การพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง

PRODUCT DEVELOPMENT OF FROZEN *Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus* SALTED FISH

กรรณิการ์ บัวบานแย้ม
สุกัญญา กมล

สหกิจศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง

PRODUCT DEVELOPMENT OF FROZEN *Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus* SALTED FISH

กรรณิการ์ บัวบานแย้ม

สุกัญญา กมล

สหกิจศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2560

PRODUCT DEVELOPMENT OF FROZEN *Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus* SALTED FISH

KANNIKA BUABANYAEM
SUKANYA KAMON

A COOPERATIVE EDUCATION SUBMITTED IN PARTIAL
FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2017

หัวข้อสหกิจศึกษา	การพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง Product Development of Frozen *Clarias macrocephalus x C. gariepinus* Salted Fish
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกรรณิการ์ บัวบานแย้ม รหัสนักศึกษา 57050792 นางสาวสุกัญญา กมล รหัสนักศึกษา 57050907
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้สหกิจศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม อาจารย์ที่ปรึกษา	
ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ อาจารย์นิเทศ	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อสหกิจศึกษา การพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง
Product Development of Frozen *Clarias macrocephalus x C. gariepinus* Salted Fish
ชื่อนักศึกษา นางสาวกรรณิการ์ บัวบานแย้ม รหัสนักศึกษา 57050792
นางสาวสุกัญญา กมล รหัสนักศึกษา 57050907
ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา ชีววิทยา
คณะ วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม

บทคัดย่อ

จากการปฏิบัติงานสหกิจศึกษากับบริษัท ไอ.ที.ฟู้ดส์ อินดัสทรีส์ จำกัด เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งให้เป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสามารถส่งออกไปยังประเทศสหรัฐอเมริกา โดยศึกษาผลของสีที่ใช้หมักและอุณหภูมิที่ทำการอบแห้งที่มีผลต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความพึงพอใจโดยรวมของผู้ทดสอบ 8 ท่าน การใช้สีเจือปนอาหารที่มาจากธรรมชาติและได้รับอนุญาตในสหรัฐอเมริกาให้ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารแทนการใช้สีเจือปนอาหารจากการสังเคราะห์ ได้แก่ สี X และสี Y อัตราส่วนสีที่ใช้มีดังนี้ สูตร 1 (0.03 : 0.03), สูตร 2 (0.03 : 0.06) และสูตร 3 (0.03 : 0.12) และอุณหภูมิที่ใช้ในการอบปลาคือ 40, 45 และ 50°C ทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-Point Hedonic Scale เพื่อคัดเลือกผลของสีและอุณหภูมิที่เป็นที่พอใจต่อผู้บริโภคมากที่สุดโดยวิเคราะห์ผลด้วยค่าทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า การอบปลาที่อุณหภูมิ 45°C และสูตร2 (0.03 : 0.06) ได้คะแนนการยอมรับสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% นอกจากนี้ยังศึกษาผลของระยะเวลาการฉายรังสียูวีซีที่ระยะเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที ที่มีผลต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *Salmonella* spp. ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 พบว่า ปริมาณเชื้อ *salmonella* spp. ลดลงเมื่อฉายรังสีนานขึ้น อย่างไรก็ตามระยะเวลาการฉายรังสียูวีซีทั้ง 4 ช่วงเวลายังไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella* spp. ในผลิตภัณฑ์ได้ และศึกษาผลของรังสียูวีซีต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนการยอมรับปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งที่ไม่ผ่านการฉายรังสี (0 นาที) เนื่องจากระยะเวลาการฉายรังสีนานขึ้นส่งผลให้เนื้อปลามีสีดำคล้ำ

คำสำคัญ: ปลาดุกบิ๊กอุย, ผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง, รังสียูวีซี, สีเจือปนอาหารจากธรรมชาติ, *Salmonella* spp.

Title	Product Development of Frozen *Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus* Salted Fish
Students	Miss Kannika Buabanyaem Student ID 57050792
	Miss Sukanya Kamon Student ID 57050907
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2017
Advisor	Assist. Prof. Dr. Duangkamol Ruen-ngam

Abstract

The cooperative education at I.T. Foods Industries Co., Ltd. was aimed to find out method for product development of frozen *Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus* salted fish. This product was expected to be safe for costomer and exported to USA. This research focus on effect of various colors of fermenting color and drying temperature on sensory evaluation; physical appearance, color, smell, texture and overall satisfaction of 8 panelises. This research used authorized natural color additives in USA instead of synthetic color additives which was purchased from natural color applied in food products. Effect of concentration ratio of X to Y color and temperature on physical properties; color, smell, texture and sensory tests; overall satisfaction for three formula frozen Clarias fish. The ratio of both color were Formula 1 (0.03:0.03), Formula 2 (0.03: 0.12) and formula 3 (0.03: 0.12) and temperatures were are 40, 45 and 50°C. The results were analysed by 9-Point Hedonic scale for suitable temperature and concentration ratio of two shades of color and statistic analysis at significant level of 95%. The results found that the temperature at 45°C and formula 2 with concentration ratio of X to Y color (0.03: 0.06) had the highest recognition from the panelist. In addition this study was also investigated on the inhibition of *Salmonella* spp. in frozen *Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus* salted fish product (Formula 2) by UV-C irradiation at 0, 5, 10 and 15 minutes.The results showed that the duration of irradiation was longer the amount of infection was lesser. Effect of UV-C radiation on sensory properties on product. The results shows that the panelist was dislike in longer time applied on because the longer radiation time, the darker was found.

Keyword: Frozen *Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus* salted fish product, Hybrid catfish, Natural color additive, *Salmonella* spp., UV-C

กิตติกรรมประกาศ

รายงานสหกิจศึกษาเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีโดยได้รับความกรุณาจาก ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม อาจารย์ที่ปรึกษาสหกิจศึกษา และผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ อาจารย์นิเทศสหกิจศึกษา ที่คอยให้คำปรึกษา แนะนำ ช่วยเหลือในด้านต่างๆ และเป็นกรรมการสอบสหกิจศึกษาจนกระทั่งทุกอย่างสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้ศึกษาขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทั้งสองท่านเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณอุไรวรรณ พุ่มนุ่ม (ตำแหน่งผู้จัดการโรงงาน) คุณวันวิสา ตรีพืช (ผู้ช่วยผู้จัดการฝ่ายประกันคุณภาพ) และคุณจุฑาทิพย์ สินสวัสดิ์ (ผู้ช่วยผู้จัดการฝ่ายวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์) บริษัท ไอ.ที.ฟู้ดส์ อินดัสทรีส์ จำกัด ที่คอยแนะนำ ช่วยเหลือในด้านต่างๆ และให้ความรู้รวมถึงบุคลากรภายในบริษัทท่านอื่นๆ ที่ไม่ได้กล่าวนาม ที่ได้ให้คำแนะนำในระหว่างการปฏิบัติสหกิจศึกษา ผู้ศึกษาจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

สุดท้ายนี้ผู้ศึกษาขอขอบพระคุณบิดามารดา และครอบครัว ที่เปิดโอกาสให้ได้รับการศึกษาตลอดจนคอยให้ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

กรรณิการ์ บัวบานแย้ม
สุกัญญา กมล

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค
กิตติกรรมประกาศ ..... ง
สารบัญ ..... จ
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญรูป ..... ซ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ที่มาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ 2
1.3 ขอบเขต 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 วัตถุดิบที่ใช้ 3
2.1.1 ปลาดุกบิ๊กอุย 3
2.1.2 ซอร์บิทอล 3
2.1.3 ผงชูรส 4
2.1.4 โซเดียมไนไตรท์ 5
2.1.5 เกลือ 6
2.2 แบคทีเรีย 7
2.2.1 *Salmonella* spp. 7
2.2.2 *Staphylococcus aureus* 7
2.2.3 *Escherichia coli*, Fecal coliform และ Coliform 8
2.2.4 *Vibrio* spp. 9
2.5.5 การวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 10

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.3 รังสียูวีซี 10
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 11
2.4.1 ผลของรังสียูวีซี โดยใช้ขดลวดเทฟลอนต่อจำนวนจุลินทรีย์ และลักษณะทางกายภาพ-เคมีในน้ำแตงโม 11
2.4.2 การฉายรังสียูวีซีในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และการเสื่อมสภาพในเนื้อเยื่อ (*Cucurbita pepo*) 11
2.4.3 การสร้างแบบจำลองอิทธิพลของอุณหภูมิ, ปริมาณน้ำอิสระ และการเคลื่อนที่ของน้ำต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *Salmonella* ในอาหารที่มีความชื้นต่ำ 12
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 13
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 22
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 35
เอกสารอ้างอิง 36
ภาคผนวก 39
ภาคผนวก ก 39
ภาคผนวก ข 50
ภาคผนวก ค 54
ภาคผนวก ง 55
ภาคผนวก จ 64
ภาคผนวก ฉ 68

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1.1 ตารางที่ 3.1 ส่วนผสมสำหรับหมักปลาทั้ง 3 สูตร 20
1.2 ตารางที่ 4.1 ผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส 23
ของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 1 (0.03:0.03) อบที่อุณหภูมิ 40,45 และ 50°C
1.3 ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส 24
ของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 (0.03:0.06) อบที่อุณหภูมิ 40,45 และ 50°C
1.4 ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส 25
ของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 3 (0.03:0.12) อบที่อุณหภูมิ 40,45 และ 50°C
1.5 ตารางที่ 4.4 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางด้านเคมี........ 27
ของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 (0.03:0.06)
1.6 ตารางที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางด้านกายภาพ........ 28
ของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 (0.03:0.06)
1.7 ตารางที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยา 28
ของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 (0.03:0.06) ก่อนและหลังการอบที่อุณหภูมิ 45°C
1.8 ตารางที่ 4.7 ผลการฉายรังสียูวีซีในปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2........ 29
ที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp เป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที
1.9 ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส 31
ของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 หลังฉายรังสียูวีซี

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

1.1 รูปที่ 2.1 ลักษณะทั่วไปของปลาดุกบิ๊กอุย....3
1.2 รูปที่ 2.2 โครงสร้างของซอร์บิทอล....4
1.3 รูปที่ 2.3 โครงสร้างของผงชูรส....4
1.4 รูปที่ 2.4 โครงสร้างของโซเดียมไนไตรท์....5
1.5 รูปที่ 2.5 โครงสร้างของเกลือ....6
1.6 รูปที่ 2.6 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Salmonella*....7
1.7 รูปที่ 2.7 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Staphylococcus aureus*....8
1.8 รูปที่ 2.8 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Escherichia coli*....8
1.9 รูปที่ 2.9 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Vibrio cholerae*....9
1.9 รูปที่ 2.9 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*....10
2.0 รูปที่ 2.10 โครงสร้างของ DNA ก่อนและหลังการฉายรังสียูวีซี....10
2.1 รูปที่ 3.1 แผนผังการปฏิบัติงาน....19
2.2 รูปที่ 3.2 แผนผังการปฏิบัติงาน (ต่อ)....20
2.3 รูปที่ 4.1 ปลาดุกบิ๊กอุยก่อนแล่ (ซ้าย) และหลังแล่ผีเสื้อ (ขวา)....22
2.4 รูปที่ 4.2 ปลาดุกบิ๊กอุยสูตร 1 หลังอบที่อุณหภูมิ 40(1), 45(2) และ 50°C ตามลำดับ....23
2.5 รูปที่ 4.3 ปลาดุกบิ๊กอุยสูตร 2 หลังอบที่อุณหภูมิ 40(1), 45(2) และ 50°C ตามลำดับ....24
2.6 รูปที่ 4.4 ปลาดุกบิ๊กอุยสูตร 3 หลังอบที่อุณหภูมิ 40(1), 45(2) และ 50°C ตามลำดับ....25

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

บริษัท ไอ.ที.ฟู้ดส์ อินดัสทรีส์ จำกัด ตั้งอยู่ที่นิคมอุตสาหกรรมสมุทรสาคร เลขที่ 39/108 หมู่ 2 ตำบลบางกระเจ้า อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร รหัสไปรษณีย์ 74000 เป็นผู้ผลิตและส่งออกผลิตภัณฑ์อาหารแช่เยือกแข็งทั้งแบบพร้อมปรุง (READY-TO-COOK) และแบบพร้อมรับประทาน (READY–TO–EAT) ภายใต้ชื่อการค้าต่างๆ ของลูกค้า ตลาดส่งออกหลักคือ อเมริกาเหนือ, สหภาพยุโรป และเอเชีย โดยมีการคัดสรรวัตถุดิบที่มีคุณภาพและมีขั้นตอนการผลิตที่พิถีพิถัน ใส่ใจทุกรายละเอียดทุกขั้นตอน ในการนำสินค้าสู่ตลาดโลก (Thailand Food Quality To The World) ภายใต้การรับรอง GMP, HACCP จากกรมประมง, ISO 9001:2008 และ ISO 22000:2005

ผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง จัดเป็นผลิตภัณฑ์กลุ่มสัตว์น้ำแปรรูปแช่เยือกแข็งของทางบริษัท ไอ.ที.ฟู้ดส์ อินดัสทรีส์ จำกัด ซึ่งได้มีการส่งออกไปยังประเทศสหรัฐอเมริกา แต่ประสบปัญหาด้านการใช้สีเจือปนอาหารที่ไม่ได้รับอนุญาตให้ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารขององค์การอาหารและยาสหรัฐอเมริกา (U.S. Food and Drug Administration) เนื่องจากบริษัทได้มีการใช้สีเจือปนอาหารประเภทสังเคราะห์ในผลิตภัณฑ์ ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง เพื่อให้ลักษณะปรากฏและเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ มีสีสันที่ดูน่ารับประทาน แต่ทั้งนี้การใช้สีเจือปนอาหารสังเคราะห์ที่ไม่ได้รับอนุญาตหรือมีการใช้ในปริมาณมากเกินไป อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค และนอกจากนี้ยังพบปัญหาการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ในผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งที่ส่งออกไปยังประเทศสหรัฐอเมริกา เนื่องจากกระบวนการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะ GMP ทำให้ผลิตภัณฑ์อาจมีการปนเปื้อนเชื้อดังกล่าว ทั้งนี้มาตรฐานคุณภาพผลิตภัณฑ์ทางจุลชีววิทยาของประเทศสหรัฐอเมริกาต้องตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp.ในผลิตภัณฑ์ จากปัญหาที่กล่าวมาข้างต้นทำให้สินค้าปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งที่ทางบริษัทส่งออกถูกทำลายทิ้งจากประเทศปลายทาง ส่งผลให้สูญเสียรายได้จำนวนมาก

ดังนั้นรายงานสหกิจศึกษานี้ได้มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่แข็ง ให้เป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสามารถส่งออกไปยังประเทศสหรัฐอเมริกา โดยศึกษาผลของสีที่ใช้หมักและอุณหภูมิที่ทำการอบแห้งที่มีผลต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสและศึกษาผลของระยะเวลาการฉายรังสียูวีซีที่มีผลต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *Salmonella* spp. ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง นอกจากนี้ยังศึกษาผลของรังสียูวีซีต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 ศึกษาผลของสีที่ใช้หมักผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง

1.2.2 ศึกษาอุณหภูมิที่ทำการอบแห้งที่มีผลต่อคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส

1.2.3 ศึกษาผลระยะเวลาการฉายรังสียูวีซีที่มีผลต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *Salmonella* spp. ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตรที่ได้รับการคัดเลือก

1.2.4 ศึกษาผลกระทบของการฉายรังสีที่ระยะเวลาแตกต่างกันต่อคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตรที่ได้รับการคัดเลือก

1.3 ขอบเขต

1.3.1 อัตราส่วนความเข้มข้นของสีเจือปนอาหารจากธรรมชาติที่ใช้หมักปลา (X:Y) ได้แก่ สูตร 1 (0.03 : 0.03), สูตร 2 (0.03 : 0.06) และสูตร 3 (0.03 : 0.12)

1.3.2 อุณหภูมิที่ใช้อบปลา ได้แก่ 40, 45 และ 50°C

1.3.3 ระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสียูวีซี เป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที ต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *Salmonella* spp. ที่ปนเปื้อนในปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตรที่ได้รับการคัดเลือก

1.3.4 การทดสอบผลการฉายรังสียูวีซีที่ระยะเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาทีต่อคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความพึงพอใจโดยรวม ด้วยวิธี 9-Point Hedonic Scale

1.3.5 ใช้ผู้ทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของบริษัท ไอ.ที.ฟู้ดส์ อินดัสทรีส์ จำกัด จำนวน 8 คน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

จากการปฏิบัติสหกิจศึกษา ณ บริษัท ไอ.ที.ฟู้ดส์ อินดัสทรีส์ จำกัด ได้นำความรู้ที่ได้เรียนมาประยุกต์ใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งของทางบริษัท เพื่อให้ผลิตภัณฑ์สามารถส่งออกไปยังประเทศสหรัฐอเมริกาและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค นอกจากนี้ยังได้รับประสบการณ์และความรู้จากการทำงานภายในสถานประกอบการจริง และสามารถนำไปประสบการณ์และความรู้ที่ได้รับไปประยุกต์ใช้ในอนาคตได้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 วัตถุดิบที่ใช้

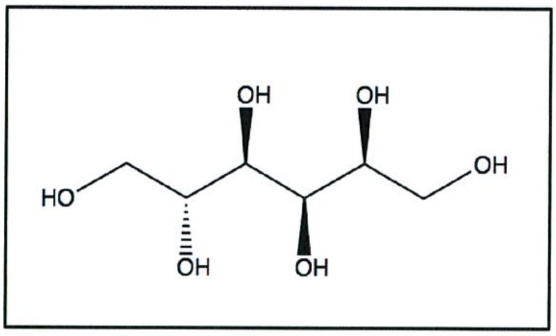
2.1.1 ปลาดุกบิ๊กอุย

มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า (*Clarias microcephalus x Clarias gariepinus*) ซึ่งเป็นปลาลูกผสมระหว่างปลาดุกเทศ (*Clarias gariepinus*) กับปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) มีลักษณะทั่วไปคล้ายกับปลาดุกด้านแต่มีส่วนหัวยาวกว่า ด้านบนกะโหลกขรุขระ มีลำตัวยาว ครีบหลัง ครีบก้นยาว ลำตัวด้านบนมีสีน้ำตาลอมเหลืองและมีลายแต้มแบบลายหินอ่อนบนตัวแก้มและท้องมีสีจางครีบมีสีเข้มกว่าลำตัวเล็กน้อยและอาจมีขอบเป็นสีแดง ส้ม ที่โคนครีบหางมีแถบตามแนวตั้งสีจาง ปัจจุบันเกษตรกรนิยมเพาะเลี้ยง เนื่องจากเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว อีกทั้งยังทนทานต่อโรคและสภาพแวดล้อมได้ดี มีรสชาติดีและราคาถูก (กรมประมง, 2540)

