

บทที่ 3

การทดลอง

3.1 ปลาที่ใช้ทดลอง

ปลาที่ใช้ในการทดลองอยู่ในสกุล *Thunnus tonggol* Bleeker, 1852 มีชื่อสามัญว่า *Longtail tuna* คนท้องถิ่นเรียกว่า ปลาโอคำ ขนาดปลาที่นำมาทดลองมีน้ำหนักประมาณตัวละ 1.5-2.0 กก. ได้จากการจับโดยใช้อวนลากจากทะเลในอ่าวไทย ปลาที่จับได้จะถูกเก็บไว้ในห้องใต้ท้องเรือโดยผสมกับน้ำแข็ง ปลาจะถูกเก็บอยู่บนเรือประมาณ 3 วัน เมื่อเรือเทียบท่าที่จังหวัดระยอง บรรจุปลาโอคำที่จะใช้ทดลองในถังที่หุ้มฉนวนกันความร้อน ขนาด $33\frac{1}{2}'' \times 16'' \times 16\frac{1}{2}''$ และน้ำแข็งซึ่งใช้เพื่อควบคุมอุณหภูมิในระหว่างการขนส่งทางรถยนต์จากจังหวัดระยองมายังกรุงเทพฯ โดยเวลาที่ใช้ในการขนส่งประมาณ 3 ชม.

เมื่อปลาโอคำถูกขนส่งมาถึงสถานที่ทำการทดลอง คือ กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง ปลาโอคำทั้งหมดจะถูกล้างด้วยน้ำให้สะอาดและแบ่งออกเป็น 2 ส่วน โดยการสุ่ม (*random*) ส่วนแรกใช้ในการทดลองเก็บรักษาในสภาพพลาสติก และส่วนที่สองใช้ในการทดลองทำปลาโอบรรจุกระป๋อง

3.2 ขั้นตอนการทดลอง

การทดลองแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ

3.2.1 การทดลองเพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาต่อการเกิดฮิสตามีนในปลาโอคำสด

แบ่งปลาโอคำส่วนที่จะทดลองเก็บรักษาในสภาพพลาสติก ออกเป็น 2 ส่วนโดยการสุ่ม ส่วนหนึ่งทดลองเก็บรักษาในลักษณะปลาทั้งตัว อีกส่วนหนึ่งทดลองเก็บรักษาในลักษณะที่ตัดหัวและเอาไส้พุงปลาออก ล้างปลาทั้ง 2 ส่วนด้วยน้ำให้สะอาด นำปลาทั้ง 2 ลักษณะไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 อุณหภูมิและวิธีการเก็บรักษาปลาโอดำสด

อุณหภูมิที่เก็บรักษา	วิธีการเก็บรักษา
$30^{\circ} + 2^{\circ} \text{ C.}$	เก็บในห้องควบคุมอุณหภูมิ
$20^{\circ} + 2^{\circ} \text{ C.}$	" "
$10^{\circ} + 2^{\circ} \text{ C.}$	เก็บในตู้เย็น
$0^{\circ} + 2^{\circ} \text{ C.}$	เก็บโดยใช้น้ำแข็งบดละเอียด
$-20^{\circ} + 2^{\circ} \text{ C.}$	เก็บในตู้แช่แข็ง

การสุ่มตัวอย่างปลาทั้ง 2 ลักษณะ เพื่อตรวจวิเคราะห์ค่าทางเคมี จุลชีว และทางกายภาพ

การตรวจวิเคราะห์ทางเคมีและจุลชีวจะสุ่มตัวอย่างปลาครั้งละ 3 ตัว ใช้เฉพาะเนื้อส่วนสีขาว ตีปนรวมกัน

การตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพ จะสุ่มตัวอย่างปลาครั้งละ 3 ตัว

โดยระยะเวลาในการสุ่มตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์ทางเคมี จุลชีว และทางกายภาพ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ระยะเวลาในการสุ่มตัวอย่างปลาโอดำมาตรวจวิเคราะห์

อุณหภูมิที่เก็บรักษา	ระยะเวลาที่สุ่มตัวอย่าง										
$30^{\circ} + 2^{\circ} \text{ C.}$	0	6	12	15	20	24			ชม.		
$20^{\circ} + 2^{\circ} \text{ C.}$	0	6	12	15	20	24			ชม.		
$10^{\circ} + 2^{\circ} \text{ C.}$	0	3	5	7	9	11	13	15	วัน		
$0^{\circ} + 2^{\circ} \text{ C.}$	0	3	5	7	9	11	13	15	17	19	วัน
$-20^{\circ} + 2^{\circ} \text{ C.}$	0	7	14	21	28	35			วัน		

๓.๒.๑.๑ การตรวจวิเคราะห์ทางเคมี ตัวอย่างที่ได้จะทำการวิเคราะห์
หา

- ปริมาณฮิสตามีน (๓๒) ดังรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ก.๑
- ปริมาณต่างระเหยได้ทั้งหมด (*total volatile bases* หรือ *TVB*) (๓๓) ดังรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ก.๒
- ความเป็นกรด-ด่าง (*pH*) โดยใช้ *pH meter (radio-meter รุ่น PHM 83)*

๓.๒.๑.๒ การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา ตรวจวิเคราะห์หา

- ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (*total viable count* หรือ *TVC*) (๓๔) ดังรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ก.๓
- ปริมาณแบคทีเรียที่มีเอนไซม์ *histidine decarboxylase* (๓๕) ดังรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ก.๔

๓.๒.๑.๓ การตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพ

การตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างปลา (*sensory evaluation*) ใช้ผู้ตรวจสอบที่ได้รับการฝึกแล้ว (*trained panelist*) จำนวน ๘ คน ตรวจสอบลักษณะทั่วไป กลิ่น ความสดของเนื้อปลา และเนื้อส่วนท้อง (๓๖) โดยการให้คะแนน ตามรายละเอียดในแบบฟอร์มที่ใช้ในการตรวจสอบ ดังแสดงในภาคผนวก ข.

คะแนนที่ได้จะนำมาหาคะแนนเฉลี่ย และมีหลักเกณฑ์ในการตัดสินดังนี้

<u>คะแนน</u>	<u>ระดับ</u>
5	ดีมาก
4	ดี

คะแนน

ระดับ

3

พอใช้

2

1

ใช้ไม่ได้ ผู้บริโภคไม่ยอมรับ

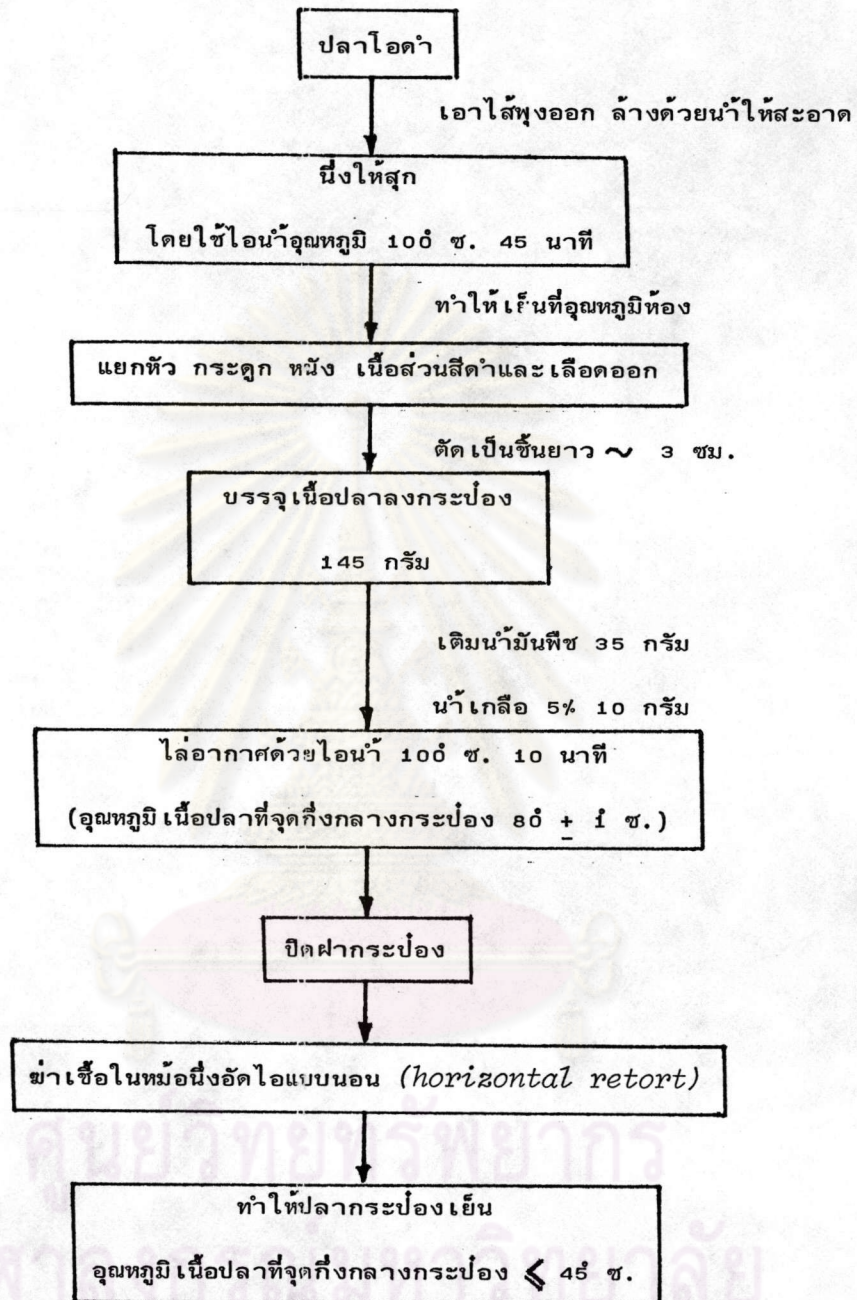
3.2.1.4 การประเมินผลทางสถิติ

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่าทั้งหมดที่วิเคราะห์แต่ละสภาพการทดลอง ด้วยวิธี *Duncan multiple range test* และวิธี *two-way classification* (37)

3.2.2 การทดลองเพื่อศึกษาผลของการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนในกระบวนการบรรจุกระป๋องต่อปริมาณฮิสตามีนที่มีในปลาโอดำ

นำปลาโอดำที่จะทดลองบรรจุกระป๋องมาแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ตามปริมาณฮิสตามีน โดยแต่ละส่วนจะมีปริมาณฮิสตามีนประมาณ 50 ส่วนล้าน 500 ส่วนล้าน และมากกว่า 1,000 ส่วนล้าน ตามลำดับ ปลาทั้ง 3 ส่วนนำมาทำเป็นปลาโอกระป๋องโดยผ่านกระบวนการผลิตปลาโอกระป๋อง ดังแสดงในแผนภูมิต่อไปนี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



โดยกระป๋องที่ใช้เป็นกระป๋องเคลือบแลคเกอร์ชนิด *epoxy-phenolic lacquer* ขนาด 307 x 113 และอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อปลาโอต่าง 3 ส่วน มี 2 ระดับคือ 112 ± 1 ซ. 75 นาที ($F_0 = 2.80$) และ 121 ± 1 ซ. 40 นาที ($F_0 = 2.80$) (31)

ปลาโอกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วทั้งหมด 6 ตัวอย่าง จะเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชม. แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีนของปลาโอกระป๋อง เปรียบเทียบกับปริมาณฮิสตามีนของเนื้อปลาก่อนที่จะผ่านกระบวนการบรรจุกระป๋อง โดยสุ่มตัวอย่างปลาโอกระป๋อง ครั้งละ 3 กระป๋อง เอาเฉพาะส่วนเนื้อดีปนรวมกัน แล้วตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณฮิสตามีนแต่ละสภาพการทดลอง ด้วยวิธี *Duncan multiple range test* (37)

3.2.3 การทดลองศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮิสตามีนของปลาโอกระป๋องในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน

ปลาโอกระป๋องที่ได้จากการทดลองข้อ 3.2.2 จำนวน 6 ตัวอย่าง นำมาทดลองเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน ตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีนของปลาโอกระป๋องทั้ง 6 ตัวอย่าง หลังกการเก็บรักษาไว้ 1 วัน 15 วัน 30 วัน 45 วัน 60 วัน 75 วัน และ 90 วัน โดยสุ่มตัวอย่างปลาโอกระป๋องเช่นเดียวกับการสุ่มตัวอย่างในข้อ 3.2.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณฮิสตามีนด้วยวิธี *Duncan multiple range test* (37)