บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

ไส้กรอกเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเนื้อสัตว์และไขมันสัตว์ ซึ่งผ่านการลดขนาดผสมกับเกลือ เครื่องเทศ และสารปรุงแต่งกลิ่นรสต่างๆ บรรจุไส้ รมควัน แล้วให้ความร้อนจนสุกหรือไม่ให้ความร้อน ไส้กรอกแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ตามขนาดของชิ้นเนื้อ ได้แก่ ไส้กรอกชนิดบดหยาบ เช่น salami ไส้กรอกหมู และไส้กรอกชนิดบดละเอียด เช่น frankfurter, bologna ซึ่งส่วนผสมเป็นเนื้อเดียวกันอยู่ในสภาพคล้ายอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (Forrest et al., 1976)

โครงสร้างของไส้กรอกอิมัลชัน ประกอบด้วยเม็ดไขมันซึ่งเคลือบด้วยโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือ (salt soluble protein) กระจายอยู่ทั่วไปใน matrix ของกล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โปรตีนที่ทำหน้าที่เหมือน emulsifying agent คือ myofibrillar proteins ซึ่งละลายได้ดีในสารละลายเกลือ (Kramlich, Pearson and Tauber, 1980)

ส่วนประกอบของไส้กรอกอิมัลชัน

ส่วนประกอบที่สำคัญของไส้กรอกอิมัลชัน ได้แก่ เนื้อสัตว์ ไขมันสัตว์ น้ำ เครื่องปรุงรส เครื่องเทศ เกลือ nitrite ascorbate phosphates และสารเพิ่มปริมาณหรือสารเชื่อม (extender, binder)

เนื้อสัตว์ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์คุณภาพดี เนื้อที่ใช้ต้องคุณภาพดีทั้งทางด้านเคมีและจุลินทรีย์ โดยทั่วไปใช้เนื้อหมู วัว ส่วนเนื้อลูกวัวและแกะมีใช้บ้าง แต่น้อยเพราะมีข้อจำกัดด้านกลิ่นและเสถียรภาพของผลิตภัณฑ์ (Carpenter, Saffle and Christian, 1966 ; Anderson and Gillet, 1974) เนื้อสำหรับผลิตไส้กรอกโดยทั่วไปแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ binder meat แบ่งย่อยตามความสามารถในการ emulsify ไขมันได้อีกเป็น เนื้อที่ emulsify ไขมันได้มาก (high binder) ได้แก่ เนื้อส่วนสะโพก หลัง ไหล่ พวกที่ emulsify ไขมันได้ปานกลาง (medium binder) ได้แก่ เนื้อลูกวัว เนื้อส่วนหัว แก้ม และเศษเนื้อที่ได้จากการตัดแต่ง และพวกที่ emulsify ไขมันได้ต่ำ (low binder) ได้แก่ กล้ามเนื้อเรียบต่างๆ เนื้อจากหัวใจ คอ เนื้ออีกประเภทหนึ่ง คือ filler meat เช่น ลิ้น หนัง อวัยวะภายใน เนื้อ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ติดมันที่เจียวน้ำมันบางส่วนออกแล้วที่อุณหภูมิต่ำ ความสามารถในการ emulsify ไขมันของเนื้อประเภทนี้ต่ำมาก ปริมาณการใช้จึงจำกัด ส่วนใหญ่เติมลงไปเพื่อลดต้นทุนการผลิตเพราะราคาถูก การเลือกใช้ต้องพิจารณาถึงปัจจัยอื่นประกอบด้วย เช่น อัตราส่วนระหว่างความชื้นต่อโปรตีน อัตราส่วนระหว่างไขมันต่อกล้ามเนื้อแดงและปริมาณรงควัตถุ เนื่องจากมีผลต่อคุณภาพสุดท้ายของผลิตภัณฑ์รวมทั้งสีด้วย (Kramlich, 1971)

ไขมัน เป็นส่วนประกอบสำคัญที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัสนุ่ม มีลักษณะปรากฏชวนบริโภค โดยทั่วไปกำหนดให้มีได้ไม่เกิน 30 % (Forrest et al., 1976) ไขมันที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไส้กรอกเพื่อให้ได้อิมัลชันที่มีเสถียรภาพดี ควรมีขนาดอนุภาคที่เหมาะสม เป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้องและมีจุดหลอมเหลวอยู่ระหว่าง 32 - 41 ^{o}C เช่น ไขมันหมู การใช้ไขมันที่มีจุดหลอมเหลวสูงกว่านี้ เช่น ไขมันวัว ไขมันแกะ อิมัลชันที่ได้เสถียรกว่าแต่ไม่นิยมใช้ เพราะระหว่างเคี้ยวจะรู้สึกเป็นไขข้นติดเพดานปาก ผู้บริโภคไม่ยอมรับ (Christian and Saffle, 1967) ส่วนน้ำมันพืชแม้จะมีข้อดีในแง่ไม่ก่อให้เกิดภาวะเสี่ยงต่อการเป็นโรคเส้นเลือดอุดตัน แต่ไม่นิยมใช้เช่นกัน เพราะปริมาณที่โปรตีนที่ละลายได้ในน้ำเกลือ (salt soluble proteins) จากเนื้อสัตว์ emulsify ได้ ต่ำ เมื่อเทียบกับไขมันจากสัตว์ นอกจากนั้นยังมีขนาดอนุภาคเล็ก แรงตึงผิวสูง ทำให้อิมัลชันที่ได้ไม่เสถียร (Friberg, 1976) ดังนั้นการที่จะแทนที่ไขมันหมูด้วยน้ำมัน จึงต้องอาศัยกรรมวิธีในการผลิตและ/หรือสารเจือปนที่แตกต่างจากที่ใช้อยู่ในไส้กรอกทั่วๆไป เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ซึ่งมีคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

ความชื้น เป็นส่วนประกอบที่มีมากที่สุดประมาณ 45 - 55 % ของน้ำหนักทั้งหมด ส่วนหนึ่งได้จากเนื้อสัตว์ อีกส่วนหนึ่งเติมลงไประหว่างการสับในรูปน้ำแข็งหรือน้ำ เพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์นุ่ม ชุ่มน้ำมากยิ่งขึ้น และช่วยควบคุมอุณหภูมิ (ที่เพิ่มขึ้นจากผลของแรงเสียดทาน) ระหว่างการสับไม่ให้สูงเกิน 12.8 - 14.4 ^{o}C (Kramlich et al., 1980) หากอุณหภูมิสูงกว่านี้ โปรตีนบางส่วนอาจเกิดการแปลงสภาพ และความสามารถในการ emulsify ไขมันด้อยลง ไขมันบางส่วนหลอม ทำให้แรงตึงผิวเพิ่มขึ้น จึงมีโอกาสที่จะเกิดการแยกชั้นจนเสียภาวะอิมัลชันไป (Forrest et al., 1976) โดยทั่วไปจะเติมน้ำ 20 - 30 % ของน้ำหนักของส่วนประกอบทั้งหมด กองควบคุมคุณภาพเนื้อสัตว์ กระทรวงเกษตร ประเทศสหรัฐ-อเมริกา กำหนดปริมาณน้ำในไส้กรอกที่เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายเท่ากับ 3 เท่าของโปรตีนบวกกับ 10 % ของน้ำหนักทั้งหมด (USDA, 1976)

Nitrite ทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีชมพู เกิดลักษณะและรสชาติเฉพาะซึ่งเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค ยับยั้งการเจริญของ <u>Clostridium</u> <u>botulinum</u> ซึ่งเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษ ชะลอการเกิดกลิ่นหืนเนื่องจากปฏิกิริยา oxidation ของไขมันในผลิตภัณฑ์

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(Pearson and Tauber, 1984) nitrite ถือเป็นวัตถุเจือปนในอาหาร ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 (พ.ศ.2527) เรื่อง วัตถุเจือปนในอาหาร ได้ระบุปริมาณสูงสุดของ nitrite ตกค้างในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ไว้ไม่เกิน 125 ส่วนในล้านส่วน (โดยวิเคราะห์ในรูป sodium nitrite) เพราะมีรายงานยืนยันว่าสารดังกล่าวหากทำปฏิกิริยากับ secondary amines จนเกิดเป็น nitrosamines แล้วอาจก่อมะเร็งแก่ผู้บริโภคได้ (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84, 2527)

สารปรุงรส ที่ใช้โดยทั่วไป ได้แก่ เกลือ น้ำตาล และเครื่องเทศ เกลือทำหน้าที่ให้รสชาติและสกัดโปรตีนกล้ามเนื้อให้อยู่ในรูปที่ละลายในน้ำเกลือ ปริมาณที่ใช้ประมาณ 3 % น้ำตาลทำให้รสชาติของผลิตภัณฑ์ดีขึ้น ช่วยเพิ่มความหวาน โดยทั่วไปใช้น้ำตาล sucrose หรือ dextrose 0.5 - 1.0 % เครื่องเทศ เช่น พริกไทย ยี่หร่า ดอกจันทน์ ลูกจันทน์ อบเชย allspices ใช้ปรับปรุงและดัดแปลงกลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์ให้เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว เครื่องเทศบางชนิด เช่น sage ยังช่วยป้องกันการเกิดกลิ่นหืนของไขมันได้ด้วย (Forrest et al., 1976)

Extenders, Binders และ Fillers เป็นสารอื่นที่ไม่ใช่เนื้อสัตว์ ใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเพื่อเพิ่มเสถียรภาพของอิมัลชัน เพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ เพิ่มกลิ่นรส ลดการหดตัวของผลิตภัณฑ์ระหว่างการให้ความร้อน ทำให้ผลิตภัณฑ์สามารถตัดเป็นชิ้นบางได้ง่ายและลดต้นทุนในการผลิต binders เป็นสารที่มีสมบัติในการอุ้มน้ำและ emulsify ไขมัน มักมีโปรตีนสูง เช่น นมผงพร่องไขมัน sodium caseinate แป้งถั่วเหลือง โปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้น โปรตีนถั่วเหลืองสกัด โปรตีนถั่วเหลืองแปลงเนื้อสัมผัส ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ถ้าความสามารถในการ emulsify ไขมันต่ำ แต่อุ้มน้ำได้ดีก็จะเรียกว่า extender ส่วน fillers หมายถึงส่วนผสมที่มีแป้ง (starch) สูง มีโปรตีนต่ำ เช่น แป้งข้าวโพด แป้งข้าวเจ้า แป้งสาลี แป้งมันสำปะหลัง fillers อุ้มน้ำได้แต่ความสามารถในการ emulsify ไขมันต่ำเช่นเดียวกับ extenders สารทั้ง 3 ประเภท มีข้อจำกัดปริมาณการใช้ไม่เกิน 3.5 % ของน้ำหนักผลิตภัณฑ์ ยกเว้นโปรตีนถั่วเหลืองสกัดใช้ได้ไม่เกิน 2 % ถ้าใช้ปริมาณมากกว่านี้ต้องระบุคำว่า "เลียนแบบ" (imitation) ลงบนฉลากด้วย (Rakosky, 1970 ; Kramlich, 1971 ; Wolf and Cowan, 1975)

Ascorbate หรือ erythorbate มีสมบัติทางเคมีใกล้เคียงกัน ช่วยเร่งปฏิกิริยาการเกิดสีและรักษาสีที่เกิดขึ้นในไส้กรอก สารนี้มีสมบัติเป็น reducing agents ช่วยชะลอการเกิดกลิ่นหืนเนื่องจาก lipid oxidation (Pearson and Tauber, 1984) นอกจากนี้ยังช่วยเปลี่ยน metmyoglobin เป็น myoglobin ที่สภาวะเหมาะสม ascorbate จะทำปฏิกิริยากับ nitrite ซึ่งเป็นการลดปริมาณ nitrite ที่ตกค้างในผลิตภัณฑ์ Federal Regulation ของประเทศอังกฤษ

กำหนดให้ใช้ sodium ascorbate หรือ sodium isoascorbate ในไส้กรอกได้ไม่เกิน 0.055 % โดยน้ำหนักของเนื้อสัตว์ที่ใช้เป็นส่วนประกอบ (Kreuzer, 1974)

Phosphates ทำให้โปรตีนเนื้อสัตว์จับโมเลกุลน้ำได้มากและดียิ่งขึ้น ซึ่งจะช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักจากการทำให้สุก ช่วยให้โปรตีนเนื้อสัตว์มีความสามารถในการยึดเกาะกันเองมากขึ้น หั่นเป็นชิ้นบางได้ง่าย ช่วยให้สกัดโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำเกลือออกมาในสารละลายได้มากขึ้น ช่วยเพิ่มเสถียรภาพของอิมัลชัน โดยทำให้ไขมันที่กระจายอยู่ ไม่จับเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ในผลิตภัณฑ์ ช่วยเพิ่มเสถียรภาพของสีที่เกิดจากการเคียว (cure) เกลือ phosphates ที่ใช้ตามโรงงานอุตสาหกรรม มีชื่อเรียกเฉพาะทางการค้าและส่วนมากจะใช้ในรูปสารผสม phosphates ชนิดต่างๆ เช่น Accord®, Fitcord® เป็นต้น (Nicole, 1973) สารประกอบ phosphates ที่ใช้มากในไส้กรอก ได้แก่ sodium acid pyrophosphate ซึ่งเป็น phosphate ชนิดเดียวที่อนุญาตให้ใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกในสหรัฐอเมริกา ปริมาณที่ควบคุมไม่เกิน 0.3 % ของผลิตภัณฑ์สุดท้าย (Pearson and Tauber, 1984)

การเกิดและเสถียรภาพของอิมัลชันในไส้กรอก

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดและเสถียรภาพของอิมัลชันในไส้กรอก ได้แก่

1. ปริมาณของโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำเกลือ โปรตีนที่ละลายได้ในน้ำเกลือ ได้แก่ myofibrillar proteins ซึ่งมี myosin และ actin เป็นส่วนประกอบ โปรตีนดังกล่าวนี้ละลายได้เมื่อเติมเกลือ 2 - 3 % โดยน้ำหนัก โดยเมื่อเติมเกลือแล้วสับ myosin และ actin จะละลายออกมาจากเส้นใยกล้ามเนื้อ และรวมตัวเป็นสารประกอบ actomyosin ทำให้เนื้อสัมผัสผลิตภัณฑ์เกิดความเหนียวระหว่างสับ และเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 - 100 ^{o}C จะเกิดโครงสร้างโมเลกุลแบบตาข่าย (actomyosin network) กักเก็บโมเลกุลของน้ำไว้ภายในได้ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความเหนียวและยืดหยุ่น ในเนื้อหมูและเนื้อวัวมีโปรตีนดังกล่าว 38.16 % และ 45.60 % ของโปรตีนที่มีอยู่ทั้งหมด ตามลำดับ (Sone, 1972) ในการผลิตไส้กรอกอิมัลชัน ปริมาณ myofibrillar proteins ที่สกัดออกจากเนื้อเยื่อได้ มีความสำคัญกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ถ้ามีในปริมาณมากจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชัน ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด myofibrillar proteins ได้แก่ ปริมาณเกลือ NaCl ที่ใช้ มีรายงานว่าถ้าใช้เกลือ 4 % จะสกัด myosin และ actin ออกได้ปริมาณสูงสุด แต่รสชาติไส้กรอกเค็มจัดเกินไป จึงนิยมใช้เพียง 2 - 3 % โปรตีนที่สกัดได้นี้ทำหน้าที่เป็นสาร emulsifier นอกจากปริมาณเกลือแล้ว ปัจจัยอื่นที่มีผล ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิระหว่างสกัด (Kramlich

et al., 1980) Swift และ Sulzbacher (1963) พบว่า สกัด myofibrillar proteins ออกจากเนื้อเยื่อได้ดีที่สุดที่ pH 5.4 - 6.2 และทำหน้าที่เป็นสาร emulsifier ที่ดีในช่วง pH 6.0 - 6.5 Frank (1960) รายงานว่าที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C จะสกัด myofibrillar proteins ออกจากเนื้อเยื่อได้มากที่สุด