รูปที่ 2.1 ลักษณะทั่วไปของปลาดุกบิ๊กอุย

2.1.2 ซอร์บิทอล

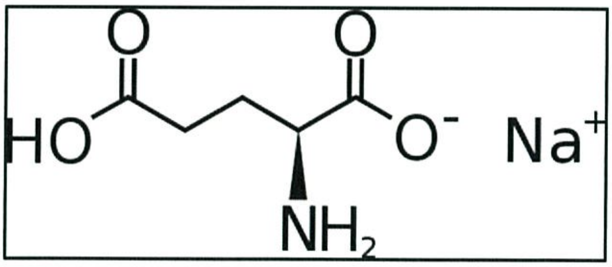
เป็นสารให้ความหวานประมาณ 60% ของน้ำตาลซูโครส องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (USFDA) กำหนดปริมาณที่อนุญาตให้บริโภคในเด็กและผู้ใหญ่ โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายที่เรียกว่า Acceptable daily intake levels (ADI) คือ ควรบริโภคไม่เกิน 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน (Marinovich *et.al.*, 2013) ในอุตสาหกรรมอาหารนิยมนำซอร์บิทอลมาใช้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น หมากฝรั่ง และลูกกวาดที่ปราศจากน้ำตาล เป็นต้น สำหรับทางด้านการแพทย์นำมาใช้รักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน (สุขใจ, 2555)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของซอร์บิทอล
ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/ซอร์บิทอล

2.1.3 ผงชูรส

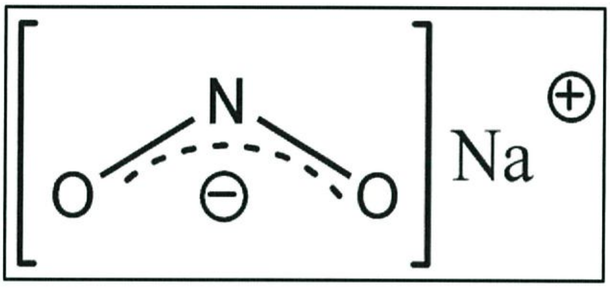
มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Monosodium-L-Glutamate monohydrate โครงสร้างทางเคมีคือ $C_5H_8O_4$ $NNaH_2O$ นิยมนำมาใช้ปรุงรสอาหารประเภทเนื้อสัตว์ ปลา และซุปต่างๆ เป็นต้น เพื่อทำให้อาหารมีรสชาติอร่อย ทั้งนี้ต้องใช้ในปริมาณที่เหมาะสม เนื่องจากอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ (ฝ่ายจัดการสารพิษกองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2541) ต่อมาองค์การอนามัยโลก ได้ประกาศยกเลิกปริมาณที่จำกัดว่าไม่ควรบริโภคผงชูรสเกิน 6 กรัมต่อคน น้ำหนักตัว 50 กิโลกรัมต่อวัน เนื่องจากคณะกรรมการผู้เชี่ยวชาญว่าด้วยเรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: JECFA) ได้ประเมินความปลอดภัยของเกลือกลูตาเมต โดยพิจารณาให้ผงชูรสอยู่ในกลุ่มที่มีความปลอดภัยสูงที่สุดคือกลุ่มที่ "ไม่จำเป็นต้องกำหนดปริมาณการบริโภคต่อวัน" ตรงกับข้อมูลขององค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (USFDA) ให้ข้อมูลว่า การใช้ผงชูรสมีความปลอดภัยเมื่อใช้ในปริมาณที่เหมาะสม (Raif S. *et.al.*, 2000)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของผงชูรส
ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/โมโนโซเดียมกลูตาเมต

2.1.4 โซเดียมไนไตรท์

โซเดียมไนไตรท์ สูตรโครงสร้างทางเคมีคือ $NaNO_2$ ถูกรีดิวซ์มาจากเกลือไนเตรต (nitrate, NO_3) ในการใช้โซเดียมไนไตรท์ เพื่อป้องกันการเหม็นหืน และสามารถยับยั้งเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium botulinum* และช่วยให้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกมีสีชมพูอมแดง โดยสีที่เกิดขึ้นมาจากการรวมตัวของไนไตรท์กับเม็ดสีในเลือด คือ ไมโอโกลบิน (Myoglobin) เป็นไนโตรโซฮีโมโครม (Nitrosohemochrome) เมื่อถูกความร้อนจะเปลี่ยนเป็น Globin Introsohemochrome มีลักษณะสีชมพู ทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีที่น่ารับประทาน ปริมาณการใช้ไนไตรท์จะต้องคำนึงถึงปริมาณไนไตรท์ที่จะตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ เนื่องจากสามารถรวมตัวกับสารประกอบเอมีน (Amine) เกิดเป็นสารประกอบไนโตรซามีน (Nitrosamine) ปริมาณไนไตรท์ที่ใส่ลงในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอยู่ที่ 100 - 300 ส่วนในล้านส่วน (Hautzinger, 1999) แต่ปริมาณที่เติมในอาหารไม่ควรเกิน 120 ส่วนในล้านส่วน (เรณู และคณะ, 2543)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของโซเดียมไนไตรท์

ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_nitrite_(medical_use)

2.1.5 เกลือ

โซเดียมคลอไรด์ มีสูตรโครงสร้างทางเคมีคือ NaCl มีลักษณะสีขาว และรสชาติเค็ม ในเกลือ โซเดียมจะมี โซเดียมเป็นส่วนประกอบร้อยละ 40 (สำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2554) โซเดียมมีหน้าที่ควบคุมแรงดันออสโมติก (Osmotic pressure) เพื่อรักษาปริมาณน้ำภายนอกเซลล์และช่วยในรักษาค่าความเป็นกรดด่างในร่างกาย นอกจากนี้เกลือยังมีผลต่อการลดน้ำภายในผลิตภัณฑ์ทำให้แรงดันออสโมติก (osmotic pressure) ภายในผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงค่าปริมาณน้ำอิสระ water activity (a_w) จึงลดลง ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เช่น *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. เป็นต้น และป้องกันการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์

รูปที่ 2.5 ลักษณะของเกลือ

ที่มา : https://www.in-pharmatechnologist.com/Article/2015/06/24/US-FDA-publishes-API-salt-naming-policy

2.2 แบคทีเรีย

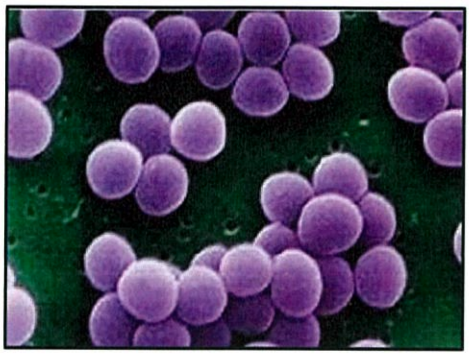
2.2.1 *Salmonella* spp.

เป็นแบคทีเรียแกรมลบในวงศ์ Enterobacteriaceae มีรูปร่างท่อน เจริญได้ทั้งสภาพที่มีและไม่มีอากาศ (Facultative anaerobe) ไม่สร้างสปอร์ สร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase) ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลารอบเซลล์ (Peritrichous flagella) หมักกลูโคสให้กรดและแก๊ส พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมทั่วไปตามธรรมชาติ เป็นจุลินทรีย์ที่อยู่รอดได้ดีในสภาพที่ไม่ร้อน แหล่งที่อยู่อาศัยหลักคือลำไส้ของสัตว์ พบในอาหารที่มาจากสัตว์ เช่น เนื้อสด ไข่ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ปีกและนม (สุรีย์, 2557)

รูปที่ 2.6 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Salmonella*
ที่มา: https://www.cdc.gov/salmonella/index.html

2.2.2 *Staphylococcus aureus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวกอยู่ในวงศ์ Micrococcaceae รูปร่างกลม ขนาดของเซลล์มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 - 1.5 ไมโครเมตร อยู่เป็นคู่ต่อกันเป็นสายสั้นหรือเกาะกัน คล้ายพวงองุ่น ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ ต้องการอากาศในการเจริญ (Aerobe) หรือเจริญได้ในทั้งสภาพที่มีและไม่มีอากาศ (Facultative anaerobe) สร้างเอนไซม์ Catalase เชื้อชนิดนี้ชอบเจริญที่ อุณหภูมิปานกลาง บางสายพันธุ์สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำถึง 6.7°C เจริญได้ที่อุณหภูมิในช่วง 47.0 - 47.8°C และมีอุณหภูมิที่ เหมาะสมต่อการ เจริญที่ 35°C pH ที่เจริญได้ระหว่าง 4.5 ถึง 9.3 ช่วง pH ที่เหมาะสมคือ 7.0 - 7.5 เชื้อ *S. aureus* ส่วนใหญ่ทนเกลือและน้ำตาลได้สูง โดยเจริญได้ในสภาพที่มีค่า a_w เท่ากับ 0.83 ถึงมากกว่า 0.99 (สุรีย์, 2557)

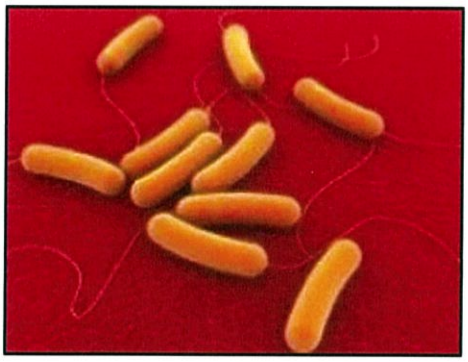


รูปที่ 2.7 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ที่มา: http://biochemicaltest.com/biochemical-test-of-staphylococcus-aureus/

2.2.3 *Escherichia coli*, Fecal coliform และ Coliform

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae เจริญได้ทั้งในสภาพที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (Facultative anaerobe) หมักน้ำตาลแลคโตส เป็นจุลินทรีย์บ่งชี้ถึงการปนเปื้อนจากการขับถ่าย (Fecal contamination) เนื่องจากพบมากในอุจจาระคนและสัตว์ การพบเชื้อ *E.coli* ในอาหารหรือน้ำจึงบ่งบอกถึงการปนเปื้อนจากสิ่งขับถ่าย (สุรีย์, 2557)



รูปที่ 2.8 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Escherichia coli*

ที่มา: http://www.stopfoodborneillness.org/pathogen/escherichia-coli-e-coli/

Coliforms เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ สามารถหมักแลคโตส เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำถึง -2°C และที่อุณหภูมิสูงถึง 50°C เจริญในอาหารได้ช้าที่อุณหภูมิ 5°C และเจริญได้ในช่วง pH 4.4 - 9.0 และสามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Nutrient Agar สร้างโคโลนีให้เห็นได้ภายใน 12 – 16 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37°C ส่วน Fecal coliforms เป็นแบคทีเรียกลุ่มย่อยของแบคทีเรียโคลิฟอร์มกลุ่มใหญ่เจริญและหมักแลคโตสที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิการบ่มปกติ เรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า โคลิฟอร์มทนความร้อน (Thermotolerant coliforms) (สุรีย์, 2557)

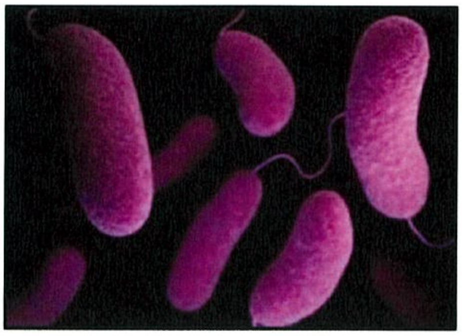
2.2.4 *Vibrio* spp.

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อนโค้งหรือท่อนตรง ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาเส้นเดียวที่ขั้วเซลล์ข้างใดข้างหนึ่ง (Single polar flagellum) สำหรับเชื้อ *Vibrio cholerae* เป็นสาเหตุของโรคอหิวาต์ในคนปนเปื้อนมากับน้ำที่มีมลภาวะ เชื้อชนิดนี้จำแนกโดยการทดสอบทางซีโรวิทยาจะแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ 1) *V. cholerae* O1 (serovar O group 1) แบ่งออกได้เป็น 2 ไบโอไทป์ (Biotype) คือ ไบโอไทป์ Classic และไบโอไทป์ E1 Tor และแบ่งได้อีก 3 ซีโรไทป์คือ Inaba, Ogawa และ Hikojima และ 2) V. *cholerae* non - O1 เป็นเชื้อที่ไม่เกิดปฏิกิริยาการเกาะกลุ่มกับโอแอนติซีรัม กลุ่ม 1 (O group 1 antiserum) โดยทั่วไปเชื้อกลุ่มนี้ ไม่รุนแรงเพียงแต่ก่อโรคอาหารเป็นพิษการติดเชื้อที่เนื้อเยื่ออ่อนและเกิดภาวะติดเชื้อในกระแสเลือดในคน (สุรีย์, 2557)

รูปที่ 2.9 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Vibrio cholerae*

ที่มา: http://biochemicaltest.com/biochemical-test-of-vibrio-cholerae/

ส่วนเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* เป็นแบคทีเรียรูปท่อนที่ชอบเจริญในสภาพที่มีเกลือ (Halophilic rod) เจริญได้ในสภาพที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) พบในน้ำทะเล มหาสมุทร และแถบชายฝั่ง อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 30 - 35°C และอุณหภูมิสูงสุดสำหรับการเจริญที่ 44°C เจริญได้ในอาหารที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 9.5 - 10°C ไม่เจริญที่ 4°C และไม่เจริญในสภาพที่ไม่มีเกลือ สามารถเจริญได้ในสภาพที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 - 8 เจริญได้ดีในสภาพที่มีเกลือความเข้มข้นร้อยละ 2 - 4 เจริญได้ที่ช่วง pH 4.8 - 11.0 และช่วง pH ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 7.6 - 8.6 การติดเชื้อ *V. parahaemolyticus* ส่วนใหญ่มักเกี่ยวข้องกับการรับประทานอาหารทะเลเช่น อาหารทะเลดิบ อาหารที่ปนเปื้อนอีกครั้งหลังจากผ่านความร้อนและอาหารทะเลที่ผ่านความร้อนไม่เพียงพอ (สุรีย์, 2557)



รูปที่ 2.10 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*

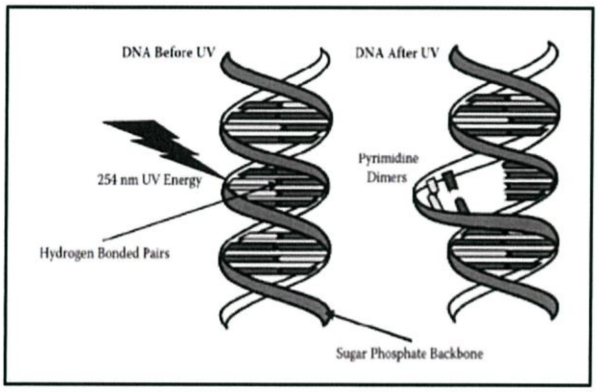
ที่มา : http://www.stopfoodborneillness.org/pathogen/vibrio/

2.2.5 การวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count, TPC)

เป็นวิธีที่ใช้ตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตในผลิตภัณฑ์อาหารหรือส่วนผสมอาหาร วิธีนี้ต้องเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ให้เจริญขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยอาศัยหลักการที่ว่าจุลินทรีย์ที่มีชีวิตจะเจริญแบ่งตัวเพิ่มจำนวนจนเห็นโคโลนี แล้วจึงตรวจนับจำนวนโคโลนีหลังจากบ่มที่อุณหภูมิเหมาะสม ข้อเสียของวิธีนี้คือ ใช้เวลานานประมาณ 18 - 24 ชั่วโมง (สุรีย์, 2557)

2.3 รังสียูวีซี

รังสียูวีซี (UV-C) หรือที่เรียกว่า รังสีอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet) มีความยาวคลื่นในช่วง 200-280 นาโนเมตร มีคุณสมบัติเป็น Germicidal สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ รา และไวรัส (Caminiti *et al.*, 2012;Tran & Farid, 2004) สำหรับกลไกในการยับยั้งรังสียูวีซีจะถูกดูดกลืนโดยดีเอ็นเอและป้องกันการเกิดกระบวนการ Transcription และกระบวนการ Translation เนื่องจากอยู่ติดกับพันธะไพริมิดีน (Pyrimidine bond) ที่อยู่ติดกันบนสายดีเอ็นเอเดียวกัน (Franz, Specht, Cho, Graef and Stahl, 2009; Koutchma, 2009) ดังแสดงในรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.11 โครงสร้างของ DNA ก่อนและหลังการฉายรังสียูวีซี

ที่มา : (Koutchma T., Forney L. และ Moraru C., 2009)

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.4.1 ผลของรังสียูวีซีโดยใช้ขดลวดเทฟลอนต่อจำนวนจุลินทรีย์ และลักษณะทางกายภาพ-เคมีในน้ำแตงโม

การศึกษาประสิทธิภาพของรังสี Ultraviolet-C เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ Aerobic, Coliform และยีสต์/ราในน้ำแตงโม โดยใช้ขดลวดเทฟลอน เพื่อเปลี่ยนแปลงปริมาณของจุลินทรีย์, pH, °brix, สี (L*, a* และ b*), ไลโคปีน และ phenolics ในน้ำผลไม้ หลังจากการฉายรังสียูวีซีทำการประเมินเป็นเวลา 37 วัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 ± 1°C ความเข้มข้นของรังสีที่ใช้อยู่ระหว่าง 2.7 และ 37.5 J/mL การยับยั้งด้วยรังสียูวีซี พบว่า Coliform bacteria เท่ากับ 2.6 log CFU/mL ที่ความเข้มข้นรังสียูวีซี 37.5 J/mL สามารถลดจำนวนแบคทีเรียจำพวก Aerobic, ยีสต์/รา เท่ากับ 1.47 และ 0.99 log CFU/mL ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาน้ำผลไม้ที่ผ่านการฉายรังสีเป็นเวลา 31 วัน พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ยังคงต่ำกว่า 6.0 log CFU/mL เมื่อฉายรังสียูวีซีและเก็บรักษาเป็นเวลา 25 วัน ไม่ส่งผลต่อ pH, ° brix, การเปลี่ยนสี, ไลโคปีน และ phenolics พบว่า ค่าสีของน้ำผลไม้ที่ฉายรังสียูวีซีมีค่าสี b* (สีเหลือง) ลดลง และ a* (สีแดง) สูงกว่าน้ำผลไม้ที่ไม่ผ่านการฉายรังสี ความเกี่ยวข้องในทางอุตสาหกรรม : น้ำแตงโม ซึ่งเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ และเป็นกลยุทธ์ในเชิงพาณิชย์เพื่อเพิ่มอายุการเก็บรักษาหรือไม่มีผลกระทบต่อทางโภชนาการ ในการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการฉายรังสียูวีซีในขดลวดเทฟลอน เป็นวิธีการที่ไม่ใช้ความร้อนในการยับยั้งจุลินทรีย์ในน้ำแตงโม และปรับปรุงอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ โดยไม่ส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพ-เคมี และคุณลักษณะทางโภชนาการ (Fonseca, J.M. and Rushing, J.W., 2006)

2.4.2 การฉายรังสียูวีซี ในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์และการเสื่อมสภาพในเนื้อเยื่อ (*Cucurbita pepo*)

การนำชิ้นเนื้อเยื่อของพืชกลุ่มแตง (*Cucurbita pepo*) มาฉายรังสียูวีซีเป็นเวลา 1, 10 หรือ 20 นาที พบว่าฉายรังสียูวีซีเป็นเวลา 10 และ 20 นาที สามารถลดกิจกรรมของจุลินทรีย์และการเสื่อมสภาพระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 หรือ 10 °C เท่านั้น และพบว่าชิ้นเนื้อเยื่อนำมาที่ฉายรังสีมีอัตราการหายใจสูงกว่าเนื้อเยื่อที่ไม่ฉายรังสีแต่ไม่มีผลต่อการผลิตเอทธิลีน การฉายรังสียูวีซีที่เวลา 10 และ 20 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C เป็นเวลา 12 วัน พบว่าชิ้นเนื้อเยื่อมีการเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลแดง และที่อุณหภูมิ 5°C ไม่พบการเปลี่ยนแปลงสี แต่เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 20 วัน พบว่า ไม่ปรากฏจุดสีน้ำตาลแห้งที่จมอยู่บนผิวของเนื้อเยื่อเปลือกภายนอก ดังนั้นการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C ไม่ทำให้ผิวของเนื้อเยื่อเปลือกภายนอกเกิดจุดสีน้ำตาล การฉายด้วยรังสียูวีซียังไม่มีผลต่อความเข้มข้นของน้ำตาลหรือกรดมาลิก ข้อดีของการฉายรังสียูวีซีคือช่วยชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ และชะลอการเสื่อมสภาพในเนื้อเยื่อผลไม้ (Erkan *et al*., 2001)

2.4.3 การสร้างแบบจำลองอิทธิพลของอุณหภูมิ, ปริมาณน้ำอิสระ และการเคลื่อนที่ของน้ำต่อรอดชีวิตของเชื้อ *Salmonella* ในอาหารที่มีความชื้นต่ำ

เชื้อ *Salmonella* สามารถอยู่รอดได้ในอาหารที่มีความชื้นต่ำเป็นระยะเวลานาน การลดกิจกรรมของเชื้อจุลินทรีย์ระหว่างการให้ความร้อน เชื่อว่าจะเกิดจากการทำงานร่วมกันระหว่างเซลล์กับน้ำ และเชื่อว่ามีความเกี่ยวข้องกับปริมาณน้ำอิสระ (a_w) จุดมุ่งหมายของการศึกษานี้ เพื่อตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของน้ำในอาหารที่มีความชื้นต่ำต่อการอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* และใช้ข้อมูลเหล่านี้ในการพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายเชื้อ *Salmonella* ในอาหารผงเวย์โปรตีนมีการเคลื่อนที่ของน้ำที่แตกต่างกัน โดยการปรับค่า pH และทำให้เกิดการเสียสภาพด้วยความร้อน และปรับสมดุลค่า a_w อยู่ระหว่าง 0.19 ± 0.03 และ 0.54 ± 0.02 ซึ่งการเคลื่อนที่ของน้ำจะขึ้นอยู่กับ Proton-NMR ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Salmonella* จำนวน 4 สายพันธุ์ด้วยผงเวย์และค็อกเทล, ปิดผนึกให้สนิทแบบสุญญากาศ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 21, 36, 50, 60, 70 และ 80°C ตามลำดับแบบจำลองข้อมูลการอยู่รอดเช่นเดียวกับแบบจำลอง log-linear, Geeraerd-tail, Weibull, biphasic-linear และ Baranyi ซึ่งเป็นแบบจำลองที่สามารถใช้ในการอธิบายข้อมูลได้ดีที่สุด ใช้ได้ทุกช่วงอุณหภูมิ, กิจกรรมของน้ำและการเคลื่อนที่ของน้ำ ($f_{test} < F_{Table}$) ได้ถูกคัดเลือกสำหรับการสร้างแบบจำลองทุติยภูมิ แบบจำลอง Weibull สามารถอธิบายเกี่ยวกับจลนพลศาสตร์การอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* ได้ดีที่สุด อิทธิพลของอุณหภูมิ, ปริมาณน้ำอิสระและการเคลื่อนที่ของน้ำต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *Salmonella* ประเมินโดยการวิเคราะห์การถดถอยแบบเชิงเส้น สำหรับแบบจำลองทุติยภูมิได้มีการพัฒนาและทำการตรวจสอบในผลิตภัณฑ์นมและเมล็ดแห้งที่ไม่มีไขมันและถั่วลิสงที่ไขมันต่ำและผลิตภัณฑ์โกโก้ พบว่าปริมาณน้ำอิสระมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *Salmonella* ในทุกอุณหภูมิ ซึ่งการรอดชีวิตของเชื้อลดลงเมื่อค่าปริมาณน้ำอิสระ(a_w) ลดลง และการเคลื่อนที่ของน้ำไม่มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อการอยู่รอดของเชื้อ แบบจำลองทุติยภูมิมีประโยชน์ในการทำนายการอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* ได้ในอาหารที่มีความชื้นต่ำ โดยให้ความสัมพันธ์ของ R = 0.94 และค่าการคาดกาณ์ที่ยอมรับได้คือ 81% พบว่าผลของ % bias และ % การคลาดเคลื่อนของแบบจำลองมีความแม่นยำมากขึ้น ในการทำนายการอยู่รอดของเชื้อในอาหารที่ไม่มีไขมันเทียบกับอาหารที่มีไขมันต่ำ (ไขมัน 12%) การพัฒนาแบบจำลองในการศึกษาครั้งนี้เป็นแบบจำลองแรกในการทำนายการอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* ในอาหารที่มีความชื้นต่ำ แบบจำลองนี้ให้ข้อมูลพื้นฐานที่จะใช้สำหรับการวิจัยกลยุทธ์ในการลดความเสี่ยงสำหรับอาหารที่มีความชื้นต่ำ (J.F.Franka, D. S., 2013)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และวัสดุการวิจัย

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 ปลาดุกบิ๊กอุย

3.1.1.2 เกลือ (Salt)

3.1.1.3 โซเดียมไนไตรท์ (Sodium nitrite)

3.1.1.4 ผงชูรส (Monosodium glutamate)

3.1.1.5 ซอร์บิทอล (Sorbitol)

3.1.1.6 สีเจือปนอาหาร X

3.1.1.7 สีเจือปนอาหาร Y

3.1.1.8 น้ำสะอาด

3.1.1.9 น้ำแข็ง

3.1.2 เครื่องมือ/อุปกรณ์

3.1.2.1 ถังน้ำแข็ง

3.1.2.2 กะละมังขนาดใหญ่

3.1.2.3 ตะกร้าพลาสติก

3.1.2.4 มีด

3.1.2.5 เขียง

3.1.2.6 อ่างสำหรับล้างปลา

3.1.2.7 ถุงพลาสติกโพลีเอธิลีน (Polyethylene, PE)

3.1.2.8 ถุงพลาสติกไนล่อน (Nylon)

3.1.2.9 กระบอกตวง (Cylinder)

3.1.2.10 หลอดหยดสาร (Dropper)

3.1.2.11 ถ้วยใบเล็ก

3.1.2.12 บีกเกอร์ (Beaker)

3.1.2.13 เครื่องวัดความเค็ม (Salinity Refractometer)

3.1.2.14 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ยี่ห้อ บ.ออสคอน/JEIOTECH

3.1.2.15 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Metler รุ่น PB602-5

3.1.2.16 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH Metter)

3.1.2.17 เครื่องอบแห้งแบบถาด (Tray dryer)

3.1.2.18 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ กิบไทย/SHELLAB

3.1.2.19 หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ยี่ห้อ พานาโพลีเทค/STURDY

3.1.2.20 อ่างน้ำบ่มเชื้อ (Water bath) ยี่ห้อ บ.กิบไทย/JULABO

3.1.2.21 เครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer)

3.1.2.22 เครื่องตีป่น (Stomacher)

3.1.2.23 ขวดรูปชมพู (Erlenmeyer flask)

3.1.2.24 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Bunsen burner)

3.1.2.25 ไมโครเวฟ (Microwave)

3.1.2.26 บิวเรต (Burette)

3.1.2.27 กรรไกร (Scissors)

3.1.2.28 ลูป (Loop) เขี่ยเชื้อ

3.1.2.29 หลอดทดลอง (Test tube)

3.1.2.30 หลอดดักแก๊ส (Durham tube)

3.1.2.31 คีมคีบ (Forcep)

3.1.2.32 จานเพาะเชื้อปลอดเชื้อ (Sterile Plate)

3.1.2.33 เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle)

3.1.2.34 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow)

3.1.2.35 เครื่องวัดสี ยี่ห้อ Hunter lab รุ่น MiniScan Ez

3.1.2.36 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ยี่ห้อ METTER TOLEDO รุ่น S220

3.1.2.37 เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ ยี่ห้อ Aqua Lab รุ่น Aw Serie3TE

3.1.2.38 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3.1.2.39 ภาชนะอลูมิเนียม (Moisture can) พร้อมฝาปิด

3.1.2.40 โถดูดความชื้น (Desiccator) ที่มีสารดูดความชื้น

3.1.2.41 อุปกรณ์การย่อย (Digestion unit)

3.1.2.42 อุปกรณ์การกลั่น (Distillation unit)

3.1.2.43 อุปกรณ์การไตเตรท (Titration unit)

3.1.2.44 Boiling chip

3.1.2.45 ชุดสกัดไขมัน (Soxhlet extraction)

3.1.2.46 ทิมเบิล (Thimble)

3.1.2.47 หลอดทดลองชนิดที่มีฝาปิด (Culture tube)

3.1.2.48 ครูซิเบิล (Crucible)

3.1.2.49 เตาเผา (Muffle furnace)

3.1.2.50 ช้อนตักสาร (Spatula)

3.1.2.51 ปิเปต (Pipette)

3.1.2.52 ลูกยางดูด (Pipette bulb)

3.1.3 สารเคมี

3.1.3.1 แอลกอฮอล์เข้มข้น 70% (v/v)

3.1.3.2 Buffer solution

3.1.3.3 สารละลายโซเดียมคลอไรด์

3.1.3.4 Pyruvic acid sodium salt

3.1.3.5 เปปโตน

3.1.3.6 น้ำกลั่น

3.1.3.7 คลอรีนเข้มข้น 10 และ 50 ppm

3.1.3.8 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 93 - 98%

3.1.3.9 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40%

3.1.3.10 กรดบอริกเข้มข้น 4 %

3.1.3.11 Catalyst ประกอบด้วย K_2SO_4 98% และ $CuSO_4$ 2%

3.1.3.12 สารละลายอินดิเคเตอร์ (Mix indicator)

3.1.3.13 กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1N

3.1.3.14 ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether)

3.1.3.15 Methyl red solution

3.1.3.16 Kovac's reagent

3.1.3.17 Alpha napthol solution

3.1.3.18 สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40%

3.1.3.19 Creatine

3.1.3.20 Gram stain reagent

3.1.3.21 1% N, N, N, N, - Tetramethyl-p-Phenylenediamine dihidrochoride

3.1.3.22 สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 85%

3.1.3.23 Sodium desoxycholate - 0.5% in sterile dH_2O

3.1.3.24 *V.cholerae* polyvalent O1 and O139 antiserum

3.1.3.25 Oxidase reagent

3.1.3.26 Sodium desoxycholate – 0.5% in sterile dH_2O

3.1.3.27 0.1% Brilliant Green Solution

3.1.3.28 Iodine Solution

3.1.3.29 *Salmonella* OMA, OMB, OMC, OMD, OME, OMF และ OMG antiserum

3.1.3.30 สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 3%

3.1.3.31 Mannitol

3.1.3.32 Lysostaphin

3.1.3.33 Phosphate-saline buffer

3.1.3.34 Blue-deoxyribonucleic acid

3.1.3.35 Paraffin oil

3.1.3.36 Coagulate plasma with EDTA

3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.4.1 Butterfield's phosphate buffered water (BPB)

3.1.4.2 Plate Count Agar (PCA)

3.1.4.3 Lauryl Sulfate Tryptose (LST) broth

3.1.4.4 Lactose Broth (LB)

3.1.4.5 Brilliant green Lactose bile (BGLB) broth

3.1.4.6 EC broth

3.1.4.7 Eosin-methylene blue (EMB) agar

3.1.4.8 Lactose peptone broth (LPB)

3.1.4.9 Phosphate-Buffered Saline (PBS), pH 7.4

3.1.4.10 Nutrient Broth (NB)

3.1.4.11 Tryptone broth

3.1.4.12 Koser's citrate broth

3.1.4.13 Butterfield's phosphate buffered water (BPB)

3.1.4.14 Nutrient Agar (NA)

3.1.4.15 Tryptone broth

3.1.4.16 MR-VP broth

3.1.4.17 Alkaline Peptone Water (APW)

3.1.4.18 Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBS)

3.1.4.19 Trypticase Soy Agar (TSA)

3.1.4.20 Arginine Glucose Slant (AGS)

3.1.4.21 T_1N_0 Agar (Tryptone 1% and NaCl 0%)

3.1.4.22 T_1N_3 Agar (Tryptone 1% and NaCl 3%)

3.1.4.23 T_1N_8 Agar (Tryptone 1% and NaCl 8%)

3.1.4.24 T_1N_{10} Agar (Tryptone 1% and NaCl 10%)

3.1.4.25 Tetrathionate broth (TT)

3.1.4.26 Rappaport - Vassiliadis broth (RV)

3.1.4.27 Hektoen enteric agar (HE)

3.1.4.28 Bismuth Sulfite Agar (BSA)

3.1.4.29 Xylose Lysine Desoxycholate agar (XLD)

3.1.4.30 MacConkey agar

3.1.4.31 Triple Sugar Iron agar (TSI)

3.1.4.32 Lysine Iron Agar (LIA)

3.1.4.33 Urea broth

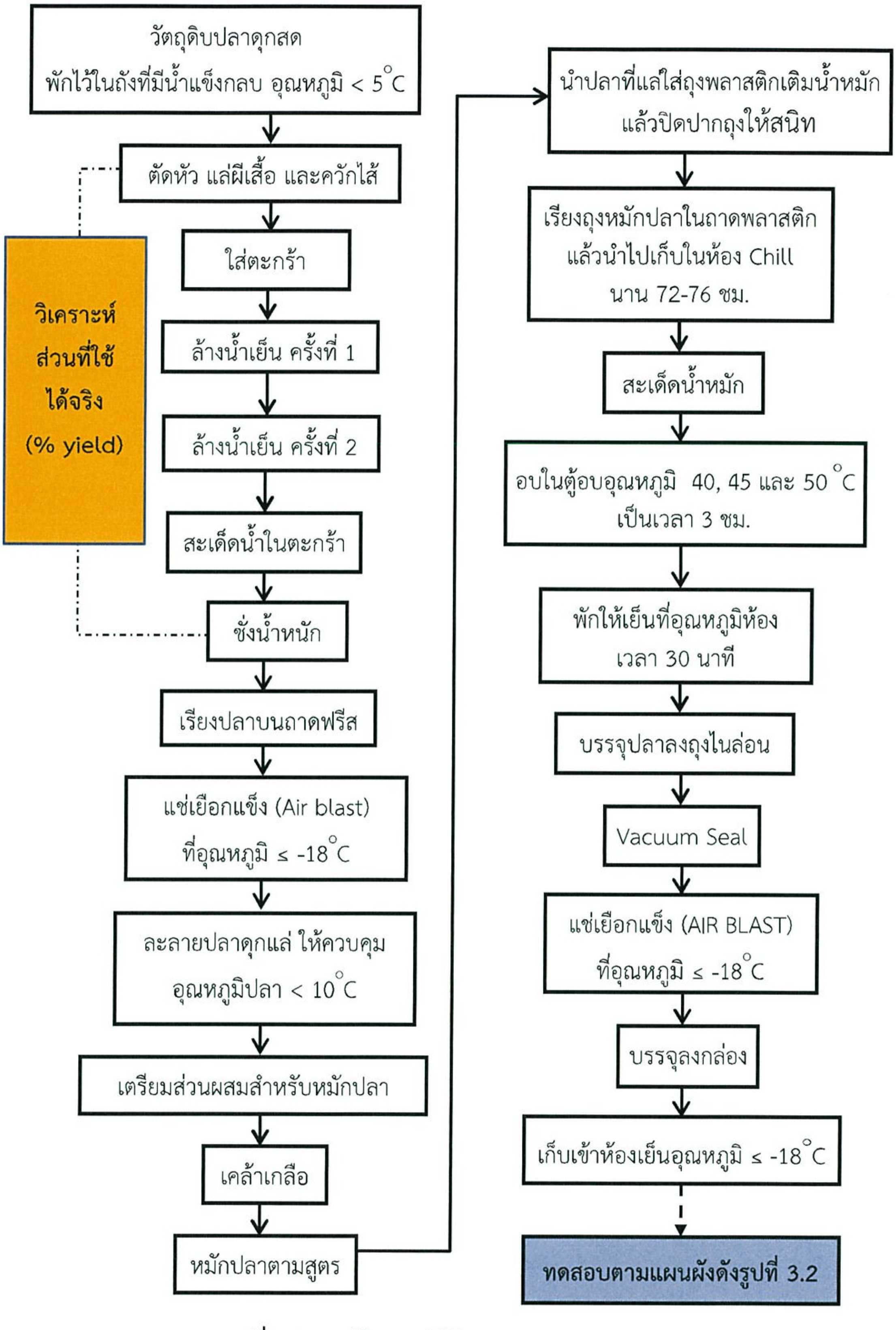
3.1.4.33 Phenol red dulcitol broth

3.1.4.34 Malonate broth

3.1.4.35 Baird- Parker agar (BP)

3.1.4.36 Brain Heart Infusion agar (BHI)

3.2 แผนผังการปฏิบัติงาน



รูปที่ 3.1 แผนผังการปฏิบัติงาน

3.3 แผงผังการปฏิบัติงาน (ต่อ)

ผลิตปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งทั้ง 3 สูตร ตามกระบวนการผลิตของทางบริษัท ไอ.ที.ฟู้ดส์ อินดัสทรีส์ จำกัด

↓

ทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งทั้ง 3 สูตร เพื่อคัดเลือกอุณหภูมิที่ใช้อบและผลของสีที่ใช้หมักปลาที่ได้คะแนนการยอมรับสูงสุด

↓

วิเคราะห์องค์ประกอบทางด้านเคมี-กายภาพ และจุลชีววิทยาของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตรที่ได้คะแนนการยอมรับสูงสุด

↓

ทำการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ลงในปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตรที่ได้คะแนนการยอมรับสูงสุด

↓

นำปลาที่ปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ไปผ่านรังสียูวีซีเป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที วิเคราะห์หาเชื้อ *Salmonella* spp.ที่รอดชีวิตหลังผ่านการฉายรังสียูวีซี

↓

ทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตรที่ได้คะแนนการยอมรับสูงสุดหลังผ่านรังสียูวีซีเป็น 0, 5, 10 และ 15 นาที

รูปที่ 3.2 แผนผังปฏิบัติงาน (ต่อ)

3.4 ส่วนประกอบน้ำหมัก

ตารางที่ 3.1 ส่วนผสมสำหรับหมักปลาทั้ง 3 สูตร

สูตร	อัตราส่วน (%)							
	ปลา	น้ำสะอาด + น้ำแข็ง	ผงชูรส	ไนไตรท์	ซอร์บิทอล	เกลือ	สี X	สี Y
1	39.20	58.81	0.39	0.01	0.35	1.18	0.03	0.03
2	39.19	58.79	0.39	0.01	0.35	1.18	0.03	0.06
3	39.16	58.75	0.39	0.01	0.35	1.18	0.03	0.12

3.5 ศึกษาผลของสีที่ใช้หมักและอุณหภูมิที่ทำการอบแห้งต่อคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส

นำปลาดุกที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 72-76 ชั่วโมงทั้ง 3 สูตร สะเด็ดน้ำหมัก และนำไปอบในตู้อบลมร้อน (Tray dryer) โดยอุณหภูมิที่ใช้อบปลาทั้ง 3 สูตร ได้แก่ 40, 45 และ 50°C เวลาที่ใช้อบปลา 3 ชั่วโมง ทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความพึงพอใจโดยรวม ด้วยวิธี 9-Point Hedonic Scale โดยใช้ผู้ทดสอบบริษัท ไอ.ที.ฟู้ดส์ อินดัสทรีส์ จำกัด จำนวน 8 คน เพื่อคัดเลือกอัตราส่วนความเข้มข้นของสีเจือปนอาหารและอุณหภูมิที่ใช้อบปลาที่ได้คะแนนการยอมรับสูงสุด และนำไปวิเคราะห์ทางเคมี-กายภาพ และจุลชีววิทยาต่อไป

3.5.1 การวิเคราะห์ทางด้านเคมี - กายภาพ

วิเคราะห์องค์ประกอบทางด้านเคมี ได้แก่ ความชื้น ไขมัน เถ้า และโปรตีน ด้วยวิธี AOAC (1995) ตามภาคผนวก ฉ, วัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ด้วยเครื่อง pH meter ยี่ห้อ METTER TOLEDO รุ่น S220, วัดค่าปริมาณน้ำอิสระ (Water activity, a_w) ด้วยเครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ ยี่ห้อ Aqua Lab รุ่น A_w Serie3TE และวัดเปอร์เซ็นเกลือ ด้วยเครื่อง Salinity refractometer นอกจากนี้การวิเคราะห์ทางกายภาพ จะทำการวิเคราะห์ค่าสีของผลิตภัณฑ์ โดยใช้เครื่องวัดสี ยี่ห้อ Hunter lab รุ่น MiniScan Ez

3.5.2 การวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยา

วิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยา ได้แก่ การนับจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ (Total plate count, TPC), การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *Escherichia coli*, การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ Coliform, การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *Staphylococcus aureus*, การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *Salmonella* spp., การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* และการตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *Vibrio cholerae* ตามลำดับ

3.6 ศึกษาผลของระยะเวลาการฉายรังสียูวีซีต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* spp. ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง

3.6.1 การเตรียมสารละลายที่มีเชื้อ *Salmonella* spp.

ใช้ลูปเขี่ยเชื้อ *Salmonella* spp. ที่เลี้ยงในอาหารแข็ง Nutrient Agar (NA) ถ่ายเชื้อลงอาหาร Tryptic Soy Broth (TSB) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35°C เวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อลงอาหาร TSB ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จำนวน 12 ใบ เขย่าแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35°C เวลา 24 ชั่วโมง ทำการเจือจางด้วยสารละลาย Butterfield'sphosphate buffered water (BPB) ปรับปริมาตรรวมให้ได้ 3 ลิตร พร้อมคนให้เข้ากัน

3.6.2 การปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ในผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง

นำปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งจุ่มในสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ 3.8.1 คนให้ท่วมตัวปลา เป็นเวลา 10 นาที ผึ่งบนตะแกรงที่ผ่านการฆ่าเชื้อเพื่อสะเด็ดน้ำ เป็นเวลา 2 นาที บรรจุปลาลงในถุงพลาสติก แล้วปิดผนึกปากถุงให้สนิท นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ –18 °C แล้วนำปลาที่ปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp.ไปผ่านรังสียูวีซีในตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow) ทิ้งไว้เป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ จากนั้นบรรจุปลาลงในถุงพลาสติก นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ 18°C เวลา 24 ชั่วโมง และทำการวิเคราะห์หาเชื้อ *Salmonella* spp. ที่รอดชีวิตหลังการฉายรังสียูวี เป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที

3.7 ศึกษาผลการฉายรังสียูวีซีที่เวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที ในผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งต่อคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส

นำปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18°C มาละลาย จากนั้นนำปลาไปผ่านรังสียูวีซีในตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow) ทิ้งไว้เป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ บรรจุปลาลงถุงพลาสติกปิดปากถุงให้สนิท แช่แข็งที่อุณหภูมิ -18°C ทำการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความพึงพอใจโดยรวม ด้วยวิธี 9-Point-Hedonic Scale โดยใช้ผู้ทดสอบบริษัท ไอ.ที.ฟู้ดส์ อินดัสทรีส์ จำกัด จำนวน 8 คน ในการให้คะแนนการยอมรับ

3.8 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี DMRT (Duncan's new Multiple Range Test) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ SPSS เวอร์ชั่น 22

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการวิเคราะห์ส่วนที่ใช้ได้จริง (% yield)

ในขั้นตอนกระบวนการแล่ผีเสื้อปลาดุกบิ๊กอุยพบว่า น้ำหนักปลาหลังจากแล่ผีเสื้อที่ได้ลดลงเหลือเท่ากับ 70.84% เมื่อเทียบน้ำหนักตัวปลาทั้งหมด 100% โดยส่วนที่ทิ้ง ได้แก่ ส่วนหัว เลือด ไส้ปลา และโปรตีน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ละลายน้ำได้ (Sarcoplasmic proteins, ไมโอเจน (นุชนารถ, 2550)) คิดเป็น 29.16% ได้ภาพวัตถุดิบตามรูปที่ 4.1

รูปที่ 4.1 ปลาดุกบิ๊กอุยก่อนแล่ (ซ้าย) และหลังแล่ผีเสื้อ (ขวา)

4.2 ผลของอุณหภูมิที่ใช้อบปลาต่อคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสโดยใช้แบบทดสอบวิธี 9-Point Hedonic Scale

การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความพึงพอใจโดยรวมของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งจำนวนทรีทเมนท์ 3 สูตร และอุณหภูมิที่ใช้อบปลา ได้แก่ 40, 45 และ 50°C โดยใช้ผู้ทดสอบบริษัท ไอ.ที.ฟู้ดส์ อินดัสทรีส์ จำกัด จำนวน 8 คน เพื่อคัดเลือกอุณหภูมิที่ใช้อบปลา และผลของสีที่ใช้หมักปลาที่ได้รับคะแนนการยอมรับสูงสุดโดยพิจารณาจากคะแนนที่ได้ทำตามแบบสอบถามในภาคผนวก ค ได้ผลการทดลองแสดงตามตารางที่ 4.1 ถึง 4.3

ตารางที่ 4.1 ผลคะแนนการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง สูตร 1 (0.03:0.03) อบที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50°C

ทรีทเมนต์	อุณหภูมิ	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	เนื้อสัมผัส	ความพึงพอใจโดยรวม
สูตร 1	40°C	4.75 ± 0.25^{b}	4.38 ± 0.32^{b}	6.38 ± 0.18^{b}	5.50 ± 0.19^{b}	5.38 ± 0.18^{b}
	45°C	6.13 ± 0.23^{a}	6.38 ± 0.18^{a}	7.38 ± 0.18^{a}	7.38 ± 0.18^{a}	6.38 ± 0.18^{a}
	50°C	4.00 ± 0.27^{c}	5.13 ± 0.30^{b}	5.50 ± 0.33^{c}	5.00 ± 0.38^{b}	5.50 ± 0.38^{b}

หมายเหตุ: $^{a, b, c}$ หมายถึง ตัวอักษรในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

จากการอบปลาสูตร 1 ใช้อัตราส่วนความเข้มข้นสีเจือปนอาหารจากธรรมชาติ (X:Y) เท่ากับ 0.03 : 0.03 ที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50°C พบว่า จากตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.2 โดย คะแนนสูงสุดในเรื่องลักษณะปรากฏคืออุณหภูมิที่ใช้ในการอบปลาเท่ากับ 45°C มีคะแนนเท่ากับ 6.13 ± 0.23 ซึ่งมีค่ามากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95% รองลงมาคืออุณหภูมิ 40°C เท่ากับ 4.75 ± 0.25 และ 50°C เท่ากับ 4.00 ± 0.27 ตามลำดับ ผลคะแนนจากผู้ทดสอบที่มีผลต่อด้านสีแสดงในตารางเดียวกัน พบว่าการอบปลาที่ 45°C มีคะแนนมากสุดเท่ากับ 6.38 ± 0.18 รองลงมาคืออุณหภูมิ 50°C เท่ากับ 5.13 ± 0.30 และ 40°C เท่ากับ 4.38 ± 0.32 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95% ผลคะแนนที่มีต่อกลิ่นผลิตภัณฑ์แสดงในตารางเดียวกัน พบว่า การอบปลาที่ 45°C มีคะแนนมากสุดเท่ากับ 7.38 ± 0.18 เมื่อเทียบกับการอบที่อุณหภูมิ 40°C ซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.38 ± 0.18 และอุณหภูมิ 50°C เท่ากับ 5.50 ± 0.33 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95% ผลคะแนนในด้านเนื้อสัมผัสแสดงในตารางเดียวกัน พบว่าการอบปลาที่ 45°C มีคะแนนมากสุดคือเท่ากับ 7.38 ± 0.18 หรือคือได้รับความนิยมมากที่สุด รองลงมาคืออบที่อุณหภูมิ 40°C เท่ากับ 5.50 ± 0.19 และอบที่อุณหภูมิที่ 50°C ได้คะแนนเท่ากับ 5.00 ± 0.38 ซึ่งได้รับการยอมรับน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95% และการศึกษาผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสุดท้ายคือ ความพึงพอใจโดยรวม แสดงผลคะแนนในตารางเดียวกันพบว่าการอบที่อุณหภูมิ 45°C ได้รับคะแนนการยอมรับมากที่สุดซึ่งได้คะแนนเท่ากับ 6.38 ± 0.18 รองลงมาคือการอบที่อุณหภูมิ 40°C ได้คะแนนเท่ากับ 5.38 ± 0.18 และ คะแนนความพึงพอใจน้อยที่สุดคือการอบที่อุณหภูมิ 50°C มีค่าเท่ากับ 5.50 ± 0.38 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95%

(1)

(2)

(3)

รูปที่ 4.2 ปลาดุกบิ๊กอุยสูตร 1 หลังอบที่อุณหภูมิ 40 (1), 45 (2) และ 50°C (3) ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 ผลคะแนนการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง สูตร 2 (0.03:0.06) อบที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50°C

ทรีทเมนต์	อุณหภูมิ	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	เนื้อสัมผัส	ความพึงพอใจโดยรวม
สูตร 2	40°C	6.88 ± 0.23^{b}	6.88 ± 0.30^{b}	6.50 ± 0.19^{b}	5.88 ± 0.23^{b}	6.63 ± 0.26^{b}
	45°C	8.75 ± 0.16^{a}	8.63 ± 0.18^{a}	7.63 ± 0.18^{a}	7.38 ± 0.18^{a}	8.63 ± 0.18^{a}
	50°C	5.13 ± 0.30^{c}	5.50 ± 0.19^{b}	5.13 ± 0.30^{c}	5.13 ± 0.23^{b}	5.50 ± 0.19^{c}

หมายเหตุ: $^{a, b, c}$ หมายถึง ตัวอักษรในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

จากการอบปลาสูตร 2 ใช้อัตราส่วนความเข้มข้นสีเจือปนอาหารจากธรรมชาติ (X:Y) เท่ากับ 0.03 : 0.06 ที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50°C พบว่า จากตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.3 โดยคะแนนสูงสุดในเรื่องลักษณะปรากฏคืออุณหภูมิที่ใช้ในการอบปลาเท่ากับ 45°C มีคะแนนเท่ากับ 8.75 ± 0.16 ซึ่งมีค่ามากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95% รองลงมาคืออุณหภูมิ 40°C เท่ากับ 6.88 ± 0.23 และ 50°C เท่ากับ 5.13 ± 0.30 ตามลำดับ ผลคะแนนจากผู้ทดสอบที่มีผลต่อด้านสีแสดงในตารางเดียวกัน พบว่าการอบปลาที่ 45°C มีคะแนนมากสุดเท่ากับ 8.63 ± 0.18 รองลงมาคืออุณหภูมิ 40°C เท่ากับ 6.88 ± 0.30 และ 50°C เท่ากับ 5.50 ± 0.19 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95% ผลคะแนนที่มีต่อกลิ่นผลิตภัณฑ์แสดงในตารางเดียวกัน พบว่า การอบปลาที่ 45°C มีคะแนนมากสุดเท่ากับ 7.63 ± 0.18 เมื่อเทียบกับการอบที่อุณหภูมิ 40°C ซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.50 ± 0.19 และอุณหภูมิ 50°C เท่ากับ 5.13 ± 0.30 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95% ผลคะแนนในด้านเนื้อสัมผัสแสดงในตารางเดียวกัน พบว่าการอบปลาที่ 45°C มีคะแนนมากสุดคือเท่ากับ 7.38 ± 0.18 หรือคือได้รับความนิยมมากที่สุด รองลงมาคืออบที่อุณหภูมิ 40°C เท่ากับ 5.88 ± 0.23 และ อบที่อุณหภูมิที่ 50°C ได้คะแนนเท่ากับ 5.13 ± 0.23 ซึ่งได้รับการยอมรับน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95% และการศึกษาผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสุดท้ายคือ ความพึงพอใจโดยรวม แสดงผลคะแนนในตารางเดียวกันพบว่าการอบที่อุณหภูมิ 45°C ได้รับคะแนนการยอมรับมากที่สุดซึ่งได้คะแนนเท่ากับ 8.63 ± 0.18 รองลงมาคือการอบที่อุณหภูมิ 40°C ได้คะแนนเท่ากับ 6.63 ± 0.26 และคะแนนความพึงพอใจน้อยที่สุดคือการอบที่อุณหภูมิ 50°C มีค่าเท่ากับ 5.50 ± 0.19 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95%

(1)

(2)

(3)

รูปที่ 4.3 ปลาดุกบิ๊กอุยสูตร 2 หลังอบที่อุณหภูมิ 40 (1), 45 (2) และ 50°C (3) ตามลำดับ

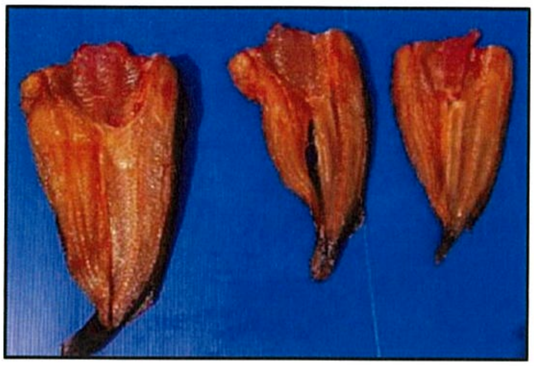
ตารางที่ 4.3 ผลคะแนนการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง สูตร 3 (0.03: 0.12) อบที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50°C

ทรีทเมนต์	อุณหภูมิ	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	เนื้อสัมผัส	ความพึงพอใจโดยรวม
สูตร 3	40°C	5.75 ± 0.25^{b}	6.00 ± 0.19^{bc}	5.63 ± 0.18^{b}	5.75 ± 0.25^{b}	6.50 ± 0.19^{b}
	45°C	6.75 ± 0.25^{a}	6.63 ± 0.32^{a}	7.50 ± 0.19^{a}	7.50 ± 0.19^{a}	7.50 ± 0.19^{a}
	50°C	4.75 ± 0.25^{c}	5.38 ± 0.26^{c}	4.63 ± 0.18^{c}	4.88 ± 0.30^{c}	4.63 ± 0.26^{c}

หมายเหตุ: $^{a, b, c}$ หมายถึง ตัวอักษรในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

จากการอบปลาสูตร 3 ใช้อัตราส่วนความเข้มข้นสีเจือปนอาหารจากธรรมชาติ (X:Y) เท่ากับ 0.03 : 0.12 ที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50°C พบว่า จากตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.3 โดยคะแนนสูงสุดในเรื่องลักษณะปรากฏคืออุณหภูมิที่ใช้ในการอบปลาเท่ากับ 45°C มีคะแนนเท่ากับ 6.75 ± 0.25 ซึ่งมีค่ามากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95% รองลงมาคืออุณหภูมิ 40°C เท่ากับ 5.75 ± 0.25^{b} และ 50°C เท่ากับ 4.75 ± 0.25 ตามลำดับ ผลคะแนนจากผู้ทดสอบที่มีผลต่อด้านสีแสดงในตารางเดียวกัน พบว่าการอบปลาที่ 45°C มีคะแนนมากสุดเท่ากับ 6.63 ± 0.32 รองลงมาคืออุณหภูมิ 40°C เท่ากับ 6.00 ± 0.19 และ 50°C เท่ากับ 5.38 ± 0.26 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95% ผลคะแนนที่มีต่อกลิ่นผลิตภัณฑ์แสดงในตารางเดียวกัน พบว่า การอบปลาที่ 45°C มีคะแนนมากสุดเท่ากับ 7.50 ± 0.19 เมื่อเทียบกับการอบที่อุณหภูมิ 40°C ซึ่งมีค่าเท่ากับ5.63 ± 0.18 และอุณหภูมิ 50°C เท่ากับ 4.63 ± 0.18 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95% ผลคะแนนในด้านเนื้อสัมผัสแสดงในตารางเดียวกัน พบว่าการอบปลาที่ 45°C มีคะแนนมากสุดคือเท่ากับ 7.50 ± 0.19 หรือคือได้รับความนิยมมากที่สุด รองลงมาคืออบที่อุณหภูมิ 40°C เท่ากับ 5.75 ± 0.25 และอบที่อุณหภูมิที่ 50°C ได้คะแนนเท่ากับ 4.88 ± 0.30 ซึ่งได้รับการยอมรับน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95% และการศึกษาผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสุดท้ายคือ ความพึงพอใจโดยรวม แสดงผลคะแนนในตารางเดียวกันพบว่าการอบที่อุณหภูมิ 45°C ได้รับคะแนนการยอมรับมากที่สุดซึ่งได้คะแนนเท่ากับ 7.50 ± 0.19 รองลงมาคือการอบที่อุณหภูมิ 40°C ได้คะแนนเท่ากับ 6.50 ± 0.19 และคะแนนความพึงพอใจน้อยที่สุดคือการอบที่อุณหภูมิ 50°C มีค่าเท่ากับ 4.63 ± 0.26 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95%

(1)



(2)

(3)

รูปที่ 4.4 ปลาดุกบิ๊กอุยสูตร 3 หลังอบที่อุณหภูมิ 40 (1), 45 (2) และ 50°C (3) ตามลำดับ

จากผลคะแนนการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งทั้ง 3 สูตรดังตารางที่ 4.1, 4.2 และ 4.3 จะเห็นได้ว่า การอบปลาดุกสูตร 2 ที่อุณหภูมิ 45°C ได้รับคะแนนการยอมรับมากที่สุดในทุกลักษณะการทดสอบเมื่อเปรียบเทียบกับการอบที่อุณหภูมิ 40°C และ 50°C โดยในด้านลักษณะปรากฏ นอกจากนี้พบว่า เนื้อปลามีลักษณะไม่แตกและฉีกขาด เมื่อเปรียบเทียบกับการอบที่อุณหภูมิ 40°C และ 50°C

ด้านสี พบว่า หลังอบปลาสูตร 2 ที่อุณหภูมิ 45°C เนื้อปลามีสีเหลือง ส้มอมแดง และเนื้อปลาไม่มีสีคล้ำเมื่อเปรียบเทียบกับการอบปลาที่อุณหภูมิ 50°C เนื้อปลามีสีคล้ำขึ้น ดังรูปที่ 4.3 เนื่องจากการอบแห้งที่ใช้เวลานาน และอุณหภูมิที่สูงทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลเรียกว่า Browning reaction ซึ่งสามารถเกิดได้ในระหว่างการแปรรูปและการเก็บรักษาอาหาร (ปวีนา, เหรียญทอง และโอรส, 2553) จึงทำให้ผู้ทดสอบบางรายไม่ยอมรับในลักษณะสีของเนื้อปลาที่คล้ำขึ้น ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ดูไม่น่ารับประทาน

ด้านกลิ่น พบว่า หลังอบปลาสูตร 2 ที่อุณหภูมิ 45°C เนื้อปลาไม่มีกลิ่นคาว กลิ่นอับ กลิ่นเหม็นหืน และกลิ่นเปรี้ยว (นิยามโดยผู้ทดสอบ) เมื่อเปรียบเทียบกับการอบปลาที่อุณหภูมิ 40°C พบว่า เนื้อปลามีกลิ่นเปรี้ยว ซึ่งอาจเกิดจากการให้ความร้อนไม่เพียงพอ และที่อุณหภูมิ 50°C พบว่าเนื้อปลามีกลิ่นเหม็นหืน เนื่องจากภายในเนื้อปลามีไขมันสูงและอุณหภูมิที่ใช้อบปลาสูงจึงเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation reaction) ส่งผลให้เกิดกลิ่นเหม็นหืน (พร้อมลักษณ์, 2551)

ด้านเนื้อสัมผัส พบว่า หลังอบปลาสูตร 2 ที่อุณหภูมิ 45°C พบว่าเนื้อสัมผัสของปลานุ่ม เนื้อแน่น ไม่เละและไม่ยุ่ย เมื่อเปรียบเทียบกับการอบปลาที่อุณหภูมิ 40°C พบว่า เนื้อปลาเละและเปื่อยยุ่ย และที่อุณหภูมิ 50°C เนื้อปลาแห้ง เนื่องจากการให้ความร้อนที่สูงส่งผลให้ผิวของอาหารประเภทผลไม้ และปลาแห้งที่เรียกว่า การเกิดผิวแห้งแข็ง (Case hardening) ซึ่งเป็นการลดอัตราการทำแห้งและทำให้ผิวหน้าอาหารแห้งแต่ภายในยังคงชื้นอยู่ (ปวีนา, เหรียญทอง และโอรส, 2553)

ด้านความพึงพอใจโดยรวม พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนการยอมรับปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 อบที่อุณหภูมิ 45°C สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตรอื่นๆ ดังนั้น จึงทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี-กายภาพ และทางจุลชีววิทยา ได้ผลการทดลองดังหัวข้อ 4.2.1 ถึง 4.2.2

4.2.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี-กายภาพ

จากการเลือกสูตรที่ผู้ทดสอบพึงพอใจทางด้านประสาทสัมผัสที่สุดในหัวข้อก่อนหน้า ในหัวข้อนี้ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางด้านเคมี และสีปรากฏของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 ได้ผลการทดลองตามตารางที่ 4.4 ถึง 4.5

ตารางที่ 4.4 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง สูตร 2 (0.03:0.03)

องค์ประกอบทางเคมี[A]	**ค่าที่ได้**
โปรตีน (%)	8.26 ± 0.32
ไขมัน (%)	16.46 ± 0.77
เถ้า (%)	4.58 ± 0.15
ความชื้น (%)	74.55 ± 0.68
เกลือ (%)	3.04 ± 0.06
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	6.77 ± 0.02
ปริมาณน้ำอิสระ (a_w)	0.97 ± 0.00
ปริมาณน้ำอิสระมาตรฐาน[B]	0.85

หมายเหตุ : [A] AOAC (1995) ภาคผนวก ฉ หน้า 68
[B] (มผช. 298/2549)

จากตารางที่ 4.4 แสดงผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น ด้วยวิธี AOAC (1995) พบว่า ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 มีค่าสูงกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนปลาแดดเดียว (มผช. 298/2549) ที่ได้กำหนดปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ของปลาแดดเดียวต้องไม่เกิน 0.85 ดังนั้น ในขั้นตอนกระบวนการผลิตควรเพิ่มระยะเวลาในการอบ ซึ่งหากปริมาณน้ำอิสระอิสระในอาหารมีค่าสูงอาจก่อให้เกิดการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบที่ก่อโรค เช่น *Clostridium botulinum* Type E ซึ่งสามารถเจริญได้ที่ค่า a_w ต่ำสุดเท่ากับ 0.97 (Jay *et.al.*, 2005)

จากตารางที่ 4.5 แสดงผลการวิเคราะห์ทางกายภาพโดยการวัดค่าสีปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 โดยที่ค่า L* แสดงถึงค่าความสว่าง (Lightness) มีค่าตั้งแต่ 0 (สีดำ) ถึง 100 (สีขาว) ค่า a* แสดงถึงค่าความเป็นสีแดงและสีเขียว ถ้าค่า a* เป็นบวกจะเป็นสีแดง ถ้าค่า a* เป็นลบจะเป็นสีเขียว ส่วนค่า b* แสดงถึงค่าความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงิน ถ้าค่า b* เป็นบวกจะเป็นสีเหลือง ถ้าค่า a* เป็นลบจะเป็นสีน้ำเงิน (จินดา, 2553) จากการทดลองพบว่า ค่า L* เท่ากับ 59.54 ± 0.78 ค่า b* เท่ากับ 21.30 ± 0.76 และ ค่า a* 8.30 ± 0.13 ซึ่งจะเห็นได้ว่าลักษณะสีของเนื้อปลามีสีเหลือง และสีส้มอม ชมพูจากการผสมสีตามสูตร

ตารางที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์ทางด้านกายภาพของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 (0.03:0.03)

ค่าสี	**ค่าที่ได้**
L^*	59.54 ± 0.78
a^*	8.30 ± 0.13
b^*	21.30 ± 0.76

4.2.2 ผลการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางด้านจุลชีววิทยาของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 ได้ผลการทดสอบทางจุลชีววิทยาของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งก่อนอบดังตารางที่ 4.6 พบว่า จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total plate count, TPC), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ Coliform มีปริมาณลดลงหลังจากการอบนอกจากนี้ยังตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp., *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio cholerae* เนื่องจากการให้ความร้อนแก่ผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 45°C มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพของ DNA เกิดการแตกหัก ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถดำรงชีวิตต่อไปได้ (สุรีย์, 2557)

ตารางที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 (0.03:0.06) ก่อนและหลังการอบที่อุณหภูมิ 45°C

เชื้อจุลินทรีย์	ก่อนอบ	หลังอบ	เกณฑ์มาตรฐาน[A]
Total Plate Count (CFU/g)	3.0×10^4	1.2×10^4	-
Coliform (MPN/g)	1.1×10^3	4.6×10^2	-
Escherichia coli (MPN/g)	< 3	< 3	-
Staphylococcus aureus (MPN/g)	< 3	< 3	< 100
Salmonella spp. (MPN/g)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
Vibrio parahaemolyticus (MPN/g)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
Vibrio cholerae (MPN/g)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ

หมายเหตุ: [A] เกณฑ์มาตรฐานอ้างอิงจาก Microbiological Requirements of Traditional Fishery Products for all Countries, October 2009 Revision 4

จากการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางด้านเคมี-กายภาพ และจุลชีววิทยาของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 ในหัวข้อก่อนหน้านี้ และในหัวข้อต่อไปนี้ทำการทดลองฉายรังสียูวีซีในปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 ที่ปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. และทำการทดสอบความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งหลังฉายรังสียูวีซี ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.7 ถึง 4.8

4.3 ปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. หลังการฉายรังสียูวีซีที่ปนเปื้อนในปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2

จากการทดลองฉายรังสียูวีซีเป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที ในปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 ที่ปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* spp. ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.7 พบว่า ปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. เริ่มต้นเท่ากับ 3.64 Log CFU/mL และหลังการฉายรังสียูวีซีเป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที มีปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. เท่ากับ 3.41, 3.31 และ 3.12 Log CFU/mL ตามลำดับ จากการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อ ระยะเวลาการฉายรังสียูวีซีนานขึ้นปริมาณของเชื้อ *Salmonella* spp. ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งลดลง เนื่องจากการฉายรังสียูวีซีจะมีผลต่อโครงสร้าง DNA ของเซลล์แบคทีเรีย และเข้าไปทำลายพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond) เป็นผลให้เกลียวของ DNA ถูกทำลายและยังทำให้เบสไพริมิดีน (Pyrimidine base) และเบสไซโตซีน (Cytosine base) ไม่สามารถเข้าคู่กันของ DNA เป็นผลให้ DNA ไม่สามารถจำลองตัวเองได้ จึงทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Harm,W., 1980; Weber, C. *et.al.*, 2009)

แต่ทั้งนี้ในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* spp. ด้วยการฉายรังสียูวีซียังไม่เพียงพอต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง เนื่องจากนโยบายของทางบริษัทกำหนดว่า ต้องไม่พบเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวในผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 4.7 ผลการฉายรังสียูวีซีในปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 ที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. เป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที

ระยะเวลา (นาที)	**จำนวนเชื้อ *Salmonella* spp.**	
	CFU/mL	Log CFU/mL
0	4.3×10^3	3.64
5	2.6×10^3	3.41
10	2.0×10^3	3.31
15	1.3×10^3	3.12

4.4 ผลของความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งหลังฉายรังสียูวีซี

จากการทำการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความพึงพอใจโดยรวม ด้วยวิธี 9-Point Hedonic Scale ต่อปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 หลังฉายรังสียูวีซีเป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.8 พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนการยอมรับปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 ที่ไม่ผ่านการฉายรังสี (0 นาที) โดยดูจากคะแนนที่ได้สูงสุดทั้งในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความพึงพอใจโดยรวม ได้คะแนนดังนี้ 8.13 ± 0.64, 8.25 ± 0.71, 8.34 ± 0.74, 8.38 ± 0.52 และ 8.50 ± 0.54 ตามลำดับ เนื่องจากหลังการฉายรังยูวีซีนาน 10 และ 15 นาที เนื้อปลามีการเปลี่ยนแปลงสีจากสีส้มอมชมพูเป็นสีดำคล้ำเพิ่มขึ้น เนื่องจากการฉายรังสียูวีซีจะทำให้สีของผลิตภัณฑ์เป็นสีน้ำตาล (Erkan *et.al.*, 2001; Honrnstra *et.al.*, 2002; Allende *et.al.*, 2006) ซึ่งส่งผลต่อลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ทำให้ไม่น่ารับประทานและมีผลต่อการตัดสินใจเลือกซื้อสินค้าของผู้บริโภค ทั้งนี้การฉายรังสียูวีซีจะให้ผลดีโดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งนั้นต้องมีการศึกษาปริมาณของรังซียูวีซีที่เหมาะสมต่อผลิตภัณฑ์ดังกล่าว

4.5 ผลของความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งหลังฉายรังสียูวีซี

จากการทำการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความพึงพอใจโดยรวม ด้วยวิธี 9-Point Hedonic Scale ต่อปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 หลังฉายรังสียูวีซีเป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.8 พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนการยอมรับปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 ที่ไม่ผ่านการฉายรังสี (0 นาที) โดยดูจากคะแนนที่ได้สูงสุดทั้งในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความพึงพอใจโดยรวม ได้คะแนนดังนี้ 8.13 ± 0.64, 8.25 ± 0.71, 8.34 ± 0.74, 8.38 ± 0.52 และ 8.50 ± 0.54 ตามลำดับ เนื่องจากหลังการฉายรังยูวีซีนาน 10 และ 15 นาที เนื้อปลามีการเปลี่ยนแปลงสีจากสีส้มอมชมพูเป็นสีดำคล้ำเพิ่มขึ้น เนื่องจากการฉายรังสียูวีซีจะทำให้สีของผลิตภัณฑ์เป็นสีน้ำตาล (Erkan *et.al.*, 2001; Honrnstra *et.al.*, 2002; Allende *et.al.*, 2006) ซึ่งส่งผลต่อลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ทำให้ไม่น่ารับประทานและมีผลต่อการตัดสินใจเลือกซื้อสินค้าของผู้บริโภค ทั้งนี้การฉายรังสียูวีซีจะให้ผลดีโดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งนั้นต้องมีการศึกษาปริมาณของรังซียูวีซีที่เหมาะสมต่อผลิตภัณฑ์ดังกล่าว

ตารางที่ 4.8 ผลคะแนนการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 (0.03 : 0.06) หลังฉายรังสียูวีซี

ระยะเวลา (นาที)	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	เนื้อสัมผัส	ความพึงพอใจโดยรวม
0	8.13 ± 0.64^{a}	8.25 ± 0.71^{a}	8.34 ± 0.74^{a}	8.38 ± 0.52^{a}	8.50 ± 0.54^{a}
5	7.00 ± 0.76^{b}	7.25 ± 0.46^{b}	7.50 ± 0.54^{b}	7.63 ± 0.52^{b}	7.50 ± 0.54^{b}
10	6.63 ± 0.52^{bc}	6.50 ± 0.54^{c}	6.63 ± 0.52^{c}	6.63 ± 0.52^{c}	6.50 ± 0.54^{c}
15	6.13 ± 0.35^{c}	6.13 ± 0.35^{c}	6.13 ± 0.35^{c}	6.75 ± 0.46^{c}	6.13 ± 0.64^{c}

หมายเหตุ: $^{a, b, c}$ หมายถึง ตัวอักษรในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งทั้ง 3 สูตร พบว่า ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 (0.03:0.06) อบที่อุณหภูมิ 45°C ได้คะแนนการยอมรับมากที่สุด

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 มีปริมาณโปรตีน (%) เท่ากับ 8.26 ± 0.32, ไขมัน (%) เท่ากับ 16.46 ± 0.77, เถ้า (%) เท่ากับ 4.58 ± 0.15 และความชื้น (%) เท่ากับ 74.55 ± 0.68 ตามลำดับ เกลือ (%) เท่ากับ 3.04 ± 0.06, ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) เท่ากับ 0.97 ± 0.00 และค่าความเป็นกรด–ด่าง (pH) เท่ากับ 6.77 ± 0.02

จากการวิเคราะห์ค่าสีของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 มีค่า L* เท่ากับ 59.54 ± 0.78, ค่า b* เท่ากับ 21.30 ± 0.76 และ ค่า a* เท่ากับ 8.30 ± 0.13

จากการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 พบว่า หลังอบปลาที่อุณหภูมิ 45°C ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ลดลง และตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp., *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio cholerae* ตามลำดับ

ผลการฉายรังสียูวีซี เป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที ในปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 ที่ปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. พบว่า การฉายรังสียูวีซีนาน 15 นาที สามารถลดปริมาณของเชื้อ *Salmonella* spp.ได้มากสุด ทั้งนี้การฉายรังสียูวีซียังไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella* spp. ได้ทั้งหมด

จากการทดสอบความพึงพอใจที่มีต่อผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งหลังฉายรังสียูวีซี พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนการยอมรับปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 ที่ไม่ผ่านการฉายรังสียูวีซี

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.1 ควรศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งที่ใช้สีเจือปนอาหารจากธรรมชาติ

5.2 ควรศึกษาปริมาณของรังซียูวีซีที่เหมาะสมต่อผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. (2540). ภาพปลาและสัตว์น้ำของไทย. กรุงเทพ: โรงพิมพ์การค้าคุรุสภา.

จินดา รัตนถาวรกิติ. (2553). การประเมินอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์พริกเผาและน้ำมันน้ำพริกเผาด้วยวิธี Q10 และแบบจำลองจลนพลศาสตร์.กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

นุชนารถ เพริสพรพรรณ. (2550). สมบัติทางเคมีทางกายภาพของโปรตีนจากปลานวลจันทร์น้ำจืด (Physicochemical Property of protein from Small Scale Mud Carp (*Cirrhina microlepis*). วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปวีนา, เหรียญทอง และโอรส. (2553). การปรับปรุงคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาปลาช่อนแดดเดียวโดยใช้ สารต้านจุลชีพจากกรดอะซิติก กรดซิตริก และกรดแลคติก. คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร, 123.

พัชรีย์ พัฒนากูล, เรณู ปิ่นทอง และลักขณา รุจนะไกรกานต์. (2543). การผลิตไส้กรอกหมูโดยใช้อังคักช่วยเพิ่มสี. แก่นเกษตร, 28 : 89-96.

วัชรี คงรัตน์ และอรวรรณ คงพันธ์. (2556). ผลของกระบวนการผลิตต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาปลาแดดเดียว. เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2556 กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง, 37.

พร้อมลักษณ์ สมบูรณ์ปัญญากุล. (2551). องค์ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์การอาหาร. การประชุมวิชาการนักกำหนดอาหารประจำปี 2551 , 117.

สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, ฝ่ายจัดการสารพิษ กองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม. (2541). ผงชูรส (Monosodium glutamate). กรุงเทพ: ฝ่ายศูนย์ข้อมูลสารอันตรายและอนุสัญญา กองจัดการสารอันตรายและกากของเสีย กองควบคุมมลพิษ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2549). มาตรฐานชุมชุน: ปลาแดดเดียว (มผช. 298/2549). กรุงเทพ: กระทรวงอุตสาหกรรม.

สำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารสุข. (2554). คู่มือการดำเนินงานโครงการหมู่บ้าน/ชุมชน ลด หวาน มัน เค็ม. กรุงเทพ: สำนักงานกิจการโรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

สุขใจ ชูจันทร์. (2555). สารให้ความหวานพลังงานต่ำ. กรุงเทพ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุรีย์ นานาสมบัติ. (2557). จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอาหาร. กรุงเทพ: คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Allende, A., McEvoy, J.L., Luo, Y., Artes, F. and Wang, C.Y. (2006). Effecttiveness of Ttwo–sided UV-C Treatments in Inhibiting Natural Microflora and Extending the shelf-life of Minimally Processed 'Red Oak Leaf' Llettuce, Food Microbiology, 23: 241-249.

AOAC International. (1995). Official Methods of Analysis 16th Ed. International: Gaithersburg, MD.

Caminiti, I. M., Palgan, I., Muñoz, A., Noci, F., Whyte, P., Morgan, D. J., *et al*. (2012). The effect of ultraviolet light on microbial inactivation and quality attributes of apple juice. Food and Bioprocess Technology, 5(2): 680–686.

Department of Fisheries. (2009). Microbiological Requirements of Traditional Fishery Products for all Countries. Fish Inspection and Quality Control Division, 4.

Erkan, M., Wang, C.Y. and Krizek, D.T. (2001). UV-C Irradiation Reduces Microbial Populations and Deterioration in Cucurbita pepo Fruit tissue, Environmental and Experimental Botany, 45: 1-9.

Fonseca, J.M. and Rushing, J.W. (2006). Effect of Ultraviolet-C Light on Quality and Microbial Population of Fresh-cut Watermelon, Postharvest Biology and Technology, 40: 256-261.

Franz, C. M. A. P., Specht, I., Cho, G. S., Graef, V., & Stahl, M. R. (2009). UV-C inactivation of microorganisms in naturally cloudy apple juice using novel inactivation equipment based on Dean vortex technology. Food Control, 20(12): 1103–1107.

Harm, W., (1980). Biological Effects of Ultraviolet Radiation. Cambridge University Press, New York.

Hautzinger, P. Regional Training on Meat Canning Technology. Chiang Mai, Thailand. 1999.

Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A.2005. Modern Food Microbiology, 7th ed. Springer Science+Business Media, Inc., New York.

Hoornstra, E., dejong, G. and Notermans, S. (2002). Preservation of Vegetables by Light. In society for Appiled Microbiology (Ed.), Frontiers in Microbial Fermentation and perservation, Wageningen, Natherlands, 75-77.

J.F.Franka, D. S. (2013). Modeling the influence of temperature, water activity and water mobility on the persistence of *Salmonella* in low-moisture foods. International Journal of Food Microbiology, 280-293.

Koutchma, T., Forney, L. and Moraru, C. (2009). Ultraviolet light in Food Technology: Principles and Applications. Taylor & Francis Group, LLC. Boca Raton, FL.

Marinovich, M., Galli, L. C., Bosetti, C., Gallus, s., Vecchia, L. C. (2013). Aspartame, low-calorie sweeteners and disease: Regulatory safety and epidemiological. Journal of Food and Chemical Toxicology, 60: 109-115.

Raif S., Beiser A., and Ren C., et al. (2000). Review of Alleged Reaction to Monosodium Glutamate and Outcome of a Multicenter Double-Blind Placebo-Controlled Study, 1058–1062.

Tran, M. T. T., & Farid, M. (2004). Ultraviolet treatment of orange juice. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 5(4): 495–502.

Weber, C., Marchat, L.A., Guillen, N. and López-Camarillo, C. (2009). Effects of DNA damage induced by UV irradiation on gene expression in the protozoan parasite Entamoeba histolytica. Molecular and Biochemical Parasitology, 164: 165-169.

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ และวิธีการเตรียม

1. Alkaline Peptone Water (APW)

ส่วนผสม Peptone 10 กรัม

NaCl 10 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 20 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 10 นาที pH สุดท้าย 8.5 ± 0.2

2. Baird - Parker agar (BP)

ส่วนผสม Pancreatic Digest of Casein 10 กรัม

Beef Extract 5 กรัม

Yeast Extract 1 กรัม

Glycine 12 กรัม

Sodium Pyruvate 10 กรัม

Lithium Chloride 5 กรัม

Agar 20 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 63 กรัม ในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจนส่วนผสมละลาย จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 6.9 ± 0.1 จากนั้นทำให้อาหารเย็นลง 45-50°C เติม EY tellurite Enrichment 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันอย่าให้เกิดฟองอากาศ เทอาหารลงในจานเพาะเชื้อทิ้งไว้ให้ผิวหน้าแห้งก่อนนำไปใช้งาน

3. Bismuth Sulfite Agar (BSA)

ส่วนผสม Beef Extract 5 กรัม

Peptone 10 กรัม

Dextrose 5 กรัม

Disodium Phosphate 4 กรัม

Ferrous Sulfate 0.3 กรัม

Bismuth Sulfite Indicator 8 กรัม

Agar 20 กรัม

Brilliant Green 25 มิลลิกรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 52 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อนพร้อมคนและต้มประมาณ 1 นาที เพื่อละลายส่วนผสม ห้ามนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อทิ้งให้อาหารตกตะกอนแขวนลอยอย่างทั่วถึงโดยคนอย่างสม่ำเสมอ ก่อนเทลงจานเพาะเชื้อ pH สุดท้าย 7.7 ± 0.2 ควรเตรียมก่อนใช้งาน 1 วัน

4. **Brain Heart Infusion (BHI)**

ส่วนผสม Calf Brains, Infusion from 200 กรัม 7.7 กรัม
Proteose Peptone 10 กรัม
Beef Heart, Infusion from 250 กรัม 9.8 กรัม
Dextrose 2 กรัม
Sodium Chloride 5 กรัม
Disodium Phosphate 2.5 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 52 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อนพร้อมคน และต้มประมาณ 1 นาที เพื่อละลายส่วนผสมจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 7.4 ± 0.2

5. **Brilliant Green Lactose Bile (BGLB) broth, 2%**

ส่วนผสม Peptone 10 กรัม
Oxgall 20 กรัม
Lactose 10 กรัม
Brilliant Green 13.3 มิลลิกรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 42 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อนพร้อมคน เพื่อละลายส่วนผสม ใส่ลงในหลอดที่มีหลอดดักแก๊สคว่ำอยู่ จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย pH 7.2 ± 0.2

6. **Butterfield's phosphate-buffered dilution water**

ส่วนผสม KH_2PO_4 34 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 34 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ปรับ pH ให้ได้เท่ากับ 7.2 จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

7. **EC Broth**

ส่วนผสม Tryptose 20 กรัม
Lactose 5 กรัม
Bile Salts No. 3 1.5 กรัม
Dipotassium Phosphate 4 กรัม
Monopotassium Phosphate 1.5 กรัม
Sodium Chloride 5 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 42 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อนพร้อมคน เพื่อละลายส่วนผสม ใส่ลงในหลอดที่มีหลอดดักแก๊สคว่ำอยู่ จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย pH 6.9 ± 0.2

8. **Hektoen Enteric (HE) Agar**

ส่วนผสม Proteose Peptone 12 กรัม
Yeast Extract 3 กรัม
Bile Salts No. 3 9 กรัม
Lactose 12 กรัม
Saccharose 12 กรัม
Salicin 2 กรัม
Sodium Chloride 5 กรัม
Sodium Thiosulfate 5 กรัม
Ferric Ammonium Citrate 1.5 กรัม
Agar 14 กรัม
Bromthymol Blue 65 มิลลิกรัม
Acid Fuchsin 0.1 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 76 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อนพร้อมคน เพื่อละลายส่วนผสม <u>ห้ามนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ</u> จากนั้นทำให้เย็นถึง 45-50°C เทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งให้ผิวหน้าอาหารแห้งก่อนใช้งาน pH สุดท้าย pH 7.5 ± 0.2

9. Koser's Citrate Broth

ส่วนผสม Sodium Ammonium Phosphate 1.5 กรัม

Monopotassium Phosphate 1 กรัม

Magnesium Sulfate 0.2 กรัม

Sodium Citrate 3 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 5.7 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้ส่วนผสมเข้ากัน จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 6.7 ± 0.2

10. Lactose Broth (LB)

ส่วนผสม Beef Extract 3 กรัม

Peptone 5 กรัม

Lactose 5 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 13 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้ส่วนผสมเข้ากัน ให้ความร้อนจนส่วนผสมละลาย จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 6.9 ± 0.2

11. Lauryl Tryptose Broth

ส่วนผสม Tryptose 20 กรัม

Lactose 5 กรัม

Dipotassium Phosphate 2.75 กรัม

Monopotassium Phosphate 2.75 กรัม

Sodium Chloride 5 กรัม

Sodium Lauryl Sulfate 0.1 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 35.6 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้ส่วนผสมเข้ากัน ให้ความร้อนจนส่วนผสมละลาย จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 6.8 ± 0.2

12. Levine's Eosin Methylene Blue (L-EMB) agar

ส่วนผสม Peptone 10 กรัม

Lactose 10 กรัม

KH_2PO_4 2 กรัม

Eosin Y 0.4 กรัม

Methylene blue 65 มิลลิกรัม

Agar 15 กรัม

วิธีการเตรียม ผสมเปปโตน, KH_2PO_4 และวุ้นลงในน้ำกลั่น 1 ลิตร ให้ความร้อนจนวุ้นละลายนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 7.1 ± 0.2 ก่อนนำไปใช้งานนำอาหารที่เตรียมไว้มาหลอมละลายแล้วเติมสารต่อไปนี้

1. สารละลาย Lactose ความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร
2. สารละลาย Eosin Y ความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร
3. สารละลาย Methylene blue ความเข้มข้นร้อยละ 0.15 ปริมาตร 4.3มิลลิลิตร

13. Lysine Iron Agar (LIA)

ส่วนผสม Peptone 5 กรัม

Yeast Extract 3 กรัม

Dextrose 1 กรัม

L-Lysine HCl 10 กรัม

Ferric Ammonium Citrate 0.5 กรัม

Sodium Thiosulfate 0.04 กรัม

Bromcresol Purple 0.02 กรัม

Agar 15 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 34.5 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้ส่วนผสมเข้ากัน ให้ความร้อนพร้อมคนและต้มประมาณ 1 นาทีเพื่อละลายส่วนผสม จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 12 นาที pH สุดท้าย 6.7 ± 0.2

14. Lysine Indole Motility (LIM) Medium

ส่วนผสม Peptone 10 กรัม

Pancreatic digest of casein 10 กรัม

Yeast extract 3 กรัม

L-lysine HCl 10 กรัม

Dextrose 1 กรัม

Ferric Amonium Citrate 0.5 กรัม

Bromcresol purple 0.02 กรัม

Agar 2 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 36.52 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้ส่วนผสมเข้ากัน ให้ความร้อนพร้อมคนและต้มประมาณ 1 นาทีเพื่อละลายส่วนผสม จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 6.6 ± 0.2

15. MacConkey Agar

ส่วนผสม Pancreatic Digest of Gelatin 17 กรัม

Peptones (meat and casein) 3.0 กรัม

Lactose 10 กรัม

Bile Salts No. 3 1.5 กรัม

Sodium Chloride 5.0 กรัม

Agar 13.5 กรัม

Neutral Red 0.03 กรัม

Crystal Violet 1 มิลลิกรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 50 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้ส่วนผสมเข้ากัน ให้ความร้อนพร้อมคนและต้มประมาณ 1 นาทีเพื่อละลายส่วนผสม จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 7.1 ± 0.2

16. Malonate Broth

ส่วนผสม Yeast extract 1 กรัม

$(NH_4)_2(SO)_4$ 2 กรัม

K_2HPO_4 0.6 กรัม

KH_2PO_4 0.4 กรัม

NaCl 2 กรัม

Sodium Malonate 3 กรัม

Glucose 0.25 กรัม

Bromthymol blue 0.025 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 9.275 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้ส่วนผสมเข้ากัน ให้ความร้อนจนวุ้นละลาย จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 6.7 ± 0.2

17. MR-VP Broth

ส่วนผสม Buffered peptone water 7 กรัม

Glucose 5 กรัม

K_2PO_4 5 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 17 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้ส่วนผสมเข้ากัน จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

18. Nutrient Agar/Broth (NA/NB)

ส่วนผสม Beef Extract 3 กรัม

Peptone 5 กรัม

Agar (ไม่เติมวุ้นกรณีเตรียม Nutrient Broth) 15 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 23 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้ส่วนผสมเข้ากัน ให้ความร้อนจนวุ้นละลาย จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 6.8 ± 0.2

19. **Phenol Red dulcitol Broth**

ส่วนผสม Proteose peptone No.3 10 กรัม
NaCl 5 กรัม
Beef extract 1 กรัม
Phenol red 0.25% 7.2 มิลลิลิตร
Ducitol 5 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 28.2 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้ส่วนผสมเข้ากัน ให้ความร้อนจนวุ้นละลาย จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 7.4 ± 0.2

20. **Phosphate-Buffered Saline (PBS), pH 7.4**

ส่วนผสม NaCl 7.65 กรัม
Na_2HPO_4, anhydrous 0.724 กรัม
KH_2PO_4 0.210 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 8.584 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้ส่วนผสมเข้ากัน ปรับ pH ให้ได้ 7.4 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1N จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

21. **Thiosufate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBS)**

ส่วนผสม Yeast Extract 5 กรัม
Proteose Peptone No.3 10 กรัม
Sodium Citrate 10 กรัม
Sodium Thiosulfate 10 กรัม
Oxgall 8 กรัม
Saccharose 20 กรัม
Sodium Cholride 10 กรัม
Ferric Ammonium Citrate 1 กรัม
Bromthymol Blue 0.04 กรัม
Thymol Blue 0.04 กรัม
Agar 15 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 89 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อนพร้อมคนและต้มประมาณ 1 นาทีเพื่อละลายส่วนผสม จากนั้นทำให้เย็นถึง 45-50°C เทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้งให้ผิวหน้าอาหารแห้งก่อนใช้งาน ห้ามนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ

22. Plate Count Agar (PCA)

ส่วนผสม Casein peptone 5 กรัม

Yeast extract 2.5 กรัม

Dextrose 1 กรัม

Agar 15 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 23.5 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้ส่วนผสมเข้ากัน ให้ความร้อนจนส่วนผสมละลาย จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 7.3 ± 0.2

23. Rappaport - Vassiliadis Medium

ส่วนผสม Tryptose 4.59 กรัม

Casein Hydrolysate (acid) 4.59 กรัม

Sodium Chloride 7.34 กรัม

Monopotassium Phosphate 1.47 กรัม

Magnesium Chloride (anhydrous) 10.93 กรัม

Malachite Green Oxalate 37 มิลลิกรัม

Agar 2.7 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 31.6 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อนพร้อมคนและต้มประมาณ 1 นาที เพื่อละลายส่วนผสม จากนั้นทำให้เย็นถึง 50 องศาเซลเซียส อย่านำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ เติมยาปฏิชีวนะ Novobiocin ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อผสมให้เข้ากัน pH สุดท้าย 5.2 ± 0.2

24. Tetrathionate broth (TT)

ส่วนผสม Polypeptone 5 กรัม

Bile salts 1 กรัม

Calcium carbonate 10 กรัม

Sodium thiosulfate.5H_2O 30 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 46 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อนจนเดือด อย่านำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บที่อุณหภูมิ 5-8°C pH สุดท้าย 8.4 ± 0.2

25. Triple Sugar Iron Agar (TSI)

ส่วนผสม Beef Extract 3 กรัม

Yeast Extract 3 กรัม

Pancreatic Digest of Casein 15 กรัม

Proteose Peptone No. 3 5 กรัม

Dextrose 1 กรัม

Lactose 10 กรัม

Sucrose 10 กรัม

Ferrous Sulfate 0.2 กรัม

Sodium Chloride 5 กรัม

Sodium Thiosulfate 0.3 กรัม

Agar 12 กรัม

Phenol Red 24 มิลลิกรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 65 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อนพร้อมคน และต้มประมาณ 1 นาที เพื่อละลายส่วนผสม เติมลงในหลอดทดลองและนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 7.3 ± 0.2 ก่อนอาหารแข็งตัวนำหลอดมาเอียง

26. Tryptone broth (T_1N_0) และ Tryptone Salt broth (T_1N_1, T_1N_3, T_1N_8, T_1N_{10})

ส่วนผสม Tryptone 10 กรัม

NaCl 0, 10, 30, 60, 80 หรือ 100 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายทริปโตน10 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร สำหรับอาหาร T_1N_0 T_1N_1, T_1N_3, T_1N_8 และ T_1N_{10} ให้เติมเกลือ 0, 10, 30, 60, 80 หรือ 100 กรัม ตามลำดับ ผสมให้เข้ากัน เติมลงในหลอดทดลองและนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 7.2 ± 0.2

27. Tryticase Soy Agar (TSA)

ส่วนผสม Pancreatic Digest of Casein 15 กรัม

Papaic Digest of Soybean 5 กรัม

Sodium Chloride 5 กรัม

Agar 15 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 40 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อนพร้อมคนและต้มประมาณ 1 นาที เพื่อละลายส่วนผสม แบ่งใส่ขวดและนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 7.3 ± 0.2

28. Urea Broth

ส่วนผสม Urea 20 กรัม

Yeast extract 0.1 กรัม

Na_2HPO_4 9.5 กรัม

K_2HPO_4 9.1 กรัม

Phenol red 0.01 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 38.71 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน แบ่งใส่หลอดทดลองด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ อย่านำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ pH สุดท้าย 6.8 ± 0.2

29. Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar

ส่วนผสม Xylose 3.5 กรัม

L-Lysine 5 กรัม

Lactose 7.5 กรัม

Saccharose 7.5 กรัม

Sodium Chloride 5 กรัม

Yeast Extract 3 กรัม

Phenol Red 0.08 กรัม

Sodium Desoxycholate 2.5 กรัม

Ferric Ammonium Citrate 0.8 กรัม

Sodium Thiosulfate 6.8 กรัม

Agar 13.5 กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสม 45 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อนพร้อมคนนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 118°C เป็นเวลา 10 นาที pH สุดท้าย 7.4 ± 0.2 จากนั้นทำให้เย็นถึง 50°C เทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้งให้ผิวหน้าอาหารแห้งก่อนใช้งาน

ภาคผนวก ข

ขั้นตอนการผลิตปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง

<table>
<tr><th colspan="2">ขั้นตอนการผลิตปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง</th></tr>
<tr><td>1.รับวัตถุดิบปลาดุกบิ๊กอุย</td><td>2.น็อคปลาโดยการใช้น้ำแข็งกลบ</td></tr>
<tr><td> </td><td> </td></tr>
<tr><td>3.ล้างปลา</td><td>4.ตัดหัว</td></tr>
<tr><td> </td><td> </td></tr>
<tr><td>5.แล่ผีเสื้อ</td><td>6.ควักไส้</td></tr>
<tr><td> </td><td> </td></tr>
</table>

ขั้นตอนการผลิตปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง (ต่อ)	
7.ปลาดุกหลังแล่ผีเสื้อ	8.ล้างปลาด้วยน้ำเย็นที่ผสมคลอรีนเข้มข้น 50 ppm และ 10 ppm ตามลำดับ *ควบคุมอุณหภูมิน้ำ ≤ 10 ℃
9.เรียงปลาบนถาดฟรีส นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ ≤ -18 ℃	10.ปลาหลังจากฟรีสที่อุณหภูมิ ≤ -18 ℃ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
11.ละลายปลา	12.ชั่งน้ำหนักปลา

ขั้นตอนการผลิตปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง (ต่อ)	
13. เตรียมส่วนผสมสำหรับหมัก	14.เคล้าเกลือ เป็นเวลา 10 นาที
15.หมักปลาตามสูตร	16.บรรจุปลาพร้อมน้ำหมักลงในถุงปิดปากถุง ให้สนิทเก็บไว้ที่ห้อง Chill นาน 72-76 ชม. (อุณหภูมิปลาหลังแช่ ≤ 4 °C)
17.สะเด็ดน้ำหมัก	18. อบปลาที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 °C

ขั้นตอนการผลิตปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง (ต่อ)	
19.พักปลาให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที	20.บรรจุปลาลงถุง แล้วแพ็คแบบสุญญากาศ
21.เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ ≤ -18 °C	

ภาคผนวก ค

แบบทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสวิธี 9-Point Hedonic Scale

ชื่อผู้ทดสอบ...วันที่ทดสอบ.......................................

โปรดให้คะแนน (1-9 คะแนน) ตามลักษณะดังนี้ สูตรที่......

ลักษณะ	อุณหภูมิที่อบ			หมายเหตุ
	40	45	50	
ลักษณะปรากฏ เนื้อปลาไม่แตกหรือฉีกขาด หากเป็นปลาชิ้นต้องยังคงเห็นเป็นชิ้นชัดเจน สม่ำเสมอ				
สี เหลือง, แดงอมชมพู ไม่มีสีคล้ำ				
กลิ่น ไม่มีกลิ่นคาว อับ หืน เหม็น และเปรี้ยว				
เนื้อสัมผัส นุ่มแน่น ไม่เละ ไม่ยุ่ย				
ความพึงพอใจโดยรวม				

ข้อเสนอแนะ ....

หมายเหตุ: 9 คะแนน หมายถึง ดีที่สุด
8 คะแนน หมายถึง ดีมาก
7 คะแนน หมายถึง ดี
6 คะแนน หมายถึง เกือบดี
5 คะแนน หมายถึง พอใช้
4 คะแนน หมายถึง ยังยอมรับได้
3 คะแนน หมายถึง ไม่ยอมรับ
2 คะแนน หมายถึง ไม่ยอมรับมาก
1 คะแนน หมายถึง ไม่ยอมรับมากที่สุด

ภาคผนวก ง

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 22

ตารางผลของอุณหภูมิที่ 40, 45 และ 50°C ต่อคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของปลาสูตร 1

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ลักษณะปรากฏ	40	8	4.75	.707	.250	4.16	5.34	4	6
	45	8	6.13	.641	.227	5.59	6.66	5	7
	50	8	4.00	.756	.267	3.37	4.63	3	5
	Total	24	4.96	1.122	.229	4.48	5.43	3	7
สี	40	8	4.38	.916	.324	3.61	5.14	3	5
	45	8	6.38	.518	.183	5.94	6.81	6	7
	50	8	5.13	.835	.295	4.43	5.82	4	6
	Total	24	5.29	1.122	.229	4.82	5.77	3	7
กลิ่น	40	8	6.38	.518	.183	5.94	6.81	6	7
	45	8	7.38	.518	.183	6.94	7.81	7	8
	50	8	5.13	.926	.327	4.73	6.27	4	7
	Total	24	5.29	1.108	.208	5.99	6.85	4	8

ตารางผลของอุณหภูมิที่ 40, 45 และ 50°C ต่อคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของปลาสูตร 1 (ต่อ)

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence interval for Mean Lower Bound	95% Confidence interval for Mean Upper Bound	Minimum	Maximum
เนื้อสัมผัส	40	8	5.50	.535	.189	5.05	5.95	5	6
	45	8	7.38	.518	.183	6.94	7.81	7	8
	50	8	5.50	1.069	.378	4.11	6.27	4	7
	Total	24	5.96	1.268	.259	5.42	6.85	4	8
ความพึงพอใจโดยรวม	40	8	5.38	.518	.183	4.94	5.81	5	6
	45	8	6.38	.518	.183	5.94	6.81	6	7
	50	8	5.50	.926	.327	4.73	6.27	4	7
	Total	24	5.75	.794	.162	5.41	6.09	4	7

ตารางผลของอุณหภูมิที่ 40, 45 และ 50°C ต่อคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของปลาสูตร 2

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ลักษณะปรากฏ	40	8	6.88	.641	.227	6.34	7.41	6	8
	45	8	8.75	.463	.164	8.36	9.14	8	9
	50	8	5.13	.835	.295	4.43	5.82	4	6
	Total	24	6.92	1.640	.335	6.22	7.61	4	9
สี	40	8	6.88	.835	.295	6.18	7.57	6	8
	45	8	8.63	.518	.183	8.19	9.06	8	9
	50	8	5.50	.538	.189	5.05	5.95	5	6
	Total	24	7.00	1.445	.295	6.39	7.61	5	9
กลิ่น	40	8	6.50	.535	.189	6.95	6.95	6	7
	45	8	7.63	.518	.183	8.06	8.06	7	8
	50	8	5.13	.835	.295	5.82	5.82	4	6
	Total	24	6.13	1.213	.248	6.93	6.93	4	8

ตารางผลของอุณหภูมิที่ 40, 45 และ 50°C ต่อคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของปลาสูตร 2 (ต่อ)

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
เนื้อสัมผัส	40	8	5.88	5.88	.227	6.41	6.41	5	7
	45	8	7.38	7.38	.183	7.81	7.81	7	8
	50	8	5.13	5.13	.227	5.66	5.66	4	6
	Total	24	6.13	6.13	.228	6.60	6.60	4	8
ความพึงพอใจโดยรวม	40	8	6.63	6.63	.263	7.25	7.25	6	8
	45	8	8.63	8.63	.183	9.06	9.06	8	9
	50	8	5.50	5.50	.189	5.98	5.95	5	6
	Total	24	6.92	6.92	.294	7.53	7.53	5	9

ตารางผลของอุณหภูมิที่ 40, 45 และ 50°C ต่อคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของปลาสูตร 3

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ลักษณะปรากฏ	40	8	5.75	.707	.250	5.16	6.34	5	7
	45	8	6.75	.707	.250	6.16	7.34	6	8
	50	8	4.75	.707	.250	4.16	5.34	4	6
	Total	24	5.75	1.073	.219	5.30	6.20	4	8
สี	40	8	6.00	.535	.189	5.55	6.45	5	7
	45	8	6.63	.916	.324	5.86	7.39	5	8
	50	8	5.38	.744	.236	4.75	6.00	4	6
	Total	24	6.00	.855	.181	5.63	6.37	4	8
กลิ่น	40	8	5.63	.518	.183	5.19	6.06	5	6
	45	8	7.50	.535	.189	7.05	7.95	7	8
	50	8	4.63	.518	.183	4.19	5.06	4	5
	Total	24	5.92	1.316	.269	5.36	6.47	4	8

ตารางผลของอุณหภูมิที่ 40, 45 และ 50°C ต่อคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของปลาสูตร 3 (ต่อ)

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
เนื้อสัมผัส	40	8	5.75	.707	.250	5.16	6.34	5	7
	45	8	7.50	.535	.189	7.05	7.95	7	8
	50	8	4.88	.835	.295	4.18	5.57	4	6
	Total	24	6.04	1.301	.266	5.49	6.59	4	8
ความพึงพอใจโดยรวม	40	8	6.50	.535	.189	6.05	6.95	6	7
	45	8	7.50	.535	.189	7.05	7.95	7	8
	50	8	4.63	.744	.263	4.00	5.25	4	6
	Total	24	6.21	1.351	.276	5.64	6.78	4	8

ตารางผลคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 หลังการฉายรังสีเป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ลักษณะปรากฏ	0 นาที	8	8.13	.641	.227	7.59	8.66	7	9
	5 นาที	8	7.00	.756	.267	6.37	7.63	6	8
	10 นาที	8	6.63	.518	.183	6.19	7.06	6	7
	15 นาที	8	6.13	.354	.125	5.83	6.42	6	7
	Total	32	6.97	.933	.165	6.63	7.31	6	9
สี	0 นาที	8	8.25	.707	.250	7.66	8.84	7	9
	5 นาที	8	7.25	.463	.164	6.86	7.64	7	8
	10 นาที	8	6.50	.535	.189	6.05	6.95	6	7
	15 นาที	8	6.13	.354	.125	5.83	6.42	6	7
	Total	32	7.03	1.019	.171	6.68	7.38	6	9

ตารางผลคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 หลังการฉายรังสีเป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที (ต่อ)

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
กลิ่น	0 นาที	8	8.38	.744	.263	7.75	9.00	7	9
	5 นาที	8	7.50	.535	.189	7.05	7.95	7	8
	10 นาที	8	6.63	.518	.183	6.19	7.06	6	7
	15 นาที	8	6.13	.354	.125	5.83	6.42	6	7
	Total	32	7.16	1.094	.180	6.79	7.52	6	9
เนื้อสัมผัส	0 นาที	8	8.38	.518	.183	7.94	8.81	8	9
	5 นาที	8	7.63	.518	.183	7.19	8.06	7	8
	10 นาที	8	6.63	.518	.183	6.19	7.06	6	7
	15 นาที	8	6.75	.463	.164	6.36	7.14	6	7
	Total	32	7.34	.865	.153	7.03	7.66	6	9

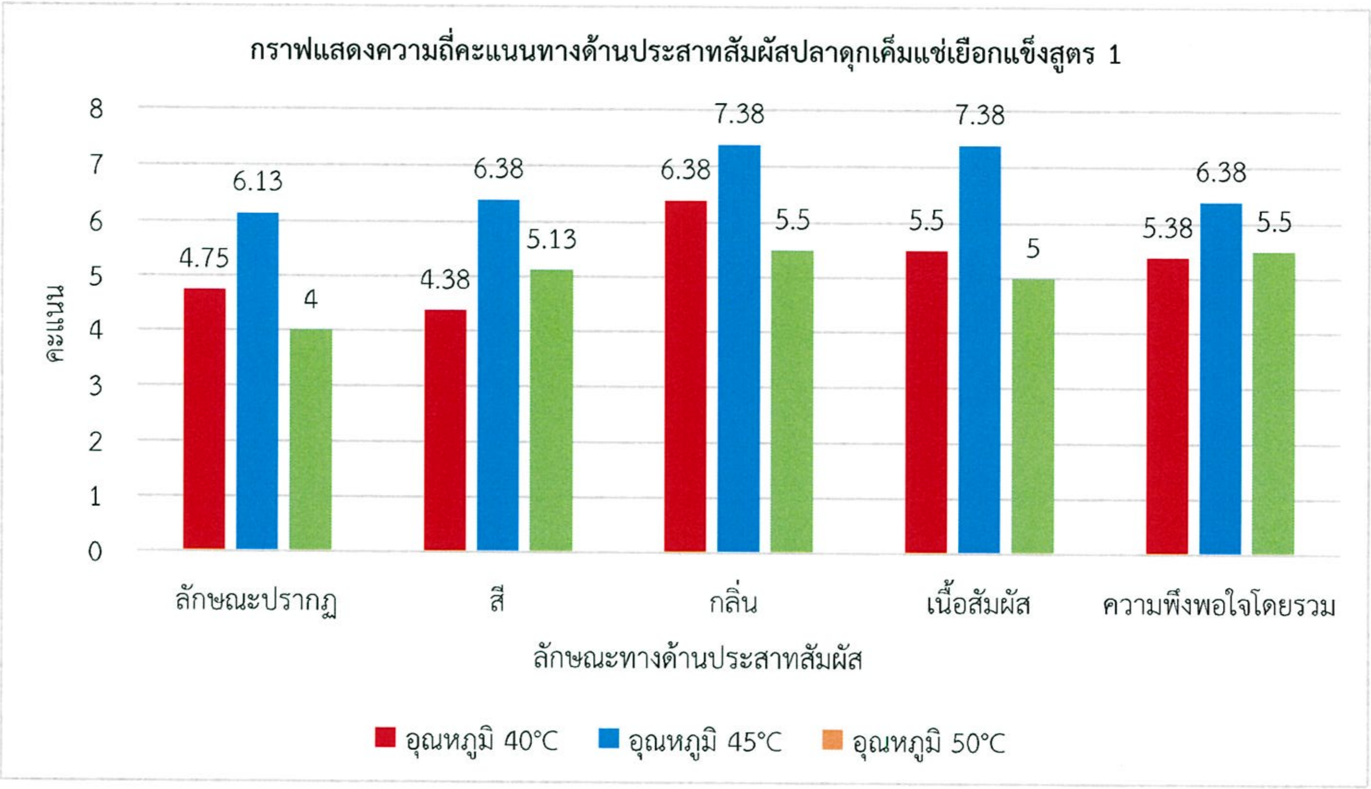
ตารางผลคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 หลังการฉายรังสีเป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที (ต่อ)

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ความพึงพอใจโดยรวม	0 นาที	8	8.50	.535	.189	8.05	8.95	8	9
	5 นาที	8	7.50	.535	.189	7.05	7.95	7	8
	10 นาที	8	6.50	.535	.189	6.05	6.95	6	7
	15 นาที	8	6.13	.641	.227	5.59	6.66	5	7
	Total	32	7.16	1.081	.191	6.77	7.55	5	9

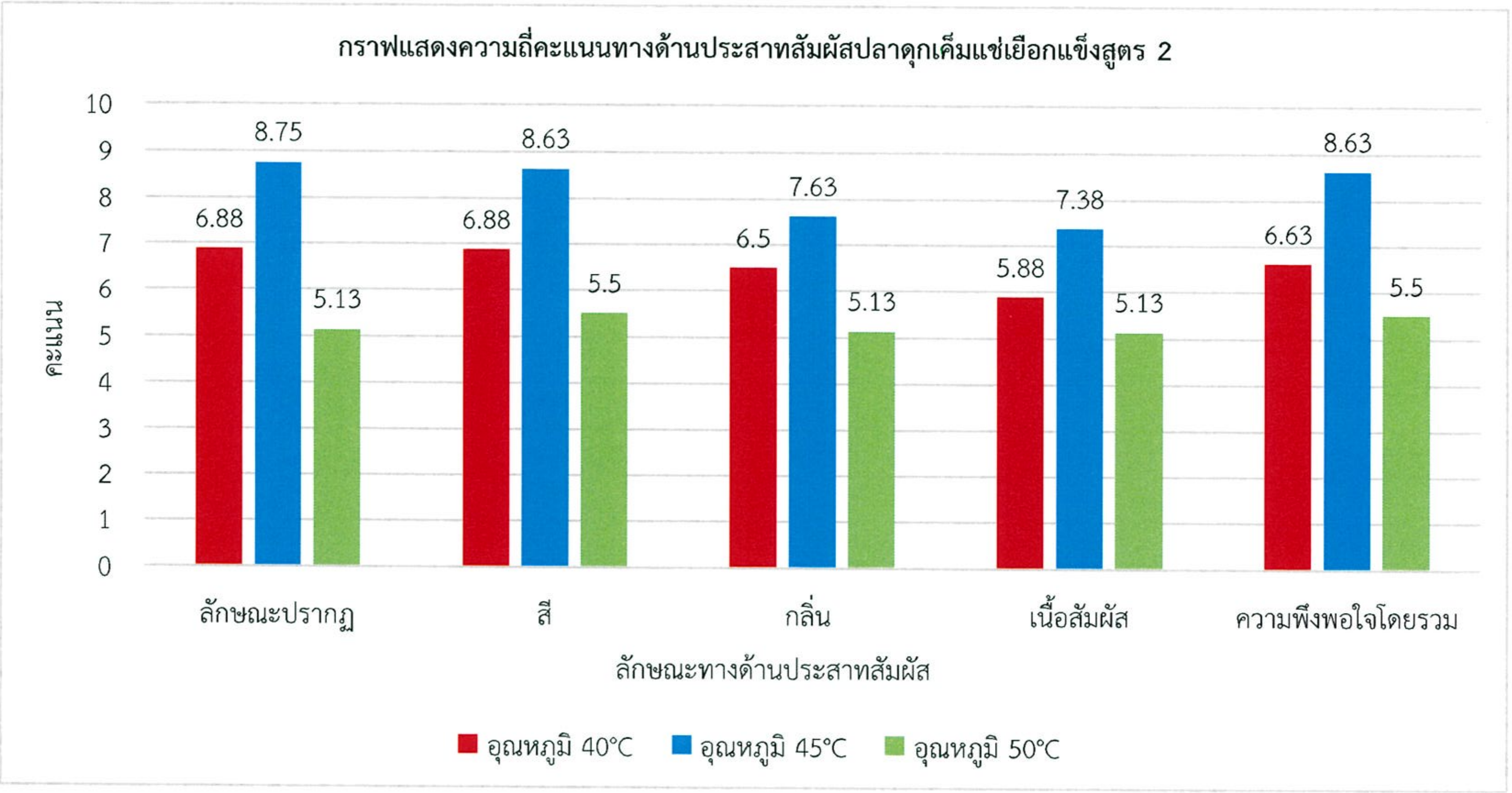
ภาคผนวก จ

กราฟความถี่คะแนนทางด้านประสาทสัมผัสปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง

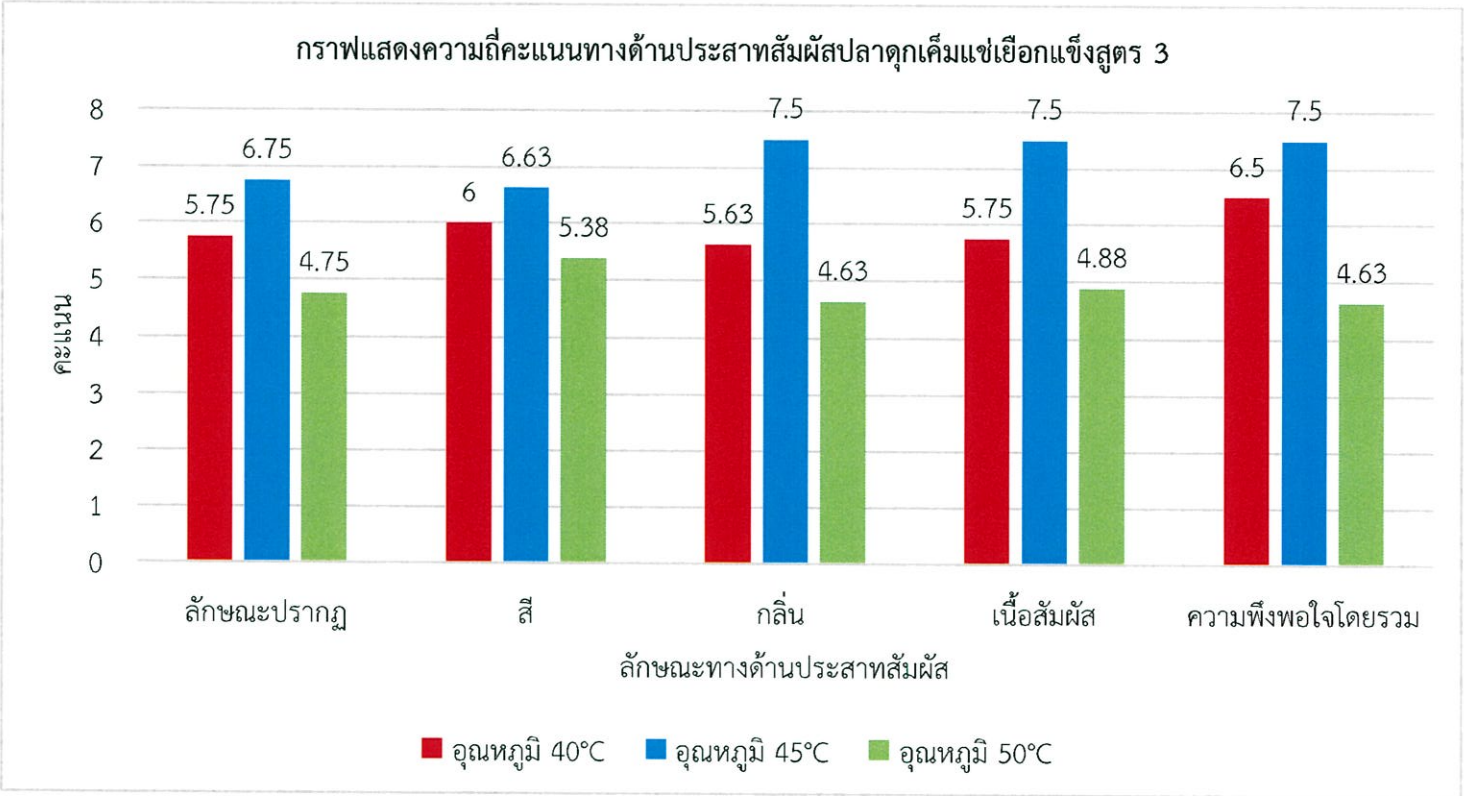
กราฟความถี่คะแนนทางด้านประสาทสัมผัสปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 1 อบที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50°C



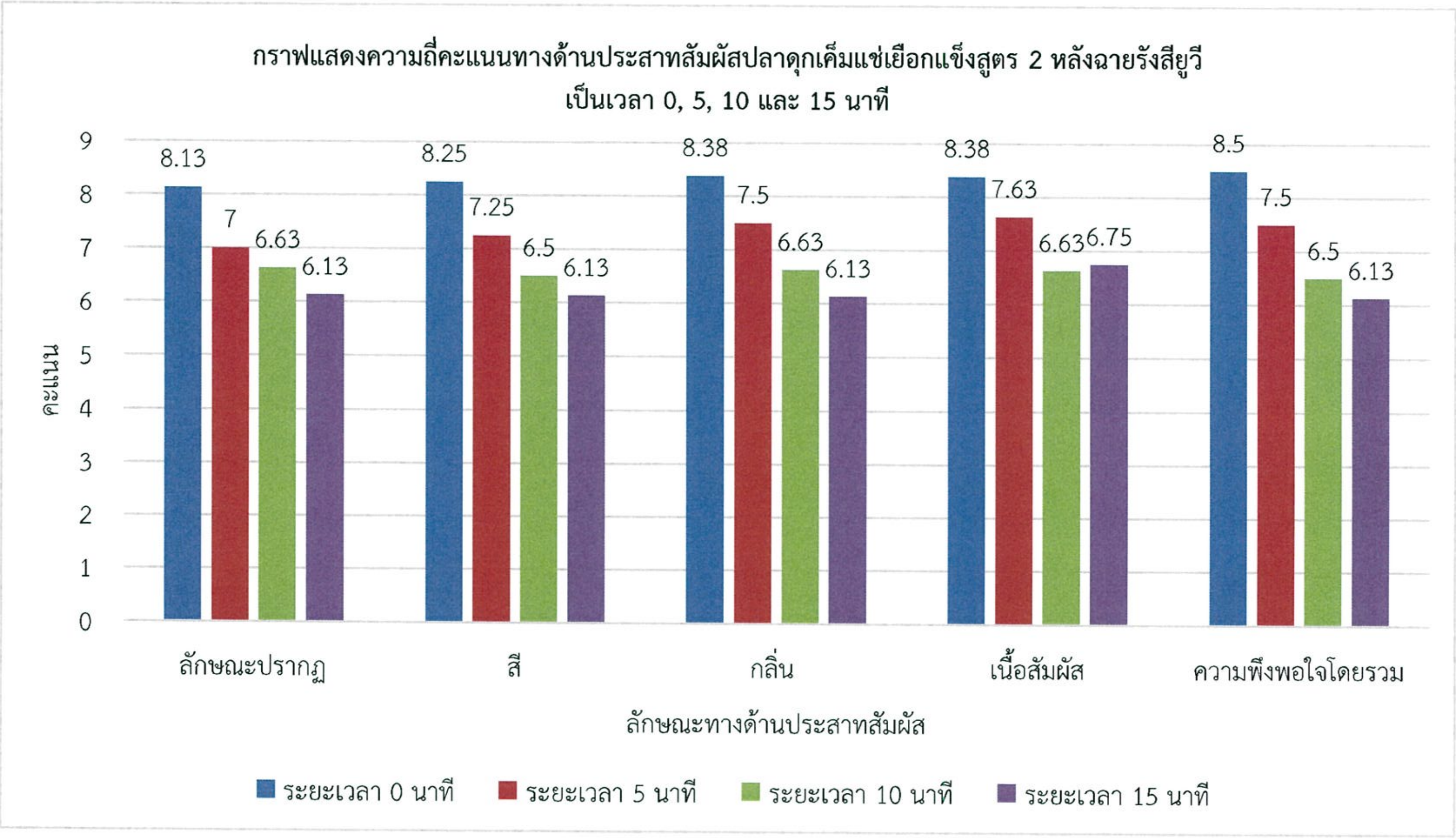
กราฟความถี่คะแนนทางด้านประสาทสัมผัสปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 อบที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50°C



กราฟความถี่คะแนนทางด้านประสาทสัมผัสปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 อบที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50°C



กราฟความถี่คะแนนทางด้านประสาทสัมผัสปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็งสูตร 2 หลังผ่านการฉายรังสียูวีซีเป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที



ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

1. การวิเคราะห์ความชื้น (Moisture content) และปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solid)

วิธีการ

1.1 อบภาชนะอลูมิเนียม ที่อุณหภูมิ 103-105 °C นาน 1 ชั่วโมง แล้วนำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง นำไปอบซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่

1.2 ชั่งตัวอย่างประมาณ 2-3 กรัม ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนใส่นภาชนะอลูมิเนียม

1.3 นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 103-105 °C เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง โดยเปิดฝาภาชนะอลูมิเนียมออก

1.4 นำภาชนะออกจากตู้อบไฟฟ้าพร้อมเปิดฝาอลูมิเนียมออก ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นจนกระทั่งเย็น จากนั้นชั่งน้ำหนัก นำกลับไปอบซ้ำอีก จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่

คำนวณหาปริมาณความชื้นและปริมาณของแข็งทั้งหมด

$$\% \text{ ความชื้น (น้ำหนักเปียก)} = \frac{(W_1-W) - (W_2-W)}{(W_1-W)} \times 100$$

$$\% \text{ ความชื้น (น้ำหนักแห้ง)} = \frac{(W_1-W) - (W_2-W)}{(W_2-W)} \times 100$$

$$\% \text{ ของแข็งทั้งหมด} = \frac{(W_2-W)}{(W_1-W)} \times 100$$

เมื่อ W = น้ำหนักของภาชนะอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด (กรัม)

W_1 = น้ำหนักของภาชนะอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด และตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักของภาชนะอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด และตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (crude protein) โดยวิธี Kjeldahl method

วิธีการ

2.1 ขั้นตอนการย่อย

2.1.1 ชั่วตัวอย่างประมาณ 2.0 - 3.0 กรัม ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนลงในหลอดย่อย ใส่คะตะลิสต์ลงไปประมาณ 5 กรัม

2.1.2 เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ลงไปประมาณ 20-25 มิลลิลิตร แล้วเขย่าเบาๆ และใส่ boiling chip 2-3 เม็ด

2.1.3 เป็นเครื่องย่อย แล้วตั้งหลอดย่อยในเครื่อง สวมเครื่องดักจับไอกรดลงบนส่วนบนของหลอดย่อย และเปิด Power ของเครื่องดักจับไอกรด โดยทำการย่อยในตู้ดูดควัน

2.1.4 กดปุ่ม start ที่เครื่องย่อย เมื่ออุณหภูมิได้ 420 °C แล้วทำการย่อยต่อไปอีก 2 ชั่วโมง จนตัวอย่างเป็นสารละลายสีเขียวใส จากนั้นยกหลอดย่อยออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

2.1.5 ปิด Power เครื่องย่อย แต่ยังคงเปิดเครื่องดักจับไอกรดไว้เพื่อดักจับกรดที่ยังคงหลงเหลืออยู่

2.2 ขั้นตอนการกลั่น

2.2.1 เปิด Power เครื่องหล่อเย็น แล้วเซ็ทระบบการทำงานของเครื่องกลั่น จากนั้นปิดเครื่องทำการล้างระบบด้วยน้ำกลั่น

2.2.2 ตวงสารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร พร้อมหยดอินดิเคเตอร์ ซึ่งจะทำให้สารละลายเป็นีชมพูอ่อน

2.2.3 นำหลอดย่อยประกิบเข้ากับเครื่องกลั่น และวางขวดรูปชมพู่ที่บรรจุสารละลายกรดบอริกไว้บริเวณ Plateform ให้แท่งแก้วจุ่มอยู่ใต้กรดบอริก

2.2.4 ปิด Safety door ทำการกลั่นเป็นเวลา 4 นาที เมื่อกลั่นเสร็จแล้ว เอาขวดรูปชมพู่ และหลอดย่อยออกจากเครื่อง

2.3 ขั้นตอนการไตเตรท

นำสารละลายในขวดรูปชมพู่ไปไตเตรทกับสารละลายไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 N จนได้สารละลายเป็นสีชมพูอ่อน

คำนวณผลการวิเคราะห์ดังนี้

% ไนโตรเจน =

$$\frac{\text{ปริมาตร } H_2SO_4 \text{ ที่ใช้ไตเตรท} - \text{ปริมาตรของ } H_2SO_4 \text{ ที่ใช้ไตเตรท Blank} \times 0.1 \times 0.014 \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

% โปรตีน = % ไนโตรเจน × conversion factor

3. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (crude fat) ด้วยวิธีการสกัดตัวทำละลาย (Solvent extraction method)

วิธีการ

3.1 อบฟลาสก์สกัดไขมันที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสในตู้อบลมร้อน 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น จากนั้นชั่งน้ำหนักฟลาสก์ แล้วจดน้ำหนักที่แน่นอน

3.2 ชั่งตัวอย่างอาหาร 2-3 กรัมที่บดละเอียด ห่อด้วยกระดาษรองเบอร์ 1 (จดน้ำหนักที่แน่นอน) แล้วใส่ในทิมเบิล

3.3 เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในฟลาสก์สำหรับสกัดไขมัน 150 มิลลิลิตร จากนั้นนำทิมเบิลที่มีตัวอย่างอาหารใส่ลงไปในส่วนของ extraction tube ต่อฟลาสก์ที่มีปิโตรเลียมอีเทอร์เข้ากับส่วนของ extraction tube และ condenser ทำการสกัดประมาณ 2 ชั่วโมงแยกเอาฟลาสก์ออกจากเครื่องสกัดแล้วใช้คีมคีบทิมเบิลที่ใส่ตัวอย่างออกจากฟลาสก์

3.4 นำฟลาสก์ไประเหยเอาปิโตรเลียมอีเทอร์ออก แล้วอบที่อุณหภูมิ 100°C จนกว่าตัวทำละลายจะระเหยหมด จากนั้นทิ้งในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก

คำนวณหาปริมาณไขมัน

$$\%\ \text{ไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน} \times 100}{\text{ตัวอย่างอาหาร}}$$

4. การวิเคราะห์เยื่อใยหยาบ (Crude Fiber)

วิธีการ

4.1 ตัวอย่างที่นำมาหาเส้นใยควรเป็นตัวอย่างที่ผ่านการวิเคราะห์ความชื้นและสกัดไขมันแล้วแต่ในกรณีที่ตัวอย่างมีปริมาณไขมันน้อยอาจไม่จำเป็นต้องสกัดไขมันก็ได้

4.2 อบถ้วยแก้วสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างเยื่อใยในตู้อบลมร้อนใช้อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วจดบันทึกไว้

4.3 บดตัวอย่างให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักให้ได้ประมาณ 1 กรัม สูงประมาณ 1 มิลลิเมตร (F_0) แล้วใส่ในถ้วยแก้ว

4.4 วางถ้วยแก้วลงในหลุมที่อยู่บนเครื่องมือสกัดเยื่อใย เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.01 N ที่ทำให้ร้อนไว้ก่อนแล้วลงในท่อแก้วคอนเดนเซอร์ไปประมาณ 150 มิลลิลิตร อาจเติมสารป้องกันการเกิดฟอง เช่น ลูกแก้วลูกเล็กๆ (gloss bead) ลงไป 2-3 เม็ด กรองเอาสารละลายกรดออก (เปิดลิ้นไปที่ vacuum)

4.5 ล้างตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆ ละ 30 มิลลิลิตร (ในการล้างแต่ละครั้งให้เปิดลิ้นไปที่ Pressure เพื่อดันให้อากาศผ่านฐานของถ้วยแก้วให้ส่วนผสมในถ้วยคลุกเคล้ากันโดยตลอด)

4.6 เติมสารละลายโปรตัสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.23 N ที่ทำให้ร้อนลงไปประมาณ 150 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดนาน 30 นาที กรองเอาสารละลายด่างออก แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ล้างด้วยน้ำกลั่นเย็นอีก 1 ครั้ง จากนั้นล้างด้วยอะซิโตนอีก 3 ครั้ง ครั้งละ 25 มิลลิลิตร

4.7 ทำให้แห้งโดยนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 °C นานประมาณ 1 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะได้น้ำหนักที่คงที่ ซึ่งน้ำหนักที่ได้จะเป็นน้ำหนักของเยื่อใยหยาบรวมน้ำหนักของเถ้า (Ash) (F_1)

4.8 นำกากที่ได้ใส่ในครูซิเบิล แล้วนำไปเผาต่อที่อุณหภูมิ 500-550°C นาน 3 ชั่วโมง ทำให้เย็นลงในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักที่ได้จะเป็นน้ำหนักของเถ้า (F_2)

การคำนวณหาปริมาณเยื่อใยหยาบ

$$\%\ \text{เยื่อใยหยาบ (Crude fiber)} = \frac{(F_1 - F_2)}{F_0} \times 100$$

5. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้าทั้งหมด

วิธีการ

5.1 เผาครูซิเบิล ในเตาเผา ที่อุณหภูมิ 500-550 °C นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น นำไปชั่งน้ำหนักที่คงที่ของครูซิเบิล

5.2 ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างอาหารที่บดละเอียดแล้ว ประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในครูซิเบิล (ถ้าตัวอย่างมีความชื้นสูงหรือเป็นของเหลว ให้นำไปทำให้แห้งก่อนโดยใช้ water bath หรือตู้อบที่อุณหภูมิ 100 °C)

5.3 เผาตัวอย่างอาหารจนไม่มีควันด้วย Hot plate ในตู้ดูดควัน จากนั้นนำไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500-550 °C จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว

5.4 นำครูซิเบิลไปใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้จนกระทั่งเย็น แล้วนำไปชั่งหาน้ำหนัก

คำนวณหาปริมาณเถ้าทั้งหมดในอาหาร

$$\text{ปริมาณเถ้าทั้งหมด (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักครูซิเบิลพร้อมตัวอย่างหลังเผา-น้ำหนักครูซิเบิล}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 28 เดือน มิ.ย พ.ศ. 2561

ข้าพเจ้า ~~นาย~~/~~นาง~~/นางสาว กรรณิการ์ บัวบานแย้ม รหัสประจำตัว 57050792

~~นาย~~/~~นาง~~/นางสาว สุกัญญา กมล รหัสประจำตัว 57050907

นาย/นาง/นางสาว........................ รหัสประจำตัว........................

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชา ชีววิทยา

ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาดุกเค็มแช่เยือกแข็ง

ชื่อภาษาอังกฤษ PRODUCT DEVELOPMENT OF FROZEN *Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus* SALTED FISH

ปีการศึกษา 2560

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 0.18 % หรือโปรแกรม Turnitin - %

ลงชื่อ กรรณิการ์ บัวบานแย้ม	ลงชื่อ สุกัญญา กมล	ลงชื่อ........................
(นางสาวกรรณิการ์ บัวบานแย้ม)	(นางสาวสุกัญญา กมล)	( )
นักศึกษา	นักศึกษา	นักศึกษา

ข้าพเจ้า ศ. / รศ. / (ผศ.) / ดร. / อ. ดวงกมล เรือนงาม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ ดวงกมล เรือนงาม	ลงชื่อ........................	ลงชื่อ........................
ผศ.ดร. ดวงกมล เรือนงาม		
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม