ผลของเกลือ เกลือฟอสเฟต และสภาวะการดองต่อคุณภาพของปลาสร้ม

EFFECT OF SALT, PHOSPHATE SALT AND MARINADE CONDITIONS ON QUALITY OF PLAASOM

ลิขสิทธิ์เป็นของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ศรัญญา เที่ยงธรรม

คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2555

KMITL-2012-AI-M-054-148

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของเกลือ เกลือฟอสเฟต และสภาวะการคลุกเคล้าต่อคุณภาพของปลาส้ม

EFFECT OF SALT, PHOSPHATE SALT AND MARINADE CONDITIONS ON QUALITY OF PLAA-SOM

T123749

สรัญญา เที่ยงธรรม

SARANYA THEANGTHUM

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....123749
วัน, เดือน, ปี 28 ม.ค. 2555

b.....
i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2555

KMITL-2012-AI-M-054-148

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECT OF SALT, PHOSPHATE SALT AND MARINADE CONDITIONS ON QUALITY OF PLAA-SOM

SARANYA THEANGTHUM

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SANITATION

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2012

KMITL-2012-AI-M-054-148

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2012

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของเกลือ เกลือฟอสเฟต และสภาวะการคลุกเคล้าต่อคุณภาพของปลาส้ม

Effect of Salt, Phosphate Salt and Marinade Conditions on Quality of Plaa-Som

ชื่อนักศึกษา นางสาวสรัญญา ทิ้งธรรม

รหัสประจำตัว 51608052

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา สุขาภิบาลอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.วริพัสย์ อารีกุล

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.วริพัสย์ อารีกุล	
รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์	
ดร.อพัชชา จันดาประเสริฐ	
ผศ.ดร.วลัยรัตน์ จันทรปานนท์	

วัน / เดือน/ ปีที่สอบ 27 กรกฎาคม 2555 เวลา 10.00 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ ห้อง A 303 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ดิ่งเจริญชัย)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 7 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของเกลือ เกลือฟอสเฟต และสภาวะการคลุกเคล้าต่อคุณภาพของปลาส้ม
นักศึกษา	นางสาวสรัญญา เที่ยงธรรม
รหัสประจำตัว	51608052
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2555
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.วริพัสย์ อารีกุล

บทคัดย่อ

ผลของเกลือแกง โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสภาวะการคลุกเคล้า ต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของชิ้นปลา โดยใช้ชิ้นปลานวลจันทร์แล่ติดก้าง (*Cirrhinus microlepis*) เคล้าผสมเกลือแกง และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่เข้มข้น 3-6 และ 0.2-0.5 เปอร์เซ็นต์ (ของน้ำหนักปลา) ตามลำดับ ภายใต้สภาวะบรรยากาศ และสุญญากาศ จากผลการทดลอง พบว่า การเพิ่มเกลือแกงในตัวอย่างปลามีผลให้ปริมาณเกลือแกง และปริมาณฟอสเฟตในชิ้นปลาเพิ่มขึ้น ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ลดลง ($p \leq 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก และเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุก ($p > 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มเกลือแกงในตัวอย่างปลาทำให้เนื้อปลามีค่าความแข็งเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) สำหรับผลของโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต พบว่า ตัวอย่างปลามาริเนตมีค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าวอเตอร์แอคติวิตี้สูงกว่าตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) อีกทั้งยังทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก และเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกของตัวอย่างมาริเนตมีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) อีกด้วย ในทางตรงกันข้าม โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีผลทำให้ตัวอย่างมีความนุ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$)

การเคล้าภายใต้สภาวะสุญญากาศมีผลอย่างมากต่อการเพิ่มปริมาณเกลือแกง และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในตัวอย่างปลามาริเนตเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะบรรยากาศ นอกจากนี้ยังพบว่าชิ้นปลาส่วนบางที่เคล้าภายใต้สภาวะบรรยากาศ ดูดซับเกลือแกงสูงกว่าชิ้นปลาส่วนหนาเล็กน้อย ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ตัวอย่างที่การเคล้าแบบสุญญากาศ ไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$) จากผลการทดลองสามารถคัดเลือกสภาวะการเคล้าน้ำมาริเนต 3 สภาวะ (เปอร์เซ็นต์เกลือแกง, เปอร์เซ็นต์โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสภาวะการเคล้า) ได้แก่ สภาวะ A (6, 0.5 และบรรยากาศ) สภาวะ B (6, 0.5 และสุญญากาศ) และสภาวะ C (3, 0.5 และสุญญากาศ) สำหรับการทดลองในขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำชิ้นปลาเคล้าน้ำมาริเนตมาหมักเป็นปลาส้ม ที่อุณหภูมิห้อง นาน 8 วัน แล้วทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพ และจุลินทรีย์ ทุกๆ 4 วันของการหมัก พบว่า ปริมาณกรดทั้งหมด เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ค่าความแข็ง แรงยึดเกาะ และแรงที่ใช้ในการเคี้ยวมีค่าเพิ่มขึ้นในระหว่างการหมัก ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง และเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกมีค่าลดลง นอกจากนี้ตัวอย่างปลาส้มที่เคล้าน้ำมาริเนตทั้ง 3 สภาวะ พบว่า เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก และเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกมีแนวโน้มลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม สำหรับการวิเคราะห์จุลชีววิทยา พบว่า การเพิ่มขึ้นของปริมาณแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง อีกทั้งตรวจไม่พบเชื้อ *Clostridium perfringens* และพบเชื้อ *Escherichia coli* น้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม (โดยวิธีเอ็มพีเอ็น) ภายหลังการหมักนาน 4 วัน สำหรับการอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* Rissen ที่กำหนดเชื้อเริ่มต้น 100 และ 10,000 เซลล์ ใน 1 ตารางนิ้ว พบว่า ตรวจไม่พบเชื้อ *S.* Rissen ของปลาส้มทุกตัวอย่างในวันที่ 3 และ 4 ของการหมัก ตามลำดับ เมื่อการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส พบว่า ปลาส้มที่เคล้าน้ำมาริเนตที่ประกอบด้วยเกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในสภาวะแบบสุญญากาศ ได้รับการยอมรับมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมได้รับการยอมรับน้อยที่สุด ($p \leq 0.05$)

ดังนั้น จากผลการทดลอง การคลุกเคล้าปลาปลาส้มจากชิ้นปลาแล่ติดก้างด้วยโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต ภายใต้สภาวะสุญญากาศสามารถทำให้การดูดซับเกลือแกงและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตดีขึ้น มีผลทำให้ผลิตภัณฑ์นิ่มลง และลดเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก และเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกได้ แม้ว่าโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีแนวโน้มชะลอกระบวนการหมัก แต่ผลิตภัณฑ์ยังคงมีความปลอดภัยจากเชื้อ *Salmonella*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Effect of Salt, Phosphate Salt and Marinade Conditions on Quality of Plaa-som
Student	Miss Saranya Theangthum
Student ID.	51608052
Degree	Master of Science
Program	Food Sanitation
Year	2012
Thesis Advisor	Assist. Prof. Dr. Varipat Areekul

ABSTRACT

The effects of salt, sodium tripolyphosphate (STPP) and marinade conditions on the physicochemical properties of marinated fish were evaluated. The *Nouan-Jan* (*Cirrhinus microlepis*) fillets with bone were tumbled at various salt and STPP contents varied from 3-6 and 0.2–0.5 % (by total fish wt. respectively), under the atmosphere and vacuum processes. the experimental data revealed that the increase of salt content in marinade enhanced salt and STPP contents in marinated samples while the decreases in pH and a_w were observed ($p \leq 0.05$). However, no effect on weight loss (%) and cook yield (%) were found. In addition, the hardness values increased as increasing salt content in marinated samples ($p \leq 0.05$). Compared with control, The effect of STPP was also pronounced. The pH, a_w , were higher. weight loss (%) and cook yield (%) in marinated sample with STPP were significant higher ($p \leq 0.05$). On the other hand, hardness in marinated samples were lower than that in control ($p \leq 0.05$).

Marination under the vacuum process significantly pronounced the effect on the enhancement of salt and STPP content in marinated samples compared with marination under atmosphere process. In addition, the thin fish fillets under atmosphere process absorbed a little higher salt than the thick fish fillets ($p \leq 0.05$) while no similar observation under the vacuum process ($p > 0.05$) was found. For this results, three marinade conditions (% NaCl, % STPP, process) were chosen for next experiment as following; condition A (6, 0.5, atmosphere), condition B (6, 0.5, vacuum) and condition C (3, 0.5, vacuum).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Marinade fishes were further subjected to Plaa-som fermentation process at room temperature for 8 days. The physiochemical and microbiological changes were examined every 4 days of fermentation. The total acid as lactic acid, weight loss (%), hardness, cohesiveness and chewiness increased during fermentation while pH and cook yield (%) decreased. In addition, Plaa-som samples with three marinade conditions tended to lower weight loss (%) and cook yield (%) compared to control. For microbiological observations, the number of lactic acid bacteria increased during fermentation complied to the change in lactic acid content and pH . No positive result was found in *Clostridium perfringens* and *Escherichia coli* were < 3 MPN/g after 4 day fermentation. The survival of *Salmonella* Rissen was observed by inoculating 100 and 10,000 cells in an in^2. Negative results were observed in all samples at 3^{th} and 4^{th} day of fermentation, respectively. The sensory evaluation reviewed that Plaa-som marinade at condition of 3% salt , 0.5%STPP under vacuum process was the most statistical consumer acceptance while the control sample was least accepted ($p \leq 0.05$).

Therefore , this experiment data indicated that Plaa-som produced from marinade bone fish with STPP under vacuum process can enhance the adsorption of salt and STPP and be lower the hardness, weight loss (%) and cook yield (%). Although, STPP tended to slower fermentation process, product is still safe from *Salmonella*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.วริพัสย์ อารีกุล ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำชี้แนะช่วยแก้ปัญหา ตลอดจนให้ความรู้และประการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์ ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ และ ผศ.ดร. วลัยรัตน์ จันทรปานนท์ กรรมการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ และวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนข้อชี้แนะ และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น จนในที่สุดทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้

ขอขอบคุณ โรงงานปลา บริษัทจุลไหมไทย จำกัด คุณนิภาภรณ์ พูลศรี คุณปราน เปรมจันทร์ และพนักงานทุกคน ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยนี้ ในด้านสถานที่และวัตถุดิบต่างๆ รวมทั้งคำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ ดร. ประมวล ศรีกาหลง ที่ได้ประดิษฐ์เครื่องมือ (ฝาถังผสมระบบสุญญากาศ) ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ และให้คำปรึกษา จนทำให้ประสบความสำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่ธุรการทุกท่าน ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องข้อมูล พร้อมทั้งให้คำปรึกษา และกำลังใจแก่ข้าพเจ้าด้วยดีเสมอมา

ขอขอบคุณ คุณนราพร พรหมไกรวร คุณวาณี ใจวิเสน คุณนิพัทธา ชาติสุวรรณ คุณยุพา แก้วดานา คุณมัลลิกา ไชยวุฒิ คุณชูเกียรติ แก้วสุข คุณจักรารัตน์ ติโลกวิชัย และ คุณธีรธร ลิ้มสมบูรณ์ ที่ให้คำปรึกษา และคอยเป็นกำลังใจตลอดจนคำแนะนำต่างๆ ให้ความช่วยเหลือในระหว่างการทำวิจัย และวิทยานิพนธ์ตลอดมา

ขอขอบคุณ เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ในสาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกคนที่ให้คำแนะนำต่างๆ และคอยให้กำลังใจเสมอมา

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และญาติพี่น้อง ครอบครัวเที่ยงธรรม เนตรน้อย และไกรทอง ที่คอยเป็นกำลังใจ ให้คำปรึกษาและสนับสนุนในทุกๆเรื่อง จนทำให้ข้าพเจ้ามีความรู้ ความสามารถในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดามารดา ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า ตลอดจนผู้ที่สามารถนำไปใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อไป

สรัญญา เที่ยงธรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ III

กิตติกรรมประกาศ V

สารบัญ VI

สารบัญตาราง VIII

สารบัญภาพ IX

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 บทนำ 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 ปลาส้ม 4

2.2 การเน่าเสียของปลา 16

2.3 ฟอสเฟต 18

2.4 แบคทีเรียแลคติก 24

2.5 เชื้อ *Salmonella* 27

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีทดลอง 32

3.1 วัตถุดิบ 32

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ 33

3.3 สถานที่ดำเนินงาน 34

3.4 วิธีการทดลอง 34

บทที่ 4 ผลการทดลอง 42

4.1 ผลของปริมาณเกลือแกง เกลือฟอสเฟต และสภาวะการคลุกเคล้าของชิ้นปลาติดก้าง 42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 ผลของเกลือแกง เกลือฟอสเฟต และสภาวะการคลุกเคล้าต่อคุณภาพของปลาส้มข้อเสนอแนะ 59
4.3 ศึกษาการอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* ในระหว่างผลิตปลาส้ม 76

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 79
5.1 สรุปผลการทดลอง 79
5.2 ข้อเสนอแนะ 80

บรรณานุกรม 82

ภาคผนวก 91
ภาคผนวก ก 91
ภาคผนวก ข 95
ภาคผนวก ค 101
ภาคผนวก ง 113

ประวัติผู้เขียน 115

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 จุลินทรีย์ที่สร้างสารประกอบที่ทำให้ปลาเสื่อมเสีย 9

2.2 คุณภาพด้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ปลาส้มตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 15

2.3 สมบัติทางชีวเคมีที่สำคัญของเชื้อ *Salmonella* 29

2.4 ค่าต่ำสุด ค่าเหมาะสม ค่าสูงสุดของอุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ต่อการเจริญของเชื้อ *Salmonella* 30

3.1 อัตราส่วนผสมของสูตรน้ำมาริเนตต่างๆ จำนวน 6 สูตร 35

4.1 ปริมาณเกลือแกงบริเวณชิ้นส่วนหนาและบางของชิ้นปลานวลจันทร์ที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนต 43

4.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ของปลานวลจันทร์ 48

4.3 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก และเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกของปลานวลจันทร์ 52

4.4 คุณลักษณะทางด้านเนื้อสัมผัสของชิ้นปลานวลจันทร์ที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนต 55

4.5 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ 63

4.6 เปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ 64

4.7 คุณลักษณะทางเนื้อสัมผัสของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ 66

4.8 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ 68

4.9 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ 69

4.10 ปริมาณเชื้อ *Clostridium perfringens* ของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ 71

4.11 ปริมาณเชื้อ *E. coli* ของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ 73

4.12 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของปลาส้ม 75

4.13 ปริมาณเชื้อ *S.* Rissen ของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ 76

ก.1 อัตราส่วนผสมของน้ำมาริเนตในสูตรต่างๆ ที่ใช้ในการหมักปลานวลจันทร์น้ำจืด (ปริมาตรน้ำมาริเนต 100 กรัม) 93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 ขั้นตอนการสลายตัวของนิวคลีโอไทด์ในกล้ามเนื้อปลา 16

3.1 ขั้นตอนการผลิตปลาส้ม 34

3.2 ตัวอย่างปลาเคล้าน้ำมาริเนต และลักษณะชิ้นปลาที่ผ่านการแล่ก้างกาง และหนังออก สำหรับส่วน (A) คือ ชิ้นปลาบริเวณส่วนหนา และส่วน (B) คือ ชิ้นปลาส่วนบาง 36

3.4 ขั้นตอนการผลิตตัวอย่างปลาส้ม 40

4.1 ปริมาณฟอสเฟตในส่วนหนา (a) และส่วนบาง (b) ของชิ้นปลานวลจันทร์ 46

4.2 ปริมาณกรดทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์) ของปลาส้มสูตรที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ 60

4.3 ความเป็นกรด-ด่าง ของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ 61

ข.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟอสเฟต กับค่าการดูดกลืนแสง ที่ 450 นาโนเมตร 97

ข.2 กราฟการวิเคราะห์ค่า Texture Profile Analysis (TPA) 100

ค.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ เชื้อ *S.* rissen กับค่าความขุ่น (Optical Density, OD) ที่ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร 110

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 บทนำ

ปลาส้มเป็นผลิตภัณฑ์ปลาหมักดั้งเดิมของไทยที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือของประเทศไทย ทำจากเนื้อปลาสด ตัดแต่ง แล้วนำมาหมักด้วยเกลือ กระเทียมและข้าวสุก ทำให้เกิดกลิ่นรสเปรี้ยว และเนื้อสัมผัสตามที่ต้องการ (อลิศรา เรืองแสง และคณะ, 2548; อังคณา รัตนพันธ์, 2549) กระบวนการผลิตปลาส้มโดยทั่วไปเป็นการหมักตามธรรมชาติและไม่ควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ไม่สามารถควบคุมกระบวนการหมักได้ ผลิตภัณฑ์จึงเสื่อมเสียหรือไม่ได้คุณภาพตามที่ต้องการ และอาจเกิดเนื่องจากวัตถุดิบมีคุณภาพไม่ดี เช่น การใช้ปลาที่ไม่สด การขนส่งปลาที่ทำให้เกิดการกระแทก หรือการแล่ที่ทำให้เกิดการฉีกขาดของส่วนทางเดินอาหาร นอกจากนี้ยังพบว่า ขั้นตอนการเคล้าเกลือไม่สม่ำเสมอทั่วทั้งชิ้นปลา ทำให้ปลาส้มเกิดการเน่าเสียได้ (นงนุช รักสกุลไทย, 2538)

เทคนิคการมาริเนต ได้นำมาใช้สารละลายเกลือคลุกเคล้าชิ้นเนื้อสัตว์ต่างๆ เพื่อปรับปรุงคุณภาพและรสชาติ แต่การใช้เกลือในปริมาณมาก จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติเค็มจัด อาจมีผิวหน้าเหี่ยวย่น เนื่องจากโปรตีนเสียสภาพธรรมชาติและไม่อุ้มน้ำ ทำให้ดูไม่น่ารับประทาน นอกจากนี้ยังมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแลคติก ที่ทำให้เกิดกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ปลาหมักอีกด้วย (Toledo, 2006a) สำหรับเกลืออีกประเภทหนึ่งที่นิยมใช้ในเนื้อสัตว์ และได้รับอนุญาตให้ใช้ตามกฎหมาย ได้แก่ เกลือฟอสเฟตซึ่งเป็นเกลือที่ทำให้โปรตีนในกล้ามเนื้อละลายออกมา และช่วยให้โมเลกุลของเนื้อยึดเกาะกัน รวมถึงทำหน้าที่ในการอุ้มน้ำของผลิตภัณฑ์ได้ดี ดังนั้นผลิตภัณฑ์จึงมีความนุ่ม ยืดหยุ่นดีขึ้น และช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้ดีขึ้น อย่างไรก็ตาม เกลือฟอสเฟตส่วนใหญ่มีสมบัติเป็นด่าง และอาจทำให้เกิดสภาพบัฟเฟอร์ขึ้น ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ไม่ลดลงตามที่กำหนด จึงทำให้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียได้ รวมถึงจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Salmonella* นอกจากนี้ยังอาจส่งผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคอีกด้วย เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีรสเปรี้ยวน้อยลง (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2547; Toledo, 2006b)

การผลิตปลาส้ม ได้นำเทคนิคมาริเนตมาใช้ในขั้นตอนการเคล้าปลา โดยเติมน้ำมาริเนตที่ประกอบด้วย เกลือแกง และไนไตรท์ แทนที่จะเติมในรูปของแข็ง อย่างไรก็ตามวิธีการคลุกเคล้าชิ้นปลาที่มีส่วนสำคัญต่อความสามารถในการซึมผ่านของเกลือ และอาจทำให้ปริมาณเกลือในแต่ละส่วนของชิ้นปลาเดียวกันไม่สม่ำเสมอ ซึ่งส่วนหนา หรือส่วนหลังของปลาที่ติดก้างบางชิ้นเกิดการเน่าเสียในขั้นตอนการหมักปลาส้ม หรือการเติมเกลือในปริมาณมากอาจยับยั้งการเจริญของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียแลคติก ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงไม่ได้ตามเวลาที่กำหนด และอาจตรวจพบเชื้อก่อโรคที่ปนเปื้อนตามธรรมชาติในวัตถุดิบ เช่น *Salmonella* ทำให้ไม่ผ่านมาตรฐานที่กำหนด จากสาเหตุดังกล่าวทำให้คุณภาพของปลาส้มที่ผลิตมีคุณภาพไม่สม่ำเสมอกันในการผลิตแต่ละครั้ง ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอกัน ดังนั้น การปรับปรุงศึกษาผลของปริมาณเกลือแกง เกลือฟอสเฟต และสภาวะการคลุกเคล้าของชิ้นปลาติดก้างด้วยเทคนิคมาริเนต เพื่อให้ชิ้นปลาแต่ละชิ้นมีความเข้มข้นของเกลือที่สม่ำเสมอ ทั้งในบริเวณส่วนหนา และบางของชิ้นปลา อาจช่วยในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางประเภท รวมถึงการทำงานของเอนไซม์ในปลาก่อนที่แบคทีเรียแลคติกจะสร้างกรดในการยับยั้งการเสื่อมเสียดังกล่าว นอกจากนี้การเติมฟอสเฟตอาจลดการสูญเสียเปอร์เซ็นต์ผลผลิตในระหว่างการปรุงสุก แต่ก็อาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี กายภาพ จุลินทรีย์ และทางประสาทสัมผัสของปลาส้ม รวมถึงการอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* ในระหว่างการหมักปลาส้มอีกด้วย จึงจำเป็นต้องศึกษาเพื่อให้ผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคทั้งคุณภาพและความปลอดภัย

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของปริมาณเกลือแกง เกลือฟอสเฟต และสภาวะการคลุกเคล้าของชิ้นปลาติดก้าง

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของปริมาณเกลือแกง เกลือฟอสเฟต และสภาวะการคลุกเคล้าต่อคุณภาพทางเคมี กายภาพ จุลินทรีย์ และทางประสาทสัมผัสของปลาส้ม

1.2.3 เพื่อศึกษาการอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* ในระหว่างกระบวนการผลิตปลาส้ม

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาผลของปริมาณเกลือแกง เกลือฟอสเฟต และสภาวะการคลุกเคล้าในขั้นตอนการเคล้าผสม ด้วยเทคนิคมาริเนตในชิ้นปลานวลจันทร์ติดก้างในห้องปฏิบัติการ โดยศึกษาผลของการเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่เข้มข้นต่างๆ 3 ระดับ และความเข้มข้นของเกลือแกง 2 ระดับ ในสภาวะการคลุกเคล้า 2 แบบ ด้วยการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางเคมี กายภาพ และเนื้อสัมผัส ได้แก่ ปริมาณเกลือแกง ปริมาณฟอสเฟต ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก เปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุก และเนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัสของปลาเคล้าน้ำมาริเนต โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม จากนั้นคัดเลือกสภาวะการเคล้าน้ำมาริเนตที่เหมาะสมอย่างน้อย 2 สภาวะมาทดสอบการหมักปลาส้มในระดับโรงงาน ด้วยการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพในปลาส้ม รวมถึงคุณภาพทางจุลินทรีย์ในปลาส้ม ได้แก่ ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ปริมาณเชื้อ *Clostridium perfringens* และปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* รวมทั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยังศึกษาการอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* ที่เติมลงในขั้นตอนการหมักปลาส้ม และการยอมรับทางประสาทสัมผัสของปลาส้มที่เติมฟอสเฟตเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมด้วยวิธี 9 – point Hedonic scale

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปลาส้ม

ปลาส้ม (plaa-som) หรือปลาข้าวสุกในบางท้องถิ่นหมายถึง ผลิตภัณฑ์ทำจากปลาที่ตัดแต่งแล้วหมักกับส่วนผสมต่างๆ เช่น ข้าวเหนียว กระเทียม และเกลือจนเกิดรสเปรี้ยว โดยเกลือเป็นส่วนผสมของการหมักปลาส้มที่สำคัญ ปลาจะถูกย่อยบางส่วนด้วยเอนไซม์จากในเซลล์เนื้อเยื่อของปลาเอง รวมถึงเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ตามลำไส้และผิวปลาตามธรรมชาติ และเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่เจริญในระหว่างการหมักจนมีรสเปรี้ยว ปลาส้มอาจทำจากปลาทั้งตัวหรือเฉพาะส่วนเนื้อปลาก็ได้ (สุวรรณ วิรัชกุล, 2531; Beriain *et al.*, 1993) ผลิตภัณฑ์ปลาส้มที่ดีต้องมีสีขาวถึงชมพูอ่อน น่ารับประทาน รสชาติไม่เค็มเกินไป มีคุณค่าทางโภชนาการ ไม่มีกลิ่นที่พึงปรารถนา ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคแก่ผู้บริโภค รวมถึงสามารถเก็บไว้ได้นานโดยไม่เน่าเสีย (สุวรรณ วิรัชกุล, 2531) นอกจากปลาส้มจะมีคุณค่าทางโภชนาการสูงแล้วยังเป็นแหล่งโปรตีนที่ดี ปลาที่นิยมนำมาเป็นปลาส้มส่วนใหญ่เป็นปลาน้ำจืด ได้แก่ ปลาตะเพียน ปลานิล และ ปลานวลจันทร์ เป็นต้น หรืออาจใช้ปลาขนาดเล็ก เช่น ปลาขาวสร้อย ปลาเก และ ปลาอีไทย เป็นต้น (Phitakpol, 1993; Saisithi *et al.*, 1986)

นอกจากนี้ ผลิตภัณฑ์ปลาหมักก็พบในประเทศในภูมิภาคเอเชีย เช่น ประเทศฟิลิปปินส์ (Burong-isda) เกาหลี (Jol-kai และ Sikhae) และ ญี่ปุ่น (Funa-shushi) (Paludan-Miller *et al.*, 1999)

2.1.1 ชนิดของปลาส้ม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม , 2548)

ปัจจุบันสามารถแบ่งปลาส้มที่ผลิตในประเทศตามลักษณะผลิตภัณฑ์ออกเป็น 4 ชนิด ได้แก่

2.1.1.1 ปลาส้มตัว หรือใช้วัตถุดิบเป็นปลาขนาดใหญ่ทั้งตัว เช่น ปลาตะเพียน ปลาสูด และปลานวลจันทร์

2.1.1.2 ปลาส้มชิ้น ใช้วัตถุดิบเป็นเนื้อปลาเลาะก้างแล้วหั่นเป็นชิ้นตามขวางของลำตัวปลา ขนาดประมาณ 3 x 4 นิ้ว ทำได้ทั้งปลาหนัง (เช่น ปลาสวาย เป็นต้น) และปลามีเกล็ด (เช่น ปลานวลจันทร์ เป็นต้น)

2.1.1.3 ปลาส้มเส้น หรือใช้วัตถุดิบเป็นเนื้อปลาเลาะก้างหั่นเป็นเส้น

2.1.1.4 ปลาส้มฟัก (เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า แหนมปลา) หรือใช้วัตถุดิบเป็นเนื้อปลาบดหรือสับให้ละเอียด ส่วนใหญ่มักใช้ปลากราย ปลาชะโด หรือปลาช่อน เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 วัตถุดิบ และส่วนประกอบในการผลิตปลาส้ม

2.1.2.1 ปลา นิยมใช้ปลาน้ำจืด โดยเฉพาะ ปลาตะเพียน รองลงมาคือ ปลาขาว แต่ปัจจุบัน ปลาตะเพียนในแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีจำนวนน้อย จึงใช้ปลาจีน ปลาสร้อย ปลานวลจันทร์ และ ปลาชะโด เป็นต้น แต่จะทำเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทปลาส้มชิ้น หรือปลาส้มฟัก แทนปลาส้มตัว (ปวีณา สังสีโห และเพ็ญแข วิจิตโชติ, 2547)

ปลานวลจันทร์น้ำจืดในการผลิตปลาส้ม ซึ่งมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Cirrhinus microlepis* เป็นปลามีเกล็ด อยู่วงศ์เดียวกับปลาตะเพียนขาว และปลาไน มีรูปร่างป้อม ด้านข้างค่อนข้างแบน ความยาวของส่วนหัวเป็นอัตราส่วน 1 ใน 5 ของความยาวของส่วนตัว ฐานของครีบหลังอยู่ใกล้มาทางปากมากกว่าฐานของครีบหาง ขนาดของเกล็ดปานกลาง ครีบหาง เว้าลึก ลำตัวมีสีเงิน ด้านหลังมีสีเทาเข้ม บริเวณครีบอก ครีบท้อง และครีบก้น มีสีชมพูอ่อน ตามีสีทอง (อำพล พงศ์สุวรรณ และอารีย์ สิทธิมังค์, 2532) ปลานวลจันทร์น้ำจืด มีองค์ประกอบดังนี้ น้ำ 75.0-79.8 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 18.1-19.6 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 0.2-4.0 เปอร์เซ็นต์ (Clucas, 1994)

2.1.2.2 เกลือ ควรเป็นเกลือทะเล หรือ เกลือสินเธาว์ ที่มีสีขาว สะอาด และมีความเค็มสูง อาจใช้ในรูปเกลือป่นหรือ เกลือเม็ด ก็ได้ ขึ้นอยู่กับความสะดวกในการเลือกซื้อ ซึ่งเกลือมีหน้าที่ควบคุมและรักษาสภาวะการหมักให้จุลินทรีย์ที่ต้องการคือ แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria, LAB) ความเข้มข้นของเกลือที่พอเหมาะจะส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์เหล่านี้ให้สามารถแข่งขันและเจริญได้ดีกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เกลือจึงมีความสำคัญต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์เป็นอย่างมาก อีกทั้งยังมีผลต่อความหนาแน่นของเนื้อ กลิ่นรส และอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ (สันต์ บัณฑุกุล, 2498) นอกจากนี้เกลือยังสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เน่าเสียบางประเภทได้อีก ปลาที่มีเกลือสูงกว่า 7 เปอร์เซ็นต์ ตรวจไม่พบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียทั่วๆไปใน (Prescott and Dunn, 1959)

บทบาทของเกลือในการหมักปลาส้มพบว่า ที่ความเข้มข้นของเกลือสูงเสี่ยงต่อการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และไม่เกิดการหมักกรดแลคติก และการเพิ่มเกลือจาก 6 เป็น 11 เปอร์เซ็นต์ จะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแลคติกอีกด้วย ดังนั้นปริมาณเกลือที่แนะนำให้ใช้มากที่สุดไม่ควรเกิน 6-7 เปอร์เซ็นต์ เมื่อ ใส่เกลือในปลา น้ำในเนื้อปลาจะซึมออก ในขณะที่เกลือซึมเข้าไป เมื่อถึงสมดุล ปริมาณน้ำในเนื้อปลาลดลง และความเข้มข้นของเกลือในเนื้อปลาสูงขึ้น ส่งผลให้การทำงานของเอนไซม์ภายในเนื้อปลาและจากจุลินทรีย์ชะลอกิจกรรมลง และหยุดทำงานในที่สุด (วัชรี ตริตรอง, 2547)

2.1.2.3 ข้าวเหนียวนึ่ง ควรใช้ข้าวเหนียวใหม่มานึ่ง และล้างน้ำ เพื่อไม่ให้เมล็ดข้าวเกาะติดกันเป็นก้อน ข้าวเหนียวนึ่งจะทำหน้าที่เป็นตัวเร่งให้แบคทีเรียแลคติก เจริญได้รวดเร็วในช่วงแรกของการหมักปลาส้ม และทำให้เกิดกลิ่นรสเปรี้ยวของผลิตภัณฑ์ ก่อนที่จุลินทรีย์ชนิดอื่นที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์ไม่ต้องการ จะเจริญเติบโตทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการในผลิตภัณฑ์ (คณิต วิชิตพันธุ์, 2550)

2.1.2.4 กระเทียม เป็นเครื่องเทศที่ใช้ในการปรับปรุงกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ และกระเทียมยังประกอบด้วยอินนูลิน ที่จัดเป็น Fructo-oligosaccharides ซึ่งจุลินทรีย์เฉพาะกลุ่มสามารถสร้างเอนไซม์ Inulinase เท่านั้น จึงจะสามารถย่อยเป็นน้ำตาลฟรุกโตส และใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญได้ (Van Loo *et al.*, 1995) นอกจากนี้ กระเทียมยังมีสาร allicin ที่มีสมบัติยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ และยังกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก (Feldberg *et al.*, 1988) เนื่องจากกระเทียมยังประกอบด้วยแร่ธาตุที่กระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก เช่น แมงกานีส เป็นต้น เป็นผลทำให้ปริมาณกรดแลคติกสูงขึ้น และค่าความเป็นกรด-ด่างในผลิตภัณฑ์ปลาหมักลดลงอย่างรวดเร็ว (อดิศร เสวตวิวัฒน์, 2542)

2.1.2.5 ผงชูรส และ/หรือ น้ำตาล ใช้เป็นสารเติมแต่งรสชาติในผลิตภัณฑ์

2.1.2.6 เกลือไนเตรทและไนไตรท์ มีสมบัติเป็นสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิด โดยเฉพาะแบคทีเรียที่สร้างสปอร์กลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic spore forming bacteria) เช่น *Clostridium botulinum* และ *C. perfringens* นอกจากนี้ยังช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีแดงเพิ่มขึ้น และไนโตรโซฮีโมโครม ซึ่งเป็นตัวที่ทำให้เกิดสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นนั้นมีความคงตัวสูงภายใต้การเก็บรักษาที่ถูกต้อง

ในกระบวนการผลิตปลาส้มอาจใช้เกลือไนเตรทหรือไนไตรท์ แต่อย่างไรก็ตาม แม้ว่าเกลือไนเตรทหรือไนไตรท์ จะมีคุณประโยชน์ดังที่กล่าวมา แต่การใช้ในปริมาณที่มากเกินไปอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้ ดังนั้นการใช้เกลือไนเตรทหรือไนไตรท์ ควรใช้ในปริมาณที่กฎหมายกำหนด ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2527) อนุญาตให้ใช้โซเดียมหรือโพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3 หรือ $NaNO_3$) ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (โดยคำนวณเป็นโซเดียมไนเตรท) แต่ถ้าเป็นเกลือโซเดียมหรือโพแทสเซียมไนไตรท์อนุญาตให้ใช้ได้ไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (โดยคำนวณเป็นโซเดียมไนเตรท)

2.1.3 กระบวนการผลิตปลาส้ม

กระบวนการผลิตปลาส้มโดยทั่วไป เริ่มจากการนำปลาสด เช่น ปลาตะเพียน ปลาขาว มาขอดเกล็ด ควักไส้ และตัดแต่งปลา ซึ่งเอนไซม์ภายในตัวปลาย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลาอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะเอนไซม์คาเทปซิน ซึ่งพบในกล้ามเนื้อปลา เรียกว่า การย่อยสลายตัวเอง นอกจากนี้ จุลินทรีย์ที่พบทั่วไปในปลาจะผลิตเอนไซม์ย่อยเนื้อปลา ทำให้เกิดกลิ่นที่ไม่ต้องการ จึงควรทำความสะอาดและตัดแต่งทันทีเพื่อรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ จากนั้นควรล้างน้ำทำความสะอาดอีกครั้ง สะเด็ดน้ำให้หมาด แล้วจึงคลุกเคล้าหรือแช่ในน้ำเกลือ กระเทียม ข้าวเหนียวนึ่ง และอื่นๆ ซึ่งในขั้นตอนการตัดแต่งปลานั้น หากบั้งปลาที่ข้างลำตัว เกลือจะสามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึมเข้าเนื้อปลาได้ดีขึ้นและเร็วขึ้น เมื่อคลุกเคล้าแล้วจึงบรรจุในภาชนะแล้วบ่มไว้ ผู้ผลิตส่วนใหญ่จะหมักในถุงพลาสติกแล้วใส่ในภาชนะอีกครั้ง เช่น ปี๊บโลหะ กะละมังเคลือบ หรือถังพลาสติก สำหรับระยะเวลาในการหมักปลาจนได้ผลิตภัณฑ์ปลาส้ม จะใช้เวลา 2-3 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพอากาศ หรืออุณหภูมิในสถานที่ผลิต ซึ่งถ้าอุณหภูมิสูงในช่วงฤดูร้อน เช่น เดือนมีนาคม-เมษายน จะใช้เวลาเพียง 2 วัน ในขณะที่ฤดูหนาวที่มีอุณหภูมิต่ำ ในเดือนธันวาคม-มกราคม อาจใช้เวลานานถึง 7 วัน จึงจะสามารถบริโภคได้ (ประเสริฐ สายสิทธิ์, 2514)

2.1.4 เทคโนโลยีเฮอร์เดิลในกระบวนการผลิตปลาส้ม

เทคโนโลยีเฮอร์เดิล มีจุดมุ่งหมายที่สำคัญในการถนอมและรักษาผลิตภัณฑ์อาหารให้มีคุณภาพดี และมีความปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค โดยมุ่งเน้นการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสีย และทำให้อาหารเป็นพิษ หรือ ยับยั้ง/ชะลอปฏิกิริยาทางเคมีหรือชีวเคมีที่ทำให้อาหารเกิดการเสื่อมเสียก็ได้ (Leistner and Gorris, 1995) ซึ่งเฮอร์เดิล หมายความถึง อุปสรรคหรือปัจจัยที่ใช้ร่วมกันในการป้องกันหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ แมลง รวมทั้งยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา เคมีหรือชีวเคมีก็ได้ ตัวอย่างของเทคโนโลยีเฮอร์เดิล เช่น การให้ความร้อน การหมัก การใช้สารกันเสีย การฉายรังสี รวมทั้งการใช้เทคโนโลยีด้านบรรจุภัณฑ์ เทคโนโลยีเฮอร์เดิล ทำให้อายุการเก็บรักษาอาหารชนิดต่างๆ ยาวนานแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับธรรมชาติของอาหารและระยะเวลาที่ต้องการเก็บรักษา รวมทั้งระดับคุณภาพที่คาดหวังสำหรับอาหาร ณ วันสิ้นสุดการเก็บรักษาหรือเมื่อถูกบริโภค ระดับความรุนแรงของเฮอร์เดิล หรือ ชนิดของเฮอร์เดิลที่จะใช้จึงขึ้นอยู่กับความต้องการดังกล่าว (บัญชา อุไรกุล, 2542)

ปัจจัยในเทคโนโลยีเฮอร์เดิลที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตปลาส้ม ได้แก่ การแล่ ควักไส้ ล้างทำความสะอาด อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง สารเคมี (เกลือ ไนไตรท์/ไนเตรท หรือสารเคมีอื่นๆ) ปริมาณออกซิเจนหรือรีดอกซ์-โพเทนเชียล การบรรจุ การควบคุมบรรยากาศ วิธีการที่ใช้ในเฮอร์เดิลเทคโนโลยี เช่น การล้างทำความสะอาด การควบคุมค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง Oxidation/reduction potential รวมทั้งการใช้เชื้อจุลินทรีย์ (บัญชา อุไรกุล, 2542)

2.1.4.1 การแล่ ขอดเกล็ด ควักไส้ และล้างทำความสะอาด

การเน่าเสียส่วนใหญ่จะเกิดจากจุลินทรีย์ โดยขณะที่ปลายังมีชีวิตอยู่จุลินทรีย์ไม่สามารถเข้าสู่ระบบในตัวปลาได้ แต่จะปนเปื้อนอยู่ตามบริเวณผิวหนัง เหงือกและอยู่ในระบบทางเดินอาหาร เมื่อปลาตายเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารและกล้ามเนื้อปลาจะเกิดการย่อยสลายเนื้อปลาจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาจะใช้สารประกอบ ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากเอนไซม์สำหรับการเจริญเติบโตจนทำให้ปลาเสื่อมเสียได้ การเน่าเสียของปลาจะเริ่มจากบริเวณเหงือกและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระบบทางเดินอาหารก่อน จากนั้นก็จะเกิดกลิ่นคาว หากไม่ได้นำเอาเครื่องในปลาออก จุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารจะเป็นสาเหตุของการเน่าเสียจนไม่สามารถนำมาใช้แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้ ปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบริเวณผิวหนังของปลาจะมีประมาณ 10^2-10^7 CFU/cm^2 ขึ้นอยู่กับความสะอาดของแหล่งน้ำที่ปลาอาศัยอยู่ ความสะอาดของน้ำแข็ง ส่วนบริเวณเหงือกจะมีปริมาณจุลินทรีย์ประมาณ 10^3-10^9 CFU/cm^2 การที่มีจุลินทรีย์สูงในบริเวณเหงือก เนื่องจากขณะที่ปลาว่ายน้ำจะเปิดกระพุ้งแก้มตลอดเวลา ซึ่งปริมาณจุลินทรีย์จะปนเปื้อนมากน้อยจะขึ้นอยู่กับแหล่งน้ำที่ปลาอาศัยเช่นกัน โดยมากจะพบจุลินทรีย์จำพวก *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Vibrio*, *Micrococcus* และ *Flavobacterium* (ตรี วากิจ, 2552)

