เอกสารอ้างอิง

1. ฝ่ายเศรษฐกิจการประมงและแผนงาน. "สถิติการประมงแห่งประเทศไทย ปี 2526" การประมง 2528.

2. หิรัญ กลิ่นเมือง. "การแพร่กระจายขนาดความยาวและความสัมพันธ์ระหว่างความยาวกับน้ำหนักของปลาไอซนิดต่าง ๆ ในอ่าวไทย". รายงานวิชาการฉบับที่ 24, งานปลาผิวน้ำ, กองประมงทะเล, กรมประมง. 2524.

3. สมาคมผู้ผลิตอาหารสำเร็จรูป. "ปัญหาการส่งออกสินค้าอาหารกระป๋อง". กรุงเทพฯ 2526

4. มนตรี ตู้จินดา. "โรคภูมิแพ้". โครงการตำราศิริราช, คณะแพทย์ศาสตร์ศิริราช พยาบาล, มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ. 2521.

5. *Arnold, S.H. and Brown, W.D. "Histamine (?) toxicity from fish products." in Adv. Food Res. 24. pp. 114-154. 1978.*

6. *Taylor, S.L. "Monograph on histamine poisoning. "Codex committee on food hygiene, Nineteenth session, Washington, D.C. 1983.*

7. *Konosu, S. "The taste of fish and shellfish." in Food Taste Chemistry. (Boudreau, J.C. ed.) pp. 185-203. The American Chemical Soeity. 1979.*

8. *Kimata, M. "The histamine problem." in Fish as Food. (G. Borgstorm ed.) Vol.I. pp. 329-352. Academic Press, New York. 1961*

9. *Eitenmiller, R.R., Orr, J.H. and Wallis, W.W. "Histamine in fish: microbiological and biochemical conditions." in Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products. (Martin, R.T. et al. eds.) pp. 39-50. AVI Pub. Co.,*

Inc., Westport, Conn, 1982.

10. *Frank, H.A., Yoshinaga, D.H. and Wu, I - Pai. "Nomograph for estimating histamine formation in skipjack tuna at elevated temperatures." Marine Fish. Rev. 45 (4-6), (1983) : 40- 44.*

11. *Geiger, E., Courtney, G. and Schuakenberg, G. "The content and formation of histamine in fish muscle." Arch.Biochem. 3 (1944) : 311-319.*

12. *Kimata, M. and Kawai, A. "The freshness of fish and the amount of histamine presented in the meat. V. on the production of histamine during the autolysis." Kyoto Daigaku Shokuryo Kagaku Kenkusho Hokuku. 11 (1953) : 88-95.*

13. *Kimata, M. and Kawai, A. "The freshness of fish and the amount of histamine presented in the meat. I." Mem.Res.Inst. Food Sci., Kyoto Univ. 5 (1953) : 25-54.*

14. *Kimata, M. and Kawai, A. "The freshness of fish and the amount of histamine presented in the meat. II." Mem.Res.Inst. Food Sci., Kyoto Univ. 6 (1953) : 12-22.*

15. *Ferencik, M. "Formation of histamine during bacterial decarboxy lation of histidine in the flesh of some marine fishes." J.Hyg.Epidemiol. Microbiol. Immunol. 14 (1970) : 52-60*

16. *Kimata, M. and Kawai, A. "A new species of bacterium which produces large amounts of histamine on fish meats, found in spoiled fresh fish." Mem.Res.Inst.Food Sci., Kyoto Univ. 6 (1953) : 1-2.*

17. Kawabata, T., Ishizaka, K., Miura, T. and Sasaki, T. "Studies on the food poisoning associated with putrefaction of marine products. VII. An outbreak of allergy-like food poisoning caused by "sashimi" of Parathunnus mebachi and the isolation of causative bacteria." Nippon Suisan Gakkaishi 22 (1956) : 41-47.

18. Behling, A.R. and Taylor, S.L. "Bacterial histemine production as a function of temperature and time of incubation." J. Food Sci. 7 (1982) : 1311-1314, 1317.

19. Yoshinaga, D.H., and Frank, H.A. "Histamine-producing bacteria in decomposing skipjack tuna (Katsuwonus pelamis)." Appl.Environ.Microbiol. 44 (1982) : 447-452.

20. Taylor, S.L. and Speckhard, M.W. "Isolation of histamine-producing bacteria from frozen tuna". Marine Fish. Rev. 45 (1983) : 35-39.

21. Lerke, P.A., Werner, S.B., Taylor, S.L. and Guthertz, L.S. "Scombroid poisoning." Report of an outbreak. West. J. Med. 129 (1978) : 381-386.

22. Frank, H.A., Yoshinaga, D.H. and Nip, W.K. "Histamine formation and honeycombing during decomposition of skipjack tuna, Katsuwonus pelamis, at elevated temperatures." Marine Fish. Rev. 43 (10). (1981) : 9-14.

23. Edmunds, W.J. and Eitenmiller, R.R. "Effect of storage time and temperature on histamine content and histidine decarboxylase activity of aquatic species." J.Food Sci. 40 (1975) : 516-519.

24. *Fernandez-Salguero, J. and Mackie, I.M. "Histidine metabolism in mackerel (Scomber scombrus).Studies on histidine decarboxylase activity and histamine formation during storage of flesh and liver under sterile and non-sterile conditions." J.Fd. Technol. 14 (1979) : 131-139*

25. *Hardy, R. and Smith, J.G.M. "The storage of mackerel (Scomber scombrush). Development of histamine and rancidity." J. Sci. Fd. Agric. 27 (1976) : 595-599.*

26. *Gale, E.F. "The bacterial amino acid decarboxylases." Adv. Enzymol. Relat. Subj. Biochem. 6 (1946) : 1-32.*

27. *Ritchie, A.H. and Mackie, I.M. "The formation of diamines and polyamines during storage of mackarel (scomber scombrus). in Advances in Fish Science and Technology (Connell, J.J. ed.) pp. 489-494. Fishing News Book, Surry, England. 1980.*

28. *Kawabata, T. and Suzuki, S. "studies on the food poisoning associated with putrefaction of marine products. IX Factors affecting the formation of L-histidine decarboxylase by Proteus morganii. Nippon Suisan Gakkaishi. 25 (1959) : 481-487.*

29. *Simidu, P.A. and Hibiki, S. "studies on putrefaction of aquatic products. XIII-XV. Comparison of putrefaction for round, fillet, minced and denatured fishes. "Nippon Suisan Gakkaishi. 20 (1954) : 298-304, 380-391.*

30. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. "มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมปลาทูนากระป๋อง." กระทรวงอุตสาหกรรม. 2518

31. Lopez, A. "A complete course in canning-I." The Canning Trade, MA, USA, 1975.

32. Kawabata, T., Uchida, Y. and Akano, T. "A simple and rapid method for the determination of histamine in fish flesh. Nippon suisan Gakkaishi. 26 (1960): 1183-1191.

33. Uchiyama, H., Ehira, S. and Kato, N. "Analytical methods for estimating freshness of fish in utilization of marine products." Oversea Technical Cooperation Agency, Government of Japan, 1972.

34. ICMSF. "Micoorganism in Food I : Their significance and methods of enumeration." 2nd ed. A Publication of the International Commission on Microbiological Specification of Foods, Toronto, 1978.

35. Sakabe, Y. "Studies on allergylike food poisoning. Histamine production by Proteus morganii." J.Nara Med. Assn. 24 (1973) : 258-256.

36. Fish Processing Section. "First Year Report of Fish Processing (Thailand) Project to IDRC, Canada." Fishery Technological Development Division, Department of Fisheries, Thailand, 1981.

37. Gill, J.L. "SST 423 and ANS 854 Course Note. Michigan State University Publication, East Lansing, Michigan, 1977.

38. Ganowiak, Z., Gajewska, R. and Lebiedzinska, A. "Histamine formation in the meat of fish contaminated with Proteus morganii." Rocz.Panstw. Zakl. Hig. 30 (1979) : 343.

39. Durr, F., Kossurok, B. and Schober, B. "Occurrence of biogenic amines in raw fish and fried fish products. Lebensmitte-

lind. 27 (1980) : 253.

40. *Baldrati, G., Formari, M.B., Spotti, E. and Incerti, I. "Effect of temperature on histamine formation in fish rich in free histidine." Ind. Converve. 55 (1980) : 114.*

41. *Park, Y.H., Kim, D.S., Kim, S.S. and Kim, S.B. "Changes in histamine cantent in the muscle of dark-fleshed fishes during storage and processing. I. Changes in histamine content in the muscle of common mackerel, gizzard-shad, and small sardine." Bull-Korean Fish.Soc, 13 (1980) : 15.*

42. *Cattaneo, P. and Cantoni, C. Identification and rapid determination of histamine in fish samples." Ind. Aliment. 17 (1978) : 303.*

43. *Smith, J.G.M., Hardy, R. and Young, K.W. "A seasonal study at the storage characteristics of mackerel at chill and ambient temperatures." in Advances in Fish Science and Technology. (Connell, J.J. ed.) Fishing News Book, Surry, England, 1980.*

44. *Stansby, M.E., "Analytical methods." in Industrial Fishery Technology. Robert E.Krieger Publishing Co., Huntington, NY, 1976.*

45. *Iyengar, J.R., Visweswariah, K., Moorjani, M.N. and Bhatia, D.S. "Assesment of the progressive spoilage of ice-stored shrimp." J.Fish. Res. Bd. Can.17 (1969) : 475.*

46. *Moore, W.J. "Physical Chemistry." Green and Co., Longmans, London, 1975.*

47. Tiammanenate, K. "The determination of kinetic parameters in heat pocessing of baby food." Ph.D.Thesis, Massey University, Palmerston North, N.Z., 1980.

48. Spencer, R. and Baines, C.R. "The effect of temperature on the spoilage of wet white fish." Food Technol. 18 (1964) : 769-773.

49. Charm, S.E., Learson, R.J., Ransivalli, L.J. and Schwartz, M. "Organoleptic technique predicts refrigeration shelf life of fish." Food Technol. 26 (7) (1972) : 65-68

50. Learson, R.J. and Ronsivalli, L.J. "A new approach for evaluating the quality of fishery products." U.S. Fish Wildl. Serv., Fish. Ind. Res. 4 (1969) : 249-259.

51. William, D.W. "Report on chemical indices of decomposition in fish (histamine)!" J. Assoc. Off. Agric. Chem. 37 (1954) : 567-572.

52. Ferencik, M., Kremery, V. and Kriska, J. "Fish poisoning caused by histamine." J. Hyg. Epidemoil., Microbiol., Immunol. 14 (1961) : 341-348.

53. Ienistea, C. "Significance and detection of histamine in food. in The Microbiological Safety of Food. (Hobbs, B.C. and Christian, J.H.B. eds.) pp.327-343. Acad. Press, London. 2973.

54. Lieber, E.R. and Taylor, S.L. "Thinlayer chromatographic screening methods for histamine in tuna fish." J.Chromatogr. 153 (1978) : 143-152.

ภาคผนวก ก.

วิธีการวิเคราะห์ค่าทางเคมีและจุลชีวะ

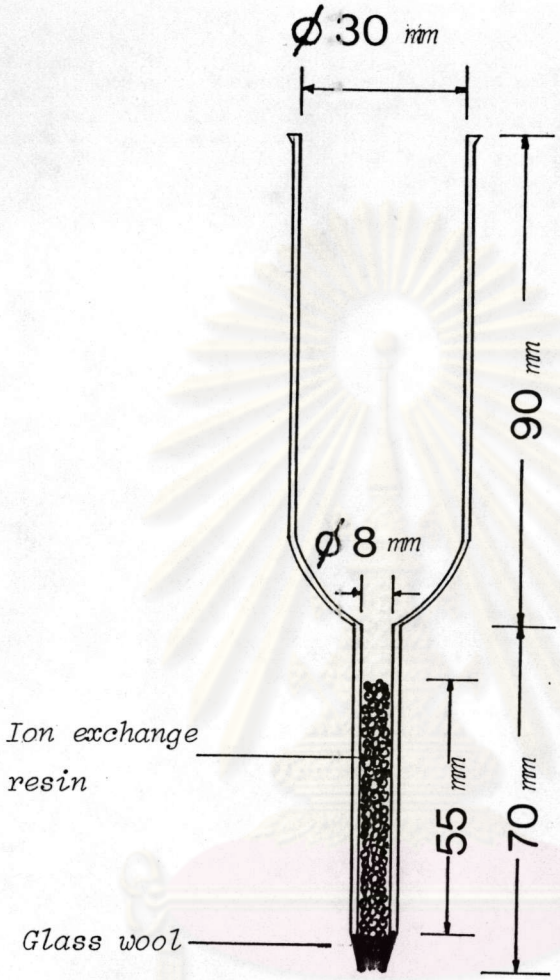
ก.1 ปริมาณฮิสตามีน (32)

สารเคมีที่ใช้

1. 10% *trichloroacetic acid (TCA)*
2. สารละลายกรด *HCl 1 N.*
3. 10% สารละลายด่าง *NaOH*
4. สารละลาย *acetate buffer 0.2 N.*
5. สารละลาย *acetate buffer 0.4 N.*
6. สารละลาย Na_2CO_3 *1.5 N.*
7. สารละลาย Na_2CO_3 *1.1 N.*
8. สารละลาย *diazonium salt*
9. สารละลายฮิสตามีนมาตรฐาน (ละลาย *Hm-2HCl* 165.61 มก. ในน้ำ 100 มล.)
10. *resin Amberlite CG-50 (type 1)* *100-200 mesh*

วิธีเตรียม *Column*

1. *resin Amberlite CG-50 (type 1)* 2-3 กรัม แช่ใน *1N.HCl* (อัตราส่วน *resin : HCl = 1:5* โดยปริมาตร) คนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10-20 นาที เทสารละลายกรดทิ้ง แล้วแช่ในสารละลายกรด *HCl* ซ้ำอีก 2-3 ครั้ง แล้วบรรจุใส่ *column* ดังรูปที่ 21 ให้ *resin* สูง 55 มม.
2. ใช้ *0.2 N. acetate buffer* เทผ่านลงไปใน *column* เพื่อให้ *resin* เรียงตัวโดยไม่มีฟองอากาศ อัตราไหลของ *0.2 N acetate buffer* ควรเป็น 2-3 มล./นาที



รูปที่ 21 คอลัมน์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อปลาบดละเอียด 10 กรัม เติมน้ำกลั่น 20 มล. ผสมให้เข้ากัน เติม 10 % *TCA* 20 มล. ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที กรองผ่านกระกระดาษกรองเบอร์ 1 ปรับปริมาตรด้วย 10% *TCA* จนครบ 50 มล.
2. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 10 มล. ปรับ *pH* ด้วย 10% *NaOH* ให้ได้ *pH 4.5-7.0*
3. เติม *0.4 N. acetate buffer* แล้วเทผ่าน *column*
4. ล้าง *column* ด้วย *0.2 N. acetate buffer* 80 มล.
5. *elute* ฮิสตามีน ด้วย *0.2 N.HCl* 8 มล. ปรับ *pH* ของสารละลายที่ *elute* ได้ ให้เป็น *pH* 7 ด้วย *1.5 N.* Na_2CO_3 1 มล. และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 10 มล.
6. นำไปวัดความเข้มของสี โดยปิเปตสารละลาย *1.1 N.* Na_2CO_3 5 มล. ใส่หลอดทดลอง เติม *diazonium selt* 2 มล. ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 5 นาที นำไปวัดความเข้มของสีด้วย *spectrophotometer* ที่ *510 mm.* แล้วเทียบค่ากับ *standard curve*

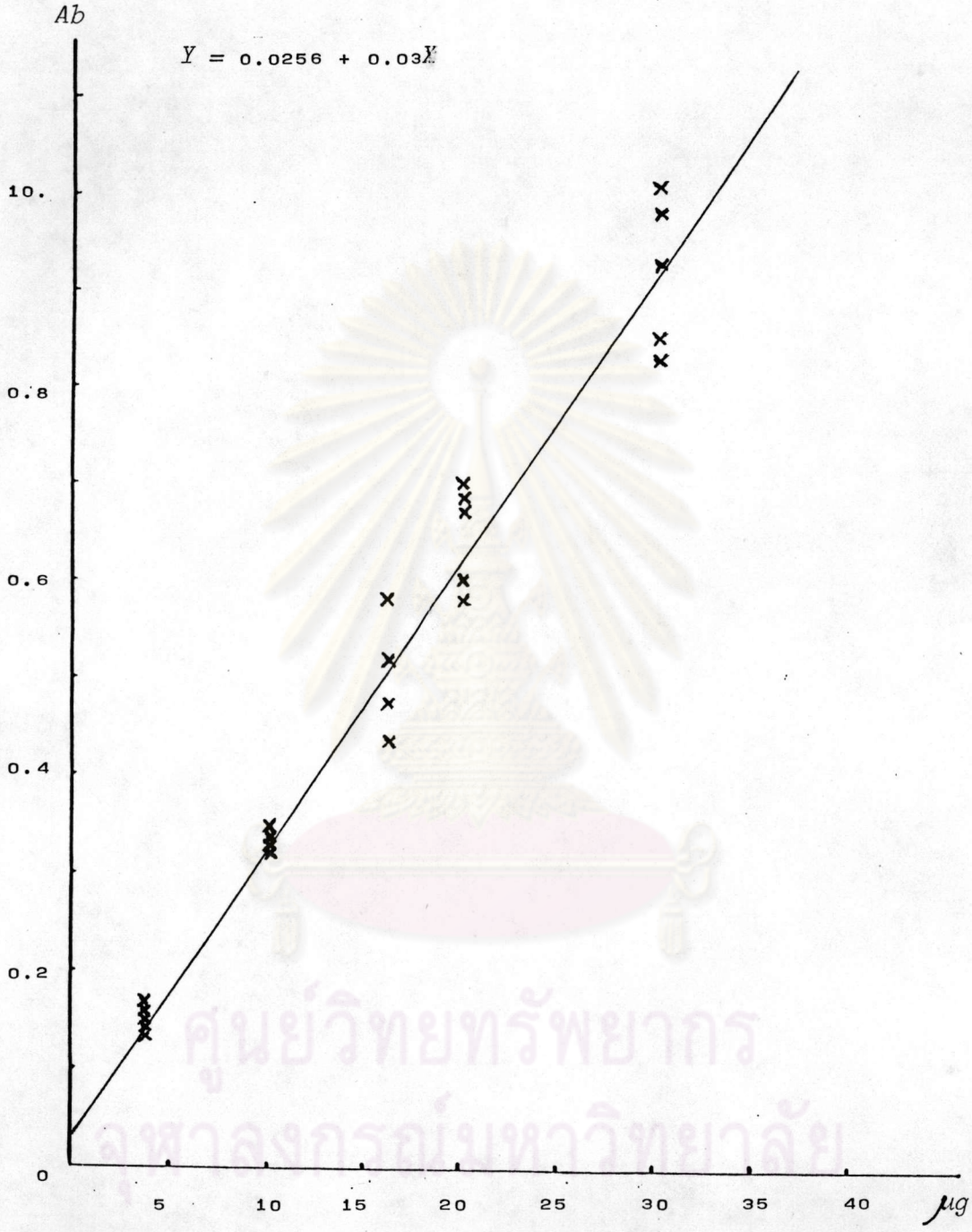
การเตรียม*standard curve*

1. เจือจางสารละลายฮิสตามีนมาตรฐานให้มีความเข้มข้นของฮีสตามีน 1-30 มคก./มล.
2. นำไปวิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีนตามวิธีวิเคราะห์ที่กล่าวมาแล้ว
3. นำไปวัดความเข้มของสีด้วย *spectrophotometer* ที่ *510 mm.*
4. เขียน *standard curve* จากค่าความเข้มของสีที่วัดได้เทียบกับปริมาณฮิสตามีน (รูปที่ 22)

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณฮิสตามีน (มก./100 กรัม)} = \frac{5 \times dilution \times A \times 50}{1000}$$

A : ฮิสตามีน (มคก.) ในสารละลายตัวอย่าง 2 มล. ซึ่งได้จากการอ่านค่าจาก *standard curve*



รูปที่ 22 กราฟเส้นตรงมาตรฐานของปริมาณฮิสตามีนที่ 510 *nm.*

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก.2 <u>ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด</u> *(Total Viable Count)* (34)

<u>สารเคมีที่ใช้</u>

1. 5% *trichloroacetic acid (TCA)*
2. สารละลายอิ่มตัว K_2CO_3 (112 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มล.)
3. 1% สารละลายกรดบอริคผสมอินดิเคเตอร์

   ละลายกรดบอริค 10 กรัมในเอทิลอัลกอฮอล 200 มล. ผสมกับ 10 มล. อินดิเคเตอร์ (0.1% *bromcresol green* และ 0.2% *methyl red* ใน *ethyl alcohol*) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร
4. สารละลายกรด H_2SO_4 *0.02 N.*

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัมพอดี เติม 5% *TCA* 50 มล. ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายไปวิเคราะห์
2. ปิเปตสารละลายกรดบอริค 1 มล. ใส่ในจานระเหยแบบคอนเวย์ชั้นใน
3. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มล. ใส่ในจานระเหยแบบคอนเวย์ชั้นนอก
4. ปิเปตสารละลายอิ่มตัว K_2CO_3 1 มล. ใส่ในจานชั้นนอก รีบปิดฝาคอนเวย์ให้สนิท ทิ้งไว้ 3 ชม. ที่อุณหภูมิห้อง
5. ไตเตรทชั้นในของจานคอนเวย์ด้วย *0.02 N.* H_2SO_4 จนสีเขียวเริ่มหายไป
6. ทำ *blank* โดยใช้ 1 มล. 5% *TCA* แทนสารละลายตัวอย่าง

<u>การคำนวณ</u>

$$mg\%\ TVB\text{-}N = \frac{(\text{มล.ของ } H_2SO_4 \text{ ที่ใช้} - \text{มล.}blank) \times N \times 1400 \times 100}{10 \text{ กรัม}}$$

N = Normality ของสารละลายมาตรฐานกรด H_2SO_4

ก.3 ปริมาณบักเตรีทั้งหมด *(Total Viable Count)* (34)

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้

1. 0.1% *peptone water* เตรียมโดย ชั่ง *bacto peptone 0.5 g. NaCl 1 g.* ละลายในน้ำกลั่น 1 ล. ฆ่าเชื้อที่ 121 ซ. 15 นาที (ความดัน 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว)
2. *plate count agar (Difco)*

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อปลา 50 กรัม ปั่นให้ละเอียดกับ 0.1% *peptone water* 450 มล. ในถ้วยปั่น *(Waring Blender)*
2. ทำให้เจือจางจนได้สารละลายที่เหมาะสมด้วย 0.1% *peptone water*
3. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เจือจางจนเหมาะสมลงบน *petri-dish* ที่เท *plate count agar* เอาไว้ เกลี่ยให้ทั่ว
4. นำไปเพาะเชื้อที่ 37 ซ. 48 ชม.
5. นับปริมาณบักเตรีทั้งหมด คำนวณออกมาเป็นปริมาณบักเตรีทั้งหมด/เนื้อปลา 1 กรัม

ก.4 ปริมาณบักเตรีที่มีเอนไซม์ *histidine decarboxylase* (35)

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้

1. 0.1% *peptone water* เตรียมโดย ชั่ง *bacto peptone 0.5 g. NaCl 1 g.* ละลายในน้ำกลั่น 1 ล. ฆ่าเชื้อที่ 121 ซ. 15 นาที (ความดัน 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว)
2. *Plate count agar (Difco)*
3. *Histidine decarboxylase medium* เตรียมโดยชั่ง *bacto peptone 5 g. yeast extract 3 g. dextrose 1 g. L-histidine 5 g. bromcresol purple 0.02 g.* ละลายในน้ำกลั่น 1 ล. ฆ่าเชื้อที่ 121 ซ. 15 นาที (ความดัน 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว)

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. วิเคราะห์หาปริมาณบักเตรีทั้งหมดตามวิธีในภาคผนวก ก.3
2. ปริมาณบักเตรีทั้งหมดที่ได้จากสารละลายตัวอย่างที่เหมาะสม จะมีปริมาณ 30 - 300 โคโลนี/เนื้อปลา 1 กรัม
3. เขี่ยเชื้อจากโคโลนีที่นับได้จาก *plate count agar* ลงใน *histidine decarboxylase medium*
4. นำไปเพาะเชื้อที่ 37 ซ. 24 ชม.
5. นับปริมาณบักเตรีที่มีเอนไซม์ *histidine decarboxylase* โดยจะทำให้ *histidine decarboxylase medium* มีสีม่วงเข้มขึ้นกว่าเดิม
6. คำนวณปริมาณบักเตรีที่มีเอนไซม์ *histidine decarboxylase* ต่อเนื้อปลา 1 กรัม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข.

แบบประเมินผลคุณภาพความสดของปลาไอ

วันที่ทดสอบ .....

ชื่อผู้ทดสอบ .....

ให้ท่านให้คะแนนในช่องตารางการให้คะแนน ตามคุณภาพความสดที่ท่านเห็นว่าเหมาะสม

คุณภาพผลิตภัณฑ์	คะแนน				
1. ลักษณะทั่วไป					
	5	4	3	2	1
1.1 ตา	ตาเต่งมีสีดำ	ลูกตาค่อนข้างจมลงในผิวหนัง	ตาออกสีเทา	ลูกตาจมลง	เมือกสีน้ำตาล
	5	4	3	2	1
1.2 เหงือก	สีแดงสดหรือสีชมพู	สีแดงเข้ม	สีเทามีเมือกสีขาว	สีซีด	เมือกสีเหลืองหรือสีน้ำตาล
	5	4	3	2	1
1.3 ผิวหนัง	ผิวเรียบเป็นเงา	ความเป็นเงาลดลง	มีเมือกขุ่น	เมือกไม่มีสี	เมือกหนาสีน้ำตาลอมเหลือง
	5	4	3	2	1
2. กลิ่น	มีกลิ่นทะเล	กลิ่นปลาทั่วไป	มีกลิ่นคาวปลา	มีกลิ่นฉุนของแอมโมเนีย	มีกลิ่นเหม็นของซัลเฟอร์
3. ความสดของเนื้อปลา					
	5	3		1	
3.1 ลักษณะเนื้อสัมผัส	ยืดหยุ่น	ขาดความยืดหยุ่นเนื้อเริ่มนิ่ม		เนื้อเละ	
	5	3		1	
3.2 ลักษณะภายนอก	เนื้อมีเงาสีชมพูใส	เนื้อสีแดงค่อนข้างพ่น		เนื้อสีแดงคล้ำ หรือน้ำตาลซีด	
4. เนื้อส่วนท้อง					
	5	3		1	
4.1 ลักษณะเนื้อสัมผัส	มีความยืดหยุ่น	ผนังค่อนข้างแยก		เยื่อหุ้มท้องขาด ท้องแตก	
	5	3		1	
4.2 ลักษณะภายนอก	เนื้อใสสีชมพูมีเงา	เนื้อสีเทาขุ่น		สีเหลือง, น้ำตาลค่อนข้างซีด	

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางการให้คะแนน

ตัวอย่าง	ลักษณะทั่วไป				กลิ่น	ลักษณะเนื้อ			ลักษณะเนื้อที่ท้อง			รสชาติ	หมายเหตุ
	ดี	ปานกลาง	ด้อย	ดีมาก		ละเอียดและสม่ำเสมอดี	ปานกลาง	ด้อย	ละเอียดและสม่ำเสมอดี	ปานกลาง	ด้อย		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค.

ตารางที่ ค.1 ปริมาณฮิสตามีน, ปริมาณด่างระเหยได้ทั้งหมด, *pH*, ปริมาณบักเตรีทั้งหมดและปริมาณบักเตรีที่มีเอนไซม์ *histidine decarboxylase* ในปลาโอด่าที่เก็บรักษาที่ 30 ± 2 ซ.

เวลา (ชม.)	ปลาทั้งตัว (WF)					ปลาตัดหัวเอาไส้พุงออก (GF)				
	ฮิสตามีน (ส่วนล้าน)	ด่างระเหยได้ทั้งหมด (มก.%)	pH	บักเตรีทั้งหมด (ต่อกรัม)	บักเตรีที่มีเอนไซม์ (ต่อกรัม)	ฮิสตามีน (ส่วนล้าน)	ด่างระเหยได้ทั้งหมด (มก.%)	pH	บักเตรีทั้งหมด (ต่อกรัม)	บักเตรีที่มีเอนไซม์ (ต่อกรัม)
0	28.84	7.15	5.75	1.20×10^4	5.00×10^3	28.84	7.15	5.75	1.20×10^4	5.00×10^3
6	36.69	9.10	5.95	3.40×10^5	1.20×10^5	59.88	9.24	5.86	8.80×10^4	1.60×10^4
12	81.87	9.59	5.89	1.45×10^5	1.00×10^5	75.31	10.88	5.80	5.95×10^5	9.20×10^4
15	231.12	11.48	5.91	2.60×10^6	3.50×10^5	113.09	9.84	5.89	2.70×10^6	1.00×10^5
20	2868.25	16.17	6.14	2.70×10^6	3.50×10^6	2716.53	14.98	6.28	1.18×10^7	6.00×10^5
24	4128.23	24.29	6.26	1.39×10^7	2.00×10^6	4192.19	23.40	6.55	5.20×10^6	2.00×10^6

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ค.2 ปริมาณฮิสตามีน, ปริมาณด่างระเหยได้ทั้งหมด, *pH*, ปริมาณบักเตรีทั้งหมดและปริมาณบักเตรีที่มีเอนไซม์ *histidine decarboxylase* ในปลาโอด่าที่เก็บรักษาที่ 2ó ± 2 ซ.

เวลา (ชม.)	ปลาทั้งตัว (WF)					ปลาตัดหัวเอาไส้พุงออก (GF)				
	ฮีสตามีน (ส่วนล้าน)	ด่างระเหยได้ทั้งหมด (มก.%)	pH	บักเตรีทั้งหมด (ต่อกรัม)	บักเตรีที่มีเอนไซม์ (ต่อกรัม)	ฮีสตามีน (ส่วนล้าน)	ด่างระเหยได้ทั้งหมด (มก.%)	pH	บักเตรีทั้งหมด (ต่อกรัม)	บักเตรีที่มีเอนไซม์ (ต่อกรัม)
0	28.84	7.15	5.75	1.20×10^4	5.00×10^3	28.84	7.15	5.75	1.20×10^4	5.00×10^3
6	41.65	8.77	5.79	2.10×10^5	1.00×10^3	42.24	8.57	5.78	5.90×10^4	1.00×10^3
12	37.92	9.39	6.00	4.50×10^5	0.90×10^4	48.92	8.12	5.77	2.00×10^5	0.20×10^4
15	54.76	9.17	5.97	4.50×10^5	1.80×10^4	67.83	10.44	5.85	8.50×10^5	3.70×10^4
20	714.58	9.17	5.80	2.54×10^6	9.70×10^5	495.83	8.40	5.77	1.60×10^6	5.00×10^5
24	2940.97	11.78	6.02	4.13×10^6	2.20×10^6	1054.14	10.66	6.00	6.00×10^6	2.00×10^6

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ค.2 ปริมาณฮิสตามีน, ปริมาณด่างระเหยได้ทั้งหมด, *pH*, ปริมาณบักเตรีทั้งหมดและปริมาณบักเตรีที่มีเอนไซม์ *histidine decarboxylase* ในปลาโอดำที่เก็บรักษาที่ 1๐ ± ๒ ซ.

เวลา (วัน)	ปลาทั้งตัว (WF)					ปลาตัดหัวเอาไส้พุงออก (GF)				
	ฮิสตามีน (ส่วนล้าน)	ด่างระเหยได้ทั้งหมด (มก.%)	pH	บักเตรีทั้งหมด (ต่อกรัม)	บักเตรีที่มีเอนไซม์ (ต่อกรัม)	ฮิสตามีน (ส่วนล้าน)	ด่างระเหยได้ทั้งหมด (มก.%)	pH	บักเตรีทั้งหมด (ต่อกรัม)	บักเตรีที่มีเอนไซม์ (ต่อกรัม)
0	28.84	7.15	5.75	1.20×10^4	5.00×10^3	28.84	7.15	5.75	1.20×10^4	5.00×10^3
3	42.09	10.29	6.12	2.90×10^2	2.00×10^2	36.93	9.02	6.01	1.30×10^2	1.00×10^2
5	40.40	8.65	5.92	1.04×10^4	7.50×10^3	37.61	9.54	6.01	4.50×10^3	5.00×10^2
7	87.61	11.78	7.05	2.00×10^5	2.30×10^3	71.33	12.53	7.15	2.32×10^5	1.40×10^4
9	127.24	10.21	6.13	2.30×10^5	2.60×10^4	114.75	12.53	5.93	4.20×10^5	7.00×10^4
11	192.05	12.83	6.25	1.95×10^5	6.50×10^4	146.65	15.07	6.12	5.30×10^5	3.00×10^4
13	222.78	23.85	6.27	5.20×10^5	4.20×10^5	222.87	21.32	6.36	2.40×10^6	5.00×10^5
15	257.13	21.03	6.30	1.80×10^6	8.70×10^5	238.17	34.91	6.54	1.33×10^7	2.50×10^6

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ค.4 ปริมาณฮิสตามีน, ปริมาณด่างระเหยได้ทั้งหมด, *pH*, ปริมาณบักเตรีทั้งหมดและปริมาณบักเตรีที่มีเอนไซม์ *histidine decarboxylase* ในปลาโอด่าที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง ($\bar{o} \pm \hat{e}$ ซ.)

เวลา (วัน)	ปลาทั้งตัว (WF)					ปลาตัดหัวเอาไส้พุงออก (GF)				
	ฮิสตามีน (ส่วนล้าน)	ด่างระเหยได้ทั้งหมด (มก.%)	pH	บักเตรีทั้งหมด (ต่อกรัม)	บักเตรีที่มีเอนไซม์ (ต่อกรัม)	ฮิสตามีน (ส่วนล้าน)	ด่างระเหยได้ทั้งหมด (มก.%)	pH	บักเตรีทั้งหมด (ต่อกรัม)	บักเตรีที่มีเอนไซม์ (ต่อกรัม)
0	28.84	7.15	5.75	1.20×10^4	5.00×10^3	28.84	7.15	5.75	1.20×10^4	5.00×10^3
3	28.11	7.97	5.86	2.60×10^2	0.40×10^2	28.29	7.31	6.14	2.10×10^2	0.20×10^2
5	32.70	6.56	6.89	1.25×10^2	0.70×10^2	33.10	6.31	7.02	1.18×10^2	0.15×10^2
7	24.91	3.48	6.05	2.20×10^3	2.00×10^2	30.22	4.24	6.00	3.00×10^3	2.80×10^2
9	25.24	2.46	6.21	3.05×10^2	3.00×10^2	32.88	2.68	6.08	2.20×10^3	7.00×10^2
11	36.44	6.33	6.27	3.50×10^3	1.00×10^2	36.41	5.42	6.14	1.80×10^3	9.00×10^2
13	25.62	6.33	6.41	6.20×10^3	8.00×10^2	33.76	5.59	6.42	2.29×10^4	1.20×10^3
15	36.98	7.03	6.49	1.36×10^4	2.20×10^3	28.54	6.36	6.40	9.00×10^3	0.80×10^3
17	33.93	10.03	6.30	4.45×10^4	7.80×10^3	27.49	13.71	6.46	4.85×10^4	2.50×10^3
19	28.86	9.31	6.39	1.49×10^5	3.20×10^4	28.38	8.69	6.50	5.73×10^4	6.00×10^3

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ค.5 ปริมาณฮีสตามีน ปริมาณด่างระเหยได้ทั้งหมด, *pH*, ปริมาณบักเตรีทั้งหมดและปริมาณบักเตรีที่มีเอนไซม์ *histidine decarboxylase* ในปลาโอด่าที่เก็บรักษาที่ -20 ± 2 ซ.

เวลา (วัน)	ปลาทั้งตัว (WF)					ปลาตัดหัวเอาไส้พุงออก (GF)				
	ฮีสตามีน (ส่วนล้าน)	ด่างระเหยได้ทั้งหมด (มก.%)	pH	บักเตรีทั้งหมด (ต่อกรัม)	บักเตรีที่มีเอนไซม์ (ต่อกรัม)	ฮีสตามีน (ส่วนล้าน)	ด่างระเหยได้ทั้งหมด (มก.%)	pH	บักเตรีทั้งหมด (ต่อกรัม)	บักเตรีที่มีเอนไซม์ (ต่อกรัม)
0	28.84	7.15	5.75	1.20×10^4	5.00×10^3	28.84	7.15	5.75	1.20×10^4	5.00×10^3
7	48.51	7.35	6.19	6.30×10^2	1.50×10^2	29.85	7.90	6.16	6.00×10^2	0.50×10^2
14	28.29	8.99	6.42	3.60×10^3	2.50×10^3	30.59	8.27	6.38	5.90×10^4	2.70×10^2
21	32.59	9.53	6.62	2.40×10^3	9.00×10^2	35.85	8.04	6.64	2.00×10^4	4.50×10^2
28	44.96	6.20	6.42	5.10×10^2	1.40×10^2	35.41	5.43	6.62	2.80×10^2	0.30×10^2
35	57.37	9.31	7.25	2.50×10^2	80	45.86	7.40	6.48	2.60×10^3	8.00×10^2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง.

การคำนวณโดยใช้ทฤษฎีทางจลศาสตร์

<u>การหาอัตราเร็วของปฏิกิริยา</u> *(k)*

ใช้อันดับของปฏิกิริยา *(order of reaction)* ในการคำนวณ โดยอันดับของปฏิกิริยาคือ ผลบวกของกำลังของความเข้มข้นของสารตั้งต้นทั้งหมด ซึ่งถ้าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารตั้งต้นไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสาร A การสลายตัวของสารตั้งต้น ดำเนินตามปฏิกิริยาอันดับศูนย์ *(Zero order reaction)*

$$c-c_0 = -kt \qquad (1)$$

c_0 = ความเข้มข้นของสาร A ที่เวลาเริ่มต้น = 0

c = ความเข้มข้นของสาร A ที่เวลา = t

เมื่อพลอตกราฟระหว่างความเข้มข้น, c กับเวลา, t จะได้กราฟเส้นตรง ซึ่งมีความชัน $-k$

แต่เมื่อความเข้มข้นของสารตั้งต้นลดต่ำลง อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารตั้งต้น อันดับของปฏิกิริยาจะมีค่ามากกว่าศูนย์ ซึ่งจะแสดงเป็นสมการของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งดังนี้คือ

$$\ln \frac{c}{c_0} = -kt \qquad (2)$$

เมื่อพลอตกราฟระหว่าง $\ln (c/c_0)$ กับเวลา, t จะได้กราฟเส้นตรงมีค่าความชัน = $-k$

และสมการของปฏิกิริยาอันดับสองคือ

$$\frac{1}{c} - \frac{1}{c_0} = kt \qquad (3)$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อพลอตกราฟระหว่าง $\frac{1}{c} - \frac{1}{c_0}$ กับเวลา, t จะได้กราฟเส้นตรงมีค่าความชัน $= k$

<u>การหาผลของอุณหภูมิต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยา</u> *(Ea)*

จากปฏิกิริยาอันดับต่าง ๆ อัตราเร็วคงที่ของปฏิกิริยา *(reaction rate constant* หรือ *k)* จะมีค่าขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ และในทางปฏิบัติ พบว่า อาจอธิบายได้โดยใช้สมการ *Arrhenius* คือ

$$k = Ae^{-Ea/RT} \qquad (4)$$

เมื่อ A = ค่าคงที่ *(frequency factor)*

Ea = พลังงานแอคติเวชั่น *(activation energy)*

R = ค่าคงที่ของก๊าซ *(gas constant)*

T = อุณหภูมิสัมบูรณ์ *(absolute temperature)*

จาก(4) $$\ln k = \ln A - \frac{Ea}{RT} \qquad (5)$$

เมื่อพลอตกราฟระหว่าง $\ln k$ กับ $\frac{1}{T}$ จะได้กราฟเส้นตรงมีความชัน $= -\frac{Ea}{R}$ ซึ่งวิธีนี้จะเรียกว่าวิธีที่ 1

จาก *(2), (5)* $$\ln \left[\frac{\ln \frac{c}{c_0}}{t} \right] = \ln A - \frac{Ea}{RT} \qquad (6)$$

เมื่อพลอตกราฟระหว่าง $\ln \left[\frac{\ln \frac{c}{c_0}}{t} \right]$ กับ $\frac{1}{T}$ จะได้กราฟเส้นตรงมีความชัน $-\frac{Ea}{R}$ ซึ่งวิธีนี้จะเรียกว่าวิธีที่ 2

จากวิธีที่หนึ่ง สมการ *(5)* และวิธีที่สอง สมการ *(6)* สามารถคำนวณหาค่า Ea และ k ได้

การคำนวณหาค่า k

หาค่าความชัน (k) ของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง โดยการพลอตกราฟระหว่าง $\ln \frac{c}{c_0}$ กับเวลา, t และให้กราฟผ่านจุด $origin$

x = เวลา, t

y = $\ln \frac{c}{c_0}$

โดย b หรือความชัน = $\Sigma xy / \Sigma x^2$

$$r = \frac{n\Sigma xy - (\Sigma x)(\Sigma y)}{\sqrt{[n\Sigma x^2 - (\Sigma x)^2][n\Sigma y^2 - (\Sigma y)^2]}}$$

การคำนวณหาค่า Ea

หาค่าความชัน $(\frac{-Ea}{R})$ ในสมการ $Arrhenius$ โดยการพลอตกราฟระหว่าง $\ln k$ กับ $\frac{1}{T}$ และ $\ln \left[\frac{(\ln \frac{c}{c_0})}{t} \right]$ กับ $\frac{1}{T}$

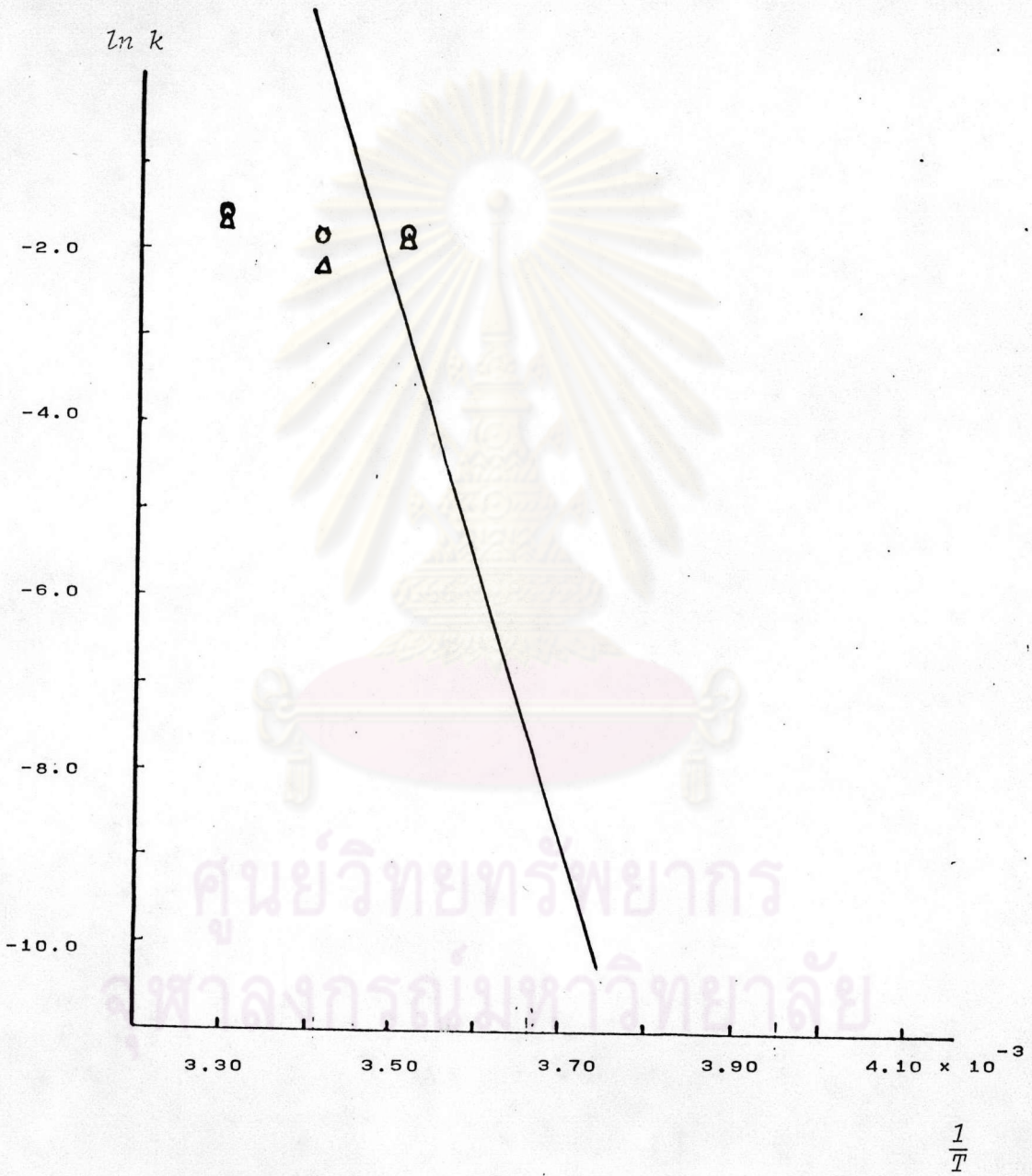
x = $\frac{1}{T}$

y = $\ln k$ และ $\ln \left[\frac{(\ln \frac{c}{c_0})}{t} \right]$

โดย b หรือความชัน = $\frac{\Sigma(x_1 - \bar{x})(y_1 - \bar{y})}{\Sigma(x_1 - \bar{x})^2}$

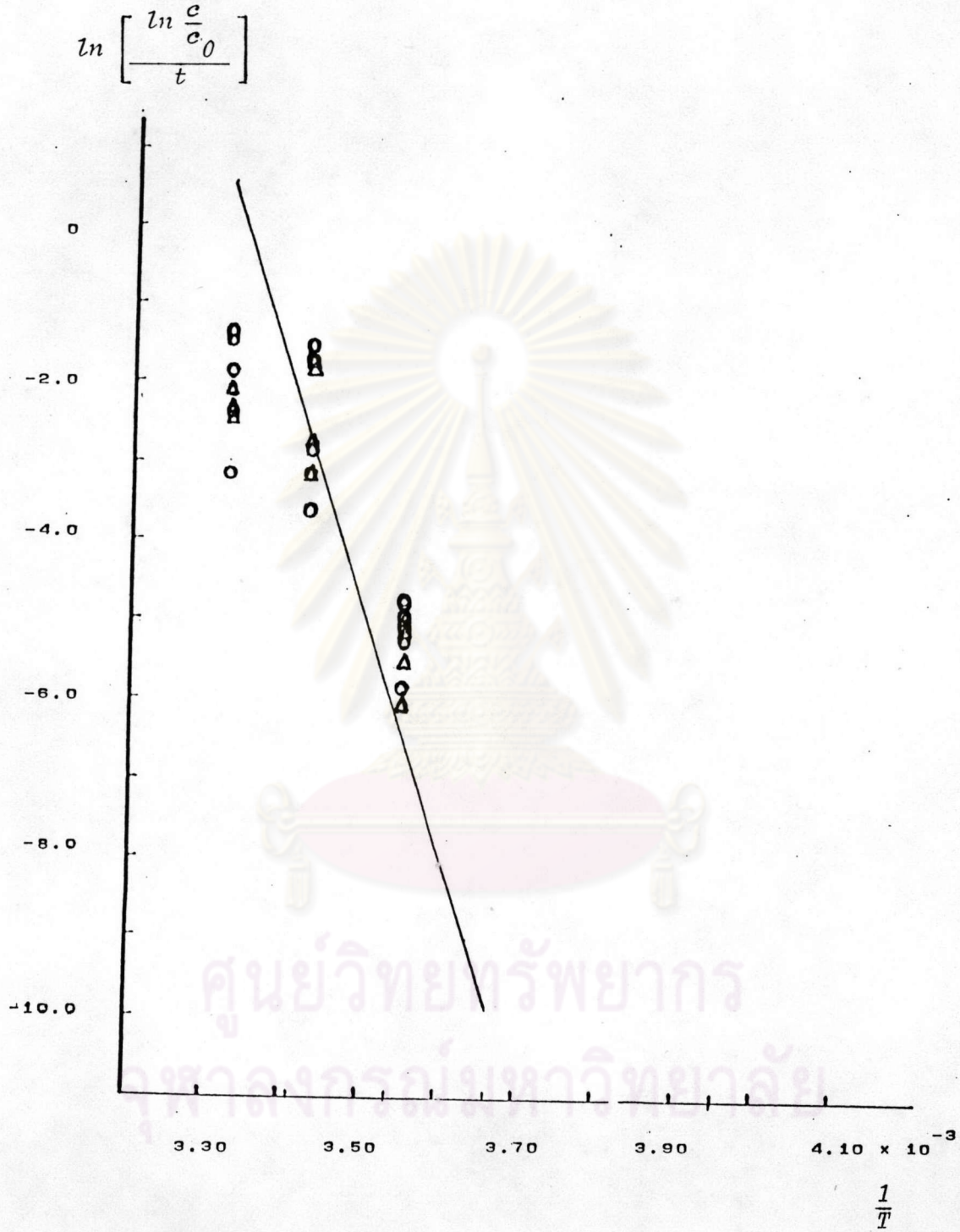
$$r = \frac{\Sigma(xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)/n}{\sqrt{[\Sigma x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n}][\Sigma y^2 - \frac{(\Sigma y)^2}{n}]}}$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 23 กราฟเส้นตรงระหว่าง $ln\ k$ กับ $\frac{1}{T}$ เพื่อหาค่าพลังงานแอคติเวชั่น (Ea)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 24 กราฟเส้นตรงระหว่าง $ln\left[\frac{ln\frac{c}{c_0}}{t}\right]$ กับ $\frac{1}{T}$ เพื่อหาค่าพลังงานแอคติเวชั่น *(Ea)*

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ง.1 ข้อมูลปริมาณฮิสตามีนในปลาโอดำสดทั้งตัวเก็บรักษาที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ

อุณหภูมิที่เก็บรักษา (°ซ)	เวลาที่เก็บรักษา (t) (นาที)	ปริมาณฮิสตามีน (c) (ส่วนล้าน)	$ln \frac{c}{c_0}$	$ln\left[\frac{ln \frac{c}{c_0}}{t}\right]$
30°	0	28.84	0	E
	6	36.96	0.2481	-3.1857
	12	81.87	1.0434	-2.4424
	15	231.12	2.0812	-1.9751
	20	2868.25	4.5997	-1.4697
	24	4128.23	4.9638	-1.5759
20°	0	28.84	0	E
	6	41.65	0.3575	-2.8204
	12	37.92	0.2737	-3.7806
	15	54.76	0.6412	-3.1525
	20	714.58	3.2099	-1.8295
	24	2940.97	4.6247	-1.6466
10°	0	28.84	0	E
	72	42.09	0.3780	-5.2495
	120	40.40	0.3371	-5.8749
	168	87.61	1.1111	-5.0186
	216	127.24	1.4843	-4.9803
	264	192.05	1.8960	-4.9362
	312	222.78	2.0444	-5.0179
	360	257.13	2.1878	-5.1032

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ง.2 ข้อมูลปริมาณฮิสตามีนของปลาโอดำสดตัดหัวเอาไส้พุงออกเก็บรักษาที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ

อุณหภูมิที่เก็บรักษา (°ซ)	เวลาที่เก็บรักษา (t) (นาที)	ปริมาณฮิสตามีน (c) (ส่วนล้าน)	$\ln \frac{c}{c_0}$	$\ln\left[\frac{\ln \frac{c}{c_0}}{t}\right]$
3	0	28.84	0	E
	6	59.88	0.7306	-2.1056
	12	25.31	0.9598	-2.5259
	15	113.09	1.3664	-2.3959
	20	2716.53	4.5463	-1.4816
	24	4192.19	4.9792	-1.5728
2	0	28.84	0	E
	6	42.24	0.3816	-2.7551
	12	48.92	0.5284	-3.1298
	15	67.83	0.8552	-2.8645
	20	495.83	2.8445	-1.9503
	24	1054.14	3.5987	-1.8975
1	0	28.84	0	E
	72	36.93	0.2493	-5.6738
	120	37.61	0.2655	-6.1136
	168	71.33	0.9056	-5.2231
	216	114.75	1.3810	-5.0525
	264	146.65	1.6263	-5.0896
	312	222.87	2.0448	-5.0277
	360	238.17	2.1112	-5.1388

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข.

ตารางที่ จ.1 ปริมาณฮิสตามีนและ *pH* ของปลาโอกระป๋อง (ทำจากปลาโอที่มีปริมาณฮิสตามีนเริ่มต้นต่าง ๆ กัน และใช้อุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อ 2 ระดับ) เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน)

ฮิสตามีนเริ่มต้น	58.46 ส่วนล้าน		512.70 ส่วนล้าน		2843.66 ส่วนล้าน	
อุณหภูมิที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ	$112^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ซ.	$121^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ซ.	$112^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ซ.	$121^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ซ.	$112^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ซ.	$121^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ซ.
เวลาที่ใช้ในการเก็บรักษา (วัน)	ฮีสตามีน (ส่วนล้าน) *pH*	ฮีสตามีน (ส่วนล้าน) *pH*	ฮีสตามีน (ส่วนล้าน) *pH*	ฮีสตามีน (ส่วนล้าน) *pH*	ฮีสตามีน (ส่วนล้าน) *pH*	ฮีสตามีน (ส่วนล้าน) *pH*
1	59.41 5.94	58.15 5.92	511.25 5.98	512.37 5.96	2840.0 6.31	2841.99 6.35
15	59.17 6.19	58.45 6.15	510.98 6.34	511.86 6.16	2842.25 6.62	2841.24 6.61
30	59.26 6.84	57.54 6.85	512.30 5.99	511.62 6.57	2842.83 6.34	2842.03 6.36
45	58.74 6.56	57.76 6.55	512.75 6.62	512.23 6.59	2841.95 7.03	2840.42 6.94
60	59.50 6.43	58.39 6.44	511.81 6.65	511.45 6.53	2840.46 6.89	2840.56 6.90
75	58.27 6.56	58.18 6.55	511.95 6.61	511.90 6.61	2841.50 6.97	2842.33 6.95
90	59.25 5.92	58.32 5.72	512.53 6.95	511.70 5.79	2841.72 6.18	2842.66 6.10

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาวอรวรรณ คงพันธุ์ เกิดมื่อวันที่ 15 มิถุนายน พ.ศ. 2498 ที่จังหวัดบุรีรัมย์ สำเร็จการศึกษาขั้นปริญญาตรีในสาขาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (ประมง) จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในปี พ.ศ. 2520 เริ่มเข้ารับราชการครั้งแรกที่กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง ในปี พ.ศ. 2520 ปัจจุบันเป็นนักวิชาการผลิตภัณฑ์อาหารระดับ 5 กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย