กันการสูญเสียความชื้นปล่อยให้เกิดการบ่มที่ อุณหภูมิ 4°C ต่อไปเพื่อเพิ่มกลิ่นรสหมักในผลิตภัณฑ์ในการทดลองศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารที่เกี่ยวข้องกับการเกิดกลิ่นรสในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งจะเลือกการหมักแฮมด้วยเกลือ 10 g/kg ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน

2. การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง

2.1. การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้น

การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งจากชุดการทดลองที่ได้รับคัดเลือกข้างต้นคือ หมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 63 เป็นเวลา 45 วัน พบว่าปริมาณความชื้นของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งลดลงตลอดระยะเวลาการบ่ม จากปริมาณความชื้นเริ่มต้นที่ 79.30% เหลือ 27.12% เมื่อสิ้นสุดการบ่มที่ 45 วัน (ภาพที่ 23) โดยปริมาณความชื้นที่ได้มีค่าน้อยกว่าจินหัวแฮมซึ่งเป็นแฮมจากขาหมูที่ทดลองทำในประเทศไทยโดย Chungsirawat (2007) ที่รายงานค่าความชื้นเป็น 43.29% และ Spanish dry-cured ham ที่มีความชื้นเป็น 43.72% ในส่วนของเนื้อเยื่อ Semimembranosus และ 58% ในส่วนของเนื้อเยื่อ Biceps femoris (Molinero and Arnau, 2008) ทั้งนี้เป็นเพราะน่องไก่มีขนาดเล็ก การสูญเสียไอน้ำระหว่างกระบวนการบ่มจึงเกิดเร็วกว่าขาหมู



ภาพที่ 23 ปริมาณความชื้นของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C 0-45 วัน (แต่ละจุดเกิดจากค่าเฉลี่ย $n = 4$)

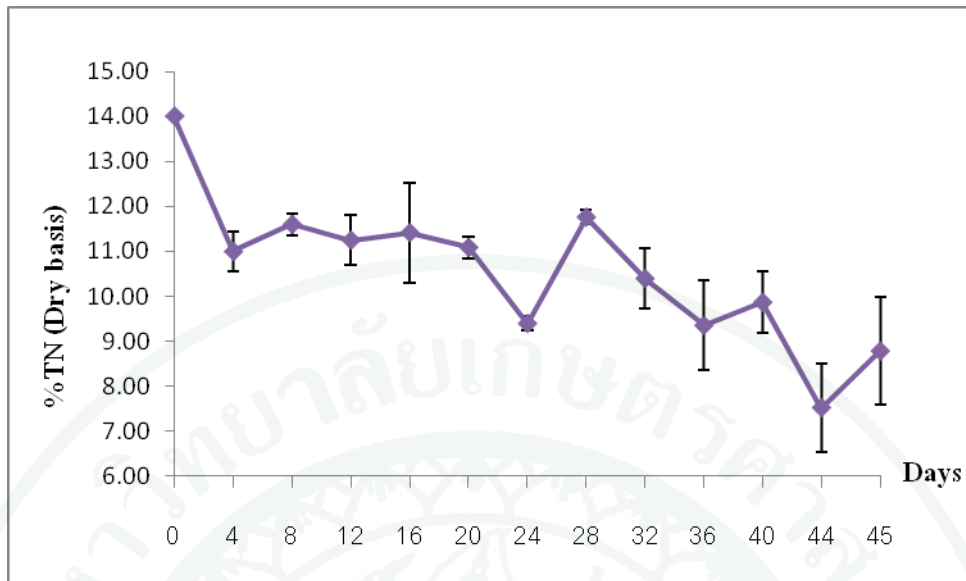
2.2. การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนในไตรเจนทั้งหมด

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของแฮมร่อนไก่หมักแบบแห้งนอกจากความชื้นแล้วยังมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด จากภาพที่ 24 พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่มีในส่วนเนื้อของแฮมร่อนไก่หมักแบบแห้งที่หมักด้วยเกลือ 10 g/kg ที่อุณหภูมิ 4°C นั้นมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องโดยเมื่อเริ่มต้นมีปริมาณไนโตรเจนเป็น 14.02% (db) ซึ่งคิดเป็นปริมาณโปรตีน 87.62% (db) เมื่อสิ้นสุดการบ่มที่ 45 วัน ปริมาณไนโตรเจนลดลงเหลือ 8.78% (db) คิดเป็นปริมาณโปรตีน 54.86% (db) โดยมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานต่ำสุดและสูงสุดเป็น 0.06 และ 1.21 ตามลำดับ ซึ่ง Toldra *et. al* (2000) อธิบายว่าระหว่างการบ่มโปรตีนโอไลติกเอนไซม์ในเนื้อสัตว์และเอนไซม์จากจุลินทรีย์จะย่อยโปรตีนได้สารที่มีขนาดโมเลกุลเล็ก ทำให้ปริมาณโปรตีนในเนื้อสัตว์ลดลงเมื่อเวลาในการบ่มเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงนี้สอดคล้องกับรายงานของ Larrea *et al.* (2006) ที่พบว่าโปรตีนที่ละลายน้ำของ Teruel dry cured ham มีค่าลดลง เนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ cathepsin B, L และ D ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนใน Teruel dry cured ham นั้นเอง ส่วน Sanchez-Molinero and Arnau (2008) พบว่าโปรตีนของ Spanish dry-cured ham จากประเทศสเปน ในส่วนของเนื้อเยื่อ Semimembranosus มีค่าเท่ากับ 75.44% (db) และในเนื้อส่วน Biceps femoris นั้นมีค่า 66.69% (db)

นอกจากนั้นในการศึกษาแฮมร่อนไก่พบว่ามียีสสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในแฮมลดลงในปริมาณสูง นั่นคือเกิดการสูญเสียของปริมาณของแข็งระหว่างกระบวนการบ่มดังแสดงในตารางที่ 3 โดยปริมาณของแข็งลดลงประมาณ 12% ภายหลังการบ่ม 4 วันโดยสังเกตเห็นของเหลวแยกจากเนื้อไก่ตกลงในถาดมีความขุ่น ซึ่งคาดว่าเป็นเพราะมีของแข็งที่ละลายได้จากเนื้อไก่ผสมอยู่ด้วย เมื่อบ่มนานขึ้นพบการลดลงของของแข็งอยู่ในช่วง 15-17% จากผลการทดลองนี้บ่งชี้ว่าโปรตีนในเนื้อไก่แยกออกมาพร้อมกับน้ำในระหว่างการบ่มด้วย

ตารางที่ 3 การลดลงของปริมาณของแข็งในแสมน่องไก่หมักแบบแห้งที่ระยะเวลาต่าง ๆ จาก 0-45 วัน ของการหมัก

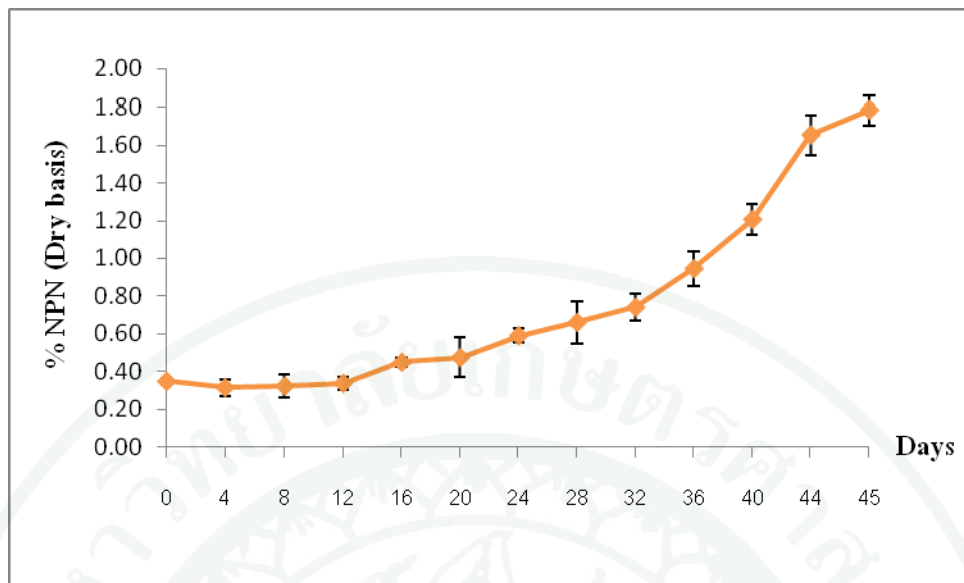
วันที่	ของแข็งที่ลดลงเทียบกับ	%ของแข็งที่ลดลงเทียบกับ
	น่องไก่สด	น่องไก่สด
0	0.00	0.00
4	3.60	12.89
8	3.83	14.91
14	3.17	12.79
16	3.51	13.96
20	3.92	15.28
24	4.79	17.14
28	4.66	17.53
36	4.66	17.28
40	4.25	15.65
44	4.27	16.14
45	4.13	15.27



ภาพที่ 24 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C 0-45 วัน (แต่ละจุดเกิดจากค่าเฉลี่ย $n = 4$)

2.3. การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน

ปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (NPN) เพิ่มขึ้นจาก 0.35% (db) เป็น 1.78% (db) เมื่อบ่มนาน 45 วัน (ภาพที่ 25) โดยมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานต่ำสุดและสูงสุดเป็น 0.02 และ 0.11 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าปริมาณ NPN ของ Spanish dry-cured ham ที่มีค่าเท่ากับ 3.3% (Garcia-Rey *et al.*, 2004) และในปี 2005 Aksu *et al.* รายงานการเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการผลิตแฮมหมักแบบแห้งในยุโรปว่ามีการเพิ่มขึ้นของปริมาณ NPN เมื่อเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นซึ่งโดยปกติใช้เวลาบ่มนานกว่า 12 เดือน การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดจากเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนได้เปปไทด์ที่มีขนาดเล็กและกรดอะมิโนอิสระ ดังนั้นสารดังกล่าวจึงน่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับกลิ่นรสของแฮมหมักแบบแห้ง ในการบ่มแฮมร่องไก่ถ้าเพิ่มเวลาการบ่มน่าจะทำให้ปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (NPN) เพิ่มขึ้นมากกว่า 1.78%(db)

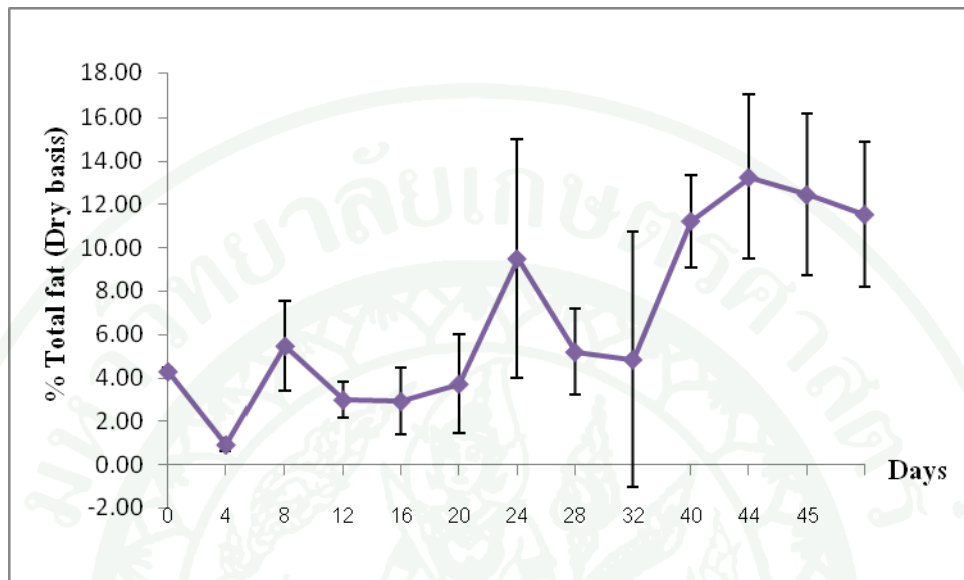


ภาพที่ 25 ปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C 0-45 วัน (แต่ละจุดเกิดจากค่าเฉลี่ย n = 4)

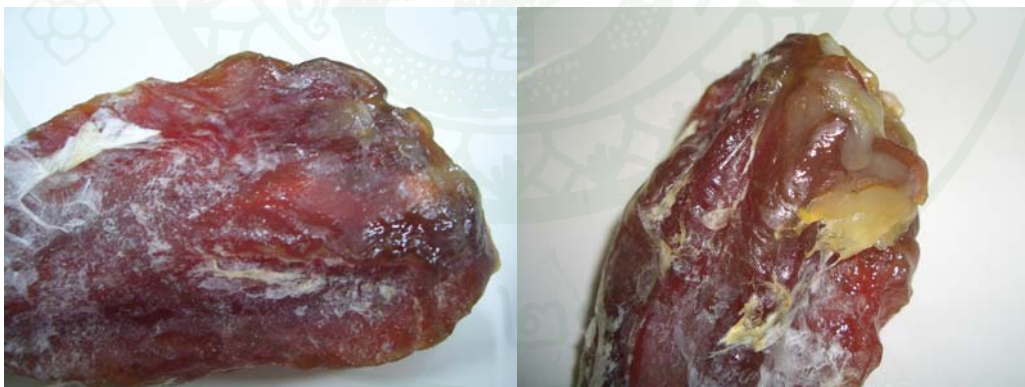
2.4. การเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมัน

ส่วนการเปลี่ยนแปลงของไขมันที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักแฮมแบบแห้งนั้นไขมันจะเกิดกระบวนการไลโปไลซิส ที่ส่วนใหญ่เกิดในส่วนของฟอสโฟลิพิด (Yang *et al.*, 2005) และนำไปสู่การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของแฮม โดยเฉพาะสี และกลิ่นรส (Coutron-Gambotti and Gandemer, 1999) จากภาพที่ 26 แสดงปริมาณไขมันทั้งหมดของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งที่หมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C พบว่าระยะเวลาในการบ่ม 32 วัน ปริมาณไขมันที่ทำการวิเคราะห์ได้มีค่าใกล้เคียงกัน แต่เมื่อบ่มได้ 40 - 45 วัน พบว่าปริมาณไขมันที่วิเคราะห์ได้นั้นมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเมื่อทำการบ่มเป็นเวลา 40 - 45 วันนั้น น่องไก่เกิดการสูญเสียน้ำออกจากน่องไก่ในปริมาณสูง ทำให้น่องไก่ที่ได้แห้งและแข็งมาก เมื่อนำมาวิเคราะห์ไขมันต้องลอกหนังออกและนำส่วนเนื้อมาวิเคราะห์ แต่ในวันที่ 40 - 45 ของการบ่มนั้น ขณะทำการลอกเอาหนังออก ไขมันที่ปกติดติดกับหนังและสามารถลอกออกได้หมดไม่สามารถดึงออกให้หมดได้ เพราะส่วนของไขมันส่วนนี้ได้ผสมรวมตัวกับเนื้อไก่บางส่วน ทำให้ไม่สามารถลอกออกหมดได้ ดังภาพที่ 27 ส่งผลให้ปริมาณไขมันที่วิเคราะห์ได้ในวันที่ 40 - 45 ของการบ่มมีปริมาณสูงดังภาพที่ 26 นั่นเองโดยเมื่อเริ่มต้นมีปริมาณ

ไขมันเป็น 4.29% (db) และเมื่อสิ้นสุดการบ่มที่ 45 วัน มีปริมาณไขมันเป็น 11.53% (db) โดยมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานต่ำสุดและสูงสุดเป็น 0.15 และ 5.87 ตามลำดับ



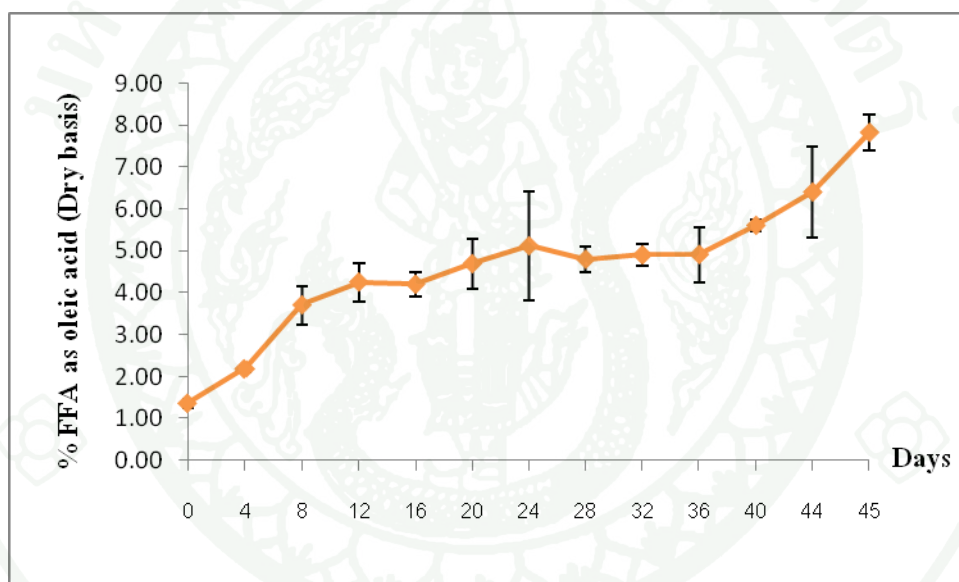
ภาพที่ 26 ปริมาณไขมันของแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C 0-45 วัน (แต่ละจุดเกิดจากค่าเฉลี่ย $n = 4$)



ภาพที่ 27 ไขมันที่ไม่สามารถลอกออกหมดเมื่อระยะเวลาการบ่มมากกว่า 32 วัน

2.5. การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันอิสระในรูป Oleic acid

ในขณะที่ปริมาณกรดไขมันอิสระในรูป Oleic acid เพิ่มขึ้นจาก 1.36% (db) เป็น 7.81% (db) (ภาพที่ 28) โดยมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานต่ำสุดและสูงสุดเป็น 0.07 และ 1.30 ตามลำดับ ในปี 2007 Zhou *et al.* ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจินหัวแฮมพบว่าปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นภายใต้กระบวนการออกซิเดชันทำให้เกิด hydroperoxides ขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้เกิดสารพิษภูมิ เช่น อัลดีไฮด์ คีโตน สารประกอบไฮโดรคาร์บอน แอลกอฮอล์ แลคโตน และ เอสเทอร์ ซึ่งจะก่อให้เกิดรสและกลิ่นขึ้นในผลิตภัณฑ์สุดท้าย ของแฮมหมักแบบแห้งในยุโรป (Gandemer, 2002)



ภาพที่ 28 ปริมาณกรดไขมันอิสระในรูป Oleic acid ของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C 0-45 วัน (แต่ละจุดเกิดจากค่าเฉลี่ย $n = 4$)

2.6. การเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

การเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของส่วนสกัดจากไก่สด แฮมน่องไก่หมักแบบแห้งที่ระยะเวลา 0 15 30 45 วัน และชวนห่วยแฮมจากประเทศจีน โดยตกตะกอนโปรตีนในตัวอย่างด้วย 7% TCA แยกส่วนใสจากการหมุนเหวี่ยงมาทดสอบ พบว่าในไก่สดแสดงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 97.62 กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัมตัวอย่าง

(คำนวณจากน้ำหนักแห้ง) และแฮมร่องไก่หมักแบบแห้ง พบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีแนวโน้มลดลงตามเวลาการบ่มโดยมีค่าเท่ากับ 72.32 71.46 71.88 และ 44.31 กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อระยะเวลาการบ่มเท่ากับ 0 15 30 45 วันตามลำดับ (ตารางที่ 4) สำหรับชวนเหว่ยแฮมจากประเทศจีนแสดงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าแฮมร่องไก่ โดยมีค่าเท่ากับ 92.27 กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัมน้ำหนักแห้ง แต่เมื่อคำนวณจากน้ำหนักเปียกของตัวอย่างจะพบว่าสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบ่ม ทั้งนี้คาดว่าในการคำนวณเป็นน้ำหนักเปียกนั้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นความชื้นในตัวอย่างจะลดลง เมื่อคำนวณเป็น 100 กรัมน้ำหนักเปียกการใช้ตัวอย่างเริ่มต้นน้ำหนักเท่ากันคือ 100 กรัม จะทำให้ได้ปริมาณของแข็งในตัวอย่างเพิ่มขึ้น จึงทำให้ค่าสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นด้วย ในปี 2005 Wu *et al.* ได้สกัดเนื้อไก่สดด้วย TCA ความเข้มข้น 7% และนำส่วนใสที่แยกได้ไปทดสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าส่วนใสของสารสกัดสามารถลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ ซึ่งส่วนใสที่แยกได้นี้ประกอบด้วยกรดอะมิโนอิสระ taurine และเปปไทด์ขนาดเล็ก ได้แก่ anserine และ carnosine

เพื่อเปรียบเทียบให้เห็นสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของแฮมร่องไก่จึงรายงานค่าสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลหมอนสุกสายพันธุ์กำแพงแสน-เอ็มบี-42-1 จากการศึกษาของ มนต์ดี และ ศศิธร (2552) มีค่าเท่ากับ 173.32 กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัมน้ำหนักแห้งซึ่งมีค่ามากเป็น 4 เท่าของ ค่าการต้านอนุมูลอิสระของแฮมร่องไก่ที่บ่มนาน 45 วัน

ตารางที่ 4 การเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของไถ่สด แสมนองไถ่หมักแบบแห้งที่ระยะเวลาการบ่มต่าง ๆ และ ชวนเหว่ยแสม

ตัวอย่าง	สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ¹	สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ²
	DPPH±SD	DPPH±SD
ไถ่สด	20.21 ± 0.003	97.62 ± 0.003
0 วัน	19.33 ± 0.001	72.32 ± 0.001
15 วัน	22.29 ± 0.006	71.46 ± 0.006
30 วัน	37.33 ± 0.000	71.88 ± 0.000
45 วัน	32.29 ± 0.002	44.31 ± 0.002
ชวนเหว่ยแสม	50.75 ± 0.003	92.27 ± 0.003

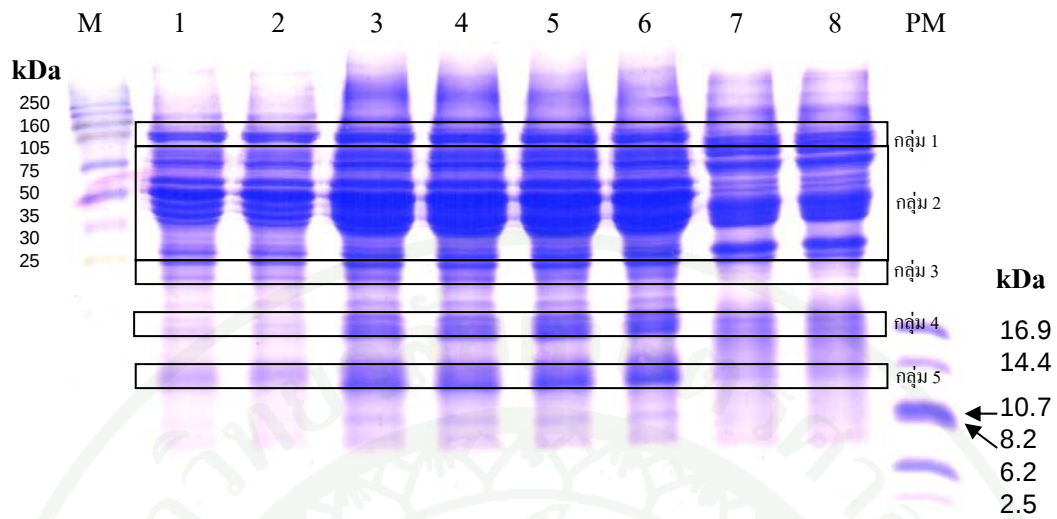
หมายเหตุ ¹ กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัมน้ำหนักเปียก

² กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัมน้ำหนักแห้ง

2.7. การเปลี่ยนแปลงหน่วยย่อยของโปรตีน

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในหน่วยย่อยของโปรตีนในแสมนองไถ่หมักแบบแห้งโดยการทำอิเล็กโตรโฟริซิสแบบ SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamine Gel) จากภาพที่ 29 พบว่าสารสกัดโปรตีนจากเนื้อไถ่สด (lane 1-2) แสมนองไถ่หมักแบบแห้ง 15 และ 45 วัน (lane 3-6) และชวนเหว่ยแสม (lane 7-8) ที่สกัดด้วยน้ำกลั่นประกอบด้วยโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลอยู่ในช่วง 7-250 kDa และแบ่งกลุ่มแถบเปปไทด์ได้ทั้งหมด 5 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 น้ำหนักโมเลกุลช่วง 70-105 kDa กลุ่มที่ 2 น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 25-70 kDa กลุ่มที่ 3 น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 23-25 kDa กลุ่มที่ 4 และ 5 น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 16.3-17.2 kDa และ 11.0-14.4 kDa ตามลำดับจากการวิเคราะห์สัดส่วนความเข้มของแถบเปปไทด์ (ตารางที่ 5) พบว่าเนื้อไถ่สดมีสัดส่วนความเข้มของแถบเปปไทด์ในกลุ่มที่ 2 สูงสุดเท่ากับ 77.93% และกลุ่มที่ 5 มีสัดส่วนต่ำที่สุด เท่ากับ

2.54% เมื่อนำเนื้อไก่สดทำเป็นแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งบ่มเป็นระยะเวลา 15 และ 45 วัน พบว่าความเข้มข้นของเปปไทด์กลุ่มที่ 2 และ 3 ลดลง แต่กลุ่มที่ 4 และ 5 เพิ่มขึ้นเมื่อบ่มเป็นเวลานานขึ้นหรือกล่าวว่าการเพิ่มระยะเวลาการบ่ม จะพบเปปไทด์ขนาดใหญ่ลดลง ส่วนเปปไทด์ขนาดเล็กเพิ่มขึ้น ส่วนเปปไทด์ในกลุ่มที่ 1 เมื่อระยะเวลาบ่มเท่ากับ 15 วัน จะมีสัดส่วนเป็น 13.06% ซึ่งเพิ่มขึ้นจากเนื้อไก่สดที่มีค่าความเข้มข้นของเปปไทด์เป็น 9.64% ทั้งนี้คาดว่าในระหว่างการบ่มนั้นเกิดการย่อยของโปรตีนที่มีขนาดใหญ่กว่า 250 kDa แล้วเกิดเป็นเปปไทด์ในส่วนที่ 1 แต่เมื่อระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นเป็น 45 วัน พบว่าความเข้มข้นของเปปไทด์ในกลุ่มนี้มีค่าลดลงเป็น 8.69% ทั้งนี้คาดว่าเปปไทด์ในส่วนนี้ถูกย่อยแล้วกลายเป็นเปปไทด์ขนาดเล็กนั่นเอง ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าในระหว่างการบ่มแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งมีเปปไทด์ขนาดเล็กโมเลกุลเล็กเกิดขึ้น และปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้น โดยผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองการเปลี่ยนแปลงปริมาณ NPN ในแฮมน่องไก่ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจกล่าวได้ว่า เปปไทด์ขนาดเล็กเกิดจากการย่อยโดยกิจกรรมของเอนไซม์และ จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์นั่นเอง Rodriguez-Nukz *et al.* (1995) พบว่าเปปไทด์ที่ละลายน้ำได้สกัดจาก Spanish Serrano dry cured ham บ่มเป็นระยะเวลา 15 เดือน วิเคราะห์ด้วย HPLC มีเปปไทด์ขนาดเล็กเกิดขึ้น 5 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1: 4.5-2.7 kDa กลุ่มที่ 2: 2.7-1.2 kDa กลุ่มที่ 3: 1.2-0.5 kDa กลุ่มที่ 4: 0.5-0.38 kDa และกลุ่มที่ 5: 0.38-0.16 kDa โดยเปปไทด์ที่มีขนาดต่ำกว่า 2.7 kDa เพิ่มขึ้นมากในช่วง 3-5 เดือนของการบ่ม ซึ่งสนับสนุนการเกิดโปรติโอไลซิสในระหว่างกระบวนการหมัก เช่นเดียวกับรายงานของ Sentandreu *et al.* (2003) พบว่ามีเปปไทด์ขนาดเล็กและได้เปปไทด์ขนาดต่ำกว่า 1.2 kDa เกิดขึ้นขณะทำการหมัก ซึ่งปริมาณของสารโมเลกุลเล็ก ๆ เหล่านี้เมื่อมีสูงจะทำให้เกิดรสชาติเฉพาะตัวของ Spanish dry cured ham



ภาพที่ 29 ลักษณะบน 18% SDS-PAGE ของสารสกัดโปรตีนจากไก่สด (lane 1-2) แสมน่องไก่หมักแบบแห้ง 15 วัน (lane 3-4) 45 วัน (lane 5-6) ชวนเหว่ยแสม (lane 7-8) standard marker proteins (lane M) และ peptide marker (lane PM)

ตารางที่ 5 ร้อยละของสัดส่วนความเข้มข้นของแถบเปปไทด์ในหน่วยย่อยของเนื้อไก่สด และแสมน่องไก่หมักแบบแห้งที่สกัดด้วยน้ำกลั่นที่ระยะเวลาการบ่มต่าง ๆ

ตัวอย่าง	กลุ่มที่ 1 ¹	กลุ่มที่ 2 ²	กลุ่มที่ 3 ³	กลุ่มที่ 4 ⁴	กลุ่มที่ 5 ⁵
เนื้อไก่สด	9.64±1.60	77.93±3.18	11.16±0.22	-	2.54 [*]
แสมหมัก15 วัน	13.06±0.11	70.19±0.56	9.09±3.04	3.39±3.32	4.27±0.30
แสมหมัก45 วัน	8.69±1.50	67.19±2.14	6.65±1.62	9.77±1.32	7.70±0.95

หมายเหตุ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{*} ไม่มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเนื่องจากมีตัวอย่างเดียวที่สามารถวัดค่าได้

¹ กลุ่มที่ 1 น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 70-105 kDa

² กลุ่มที่ 2 น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 25-70 kDa

⁴ กลุ่มที่ 3 น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 23-25 kDa

⁵ กลุ่มที่ 4 น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 16.3-17.2 kDa

⁶ กลุ่มที่ 5 น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 11.0-14.4 kDa

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. วิธีวิเคราะห์ปริมาณเกลือในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งที่เหมาะสมคือวิธี ISE
2. ปัจจัยที่หนึ่งส่งผลต่อการผลิตแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง ได้แก่ ปริมาณเกลือ ซึ่งปริมาณเกลือที่เหมาะสมในการผลิตแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง คือใช้เกลือ 10 g/kg นวดน่องไก่ การเปลี่ยนแปลงของความชื้นที่ลดลงตลอดระยะเวลาการบ่ม สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของค่าออกซิเจนแอคติวิตี (a_w) ส่วนความเป็นกรด-เบส (pH) ของแฮมนั้นมีการเปลี่ยนแปลงจากสภาพกรดอ่อนเมื่อเริ่มต้นบ่ม และปรับตัวเป็นกลางเมื่อสิ้นสุดกระบวนการบ่ม และกลิ่นของผลิตภัณฑ์แฮมน่องไก่หมักแบบแห้งนั้นมีกลิ่นอ่อนๆซึ่งเป็นกลิ่นที่มีความคล้ายคลึงกับกลิ่นหมักของซวนเหว่ยแฮม
3. ปัจจัยที่สองส่งผลต่อการผลิตแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง ได้แก่ อุณหภูมิ ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง คือ อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 45 วัน และ 50°C เป็นเวลา 12 วัน ซึ่งมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ a_w และ pH มีแนวโน้มเป็นไปตามข้อ 2 แต่ผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการบ่มที่อุณหภูมิ 50°C ได้แฮมที่มีเนื้อแห้ง แข็ง และมีสีคล้ำกลืนแตกต่างจาก กลิ่นหมักของซวนเหว่ยแฮม
4. ปัจจัยที่สามส่งผลต่อการผลิตแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง ได้แก่ วิธีการหมักคือ บ่มที่ 4°C จน a_w น้อยกว่า 0.8 แล้วนำเข้าบ่มที่ 50°C เป็นเวลา 1 วัน และการบ่มที่อุณหภูมิ 4°C ตลอดการผลิต การเปลี่ยนแปลงมีแนวโน้มเป็นไปตามข้อ 2 และผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีลักษณะแห้ง แข็งมาก และมีสีคล้ำ
5. ปัจจัยที่สี่ที่ส่งผลต่อการผลิตแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง ได้แก่ อัตราการสูญเสียจากน่องไก่ระหว่างการบ่ม พบว่าการหมักไก่ด้วยเกลือ 10 g/kg และทำการหุ้มน่องไก่ด้วยพลาสติกใสห่ออาหารเพื่อลดการระเหยของน้ำ และนำเข้าไปบ่มที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 12 วัน พบว่าเมื่อระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นน่องไก่ที่หุ้มด้วยพลาสติกมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณเกลือช้ากว่าการไม่หุ้มพลาสติก ส่วนการเปลี่ยนแปลงของ pH มีค่าเพิ่มสูงขึ้นจนเป็นกลาง ขณะที่ a_w ของชุดที่หุ้มพลาสติก

มีค่าค่อนข้างคงที่ แต่ในชุดที่ไม่มีการหุ้มพลาสติกลดลงอย่างต่อเนื่องทำให้เกิดการสูญเสียในปริมาณมาก ผลิตภัณฑ์สุดท้ายจึงมีลักษณะแห้งและแข็งมาก

6. สภาพที่เหมาะสมต่อการผลิตแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง ได้แก่การนวดน่องไก่ด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ โดยนวดทีละครึ่งสูตร ครึ่งสูตรแรกนวดแล้วพักไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมานวดด้วยเกลือที่เหลือ ก่อนนำไปแขวนในตู้เย็นอุณหภูมิ 4°C ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 63% แล้วบ่มเป็นระยะเวลา 45 วัน

7. การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการบ่มนั้นทำให้ปริมาณโปรตีนในน่องไก่ลดลง การเปลี่ยนแปลงของไขมันค่อนข้างคงที่เมื่อบ่มน้อยกว่า 32 วัน ส่วนการเปลี่ยนแปลงของสารต่างๆ ได้แก่ ในไตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน กรดไขมันอิสระ และเปปไทด์โมเลกุลขนาดเล็กนั้นมีการเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการบ่ม โดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นรสหมักที่เป็นลักษณะเฉพาะตัวของแฮมหมักแบบแห้งด้วย สำหรับสมบัติด้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากแฮมน่องไก่มีค่าลดลงเมื่อบ่มแฮมนานขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากในกระบวนการผลิตแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง เมื่อสิ้นสุดกระบวนการผลิตที่ 45 วัน ผลิตภัณฑ์มีความแห้งและแข็งมากจึงควรนำไปบริโภคในรูปแบบที่ใช้ทำน้ำซุสตุ๋ก เช่น เพื่อใช้ในการทำซุสพุดลาม เป็นต้น และที่สามารถนำไปบริโภคเป็นแฮมได้ควรบริโภคเมื่อทำการบ่มที่มากกว่าหรือเท่ากับ 30 วัน แต่กลิ่นรสของแฮมหมักเมื่อบ่มนาน 30 วัน นั้นยังไม่เข้มข้น ดังนั้นจึงควรมีการพัฒนาต่อไปให้ทำการบ่มนานขึ้นเพื่อให้กลิ่นรสพัฒนาเข้มข้นมากขึ้นแต่ไม่มีการสูญเสียจากน่องไก่ เพื่อผลิตภัณฑ์จะได้ไม่แห้งแข็ง

2. ในการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระในการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการวิเคราะห์เบื้องต้นเพียงหนึ่งวิธีเท่านั้น คือวิธี DPPH จึงน่าจะวัดสมบัตินี้ด้วยวิธีอื่นควบคู่กันไปเช่นวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay และวิธี oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay เป็นต้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กล้าณรงค์ ศรีรอด. 2521. **เกลือ คุณสมบัติและการใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 1. วิทยาศาสตร์การอาหาร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เกศศิณี ตระกูลทิวากร, เพลินใจ ดังคณะกุล, จันทรเพ็ญ แสงประกาย, จันทรสุดา จริยวัฒนวิจิตร, พยอม อรรถวิบูลย์กุล และ บุญมา นิยมวิทย์. 2546. **ศักยภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้านไทยที่มีต่อสุขภาพและการป้องกันหื่น**. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. แหล่งที่มา: <http://www.ku.ac.th/kaset60/Theme04/theme-04-30/index-04-30.html>. 24 พฤศจิกายน 2552.
- คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. 2546. **วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 4. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- ปัญญากรณ์ ทัดพิชญางกูร. 2546. **การพัฒนาการผลิตแฮมจากปลาสาวย (*Pangasius sutchi*) และการเก็บรักษา**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พงศธร ลือสุวรรณ, จิตศิริ ราชชนะพันธุ์ และ ศศิธร จันทนวางกูร. 2551. สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และการต้านจุลินทรีย์ของเปลือกผลไม้, น. 554-561 ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร)**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ไพบุลย์ ธรรมรัตน์วาลิก. 2532. **กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร**. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.
- มนต์วุฒิ หุ่นเจริญ และ ศศิธร ตรงจิตภักดี. 2552. ผลของระยะเวลาการเจริญเติบโตต่อแอนโทไซยานินส์และความสามารถต้านออกซิเดชันของผลหม่อนสายพันธุ์กำแพงแสน-เอ็มบี-42-1, น. 161-168 ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร)**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เขาวลัยชัย สุรพันธุ์พิสิษฐ์. 2536. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์
สหมิตรออฟเซต. กรุงเทพฯ ฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2532. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมแฮม.
มอก. 848-2532.

Adams, M.R. and M.O. Moss. 2004. **Food Microbiology**. 2nd ed. Athenaeum Press Ltd. Tyne
and Wear, United Kingdom.

Aixiang, H. and S. Sirisansaneeyakul. n.d. **Yunnan Fermented Meat: Xuanwei Ham, Huotui**.
n.p.

Aksu, M. I., M. Kaya and H. W. Ockerman. 2005. Effect of modified atmosphere packaging and
temperature on the shelf life of sliced Pastirma produced from frozen/thawed meat. **J.**
Muscle Foods. 16: 192-206.

Al-Dabbas, M. M., K. Al-Ismail, K. Kitahara, N. Chishaki, F. Hashinaga, T. Suganuma and K.
Tadera. 2007. The effects of different inorganic salts, buffer systems, and desalting of
Varthemia crude water extract on DPPH radical scavenging activity. **Food Chem**. 104:
734–739.

AOAC. 2000. **Official Method of Analysis, 17 ed.** Association of Official Analytical
Chemists, Washington D.C.

Barbieri, G., L. Bolzoni, G. Parolari, R. Virgili, R. Buttini, M. Careri and A. Mangias. 1992.
Flavor compounds of dry-cured ham. **J. Agric. Food Chem**. 40: 2389-2394.

Beljaars, P.R. and W. Horwitz. 1985. Comparison of the Volhard and potentiometric methods
for the determination of chloride in meat products: Collaborative study. **J. Assoc. Off.**
Anal. Chem. 68(3): 480-484.

- Benito, M. J., R. Mar, N. Felix, A. A. Miguel, E. B. Maria and J. C. Juan. 2002. Purification and characterization of an extracellular protease from *Penicillium chrysogenum* Pg222 active against meat proteins. **Appl. Environ. Microbiol.** 68(7): 3532–3536.
- Berdague, J. L., C. Denoyer, J. L. Quere and E. Semon. 1991. Volatile components of dry-cured ham. **J. Agric. Food Chem.** 39: 1257-1261.
- Cava, R., J. M. Ferrer, M. Estevez, D. Morcuende and F. Toldra. 2004. Composition and proteolytic and lipolytic enzyme activities in muscle *Longissimus dorsi* from Iberian pigs and industrial genotype pigs. **Food Chem.** 88: 25-33.
- _____, J. Ruiz, J. Ventanas and T. Antequera. 1999. Effect of α -tocopheryl acetate supplementation and the extensive feeding of pigs on the volatile aldehydes during the maturation of Iberian ham. **Food sci. tech. int.** 5(3): 235-241.
- Chungsiriwat, P. 2007. **Processing of Jinhua Ham.** Research and Development of Meat Products Division, Bureau of Livestock Development and Technology Transfer.
- Cordoba, J. J., T. A. Rojas, C. G. Gonzalez, J. V. Barroso, C. L. Bote and M. A. Asensio. 1994. Evolution of free amino acids and amines during ripening of Iberian cured ham. **J. Agric. Food Chem.** 42: 2296-2301.
- Coutron-Gambotti, C. and G. Gandemer. 1999. Lipolysis and oxidation in subcutaneous adipose tissue during dry-cured ham processing. **Food Chem.** 64: 95-101.
- Di Luccia, A., G. Picariello, G. Cacace, A. Scaloni, M. Faccia, V. Liuzzi, G. Alviti and S. S. M. Spagna. 2005. Proteomic analysis of water soluble and myofibrillar protein changes occurring in dry-cured hams. **Meat Sci.** 69: 479-491.

- Ferreira, I. C. F. R., M. R. P. Queiroz, M. Vilas-Boas, L. M. Estevinho, A. Begouin and G. Kirsch. 2006. Evaluation of the antioxidant properties of diarylamines in the benzo[*b*]thiophene series by free radical scavenging activity and reducing power. **Bioorg. Med. Chem. Lett.** 16: 1384-1387.
- Gandemer, G. 2002. Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. **Meat Sci.** 62: 309-321.
- Garcia-Garrido, J.A., R. Q. Zafra, J. Tapiador and M.D. L. Castro. 2000. Activity of cathepsin B, D, H and L in Spanish dry-cured ham of normal and defective texture. **Meat Sci.** 56: 1-6.
- Garcia-Rey, R. M., J. A. Garcia-Garrido, R. Quiles-Zafra, J. Tapiador and M.D. L. Castro. 2004. Characterization of defective textures in dry-cured ham by compositional and HPLC analysis of soluble substances of low-molecular weight. **Food Chem.** 85: 617-622.
- HansenMoller, J., L. Hinrichsen and T. Jacobsen. 1997. Evaluation of peptides generated in Italian-style dry-cured ham during processing. **J. Agric. Food Chem.** 45: 3123-3128.
- Haouet, M. N., M. S. Altissimi, M. Framboas and R. Galarini. 2006. Validation of the Volhard method for chloride determination in food. **Accred. Qual. Assur.** 11: 23-28.
- Harmon, D. 1956. **Free radicals and your health.** Available Source: <http://www.healingdaily.com/conditions/free-radicals.htm>, May 21, 2008.
- Honikel, K. O. 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat Sci.** 78: 68-76.

- Je, J. Y., Zhong J. Q., Hee G. B. and Se K. K. 2007. Purification and characterization of an antioxidant peptide obtained from tuna backbone protein by enzymatic hydrolysis. **Process Biochem.** 42: 840-846.
- Jimenez, A., A. Selga, J. L. Torres and L. Julia. 2004. Reducing activity of polyphenols with stable radicals of the TTM series. Electron transfer versus H-abstraction reactions in flavan-3-ols. **Org. Lett.** 6: 4583-4586.
- Johnson, M. E. and N. F. Olson. 1985. A comparison of available methods for determining salt levels in cheese. **J. Dairy Sci.** 68: 1020-1024.
- Jurado, A., C. Garcia, M. L. Timon and A. I. Carrapiso. 2007. Effect of ripening time and rearing system on amino acid-related flavour compounds of Iberian ham. **Meat Sci.** 75: 585-594.
- Karl-Otto Honikel. 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat Sci.** 78: 68-76.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature.** 227: 680-685.
- Larrea, V., I. Hernando, A. Quiles, M. A. Lluch and I. Perez-Munuera. 2006. Changes in proteins during Teruel dry-cured ham processing. **Meat Sci.** 74: 586-593.
- Li, B., F. Chen, X. Wang, B. Ji and Y. Wu. 2007. Isolation and identification of antioxidative peptides from porcine collagen hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. **Food Chem.** 102: 1135-1143.

- Lorenzo, J. M., C. G. F. Maria, F. Inmaculada and J. Carballo. 2008. Proteolytic and lipolytic modifications during the manufacture of dry-cured lacon, a Spanish traditional meat product: effect of some additives. **Food Chem.** 110: 137–149.
- Maikhunthod, B. 2003. **Extraction and Antioxidant Activity of Carnosine from Native, Hybrid Native and Broiler Chicken Meats.** M.S. Thesis, Suranaree University of Technology.
- Martin, A., J. J. Cordoba, F. Nunez, M. J. Benito and M. A. Asensio. 2004. Contribution of selected fungal population to proteolysis on dry-cured ham. **Int. J. Food Microbiol.** 94: 55-66.
- Morzel, M., M. Hamelin, V. Sante-Lhoutellier, T. Sayd, G. Monin and C. Chambon. 2004. Proteome changes during pork meat ageing following use of two different pre-slaughter handling procedures. **Meat Sci.** 67: 689-696.
- Pearson, A.M. and T.A. Gillett. 1996. **Processed Meats.** 3rd ed. An Aspen publication, United states of America.
- Prior, R. L., X. Wu and K. Schaich. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplement. **J. Agric. Food Chem.** 53: 4290-4302.
- Rodriguez-Nukz, E., M. Aristoy and F. Toldra. 1995. Peptide generation in the processing of ham dry-cured. **Food Chem.** 53: 187-190.
- Russell, N. J. and G. W. Gould. 2003. **Food Preservatives.** 2nd ed. Kluwer Academic/Plenum Publishers, United States of America.

- Sanchez-Molinero, F. and J. Arnau. 2008. Effect of the inoculation of a starter culture and vacuum packaging (during resting stage) on the appearance and some microbiological and physicochemical parameters of dry-cured ham. **Meat Sci.** 79: 29–38.
- Sanchez-Moreno, C. 2002. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological system. **Food Sci. Technol. Int.** 8: 121-137.
- Sanchez-Pena, C. M. and G. Luna. 2005. Characterization of French and Spanish dry-cured hams: influence of the volatiles from the muscles and the subcutaneous fat quantified by SPME-GC. **Meat Sci.** 69: 635–645.
- Sentandreu, M. A., M. A. Armenteros, J. J. Calvete, A. Ouall, M. Aristoy and F. Toldra. 2007. Proteomic identification of actin-derived oligopeptides in dry-cured ham. **J. Agric. Food Chem.** 55: 3613-3619.
- _____, S. Stoeva, M. C. Aristoy, K. laib, W. Voelter and F. Toldra. 2003. Identification of small peptides generated in spanish dry-cured ham. **J. Food Sci.** 68: 64-69.
- Singh, R.P., M. Chaidamdara and G.K. Jayaprakasha. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. **J. Agric. Food Chem.** 50: 81-86.
- Theron, L., L. Chevarin, N. Robert, C. Dutertre and V. S. Lhoutellier. 2009. Time course of peptide fingerprints in semimembranosus and biceps femoris muscles during Bayonne ham processing. **Meat Sci.** 82: 272–277.
- Toldra, F., M. C. Aristoy and M. Flores. 2000. Contribution of muscle aminopeptidases to flavor development in dry-cured ham. **Food Res. Int.** 33: 181-185.

Vestergaard, C. S., C. Schivazappa and R. Virgili. 2000. Lipolysis in dry-cured ham maturation. **Meat Sci.** 55: 1-5

Wakamatsu, J., T. Nishimura and A. Hattori. 2004. A Zn-porphyrin complex contributes to bright red color in Parma ham. **Meat Sci.** 67: 95-100.

Wang X., P. Ma, D. Jiang, Q. Peng and H. Yang. 2005. The natural microflora of Xuanwei ham and the no-mouldy ham production. **J. Food Eng.** 77(1): 103-111.

Woods, A.E. and L.W. Aurand. 1977. **Laboratory manual in food chemistry.** AVI Publ. Comp., Inc., Westport, Connecticut.

Wu, H.C., B. S. Pan, C.L. Chang and C.Y. Shiau. 2005. Low-molecular-weight peptides as related to antioxidant properties of chicken essence. **J. Food Drug Anal.** 13(2): 176-183.

Yang, H. J., C. Ma, F. Qiao, Y. Song and M. Du. 2005. Lipolysis in intramuscular lipids during processing of traditional Xuanwei ham. **Meat Sci.** 71(4): 670-675.

Zhao, G.M., G.H. Zhou, Y.L. Wang, X.L. Xu, Y.J. Huan and J.Q. Wu. 2005. Time-related changes in cathepsin B and L activities during processing of Jinhua ham as a function of pH, salt and temperature. **Meat Sci.** 70: 381-388.

_____, W. Tian, Y. X. Liu, G. H. Zhou, X. L. Xu and M. Y. Li. 2008. Proteolysis in biceps femoris during Jinhua ham processing. **Meat Sci.** 79: 39-45.

Zhou, G.H. and G.M. Zhao. 2007. Biochemical changes during processing of traditional Jinhua ham. **Meat Sci.** 77: 114-120.





วิธีวิเคราะห์ปริมาณเกลือ

ก1. วิธีวิเคราะห์ปริมาณเกลือเพื่อหลีกเลี่ยงการก่อให้เกิดสารพิษที่เกิดจากวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน

1.1. วิเคราะห์ปริมาณเกลือในสารละลายที่ทราบปริมาณเกลือโดยวิธี Volhard

1.1.1. เตรียมสารละลายเกลือโดยการนำเกลือบริสุทธิ์ร้อยละ 99.9 น้ำหนัก 1, 3, 5 และ 7 กรัม ละลายในน้ำ กลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณเกลือโดยวิธี Volhard ดังนี้ ไปเปิดสารละลายดังกล่าวปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ตามด้วยกรดไนตริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร และ ชิลเวอร์ไนเทรต 0.1 นอร์มัล ปริมาณมากเกินไป จากนั้นปิดบีกเกอร์ด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ตมจนมืด และคนให้เข้ากัน 10 นาที ทำให้เย็นในที่มืด แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และเติมอินดิเคเตอร์ 5 มิลลิลิตร และทำการไทเทรตด้วยโพแทสเซียมไทโอไซยาเนต 0.1 นอร์มัล

1.1.2. เตรียมสารละลายเกลือที่มีความเข้มข้นน้อยมาก คือร้อยละ 0.01, 0.03, 0.05 และ 0.07 โดยการนำ สารละลายเกลือที่ทราบความเข้มข้นในข้อ 1.1.1 มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น และนำไปวิเคราะห์ปริมาณเกลือดังที่ได้ กล่าวมาแล้วข้างต้น (ข้อ 1.1.1)

คำนวณร้อยละของเกลือจากสูตร

$$\text{ร้อยละของเกลือ} = \frac{(M_1 V_1 - M_2 V_2) \times 58.48 \times 100}{1,000 \times W} \quad (1)$$

M_1 = ความเข้มข้นเป็นนอร์มัลของซิลเวอร์ไนเทรต

M_2 = ความเข้มข้นเป็นนอร์มัลของโพแทสเซียมไทโอไซยาเนต

V_1 = มิลลิลิตรของซิลเวอร์ไนเทรต

V_2 = มิลลิลิตรของโพแทสเซียมไทโอไซยาเนต

W = น้ำหนักตัวอย่าง กรัม/มิลลิลิตร

จากการ standardize สารละลายซิลเวอร์ไนเทรต 0.1 นอร์มัล ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ด้วยโซเดียมคลอไรด์ มาตรฐาน พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.1008 นอร์มัล

1.2. วิเคราะห์ปริมาณเกลือในเนื้อไก่บดที่ทราบปริมาณเกลือโดยวิธี Volhard

1.2.1. เตรียมเนื้อไก่บดหมักเกลือโดยการนำไก่สับละเอียด 100 กรัม คลุกเคล้ากับเกลือปริศุทธิ์ร้อยละ 99.9 น้ำหนัก 1, 3, 5 และ 7 กรัม จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณเกลือโดยวิธี Volhard ดังนี้ ชั่งตัวอย่างไก่หมัก 1.5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร วิเคราะห์ตามวิธีในข้อ 1.1

1.3. วิเคราะห์ปริมาณเกลือในสารละลายที่ทราบปริมาณเกลือโดยวิธี Ion selective electrode (ISE)

1.3.1. เตรียมสารละลายเกลือโดยการนำเกลือปริศุทธิ์ร้อยละ 99.9 น้ำหนัก 1, 3, 5 และ 7 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่น 100 เท่า เพื่อให้สารละลายมีคลอไรด์ไอออนอยู่ในช่วงการ calibrate คือ 1-1,000 ppm คนให้เข้ากัน ก่อนนำไปวัดเดิม ISA โดยใช้ อัตราส่วน 1 มิลลิลิตร ISA ต่อสารละลายตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นจึงนำไปวัดด้วยเครื่อง ISE โดยทำการ calibrate เครื่อง ISE ด้วยสารละลาย Chloride ความเข้มข้น 1, 10, 100 และ 1,000 ppm ก่อน จากนั้นจึง นำตัวอย่างที่เตรียมไว้ข้างต้นมาวัดปริมาณคลอไรด์ไอออนโดยใช้ Chloride electrode ร่วมกับ Double junction reference electrode คนตัวอย่างให้เข้ากันตลอดการวัด

1.3.2. เตรียมสารละลายเกลือที่มีความเข้มข้นของคลอไรด์ไอออนต่ำกว่าช่วง calibration ของเครื่องมือ โดยการนำสารละลายเกลือที่ทราบความเข้มข้น คือ 0.99, 2.91, 4.76 และ 6.54 มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 10^6 เท่า และนำไปวิเคราะห์ปริมาณเกลือดังข้อ 3.1 และนำค่าคลอไรด์ไอออนที่ได้จากการวิเคราะห์ไปคำนวณร้อยละของเกลือจากสูตร

$$\text{ร้อยละของเกลือ} = \frac{58.5 \times X \times D \times 100}{35.5 \times 10^6} \quad (2)$$

X = ปริมาณคลอไรด์ไอออน (ppm)

D = ค่าการเจือจางในการเตรียมตัวอย่าง (เช่น ทำการเจือจาง 100 เท่า เป็น 10^2 เป็นต้น)

1.4. วิเคราะห์ปริมาณเกลือในเนื้อไก่บดที่ทราบปริมาณเกลือโดยวิธี ISE

เตรียมเนื้อไก่บดหมักเกลือโดยการนำไก่สับละเอียด 100 กรัม คลุกเคล้ากับเกลือบริสุทธิ์ร้อยละ 99.9 น้ำหนัก 1, 3, 5 และ 7 กรัม ซึ่งตัวอย่างไก่หมัก 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่น 10 เท่า คนให้เข้ากัน นำไปต้มจนเดือด ทิ้งให้เย็น 1 ชั่วโมง ทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่น 100 เท่า คนให้เข้ากัน ก่อนนำไปวัดเติม ISA อัตราส่วน 1 มิลลิลิตร ISA ต่อสารละลายตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันจากนั้นจึงนำไปวัดด้วยเครื่อง ISE ดังเช่นวิธีการในข้อ 1.3.1 และนำค่าคลอไรด์ไอออนที่วิเคราะห์ได้ไปคำนวณร้อยละของเกลือดังสมการ (2) และคำนวณร้อยละของ ความคลาดเคลื่อนดังสมการ (3)

$$\text{ร้อยละของความคลาดเคลื่อน} = \frac{(\bar{x} - \text{ร้อยละของเกลือในสารละลาย หรือในเนื้อไก่บดหมัก}) \times 100}{\text{ร้อยละของเกลือในสารละลาย หรือในเนื้อไก่บด}} \quad (3)$$

$\bar{x}$ = ค่าเฉลี่ยของร้อยละของเกลือที่ได้จากการวิเคราะห์

ก2. วิเคราะห์ปริมาณเกลือในแฮมร่อนไก่หมักแบบแห้งโดยวิธี Ion Selective Electrode (ISE)

นำตัวอย่างมาลอกหนังออกและทำการเตรียมตัวอย่างเป็น 2 ชุด คือ นำเนื้อจากส่วนนอกสุดติดหนัง (Out) และเนื้อส่วนในสุดติดกระดูก (In) มาสับละเอียด จากนั้นชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ใส่ใน บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 45 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน นำไปต้มจนเดือด ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่น 100 เท่า ก่อนนำไปวัดเติม ISA อัตราส่วน 1 มิลลิลิตร ISA ต่อสารละลายตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันจากนั้นจึงนำไปวัดด้วยเครื่อง ISE



ภาคผนวก ข
วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

ข1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

1.1. เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1.1.1. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 1.1.2. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- 1.1.3. ถ้วยอะลูมิเนียม (moisture can)
- 1.1.4. เดซิกเคเตอร์ (desiccator)

1.2. วิธีการวิเคราะห์

อบถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝา ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นใน เดซิกเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 1.0-1.5 กรัม ลงในถ้วย อะลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักแล้ว ทำแห้งในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 100°C จนน้ำหนักคงที่

1.3. วิธีคำนวณ

สามารถคำนวณหาปริมาณร้อยละของความชื้นในตัวอย่างได้จากสมการด้านล่าง

$$\text{ร้อยละของความชื้น} = \frac{100 \times w}{W}$$

เมื่อ w แทน น้ำหนักของตัวอย่างที่หายไปหลังทำแห้ง (กรัม)

W แทน น้ำหนักของตัวอย่างก่อนทำแห้ง (กรัม)

ข2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Kjeldahl method) (AOAC, 2000)

2.1. เครื่องมือและอุปกรณ์

- 2.1.1. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 2.1.2. หลอด Kjeldahl
- 2.1.3. ชุดย่อย (Digestion unit model K-435, BÜCHI)
- 2.1.4. ชุดดักจับไอกรด (Scrubber model B-414, BÜCHI)
- 2.1.5. ชุดกลั่นอัตโนมัติ (Distillation Unit model B-324, BÜCHI)
- 2.1.6. ขวดรูปชมพู่ (flask)

2.2. สารเคมี

- 2.2.1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
- 2.2.2. สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล
- 2.2.3. สารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2
- 2.2.4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 35
- 2.2.5. คอปเปอร์ซัลเฟต
- 2.2.6. โพแทสเซียมซัลเฟต
- 2.2.7. สารละลายอินดิเคเตอร์ผสมระหว่างเมทิลเรดและโบรโมครีซอลกรีน

2.3. วิธีการวิเคราะห์

- 2.3.1. ชั่งตัวอย่าง 0.5- 1.0 กรัม ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน ใส่ลงในหลอดย่อยระวังอย่าให้ติดข้างหลอด
- 2.3.2. ใส่ตัวเร่งปฏิกิริยาซึ่งประกอบด้วยโพแทสเซียมซัลเฟต 10 กรัม และคอปเปอร์ซัลเฟต 0.5 กรัม รวมทั้งลูกแก้วกันเดือด (glass bead) 2-3 เม็ด จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร
- 2.3.3. นำหลอดย่อยต่อเข้ากับชุดย่อย ย่อยจนได้สารละลายใส ทิ้งไว้ให้เย็น

2.3.4. นำหลอดย่อยต่อเข้ากับชุดกลั่นอัตโนมัติ เติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 จนกว่าสารละลายในหลอดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

2.3.5. กลั่นสารละลายประมาณ 3 นาที และรองรับสารละลายที่กลั่นได้ด้วยขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีสารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร และอินดิเคเตอร์อยู่

2.3.6. นำไปไทเทรตด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งได้สารละลายสีเทา (จุดยุติ) บันทึกปริมาตรสารละลายกรดที่ใช้เพื่อนำไปคำนวณหาร้อยละของไนโตรเจน และร้อยละของโปรตีน

2.3.7. ทำตัวอย่างควบคุมโดยไม่มีตัวอย่างในหลอดย่อย

2.3.8. หาค่าแฟกเตอร์ของกรดที่ใช้ในการไทเทรต โดยการชั่งทริสบัฟเฟอร์ 120 มิลลิกรัมให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร หยดอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด นำไปไทเทรตด้วยสารละลายกรดที่เตรียมไว้จนเปลี่ยนเป็นสีเทา จดปริมาตรกรดที่ใช้ในการไทเทรต

2.4. วิธีการคำนวณ

สามารถคำนวณหาร้อยละของไนโตรเจนและร้อยละของโปรตีนในตัวอย่างได้จากสมการด้านล่าง

$$\text{ร้อยละของไนโตรเจน} = \frac{(T - B) \times 14.007 \times 100 \times N}{W}$$

T = ปริมาตรของกรดที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรของกรดที่ใช้ในการไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

N = นอร์มัลของกรดที่ใช้

W = น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (มิลลิกรัม)

$$\text{ร้อยละของโปรตีน} = 6.25 \times \text{ร้อยละของไนโตรเจน}$$

ข3. วิเคราะห์ความเป็นกรด-เบส (pH) ของแสมน่องไก่หมักแบบแห้ง

นำตัวอย่างแสมน่องไก่หมักแบบแห้งที่ระยะเวลาการบ่มต่าง ๆ มาลอกหนังออกและทำการวิเคราะห์โดย ชั่งเนื้อไก่ 5 กรัม ปั่นผสมกับน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นวัดค่าความเป็นกรดเบสและบันทึกผลการทดลอง

ข4. วิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (Water activity, a_w)

นำตัวอย่างแสมน่องไก่หมักแบบแห้งที่ระยะเวลาการบ่มต่าง ๆ มาลอกหนังออกตัดตัวอย่างขนาดกว้าง × ยาว × สูง เป็น $2 \times 2 \times 1.5$ เซนติเมตร จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอคทิวิตีด้วยเครื่อง water activity meter (Testo, 650)



ภาคผนวก ค

วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH

วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH) assay (ดัดแปลงจาก Singh *et al.*, 2002)

1. อุปกรณ์และเครื่องมือ

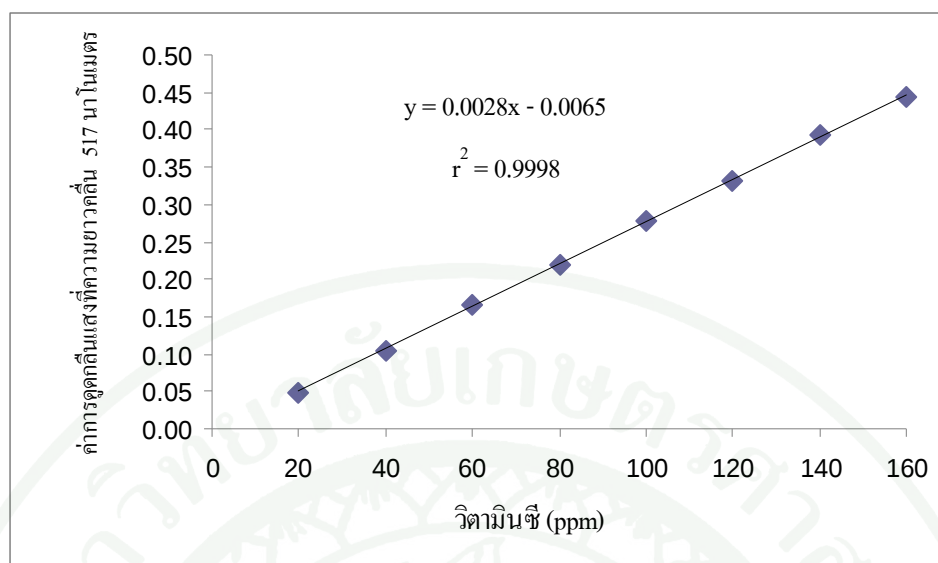
- 1.1. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 1.2. เครื่องทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenizer)
- 1.3. เครื่องสั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียง (sonicator)
- 1.4. เครื่องหมุนเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (refrigerate centrifuge)
- 1.5. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง
- 1.6. ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร
- 1.7. ปิเปตขนาด 5 มิลลิลิตร

2. สารเคมี

- 2.1. เมทานอล
- 2.2. สารละลาย DPPH เข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์

3. วิธีการวิเคราะห์

- 3.1. นำสารสกัด 100 ไมโครลิตรใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าอย่างรุนแรง ทิ้งไว้ 20 นาที
- 3.2. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร
- 3.3. วัดค่าการดูดกลืนแสงควบคุม (control OD) โดยทำตามข้อ 1-2 แต่ใช้สารละลาย เมทานอล แทนสารสกัด
- 3.4. สร้างกราฟมาตรฐานวิตามินซีระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (แกน Y) และความเข้มข้นของวิตามินซี หน่วยเป็น ppm (แกน X) โดยความเข้มข้นของวิตามินซีอยู่ในช่วง 20-160 ppm ได้กราฟมาตรฐานดังภาพผนวกที่ ก1



ภาพผนวกที่ ค1 กราฟมาตรฐานของวิตามินซีสำหรับการตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH



วิธีการทำอิเล็กโทรโฟริซิสแบบ SDS-PAGE

ดัดแปลงจากวิธีของ Laemmli (1970)

การเตรียม Separating Gel

1. ประกอบ mini-gel apparatus (Bio-Rad, Mini Protein II) ตามวิธีประกอบ แผ่นแก้วต้องสะอาดและแห้ง สวมถุงมือในการประกอบเครื่อง
 2. ผสมสารละลายของเจลตามตารางผนวกที่ ก1 โดยผสมสารละลายต่าง ๆ ตามตารางใน sidearm flask ยกเว้น APS และ TEMED ซึ่งจะใส่หลังการ degas แล้ว 15 นาที โดยค่อยๆผสม APS และ TEMED ลงในสารละลายที่ผ่านการ degas เพื่อช่วยให้เกิด polymerization
 3. ใช้ Pasteur pipette คูดเจลใส่ลงช่องระหว่างแผ่นแก้ว (ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ) จนระดับประมาณ 1.5 ถึง 2 เซนติเมตร จากขอบบนของแผ่นแก้วที่มีระดับต่ำกว่า ทำโดยรวดเร็วก่อนที่เจลจะแข็งตัว
 4. ใช้ Pasteur pipette อันใหม่คูดสารละลาย water-saturated isobutyl alcohol ปิดทับ gel (หนาประมาณ 3 มิลลิเมตร)
 5. ตั้งทิ้งไว้ 45-60 นาที ให้เจลเกิดการ polymerize ได้ isobutyl alcohol ซึ่งจะเห็นรอยต่อระหว่างเจลและสารละลายที่คลุมผิวเจลอย่างชัดเจน
 6. เมื่อเจล polymerize ให้คูด water-saturated isobutyl alcohol ออกทันทีด้วย Pasteur pipette ล้างส่วนบนของเจลด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งและซับให้แห้งด้วยกระดาษกรอง
- * ถ้าเก็บไว้ทำวันต่อไปให้ปิดทับด้วย 1: 4 solution B จำนวน 5 มิลลิลิตร เพื่อกันไม่ให้แห้ง

ตารางผนวกที่ ๑๑ สูตรสำหรับการเตรียม SDS-PAGE Separating and Stacking Gel

ส่วนประกอบ	Separating Gel	Stacking Gel
	(0.375 M Tris, pH 8.8)	(0.125 M Tris, pH 6.8)
	18% gel	4% gel
1. Distilled Water	1.3 ml	6.8 ml
2. 1.5M Tris-HCl, pH 8.8	2.5 ml	-
3. 0.5M Tris-HCl, pH 6.8	-	1.25 ml
4. 10% (w/v) SDS	0.1 ml	0.1 ml
5. Acrylamide/bis (30%a, 2.67% (Stock))	6 ml	1.7 ml
6. 10% ammonium persulfate (fresh daily)	0.1 ml	0.1 ml
7. TEMED	0.004 ml	0.001 ml
TOTAL MONOMER	10 ml	10 ml

การเตรียม Stacking Gel

1. เตรียม 10 มิลลิลิตรของ Stacking gel ตามตารางการเตรียมในข้อ 2 โดยผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกัน แล้วจึงค่อย ๆ เติม APS และ TEMED ลงไป
2. ชั้บตอนบน Separating gel ให้แห้งด้วยกระดาษกรองอย่าให้มีฟองอากาศค้างอยู่บน gel
3. คูด Stacking gel ด้วย Pasteur pipette ที่สะอาด ค่อย ๆ ใส่ลงตรงกลางลงมาตามด้านข้างของ spacer จนได้ความสูงของเจลในแผ่นแก้วประมาณ 3 เซนติเมตร
4. ค่อย ๆ สอด Teflon Comb ลงในชั้น Stacking gel ที่ละช่องเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดฟองอากาศ ไว้โดยเติม Stacking gel ให้เต็ม
5. ปลอ่ยให้เจล polymerize 30-40 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

Loading ตัวอย่าง

การ load ตัวอย่างมี 2 วิธี คือ ใส่ในหลุมเจลที่เตรียมโดยใช้ well-forming comb หรือ load ตัวอย่างเคียวบน gel surface ในกรณีตัวอย่างเหลว

1. Loading Sample Well

เตรียมตัวอย่างจำนวน 1 มิลลิลิตร โดยละลายตัวอย่างโปรตีนใน sample buffer ที่มี 10% glycerol อย่างน้อย 1 เท่าของตัวอย่างโปรตีนใน microcentrifuge tube ปิดฝา นำไปต้ม 1 นาที ที่ 100°C (ตามคู่มือของ BIORAD ให้เจือจางตัวอย่างอย่างน้อย 1:4 เท่าด้วย sample buffer และต้มที่ 95°C นาน 4 นาที) ถ้าตัวอย่างแห้งละลายด้วย sample buffer จำนวน 50-100 μl ทำให้เย็นถึงอุณหภูมิห้องแล้วหมุนเหวี่ยงให้ตัวอย่างใส นำตัวอย่างใส่ลงในหลุมกลางเจล

1.1 เตรียม electrode buffer 300 มิลลิลิตร โดยผสม 5x electrode buffer 60 มิลลิลิตรกับน้ำ 240 มิลลิลิตร

1.2 เลื่อนระดับ inner cooling core ลงใน buffer chamber อันล่างเติม buffer ประมาณ 115 มิลลิลิตร ใน upper buffer chamber ซึ่งอยู่ด้านบน แล้วเติมเพิ่มจนระดับครึ่งหนึ่งระหว่าง short และ long plate อย่าให้สั้น chamber อันบน

1.3 เติม buffer ที่เหลือใส่ chamber ล่างจนท่วม gel ตอนล่าง 1 เซนติเมตร ถ้ามีฟองอากาศใช้ปิเปตต์กวนไล่ฟองอากาศ

1.4 ใส่ตัวอย่าง 8 μ l ลงใน well ข้างใต้ electrode buffer ด้วย Hamilton syringe หรือปิเปตต์ การใส่ตัวอย่างให้ปล่อยตัวอย่างลงที่ระยะ 1-2 มิลลิเมตร จาก well bottom โดยให้ปลาย Syringeหรือปลายปิเปตต์จรดที่บริเวณมุมของหลุม

2. Loading a Single Sample per gel

เป็นการแยกตัวอย่างบน flat gel surface ในการวิเคราะห์ เตรียม stacking gel ให้ถึงระดับ 1 มิลลิเมตร จาก short plate โดยไม่ใช้ comb ปิดทับด้วย overlay solution เมื่อเจลแข็งแล้วรินออกและประกอบส่วน core บรรจุ electrode buffer ลงใน chamber บนและล่าง แล้วค่อย ๆ ใส่ตัวอย่างให้สม่ำเสมอเริ่มจาก gel ด้านหนึ่งจนตลอดตามยาวโดยใส่ลงให้ใกล้ผิวเจลมากที่สุด (1-2 มิลลิเมตร)

Running the gel

เมื่อ apply โพรตีน ตัวอย่างจะอยู่ระหว่าง electrode และเมื่อ apply potential ก็จะครบวงจรโพรตีนจะเคลื่อนที่ไปเป็นแถบ (band) สีน้ำเงิน ซึ่งจำนวนแถบคือจำนวนชนิดของโพรตีน

1. ปิดฝาของ chamber อันล่าง
2. ต่อ electrical lead กับ power supply (200V minimum) ปรับกระแสไฟ 60 mA ต่อ gel (120 mA ต่อ 2 gel) หลังจาก run 45 นาที กระแสจะลดไปที่ 30mA ต่อเจลซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของไอออนใน buffer ทำให้เกิดความต้านทานเพิ่มขึ้น

Removing the gel

1. ปิด power supply และเอาสายที่ต่อออก
2. เปิดฝาเซลล์นำ cooling core ขึ้นในขึ้นมาจาก chamber ล่าง เท buffer ใน chamber อันบนทิ้งไป
3. ดัน clamp ออกจาก cooling core
4. ถอด sandwich clamp assemblies ออก
5. นำแผ่น sandwich ออกและใช้ forcep ขูดน้ำกลั่นค่อยๆดันแผ่นแก้วออกในระหว่างที่ดันแผ่นแก้วออกให้ใช้น้ำกลั่น rinse ตามตลอด

การทำ Staining

การย้อมสีโดยวิธี Coomassie Brilliant Blue R-250

1. เตรียม Staining solution คือ 0.1% (w/v) Coomassie Brilliant Blue ใน 40% Methanol, 10% (v/v) Acetic acid เมื่อสีละลายแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง
2. ค่อยนำเจลบนแผ่นแก้วมาใส่ในถาดที่มี Staining solution ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที

การทำ Destaining

นำเจลมาแช่ในสารละลาย 40% Methanol, 10% Acetic acid เปลี่ยนสารละลายที่ใช้หลาย ๆ ครั้ง จะเห็นแถบโปรตีนอย่างชัดเจน

* การ Stain และ Destain ทำที่อุณหภูมิห้อง และควรเขย่าเบาๆ บน orbital shaker

วิธีการเตรียมสารเคมี

1. Acrylamide/bis (30% T, 2.67% C)

ชั่ง acrylamide 29.2 กรัม และ methylenebisacrylamide 0.8 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนเป็น 100 มิลลิลิตร กรองและเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในที่มืด (เก็บไว้ได้ไม่เกิน 30 วัน)

ความเข้มข้นของ acrylamide เป็นตัวกำหนดความยาวของสารพอลิเมอร์ ส่วนความเข้มข้นของ methylenebisacrylamide เป็นตัวกำหนดขนาดของการเชื่อมโยงเป็นตาข่ายร่างแห ส่วนประกอบของ polyacrylamide gel มีตัวแปรอยู่ 2 ชนิดคือ % T และ % C

% T คือ ความเข้มข้นของโมโนเมอร์ทั้งหมดที่ใช้ในการสร้างเจล มีหน่วยเป็น กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

$$\% T = \frac{\text{acrylamide (กรัม)} + \text{methylenebisacrylamide (กรัม)}}{\text{ปริมาตรทั้งหมด}} \times 100$$

% C คือ น้ำหนักเป็นกรัมของ methylenebisacrylamide ต่อน้ำหนักเป็นกรัมของ acrylamide กับน้ำหนักเป็นกรัมของ methylenebisacrylamide

$$\% C = \frac{\text{methylenebisacrylamide (กรัม)}}{\text{acrylamide (กรัม) + methylenebisacrylamide (กรัม)}} \times 100$$

2. 1.5 M Tris-HCl, pH 8.8

ชั่ง Tris base 27.23 กรัม ใส่น้ำปราศจากอ็อกโซนประมาณ 80 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 8.8 ด้วย สารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 N แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 150 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. 0.5 M Tris-HCl, pH 6.8

ชั่ง Tris base 6 กรัม ใส่น้ำปราศจากอ็อกโซนประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 6.8 ด้วย สารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 N แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4. 10% SDS

ละลาย SDS 10 กรัม ในน้ำปราศจากอ็อกโซนประมาณ 90 มิลลิลิตร คนเบา ๆ และปรับปริมาตร เป็น 100 มิลลิลิตร

5. Sample buffer

มีส่วนประกอบดังนี้ (หน่วยเป็น มิลลิลิตร)

น้ำปราศจากไอออน	3.8
0.5 M Tris-HCL, pH 6.8	1.0
Glycerol	0.8
10% SDS	1.6
2-mercaptoethanol	0.4
1% (w/v) bromophenol blue	0.4
ปริมาตรรวม	8.0

6. 5X electrode (Running) buffer, pH 8.3

ชั่ง Tris base 9 กรัม Glycine 43.2 กรัม และ SDS 3 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 600 มิลลิลิตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อนำมาใช้ทำการเจือจางสารละลาย 5X electrode (Running) buffer ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน 240 มิลลิลิตร

7. Staining solution

เติม Coomassie brilliant blue R-250 1 กรัม ใน fixing solution (มีส่วนผสมของ methanol 40% และ กรดอะซิติก 10%) ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร คนจนละลายหมด กรองเก็บในขวดแก้วที่อากาศเข้าไม่ได้

8. Destaining solution

เตรียมโดยเติม methanol 100 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 825 มิลลิลิตร แล้วจึงเติมกรดอะซิติก (Glacial)



การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

วันที่.....

ชื่อ..... นามสกุล.....

✓ = ชอบ

X = ไม่ชอบ

ชุดการทดลอง	การยอมรับ		
	รสชาติ	กลิ่นหมัก	เนื้อสัมผัส
1			
2			
3			
4			
5			
6			

หมายเหตุ * รสชาติ หมายถึงความเค็มของแฮม

* กลิ่นหมัก หมายถึง กลิ่นหมักของผลิตภัณฑ์เมื่อเปรียบเทียบกับชวนเหว่ยแฮมของ
ประเทศจีน



ผลการทดลอง

ตารางผนวกที่ ๑1 ปริมาณเกลือในสารละลายวิเคราะห์โดยวิธี Volhard และวิธี ISE

ร้อยละของ เกลือในสารละลาย	Volhard		ISE	
	$\bar{x} \pm SD$	ความคลาด เคลื่อน*	$\bar{x} \pm SD$	ความคลาด เคลื่อน*
0.99	1.25 ± 0.03	0.26	0.86 ± 0.01	-0.13
2.91	3.26 ± 0.01	0.35	2.98 ± 0.01	0.07
4.76	5.08 ± 0.01	0.32	5.42 ± 0.02	0.66
6.54	7.20 ± 0.09	0.66	7.86 ± 0.02	1.32

หมายเหตุ * ความแตกต่างระหว่างค่าที่วัดได้กับร้อยละของเกลือในสารละลาย

$\bar{x}$ ค่าเฉลี่ยจากการวัด 3 ซ้ำ

ตารางผนวกที่ ๑2 ค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ปริมาณเกลือในสารละลายที่มีเกลือต่ำด้วยวิธี Volhard

ร้อยละของ เกลือในสารละลาย	ร้อยละของเกลือ ที่ได้จากการวิเคราะห์	ความคลาดเคลื่อน*
0.0099	0.34	0.33
0.0291	0.37	0.34
0.0476	0.39	0.34
0.0654	0.37	0.30

หมายเหตุ * ความแตกต่างระหว่างค่าที่วัดได้กับร้อยละของเกลือในสารละลาย

$\bar{x}$ ค่าเฉลี่ยจากการวัด 3 ซ้ำ

ตารางผนวกที่ ๓ ค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ปริมาณเกลือในสารละลายที่มีเกลือต่ำกว่าช่วงที่ทำการ calibrate เครื่องมือจากการวัดด้วยวิธี ISE

ร้อยละของ เกลือในสารละลาย	ร้อยละของเกลือ ที่ได้จากการวิเคราะห์	ความคลาดเคลื่อน*
0.99×10^{-6}	83.38	83.38
2.91×10^{-6}	286.07	286.07
4.76×10^{-6}	538.53	538.53
6.54×10^{-6}	746.00	746.00

หมายเหตุ * ความแตกต่างระหว่างค่าที่วัดได้กับร้อยละของเกลือในสารละลาย
 $\bar{x}$ ค่าเฉลี่ยจากการวัด 3 ซ้ำ

ตารางผนวกที่ ๔ ปริมาณเกลือในเนื้อไก่บดวิเคราะห์โดยวิธี Volhard และวิธี ISE

ร้อยละของ เกลือในสารละลาย	Volhard		ISE	
	$\bar{x} \pm SD$	ความคลาด เคลื่อน*	$\bar{x} \pm SD$	ความคลาด เคลื่อน*
0.99	1.55 ± 0.06	0.56	1.12 ± 0.01	0.13
2.91	4.52 ± 0.96	1.61	3.29 ± 0.29	0.38
4.76	4.13 ± 1.05	-0.63	5.56 ± 0.30	0.80
6.54	7.08 ± 0.03	0.54	7.33 ± 0.44	0.79
เนื้อไก่สด	0.33 ± 0.03	-	0.19 ± 0.01	-

หมายเหตุ * ความแตกต่างระหว่างค่าที่วัดได้กับร้อยละของเกลือในสารละลาย
 $\bar{x}$ ค่าเฉลี่ยจากการวัด 3 ซ้ำ

ตารางผนวกที่ ๕ ปริมาณเกลือในแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 0-45 วัน

ชุดการทดลอง	วันที่	7 g/kg		10 g/kg	
		%Salt (In)	%Salt (Out)	%Salt (In)	%Salt (Out)
เนื้อไก่สด 4°C	0	0.53	0.59	0.77	0.80
	4	2.53	3.00	3.27	3.62
	8	4.59	5.04	5.93	5.80
	12	2.91	3.14	5.96	6.40
	16	4.19	4.25	7.09	7.30
	20	3.90	4.42	7.52	7.71
	24	5.22	5.56	8.67	9.15
	28	7.85	8.66	9.23	10.07
	32	8.08	8.17	9.12	10.73
	36	8.56	8.61	10.13	11.67
	40	8.69	8.94	11.53	11.71
	44	9.21	10.25	13.03	13.27
	45	11.45	11.86	14.93	14.73
4°C, $a_w < 0.80$ บ่มต่อที่ 50°C	37	11.53	11.61	-	-
	45	-	-	13.11	13.17

ตารางผนวกที่ ๖ ปริมาณเกลือในแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่
ที่อุณหภูมิ 50°C โดยหุ้มพลาสติกใสห่ออาหารเป็นเวลา 0-12 วัน

ชุดการทดลอง	วันที่	ร้อยละของเกลือ(In)	ร้อยละของเกลือ(Out)
เนื้อไก่สด	0	0.77	0.80
50°C, หุ้มพลาสติกใส	4	3.49	3.62
	8	6.06	6.36
	12	6.15	6.48
50°C, ไม่หุ้มพลาสติกใส	4	5.78	5.75
	8	11.64	11.67
	12	15.98	15.91

หมายเหตุ * wrap = หุ้มด้วยพลาสติกใสห่ออาหาร

* no wrap = ไม่หุ้มด้วยพลาสติกใสห่ออาหาร

ตารางผนวกที่ ๗7 ค่า pH ในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 0-45 วัน

จุดการทดลอง	วันที่	pH (7 g/kg)	pH (10 g/kg)
เนื้อไก่สด	0	5.84	6.48
4°C	4	6.17	6.56
	8	6.26	7.17
	12	7.12	7.15
	16	7.09	7.26
	20	7.10	7.30
	24	6.54	7.22
	28	6.57	7.46
	32	7.00	7.25
	36	7.09	7.29
	40	7.18	7.50
	44	7.27	7.23
	45	7.27	7.29
4°C, $a_w < 0.80$ บ่ม	37	7.02	-
ต่อที่ 50°C	45	-	7.27

ตารางผนวกที่ ๓8 ค่า pH ในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 50°C โดยหุ้มและไม่หุ้มพลาสติกใสห่ออาหาร เป็นเวลา 0-12 วัน

ชุดการทดลอง	วันที่	pH
เนื้อไก่สด	0	6.48
50°C, หุ้มพลาสติกใส	4	6.39
	8	7.23
	12	7.10
50°C, ไม่หุ้มพลาสติกใส	4	6.61
	8	7.28
	12	7.25

หมายเหตุ * wrap = หุ้มด้วยพลาสติกใสห่ออาหาร

* no wrap = ไม่หุ้มด้วยพลาสติกใสห่ออาหาร

ตารางผนวกที่ ๑๑ ค่า a_w ในแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งบ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 0-45 วัน

ชุดการทดลอง	วันที่	7 g/kg	10 g/kg
เนื้อไก่สด 4°C	0	0.891	0.884
	4	0.868	0.886
	8	0.868	0.904
	12	0.876	0.896
	16	0.853	0.873
	20	0.855	0.893
	24	0.821	0.861
	28	0.788	0.869
	32	0.802	0.851
	36	0.766	0.828
	40	0.761	0.827
	44	0.750	0.779
	45	0.713	0.685

ตารางผนวกที่ ๑๑ ค่า a_w ในแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 50°C โดยหุ้มและไม่หุ้มพลาสติกใสห่ออาหาร เป็นเวลา 0-12 วัน

ชุดการทดลอง	วันที่	a_w
เนื้อไก่สด	0	0.884
50°C, หุ้มพลาสติกใส	4	0.882
	8	0.882
	12	0.866
50°C, ไม่หุ้มพลาสติกใส	4	0.875
	8	0.798
	12	0.525

หมายเหตุ * wrap = หุ้มด้วยพลาสติกใสห่ออาหาร

* no wrap = ไม่หุ้มด้วยพลาสติกใสห่ออาหาร

ตารางผนวกที่ ๑1 ปริมาณความชื้นของแฮมร่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่
ที่อุณหภูมิ 4°C, 0-45 วัน

ชุดการทดลอง	วันที่	ความชื้น (%)
เนื้อไก่สด 4°C	0	79.30
	4	73.27
	8	73.87
	12	70.04
	16	68.81
	20	68.99
	24	60.41
	28	58.35
	32	48.06
	36	34.86
	40	38.49
	44	29.38
	45	27.12

ตารางผนวกที่ ๑2 ปริมาณความชื้นของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้ง หมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ที่อุณหภูมิ 50°C โดยหุ้มและไม่หุ้มพลาสติกใสห่ออาหาร เป็นเวลา 0-12 วัน

ชุดการทดลอง	วันที่	ความชื้น (%)
เนื้อไก่สด	0	79.30
50°C, หุ้มพลาสติกใส	4	75.89
	8	70.08
	12	63.35
50°C, ไม่หุ้มพลาสติกใส	4	72.71
	8	26.50
	12	16.64

หมายเหตุ * wrap = หุ้มด้วยพลาสติกใสห่ออาหาร

* no wrap = ไม่หุ้มด้วยพลาสติกใสห่ออาหาร

ตารางผนวกที่ 13 ปริมาณร้อยละของโปรตีน ในโตรเจนทั้งหมด และในโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน
ของแสมน้อยไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C
0-45 วัน

วันที่	โปรตีนทั้งหมด (%)	ในโตรเจนทั้งหมด (%)	ในโตรเจนที่ไม่ใช่ โปรตีน (%)
0	93.39	14.02	0.35
4	73.53	11.00	0.32
8	74.54	11.60	0.32
12	72.43	11.25	0.34
16	74.18	11.42	0.45
20	72.28	11.09	0.47
24	62.37	9.39	0.59
28	77.65	11.76	0.66
32	69.58	10.39	0.74
36	64.32	9.35	0.94
40	69.17	9.86	1.20
44	57.28	7.51	1.65
45	65.99	8.78	1.78

ตารางผนวกที่ ๑๑ ปริมาณร้อยละของไขมันและกรดไขมันอิสระของแฮมน่องไก่หมักแบบแห้งหมักด้วยเกลือ 10 g/kg น่องไก่ ที่อุณหภูมิ 4°C 0-45 วัน

วันที่	ไขมันทั้งหมด(%)	กรดไขมันอิสระ(%)
0	4.29	1.36
4	0.92	2.18
8	5.47	3.71
12	2.99	4.25
16	2.92	4.20
20	3.72	4.69
24	9.50	5.11
28	5.19	4.79
32	4.84	4.89
36	11.23	4.91
40	13.24	5.60
44	12.44	6.39
45	11.53	7.81

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวสุริย์รัตน์ จอมเขียว
วัน เดือน ปี ที่เกิด	15 มิถุนายน 2526
สถานที่เกิด	อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน
ตำแหน่งปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ	เข้าร่วมเสนอผลงานภาคบรรยายในการประชุม เสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ (Grad Research) ครั้งที่ 10
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-