ส่วนบริเวณระบบทางเดินอาหารของปลาจะมีปริมาณจุลินทรีย์ 10^3-10^9 CFU/cm^2 โดยจุลินทรีย์ปะปนอยู่ในอาหารที่ปลากินเข้าไป บริเวณลำไส้ของปลาจะพบแบคทีเรียพวก *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Clostridium* และ *Escherichia* และในส่วนของเหลวภายในลำไส้ปลาจะเป็นแหล่งที่มีปริมาณจุลินทรีย์มากที่สุดแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียที่ปนเปื้อนมากับตัวปลาส่วนใหญ่จะเป็นพวก normal flora aerobes หรือ facultative anaerobes และพวกที่ทนความเย็นได้ดีพอสมควร ได้แก่ *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* และ *Vibrio* ส่วนแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเน่าเสียของปลาได้แก่ *Escherichia*, *Proteus*, *Clostridium* ปลาที่อาศัยในเขตร้อนจะพบพวก *Micrococcus* และ *Bacillus* จุลินทรีย์แต่ละชนิดให้สารประกอบที่ระเหยได้แตกต่างกัน *Shewanella putrifaciens* และ *Vibrionacaea* มักให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์ และไตรเมทิลเอมีน ส่วน *Pseudomonas* ให้กลิ่นเน่า และกลิ่นของซัลเฟอร์ในปลาที่เน่าเสีย ตารางที่ 2.1 แสดงจุลินทรีย์ที่สร้างสารประกอบที่ทำให้ปลาเกิดการเสื่อมเสีย และสารประกอบพวกกรดต่างๆ เช่น กรดอะซิตริก, กรดบิวทาริก และกรดโพรพิโอนิก รวมทั้ง ก๊าซแอมโมเนีย ซึ่งพบในแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (aerobic bacteria) ในการทำให้เกิดการเสื่อมเสีย ส่วนจุลินทรีย์ที่พบเฉพาะได้แก่ *Shewanella putrifaciens*, *Photobacterium phosphoreum*, *Pseudomonas* และ *Vibrionacaea* โดยส่วนใหญ่เป็นสารประกอบ เช่น สารไตรเมทิลลามีน (Trimethylamine), เมทิลเมอแคปทิน (CH_3SH), ไดเมทิลซัลไฟด์ $(CH_3)_2S$, ไฮโปแซนทีน (Hx) และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) รวมทั้งการสร้างสารประกอบพวกคีโตน, อัลดีไฮน์ และเอสเตอร์ อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 จุลินทรีย์ที่สร้างสารประกอบที่ทำให้ปลาเสื่อมเสีย

จุลินทรีย์	สารประกอบ
Shewanella putrifaciens	TMA, H_2S, CH_3SH, $(CH_3)_2S$, HX
Photobacterium phosphorum	TMA, HX
Pseudomonas	Ketone, aldehydes, esters, non-H_2S sulphides
Vibrionacaea	TMA, H_2S
Aerobic spoilers	NH_3, acetic, butyric and propionic acid

หมายเหตุ TMA = trimethylamine, H_2S = hydrogen sulphide, CH_3SH = methylmercarptin, $(CH_3)_2S$ = dimethylsulphine, HX = hypoxanthine, NH_3 = ammonia

ที่มา: Huss (1995)

2.1.4.2 การใช้สารเคมีในขั้นตอนการเคล้าน้ำมาริเนต

การถนอมและการแปรรูปผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ จำเป็นต้องมีการใช้สารเคมีหลายชนิด เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะและรสชาติตามที่ต้องการ และสามารถเก็บรักษาไว้ได้เป็นระยะเวลานานพอสมควร โดยไม่เกิดการเหม็นหืนและการเน่าเสียก่อนนำไปบริโภค สารเคมีที่ใช้แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ประเภทแรกเป็นสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในการหมักเกลือ ซึ่งเป็นสารที่ช่วยให้เกิดรสชาติและคุณลักษณะที่ต้องการ และบางชนิดก็ช่วยยืดอายุในการเก็บได้ด้วย สารเคมีอีกประเภทหนึ่งเป็นสารเคมีที่มีวัตถุประสงค์เพื่อถนอมรักษาเนื้อสัตว์เป็นหลัก ซึ่งได้แก่ กรดอินทรีย์และสารปฏิชีวนะ เป็นต้น

1) เกลือ เกลือที่ใช้ในการแปรรูปเนื้อสัตว์ อยู่ในรูปเกลือแกงหรือโซเดียมคลอไรด์ ซึ่งแต่เดิมมนุษย์ใช้เกลือเพื่อเป็นตัวป้องกันการเน่าเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ของเนื้อสัตว์ เมื่อหมักในสภาพห้องธรรมดา จึงใช้เกลือหมักเนื้อที่ความเข้มข้นสูง โดยปกติต้องมีเกลือแกงในผลิตภัณฑ์อย่างน้อย 6 เปอร์เซ็นต์ จึงทำให้เนื้อมีรสชาติเค็มจัด และลักษณะของผลิตภัณฑ์แห้ง มีผิวหน้าเหี่ยวย่น มองดูไม่น่ารับประทาน แต่ในปัจจุบันความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีต่าง ๆ เข้ามามีบทบาทต่อการถนอมรักษาเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ ทำให้สามารถเก็บรักษาไว้ได้ที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นปริมาณการใช้เกลือจึงลดลงเพื่อให้รสชาติดีขึ้น ปริมาณเกลือที่เป็นที่ยอมรับกันในผลิตภัณฑ์ของกลุ่มผู้บริโภค แฮมควรมีเกลืออยู่ประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ และเบคอนควรมีเกลืออยู่ประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ เกลือที่เหมาะสมในการใช้หมักเนื้อสัตว์ ควรเป็นเกลือที่สะอาดและผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว ถ้าเกลือประกอบด้วยโลหะหนัก เช่น ทองแดง จะเร่งปฏิกิริยาการหืนของไขมันในเนื้อหมัก นอกจากนี้เกลือที่เติมไอโอดีนไม่เหมาะที่จะใช้ในการหมักเนื้อซึ่งใช้ร่วมกับไนเตรท เนื่องจากไอโอดีน จะเป็นตัวยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ที่ช่วยเร่งการเปลี่ยนสารไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ ได้เป็นผลให้มีสารไนเตรทตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์มาก (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทบาทของเกลือที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก, 2532) คือ

- เกลือมีผลต่อการลดน้ำในผลิตภัณฑ์และทำให้แรงดันออสโมติค ของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป ปริมาณน้ำอิสระลดลง จึงมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และป้องกันการเน่าเสีย

- เกลือทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสเด็มจัด รสไม่นุ่มนวล และสีของเนื้อแดง มีสีดำ ผิวหน้าของผลิตภัณฑ์เหี่ยวย่น ไม่เป็นที่พึงปรารถนาต่อผู้บริโภค

2) ไนไตรท์ (Nitrite) หรือไนเตรท (Nitrate) ส่วนใหญ่นิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียมไนไตรท์หรือโปตัสเซียมไนไตรท์ และเกลือโซเดียมไนเตรท หรือโปตัสเซียมไนเตรท

บทบาทของเกลือไนไตรท์และเกลือไนเตรท เมื่อใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (ศิวาพร ศิวเวชช, 2535) คือ

- ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดงและรักษาสีแดงของผลิตภัณฑ์ ทำให้มีความน่ารับประทานเพิ่มขึ้น

- ช่วยเพิ่มรสชาติ (taste) และกลิ่นรส (flavor) แก่ผลิตภัณฑ์ ทำให้มีกลิ่นเฉพาะตัวเป็นที่ยอมรับสำหรับผู้บริโภคมากกว่าการใช้เกลือในการหมักเนื้อเพียงอย่างเดียว

- ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และป้องกันการงอกของสปอร์ของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ โดยเฉพาะพวก *C. botulinum*

- ช่วยยับยั้งการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยจะไปยับยั้งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนของไขมัน (oxidative rancidity)

การใช้สารพวกไนไตรท์และไนเตรท แต่เดิมใช้เกลือไนเตรท พบว่าการแตกตัวของไนเตรททำให้ไนตริกออกไซด์ช้ามาก และต้องอาศัยจุลินทรีย์บางชนิดในเนื้อสัตว์ช่วยในกระบวนการผลิต ผลิตภัณฑ์เกิดสีแดงต้องใช้เวลานาน ถ้าการใช้ไนเตรทและไนไตรท์ร่วมกัน มีผลต่อการเร่งการแตกตัวของไนเตรท ทำให้เกิดการแตกตัวให้ไนตริกออกไซด์เร็วขึ้นและมากขึ้น จึงทำให้เกิดสีเร็วและมีไนเตรทเหลือตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์น้อยลง กระทรวงสาธารณสุข (2527) อนุญาตให้ใช้ไนเตรทได้ในปริมาณที่ไม่เกิน 500 ส่วนในล้านส่วน (โดยคิดคำนวณเป็นโซเดียมไนเตรท) และไนไตรท์ให้ใช้ได้ในปริมาณที่ไม่เกิน 125 ส่วนในล้านส่วน (โดยคิดคำนวณเป็นโซเดียมไนไตรท์)

3) ฟอสเฟต (Phosphate) ฟอสเฟตเป็นสารประกอบที่ใช้เติมในน้ำหมักเนื้อเพื่อวัตถุประสงค์ คือ ช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ (water-binding capacity) ทำให้เนื้อไม่สูญเสีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักมากเกินไปขณะร้อน เนื้อมีความนุ่มและชุ่มน้ำเพิ่มขึ้นและมีรสชาติดี (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548)

บทบาทของสารฟอสเฟตที่มีต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อ ((สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548) คือ

- การเพิ่มความนุ่ม โดยเป็นตัวทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของเนื้อเพิ่มขึ้นและช่วยให้โปรตีนของกล้ามเนื้อคลายตัว เนื่องจากสารเอคโตไมโอซินแยกออกจากกันเป็นเอคตินและไมโอซิน สารฟอสเฟตที่ใช้ในด้านนี้ คือ พวกไพโรฟอสเฟต

- การเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ โดยทำให้เส้นใยโปรตีนยืดตัวล้อมรอบโมเลกุลน้ำ พบว่า เกลือของกรดอ่อนให้คุณสมบัติได้ดีในข้อนี้ คือโซเดียมฟอสเฟต

- เพิ่มรสชาติ โดยการทำให้โมเลกุลของเนื้อสานกันเป็นตาข่าย สามารถกันกั้นไม่ให้เลือดและของเหลวในเนื้อไหลออกมา เนื้อจึงมีรสชาติดีขึ้น

- ช่วยให้โมเลกุลเนื้อยึดเกาะกันดี โดยการดึงโมเลกุลโปรตีนที่ละลายน้ำได้มารวมตัวกันทำให้เนื้อเหนียวและยืดหยุ่นดีขึ้น นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก

- ช่วยให้สีคงทน โดยทำหน้าที่ควบคุมความเป็นกรด-ด่าง ให้อยู่ในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.0-6.6 จึงทำให้เนื้อมีสีแดงคงทนดีขึ้น สารฟอสเฟตที่ให้ผลด้านนี้ คือ โพลีฟอสเฟต และ ได-อัลคาไลน์ฟอสเฟต

2.1.4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่างในปลาส้ม โดยการเติมข้าวเหนียวนึ่ง และกระเทียม

ค่าความเป็นกรด-ด่างในการหมักปลาส้ม มีอิทธิพลต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีและการทำงานของเอนไซม์ ตลอดจนการเจริญของจุลินทรีย์ การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างอาจจะเร่งหรือทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีในอาหารช้าลง การเติมข้าวเหนียวนึ่ง และกระเทียมจะช่วยให้แบคทีเรียแลคติก ย่อยคาร์โบไฮเดรตกลายเป็นกลูโคสได้ในระหว่างการหมัก สำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติกจะต้องมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสม และความเป็นกลางของคาร์โบไฮเดรตที่ใส่ลงไปต้องเหมาะสม ถ้าอยู่ในสภาพกรด (ค่าความเป็นกรด-ด่างในช่วง 5-6) อาจเสียได้ ผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปโดยผ่านกระบวนการหมัก ผลผลิตสุดท้าย มีรสเปรี้ยวภายหลังจากการหมักเนื่องจากกรดแลคติกที่ถูกสร้างขึ้นมา (Gilliland *et al.*, 1984) นอกจากนี้กระเทียมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหาร และอาหารเป็นพิษได้ เช่น *Salmonella* เป็นต้น และยังมีแมงกานีสที่เป็นแหล่งอาหารของแบคทีเรียแลคติก ทำให้ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้น และค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำลง (อดิศร เสวตวิวัฒน์, 2542)

2.1.4.4 ส่วนประกอบของก๊าซในบรรยากาศระหว่างการเก็บรักษา

การเกิดกรดแลคติกเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในสภาวะไร้อากาศจะทำหน้าที่เปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตเป็นกรดแลคติก ซึ่งจะทำให้อาหารมีรสเปรี้ยว และมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น กระบวนการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติกมักทำให้อาหารอยู่ในสภาพที่ไม่มีอากาศหรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีน้อย (สายสนม ประดิษฐ์ดวง, 2540) โดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณของออกซิเจน ซึ่งจะมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนต่าง ๆ จึงควรเลือกใช้บรรจุภัณฑ์หรือปรับบรรยากาศที่เหมาะสม เครื่องมือที่ใช้ในการหมักปลาส้ม มักนิยมใช้ภาชนะพวกเครื่องเคลือบ กระเบื้อง โหลแก้ว เช่น หม้อเคลือบ โอ่ง ไห ไม่นิยมภาชนะที่เป็นโลหะ เช่น อลูมิเนียม เพราะในขณะที่หมักดองนั้น จะมีกรดเกิดขึ้นซึ่งโลหะเหล่านี้จะทำปฏิกิริยากับโลหะ อาจทำให้เกิดพิษขึ้นในอาหารได้ (ตรี วาทกิจ, 2552)

2.1.5 คุณสมบัติทางเคมีของปลาส้ม

นาถสุดา วิศววงศ์ (2522) เก็บตัวอย่างปลาส้มจากตลาดในจังหวัดกรุงเทพมหานคร สระบุรี ลพบุรี สิงห์บุรี เชียงราย อุบลราชธานี ขอนแก่น และชุมพร จำนวน 28 ตัวอย่าง พบว่า ตัวอย่างปลาส้มมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 4.00-4.60 ปริมาณกรดทั้งหมด 2.12-4.01 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณเกลือ 2.25-5.90 เปอร์เซ็นต์

Saisithi *et al.* (1986) ได้รายงานปริมาณโปรตีนในปลาส้มฟักมีค่า 15.7 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 3.2 เปอร์เซ็นต์ และคาร์โบไฮเดรต 4 เปอร์เซ็นต์ ต่อมา Siriporn *et al.* (2004) ได้สุ่มเก็บตัวอย่างปลาส้มฟักที่วางขายในซุปเปอร์มาเก็ตจากจังหวัดสงขลาและกรุงเทพมหานคร พบว่า ปลาส้มฟักมีปริมาณโปรตีน 11.4-16.2 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 1.13-1.56 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 69.66-77.08 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 2.45-3.60 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณเกลือ 3.37-4.90 เปอร์เซ็นต์ สำหรับค่าความเป็นกรด-ด่าง มีค่าอยู่ในช่วง 4.56-4.60 และปริมาณกรดแลคติก 1.42-2.35 เปอร์เซ็นต์ ปลาส้มฟักส่วนใหญ่จะสามารถนำมาบริโภคได้หลังจากหมักได้ 3-4 วัน ที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดคิดเทียบในรูปกรดแลคติก โดยเฉลี่ย 2.2-2.5 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.3 และความเข้มข้นของเกลือหลังจากวันที่ 3 ของกระบวนการหมักมี ค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 3.0-5.0 เปอร์เซ็นต์ (Saisithi *et al.*, 1986; Ostergaard *et al.*, 1998a) การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง และการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดอินทรีย์ (ส่วนใหญ่ คือ กรดแลคติก) เป็นปัจจัยหลักในการผลิตผลิตภัณฑ์ปลาหมัก โดยทั่วไปค่าความเป็นกรด-ด่างควรมีค่าต่ำกว่า 4.5 จึงจะสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคและทำให้อาหารเน่าเสียได้ (Owens and Mendoza, 1985)

นอกจากนี้ การเติมเกลือแกง และเครื่องเทศ เช่น กระเทียม พริกไทย หรือขิงอาจจะเป็นการเพิ่มความปลอดภัยให้แก่ผลิตภัณฑ์ปลาหมักได้ และกระเทียมยังเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตในกระบวนการหมักอีกด้วย (Paludan-Muller *et al.*, 1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6 จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในกระบวนการหมักปลาส้ม

จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมักปลาส้ม เป็นพวกแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในสกุล *Pediococcus* และ *Lactobacillus* (Orillo and Pedersson, 1968; Saisithi *et al.*, 1986; Olympia *et al.*, 1992; Ostergaard *et al.*, 1998b) ซึ่งบทบาทหลักของแบคทีเรียกรดแลคติก คือ การเปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดแลคติกเป็นสาเหตุให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง แบคทีเรียชนิดนี้เจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่มีเกลือ 3 เปอร์เซ็นต์ และเจริญได้น้อยในเกลือ 10 เปอร์เซ็นต์ (วัชรี ตริตรอง, 2547)

ระยะแรกของการหมักปลาส้มจะพบแบคทีเรีย *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus* และ *Pseudomonas* จำนวนเล็กน้อย ภายหลังจากการทดลองหมักปลาส้ม พบว่า แบคทีเรียในสกุล *Staphylococcus* และ *Micrococcus* มีปริมาณค่อนข้างคงที่หรือลดลงบ้างเล็กน้อย เพราะสามารถทนกรดและเกลือแกงได้ ส่วนพวก *Bacillus* และ *Pseudomonas* มีปริมาณลดลงกว่าเดิมมาก (ปวีณา สังสีโห และเพ็ญแข วิจิตโชติ, 2546) ทั้งนี้เพราะสภาพต่างๆในอาหารไม่เหมาะสมต่อการเจริญ ซึ่งได้แก่ การที่มีอากาศน้อย ปริมาณกรดในอาหาร และการยับยั้งการเจริญโดยกระเทียมที่ใช้เป็นส่วนประกอบในการหมัก หลังจากระยะนี้แล้ว แบคทีเรียพวก *Pediococcus cerevisiae* จะเพิ่มจำนวน จนกลายเป็น dominant species ในอาหาร รองลงไปเป็นแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* และ*Lb. brevis* การเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดนี้ทำให้อาหารมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำลง ทำให้จุลินทรีย์ ทุกชนิดรวมทั้งพวกที่สร้างกรดขึ้นมาเองลดจำนวนลง เป็นโอกาสให้ยีสต์และจุลินทรีย์อื่นๆ ที่ทนกรดเพิ่มจำนวนขึ้น โดยที่ยีสต์ถูกจำแนกได้ในจำนวนที่สูงจากอาหารประเภทปลาหมักหลายๆ ชนิด (Sakai *et al.*, 1983) ซึ่งบทบาทของยีสต์ในกระบวนการหมักยังไม่ชัดเจน แต่ในปลาส้มฟักการเจริญของยีสต์เป็นสัญญาณบ่งบอกถึงการเน่าเสียของอาหาร (Saisithi *et al.*, 1986)

นอกจากนี้ Paludan-Muller *et al.* (1999) ได้รายงานลักษณะของแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากอาหารประเภทปลาหมักและวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต ได้แก่ ในหนังปลาและเนื้อปลาที่พบแบคทีเรียกรดแลคติก จำพวก *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* และ *Leuconostoc citreum* ในข้าวเหนียวนึ่งพบ *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* ส่วนในกระเทียมพบ *Weissella confuse*

2.1.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในปลาส้ม

โดยทั่วไปกระบวนการผลิตปลาส้มเป็นการหมักจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบ ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่มีความคงที่ ดังนั้นการที่จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาในปลาจะเจริญได้หรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.7.1 สารอาหาร เนื้อปลาเป็นแหล่งโปรตีน แร่ธาตุและวิตามินที่อุดมสมบูรณ์ เช่น ไบโอติน, ไทอามีน, ไรโบฟลาวิน และไนอะซิน ซึ่งช่วยในการเจริญของจุลินทรีย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียแกรมบวก (Fellows and Hampton, 1992)

2.1.7.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าความเป็นกรด-ด่างของปลาอยู่ระหว่าง 5.1-6.2 ซึ่งแบคทีเรียส่วนมากมีการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในช่วง 7.0 หรือเป็นกลาง ส่วนแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพที่ค่อนข้างเป็นกรด ซึ่งจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถเจริญได้ทั้งในสภาพที่เป็นกรดและด่าง (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2539)

2.1.7.3 ปริมาณออกซิเจน มักวัดในรูปของค่าออกซิเดชั่น-รีดักชั่นโพเทนเชียน (Oxidation - reduction potential) ซึ่งใช้สัญลักษณ์ Eh ถ้ามีค่าความเป็นบวก แสดงว่ามีสารที่ถูกรีดิวซ์ซึ่งทำให้แบคทีเรียแกรมลบเจริญ ในเนื้อสดมีค่า Eh เป็นลบ เนื่องจากในเนื้อสดมีสารกลุ่มซัลไฮดิล (-SH) และกลุ่มรีดิวซ์อื่นๆ พบว่าเนื้อปลาบดมีค่า Eh เท่ากับ -20 ถึง -310 มิลลิโวลต์ จึงทำให้แบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ (anaerobe bacteria) และแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกเจริญได้

2.1.7.4 อุณหภูมิ เป็นสิ่งสำคัญในการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโต เนื่องจากจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญที่แตกต่างกัน การหมักปลาส้มที่อุณหภูมิแตกต่างกันจะพบจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันด้วย นอกจากนี้ในสภาวะที่มีก๊าซออกซิเจน โปรตีนจะถูกย่อยได้ยากในที่มีอุณหภูมิต่ำ แต่ถูกย่อยได้ดีขึ้นที่อุณหภูมิห้อง

2.1.7.5 สารที่มีผลยับยั้ง หรือส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ อาจเนื่องมาจากการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในปลาส้ม เช่น กรดแลคติกที่สร้างโดยแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักปลาส้มมีผลต่อจุลินทรีย์อื่นๆ หรือมีผลต่อแบคทีเรียแลคติกจีนัสที่ผลิตกรดแลคติกเองหรือจีนัสอื่นๆ เช่น *Ped. cerevisiae* และ *Lactobacillus* spp. สร้างกรดในระหว่างการหมักปลาส้ม โดยปริมาณกรดที่สร้างจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Pseudomonas, Salmonella* Typhimurium และ *Staph. aureus* ที่ปนเปื้อนมา (Ostergaard *et al.*, 1998b)

2.1.8 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ปลาส้ม

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช.26/2548 (2548) เรื่อง ปลาส้ม กำหนดลักษณะผลิตภัณฑ์ดังต่อไปนี้ โดยครอบคลุมปลาส้มที่มีลักษณะเป็นปลาทั้งตัว เป็นชิ้น และที่บดหรือสับแล้ว

2.1.8.1 ลักษณะทั่วไป ต้องเป็นปลาชนิดเดียวกัน และมีลักษณะเฉพาะถูกต้องตรงตามชื่อประเภทปลาส้มที่ระบุไว้ที่ฉลาก

2.1.8.2 สี กลิ่น รส ต้องมีสี กลิ่น รส เป็นไปตามธรรมชาติของปลาส้มแต่ละประเภท ไม่มีกลิ่นอับ กลิ่นหืน หรือกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์

2.1.8.3 ลักษณะเนื้อ

- ปลาส้มตัว ต้องคงสภาพเป็นตัว เนื้อแน่น ไม่ยุ่ย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ปลาส้มชิ้น ต้องคงสภาพเป็นชิ้น เนื้อแน่น ไม่ยุ่ย

- ปลาส้มเส้น ต้องคงสภาพเป็นเส้น ไม่แตกยุ่ย

- ปลาส้มฟัก หรือแหนมปลา ต้องมีเนื้อเนียน แน่น ยืดหยุ่นดี ไม่มีฟองอากาศ

2.1.8.4 สิ่งแปลกปลอม ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอม เช่น เส้นผม ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลของแมลง หนอน หนู และนก ดิน ทรายและกรวด

2.1.8.5 วัตถุเจือปนอาหาร ห้ามใช้โซเดียมหรือโพแทสเซียมไนเตรท โซเดียมหรือโพแทสเซียมไนไตรท์ โซเดียมบอเรต (บอแรกซ์) และสีสังเคราะห์ทุกชนิด แต่อนุญาตให้ใช้ฟอสเฟตในรูปของโมโน- ได- และ โพลี-ของเกลือโซเดียม หรือโพแทสเซียมอย่างใดอย่างหนึ่งหรือรวมกันในผลิตภัณฑ์สำเร็จ (คำนวณเป็น P_2O_5 จากฟอสฟอรัสทั้งหมด) ต้องไม่เกิน 5,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

2.1.8.6 ความเป็นกรด-ด่าง ต้องมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 4.0 ถึง 4.6

2.1.8.7 จุลินทรีย์ที่สามารถพบได้ในปลาส้ม ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 คุณภาพด้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ปลาส้มตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน

จุลินทรีย์	ปริมาณที่พบ
Salmonella spp.	ไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม
Clostridium perfringens	ไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม
Escherichia coli (โดยวิธีเอ็มพีเอ็น)	น้อยกว่า 10 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม
เชื้อรา	ไม่พบ
พยาธิ	ไม่พบ

ที่มา: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2548)

2.1.9 ลักษณะของผลิตภัณฑ์ปลาส้มที่ไม่ดี (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม , 2548)

ลักษณะผลิตภัณฑ์ปลาส้มที่ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค คือ

2.1.9.1 น้ำที่ได้จากการหมักปลาส้มมีสีขุ่น ฟองมาก กลิ่นเหม็น

2.1.9.2 เนื้อปลาละ และข้าวเหนียวนึ่งมีกลิ่นบูด

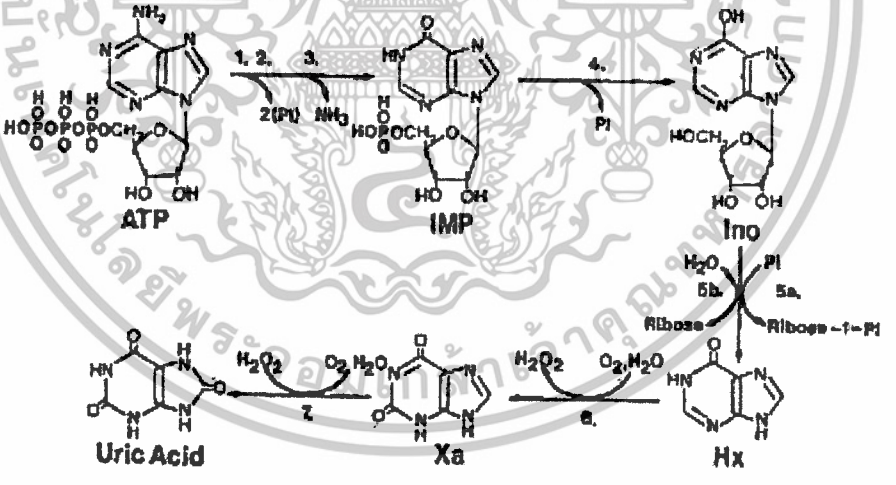
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การเน่าเสียของปลา

2.2.1 การเสื่อมเสีย และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลา

การเสื่อมเสีย และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาเกิดจากกระบวนการต่างๆ 3 กระบวนการ คือ

2.2.1.1 การย่อยสลายตัวเองจากเอนไซม์ (autolysis) เป็นกระบวนการย่อยสลายกล้ามเนื้อโดยเอนไซม์ภายในปลาเอง ซึ่งเกี่ยวข้องกับ นิวคลีโอไทด์ และการใช้คาร์โบไฮเดรต โดยเอนไซม์ดีอะมิเนสในเนื้อปลา เร่งการสลายตัวของนิวคลีโอไทด์ในกล้ามเนื้อปลา ดังภาพที่ 2.1 โดยเริ่มจาก Adenosin triphosphate (ATP) สลายตัวด้วยการปล่อยแอมโมเนีย (NH_3) ไปเกิดเป็น inosine monophosphate (IMP) และ inosine (Ino) ตามลำดับ จากนั้น inosine ส่วนหนึ่งจะเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลไรโบส (ribose) ส่วนหนึ่งจะเปลี่ยนไปเป็น ไฮโปแซนทีน (hypoxanthine:Hx) แซนทีน (Xanthine:Xa) และกรดยูริค (uric acid) ในที่สุด ดังนั้น การเกิดการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์ในกล้ามเนื้อปลา จึงใช้เป็นดัชนีบอกถึงความสดในระยะแรกของปลา โดยการเกิดการย่อยตัวเองนี้จะเกิดขึ้นภายในระยะเวลา 6 ชั่วโมงถึง 1 วัน หลังจากปลาตาย หากไม่ได้เก็บรักษาปลาในน้ำแข็งหรือการแช่เย็นหรือในสภาวะแช่เยือกแข็ง (นงนุช รักสกุลไทย, 2538)



ภาพที่ 2.1 ขั้นตอนการสลายตัวของนิวคลีโอไทด์ในกล้ามเนื้อปลา
ที่มา: นงนุช รักสกุลไทย (2538)

2.2.1.2 การเน่าเสียจากแบคทีเรีย (bacterial spoilage) ปลาได้รับแบคทีเรียที่พบทั่วไปในน้ำ โดยแบคทีเรียเหล่านี้อาศัยอยู่ตามผิวหนังปลา เหงือก และลำไส้ปลา เมื่อปลายังมีชีวิตอยู่มักไม่สามารถทำอันตรายต่อปลา แต่หากปลาตายลง แบคทีเรียจะสร้างเอนไซม์ออกมาเพื่อย่อยเนื้อเยื่อของปลาเป็นอาหาร แล้วดูดเข้าไปใช้เพื่อการเจริญและแพร่พันธุ์ จำนวนและชนิดของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียที่อยู่บนตัวปลานั้นแตกต่างกันออกไปตามฤดูกาล สถานที่ อุณหภูมิของน้ำ ชนิดของปลา และวิธีจับ (ประเสริฐ สายสิทธิ์, 2514) แบคทีเรียที่พบบริเวณเมือกปลา ได้แก่ *Pseudomonas, Achromobacter, Micrococcus, Flavobacterium, Corynebacterium* และ *Sarcina* (heat-loving) thermophilic (Longree and Armbruster, 1996)

2.2.1.3 การเสื่อมเสียจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน (lipid oxidation) เมื่อปลาตาย ไขมันในตัวปลาจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ในตัวปลาและเอนไซม์ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น มีผลต่อกลิ่นรสของเนื้อปลา นอกจากนี้ ไขมันไม่อิ่มตัวจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นกับออกซิเจน นอกเหนือจากการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการของไขมันแล้ว สารเมตาบอไลท์ยังทำปฏิกิริยากับโปรตีนเกิดเป็น cross linked protein ทำให้โปรตีนเปลี่ยนรูปและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ อีกทั้งยังเกิดการสูญเสียวิตามินที่ละลายในไขมัน สารประกอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ทำให้เกิดกลิ่นหืน (rancidity) รวมทั้งสารประกอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะออกซิไดซ์ ทำให้สีเหลืองของเนื้อปลาจะซีดจางลง (yellow discoloration) หรืออาจเกิดสารพิษในเนื้อปลาด้วย นอกจากนี้ยังทำให้อาจเกิดการรวมตัวกันเป็นสารโมเลกุลใหญ่ ทำให้เนื้อปลาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือดำและเป็นพิษได้

Gram and Dalgaord (2002) พบว่า แบคทีเรียที่ทำให้ปลาหรือผลิตภัณฑ์เสื่อมเสียในปลาและผลิตภัณฑ์ปลาแต่ละชนิดจะมีกลุ่มของจุลินทรีย์เฉพาะ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ กระบวนการผลิต และสภาวะที่เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ในกรณีของการใช้เกลือแกง และสภาวะที่เป็นกรด การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในภาชนะที่เป็นสุญญากาศ และแช่เย็นจะยังคงมีจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียจำพวกผลิตกรดแลคติกเจริญอยู่ แต่จะยับยั้งจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ

2.2.2 แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพ และมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ประมง

จุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบางชนิดมีความสำคัญต่อคุณภาพ ความปลอดภัยและมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ประมง จุลินทรีย์เหล่านี้มักติดมากับสัตว์น้ำ หรืออาจปนเปื้อนในกระบวนการแปรรูป ซึ่งจุลินทรีย์บางชนิดสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำถึงจุดเยือกแข็ง เช่น *Achromobacter, Pseudomonas* และ *Micrococcus* เป็นต้น (Miget, 1991) สำหรับการทบทวนวรรณกรรมนี้จะกล่าวถึงเฉพาะจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ปลาส้ม (สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม, 2548) แบ่งได้เป็น ดังนี้

2.2.2.1 แบคทีเรียในลำไส้ที่เป็นดัชนีในเรื่องความสะอาดผลิตภัณฑ์ประมง ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliforms) แบคทีเรียในกลุ่มนี้จัดอยู่ในตระกูล Enterobacteriaceae มีคุณลักษณะคือ ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เซลล์รูปท่อนหรือแท่ง (rod shape) หมักน้ำตาลแล็กโทสให้กรดและแก๊ส รีดิวซ์ไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ ให้ผลลบในการทดสอบปฏิกิริยาออกซิเดส (oxidase negative) เจริญได้ดีตั้งแต่อุณหภูมิที่ –2 ถึง 50 องศาเซลเซียส สามารถเจริญในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างตั้งแต่ 4.4-9 ไม่ต้องการอาหารในการเจริญมากนัก มีคุณสมบัติพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

123749

ต่างจากสกุลอื่นในตระกูลเดียวกันคือ สามารถใช้น้ำตาลแล็กโทสได้ในเวลา 24 ชั่วโมง แบคทีเรียในกลุ่มนี้จึงถูกใช้เป็นดัชนีเพื่อบ่งบอกถึงความสะอาดของวัตถุดิบ อุปกรณ์ที่ใช้ การผลิตที่ถูกสุขลักษณะและการเก็บรักษาที่ถูกต้อง แบคทีเรียจำพวกโคลิฟอร์มชนิดที่เกี่ยวข้องกับอาหาร ได้แก่

1) *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น จึงแสดงถึงการปนเปื้อน หากพบในอาหารทั้งจากทางตรงหรือทางอ้อมจากอุจจาระ แบคทีเรียพวกนี้มักพบทั่วไปในน้ำ ในสัตว์ทะเลจำพวกหอย ในนม และอาหารอื่นๆ ความเป็นพิษของแบคทีเรีย *E. coli* บางสายพันธุ์ คือ ทำให้เด็กท้องเดินและอาจตายได้ มีบางสายพันธุ์ที่สามารถทำให้เกิดโรคแก่ผู้ใหญ่ได้

2) *Enterobacter* มีพบตามพืช ไม่ทำให้เกิดโรคแก่คนหรือสัตว์ แต่ถ้าปนเปื้อนในปริมาณสูง แสดงถึงอาหารที่ไม่สะอาด

2.2.2.2 แบคทีเรียบางชนิดที่เป็นโทษในผลิตภัณฑ์ประมง ได้แก่

1) *Salmonella* เป็นแบคทีเรียที่ติดสีแกรมลบ ลักษณะเซลล์เป็นท่อนเล็กๆ ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ไม่ทนความร้อนสามารถทำลายได้ในระยะเวลาสั้น ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ พวกที่พิษรุนแรงจะทำให้เกิดโรคไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์หรือไข้รากสาดน้อย

2) *Clostridium perfringens* เป็นแบคทีเรียที่ติดสีแกรมลบ เซลล์รูปท่อน สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ในที่ที่ปราศจากอากาศ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 15-50 องศาเซลเซียส พบทั่วไปในดิน น้ำ อาหาร ฝุ่นละออง เครื่องเทศ และระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ อาการของโรคจะเกิดขึ้นหลังจากบริโภคเชื้อที่ปนเปื้อนในอาหารเข้าไปในปริมาณมาก เชื้อจะเข้าไปเจริญในลำไส้และผลิตสารพิษ enterotoxin ภายในเวลา 6-24 ชั่วโมง หลังจากบริโภคอาหารเข้าไป อาการของโรคคือ ท้องเดิน ปวดท้อง เนื่องจากแก๊สในกระเพาะมาก ไม่มีไข้ ถ้าโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากสายพันธุ์ที่สร้างพิษชนิด A จะมีอาการคลื่นไส้และอาเจียนด้วย ถ้าเป็นมากอาจเกิดแผลในลำไส้เล็กและถึงตายได้

2.3 ฟอสเฟต

การแปรรูปเนื้อสัตว์ให้เกิดผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ จำเป็นต้องใช้สารเคมีหลายชนิด เพื่อให้เกิดรสชาติและคุณลักษณะต่าง ๆ ซึ่งเป็นคุณลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ เช่น ผลิตภัณฑ์มีสี สะดุดตา ผลิตภัณฑ์เก็บรักษาได้นานพอควร ไม่เกิดการเหม็นหืนหรือเน่าเสีย ผลิตภัณฑ์มีความนุ่ม มองดูน่ารับประทาน และไม่สูญเสียน้ำหนักในระหว่างกรรมวิธีการผลิตและการจำหน่าย (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 โครงสร้าง และสมบัติของฟอสเฟต (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548)

ฟอสเฟตสามารถจำแนกเป็น 2 กลุ่ม คือ ออโทฟอสเฟต (orthophosphate)และคอนเดนส์ฟอสเฟต (condensed phosphate) โดยออโทฟอสเฟตประกอบด้วยฟอสฟอรัส 1 อะตอม ส่วนคอนเดนส์ฟอสเฟตประกอบด้วยฟอสฟอรัสตั้งแต่ 2 อะตอมขึ้นไปเชื่อมต่อกันโดยใช้อะตอมออกซิเจนร่วมกันการผลิตคอนเดนส์ฟอสเฟตทำด้วยการให้ความร้อนกับส่วนผสมของออโทฟอสเฟตภายใต้สภาวะที่ควบคุมฟอสเฟตที่เรียงต่อเป็นโซ่ยาว เรียกว่า โพลิฟอสเฟต (polyphosphate) สำหรับ ไพโรฟอสเฟต (pyrophosphate) ประกอบด้วยฟอสฟอรัส 2 อะตอม เป็นโพลิฟอสเฟตที่มีโครงสร้างง่ายที่สุด ส่วนไตรโพลิฟอสเฟต (tripolyphosphate) ประกอบด้วยฟอสฟอรัส 3 อะตอม สำหรับฟอสเฟตที่จัดเรียงตัวเป็นวงแหวนเรียกว่า เมตาฟอสเฟต (metaphosphate) ซึ่งปัจจุบันมีใช้เพียง 2 ชนิด คือ โซเดียมไตรเมตาฟอสเฟต และโซเดียมเตตระเมตาฟอสเฟต นอกจากนี้ อัลตราฟอสเฟต (ultraphosphate) เป็นสารประกอบฟอสเฟตอีกชนิดหนึ่งที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นกิ่งก้านของสารประกอบฟอสเฟตชนิดวงแหวน หรือชนิดโซ่ แต่ฟอสเฟตชนิดนี้มีการใช้ค่อนข้างจำกัดในทางการค้า สารประกอบฟอสเฟตเหล่านี้มีสมบัติและหน้าที่ต่างกัน

สารประกอบฟอสเฟตมีสมบัติ และหน้าที่ในอาหารพอสรุป ได้ดังนี้

2.3.1.1 สมบัติการเป็นบัฟเฟอร์ ออโทฟอสเฟตมีสมบัติดังกล่าวดีที่สุดสำหรับช่วงค่าความเป็นกรด-ด่าง 2-3, 5.5-7.5 และ 10-12 ส่วนประกอบโพลิฟอสเฟตชนิดโซ่ยาวมีสมบัติการเป็นบัฟเฟอร์ต่ำ และจะลดลงเมื่อความยาวโซ่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ฟอสเฟตสามารถใช้ในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ทั้งนี้ควรพิจารณาเลือกให้เหมาะสม เนื่องจากสารประกอบฟอสเฟตมีทั้งชนิดเป็นกรด และเป็นด่าง

2.3.1.2 สมบัติในการจับไอออนโลหะ เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม ทองแดง และเหล็กมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสี และกลิ่นของอาหาร การใช้ฟอสเฟตจับไอออนโลหะจึงสามารถลดปัญหาดังกล่าว สารโพลีฟอสเฟตชนิดสายโซ่ให้ผลในการจับโลหะได้ดี แต่ประสิทธิภาพการจับโลหะจะลดลง เมื่อมีค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น เนื่องจากฟอสเฟตสามารถจับกับแคลเซียม แมกนีเซียม และเหล็ก ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นฟอสเฟตจึงมีผลยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย

2.3.1.3 สมบัติเป็นสารโพลิอิเล็กโทรไลท์ฟอสเฟตสามารถแตกตัวให้ประจุลบมากกว่า 1 ประจุ เช่น ออโทฟอสเฟตให้ประจุตั้งแต่ 1-3 อะตอม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่าง สำหรับสารโพลิฟอสเฟตจะมีประจุลบเพิ่มมากขึ้น ดังนั้น สารประกอบฟอสเฟตจึงสามารถจับกับองค์ประกอบอื่นๆในอาหารก่อให้เกิดความคงตัว หรือการกระจายตัวขององค์ประกอบ นอกจากนี้สามารถใช้เป็นสารให้ความคงตัวของอิมัลชัน ในอาหารบางชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 ชนิดของสารประกอบฟอสเฟตที่ใช้ในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ

สารประกอบฟอสเฟตพวก alkaline phosphate เท่านั้นที่เหมาะสมต่อการใช้เพื่อปรับปรุงความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อสัตว์เพราะ acid phosphate จะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของเนื้อลดลงและจะทำให้เนื้อเกิดการหดตัว นอกจากนี้ มีการใช้สารพวกไตรโพลีฟอสเฟตร่วมกับสารประกอบฟอสเฟตที่ออกฤทธิ์เป็นด่าง เพราะจะมีปฏิกิริยาเสริมร่วม ทำให้มีผลต่อความสามารถในการจับน้ำของเนื้อเพิ่มขึ้น สารประกอบฟอสเฟตที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ได้แก่

โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (Sodium tripolyphosphate, $Na_5 P_3 O_{10}$)

โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต (Sodium hexametaphosphate,$Na PO_3$)

โซเดียมเอซิดไพโรฟอสเฟต (Sodium acid pyrophosphate,$Na_2H_2P_2O_7$)

โซเดียมไพโรฟอสเฟต (Sodium pyrophosphate $Na_4P_2O_7$)

ไดโซเดียมฟอสเฟต (Disodium phosphate Na_2PO_4)

สารฟอสเฟตเหล่านี้พบว่า ช่วยปรับปรุงผลผลิตของเนื้อที่ใช้วิธีการเคล้าผสมกับน้ำมาริเนต สำหรับโซเดียมเอซิดไพโรฟอสเฟตเท่านั้นที่อนุญาตให้ใช้ได้ในไส้กรอก ในทางการค้าผลิตสารประกอบฟอสเฟตในรูปของผสมและให้ชื่อต่าง ๆ กันเช่น Accord, Fitcord, Kena, Fos accord, Tari complet K_3 และ Tari K_7

2.3.3 การใช้สารฟอสเฟตในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ

สารประกอบที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ ส่วนใหญ่เป็นสารจำพวกโพลิฟอสเฟตซึ่งมีหลายชนิด เช่น โซเดียมเอซิดไพโรฟอสเฟต และโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต แต่นิยมใช้โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมากที่สุด และมักใช้ร่วมกับฟอสเฟตชนิดอื่น และส่วนประกอบอื่นๆ เช่น เกลือแกง สารกันหืน และสารกันบูด

การใช้สารละลายฟอสเฟต ด้วยวิธีการพ่นลงบนเนื้อสัตว์ หรือจุ่มลงในสารละลาย หรืออาจฉีดสารละลายเข้าไปในปลาทั้งตัว หรือชิ้นปลาที่มีขนาดใหญ่ หรืออาจใช้การนวดภายใต้สภาพสุญญากาศ (vacuum tumbling) การใช้ฟอสเฟตควรใช้ก่อนขั้นตอนการให้ความร้อน สารฟอสเฟตจะให้ผลดีกับวัตถุดิบที่มีคุณภาพสูง และไม่ควรใช้สารจำพวกโพลิฟอสเฟต เพื่อปิดบังคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่เสื่อมเสีย หรือด้อยคุณภาพ สำหรับการใช้สารละลายฟอสเฟตในเนื้อปลา ฟอสเฟตมีบทบาทในการสกัดไมโอซินบนผิวของปลา ส่งผลให้การยึดเกาะระหว่างตัวปลา หรือชิ้นปลาแล่ดีขึ้น นอกจากนี้ ไมโอซินที่ถูกสกัดมีผลลดช่องว่างภายในก้อนปลาแช่แข็งอันเป็นผลให้เกิด freezer burn และการหืนเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันลดลง สำหรับเนื้อปลาแล่ที่มีความหนา ½ - ¾ นิ้ว ควรผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต เข้มข้น 1-2เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อน้ำหนัก) ในสารละลายมีผลให้เนื้อสัมผัส และกลิ่นรสในปลาบางชนิดดีขึ้น (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548)

กฎหมายกำหนดให้มีการเติมฟอสเฟตได้ โดยให้มีเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายได้ไม่เกิน 0.5 เปอร์เซ็นต์ (5000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ในขณะที่เนื้อจะมีฟอสเฟตในธรรมชาติอยู่ประมาณ 0.01 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการใช้สารเหล่านี้ในระหว่างการหมักต้องหักลบออกด้วย (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2547)

2.3.4 สารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (Sodium tripolyphosphate, STPP)

สารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตจัดเป็นสารประกอบฟอสเฟตชนิดหนึ่ง ศิวาพร ศิวเวชช (2535) กล่าวว่า สารประกอบฟอสเฟตซึ่งเป็นวัตถุเจือปนอาหารชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมาก เนื่องจากสารประกอบฟอสเฟตมีคุณสมบัติที่ช่วยปรับปรุงให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพดีขึ้นและได้มาตรฐาน การเติมสารประกอบฟอสเฟตลงในเนื้อจะช่วยปรับปรุงคุณลักษณะต่างๆ ของเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อให้ดีได้ดังนี้

- ช่วยให้สีของเนื้อคงตัว
- ช่วยให้เนื้อจับตัวได้ดีขึ้น
- ช่วยให้เนื้อนุ่ม
- ช่วยเพิ่มความสามารถอุ้มน้ำของเนื้อ
- ช่วยปรับปรุง กลิ่น รสของเนื้อและผลิตภัณฑ์ให้ดีขึ้น
- ช่วยป้องกันการเกิดกลิ่นไม่ดี
- ช่วยป้องกันการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ที่อาจเกิดขึ้นเนื่องจากจุลินทรีย์

กระทรวงสาธารณสุข (2527) กล่าวถึง คุณสมบัติของสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต มีสูตรทางเคมี คือ $Na_5P_3O_{10}$ มีน้ำหนักโมเลกุล 767.86 คุณลักษณะเป็นผงหรือเม็ดหยาบสีขาว สามารถดูดความชื้นได้เล็กน้อย และสามารถละลายน้ำได้ดี สารนี้มี 2 ชนิด คือ ชนิดอันไฮดรัส (Unhydrate) และไฮดรัส (Hydrate)

2.3.5 ผลของโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตต่อคุณภาพของเนื้อ

อารยา เชาว์เรืองฤทธิ์ และสิงหนาท พวงจันทร์แดง (2542) นำเนื้อสุกรที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต เข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 และ 30 นาที พบว่า มีปริมาณฟอสเฟตตกค้าง อยู่ในช่วง 0.261-0.263 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาเก็บรักษานาน 60 วัน ซึ่งอยู่ในระดับที่ยอมรับ คือ ไม่เกินข้อกำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 เรื่องวัตถุเจือปนอาหาร (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2527) เนื้อสุกรที่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรโพลี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟอสเฟต มีการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อสุกรที่ผ่านการแช่สารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต จากสีแดงไปเป็นสีน้ำตาลน้อยกว่าเนื้อสุกรควบคุม ต่อมา ศึกษาการปรับปรุงคุณภาพด้านสี และการยับยั้งการเกิดกลิ่นผิดปกติของเนื้อสุกรส่วนสะโพกแช่แข็ง โดยการใช้แช่สารละลาย โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต เข้มข้น 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 15 และ 30 นาที ก่อนการแช่เยือกแข็ง พบว่า การใช้สารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต ช่วยเพิ่มค่าความเป็นกรด-ด่างในเนื้อสุกรเพิ่มสูงขึ้น ทำให้เส้นใยกล้ามเนื้อพองตัวและจับตัวกันแน่น ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักภายหลังปรุงสุกของ เนื้อสุกรแช่แข็งที่ผ่าน การแช่สารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต มีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าเนื้อสุกรที่ไม่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต ก่อนการแช่แข็ง และเนื้อสุกรที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต ที่ระดับความเข้มข้นสูงหรือระยะเวลาการแช่นาน จะมีค่าเปอร์เซ็นต์ การสูญเสียน้ำหนักภายหลังปรุงสุกต่ำลงด้วย อย่างไรก็ตาม เนื้อสุกรโดยทั่วไปมีธาตุฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบเป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีปริมาณฟอสเฟตประมาณ 0.2 เปอร์เซ็นต์

Shults *et al.* (1972) พบว่า การเติมเกลือแกง 4 เปอร์เซ็นต์ และโพลีฟอสเฟตความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ในเนื้อสัตว์ จะมีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ และการสูญเสียน้ำดีที่สุด เป็นผลจากค่าของจุดไอโซอิเลคทริคให้ประจุสุทธิภายในเส้นใยกล้ามเนื้อพองขึ้น จึงมีแรงผลักกันทางไฟฟ้าเพิ่มขึ้น และเมื่อใช้ร่วมกับเกลือแกงส่งผลให้ประจุลบเพิ่มขึ้นส่งผลให้เส้นใยของโปรตีนเกาะรวมตัวกันหลวมๆ และขยายปริมาตรขึ้น เกิดการพองตัว และสามารถจับน้ำไว้ในโครงสร้างโปรตีนเพิ่มมากขึ้น ประกอบกับประจุลบของฟอสเฟตรวมตัวกับแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) และแมกนีเซียมไอออน (Mg^{2+}) ในโครงสร้างโปรตีนเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนขึ้น ทำให้โมเลกุลโปรตีน เป็นอิสระสายโพลิเปปไทด์จึงถูกแยกตัว และคลายตัวออกจากกันและเกิดการจัดตัวใหม่ของไมโอไฟบริลขึ้น โมเลกุลน้ำจำนวนมากสามารถรวมอยู่ได้โดยไม่เคลื่อนที่ในโครงสร้างตาข่ายโปรตีนที่เกาะรวมตัวกันอยู่ (Wierbicki *et al.*, 1963)

การเติมโพลีฟอสเฟตในน้ำหมัก ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อปลาสูงขึ้นมากจากจุดไอโซอิเลคทริค (pI = 5.4) ของโปรตีนในเนื้อสัตว์ เป็นผลให้ประจุลบสุทธิภายในเซลล์เส้นใยกล้ามเนื้อเพิ่มมากขึ้น จึงช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ และเพิ่มความนุ่ม อีกทั้งทำให้น้ำที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์ประมาณ 65-70 เปอร์เซ็นต์ ที่เป็นองค์ประกอบในเซลล์กล้ามเนื้อไม่สูญเสียออกไปในขณะผ่านกระบวนการแปรรูป (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548) สอดคล้องกับ Woyewoda and Bligh (1986) ที่รายงานว่าการแช่ชิ้นปลาคอดในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 12 เปอร์เซ็นต์ ก่อนกระบวนการแช่เยือกแข็ง สามารถลด การสูญเสียน้ำหนักในขั้นตอนการละลายน้ำแข็ง อีกทั้งสามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตของชิ้นปลาคอดสด

จากการศึกษาของ Spencer and Smith (1962) พบว่า สารละลายฟอสเฟตที่เติมในผลิตภัณฑ์สัตว์ปีกนั้น มีคุณสมบัติเป็น antimicrobial โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ซึ่งสอดคล้องกับ Post *et al.*, (1963) ที่ทดลองประสิทธิภาพของสารละลายฟอสเฟตใน การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ พบว่าการใช้โซเดียมไพโรฟอสเฟต สามารถยับยั้งเชื้อ *Staph.aureus*, *Pseudomonas*, *Salmonella* Typhimurium (Molins *et al.*, 1984) ต่อมา Molins *et al.* (1985) พบว่า การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และโซเดียมแอซิดไพโรฟอสเฟตในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสามารถชะลอการเจริญเติบโตในช่วง lag phase ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม mesophiles และ psychrotrophic ได้ สารฟอสเฟตที่ใช้เติมลงในผลิตภัณฑ์เนื้อแปรรูป มีวัตถุประสงค์ในการเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อและยังช่วยปรับปรุงกลิ่นรส รวมทั้งช่วยต้านออกซิเดชัน อีกทั้งเมื่อใช้เป็นสารผสมร่วมระหว่างโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และโพแทสเซียมซอร์เบท 0.26 เปอร์เซ็นต์ สามารถชะลอการสร้างสารพิษจาก *C. botulinum* ในไส้กรอกแฟรงเฟอร์เทอร์ได้ นาน 12-18 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่สร้างสารพิษภายในวันที่ 6-12

นอกจากนี้ยังมีรายงานการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของโพลีฟอสเฟต 3 ชนิดที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก 13 ชนิด และแบคทีเรียแกรมลบ 12 ชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar (TSA) ที่สภาวะความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า ไตรโพลีฟอสเฟตและเฮกซาเมตาโพลีฟอสเฟตมีประสิทธิภาพมากที่สุดและยังพบว่าแบคทีเรียแกรมบวกไวต่อการยับยั้งมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Lawrie, 1998) และมีรายงานว่าการยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญของ *Bacillus cereus* ด้วยโซเดียมโพลีฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 0.1 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2.3.6 ปัญหาในการใช้สารฟอสเฟต (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2547)

การใช้สารฟอสเฟตมีปัญหายุ่งยากพอสมควร ดังนี้

2.3.6.1 สามารถกัดกร่อนโลหะได้ (corrosive) โดยธรรมชาติ อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ควรเป็นพลาสติก หรือสแตนเลส

2.3.6.2 ในทางปฏิบัติ ฟอสเฟตประเภทที่มีความเป็นด่างสูง ละลายน้ำยาก จึงควรแยกละลายในน้ำอุ่นก่อนที่จะนำมาผสมกับน้ำเกลือ ถ้าผสมกันควรใช้เครื่องปั่นผสมกำลังสูงเพื่อให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

2.3.6.3 บางครั้งอาจเกิดผลึกขาวของไดโซเดียมฟอสเฟตเกิดขึ้นบนผิวหน้าผลิตภัณฑ์ที่หมักอยู่ เนื่องจากสารโพลีฟอสเฟตถูกไฮโดรไลท์ โดยฟอสเฟตธรรมชาติที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์เอง ซึ่งการเกิดผลึกนี้สามารถป้องกันได้โดยลดปริมาณฟอสเฟตที่ใช้ในการหมักให้น้อยลง และรักษาความชื้นสัมพัทธ์ของบรรยากาศในผลิตภัณฑ์ให้สูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 แบคทีเรียแลคติก (Lactic acid Bacteria)

เชื้อแบคทีเรียแลคติกมีบทบาทสำคัญในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์หมักหลายชนิด เช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว ปลาส้ม ปลาร้า เป็นต้น แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะที่สำคัญ คือ สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นกรดแลคติก ซึ่งแบคทีเรียนี้ส่วนมากจะเจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ แต่ในสภาวะที่มีอากาศน้อยก็สามารถเจริญอยู่ได้ แบคทีเรียแลคติกแบ่งตามผลิตภัณฑ์จากการหมักออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่สร้างกรดแลคติก (Homofermentative) และกลุ่มที่สร้างกรดแลคติกและสารประกอบอื่น (Heterofermentative) โดยเชื้อในกลุ่ม Homofermentative นั้นย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วจะสร้างกรดแลคติก 95 เปอร์เซ็นต์ และคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกลุ่ม Heterofermentative จะย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วสร้างกรดแลคติกออกมา 50 เปอร์เซ็นต์ อีก 25 เปอร์เซ็นต์ สร้างกรดชนิดอื่นๆ เช่น กรดแอซิติก กรดฟอร์มิก เป็นต้น และอีก 25 เปอร์เซ็นต์ เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (บุษกร อุตรภิชาติ, 2545)

2.4.1 ลักษณะของแบคทีเรียสำคัญในปลาส้ม

แบคทีเรียแลคติก สามารถแบ่งตามจีนัสได้ดังนี้

2.4.1.1 Genus Lactococci

เป็นกลุ่มแบคทีเรียแลคติกที่มีจำนวนสปีชีส์มากสุด เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่ง หรือรูปทรงรี จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว หรือโซ่ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างแคตาเลส มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก ส่วนมากเป็นพวกที่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีอากาศเล็กน้อย ส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่ม Homofermentative ซึ่งหมักน้ำตาลได้กรดแลคติก เช่น *Lb. bulgaricus*, *Lb. delbrueckii* และ *Lb. leichmanii* เป็นต้น และส่วนที่เหลือเป็นกลุ่ม Heterofermentative จะหมักน้ำตาลได้กรดแลคติก กรดแอซิติก คาร์บอนไดออกไซด์ และแอลกอฮอลล์ เช่น *Lb. fermentum, Lb. bucheiri, Lb. casei, Lb. plantrarum* และ *Lb. bevis* เป็นต้น (Schleifer and Ludwing, 1995)

2.4.1.2 Genus Pediococcus

เป็นกลุ่มแบคทีเรียแลคติกที่มีรูปร่างกลม แบ่งตัวแบบ 2 ทิศบนระนาบเดียวกัน พบการจัดเรียงตัวอยู่เป็นคู่ หรือเป็น 4 เซลล์ติดกันสมาชิกของแบคทีเรียกลุ่มนี้ที่พบเป็นประจำในอาหาร คือ *P. cereviseae* (Schleifer and Ludwing, 1995) แบคทีเรียแลคติกกลุ่มนี้เป็นพวก Homofermentative สามารถหมักน้ำตาลได้กรด 0.5-0.9 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติก สามารถเจริญได้ในเกลือที่มีความเข้มข้นถึง 10 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิสำหรับการเจริญอยู่ในช่วงประมาณ 7-45 องศาเซลเซียส แต่เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25-32 องศาเซลเซียส ลักษณะที่สำคัญ คือ มีความทนต่อเกลือ ผลิตกรด และเจริญเติบโตได้ในอุณหภูมิช่วงกว้าง สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (วัชรี ตริตรอง, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียแลคติกที่พบปริมาณมากในกระบวนการหมักปลาส้ม คือ *Lb. plantarum* และ *Lb. brevis* โดยมีบทบาทในการสร้างกรด และกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ (วิณาวัลย์ เจริญจิระตระกูล, 2536) ระดับเกลือแกงมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ ซึ่งจะหยุดการเจริญทันทีที่ระดับความเข้มข้นของเกลือแกง 5 เปอร์เซ็นต์ และแทบไม่มีผลต่อแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ การเจริญเติบโตของแบคทีเรียส่วนใหญ่จะถูกยับยั้งที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเพียงพอที่ป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์อื่นที่อาจทำให้อาหารเสีย แต่จะไม่ขัดขวางการเจริญของแบคทีเรียแลคติก (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก, 2532) ความเข้มข้นของ เกลือแกงในการใช้แต่ละผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของอาหารแต่ละชนิด และการใช้เกลือแกง มากกว่า 15 เปอร์เซ็นต์จะขัดขวางการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิดจึงไม่ทำให้เกิดกรดแลคติก อาหารจะมีผิวเหี่ยวย่น และรสชาติเค็ม แต่จะมีแบคทีเรียบางสายพันธุ์ที่ทนต่อเกลือสามารถเจริญได้ดี (นฤมน อัศวเกศมณี, 2549)

2.4.2 สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลคติก

2.4.2.1 กรดอินทรีย์ (Organic acid)

ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์ ขึ้นอยู่กับ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และ pKa ของกรดชนิดนั้นๆ โดยส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในอาหารจะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่ำกว่า 5.5 และมีค่า pKa อยู่ในช่วง 3.0-5.0 สำหรับกลไกในการยับยั้งจุลินทรีย์นั้นจะอยู่ในรูปกรดที่ไม่แตกตัว (undissociated) จะสามารถผ่านเข้าสู่เซลล์เมมเบรน และชั้นไขมันได้ง่ายขึ้น ซึ่งภายในเซลล์มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่าภายนอกเซลล์กรดจะแตกตัว (associated) แบคทีเรียจำเป็นต้องรักษาค่าความเป็นกรด-ด่างภายในเซลล์ให้มีค่าใกล้เคียงความเป็นกลาง อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนรูปของโปรตีน เอนไซม์ กรดนิวคลีอิก และฟอสโฟลิปิด โปรตอนจากกรดอินทรีย์ ทำให้ความเป็นกรดภายในของไซโพลาสซึมเพิ่มสูงขึ้น จึงต้องกำจัดกรดที่มากเกินไปออกสู่ภายนอกเซลล์ โปรตอนถูกขับออกมานอกเซลล์ผ่านทางเมมเบรน โดยอาศัยความต่างศักย์ไฟฟ้า เรียกว่า proton motive force (PMF) (Dolye *et al.*,1997)

การขับโปรตอนภายในเซลล์ที่เกิดจากกรดอินทรีย์ ออกสู่ภายนอกเซลล์ ต้องใช้พลังงานในรูป ATP แต่การไหลเข้าสู่เซลล์อย่างต่อเนื่องของโปรตอน ทำให้พลังงานภายในเซลล์ถูกนำออกมาใช้ในการกำจัดโปรตอนจนหมด ขณะเดียวกันก็เกิดการรบกวนการผ่านเข้า-ออกของสารในเซลล์เมมเบรน ทำให้แบคทีเรียขาดพลังงานและตายในที่สุด (Dolye *et al.*,1997)

2.4.2.2 กรดแลคติก (Lactic acid)

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการหมักอาหาร มีค่า pKa เท่ากับ 3.79 สามารถยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างสปอร์ และ *Staph. aureus* ซึ่งความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดแลคติกขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารและจุลินทรีย์เป้าหมาย ซึ่งกลไกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จะเหมือนกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดอินทรีย์ ทั่วไปคือ มีผลต่อการขนส่งของโปรตอนผ่านเซลล์ของไซโตรพลาสมิคเมมเบรน (Dolye *et al.*,1997)

2.4.2.3 กรดอะซิติก (Acetic) และกรดโพพิโอนิก (Propionic acid)

แบคทีเรียแลคติกหลายสายพันธุ์สามารถสร้างกรดอะซิติก และกรดโพพิโอนิก ได้ในปริมาณน้อย ซึ่งมีค่า pKa สูงกว่ากรดแลคติก จึงสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่ากรดแลคติก โดยมีกลไกการทำงานเหมือนกับกรดแลคติก โดยการรบกวนการทำงานของเซลล์เมมเบรน ทำให้ electrochemical potential เป็นกลาง นอกจากนี้ กรดอะซิติกยังเป็นสาเหตุให้โปรตีนเสียสภาพ ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างภายในเซลล์ลดลง และยับยั้งการขนส่งของกรดอะมิโนได้ด้วย (Wood, 1992)

2.4.2.4 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide)

สร้างโดยแบคทีเรียแลคติกกลุ่มที่ไม่สร้างเอนไซม์ catalase แต่สร้าง flavoprotein oxidase สารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella* ได้ แต่ประสิทธิภาพในการยับยั้งจะขึ้นอยู่กับ ความเข้มข้นของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จำนวนของจุลินทรีย์ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ระยะเวลาในการสัมผัส และปัจจัยอื่นที่มีผลต่อจุลินทรีย์ เช่น ความร้อน รังสี หรือสารกันเสียอื่นๆ (Wood, 1992)

2.4.2.5. แบคเทอริโอซิน (Bacteriocins)

สารประกอบโปรตีนที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ หลายชนิด เช่น *Listeria monocytogenenes* เป็นต้น ทำให้แบคเทอริโอซินมีความสามารถในการถนอมอาหาร และเป็นสารที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติโดยจุลินทรีย์ เช่น ไนซิน จึงมีความปลอดภัยในการนำมาใช้เป็นวัตถุกันเสียในอาหาร (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

2.4.3 ประโยชน์ของแบคทีเรียแลคติกในปลาส้ม (อดิศร เสวตวิวัฒน์, 2542)

2.4.3.1 ควบคุมสีของผลิตภัณฑ์ กล้าเชื้อ *Pediococcus* spp. และ *Kocuria* spp. สามารถผลิตเอนไซม์ pseudocatalase ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวสามารถเปลี่ยนไฮโดรเจนปอร์ออกไซด์ไปเป็นน้ำและออกซิเจน จึงไม่มีผลต่อผลิตภัณฑ์ที่มีการเติมไนเตรท และไนไตรท์ จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีชมพูแดงไม่ซีด

2.4.3.2 ลดระดับฮีสตามีน เนื่องจากการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในการหมัก จะทำให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีผลในการทำลายกลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบตามธรรมชาติ ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถผลิตเอนไซม์ฮีสตาดีนดาร์บอกซิเลสที่เปลี่ยนเป็นฮีสติดีนเป็นฮีสตามีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3.3 ยับยั้ง และทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมเสีย รวมทั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรค ซึ่งปัจจุบันการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในการควบคุมผลิตภัณฑ์อาหารหมักทำให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค เนื่องจากกรดแลคติกมีผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำลงได้รวดเร็วขึ้น

2.5 เชื้อซาลโมเนลลา (*Salmonella*)

เชื้อ *Salmonella* ตั้งชื่อ เพื่อเป็นเกียรติแก่ D.E. Salmon นักแบคทีเรียวิทยาชาวอเมริกันซึ่งเป็นบุคคลแรกที่สามารถแยกเชื้อ *Salmonella* Choleraesuis ได้จากสุกรที่มีอาการ อุจจาระร่วง ในปี ค.ศ. 1885 แต่เดิมเรียกว่า paratyphoid bacteria (Brock and Madigan, 1988) ต่อมาเปลี่ยนชื่อเป็นซาลโมเนลลา และกำหนดเป็นมาตรฐานตามข้อตกลงระหว่างชาติตั้งแต่ปี ค.ศ. 1933 เป็นต้นมา (Ewing, 1986)

2.5.1 สัณฐานวิทยา

เชื้อ *Salmonella* เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriacae เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อน ขนาด 0.7-1.5 ไมโครเมตร ยาว 2.0-5.0 ไมโครเมตร ไม่สร้างแคปซูล และสปอร์ เคลื่อนที่ด้วยแฟกเจลลาที่ยาวและอยู่รอบเซลล์ (peritrichous flagella) ยกเว้น *S.* Pullorum และ *S.* Gallinarum พบว่าสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกับ *E. colt* เชื้อชนิดนี้จัดเป็นเชื้อก่อโรค (pathogens) ที่พบได้ในทุกๆ แห่งทั้งในมนุษย์ และสัตว์ต่างๆ เช่น สัตว์เลื้อยคลาน นก รวมทั้ง แมลงต่างๆ

เชื้อ *Salmonella* เจริญได้ดีทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobe) อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญคือ 35 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมสำหรับการเจริญอยู่ในช่วง 4.5-9.0 (อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ, 2535) สามารถย่อยสลายกลูโคสได้กรดกับก๊าซ แต่ไม่ย่อยสลายน้ำตาลแลกโทสหรือซูโครส ผลิตเอนไซม์ lysine decarboxylase แต่ไม่ผลิตเอนไซม์ออกซิเดส (oxidase) และสามารถรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ อาหารเลี้ยงเชื้อที่เจริญได้ดี เช่น Mac Conkey, Eosin Methylene Blue Agar (EMB), Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) และ Desoxycholate Citrate Agar (DCA) (นันทนา อรุณฤกษ์, 2537) โดยทั่วไปโคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-2 มิลลิเมตร ลักษณะกลม ขอบเรียบ ผิวเรียบมัน ไม่มีสี ไม่ทึบ แต่ไม่โปร่งแสง บางสายพันธุ์ โคโลนีมีลักษณะเป็นเมือก สามารถสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Triple Sugar Iron (TSI) Agar จะให้กรดและก๊าซจากการย่อยสลายน้ำตาลกลูโคส ยกเว้น *S.* Typhi และ *S.* Gallinarum ไม่สามารถสร้างก๊าซจากการย่อยสลายน้ำตาลเดรกโตรส (นรีกุล สุระพัฒน์ และคณะ, 2526)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 ความทนทาน

เชื้อ *Salmonella* ไม่ทนความร้อน ถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ในเวลา 1 ชั่วโมง หรือ 60 องศาเซลเซียส เวลา 15-20 นาที หรือ 62 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 4 นาที อย่างไรก็ตาม เชื้อ *S.* Senftenberg เป็นสายพันธุ์ที่สามารถทนอุณหภูมิสูงได้ดีกว่าซาลโมเนลลาทั่วไปถึง 10-20 เท่า โดยต้องใช้ความร้อนถึง 62 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง สำหรับการใช้ความเย็นหรืออุณหภูมิที่ต่ำนั้นไม่สามารถทำลายเชื้อ *Salmonella* ได้ แต่สามารถยับยั้งการเจริญได้ โดยอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส จะยับยั้งการเจริญของเชื้อบางสายพันธุ์ได้ นอกจากนี้ การใช้อุณหภูมิสูงกว่า 44-47 องศาเซลเซียสก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อบางสายพันธุ์ได้เช่นกัน แต่ในบางสายพันธุ์สามารถอยู่รอดในสภาวะแช่แข็งได้ดี อย่างไรก็ตาม เชื้อจะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วเมื่ออุณหภูมิการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น หรือ ณ อุณหภูมิห้องแม้ว่าจะเก็บอาหารไว้ที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลานาน (อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ , 2535)

สำหรับความเป็นกรด-ด่างนั้น เชื้อ *Salmonella* เจริญในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง เชื้อ *Salmonella* จะถูกยับยั้งการเจริญ เมื่อสภาพความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 9.0 หรือ ต่ำกว่า 4.0 (อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ, 2535) ปัจจัยร่วมที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของเชื้อ *Salmonella* ประกอบด้วย ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ สารอาหาร และอุณหภูมิ เชื้อ *Salmonella* ไม่ทนต่อแรงดันออสโมติก ไม่เจริญในอาหารที่มีเกลือแกงเข้มข้น 9 เปอร์เซ็นต์ ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง และมีการใช้เกลือไนไตรท์ในอาหาร (Jay, 2000)

2.5.3 แหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติ

Salmonella อาศัยอยู่ในทางเดินอาหาร ลำไส้ของสัตว์ต่าง ๆ เช่น นก สัตว์เลื้อยคลาน คน และอาจพบในแมลง แม้ว่าแหล่งกำเนิดของเชื้อคือลำไส้ของสัตว์ แต่ก็สามารถพบเชื้อ *Salmonella* ตามร่างกายส่วนอื่น ๆ ของสัตว์ด้วย เช่น ผิวหนัง เป็นต้น (Jay, 1996)

2.5.4 ลักษณะทางชีวเคมี

สำหรับสมบัติชีวเคมีที่สำคัญในการวินิจฉัยเชื้อ *Salmonella* ได้แก่ ลักษณะการเจริญบนอาหารแข็ง Triple Sugar Iron (TSI) agar เป็นแบบ K/A ไม่เฟอร์เมนต์ทั้งแลคโตส และซูโครส ส่วนใหญ่สร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ ยกเว้น *S. Enteritidis, S. Paratyphi* A, *S. Choleraesuis* (อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ, 2535) ลักษณะอีกประการของเชื้อ *Salmonella* คือความสามารถในการเคลื่อนที่ (นันทนา อรุณฤกษ์, 2537) สำหรับลักษณะชีวเคมีของเชื้อ *Salmonella* แสดงในตารางที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 สมบัติทางชีวเคมีที่สำคัญของเชื้อ *Salmonella*

สมบัติทางชีวเคมี	ผลการทดสอบ
Glucose	+
Lactose	-
Sucrose	-
Catalase reaction	+
Oxidase reaction	–
Nitrite reaction	+
Lysine decarboxylase	+
Arginine dehydrolase	+w/o H_2S
Omithine dehydrolase	+w/o H_2S
Indole	-
Citrate	+/-
Methyl Red	+
Voges-Proskauer	-
Phenylalanine	-
Urease	-
Gelatin	-
G+C (mole% of DNA)	50 - 53

ที่มา : อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ (2535)

2.5.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ *Salmonella*

2.5.5.1 อุณหภูมิ เชื้อ *Salmonella* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง แม้ว่าจะมีรายงานว่าเชื้อ *Salmonella* ในบางสายพันธุ์สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส ก็ตาม (D'Aoust, 1991) สำหรับอุณหภูมิสูงสุดที่เชื้อนี้เจริญได้ คือ 49.5 องศาเซลเซียส การปฏิบัติอย่างถูกต้องเพื่ออุ่นอาหารเพื่อให้ปลอดภัยจากเชื้อ *Salmonella* ตามคำแนะนำของ USDA/FSIS จึงใช้อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียสเป็นเกณฑ์ แม้ว่าที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จะสามารถทำลายเชื้อ *Salmonella* ได้ก็ตาม (International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 1996)

2.5.5.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง สภาวะความเป็นกรด-ด่างต่อการเจริญของเชื้อ *Salmonella* แสดงใน ตารางที่ 2.4 โดยค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดและสูงสุดที่เชื้อ *Salmonella* ชนิดที่ทนกรดและด่างมากที่สุดจะเจริญได้มีค่า 3.8 และ 9.5 ตามลำดับ ช่วงความเป็นกรด-ด่างที่เชื้อ *Salmonella*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนมากเจริญได้ดีอยู่ระหว่าง 7-7.5 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมที่เชื้อเจริญเติบโตและชนิดของเชื้อ *Salmonella* แต่ละสายพันธุ์ด้วย จากการทดลองของ Chung and Goepfert (1970) พบว่าชนิดของกรดที่ใช้ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการมีผลต่อการปรับตัวของเชื้อ *Salmonella* กล่าวคือ เชื้อ *Salmonella* ปรับตัวกับการใช้กรดเกลือและกรดซิตริก ได้ดีกว่าการใช้กรดอะซิติก หรือกรดน้ำส้ม หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่า เชื้อ *Salmonella* ไวต่อกรดน้ำส้มมากกว่ากรดเกลือและกรดซิตริก

2.5.5.3 ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ (a_w) เชื้อ *Salmonella* เจริญได้ในช่วง a_w แคบๆ โดยมีค่า a_w ต่ำสุดและสูงสุด เท่ากับ 0.94 และ 0.99-1.00 ตามลำดับ ในสภาวะแวดล้อมที่เอื้อต่อการเจริญเติบโต เช่น มีอาหาร a_w และอุณหภูมิที่เหมาะสม เชื้อ *Salmonella* สามารถปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรด-ด่างได้ดีกว่าปกติ ดังนั้น การใช้ปัจจัยต่างๆ หลายๆ ปัจจัยหรือใช้ปัจจัยร่วม จึงมีความสำคัญในการประยุกต์ใช้เพื่อควบคุมเชื้อ *Salmonella* มากกว่าการใช้ปัจจัยใดเพียงปัจจัยหนึ่ง

ตารางที่ 2.4 ค่าต่ำสุด ค่าเหมาะสม ค่าสูงสุดของอุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และวอเตอร์แอคติวิตี้ต่อการเจริญของเชื้อ *Salmonella*

สภาวะ	ค่าต่ำสุด	ค่าที่เหมาะสม	ค่าสูงสุด
อุณหภูมิ	5.2	35 – 43	46.2
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	3.8	7 – 7.5	9.5
ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้	0.94	0.99	> 0.99

หมายเหตุ เชื้อ *Salmonella* ส่วนใหญ่ไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 7 องศาเซลเซียส

ที่มา International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) (1996)

Treagan and Pulliam (1982) รายงานว่า การผลิตสัมฟักส่วนใหญ่ เป็นการผลิตในอุตสาหกรรมขนาดเล็ก การควบคุมความสะอาดและสุขลักษณะของอาหารไม่ดีตามมาตรฐาน ดังนั้นการปนเปื้อนจุลินทรีย์มีโอกาสสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคระบบทางเดินอาหาร เช่น เชื้อ *Salmonella* และ coliforms บางชนิด ซึ่งอาจมาจากวัตถุดิบ ขั้นตอนการผลิต ผู้ผลิต และการหมัก และการเก็บรักษาระหว่างรอจำหน่าย

สำหรับอาหารหมักประเภทปลาและหอย ที่มีความเข้มข้นเกลือสูงกว่า 18 เปอร์เซ็นต์นั้น จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหารเช่น coliforms, *Streptococcus*, *Salmonella* และ*Vibrio* ไม่ค่อยมีความสำคัญนัก แต่จะมีความสำคัญอย่างยิ่งในอาหารที่มีปริมาณเกลือต่ำ และอาหารที่ไม่ผ่านความร้อนให้สุกก่อนนำมาบริโภค (Mabesa, 1983) หากความเข้มข้นของเกลือในอาหาร สูงกว่า 8 เปอร์เซ็นต์จะมีผลให้เชื้อ *Salmonella* ตายลงอย่างช้าๆ แต่จะขึ้นกับอุณหภูมิด้วย เช่น การแช่เนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุกรในน้ำเกลือเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์จะลดจำนวน เชื้อ *Salmonella* ลดลง 10 เท่า เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วันแต่ถ้าบ่มที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสจะใช้เวลาเพิ่มเป็น 8-10 สัปดาห์ นอกจากนี้ยัง พบว่า จำนวนเชื้อ *Salmonella* ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวจะลดจำนวนลงช้ากว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการบ่มในน้ำเกลือ (Prost and Riemann, 1967) นอกจากนี้ สารประกอบต่างๆ ที่แบคทีเรียกรดแลคติกสร้างขึ้นจะยับยั้งเชื้อ *Salmonella* ได้มากหรือน้อยเพียงใดนั้น ขึ้นกับชนิด และปริมาณเชื้อ (อรนุช อุตรภิชาติ, 2530)

พรพิมล เทียนทอง (2548) ศึกษาวิธีการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในแหนม โดยเติมเชื้อ *Salmonella* เข้มข้น $2x10^6$ CFU/G ในขั้นตอนการผลิตแหนม พบว่า มีปริมาณเชื้อ *Salmonella* ลดลง ตั้งแต่วันเริ่มต้นการหมัก (0 วัน) จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก (3 วัน) โดยเป็นผลมาจากปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกที่เพิ่มจำนวนขึ้น ซึ่งสารเมตาบอไลท์ต่างๆ ที่เชื้อสร้างขึ้นมา เช่น กรดแลคติก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แบคเทอริโอซิน จะเพิ่มปริมาณมากขึ้นด้วย สารเหล่านี้มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* จึงมีจำนวนลดลง อีกทั้งในแหนมยังมีส่วนประกอบของเครื่องเทศ และสารปรุงแต่งต่างๆ เช่น กระเทียม เกลือ ไนไตรท์ สารประกอบฟอสเฟต ที่ส่วนผสมบางชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* ได้ เช่น กระเทียม (อดิศร เสวตวิวัฒน์, 2542) ไนไตรท์ (Swetwiwathana. *et al*., 1999) นอกจากนี้ เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก *Pediococcus* spp. P_{55} และกล้าเชื้อผสมระหว่าง P_{55} และ *Lb*. spp. L_1 มีผลในการยับยั้งและทำลายเชื้อ *Salmonella* ในระหว่างการหมักแหนม (อดิศร เสวตวิวัฒน์, 2533)

Swetwiwathana *et al*. (2004) พบว่า การใช้กระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับไนไตรท์ 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ในการหมักแหนม สามารถทำลายเชื้อ *S*. Anatum 10^5 เซลล์ต่อมิลลิตร ให้หมดไปได้ภายในระยะเวลา 30 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่ากระเทียมผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* ในระยะแรกของการหมัก (0-12 ชั่วโมง) หลังจากนั้นเชื้อสามารถปรับตัวและเจริญเพียงเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ตัวอย่างปลา

ปลานวลจันทร์น้ำจืด (*Cirrhinus microlepis*) เป็นชิ้นปลา แล่ติดก้าง ด้านที่ติดส่วนหัวและท้องของปลา น้ำหนักระหว่าง 150 – 180 กรัม ได้รับจากโรงงานปลา บริษัท จุลไหมไทย จำกัด ตัวอย่างปลาสดบรรจุใส่ถุงพลาสติก เก็บในถังน้ำแข็งที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 0 องศาเซลเซียส รวมเวลาในระหว่างการขนส่งไม่เกิน 8 ชั่วโมง

3.1.2 ส่วนผสมสำหรับการหมักปลาส้ม

- เกลือแกง	(ตราวรวัฒน์ จังหวัดสมุทรสาคร)
- ไนไตรท์	(บริษัท SA. Food กรุงเทพมหานคร)
- โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต	(บริษัท SA. Food กรุงเทพมหานคร)
- กระเทียม	(พันธุ์กระเทียมไทย)
- ข้าวเหนียวพันธุ์ กข	(ตราบัวแดง)
- ผงชูรส	(ตราราชาชูรส)

3.1.3 สารเคมี

- Silver nitrate ($AgNO_3$)	(Prolabo, ประเทศอังกฤษ)
- Nitric acid (HNO_3)	(Qrec, ประเทศนิวซีแลนด์)
- Ammonium ferrous sulfate ($NH_4Fe(SO_4)_2$	(Ajex, ประเทศออสเตรเลีย)
- Potassium thiocyanate (KSCN)	(Ajex, ประเทศออสเตรเลีย)
- Hydrochloric acid (HCl)	(Merck, ประเทศอเมริกา)
- Ammonium molybdate (NH_4MoO_3)	(Ajex, ประเทศออสเตรเลีย)
- Ammonium metavanadate (NH_4VO_3)	(Ajex, ประเทศออสเตรเลีย)
- Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)	(Ajex, ประเทศออสเตรเลีย)
- Phenolphthalein	(Carlo Erba Reagent, ประเทศอิตาลี)
- Sodium hydroxide (NaOH)	(Merck, ประเทศอเมริกา)
- Lactose	(Ajex, ประเทศออสเตรเลีย)
- Neomycin sulfate	(Ajex, ประเทศออสเตรเลีย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Alcohol 95% (องค์การสุรากรมสรรพสามิต, ประเทศไทย)

3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- Trypticase Soy Agar (TSA) (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Plate Count Agar (PCA) (Difco, ประเทศอเมริกา)
- de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Cooked Meat (CM) Medium (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Brain Heart Infusion (BHI) Broth (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Lauryl sulphate tryptose (LSTB) Broth (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Brilliant Green Lactose Bile (BGLB) Broth (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Escherichia coli (EC) Broth (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Eosin Methylene Blue (EMB) Agar (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Triple Sugar Iron (TSI) Agar (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Indole Medium (Tryptone broth) (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Methyl Red and Voges-Proskauer (MR-VP) Broth (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Simmon Citrate Agar (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Trypticase Soy Broth (TSB) (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Salmosyst Selective Supplement Tablet (SBST) (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Deoxycholate Hydrogen Sulfide Lactose (DHL) Agar (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Lysine Indole Motility (LIM) Medium (Difco, ประเทศอเมริกา)
- Nutrient Agar (NA) (Merck, ประเทศอเมริกา)
- Antiserum O group B, C, D, E (S&A Reagent Lab, ประเทศไทย)
- Kovacs reagent (Merck, ประเทศอเมริกา)
-Bromocresol purple (Merck, ประเทศอเมริกา)

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (Sartorious รุ่น TE214S, ประเทศเยอรมัน)
- เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง (Mettler Toledo รุ่น PL 1502-S, ประเทศเยอรมัน)
- เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (Aqua Lab รุ่น 3TE, ประเทศอเมริกา)
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (Sartorious รุ่น PB-10, ประเทศเยอรมัน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Shimadzu รุ่น UV-1700, ประเทศญี่ปุ่น)
- เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyser) (TA รุ่น XT plus, ประเทศอเมริกา)
- ถังหมักสุญญากาศ (VTS-42, ประเทศอเมริกา)
- ไมโครเวฟ กำลัง 900 วัตต์ (HITASHI รุ่น MR 30A, ประเทศญี่ปุ่น)
- เตาเผา (Muffle furnace) (Nabertherm รุ่น 40/11/B170, ประเทศเยอรมัน)
- ตู้บ่มเชื้อ (Memmert, ประเทศเยอรมัน)
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) (Tomy SS-245, ประเทศญี่ปุ่น)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Heraeus, ประเทศเยอรมัน)
- เครื่องเขย่า (Vortex mixer) (Scientific Inductries, รุ่น G 560E, ประเทศไทย)
- ตู้เขี่ยเชื้อ (ASTEC ABS 1200, ประเทศเยอรมัน)
- เครื่องตีปั่นผสมอาหาร (Stomacher) (SM-65, ประเทศเยอรมัน)
- เครื่องตรวจนับโคโลนี (Funke Gerber รุ่น colony- star, ประเทศเยอรมัน)
- เครื่องปั่นอาหารแบบเปียก (WARING รุ่น 32BL79, ประเทศอเมริกา)
- Porcelain crucible ขนาด 50 มิลลิลิตร (HCT รุ่น 101/40 DIN, ประเทศเยอรมัน)
- โถดูดความชื้น (DURAN, ประเทศเยอรมัน)
- กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No.1) (Whatman, ประเทศจีน)
- ตู้แช่แข็ง (-18°C) (SANYO รุ่น SF-C997(GYN), ประเทศไทย)
- ห้องแช่เย็น (4°C) (SNOWLAND รุ่น SNL-190C, ประเทศไทย)
- แผ่นให้ความร้อน (Hot plate) (IKA รุ่น C-MAG HS 7, ประเทศอังกฤษ)
- อุปกรณ์เครื่องแก้ว
- ถุงพลาสติกบรรจุปลา

3.3 สถานที่ดำเนินงาน

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

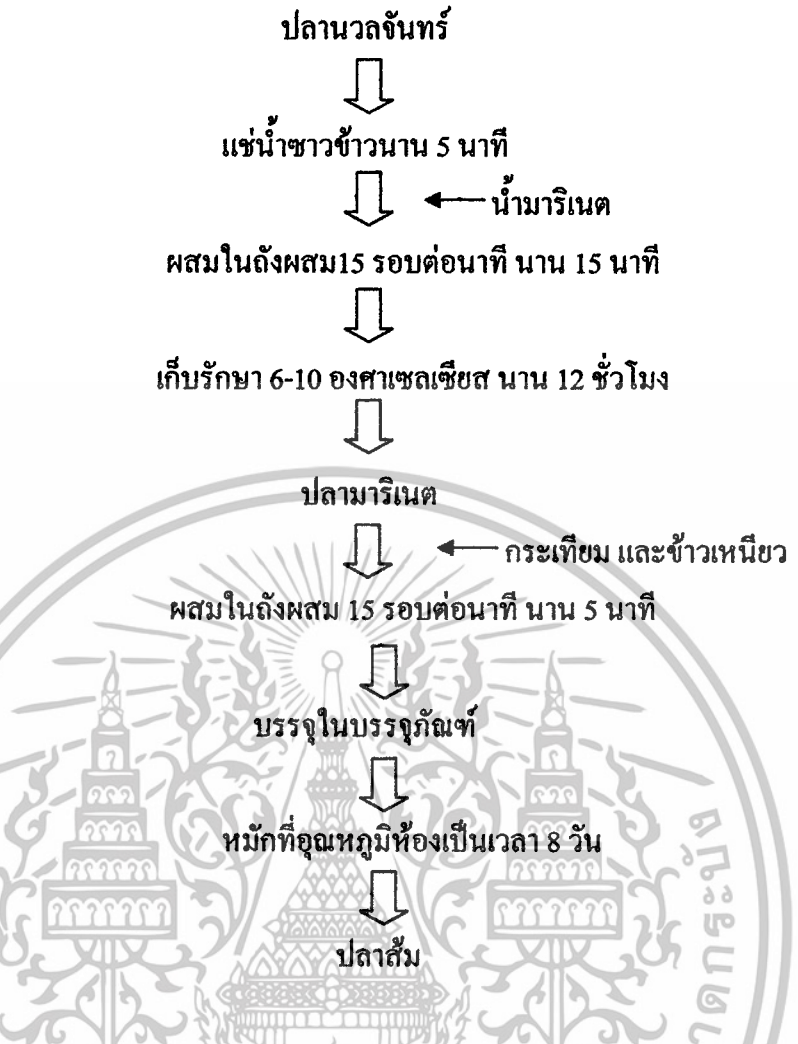
3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 ผลของเกลือแกง แกลือฟอสเฟต และสภาวะการดูดเค้าของชิ้นปลาติดก้าง

3.4.1.1 การผลิตปลาส้ม

ขั้นตอนการผลิตปลาส้มมีดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตปลาส้ม

3.4.1.2 การเตรียมน้ำมาริเนต

ตัวอย่างปลาในการทดลองนี้ เป็นสูตรน้ำมาริเนต 15 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปลาสด จากสมการ

$$Cm = Cp \times ((1/0.15)+1))$$

$$Cm = 7.67\ Cp$$

โดย Cm หมายถึง ความเข้มข้นของส่วนประกอบในน้ำมาริเนต

Cp หมายถึง ความเข้มข้นของส่วนประกอบในตัวอย่างปลามาริเนต

จากนั้นคำนวนปริมาณเกลือแกง โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และไนไตรท์ ในน้ำมาริเนต ให้ได้ตามสูตร ดังตารางที่ 3.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนผสมของสูตรน้ำมาริเนตต่างๆ จำนวน 6 สูตร

สูตรที่	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์ในน้ำหนักปลาสด)		
	เกลือแกง	โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต	ไนไตรท์
1	3	0.2	0.16
2	3	0.3	0.16
3	3	0.5	0.16
4	6	0.2	0.16
5	6	0.3	0.16
6	6	0.5	0.16

นำน้ำมาให้ความร้อน จากนั้นละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต แล้วจึงค่อยๆ เติมเกลือแกง และไนไตรท์ ลงไป คนจนกว่าจะละลายจนหมด เมื่ออุณหภูมิน้ำมาริเนตลดลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ปรับน้ำหนักของน้ำมาริเนตด้วยน้ำ จนมีน้ำหนักตามที่คำนวณไว้ จากนั้นเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้

ตัวอย่างควบคุมเป็นสูตรน้ำมาริเนตเดิม คิดเป็น 3.33 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปลาสด โดยเตรียมจากการละลาย เกลือแกง และไนไตรท์ 60 และ 11.6 กรัม ตามลำดับ ต่อน้ำ 1,000 กรัม แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิเดียวกันจนกว่าจะนำไปใช้

3.4.1.2 การเคล้าผสม

การทดลองนี้แบ่งการเคล้าผสมปลาออกเป็น 2 สภาวะ โดยแต่ละสภาวะจะนำปลานวลจันทร์แล่ติดก้างที่มีน้ำหนักระหว่าง 150 -180 กรัม จำนวน 20 ชิ้น มาชั่งน้ำหนักปลา จากนั้นแช่น้ำซาวข้าวนาน 5 นาที แล้วจึงสะเด็ดน้ำออก นำไปเคล้าผสมดังนี้

(1) การเคล้าผสมในสภาวะบรรยากาศ

นำปลาที่ผ่านการแช่น้ำซาวข้าวมา ใส่ลงในถังผสม แล้วเติมน้ำมาริเนตตามสูตรที่กำหนดไว้ แล้วจึงเปิดเครื่องคล้าผสมที่ความเร็วรอบเฉลี่ย 15 รอบต่อนาที นาน 15 นาที

สำหรับตัวอย่างควบคุมจะคลุกเคล้าน้ำมาริเนตเดิม 3.33 เปอร์เซ็นต์จากน้ำหนักปลาสด เคล้าผสมเช่นเดียวกัน

(2) สำหรับการเคล้าผสมในสภาวะสุญญากาศ

นำปลาที่ผ่านการแช่น้ำซาวข้าวมา ใส่ลงในถังผสม แล้วเติมน้ำมาริเนตตามสูตรที่กำหนดไว้ จากนั้นปิดฝาแล้ว แล้วใช้ปั๊มลม ดูดอากาศออก จนมีความดันสุญญากาศภายใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถังผสมเท่ากับ 60 มิลลิปรอท เปิดเครื่องคลุกผสมที่ความเร็วและระยะเวลาเท่ากันกับการเคล้าผสมในสภาวะสุญญากาศ

นำตัวอย่างปลาเคล้าน้ำมาริเนตและ ตัวอย่างควบคุมไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 6-10 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง แล้วนำไปวิเคราะห์ทางกายภาพ และทางเคมี ในข้อ 3.4.1.3

3.4.1.3 การวิเคราะห์ทางกายภาพ และทางเคมี

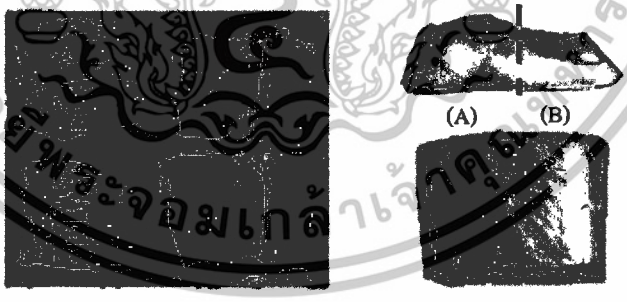
นำตัวอย่างปลามาริเนตและ ตัวอย่างควบคุม มาวิเคราะห์ดังนี้

(1) ปริมาณเกลือแกง

นำตัวอย่างชิ้นปลาที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนต มาตัดแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนหนาได้แก่ เนื้อส่วนหลังของปลา ที่มีความหนาตั้งแต่ 1.25-2.5 มิลลิเมตร สำหรับส่วนบางเป็นส่วนที่ติดกับท้องปลา มีความหนาตั้งแต่ 0.5-1.0 มิลลิเมตร (ภาพที่ 3.2) จากนั้นนำแต่ละส่วน มาแล่ก้างกลาง ลอกหนังออก แล้วสับปลาแต่ละส่วนให้ละเอียด นำไปวิเคราะห์ปริมาณเกลือแกงด้วยวิธีการไตเตรทตามวิธีการของ Volhard (AOAC, 2005) (ภาคผนวก ก)

(2) ปริมาณฟอสเฟต

นำตัวอย่างชิ้นปลาที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนต มาเตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณเกลือแกง โดยแบ่งเป็น ส่วนหนา และส่วนบาง แล้ววิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตโดยใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก AOAC (2005) (ภาคผนวก ก)



ภาพที่ 3.2 ตัวอย่างปลาเคล้าน้ำมาริเนต และลักษณะชิ้นปลาที่ผ่านการแล่ก้างกาง และหนังออก สำหรับส่วน (A) คือ ชิ้นปลาบริเวณส่วนหนา และส่วน (B) คือ ชิ้นปลาส่วนบาง

(3) ค่าความเป็นกรด - ด่าง

วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัดพีเอช โดยใช้หัววัดแบบที่ใช้วัดชิ้นเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(4) ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้

วัดด้วยเครื่องวัดปริมาณอิสระ โดยนำตัวอย่างปลาบดประมาณ 5 กรัม ใส่ในตลับพลาสติก แล้ววัดค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ อ่านค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

(5) เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก

นำตัวอย่างปลาเคล้าน้ำมาริเนตทั้งชิ้นมาชั่งน้ำหนัก เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก (% weight loss) ตามสมการ (1) (Wierbicki *et al.*, 1963)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{(\text{น้ำหนักปลา})_{\text{หลังเคล้าน้ำมาริเนต}} - (\text{น้ำหนักปลา})_{\text{ก่อนเคล้าน้ำมาริเนต}}}{(\text{น้ำหนักปลา})_{\text{ก่อนเคล้าน้ำมาริเนต}}} \times 100 \quad (1)$$

หมายเหตุ

$\text{น้ำหนักปลา}_{\text{ก่อนเคล้าน้ำมาริเนต}}$ หมายถึง น้ำหนักสุทธิของปลาก่อนที่จะนำมาทำการเคล้าผสมน้ำมาริเนต

$\text{น้ำหนักปลา}_{\text{หลังเคล้าน้ำมาริเนต}}$ หมายถึง น้ำหนักสุทธิของปลาหลังจากนำมาทำการเคล้าผสมน้ำมาริเนต

(6) เปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุก

นำชิ้นปลามาให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ ที่ระดับไฟแรงปานกลาง นาน 2 นาที หรือจนกว่าแกนกลางปลามีอุณหภูมิ ไม่ต่ำกว่า 65 องศาเซลเซียส จากนั้นคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังการปรุงสุก (% cook yield) ตามสมการ (2) (Wierbicki *et al.*, 1963)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุก} = 100 - \left(\left(\frac{(\text{น้ำหนัก}_{\text{ก่อนทำให้สุก}} - \text{น้ำหนัก}_{\text{หลังทำให้สุก}}) \times 100}{\text{น้ำหนัก}_{\text{ก่อนทำให้สุก}}}\right)\right) \quad (2)$$

หมายเหตุ

น้ำหนักก่อนทำให้สุก หมายถึง น้ำหนักสุทธิของปลาเคล้าน้ำมาริเนตก่อนที่จะให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ

น้ำหนักหลังทำให้สุก หมายถึง น้ำหนักสุทธิของปลาเคล้าน้ำมาริเนตหลังการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(7) เนื้อสัมผัส

นำตัวอย่างปลาเคล้าน้ำมาริเนตทั้งชิ้น มาตัดให้มีขนาด (ความกว้าง ยาว และสูง) เท่ากับ 1 x 3 x 1.5 ตารางเซนติเมตร จากนั้นนำมาวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อปลาสดด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส โดยใช้หัวตัด HDP/BSK กำหนดค่าการวัดแบบ Texture Profile Analysis (TPA) ความเร็วของหัวกด 1.0 มิลลิเมตร/วินาที ระยะทาง 15 มิลลิเมตร ตามวิธีของ Young and Lyon (1997) (ภาคผนวก ก) แล้ววัดค่าความแข็ง (hardness) การคืนตัว (springiness) แรงยึดเกาะ (cohesiveness) และแรงที่ใช้ในการเคี้ยว (chewiness)

ในการวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพและเนื้อสัมผัส จะวิเคราะห์ชิ้นปลาอย่างน้อย 3 ชิ้นในแต่ละตัวอย่าง และทำการทดลองอย่างน้อย 3 ซ้ำ โดยเปรียบเทียบค่าที่วิเคราะห์ได้กับตัวอย่างควบคุมด้วยวิธีการทางสถิติ แล้วคัดเลือกสภาวะในการเคล้าน้ำมาริเนตที่เหมาะสมจำนวน 3 สภาวะ ในการทดลองในหัวข้อถัดไป

3.4.2 ศึกษาผลของเกลือแกง เกลือฟอสเฟต และสภาวะการคลุกเคล้าต่อคุณภาพของปลาส้ม

เตรียมตัวอย่างปลาเคล้าน้ำมาริเนตตามข้อ 3.4.1.1-3.4.1.2 โดยใช้สูตรน้ำหมักตามที่คัดเลือกจากข้อ 3.4.1 จำนวน 3 สูตร แล้วจึงเคล้าผสมกับข้าวเหนียวนึ่ง กระเทียม และผงชูรส (ปริมาณ 5 , 11.66 และ 1.87 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปลา ตามลำดับ) ในถังผสมนาน 5 นาที แล้วบรรจุปลาลงในถุงพลาสติกถุงละ 2 ชิ้น ไล่อากาศออกให้มากที่สุด จากนั้นมัดปากถุงให้แน่น นำไปใส่ในถังพลาสติก แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 8 วัน เพื่อให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างปลาส้มลดลงต่ำกว่า 4.6 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548)

สุ่มเก็บตัวอย่างปลาส้มวันที่ 0, 4 และ 8 อย่างน้อย 2 ซ้ำ มาวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพจุลินทรีย์ และทางประสาทสัมผัสของปลาส้ม โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ดังนี้

3.4.2.1 การวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ

(1) ปริมาณกรดทั้งหมด ด้วยวิธี AOAC (2005) (ภาคผนวก ก)

(2) ค่าความเป็นกรด-ด่าง

วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ตามวิธีของ DMSc-ACFS (2003) และ Lotong and Swetwiwathana (1990) โดยนำตัวอย่างปลาส้ม 20 กรัม ใส่ลงในถุงพลาสติก เจือจางด้วยน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร ตีส่วนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องตีป่นผสมอาหาร นาน 1 นาที แล้วนำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(3) เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก (% weight loss) เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ในข้อ 3.4.1.2 (5)

(4) เปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุก (%cook yield) เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ ในข้อ 3.4.1.2 (6)

(5) เนื้อสัมผัส เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ในข้อ 3.4.1.2 (7)

3.4.2.2 การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

ชั่งตัวอย่างปลาส้มน้ำหนัก 25 กรัม นำไปใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ เติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.2) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร แล้วตีผสมด้วยด้วยเครื่องตีปั่นผสมอาหาร นาน 1 นาที เจือจางตัวอย่างแบบ 10 fold dilution โดยดูดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร ทำการเจือจางจนได้ความเจือจางในระดับ $1:10^8$ นำไปวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ดังนี้

(1) ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก ตามวิธี ของ Stuffs-Horizontal (ISO 15214, 1998) (ภาคผนวก ข)

(2) ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ตามวิธีของ Morton (2001) (ภาคผนวก ข)

(3) ปริมาณเชื้อ *Clostridium perfringens* ด้วยวิธี BAM (2001) (ภาคผนวก ข)

(4) ปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* ด้วยวิธี AOAC (2005) (ภาคผนวก ข)

3.4.2.3 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

นำปลาส้มที่หมักเป็นเวลา 8 วัน มาทอดที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นนำตัวอย่างทั้ง 3 ตัวอย่างและตัวอย่างควบคุม มาทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9 – point Hedonic scale ระดับคะแนน 1-ไม่ชอบมากที่สุด ถึง 9-ชอบมากที่สุด วางแผนการทดลองแบบ RCBD โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน ทดสอบคุณลักษณะด้านสีที่ปรากฏ กลิ่นรส และเนื้อสัมผัส ความเปรี้ยว ความเค็ม และความชอบโดยรวม

ทำการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำ แล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ นำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.4.3 ศึกษาการอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* ในระหว่างผลิตปลาส้ม

3.4.3.1 การเตรียมเชื้อ *Salmonella*

นำเชื้อ *Salmonella* Rissen ซึ่งแยกจากผลิตภัณฑ์ปลาหมัก โดยได้รับความอนุเคราะห์จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข นำมาทำสต็อก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อซาลโมเนลลาในอาหารแข็ง Trypticase Soy Agar (TSA) ทำการถ่ายเชื้อทุกๆ 30 วัน นำเชื้อมาเขี่ยลงในอาหารเหลว แล้วหาความเข้มข้นของเชื้อ (CFU/ ml) ตามภาคผนวก ข

3.4.3.2 การวิเคราะห์การอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* ด้วยวิธีการดัดแปลงมาจาก อดิศร เสวตวิวัฒน์ และนภา โล่ทอง (2534)

นำตัวอย่างปลาเคล้าน้ำมาริเนตมาเคล้าผสมกับข้าวเหนียวนึ่ง กระเทียม และผงชูรส มากำหนดพื้นที่บริเวณส่วนหนาบนเนื้อปลาให้มีขนาด 1 ตารางนิ้ว แล้วหยดเชื้อ *Salmonella* เข้มข้น 3 และ 5 log CFU/ml ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงไปบนตำแหน่งที่กำหนดไว้ แล้ววางให้สารแขวนลอยเซลล์ซึมเข้าเนื้อปลาในตู้ปลอดเชื้อ นาน 15 นาที จากนั้นบรรจุลงในถุง ใช้มือรีดอากาศออกให้มากที่สุด แล้วจึงมัดปากถุงพลาสติกให้แน่น นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องจนได้ผลิตภัณฑ์ปลาส้มโดยสุ่มเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง (ภาคผนวก ข)

3.4.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลการทดลองตามวิธีการข้อ 3.4.1-3.4.2 นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้โปรแกรมทางสถิติสำเร็จรูป และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูล โดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลของปริมาณเกลือแกง เกลือฟอสเฟต และสภาวะการคลุกเคล้าของชิ้นปลาติดก้าง

ชิ้นปลานวลจันทร์จะถูกนำมาเคล้ากับน้ำมาริเนต ในถังผสมที่ควบคุมสภาวะการคลุกเคล้าน้ำมาริเนต 2 แบบ ได้แก่ การเคล้าในสภาวะแบบบรรยากาศ และสภาวะแบบสุญญากาศ โดยคำนวณน้ำหนักของน้ำมาริเนตเป็น 15 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปลา การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบ Factorial complete block design (3 x 2 x 2) ด้วยการศึกษาความเข้มข้นของโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (3 ระดับ) ปริมาณเกลือแกง (2 ระดับ) และสภาวะการเคล้าน้ำมาริเนต (2 แบบ) จากนั้น นำชิ้นปลาที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนตไปบ่มที่อุณหภูมิ 6-10 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง (ตามกระบวนการผลิตของโรงงาน) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ลักษณะทางเคมีกายภาพและเนื้อสัมผัส สำหรับตัวอย่างควบคุม เป็นสูตรน้ำมาริเนตจากโรงงาน โดยคำนวณน้ำหนักน้ำมาริเนตเป็น 3.3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปลา ประกอบด้วยเกลือแกง และไนไตรท์ เท่ากับ 6 และ 0.16 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปลา ตามลำดับ

4.1.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพ และเนื้อสัมผัสของเนื้อปลาที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนต

เมื่อนำตัวอย่างชิ้นปลาที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนต ตามสูตรน้ำมาริเนตต่างๆ ทั้ง 12 สูตร มาวิเคราะห์ปริมาณเกลือแกง ปริมาณฟอสเฟต ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก เปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุก และคุณภาพทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อปลา ได้ผลการทดลอง ดังนี้

4.1.1.1 ปริมาณเกลือแกง

ปริมาณเกลือแกงในตัวอย่างควบคุมที่เคล้าน้ำมาริเนตมีเกลือแกงเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักปลาสด และนำชิ้นปลามาแบ่งเป็น 2 ส่วน โดยแบ่งเป็นส่วนหนา และส่วนบาง พบว่า มีปริมาณเกลือแกงเท่ากับ 3.39±0.20 และ 4.12±0.44 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงว่า ความหนาบางของชิ้นปลาไม่ส่งผลต่อปริมาณเกลือแกงในตัวอย่าง ทั้งนี้เกลือแกงจะเพิ่มการซึมผ่านน้ำที่ชั้นผิวหนังของชิ้นเนื้อ และละลายไมโอซิน ทำให้กล้ามเนื้อปลาเปลี่ยนโครงสร้าง ส่งผลให้เกิดการพองตัวของไมโอไฟบริลน้ำมาริเนตแพร่เข้าสู่กล้ามเนื้อปลาได้ดีขึ้น (Yaper *et al*, 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.1 ปริมาณเกลือแกงบริเวณชิ้นส่วนหนาและบางของชิ้นปลานวลจันทร์ที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนต

สภาวะการเคล้า	ตัวอย่าง		ปริมาณเกลือแกง (%)	
	เกลือแกง (%)	โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (%)	ชิ้นปลาส่วนหนา	ชิ้นปลาส่วนบาง
บรรยากาศ	ตัวอย่างควบคุม		3.39±0.20^{b}	4.12±0.44^{a}
	3	0.2	1.46±0.04^{g}	1.92±0.01$^{e(*)}$
		0.3	1.78±0.00^{e}	2.16±0.17^{de}
		0.5	1.53±0.44^{fg}	1.94±0.14$^{e(*)}$
	6	0.2	1.92±0.49^{e}	2.68±0.11$^{bc(*)}$
		0.3	1.72±0.02^{ef}	2.40±0.28$^{cd(*)}$
		0.5	2.38±0.12^{d}	3.02±0.38$^{b(*)}$
สุญญากาศ	3	0.2	2.27±0.16^{d}	2.41±0.05$^{cd(*)}$
		0.3	2.46±0.04^{d}	2.52±0.04^{cd}
		0.5	2.68±0.10^{c}	2.67±0.12^{bc}
	6	0.2	4.06±0.06^{a}	4.13±0.13^{a}
		0.3	4.25±0.23^{a}	4.35±0.34^{a}
		0.5	4.07±0.13^{a}	3.97±0.21^{a}

หมายเหตุ พิจารณาอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันของชิ้นปลานวลจันทร์หมักชิ้นเดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

พิจารณาสัญลักษณ์ * ตามแนวแถวของชิ้นปลานวลจันทร์หมักที่แยกบริเวณส่วนหนา และบางในชิ้นเดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สำหรับตัวอย่างปลาที่เคล้าน้ำมาริเนตเกลือแกง และฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะการเคล้าแบบบรรยากาศ พบว่า การดูดซับเกลือแกงของชิ้นปลาที่เติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในน้ำมาริเนต มีปริมาณเกลือแกงระหว่าง 1.46-3.02 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม (3.39-4.12 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงว่าโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีผลต่อการดูดซึมเกลือแกงเข้าสู่เซลล์ ซึ่งอาจเกิดการแข่งขันการดูดซึม หรือความสามารถของเซลล์ในการดูดซึมเกลือแกงและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตของเนื้อแต่ละชนิด อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เกลือแกง 3 และ 6 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปลา พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของเกลือแกงในน้ำมาริเนตเป็น 6 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปลา มีผลให้ปริมาณเกลือแกงในตัวอย่างปลาทั้งในส่วนชิ้นหนา และชิ้นบางเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ ยังพบว่า ปริมาณเกลือแกงในส่วนชิ้นบาง มีปริมาณสูงกว่าในส่วนชิ้นหนาเล็กน้อย แต่ส่วนใหญ่มีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงว่า ส่วนต่างๆ ของชิ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลาอาจดูดซับเกลือแกงได้แตกต่างกัน ซึ่งส่วนบาง หรือส่วนท้องปลาดูดซับเกลือได้มากกว่าในน้ำมาริเนตที่มีส่วนประกอบของโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (ตารางที่ 4.1) ทั้งนี้เนื่องจากการซึมผ่านของเกลือแกงในบริเวณเนื้อเยื่อที่มีความหนาแตกต่างกัน ทำให้การดูดซึมปริมาณเกลือแกงตามส่วนต่างๆ แตกต่างกัน โดยเฉพาะที่ผิวหน้าของกล้ามเนื้อจะมีปริมาณเกลือแกงมากกว่ากล้ามเนื้อชั้นถัดเข้าไป ส่งผลให้ชิ้นส่วนบางมีการดูดซับปริมาณเกลือแกงได้มากกว่าส่วนหนา (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก, 2532)

เมื่อปรับสภาวะการเคล้าเป็นแบบสุญญากาศ พบว่า การดูดซึมเกลือแกงดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งในส่วนหนา และส่วนบางที่ความเข้มข้นของเกลือแกงเท่ากัน และการเพิ่มปริมาณโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่เกลือแกงในน้ำมาริเนตเท่ากับ 3 เปอร์เซ็นต์ พบแนวโน้มการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยของเกลือแกงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ไม่พบปรากฏการณ์นี้ ที่ความเข้มข้นเกลือแกงในน้ำมาริเนตเท่ากับ 6 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$) อย่างไรก็ตาม การดูดซับน้ำมาริเนตในส่วนหนา ไม่มีความแตกต่างจากส่วนบางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยส่วนหนาจะเป็นส่วนที่ติดกับพังผืดและก้างของปลา ส่วนบางเป็นส่วนท้องจะมีพังผืดทำให้การดูดซึมสารแตกต่างกัน ทั้งนี้การดูดซึมเกลือแกง นอกจากจะขึ้นอยู่กับความหนาบางของชิ้นปลา แล้วยังขึ้นอยู่กับขนาดชิ้น ก้าง ผิวหนัง และความบริสุทธิ์ของเกลือแกงที่ทำให้ การดูดซึมเกลือแกงไม่สม่ำเสมอทั่วทั้งชิ้นปลาเดียวกัน (Piggott and Tucker, 1990) นอกจากนี้จาก การศึกษาของ Bligh and Duclos-Rendell (1986) พบว่า การแช่ชิ้นปลาดิบในสภาวะสุญญากาศทำให้ชิ้นปลามีปริมาณเกลือแกงเพิ่มขึ้นจาก 5 เป็น 28 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) การเคล้าปลาในสภาวะสุญญากาศ ทำให้เนื้อปลาดูดซับน้ำมาริเนตได้ดีกว่าสภาวะบรรยากาศ เนื่องจากจะเกิดความแตกต่างของแรงดันภายในถังผสม ทำให้น้ำมาริเนตเคลื่อนตัวเข้าสู่กล้ามเนื้อได้มาก

จากผลการทดลอง แสดงว่า การเคล้าปลาในสภาวะสุญญากาศ ทำให้เนื้อปลาดูดซับน้ำมาริเนตได้ดีกว่าสภาวะบรรยากาศ และการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือแกงจากความเข้มข้น 3 เป็น 6 เปอร์เซ็นต์ มีผลให้ปลาดูดซับปริมาณเกลือแกงได้ดีมากขึ้น อีกทั้งการเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณเกลือแกงเล็กน้อยในการเคล้าแบบบรรยากาศ ในขณะที่ไม่มีผลต่อปริมาณเกลือแกงในตัวอย่าง ที่ใช้น้ำมาริเนตที่ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์เกลือแกงในส่วนหนา และส่วนบางของชิ้นปลานวลจันทร์

4.1.1.2 ปริมาณฟอสเฟต

ตัวอย่างควบคุมมีปริมาณฟอสเฟตในเนื้อปลาระหว่าง 80-98 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทั้งนี้เนื่องจากการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตเป็นการหาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในตัวอย่างแล้วคำนวณในรูปฟอสเฟต ซึ่งฟอสฟอรัสสามารถพบในองค์ประกอบต่างๆ ของเนื้อปลาตามธรรมชาติ ทั้งที่อยู่ในรูปฟอสเฟต เช่น นิวคลีโอไทด์ และฟอสโฟลิปิดของ

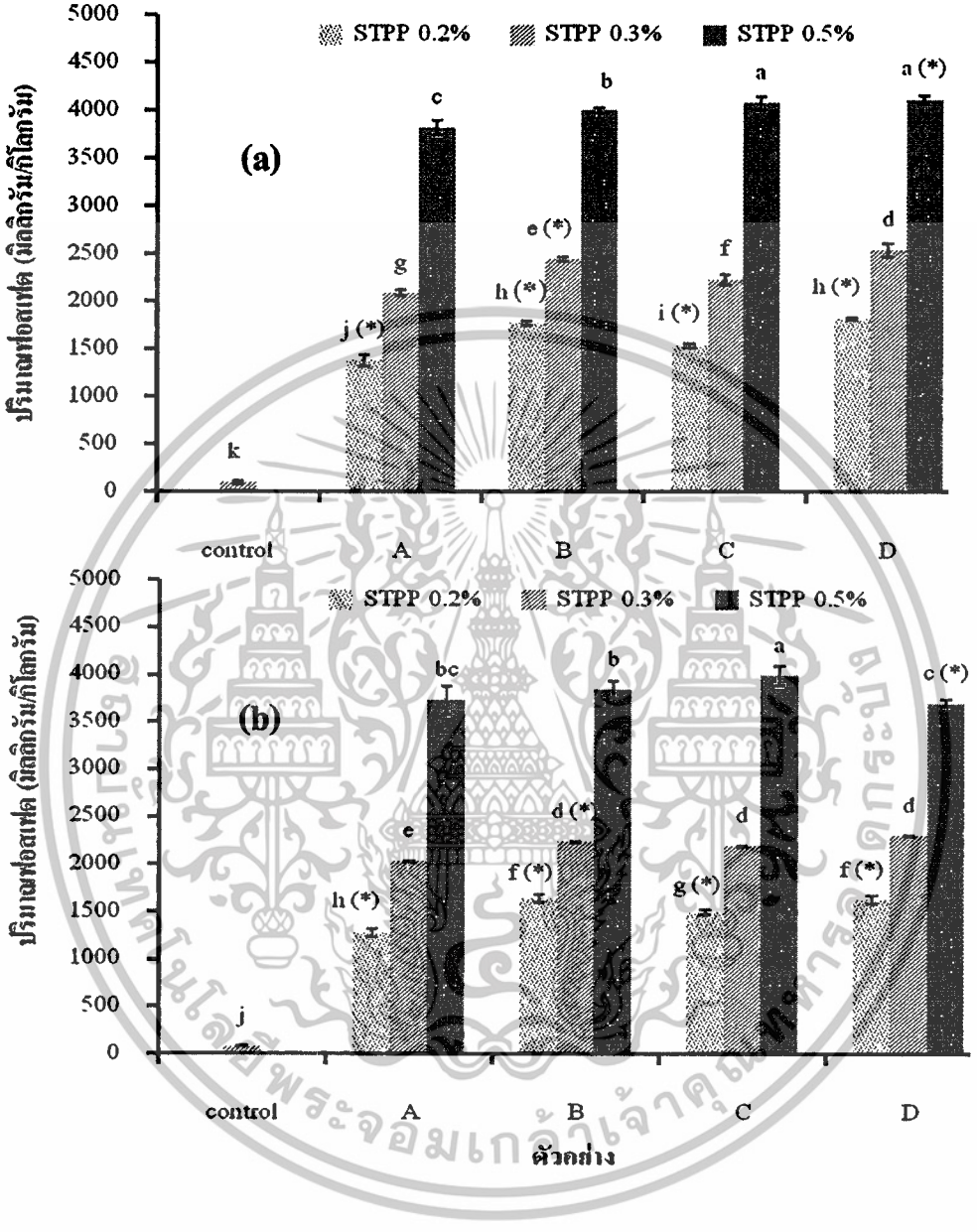
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กล้ามเนื้อปลา เป็นต้น (Lawrie, 1998) เมื่อเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์ในน้ำมาริเนต พบว่า ปริมาณฟอสเฟตเพิ่มขึ้นเป็น 1,272-1,816 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในสภาวะการเคล้าทั้ง 2 สภาวะ ซึ่งมีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุม 13.0-22.7 เท่า แสดงว่าโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตสามารถซึมเข้าสู่เนื้อปลาได้ดี อย่างไรก็ตามโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตสามารถซึมเข้าสู่เนื้อปลาได้ประมาณ 63.6-90.8 เปอร์เซ็นต์ในการเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตต่อน้ำหนักปลา) นอกจากนี้ยังพบว่า การเพิ่มโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตจาก 0.2 เป็น 0.5 เปอร์เซ็นต์ในน้ำมาริเนต มีผลให้ปริมาณฟอสเฟตเพิ่มขึ้นจาก 1,272-1,816 เป็น 3,698-4,114 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในทุกๆ สภาวะการคลุกเคล้า และความเข้มข้นของเกลือแกง (ภาพที่ 4.1) ทั้งนี้เนื่องจาก ตามหลักการแพร่ของสารที่มีความเข้มข้นสูงจะแพร่เข้าสู่ส่วนที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า จนกว่าจะเข้าสู่สมดุลที่ความเข้มข้นของสารเท่ากัน ดังนั้น เกลือฟอสเฟตจึงเคลื่อนที่จากน้ำมาริเนตเข้าสู่เนื้อปลา ซึ่งสารละลายฟอสเฟตมีลักษณะการเคลื่อนตัวของสารละลายเช่นเดียวกันกับเกลือที่เคลื่อนที่จากความเข้มข้นสูงไปส่วนที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า (Unal *et al.*, 2006) แต่อัตราการแพร่กระจายของสารละลายฟอสเฟตจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้น และความหนาของชิ้นปลาด้วย โดยเนื้อปลาที่มีความหนากว่า จะทำให้การแพร่กระจายของสารละลายฟอสเฟตแพร่กระจายได้ทั่วทั้งชิ้นได้ช้า และมีปริมาณน้อยกว่าบริเวณเนื้อปลาที่บางกว่า (Ockerman, 2003)

การเพิ่มปริมาณเกลือแกงในน้ำมาริเนต จากความเข้มข้น 3 เป็น 6 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ปริมาณฟอสเฟตในชิ้นปลาทั้งส่วนหนา (ภาพที่ 4.1a) และส่วนบางเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.1b) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงว่า เกลือแกงอาจช่วยทำให้ชิ้นปลาดูดซับโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตได้ดีขึ้น เช่นเดียวกับที่พบ เมื่อเพิ่มปริมาณโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต เป็น 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจากการเติมเกลือแกงจะส่งผลให้เซลล์กล้ามเนื้อปลาขยายตัว และพองขึ้น ทำให้สารละลายฟอสเฟตสามารถเคลื่อนที่ผ่านเข้าไปในเนื้อปลาได้ (Unal *et al.*, 2006) นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างส่วนหนาและส่วนบางในชิ้นปลาเดียวกัน พบว่า ปริมาณฟอสเฟตในส่วนหนามีแนวโน้มสูงกว่าส่วนที่บางของชิ้นตัวอย่างเดียวกันเล็กน้อย แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ยกเว้น ตัวอย่างปลาที่มีน้ำมาริเนตประกอบด้วย โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์ ที่พบว่า มีปริมาณฟอสเฟตในส่วนบางมีค่าต่ำกว่าส่วนหนาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงว่า การดูดซับฟอสเฟตทั้งในส่วนหนาและส่วนบางของชิ้นปลามีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งตรงกันข้ามกับ การดูดซับเกลือแกงที่พบว่า ในส่วนบางจะดูดซับได้ดีกว่าในส่วนหนา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ความแตกต่างของลักษณะเนื้อปลาบริเวณส่วนหนา และบางมีองค์ประกอบของกล้ามเนื้อต่างกัน อีกทั้ง ชิ้นปลาส่วนบางเป็นส่วนของท้องปลาที่มีโครงสร้างของผังพืดที่แยก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนท้องปลา ทำให้ฟอสเฟตซึมผ่านเข้าไปในชิ้นปลาได้ไม่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับเกลือแกง (Schwartzberg and Chao, 1982)



ภาพที่ 4.1 ปริมาณฟอสเฟตในส่วนหนา (a) และส่วนบาง (b) ของชิ้นปลานวลจันทร์

หมายเหตุ ตัวอย่างควบคุม (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์)

A – เกลือแกงร้อยละ 3 สภาวะการหมักแบบบรรยากาศ

B – เกลือแกงร้อยละ 3 สภาวะการหมักแบบสุญญากาศ

C – เกลือแกงร้อยละ 6 สภาวะการหมักแบบบรรยากาศ

D – เกลือแกงร้อยละ 6 สภาวะการหมักแบบสุญญากาศ

* แทนสัญลักษณ์ของชิ้นปลาส่วนหนา และบางในชิ้นเดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขณะที่การเคล้าชิ้นปลานวลจันทร์ในสภาวะแบบสุญญากาศ (ภาพที่ 4.1) พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับในสภาวะแบบบรรยากาศ โดยการเพิ่มปริมาณเกลือแกง จาก 3 เป็น 6 เปอร์เซ็นต์ และการเพิ่มปริมาณโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตจาก 0.2 เป็น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ปริมาณฟอสเฟตสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อีกทั้งยังพบว่าปริมาณฟอสเฟตในส่วนหนาของชิ้นปลาส่วนใหญ่มีค่ามากกว่าในส่วนบางของชิ้นปลาเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้น ตัวอย่างปลา 2 ตัวอย่าง ที่ผ่านการเคล้าในน้ำมาริเนตที่มีส่วนผสมของเกลือแกง และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต ที่เข้มข้น 3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และ 6 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของลักษณะเนื้อปลาบริเวณส่วนหนา และบางดังที่ได้อภิปรายไปแล้ว อย่างไรก็ตาม การเคล้าชิ้นปลานวลจันทร์ในสภาวะแบบสุญญากาศ ทำให้เนื้อปลาทั้งในส่วนหนาและส่วนบาง มีปริมาณฟอสเฟตสูงกว่าเนื้อปลาที่ผ่านการเคล้าในสภาวะบรรยากาศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับปริมาณเกลือแกงในเนื้อปลา แสดงว่า การเคล้าในสภาวะสุญญากาศทำให้เนื้อปลาดูดซับน้ำมาริเนตได้ดีกว่าการเคล้าในสภาวะบรรยากาศ

อย่างไรก็ตาม ปริมาณฟอสเฟตที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่มีสภาวะการคลุกเคล้าทั้ง 2 แบบ มีค่าต่ำกว่าปริมาณที่ใส่ลงในน้ำมาริเนต แสดงว่าเนื้อปลาไม่สามารถดูดซึมน้ำมาริเนตได้ทั้งหมด ทั้งนี้อาจเนื่องจากชิ้นปลาที่ใช้ไม่ได้ลอกหนัง และเลาะส่วนพังผืดที่ท้องปลาออก จึงขัดขวางการซึมผ่านของเกลือทั้ง 2 และไม่สามารถซึมซับน้ำมาริเนตได้ทั้งหมดภายหลังการเคล้าจึงสามารถสังเกตเห็นน้ำมาริเนตหลงเหลืออยู่ จากผลการทดลองแสดงว่าชิ้นปลาสามารถดูดซึมฟอสเฟตในช่วง 42.40-82.28 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ในการเคล้าตัวอย่างปลาภายใต้สภาวะแบบบรรยากาศ ชิ้นปลามีปริมาณฟอสเฟตต่ำกว่าภายใต้สภาวะสุญญากาศ เนื่องจาก การปรับปรุงกระบวนการเคล้าแบบสุญญากาศ จะช่วยให้น้ำมาริเนตมีการซึมผ่านเข้าสู่เนื้อปลาได้มากขึ้น และยังอาจเพิ่มคุณลักษณะที่ดีของเนื้อสัมผัส กลิ่นรส และสีของผลิตภัณฑ์อีกด้วย (Froning and Sackett, 1985)

4.1.1.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

เมื่อเปรียบเทียบค่าความเป็นกรด-ด่างในตัวอย่างที่ใช้น้ำมาริเนตที่ประกอบด้วยโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตความเข้มข้นที่เท่ากันนั้น พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของเกลือแกงจาก 3 เป็น 6 เปอร์เซ็นต์ในสภาวะการเคล้าแบบบรรยากาศ มีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเพียงเล็กน้อย (ตารางที่ 4.2) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยตัวอย่างปลาที่เติมเกลือแกง 3 และ 6 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเป็นกรด-ด่างในช่วง 6.58-6.62 และ 6.49-6.59 ตามลำดับ แต่การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตทำให้ทุกๆ ตัวอย่างมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่าตัวอย่างควบคุม (6.25) เล็กน้อย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Yaper *et al.* (2006) ที่พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของเกลือแกงจาก 0 เป็น 2 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการแช่ตัวอย่างปลาไน มีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเล็กน้อย แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($p>0.05$) เช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจากเกลือแกงหรือโซเดียมคลอไรด์เป็นเกลือของกรดและ ด่างแก่ จึงแตกตัวได้ทั้งหมดจึงไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของอิออนของไฮโดรเจน ค่าความเป็นกรด-ด่างในตัวอย่างจึงมีค่าไม่แตกต่างกัน แต่การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในน้ำมาริเนต ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตจะแตกตัวให้อิออนของโซเดียมและโพลีฟอสเฟต ซึ่งโพลีฟอสเฟตจะรวมตัวกับน้ำ เกิดเป็นกรดฟอสฟอริกที่เป็นกรดอ่อนที่แตกตัวไม่ทั้งหมด จึงมีแอนอิออนของไฮดรอกซิล (OH^-) เหลืออยู่ ส่งผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยเพิ่มขึ้นระหว่าง 0.24-0.37 สอดคล้องกับการใช้โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในเนื้อสุกร ที่มีผลให้มีสภาวะเป็นด่างสูงขึ้น (Yaper *et al.*, 2006) และยังสอดคล้องกับรายงานของ Kaya (1997) ที่ว่าค่าความเป็นกรด-ด่างจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเกลือแกง และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่

ตารางที่ 4.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ของปลานวลจันทร์

สภาวะการเคล้า	ตัวอย่าง เกลือแกง (%)	ตัวอย่าง โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (%)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้
บรรยากาศ	ตัวอย่างควบคุม		6.25 ± 0.01^{bcd}	0.969 ± 0.003^{c}
	3	0.2	6.58 ± 0.07^{a}	0.979 ± 0.001^{a}
		0.3	6.60 ± 0.12^{a}	0.979 ± 0.002^{a}
		0.5	6.62 ± 0.06^{a}	0.979 ± 0.001^{a}
	6	0.2	6.49 ± 0.19^{a}	0.979 ± 0.001^{a}
		0.3	6.51 ± 0.09^{a}	0.980 ± 0.001^{a}
		0.5	6.59 ± 0.10^{a}	0.980 ± 0.001^{a}
สุญญากาศ	3	0.2	6.30 ± 0.05^{bc}	0.976 ± 0.007^{ab}
		0.3	6.32 ± 0.02^{b}	0.979 ± 0.001^{a}
		0.5	6.32 ± 0.04^{b}	0.980 ± 0.003^{a}
	6	0.2	6.13 ± 0.06^{d}	0.970 ± 0.005^{c}
		0.3	6.16 ± 0.02^{cd}	$0.973\pm.001^{bc}$
		0.5	6.27 ± 0.08^{bcd}	0.973 ± 0.004^{bc}

หมายเหตุ พิจารณาอักษรภาษาอังกฤษ ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับตัวอย่างที่ผ่านการเคล้าในสภาวะแบบสุญญากาศ (ตารางที่ 4.2) พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเกลือแกงในน้ำมาริเนตจาก 3 เป็น 6 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยการเพิ่มความเข้มข้นเกลือแกงจากความเข้มข้น 3 เป็น 6 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วง 6.30-6.32 และ 6.13-6.27 ตามลำดับ อีกทั้งยังมีค่าความเป็นกรด-ด่างใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุม เพราะการควบคุมสภาวะการเคล้าแบบสุญญากาศนี้ ทำให้การดูดซึมน้ำมาริเนตเข้าสู่เนื้อปลามีประสิทธิภาพมากขึ้น และช่วยลดระยะเวลาที่ใช้ในการเคล้าตัวอย่างให้มีผลผลิตเพิ่มมากขึ้น (Chen, 1982) ส่วนการเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในน้ำมาริเนตให้ผลเช่นเดียวกันกับการเคล้าในสภาวะบรรยากาศ โดยพบว่า การเพิ่มโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในน้ำมาริเนต ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) อีกทั้ง ตัวอย่างปลาที่เติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และตัวอย่างควบคุมมีค่าความเป็นกรด-ด่างใกล้เคียงกัน อยู่ในช่วง 6.13-6.32 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ อารยา เชาว์เรืองฤทธิ์ และสิงหนาท พวงจันทร์แดง (2542) พบว่า การแช่เนื้อสุกรในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเข้มข้น 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในเนื้อสุกรเพิ่มสูงขึ้น อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อควบคุม ($p \leq 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบผลของสภาวะการเคล้าทั้ง 2 แบบ พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างปลาที่มีสภาวะการเคล้าแบบบรรยากาศ (6.49-6.62) จะมีค่าสูงกว่าตัวอย่างปลาที่ผ่านการเคล้าแบบสุญญากาศ (6.13-6.32) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงว่าการเพิ่มความเข้มข้นเกลือแกง และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในสภาวะการเคล้าแบบบรรยากาศมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างปลา มีค่าใกล้เคียงกับตัวอย่างปลาสด มีค่าเท่ากับ 6.69 (ไม่ได้แสดงผลการทดลองในข้อมูล) อาจเนื่องมาจากสภาวะสุญญากาศ จะช่วยเพิ่มความสามารถการดูดซับน้ำมาริเนตเข้าสู่กล้ามเนื้อปลาได้มากขึ้น อาจมีผลให้การดูดซับฟอสเฟตเพิ่มมากขึ้น ดังนั้น ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างปลาที่ผ่านการหมักในสภาวะสุญญากาศมีค่าความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่าตัวอย่างปลาที่เคล้าในสภาวะบรรยากาศ ทำให้การเพิ่มความเข้มข้นเกลือแกงและการเคล้าตัวอย่างปลาในสภาวะแบบสุญญากาศ จะส่งผลให้เนื้อปลามีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.1.1.4 ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้

ตัวอย่างควบคุมที่มีส่วนประกอบของเกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ในน้ำมาริเนตมีค่าวอเตอร์แอคติวิตี้เท่ากับ 0.969 ซึ่งต่ำกว่าตัวอย่างเนื้อปลาสด (0.995) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ไม่ได้แสดงผลการทดลองในข้อมูล) เนื่องจากเกลือแกงจะแตกตัวและจับกับน้ำอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่มีอยู่ในเนื้อปลา ทำให้แรงดันออสโมติกเพิ่มขึ้น เกิดการแพร่ของน้ำเกลือเคลื่อนที่เข้าสู่กล้ามเนื้อปลา ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้จึงลดลง (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2547) จากผลการทดลองการเคล้าในสภาวะแบบบรรยากาศ พบว่า ตัวอย่างทุกความเข้มข้นของเกลือแกง และปริมาณโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในน้ำมาริเนต มีค่าวอเตอร์แอคติวิตี้สูงกว่าตัวอย่างควบคุมเล็กน้อย แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.979-0.980 (ตารางที่ 4.2) แต่การเพิ่มความเข้มข้นของเกลือแกงและปริมาณโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตนี้ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เนื่องมาจากเกลือแกงสามารถจับกับน้ำอิสระในผลิตภัณฑ์ ส่งผลให้สารละลายภายในเซลล์ไม่เคลื่อนที่ออกนอกเซลล์ ทั้งนี้อาจเนื่องจากโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีคุณสมบัติ ช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความชุ่มน้ำเพิ่มขึ้น (ศิวาพร ศิเวชช, 2535) แต่การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในสภาวะการเคล้าแบบบรรยากาศไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าวอเตอร์แอคติวิตี้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) อาจเนื่องจากเนื้อปลาดูดซึมน้ำมาริเนตได้ไม่หมด และยังคงมีน้ำมาริเนตหลงเหลืออยู่บ้างภายหลังการเคล้า ส่งผลให้โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีซึมเข้าเนื้อปลาได้น้อย (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2547) หรือ สารประกอบฟอสเฟตทำให้เส้นใยโปรตีนยึดตัวออกจากกันเป็นแอคติน และ ไมโอซิน มีผลให้เนื้อสัตว์มีความชุ่มฉ่ำ และการเก็บรักษาน้ำของเนื้อปลาเพิ่มขึ้น (Toledo, 2006b) นอกจากนี้ อาจเกิดจากการเคลื่อนที่ของน้ำจากภายในกล้ามเนื้อปลาเคลื่อนที่ออกมาที่บริเวณผิวของปลาที่มีความเข้มข้นของเกลือที่สูงกว่า (Piggott and Tucker, 1990)

ในขณะที่ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ของชิ้นปลาที่ผ่านการเคล้าในสภาวะแบบสุญญากาศที่เติมเกลือแกงจาก 3 เป็น 6 เปอร์เซ็นต์ พบว่า มีผลทำให้ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ลดลงเล็กน้อย แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมีค่าวอเตอร์แอคติวิตี้อยู่ในช่วง 0.976-0.980 และ 0.970-0.973 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) แสดงว่า เกลือแกงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าวอเตอร์แอคติวิตี้มากกว่าโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต อีกทั้งยังพบว่า การเพิ่มโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในน้ำมาริเนตมีผลทำให้ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) อีกทั้งพบว่า ตัวอย่างปลาที่คลุกเคล้าด้วยเกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ในน้ำมาริเนตในสภาวะแบบสุญญากาศ กับตัวอย่างควบคุม (คลุกเคล้าน้ำมาริเนตมีเกลือแกงในปริมาณที่เท่ากัน) ตัวอย่างมีค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเคล้าปลาในสภาวะสุญญากาศทำให้เนื้อปลาดูดซึมน้ำมาริเนตหรือหมายถึง เกลือแกงและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตได้เกือบทั้งหมด ปริมาณเกลือทั้ง 2 สูงกว่าจึงอาจทำให้ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นๆ และมีค่าไม่แตกต่างจากตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ของตัวอย่างปลาในสภาวะการคลุกเคล้าทั้ง 2 แบบ พบว่า ที่ความเข้มข้นของเกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ในตัวอย่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่พบว่าการคลุกเคล้าตัวอย่างปลา ทั้ง 2 แบบ ที่ความเข้มข้นเกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ส่งผลให้ตัวอย่างปลาที่ผ่านการเคล้าในสภาวะแบบสุญญากาศ มีค่าวอเตอร์แอคติวิตี้น้อยกว่าสภาวะแบบบรรยากาศเล็กน้อย แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจาก การเคล้าตัวอย่างปลาในสภาวะแบบสุญญากาศ ช่วยเพิ่มการดูดซึมน้ำมาริเนตเข้าสู่เนื้อปลาได้มากขึ้น ส่งผลให้เกลือแกงสามารถซึมผ่านเข้าสู่เนื้อปลาได้มากขึ้น แทนที่น้ำภายในกล้ามเนื้อโปรตีนด้วยเกลือแกง รวมถึงอาจเกิดการสูญเสียน้ำภายในกล้ามเนื้อ อีกด้วย (Ismail and Wootton, 1992) นอกจากนี้ การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในตัวอย่างปลา จะส่งผลให้ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้มีค่าเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นและมีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เพราะโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต ช่วยเพิ่มความสามารถในการเก็บรักษาน้ำของกล้ามเนื้อโปรตีนในส่วนของไมโอไฟบริล (Claus *et al*., 1994) อีกทั้งตัวอย่างที่มีการเคล้าในสภาวะสุญญากาศ จะส่งผลให้น้ำมาริเนตสามารถซึมผ่านเข้าสู่เนื้อปลาได้ดีกว่าตัวอย่างที่ผ่านการเคล้าในสภาวะบรรยากาศ ทำให้เกลือแกงและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตซึมผ่านเข้าเนื้อปลาได้ดี

4.1.1.5 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก

เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในการทดลองนี้ แสดงถึงความสามารถของเนื้อปลาในการดูดซึมน้ำมาริเนตระหว่างการเคล้าในถังผสม ซึ่งเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักมากบ่งถึงชิ้นปลาดูดซึม หรืออุ้มน้ำมาริเนตได้น้อย จากผลการทดลองพบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของเกลือแกงในน้ำมาริเนต ที่เคล้าตัวอย่างปลาในสภาวะแบบบรรยากาศ ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4.3) โดยตัวอย่างปลาที่เติมเกลือแกง 3 และ 6 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอยู่ในช่วง 10.11-10.20 และ 9.50-11.74 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกันกับตัวอย่างปลาที่เพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ตัวอย่างทั้งหมดมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสูงกว่าตัวอย่างควบคุม (7.48±0.32 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และตัวอย่างปลาที่มีน้ำมาริเนตประกอบด้วยเกลือแกง และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต เท่ากับ 6 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (ตามลำดับ) มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 11.74±0.37 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลอง แสดงว่า โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีผลต่อการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเคล้าปลา ซึ่งอาจเนื่องจาก โครงสร้างของมัดกล้ามเนื้อปลาเป็นสายสั้นๆ ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อสามารถดูดซึม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณสารละลายฟอสเฟตได้ในปริมาณน้อย ส่งผลให้การละลายของโปรตีนและการฟอร์มโครงสร้างของโปรตีนและฟอสเฟตไม่สมบูรณ์ (Piggott and Tucker, 1990)

การทดลอง การเคล้าในสภาวะแบบสุญญากาศให้ผลใกล้เคียงกับสภาวะบรรยากาศ (ตารางที่ 4.3) โดยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของทุกๆตัวอย่างมีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือแกงในน้ำมาริเนตไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การเพิ่มโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตจาก 0.2 เป็น 0.5 เปอร์เซ็นต์นั้น ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เพราะโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีคุณสมบัติช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ และเพิ่มปริมาณผลผลิตของเนื้อ (Farr and May, 1976)

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก และเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกของปลานวลจันทร์

สภาวะการเคล้า	ตัวอย่างเกลือแกง (%)	โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (%)	เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก (%)	เปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุก (%)
บรรยากาศ	ตัวอย่างควบคุม		$7.48\pm0.32^{e(*)}$	89.15 ± 1.63^{bcde}
	3	0.2	10.19 ± 0.75^{bcd}	89.39 ± 1.06^{bcde}
		0.3	10.20 ± 1.01^{bcd}	$86.80\pm0.32^{d(*)}$
		0.5	10.11 ± 1.23^{bcd}	$87.49\pm0.74^{de(*)}$
	6	0.2	10.77 ± 1.11^{ab}	88.12 ± 0.86^{cde}
		0.3	9.50 ± 1.04^{bcd}	88.06 ± 0.65^{cde}
		0.5	$11.74\pm0.37^{a(*)}$	$87.88\pm1.51^{de(*)}$
สุญญากาศ	3	0.2	10.50 ± 0.74^{ab}	89.18 ± 1.12^{bcde}
		0.3	9.75 ± 0.44^{bcd}	$90.26\pm0.90^{abc(*)}$
		0.5	8.95 ± 0.62^{d}	$91.14\pm0.51^{ab(*)}$
	6	0.2	10.70 ± 0.84^{abc}	90.20 ± 2.07^{abcd}
		0.3	10.05 ± 0.77^{bcd}	90.49 ± 1.99^{ab}
		0.5	$9.20\pm0.24^{cd(*)}$	$91.70\pm0.67^{a(*)}$

หมายเหตุ พิจารณาอักษรภาษาอังกฤษ ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

พิจารณาสัญลักษณ์ * ตามแนวคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเข้มข้นของเกลือแกงและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเดียวกัน ที่สภาวะการเคล้าต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบสภาวะการคลุกเคล้าตัวอย่างปลาทั้ง 2 แบบ พบว่า เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักไม่มีความแตกต่างกันที่แต่ละความเข้มข้นของเกลือแกงและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในระดับเดียวกัน ยกเว้นตัวอย่างที่ความเข้มข้น 6 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยการเคล้าตัวอย่างปลาในสภาวะแบบบรรยากาศ และสุญญากาศมีค่าเท่ากับ 11.74 และ 9.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากผลการทดลอง แสดงว่า การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในน้ำมาริเนตมีผลให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้น และสภาวะการเคล้าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ดังนั้น การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในน้ำมาริเนต ไม่สามารถเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของมัดกล้ามเนื้อปลานวลจันทร์ในการทดลองนี้ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งตรงกันข้ามกับผลการทดลองของ Woyewoda and Bligh (1986) ที่รายงานว่าการแช่ชิ้นปลาดอดในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 12 เปอร์เซ็นต์ ก่อนกระบวนการแช่เยือกแข็ง สามารถลดการสูญเสียน้ำหนักในขั้นตอนการละลายน้ำแข็ง อีกทั้งสามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตของชิ้นปลาดอดสด ผลการทดลองที่แตกต่างกันนี้อาจเนื่องมาจาก ชิ้นปลานวลจันทร์ที่ใช้ในการทดลองนี้ใช้ตามสภาวะของโรงงานที่ไม่ได้แล่หนังปลา ก้างกลางลำตัว และท้องปลาออก ผิวหนังและพังผืดที่บริเวณท้องปลาอาจขัดขวางการดูดซึมเกลือแกง และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต ทำให้ความเข้มข้นของสารทั้ง 2 ชนิด ในชิ้นปลาไม่สม่ำเสมอและเท่ากันในแต่ละจุด จึงอาจทำให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม

4.1.1.6 เปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุก

สำหรับค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกของชิ้นปลา แสดงถึงการสูญเสียน้ำหนักภายหลังจากการให้ความร้อนกับชิ้นปลาจนสุก ผลการทดลอง ในตัวอย่างจากการเคล้าปลาในสภาวะแบบบรรยากาศ ตัวอย่างปลา มีค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุก อยู่ในช่วง 86.80-89.39 เปอร์เซ็นต์ และไม่แตกต่างกัน อีกทั้งไม่แตกต่างกับตัวอย่างควบคุม (89.15 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4.3) แสดงว่า เกลือแกง และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตไม่สามารถเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของกล้ามเนื้อปลาได้ ทำให้เมื่อผ่านความร้อนจึงสูญเสียน้ำ และของแข็งที่ละลายน้ำได้ ระหว่าง 10.6 - 13.2 เปอร์เซ็นต์

ในตัวอย่างปลาที่เคล้าในสภาวะแบบสุญญากาศให้ผลเช่นเดียวกัน โดยพบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุก อยู่ในช่วง 89.18-91.70 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.3) นอกจากนี้ยังพบว่า การเพิ่มโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในน้ำมาริเนต มีผลให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในสภาวะการเคล้าแบบสุญญากาศ ทำให้การดูดซึมน้ำมาริเนตในเนื้อได้ดีขึ้น ส่งผลให้โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตสามารถซึมเข้าสู่เนื้อปลาได้ดีขึ้น โดยโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีผลให้ประจุลบสุทธิภายในเซลล์เส้นใยกล้ามเนื้อเพิ่มมากขึ้น จึงมีแรงผลักกันทางไฟฟ้าเพิ่มขึ้น และขยายปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขึ้นเกิดการพองตัว และสามารถจับน้ำไว้ในโครงสร้างโปรตีนเพิ่มมากขึ้น (นงนุช รักสกุลไทย, 2538; สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548) ดังนั้นการเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตจึงช่วยให้ชิ้นปลามีการอุ้มน้ำ ทำให้น้ำที่มีอยู่ในเนื้อปลาที่เป็นองค์ประกอบในเซลล์กล้ามเนื้อไม่สูญเสียออกไป และจับน้ำส่วนที่เติมลงไปอีกระหว่างการเคล้าด้วย ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความชุ่มน้ำ และเพิ่มปริมาณผลผลิตมากขึ้นด้วย (ศิวาพร ศิวเวชช, 2535) และเมื่อใช้ร่วมกับเกลือแกงส่งผลให้ประจุลบเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เส้นใยของโปรตีนเกาะรวมตัวกันหลวมๆ และขยายปริมาตรขึ้น เกิดการพองตัว และสามารถจับน้ำไว้ในโครงสร้างโปรตีนเพิ่มมากขึ้น ประกอบกับประจุลบของฟอสเฟตรวมตัวกับแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) และแมกนีเซียมไอออน (Mg^{2+}) ในโครงสร้างโปรตีนเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนขึ้น ทำให้โมเลกุลโปรตีน เป็นอิสระสายโพลิเปปไทด์ จึงถูกแยกตัว และคลายตัวออกจากกันและเกิดการจัดตัวใหม่ของไมโอไฟบริลขึ้น โมเลกุลน้ำจำนวนมากสามารถรวมอยู่ได้โดยไม่เคลื่อนที่ในโครงสร้างตาข่ายโปรตีนที่เกาะรวมตัวกันอยู่ (นงนุช รักสกุลไทย, 2538; Shults *et al.*,1972; Wierbicki *et al.*, 1963)

การเคล้าปลาในสภาวะแบบสุญญากาศมีแนวโน้มให้ค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกสูงกว่าตัวอย่างที่เคล้าในสภาวะแบบบรรยากาศเล็กน้อย แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นตัวอย่างที่เติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่า สภาวะการเคล้าแบบสุญญากาศมีผลทำให้ลดการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุกได้ดังที่ได้อภิปรายไว้แล้วข้างต้น นอกจากนี้ยังพบว่า ตัวอย่างที่เคล้าด้วยเกลือแกงและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 6 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกสูงที่สุด (91.70 เปอร์เซ็นต์) และสูงกว่าตัวอย่างควบคุม (89.15 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.1.1.7 คุณลักษณะทางเนื้อสัมผัส

การวิเคราะห์คุณลักษณะทางเนื้อสัมผัสของตัวอย่าง ที่ผ่านการเคล้าผสมกับน้ำมาริเนตที่มีส่วนผสมของเกลือแกง และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในสภาวะแบบบรรยากาศและสภาวะแบบสุญญากาศ โดยการนำชิ้นตัวอย่างปลามาทำการทดสอบค่าความแข็ง (hardness) ค่าการคืนตัวหรือความยืดหยุ่น (springiness) แรงยึดเกาะ (cohesieveness) และแรงที่ใช้ในการเคี้ยว (chewiness) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.4

ตัวอย่างปลาควบคุมมีค่าความแข็ง 872 นิวตัน ส่วนตัวอย่างที่เติมเกลือแกง 3 และ 6 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำมาริเนตและเคล้าในสภาวะแบบบรรยากาศ มีค่าความแข็งเท่ากับ 582-756 นิวตัน และ 524-566 นิวตัน ตามลำดับ แสดงว่า การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีผลให้ตัวอย่างนุ่มลง ทั้งนี้เนื่องจากโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตจะแทรกอยู่ในกล้ามเนื้อปลา และจับกับน้ำไว้อย่างหลวมๆ ส่งผลให้ปลาอุ้มน้ำได้ดีขึ้น จึงมีปริมาณน้ำในเนื้อสูง ซึ่งการที่มีปริมาณน้ำใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างมากจะส่งผลให้แรงที่ใช้กดลดลง หรือมีค่าความแข็งลดลง ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมใช้เกลือแกงเพียงอย่างเดียว อาจมีผลให้โปรตีนในเนื้อปลาเสียสภาพบางส่วน จึงไม่สามารถอุ้มน้ำได้ดี นอกจากนี้ยังพบว่า ตัวอย่างปลาที่เติมเกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความแข็งมากกว่าปลาที่เติมเกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่า เกลือแกง และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตจะทำงานร่วมกันในการทำให้กล้ามเนื้อปลาอุ้มน้ำได้ดีขึ้น โดยเกลือจะละลายไมโอซินที่อยู่ในเนื้อปลาออกมาทำให้มัดกล้ามเนื้อขยายตัวออก ส่วนโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตจะแทรกเข้าระหว่างกล้ามเนื้อปลา และทำหน้าที่อุ้มน้ำในกล้ามเนื้อ อย่างไรก็ตาม การใช้เกลือแกงเพียงอย่างเดียวไม่สามารถทำให้กล้ามเนื้ออุ้มน้ำได้ดี สอดคล้องกับผลการทดลองที่ตัวอย่างควบคุมมีค่าความแข็งมากกว่าตัวอย่างปลาทุกตัวอย่าง ($p \leq 0.05$) การเพิ่มปริมาณโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในน้ำมาริเนตจาก 0.2 เป็น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ที่มีผลทำให้เนื้อปลามีความแข็งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่การเพิ่มปริมาณเกลือแกงทำให้เนื้อปลาสูญเสียน้ำภายในเซลล์กล้ามเนื้อออกมาภายนอกเซลล์มากขึ้น จะส่งผลในทิศทางตรงกันข้ามเนื้อปลาจึงมีความแข็งเพิ่มขึ้น เนื่องจากในเนื้อปลาสามารถอุ้มน้ำได้น้อยลง

ตารางที่ 4.4 คุณลักษณะทางด้านเนื้อสัมผัสของชิ้นปลานวลจันทร์ที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนต

สภาวะการหมัก	ตัวอย่าง: เกลือแกง (%)	ตัวอย่าง: โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต(%)	ค่าความแข็ง (Hardness) (N)	การคืนตัว (Springiness) (mm)	แรงยึดเกาะ (Cohesieveness)	แรงที่ใช้ในการเคี้ยว (Chewiness)^{ns} (N.mm.)
บรรยากาศ	ตัวอย่างควบคุม		872±56^{a}	0.58±0.04^{b}	0.13±0.02^{ab}	49.30±15.27
	3	0.2	756±28$^{b\,(*)}$	0.59±0.02^{b}	0.13±0.01^{ab}	52.50±7.73
		0.3	669±42$^{c\,(*)}$	0.61±0.04^{b}	0.14±0.01$^{ab\,(*)}$	56.14±13.32
		0.5	582±10$^{d\,(*)}$	0.63±0.10^{ab}	0.15±0.01^{ab}	62.91±8.51
	6	0.2	566±5$^{de\,(*)}$	0.65±0.07^{ab}	0.15±0.04^{ab}	58.92±10.89
		0.3	533±5$^{de\,(*)}$	0.65±0.09^{ab}	0.15±0.01^{ab}	64.19±11.30
		0.5	524.±24^{e}	0.66±0.06^{ab}	0.16±0.01^{a}	65.88±14.45
สุญญากาศ	3	0.2	666±18$^{c\,(*)}$	0.60±0.10^{b}	0.11±0.02^{b}	42.45±11.04
		0.3	562±32$^{de\,(*)}$	0.60±0.16^{b}	0.11±0.02$^{b\,(*)}$	49.03±8.68
		0.5	530±11$^{de\,(*)}$	0.71±0.08^{ab}	0.14±0.01^{ab}	60.22±16.06
	6	0.2	468±8$^{f\,(*)}$	0.70±0.12^{ab}	0.13±0.02^{ab}	50.11±15.09
		0.3	453±7$^{f\,(*)}$	0.73±0.05^{ab}	0.14±0.04^{ab}	59.33±5.87
		0.5	430±57^{f}	0.77±0.02^{a}	0.15±0.02^{ab}	61.36±18.11

หมายเหตุ พิจารณาอักษรภาษาอังกฤษ ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิจารณาสัญลักษณ์ * ตามแนวคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเข้มข้นของเกลือแกงและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเดียวกัน ที่สภาวะการเคล้าต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ในขณะที่ค่าการคืนตัว หรือความยืดหยุ่นเป็นการวิเคราะห์โดยการวัดจากระดับความสามารถในการคืนตัวกลับมาเหมือนเดิมเมื่อถอนแรงกดออกไปตัวอย่างปลาควบคุมที่ค่าการคืนตัวเท่ากับ 0.58 มิลลิเมตรในขณะที่ตัวอย่างที่เติมเกลือแกง 3 และ 6 เปอร์เซ็นต์ในน้ำมาริเนตและการเคล้าในสภาวะบรรยากาศ มีค่าการคืนตัวเท่ากับ 0.59-0.63 และ 0.65-0.66 มิลลิเมตร (ตามลำดับ) ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างควบคุมเล็กน้อย และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ตัวอย่างปลาที่เติมเกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์มีแนวโน้มค่าการคืนตัวมากกว่าตัวอย่างปลาที่เติมเกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์และตัวอย่างควบคุม แสดงว่าการเติมเกลือแกงและ โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตอาจมีผลทำให้เนื้อปลามีค่าการคืนตัวเมื่อถอนแรงกดออกไปเพิ่มขึ้น ทั้งนี้สอดคล้องกับค่าความแข็งของเนื้อปลา โดยเนื้อปลาที่มีเนื้อนุ่มขึ้นอาจส่งผลให้มีการคืนตัวได้มากขึ้นเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่า ตัวอย่างที่เคล้าในสภาวะสุญญากาศให้ผลเช่นเดียวกัน แต่ตัวอย่างปลาที่เติมเกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการคืนตัวสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ค่าแรงยึดเกาะ เป็นค่าที่บ่งถึงความแข็งแกร่งของพันธะภายในมัดกล้ามเนื้อที่ทนต่อการเปลี่ยนรูปก่อนที่พันธะขาดออกจากกันของตัวอย่างปลาส้ม ตัวอย่างปลาควบคุมมีค่าแรงยึดเกาะ 0.13 ส่วนตัวอย่างที่เคล้าในทั้ง 2 สภาวะ มีค่าระหว่าง 0.11-0.16 แสดงว่าการเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตไม่ มีผลต่อแรงยึดเกาะของเนื้อปลา ($p>0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีผลทำให้พันธะกล้ามเนื้อปลามีความแข็งแรง ส่งผลให้โครงสร้างของกล้ามเนื้อปลาทนต่อการเปลี่ยนรูปได้ระยะหนึ่งก่อนที่กล้ามเนื้อจะแตกออกจากกัน โดยโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตช่วยให้โมเลกุลกล้ามเนื้อยึดเกาะกันได้ดี นอกจากนี้ยังพบว่า ตัวอย่างปลาที่เติมเกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแรงยึดเกาะมากกว่าตัวอย่างควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) อีกทั้งการเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในน้ำมาริเนตจาก 0.2 เป็น 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้เนื้อปลามีแรงยึดเกาะไม่ต่างกัน ($p>0.05$) ส่วนแรงที่ใช้ในการเคี้ยวเป็นแรงที่แสดงถึงพลังงานที่ใช้ในการเคี้ยวบดอาหารจนสามารถกลืนอาหารนั้นได้ ซึ่งเป็นคุณสมบัติผสมระหว่างค่าความแข็ง ค่าการคืนตัว และแรงยึดเกาะ ซึ่งมีความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแข็ง การคืนตัว และแรงยึดเกาะที่มีผลต่อแรงที่ใช้ในการเคี้ยวของเนื้อปลา พบว่า ตัวอย่างควบคุมมีแรงที่ใช้ในการเคี้ยว 49.30 นิวตันต่อมิลลิเมตร ส่วนตัวอย่างที่เคล้าในทั้ง 2 สภาวะมีค่าอยู่ระหว่าง 42.45-65.88 นิวตันต่อมิลลิเมตร และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองนี้ใกล้เคียงกับ ค่าการคืนตัวและค่าแรงยึดเกาะ ที่พบว่า ปริมาณเกลือแกง โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสภาวะการเคล้าส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเหล่านี้เพียงเล็กน้อย

ผลการทดลองแสดงว่า คุณลักษณะทางเนื้อสัมผัสของตัวอย่างปลา จะมีความสัมพันธ์กับปริมาณเกลือแกง และปริมาณฟอสเฟตที่เติมลงในเนื้อปลา โดยเฉพาะค่าความแข็ง ที่มีผลต่อเนื้อสัมผัสของตัวอย่างปลาอย่างมาก ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัมผัสของตัวอย่างที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตอยู่ อาจส่งผลต่อคุณภาพของเนื้อปลาภายหลังการหมักเป็นปลาส้มได้

จากการศึกษาผลของปริมาณเกลือแกง เกลือฟอสเฟต และสภาวะการคลุกเคล้าของชิ้นปลาติดก้างพบว่า ปริมาณเกลือแกง โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสภาวะการคลุกเคล้ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด ด่าง และปริมาณน้ำอิสระเพียงเล็กน้อย แต่มีผลต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก และเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังการปรุงสุก รวมถึงการเปลี่ยนแปลงทางด้านเนื้อสัมผัส โดยเฉพาะการลดค่าความแข็ง และการเพิ่มแรงที่ใช้ในการเคี้ยว เมื่อคัดเลือกสูตรที่จะใช้ในการทดลอง โดยการพิจาณาจากการสูญเสียน้ำหนักที่ต่ำและเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังการปรุงสุกที่สูง พบว่า สูตรที่เติมเกลือแกงและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเข้มข้น 3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และสูตรที่เติมเกลือแกงและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเข้มข้น 6 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ใช้สภาวะการเคล้าแบบสุญญากาศทั้งคู่ มีค่าเปอร์เซ็นต์สูญเสียน้ำหนัก 8.95 และ 9.20 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แม้ว่าจะมีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุม (7.48) แต่มีค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังการปรุงสุกเท่ากับ 91.14 และ 91.70 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างควบคุม (89.15) นอกจากนี้ยังมีค่าที่ดีกว่าตัวอย่างสูตรอื่นๆ อีกด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มปริมาณโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตยังมีผลทำให้ปริมาณฟอสเฟตและเกลือแกงในเนื้อปลาที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนตเพิ่มสูงขึ้น การเพิ่มขึ้นของปริมาณฟอสเฟตในผลิตภัณฑ์อาจส่งผลต่อลักษณะผลิตภัณฑ์ปลาส้ม รวมถึงความสามารถในการอุ้มน้ำของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงคัดเลือกสูตรที่ประกอบด้วยโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมากที่สุด นอกจากนี้การเติมเกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์อาจส่งผลให้ผู้บริโภคยอมรับผลิตภัณฑ์ปลาส้มมากขึ้น เนื่องจากการเติมเกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์นั้นได้รับการติเตียนจากผู้บริโภคว่า ผลิตภัณฑ์ปลาส้มมีความเค็มมากเกินไป และมีรสชาติไม่อร่อย

ในการพิจารณาค่าทางเนื้อสัมผัส พบว่า ค่าความแข็งของตัวอย่างที่โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีค่าลดลง ในขณะที่แรงที่ใช้ในการเคี้ยวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย จึงคัดเลือกสูตรที่เคล้าน้ำมาริเนตในสภาวะบรรยากาศมา 1 สูตร ได้แก่ สูตรที่เติมเกลือแกงและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเข้มข้น 6 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีค่าความแข็งใกล้เคียงกับตัวอย่างที่เติมเกลือแกงและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเข้มข้น 3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในสภาวะสุญญากาศ อีกทั้งการเพิ่มระบบสุญญากาศในการเคล้าผสม อาจเป็นการเพิ่มค่าใช้จ่าย ดังนั้นหากการผลิตในระบบบรรยากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถให้ผลิตภัณฑ์ที่ดีและเป็นที่ยอมรับ ก็อาจไม่มีความจำเป็นในการสร้างระบบสุญญากาศในขั้นตอนดังกล่าว ดังนั้น สภาวะที่คัดเลือกในการทดลองขั้นต่อไป มี 3 สภาวะได้แก่

สภาวะ A ตัวอย่างที่เติมเกลือแกงและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเข้มข้น 6 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในสภาวะการเคล้าแบบบรรยากาศ

สภาวะ B ตัวอย่างที่เติมเกลือแกงและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเข้มข้น 6 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในสภาวะการเคล้าแบบสุญญากาศ

สภาวะ C ตัวอย่างที่เติมเกลือแกงและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเข้มข้น 3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในสภาวะการเคล้าแบบสุญญากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของปริมาณเกลือแกง เกลือฟอสเฟต และสภาวะการคลุกเคล้าต่อคุณภาพของปลาส้ม

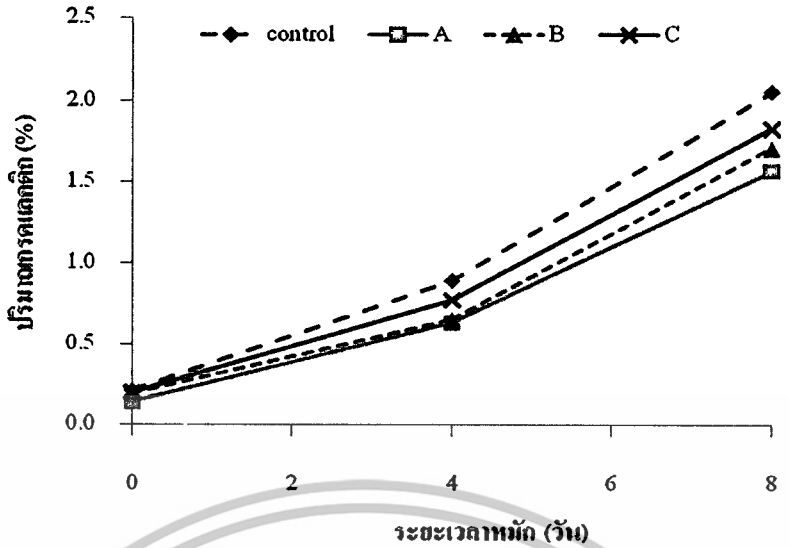
4.2.1 การวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ

เมื่อนำปลาที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนตตามสภาวะคัดเลือกได้ในข้อ 4.1 จำนวน 3 สภาวะ มาดำเนินการผลิตเป็นปลาส้ม ด้วยการผสมคลุกเคล้ากระเทียม และข้าวเหนียวนึ่ง แล้วจึงนำไปหมักที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างปลาที่หมักในวันที่ 0, 4 และ 8 มาวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ ด้านปริมาณกรดทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก เปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุก และคุณลักษณะทางเนื้อสัมผัสของปลาส้ม โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่เป็นปลาส้มที่ไม่ได้เติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต ได้ผลการทดลอง ดังนี้

4.2.1.1 ปริมาณกรดทั้งหมดของปลาส้ม

ปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างควบคุม คิดในหน่วยสมมูลกรดแลคติก พบว่า มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.21 เปอร์เซ็นต์ เป็น 0.89 และ 2.05 เปอร์เซ็นต์ ใน 4 และ 8 วันตามลำดับ (ภาพที่ 4.2) แสดงให้เห็นว่า ในช่วงเริ่มต้นของการหมัก (0-4 วัน) การเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมดเป็นไปอย่างช้าๆ ในขณะที่ช่วงปลายของการหมัก (4-8 วัน) มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจาก กระบวนการหมักปลาส้มนี้ เกิดจากการแข่งขันของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ ซึ่งในช่วงเริ่มต้นของการหมักจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศจะเจริญขึ้นมาก่อน เมื่อปริมาณออกซิเจนลดลงจนเข้าใกล้ศูนย์ แบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้อากาศจะเจริญขึ้นมาแทน โดยเฉพาะแบคทีเรียที่เป็นที่ต้องการในการผลิตอาหารหมัก ได้แก่ แบคทีเรียแลคติกจะเจริญ และสร้างกรดแลคติก (สายสนม ประดิษฐ์ดวง, 2540) จึงส่งผลให้ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว สอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่า ในช่วง 0-4 วัน ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 0.21 เป็น 0.89 เปอร์เซ็นต์ หรือคิดเป็น 37 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณกรดที่สร้างขึ้น ซึ่งเป็นช่วงเริ่มต้นที่แบคทีเรียแลกติกกำลังจะเจริญและเพิ่มจำนวน ในขณะที่ช่วงท้ายของการหมัก เป็นช่วงที่แบคทีเรียแลกติกเจริญและเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 0.89 เป็น 2.05 เปอร์เซ็นต์ หรือคิดเป็น 63 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 ปริมาณกรดทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์) ของปลาส้มสูตรที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ

หมายเหตุ ตัวอย่างควบคุม (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์)

A – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบบรรยากาศ

B – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

C – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

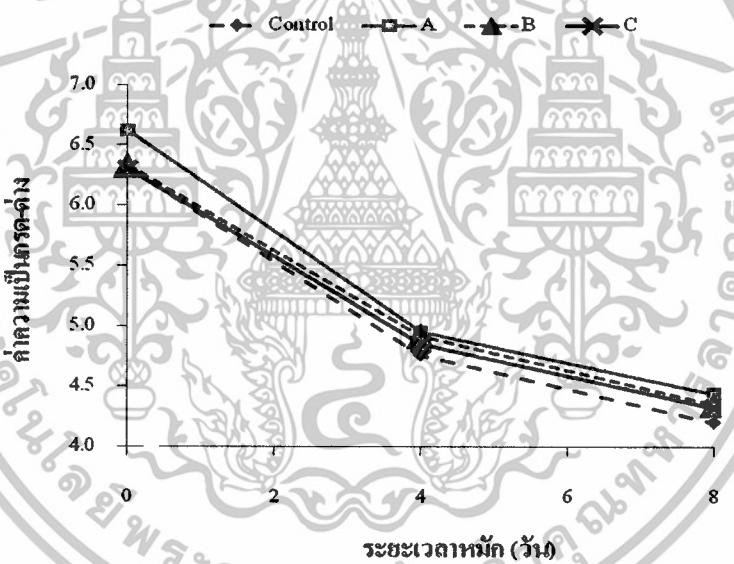
สำหรับในตัวอย่างปลาส้มที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนตตามสภาวะคัดเลือกทั้ง 3 สภาวะนั้น พบว่า แนวโน้มของการเพิ่มปริมาณกรดทั้งหมดคล้ายคลึงกับตัวอย่างควบคุม โดยพบการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมดอย่างช้าๆ ในช่วงแรกของการหมัก และเพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วงท้าย ของการหมัก อย่างไรก็ตามพบว่า ปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างปลานี้มีปริมาณกรดทั้งหมดต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมเล็กน้อย โดยมีค่าเริ่มต้นในช่วง 0.14-0.20 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าการเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตลงในน้ำมาริเนต ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดในปลาส้ม เนื่องจาก โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตจะแตกตัว และทำให้สารละลายมีสภาวะเป็นด่างอ่อน เมื่อซึมเข้าสู่เนื้อปลา จะทำให้ปลามีค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น จึงอาจส่งผลให้ปริมาณกรดในชิ้นปลาส้มลดลง นอกจากนี้ยังพบว่า การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงหรือการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมด โดยพบว่า ตัวอย่างปลาส้มมีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น (1.43-1.63 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม (1.84 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงว่า โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตอาจมีผลต่อการยับยั้ง หรือชะลอการเจริญของแบคทีเรียต่างๆ รวมถึง แบคทีเรียแลคติก เพราะโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเป็นสารถนอมอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือสารควบคุมค่าความเป็นกรดด่าง ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารประเภทหนึ่ง โดยแตกตัวให้กรดฟอสฟอริกที่เป็นกรดอ่อน และมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (Froning *et al.*, 1985)

4.2.1.2 ค่าความเป็นกรด-ด่างของปลาส้ม

การเพิ่มระยะเวลาการหมักมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในตัวอย่างควบคุมมีแนวโน้มลดลง ภาพที่ 4.3) โดยค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงจาก 6.31 เป็น 4.76 และ 4.20 ที่ระยะเวลาการหมัก 4 และ 8 วันตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มปริมาณกรดทั้งหมด อย่างไรก็ตาม การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในช่วงท้ายนั้น เปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย (0.56) นั้น แตกต่างจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมดที่มีค่าเพิ่มขึ้นมากในช่วงท้ายของการหมัก (1.16 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้อาจเนื่องจาก กรดแลคติก และกรดอินทรีย์อื่น เป็นกรดอ่อนที่จะแตกตัวได้เพียงบางส่วน และหากเข้าใกล้ค่า pKa หรือสมดุล ส่งผลให้การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างจะช้าลง



ภาพที่ 4.3 ความเป็นกรด-ด่าง ของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ

หมายเหตุ ตัวอย่างควบคุม (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์)

A – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบบรรยากาศ

B – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

C – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างปลาส้มที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนตตามสภาวะคัดเลือกทั้ง 3 สภาวะนั้น พบการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างเช่นเดียวกับตัวอย่างควบคุม โดยมีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรก และลดลงอย่างช้าๆ ในช่วงท้ายของการหมัก อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างปลาส้มจาก การคลุกคล้าน้ำมาริเนตทั้ง 3 สภาวะในวันที่ 8 ของการหมักนั้น มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (4.32-4.44) สูงกว่าตัวอย่างควบคุม (4.20) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของความเป็นด่างอ่อนๆ ของโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่มีต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ดังที่ได้อภิปรายไปแล้วในข้อ 4.1.1.3 นอกจากนี้ยังพบว่า ตัวอย่าง A ที่คลุกเคล้าน้ำมาริเนตที่ประกอบด้วย เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 0 ของการหมัก มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.62 ซึ่งค่าสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ และตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงว่าการเคล้าน้ำมาริเนตในสภาวะบรรยากาศทำให้การดูดซึมน้ำมาริเนตของเนื้อปลาได้น้อยกว่าสภาวะแบบสุญญากาศ ทำให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อปลาไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก ดังที่ได้อภิปรายไว้แล้วในข้อ 4.1.1.3

4.2.1.3 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของปลาส้ม

เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของปลาส้ม โดยคำนวณจากน้ำหนักของปลาก่อนและหลังการหมัก ซึ่งหากเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักมาก บ่งถึงผลิตภัณฑ์หดตัวมาก และมีปริมาณน้ำซึมออกจากชิ้นปลามาก จากผลการทดลองพบว่า การเพิ่มระยะเวลาการหมักมีผลให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของตัวอย่างควบคุมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.5) โดยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นจาก 0.32 เป็น 20.50 และ 28.22 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 4 และ 8 วันตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจาก การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในปลา ระหว่างการหมักมีผลทำให้โปรตีนเสียสภาพ และสูญเสียสมบัติในการอุ้มน้ำของผลิตภัณฑ์ โดยโปรตีนไมโอไฟบริลของกล้ามเนื้อปลาเกิดการเสียสภาพ และจัดเรียงตัวแน่นขึ้น ของเหลวในกล้ามเนื้อปลาจะถูกขับออกมาภายนอก จึงไม่สามารถกักเก็บน้ำภายในเซลล์ได้ (ปวีณา สังสีโห และเพ็ญแข วิจิตโชติ, 2546)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่าง	ระยะเวลาหมัก (วัน)		
	0	4	8
Control	0.32±0.40 [a]	20.50±0.18 [a]	28.22±0.11 [a]
A	0.27±0.19 [c]	19.52±0.22 [c]	23.93±0.08 [c]
B	0.25±0.20 [d]	19.46±0.50 [d]	23.11±0.24 [d]
C	0.29±0.35 [b]	19.87±0.30 [b]	26.23±0.10 [b]

หมายเหตุ พิจารณาอักษรภาษาอังกฤษ ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอย่างควบคุม (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์)

A – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบบรรยากาศ

B – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

C – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

ตัวอย่างปลาส้มที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนตตามสภาวะคัดเลือกทั้ง 3 สภาวะ มีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างปลาส้มจากการคลุกคล้าน้ำมาริเนตทั้ง 3 สภาวะนั้น มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก (22.86-26.04 เปอร์เซ็นต์) น้อยกว่าตัวอย่างควบคุม (27.90 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และสอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกของตัวอย่างปลาเคล้าน้ำมาริเนตในข้อ 4.1.1.6 ที่พบว่าการเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในน้ำมาริเนตมีผลให้ตัวอย่างปลามีความสามารถในการอุ้มน้ำมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตทำให้เส้นใยโปรตีนยืดตัวออก และล้อมรอบโมเลกุลน้ำเอาไว้ (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2547) เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างปลาส้มที่สภาวะการเคล้าน้ำมาริเนตต่างกัน พบว่า ในสภาวะการเคล้าแบบสุญญากาศมีผลให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่าการเคล้าในสภาวะบรรยากาศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เพราะการควบคุมบรรยากาศในการเคล้าเป็นการช่วยเพิ่มความดันออสโมติกในถังผสม (Froning and Sackett, 1985) ส่งผลให้น้ำมาริเนตที่ประกอบด้วยเกลือแกง และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตสามารถซึมผ่านเข้าไปในกล้ามเนื้อปลาได้มาก จึงทำให้ปลาส้มสามารถอุ้มน้ำได้ดีขึ้นเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1.4 เปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกของปลา

การหาค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกของปลาส้ม แสดงถึงการสูญเสียน้ำหนักของปลาส้มภายหลังจากการให้ความร้อนกับชิ้นปลาจนสุก จากผลการทดลอง ในตัวอย่างควบคุมมีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกลดลง (ตารางที่ 4.6) โดยมีค่าลดลงจาก 93.03 เป็น 80.42 และ 80.49 เปอร์เซ็นต์ ในระยะการหมัก 4 และ 8 วัน ตามลำดับ ซึ่งเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกแสดงถึง ความสามารถของเนื้อในการอุ้มน้ำไว้ภายในผลิตภัณฑ์ สำหรับตัวอย่างปลาส้มที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนตตามสภาวะคัดเลือกทั้ง 3 สภาวะนั้น พบการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกเช่นเดียวกับตัวอย่างควบคุม แต่มีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.6 เปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่าง	ระยะเวลาหมัก (วัน)		
	0	4	8
Control	93.03±0.08^{c}	80.42±1.46^{c}	80.49±1.12^{c}
A	98.59±0.24^{ab}	83.48±0.44^{b}	84.70±1.76^{ab}
B	98.92±0.10^{a}	86.18±0.50^{a}	87.07±1.08^{a}
C	98.29±0.03^{bc}	82.27±0.19^{bc}	82.83±0.55^{bc}

หมายเหตุ พิจารณาอักษรภาษาอังกฤษ ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอย่างควบคุม (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์)

A – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบบรรยากาศ

B – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

C – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

ตัวอย่างปลาส้มทั้ง 3 สภาวะมี ค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุก อยู่ในช่วง 82.83-87.07 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่ามากกว่าตัวอย่างควบคุม (80.49 เปอร์เซ็นต์) แสดงว่าการเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในน้ำมาริเนตมีผลให้กล้ามเนื้อปลามีการอุ้มน้ำได้ดีกว่า ทำให้น้ำที่อยู่ในเซลล์กล้ามเนื้อสูญเสียออกไปในขณะผ่านการปรุงสุกได้น้อยกว่า ปริมาณผลผลิตจึงเพิ่มมากขึ้น โดยโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตทำให้ประจุลบสุทธิภายในเซลล์เส้นใยกล้ามเนื้อเพิ่มมากขึ้น จึงมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แรงผลักกันทางไฟฟ้าเพิ่มขึ้น และขยายปริมาตรขึ้นเกิดการพองตัว และสามารถจับน้ำไว้ในโครงสร้างโปรตีนเพิ่มมากขึ้น (นงนุช รักสกุลไทย, 2538; สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548) นอกจากนี้ตัวอย่าง B ที่มีน้ำมาริเนตที่ประกอบด้วย เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในสภาวะการเคล้าน้ำมาริเนต แบบสุญญากาศ มีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูงกว่าตัวอย่างปลาส้มอื่นๆ และตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกของปลาเคล้าน้ำมาริเนต (ข้อ 4.1.1.6) และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของปลาส้ม (ข้อ 4.2.1.3) ทั้งนี้เนื่องจาก การควบคุมสภาวะการเคล้าแบบสุญญากาศ ส่งผลให้ปริมาณฟอสเฟตในตัวอย่างปลาเพิ่มขึ้น จึงสามารถอุ้มน้ำได้ดีกว่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุกจึงลดลง

4.2.1.5 คุณลักษณะทางเนื้อสัมผัสของปลาส้ม

การวิเคราะห์คุณลักษณะทางเนื้อสัมผัสของปลาส้มสูตรต่างๆ ที่ผ่านการหมักที่ระยะเวลาต่างๆ มาวิเคราะห์ ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer) จากผลการทดลองตารางที่ 4.7 พบว่าตัวอย่างควบคุม มีแนวโน้มของค่าความแข็งเพิ่มขึ้น จาก 668 เป็น 1,644 และ 2,297 นิวตัน ในระยะการหมัก 4 และ 8 วัน ตามลำดับ แสดงว่าในการหมักปลาส้มทำให้ปริมาณน้ำในกล้ามเนื้อปลาลดลง ส่งผลให้เกิดแรงต้านในการกดเนื้อปลาเพิ่มขึ้น หรือมีค่าความแข็งเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในกระบวนการหมักปลาส้ม เกิดการผลิตกรดอินทรีย์ต่างๆ ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำลง เซลล์กล้ามเนื้อจึดเกิดการเสียสภาพและเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อ ดังนั้นค่าความแข็งจึงเพิ่มขึ้น สำหรับการเคล้าน้ำมาริเนตตามสภาวะคัดเลือกทั้ง 3 สภาวะนั้น พบว่ามีแนวโน้มค่าความแข็งเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับตัวอย่างควบคุม แต่มีค่าความแข็งน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีคุณสมบัติในการกักเก็บน้ำภายในเซลล์กล้ามเนื้อปลาจึงเพิ่มความนุ่มในตัวอย่างปลาส้ม แต่ในการหมักปลาส้มในวันที่ 8 พบว่า ตัวอย่างปลาส้มทุกตัวอย่างรวมทั้งตัวอย่างควบคุม มีค่าความแข็งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แสดงว่าโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตไม่สามารถกักเก็บน้ำภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อโปรตีนได้เนื่องจากเกิดการเสียสภาพโปรตีนของกล้ามเนื้อปลาจากสภาวะเป็นกรด ส่งผลให้ค่าความแข็งมีค่าใกล้เคียงกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 คุณลักษณะทางเนื้อสัมผัสของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ตัวอย่าง	ค่าความแข็ง (Hardness) (N)	การคืนตัว (Springiness) (mm.)	แรงยึดเกาะ (Cohesieveness)	แรงที่ใช้ในการเคี้ยว (Chewiness) (N.mm.)
0	control	668±79^{a}	0.59±0.02^{a}	0.13±0.03^{a}	66±13^{a}
	A	604±4^{a}	0.68±0.11^{a}	0.15±0.01^{a}	61±16^{a}
	B	503±16^{b}	0.69±0.08^{a}	0.15±0.02^{a}	47±3^{a}
	C	609±14^{a}	0.62±0.11^{a}	0.14±0.04^{a}	62±24^{a}
4	control	1644±28^{a}	0.60±0.02^{b}	0.22±0.05^{ab}	278±39^{a}
	A	1213±10^{c}	0.65±0.04^{ab}	0.19±0.03^{b}	217±37^{a}
	B	1197±36^{d}	0.67±0.03^{a}	0.27±0.02^{a}	131±14^{b}
	C	1582±44^{b}	0.64±0.04^{ab}	0.17±0.01^{b}	250±62^{a}
8	control	2297±166^{a}	0.45±0.26^{b}	0.24±0.02^{a}	284±64^{a}
	A	2014±162^{a}	0.49±0.27^{a}	0.27±0.02^{a}	212±17^{a}
	B	1961±134^{a}	0.50±0.04^{a}	0.28±0.02^{a}	210±12^{a}
	C	2144±243^{a}	0.47±0.02^{a}	0.26±0.02^{a}	246 ±47^{a}

หมายเหตุ พิจารณาอักษรภาษาอังกฤษ ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันที่การหมักปลาส้มวันเดียวกัน ของแต่ละคุณลักษณะทางเนื้อสัมผัส แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอย่างควบคุม (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์)

A – ตัวอย่างดลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบบรรยากาศ

B – ตัวอย่างดลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

C – ตัวอย่างดลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

สำหรับค่าการคืนตัวของตัวอย่างปลาซึ่งวัดจากความสามารถในการคืนตัวกลับมาเหมือนเดิมเมื่อถอนแรงกดออกไป พบว่า ตัวอย่างควบคุมมีแนวโน้มค่าการคืนตัวลดลงในระหว่างการหมักวันที่ 4 -8 โดยมีค่าการคืนตัวลดลงจาก 0.60 เป็น 0.45 มิลลิเมตร ซึ่งสอดคล้องกับค่าความแข็ง ที่มีผลมาจาก การเสียสภาพของโปรตีน ทำให้โปรตีนสูญเสียความสามารถในการยืดหยุ่น อีกทั้งตัวอย่างที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนตตามสภาวะคัดเลือกทั้ง 3 สภาวะนั้นมีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกับตัวอย่างควบคุม แต่มีค่าการคืนตัวสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในการวัดค่าแรงยึดเกาะในเนื้อปลาส้ม แสดงความแข็งแกร่งของพันธะภายในมัดกล้ามเนื้อ ที่ทนต่อการเปลี่ยนรูปก่อนที่พันธะขาดออกจากกัน พบว่า ตัวอย่างควบคุม มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยมีแรงยึดเกาะเพิ่มจาก 0.13 เป็น 0.22 และ 0.24 ในระยะการหมัก 4 และ 8 วัน ตามลำดับ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับค่าความแข็ง โดยตัวอย่างปลาส้ม ที่มีค่าความแข็งเพิ่มขึ้น เนื่องจากการหดตัวของโปรตีน เมื่อเสียสภาพ ส่งผลให้ความแข็งแกร่งของพันธะภายในเพิ่มมากขึ้นด้วย แต่ในการเริ่มหมักปลาส้มในช่วงแรก และวันที่ 8 ไม่มีผลต่อแรงยึดเกาะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในทุกตัวอย่างรวมทั้งตัวอย่างควบคุม

จากความสัมพันธ์ของค่าความแข็ง ค่าการคืนตัว และแรงยึดเกาะ จะได้ค่าแรงที่ใช้ในการเคี้ยวซึ่งแสดงถึงพลังงานที่ใช้ในการเคี้ยวบดอาหารจนสามารถกลืนอาหารนั้นได้ พบว่าตัวอย่างควบคุมมีแนวโน้มค่าแรงที่ใช้ในการเคี้ยวเพิ่มขึ้น จาก 66 เป็น 278 นิวตันต่อมิลลิเมตร ในวันที่ 4 ของการหมัก และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันที่ 8 ของการหมัก สำหรับตัวอย่างที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนตตามสภาวะคัดเลือกทั้ง 3 สภาวะนั้น มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในลักษณะเดียวกันกับตัวอย่างควบคุม และค่าแรงที่ใช้ในการเคี้ยวผลิตภัณฑ์ในวันที่ 8 ของการหมักนี้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ผลการทดลองคุณลักษณะทางเนื้อสัมผัส แสดงว่า การเติม โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และการปรับเปลี่ยนปริมาณเกลือแกงและสภาวะการคลุกเคล้าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ปลาส้ม โดยพบการเปลี่ยนแปลงของค่าความแข็ง การคืนตัว แรงยึดเกาะ และแรงที่ใช้ในการเคี้ยวเป็นไปในทิศทางเดียวกัน และ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติของผลิตภัณฑ์ที่หมักเป็นระยะเวลา 8 วัน ยกเว้นค่าการคืนตัว

4.2.2 ผลทางจุลชีววิทยาของปลาส้ม

เมื่อนำตัวอย่างปลาส้มวันที่ 0, 4 และ 8 มาวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก และปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด รวมถึงวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลินทรีย์ ตามมาตรฐาน มผช. 26/2548 ของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2548) ได้แก่ *Clostridium perfringens* และ *Escherichia coli* โดยเปรียบเทียบผลทางจุลชีววิทยากับตัวอย่างควบคุมที่เป็นปลาส้ม ผลการทดลองเป็นดังนี้

4.2.2.1 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก

จากการทดลองตัวอย่างปลาส้มที่เติมเกลือแกง และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต รวมทั้ง การควบคุมสภาวะการเคล้าแบบบรรยากาศ และสุญญากาศ (ตารางที่ 4.8) ตัวอย่างควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้นจาก 2.45 เป็น 6.78 และ 8.95 log CFU/g ในระยะเริ่มการหมัก 4 และ 8 วัน ตามลำดับ สำหรับการเคล้าน้ำมาริเนตตามสภาวะคัดเลือกทั้ง 3 สภาวะนั้น พบว่ามีแนวโน้มการเพิ่มปริมาณแบคทีเรียแลคติกเช่นเดียวกับตัวอย่างควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 2.46-2.59 log CFU/g ในการเริ่มการหมัก 6.51-6.68 log CFU/g ในวันที่ 4 ของการหมัก และ 8.56-8.77 log CFU/g ในวันที่ 8 ของการหมัก ซึ่งผลการทดลองนี้ สอดคล้องการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้น และ ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกจะสร้างกรดแลคติกในระหว่างการเจริญ นอกจากนี้ ยังแสดงว่าการเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในตัวอย่างปลาส้ม ไม่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก อีกทั้ง ความเข้มข้นของเกลือแกงในตัวอย่างปลาส้มไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแลคติก โดยมีปริมาณเกลือแกงต่ำกว่าปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับเกลือแกงที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก, 2532) แบคทีเรียแลคติกที่พบปริมาณมากในกระบวนการหมักปลาส้ม คือ *Lactobacillus plantarum* และ *Lb. brevis* โดยมีบทบาทในการสร้างกรด และกลิ่นรส (วิณาวัลย์ เจริญจิระตระกูล, 2536)

ตารางที่ 4.8 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก (log CFU/g)		
	ระยะเวลาหมัก (วัน)		
	0^{ns}	4^{ns}	8^{ns}
control	2.45±0.17	6.78±0.08	8.95±0.04
A	2.58±0.03	6.51±0.09	8.56±0.18
B	2.59±0.15	6.57±0.06	8.77±0.06
C	2.46±0.21	6.68±0.15	8.70±0.29

หมายเหตุ พิจารณาอักษรภาษาอังกฤษ ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอย่างควบคุม (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์)

A – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบบรรยากาศ

B – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

C – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2.2 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด

ปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดของตัวอย่างปลาส้มที่วันที่ 0 มีค่าระหว่าง 6.68-6.82 log CFU/g ทั้งนี้ แบคทีเรียทั้งหมดที่พบในตัวอย่างปลาส้ม อาจเกิดจากการปนเปื้อนมาจากวัตถุดิบ เช่น ปลาสด ข้าวเหนียวนึ่ง กระเทียม เป็นต้น ซึ่งสามารถพบได้ในช่วงแรกของการหมัก เช่น *Staphylococcus, Micrococcus* และ *Bacillus* ซึ่งมีบทบาทในการย่อยสลายโปรตีนจากเนื้อปลา ทำให้มีกลิ่นที่ไม่ดีระหว่างการหมักปลาส้ม (วิฒาวัลย์ เจริญจิระตระกูล, 2536) นอกจากนี้ ในขั้นตอนการเคล้าปลา ยังมีการเก็บปลา ภายหลังจากการเคล้าน้ำมาริเนตไว้ที่อุณหภูมิ 6-10 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง จึงอาจทำให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนขึ้น จนมีค่าสูงถึง 6.68-6.82 log CFU/g ซึ่งมีค่าสูงกว่าที่รายงานโดย ตรี วาทกิจ (2552) ที่รายงานปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างปลาสดมีค่าระหว่าง 5.17-5.23 log CFU/g นอกจากนี้ ในขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ เช่น การควักไส้ การล้างทำความสะอาด รวมถึงการแช่น้ำซาวข้าว ก็มีความสำคัญต่อชนิด และปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบก่อนการผลิตอีกด้วย

ตารางที่ 4.9 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (log CFU/g)		
	ระยะเวลาหมัก (วัน)		
	0[ns]	4	8
control	6.76±0.06	8.96±0.07[a]	7.52±0.28[a]
A	6.82±0.08	8.84±0.11[ab]	7.23±0.08[ab]
B	6.77±0.21	8.56±0.14[b]	6.80±0.11[b]
C	6.68±0.05	8.75±0.07[ab]	7.16±0.09[ab]

หมายเหตุ พิจารณาอักษรภาษาอังกฤษ ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอย่างควบคุม (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์)

A – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบบรรยากาศ

B – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

C – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดของตัวอย่างปลาส้มเพิ่มขึ้นจาก 6.68-6.82 log CFU/g เป็น 8.56-8.96 log CFU/g ในระยะเวลา 4 วัน และลดลงเป็น 6.80-7.52 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการหมัก (ตารางที่ 4.9) เนื่องจากการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดเป็นการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค pour plate และเลี้ยงในสภาวะบรรยากาศ ดังนั้นแบคทีเรียที่เจริญอาจเป็นแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ หรือเป็นแบคทีเรียแลคติกหรือไม่ก็ได้ จากผลการทดลองพบว่า ตัวอย่างควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดสูงกว่าตัวอย่างปลาส้มอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงว่าโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักปลาส้มได้เล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากสารประกอบฟอสเฟตสามารถสร้างสารประกอบเชิงซ้อนกับอนุมูลโลหะ และเกิดการทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ มีผลให้การเข้าออกของสารอาหารที่จำเป็นในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เสียไป ทำให้จุลินทรีย์บาดเจ็บและไม่เจริญเติบโต (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2546) นอกจากนี้ เกลือแกง ไนไตรท์ รวมทั้งกระเทียม อาจยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บางประเภทได้อีกด้วย อย่างไรก็ตาม ในการหมักปลาส้มในวันที่ 4 ตรวจพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มขึ้นจากวันแรกของการหมักปลาส้ม เนื่องจากการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบที่ไม่ถูกยับยั้งโดยส่วนผสมดังที่กล่าวไป ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้จะใช้อากาศ และใช้สารอาหารต่างๆ รวมถึง ผลิตเอนไซม์ในการย่อยสารประกอบที่มีโมเลกุลใหญ่ ให้มีโมเลกุลที่เล็กลง เช่น แป้ง เป็นต้น และเมื่อตรวจหาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ในตัวอย่างปลาส้มในวันที่ 8 ของการหมัก จะพบว่า มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดลดลง ทั้งนี้อาจเกิดจากในสภาวะการหมักปลาส้มมีสภาวะไร้อากาศ และจุลินทรีย์ที่ผลิตกรด เช่น แบคทีเรียแลคติก เจริญเติบโต ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง อยู่ในช่วง 4.20-4.44 (ในข้อ 4.2.1.2) จึงมีสภาวะไม่เหมาะสมกับการเจริญ จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดจึงลดลง อย่างไรก็ตาม ปริมาณแบคทีเรียแลคติกจากการตรวจนับบนอาหาร MRS ในสภาวะไร้อากาศ มีค่าสูงกว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่ตรวจนับบนอาหาร PCA ในสภาวะมีอากาศ แสดงว่า แบคทีเรียแลคติกส่วนใหญ่จะเจริญได้ดีกว่าในอาหารที่มีน้ำตาลสูง และในสภาวะไร้อากาศ

สำหรับการเปลี่ยนสภาวะการเคล้าเป็นแบบบรรยากาศ จะพบปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยการเปลี่ยนสภาวะการเคล้าแบบสุญญากาศ มีผลให้ส่วนผสมต่างๆ สามารถซึมเข้าเนื้อปลาได้มากขึ้น ทำให้ตัวอย่างปลาส้มมีปริมาณเกลือแกง และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตได้เพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีขึ้นอีกด้วย

4.2.2.3 ปริมาณเชื้อ *Clostridium perfringens*

C. perfringens เป็นเชื้อที่ต้องตรวจไม่พบในผลิตภัณฑ์ปลาส้ม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548) จากผลการทดลอง (ตารางที่ 4.10) พบว่า ตัวอย่างปลาส้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *C. perfringens* ในตัวอย่างวันที่ 0 และไม่พบการเจริญจนสิ้นสุดระยะเวลาในการหมัก รวมทั้งตัวอย่างควบคุม สำหรับการปนเปื้อนของเชื้อ *C. perfringens* พบทั่วไปในดิน น้ำ อาหาร ฝุ่นละออง เครื่องเทศ และระบบทาง เดินอาหารของคน และสัตว์ (มัทนา แสงจินดาวงษ์, 2548) การไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *C. perfringens* อาจเนื่องจากตัวอย่างปลาสด อาจไม่มีเชื้อดังกล่าวปนเปื้อน น้ำมาริเนตที่ใช้ในทุกๆ สูตรรวมถึงสูตรควบคุม มีการเติมไนไตรท์ 0.16 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำหนัก (ปลาสด) นอกจากนี้ การเติมเกลือแกง ยังอาจยับยั้งการเจริญได้อีกด้วย แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเชื้อที่ปนเปื้อนในอาหารด้วย (Labbe, 1989) จากผลของเกลือแกง และไนไตรท์ ทำให้ภายหลังขั้นตอนการคลุกเคล้า และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 6-10 องศาเซลเซียสนาน 12 ชั่วโมง จึงตรวจไม่พบเชื้อดังกล่าว จากการศึกษาของ Labbe (1989) พบว่า เกลือแกงเข้มข้น 5-6 เปอร์เซ็นต์ ก็สามารถยับยั้งการเจริญได้ และการใช้ไนไตรท์ร่วมกับเกลือแกงในปริมาณต่ำ ทั้งสองชนิดให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *C. perfringens* เช่นกัน ซึ่งการทดลองนี้เติมเกลือแกง และไนไตรท์ จึงทำให้เกิด การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. perfringens* ในระหว่างกระบวนการหมักปลาส้ม

ตารางที่4.10 ปริมาณเชื้อ *Clostridium perfringens* ของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อ *Clostridium perfringens* (ใน 0.1 g)		
	ระยะเวลาหมัก (วัน)		
	0	4	8
Control	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
A	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
B	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
C	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ

หมายเหตุ ตัวอย่างควบคุม (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์)

A – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบบรรยากาศ

B – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

C – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2.4 ปริมาณเชื้อ *Escherichia coli*

ข้อกำหนดตามมาตรฐานชุมชนกำหนดให้มีเชื้อ *E. coli* น้อยกว่า 10 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม (โดยวิธีเอ็มพีเอ็น) ในผลิตภัณฑ์ปลาส้ม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548) ผลการทดลอง พบว่า ตลอดระยะเวลาการหมักปลาส้ม 8 วัน (ตารางที่ 4.11) ตรวจพบเชื้อ *E. coli* จำนวน 12.00– 35.50 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม(โดยวิธีเอ็มพีเอ็น) แสดงให้เห็นว่า เชื้อ *E. coli* สามารถพบปนเปื้อนได้ทั่วไปในวัตถุดิบ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) ซึ่งจากการทดลองนี้อาจมาจาก ปลาสด กระเทียม และข้าวเหนียวนึ่ง ในการเริ่มการหมักปลาส้ม พบว่า มีปริมาณเชื้อ *E. coli* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่า ปริมาณเกลือแกง และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต อาจจะมีผลในทำยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ โดยในตัวอย่าง B มีปริมาณเชื้อ *E. coli* น้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 14.00 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม (โดยวิธีเอ็มพีเอ็น) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในตัวอย่างมีปริมาณเกลือแกง และฟอสเฟต เท่ากับ 3.97-4.07 เปอร์เซ็นต์ และ 3,698-4,114 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ในข้อ 4.1.1.1-4.1.1.2) ซึ่งอาจมีผลให้ยับยั้ง การเจริญของเชื้อ *E. coli* ซึ่งเกิดได้ในช่วงการมาริเนตที่อุณหภูมิ 6-10 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง ก่อนนำมาผลิตเป็นปลาส้ม รองลงมาคือตัวอย่าง A มีปริมาณเชื้อ *E. coli* เท่ากับ 15.00 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม (โดยวิธีเอ็มพีเอ็น) ซึ่งมีปริมาณเกลือแกง และฟอสเฟต ใกล้เคียงกับตัวอย่าง B ซึ่งมีปริมาณเกลือแกงอยู่ในช่วง 2.38-3.02 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณฟอสเฟต 3,992-4,074 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ตัวอย่างทั้ง 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้งนี้ยังมีปริมาณเชื้อ *E. coli* น้อยกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่มีค่าเท่ากับ 26.00 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม (โดยวิธีเอ็มพีเอ็น) แสดงว่าโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีผลในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ และในตัวอย่าง C มีการเติมเกลือแกงเพียง 3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยกว่าตัวอย่างอื่นๆ ที่มีการเติมเกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ พบปริมาณเชื้อ*E. coli* มีค่าเท่ากับ 35.50 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม (โดยวิธีเอ็มพีเอ็น) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณ เชื้อ *E. coli* ในวันที่ 4 ของการหมัก ที่มีปริมาณการตรวจพบได้มากกว่าตัวอย่างอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงว่าปริมาณเกลือแกงมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ซึ่งร่วมกับผลของปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรด-ด่างที่เกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการหมักด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 ปริมาณเชื้อ *E. coli* ของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อ *E. coli* (MPN/g)		
	ระยะเวลาหมัก (วัน)		
	0	4	8 ns
Control	26.00±4.24 a	< 3 b	< 3
A	15.00±5.65 b	< 3 b	< 3
B	14.00±0.00 b	< 3 b	< 3
C	35.50±0.71 a	12.00±4.24 a	< 3

หมายเหตุ พิจารณาอักษรภาษาอังกฤษ ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอย่างควบคุม (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์)

A – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบบรรยากาศ

B – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

C – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

ปริมาณเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างปลาส้ม C มีค่ามากกว่าตัวอย่างปลาส้มสูตรอื่นๆ ส่งผลให้ใช้ระยะเวลาในการลดลงของเชื้อให้อยู่ภายใต้มาตรฐาน ช้ากว่าตัวอย่างอื่นๆ อาจเนื่องจากตัวอย่างปลาส้ม C เติมเกลือแกงเพียง 3 เปอร์เซ็นต์ และตามขั้นตอนการเคล้าผสมปลาจะมาริเนตในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-6 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งการใช้เกลือแกงที่ความเข้มข้นต่ำร่วมกับอุณหภูมิต่ำ และกระเทียม อาจไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อชนิดนี้ได้ ในขณะที่ตัวอย่าง อื่นๆ เคล้าปลาในเกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเกลือแกงที่ความเข้มข้นสูงขึ้น จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ปนเปื้อนมานี้ได้ แม้ว่าเชื้อ *E. coli* สามารถเจริญได้ดีตั้งแต่อุณหภูมิ ที่ 35-37 องศาเซลเซียส และเจริญได้ที่ค่าความเป็นกรดด่างลดลงถึง 4.4 แต่จะลดปริมาณลงตาม การเพิ่มระยะเวลาในการหมัก ซึ่งตัวอย่างปลาส้มที่ผ่านการหมักมากกว่า 4 วัน มีปริมาณเชื้อ *E. coli* น้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม (โดยวิธีเอ็มพีเอ็น) เนื่องจากค่าความเป็นกรดด่างที่ลดลง ตลอดจนการสร้างสารยับยั้งอื่นๆ โดยแบคทีเรียแลคติกจะผลิตกรดแลคติก กรดอะซิติก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ รวมถึงแบคทีเรีย แลคติกบางสายพันธุ์สามารถสร้างแบคเทอริโอซิน ซึ่งสารประกอบเปปไทด์ดังกล่าวจะส่งผลให้โปรตอนถูกขับออกมาทางนอกเซลล์ผ่านทางเมมเบรน ทำให้พลังงานภายในถูกนำออกมาใช้ แบคทีเรียขาดพลังงานและตายในที่สุด (Dolye *et al.*, 1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดสอบทางจุลินทรีย์พบว่า ตัวอย่างปลาส้มทั้ง 3 ตัวอย่าง และตัวอย่างควบคุม มีการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียแลคติกและแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มขึ้นในทิศทางเดียวกัน มีค่าใกล้เคียงกันและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่าง B มีค่าต่ำว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตลอดระยะเวลาการหมัก ($p \leq 0.05$) สำหรับ *C. perfringens* นั้นตรวจไม่พบ และ *E. coli* ลดลงในระหว่างการหมักจนตรวจไม่พบในวันที่ 8

4.2.2.4 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

นำปลาส้มจากปลาที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนตตามสภาวะคัดเลือกได้ในข้อ 4.1 จำนวน 3 สภาวะ มาทดสอบการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน ให้คะแนนความชอบ แบบ 9 – point Hedonic scale (9 = ชอบมากที่สุด และ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด) โดยพิจารณาการยอมรับทางประสาทสัมผัส ทางด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส ความเค็ม ความเปรี้ยว และความชอบโดยรวม (ตารางที่ 4.12) พบว่า ผู้บริโภคให้การยอมรับตัวอย่างปลาส้ม C (เกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์ที่เคล้าในสภาวะแบบสุญญากาศ) โดยให้คะแนนเฉลี่ยการยอมรับในทุกด้านสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และพบว่า ตัวอย่างควบคุมได้คะแนนเฉลี่ยการยอมรับต่ำกว่าตัวอย่างอื่นๆ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับตัวอย่าง A ในทุกๆ การทดสอบ ($p>0.05$)

การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเนื้อปลามีสีคงตัว (ศิวาพร ศิวเวชช, 2535) ส่งผลให้คะแนนความชอบด้านสีในตัวอย่างที่เติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตได้รับคะแนนเฉลี่ยสูงกว่าตัวอย่างควบคุม ในทุกๆ ตัวอย่าง นอกจากนี้โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตยังมีผลต่อกลิ่นรส ในผลิตภัณฑ์อีกด้วย เนื่องจาก การเติมเกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ที่ต่ำกว่าตัวอย่างอื่นๆ และตัวอย่างควบคุมนั้น อาจมีผลต่อการเจริญของเชื้อที่สร้างกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียแลคติก จากผลการทดลองพบว่า เชื้อแบคทีเรียแลคติกมีปริมาณสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ เล็กน้อย (ตารางที่ 4.8) ซึ่งแบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างสารประกอบที่ให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ เช่น กรดอินทรีย์ แอลกอฮอล อัลดีไฮน์ และคีโตนเป็นต้น (Campbell-Platt, 1994) สารประกอบเหล่านี้ เกิดจากการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต ด้วยเอนไซม์ไลเปส และโปรติเอส และสารเหล่านี้ให้กลิ่นรสเฉพาะของอาหารหมักที่ทำให้มีกลิ่นฉุน และรสเปรี้ยวในปลาส้ม (อดิศร เสวตวิวัฒน์, 2542) สำหรับเนื้อสัมผัสนั้นพบว่า ตัวอย่างทั้งหมด รวมถึงตัวอย่างควบคุมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เนื่องจาก ขั้นตอนการทดสอบทางประสาทสัมผัสนี้ จะทำให้ตัวอย่างสุกด้วยการทอด จึงอาจส่งผลให้คะแนนเนื้อสัมผัสเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันกันทางสถิติ ($p>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของปลาส้ม

ตัวอย่าง	คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส					
	สี	กลิ่นรส	เนื้อสัมผัส^{ns}	ความเค็ม	ความเปรี้ยว	ความชอบโดยรวม
control	5.97±1.35^{b}	5.35±1.63^{c}	5.67±1.50	4.72±1.77^{b}	4.47±1.55^{c}	4.83±1.77^{c}
A	6.27±1.23^{b}	5.57±1.60^{bc}	5.95±1.44	4.63±1.98^{b}	4.38±1.66^{c}	5.17±1.92^{bc}
B	6.15±1.27^{b}	5.90±1.85^{ab}	5.95±1.56	4.85±1.93^{b}	4.93±1.69^{b}	5.52±1.95^{b}
C	6.72±1.29^{a}	6.13±1.51^{a}	6.03±1.55	5.87±1.59^{a}	5.72±1.40^{a}	6.48±1.40^{a}

หมายเหตุ พิจารณาอักษรภาษาอังกฤษ ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอย่างควบคุม (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์)

A – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบบรรยากาศ

B – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

C – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

สำหรับคะแนนความเค็มนั้น เป็นที่ชัดเจนว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบด้านความเค็มของตัวอย่าง C (5.87) สูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ ทุกตัวอย่าง (4.72-4.85) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($p \leq 0.05$) แสดงว่า การเติมเกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสเค็มเกินไป จึงไม่เป็นที่ยอมรับ นอกจากนี้ การลดปริมาณเกลือแกง หรืออีกนัยหนึ่งคือ การลดความเค็ม ส่งผลให้การรับรสทางประสาทลิ้น ของรสเปรี้ยวเด่นชัดขึ้น ตัวอย่าง C จึงได้รับคะแนนสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ ทุกตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($p \leq 0.05$) ผลิตภัณฑ์ปลาส้ม C ยังมีเปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมดและค่าความเป็นกรด-ด่าง ใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุมอีกด้วย เมื่อทดสอบความชอบโดยรวม พบว่า ตัวอย่าง C เป็นที่ยอมรับมากกว่า และสอดคล้องกับความชอบด้านอื่นๆ ที่มีคะแนนเฉลี่ยในทุกๆ ด้านสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ

จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า ตัวอย่างปลาส้ม C เป็นตัวอย่างที่มีผู้ทดสอบให้การยอมรับมากกว่าตัวอย่างอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อาจเนื่องจากปริมาณเกลือแกงที่เติมลงในน้ำมาริเนต 3 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ปลาส้มมีรสชาติที่ไม่เค็มจนเกินไป และส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีสี กลิ่นรส และความเปรี้ยวเป็นที่ต้องการของผู้ทดสอบ ดังนั้นคะแนนความชอบจึงสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ศึกษาการอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* ในระหว่างผลิตปลาส้ม

เมื่อนำปลาที่ผ่านการคลุกเคล้าน้ำมาริเนต มาผสมกับข้าวเหนียวนึ่ง กระเทียม และผงชูรส ตามสัดส่วน จากนั้นกำหนดพื้นที่บนชิ้นปลา ในการหยดเชื้อ *Salmonella* Rissen กลุ่มซีโรไทป์ C ที่ความเข้มข้น 2 ระดับ คือ 100 และ 10,000 เซลล์ต่อตารางนิ้ว จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ในสภาวะการหมักแบบสุญญากาศ แล้ววิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *S.* Rissen ทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 8 วัน ผลการทดลอง แสดงดังตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 ปริมาณเชื้อ *S.* Rissen ของปลาส้มที่หมักที่ระยะเวลาต่างๆ

ปริมาณเชื้อเริ่มต้น (เซลล์ต่อตารางนิ้ว)	ตัวอย่าง	ระยะเวลาหมัก (วัน)								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8
100	Control	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	C	+	+	+	-	-	-	-	-	-
10,000	Control	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	A	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	C	+	+	+	+	-	-	-	-	-

หมายเหตุ พิจารณาอักษรภาษาอังกฤษ ที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอย่างควบคุม (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์)

A – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบบรรยากาศ

B – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

C – ตัวอย่างคลุกเคล้าน้ำมาริเนต (เกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์) แบบสุญญากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพของการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ในระหว่างกระบวนการหมักของปลาส้มทุกตัวอย่าง รวมทั้งตัวอย่างควบคุม พบว่า ให้ผลเช่นเดียวกัน โดยตรวจไม่พบเชื้อ *S.* Rissen ในวันที่ 3 และ 4 ที่มีเชื้อเริ่มต้น 100 และ 10,000 เซลล์ต่อตารางนิ้ว ตามลำดับ (ตารางที่ 4.13) โดยยืนยันผลด้วยการทดสอบซีโรไทป์ของเชื้อ *Salmonella* จากการตกตะกอนกับ Salmonella polyvalent O-antiserum group A-67 พบว่า เป็น Group C เช่นเดียวกับเชื้อที่เติมลงในชิ้นปลา

การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์ในตัวอย่างที่เคล้ากับน้ำมาริเนต ไม่มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* ในระหว่างการหมัก แต่ปริมาณเชื้อ *Salmonella* มีปริมาณลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจาก ในระหว่างกระบวนการผลิตปลาส้มจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในผลิตภัณฑ์ ที่อาจส่งผลต่อการอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* ซึ่งแบคทีเรียแลคติกที่ปนเปื้อนเช่นกันจะเจริญขึ้น เป็นผลทำให้ปริมาณกรดทั้งหมดสูงขึ้น และค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง อย่างรวดเร็วอยู่ในช่วง 4.00-4.50 (Chung and Goepfert, 1970) สอดคล้องกับผลการทดลองในข้อ 4.2.1.2 ที่ค่าความเป็นกรดด่างของผลิตภัณฑ์ลดลงเท่ากับ 4.20-4.44 ในขณะที่ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 1.57-2.05 เปอร์เซ็นต์ (ข้อ 4.2.1.1) อันเป็นสภาวะไม่เหมาะสมแก่การเจริญของเชื้อ *Salmonella* ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำที่สุดอยู่ประมาณ 4.0 (อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ, 2535) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับพรพิมล เทียนทอง (2548) รายงานว่า เชื้อ *Salmonella* เหลือรอดในผลิตภัณฑ์ประเภทแหนมจำนวน 2 ตัวอย่างจากตัวอย่างแหนม 6 ตัวอย่าง ในวันที่ 3 ของการหมัก เนื่องจากผลของเกลือแกงเข้มข้น 3-4 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 4.54-4.68 ในระหว่างการหมัก และยังสอดคล้องกับ อดิศร เสวตวิวัฒน์ (2533) พบว่า เชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักแหนม มีผลในการยับยั้งและทำลายเชื้อ *Salmonella* ในระหว่างการหมักแหนม นอกจากนี้ กระเทียม มีสาร allicin ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมแกรมลบ (Feldberg *et al.*, 1988) และมีสาร Inulin ที่แบคทีเรียแลคติกจะสร้างเอนไซม์ Inulinase เพื่อย่อย เป็นน้ำตาลฟรุกโตส และใช้เป็นแหล่งพลังงานของการเจริญแบคทีเรียแลคติก (Van Loo *et al.*, 1995) และ น้ำสกัดกระเทียมเข้มข้น 3-5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งและทำลาย เชื้อ *Salmonella* ในปริมาณ 5 log CFU/ml ในระยะเวลา 18-24 ชั่วโมง (อดิศร เสวตวิวัฒน์, 2542) อีกทั้งการใช้กระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับไนไตรท์ 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR สามารถทำลาย เชื้อ *S.* Anatum ให้หมดไปได้ภายในระยะเวลา 30 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมกระเทียมนั้นมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* ในระยะแรกของการหมัก (0-12 ชั่วโมง) (Swetwiwathana *et al.*, 2004)

การเพิ่มปริมาณเชื้อ *Salmonella* เป็น 10,000 เซลล์ต่อตารางนิ้ว มีผลทำให้จำนวนวันในการตรวจพบเพิ่มขึ้น เนื่องจาก การปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้น ทำให้ต้องใช้ระยะเวลาใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทำลายเชื้อ ซึ่งเชื้อ *Salmonella* จะถูกยับยั้งโดยสารต่างๆ ที่แบคทีเรียแลคติกสร้างขึ้นได้มาก หรือน้อยเพียงใดนั้น ขึ้นอยู่กับชนิด และปริมาณที่เชื้อ *Salmonella* ปนเปื้อนอยู่ด้วย (อรนุช อุตรภิชาติ, 2530)

ผลการทดลองดังกล่าว การหมักปลาส้มมีแนวโน้มที่จะช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์ปลาส้มปลอดภัยจากเชื้อ *Salmonella* เพราะการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมี ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักปลาส้ม นอกจากนี้ การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตลงในน้ำมาริเนตไม่มีผลต่อการเจริญหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

ผลการทดลองการเคล้าน้ำมาริเนตที่มีปริมาณเกลือแกง และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่แตกต่างกันในชิ้นปลานวลจันทร์ติดก้าง พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของเกลือแกงจาก 3 เป็น 6 เปอร์เซ็นต์ (ของน้ำหนักปลา) เนื้อปลามีปริมาณเกลือแกงเพิ่มขึ้นจาก 1.46-2.68 เป็น 2.27-4.35 เปอร์เซ็นต์ (ตามลำดับ) ทั้งในส่วนชิ้นหนา และชิ้นบาง โดยชิ้นปลาบริเวณส่วนบางมีปริมาณเกลือแกงสูงกว่าในบริเวณส่วนหนาของชิ้นปลาเดียวกันเล็กน้อย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) การเพิ่มความเข้มข้นของเกลือแกงยังส่งผลให้เนื้อปลาดูดซับฟอสเฟตเพิ่มขึ้น แต่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ลดลง อีกทั้งไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก และเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุก สำหรับคุณลักษณะทางเนื้อสัมผัสของตัวอย่างปลานั้น การเพิ่มปริมาณเกลือแกงส่งผลให้ค่าความแข็งเพิ่มขึ้น แต่ไม่ส่งผลต่อค่าการคืนตัว ค่าแรงยึดเกาะ และแรงที่ใช้ในการเคี้ยวของตัวอย่างปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในน้ำมาริเนต พบว่า ชิ้นปลาในส่วนหนาดูดซับปริมาณฟอสเฟตมากกว่าในส่วนบางของชิ้นปลาเดียวกัน ($p\leq0.05$) อีกทั้งยังทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นสูงกว่าตัวอย่างควบคุม ($p\leq0.05$) แต่การเพิ่มความเข้มข้นโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตจาก 0.2 เป็น 0.5 เปอร์เซ็นต์นั้น ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุกเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ($p\leq0.05$) การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตทำให้เนื้อปลามีความนุ่มขึ้นมากกว่ากว่าตัวอย่างควบคุม ($p\leq0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่า การเคล้าปลาในสภาวะสุญญากาศ จะส่งผลให้เนื้อปลามีปริมาณเกลือแกง และปริมาณฟอสเฟตในเนื้อปลาสูงกว่าสภาวะการเคล้าแบบบรรยากาศ ($p\leq0.05$) รวมทั้งค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ด้วย แต่สภาวะสุญญากาศทำให้มีปริมาณเกลือแกงเพิ่มขึ้นส่งผลให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ($p\leq0.05$) ในขณะที่สภาวะการเคล้าทั้ง 2 ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก แต่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงด้านคุณลักษณะทางเนื้อสัมผัส โดยเฉพาะค่าความแข็งของเนื้อปลามีค่าลดลงจากการเคล้าในสภาวะแบบบรรยากาศ ($p\leq0.05$) จากนั้นคัดเลือกสภาวะในการเคล้าน้ำมาริเนตจำนวน 3 สภาวะ (เปอร์เซ็นต์เกลือแกง, เปอร์เซ็นต์โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสภาวะการเคล้า) ในการผลิตปลาส้มขั้นต่อไป ได้แก่ สภาวะ A (6, 0.5 และบรรยากาศ) สภาวะ B (6, 0.5 และสุญญากาศ) และสภาวะ C (3, 0.5 และสุญญากาศ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำปลาที่ผ่านการเคล้าน้ำมาริเนตตามสภาวะที่คัดเลือกมาผลิตเป็นปลาส้ม โดยหมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 วัน แล้วนำมาวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ พบว่า การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีผลให้ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่าง มีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) และมีผลทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก เปอร์เซ็นต์ผลผลิตภายหลังปรุงสุก รวมทั้งคุณลักษณะทางเนื้อสัมผัสทางด้านความแข็ง ค่าการคืนตัว แรงยึดเกาะ และแรงที่ใช้ในการเคี้ยวของตัวอย่างปลาส้มลดลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) ในด้านจุลินทรีย์ พบว่า ตัวอย่างน้ำมาริเนตทั้ง 3 ที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเป็นส่วนประกอบ และตัวอย่างควบคุมมีจำนวนแบคทีเรียแลคติกไม่แตกต่างกัน ในระหว่างการหมัก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดของตัวอย่างควบคุมมีจำนวนสูงกว่าตัวอย่างปลาส้มสูตรอื่นๆ ($p \leq 0.05$) ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างปลาส้มในระหว่างการหมักไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *C. perfringens* ในตัวอย่างปลาส้มทุกสูตร อีกทั้งปริมาณเชื้อ *E. coli* ลดลงตามระยะเวลาในการหมัก ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม (โดยวิธีเอ็มพีเอ็น) เมื่อการวิเคราะห์การอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ที่มีเชื้อเริ่มต้น 100 และ 10,000 เซลล์ต่อตารางนิ้ว พบว่า ตรวจไม่พบเชื้อ ในวันที่ 3 และ 4 (ตามลำดับ) แสดงว่า โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตไม่เพิ่มประสิทธิภาพการทำลาย หรือส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *S.* Rissen ในระหว่างการหมักปลาส้ม

ในการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของปลาส้ม พบว่า ตัวอย่างปลาส้มที่สภาวะที่ C (เกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์, โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์ และสภาวะแบบสุญญากาศ) ได้คะแนนการยอมรับมากที่สุดในทุกด้าน ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมได้รับการยอมรับน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ในขั้นตอนการเตรียมน้ำมาริเนตที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเป็นส่วนผสม ควรทำละลายส่วนผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเหวี่ยงที่มีแรงเหวี่ยงสูง แล้วนำไปแช่เย็น(ควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส) ก่อนนำมาเคล้าผสมกับเนื้อปลา เพื่อลดการเสื่อมเสียของเนื้อปลาระหว่างขั้นตอนการเคล้าผสม และสารประกอบฟอสเฟตสามารถกัดกร่อนโลหะได้ ดังนั้นควรใช้เครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่เป็นสแตนเลส หรือพลาสติก

5.2.2 การปรับปรุงขั้นตอนการเคล้าน้ำมาริเนตให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ควรจะมีการตัดแต่งชิ้นปลา โดยการแล่ก้างกลางลำตัวของปลาออก และทำการบั้งบริเวณหนังปลาให้มีขนาดเท่ากันทั้งชิ้น อีกทั้งควรมีควบคุมขนาดของชิ้นปลาให้มีความสม่ำเสมอกัน จะช่วยให้น้ำมาริเนตสามารถซึมเข้าสู่เนื้อปลาได้เท่ากันทั้งชิ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2.3 การผลิตปลาส้มให้มีคุณภาพสม่ำเสมอ อาจมีการเติมเชื้อแบคทีเรียแลคติกลงไปในกระบวนการหมัก เพื่อลดระยะเวลาในการหมักให้น้อยลง และยังยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียได้ รวมถึงจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ซึ่งอาจปนเปื้อนมาในระหว่างกระบวนการหมักปลาส้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กระทรวงสาธารณสุข. 2527. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 (2527) เรื่องวัตถุเจือปนอาหาร. งานควบคุมอาหาร กระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพฯ.

กัญญารัตน์ จูปรางค์. 2550. ผลของเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับการแช่แข็ง และการทำละลายต่อการยับยั้งแบคทีเรียในเนื้อสุกร.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

คณิต วิชิตพันธุ์. 2550. รายงานการวิจัย เรื่อง การศึกษาการเก็บรักษาและการบรรจุปลาส้มเพื่อขยายเวลาในการเก็บและคงคุณลักษณะปลาส้มคุณภาพสูง. สำนักงานคณะกรรมการแห่งชาติและคณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ตรี วาทกิจ. 2552. ผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ (Fishery Product). คณะวิชาอุตสาหกรรมเกษตร วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีนครพนม มหาวิทยาลัยนครพนม, นครพนม.

นงนุช รักสกุลไทย. 2538. การแปรรูปสัตว์น้ำ. ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นฤมน อัศวเกศมณี. 2549. การเก็บถนอมสัตว์น้ำ. คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

นาถสุดา วิศววงศ์. 2522. การศึกษาจุลชีววิทยาของอาหารหมักพื้นบ้าน: ปลาเจ่า ปลาส้ม และส้มฟัก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นันทนา อรุณฤกษ์. 2537. การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรปส์. พิมพ์ครั้งที่ 1. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

นรีกุล สุระพัฒน์ จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์ ปรีชา พุทธาวุฒิไกร สุวณี สุภเวชย์ และ ประมวล เทพชัยศรี. 2526. จุลชีววิทยาทางการแพทย์. สำนักพิมพ์กรุงเทพเวชสาร, กรุงเทพฯ.

บุษกร อุตรภิชาติ, 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. การผลิตเอกสารและตำรา มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา.

บัญชา อุไรกุล. 2542. A brief concept of hurdle technology. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาเรื่องบทบาทของวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวต่ออุตสาหกรรมเกษตร, โรงแรมโลตัสปางสวนแก้ว เชียงใหม่. 22-24 ธันวาคม 2542.

ประเสริฐ สายสิทธิ์. 2514. ผลิตภัณฑ์ประมงและหลักการถนอม. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปวีณา สังสีโห และเพ็ญแข วิจิตโชติ. 2546. การศึกษาปริมาณชนิดของแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในระหว่างการหมักปลาส้ม. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พรพิมล เทียนทอง. 2548. ผลของการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อเชื้อซัลโมเนลลาในระหว่างการผลิตแหนมแบบดั้งเดิม และการผลิตแหนมกึ่งแห้ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก. 2532. กรรมวิธีแปรรูปอาหาร. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

ภานุวัฒน์ ทรัพย์ปรุง. 2547. การปรับปรุงคุณภาพและกรรมวิธีการผลิตปลาเนื้ออ่อนรมควันโดยใช้ชานอ้อย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2548. ผลิตภัณฑ์ประมงไทย. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์. 2547. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

วัชรี ตริตรอง. 2547. การพัฒนากระบวนการผลิตปลาส้มโดยการประยุกต์ใช้หลักการของ HACCP กรณีศึกษา: ปลาส้ม OTOP จังหวัดยโสธร. รายงานสัมมนา (เทคโนโลยีอาหาร) ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วิณาวัลย์ เจริญจิระตระกูล. 2536. อาหารพื้นเมือง ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากจุลินทรีย์. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2539. จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

ศิวาพร ศิวเวชช. 2535. สารประกอบฟอสเฟต:วัตถุเจือปนอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สายสนม ประดิษฐ์ดวง. 2540. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สันต์ บัณฑุกุล. 2498. เกลือที่ใช้ในการทำปลาเค็ม. ข่าวการประมง, 8: 243-268.

สุวรรณ วิรัชกุล. 2531. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาภายหลังการจับ. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2548. เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2548. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: ปลาส้ม. มผช. 26/2548.

อำพล พงศ์สุวรรณ และอารีย์ สิทธิมังค์. 2532. คู่มือการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. โครงการพัฒนาประมง ภาคตะวันออกฉียงเหนือ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ , กรุงเทพฯ.

อารยา เชาว์เรืองฤทธิ์ และสิงหนาท พวงจันทร์แดง. 2542. การปรับปรุงคุณภาพด้านสีและการยับยั้งการเกิดกลิ่นผิดปกติของเนื้อหมูส่วนสะโพกแช่แข็ง.วารสารวิจัย มข. 4(2): 55-62.

อังคณา รัตนพันธ์. 2549. การปรับปรุงคุณภาพและการเก็บรักษาปลาหมัก: ปลาส้ม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาผลิตภัณฑ์ประมง บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2533. ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียต่อซาลโมเนลลาในการหมักแหนม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2542. ผลของสารสกัดกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่พบมากในแหนม (ในหลอดทดลอง). วารสารอาหาร 29(2): 107-115.

อดิศร เสวตวิวัฒน์ และ นภา โล่ห์ทอง. 2534. อาหารเพาะเชื้อสำหรับพรีเอนริชซาลโมเนลลาในแหนม และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการบ่มเชื้อ. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 33(1): 1-12.

อรนุช อุตรภิชาติ. 2530. การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อซาลโมเนลลา และการผลิตกล้าเชื้อผงเพื่อใช้ในการหมักแหนม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ สุวัฒน์ บ่างตระกูลนนท์ ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์ อัญชลี กิจจะการะ และเสกสรรค์ สโมสรสุข. 2535. คู่มือประกอบการวินิจฉัยแบคทีเรียก่อโรคลำไส้ การทดสอบยืนยันซัลโมเนลลาและชิกเกลลา. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข นนทบุรี.

อลิศรา เรืองแสง พรเทพ ถนนแก้ว และไพบูลย์ ด่านวิรุทัย. 2548. การจัดทำดัชนีคุณภาพของอาหารหมักดองประเภทปลาส้มในภาคอีสาน, รายงานการวิจัยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติและ ภาควิชาเทคโนโลยี คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Adams, M.R., R.D. Cook, and D.R. Twiddy. 1987. A study of the fermentation parameters involved in the production lactic preserved fish glucose substrate. Journal of Food Science. 22: 105-114.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

AOAC. Association of Official Analytical Chemists Official Method. 2005. Acidity of Milk Titrimetric Method. 947.05. Official Method of analysis of AOAC international. 18th ed. Maryland, USA.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists Official Method. 2005 . Coliform Group and *Escherichia coli* Microbiological (MPN) Method. 991.14. Official Method of analysis of AOAC international. 18th ed. Maryland, USA.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists Official Method. 2005. Phosphorus (Total) in meat. 969.31. Official Method of analysis of AOAC international. 18th ed. Maryland, USA.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists Official Method. 2005. Salt (chlorine as sodium chloride) in meat. 935.47. Official Method of analysis of AOAC international. 18th ed. Maryland, USA.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists Official Method. 2005. *Salmonella* in Raw, Highly Contaminated Food and Poultry Feed. 995.20. Official Method of analysis of AOAC international. 18th ed. Maryland, USA.

BAM. 2001. Bacteriology Analytical Manual online, Chapter 16, *Staphylococcus aureus*, http//www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-12.html.

Beriain, J.A., M.P. Pena, and J. Bello. 1993. A study of the chemical components which characterize spanish. Journal of Food Chemistry. 48:31-37.

Bligh, E.G., and R. Duclos-Rendell. 1986. Chemical and physical characteristics of lightly salted minced cod (*Gadus morhua*). Journal of Food Science. 51: 76–78.

Brock, T.D., and M.T. Madigan. 1988. Biology of Microorganisms. 5th ed. Prentice-Hall, New York.

Campbell-Platt, G. 1994. Fermented foods a world perspective. Food Research International. 27:253.

Chen, T.C. 1982. Studies on the marinating of chicken parts for deep-fat frying. Journal of Food Science. 47: 1016-1017.

Chung, K.C., and J.M. Goepfert. 1970. Growth of *Salmonella* at low pH. Journal of Food Science. 35:326 – 328.

Clucas, J.R. 1994. Fish Handling, Preservation and Process In the Tropics. Part I. Tropical Products Institute., London.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

D'Aoust, J.Y. 1991. Psychrotrophy and foodborne *Salmonella*. Journal of Food Microbiology. 12:207-16.

Doyle, M.P., L.R. Becuchat, and T. J. Montville. 1997. Food microbiology: Fundamentals and frontiers. Washington D. C. : American Society for Microbiology.

DMSc-ACFS. 2003. Compendium of Methods for Food Analysis. 1st Edition. Department of Medical Sciences (DMSc) and National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards (ACFS).

Dziezak, J.D. 1990. Phosphates improve many foods. Journal of Food Technology. 3: 80-92.

Ewing W.H. 1986. Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae, 4th edition. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.

Farr, A.J., and K.N. May. 1976. The Effect of polyphosphates and sodium choride on cooking yields and oxidative stability of chicken. Poultry Science. 49: 268-275.

Feldbreg, R.R., S.C. Chang, A. N. Kotik, M. Nadler, Z. Neuwirth, D. C. Sundastrom, and N. H. Thompson. 1988. *In vitro* mechanism of inhibition of bacterial cell growth by allicin. Journal of Food Microbiology. 32: 1763-1768.

Fellows, P., and A. Hampton. 1992. Small-scale food processing-A guide for appropriate equipment. Intermediate Technology Publications, London WC1B 4HH, UK.

Froning, G. W., and B. Sackett. 1985. Effect of salt and phosphates during tumbling of turkey breast muscle on meat characteristics. Poultry Science. 64: 1328-1333.

Gram, L., and P. Dalgoard. 2002. Fish spoilage bacteria-problems and solutions. Journal of Biotechnology. 13:262-266.

Gilliland, S.E., T.E. Staley, and L.J. Bush. 1984. Importance of bole tolerance of Lactobacillus acidophilus used as dietary adjunct. Journal of Dairy Science. 67:3045-3051.

Huss, H. H., C. Jeppesen, and L. Gram. 1995. Biopreservation of fish products. A review of recent approaches and results. Journal of Food Science. 4: 5-26.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 1996. *Salmonella* Microorganisms in Foods 5. Blackie Academic & Professional. New York. 217 – 264.

Ismail, N., and M. Wootton. 1992. Fish salting and drying: A review. Asean Food Journal. 7(4):175-182.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ISO 15214. 1998. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of mesophillic lactic acid bacteria Colony Count Technique at 30 °C. Thai Industrial Standards Institute : Bangkok.

Jay, J.M. 1996. Chapter 23: Foodborne gastroenteritis caused by *Salmonella* and *Shigella*. In Modern food microbiology. 5th ed. Chapman & Hall (international Thomson Publishing) Singapore.

Jay, J.M. 2000. Modern Food Microbiology. Gaithersberg: An Aspen Publication.

Kaya, S. 1997. Different Meat Fresh and Freeze-old laying hens after being stored Karkaslarinim different with the addition of salt and phosphate, various features of the proposed Emulsions. Master's Thesis. Institute of Sciences, Pamukkale University, Canada.

Labbe, R. 1989. *Clostridium perfringens*. In Foodborne Bacterial Pathogens. Doyle, M.P., ed., Marcel Dekker, New York.

Lawrie, R.A. 1998. Lawrie's meat science. Cambridge, UK: Technolomic Press.

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

Lee, S.Y. 2004. Microbial safety of pickled fruits and vegetables and hurdle technology. Journal of Food Science. 4:21-32.

Lotong, N., and A. Swetwiwathana . 1990. Microbial Quality and Safety of the Traditional Fermented Pork : Production of Salmonella-free Naem Using Starter Cultures. ASEAN-THAILAND Food Technology Research and Development Project 1985-1990. Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University, Bangkok. September 1990.

Longree, K., and G. Armbruster. 1996. Quantity Food Sanitation. 5th ed. Wiley., New York

Mabesa, R.C., M.M. Castillo, and V.T. Bandian. 1983. Safety Evaluation of Fermented Fish and Shellfish Products:(II) Physical Contaminants. The Philippine Journal of Food Science. 4: 103-107.

Miget, R.J. 1991. Microbiology of crustacean processing: shrimp, crawfish and prawns, *In*: Microbiology of Marine Food Products. D.R. Ward and C. Hackney (eds.). An AVI Book, Van Nostrand Reinhold, New York. 65-87.

Molins, R.A., A.A. Karft, D.G. Olson, and D.K. Hotchkiss. 1984. Recovery of selected bacteria in media containing 0.5% food grade polyphosphates and pyrophosphates. Journal of Food Science. 49:948-953.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Molins, R.A., A.A. Karft, and D.G. Olson. 1985. Effect of phosphate on bacterial growth in refrigerated uncooked bratwurst. Journal of Food Science. 50:531-532.

Morton, R.D. 2001. Aerobic plate count. In Compendium of methods for the microbiological examination of food (Downes FP, Ito K, editor). 4th ed. American Public Health Association: Washington DC. 63-65.

Nete, B., Y.N.P. Yoke Christine, and G. Lone. 2009. Survival and growth of salmonella and Vibrio in som-fak, a Thai low-salt garlic containing fermented fish product. International Journal of Food Microbiology. 134: 223-229.

Olympia, O., H. Ono, A. Shinmyo, and M. Takano. 1992. Lactic acid bacteria in a fermented fishery product, "Burong bangus". Journal Fermentation.73: 193-197.

Orillo, C.A., and C.S. Pedersson. 1968. Lactic acid bacterial fermentation of Burong Dalag. Journal of Microbiology. 16: 1669-1671.

Ostergaard, A., P.K.B. Embarek, J. Yamprayoon, C. Wedell-Neergaard, H. H. Huss, and L. Gram. 1998a. Fermentation and spoilage of Som Fak, a Thai low-salt fish product. Journal of Food Science. 38: 105-112.

Ostergaard, A., P.K. Ben Embarek, C. Wedel-Neergaard, H.H. Huss, and L. Gram. 1998b. Characterization of anti-listerial lactic acid bacteria isolated from Thai fermented fish products. Journal of Microbiology. 15: 223-233.

Owens, J.D., and L.S. Mendoza. 1985. Enzymatically hydrolysed and bacterially fermented fishery products. Journal of Food Technology. 20: 273-293.

Paludan-Müller, C., H.H. Huss, and L. Gram. 1999. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Thai low-salt fermented fish product and the role of garlic as substrate for fermentation. Journal of Microbiology. 46: 219-229.

Pederson, C.S. 1979. Microbiology of food fermentations. The AVI Publishing Company, Connecticut.

Piggott, G.M., and B.W. Tucker. 1990. Seafood: Effects of Technology on Nutrition. Marcel Dekker Inc., New York.

Phitakpol, B. 1993. Fish fermentation technology in Thailand. In C. H. Lee & K. H. Steinkraus (Eds.). Fermentation Technology. Tokyo, Japan: United Nation University Press. 155-166.

Post, F.J., G.B. Krishnamurty, and M.D. Flanagan. 1963. Influence of sodium hexametaphosphate on selected bacteria. Journal of Microbiology. 11: 428-430.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Prescott, S.C., and C.G. Dunn. 1959. Industrial Microbiology. 3 rd ed. New York: McGraw-Hill Book Company.

Prost, E. and H. Riemann. 1967. Food-Born Samonellosis. Journal of Microbiology. 21: 496-527.

Riebroy, S., S. Benjakul, W. Visessanguan, K. Kijrongrojana, and M. Tanaka. 2004. Some characteristics of commercial Som-fug produced in Thailand. Journal of Food Chemistry. 88: 527-535.

Sakai, H., G.A. Caldo, and M. Kozaki. 1983. Yeast-flora in Red Burong isda, a fermented fish food in the Philippines. Journal of Agriculture (Japan). 28: 181-185.

Saisithi, P., P. Yongmanitchai, P. Chimanage, C. Wonghalaung, M. Boonyaratanakornit, and S. Maleehuan. 1986. Improvement of a Thai traditional fermented fish product: som-fug. Institute of Food Research and Product Development. Kasetsart University: Bangkok.

Schleifer, K.H., and W. Ludwing. 1995. Phylogenetic relationships of lactic acid bacteria. Blackie Academic and Professional, Glasgow, UK.

Schwartzberg, C.H., and W.M. Chao. 1982. Solute diffusivities in leaching processes. Food Technology. 36(2):73-86.

Shults, G.W., D.R. Russell, and E. Wierbicki. 1972. Effect of condensed phosphates on pH, swelling and water holding capacity of beef. Journal of Food Science. 37: 860-864.

Spencer, J.V., and L.E. Smith. 1962. The effect of chilling chicken fryers in a solution of polyphosphates upon moisture uptake microbial spoilage, tenderness, juiciness and flavor. Journal of Poultry Science. 41:1685.

Swetwiwathana, A., U. Leutz, N. Lotong, and A. Fischer. 1999. Controlling the growth of *Salmonella* Anatum in nham. Effect of meat starter culture, nitrite and garlic, Fleischwirtschaft. 79(9): 124-128.

Swetwiwathana, A., N. Lotong, J. Nakayama, and K. Sonomoto. 2004. Effect of garlic and nitrite on Pediocin PA-1 production of *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 and on the growth of *Salmonella* Anatum in stimulated nham fermentation. Proceedings of the 1st KMITL international Conference on Integration of science & Technology for Sustainable Development. August 25-26 2004. Bangkok, Thailand.

Toledo, R. 2006a. Overview of marination technology. การสัมมนาเชิงปฏิบัติการเรื่อง Processing techniques to improve quality and safety of muscle foods., คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ. 18-21 ธันวาคม 2549.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Toledo, R. 2006b. Functional ingredients in meat marinades. การสัมมนาเชิงปฏิบัติการ เรื่อง Processing techniques to improve quality and safety of muscle foods., คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ. 18-21 ธันวาคม 2549.

Treagan, L., and L. Pulliam. 1982. Medical Microbiology Laboratory Procedures. W.B. Saunders Company: New York.

Unal, S.B., F. Erdogdu, and H.I. Ekiz. 2006. Effect of temperature on phosphate diffusion in meats. Journal of Food Engineering. 76(2):119-127.

Van Loo J., P. Coussement, L. De Leenheer, H. Hoebregs, and G. Smits. 1995. On the presence of inulin and oligofructose as natural in ingredients in the western diet. Journal of Food Science. 35: 525-552.

Wierbicki, E., M.G. Tiiede, and R.C. Burrell. 1963. Determination of meat swelling as a method for investigating the water-binding capacity of muscle protein with low water holding forces. 2. Application of the swelling methodology. Die Fleischwirtschaft. 15: 400-404.

Woyewoda, A.D., and E.G. Bligh. 1986. Efficacy of phosphate blends on stability of cod fillets in frozen storage. Journal of Food Science. 51: 932-935.

Wood, B.J.B. 1992. The Lactic Acid Bacteria. Elsevier Applied Science. London.

Yapar, A., S. Atay, A. Kayacier, and H. Yetim. 2006. Effect of different levels of salt and phosphate on some emulsion attributes of the common carp (*Cyprinus carpio* L.) Food Hydrocolloids. 20:825-830.

Young, L.L., and C.E. Lyon. 1997. Effect of calcium marination on biochemical and textural properties of peri-rigor chicken breast meat. Journal of Poultry Science. 76: 197-201.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การคำนวณน้ำมาริเนต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.1 คำนวณปริมาณของฟอสเฟตในรูปของ P_2O_5 จาก $Na_2P_3O_{10}$ (โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต)

ต้องการน้ำมาริเนตที่มี P_2O_5 เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์

จาก P_2O_5 มีมวลโมเลกุล เท่ากับ 142 กรัม มี P มวลโมเลกุล เท่ากับ 62 กรัม

ถ้าต้องการ P_2O_5 มีมวลโมเลกุล เท่ากับ 0.2 กรัม มี P มวลโมเลกุล เท่ากับ $\frac{0.2 \times 62}{142}$

$= 0.0873$ กรัม

ต้องการน้ำมาริเนตที่มี P มีมวลโมเลกุล เท่ากับ 0.0873 กรัม

จาก P มีมวลโมเลกุล เท่ากับ 93 กรัม มี $Na_2P_3O_{10}$ มวลโมเลกุล เท่ากับ 299 กรัม

ถ้าต้องการ P มีมวลโมเลกุล เท่ากับ 0.0873 กรัม มี $Na_2P_3O_{10}$ มวลโมเลกุล เท่ากับ $\frac{0.04873 \times 299}{93}$

$= 0.2807$ กรัม

ก. 2 คำนวณปริมาณส่วนผสมของน้ำมาริเนต

จากสมการ Marinade composition

$$Cm = Cp \times ((1/0.15)+1))$$

$$Cm = 7.67\ Cp$$

โดย Cm หมายถึง ความเข้มข้นของส่วนประกอบในน้ำมาริเนต

Cp หมายถึง ความเข้มข้นของส่วนประกอบในตัวอย่างปลามาริเนต

ถ้าต้องการเตรียมน้ำมาริเนตปริมาตร 100 มิลลิลิตรที่มีส่วนประกอบของเกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์ ในผลิตภัณฑ์

โดย เกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์ $= 3 \times 7.67 = 23.01$ กรัม

โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์ $= 0.2807 \times 7.67 = 2.15$ กรัม

ไนไตรท์ 0.16 เปอร์เซ็นต์ $= 0.16 \times 7.67 = 1.23$ กรัม

น้ำกลั่น $= 100 - (23.01 + 2.15 + 1.23)$

$= 73.61$ มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.3 ตัวอย่างการคำนวณอัตราส่วนผสมน้ำมาริเนต

สูตรที่ 1 สูตรน้ำมาริเนต อัตราส่วนผสมของเกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 2 สูตรน้ำมาริเนต อัตราส่วนผสมของเกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.3 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 3 สูตรน้ำมาริเนต อัตราส่วนผสมของเกลือแกง 3 เปอร์เซ็นต์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 4 สูตรน้ำมาริเนต อัตราส่วนผสมของเกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 5 สูตรน้ำมาริเนต อัตราส่วนผสมของเกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.3 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 6 สูตรน้ำมาริเนต อัตราส่วนผสมของเกลือแกง 6 เปอร์เซ็นต์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์

โดยนำส่วนผสมของน้ำมาริเนตเตรียมได้ตามอัตราส่วนในตารางที่ ก.1

ตารางที่ ก.1 อัตราส่วนผสมของน้ำมาริเนตในสูตรต่างๆ ที่ใช้ในการหมักปลานวลจันทร์น้ำจืด (ปริมาตรน้ำมาริเนต 100 กรัม)

สูตรที่	เกลือแกง	โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต	ไนไตรท์	น้ำกลั่น
1	23.01	2.15	1.16	73.61
2	23.01	3.28	1.16	72.56
3	23.01	5.38	1.16	70.46
4	46.02	2.15	1.16	50.68
5	46.02	3.28	1.16	49.55
6	46.02	5.38	1.16	47.45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมี และวิธีการวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง และวิธีการเตรียม

ข.1.1 ปริมาณเกลือแกง

ข.1.1.1 ซิลเวอร์ไนเตรต เข้มข้น 0.1 นอร์มอล

ชั่งสารซิลเวอร์ไนเตรต 4.23 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 250 มิลลิลิตร แล้วเก็บไว้ในขวดสีชา

ข.1.1.2 กรดไนตริก เข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์

ข.1.1.3 สารละลายโพแทสเซียมไทโอไซยาเนต เข้มข้น 0.1 นอร์มอล

ชั่งสารโพแทสเซียมไทโอไซยาเนต 9.734 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 250 มิลลิลิตร

ข.1.1.4 สารละลายเฟอริคอลัม

ละลาย แอมโมเนียมเฟอริคซัลเฟต 40 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เติมกรดไนตริกเข้มข้น 2 นอร์มอล จำนวน 2-3 หยด

ข.1.2 ปริมาณฟอสเฟต

ข.1.2.1 กรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น 5 โมลลาร์

นำกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้นมา 414.46 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร

ข.1.2.2 สารละลายวานาเดต-โมลิบเดต

นำสารแอมโมเนียมโมลิบเดต 20 กรัม ละลายในน้ำอุ่น (อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 400 มิลลิลิตร พักไว้ให้เย็น จากนั้นชั่งสารแอมโมเนียมวานาเดต 1 กรัม ละลายในน้ำเดือดปริมาตร 300 มิลลิลิตร ทำให้เย็น แล้วค่อยๆ เติมกรดไนตริกเข้มข้นปริมาตร 140 มิลลิลิตร โดยคนสารละลายขณะเติมกรดไนตริก จากนั้นเติมสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต แล้วปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร

ข.1.2.3 สารละลายฟอสเฟตมาตรฐาน

ชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ที่อบแห้งแล้วน้ำหนัก 3.834 กรัมละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร นำสารละลายมา 25 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ได้สารละลายฟอสเฟตมาตรฐาน 1 มิลลิลิตร เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมฟอสเฟต (mg P_2O_5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.1.3 ปริมาณกรดทั้งหมด

ข.1.3.1 สารละลายฟีนอฟทาลีน เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

ละลายฟีนอฟทาลีน 1 กรัมในเอทานอล 60 มิลลิลิตร แล้วปรับให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

ข.1.3.2 สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 0.1 นอร์มอล

ชั่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัมละลายในน้ำกลั่นที่ต้มแล้ว ปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร เก็บในขวดมีฝาปิด

ข.2 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณเกลือแกง

นำตัวอย่างปลาบดมา 2 กรัม เติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต เข้มข้น 0.1 นอร์มอล ลงไปให้มีปริมาณ 30 มิลลิลิตร เขย่าแล้วเติมกรดไนตริกเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ค่อยๆ อุ่นบนแผ่นให้ความร้อน (hot plate) ประมาณ 15 นาที พักไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร เติมอินดิเคเตอร์ คือสารละลายเฟอริคอลัม ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปไตเตรทกับสารละลายโพแทสเซียมไทโอไซยาเนต เข้มข้น 0.1 นอร์มอล ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตส่วนที่เหลืออยู่ ปฏิกิริยาจะถึงจุดยุติ เมื่อปรากฏตะกอนสีแดงอิฐ จากนั้นคำนวณหาค่าปริมาณเปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ ทั้งหมดในตัวอย่าง (1 มิลลิลิตรของโพแทสเซียมไทโอไซยาเนตเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับโซเดียมคลอไรด์ 0.0058 กรัม) หรือคำนวณจากสมการ (ข.2.1)

$$\text{ปริมาณเกลือแกง} = \frac{0.0058443\,(Y-X) \times 100}{\text{น้ำหนักปลาที่ใช้ (กรัม)}} \qquad \text{(ข.2.1)}$$

เมื่อ Y = จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตเข้มข้น 0.1 นอร์มอลที่ใช้

X = จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายโพแทสเซียมไทโอไซยาเนตเข้มข้น 0.1 นอร์มอลที่ใช้

ข.3 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟต

นำตัวอย่างปลาน้ำหนัก 1.5-2 กรัม แล้วนำไปเผาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 8-12 ชั่วโมง จนเป็นเถ้าสีขาว แล้วเติมกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น 5 โมลลาร์ จำนวน 1 มิลลิลิตร ต้มจนเดือด นาน 10 นาที รอให้เย็น แล้วจึงกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร และสารละลายวานาเดต-โมลิบเดต 2.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ตั้งตัวอย่างทิ้งไว้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ แล้วจึงคำนวณหาปริมาณฟอสเฟตในรูปของ P_2O_5 จากฟอสฟอรัสทั้งหมด ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg)

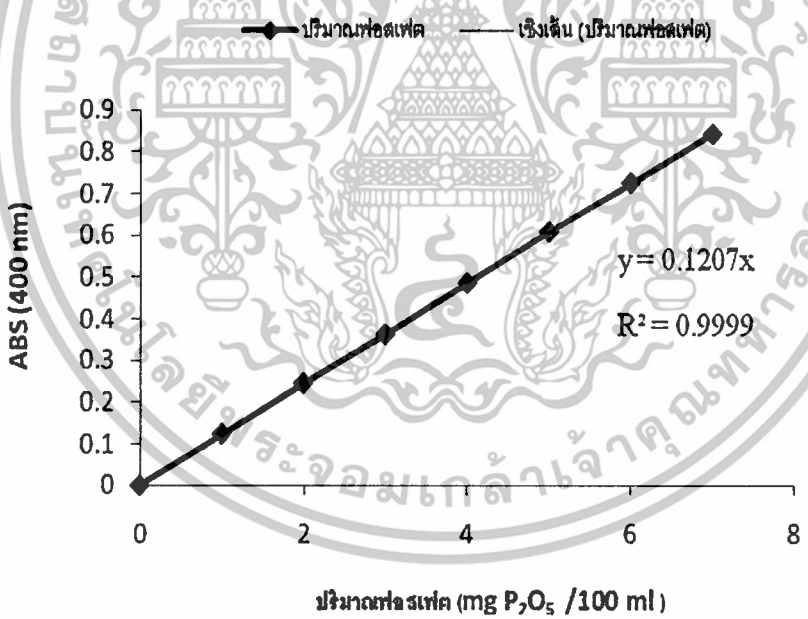
ข.3.1 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

ข.3.1.1 เติมสารละลายฟอสเฟตมาตรฐาน 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น ให้ได้ปริมาตร 50-60 มิลลิลิตร

ข.3.1.2 เติมสารละลายวานาเดต-โมลิบเดต 25 มิลลิลิตร ลงในแต่ละขวด ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นพักไว้ 10 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร

ข.3.1.3 สารละลายทั้ง 8 ขวดมี P_2O_5 อยู่ 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 มิลลิกรัม เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าของ มิลลิกรัมฟอสเฟต ต่อ 100 มิลลิลิตร กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร

ข.3.2 กราฟมาตรฐาน



ภาพที่ ข.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟอสเฟต กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร สมการความสัมพันธ์ของปริมาณฟอสเฟต เป็นสมการดังนี้ $y = 0.1207x$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.3.3 การคำนวณปริมาณฟอสเฟต

จากมวลโมเลกุลของ P_2O_5 141.94 มิลลิกรัม มี P อยู่ 30.97x2 มิลลิกรัม

P_2O_5 มี A มิลลิกรัม มี P อยู่ $\frac{30.97x2x(A)}{141.94}$ = B มิลลิกรัม

ในตัวอย่างมีน้ำหนัก C มิลลิกรัม มี P อยู่ B มิลลิกรัม

ตัวอย่างมีน้ำหนัก 1000 มิลลิกรัม มี P อยู่ $\frac{1000x(B)}{C}$

= D มิลลิกรัมฟอสเฟตต่อ 1000 มิลลิกรัม (mg P_2O_5/1000 mg)

เมื่อ A = ปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่างเจือจาง (มิลลิกรัม)

B= ปริมาณฟอสเฟต

C= น้ำหนักตัวอย่าง (มิลลิกรัม)

D = ปริมาณฟอสเฟตในตัวอย่าง (มิลลิกรัมฟอสเฟตต่อ 1000 มิลลิกรัม)

ข.4 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด

ชั่งตัวอย่างปลาส้มที่บดละเอียดด้วยเครื่องปั่นจำนวน 10 กรัมใส่ในถุงพลาสติก เติมน้ำกลั่นที่ต้มไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 80 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากัน แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และล้างกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง จากนั้นจึงปรับปริมาตรสารละลายให้เป็น 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอฟทาลีน 2-3 หยด ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนกระทั่งถึงจุดยุติ เกิดสีชมพู แล้วคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมด ในหน่วยสมมูลของกรดแลคติก ตามสมการ (ข.4.1)

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด} = \frac{100 \times (N \times V \times 90.01)}{1000 \times W} \qquad \text{(ข.4.1)}$$

เมื่อ N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH

V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.5 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture)

ตรวจวัดคุณภาพลักษณะเนื้อสัมผัสของปลาส้ม ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer) โดยใช้หัววัดแบบหัวตัด HDP/BSK นำตัวอย่างสูตรควบคุมและตัวอย่างที่ต้องการทดสอบขนาด 1x3x1.5 ตารางเซนติเมตร มาวางบนฐานเครื่องวัด และตั้งค่าการทดสอบ ตามวิธีของ Young and Lyon (1997) แล้ววัดค่าความแข็ง (hardness) การคืนตัว (springiness) แรงยึดเกาะ (cohesiveness) และแรงที่ใช้ในการเคี้ยว (chewiness)

ข.5.1 วิธีการทดลอง

ข.5.1.1 ทำการ Calibrate Force และ Calibrate Height ก่อนการวัดทุกครั้ง

ข.5.1.2 ประกอบชุดเครื่องมือ ใช้หัววัดแบบหัวตัด HDP/BSK แบบวัดชิ้นเนื้อ

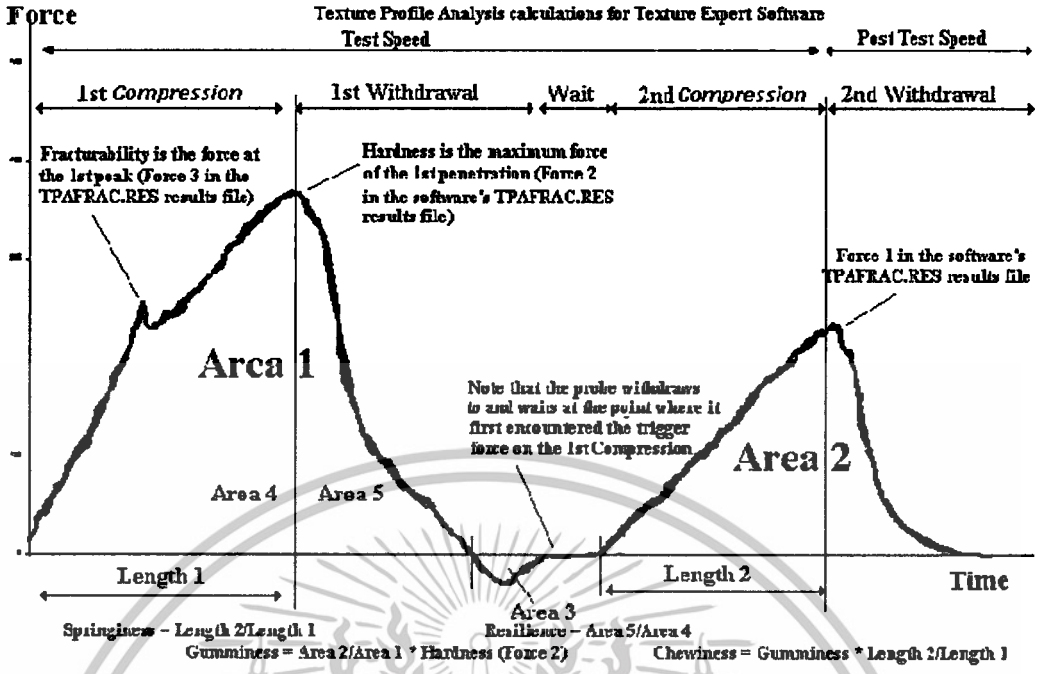
ข.5.1.3 ทำการกำหนดค่าการทดสอบ (T.A. Setting) เลือกรูปแบบหัววัดเป็น HDP/BSK ใช้ load cell ขนาด 1 กิโลกรัม

ข.5.1.4 เลือกรูปแบบการวัดดังนี้

TA Settings:	Mode and Option:	Texture Profile Analysis (TPA)
	Pre-Test Speed:	1.0 mm/s
	Test Speed:	1.0 mm/s
	Post-Test Speed:	10.0 mm/s
	Distance:	15 mm
	Time	5 second
	Trigger Type:	Auto
	Trigger Force:	10 g
	Data Acquisition Rate:	200pps

ข.5.1.5 วางตัวอย่างชิ้นปลาลงบนฐานเรียบ เมื่อเริ่มการวัดเครื่องคอมพิวเตอร์จะแสดงกราฟที่วัดได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ข.2 กราฟการวิเคราะห์ค่า Texture Profile Analysis (TPA)
ที่มา young and Lyon (1997)

ข.5.2 การคำนวณหาค่า Texture Profile Analysis (TPA)

ข.5.2.1 ทำการวิเคราะห์กราฟ โดยใช้โปรแกรมทำการคำนวณหาค่า TPA

ข.5.2.2 คำนวณหาค่าต่างๆ ดังต่อไปนี้

- ค่าความแข็ง (hardness) หน่วย นิวตัน
- การคืนตัว (springiness) หน่วย มิลลิเมตร
- แรงยึดเกาะ (cohesiveness)
- แรงที่ใช้ในการเคี้ยว (chewiness) หน่วย นิวตันต่อมิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และวิธีการเตรียมเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.1 สารเคมี และน้ำยาที่ใช้ในการทดลองและวิธีการเตรียม

ค.1.1 น้ำยาเจือจาง (Dilutent)

1.1.1 Alkaline peptone water

Peptone	5 กรัม	NaCl	10 กรัม
Distilled water (D.W.)	1 ลิตร		

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ปรับค่า pH ให้ได้ 8.5±0.2 เข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

1.1.2 Buttlefield's phosphate buffered

1.1.2.1 การเตรียมสารละลายสต็อก

ละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 34 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ปรับค่า pH ให้ได้ 7.2 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร แล้วเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บในตู้เย็น

1.1.2.2 การเตรียม Dilution blank

ตวงสารละลายสต็อก 1.25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น ตวงใส่ขวดปรับปริมาตร 450 มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่าง 25 กรัม) และปิเปตมา 9 มิลลิลิตรใส่หลอดทดลองขนาด 16x150 มิลลิลิตร นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

1.1.3 Normal saline (0.85 % NaCl)

Sodium choride	8.5 กรัม	น้ำกลั่น	1 ลิตร

ละลายให้เข้ากัน นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ค.1.2 สารเคมี (Reagents)

Kovac indole reagent

Pure amyl หรือ Isoamyl alcohol	50 มิลลิลิตร	p-Dimethylaminobenzaldehyde	10 กรัม
HCl (conc.)	50 มิลลิลิตร		

ละลาย aldehyde ในแอลกอฮอล์ แล้วค่อยๆ เติม HCl เก็บไว้ในขวดสีชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.2 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง และวิธีการเตรียม

ค.2.1 Trypticase (Tryptic) Soy Broth

Trypticase peptone	17 กรัม	Phytone peptone	3 กรัม
NaCl	5 กรัม	K_2HPO_4	2.5 กรัม
Glucose	2.5 กรัม	D.W.	1 ลิตร
Final pH	7.3±0.2		

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายอาหารปริมาตร 225 มิลลิลิตรลงในฟลาส์กหรือขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิด เข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ค.2.2 Plate Count Agar (Standard Method)

Tryptone	5 กรัม	Yeast extract	2.5 กรัม
Dextrose	1 กรัม	Agar	15 กรัม
Final pH	7±0.2		

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายใส่ขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิด นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ค.2.3 de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar

Proteose peptone	10 กรัม	Beef extract	10 กรัม
Yeast extract	5 กรัม	Dextrose	20 กรัม
Sorbitan monooleate complex	1 กรัม	Ammonium citrate	2 กรัม
Magnesium sulfate	0.1 กรัม	Sodium acetate	5 กรัม
Manganese sulfate	0.05 กรัม	Disodium phosphate	2 กรัม
Agar	15 กรัม	น้ำกลั่น	1 ลิตร

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมด หากต้องการเติม bromocresol purple ให้เติมร้อยละ 0.01 นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาท

ค.2.4 Cooked Meat (CM) Medium

Beef heart	454 กรัม	Proteose peptone	20 กรัม
Dextrose	2 กรัม	NaCl	5 กรัม
D.W.	1 ลิตร	Final pH	7.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บด beef heart ให้ละเอียดในน้ำ ต้มจนเดือดและเดี่ยวประมาณ 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นแล้วปรับ pHให้ได้ประมาณ 7.2 ต้มอีก 10 นาที ใช้ผ้าขาวบางกรองเอาแยกเนื้อและน้ำออกจากกัน ละลายส่วนผสมที่เหลือทั้งหมดในน้ำที่แยกเนื้อออกแล้ว ปรับปริมาตรน้ำให้ได้ 1 ลิตร เติมเนื้อที่แยกออกใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 18x150 หรือ 20x150 มิลลิลิตร ให้มีเนื้อในหลอดทดลองสูงประมาณ 1.2-2.5 เซนติเมตร เติมน้ำที่ผสมสารละลายต่างๆ แล้วลงในหลอดทดลองที่มีเนื้ออยู่ปริมาตรหลอดละ 10-12 มิลลิลิตร ปิดจุกแล้วเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ค.2.5 Modified BHI - Egg yolk medium

Brain Heart Infusion (BHI) Broth	18.5 กรัม	Lactose	5 กรัม
Phenal red (0.5%)	5 มิลลิลิตร	Agar	7.5 กรัม
D.W.	500 มิลลิลิตร	Final pH	7.6

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมด ปรับ pH ให้ได้ 7.6 ถ่ายอาหารปริมาตร 250 มิลลิลิตร ลงในฟลาส์กปิดจุก แล้วเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

- **สารละลาย Neomycin sulfate**

Neomycin sulfate	1 กรัม	D.W.	50 มิลลิลิตร

ละลาย Neomycin sulfate ในน้ำกลั่นกรองผ่านแผ่นกรองปลอดเชื้อ เก็บในขวดปลอดเชื้อที่ปิดสนิท เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

- **Egg yolk emulsion, 50%**

ล้างไข่ไก่ให้สะอาด แช่ไว้ในไข่ไก่ไว้ใน $HsCl_2$ ร้อยละ 0.1 เป็นเวลาประมาณ 1ชั่วโมง จากนั้นนำไปแช่ในเอทานอลร้อยละ 70 เป็นเวลา 30 นาที ตอกไข่ไก่และทำการแยกไข่ขาว โดยเทคนิคปลอดเชื้อ แยกไข่แดงใส่ลงในขวดปราศจากเชื้อที่มีขีดบอกปริมาตร ผสมไข่แดง และน้ำเกลือร้อยละ 0.85 (Naomal saline) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วผสมในปริมาตรที่เท่ากันปิดฝาเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

- **การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ**

แบ่งอาหาร Brain Heart Infusion (BHI) Broth มา 250 มิลลิลิตร อุณหภูมิประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส เติมสารละลาย Neomycin sulfate 5 มิลลิลิตร และเติม Egg yolk- emulsion, 50% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันระวังฟองอากาศแล้วเทลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.2.6 Lauryl sulphate tryptose (LSTB) Broth

L-Tryptophan	1 กรัม	NaCl	1 กรัม
K_2HPO_4	3.13 กรัม	KH_2PO_4	0.27 กรัม
Sodium lauryl sulfate	0.1 กรัม	NaCl	5 กรัม
Final pH	6.8±0.2		

แบ่งใส่หลอดทดลองหลอดละ 10 มิลลิลิตร พร้อมทั้งใส่หลอดดักก๊าซ (durham tube) ปิดจุกหลอด แล้วนำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ค.2.7 Brilliant Green Lactose Bile (BGLB) Broth

Peptone	10 กรัม	Lactose	10 กรัม
Oxgall	20 กรัม	Brilliant green	0.0133 กรัม
D.W.	1 ลิตร	Final pH	7.2±0.1

แยกละลาย peptone และ lactose ใน D.W. 500 มิลลิลิตร Oxgall ละลายใน D.W. 200 มิลลิลิตร ซึ่งละลายใน D.W. 200 มิลลิลิตร ซึ่งน้ำละลาย Oxgall นี้ควรจะมีค่า pH ประมาณ 7.0-7.5 ผสมสารละลายทั้งสองรวมกัน และปรับปริมาตรให้เป็น 975 มิลลิลิตร ปรับค่า pH ของสารละลายเป็น 7.4 จากนั้นเติมสารละลาย aqueous brilliant green เข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่ละลายใน D.W. ปริมาตร 13.3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรน้ำให้ครบ 1 ลิตร แบ่งใส่หลอดทดสอบหลอดละ 10 มิลลิลิตร พร้อมทั้งใส่หลอดดักก๊าซ (durham tube) ปิดจุกหลอด แล้วนำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ค.2.8 Escherichia coli (EC) Broth

Trypticase or tryptose	20 กรัม	Bile salts No.3	1.5 กรัม
Lactose	5 กรัม	K_2HPO_4	1.5 กรัม
KH_2PO_4	1.5 กรัม	NaCl	5 กรัม
D.W.	1 ลิตร	Final pH	6.9±0.2

ละลายส่วนผสมทั้งหมดใน D.W. ดูดสารละลายที่ได้ใส่ในหลอดทดลองขนาด 16x150 มิลลิลิตร ปริมาตรหลอดละ 8 มิลลิลิตร พร้อมทั้งใส่หลอดดักก๊าซ (durham tube) ปิดจุกหลอด แล้วนำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.2.9 Eosin Methylene Blue (EMB) agar

Eosin methylene blue	36 กรัม	D.W.	1 ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดต้มพอเดือด ปล่อยให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วเทลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ (ไม่ควรเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อนานเกิน 1 วัน หลังจากเทลงในจานเพาะเชื้อแล้ว)

ค.2.10 Triple Sugar Iron (TSI) agar

Beef extract	3 กรัม	Yeast extract	3 กรัม
Peptone	15 กรัม	Proteose peptone	5 กรัม
Glucose	1 กรัม	Lactose	10 กรัม
Sucrose	10 กรัม	$FeSO_4$	0.2 กรัม
NaCl	5 กรัม	$Na_2S_2O_3$	0.3 กรัม
Phenol red	0.024 กรัม	Agar	12 กรัม
D.W.	1 ลิตร	Final pH	7.4±0.2

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดใน D.W. ดูดสารละลายที่ได้ใส่ในหลอดทดลองขนาด 13x100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรประมาณ 1 ใน 3 ส่วนของความยาวหลอด ปิดจุก นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นให้ทำการเอียงหลอดให้เกิดผิว slant ก่อนที่อาหารเลี้ยงเชื้อจะแข็งโดยที่ให้มีผิวหน้า slant ยาวประมาณ 4-5 เซนติเมตร และมี butt ยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร

ค.2.11 Indole Medium (Tryptone broth)

L-Tryptophan	1 กรัม	NaCl	1 กรัม
K_2PO_4	3.13 กรัม	KH_2PO_4	0.27 กรัม
D.W.	200 มิลลิลิตร	Final pH	7.2±0.2

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ดูดสารละลายที่ได้ลงในหลอดทดลองขนาด 13x100 มิลลิลิตร ปิดจุกแล้วนำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ค.2.12 Methyl Red and Voges-Proskauer (MR-VP) Broth

Buffered peptone	7 กรัม	Glucose	5 กรัม
K_2HPO_4	5 กรัม	D.W.	1 ลิตร
Final pH	6.9±0.2		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายส่วนผสมทั้งหมดใน D.W. 800 มิลลิลิตร โดยการให้ความร้อนอ่อนๆ ปล่อยให้เย็น เติมน้ำให้ครบ 1 ลิตร ปรับค่า pH ให้ได้ประมาณ 6.9±0.2 นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ค.2.13 Simmon Citrate Agar

Sodium citrate.$2H_2O$	2 กรัม	NaCl	5 กรัม
K_2HPO_4	1 กรัม	$NH_4H_2PO_4$	1 กรัม
$MgSO_4$	0.2 กรัม	Bromthymol blue	0.08 กรัม
Agar	15 กรัม	D.W.	1 ลิตร
Final pH	6.9±0.2		

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดใน D.W ถ่ายในหลอดทดลองขนาด 13x100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรประมาณ 1 ใน 3 ส่วนของความยาวหลอด ปิดจุก นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นให้ทำการเอียงหลอดให้เกิดผิว slant ก่อนที่อาหารเลี้ยงเชื้อจะแข็งโดยที่ให้มีผิวหน้า slant ยาวประมาณ 4-5 เซนติเมตร และมี butt ยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร

ค.2.14 Salmosyst Selective Supplement

Potassium tetrathionate	0.2 กรัม	Ox bile	0.08 กรัม
Brillent green			

- **Preliminary enrichment**

นำตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในอาหาร TSB ที่เตรียมไว้ 225 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเลา 18-24 ชั่วโมง

- **Selective enrichment**

ดูดสารละลาย Preliminary enrichment มา 10 มิลลิลิตร เติม Salmosyst Selective Supplement tablet 1 เม็ด เขย่านาน 30 นาที นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปตรวจในขั้นตอน Selective plating ต่อไป

ค.2.15 Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) Agar

Yeast extract	3 กรัม	Ferric ammonium citrate	0.8 กรัม
L-Lysine	5 กรัม	Sodium thiosulfate	6.8 กรัม
Xylose	3.65 กรัม	NaCl	5 กรัม
Lactose	7.5 กรัม	Agar	15 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sucrose	7.5 กรัม	Phenol red	0.08 กรัม
Sodium desoxycholate	2.5 กรัม	D.W.	1 ลิตร
Final pH	7.4±0.2		

ละลายส่วนผสมทั้งหมดต้มพอเดือด ปล่อยให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วเทลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ (ไม่ควรเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อนานเกิน 1 วัน หลังจากเทลงในจานเพาะเชื้อแล้ว)

ค.2.16 Deoxycholate Hydrogen Sulfide Lactose (DHL) Agar

Peptone from casein	10 กรัม	Peptone from meat	10 กรัม
Meat extract	3 กรัม	Meat extract	3 กรัม
Lactose	10 กรัม	Sucrose	10 กรัม
L-Cysteiniumchlorid	0.2 กรัม	Sodium citrate	1 กรัม
Sodium desoxycholate	0.5 กรัม	Sodium thiosulfate	2 กรัม
Ammonium iron (III) citrate	1 กรัม	Neutral red	0.03 กรัม
Agar	15 กรัม	D.W.	1 ลิตร
Final pH	7.2±0.2		

ละลายส่วนผสมทั้งหมดต้มพอเดือด ปล่อยให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วเทลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ (ไม่ควรเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อนานเกิน 1 วัน หลังจากเทลงในจานเพาะเชื้อแล้ว)

ค.2.17 Lysine- Indole-Motility (LIM) Medium

Polypeptone	10 กรัม	Yeast extract	3 กรัม
L-Lysine	10 กรัม	Dextrose	1 กรัม
L-Tryptophan	0.5 กรัม	Bromcresol purple	0.02 กรัม
Agar	3 กรัม	D.W.	1 ลิตร
Final pH	6.7		

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดจนเดือด ดูดส่วนผสมที่ได้ใส่หลอดทดลองขนาด 13x100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรประมาณ 1 ใน 3 ส่วนของความยาวหลอด ปิดจุก นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.2.18 Trypticase Soy Agar (TSA)

Casein peptone	1.5 กรัม	Soymeal peptone	5 กรัม
NaCl	5 กรัม	Agar	15 กรัม
D.W.	1 ลิตร		

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดจนเดือด ลงในฟลาส์กหรือขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิด เข้าฆ่าเชื้อใน หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ค.2.19 Nutrient Agar (NA)

Beef extract	3 กรัม	Peptone	5 กรัม
Agar	15 กรัม	D.W.	1 ลิตร

ต้มละลายส่วนผสม ดูดส่วนผสมที่ได้ใส่หลอดทดลองขนาด 13x100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรประมาณ 1 ใน 3 ส่วนของความยาวหลอด ปิดจุก นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

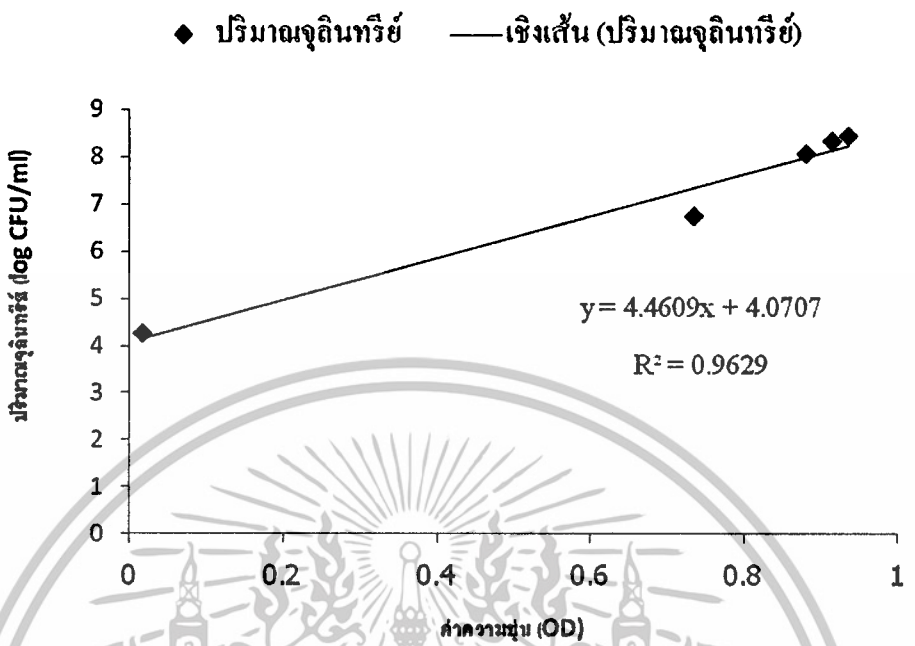
ค.3 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

ค.3.1 เตรียมเชื้อซาลโมเนลลา

เขี่ยเชื้อซาลโมเนลลา ลงในอาหาร Trypticase Soy Broth (TSB) แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นแบ่งสารละลายแขวนลอยของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ไปเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยน้ำเปปโตนเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ และนำสารละลายแขวนลอยของเซลล์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 ไปวัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และส่วนที่ 2 ตรวจสอบจำนวนเชื้อด้วยวิธีเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารแข็ง (spread plate) ที่ระดับความเจือจางต่างๆ ของสารละลายแขวนลอยของเซลล์ จากนั้นนำผลที่ได้เขียนกราฟมาตรฐาน (standard curve) ระหว่างค่าความขุ่น (OD) กับจำนวนของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ (log CFU/ml) ที่ทดสอบ เพื่อใช้ในการคำนวณความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์แต่ละชนิด ให้มีค่าประมาณ 10^8 เซลล์/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.3.2 กราฟการเจริญของเชื้อซาฉโมเนลลา



ภาพที่ ค.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S.* rissen กับค่าความขุ่น (Optical Density, OD) ที่ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร สมการความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อ *S.* rissen เป็นสมการดังนี้ y = 4.4609x + 4.0707

ค.4 การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

ค.4.1 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก

วิเคราะห์หาปริมาณเชื้อด้วยเทคนิค pour plate โดยปิเปตสารแขวนลอยตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ที่เติมด้วย $CaCO_3$ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และ bromcresal purple 0.01 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส จากนั้นวนจานเพาะเชื้อให้อาหารผสมกับตัวอย่างให้เข้ากัน แล้วบ่มใน anaerobe jar ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นตรวจนับโคโลนีสีเหลืองที่มีโซนใส รอบโคโลนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.4.2 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด

วิเคราะห์หาปริมาณเชื้อด้วยเทคนิค pour plate เช่นเดียวกัน แต่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) บ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นตรวจนับจำนวนโคโลนี

ค.4.3 ปริมาณเชื้อ *Clostridium perfringens*

ปิเปตสารแขวนลอยตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรใส่ลงหลอดอาหาร Cooked Meat (CM) บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นใช้ลวดเขี่ยเชื้อจากหลอด CM ที่ขุ่นมาเพาะเชื้อบนอาหาร Modified BHI egg yolk agar นำไปบ่มใน Anaerobe jar ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้น ตรวจหาโคโลนีสีเหลือง หรือสีขาวเหลืองที่มีโซนขุ่นรอบๆโคโลนี รายงานผลการตรวจพบเชื้อเป็น พบ/ไม่พบ

ค.4.4 ปริมาณเชื้อ *Escherichia coli*

ปิเปตสารแขวนลอยตัวอย่าง ที่แต่ละระดับความเจือจาง 1:10 จนถึง $1:10^3$ จำนวน 3 ระดับ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl sulphate tryptose (LSTB) Broth ที่แต่ละระดับความเจือจางละ 3 หลอด นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แล้วใช้ห่วงเขี่ยเชื้อจากหลอดที่พบการเจริญของเชื้อ และสร้างแก๊สในหลอดดักแก๊สของ LSTB ถ่ายลงใน Brilliant Green Lactose Bile (BGLB) Broth และ Escherichia coli (EC) Broth หลอดละ 0.1 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 และ 40-45 องศาเซลเซียส (ตามลำดับ) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนหลอดที่เชื้อสร้างแก๊สในหลอดดักแก๊สของอาหารทั้ง 2 ชนิด นับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในแต่ละระดับความเจือจางไปคำนวณหาค่า MPN จากตาราง 3 tubes MPN รายงานผลการตรวจพบเชื้อเป็น ปริมาณ MPN/กรัมของอาหาร

ตรวจยืนยันเชื้อ *E. coli* ด้วยใช้ลวดเขี่ยเชื้อที่ให้ผลบวก มาเขี่ยลงบนอาหาร Eosin Methylene Blue (EMB) Agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง โคโลนีของเชื้อ *E. coli* ที่มีสีเข้มคล้ำ และเป็นเงาโลหะ ทำการทดสอบโคโลนีที่สงสัยโดยทำ IMViC test โดยใช้อาหาร Methyl red- Voges Proskauer (MR-VP) broth, Simmons citrate agar และ Tryptone (tryptophan) broth บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.4.5 ปริมาณเชื้อ *Salmonella*

ตัดชิ้นตัวอย่างปลาส้มในตำแหน่งที่หยดเชื้อ *Salmonella* ไว้ ชั่งน้ำหนักเนื้อปลา 25 กรัมใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ เติม Trypicase Soy Broth (TSB) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปตีด้วยเครื่องปั่นผสมอาหาร แล้วบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายอาหารที่มีการเจริญของเชื้อลงในหลอดปลอดเชื้อ 10 มิลลิลิตร แล้วจึงเติม Salmosyst selective supplement tablet (SBST) 1 เม็ด เขย่าให้เม็ด SBST ละลายให้หมด บ่มหลอดตัวอย่างในตู้บ่ม ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-14 ชั่วโมง แล้วนำไปเขี่ยบนอาหาร Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar และ Deoxycholate Hydrogen Sulfide Lactose (DHL) Agar บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง จากนั้นคัดเลือกโคโลนีที่น่าสงสัยว่าเป็นเชื้อ *Salmonella* มาทดสอบในอาหารทางชีวเคมีด้วยวิธี AOAC (2005) ในอาหาร Triple sugar iron (TSI) slant agar และ Lysine indole motility (LIM) medium บ่มเพาะเชื้ออาหารทั้งสองที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ยืนยันผลหลอดเชื้อที่มีคุณสมบัติทางชีวเคมีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *Salmonella* มาทำการทดสอบคุณสมบัติทางเซโรโลยี โดยดูการตกตะกอนของเชื้อกับ Salmonella polyvalent O-antiserum group A-67 ตาม Group A, B, C, D และ E ตามวิธีของ DMSc-ACFS (2003) แล้วรายงานผลเชื้อ *Salmonella* ในรูปแบบ พบ/ไม่พบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อผู้ทดสอบ ..... **วันที่ทดสอบ** .....

หมายเลข ..... **ชื่อผลิตภัณฑ์** ปลาส้ม

คำชี้แจง โปรดทดสอบตัวอย่างต่อไปนี้ โดยเรียงลำดับที่เสนอและให้คะแนนระดับความชอบและไม่ชอบต่อผลิตภัณฑ์แต่ละตัวอย่าง โดยใช้สเกลที่เหมาะสม เพื่ออธิบายความรู้สึกชอบ และไม่ชอบที่ท่านมีต่อผลิตภัณฑ์ปลาส้มตามความรู้สึกที่แท้จริงของท่าน

ระดับคะแนน 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 7 = ชอบปานกลาง
2 = ไม่ชอบมาก 5 = เฉย ๆ 8 = ชอบมาก
3 = ไม่ชอบปานกลาง 6 = ชอบเล็กน้อย 9 = ชอบมากที่สุด

ลักษณะผลิตภัณฑ์	**รหัสผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง**			
สี				
กลิ่นรส				
เนื้อสัมผัส				
ความเค็ม				
ความเปรี้ยว				
ความชอบโดยรวม				

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวสรัญญา เที่ยงธรรม
วัน เดือน ปีเกิด	10 มกราคม 2527 จังหวัด กาญจนบุรี
ที่อยู่	91/4 หมู่ที่ 3 ตำบลบ้านใหม่ อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี
	โทร 0-3465-8128
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2545	มัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนวิสุทธรังสี จังหวัด กาญจนบุรี
พ.ศ. 2549	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสต์และเทคโนโลยีการอาหาร
	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
	มหาวิทยาลัยราชภัฏธนบุรี กรุงเทพฯ
พ.ศ.2555	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ
การนำเสนอผลงาน	สรัญญา เที่ยงธรรม และวริพัสย์ อารีกุล. 2555. ผลของเกลือ และฟอสเฟต
	ต่อคุณภาพปลานวลจันทร์น้ำจืด (*Cirrhinus microlepis*) หมัก. หน้า
	192-196. ในการประชุมวิทยาศาสตร์วิจัยครั้งที่ 4. 12-13 มีนาคม 2555.
	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก.
ประสบการณ์การทำงาน	
พ.ศ.2549-2551	ตำแหน่งผู้ช่วยหัวหน้าแผนกเค้ก และคุกกี้
	บริษัท ศรีฟ้าเบเกอรี่ จำกัด
พ.ศ.2552-2555	ตำแหน่งผู้ช่วยนักวิจัย
	สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย ฝ่ายงานวิจัยเพื่อท้องถิ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้