2. อุณหภูมิระหว่างการเกิดอิมัลชัน ในระหว่างการสับและการเกิดอิมัลชัน ถ้าอุณหภูมิเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยจะช่วยให้การละลายของโปรตีนเพิ่มขึ้น แต่ถ้าสูงเกินไปจะทำให้อิมัลชันแตกหรือเสียเสถียรภาพไป เนื่องจากโปรตีนเกิดการแปลงสภาพและเสียสมบัติในการหุ้มเม็ดไขมัน (Kramlich, 1971) ดังนั้นในช่วงแรกของการสับเนื้อสัตว์ จะรักษาอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 3 - 11 ^{o}C ถ้าเป็นเครื่องสับที่มีความเร็วรอบช้า อุณหภูมิในการสับเนื้อสัตว์จะจำกัดให้ไม่เกิน 4 - 7 ^{o}C ซึ่งกำหนดไว้ต่ำกว่าเครื่องสับที่มีความเร็วรอบสูง (อุณหภูมิประมาณ 11 ^{o}C) เพื่อ กันไม่ให้สับนานเกินไป (Kramlich, 1971) และในระหว่างสับอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้น 5 - 11 ^{o}C ในเวลา 10 ถึง 15 นาที (Kramlich et al., 1980) ในช่วงหลังสับเมื่อเติมเครื่องปรุงและไขมันลงในส่วนผสม อุณหภูมิจะเพิ่มสูงขึ้น การ emulsify ไขมันของโปรตีนเกิดได้ดีขึ้น และในช่วงสุดท้ายของการสับ อุณหภูมิไม่ควรสูงเกิน 10 - 16 ^{o}C หากอุณหภูมิสูงกว่านี้ โปรตีนบางส่วนอาจเกิดการแปลงสภาพ และความสามารถในการ emulsify ไขมันด้อยลง ไขมันบางส่วนหลอม ทำให้แรงตึงผิวเพิ่มขึ้น จึงมีโอกาสเกิดการแยกชั้นจนเสียภาวะอิมัลชันไป (Forrest et al., 1976)

3. เวลาที่ใช้ในการสับ ถ้าใช้เวลาสั้นเกินไป เม็ดไขมันจะมีขนาดใหญ่ สามารถรวมกันและแยกชั้นจากส่วนที่เป็นน้ำได้ง่าย แต่ถ้าใช้เวลามากไป เม็ดไขมันจะมีขนาดเล็กมาก พื้นที่ผิวของเม็ดไขมันเพิ่มมากขึ้น จนปริมาณโปรตีนที่ใช้ในการหุ้มไม่เพียงพอ ทำให้เกิดการรวมตัวของเม็ดไขมันและแยกชั้นได้เช่นกัน ถ้าเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดไขมันลดลง 1 เท่า จะทำให้พื้นที่ผิวของเม็ดไขมันเพิ่มขึ้น 1 เท่าด้วย เช่น เม็ดไขมันที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 ไมโครเมตร เมื่อถูกสับจนมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตร ทำให้เกิดอนุภาคไขมัน 125 อนุภาค พื้นที่ผิวเม็ดไขมันเพิ่มขึ้นจาก 7850 ตารางไมโครเมตร เป็น 39,250 ตารางไมโครเมตร ซึ่งการเพิ่มพื้นที่ผิว 5 เท่านี้ ทำให้ต้องใช้ปริมาณโปรตีนที่ละลายใน น้ำเกลือเพิ่มมากขึ้น เพื่อหุ้มเม็ดไขมันเล็กๆ นี้ให้ได้หมด พื้นที่ผิวที่มากขนาดนี้ อาจทำให้เกิดภาวะ overchopping ของอิมัลชัน ทำให้โปรตีนที่สกัดได้ซึ่งมีปริมาณคงที่ไม่เพียงพอที่จะหุ้มเม็ดไขมันได้หมด (Forrest et al., 1976)

4. ความหนืดของอิมัลชัน เนื่องจากเม็ดไขมันมีความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำ จึงพยายามลอยตัวขึ้นด้านบน ถ้าอิมัลชันมีค่าความหนืดต่ำ ไขมันจะลอยขึ้นด้านบนได้ง่ายและ

เกิดการแยกชั้นจากส่วนที่เป็นน้ำ ทำให้เสถียรภาพของอิมัลชันเสียไป (Forrest et al., 1976) ปัจจัยที่มีผลต่อความหนืดของอิมัลชัน ได้แก่ ปริมาณน้ำในส่วนผสม ถ้ามีอยู่น้อย ความหนืดของอิมัลชันจะสูง นอกจากนั้นเวลาในการสับก็มีผลต่อความหนืดเช่นกัน เวลาสับที่เหมาะสมคือ ประมาณ 10 นาที อิมัลชันที่ได้จะมีความหนืดและขนาดเม็ดไขมันพอเหมาะ ถ้าเวลามากเกินไป ความหนืดของอิมัลชันจะต่ำลง ส่วน pH ของเนื้อสัตว์ และความเข้มข้นของเกลือ ถ้ามีค่าเพิ่มขึ้น ความหนืดของอิมัลชันก็จะสูงขึ้นตามไปด้วย (Girard, Denoyer and Maillard, 1992)

5. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ถ้า pH ของเนื้อสัตว์ต่ำจนใกล้ isoelectric point myofibrillar proteins จะละลายออกมาในน้ำเกลือได้น้อยลง โดยทั่วไป pH ของเนื้อสัตว์ที่ผ่าน rigor mortis แล้วอยู่ในช่วง 5.3 - 5.7 และ isoelectric point อยู่ที่ pH ประมาณ 5.0 การหลีกเลี่ยงภาวะเช่นนี้ ทำได้ 3 รูปแบบ คือ แบบแรกใช้เนื้อก่อนเกิด rigor mortis แบบที่ 2 แช่แข็งเนื้อก่อนเกิด rigor mortis อย่างรวดเร็ว แล้วลดขนาดในเครื่องสับนวดขณะที่ยังอยู่ในภาวะแช่แข็ง หรือแบบสุดท้าย นำเนื้อสัตว์มาเติมเกลือ nitrite และน้ำแข็งเพื่อควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำประมาณ 2 - 3 ชั่วโมง ก่อนสับ ในแต่ละกรณีสามารถสกัดโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำเกลือเพิ่มขึ้นได้ประมาณ 50 % (Kramlich, 1971)

6. อุณหภูมิระหว่างการรมควันและทำให้สุก หลังการเกิดอิมัลชัน ถ้ารมควันโดยเพิ่มอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์เร็วเกินไป หรือทำให้สุกที่อุณหภูมิสูงเกินไป โปรตีนที่หุ้มรอบอนุภาคไขมันจะหดตัวเร็วมาก ขณะที่ไขมันขยายตัวเร็วเช่นกัน ภาวะเช่นนี้ทำให้โปรตีนที่หุ้มรอบไขมันเกิดการฉีกขาด และไขมันเคลื่อนย้ายออกมาใน matrix ซึ่งทำให้มีไขมันเป็นชั้นบางที่ส่วนปลายของแท่งไส้กรอกได้ (Pearson and Tauber, 1984)

กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงโอเมก้า-3 (omega-3 PUFA)

<u>โครงสร้างพื้นฐานของ omega-3 PUFA</u>

omega-3 PUFA เป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีบทบาทสำคัญในอาหารเพื่อสุขภาพในปัจจุบัน กรดไขมันเหล่านี้เรียกชื่อตามตำแหน่งของพันธะคู่อันแรกในสายของโมเลกุลที่นับจากทางด้าน methyl end (ω-carbon atom) โดยในสายของกรดไขมันพันธะคู่อันแรกจะอยู่ที่คาร์บอนอะตอมที่ 3 ด้วยเหตุนี้จึงเรียกว่า "omega-3 PUFA" (ω-3 PUFA) และบางครั้งอาจเรียกว่า "n-3 PUFA" ก็ได้ จากการศึกษากรดไขมันไม่อิ่มตัวในเนื้อเยื่อไขมันสัตว์ สามารถจำแนกออกได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่ม ω-3, ω-6, ω-7 และ ω-9 (Jørgensen, 1967)

กลุ่ม ω-3 ประกอบด้วย C18:3; ω-3 (α-linolenic acid), C18:4; ω-3 (octadecatetraenoic acid), C20:4; ω-3 (eicosatetraenoic acid), C20:5; ω-3 (eicosapentaenoic acid), C22:5; ω-3 (docosapentaenoic acid) และ C22:6; ω-3 (docosahexaenoic acid) ตามลำดับ

กลุ่ม ω-6 ประกอบด้วย C18:2; ω-6 (linoleic acid), C18:3; ω-6 (γ-linolenic acid), C20:3; ω-6 (di-homo-γ-linolenic acid) และ C20:4; ω-6 (arachidonic acid) ตามลำดับ

กลุ่ม ω-7 มี C16:1; ω-7 (palmitoleic acid) และกลุ่ม ω-9 ประกอบด้วย C18:1; ω-9 (oleic acid), C18:2; ω-9 (octadecadienoic acid), C20:2; ω-9 (eicosadienoic acid) และ C20:3; ω-9 (eicosatrienoic acid) (Greene, 1990)

ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม กรดไขมันแต่ละกลุ่มดังกล่าวจะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากปลายด้านหมู่ carboxyl โดยมีความอิ่มตัวเพิ่มขึ้นหรือเพิ่มจำนวนคาร์บอน แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงลำดับที่ของ ω กลุ่ม ω-3 และ ω-6 จัดว่าเป็นกลุ่มไขมันที่จำเป็นของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม เพราะร่างกายสังเคราะห์ไม่ได้หรือสังเคราะห์ได้ไม่เพียงพอ สำหรับน้ำมันปลาจะมีกรดไขมันในกลุ่ม ω-3 ประมาณ 10 ชนิด แต่มีเพียง 2 ชนิด ที่มีบทบาทเด่นและสำคัญ คือ eicosapentaenoic acid (EPA) และ docosahexaenoic acid (DHA) โดยที่ EPA เป็นกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอน 20 อะตอมในสายและมีพันธะคู่ 5 พันธะ ส่วน DHA เป็นกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอน 22 อะตอมในสายและมีพันธะคู่ 6 พันธะ (Greene, 1990)

<u>แหล่งของ omega-3 PUFA</u>

แหล่งของ omega-3 PUFA ที่สำคัญและพบมากที่สุดคือ น้ำมันจากปลาและผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้อาจพบได้บ้างในน้ำมันพืชบางชนิด เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันคาโนลา Kinsella (1986) ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณ EPA และ DHA ในปลาชนิดต่างๆ พบว่ามีระดับตั้งแต่ 4 - 37 % ของกรดไขมันทั้งหมด ปริมาณสูงสุดของ EPA พบในน้ำมันปลา Menhaden จากสหรัฐอเมริกา โดยมีอยู่สูงถึง 24.0 % ส่วน DHA พบมากที่สุดในปลา Cod ซึ่งจับได้จากมหาสมุทรแอทแลนติค และปลาหมึก (Squid) ซึ่งมีกรดไขมันดังกล่าว 37 % ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด ในปลา Cod เมื่อรวมปริมาณกรดไขมันทั้ง 2 ชนิดแล้วจะมีอยู่ถึง 54 % ของกรดไขมันที่มีอยู่ทั้งหมด

ในส่วนของน้ำมันพืชที่ใช้เป็นน้ำมันบริโภค มีรายงานว่า น้ำมันถั่วเหลืองมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงอยู่ในปริมาณมาก โดยเฉพาะ linolenic acid มีมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันพืชชนิดอื่น น้ำมันถั่วเหลืองโดยทั่วไปประกอบด้วยกรดไขมันชนิดอิ่มตัวประมาณ 11 - 26 % และมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว 74 - 89 % ซึ่งเป็น linoleic acid 43 - 56 % และ linolenic acid 5 - 11 % (Triebold and Aurand, 1963)

<u>ความสำคัญของ omega-3 PUFA ต่อสุขภาพ</u>

Ahrens et al. (1959) รายงานว่า น้ำมันปลาลดไขมันในพลาสมาได้ และในระหว่างทศวรรษที่ 60 มีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้ตั้งข้อสังเกตถึงคุณสมบัติทางโภชนาการที่สำคัญในน้ำมันปลา ตลอดจนให้คำแนะนำถึงประโยชน์ของการบริโภคอาหารทะเลต่อการลดอัตราการตายด้วยโรคหัวใจ แต่เนื่องจากอุตสาหกรรมน้ำมันพืชได้เน้นให้มีการบริโภคน้ำมันพืช ซึ่งเป็นแหล่งของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว เพื่อลดสาร cholesterol ในพลาสมา และน้ำมันพืชไม่มีสาร cholesterol ซึ่งมีในน้ำมันปลา จึงทำให้ความสนใจในการบริโภคน้ำมันปลาเริ่มลดลงระหว่างปี 1970 นักโภชนาการทั่วโลกได้เริ่มให้ความสนใจต่อ omega-3 PUFA มากขึ้น หลังจากที่ได้มีผู้ศึกษาภาวะโภชนาการและช่วงอายุของชาวเอสกิโมแถบกรีนแลนด์ โดย Bang, Dyerberg และ Hjorne (1976) และ Dyerberg (1982) ให้ความสนใจต่อข้อมูลที่แสดงว่าชาวเอสกิโมมีอัตราการเป็นโรคหัวใจต่ำ และมีสุขภาพดีกว่าชาวเดนมาร์กและอเมริกัน เขาได้ศึกษาภาวะการลดต่ำของอัตราการเป็นโรคหัวใจและพบว่ามีความสัมพันธ์กับปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ คือ การลดต่ำของปริมาณ cholesterol ในพลาสมา ปริมาณสาร lipoproteins และ triacylglycerols ที่ลดลง การยืดระยะเวลาการไหลของเลือด และการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันในเลือด ผลจากการศึกษาเหล่านี้ นำมาเชื่อมโยงกันได้กับความจริงที่ว่าอาหารของชาวเอสกิโมมี EPA และ DHA อยู่มากพอๆ กับไขมัน โปรตีน และ cholesterol โดยที่ EPA และ DHA มาจากสัตว์น้ำและปลาที่บริโภค Harris, Connor และ McMurry (1983) ศึกษาผลของความแตกต่างระหว่างไขมันปลาทะเลกับน้ำมันพืชผสม (น้ำมันข้าวโพดผสมกับน้ำมันเมล็ดดอกคำฝอย) พบว่าทั้งน้ำมันปลาและน้ำมันพืชลดระดับ cholesterol ได้ แต่เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักกรัมต่อกรัมแล้ว น้ำมันปลาลดระดับ cholesterol ได้มากกว่าน้ำมันพืช การศึกษาของ Nestel ในปี 1986 พบว่า เมื่อรับประทานอาหารที่มี cholesterol สูง ระดับ cholesterol ในพลาสมาจะสูงขึ้น แต่เมื่อรับประทานอาหารที่มี cholesterol สูงผสมน้ำมันปลาหรืออาหารที่มีน้ำมันปลาอย่างเดียว น้ำมันปลาจะไม่ลดระดับ cholesterol ที่มีอยู่เดิม แต่สามารถกดดันไม่ให้ cholesterol จากอาหารเพิ่มระดับสูงขึ้นในเลือด เนื่องจาก omega-3 PUFA

ลดการหลั่ง very low density lipoproteins (VLDL) จากตับ และ VLDL เป็นแหล่งของ low density lipoproteins (LDL) เมื่อ VLDL ลดลง LDL จึงลดลงด้วย

Harris et al. (1988) รายงานว่าการบริโภคอาหารคาร์โบไฮเดรตปริมาณมาก ทำให้ร่างกายมีระดับ triacylglycerols และ VLDL สูงขึ้น แต่เมื่อให้อาหารที่มีน้ำมันปลาทะเล จะเห็นผลในการลดระดับ triacylglycerols ในพลาสมาและ VLDL-cholesterol อย่างมีนัยสำคัญภายใน 2 - 3 วัน หลังจากเริ่มให้ กลไกที่ omega-3 PUFA สามารถลดระดับ triacylglycerols ในเลือดได้นั้น ยังไม่ได้รับการพิสูจน์ทราบแน่ชัด Strum-Odin et al. (1987) ได้ตั้งสมมติฐานว่า omega-3 PUFA มีผลทำให้กรดไขมันเข้าสู่ oxidation และ ketogenesis มากขึ้น ขณะเดียวกันก็เข้าสู่ lipogenesis ลดลง (อ้างถึงใน วินัย ดะห์ลัน และคณะ, 2534) Bergseth, Christiansen และ Bremer (1986) พบว่า การรับประทานน้ำมันปลามีผลทำให้ ketogenesis ในตับเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นได้ที่ omega-3 PUFA ไปชะลอหรือห้าม lipogenesis การห้ามนี้อาจโดยวิธีที่กรดไขมันเข้าไปห้ามในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งหรือ omega-3 PUFA ที่อยู่ในโมเลกุลของ phospholipids บนเมมเบรนทำหน้าที่เป็นตัวห้าม นอกจากนี้ยังมีรายงานที่พบว่า การลดลงของ triacylglycerols ในเลือดนั้น เป็นผลมาจากการลดลงของการหลั่ง VLDL จากตับ ซึ่งอาจเป็นได้ที่ omega-3 PUFA ขัดขวางการสร้าง Apo-B100 ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของ VLDL (Nestel et al., 1984) เมื่อการสร้าง Apo-B100 ลดลง VLDL ย่อมลดลงด้วย การศึกษาทาง enzyme kinetic พบว่า EPA กดการสร้าง triacylglycerols โดยสามารถหยุดยั้งการทำงานของเอนไซม์ diacylglycerol acyltransferase เป็นผลให้การสร้าง diacylglycerols ลดลง ส่งผลต่อเนื่องให้ triacylglycerols ลดลง (วินัย ดะห์ลัน และคณะ, 2534)

จากการศึกษาผลของ omega-3 PUFA ต่อองค์ประกอบของเกล็ดเลือดในชาวเอสกิโมแถบกรีนแลนด์โดย Goodnight, Harris และ Connor (1981) พบว่า ชาวเอสกิโมมีระยะเวลาในการแข็งตัวของเลือดช้า จึงมีผลป้องกันการเกิดอาการ atherosclerosis ได้ โดยปกติ EPA และกรด arachidonic จากอาหารจะเข้าสู่ phospholipids บนเมมเบรน เมื่อมีความต้องการสร้าง prostaglandins กรดไขมันทั้ง 2 ชนิดนี้จะถูกปลดปล่อยจาก phospholipids โดยการตัดของเอนไซม์ phospholipase A_2 แล้วเข้าสู่วิถีการสร้าง prostaglandin, thromboxane และ prostacyclin โดย EPA เป็น precursor ของการสังเคราะห์ prostaglandin I_3 และ thromboxane A_3 ส่วนกรด arachidonic เป็น precursor ของการสังเคราะห์ prostacyclin หรือ prostaglandin I_2 และ thromboxane A_2 โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ cyclo-oxygenase (Goodnight et al., 1981) eicosanoids เหล่านี้ต่างมีผลต่อเกล็ดเลือดและเส้นเลือด โดย thromboxane A_2 ทำให้เกิดการเกาะกันของเกล็ดเลือดและทำให้เส้นเลือดหดตัว ในขณะ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ที่ prostaglandin I_2 มีผลตรงข้ามคือ ต้านการเกาะกันของเกล็ดเลือด เส้นเลือดขยายตัว ส่วน eicosanoids ที่ได้จาก EPA คือ thromboxane A_3 มีผลต่อการเกาะกันของเกล็ดเลือดน้อยกว่า thromboxane A_2 ในขณะที่ prostaglandin I_3 และ prostaglandin I_2 มีผลต้านการเกาะกันของเกล็ดเลือดพอๆ กัน (Saynor et al., 1986) ในภาวะที่มี EPA มากกว่ากรด arachidonic หรือเท่าๆ กัน EPA มี affinity ต่อระบบเอนไซม์ที่ใช้ในการสร้าง prostaglandin มากกว่ากรด arachidonic ดังนั้น eicosanoids จาก EPA จะเกิดขึ้นมากกว่า eicosanoids จากกรด arachidonic การเกาะกันของเกล็ดเลือดจึงลดลง (Kinsella, 1987)

การเสื่อมคุณภาพของน้ำมันปลาและการป้องกัน

การเสื่อมคุณภาพของน้ำมันปลาและผลิตภัณฑ์เกิดได้ 2 แบบ คือ การเกิด hydrolysis ของ triacylglycerols ทำให้เกิดกรดไขมันอิสระขึ้น และการเกิด oxidation ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ทำให้เกิด free radicals และกลิ่นหืนจากสาร carbonyls การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ มีผลกระทบต่อความคงตัวของน้ำมันปลาทั้งในการนำไปใช้ทั่วไปและการวางจำหน่ายในท้องตลาด (Banks,1967)

การเสื่อมคุณภาพจากปฏิกิริยา hydrolysis เกิดขึ้นช้าในกรณีที่ไม่มีตัวเร่ง แต่จะเกิดได้เร็วเมื่อ pH เป็นด่างหรือมีตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น เอนไซม์ lipase จากตับ และจากเนื้อปลา การที่น้ำมันปลามีกรดไขมันอิสระอยู่สูง ยังทำให้ปฏิกิริยา oxidation เกิดได้เร็วอีกด้วย เนื่องจากกรดไขมันอิสระเป็น substrate ของเอนไซม์ lipoxygenase ในปฏิกิริยา oxidation (Olcott, 1962) อย่างไรก็ตามในกระบวนการผลิตน้ำมันปลา จะผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ด้วยด่างเพื่อกำจัดกรดไขมันอิสระ จึงลดปัญหาดังกล่าวได้ นอกจากนี้ควรเก็บน้ำมันปลาที่ผลิตได้ในที่ปราศจากความชื้น และการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ การเสื่อมคุณภาพของน้ำมันปลาที่สำคัญมากอีกอย่างหนึ่ง คือ การเกิด oxidation ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ทำให้น้ำมันมีลักษณะไม่เป็นที่ยอมรับ มีกลิ่นหืนและกลิ่น fishy หรือ painty odor อย่างรุนแรง บางครั้งเรียกน้ำมันที่เกิดกลิ่นเหล่านี้ว่า "blown-oil" กลิ่นหืนของน้ำมันปลาแตกต่างจากกลิ่นหืนของน้ำมันสัตว์และพืชทั่วไป เนื่องจากน้ำมันปลาประกอบด้วยกรดไขมันที่มีพันธะคู่ 4, 5 และ 6 พันธะ ในปริมาณสูง ทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ง่ายกว่าน้ำมันบริโภคชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ hydroperoxides ที่เกิดจากกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงในน้ำมันปลา มีลักษณะที่ไม่คงตัวอย่างมาก จึงเกิดการแตกตัวและเกิดสารประกอบ carbonyls ที่ให้กลิ่นไม่ชวนบริโภคได้ที่ความเข้มข้นต่ำๆ (Banks, 1967)

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปัจจัยที่มีผลในการเร่งปฏิกิริยา oxidation ของน้ำมันปลาได้แก่ ความร้อน แสง และสาร pro-oxidants ส่วนสารกันหืนหรือ antioxidants ช่วยป้องกันหรือชะลอการเกิด oxidation น้ำมันปลาที่คุณภาพดีต้องปราศจากผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา oxidation มีความคงตัวสูง เก็บในภาชนะที่ทำจากสารที่ไม่กัดกร่อน ระหว่างเก็บไม่สัมผัสกับอากาศ แสง และเก็บที่อุณหภูมิเยือกแข็ง อาจต้องใช้สารกันหืนช่วยป้องกันการเกิดกลิ่นหืน สารกันหืนที่ใช้โดยทั่วไป ได้แก่ propyl gallate (PG), butylated hydroxyanisole (BHA), tertiary butylhydroquinone (TBHQ) หรือสารกันหืนจากแหล่งธรรมชาติ ได้แก่ tocopherol ตลอดจนสารเสริมฤทธิ์ต่างๆ เช่น กรด ascorbic กรด tartaric และกรด phosphoric เป็นต้น (Banks, 1967)

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันในน้ำมันปลา

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันในน้ำมันปลาใช้เทคนิค gas chromatography (GC) โดยเริ่มจากการสกัดน้ำมันจากเนื้อเยื่อ การเตรียม methyl ester ของกรดไขมัน และการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC

<u>การสกัดน้ำมันจากเนื้อเยื่อ</u>

การสกัดน้ำมันและไขมันจากเนื้อเยื่อสัตว์ในเชิงปริมาณ จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วผสมร่วมกับตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว เพราะไขมันในเนื้อเยื่อมีทั้งส่วนของ nonpolar lipids ได้แก่ triacylglycerols และส่วนของ polar lipids คือ phosphoacylglycerols polar lipids ซึ่งส่วนใหญ่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์จะทำปฏิกิริยากับโปรตีน และมีโครงสร้างอยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อน lipoproteins ซึ่งมีพันธะไฮโดรเจนระหว่างน้ำกับโปรตีน และ polar lipids ใน lipoproteins เป็นจำนวนมาก จนเกิดเป็นพื้นที่ที่เรียกว่า “stabilized aqueous” ในเนื้อเยื่อที่ตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วไม่สามารถเข้าไปสกัดไขมันชั้นในซึ่งเป็นส่วนที่ไม่มีขั้วได้ ดังนั้นในการสกัดไขมันจึงต้องใช้ตัวทำละลายที่มีขั้ว เป็นตัวทำให้พันธะไฮโดรเจนแตกออกเสียก่อน Nelson (1975) อธิบายว่า ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มี polarlity ในระดับต่างๆ จะ hydrolyze พันธะโควาเลนท์ในทุกส่วนของโมเลกุลไขมัน และทำให้โครงสร้างไขมันที่ได้ ไม่อยู่ในลักษณะ native compounds จากนั้นตัวทำละลายที่มีขั้วจะทำให้พันธะไฮโดรเจนของโปรตีนที่จับกับไขมันแตกออก เพื่อให้ตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเข้าไปสกัดไขมันออกมา Folch, Lees และ Stanley (1957) ใช้ chloroform-methanol อัตราส่วน 2 : 1 สกัดไขมันออกจากเนื้อเยื่อ สัดส่วนของตัวทำละลายต่อเนื้อเยื่อไขมันที่ใช้คือ 20 : 1 เขาอธิบายว่า การสกัดวิธีนี้จะมีไขมันสูญเสียระหว่างสกัด

เพียง 5 % แต่ถ้าเพิ่มสัดส่วนของตัวทำละลายต่อตัวอย่างเนื้อเยื่อเป็น 25 หรือ 50 : 1 จะสกัดไขมันทั้งหมดในเนื้อเยื่อออกมาได้อย่างสมบูรณ์ และถ้าสัดส่วนยิ่งสูงกว่านี้ ประสิทธิภาพในการสกัดก็จะดีขึ้นไปอีก โดยไม่จำเป็นต้องสกัดตัวอย่างซ้ำ Ostrander และ Dugan (1961) เปรียบเทียบวิธีสกัดไขมัน 4 วิธี โดยดัดแปลงจากวิธีของ Bligh และ Dyer (1959) พบว่า การใช้สารผสม methanol-chloroform-water อัตราส่วน 1 : 2 : 0.8 ให้ผลดีที่สุดในการสกัดไขมันจากเนื้อสัตว์ Sheppard, Hubbard และ Prosser (1974) เปรียบเทียบวิธีสกัดไขมัน 8 วิธี จากผลิตภัณฑ์อาหาร 4 ชนิด ได้แก่ corn beef hash พายไก่งวง พายเนื้อวัว และสตูเนื้อวัว โดยพิจารณาปริมาณไขมันทั้งหมด และปริมาณกรดไขมันอิสระแต่ละชนิดที่มีอยู่ในไขมันที่สกัดได้ พบว่า วิธีที่ให้ผลดีที่สุด มี 2 วิธี คือ วิธีแรก ย่อยตัวอย่างด้วยสารละลาย HCl 4 M แล้วสกัดด้วย ethyl ether และวิธีที่ 2 ใช้ chloroform-methanol อัตราส่วน 2 : 1 ในการสกัด Hubbard et al. (1977) เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดไขมันจากอาหาร 8 ตัวอย่าง ได้แก่ มันฝรั่งแผ่นทอดกรอบ ไข่แดง ไส้กรอก frankfurters มายองเนส แฮม สตูเนื้อวัว fish sticks และพายไก่ โดยใช้การสกัด 7 วิธี วิธีแรก ย่อยด้วยสารละลาย HCl 4 M แล้วสกัดด้วย ethyl ether วิธีที่ 2 สกัดด้วย chloroform-methanol อัตราส่วน 2 : 1 วิธีที่ 3 ย่อยด้วยสารละลาย HCl ก่อน แล้วจึงสกัดด้วย chloroform-methanol อัตราส่วน 2 : 1 วิธีที่ 4 ทำเช่นเดียวกับวิธีแรก แต่เพิ่มการสกัดด้วย chloroform-methanol อัตราส่วน 2 : 1 ในชั้น aqueous วิธีที่ 5 สกัดด้วย chloroform-methanol-น้ำ อัตราส่วน 1 : 2 : 0.8 แล้วสกัดซ้ำด้วยอัตราส่วนใหม่ คือ 2 : 2 : 1.8 วิธีที่ 6 ทำเช่นเดียวกับวิธีที่ 5 แต่เพิ่มการย่อยด้วยสารละลาย HCl ก่อนการสกัด และวิธีที่ 7 ทำเช่นเดียวกับวิธีแรก แต่เพิ่มการสกัดชั้น aqueous ด้วยระบบ solvent ในวิธีที่ 5 พิจารณาปริมาณไขมันทั้งหมด ปริมาณกรดไขมันทั้งหมด และ sterols ที่มีอยู่ในไขมันที่สกัดได้ พบว่า วิธีที่ให้ผลดีที่สุด คือ การสกัดด้วย chloroform-methanol อัตราส่วน 2 : 1 ซึ่งเป็นวิธีที่เคยรายงานไว้โดย Folch et al. (1957)

<u>Methylation ของกรดไขมัน</u>

เป็นการเตรียม ester ของกรดไขมันกับ methanol เพื่อให้ได้สารที่ระเหยได้ก่อนนำมาวิเคราะห์ด้วย GC วิธีการดังกล่าวนี้ยังมีผลในการลด polarity ของสารประกอบลงด้วย เทคนิคที่มักใช้ในกระบวนการ methylation ของกรดไขมัน มี 2 วิธี คือ วิธีแรก ทำให้กรดไขมันหลุดจากโมเลกุลของไขมันก่อน โดยกระบวนการ saponification, acid hydrolysis หรือ enzymatic hydrolysis แล้วจึงทำปฏิกิริยากับ methanol จนได้ methyl ester ของกรดไขมัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อิสระ สารเคมีที่ให้ผลดีในการทำปฏิกิริยาสำหรับกรดไขมันที่ประกอบด้วยคาร์บอนตั้งแต่ 8 อะตอมขึ้นไป คือ BF_3-MeOH หรือ BCl_3-MeOH สำหรับกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ สารเคมีที่ใช้ คือ BF_3-BuOH (Morrison and Smith, 1964) methylation อีกวิธีหนึ่ง คือ trans-esterification ซึ่งเป็นการเตรียม methyl esters ของกรดไขมันโดยตรงจาก triacylglycerols, phosphoacylglycerols และ cholesteryl esters แล้วใช้ anhydrous methanol-acid แยก methyl esters ออกจากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยา เพื่อทำให้อยู่ในรูปที่บริสุทธิ์พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC (Pelick and Mahadevan, 1975) Solomon et al. (1974) รายงานว่า การเตรียม methyl esters ของกรดไขมันด้วยวิธี methylation ด้วย BF_3-MeOH จะให้ผลดีที่สุด เมื่อใช้ปริมาณตัวอย่างไขมันไม่ต่ำกว่า 350 มิลลิกรัม

<u>การวิเคราะห์ Fatty acid methyl esters (FAME) ด้วยเทคนิค GC</u>

เทคนิค GC เริ่มนำมาใช้ในปี 1952 โดย James และ Martin (1952) เพื่อแยกกรด carboxylic ต่อมาได้มีการพัฒนาทฤษฎีเบื้องต้นต่างๆ ทาง chromatography ทำให้สามารถใช้วิเคราะห์สารประกอบโดยการแยกและตรวจสอบสารที่เป็นกาซ ของเหลว และของแข็งที่สามารถทำให้ระเหยได้ นอกจากนั้นยังใช้ในการศึกษาโครงสร้างของสารเคมีได้อีกด้วย การพัฒนาวิธีทาง GC ขึ้นมา ทำให้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวางในการวิเคราะห์สารต่างๆ รวมทั้งไขมันด้วย

การแยกสารประกอบด้วยเทคนิค GC ขั้นแรกจะต้องฉีดสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์เข้าในส่วนที่ให้ความร้อนในเครื่อง GC เพื่อให้ตัวถูกละลายในตัวอย่างกลายเป็นไอ แล้วผ่านเข้าในคอลัมน์โดยอาศัยกาซเป็นตัวพา stationary phase ในคอลัมน์ดูดซับตัวถูกละลายไว้ที่บริเวณส่วนต้นของคอลัมน์ จากนั้นกาซพา (carrier gas) จะทำให้ตัวถูกละลายหลุดออกจาก stationary phase และเนื่องจากตัวถูกละลายแต่ละชนิดมีความสามารถในการยึดเกาะกับ stationary phase ได้ด้วยแรงไม่เท่ากัน จึงเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ด้วยอัตราเร็วต่างกัน เป็นผลให้เกิดแถบ (band) ของตัวถูกละลายแต่ละชนิดขึ้น แถบต่างๆที่เกิดขึ้นจะแยกจากกันได้ดีเพียงใดขึ้นกับ partition ratios ของตัวถูกละลาย และความมากน้อยในการที่แถบแต่ละแถบจะแผ่ออก ตัวถูกละลายเคลื่อนออกจากคอลัมน์ตามลำดับของค่า partition ratios ที่เพิ่มมากขึ้น เมื่อออกจากคอลัมน์แล้วก็ผ่านเข้าในส่วนของ detector สัญญาณจาก detector ปรากฏบนเครื่องบันทึกในรูปของกราฟ ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับองค์ประกอบในก๊าซพา เวลาที่ peak แต่ละ peak ปรากฏขึ้นบนเครื่องบันทึกใช้บ่งชนิดของ

องค์ประกอบ และพื้นที่ของ peak จะแสดงความเข้มข้นของแต่ละองค์ประกอบในส่วนผสม (Willard, Merritt and Dean, 1974)

การเลือก liquid phase ในการวิเคราะห์ไขมันด้วย GC ขึ้นกับองค์ประกอบของตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ โดยทั่วไป liquid phase ที่ใช้ควรมีโครงสร้างทางเคมีใกล้เคียงกับองค์ประกอบของสารที่จะนำมาวิเคราะห์ Orr และ Callen (1958) รายงานว่า liquid phase ชนิด polyester เหมาะที่จะใช้สำหรับการวิเคราะห์ที่ใช้เวลาสั้น และจะให้ resolution ที่ดีในการแยก esters ของกรดไขมันทั่วๆไปกับ PUFA ชนิดที่นิยมใช้กัน คือ adipate และ succinate polyesters ของ diethylene glycol (DEGS) อย่างไรก็ตาม liquid phase ชนิดนี้มีเสถียรภาพทางความร้อนต่ำ ถ้าใช้อุณหภูมิสูงเกิน 210 °C จะเกิดการหลุดลอกหรือสลายตัวอย่างช้าๆ (bleeding) ทำให้อายุใช้งานของคอลัมน์สั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ถ้ามีการตั้งโปรแกรมอุณหภูมิคอลัมน์ระหว่างการวิเคราะห์ ซึ่งในกรณีนี้ liquid phase พวก cyanopropyl polysiloxanes จะมีประสิทธิภาพดีกว่า เนื่องจากใช้ได้กับอุณหภูมิสูงถึง 250 °C โดยทั่วไปการวิเคราะห์ FAME มักไม่ใช้อุณหภูมิสูงเกิน 225 °C ดังนั้นคอลัมน์ที่บรรจุด้วย liquid phase ชนิดนี้ จึงมีแนวโน้มที่จะเกิด bleeding เพียงเล็กน้อย องค์ประกอบ FAME ของไขมันและน้ำมันที่นำมาวิเคราะห์ ถ้ามีจำนวนคาร์บอนอยู่ในช่วง 12 ถึง 20 อะตอม และใช้คอลัมน์ที่บรรจุด้วย polar GC phase เช่น SP-2330 (Supelcoport®-2330, Supelco Inc.) peak ของ C_{20} จะแสดงออกภายใน 20 นาที เมื่อใช้คอลัมน์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ส่วนน้ำมันปลาซึ่งกรดไขมันมีจำนวนคาร์บอนสูงสุดถึง 22 อะตอม และมีพันธะคู่สูงสุดถึง 6 พันธะ (docosahexaenoic acid) การวิเคราะห์ด้วย GC จะเสร็จสมบูรณ์ภายในเวลาเพียง 1 ชั่วโมง (ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 185 °C) ซึ่ง liquid phase ชนิดนี้ มี selectivity ต่อ FAME เหมือนกับ SILAR-9C และ DEGS liquid phase ที่เคลือบบน 100/120 mesh Supelcoport® ในปริมาณ 10 % โดยน้ำหนัก ในคอลัมน์ที่มีความยาว 2 เมตร มีประสิทธิภาพสูงและให้ผลรวดเร็วในการวิเคราะห์องค์ประกอบ FAME แม้ว่าจะเป็นองค์ประกอบที่ซับซ้อนเช่นในน้ำมันปลาก็ตาม (Hammond, 1986) Mehlenbacker (1960) รายงานว่า ในการวิเคราะห์ด้วย GC elution characteristics ของสารประกอบส่วนใหญ่ จะขึ้นกับชนิดและปริมาณของ liquid phase อุณหภูมิของคอลัมน์ อัตราการไหลของกาซพา และชนิดของสารที่นำมาวิเคราะห์ ส่วน resolution ของ peaks ที่ได้จาก chromatogram จะสอดคล้องกับประสิทธิภาพของคอลัมน์และตัวทำละลาย Seino et al. (1973) สรุปว่าภาวะในการวิเคราะห์องค์ประกอบของ FAME ที่มีผลมากที่สุดต่อค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ ได้แก่ ขนาดตัวอย่างที่ฉีดเข้าในคอลัมน์และอัตราการไหลของกาซพา

การบ่งชนิดของกรดไขมันที่แยกออกมาได้ทำได้หลายวิธี วิธีหนึ่งที่นิยมใช้ คือ การวัดค่า retention times ของกรดไขมันที่แยกได้เปรียบเทียบกับ retention times ของกรดไขมันมาตรฐาน ถ้ามีระยะเวลาเท่ากัน ที่ภาวะต่างๆ อันเดียวกัน แสดงว่าเป็นกรดไขมันชนิดเดียวกัน ส่วนอีกวิธีหนึ่งเป็นการบ่งชนิดโดยสร้างกราฟระหว่างค่า log retention times ของกรดไขมันมาตรฐาน กับจำนวนอะตอมของคาร์บอน ซึ่งจะเป็นเส้นตรง และใช้กราฟนี้เป็นมาตรฐานสำหรับเปลี่ยน retention times ของตัวอย่างที่วิเคราะห์เป็นจำนวนอะตอมของคาร์บอน ทำให้สามารถบ่งชนิดกรดไขมันในตัวอย่างได้ (Mcnair and Bonelli, 1969)

<u>การใช้น้ำมันทดแทนไขมันหมูในไส้กรอกอิมัลชัน</u>

น้ำมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงนำมาทดแทนไขมันหมูในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก เพื่อให้อัตราส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่อกรดไขมันอิ่มตัวสูงขึ้น Park et al. (1989) ศึกษาสมบัติของ frankfurter ไขมันต่ำ (ปริมาณไขมันรวม 15 %) ที่ใช้น้ำมันดอกทานตะวันที่มีกรด oleic สูง (HOSO) หรือ omega-3 PUFA ในรูปของน้ำมันปลา menhaden แทนไขมันหมู โดยแบ่งเป็น 3 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 วัดความเสถียรของอิมัลชันที่ได้จากการใช้น้ำมันปลาทดแทนไขมันหมู ในปริมาณ 2.5, 5.0 และ 7.5 % หรือใช้ HOSO ทดแทนในปริมาณ 2.5, 5.0, 7.5, 9.2, 10.9 และ 12.8 % พบว่าอิมัลชันที่ได้มีเสถียรภาพไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่ใช้ไขมันหมูมากนัก การทดลองที่ 2 ผลิต frankfurter ไขมันต่ำ 3 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างแรกใช้เฉพาะไขมันหมู ตัวอย่างที่ 2 และ 3 ใช้ HOSO 7.5 % และน้ำมันปลา 5 % ทดแทนไขมันหมู ตามลำดับ พบว่า ตัวอย่างที่ใช้ HOSO ไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่ใช้ไขมันหมู ($p>0.05$) ขณะที่พวกที่ใช้น้ำมันปลา มีคะแนนการยอมรับรวมต่ำกว่าตัวอย่างอื่น จึงไม่นำมาทดลองในขั้นตอนต่อไป การทดลองที่ 3 เป็นการหาปริมาณสูงสุดของ HOSO ที่ใช้ได้ โดยเติม HOSO ในไส้กรอกจากเนื้อวัว/เนื้อหมู (40/60) 11.6 % และในไส้กรอกจากเนื้อวัวอย่างเดียว 13.1 % ผลปรากฏว่าผลิตภัณฑ์จากเนื้อวัว/เนื้อหมูและผลิตภัณฑ์จากเนื้อวัว ผสม HOSO มีปริมาณกรด oleic เพิ่มขึ้นจาก 53.9 % เป็น 72.3 % และจาก 46.4 % เป็น 75.3 % ตามลำดับ และอัตราส่วนของ monounsaturated fatty acids ต่อกรดไขมันอิ่มตัว เพิ่มขึ้นจาก 1.81 เป็น 5.03 และจาก 1.10 เป็น 6.25 ตามลำดับ

Marquez (1989) ผลิต frankfurter โดยการแทนที่ 60 % ของไขมันวัวด้วยน้ำมันถั่วลิสง จนมีปริมาณไขมันทั้งหมดในผลิตภัณฑ์เป็น 12, 20 และ 29 % พบว่า เสถียรภาพของอิมัลชัน ผลผลิต และความชุ่มน้ำของผลิตภัณฑ์ที่ได้ลดลง ($p\leq0.05$) เมื่อปริมาณไขมันลดลง

จาก 20 % หรือ 29 % เป็น 12 % แต่ปริมาณไขมันดังกล่าวไม่มีผลกระทบต่อองค์ประกอบกรดไขมันที่ได้ โดยอัตราส่วนของ PUFA ต่อกรดไขมันอิ่มตัว เพิ่มขึ้นจาก 0.11 เป็น 0.68 ปริมาณ cholesterol เพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณไขมันในผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นและ/หรือปริมาณน้ำมันถั่วลิสงที่ทดแทนลดลง

Marquez et al. (1989) ผลิต frankfurter โดยการแทนที่ 60 % ของไขมันวัวด้วยน้ำมันถั่วลิสง จนมีปริมาณไขมันทั้งหมดในผลิตภัณฑ์เป็น 12, 20 และ 29 % พบว่า ผู้ทดสอบยอมรับ frankfurter ที่ทำจากไขมันวัว 29 % มากกว่า และผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณ cholesterol ลดลง ($p \leq 0.05$)

Riendeau (1990) ผลิตไส้กรอกรมควันไขมันต่ำจากเนื้อหมูและเนื้อวัว โดยใช้ canola oil pre-emulsion 13 % (ประกอบด้วย canola oil 5 % โดยน้ำหนักผสมกับส่วนผสมของไส้กรอก) พบว่า ไส้กรอกที่ใส่ canola oil เป็นที่ยอมรับน้อยกว่าไส้กรอกที่ใช้เฉพาะไขมันหมู 13 % ($p \leq 0.05$) แต่ตัวอย่างดังกล่าวมีไขมันต่ำกว่า ($p \leq 0.05$) โดยมีปริมาณ 16.08 % ในขณะที่ไส้กรอกที่ใช้เฉพาะไขมันหมูมีไขมัน 22.38 % และไส้กรอกที่ใส่ canola oil มี cholesterol 16.3 %

Park, Rhee และ Ziprin (1990) ศึกษาผลของการใช้น้ำหรือ HOSO ทดแทนไขมันหมูในการผลิต frankfurter เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ใช้เฉพาะไขมันหมู โดยตัวอย่างที่ใช้ HOSO หรือที่ใช้เฉพาะไขมันหมู แปรปริมาณไขมันเป็น 4 ระดับ คือ 10 %, 13 %, 15 % และ 27 % และน้ำ 2 ระดับ คือ 25 % และ 10 % โดยตัวอย่างที่มีไขมัน 10 %, 13 % หรือ 15 % ให้มีน้ำ 25 % และตัวอย่างที่มีไขมัน 27 % ให้มีน้ำ 10 % ผลการทดลองพบว่า HOSO frankfurter มีอัตราส่วนของ monounsaturated fatty acids ต่อกรดไขมันอิ่มตัว (M/S ratio) สูงกว่าตัวอย่างที่ผลิตจากไขมันหมู ตัวอย่างที่ใช้ HOSO 10 %, 13 %, 15 % และ 27 % มีค่า M/S ratio เป็น 2.56, 3.27, 3.16 และ 3.79 ตามลำดับ ขณะที่ตัวอย่างที่ใช้เฉพาะไขมันหมู 10 %, 13 %, 15 % และ 27 % มีค่า M/S ratio เป็น 0.90, 1.12, 1.13 และ 1.11 ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณไขมัน 14 - 16 % น้ำ 25 % มีคะแนนการยอมรับรวมไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่ใช้เฉพาะไขมันหมู 27 % และไม่มีปัญหาในด้านลักษณะเนื้อสัมผัส แต่เมื่อปริมาณ HOSO เพิ่มเป็น 27 % คะแนนการยอมรับ ผลิตภัณฑ์อยู่ในระดับต่ำที่สุด

Hammer (1991) ผลิตไส้กรอก Brühwurst โดยใช้น้ำมันมะกอกหรือ HOSO ทดแทนไขมันหมูในปริมาณ 25 % พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสัดส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเพิ่มมากขึ้น

และปริมาณดังกล่าวไม่มีผลต่อเสถียรภาพของไส้กรอก (โดยไม่ต้องเติมสาร emulsifiers) แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะแห้งกว่าไส้กรอกที่ทำจากไขมันหมูเล็กน้อย

Tyburcy et al. (1992) ผลิตไส้กรอก Bockworst โดยทดแทนไขมันหมูด้วยน้ำมัน rapeseed 5 % และ 10 % พบว่า ไส้กรอกที่ใช้ไขมันหมู 10 % มี cholesterol 83 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมเนื้อ ตัวอย่างที่ใช้น้ำมัน rapeseed 10 % มี cholesterol 63 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมเนื้อ และอัตราส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่อกรดไขมันอิ่มตัวในผลิตภัณฑ์ที่ทำจากไขมันหมู 10 % น้ำมัน rapeseed 5 % และ 10 % เป็น 1.6, 2.0 และ 2.3 ตามลำดับ

Hammer (1993) ผลิต frankfurter โดยใช้ไขมัน 3 ชนิด คือ ไขมันหมู น้ำมันมะกอก และ HOSO พบว่า การใช้น้ำมันทดแทนไขมันหมูไม่ก่อให้เกิดปัญหาในกระบวนการผลิต frankfurter โดยในการสับต้องทำให้ผลิตภัณฑ์มีอุณหภูมิระหว่าง 12 - 15 ^{o}C การใช้น้ำมันพืชทำให้มีอัตราส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่อกรดไขมันอิ่มตัวเพิ่มขึ้น และไม่จำเป็นต้องใช้สาร emulsifiers น้ำมันพืชไม่ทำให้รสชาติของไส้กรอกด้อยลง แต่จะมีผลต่อลักษณะ เนื้อสัมผัสบ้างเล็กน้อย และต้องใช้เครื่องเทศที่กลิ่นแรงมากกว่าไส้กรอกที่ทำจากไขมันหมู นอกจากนั้นไส้กรอกจากน้ำมันพืชยังมีสีจางกว่าไส้กรอกจากไขมันหมูอีกด้วย

ส่วนใหญ่แล้วไส้กรอกอิมัลชันที่ผลิตโดยการทดแทนไขมันสัตว์ด้วยไขมันไม่อิ่มตัวจะมีปัญหาที่ลักษณะเนื้อสัมผัสซึ่งแตกต่างไปจากผลิตภัณฑ์เดิม ปัญหาดังกล่าวนี้อาจแก้ไขได้โดยลดส่วนผสมที่ไม่ใช่เนื้อสัตว์ลง และ/หรือใช้เทคนิคผลิตที่เฉพาะขึ้น Sofos และ Allen (1977) รายงานไว้ว่าโปรตีนถั่วเหลืองแปลงเนื้อสัมผัส (textured soy protein) เมื่อใช้แทนเนื้อแดง (lean meat) ในปริมาณมากกว่า 25 - 30 % ใน frankfurter ที่มีไขมัน 30 % ผลิตภัณฑ์จะมีเนื้อสัมผัสนุ่มขึ้น แม้ว่าลักษณะเนื้อสัมผัสที่นุ่มเกินไปจะเป็นข้อจำกัดในการใช้โปรตีนถั่วเหลืองในไส้กรอกอิมัลชันไขมันสูง แต่โปรตีนดังกล่าวอาจใช้แทนที่ไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ไขมันต่ำได้ (Rakosky, 1970)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย