1281

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาคุณภาพของเนื้อปลากรายขดภายใต้การบรรจุแบบสุญญากาศ

(Study on Quality of Vacuum-Packed,Ground Spotted Featherback Fish)

โดย

นางสาวกุลนธี สันติกฤษณเลิศ

นางสาวรมณีย์ สิมะกรพินธ์

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 23/3/37 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(วิโล สนธิเพิ่มพูน)

= 7 มี.ค. 2541

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....

(นายวรชุดิ ศรุติ)

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 28 เดือน เม.ย. พ.ศ. 37

ฝพ.
ท 72 ธก
2536

14487

หอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาคุณภาพของเนื้อปลากรายบดภายใต้การบรรจุแบบสุญญากาศ

Study on Quality of Vacuum-Packaged,Ground Spotted Featherback Fish

T096505

นางสาวกุลธี สันติกฤษณเลิศ

นางสาวรมณีย์ สิมะกรพินธ์

ปพ.
ก726ก
2537

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....96505
วัน,เดือน,ปี.....

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

พ.ศ.2537

กุลนธี สันติกฤษณเลิศ และ รมณีย์ สิมะกรพินธ์ : การศึกษาคุณภาพของเนื้อปลากรายบดภายใต้สภาวะสุญญากาศ (Study on Quality of Vacuum-Packed Spotted Featherback Fish).ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง. อาจารย์ที่ปรึกษา : อ.วิไล สนธิเพิ่มพูน, 71 หน้า

การศึกษาคุณภาพของเนื้อปลากรายบดภายใต้การบรรจุแบบสุญญากาศ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงสภาพการเก็บที่เหมาะสมในการช่วยยืดอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบด โดยนำเนื้อปลากรายบด ซึ่งมีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นเท่ากับ 9.4×10^4 CFU/g. มาบรรจุในถุงโพลีเอทธิลีนเคลือบไนลอน แล้วเก็บที่สภาวะการเก็บต่างๆกันคือ ภายใต้สภาพบรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 4 และ -20°C และ ภายใต้สภาพสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 4 และ -20 °C จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ เคมี และการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสทุกๆ 3 วันเป็นเวลา 15 วัน พบว่า ที่อุณหภูมิ 4 °C เนื้อปลากรายบดที่เก็บในสภาพบรรยากาศปกติ ผู้บริโภคเริ่มไม่ยอมรับในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาโดยมีปริมาณจุลินทรีย์ $1.1 * 10^8$ CFU/g.และไม่พบ*Cl.perfringens* ส่วนเนื้อปลากรายบดที่เก็บในสภาพสุญญากาศ ผู้บริโภคเริ่มไม่ยอมรับในวันที่ 6 ของการเก็บรักษาโดยมีปริมาณจุลินทรีย์ $1.8 * 10^7$ CFU/g. และไม่พบ *Cl. perfringens* สำหรับที่อุณหภูมิ -20 °C เนื้อปลากรายบดที่เก็บรักษาในสภาพปกติ และสภาพสุญญากาศ การยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภค ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาพสุญญากาศ ปริมาณจุลินทรีย์ในช่วงแรกมีแนวโน้มต่ำกว่าที่เก็บในสภาพบรรยากาศปกติ และเมื่อเก็บไว้ 15 วันแล้ว ปริมาณจุลินทรีย์ของทั้ง 2 สภาวะการเก็บจะอยู่ในช่วง 10^8 CFU/g. ซึ่งยังอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามมาตรฐาน มอก.2535 แต่เนื้อปลากรายบดที่เก็บในสภาพสุญญากาศมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์น้อยกว่าที่เก็บในสภาพบรรยากาศปกติและมีแนวโน้มที่จะสามารถรักษาคุณภาพในด้าน สี และ ความเหนียวได้ดีกว่าเมื่อเก็บในสภาพบรรยากาศปกติ

กุลนธี สันติกฤษณเลิศ 23/3/37

ลายมือชื่อนักศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษา วัน เดือน ปี

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำปัญหาพิเศษฉบับนี้ ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ อาจารย์วิไล สนธิเพิ่มพูน ที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ซึ่งให้คำแนะนำและแก้ไขปัญหาพิเศษให้ถูกต้องสมบูรณ์ และขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วุฒิชัย นาครักษา และ ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์ ที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ขอขอบคุณ บริษัท C.P.FOOD PRODUCT จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านวัตถุดิบ และถุง LLDPE เคลือบ NYLON

ขอขอบคุณ สำหรับน้ำใจ และ ความช่วยเหลือ รวมทั้งกำลังใจจากเพื่อนๆ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร รุ่นที่ 10

และท้ายที่สุดขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณปู่ คุณย่า และญาติพี่น้อง ที่คอยให้ความห่วงใยและดูแล จนกระทั่งการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

กุลนธี สันติกฤษณเลิศ

รมณีย์ สิมะกรพินธ์

มีนาคม 2537

สารบัญ

บทคัดย่อ ก

กิตติกรรมประกาศ ข

สารบัญตาราง ง

สารบัญภาพ ฉ

บทที่

1. บทนำ 1
2. วารสารปริทัศน์ 2
3. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง 11
4. ผลการทดลองและวิจารณ์ 17
5. สรุปผลการทดลอง และ ข้อเสนอแนะ 40

เอกสารอ้างอิง 43

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก 48

ภาคผนวก ข 65

ประวัติผู้เขียน 72

สารบัญตาราง

ตารางที่

1. ปริมาณความชื้นของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน 18
2. ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน 21
3. ปริมาณแอมโมเนีย ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน 24
4. ปริมาณแอสตาแซนทิน ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน 27
5. ค่าความเหนียว ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน 30
6. ปริมาณจุลินทรีย์ ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน 33
7. การประเมินอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบด ที่บรรจุแบบบรรยากาศปกติ และการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 36
8. การประเมินอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบด ที่บรรจุแบบสุญญากาศ และการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 37
9. การประเมินอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบด ที่บรรจุแบบบรรยากาศปกติ และการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส 38
10. การประเมินอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบด ที่บรรจุแบบสุญญากาศ และการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส 39

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่

1. ค่า MPN (Most Probable Number) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% 62
2. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยความชื้น ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บรักษาที่สภาวะต่างๆกัน 67
3. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยpH ของเนื้อปลากรายบดที่เก็บรักษาที่สภาวะต่างๆกัน 68
4. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยปริมาณแอมโมเนีย ของเนื้อปลากรายบดที่เก็บรักษาที่สภาวะต่างๆกัน 69
5. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยปริมาณแอสตาแซนทีน ของเนื้อปลากรายบดที่เก็บรักษาที่สภาวะต่างๆกัน 70
6. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยความเหนียวของเนื้อปลากรายบดที่เก็บรักษาที่สภาวะต่างๆกัน 71

สารบัญภาพ

ภาพที่

1. ชิ้นปลากรายแล่ 15
2. การขูดเนื้อปลากราย 16
3. เนื้อปลากรายบดที่บรรจุในถุง LLDPE ลามิเนตด้วย NYLON ในสภาพบรรยากาศปกติ และสภาพสุญญากาศ 16
4. ปริมาณความชื้นของเนื้อปลากรายบดที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน 19
5. ค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อปลากรายบดที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน 22
6. ปริมาณแอมโมเนียของเนื้อปลากรายบดที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน 25
7. ปริมาณแอสตาแซนทีนของเนื้อปลากรายบดที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน 28
8. ค่าความเหนียวของเนื้อปลากรายบดที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน 31
9. ปริมาณจุลินทรีย์ของเนื้อปลากรายบดที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน 35

บทที่ 1

บทนำ

ปลากราย เป็นอาหารที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีเนื้อที่อร่อย และมีความเหนียว จึงเหมาะในการนำมาทำ ลูกชิ้น และทอดมัน แต่ปลากรายเป็นปลาที่มีราคาแพง และหาได้ยาก ประกอบกับมีความชื้นสูง และเป็นอาหารประเภทโปรตีน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่ดีในการเจริญของจุลินทรีย์ ทำให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่เน่าเสียได้ง่าย

การบรรจุแบบสุญญากาศ เป็นวิธีหนึ่งที่สามารถช่วยยืดอายุการเก็บของเนื้อปลากราย และผลิตภัณฑ์อื่นๆได้ เนื่องจากวิธีนี้จะมีการดึงอากาศออกก่อนการปิดผนึกภาชนะบรรจุ และ ภาชนะบรรจุที่ใช้ ต้องสามารถป้องกันการผ่านเข้าออกของออกซิเจนและแก๊สต่างๆได้ ทำให้ลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ประเภทที่ต้องการอากาศลงได้ ซึ่งจะสามารถช่วยรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำนานๆ

วัตถุประสงค์ในการศึกษาคุณภาพของเนื้อปลากรายบดในสภาพการบรรจุแบบสุญญากาศนี้ คือ

1. เพื่อศึกษาอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบดภายใต้สภาวะการเก็บแบบสุญญากาศ
2. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ทางกายภาพ และปริมาณจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บปลากรายบดในสภาพสุญญากาศ
3. เพื่อประเมินการยอมรับของเนื้อปลากรายบดเมื่อเก็บภายใต้สภาพสุญญากาศ โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

ปลากราย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *notopterus chitala* เป็นปลาที่มีรูปร่างแปลกกว่าปลาอื่น ๆ ที่ตัวแบน(ข้าง)มาก ลำตัวกว้างเกล็ดละเอียดและครีบที่ก้นยาวตลอดไปติดครีบหาง ตามปกติมีจุดดำที่โคนหาง ประมาณ 4-5 จุด ซึ่งเป็นจำนวนไม่แน่นอน ขนาดยาวประมาณ 48.4-85 เซนติเมตร ปลากรายเป็นปลาน้ำจืด ซึ่งจะพบในแม่น้ำลำคลอง และห้วยหนองของภาคกลาง เช่น กรุงเทพฯ, บึงบรเพ็ด, คลองสำโรง, แม่น้ำเจ้าเจ็ดบ้านโพ, คลองสุพรรณบุรีและน่านน้ำอื่น ๆ ปลากรายชอบผุดขึ้นมาทำเสียงที่ผิวน้ำแล้วม้วนตัวกลับให้เห็นข้างขาวคล้ายสีเงิน เมื่อยังเล็กอยู่ ขนาด 8-9 เซนติเมตร ปลากรายมักมีแถบดำประมาณ 10-15 แถบ แถบเหล่านี้จะเปลี่ยนเป็นจุดขณะที่ปลาเติบโตขึ้น ปลากรายจะกินแมลง,กุ้ง และปลาตัวเล็ก ๆ ที่ว่ายอยู่ตามผิวน้ำ เช่น ปลาเข็ม ปลาตะเพียน และปลาเสือ

สำหรับเนื้อปลากรายบดเป็นผลิตภัณฑ์อีกชนิดหนึ่งที่นิยมบริโภคอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีเนื้ออร่อยและเนื้อมีความเหนียว จึงนิยมนำมาทำลูกชิ้น และทอดมัน แต่ปลากรายเป็นปลาที่มีราคาแพงและหาได้ยาก

ลักษณะเด่นของเนื้อปลากรายบดนั้นอยู่ที่ความเหนียวของเนื้อปลา ดังนั้นคุณภาพที่เป็นที่ต้องการของของผู้บริโภคต่อเนื้อปลากรายบดนั้นจึงอยู่ที่ความเหนียวเป็นสำคัญ ซึ่งพบว่าความเหนียวของเนื้อปลาบดโดยทั่วไปมีความสัมพันธ์กับชนิดของปลา ความสด และเทคนิคในการผลิต (Akahane,1983) นอกจากนี้ยังพบว่า โปรตีนไมโอไฟบริลลา (myofibrilla) ของกล้ามเนื้อปลาเป็นองค์ประก่อบที่สำคัญในการ form gel ทำให้ได้เจลที่แข็งแรงอีกด้วย (Suzuki,1981)

กลไกการเกิดเจลของเนื้อปลาบดมีความสลับซับซ้อน (Suzuki,1981) เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมี และเคมีฟิสิกส์ของโปรตีนในเนื้อปลา โปรตีนในเนื้อปลาแบ่งได้เป็น 3 ชนิด ตามลักษณะการละลาย คือ

1.<u>ซาโคพลาสมิกโปรตีน</u> (sacoplasmic protein) หรือ ไมโอเจน (myogen) ประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิดที่สามารถละลายได้ในน้ำ (water soluble protein) หรือสาร

ละลายเกลือที่มี ionic strength ต่ำ ๆ ได้แก่ อัลบมิน และโกลบลิน ซึ่งอยู่ในซาโคพลาสมา มีประมาณ 20-30 % ของโปรตีนทั้งหมด โปรตีนจำพวกนี้ประกอบด้วยเอนไซม์ที่ละลายน้ำได้และตกตะกอนด้วยความร้อน เชื่อว่า ซาโคพลาสมิกโปรตีนเป็นตัวขัดขวางการเกิดเจลในเนื้อปลา ดังนั้นขั้นตอนการผลิตเนื้อปลาบดจึงจำเป็นต้องมีการล้างเนื้อปลาในน้ำเพื่อกำจัดเลือดและกลิ่นคาวปลาออกไป ที่สำคัญคือช่วยกำจัดซาร์โคพลาสมิกโปรตีนออกไปด้วย

2. ไมโอไฟบริลาโปรตีน (myofibrillar protein) ลักษณะเป็นเส้น ใช้ในการยืดหดตัวของกล้ามเนื้อ มีประมาณ 65-72 % ของโปรตีนทั้งหมด เป็นโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของไมโอไฟบริล (myofibril) ซึ่งประกอบด้วยไมโอซิน (miosin) และแอกติน (actin) เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังมี โปรตีนโทรโปไมโอซิน (tropomyosin), โทรโปนิน (troponin) และแอกตินิน (actinin) โปรตีนกลุ่มนี้สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือที่มี ionic strength ประมาณ 0.45-0.60 เป็นโปรตีนที่สำคัญในการเกิดเจล(Suzuki,1981)

ไมโอซิน เป็นโปรตีนที่มีโมเลกุลเป็นโซ่ยาว เรียงตัวเป็นร่างแห (net work) ช่วยให้เกิดความเหนียวและสามารถอุ้มน้ำได้ดี มีหมู่ SH ที่เป็นอิสระและว่องไวต่อปฏิกริยาเคมี จึงเปลี่ยนแปลงง่าย ถูกย่อยได้ง่ายด้วย ทริปซิน (trypsin) และ ไคโมทริปซิน (chymotrypsin)

แอกติน มีผู้ศึกษาน้อยมาก ทั้ง ๆ ที่มีบทบาทในการยืดหดตัวของกล้ามเนื้อเช่นกัน

แอกโตไมโอซิน เกิดจากโปรตีนแอกตินและไมโอซิน เป็นองค์ประกอบหลักของไมโอไฟบริลลาโปรตีน ที่ละลายในสารละลายเกลือ และเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการเกิดเจล ในกรณีที่ใช้ปลาแช่เยือกแข็งที่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพของโปรตีนเนื่องจากความเย็น ความสามารถในการเกิดเจลจะลดลง เนื่องจากไมโอไฟบริลลาโปรตีนมีความสามารถในการละลายลดลง

3. สโตรมาโปรตีน (stroma protein) เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ไม่สามารถสกัดได้ด้วยน้ำ กรด ด่างเจือจาง และสารละลายเกลือที่เป็นกลางที่มีความเข้มข้น 0.01-0.1 M องค์ประกอบของโปรตีนชนิดนี้ได้แก่ คอลลาเจน (collagen) และอีลาสติน (elastin) พบประมาณ 5-8 % ของโปรตีนทั้งหมดในปลากระดูกแข็ง ส่วนในปลากระดูกอ่อน (elasmobranch) เช่น ปลากระเบน และปลาฉลาม พบว่ามีสูงประมาณ 10 % ของโปรตีนทั้งหมด

Wu และคณะ (1985) พบว่ากลไกในการเกิดเจล เมื่อเติมเกลือ 2-3 % ของน้ำหนักปลา ทำให้ได้เนื้อปลาที่มีลักษณะข้นหนืด Niwa (1984) สันนิษฐานว่า โปรตีนไมโอไฟบริลลา เช่น แอคโตไมโอซิน และแอกติน จะละลายในสารละลายเกลือ และมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ เนื่องจากโซเดียมและคลอไรด์ไอออนเข้าไปเกิดพันธะกับอนุมูลของ acidic และ basic amino acid ทำให้ intermolecular ionic bond ระหว่างโมเลกุลโปรตีนเกิดการแยกออกจากกัน เป็นผลทำให้โปรตีนเกิดการกระจายตัวออกมาอยู่ในน้ำ จึงลดโอกาสที่โปรตีนจะเกิดพันธะระหว่างกันเอง นอกจากนี้ยังพบว่า สามารถใช้เกลือโพแทสเซียมคลอไรด์แทนโซเดียมคลอไรด์ได้โดยไม่เปลี่ยนแปลงระบบการเกิดเจลแต่อย่างใด (Ishioreshi,1979)

โปรตีนไมโอซิน เป็นโปรตีนที่ช่วยให้เกิดความเหนียวและสามารถอุ้มน้ำได้ดี ปลาหลังจับใหม่ ๆ มีความสด ปริมาณไมโอซินสูงสุด และจะลดลงเป็นลำดับตามระยะเวลาการเก็บพร้อมกับมีการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติของโปรตีน (denature) ด้วย Jiang และคณะ (1985) พบว่าเมื่อทำการแช่เยือกแข็งที่ -20 °C นาน 3 เดือน ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือจะลดลงเมื่อระยะเวลาในการแช่แข็งนานขึ้น เมื่อเก็บปลาไว้ในสภาพแช่เยือกแข็ง โปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือซึ่งประกอบด้วยไมโอซินและแอกตินจะละลายได้น้อยลง เนื่องจากกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำยื่นออกมาจากสายโมเลกุลโปรตีน (Niwa,1986) ในขณะที่โปรตีนที่ละลายในน้ำ ยังสามารถละลายได้เช่นเดิม และยังลดกิจกรรมของเอนไซม์ ATPase และความสามารถของไมโอซินในการจับกับแอกติน เมื่อทำการแช่แข็งและละลายน้ำแข็ง

Jiang และคณะ (1987) ได้ศึกษาการแช่เยือกแข็งโปรตีนไมโอไฟบริลลาของปลานวลจันทน์ทะเลที่ -20 °C นาน 12 สัปดาห์ พบว่า การละลายได้ของโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือจะลดลงมากกว่า 80 %

การเสื่อมคุณภาพของเนื้อปลาบด ส่วนใหญ่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์จากแบคทีเรีย ทำให้ได้สารประกอบต่าง ๆ หลายชนิด เช่น สารประกอบเอมีน(amine) ซึ่งมีทั้งเอมีนที่ระเหยได้ (total volatile base nitrogen,TVB-N) ซึ่งเป็นค่ารวมของไตร - เมทิลลามีน (TMA-N) ไดเมทิลลามีน (DMA-N) และ แอมโมเนีย รวมทั้งเอมีนที่ระเหยไม่ได้ เช่น ฮีสตามีน (histamine) ฟิวทรีซีน(fusitine) และคาดาเวอรีน(cadeverine) นอกจากนั้นยังมี อินโดล (indole) สกาโตล (skatole) และกรดต่าง ๆ เมื่อการเน่าเสียเพิ่ม

ขึ้นปริมาณแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียหลายชนิดจะเพิ่มขึ้นด้วย

เนื้อปลาบดเป็นอาหารที่เน่าเสียง่าย เนื่องจากมีความชื้นสูงและยังประกอบด้วยสารประกอบโปรตีน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่ดีในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ การเสื่อมเสียเกิดขึ้นเนื่องจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในตัวปลาเอง หรือเกิดการปนเปื้อนขึ้นในภายหลัง กิจกรรมของจุลินทรีย์จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านกลิ่นและ flavor จุลินทรีย์จะสามารถเข้าทำลายเนื้อปลาได้หลังจากที่เอนไซม์ที่ย่อยสลายตัวเองในระยะแรกเข้าย่อยโปรตีนทำให้จุลินทรีย์สามารถใช้สารเหล่านั้นได้ดียิ่งขึ้น หลังจากนั้นเอนไซม์ของจุลินทรีย์จึงเริ่มเข้ามามีบทบาทโดยการย่อยเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติบริเวณเหงือก ทางเดินอาหาร และเมือก ได้แก่ *Achromobacter, Flavobacterium, Psudomonas* และ *Micrococcus* ผลการย่อยทำให้เกิดสารเอมีน แอมโมเนีย แอลกอฮอล์ และไนไตรท์ การสะสมของสารเหล่านี้ ทำให้เกิดกลิ่นคาวปลา นอกจากนั้นกรดอะมิโนบางตัว เช่นฮีสติดีนยังทำให้เกิดกลิ่นฉุนในเนื้อปลา

การย่อยตัวเองของเอนไซม์ (autolysis) เมื่อปลาตายการไหลเวียนของเลือดหยุดชงักกระบวนการเมตาโบลิสม์จะหยุดทำงาน เอนไซม์ซึ่งมีอยู่ภายในร่างกายมีปริมาณมากไม่ถูกทำลาย แต่ระบบการทำงานของเอนไซม์จะต่างไปจากขณะมีชีวิตอยู่ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณออกซิเจนในเนื้อเยื่อหมดลง เอนไซม์ที่ย่อยโปรตีน (proteolytic enzyme) ซึ่งพบมาก 2 แหล่งคือจากเครื่องใน และอวัยวะต่าง ๆ ส่วนเอนไซม์ที่ย่อยเนื้อเยื่อ (tissue enzyme) ย่อยในกล้ามเนื้อแตกตัว(degradation) ทำให้เนื้อเยื่อบางส่วนสลายตัวเป็นน้ำเล็กน้อย (liquification) ช่วยให้แบคทีเรียย่อยได้ง่ายขึ้น เอนไซม์ที่สำคัญ ได้แก่ cathepsin,trypsin และ pepsin ย่อยสลายโปรตีนได้ polypeptide, peptide และ amino acid ตามลำดับ

การย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์ที่ผลิตจุลินทรีย์ ซึ่งได้แก่ เอนไซม์ adenosine deaminase และ adenosine monophosphate deaminase (Cheuk,1979) ภายหลังการย่อยสลายจะเกิดแอมโมเนีย อินโดล อะมีน หรือไฮโดรเจนซัลไฟด์ ทำให้เกิดกลิ่นไม่ดีในอาหารนั้น ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณแอมโมเนียสามารถใช้เป็นตัวชี้แสดงถึงคุณภาพของอาหารทะเลได้ (นงลักษณ์,2531) แอมโมเนียเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถไฮโดรไลซ์โปรตีนได้ เอนไซม์ที่มีอยู่ในจุลินทรีย์จะย่อยสลายโปรตีนให้แอมโมเนียได้ 3 ทางด้วยกัน คือ

1.กระบวนการ Deamination Decarboxylation และ Oxidation เกิดกรดไขมันกับแอมโมเนีย ดังสมการ

$$R\text{-}CH\ NH_2COOH + H_2O + O_2 \text{ ------- } R\text{-}COOH + H_2O + CO_2 + NH_3$$

2.กระบวนการ Deamination และ Decarboxylation ทำให้เกิดแอลกอฮอล์และแอมโมเนีย ดังสมการ

$$R\text{-}CH\ NH_2COOH + H_2O \text{ ------- } R\text{-}CH_2O + CO_2 + NH_3$$

3.กระบวนการ Reduction-Deamination เกิดกรดและแอมโมเนีย ดังสมการ

$$COOH\text{-}CH\ NH_2COOH \text{ ------- } COOHCH_2\ COOH + NH_3$$

การใช้แอมโมเนียซึ่งเป็นแก๊สที่ระเหยได้เป็นตัวบ่งชี้การเน่าเสียการเพิ่มขึ้นของปริมาณแอมโมเนียในปลาที่เน่าเสียอาจบอกความผันแปรทางประสาทสัมผัสของผู้ชิมได้ แอมโมเนียเกิดขึ้นได้ช้าเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ และเมื่ออุณหภูมิที่เก็บเพิ่มขึ้น ปรากฏว่าปริมาณแอมโมเนียเพิ่มขึ้นเนื่องจากเอนไซม์ดังกล่าวมีปฏิกริยาเพิ่มขึ้น ปริมาณแอมโมเนียที่เกิดขึ้นนั้น ขึ้นอยู่กับ ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในอาหาร (Yeh และคณะ,1978) Vanderzant (1971)ได้ทดลอง เชื่อเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *Pseudomonas, Bacillus* และ Colifrom ลงในกุ้ง ปรากฏว่ากุ้งที่เชื่อเชื้อ *Pseudomonas* เน่าเสียเร็วกว่าตัวอย่างควบคุมที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์และมีแอมโมเนียเพิ่มขึ้น ในขณะที่เชื่อเชื้ออื่น ๆ เน่าเสียช้ากว่าตัวอย่างควบคุม

การเกิดแอมโมเนียในอาหารโปรตีนนั้น เกิดจากจุลินทรีย์สร้างเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน ปฏิกิริยานี้เกิดขึ้นได้ทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (Salle ,1961) เมื่อปริมาณจุลินทรีย์ในเนื้อปูและปลาเพิ่มขึ้นจะทำให้อาหาร

ทะเลมีกลิ่นบูดเน่าและเกิดแอมโมเนีย ต่อจากนั้นอาหารจะเริ่มเกิดเมือกและพบเชื้อราเจริญบนผิวของเนื้อปูด้วย (Parkin และคณะ,1981; Parkin และ Brown,1983) ดังนั้นจึงอาจใช้ปริมาณแอมโมเนียที่เกิดขึ้นเป็นดัชนีในการบอกการเสื่อมเสียคุณภาพได้

สีของเนื้อปลาบดเป็นคุณภาพที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ผู้บริโภคสามารถสังเกตได้ และมีผลต่อการยอมรับหรือไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์นั้น ๆ Skrede และคณะ (1989) ได้ทำการทดลองหา carotenoid pigment ในปลาrainbow trout ได้รายงานว่ารงควัตถุที่พบได้แก่ แอสตาแซนทีน (Astaxanthin) ซึ่งมีผลต่อสีของเนื้อปลา

แอสตาแซนทีน เป็นรงควัตถุในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoid) รงควัตถุเหล่านี้พบมากในปูและปลาบางชนิด ได้แก่ปลาเทร้า (trout) และ แซลมอน (salmon) เป็นต้น โครงสร้างรงควัตถุกลุ่มนี้เป็นแบบ เทอพีนนอยด์ (terpenoid) ให้สีในกลุ่มสีเหลือง,ส้ม จนถึงสีแดง(Simpson,1982) รงควัตถุชนิดนี้สัตว์ได้รับจากอาหารที่กินเข้าไปหรือเกิดจากถูกออกซิไดส์ของแคโรทีนอยด์ ซึ่งสัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เอง (Goodwin,1960)

แอสตาแซนทีน (3,3'-dihydroxy-4,4'-dioxo-β-carotene) ที่พบมี 3 ลักษณะ ได้แก่ แอสตาแซนทีนที่ไม่ถูกเปลี่ยนเป็นเอสเทอร์ (unesterified) แอสตาแซนทีนที่อยู่ในรูปเอสเทอร์ของกรดไขมันและแอสตาแซนทีนที่จับกับโปรตีน รงควัตถุสองแบบแรกไม่ละลายน้ำ ส่วนรงควัตถุที่จับกับโปรตีนสามารถละลายในน้ำได้ แอสตาแซนทีนที่ถูกเอสเทอร์ริฟายด์(esterified) มักสะสมใต้ผิวหนังของสัตว์ (epidermis) ส่วนแอสตาแซนทีนที่จับกับโปรตีนนั้นพบในถุงรงควัตถุ (Chromatophore) ของสัตว์และในเนื้อเยื่อส่วนอื่น ๆ เช่นเลือด ตา และไข่ของสัตว์ เป็นต้น แอสตาแซนทีนเมื่อถูกออกซิไดส์จะเปลี่ยนเป็นแอสตาซีน (astacean) (3,3' 4,4'-tetraxo-β-carotene) (Goldblith et.al,1963) นอกจากแอสตาแซนทีนแล้ว สัตว์ตระกูลนี้ยังพบรงควัตถุพวกแคโรทีนอยด์อื่น ๆ คือ β-carotene , cryptoxanthin และ xanthophylls ชนิดอื่น ๆ ด้วย (Goodwin,1960)

เมื่อแอสตาแซนทีนที่จับกับโปรตีนแล้วได้รับความร้อน เช่น โดยการต้ม โปรตีนจะเปลี่ยนสภาพ (denature) และทำให้รงควัตถุชนิดนี้จะเปลี่ยนจากสีเขียวเข้มเป็นสีแดง รงควัตถุในกลุ่มแคโรทีนอยด์นี้ สามารถสลายได้เนื่องจากความร้อน เช่นโดยวิธีการทำแห้งและเมื่อถูกแสง ออกซิเจน และความเป็นกรด โดยเฉพาะถ้าเปลี่ยนไปอยู่ในสภาพอิสระ (Simpson,1982)

รงควัตถุแอสตาแซนทีนในสัตว์ที่มีชีวิตอยู่จะอยู่ในรูปเอสเทอร์ของกรดไขมัน เมื่อสัตว์ตายเอนไซม์ที่มีสมบัติ ไฮโดรไลซ์ (hydrolyse) ไขมันจะไฮโดรไลส์รงควัตถุนี้ได้ โมโนเอสเทอร์ (monoester) และแอสตาแซนทีนอิสระ แอสตาแซนทีนที่อิสระนี้เอง ไม่ทนต่อสภาพแวดล้อมจึงสลายตัวได้โดยง่าย แต่เนื่องจากสิ่งแวดล้อมที่สกัดได้เป็นสารประกอบรงควัตถุหลายชนิด ดังนั้นจึงแก้ค่าความคลาดเคลื่อนของค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นโดยรายงานปริมาณแอสตาแซนทีน จากอัตราส่วนระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร ต่อ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 390 นาโนเมตร ซึ่งคือรงควัตถุอื่น ๆ ที่ไม่ใช่แอสตาแซนทีน อัตราส่วนดังกล่าวจะมีค่ามาก เมื่อปริมาณแอสตาแซนทีนถูกออกซิไดส์น้อย และ มีค่าลดลง เมื่อแอสตาแซนทีนถูกออกซิไดส์มากขึ้น (Goldblith และคณะ,1964 ; Biede และคณะ ,1982) นอกจากนี้ยังมีรายงานเพิ่มเติมอีกว่า อุณหภูมิในการเก็บรักษาก็มีผลต่อการสลายของรงควัตถุชนิดนี้ เช่นเดียวกัน (Lusk และคณะ,1964; Chen และคณะ ,1984)จากการศึกษาของ Chen และคณะ (1984) ในการเก็บรักษา rainbow trout ในสภาพกำจัดออกซิเจน ปรากฏว่าแอสตาแซนทีนในปลาที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง (-20 °C) สามารถสลายตัวทำให้สีของเนื้อปลาซีดลง การเปลี่ยนแปลงนี้เนื่องจาก ผลของเอนไซม์บางชนิดในเนื้อเยื่อปลาที่มีสมบัติคล้ายเอนไซม์ lipoxygenaseซึ่งสามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทีน เป็นสารประกอบพวกคาร์บอนิลบางชนิดที่ไม่มีสี กิจกรรมของเอนไซม์ ดังกล่าวขึ้นกับ อุณหภูมิ,ชนิด,ธรรมชาติของไขมัน และความสดของปลา (Tsukuda and Amano,1976) แต่เมื่อเก็บที่สภาพสุญญากาศ ปรากฏว่า สามารถชลอการออกซิไดส์ของแอสตาแซนทีนได้ ทำให้สีซีดช้ากว่าเมื่อเก็บในบรรยากาศปกติ (Biede และคณะ, 1982)

Storebakken (1991)รายงานว่าแคโรทีนอยด์จะถูกทำให้เสถียรระหว่างการแช่แข็ง ซึ่งอุณหภูมิระหว่างการเก็บรักษาและความเข้มของออกซิเจนเป็นสิ่งสำคัญ Krinsky(1989) รายงานว่า การเสื่อมเสียของ แคโรทีนอยด์สามารถเสื่อมเสียโดย non-enzyme เช่น จากแสง ความร้อน หรือ ออกซิเจน และจากเอนไซม์ เช่น lypoxygenase , peroxidase Hong K. No(1991) รายงานว่า การบรรจุแบบสุญญากาศ สามารถเก็บปลา rainbow trout ได้น้อยกว่า 6 เดือน ที่ -20 °C โดยไม่มีการสูญเสียแคโรทีนอยด์อย่างมีนัยสำคัญ อุณหภูมิในการเก็บและความเข้มข้นของออกซิเจนเป็นสิ่งสำคัญ ในการวัดอัตราการสูญเสียรงควัตถุระหว่าง

กระบวนการและการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ แคโรทีนอยด์จะเสถียรในสภาพการบรรจุแบบบรรยากาศที่ 1-2 °C ในขณะที่การบรรจุแบบสุญญากาศที่มีการดึงออกซิเจนออกหมดหรือเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ จะเป็นปฏิปักษ์ต่อความเสถียรของสีเนื่องจากยังมีปัจจัยภายในที่เป็นไปได้ เช่น เอนไซม์ การเลือนอย่างรวดเร็วของแซนทาแซนทีน (canthaxanthin) ใน rainbow trout ระหว่างการเก็บที่ -12 °C และ -30 °C (Pozo และคณะ ,1988)

Likewise และ Yamazaki (1983) พบว่าปริมาณแอสตาแซนทีนตามส่วนต่างๆ ของตัวปลาไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

การวัดค่าความเป็นกรดด่าง สามารถใช้เป็นการวัดการเสื่อมคุณภาพทางกายภาพได้ ค่าความเป็นกรดด่างของสภาวะแวดล้อมมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย โดยเฉพาะแบคทีเรียชนิดที่ก่อให้เกิดความเน่าเสีย จะสามารถเจริญได้ดีที่ระดับความเป็นกรดด่าง 6-8 ระดับความเป็นกรดด่างที่สูงย่อมก่อให้เกิดการเน่าเสียได้ง่าย สัตว์น้ำก่อนการเกร็งตัว จะมีค่าความเป็นกรดด่างที่ค่อนข้างเป็นด่าง ขณะเริ่มเกร็งตัวความเป็นกรดด่างจะลดลง ขึ้นกับชนิดของปลา ปลาในเขตร้อนทั่ว ๆ ไป มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 6.4-6.8 นอกจากนั้นยัง เปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล และ สีของเนื้อปลา โดยปลาที่มีสีอ่อน ค่าความเป็นกรดด่างจะมากกว่า ปลาที่มีสีคล้ำเล็กน้อย เมื่อปลาสิ้นสุดการเกร็งตัวค่าความเป็นกรดด่างจะสูงอีกครั้ง เพราะว่า การระเหยของสารพวกด่างและแอมโมเนีย ซึ่งเกิดจากการเพิ่มปริมาณของแบคทีเรีย ทำให้เกิดการเน่าเสียเกิดขึ้น โดยมีค่าความเป็นกรดด่างเพิ่มจาก 7.19-7.71 ภายในวันเดียว อาจสูงถึง 8.05 ในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา การวัดค่าความเป็นกรดด่างนี้ สามารถใช้ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพของเนื้อปลาบดได้อีกวิธีหนึ่ง (นงลักษณ์ ,2531)

การบรรจุแบบสุญญากาศ เป็นวิธีการบรรจุที่จะมีการดึงอากาศออกก่อนการปิดผนึกภาชนะบรรจุ และภาชนะบรรจุที่ใช้ต้องป้องกันการผ่านเข้าออกของออกซิเจนและแก๊สต่าง ๆ ได้ ทำให้ลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ประเภทต้องการอากาศและลดปฏิกิริยาต่างๆ ทางเคมีลงได้ วิธีนี้สามารถรักษาคุณภาพของเนื้อปลาบดได้เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำนาน ๆ ซึ่งในการบรรจุจะต้องให้มีออกซิเจนเหลืออยู่น้อยกว่า 1 % จึงจะสามารถลดอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Aron L. Brandy ,1989) การลดปริมาณออกซิเจนจะทำให้สภาพเหมาะกับการเจริญของ Pathogenic ที่ไม่ต้องการอากาศ เช่น *Cl. botulinum* และ *Cl. perfringens* พบว่า เมื่อเก็บ

อาหารประเภท low acidity ภายใต้สภาพสุญญากาศที่อุณหภูมิสูงกว่า 3 °C มันจะสามารถสร้าง toxin ขึ้น โดยไม่มีสัญญาณแสดงการเสื่อมเสียเลย การมีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นน้อยจะทำให้การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เนื่องจากการบรรจุแบบสุญญากาศเป็นไปได้ดีกว่า การสุขาภิบาลหรือลดจำนวนจุลินทรีย์จะช่วยควบคุมคุณภาพของเนื่อปลาบดได้ดียิ่งขึ้น จำนวนจุลินทรีย์จะมีเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิสูงขึ้น อัตราการเจริญของจุลินทรีย์จะมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิระหว่างเก็บอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การบรรจุอาหารทะเลแบบสุญญากาศ ปกติแล้วจะไม่เป็นอันตรายในเชิงการค้า แต่ก็ไม่ควรมองข้ามประเด็นบางประการที่สำคัญ เช่น ไม่ควรจะนำไปใช้กับปลารมควัน เนื่องจากในสภาพสุญญากาศ จะมีออกซิไดส์เอเจนต์บางชนิด เกิดขึ้นได้ง่ายจะขัดขวางผลดีที่เกิดขึ้นเนื่องจากการลดปริมาณออกซิเจนลง การแข่งขันระหว่างจุลินทรีย์อื่น ๆ สามารถยับยั้ง *Cl. botulinum* ได้ เช่น *Lactobacillus* จะสร้างกรดขึ้นทำให้เปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างและทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเน่าเสียได้

สภาวะการเก็บรักษาและสภาวะการขนส่งของปลาที่ไม่มีการบรรจุแบบสุญญากาศหรือปรับสภาพบรรยากาศ ผลิตภัณฑ์สามารถเสียได้โดยไม่มีการสร้างสารพิษ botulism อุณหภูมิที่ขึ้น ๆ ลง ๆ ในระหว่างการเก็บทั้งแบบสุญญากาศหรือแบบบรรยากาศปกติ มีผลต่อการเกิด botulism ได้ (Brondy,1960)

การบรรจุแบบสุญญากาศในปัจจุบัน มีปัญหาเนื่องจากลักษณะปรากฏที่มีต่อตลาด ผลิตภัณฑ์อาจเกิดการเน่าเสีย และมีสารระเหยที่ได้จากการเน่าเสียเกิดขึ้นในภาชนะบรรจุ และอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษา ถ้าสูงกว่า 3 °C จะไม่สร้างสารพิษแต่จะมีโอกาสเสื่อมเสียสูง โดยปกติการบรรจุในสภาพบรรยากาศปกติ เมื่อเกิดการเน่าเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ จะสามารถมองเห็นลักษณะการเน่าเสียได้อย่างชัดเจนแต่จุลินทรีย์เหล่านี้จะถูกยังยั้งโดยสภาพสุญญากาศและสภาพปรับบรรยากาศ ดังนั้นถ้าเก็บเนื้อปลาที่อุณหภูมิสูงด้วยสภาพสุญญากาศหรือปรับบรรยากาศ อาจจะมีการสร้างสารพิษจาก *Cl. botulinum* เกิดขึ้น โดยที่อาหารไม่มีลักษณะการเน่าเสียแสดงให้เห็น

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เนื้อปลากรายบด

3.2 ภาชนะบรรจุ

ภาชนะบรรจุที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ถุงพลาสติก Low density polyethylene หนา 70 µm เคลือบด้วย nylon หนา 20 µm ขนาด 280*180 mm

3.3 เครื่องมือที่ใช้

- เครื่องบรรจุแบบสุญญากาศ(vacuum sealer)
- เครื่องปิดผนึกด้วยความร้อน (Heat sealer)
- ตู้เย็น (refrigerater)
- ตู้แช่แข็ง (freezer)
- เครื่องตีป่นอาหาร (Stomacher)
- pH meter
- Spectrophotometer
- Centrifuge
- Incubator
- blance
- Autoclave
- Waterbath

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- Plate count agar
- Tetrathionate broth
- EMB agar
- Nutrient agar

- Triple sugar iron
- Lysine iron agar
- Tryptophan broth
- Trypticase soy broth
- Baird parker agar
- MS-EY agar
- Brain heart infusion broth
- Lauryl sulfate tryptose broth
- EC broth
- Cook meat medium
- Thioglycolate broth
- Motility nitrate medium
- Lactose gelatin medium

3.5 สารเคมี

- Phosphotungstic
- Sodiumhydroxide
- Buthanol
- Bromene
- Ethanol
- Acetone
- Acetic acid

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมวัตถุดิบ

1.1 นำชิ้นปลากรายแล่ (รูปที่ 1) มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเย็น จากนั้นล้างด้วยน้ำเกลือ 0.3 เปอร์เซนต์

1.2 นำชิ้นปลากรายที่ได้มาขูดเอาเฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อปลา (รูปที่ 2) ขณะขูดควรรักษาอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส โดยการใช้น้ำแข็งหล่อที่ด้านล่างของภาชนะ

1.3 นำเนื้อปลากรายที่ขูดได้ มานวดด้วยเครื่องนวดผสม เป็นเวลา 4 นาที (ขณะนวดต้องรักษาอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียสอยู่เสมอ)

1.4 นำเนื้อปลากรายที่ได้มาบรรจุในถุงพลาสติก low density polyethylene ลามิเนตด้วยไนลอน(nylon) ถุงละ 400 กรัม แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกทำการปิดผนึกด้วยเครื่องปิดผนึกด้วยความร้อน และส่วนที่สองนำมาทำการดึงอากาศออกเพื่อให้เกิดสภาพสุญญากาศแล้วปิดผนึก (รูปที่ 3)

1.5 นำเนื้อปลากรายที่บรรจุเรียบร้อยแล้ว มาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ -20 องศาเซลเซียส

2. ศึกษาคุณภาพเริ่มต้นของเนื้อปลากรายบด ทางด้านเคมี กายภาพ จุลินทรีย์ และการยอมรับ ทางด้านประสาทสัมผัส โดยมีรายละเอียดการวิเคราะห์ดังนี้

2.1 การวิเคราะห์ทางเคมี

- ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC 1984
- วัด pH ด้วย pH meter
- ปริมาณแอมโมเนีย ตามวิธีของ AOAC 1984
- ปริมาณ Astaxanthin ตามวิธีของ Biede 1982

2.2 การวิเคราะห์ทางกายภาพ

- วัดความเหนียว ด้วยเครื่อง KMITL FOOD TEXTURE MEASURING INSTRUMENT (กิติชัย,2534)

2.3 การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ ตามวิธีของ AOAC 1984

- Total Plate Count
- Coliform, *E.coli*
- *Staphylococcus aureus*
- *Salmonella*
- *Clostridium perfringens*

2.4การทดสอบการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัส

- สี
- กลิ่น
- เนื้อสัมผัส
- ความชอบโดยรวม

3.ศึกษาคุณภาพในด้านต่างๆของเนื้อปลากรายบด ที่ระยะเวลาการเก็บ 0 3 6 9 12 และ 15 วัน โดยทำการตรวจสอบดังนี้

3.1 การวิเคราะห์ทางเคมี

- ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC 1984
- วัด pH ด้วย pH meter
- ปริมาณแอมโมเนีย ตามวิธีของ AOAC 1984
- ปริมาณ Astaxanthin ตามวิธีของ Biede 1982

3.2 การวิเคราะห์ทางกายภาพ

- วัดความเหนียว ด้วยเครื่อง KMITL FOOD TEXTURE MEASURING INSTRUMENT (กิติชัย,2534)

3.3 การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ ตามวิธีของ AOAC 1984

- Total Plate Count
- Coliform, *E.coli*
- *Staphylococcus aureus*
- *Salmonella*

- *Clostridium perfringens*

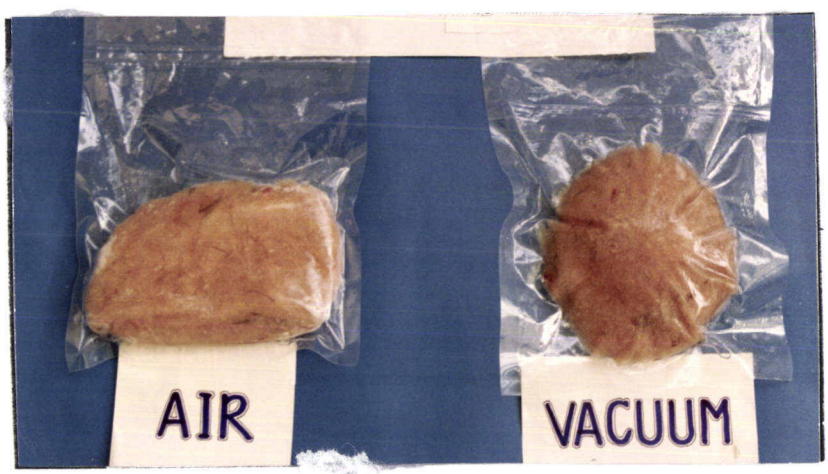
3.4 ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส ในด้าน

- สี
- กลิ่น
- เนื้อสัมผัส
- ความชอบโดยรวม

4.วิเคราะห์ผลที่ได้ และ ประเมินอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บภายใต้สภาวะสุญญากาศเปรียบเทียบกับการบรรจุแบบบรรยากาศปกติ

ภาพที่ 1 : ชิ้นปลากรายแล่

ภาพที่ 2 : การชูดเนื้อปลากราย



ภาพที่ 3 : เนื้อปลากรายบดที่บรรจุในถุง LLDPE ลามิเนตด้วย NYLON ในสภาพบรรยากาศปกติ และสภาพสุญญากาศ

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นของเนื้อปลากรายบดที่เก็บที่สภาวะต่างๆ

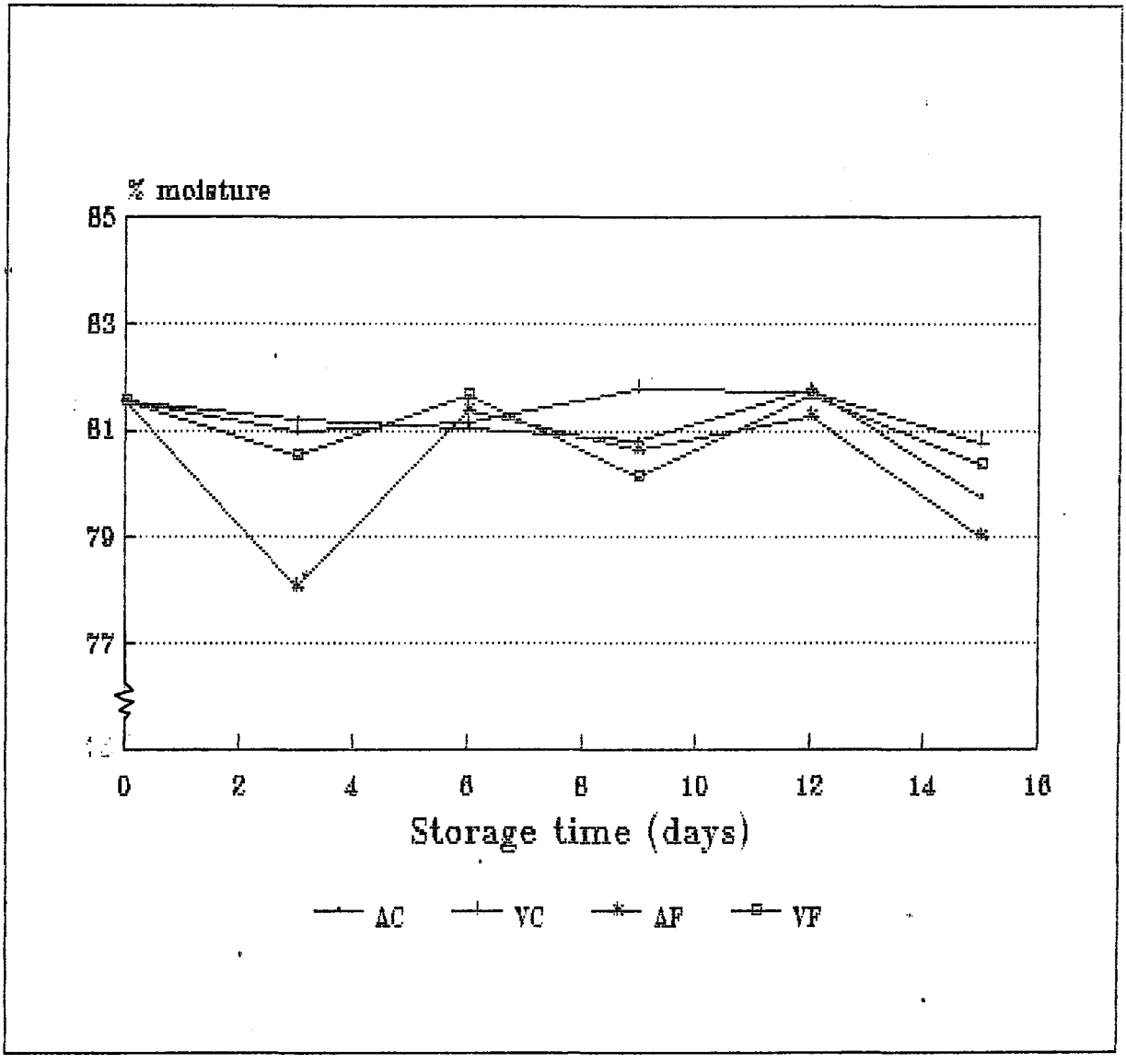
จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในเนื้อปลากรายบดที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 วัน ในสภาวะที่แตกต่างกัน ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 1 และ ภาพที่ 4 พบว่าทั้ง 4 สภาวะการเก็บ คือสภาพการบรรจุแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 4 และ -20 °C และสภาพการบรรจุแบบบรรยากาศปกติ ที่อุณหภูมิ 4 และ -20 °C มีปริมาณความชื้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และมีค่าไม่แตกต่าง จากความชื้นเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เช่นเดียวกัน โดยปริมาณความชื้นที่วิเคราะห์ได้มีค่าประมาณ 81 % เนื่องจากภาชนะที่ใช้เป็นถุงพลาสติก 3 ชั้น (3- layer nylon /LLDPE) ซึ่งมีคุณสมบัติในการป้องกันอากาศ ความชื้นและ น้ำมัน รวมทั้งช่วยเก็บรักษากลิ่นและรสชาติของอาหารไว้ได้

96505

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณความชื้นของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน

การบรรจุ	อุณหภูมิที่เก็บรักษา (°c)	ปริมาณความชื้น (เปอร์เซนต์) ที่ระยะการเก็บรักษา (วัน)					
		0	3	6	9	12	15
บรรยากาศปกติ	4	81.52[a]	81.00[a]	81.12[a]	80.79[a]	81.90[a]	79.75[a]
	-20	81.52[a]	78.21[a]	81.40[a]	80.65[a]	81.25[a]	79.10[a]
สุญญากาศ	4	81.52[a]	81.32[a]	81.12[a]	81.76[a]	81.71[a]	80.77[a]
	-20	81.52[a]	80.50[a]	81.60[a]	80.12[a]	81.67[a]	80.38[a]

* อักษรที่ต่างกันของแต่ละแถวในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05 ด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 4 : กราฟแสดงปริมาณความชื้น ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน

AC = สภาพบรรยากาศปกติ ที่ 4 องศาเซลเซียส

VC = สภาพสุญญากาศ ที่ 4 องศาเซลเซียส

AF = สภาพบรรยากาศปกติ ที่ -20 องศาเซลเซียส

VF = สภาพสุญญากาศ ที่ -20 องศาเซลเซียส

2.การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ของเนื้อปลากรายบดที่เก็บที่สภาวะต่างๆ

จากการทดลองวัดความเป็นกรดด่างของเนื้อปลากรายบดที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างการเก็บในสภาวะแตกต่างกัน ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 2 และ ภาพที่ 5 พบว่าค่าความเป็นกรดด่างของตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C มีค่าลดลงเล็กน้อย ทั้งตัวอย่างที่บรรจุแบบสุญญากาศและบรรจุแบบบรรยากาศ ทั้งนี้เนื่องจากตัวอย่างที่บรรจุแบบบรรยากาศ อาจมีจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดเจริญขึ้น แต่สาเหตุที่ค่าความเป็นกรดด่างไม่ลดลงมากเนื่องจาก ปริมาณแอมโมเนียซึ่งมีคุณสมบัติเป็นด่าง ที่เกิดขึ้นหลังจากมีการเน่าเสียเกิดขึ้นแล้ว ส่วนตัวอย่างที่บรรจุแบบสุญญากาศมีค่าความเป็นกรดด่างลดลง เนื่องจาก ในการย่อยสลายโปรตีนของจุลินทรีย์พวกที่ไม่ต้องการอากาศ จะสร้างสารที่มีความเป็นกรด คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์ ส่วนที่อุณหภูมิ -20 °C นั้น ค่าความเป็นกรดด่าง มีค่าไม่แตกต่างจากวันแรกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ทั้งในตัวอย่างที่บรรจุแบบสุญญากาศและแบบบรรยากาศปกติ เนื่องจากอุณหภูมิไปยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เป็นผลให้เอนไซม์จากจุลินทรีย์มีปริมาณไม่มาก และอุณหภูมิ -20 °c สามารถชลอการทำงานของเอนไซม์ในเนื้อปลา ทำให้เนื้อปลากรายบดถูกย่อยสลายน้อย เกิดการเปลี่ยนแปลงในด้านความเป็นกรดด่างน้อยตามไปด้วย

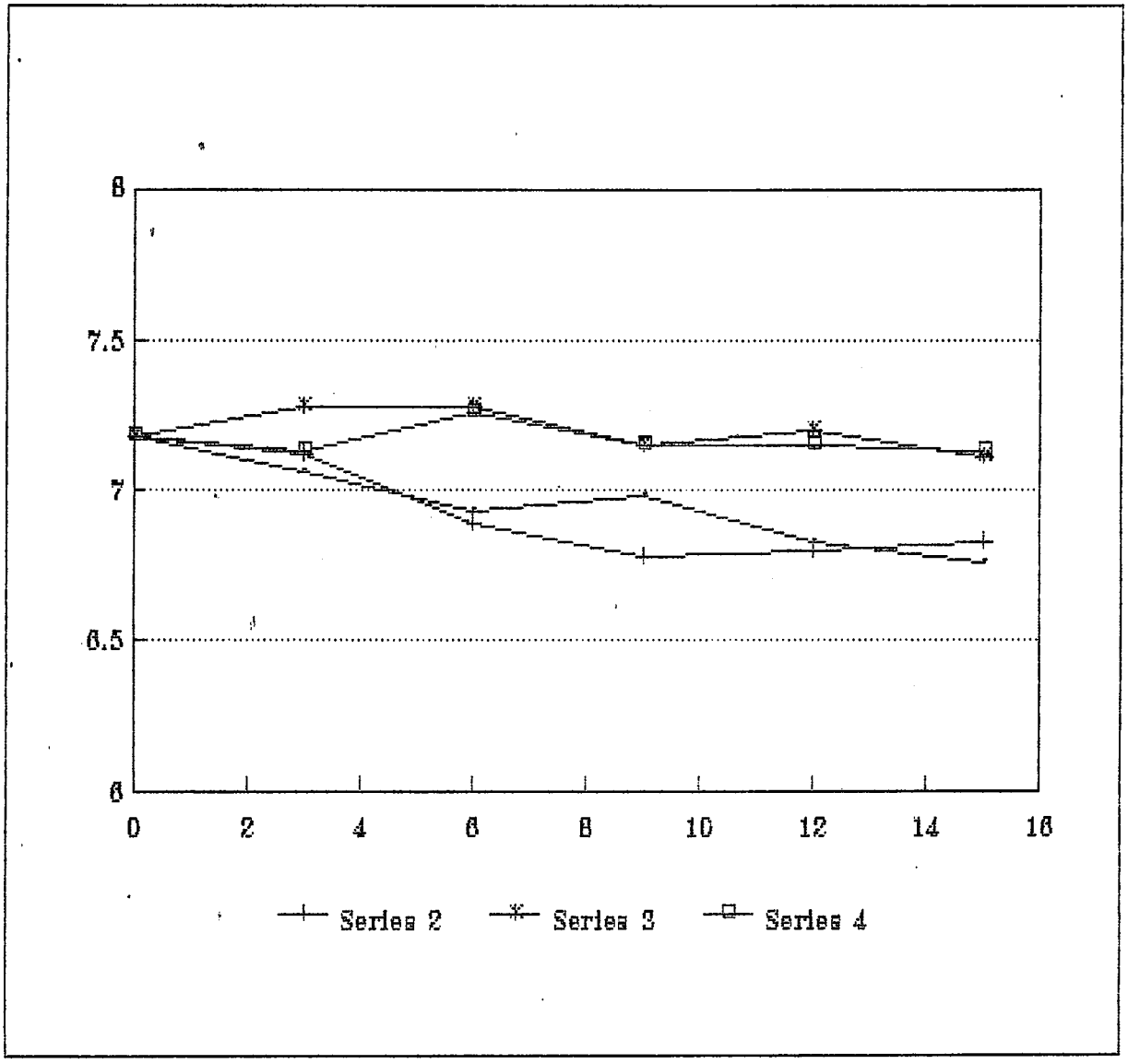
14487

ตารางที่ 2 แสดงค่าความเป็นกรด ด่าง ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะต่างๆกัน

การบรรจุ	อุณหภูมิที่เก็บรักษา (°C)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ระยะการเก็บรักษา (วัน)					
		0	3	6	9	12	15
บรรยากาศปกติ	4	7.18 [a]	7.06 [c]	6.93 [b]	6.98 [b]	6.83 [c]	6.76 [c]
	-20	7.18 [a]	7.12 [a]	6.89 [b]	6.78 [a]	6.80 [a]	6.93 [a]
สุญญากาศ	4	7.18 [a]	7.28 [b]	7.28 [a]	7.15 [c]	7.20 [c]	7.11 [b]
	-20	7.18 [a]	7.13 [b]	7.26 [a]	7.15 [a]	7.15 [b]	7.13 [a]

* อักษรที่ต่างกันของแต่ละแถวในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05 ด้วยวิธี DMRT

สถาบันเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง



ภาพที่ 5 : กราฟแสดงค่าความเป็นกรด-ด่าง ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน

Series 1 = สภาพบรรยากาศปกติ ที่ 4 องศาเซลเซียส

Series 2 = สภาพสุญญากาศ ที่ 4 องศาเซลเซียส

Series 3 = สภาพบรรยากาศปกติ ที่ -20 องศาเซลเซียส

Series 4 = สภาพสุญญากาศ ที่ -20 องศาเซลเซียส

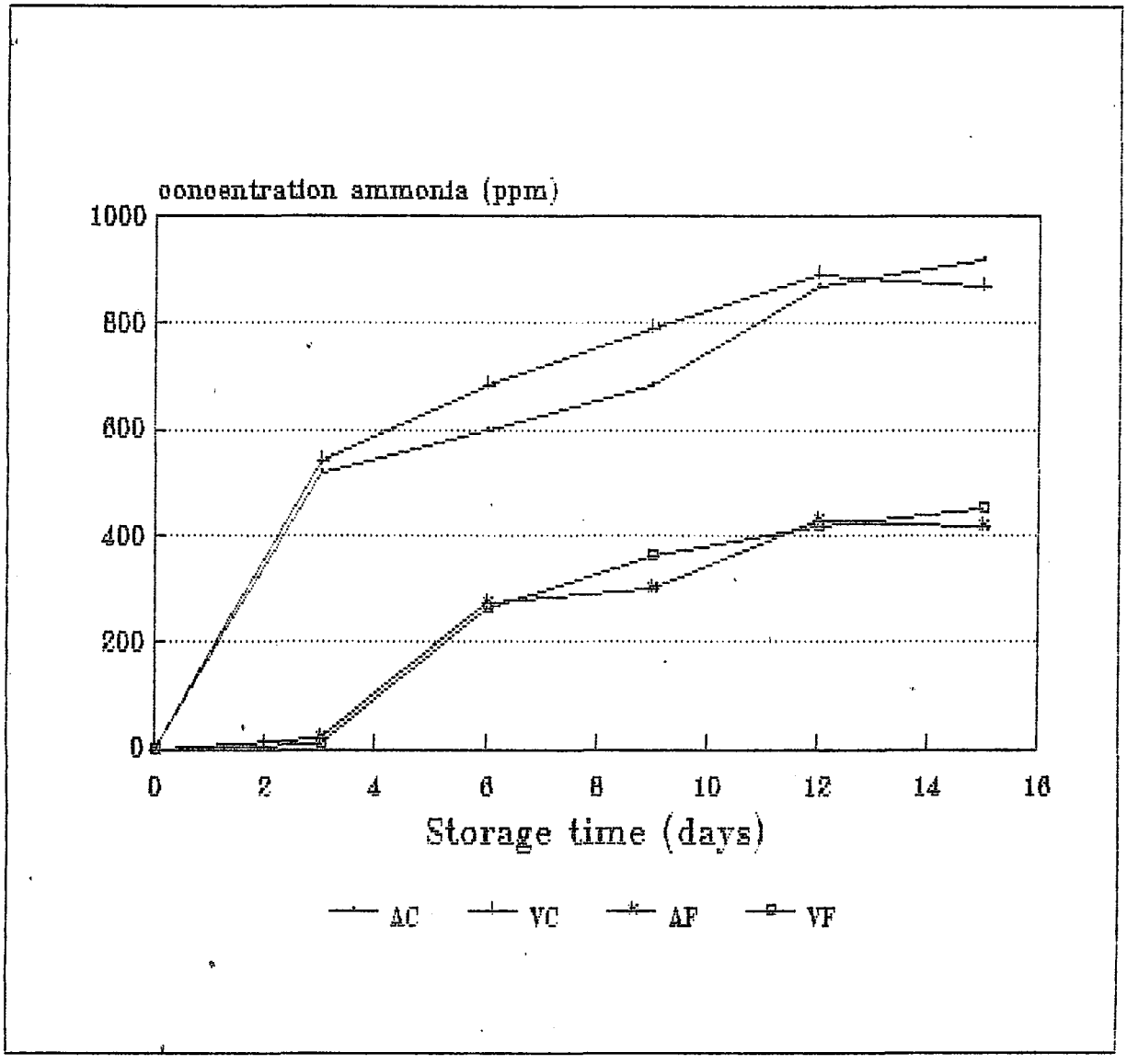
3. การวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บที่สภาวะต่างๆ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียของเนื้อปลากรายบดที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างการเก็บในสภาวะที่แตกต่างกัน แสดงได้ดังตารางที่ 3 และ ภาพที่ 6 ปริมาณแอมโมเนียเป็นผลจากการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์ในเนื้อปลาเองและจากจุลินทรีย์ ผลการทดลองพบว่า เมื่อเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น ตัวอย่างที่เก็บในทุกสภาวะ จะมีปริมาณแอมโมเนียเพิ่มขึ้นอย่างมีแนวโน้มเดียวกัน แต่ในตัวอย่างที่เก็บที่ -20 °C พบว่ามีการเพิ่มแอมโมเนียต่ำกว่าตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C ทั้งนี้เนื่องจากในที่อุณหภูมิ -20 °C มีอัตราการเพิ่มจุลินทรีย์ต่ำกว่า จึงมีการย่อยสลายโปรตีนต่ำกว่า และพบว่าสภาพการบรรจุแบบสุญญากาศและสภาพการบรรจุแบบสุญญากาศในแต่ละอุณหภูมิไม่มีผลกับปริมาณแอมโมเนียที่เพิ่มขึ้น โดยปริมาณแอมโมเนียที่วิเคราะห์ได้ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ทั้งนี้เนื่องจาก Salle (1961) พบว่าการสร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนนั้น ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะเกิดได้ทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนและในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน ดังนั้นจะเห็นได้ว่าอุณหภูมิในการเก็บเนื้อปลากรายบด มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียมากกว่าสภาพการบรรจุ

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณแอมโมเนีย ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะต่างๆกัน

การบรรจุ	อุณหภูมิที่เก็บรักษา (°c)	ปริมาณแอมโมเนีย (ppm.) ที่ระยะการเก็บรักษา (วัน)					
		0	3	6	9	12	15
บรรยากาศปกติ	4	0^{a}	520^{a}	600^{b}	680^{b}	885^{a}	920^{a}
	-20	0^{a}	35^{b}	270^{c}	300^{d}	430^{b}	420^{d}
สุญญากาศ	4	0^{a}	540^{a}	680^{a}	790^{a}	890^{a}	870^{b}
	-20	0^{a}	10^{b}	260^{c}	350^{c}	420^{b}	470^{c}

* อักษรที่ต่างกันของแต่ละแถวในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05 ด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 6 : กราฟแสดงปริมาณแอมโมเนีย ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน

AC = สภาพบรรยากาศปกติ ที่ 4 องศาเซลเซียส

VC = สภาพสุญญากาศ ที่ 4 องศาเซลเซียส

AF = สภาพบรรยากาศปกติ ที่ -20 องศาเซลเซียส

VF = สภาพสุญญากาศ ที่ -20 องศาเซลเซียส

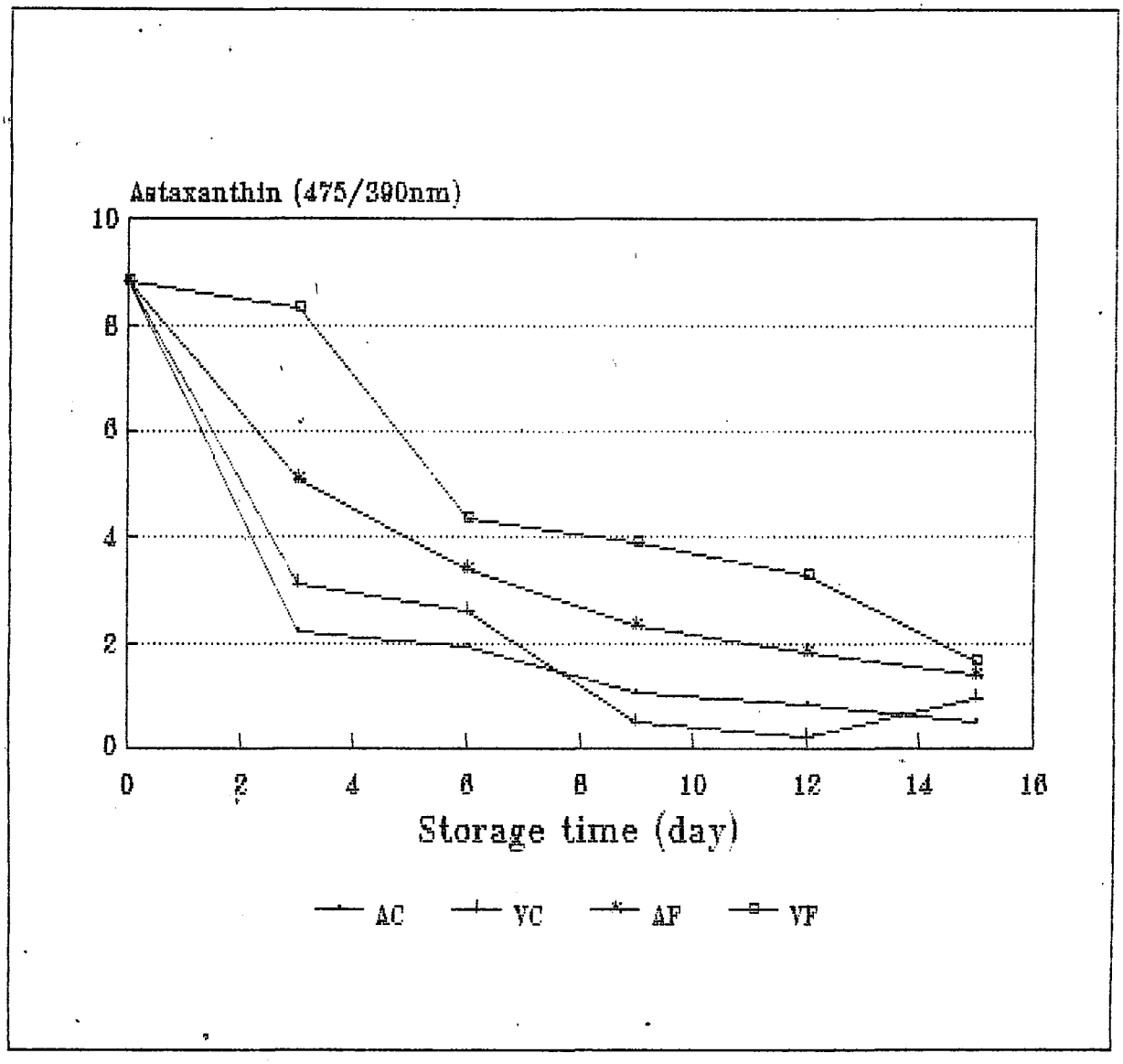
4. การวิเคราะห์ แอสตาแซนทีน ของเนื้อปลากรายบดที่เก็บที่สภาวะต่างๆ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอสตาแซนทีนของเนื้อปลากรายบดในระหว่างการเก็บรักษาในสภาวะแตกต่างกัน แสดงได้ดังตารางที่ 4 และ ภาพที่ 7 จากการศึกษาพบว่าในระหว่างการเก็บรักษาปริมาณแอสตาแซนทีน ทั้ง 4 สภาวะการเก็บนั้น มีแนวโน้มลดลงเป็นแนวโน้มเดียวกัน โดยที่อุณหภูมิ -20 °C มีการสูญเสียแอสตาแซนทีนต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 4 °C เนื่องจากการสูญเสียปริมาณแอสตาแซนทีนเกิดจากเอนไซม์ lipoxydase และ peroxidase ได้สารประกอบคาร์บอนิลที่ไม่มีสี (Krinsky,1989) ซึ่งจะมีกิจกรรมต่ำลงที่อุณหภูมิต่ำลง และถูกยับยั้งที่อุณหภูมิ -30 °C (Tsukuda และ Amano,1967) และพบว่าในสภาพการบรรจุแบบสุญญากาศจะมีการสูญเสียแอสตาแซนทีนน้อยกว่าในสภาพการบรรจุแบบสุญญากาศ ทั้งนี้เนื่องจาก แอสตาแซนทีนสามารถถูกออกซิไดส์ได้สารประกอบคาร์บอนิลที่ไม่มีสีเช่นเดียวกัน ดังนั้น สภาพการบรรจุแบบสุญญากาศจึงสามรถลดปฏิกริยาการออกซิไดส์ได้

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณ แอสตาแซนทีนของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะต่างๆกัน

การบรรจุ	อุณหภูมิที่เก็บรักษา (°C)	ปริมาณแอสตาแซนทีน (475/390 nm.) ที่ระยะการเก็บรักษา (วัน)					
		0	3	6	9	12	15
บรรยากาศปกติ	4	8.85[a]	2.22[d]	1.93[d]	1.05[c]	0.84[c]	0.46[d]
	-20	8.85[a]	5.09[b]	2.59[c]	0.48[d]	0.22[d]	1.37[b]
สุญญากาศ	4	8.85[a]	3.12[c]	3.41[b]	2.36[b]	1.83[b]	0.96[c]
	-20	8.85[a]	8.36[a]	4.36[a]	3.88[a]	3.31[a]	1.69[a]

* อักษรที่ต่างกันของแต่ละแถวในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05 ด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 7 : กราฟแสดงปริมาณแอสตาแซนทีน ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน

AC = สภาพบรรยากาศปกติ ที่ 4 องศาเซลเซียส

VC = สภาพสุญญากาศ ที่ 4 องศาเซลเซียส

AF = สภาพบรรยากาศปกติ ที่ -20 องศาเซลเซียส

VF = สภาพสุญญากาศ ที่ -20 องศาเซลเซียส

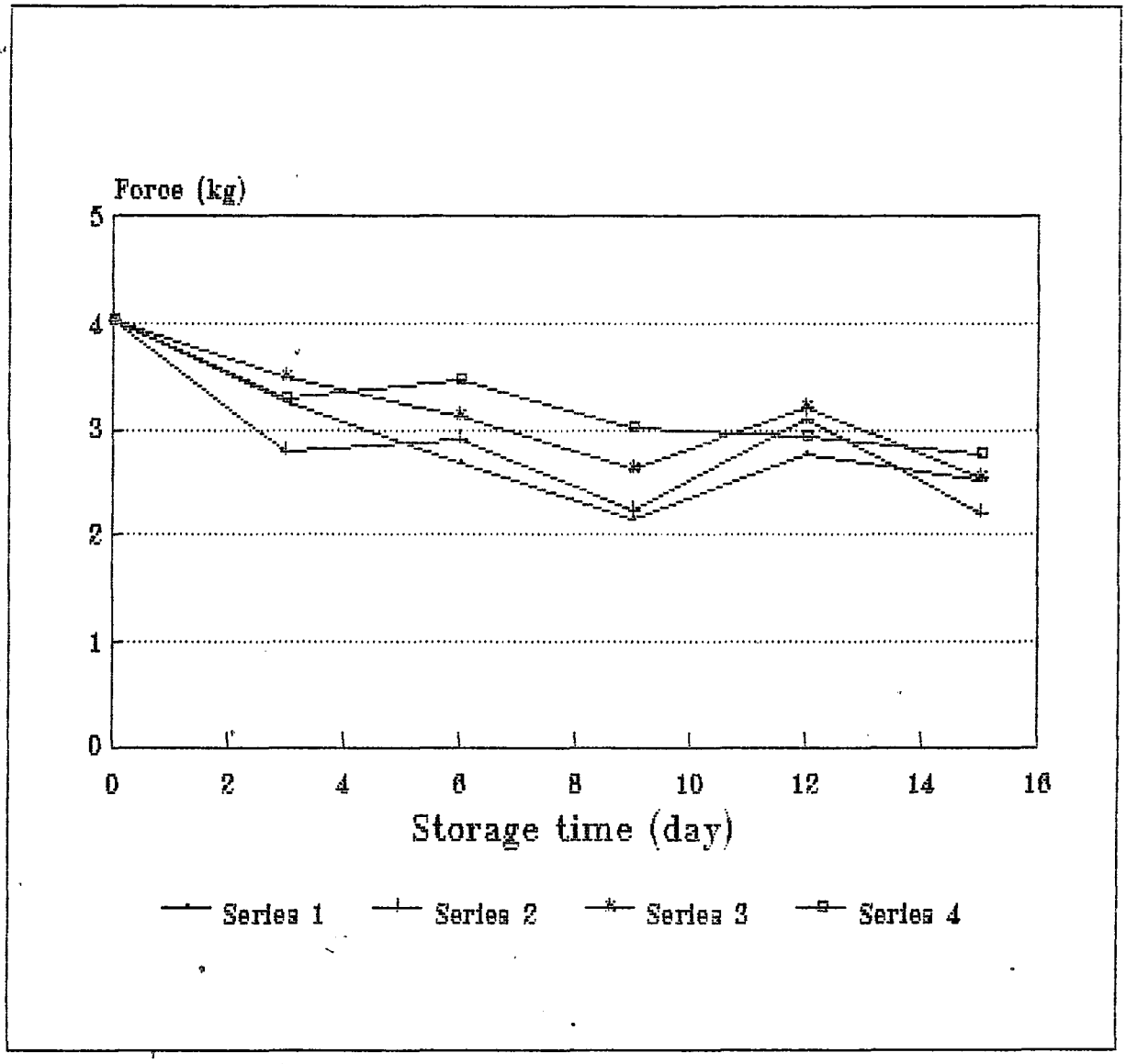
5. การวิเคราะห์ ความเหนียว ของเนื้อปลากรายบดที่เก็บที่สภาวะต่างๆ

ผลการวัดความเหนียวของเนื้อปลากรายบดในระหว่างการเก็บในสภาวะที่แตกต่างกัน แสดงตารางที่ 5 และ ภาพที่ 8 ผลการทดลองพบว่า เมื่อเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น ความเหนียวของเนื้อปลาที่เก็บทั้ง 4 สภาวะ มีแนวโน้มลดลง โดยที่อุณหภูมิ -20 °C สามารถรักษาความเหนียวได้ดีกว่าที่ 4 °C ทั้งสภาพการบรรจุแบบสุญญากาศ และสภาพการบรรจุแบบบรรยากาศปกติ เนื่องจากที่ 4°C มีการย่อยสลายโปรตีนมากจนโปรตีนเสียสภาพและเกิดการเน่าเสีย และ ผลจากการวัดความเหนียวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % สำหรับที่อุณหภูมิ -20°C ความเหนียวมีค่าลดลงเนื่องมาจากผลของอุณหภูมิ ในการเก็บรักษาเป็นการแช่แข็งแบบช้า จึงทำให้เกล็ดน้ำแข็งที่เกิดขึ้นมีขนาดใหญ่ทำให้เซลของเนื้อปลากรายถูกทำลาย เมื่อนำมาละลายเนื้อปลากรายจึงมีความเหนียวลดลง แต่ยังคงได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคอยู่ และอาจเนื่องมาจากการเสียสภาพโปรตีนไมโอไฟบริลลา เนื่องจากอุณหภูมิการแช่แข็งซึ่ง Jiang และคณะ (1987) ได้ศึกษาการแช่เยือกแข็งโปรตีนไมโอไฟบริลลา ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีส่วนสำคัญในการเกิดเจลของปลานวลจันทน์ทะเล ที่อุณหภูมิ -20 °C นาน 12 สัปดาห์ พบว่า การละลายของโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือลดลงถึง 80 % แต่ตัวอย่างที่เก็บในสภาพการบรรจุแบบสุญญากาศจะให้ค่าความเหนียวที่สูงกว่าสภาพการบรรจุแบบบรรยากาศ

ตารางที่ 5 แสดงค่าความเหนียว ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะต่างๆกัน

การบรรจุ	อุณหภูมิที่เก็บรักษา (°c)	ค่าความเหนียว (Force,kg.) ที่ระยะการเก็บรักษา (วัน)					
		0	3	6	9	12	15
บรรยากาศปกติ	4	4.02[a]	3.27[a]	2.67[b]	2.16[b]	2.77[b]	2.51[b]
	-20	4.02[a]	2.80[a]	2.92[b]	2.24[ab]	3.09[a]	2.21[a]
สุญญากาศ	4	4.02[a]	3.50[b]	3.12[b]	2.63[b]	3.22[ab]	2.55[b]
	-20	4.02[a]	3.30[a]	3.48[a]	3.03[a]	2.93[ab]	2.77[ab]

* อักษรที่ต่างกันของแต่ละแถวในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05 ด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 8 : กราฟแสดงค่าความเหนียว ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน

Series 1 = สภาพบรรยากาศปกติ ที่ 4 องศาเซลเซียส

Series 2 = สภาพสุญญากาศ ที่ 4 องศาเซลเซียส

Series 3 = สภาพบรรยากาศปกติ ที่ -20 องศาเซลเซียส

Series 4 = สภาพสุญญากาศ ที่ -20 องศาเซลเซียส

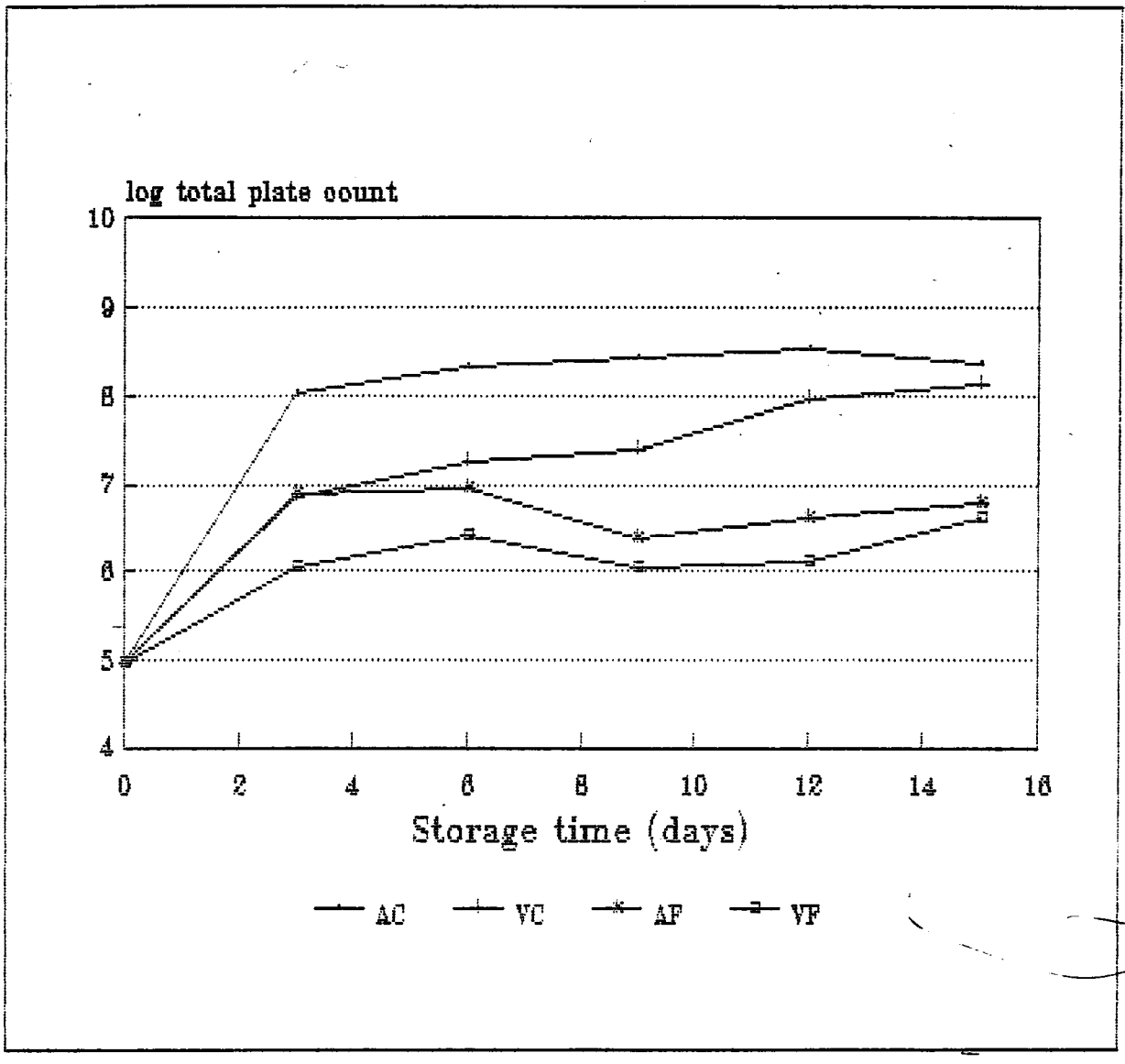
6. การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ของเนื้อปลากรายบดที่เก็บที่สภาวะต่างๆ

ผลการวิเคราะห์จุลินทรีย์เริ่มต้นในเนื้อปลากรายบด พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count) ประมาณ 10^4 โคโลนีต่อกรัม ไม่พบเชื้อ *Coliform, E. coli Stapylococcus aureas, Salmonella* และ *Clostridium perfringens* ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อมาจึงตรวจวิเคราะห์เฉพาะปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Cl. perfringens* เนื่องจากในสภาพการบรรจุแบบสุญญากาศอาจมีเชื้อนี้เกิดขึ้นได้เมื่อเพิ่มเวลาการเก็บ ซึ่งผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในเนื้อปลากรายบดที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บที่สภาวะแตกต่างกัน พบว่าไม่พบ *Cl. perfringens* เลย ดังนั้นในการรายงานผลจึงแสดงเฉพาะปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ซึ่งแสดงดังตารางที่ 6 และภาพที่ 9 ผลการศึกษาพบว่าที่อุณหภูมิ -20 °C มีอัตราการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 4 °C และ สภาพการบรรจุแบบสุญญากาศสามารถชลอการเจริญของจุลินทรีย์ ได้ดีกว่าเมื่อเก็บในสภาพการบรรจุแบบสุญญากาศ ทั้งนี้เพราะการบรรจุแบบสุญญากาศสามารลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศลงได้

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะต่างๆกัน

การบรรจุ	อุณหภูมิที่เก็บรักษา($^{\circ}$c)	ระยะเวลาที่เก็บรักษา (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนีต่อกรัม)
บรรยากาศปกติ	4	0	9.4×10^{4}
		3	1.0×10^{8}
		6	2.3×10^{8}
		9	2.8×10^{8}
		12	3.4×10^{8}
		15	2.3×10^{8}
บรรยากาศปกติ	-20	0	9.4×10^{4}
		3	7.7×10^{5}
		6	8.6×10^{5}
		9	2.3×10^{6}
		12	4.2×10^{6}
		15	6.2×10^{6}
สุญญากาศ	4	0	9.4×10^{4}
		3	7.4×10^{6}
		6	1.8×10^{7}
		9	2.4×10^{7}
		12	8.8×10^{7}
		15	1.3×10^{8}

การบรรจุ	อุณหภูมิที่เก็บรักษา($^{\circ}$c)	ระยะเวลาที่เก็บรักษา (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนีต่อกรัม)
สุญญากาศ	-20	0	9.4×10^{4}
		3	1.1×10^{6}
		6	2.5×10^{6}
		9	1.1×10^{6}
		12	1.3×10^{6}
		15	4.1×10^{6}



ภาพที่ 9 : กราฟแสดงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาวะแตกต่างกัน

AC = สภาพบรรยากาศปกติ ที่ 4 องศาเซลเซียส

VC = สภาพสุญญากาศ ที่ 4 องศาเซลเซียส

AF = สภาพบรรยากาศปกติ ที่ -20 องศาเซลเซียส

VF = สภาพสุญญากาศ ที่ -20 องศาเซลเซียส

7.<u>การประเมินอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบดที่เก็บในสภาวะที่แตกต่างกัน</u>

ในการประเมินอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบดที่เก็บรักษาในสภาวะที่แตกต่างกันนั้น จะใช้ผลการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ โดยใช้เกณฑ์การพิจารณาตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ปี 2535 ประกอบกับผลการประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัส ผลการประเมินพิจารณาแยกตามสภาวะการเก็บได้ผลดังนี้

การบรรจุแบบบรรยากาศปกติ ที่อุณหภูมิ 4 °C

ผลการประเมินแสดงดังตารางที่ 7 พบว่าผู้บริโภคเริ่มไม่ยอมรับสีของเนื้อปลากรายบดเมื่อเก็บได้ 3 วัน และมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด $1.0*10^{8}$ โคโลนีต่อกรัม ดังนั้นอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบดที่บรรจุแบบบรรยากาศปกติและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C มีอายุการเก็บน้อยกว่า 3 วัน

ตารางที่ 7 แสดงการประเมินอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบดที่บรรจุแบบบรรยากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนีต่อกรัม)	การยอมรับ สี	การยอมรับ กลิ่น
0	$9.0*10^{4}$	ยอมรับ	ยอมรับ
3	$1.0*10^{8}$	ไม่ยอมรับ	ยอมรับ
6	$2.3*10^{8}$	ไม่ยอมรับ	ไม่ยอมรับ
9	$2.8*10^{8}$	ไม่ยอมรับ	ไม่ยอมรับ
12	$3.4*10^{8}$	ไม่ยอมรับ	ไม่ยอมรับ
15	$2.3*10^{8}$	ไม่ยอมรับ	ไม่ยอมรับ

การบรรจุแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 4 °C

ผลการประเมินแสดงดังตารางที่ 2 พบว่าในวันที่ 6 ผู้บริโภคเริ่มไม่ให้การยอมรับสีและกลิ่นของผลิตภัณฑ์ มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด $1.8*10^{7}$ โคโลนีต่อกรัม ดังนั้นอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบดที่บรรจุแบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C มีอายุการเก็บน้อยกว่า 6 วัน

ตารางที่ 8 แสดงการประเมินอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบดที่บรรจุแบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนีต่อกรัม)	การยอมรับ	
		สี	กลิ่น
0	$9.0*10^{4}$	ยอมรับ	ยอมรับ
3	$7.4*10^{6}$	ยอมรับ	ยอมรับ
6	$1.8*10^{7}$	ไม่ยอมรับ	ไม่ยอมรับ
9	$2.4*10^{7}$	ไม่ยอมรับ	ไม่ยอมรับ
12	$8.8*10^{7}$	ไม่ยอมรับ	ไม่ยอมรับ
15	$1.3*10^{8}$	ไม่ยอมรับ	ไม่ยอมรับ

การบรรจุแบบบรรยากาศปกติ ที่อุณหภูมิ -20 °C

ผลการประเมินแสดงดังตารางที่ 9 พบว่าเมื่อเก็บเนื้อปลากรายบด 15 วัน ผู้บริโภคยังให้การยอมรับสีและกลิ่นของผลิตภัณฑ์อยู่และมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด $6.2*10^{6}$ โคโลนีต่อกรัม ดังนั้นอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบดที่บรรจุแบบบรรยากาศปกติและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 °C จะมีอายุการเก็บมากกว่า 15 วัน

ตารางที่ 9 แสดงการประเมินอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบดที่บรรจุแบบบรรยากาศปกติและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 °C

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนีต่อกรัม)	การยอมรับ	
		สี	กลิ่น
0	$9.0*10^{4}$	ยอมรับ	ยอมรับ
3	$7.7*10^{6}$	ยอมรับ	ยอมรับ
6	$8.6*10^{6}$	ยอมรับ	ยอมรับ
9	$2.3*10^{6}$	ยอมรับ	ยอมรับ
12	$4.4*10^{6}$	ยอมรับ	ยอมรับ
15	$6.2*10^{6}$	ยอมรับ	ยอมรับ

การบรรจุแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ -20 °C

ผลการประเมินแสดงดังตารางที่ 10 พบว่า เมื่อเก็บเนื้อปลากรายบด 15วัน ผู้บริโภคยังให้การยอมรับสีและกลิ่นของผลิตภัณฑ์อยู่และมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด $4.1*10^{6}$ โคโลนีต่อกรัม ดังนั้นอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบดที่บรรจุแบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 °C จะมีอายุการเก็บมากกว่า 15 วัน

ตารางที่ 10 แสดงการประเมินอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบดที่บรรจุแบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 °C

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนีต่อกรัม)	การยอมรับ สี	กลิ่น
0	$9.0*10^{4}$	ยอมรับ	ยอมรับ
3	$1.1*10^{6}$	ยอมรับ	ยอมรับ
6	$2.5*10^{6}$	ยอมรับ	ยอมรับ
9	$1.1*10^{6}$	ยอมรับ	ยอมรับ
12	$1.3*10^{6}$	ยอมรับ	ยอมรับ
15	$4.1*10^{6}$	ยอมรับ	ยอมรับ

ที่อุณหภูมิ -20 °C พบว่าเนื้อปลากรายบดที่เก็บในสภาพการบรรจุแบสุญญากาศและที่เก็บในสภาพการบรรจุแบบบรรยากาศ เมื่อเก็บได้ 15 วัน มีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ปริมาณความชื้น, ค่าความเป็นกรดด่าง และปริมาณแอมโมเนียของทั้ง 2 สภาวะที่อุณหภูมินี้ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เช่นเดียวกัน แต่เนื้อปลากรายที่บรรจุแบบสุญญากาศสามารถชลอการเพิ่มขึ้นของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ดีกว่า และมีปริมาณแอสตาแซนทีนสูงกว่า จึงมีสีที่ดีกว่า และยังมีความเหนียวดีกว่าอีกด้วย

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาผลของการบรรจุแบบสุญญากาศต่อการยืดอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบด ปรากฏว่า สภาพสุญญากาศสามารถยืดอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบดที่อุณหภูมิ 4 °C ได้โดยเนื้อปลาที่บรรจุภายใต้สภาพสุญญากาศสามารถเก็บได้น้อยกว่า 6 วัน ในขณะที่ตัวอย่างที่บรรจุแบบบรรยากาศปกติสามารถเก็บได้น้อยกว่า 3 วัน โดยใช้ผลการประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสประกอบกับการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ ซึ่งใช้มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เป็นเกณฑ์ในการพิจารณา และที่อุณหภูมิ -20 °C การบรรจุแบบสุญญากาศจะสามารถรักษาคุณภาพด้านสี และ ความเหนียว ได้ดีกว่า และมีแนวโน้มการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ต่ำกว่า การบรรจุแบบบรรยากาศปกติ

การศึกษาอิทธิพลของสภาพสุญญากาศต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมี คือการเปลี่ยนแปลงของรงควัตถุแอสตาแซนทีนและแอมโมเนีย ตลอดจนผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อปลากรายบด ปรากฏว่า สภาพสุญญากาศสามารถชลอการออกซิไดส์ของรงควัตถุแอสตาแซนทีนในเนื้อปลา โดยที่เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C ปริมาณแอสตาแซนทีนลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องมาจากผลของการเน่าเสีย ทำให้ปลากรายบดเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเขียว พบว่า เมื่อเก็บในสภาพบรรยากาศปกติ ปริมาณแอสตาแซนทีนลดลงเหลือเพียง 1.22 โดยสูญเสียร้อยละ 86.19 ภายในเวลา 3 วัน และเมื่อเก็บในสภาพสุญญากาศ จะลดลงร้อยละ 82.0 ภายในเวลา 6 วัน ในขณะที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 °C จะมีการสูญเสียรงควัตถุชนิดนี้ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 15 วัน ในสภาพการบรรจุแบบสุญญากาศสูญเสียร้อยละ 69.68 และในสภาพการบรรจุแบบบรรยากาศมีการสูญเสียร้อยละ 73.19

สภาพการบรรจุแบบสุญญากาศ สามารถชลอการเกิดปริมาณแอมโมเนียในเนื้อปลากรายบดได้ โดยเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C ทั้งตัวอย่างที่เก็บในสภาพสุญญากาศและสภาพบรรยากาศเป็นเวลา 6 วัน ผู้บริโภคเริ่มไม่ให้การยอมรับกลิ่นที่เกิดจากแอมโมเนีย โดยคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้ชิมคือมีปริมาณแอมโมเนียอยู่ในช่วง 680-700 ppm ส่วนปริมาณความชื้นในตัวอย่างที่เก็บในทั้ง 4 สภาวะมีความชื้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และมี

ค่าความเป็นกรดด่างอยู่ประมาณ 7 สำหรับการประเมินคุณภาพรวมของเนื้อปลากรายบดนั้น ปรากฏว่า เป็นผลเนื่องจากคุณภาพของสีและกลิ่นของเนื้อปลากรายบด

จากการศึกษาด้านจุลินทรีย์ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บในสภาพสุญญากาศ และ สภาพบรรยากาศปกติ ที่อุณหภูมิ 4 และ -20 °C พบว่า ปลากรายบด มีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นทั้งหมดก่อนการบรรจุ $9.0*10^4$ โคโลนีต่อกรัม ไม่พบเชื้อ *Stapylococcus aureas*, *Coliform*, *E. coli*, *Salmonella* และ *Clostridium perfringens* เลย ที่อุณหภูมิ 4 °C ในสภาพสุญญากาศจนมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เมื่อเก็บเป็นเวลา 6 วัน ในขณะที่บรรจุในสภาพบรรยากาศปกติ จะมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐาน เมื่อเก็บได้เพียง 3 วันเท่านั้น และ ไม่พบ *Cl. perfringens* ในขณะที่อุณหภูมิ -20 °c ทั้งที่บรรจุในสภาพสุญญากาศ และ สภาพบรรยากาศปกติ เมื่อเก็บเป็นเวลา 15 วัน ริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานอยู่ แสดงว่าสภาพการบรรจุแบบสุญญากาศและการเก็บที่อุณหภูมิต่ำ -20 °C สามารถยับยั้ง และ ชลอการเจริญของจุลินทรีย์ยังผลให้ สามารถชลอการเกิดแอมโมเนียในเนื้อปลากรายบดได้ เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ ที่มีผลต่อคุณภาพของเนื้อปลากรายบดที่เก็บในสภาวะต่างๆระหว่างการเก็บรักษา พบว่า เนื้อปลากรายบดจะเสื่อมคุณภาพ และมีการเน่าเสียเมื่อมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดประมาณ 10^7 โคโลนีต่อกรัม และ ไม่พบแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ ในเนื้อปลากรายบดที่เก็บในสภาพสุญญากาศ และ สภาพบรรยากาศปกติระหว่างการเก็บรักษา

จากการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี และทางด้านจุลินทรีย์ร่วมกับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อปลากรายบด พอสรุปได้ว่า เนื้อปลากรายบดที่มีคุณภาพดีเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ควรมีค่าความเป็นกรดด่าง ประมาณ 7 มีปริมาณแอมโมเนียต่ำกว่า 680 ppm และมีปริมาณแอสตาแซนทีนมากกว่า 1.22 หน่วยต่อกรัม ซึ่งสามารถใช้เป็นดัชนีชี้คุณภาพทางเคมีของเนื้อปลากรายบดได้

จากการศึกษา พบว่า สภาพการบรรจุและอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษา มีผลต่ออายุการเก็บของเนื้อปลากรายบด โดยที่ สภาพการบรรจุแบบสุญญากาศ และอุณหภูมิต่ำ (-20 °c) ทำให้ปลากรายบดมีคุณภาพดีทั้งในทางกายภาพ เคมี ปริมาณจุลินทรีย์ และ เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้นที่ 15 วัน

ข้อเสนอแนะ

1. ในการศึกษาครั้งนี้ในสภาพการเก็บที่อุณหภูมิ -20 °C ควรเพิ่มระยะการเก็บให้นานกว่านี้ เพื่อจะสามารถตัดสินใจได้ว่าสภาพการบรรจุแบบสุญญากาศจะสามารถยืดอายุการเก็บของเนื้อปลกรายบดได้หรือไม่

2. ในการวิเคราะห์หา *Clostridium perfringens* ไม่พบเชื้อนี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่พบ เชื้อจุลินทรีย์ที่มีโคโลนีสีเหลือง หัวท้ายเรียวฝังอยู่ในวุ้น ควรทำการศึกษาว่าเป็นจุลินทรีย์ชนิดใด และในการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ควรวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมดที่สามารถเจริญได้ในสภาพที่ไม่มีอากาศหรือมีอากาศเพียงเล็กน้อยได้

3. ควรมีการศึกษาคุณสมบัติของถุงที่ใช้บรรจุผลิตภัณฑ์เพิ่มเติมด้วย โดยเฉพาะในเรื่องอัตราการซึมผ่านของออกซิเจน

4. ในการศึกษาครั้งต่อไป ควรศึกษาการบรรจุในสภาพปรับบรรยากาศเพิ่มเติมด้วย เพื่อหาสภาพที่สามารถยืดอายุการเก็บของเนื้อปลากรายบดได้อย่างแท้จริง

5. หากมีการนำผลการศึกษาที่ได้เพื่อใช้ในเชิงอุตสาหกรรม อาจมีการเติมสารที่ช่วยยืดอายุการเก็บลงไปด้วย เพื่อให้มีอายุการเก็บที่นานขึ้น โดยสารที่จะเลือกเติมนั้น ต้องได้รับการยอมรับจากคณะกรรมการอาหารและยา และเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

เอกสารอ้างอิง

นงลักษณ์ สุทธิวนิช. 2531. คุณภาพสัตว์น้ำ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ผ่องเพ็ญ รัตตกุล. การผลิตเนื้อปลาบดจากปลานิล , กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง ,กรุงเทพ . 12 น.

วราภา วรพงษ์. 2531. การเก็บรักษากุ้งแห้งภายใต้สภาพปรับอากาศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.111 น.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2533.เนื้อปลาบด(ชูริมิ)เยือกแข็ง. มอก. 935-2533. กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ.

A.O.A.C. 1980. Official Method of Analysis. 13th ed., Association Of Official Analytical Chemists, Washington D.C. 1018 p.

A.O.A.C. 1984. Official Method of Analysis. 17th ed., Association Of Official Analytical Chemists, Washington D.C. 1236 p.

Allen E. Fozgeding and Type C. Lanier. 1989. The Contribution of Nonmuscle Proteins to Texture of Gelled Muscle Protein Foods. Protein Quality and the Effects of Processing. Marcel Dekker, inc. New York and Basel. p 187.

Alur, M.D., Nerkar D.P., and Venugopal V.. 1988. Growth and Protese Secretion by Spoilage Bacteria:Influence of Nitrogen Fractions of Proteinadeous Food on Aeromonas Hydrophila. J.Food.Sci.53(1):243-246.

Biede, S.L., B.H.Himelbloom and J.E.Rutledge. 1982. Influence of Storage Atmosphere on Several Chemical Parameters of Sun-Dried Shrimp. J.of Food Sci. 47:1030-1031.

Brody L. Aaron.1989.Modified Atmosphere Packaging of Seafood. Controlled /Modified Atmosphere /Vacuum Package of Food.

Bryant, F.Cobb,Inelda Alaniz and Charles,A.Thompson JR. (1973). Biochemical and Microbrial Studies on Shrimp : Volatele Nitrogen and Amino Nitrogen Analysis. J.of Food Sci.38:431-435.

Chen, H.M.,S.P. Neyers,R.W. Hardy and S.L. Biede. 1984. Color Stabilizer of Astaxanthin Pigmented Rainbow-Trout Under Various Packaging Condition. J.of Food Sci.49:1337-1340.

Connell, John Jeffrey, 1980. Quality Deterioration and Defects in Product. Control of Fish News Books Ltd, Franham sorrey, England. p 331.

Donn,R.Ward.,Gunnar Finne and Ranzell Nickelson.(1979). Use of a Specificion Electrode (AMMONIA) In Determing the Quality of Shrimp. J.Food Sci. 44 : 1052-1054.

Gomez-Basauri J.V. and Regenstein J.M.. 1992. Vacuum Packaging, Ascorbic Acid and Frozen Storage Effects on Heme and Nonheme Iron Content of Mackerel. J.Food Sci.57 (6):1337-1339.

Grete Skrede, Trond Storebakken and Tormodnaes. (1989). Color Evaluation in Raw, Baked and Smoked Flesh of Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*) Fed Astaxanthin or

Canthaxanthin. J.of Food Sci. 55(6) : 1574-1578.

Hollingworth A. Thomas. Chemical Indicators of Decomposition for Raw Surimi and Flaked Artificial Crab. J.of Food sci. 55(2) : 349-352.

Hong,K.No and Trond Storebakken.(1991). Color Stability of Rainbow Trout Fillets during Frozen Storage. J.of Food Sci. 56(4):969-972.

Huei-Mei Chen, Meyers,S.P., Hardy,R.W. and hiede S.L.. Color Stability of Astaxanthin Pigmented Rainbow Trout under Various Packaging Conditions. J.of Food Sci. 49: 1337-1340.

Ibrahim,K.Makarios-La Ham and Tung-Ching,Lee. (1993). Protein Hydrolysis and Quality Deterioration of Refrigerated and Frozen Seafood Due to Obligately Psychrophillic Bacteria. J.of Food Sci. 58(2):310-313.

In Hee Yoon, Jack,R. Matches and Barbnara Rasco.(1988). Microbiological and Chemical Changes of Surimi-Based Imitation Crab during Storage. J.of Food Sci.53(5): 1343-1346.

Keith W.GAtes, Amanda H. Parker, Diana L. Bauer and Yao-wen Huang. 1993. Storage Changes of Fresh and Pasteurized Blue Crab Meat in Different Types of Packaging. J. of Food Sci.58(2):314-317.

Parkin, K.L. and Brown,W.D. 1982. Preservation of Seafood with Modified Atmospheres. In"Chemistry and Bilchemistry of Marine Food Products." (Ed.)R.E.Martin. G.J.Flick.

C.E. Hebard and D.R.Ward. p.453. A VI Publishing Co., Westport,CT.

Parkin,K.L. and Brown. W.D. 1983. Modified Atmosphere Storage of Dungeness Crab *(Cancer magister)*.J.of Food Sci 48:370.

Reppond K.D. and Babbit.J.K.. 1993. Protease Inhibitors Affect Physical Properties of Arrowtooth Flonder and Walleye Pollock Surimi. J.Food Sci. 58(1): 96-98.

Robyn E. O'connor,Peter Skarshewski and Steve J. Thrower.1992. Modified Atmosphere Packaging of Fruits, Vegetables, Seafood and Meat:Stable of the Art. Asean Food Journal: 7(3) :127-134.

Shann-Tzong Jiang, Bao-Shyung Hwang and Ching-Yu Tsao. 1987. Protein Denaturation and Changes in Nucleotide of Fish Muscle during Frozen Storage. J.Agric Food Chem. 35(1): 22-27.

Shann-Tzong Jiang, Ching-yu Tsao and Tung-Ching Lee. 1987. Effects of Free Amino Acid on the Denaturation of Mackerel Myofibrillar Proteins in vitro during Frozen Storage at -20 °c. J.Agric Food Chem. 35(1):25-33.

Thomas A.Hollingworth,J.R., Marleen M. Wekell and John J. Sullivan. 1990. Chemical Indicators of Decomposition for Raw Surimi and Flaked Artificial Crab. J.Food Sci. 55(2) :349-352.

Thomas A.Hollingworth, et.al. (1991). Chemical and Microbiological Analysis of Vacuum-packed, Pasteurized

Flaked Imitation Crabmeat. J.of Food Sci. 56(1):164-167.

Unda,J.R.,Molins,R.A.and Walker,H.W..(1990). Microbioligical and Some Physical and Chemical Changes in Vacuum-Packaged Beef Steaks Treated with Combinations of Potassium Sorbate,Phosphate,Sodium Chloride and Sodium Acetate. J.of Food Sci.55(2):323-326.

Yin Liang Hsieh and Joe M. Regenstein. (1989). Texture Changes of Frozen Stored Cod and Ocean Perch Minces. J. of Food Sci. 54(4):820-826.

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์ทางเคมีและทางจุลินทรีย์

1. การหาปริมาณความชื้น (AOAC 1984)

1.อบ Aluminium can ที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน dessicator นำมาชั่งน้ำหนัก ทำเช่นนี้จนกระทั่งน้ำหนักคงที่

2.ชั่งตัวอย่างเนื้อปลากรายบดประมาณ 5 กรัม ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน ใส่ลงใน Aluminium can ผ่านการอบแล้ว

2. นำไปอบที่อุณหภูมิประมาณ 103 - 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนได้น้ำหนักคงที่

3. นำตัวอย่างออกมาเก็บในโถป้องกันการดูดความชื้นทิ้งให้เย็นและชั่งน้ำหนัก ทำเช่นนี้จนน้ำหนักคงที่ คำนวณ หาร้อยละของความชื้น โดยคำนวณเปรียบเทียบน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้นก่อนนำไปอบ

$$\text{ร้อยละของปริมาณความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ})}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

2. การวัด pH ของเนื้อปลากรายบด

ชั่งตัวอย่างเนื้อปลากรายประมาณ 5 กรัม ใส่ในน้ำกลั่น ซึ่งมี pH เป็นกลางจำนวน 100 ลบ.ซม.ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากันก่อนนำไปวัด pH ด้วย pH meter ให้อิเลคโตรดอยู่ในตัวอย่างเป็นเวลา 2 นาที ก่อนบันทึกผล

3. การวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย (AOAC 1984)

การเตรียมสารละลาย

ก).สารละลายโบรมีน ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 ส่วนในน้ำ 1 ส่วน คนให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้จนสารละลายใส ทำสารละลาย 10 ลบ.ซม. เจือจางให้เป็น 100 ลบ.ซม.ด้วยน้ำกลั่น แล้วเติมโบรมีน 1 ลบ.ซม. เขย่าให้เข้ากัน แล้วเจือจางให้เป็น 200 ลบ.ซม.ด้วยน้ำกลั่น สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

ข).สารละลายไทมอล ละลายไทมอลในเอทธานอลให้มีความเข้มข้น ร้อยละ 10 โดยสารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

ค).สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง เจือจางสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เช่นเดียวกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ข้อ ก.) 25 ลบ.ซม. ให้เป็น 100 ลบ.ซม. ด้วยน้ำกลั่น

ง).สารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย ความเข้มข้น 40 ไมโครกรัมต่อ ลบ.ซม.(µg/ml.) อบแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) ให้แห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสนาน 1 ชั่วโมง แล้วชั่ง 0.314 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและเจือจางให้เป็น 100 ลบ.ซม.ด้วยน้ำกลั่น ใช้ปิเปตดูดมา 4 ลบ.ซม.เจือจางด้วยน้ำจนได้ปริมาตร 100 ลบ.ซม.

วิธีวิเคราะห์ - ชั่งตัวอย่างเนื้อปลากรายบด 20 กรัม ใส่ในขวดแก้วทรงกรวย ขนาด 500 ลบ.ซม. สกัดด้วยสารละลายกรดฟอสโฟทังสติก ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2.5 จำนวน 180 ลบ.ซม.เขย่าอย่างแรง 2 นาที แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ลงในขวดแก้วทรงกรวยขนาด 250 ลบ.ซม. ดูดสารละลายที่กรองได้ 2 ลบ.ซม.(เท่ากับตัวอย่างหนัก 0.2 กรัม) ใส่ในกรวยแยกขนาด 125 ลบ.ซม.(ส่วนสารละลายที่กรองได้ที่เหลือเก็บไว้)

- เติมน้ำ 8 ลบ.ซม. ลงในกรวยแยก จากนั้นรีบเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง (ค) 1 ลบ.ซม. เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติมสารละลายโบรมีน (ก) 5 ลบ.ซม. โดยค่อยๆหยดใส่ทีละน้อยประมาณ 30 หยด และเขย่าอย่างแรงทุกครั้งหลังจากหยดแต่ละครั้ง เขย่าต่ออย่างแรงอีก 1 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้นานอย่างน้อย 20 นาทีหรือนาน

กว่านั้น หลังจากนั้นเติมเอนบิวทานอล 20 ลบ.ซม. แล้วเขย่าอย่างแรง 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที ไขเอาชั้นน้ำทิ้งไป นำเฉพาะชั้นเอนบิวทานอลกรองผ่านโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส (Na_2SO_4 anhydrous) ประมาณ 30กรัมในกรวยที่มีใยแก้วรองไว้ข้างใต้ สารละลายที่กรองได้เก็บในขวดแก้วทรงกรวย จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 680 นาโนเมตร โดยเครื่อง Spectrophotometer ส่วนหลอดควบคุม(blank)ทำเช่นเดียวกันแต่ใช้สารละลายฟอสโฟทังสติกร้อยละ 2.5 แทนตัวอย่าง

<u>การเตรียมกราฟมาตรฐาน</u> - ดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียจำนวน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ลบ.ซม. ใส่ในกรวยแยกขนาด 125 ลบ.ซม. เติมสารละลายฟอสโฟทังสติกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ลงไป 2 ลบ.ซม. ในกรวยแยกแต่ละใบ เติมน้ำให้เป็น 10 ลบ.ซม. แล้วรีบเติมสารละลาย(ค) 1 ลบ.ซม. จากนั้นก็ทำเช่นเดียวกับวิธีการวิเคราะห์ดังที่กล่าวแล้วข้างต้น

4. การหาปริมาณแอสตาแซนทีน (Biede 1982)

สุ่มตัวอย่างเนื้อปลากรายบด 5 กรัม ใส่ในขวดแก้วทรงกรวยขนาด 125 ลบ.ซม. แล้วสกัดด้วยอะซิโตน 40 ลบ.ซม. โดยเข่าด้วยเครื่องเขย่า 1 ชั่วโมง รินส่วนสารละลายออกจากของแข็งเก็บไว้ สกัดซ้ำด้วยอะซิโตน 20 ลบ.ซม. โดยเขย่าด้วยเครื่องเขย่าต่ออีกครึ่งชั่วโมง จึงนำสารละลายที่สกัดได้ทั้งหมดรวมกัน แล้วนำไปเหวี่ยงเอาส่วนของแข็งออกด้วยเครื่องเหวี่ยงความเร็วรอบ 3735 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แยกส่วนสารละลายที่ได้ใส่ในฟลาสค์ก้นกลมขนาด 125 ลบ.ซม. นำไประเหยโดยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศที่ระดับความเป็นสุญญากาศ 25 นิ้วปรอท ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายนั้นในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 ลบ.ซม. แล้วนำมาวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร และ 360 นาโนเมตร โดยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) คำนวณปริมาณแอสตาแซนทีนโดยคิดจากอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่สกัดได้ที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร ต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร แสดงปริมาณแอสตาแซนทีน ในรูปหน่วยของอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นทั้งสองต่อกรัมของตัวอย่าง ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร คือ แอสตาแซนทีน ส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร ได้แก่ รงควัตถุอื่นที่ปนมา ตัวอย่างที่มีอัตราส่วนดังกล่าวมีค่ามาก แสดงว่า แอสตาแซนทีนถูกออกซิไดส์น้อย

5. หลักการเจือจางตัวอย่างอาหาร

การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ด้วยวิธีต่างๆ นั้นมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ให้ตัวอย่างอาหารเจือจางลงไปจนถึงระดับที่จะตรวจนับด้วยวิธีนั้นๆ ได้ถูกต้องและแม่นยำ ซึ่งมีข้อกำหนดไว้ในแต่ละวิธี และต้องเขย่าตัวอย่างอาหารให้กระจายอยู่ในน้ำยาสำหรับเจือจาง(diluent) อย่างทั่วถึงเป็นเนื้อเดียวกัน

ขั้นตอนในการปฏิบัติมีดังนี้

1. <u>น้ำยาสำหรับเจือจาง</u> (diluent)

น้ำยาสำหรับเจือจางที่จะใช้ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ และ ชนิดของจุลินทรีย์ที่จะตรวจวิเคราะห์ ดังนี้

<u>วัตถุประสงค์การใช้</u>	<u>น้ำยาสำหรับเจือจาง</u>
ตรวจวิเคราะห์ทั่วๆไป	1. Phosphate buffer
	2. น้ำเกลือปกติ (0.85 %)
	3. เปปโตน 0.1 % ในน้ำ
	4. เปปโตน 0.1 % + tween80 0.05%
อาหารที่มีไขมันสูง	เปปโตน 0.1 % + วุ้น 0.15 %
ตรวจวิเคราะห์ Osmophile	น้ำยาซูโครส 10 %
ตรวจวิเคราะห์ Halophile	น้ำเกลือ 3-18 %

2. <u>วิธีการทำให้ตัวอย่างเจือจาง</u>

2.1 การเจือจางขั้นต้น

การเจือจางขั้นต้นนี้โดยทั่วๆไปนิยมทำให้อาหารเจือจาง 1:10 เท่า เรียกว่า dilution 1:10

สำหรับตัวอย่างอาหารที่เป็นของเหลว เขย่าอาหารแรงๆอย่างน้อย 25 ครั้ง ใช้ไปเปตดูดตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดซึ่งมี diluent 90 มิลลิลิตร โดยเป่าตัวอย่างอาหารในไปเปตลงใน diluent ให้หมดแล้วดูด diluent กลับขึ้นมาใหม่ทำเช่นนี้ 2-3 ครั้ง เพื่อล้างตัวอย่างอาหารที่ติดอยู่ข้างไปเปตเขย่าขวดอย่างแรง 25 ครั้ง

สำหรับตัวอย่างอาหารที่เป็นของแข็ง ชั่งอาหาร 50 กรัม ใส่ในเครื่องตีปั่นไฟฟ้า เท diluent 450 มิลลิลิตร ลงในเครื่องตีปั่น ตีปั่นอาหารเป็นเวลาประมาณ 2 นาที

2.2 การทำให้เจือจางลงตามลำดับ (Serial dulution)

โดยทั่วๆไป นิยมทำให้เจือจางลงลำดับละ 10 เท่า (1:10 dilution) ใช้ไปเปตดูดตัวอย่างเจือจาง 1:10 จากข้อ 2.1 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดหรือขวดบรรจุ diluent 9 มิลลิลิตร หรือใช้ตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดบรรจุ diluent 90 มิลลิลิตร เป่าตัวอย่างอาหารให้หมดแล้วดูด diluent กลับขึ้นไปใหม่ 2-3 ครั้ง เขย่าหลอดด้วยเครื่องเขย่าไฟฟ้า ในกรณีที่ใช้ขวดเขย่าขึ้นลง 25 ครั้ง ตัวอย่างอาหารในขั้นนี้จะมีความเจือจาง 1:100 (10^{-2}) โดยวิธีเดียวกันนี้จะได้ตังอย่างอาหารที่ระดับความเจือจางตามต้องการและควรเปลี่ยนไปเปตใหม่ทุกๆระดับความเจือจาง

6.การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์โดยวิธี drop plate (AOAC 1984)

1.เทอาหารเลี้ยงเชื้อ (plate count agar) ลงในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้อย่างน้อย 6 ชั่วโมงเพื่อให้ผิวหน้าอาหารแห้ง

2.เตรียมตัวอย่างอาหาร โดยใช้ระดับความเจือจางต่ำกว่าที่ตรวจนับได้โดยวิธี pour plate อย่างน้อย 10 เท่า

3.ใช้ pasteur pipette ซึ่งปลายเล็กขนาดหยดน้ำได้หยดละ 0.02 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างอาหารแต่ละระดับความเจือจาง หยดบนผิวหน้าอาหารเพาะเชื้อจุดละ 0.02 มิลลิลิตร จานละ 5 จุด โดยใช้ตัวอย่างอาหารระดับความเจือจางต่างๆกัน 3 ระดับ

4.หลังจากหยดตัวอย่างอาหารแล้ว รอจนน้ำจากตัวอย่างอาหารซึมเข้าไปในผิววุ้นจนแห้ง ซึ่งใช้เวลาประมาณ 20 - 30 นาที

5.บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 - 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง

6.นับจำนวนโคโลนีเฉพาะที่ระดับความเจือจางที่มีโคโลนีในแต่ละจุดไม่เกิน 20โคโลนี รวมจำนวนโคโลนีทั้ง 5 จุด ซึ่งจะเป็นจำนวนต่อตัวอย่างอาหารที่ระดับความเจือจางนั้น 0.1 มิลลิลิตร คำนวณหาจำนวนต่อกรัมหรือมิลลิลิตรของอาหารโดยคูณจำนวนโคโลนีที่นับได้ด้วยระดับความเจือจางแล้วคูณด้วย 10

7.การตรวจวิเคราะห์ *Salmonella spp.* ในอาหาร (AOAC 1984)

1.การ enrichment ใน selective medium

ชั่งตัวอย่างอาหาร 10 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกบรรจุ tetrathionate broth ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ตีปั่นด้วย stomacher 2 นาที แล้วนำไปบ่มที่ 35 -37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.การแยกเชื้อบนอาหารแข็ง

ใช้ loop แตะเชื้อจากข้อ 1 streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD agar บ่มที่ 35 - 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีของ Salmonella ที่ได้มีสีชมพูมีหรือไม่มีจุดสีดำตรงกลาง

3.การทดสอบปฏิกริยาทางชีวเคมีบางประการ

เขี่ยเชื้อจากโคโลนีที่มีลักษณะดังในข้อ 2 ลงในอาหารเพาะเชื้อต่อไปนี้ บ่มที่ 35 - 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.1 TSI Agar (Triple sugar iron agar) slant และ stab เชื้อ Salmonella จะให้ผลบวกดังนี้

slant เปลี่ยนเป็นสีแดง (ด่าง)

stab เปลี่ยนเป็นสีเหลือง(กรด) และส่วนใหญ่จะสร้าง H_2S ให้สีดำ

3.2 LIA Agar (Lysine iron agar) ทำวิธีเดียวกับ TSI

ถ้าเป็น Salmonella จะพบว่า LIA จะคงสีม่วงอย่างเดิมไว้อาจมีสีดำถ้า Salmonella นั้นสร้าง H_2S

3.3 Tryptophan broth(ทดสอบ indole) บ่มที่ 35 - 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง หยด Kovac's reagent ถ้าเป็น Salmonella สีจะไม่เปลี่ยนแปลง

8.การตรวจวิเคราะห์ *Coliform , E. coli.* (AOAC 1984)

1.ชั่งตัวอย่างอาหารที่ผสมกรมมาแล้วในถุงพลาสติกเซรัมฉุนผสมกลอย ประมาณ 90 มิลลิลิตร ตีปั่นในเครื่อง stomacher 2 นาที แล้วทำ dilution 10^{-2} , 10^{-3}

2.ไปเปต 1 มิลลิลิตร ของตัวอย่างอาหารที่เจือจางที่ระดับ 1:10 1:100 และ1:1000 ใส่ลงในหลอดแก้วที่มี LST(Lauryl sulfate tryptose broth)มีหลอด durham tube อยู่ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

3.นำไปบ่มที่ 35 - 37 องศาเซลเซียส 24 - 48 ชั่วโมง หลังจากครบ 24ชั่วโมง ให้อ่านผลของหลอดแก้วที่มีแก๊สเกิดขึ้น แล้วนำหลอดเข้าไปบ่มในตู้เขี่ยเชื้อดังเดิมและเมื่อครบ 48 ชั่วโมง ให้นำมาอ่านผลใหม่

4.ใส่ตัวอย่าง 1 loop จากหลอดที่มีแก๊สของ LST broth ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth

5.บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 45.5 องศาเซลเซียส ใน water bath นาน 48 ชั่วโมง

6.เขี่ยเชื้อ 1 loop จากหลอดที่มีแก๊สของ Ec broth แล้ว streak ลง Levine's eosin methylene blue (EMB) agar

7.บ่มเพาะเชื้อที่ 35-37°c นาน 24 ชั่วโมง โคโลนีของ *E.coli* มีลักษณะสีดำตรงกลาง มีหรือไม่มี metallic sheen

8.เขี่ยเชื้อจากโคโลนีของ *E.coli* จากอาหาร EMB จานละ 2 โคโลนี ลงใน PCA Slant

9.บ่มจานเพาะเชื้อที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

10.ทดสอบทางชีวเคมี

- ทดสอบ Indole โดยถ่ายเชื้อจาก PCA slant ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptophan broth แล้วบ่มไว้ที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติม 0.2-0.3 มิลลิลิตร ของสารละลาย Kovac's reagent ถ้าให้ผลบวกจะให้ชั้นบนๆของของเหลวเปลี่ยนเป็นสีแดง

- ทดสอบ Methyl-red และ acetoin (MR-VP)

ถ่ายเชื้อจาก PCA slant ที่บ่ม ใส่ในอาหาร MR-VP และบ่มไว้ที่ 35-37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง

สำหรับ MR ให้เติมสารละลาย Methyl red 5 หยดลงไป จะให้ผลบวก คือ เปลี่ยนเป็นสีแดง

สำหรับ Vi ให้ถ่ายเชื้อโดยวิธี Aseptic มา 0.7 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติม 0.1 มิลลิลิตร ของ 5 % α-naphthol ในสารละลาย Alcohol และ0.1 มิลลิลิตร ของสารละลาย Creatine KOH ลงไป ผสมทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ผลบวกจะให้สีชมพูแดง

- ทดสอบ Cirate ถ่ายเชื้อใส่ในอาหาร Simon Citrate agar แล้วบ่มเพาะเชื้อที่ 35-37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง ผลบวกจะให้สีน้ำเงิน

- ย้อม Gram stain *E.coli* จะมีรูปร่าง แท่งเล็กติดสีแดง

11.ประเมินค่า MPN ของ *E.coli* จาก EC broth

9.การตรวจวิเคราะห์ *Clostridium perfringens* type A (AOAC 1984)

1.ชั่งตัวอย่างอาหาร 10 กรัม ใส่ในถุงพลาสติก บรรจุน้ำเกลือ 0.85 % 90 มิลลิลิตร ตีปนในเครื่อง stomacher 2 นาที

2.ไปเปต 1 มิลลิลิตร ของตัวอย่างอาหาร ใส่ลงในหลอดที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ Cooked meat medium แล้วเทวุ้น 2 % ทับด้านบนจากนั้นนำไปบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง *Clostridium perfringens* จะสร้างแก๊ส ดันชั้นวุ้นขึ้นมา

3.ใช้ loop แตะอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดที่มีการสร้างแก๊ส แล้วนำมา Streak บน Modified BHI agar และ SPS agar นำไปบ่มในโถบ่มไร้อากาศ (anaerobic jar) โดยไม่ต้องคว่ำจาน บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

4.นับจำนวนโคโลนี ซึ่งมีสีดำและมีโซนขุ่นล้อมรอบ จำนวนที่นับได้นี้เป็นจำนวน Presumptive *Cl. perfringens*

5.การตรวจเพื่อยืนยันว่าเป็น *Cl.perfringens*

- ขีดเส้นแบ่งส่วนในจานให้แต่ละส่วนมีจำนวนโคโลนีไม่น้อยกว่า 10โคโลนี
- ถ่ายเชื้อจากแต่ละโคโลนีลงใน Thio collate broth บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง
- เขี่ยเชื้อจากข้อ 2.2 โดยแทง loop ลงใน motility nitrate medium 2 หลอด บ่มที่ 35 - 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง
- เชื้อ *Cl.perfringens* ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ดังนั้นการเจริญจึงเกิดเฉพาะตามรอยแทงของ loop เท่านั้น ทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ โดยเติมน้ำยาทดสอบลงในหลอดเชื้อเพียงหลอดเดียว ไนไตรท์จะทำปฏิกริยากับน้ำยาทดสอบได้สีแดง ในกรณีการทดสอบครั้งแรกนี้ได้ผลลบบ่มหลอดเชื้อต่ออีก 24 ชั่วโมง แล้วทดสอบซ้ำ
- ทดสอบความสามารถการเฟอร์เมนต์น้ำตาลแลคโตสและการย่อยสลายเจลาติน โดยการแทง loop ลงในหลอดอาหาร Lactose gelatin medium บ่มที่ 35 - 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง *Cl.perfringens* สามารถเฟอร์เมนต์แลคโตสซึ่งจะสังเกตได้จากฟองแก๊สที่เกิดขึ้นในหลอด และมีกรดขึ้นจนเปลี่ยนสีสรรดรรชนีในอาหารจากสีแดงให้เป็นสีเหลือง สังเกตการย่อยสลายเจลาตินโดยแช่หลอดในน้ำแข็งประมาณ 30 นาที เจลาตินที่ถูกย่อยสลายแล้วจะไม่จับตัวเป็นก้อนแข็ง

10.การตรวจวิเคราะห์ *Staphylococcus aureus* (AOAC 1984)

1.ชั่งตัวอย่างอาหาร 10 กรัม ใส่ในถุงพลาสติก บรรจุน้ำเกลือ 0.85 % 90มิลลิลิตร ตีป่นในเครื่อง stomacher 2 นาที แล้วทำ dilution 10^{-2} , 10^{-3}

2.ไปเปต 1 มิลลิลิตร ของตัวอย่างอาหารที่เจือจางที่ระดับ 1:10 1:100 และ1:1000 ใส่ลงในหลอดแก้วที่มี TS broth (trypticase soy broth)ซึ่งมี NaCl 10 % อยู่ ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

3. บ่มที่ 35 - 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.ใช้ loop ถ่ายเชื้อจากหลอดแก้วที่มี TS broth streak ลงบน Manitol salted egg yolk agar(MS-EY)

5. บ่มที่ 35 - 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

6. สังเกตลักษณะโคโลนีสีเหลืองมี clear zone มาทดสอบ Coagulase test กับ rabbit plasma

7.ประเมินค่า MPN จากหลอดที่ให้ผลการทดสอบ Coagulase เป็นบวก

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม
เนื้อปลาบด (ซูริมิ) เยือกแข็ง

บทนิยาม

เนื้อปลาบด(ซูริมิ)เยือกแข็ง ซึ่งในมาตรฐานนี้จะเรียกว่า "เนื้อปลาบดเยือกแข็ง" หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำปลาสดที่ผ่านการตัดหัว ควักไส้ มาผ่านกรรมวิธีแยกเนื้อปลาซึ่งจะได้เนื้อปลาบด จากนั้นนำเนื้อปลาบดมาล้างน้ำ ผ่านกรรมวิธีบีบน้ำ แล้วผสมกับวัตถุเจือปนอาหาร นวดให้เข้ากันและเหนียว ทำเป็นก้อนรูปสี่เหลี่ยมหรือรูปอื่นๆ นำไปผ่านกรรมวิธีเยือกแข็งโดยให้มีระยะเวลาการเกิดผลึกน้ำแข็งอย่างรวดเร็ว แล้วจึงลดอุณหภูมิที่บริเวณจุดกึ่งกลางของผลิตภัณฑ์ให้ต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส จากนั้นจากนำไปเก็บรักษา แล้วจึงลดอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ไว้ที่ -18 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่าให้สม่ำเสมอตลอดเวลา

คุณลักษณะที่ต้องการ

1. ลักษณะทั่วไป

มีลักษณะเนื้อตามธรรมชาติของเนื้อปลา ไม่นิ่ม และ ไม่มีรอยไหม้แห้ง เนื่องจากการเก็บรักษา และไม่มีสีผิดปกติจากสีตามธรรมชาติของผลิตภัณฑ์

2. กลิ่นรส

ต้องมีกลิ่นรสตามธรรมชาติของผลิตภัณฑ์ ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นหืน กลิ่นเหม็น

3. ความเหนียว

เมื่อทดสอบโดยวิธีวัดด้วยเครื่องวัดความเหนียว (rheometer) ต้องไม่น้อยกว่า 400 กรัมเซนติเมตร

4. สิ่งแปลกปลอม

ต้องปราศจากสิ่งแปลกปลอม จากมนุษย์ สัตว์ และวัตถุอื่นๆ

5. ความชื้น

ต้องไม่เกินร้อยละ 80 การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC(1984) ข้อ 7.003

6. ปริมาณจุลินทรีย์

6.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน $1x10^7$ โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ตามวิธี AOAC(1984) ข้อ 46.015

6.2 *Escherichia coli* ต้องไม่เกิน 100 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม ตามวิธี AOAC(1984) ข้อ 46.016

6.3 *Staphylococcus aureus* ต้องไม่เกิน 100 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม ตามวิธี AOAC (1984)ข้อ 46.016

6.4 Salmonella ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม ตามวิธี AOAC (1984) ข้อ 46.015-46.127

6.5 *Vibrio cholerae* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม ตามวิธี APHA 1984

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงค่า MPN (Most Probable Number) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อใช้ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก ระดับความเจือจาง			MPN ต่อมิลลิลิตรของหลอดที่เจือจางระดับที่ 1
ระดับที่ 1 (10^{-1})	ระดับที่ 2 (10^{-2})	ระดับที่ 3 (10^{-3})	
0	0	0	0.0
0	0	1	0.3
0	1	0	0.3
0	1	1	0.6
0	2	0	0.6
1	0	0	0.4
1	0	1	0.7
1	0	2	0.1
1	1	0	0.7
1	1	1	1.1
1	2	1	1.1
1	2	1	1.5
1	3	0	1.6
2	0	0	0.9
2	0	1	1.4

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก ระดับความเจือจาง			MPN ต่อมิลลิลิตรของหลอดที่เจือจางระดับที่ 1
ระดับที่ 1 (10^{-1})	ระดับที่ 2 (10^{-2})	ระดับที่ 3 (10^{-3})	
2	1	0	1.5
2	1	1	2.0
2	1	2	3.0
2	2	0	2.0
2	2	1	3.0
2	2	2	3.5
2	2	3	4.0
2	3	0	3.0
2	3	1	3.5
3	3	2	4.0
3	0	0	2.5
3	0	1	4.0
3	0	2	6.5
3	1	0	4.5
3	1	1	7.5
3	1	2	11.5
3	1	3	16.0

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก ระดับความเจือจาง			MPN ต่อมิลลิลิตรของหลอดที่เจือจางระดับที่ 1
ระดับที่ 1 (10^{-1})	ระดับที่ 2 (10^{-2})	ระดับที่ 3 (10^{-3})	
3	2	0	9.5
3	2	1	15.0
3	2	2	20.0
3	2	3	30.0
3	3	0	25.0
3	3	1	45.0
3	3	2	110.0
3	3	3	140.0 +

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การศึกษาคุณภาพของเนื้อปลาบดภายใต้การบรรจุแบบสุญญากาศ

ชื่อ ..... วันที่ .....

คำชี้แจง: กรุณาพิจารณาตัวอย่างที่ให้สำหรับตัวอย่างดิบ และชิมตัวอย่างที่ให้สำหรับตัวอย่างสุก แล้วให้คะแนนตามลักษณะต่าง ๆ ที่กำหนดให้ในแต่ละตัวอย่าง โดยมีคะแนนความชอบตั้งแต่ 1-7

(1=ไม่ชอบมาก, 2=ไม่ชอบปานกลาง, 3=ไม่ชอบเล็กน้อย, 4=เฉย ๆ
5=ชอบเล็กน้อย, 6=ชอบปานกลาง, 7=ชอบมาก)

** ตัวอย่างดิบ

หมายเลขตัวอย่าง				
สี กลิ่นแปลกปลอม				

** ตัวอย่างสุก

หมายเลขตัวอย่าง				
สี กลิ่นแปลกปลอม เนื้อสัมผัส ความชอบโดยรวม				

ข้อเสนอแนะ

ตารางภาคผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย ความชื้น ของเนื้อปลากรายบด ที่เก็บรักษาที่สภาวะต่างๆกัน

SOURCE	DF	SS	MS	F	$F_{0.05}$
CON	1	91.25	91.25	0.77	4.26
TEMP	1	80.71	80.71	0.68	4.26
TIME	5	682.12	136.42	1.15	2.62
CON*TEMP	1	103.49	103.49	0.87	4.26
CON*TIME	5	653.85	130.77	1.11	2.62
CON*TEMP*TIME	10	1187.25	118.73	1.00	2.25
ERROR	24	2838.73	118.28		
TOTAL	47	5637.39			

* มีความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

C.V. = 13.90 %

MEAN = 81.26

ตารางภาคผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย pH ของเนื้อปลากรายบดที่เก็บรักษาที่สภาวะต่างๆกัน

SOURCE	DF	SS	MS	F	$F_{0.05}$
CON	1	0.0221	0.0221	26.07*	4.26
TEMP	1	0.3250	0.3250	383.35*	4.26
TIME	5	0.2895	0.0579	68.30*	2.62
CON*TEMP	1	0.0001	0.0001	0.12	4.26
CON*TIME	5	0.3442	0.0688	81.20*	2.62
TEMP*TIME	5	0.3258	0.0651	76.87*	2.62
CON*TEMP*TIME	10	0.0502	0.0100	11.85*	2.62
ERROR	24	0.0203	0.0008		
TOTAL	47	1.3775			

* มีความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

C.V. = 0.41 %

MEAN = 7.06

ตารางภาคผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย ปริมาณแอมโมเนีย ของเนื้อปลากรายบดที่เก็บรักษาที่สภาวะต่างๆกัน

SOURCE	DF	SS	MS	F	$F_{0.05}$
CON	1	40.33	40.33	28.90*	4.26
TEMP	1	16206.75	16206.75	11610.81*	4.26
TIME	5	26226.42	5245.48	3575.81*	2.62
CON*TEMP	1	10.08	10.08	7.22*	4.26
CON*TIME	5	112.42	22.48	16.11*	2.62
TEMP*TIME	5	3447.00	689.40	493.90*	2.62
CON*TEMP*TIME	10	109.67	21.93	15.71*	2.62
ERROR	24	33.50	1.39		
TOTAL	47	46186.17			

* มีความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

C.V. = 2.74 %

MEAN = 43.08

ตารางภาคผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย ปริมาณแอสตาแซนทีน ของเนื้อปลากรายบดที่เก็บรักษาที่สภาวะต่างๆกัน

SOURCE	DF	SS	MS	F	$F_{0.05}$
CON	1	24.1542	24.1542	99999.99*	4.26
TEMP	1	14.4431	14.4431	90034.92*	4.26
TIME	5	336.6173	67.3214	99999.99*	2.62
CON*TEMP	1	3.7018	3.7018	23067.48*	4.26
CON*TIME	5	9.5688	1.9137	11929.99*	2.62
TEMP*TIME	5	21.8966	4.3793	27299.73*	2.62
CON*TEMP*TIME	10	3.5548	0.7109	4431.97*	2.62
ERROR	24	0.0038	0.0001		
TOTAL	47	413.93			

* มีความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

C.V. = 0.35 %

MEAN = 3.54

ตารางภาคผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย ความเหนียว ของเนื้อปลากรายบดที่เก็บรักษาที่สภาวะต่างๆกัน

SOURCE	DF	SS	MS	F	$F_{0.05}$
CON	1	0.00	0.00	0.1	4.26
TEMP	1	2.24	2.34	42.10*	4.26
TIME	5	7.40	1.48	27.83*	2.62
CON*TEMP	1	0.01	0.01	0.20	4.26
CON*TIME	5	1.06	0.21	3.98*	2.62
TEMP*TIME	5	0.98	0.19	3.69*	2.62
CON*TEMP*TIME	10	0.54	0.11	2.04	2.62
ERROR	24	1.28	0.05		
TOTAL	47	13.52			

* มีความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

C.V. = 7.54 %

MEAN = 3.06

ประวัติผู้เขียน

นางสาวกุลนธี สันติกฤษณเลิศ เกิดเมื่อ วันที่ 16 ธันวาคม 2514 ที่จังหวัด นครปฐม สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจาก โรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยศิลปากร เมื่อปีพุทธศักราช 2533

นางสาวรมณีย์ สิมะกรพินธ์ เกิดเมื่อ วันที่ 2 สิงหาคม 2514 ที่จังหวัด กรุงเทพฯ สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจาก โรงเรียน บดินทรเดชา (สิงห์ สิงหเสนี) เมื่อปีพุทธศักราช 2533

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร ห้องสมุด