

การใช้ฟิล์มไบโอบีโอดีเสริมสารต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ปลากระพง (*Lates calcarifer*)
รวมควันเย็น

นางสาวอินทอร กำแพงทอง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2553
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

USE OF EDIBLE FILM ADDED WITH ANTIMICROBIAL AGENTS IN COLD SMOKED
GIANT PERCH (*Lates calcarifer*) PRODUCT

Miss Intoo-on Gumpangthong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2010

Copyright of Chulalongkorn University

อินทอร กำแพงทอง : การใช้ฟิล์มบิโบริโกลได้เสริมสารต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ปลากระพง (*Lates calcarifer*) รมควันเย็น USE OF EDIBLE FILM ADDED WITH ANTIMICROBIAL AGENTS IN COLD SMOKED GIANT PERCH (*Lates calcarifer*) PRODUCT. อ. ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อ. ดร. ขาลีดา บรมพิชัยชาติกุล, อ. ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ผศ. ดร. วรภา คงเป็นสุข, 95 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการแปรรูปที่เหมาะสมในการผลิตปลากระพงรมควันเย็นและศึกษาการใช้ฟิล์มบิโบริโกลได้ต้านจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยแบ่งงานวิจัยเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้ ขั้นตอนที่ 1 ศึกษากระบวนการรมควันเย็นที่เหมาะสม โดยแช่ชิ้นเนื้อข้างลำตัวปลากระพงในน้ำตะไคร้ที่เค็มเกลือ แปรความเข้มข้นของเกลือ 3 ระดับ ได้แก่ 5, 10 และ 15% (w/v) ใช้เวลาในการแช่ปลา 30 นาที (ปลา ต่อ สารสกัดตะไคร้ผสมเกลือ, 1:1) จากนั้นแปรอุณหภูมิรมควัน 3 ระดับ ได้แก่ 35, 40 และ 45°C และแปรเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม. พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการรมควันมากขึ้น ตัวอย่างปลาที่ได้มีความชื้นลดลง เนื้อสัมผัสแข็งขึ้น ค่า L^* และ a^* ของตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ค่า b^* ของตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่งผลให้ตัวอย่างปลารมควันมีสีเข้มขึ้น และเมื่อนำตัวอย่างที่แช่สารละลายเกลือที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้น ไปรมควันที่อุณหภูมิเดียวกันและใช้เวลารมควันเท่ากัน พบว่า ปริมาณความชื้นของตัวอย่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเกลือ แต่ตัวอย่างดังกล่าว มีค่า L^* a^* และ b^* ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างที่เลือกมาพบว่าผู้บริโภคให้คะแนนการยอมรับในผลิตภัณฑ์ปลากระพงรมควันเย็นที่ผลิตจากเนื้อปลากระพงขาวแช่ในน้ำตะไคร้ที่เค็มเกลือ ความเข้มข้นของเกลือ 5% (w/v) ใช้เวลาในการแช่ปลา 30 นาที รมควันที่อุณหภูมิ 45°C ใช้เวลารมควัน 2 ชม. มากที่สุด ค่าอเดอริแอดคิตีตี (a_w) ของปลากระพงรมควันเย็น มีค่า 0.957 ค่า L^* a^* และ b^* มีค่า 46.87, 6.04 และ 13.17 ตามลำดับ มีความชื้น ปริมาณโปรตีน ไขมัน ใยและคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 71.48, 18.9, 2.31, 2.78, 4.53 และ 2.98 ตามลำดับ จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 3.5×10^3 CFU/g จำนวนยีสต์และรา น้อยกว่า 30 CFU/g ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาการนำฟิล์มบิโบริโกลได้ต้านจุลินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ ฟิล์มเพกตินที่ตรึงไลโปโซมของสารต้านจุลินทรีย์จากสมุนไพรรักษา ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม กานพลูและสารสกัดจากทับทิมด้วยเอธานอล ฟิล์มคาราจีแนนเติมน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยและฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน นำตัวอย่างที่หุ้มฟิล์มบรรจุในถุงพลาสติก LDPE ปิดผนึกและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C พบว่า ฟิล์มไคโตซานผสมไนซินมีประสิทธิภาพในการยืดอายุของผลิตภัณฑ์ได้นานที่สุด 40 วัน ในขณะที่ฟิล์มคาราจีแนนที่ใส่สารสกัดจากอบเชยและฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของน้ำมันกานพลู น้ำมันกระเทียมและสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอล สามารถยืดอายุของผลิตภัณฑ์ได้นาน 30 และ 25 วันตามลำดับ โดยผู้บริโภคให้คะแนนการยอมรับผลิตภัณฑ์ปลากระพงรมควันเย็นที่หุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซินมากที่สุด ($p \leq 0.05$) และขั้นตอนที่ 3 ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและทำให้อาหารเสื่อมเสียของฟิล์มไคโตซานผสมไนซินต่อปลากระพงรมควันเย็น พบว่าฟิล์มสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (total plate count, Lactic acid bacteria, *Listeria* spp. and *Staphylococcus aureus*) ได้ตลอดอายุการเก็บรักษา 40 วัน

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อนิสิต.....
 สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
 ปีการศึกษา.....2553..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

5072611723 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORDS : COLD SMOKED FISH / ANTIMICROBIAL FILM / EDIBLE

INTOO-ON GUMPANGTHONG : USE OF EDIBLE FILM ADDED WITH ANTIMICROBIAL AGENTS IN COLD SMOKED GIANT PERCH (*Lates calcarifer*) PRODUCT. THESIS ADVISOR : CHALEEDA BOROMPICHAICHARTKUL, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR : ASST. PROF. VARAPHA KONGPENSUUK, Ph.D., 95 pp.

This research is aimed to develop an appropriate process for cold smoked giant perch and using antimicrobial agents incorporated with edible film or coating material for shelf life extension. The first section was study on process development of cold smoked giant perch. The giant perch was prepared by filleting, trimming and washing. Then the fillets were soaked in crude lemongrass extract solution added with salt at 3 concentrations (5 - 15% w/v) for 30 min (fish to brine ratio of 1:1 w/w). After soaking, the fish was transferred to a smoking chamber. Smoking temperature and time were varied at 35, 40 and 45°C and 2, 2.5 and 3 h. The results showed that when smoking temperature and time were increased, fish samples losed more moisture content and its texture became harder than using low smoking temperature and shorter time. In addition, color of the samples became darker as L^* and a^* values decreased while b^* values increased significantly ($p \leq 0.05$) as smoking temperature and time increased. Moisture content of sample soaking in high salt concentrations (smoked at the same temperature and same period of time) was reduced significantly. However, there was no statistically significant differences ($p > 0.05$) in L^* a^* and b^* values for high salt concentration treatment. Sensory evaluation scores showed that cold smoked giant perch produced from the fillets soaking in a crude lemongrass extract solution added with 5% salt (w/v) for 30 min, smoking under temperature and time at 45°C and 2 h was the most accepted. The water activity (a_w) of smoked giant perch was 0.957. L^* a^* and b^* values were 46.87, 6.04 and 13.17, respectively. Proximate analysis of cold smoked fish from selected condition had moisture content, protein, fat, ash and carbohydrate content of 71.48, 18.9, 2.31, 2.78, 4.53 and 2.98, respectively. Total bacteria, yeast and mold counts were 3.5×10^3 and less than 30 CFU/g. In the second section, performance of edible antimicrobial films namely, chitosan film added with nisin, carrageenan film incorporated with cinnamon extract and pectin film incorporated with liposome was studied. Edible antimicrobial film was used to wrap cold smoked giant perch then the wrapped fish was kept at 4 °C. It was found that chitosan film added with nisin was able to extended shelf life of the product to 40 days. Carrageenan film incorporated with cinnamon extract and pectin film incorporated with liposome could extend shelf life of cold smoked Giant Perch for 30 and 25 days, respectively. The cold smoked giant perch wrapped by chitosan film added with nisin was the most accepted in sensory evaluation ($p \leq 0.05$). In the final section, chitosan film added with nisin was test against pathogen and spoilage microorganisms (total plate count, Lactic acid bacteria, *Listeria* spp. and *Staphylococcus aureus*) of cold smoked giant perch during storage (4°C) for 40 days. The result showed that the film was effective in inhibiting growth of pathogen and spoilage microorganisms compared to control sample and extended shelf life of the product to 40 days.

Department : Food Technology Student's Signature

Field of Study : Food Technology Advisor's Signature

Academic Year : 2010 Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรภา คงเป็นสุข อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำชี้แนะและข้อคิดเห็นอันเป็นประโยชน์ ตลอดจนมอบกำลังใจให้แก่ผู้วิจัยจนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

กราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.นินนาท ชินประเสริฐ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชื่นจิต ประกิจชัยวัฒนา และ ดร.นิรัชรา เลาหประสิทธิ์ ที่กรุณาสละเวลามาร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อีกทั้งมอบคำแนะนำอันเป็นประโยชน์และแนวทางปรับปรุงแก้ไขให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทความรู้ทั้งในด้านวิชาการ คุณธรรม และจริยธรรม ซึ่งเป็นรากฐานในการศึกษาค้นคว้างานวิจัยและการดำเนินชีวิต

ขอขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รุ่นที่ 11 (1/2553) ที่สนับสนุนเงินทุนวิจัยในครั้งนี้

ขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการทำวิจัย

ขอขอบคุณรุ่นพี่และเพื่อนนิสิตในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านที่เป็นกำลังใจพร้อมทั้งคอยให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือตลอดมา จนกระทั่งงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วง

ท้ายที่สุดแล้วงานวิจัยนี้คงไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้หากผู้วิจัยไม่ได้รับการสนับสนุนจากบิดา มารดา พี่สาว และญาติมิตร ที่คอยให้ความช่วยเหลือตลอดจนมอบกำลังใจอันมีค่ายิ่งเสมอมา ผู้วิจัยมีความศรัทธาอย่างแรงกล้าในงานวิจัยนี้ว่าจะมีประโยชน์แก่ผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้ต่อไป หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใด ผู้วิจัยขอน้อมรับข้อเสนอแนะและขออภัยมา ณ ที่นี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 วารสารปริทัศน์	3
2.1 ปลากะพง.....	3
2.2 การรมควัน.....	3
2.3 ฟิล์มบริโคได้	10
2.4 สารต้านจุลินทรีย์.....	15
2.5 กลไกการทำงานของสารต้านจุลินทรีย์.....	16
2.6 สารต้านจุลินทรีย์จากน้ำมันหอมระเหย	16
2.7 ไนซิน.....	18
2.8 การบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์.....	20
2.9 การประยุกต์ใช้การบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ในอาหาร	21
2.10 คุณภาพของอาหารและการเสื่อมเสีย.....	23
2.11 แบบคิที่เรียที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ประมง	24
3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย	27
3.1 วัตถุประสงค์และสารเคมี.....	27
3.2 อุปกรณ์.....	28
3.3 ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย	29
3.3.1 วิเคราะห์คุณภาพของวัตถุประสงค์	29
3.3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการรมควันเย็นของปลากะพงด้วยชานอ้อย.....	29
3.3.3 คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตปลากะพงรมควันเย็นและผลการประเมิน คุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์.....	31

บทที่	หน้า
3.3.4 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางจุลชีววิทยาของปลากะพง รมควันเย็น.....	31
3.3.5 ศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ ปลากะพงรมควันเย็นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C	31
3.3.6 ศึกษาอายุการเก็บรักษาของปลากะพงรมควันเย็นด้วยชานอ้อยที่มีการใช้ ฟิล์มต้านจุลินทรีย์	32
4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	34
4.1 การวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบ.....	34
4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการรมควันเย็นของปลากะพงด้วยชานอ้อย.....	35
4.3 การคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตปลากะพงรมควันเย็นและการยอมรับ ของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ปลากะพงรมควันเย็น.....	47
4.4 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางจุลชีววิทยาของปลากะพงรมควันเย็น.....	51
4.5 การศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มบรอนโกคในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ ปลากะพงรมควันเย็นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C	53
4.6 การศึกษาอายุการเก็บรักษาของปลากะพงรมควันเย็นด้วยชานอ้อยที่มีการใช้ ฟิล์มต้านจุลินทรีย์.....	57
5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	63
5.1 สรุปผลการทดลอง	63
5.2 ข้อเสนอแนะ	64
รายการอ้างอิง.....	65
ภาคผนวก.....	72
ภาคผนวก ก	73
ภาคผนวก ข	83
ภาคผนวก ค	86
ภาคผนวก ง	90
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	95

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ปลาแฮร์ริงรมควัน (g/100 g dried matter)	9
2.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนของปลาแฮร์ริงรมควัน (g/100 g dried matter)	10
4.1 คุณภาพของเนื้อปลากะพงสดทางด้านเคมีและทางจุลชีววิทยา.....	34
4.2 ปริมาณความชื้น (ร้อยละ) ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในน้ำเกลือ ความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C และแปรระยะเวลา รมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม.....	36
4.3 ค่า a_w ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในน้ำเกลือ ความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C และแปรระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม	37
4.4 ค่าสี (L^*) ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในน้ำเกลือ ความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C และแปรระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม	39
4.5 ค่าสี (a^*) ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในน้ำเกลือ ความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C และแปรระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม	41
4.6 ค่าสี (b^*) ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในน้ำเกลือ ความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C และแปรระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม	43
4.7 ค่าความแข็งของเนื้อปลา (hardness; g force) ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในน้ำเกลือ ความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C และแปรระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม	45
4.8 คะแนนการประเมินผลทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ปลากะพงรมควันที่สภาวะต่างๆ	48
4.9 ลักษณะทางประชากรศาสตร์ของผู้ทดสอบ	49
4.10 คะแนนเฉลี่ยระดับความชอบของผลิตภัณฑ์ต่อปัจจัยคุณภาพด้านต่างๆ จากผลการทดสอบ การยอมรับของผู้บริโภคจำนวน 100 คน.....	50
4.11 คะแนนการยอมรับในบรรจุภัณฑ์และผลิตภัณฑ์ปลากะพงรมควัน.....	51
4.12 คุณภาพของปลากะพงรมควันทางด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา	52
4.13 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของปลากะพงรมควันห่อด้วยฟิล์มไคโตซาน ผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษา 4°C.....	55
4.14 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของปลากะพงรมควันห่อด้วยฟิล์มคาราจีแนน เติมสารสกัดจากอบเชย บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษา 4°C	55
4.15 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของปลากะพงรมควันห่อด้วยฟิล์มเพกติน เติมสารต้านจุลินทรีย์จากสมุนไพรได้แก่ น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม กานพลู และสารสกัด จากทับทิมด้วยเอธานอลบรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษา 4°C.....	56

สารบัญญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ปลากะพงขาว (<i>Lates calcarifer</i>)	3
2.2 ปริมาณผลผลิตปลากะพงขาวในปี 2551 - 2553	4
2.3 โครงสร้างของโคโคแซน.....	13
2.4 โครงสร้างของไนซิน	19
2.5 ระบบการบรรจุแบบเดิม (A) ระบบการบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ (B)	21
3.1 ตำแหน่งในการวัดค่าสี $L^* a^* b^*$ ด้วยเครื่อง chroma meter ในชิ้นปลากะพงรมควัน	30
3.2 ตำแหน่งในการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของชิ้นปลากะพงรมควัน	30
4.1 ค่า a_w ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในสารละลายเกลือความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C ระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม.....	38
4.2 ค่า L^* ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในสารละลายเกลือความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C ระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม.....	40
4.3 ค่า a^* ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในสารละลายเกลือความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C ระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม.....	42
4.4 ค่า b^* ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในสารละลายเกลือความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C ระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม.....	44
4.5 ค่าความแข็งของเนื้อปลา (hardness; g force) ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในสารละลายเกลือความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C ระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม.....	46
4.6 แผนภาพแสดงสัดส่วนของอาชีพของผู้ตอบแบบสอบถาม	49
4.7 แผนภาพแสดงสัดส่วนของรายได้ต่อเดือนของผู้ตอบแบบสอบถาม.....	49
4.8 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total bacteria count) ในปลากะพงรมควันควบคุมและปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มเสริมสารต้านจุลินทรีย์ บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดา ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C.....	54
4.9 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total bacteria count) ในปลากะพงรมควันควบคุมและปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มโคโคแซนผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C.....	58
4.10 จำนวนจุลินทรีย์ <i>Listeria</i> spp. ในปลากะพงรมควันควบคุมและปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มโคโคแซนผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C.....	59
4.11 จำนวนจุลินทรีย์ <i>S. aureus</i> ในปลากะพงรมควันควบคุมและปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มโคโคแซนผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บที่ 4°C	60
4.12 จำนวนจุลินทรีย์ lactic acid bacteria ในปลากะพงรมควันควบคุมและปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มโคโคแซนผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C	61

บทที่ 1

บทนำ

ปลากะพงได้รับความสนใจในการเพาะเลี้ยง เนื่องจากเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว และให้ผลผลิตสูง เป็นอาหารที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายและเป็นที่ต้องการของตลาด ดังนั้นจึงมีการขยายการเพาะเลี้ยงปลากะพงในบ่อดินมากขึ้น เมื่อผลผลิตมากและอายุการเก็บสั้น ส่งผลให้ราคาของปลากะพงต่ำลงเนื่องจากการแข่งขันทางการตลาด นอกจากนี้ ปลาที่เลี้ยงในบ่อดิน มักมีกลิ่นโคลนและกลิ่นคาวที่ไม่พึงประสงค์ ทำให้คุณภาพในการขายไม่ดีเท่าปลากะพงที่เลี้ยงในกระชังปลา หากมีการแปรรูปปลากะพงจากบ่อดินให้สามารถเก็บรักษาได้นานขึ้น เพิ่มกลิ่นรสของอาหารและสีที่นำรับประทาน น่าจะเป็นทางเลือกในการช่วยเพิ่มมูลค่าของปลากะพงให้มากขึ้น และในปัจจุบันผู้บริโภคมีความต้องการอาหารที่มีความสดใหม่ ปราศจากสารกันเสีย งานวิจัยที่ผ่านมาศึกษาผลของการเติมสารต้านจุลินทรีย์ลงในอาหาร พบว่าเกิดการสูญเสียประสิทธิภาพของสารต้านจุลินทรีย์ เนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างสารต้านจุลินทรีย์และองค์ประกอบภายในอาหาร ทำให้มีการพัฒนาเทคโนโลยีการตรึงสารต้านจุลินทรีย์ โดยการนำสารต้านจุลินทรีย์เติมลงในบรรจุภัณฑ์ เช่น ฟิล์มบริโภคได้แทนการเติมลงในอาหารโดยตรง ซึ่งการใช้ฟิล์มบริโภคได้ผสมสารต้านจุลินทรีย์ที่สามารถยับยั้งการเจริญหรือทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารได้รับความนิยมมากขึ้น โดยสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้สามารถยับยั้งการเจริญ หรือทำลายจุลินทรีย์ได้ เนื่องจากสารต้านจุลินทรีย์ส่งผลต่อผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ การทำงานของเอนไซม์ และกลไกทางพันธุกรรมของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเพิ่มจำนวน หรือทำให้จุลินทรีย์ตาย นอกจากนี้การใช้ฟิล์มร่วมกับสารยับยั้งจุลินทรีย์ สามารถยืดอายุการเก็บของอาหารได้นานกว่าการใช้สารเคลือบ หรือฟิล์ม หรือสารยับยั้งจุลินทรีย์อย่างใดอย่างหนึ่งเพียงชนิดเดียว โดยได้มีการศึกษาวิจัยการใช้ฟิล์มบริโภคได้ผสมสารต้านจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เช่น ปลาแซลมอนรมควันเย็น (Mu, Huda and Haiqiang, 2008a.; Huda *et al.*, 2008) สไลซ์แฮม (Paula *et al.*, 2009) เนื้อวัวย่าง (Richelle *et al.*, 2008) แฮมสเต็ก (Mu, Huda, and Haiqiang, 2008b) และไส้กรอกหมูสดแบบกรีก (Soulto, *et al.*, 2008)

อย่างไรก็ตามจากการสำรวจผลงานวิจัยการใช้ฟิล์มบริโภคได้ผสมสารต้านจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในผลิตภัณฑ์ปลารมควันเย็น พบว่ายังมีการศึกษาในด้านนี้อยู่จำนวนน้อย

งานวิจัยนี้จึงศึกษากรรมวิธีการแปรรูปและกระบวนการเก็บรักษาที่เหมาะสมในการผลิตปลากะพงรมควันเย็น และการนำฟิล์มต้านจุลินทรีย์มาใช้ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ใน

ผลิตภัณฑ์ เพื่อชะลอการเสื่อมเสียจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บที่ยาวนานขึ้น เป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ และส่งเสริมการผลิตผลิตภัณฑ์ปลากระป๋องรวมควันเย็น ให้เป็นทางเลือกในการประกอบอาชีพระดับครัวเรือนและอุตสาหกรรม

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษากรรมวิธีการแปรรูปที่เหมาะสมในการผลิตปลากระป๋องรวมควันเย็น
2. เพื่อศึกษาผลของการนำฟิล์มต้านจุลินทรีย์มาใช้ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ปลากระป๋องรวมควันเย็น เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ปลากะพง (Giant Perch)

ปลากะพงขาวเป็นปลาน้ำจืดขนาดใหญ่ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Lates calcarifer* ชื่อสามัญว่า Giant Perch มีชื่อเรียกตามถิ่นที่อยู่อาศัยว่า ปลากะพง ปลากะพงขาว ปลากะพงขาวน้ำจืด

การจำแนกอนุกรมวิธานของปลากะพง (สุรศักดิ์ วงศ์กิตติเวช, 2542)

Phylum Chordata
 Class Actinopterygii
 Order Perciformes
 Family Latidae
 Genus *Lates*
 Species *L. calcarifer*

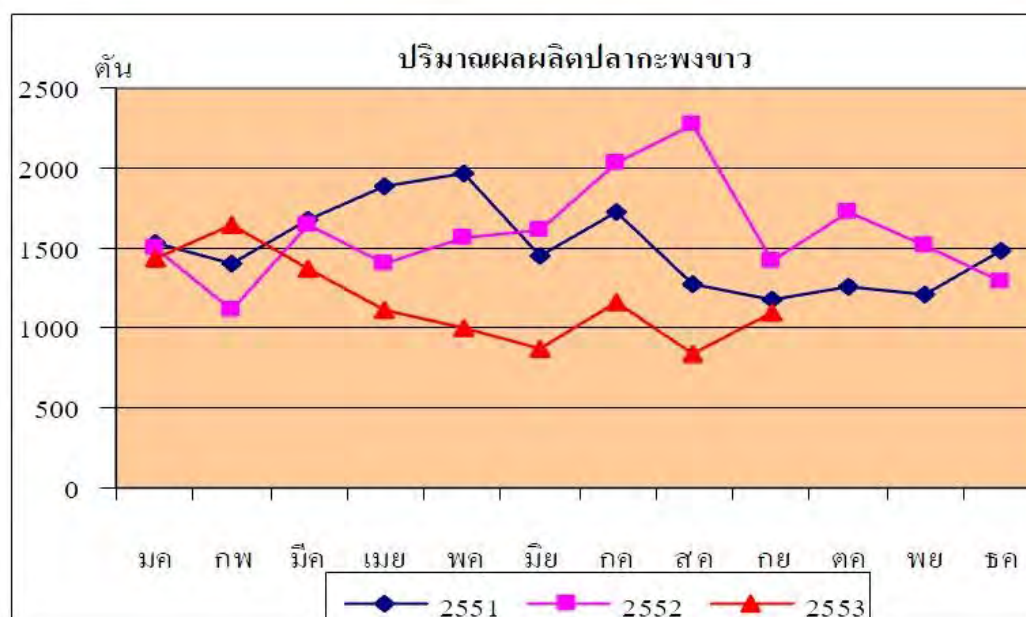
ลักษณะโดยทั่วไปของปลากะพงขาว มีลำตัวค่อนข้างยาวและหนาแบนข้างเล็กน้อย บริเวณไหล่จะโค้งมน ส่วนตัวจะลาดชันและเว้า บริเวณส่วนปากจะยืดหดได้บ้าง ช่องปากเฉียงลงด้านล่างเล็กน้อย มีฟันเล็กละเอียดบนขากรรไกรบนและล่างและที่เพดานปาก ตาของปลาชนิดนี้มีขนาดกลาง ไม่มีเยื่อที่เป็นไขมันหุ้ม แผ่นปิดเหงือกมีขนาดใหญ่ ด้านหลังมีสีเทาเงินหรือเขียวปนเทา ส่วนท้องมีสีเงินแกมเหลือง บริเวณด้านข้างของลำตัวมีสีเงิน ครีบท้อง ครีบก้น ครีบทวน จะมีสีเทาปนดำบาง ๆ



รูปที่ 2.1 ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)

ปลากะพงขาวเป็นปลาน้ำกร่อยขนาดใหญ่ที่สุด เจริญเติบโตได้ดีในน้ำกร่อยและน้ำจืด จัดได้ว่าเป็นปลาประเภท 2 น้ำ คือในช่วงชีวิตของปลากะพงขาวจะมีการเคลื่อนย้ายไปมาระหว่างแหล่งน้ำจืด และน้ำเค็ม ปลากะพงขาวขนาดใหญ่พบมากบริเวณปากแม่น้ำลำคลอง ปากทะเลสาบที่มีน้ำเค็มท่วมถึง ส่วนใหญ่จะอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่ไม่ห่างไกลออกไปจากฝั่งมากนัก โดยจะพบอยู่ทั่ว ๆ ไปในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นับตั้งแต่พม่า ไทย มาเลเซีย เวียดนาม และแถบชายฝั่งทะเลของจีน ก็พบปลาชนิดนี้เช่นเดียวกัน สำหรับประเทศไทยนั้นสามารถพบปลากะพงขาว ตามชายฝั่งทะเลโดยเฉพาะบริเวณปากแม่น้ำใหญ่ ๆ ที่มีทางออกติดต่อกับทะเลที่มีป่าชายเลนขึ้นปกคลุมทางจังหวัดตราด จันทบุรี ฉะเชิงเทรา สมุทรปราการ และสมุทรสงคราม เป็นต้น

ปลากะพงขาวจะผสมพันธุ์และวางไข่ในน้ำทะเล หลังจากนั้นไข่จะถูกพัดพาเข้าสู่บริเวณชายฝั่ง และฟักออกเป็นตัว ลูกปลากะพงขาวที่ฟักแล้ว จะดำรงชีวิตในน้ำกร่อยและในน้ำจืด จนมีอายุได้ 2 - 3 ปี มีขนาด 3 - 5 กิโลกรัม จะเคลื่อนตัวออกสู่ทะเล เพื่อทำการผสมพันธุ์และวางไข่ต่อไป (สถานีวิจัยประมงศรีราชา, 2546)



รูปที่ 2.2 ปริมาณผลผลิตปลากะพงขาวในปี 2551-2553

ที่มา : นเรศ กิจจาพัฒน์พันธ์ (2553)

ผลผลิตปลากะพงขาวในประเทศไทยส่วนใหญ่ได้จากการเพาะเลี้ยง (ร้อยละ 97) และได้จากการจับปลาตามแหล่งธรรมชาติ (ร้อยละ 3) โดยผลผลิตส่วนใหญ่ ร้อยละ 63 เป็นผลผลิตของ 3 จังหวัด คือ ฉะเชิงเทรา (ร้อยละ 35) สงขลา (ร้อยละ 15) และปัตตานี (ร้อยละ 13) ซึ่งผลผลิต

ปลากะพงขาวในจังหวัดฉะเชิงเทรา เป็นผลผลิตจากการเลี้ยงในบ่อ มีปริมาณร้อยละ 70 เลี้ยงได้ปีละ 1 – 2 รอบ สำหรับปลาขนาด 500 – 800 กรัม และการเลี้ยงในกระชังมีปริมาณร้อยละ 30 เลี้ยงได้ปีละ 1 รอบ สำหรับปลาขนาด 700 – 800 กรัม โดยในช่วงไตรมาสแรกปี 2553 กลุ่มผู้เลี้ยงปลากะพงขาวในบ่อดิน ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผู้เลี้ยงรายย่อย (ร้อยละ 80) ประสบปัญหาภาวะขาดแคลนเงินทุนสำหรับค่าอาหารเลี้ยงปลาต่อไปอีก 6 – 8 เดือน เพื่อให้ปลามีขนาดใหญ่และขายได้ราคาสูงขึ้น ทำให้เมื่อเลี้ยงปลาโตได้ขนาด 5 – 8 ขีด ผู้เลี้ยงจำเป็นต้องจับปลาขายยกบ่อแม้จะได้ราคาต่ำ จึงเห็นได้ว่าในช่วงเดือน ม.ค. – ก.ย. 2553 ผลผลิตปลากะพงขาว 10,535.4 ตัน ลดลง ร้อยละ 27.7 จากปีก่อนในช่วงเดียวกัน (14,567 ตัน) (รูปที่ 2.2) แต่ปัจจุบันตลาดค้าขายปลากะพงในประเทศนั้นค่อนข้างกว้าง เนื่องจากเป็นปลาที่ผู้บริโภคนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย แต่เนื่องจากเกิดภัยพิบัติและฝนเริ่มตก ประกอบกับผู้เลี้ยงประสบปัญหาภาวะขาดแคลนเงินทุนสำหรับค่าอาหารเลี้ยงปลาดังกล่าวข้างต้น จึงไม่สามารถควบคุมขนาดผลผลิตได้ จำเป็นต้องขายแบบคละขนาด ราคาขายจึงค่อนข้างต่ำ ดังนั้นการแปรรูปปลากะพงขาวที่มีราคาขายต่ำให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแปรรูปจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งเพื่อเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ประมงอีกทางหนึ่งด้วย

2.2 การรมควัน

การรมควันอาหารเป็นวิธีการถนอมอาหารชนิดหนึ่ง que เริ่มต้นมาตั้งแต่สมัยโบราณสันนิษฐานว่ามีมาตั้งแต่ยุคหินโดยการแขวนเนื้อหรือปลาไว้ใกล้กองไฟ ซึ่งพบว่าเนื้อนั้นมีกลิ่นหอมที่นำรับประทานและมีรสชาติดีขึ้น (นนุช รักสกุลไทย, 2538)

วัตถุประสงค์ของการรมควัน เพื่อเพิ่มรสชาติของอาหารและทำให้กลิ่นหอม มีสีสันนำรับประทาน สามารถเก็บถนอมอาหารได้นานขึ้น ป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์และป้องกันกลิ่นเหม็นจากการเกิดออกซิเดชัน (นนุช รักสกุลไทย (2538); Pigott and Tucker (1990))

2.2.1 ประเภทของการรมควัน

การรมควัน แบ่งได้ 2 ประเภท ตามอุณหภูมิของกระบวนการรมควัน ดังนี้

2.2.1.1 การรมควันร้อน (Hot Smoking) เป็นการรมควันที่ใช้อุณหภูมิหรือระยะเวลาที่มากเพียงพอเพื่อให้โปรตีนในเนื้อสัตว์นั้นเกิดการตกตะกอนเนื่องจากความร้อน (heat coagulation) โดยใช้อุณหภูมิประมาณ 50 – 80 °C (ปรทิพย์ เกียรติกิ่งवालไกล, 2532) บางกระบวนการอาจใช้อุณหภูมิในการรมควันสูงกว่า 120 °C และมักกำหนดอุณหภูมิจุดกึ่งกลางของ

ผลิตภัณฑ์สูงถึง 82.5°C ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการรมควันนี้ยังมีความชื้นค่อนข้างสูง โดยมีความชื้นร้อยละ 60 – 70 ซึ่งอาจก่อให้เกิดการเสื่อมเสียจากเชื้อจุลินทรีย์ได้ เพื่อป้องกันปัญหาดังกล่าว เมื่อรมควันเสร็จแล้ว ควรลดอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ลงภายใน 2 ชม. และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3-4 °C และควรให้ความร้อนก่อนนำมาบริโภค (Pigott and Tucker, 1990) ผลิตภัณฑ์รมควันในประเทศไทย เขตร้อน สามารถนับเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทรมควันร้อน เพราะมีลักษณะแห้งกรอบเช่นปลากรอบของไทย (อรรถพร สัมปชัญญสถิตย์, 2549) โดยวิธีการกำจัดความชื้นของผลิตภัณฑ์ออกไปทำให้ผลิตภัณฑ์แห้งกรอบในระหว่างการผลิต จึงสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ได้นาน เรียกกระบวนการนี้ว่า hard smoking ซึ่งมีลักษณะคล้ายการรมควันในประเทศไทย เช่น ปลากรอบรมควัน เป็นต้น (ภาณุวัฒน์ ทรัพย์ปรง, 2537)

2.2.1.2 การรมควันเย็น (cold smoking) เป็นการรมควันที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งไม่ทำให้โปรตีนของผลิตภัณฑ์เกิดการตกตะกอนเนื่องจากความร้อน ใช้อุณหภูมิในการรมควันประมาณ 30 – 40 °C (อรรถพร สัมปชัญญสถิตย์, 2549) ข้อดีของการรมควันเย็น คือ จะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะคล้ายสภาพสด มีการสูญเสียคุณค่าทางอาหารน้อย ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก (2532) รายงานว่า ระยะเวลาในการรมควันอาจใช้เวลานานเป็นสัปดาห์ ถ้าใช้ควันไม่มาก หรือใช้เวลาเพียง 2 – 3 ชม. หากใช้ควันมาก ผลิตภัณฑ์รมควันเย็นจะเก็บได้ไม่นาน แต่มีสภาพใกล้เคียงกับสภาพสดที่มีการสูญเสียคุณภาพน้อย หากต้องการยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้นควรนำเนื้อสัตว์นั้นไปแช่น้ำเกลือ หรือหมักเกลือ ให้ได้ปริมาณความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 8 ในรูป water phase salt ในเนื้อนั้นก่อนนำไปรมควัน ในประเทศเขตร้อนถ้ามีการรมควันในลักษณะนี้จะใช้อุณหภูมิในการรมควันสูงถึง 45 °C เรียกการรมควันลักษณะนี้ว่าการรมควันอุ่น

2.2.2 ประโยชน์ของควัน

2.2.2.1 ทำให้เกิดสีที่สวยงาม

สีของปลารมควันเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของเม็ดสีหรือการเกิดเม็ดสี (pigmentation) ซึ่งเป็นผลมาจากองค์ประกอบในควันที่มาจากไม้ชนิดต่างๆ (Shahidi and Botta, 1994) และสีของปลารมควันยังเกิดจากปฏิกิริยาของสารประกอบคาร์บอนิล (carbonyl compound) ในกลุ่มควันกับกลุ่มอะมิโน (amino group) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาแบบไม่มีเอนไซม์ร่วม (Maillard reaction) ที่ผิวหน้าของปลา (Hall, 1992)

นอกจากนี้ควันยังทำให้เกิดลักษณะที่สวยงามของผลิตภัณฑ์ด้วย คือ เกิดความเลื่อมมันที่ผิวหน้าของปลา (glossy) ซึ่งเกิดจากไขมันในตัวปลา การพองตัวของโปรตีนในเนื้อปลา และน้ำมันจากควัน (อรรถพร สัมปชัญญสถิตย์, 2549)

2.2.2.2 ให้กลิ่นรส

สารประกอบหลักที่ทำให้เกิดกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์นมควน คือ สารประกอบฟีนอลิก ในการนมควนแบบร้อน สารประกอบที่มีผลต่อกลิ่นรส ได้แก่ maltol, phenol, m-cresol และ eugenol ซึ่งเป็นสารประกอบหลักที่ให้กลิ่นรสควน (อรรถพร สัมปชัญญะสถิตย์, 2549) นอกจากสารประกอบฟีนอลิกที่ให้กลิ่นรสควนแล้วยังมีสารประกอบคาร์บอนิลและกรดอีกหลายชนิดที่ให้กลิ่นรสในอาหารนมควน (ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538)

2.2.2.3 ชะลอการหืนของน้ำมันในอาหาร

Shahidi และ Botta (1994) และ ณรงค์ นิยมวิทย์ (2538) กล่าวว่าในควนมีสารประกอบหลายชนิดที่สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ โดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิก เนื่องจากสารชนิดนี้มีโครงสร้างคล้ายกับ BHA และ BHT ซึ่งเป็นสารที่ใช้ป้องกันการหืนของน้ำมัน

2.2.2.4 ชะลอและยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์

สารประกอบในกลุ่มอัลดีไฮด์และกรดอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ และสารประกอบฟีนอลิก เป็นสารประกอบที่ช่วยยืดอายุการเก็บของอาหารนมควนเนื่องจากสารดังกล่าวช่วยต่อต้านการเจริญของจุลินทรีย์ (Luck and Jager, 1997) โดยจะมีผลต่อแบคทีเรียมากกว่าสปอร์และเชื้อราที่มีความต้านทานมากกว่า (Shahidi and Botta, 1994) โดยสารที่มีผลต่อจุลินทรีย์มากที่สุด คือ สารประกอบกลุ่มฟีนอลิก

การนมควนนั้นยังคงมีประสิทธิภาพต่ำในการต่อต้านจุลินทรีย์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้วัตถุกันเสียอื่นๆ (Luck and Jager, 1997) นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับสภาวะและระยะเวลาในการนมควน รวมถึงระดับการให้ความร้อน ซึ่งมีผลทำให้สามารถยืดอายุการเก็บได้ (Pigott and Tucker, 1990)

2.2.3 ผลของการนมควนต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์

คุณภาพของผลิตภัณฑ์นมควนขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง การนมควนอาหารให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ดีควรคำนึงถึงปัจจัยคุณภาพด้านต่างๆ ดังนี้

2.2.3.1 ผลของการนมควนต่อกลิ่นรส

กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์นมควนเกิดจากสารประกอบฟีนอลิกในควน ได้แก่ guaiacol, 4 – methylguaiacol และ 2, 6 – dimethoxy phenol ถูกดูดซับไว้ที่ผิวหน้าของอาหาร โดยสารประกอบ guaiacol จะให้รสชาติของควน แต่กลิ่นรสโดยรวมของผลิตภัณฑ์นมควนมาจากสารประกอบเหล่านี้หลายๆ ชนิดร่วมกัน (อรรถพร สัมปชัญญะสถิตย์, 2549)

คุณลักษณะของกลิ่นรสควันเกิดจากสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบอื่นๆ อีกกว่า 20 ชนิด ในส่วนของควัน แต่หากใช้อุณหภูมิในการรมควันที่ต่ำเกินไป จะได้สารประกอบฟีนอลิกน้อยเพียง 2 - 3 ชนิดเท่านั้น (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก, 2532) นอกจากนี้เมื่อรมควันที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้คุณสมบัติของกลิ่นเปลี่ยนได้ คือ การดูดซับสารประกอบฟีนอลิกที่มีจุดเดือดสูงจะลดลง ดังนั้นจึงควรใช้อุณหภูมิในการรมควันที่ต่ำเพียงพอที่จะป้องกันไม่ให้เกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียงต่างเกินไป และยังพบว่าความชื้นสัมพัทธ์ก็มีผลต่อการดูดซับของสารประกอบในส่วนของควันเช่นกัน ดังนั้น สภาวะในการรมควันจึงมีความสำคัญต่อการเกิดกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์รมควัน (อรรถพร สัมปชัญญสถิต, 2549; ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก, 2532)

2.2.3.2 ผลของการรมควันต่อคุณภาพทางกายภาพและเคมี

อรรถพร สัมปชัญญสถิต (2549) กล่าวว่า การรมควันมีผลต่อการแพร่กระจายของไขมัน การเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสของอาหารเนื่องจากการสูญเสียน้ำ และการเปลี่ยนสภาพของโปรตีนในเนื้อเยื่อโครงสร้างและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โดยเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบและความร้อนกับโปรตีนที่ผิวหน้าของอาหาร ในระหว่างการรมควัน โปรตีนที่ละลายได้จึงสูญเสียสภาพ และพบว่าส่วนของสโตรมา (stroma fraction) เพิ่มขึ้น ในขณะที่อะมิโนไลซีนในอาหารลดลงภายหลังการรมควัน นอกจากนี้ยังพบว่า myofibrillar proteins และกลุ่มซัลไฟดริลอิสระ (free sulfhydryl group) ลดลง เนื่องจากปฏิกิริยาเชื่อมข้าม (cross link) ของโปรตีนที่ผิวหน้าอาหาร ทำให้ผิวหน้าของอาหารแข็งและแน่นขึ้น หากการเกิดปฏิกิริยาเชื่อมข้ามดังกล่าวมากเกินไป จะทำให้ผิวหน้าของชิ้นอาหารเกิดลักษณะแข็ง (hardened casing) จึงขัดขวางการระเหยออกของน้ำ และการซึมของควันเข้าไปในเนื้ออาหาร ส่งผลให้ภายในเนื้ออาหารนุ่ม ไม่มีกลิ่นรสควัน และยังทำให้เกิดการเน่าเสียจากด้านในของชิ้นอาหารได้ง่าย

สีของอาหารรมควันเกิดจาก carbonyl - amino reaction เป็นสำคัญ ซึ่งการเกิดสีของอาหารรมควันเกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างสารประกอบในควันและโปรตีนในอาหาร โดยกรดอะมิโน (amino acid) และสารเอมีน (amine) ในอาหารทำปฏิกิริยากับสารประกอบคาร์บอนิลในควัน ทำให้เกิดสีน้ำตาลขึ้นที่ผิวหน้าของอาหาร ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับ Maillard reaction ระหว่างน้ำตาลและสารประกอบที่มีกลุ่มอะมิโนในอาหารชนิดอื่นๆ (อรรถพร สัมปชัญญสถิต, 2549) นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกก็มีส่วนช่วยให้เกิดสีในผลิตภัณฑ์รมควันเช่นกัน และในกลุ่มสารประกอบที่พบในควัน พบว่า มีสารประกอบคาร์บอนิลมากกว่า 4 ชนิด ได้แก่ glycolic aldehyde, methylglyoxal, formaldehyde และ acetal โดย glycolic aldehyde และ methylglyoxal สามารถทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนได้รวดเร็วแล้วเกิดสีน้ำตาลที่ผิวหน้าของ

อาหาร ในขณะที่สาร acetal มีความไวค่อนข้างต่ำ ส่วน formaldehyde นั้นอาจไปรบกวนการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล เนื่องจากเมื่อสารประกอบชนิดนี้ทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโน จะไม่ให้สารประกอบสีน้ำตาล (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาลิก, 2532)

2.2.3.3 ผลของการรมควันต่อคุณค่าทางโภชนาการ

หลังจากรมควัน ผลิตภัณฑ์รมควันที่ได้จะมีปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ (พวก myofibrillar protein) เช่น ไมโอซิน ลดลง ส่วนโปรตีนที่ไม่ละลายและสารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ จะเพิ่มขึ้น (วรรณา ตั้งเจริญชัย, 2534) นอกจากนี้การให้ความร้อนในระหว่างการรมควันก็มีผลต่อคุณภาพของโปรตีน โดยความร้อนที่อุณหภูมิ 95 – 100 °C จะทำให้ความสามารถในการย่อย (digestibility) ของโปรตีนและกรดอะมิโนลดลงเล็กน้อย และมีผลให้โปรตีนที่ละลายได้ รวมทั้งเปปไทด์โมเลกุลเล็กๆ และกรดอะมิโนอิสระสูญเสียไปกับน้ำในระหว่างการให้ความร้อน ดังตารางที่ 2.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณโปรตีนในระหว่างการรมควัน

นอกจากนี้การรมควันยังส่งผลให้องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลง ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ปลาแฮร์ริงรมควัน (g/100 g dried matter)

Protein	Fresh fish	After smoking	After smoking	After smoking
		(5 days)	(10 days)	(15 days)
Water (%)	77.50	58.25	44.50	36.50
Protein (%)	14.30	28.37	33.94	37.43
Fat and oil (%)	5.35	6.95	8.45	14.50
Ash (%)	2.21	10.35	13.68	15.34
NaCl (%)	0.92	9.50	9.70	9.60
Water activity (%)	0.98	0.89	0.85	0.82

ที่มา : ดัดแปลงจาก วรรณา ตั้งเจริญชัย (2534)

ตารางที่ 2.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนปลาแฮร์ริ่งรมควัน (g/100 g dried matter)

Protein	Fresh fish	After smoking (5 days)	After smoking (10 days)	After smoking (15 days)
Crude protein	83.39	81.53	80.64	78.43
Soluble protein	17.73	15.38	13.21	8.86
Insoluble protein	65.66	66.15	67.35	69.57

ที่มา : ดัดแปลงจาก วรรณมา ตั้งเจริญชัย (2534)

การรมควันยังมีผลต่อไขมันในอาหาร เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกนั้นมีจุดเดือดสูงจึงมีคุณสมบัติเป็นวัตถุกันหืน ดังนั้นอาหารจึงมีการเสื่อมเสียเนื่องจากการหืนช้าลง (ไพบุลย์ ธรรมรัตน์วาลิก, 2532)

2.2.3.4 ผลของการรมควันต่อคุณภาพทางจุลชีววิทยา

ปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารรมควัน จะถูกจำกัดหรือควบคุมโดยอุณหภูมิในการรมควัน เครื่องเทศหรือวัตถุเจือปนอาหารที่ใช้ในกระบวนการผลิตและปริมาณเกลือที่ใช้ ทั้งนี้ อรรถพร สัมปชัญญะสถิตย์ (2549) รายงานว่า เกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 3.5 และใช้เวลาในการรมควันอย่างน้อย 30 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของ *Clostridium botulinum* type E ได้นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกจากควัน สามารถทำลายและยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารรมควันได้หลายชนิด

2.3 फिल्मบริโภคได้

ฟิล์มบริโภคได้ (edible film) หมายถึง วัสดุแผ่นบางบริโภคได้ นำมาใช้กับอาหารด้วยการห่อหุ้ม (wrapping) การจุ่ม (immersing) การทาด้วยแปรง (brushing) หรือการพ่นฝอย (spraying) เพื่อป้องกันไม่ให้ก๊าซ ไอรระเหย และสารถูกละลาย (solute) เคลื่อนที่ผ่านเข้าออกในอาหารได้ (Gennadios and Weller, 1990)

2.3.1 ลักษณะของฟิล์มบริโภคได้

ลักษณะของฟิล์มบริโภคได้ที่จะประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารจะเป็นประเภทใดขึ้นอยู่กับคุณสมบัติและชนิดของผลิตภัณฑ์อาหารนั้น เช่น ถ้าใช้กับผักผลไม้ต้องป้องกันการสูญเสียความชื้น มีการควบคุมการผ่านเข้าออกของก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ (Kester

and Fennema, 1986) เช่น Ghaouth, Arul และ Ponnampalam (1991) นำฟิล์มไคโตซานเคลือบ แดงกวาและพริกหยวก แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 และ 20 °C พบว่า แดงกวาและพริกหยวกที่ เคลือบด้วยฟิล์มไคโตซานสามารถลดการสูญเสียน้ำหนักได้ดีมากที่ทั้งสองอุณหภูมิ และสามารถ ลดการเปลี่ยนแปลงสี อัตราการหายใจ และการเสื่อมเสียเนื่องจากราได้ หากนำฟิล์มไปประยุกต์ใช้ ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ต่างๆ ฟิล์มดังกล่าวต้องช่วยลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคและทำให้เกิด การเสื่อมเสียในเนื้อสัตว์ และเจริญบนผิวหน้าของเนื้อสัตว์ได้ (อรชร เมฆเกิดชู, 2552) เช่น การนำ ฟิล์มไคโตซานผสมไนซินมาใช้ห่อหุ้มปลาแซลมอนรมควันเย็นเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาให้ยาวนาน ขึ้น (Hudaa et al., 2008)

2.3.2 ข้อดีของฟิล์มบิโภาคได้

ฟิล์มชนิดนี้สามารถบิโภาคฟิล์มได้พร้อมกับผลิตภัณฑ์ที่บรรจุ เนื่องจากเข้ากับ ร่างกายได้ดี (compatility) ไม่มีความเป็นพิษและราคาต่ำ(อรชร เมฆเกิดชู, 2552) ในกรณีที่ไม ะบิโภาคฟิล์ม ฟิล์มที่ทิ้งไปสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ง่าย ซึ่งเป็นการลดปัญหามลพิษ อีกทั้ง ฟิล์มบิโภาคได้ยังช่วยรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้น และยังช่วยเพิ่มคุณภาพทางประสาท สัมผัสของผลิตภัณฑ์ (ปาริชาติ ธรรมนราทิพย์, 2550) นอกจากนี้ฟิล์มบิโภาคได้บางชนิด สามารถ ใช้ห่อหุ้มอาหารขึ้นเล็ก ๆ โดยแยกออกเป็นแต่ละชิ้น เช่น การเคลือบถั่วลิสงด้วยฟิล์มโปรตีนเวย์ ช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในเมล็ดถั่ว เนื่องจากฟิล์มชนิดนี้ช่วยป้องกันการซึมผ่านของ ก๊าซออกซิเจนได้ดี ทำให้ยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น (Mate and Krochta, 1996) หรือ ใช้ฟิล์มบิโภาคได้เป็นแผ่นกั้นระหว่างอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน เพื่อป้องกันการ เสื่อมสภาพเนื่องจากการถ่ายเทความชื้นและไขมันในเนื้ออาหารที่แตกต่างกัน เช่น พาย และพิซซ่า เป็นต้น (อรชร เมฆเกิดชู, 2552)

ข้อดีอีกประการของฟิล์มบิโภาคได้ คือ สามารถทำฟิล์มชนิดนี้ให้เป็นเม็ดแคปซูล (encapsulate) เพื่อควบคุมการเติมและการปลดปล่อยสารที่ใส่ในอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Gennadios and Weller, 1990) นอกจากนี้ยังทำหน้าที่เก็บสารต้านจุลินทรีย์และสารอื่นๆ และยัง ช่วยควบคุมอัตราการซึมผ่านของสารจากฟิล์มเข้าสู่เนื้ออาหาร เช่น Hudaa et al. (2008) ศึกษา ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้ฟิล์มไคโตซานผสมไนซินในผลิตภัณฑ์แฮมสเด็ก พบว่า ตัวอย่างแฮมสเด็ก ที่ไม่ได้หุ้มด้วยฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน (ตัวอย่างควบคุม) มีจำนวน จุลินทรีย์เจริญอย่างต่อเนื่อง โดยมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด $> 7 \log \text{CFU/g}$ หลังจากเก็บรักษา นาน 28 วันในถุง LDPE แบบสุญญากาศ ที่ 4°C ในขณะที่ฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน 500 IU/cm² และ 2,000 IU/cm² สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์และยืดอายุการเก็บรักษาแฮมสเด็ก

ได้นานถึง 49 และ 56 วันตามลำดับ นอกจากนี้ Marcos และคณะ (2007) เติมนิโคติน (enterocin) 2000 AU/cm² ลงในฟิล์มอัลจินเตจากนั้นนำไปห่อแฮม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 6 °C เป็นเวลา 8 วัน พบว่าสามารถยับยั้ง *Listeria monocytogenes* ในแฮมได้ 2.1 log CFU/g

การประยุกต์ใช้ฟิล์มบิโภาคได้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ต่างๆ และอาหารทะเล ซึ่งมีประโยชน์หลายประการ ดังนี้ ช่วยลดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บนผิวหน้าของชิ้นเนื้อและการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในเนื้อสัตว์ และยังช่วยรักษาความชุ่มชื้น (juices) ในเนื้อสดตกแต่งที่บรรจุในถาดพลาสติกแบบขยายปลีก และลดการสูญเสียความชื้นระหว่างการขนส่ง นอกจากนี้ยังลดการสูญเสียกลิ่นรสที่ระเหยได้ง่ายและลดการเกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ อีกทั้งยังลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดกลิ่นหืนและลดการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล อันเนื่องมาจากการออกซิเดชันของไมโอโกลบิน (myoglobin) (อรชร เมฆเกิดชู, 2552)

2.3.3 ชนิดของฟิล์มบิโภาคได้

ฟิล์มบิโภาคได้แบ่งเป็น 3 ชนิดที่สำคัญ ได้แก่ ฟิล์มลิวติค ฟิล์มโปรตีน และฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์

2.3.3.1 ฟิล์มลิวติค

ฟิล์มลิวติคนิยมนำมาใช้เป็นสารเคลือบ เนื่องจากฟิล์มลิวติคมีลักษณะที่บดบังแสง และไม่ยืดหยุ่น สารเคลือบจากฟิล์มลิวติคมีคุณสมบัติในการขวางกั้นการซึมผ่านของน้ำและก๊าซได้ดี (Kester and Fennema, 1986) Baldwin และคณะ (1999) เคลือบผิวมะม่วงด้วยสารเคลือบผิวพอลิแซ็กคาไรด์จำพวกเซลลูโลส หรือลิวติคประเภทไคคาร์นูบา (carnauba wax) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 – 15 °C ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 – 99 พบว่า การใช้พอลิแซ็กคาไรด์ในการเคลือบผิวมะม่วงช่วยลดการสุกและลดการสะสมปริมาณก๊าซภายในผลมะม่วงได้ดีกว่าการใช้สารเคลือบผิวประเภทลิวติค แต่มีการซึมผ่านของไอน้ำมากกว่า ส่วนการใช้สารเคลือบผิวประเภทลิวติคช่วยลดการสูญเสียน้ำในผลมะม่วงได้ดีกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าสารเคลือบผิวทั้งสองชนิดช่วยเพิ่มความเงางามให้กับผิวมะม่วงอีกด้วย

2.3.3.2 ฟิล์มโปรตีน

ฟิล์มโปรตีนมีคุณสมบัติทางกลและคุณสมบัติทางด้านการต้านการซึมผ่านดีกว่าฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์ นอกจากนี้ยังมีคุณค่าทางอาหารสูง เช่น ฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลือง ฟิล์มจากโปรตีนข้าวสาลี ฟิล์มจากโปรตีนข้าวโพด นอกจากนี้ยังมีฟิล์มจากโปรตีนถั่วลิสง เจลาติน คอลลาเจนและโปรตีนเวย์ ในฟิล์มโปรตีนมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่แตกต่างกันออกไป เช่น

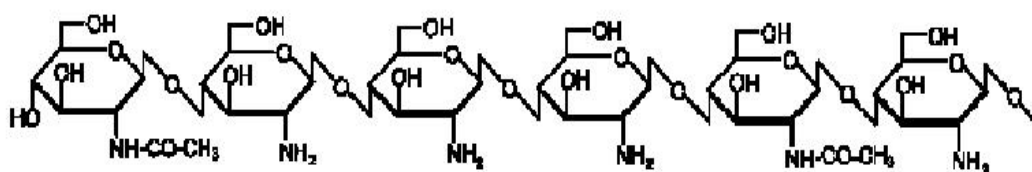
ในโปรตีนข้าวโพดและโปรตีนข้าวสาลีมีองค์ประกอบของกรดกลูตามิก (glutamic acid) อยู่สูง รองลงมาเป็นกรดอะมิโนโพรลีน (proline acid) นอกจากนี้ภายในโครงสร้างของโปรตีนประกอบด้วยปริมาณของกรดอะมิโนที่แสดงความมีขั้วและปริมาณของกรดอะมิโนที่แสดงความไม่มีขั้วสูงต่ำต่างกันไป เช่น โปรตีนข้าวโพดมีปริมาณของกรดอะมิโนที่มีขั้วอยู่ต่ำและมีปริมาณของกรดอะมิโนไม่มีขั้วอยู่สูง (ภัทรททิพย์ รอดสำราญ, 2548)

2.3.3.3 ฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์

ฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์มีสมบัติการต้านการซึมผ่านของออกซิเจนและน้ำได้ต่ำเนื่องจากธรรมชาติของพอลิเมอร์เหล่านี้เป็นพวก hydrophilic จึงไม่เหมาะที่จะนำฟิล์มชนิดนี้มาใช้ป้องกันการซึมผ่านความชื้น พอลิแซ็กคาไรด์บางชนิดสามารถใช้ผลิตฟิล์มหรือสารเคลือบที่บริโภคได้ เช่น แอลจินेट เพกติน คาราจีแนน สตาร์ช และอนุพันธ์ของเซลลูโลส เช่น ฟิล์มแป้งมันสำปะหลังมีลักษณะใส ผิวเรียบ ฟิล์มชนิดนี้ต้านการซึมผ่านของไขมันและน้ำมันได้สูง แต่ฟิล์มชนิดนี้ไวต่อความชื้น จึงมีข้อจำกัดในการนำไปใช้ (ปนัดดา พวงเกษม, 2540)

2.3.4 ไคโตซาน (Chitosan)

ไคโตซาน ((1→4)-2-amino-2-deoxy- β -D-glucan) คือ พอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จาก deacetylation ไคติน (chitin) ด้วยเบส ซึ่งสารประกอบตัวหลังนี้ได้มาจากเปลือกแข็งของสัตว์น้ำพวก crustacean โครงสร้างพอลิเมอร์ของไคโตซานเป็นกลูโคซามีน (glucosamine; GlcN) และ N-acetyl glucosamine (GlcNAc) ไคโตซานที่ใช้ทางการค้ามีมวลโมเลกุลจะอยู่ระหว่าง 100 และ 1,200 kDa และมีหมู่อะซีทิลน้อยกว่าร้อยละ 30 (ปาริชาติ ธรรมนราทิพย์, 2550)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของไคโตซาน

ที่มา: Tharanathan (2003)

ไคโตซานมีคุณสมบัติในการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ โดยฟิล์มที่ได้มีลักษณะเหนียว ยืดหยุ่น ใส สามารถนำไปห่อหุ้มอาหารได้ นอกจากนี้ยังทนต่ออุณหภูมิสูง มีสมบัติป้องกันการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนที่ดี แต่ป้องกันการซึมผ่านของน้ำได้ต่ำ เนื่องจากเป็นพวก hydrophilic

(Butler *et al.*, 1996) ช่วยลดการสร้างก๊าซเอทิลีน และการเพิ่มขึ้นของคาร์บอนิก (Durango, Soares, and Andrade, 2005) เมื่อเติมพลาสติกไฮเซออร์ (plasticizer) จะช่วยในการปรับปรุงสมบัติทางกายภาพ แต่จะทำให้การป้องกันก๊าซต่างๆ ลดลง (Caner, Vergano, and Wiles, 1998) นอกจากนี้ไคโตซานใช้เตรียมเป็นฟิล์มเพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร เนื่องจากไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญของทั้งแบคทีเรียและรา สำหรับผลต่อเชื้อรา ไคโตซานจะเข้าไปทำให้การทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนแปลงอันเนื่องจากการทำปฏิกิริยากับประจุลบที่ผิวเซลล์จึงมีผลต่อการผ่านเข้าออกของสาร ควบคุมกระบวนการเมแทบอลิซึม จนมีผลให้เซลล์ตาย สำหรับผลต่อแบคทีเรีย ไคโตซานสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ เนื่องจากไคโตซานมีคุณสมบัติเป็นพอลิแคทไอออนิก (polycationic) ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยาที่ผิวของเซลล์แบคทีเรียที่เป็นสารพวก lipopolysaccharide teichoic และ teichuronic acids หรือ capsular polysaccharide ทำให้ผิวของเซลล์เสียหาย สารสำคัญภายในเซลล์จึงรั่วไหลออกสู่ภายนอก จนมีผลให้เซลล์ตายในที่สุด (Devlieghere, Vermeulen and Debevere, 2004; Durango *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2006) ตัวอย่างการใช้ประโยชน์จากไคโตซาน เช่น การนำไปใช้เป็นสารเคลือบเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหารต่าง ได้แก่ เนื้อหมู ปลาแซลมอนนมควินเียน เต้าหู้ มะเขือเทศ แครอท และสตอร์วเบอร์รี่ เป็นต้น (Ouattara *et al.*, 2000; Hudaa *et al.*, 2008; No and Meyers, 2004; Lazridou and Billiaderis, 2002; Durango *et al.*, 2005; Devlieghere *et al.*, 2004;)

2.3.5 คาราจีแนน

คาราจีแนน สกัดได้จากสาหร่ายสีแดง ในวงศ์ Rhodophyceae เป็นสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง สายของพอลิแซ็กคาไรด์จะประกอบด้วยหมู่ซัลเฟต โดยโครงสร้างประกอบด้วย D-galactose และ 3, 6-anhydro-D-galactose โดยคาราจีแนนแบ่งเป็น 7 ประเภทตามปริมาณซัลเฟตเอสเทอร์ได้ ได้แก่ แคปปา (Kappa-), แลมบ์ดา (Lamba-) ไอโอตา (Iota-) มิว (Mu-) นิว (Nu-) ซิ (Xi-) และ เตตา (Teta-) (วิภาวีร์ ธาระเขตร์, 2551) สาหร่ายส่วนใหญ่มีคาราจีแนนอย่างน้อย 2-3 ชนิดผสมกัน โดยแคปปา - และ ไอโอตา - คาราจีแนนเท่านั้นที่มีสมบัติเกิดเจลได้เมื่อมีโพแทสเซียมไอออน ส่วนแลมบ์ดา - คาราจีแนนเกิดเจลไม่ได้ (Giese, 1992)

คาราจีแนนสามารถละลายน้ำได้และมีการละลายน้ำดีขึ้นเมื่อให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 50 – 80 °C โดยสารละลายคาราจีแนนที่ได้จะค่อนข้างหนืด ปัจจัยหลักที่มีผลต่อความหนืดของคาราจีแนน ได้แก่ อุณหภูมิ ความเข้มข้น ชนิดของสาหร่ายที่นำมาสกัด น้ำหนักโมเลกุล และอิออนอิสระ เช่น โพแทสเซียม ยังมีผลต่อการเกิดเจลของสารละลายคาราจีแนน ทำให้เจลที่ได้

ยึดหยุ่นดี (วิภาวีร์ ธาระเขตร์, 2551) คาราจีแนนที่ใช้เคลือบห่ออาหารช่วยป้องกันการสูญเสียน้ำ ความชื้นในอาหารที่ห่อหุ้มไว้ เช่น Torres, Bouzas and Karel (1985) ใช้เจลาตินคาราจีแนนและ วุ้นที่มีกรดซอร์บิคผสมอยู่ด้วย เคลือบเนยเทียม ช่วยลดการเจริญของจุลินทรีย์และทำให้จุลินทรีย์ ไม่สามารถเติบโตได้ที่ผิวของผลิตภัณฑ์

2.3.6 เพกติน

เพกติน (pectin) พบอยู่ใน middle lamellae ของผนังเซลล์พืชโดยรวมอยู่กับ เซลลูโลส ทำหน้าที่ยึดเกาะผนังเซลล์พืชให้ติดกัน โดยเพกตินจัดเป็นกลุ่มของพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งมี โครงสร้างเป็นพอลิเมอร์สายยาวของกรดกาแล็กทูโรนิก (D-galacturonic acid) หรือ α -D-galactopyranosyluronic acid ต่อกันที่พันธะไกลโคไซด์ที่ตำแหน่ง $\beta(1 \rightarrow 4)$ โดยหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) ในโมเลกุลของกรดกาแล็กทูโรนิกบางส่วนจะถูกเอสเทอร์ไฟต์ด้วยหมู่เมทิลให้เป็น เมทอกซิลเอสเทอร์ และมีบางส่วนเหลือเป็นหมู่คาร์บอกซิลอิสระ นอกจากนั้นหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 อาจถูก acetylated ได้ สารประกอบเพกตินเป็นสารให้โครงสร้าง ตาข่ายของฟิล์ม และช่วยขึ้นรูปฟิล์มได้ นอกจากนี้สารประกอบเพกตินจัดอยู่ในกลุ่มที่เป็น general recognized as safe (GRAS) และไม่จำกัดปริมาณการใช้ (อรชร เมฆเกิดชู, 2552)

สมบัติในการเกิดเจลของเพกตินขึ้นอยู่กับความยาวของสายพอลิเมอร์และ degree of methoxylation และเกิดเจลได้ในสภาวะที่มีกรดและน้ำตาล (นิธิยา รัตนานนท์, 2549)

2.4 สารต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial Agents)

สารต้านจุลินทรีย์ หมายถึง สารประกอบเคมีที่ออกฤทธิ์ต่อต้านหรือทำลายเซลล์ จุลินทรีย์โดยสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้อยู่แบ่งออกตามแหล่งที่มาได้ 2 กลุ่ม (วันชัย พันธุ์ทวี, 2546) ได้แก่

2.4.1 สารที่ได้มาจากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติ ซึ่งแบ่งตามแหล่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

แหล่งจากพืช (plant sources) ได้แก่ สมุนไพรและเครื่องเทศ เช่น อบเชย ขิง เป็นต้น และน้ำมันหอมระเหย เช่น ซินนามิกอัลดีไฮด์ (cinnamic aldehyde) เป็นต้น

แหล่งจากสัตว์ (animal sources) เช่น ไคโตซาน (chitosan) เป็นต้น

แหล่งจากเชื้อจุลินทรีย์ (microbial sources) เช่น แบคเทอริโอซิน (Bacteriocins) เป็นต้น

2.4.2 สารที่สังเคราะห์ขึ้นโดยกระบวนการทางเคมี เช่น ไนไตรท์ (nitrite) โซเดียมเบนโซเอต (sodium benzoate) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (sulfur dioxide) เป็นต้น

2.5 กลไกในการทำงานของสารต้านจุลินทรีย์

สารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันแบ่งออกเป็นกลุ่มตามกลไกการทำงานและเป้าหมายที่สารต้านจุลินทรีย์ออกฤทธิ์ ได้เป็น 3 กลุ่ม (วันชัย พันธุ์ทวี, 2546) คือ

2.5.1 สารต้านจุลินทรีย์ที่มีผลต่อผนังเซลล์จุลินทรีย์ ทำให้โครงสร้างของผนังเซลล์จุลินทรีย์ผิดปกติ รวมถึงการเข้าไปขัดขวางกระบวนการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ สารต้านจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ เช่น เอนไซม์ไลโซไซม์ เป็นต้น

2.5.2 สารต้านจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งหรือทำลายการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก ซึ่งมีผลโดยตรงต่อการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ ทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมผิดปกติไป เซลล์จึงถูกทำลายในที่สุด สารต้านจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ เช่น ซัลฟานิลาไมด์ (sulfanilamide) เป็นต้น

2.5.3 สารต้านจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เนื่องจากเอนไซม์เป็นสิ่งจำเป็นในปฏิกิริยาชีวเคมีของกระบวนการเมตาบอลิซึมในเซลล์ หากมีการยับยั้งเอนไซม์จะส่งผลกระทบต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ สารต้านจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไฮออนของโลหะ เช่น เงิน เป็นต้น

2.6 สารต้านจุลินทรีย์จากน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหย (essential oils) หมายถึงน้ำมันที่ได้จากการนำพืชไปกลั่นด้วยไอน้ำ โดยทั่วไปพบน้ำมันหอมระเหยอยู่ในโครงสร้างพิเศษของเนื้อเยื่อพืช ซึ่งมีลักษณะต่าง ๆ กันตามแต่ชนิดของพืช โครงสร้างต่าง ๆ เหล่านี้อาจพบกระจายอยู่ในทุกส่วนของพืช หรือพบเฉพาะส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช เช่น กลีบดอก เปลือกผล ใบ เปลือกต้น น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของพืช โดยมีปริมาณตั้งแต่ร้อยละ 0.5 ถึงร้อยละ 16 น้ำมันหอมระเหยประกอบด้วยส่วนผสมของสารประกอบ mono terpene (สารประกอบที่โครงสร้างแกนมีคาร์บอน 10 อะตอม) และ sesquiterpene (สารประกอบที่โครงสร้างแกนมีคาร์บอน 15 อะตอม) ประกอบกันหลายชนิด เกิดเป็นกลิ่นเฉพาะของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด ซึ่งมีกลิ่นหอมและ

ระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิห้อง ไม่มีสีหรือมีสีอ่อน แต่เมื่อสัมผัสอากาศเป็นเวลานานๆ อาจทำให้มีสีเข้มขึ้น (ชยันต์ พิเชียรสุนทร และ วิเชียร จีรวงส์, 2545; ภาววีร์ ธาระเขตร์, 2551)

ตัวอย่างของพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในงานวิจัย เช่น

2.6.1 กานพลู (Clove)

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Eugenia caryophyllus*

สารออกฤทธิ์ที่สำคัญของกานพลู

กานพลู มีน้ำมันหอมระเหยอยู่ร้อยละ 14-20 มี gallotannic ร้อยละ 10-13 และ eugenol ร้อยละ 85-90 triterpene นอกจากนี้ยังมีกรดอินทรีย์ oleanolic acid และ methyl salicylic สำหรับ eugenol นั้นเป็นองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีประสิทธิภาพดีในการต้านจุลินทรีย์ เช่น ทำให้การดูดซึมอาหารเสียไป ลด ATP ภายในเซลล์ และเกิดปฏิกิริยากับสารจำพวก phospholipid ของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์บาดเจ็บและเป็นผลให้สารภายในเซลล์ไหลออกมาสู่ภายนอก จึงต้านการเจริญของแบคทีเรียได้ ส่วน triterpene มีผลทำให้ส่วนประกอบของ lipophilic ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์แตก ส่วนกรดอินทรีย์ต้านจุลินทรีย์โดยการแปรสภาพโครงสร้างโปรตีนจนไม่สามารถทำหน้าที่ปกติได้ กานพลูจึงต้านแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ (ภาววีร์ ธาระเขตร์, 2551)

2.6.2 กระเทียม (Garlic)

ชื่อทางวิทยาศาสตร์: *Allium sativum* Linn.

สารออกฤทธิ์ที่สำคัญของกระเทียม

สารสำคัญที่พบในกระเทียม คือ ไกลโคซายน์ allyin หรือ alliin (sallyl-L-cystein sulfoxide) เมื่อนำกระเทียมไปบด เอนไซม์ allinase เปลี่ยน allyin ให้เป็น allicin (allyl thiosulfinate) ซึ่งเป็นสารประกอบพวกซัลเฟอร์ มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้หลายชนิด (วันชัย พันธุ์ทวี, 2546; ภาววีร์ ธาระเขตร์, 2551; อรรถเมฆเกิดชู, 2552)

2.6.3 อบเชย (Cinnamon)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

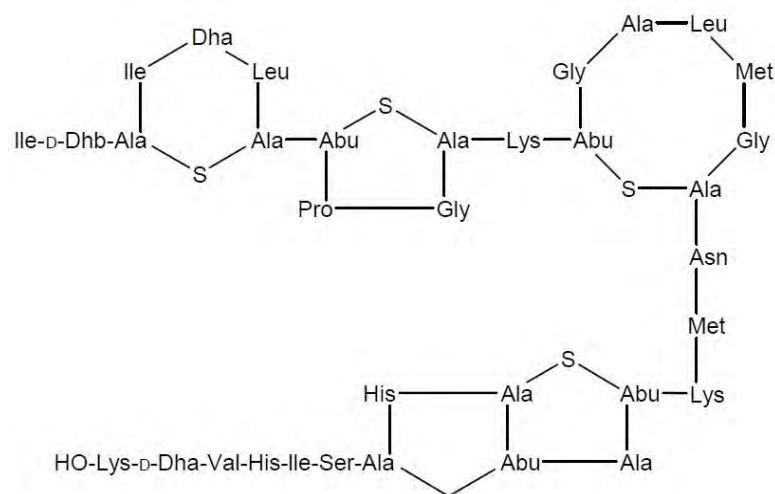
อบเชยเป็นเครื่องเทศที่ได้จากพืชวงศ์ Lauraceae มีหลายชนิด ได้แก่ อบเชยเทศ (*Cinnamomum verum* J.S. Presl) อบเชยชวา (*Cinnamomum burmanii* Blume) อบเชยญวน (*Cinnamomum loureirii* Ness) และอบเชยจีนซึ่งใช้ในงานวิจัยนี้ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cinnamomum cassia* Ness.

อบเชยจีนมีกลิ่นหอมฉุน รสหวานหอม ในทางยาใช้เป็นยาขับลม บำรุงธาตุ นอกจากนี้ยังใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร เช่น เหล้าและเครื่องดื่มประเภทต่างๆ ขนมหวาน ลูกกวาด เยลลี่และอาหารประเภทเนื้อ

สารออกฤทธิ์ที่สำคัญของอบเชย คือ Cinnamic Aldehyde, Linalool (E)-nerolidol, Perpineol โดยสาร Linalool เป็นสารเสริมฤทธิ์ ช่วยเพิ่มการต้านการเติบโตของแบคทีเรีย (วิภาวีร์ ธาระเขตร์, 2551)

2.7 ไนซิน (Nisin)

ไนซินเป็นสารประกอบพอลิเปปไทด์ที่ผลิตจาก *Lactococcus lactis* sub sp. Lactis บางสายพันธุ์ ปัจจุบันสามารถผลิตโดยวิธีสังเคราะห์ได้ กระบวนการสังเคราะห์ไนซินเริ่มต้นจากเปปไทด์เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบด้วยการดีไฮเดรชัน (dehydration) ของเซอรีน (serine) และทรีโอนีน (threonine) ไปเป็นกรดไดดีไฮโดรอะลานีน (didehydroalanine) และไดดีไฮโดรอะมิโนบูทีริก (didehydroaminobutyric) จากนั้นมีการเติมหมู่ซีสเทอีนซัลไฟด์ไรล (cysteine sulfhydryl) แบบสเตอริโอสเปซิฟิก (stereospecific) เพื่อสร้างพันธะคู่ที่ตำแหน่งอัลฟาและเบต้า (α , β - double bond) โดยอยู่ในรูปของกรดอะมิโนที่มีไทโออีเทอร์ (thioether) เช่น แลนไทโอนีน (lanthionine) และเบต้า - เมทิลแลนไทโอนีน (β - methylanthionine) แต่ไม่มีความคงตัวจึงเปลี่ยนไปอยู่ในรูปวงแหวน 5 เหลี่ยม ซึ่งเป็นโครงสร้างสุดท้าย จากนั้นเคลื่อนตัวออกจากเซลล์ที่ตำแหน่ง C - terminal leader peptide แล้วจึงถูกตัดแยกออก ได้เป็น mature nisin หลุดออกไป (Adams, 2003; ปาริชาติ ธรรมนราทิพย์, 2550; ปณิธิ ทิพยธรรม, 2550) ไนซินที่สังเคราะห์ได้มีสมบัติเป็นกรด มีความคงตัวและละลายได้ดีในสารละลายที่เป็นกรด สำหรับการใช้นิซินในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทโปรตีน พบว่าสามารถช่วยป้องกันการเสื่อมประสิทธิภาพของไนซินได้ (ศิวาพร ศิวเวชช, 2546)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของไคติน

ที่มา : Budavari และคณะ (1996)

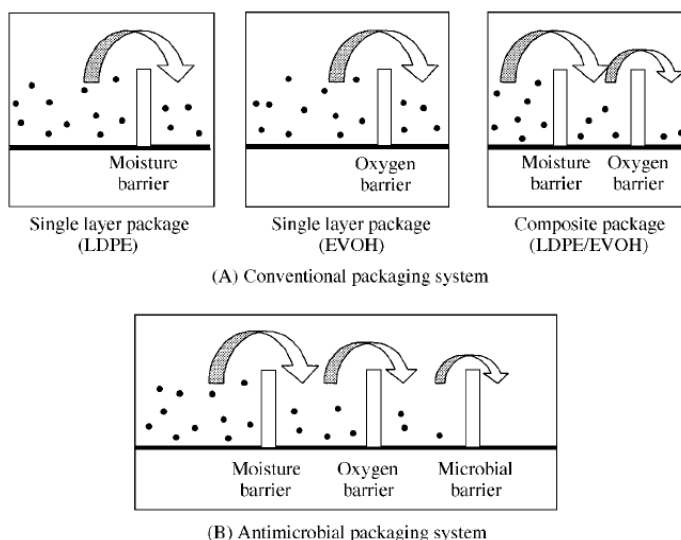
ไคตินมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกโดยเฉพาะอย่างยิ่งชนิดที่สามารถสร้างสปอร์ได้ ได้แก่ *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus* และยีสต์ *Lactobacillus* และ *L. monocytogenes* เป็นต้น กลไกการทำงานของไคติน คือ การเข้าทำปฏิกิริยาแล้วจัดเรียงทำให้เกิดรูตรงตำแหน่งเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเป็นเซลล์ที่ไวต่อไคติน ทำให้แรงในการเคลื่อนที่ของโปรตอนถูกทำลาย ประกอบกับเกิดการไหลของส่วนประกอบอื่นๆ ในเซลล์ เป็นเหตุให้การควบคุมสารผ่านเข้าออกเมมเบรนทำงานบกพร่องไป จนกระทั่งเซลล์ตายในที่สุด มีการใช้ไคตินเพื่อยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น อาหารกระป๋อง เครื่องดื่มประเภทนม น้ำผลไม้ เนื้อสัตว์ และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มากมาย เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษา ป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Adams, 2003; ปาริชาติ ธรรมนราทิพย์, 2550; ปณิธิ ทิพยธรรม, 2550)

นอกจากนี้ มีงานวิจัยหลายเรื่องที่น่าไคตินมาผสมกับพอลิเมอร์หลายชนิดเพื่อพัฒนาเป็นฟิล์มยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เช่น กลูโคแมนแนนผสมไคโตซาน (Li *et al.*, 2006) ไฮดรอกซีโพรพิล เมทิลเซลลูโลส (hydroxypropyl methylcellulose; HPMC) เมทิลเซลลูโลส (methylcellulose; MC) (Cha *et al.*, 2003) โซเดียมอัลจีเนต (Na-alginate) และคาราจีแนน (carrageenan) (Cha *et al.*, 2002)

ไนซินเป็นแบคทีเรียโอสตินชนิดแรกที่ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ได้รับความนิยมนมากที่สุดในการนำมาใช้เป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์เติมแต่งในบรรจุภัณฑ์ประเภทฟิล์ม เนื่องจากมีความปลอดภัยและถูกทำลายได้โดยเอนไซม์ย่อยโปรตีน (proteolytic enzyme) ในร่างกายมนุษย์ และได้รับการรับรอง GRAS (general reconized as safe) จากสหรัฐอเมริกาในการนำไปใช้อาหาร สำหรับอาหารพร้อมบริโภค (ready to eat foods) Code of Federal Regulations (2003) กำหนดปริมาณการใช้ไนซินสูงสุด 10,000 IU/g (0.025%) (Mu *et al.*, 2008a) การกำหนดปริมาณการใช้ในประเทศไทย โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กำหนดปริมาณการใช้ไนซินเป็นวัตถุกันเสียในอาหารไม่เกิน 100 mg/kg

2.8 การบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial Packaging)

การบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ คือ ระบบการบรรจุที่สามารถทำลายหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียในอาหารและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ ซึ่งเป็นรูปแบบหนึ่งของการบรรจุแบบแอคทีฟ (active packaging) ที่สามารถทำลาย ยับยั้ง หรือลดการเจริญของจุลินทรีย์ที่อาจเกิดขึ้นในอาหารหรือบนพื้นผิววัสดุบรรจุ โดยการลดอัตราการเจริญของจุลินทรีย์และ/หรือยืดระยะพักตัว (lag phase) ของจุลินทรีย์ วัสดุบรรจุชนิดนี้ยังช่วยรักษาความเสถียรของอาหารพาสเจอร์ไรส์โดยป้องกันการปนเปื้อนหลังการบรรจุ หรือช่วยลดการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร ระบบการบรรจุโดยทั่วไปอาจมีการใช้ภาชนะบรรจุแบบ single layer เพื่อเป็นตัวกลางป้องกันความชื้นหรือออกซิเจนที่สัมผัสกับอาหาร หรือพัฒนามาเป็น composite package เพื่อป้องกันความชื้นและออกซิเจน (รูปที่ 2.5A) ต่อมาได้พัฒนารูปแบบของบรรจุภัณฑ์ขึ้นใหม่โดยเพิ่มคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์โดยการเติมสารต้านจุลินทรีย์เข้าไป เรียกบรรจุภัณฑ์ประเภทนี้ว่า ระบบบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ (รูปที่ 2.5B) (ปาริชาติ ธรรมนราทิพย์, 2550; ปณิธิทิพย์ธรรม, 2550)



รูปที่ 2.5 ระบบการบรรจุแบบเดิม (A) และระบบการบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ (B)

ที่มา: Han (2000)

2.9 การประยุกต์ใช้การบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ในอาหาร

บรรจุภัณฑ์ที่ต่อต้านจุลินทรีย์สามารถใช้ในอาหารหลายชนิด รวมถึงการใช้งานในทางการบรรจุ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาและช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัย สามารถลดปริมาณของจุลินทรีย์ที่มีการสัมผัสโดยตรงกับภาชนะบรรจุที่บริเวณพื้นผิวของอาหารแข็ง เช่น เนื้อเนยแข็ง หรือ อาหารเหลว เช่น นม ในการบรรจุแบบต่อต้านจุลินทรีย์ควรคำนึงถึงชนิดของจุลินทรีย์เป้าหมายและองค์ประกอบของอาหาร โดยพิจารณาจากองค์ประกอบทางเคมี อัตราการเจริญและลักษณะทางกายภาพของจุลินทรีย์ ความสามารถของสารในการต่อต้านจุลินทรีย์ และลักษณะของการกระทำกับเชื้อจุลินทรีย์ (Han, 2000; Adams, 2003; ปาวิชาติ ธรรมนราทิพย์, 2550; ปณิธิ ทิพยธรรม, 2550)

Cha และคณะ (2002) ได้เติมไลโซไซม์ ไนซิน สารสกัดจากเมล็ดองุ่น (Grape fruit seed extract; GFSE) และ EDTA ลงในฟิล์มโซเดียมอัลจิเนตและโพแทสเซียมคาร์ราจีแนน พบว่าเมื่อใช้ชนิดของสารต้านจุลินทรีย์และความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์เดียวกัน ฟิล์มโซเดียมอัลจิเนตสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบได้ดีกว่าฟิล์มโพแทสเซียมคาร์ราจีแนน ส่วนฟิล์มที่เติมสารต้านจุลินทรีย์มีค่าการต้านทานแรงดึงขาดและค่าการยืดตัวลดลงเมื่อเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมสารต้านจุลินทรีย์ และยังพบว่าการเติม GFSE ผสมกับ EDTA ลงในฟิล์มโซเดียมอัลจิเนตและ

โพแทสเซียมคาร์ราจีแนน พบว่า โพแทสเซียมคาร์ราจีแนนมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด

Min และคณะ (2005) เติมนิโกลซิง (LZ) ลงในฟิล์มโปรตีนเวย์ (WPI) เพื่อยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ในปลาแซลมอนรมควัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 °C เป็นเวลา 35 วัน พบว่า WPI ที่เติม LZ 204 มิลลิกรัม/กรัมของฟิล์ม (น้ำหนักแห้ง) สามารถลดจำนวน *L. monocytogenes* ลงได้ 4.4 log CFU/g ส่วน WPI ที่เติม LZ 25 มิลลิกรัม/กรัมของสารละลายที่ใช้เคลือบ ลดจำนวน *L. monocytogenes* ในปลาแซลมอนรมควันลงได้ 2.4 log CFU/g โดย WPI ที่เติม LZ มีค่าการต้านทานแรงดึงขาดสูงขึ้น แต่มีค่าการยืดตัวและการต้านทานการซึมผ่านของออกซิเจนลดลงกว่า ฟิล์ม WPI ที่ไม่เติม LZ

Seydim และ Sarikus (2006) เติมน้ำมันหอมระเหยจากออริกาโน โรสแมรี่และกระเทียม ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 – 4 เพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ได้แก่ *E. coli* O157:H7 ATCC 35218, *S. aureus* DSM20174, *Salmonella enteritidis* AT 13076, *L. monocytogenes* NCTC 2167 และ *Lactobacillus plantarum* DSM 20174 ในฟิล์มโปรตีนเวย์ พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากออริกาโนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 มากกว่า น้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี่และกระเทียม

Chien, Sheu และ Yang (2007) ศึกษาการเคลือบมะม่วงด้วยสารละลายโคโธซาน ความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1 และ 2 จากนั้นวางบนถาดพลาสติกปิดด้วยฟิล์มพอลิไวนิลคลอไรด์ (polyvinylidene chloride) และเก็บที่อุณหภูมิ 6 °C พบว่า การเคลือบมะม่วงด้วยโคโธซานสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทำให้ยืดอายุการเก็บรักษามะม่วงได้ และช่วยลดการสูญเสียน้ำ เพิ่มปริมาณ soluble solids และปริมาณกรดแอสคอร์บิก

Sanla-Ead และคณะ (2007) เติมพฤษเคมียูจีนอล (eugenol) ลงในฟิล์มเซลลูโลสอีเทอร์เพื่อยับยั้ง *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. Enteritidis*, *Candida albicans* และ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้วิธี vapour diffusion พบว่า ฟิล์มที่เติมพฤษเคมียูจีนอล ร้อยละ 1 (w/w) สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบได้ทั้งหมด และเมื่อนำฟิล์มเซลลูโลสที่เติมพฤษเคมียูจีนอลมาเคลือบกับฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (Low-density polyethylene; LDPE) จากนั้นนำไปห่อหมูยอ (vietnamese bologna) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่า สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ต้องการอากาศ ราและยีสต์ได้

Richelle และคณะ (2007) ศึกษาผลของการใช้โคโตซานผสม acetic acid หรือ lactic acid ในเนื้อวัวย่างพร้อมบริโภค เพื่อยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* โดยนำเนื้อวัวย่างหั่นสี่เหลี่ยมลูกเต๋าหน้า 5 กรัม มา inoculated ด้วย *L. monocytogenes* culture 6.5 log CFU/g. นำตัวอย่างจุ่มในสารละลายโคโตซาน ร่วมกับ 1% (v/v) acetic acid หรือ 1% (v/v) lactic acid บรรจุใน Whirl-Packs® bags เก็บรักษาที่ 4°C เป็นเวลา 28 วัน พบว่า ฟิล์มโคโตซานผสม acetic acid มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* ได้ดีกว่าฟิล์มโคโตซานผสม lactic acid โดยในวันที่ 28 พบว่าเนื้อวัวย่างที่หุ้มด้วยฟิล์มโคโตซานผสม acetic acid มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 7.41 log CFU/g ในขณะที่ ได้กรอกที่หุ้มด้วยฟิล์มโคโตซานผสม lactic acid มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 9.52 log CFU/g

Soultos และคณะ (2008) ศึกษาผลการใช้ฟิล์มโคโตซานและฟิล์มโคโตซานผสม nitrite ในไส้กรอกหมูสดแบบกรีกโดยวางไส้กรอกลงในถาดพลาสติก polyester แล้วห่อด้วย air-permeable polyethylene film เก็บรักษาที่ 4°C เป็นเวลา 28 วัน พบว่าฟิล์มโคโตซานและฟิล์มโคโตซานผสม nitrite สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ตลอดอายุการเก็บรักษา โดยในวันที่ 28 พบว่าไส้กรอกที่หุ้มด้วยฟิล์มโคโตซานมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 7.10 log CFU/g ในขณะที่ ไส้กรอกที่หุ้มด้วยฟิล์มโคโตซานผสม nitrite มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 7.26 log CFU/g

2.10 คุณภาพของอาหารและการเสื่อมเสีย

ผลิตภัณฑ์อาหารประกอบด้วยวัตถุดิบที่เป็นสิ่งมีชีวิต จึงเสื่อมเสียได้ ซึ่งการเสื่อมเสียของอาหาร คืออาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงในลักษณะไม่เป็นที่ต้องการ (Singh and Anderson, 2004) มีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์ แมลงและสัตว์กัดแทะ การทำงานของเอนไซม์ในพืชและสัตว์ และการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและจุลชีววิทยา (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541) การเสื่อมเสียของอาหารมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ 3 ลักษณะ คือคุณภาพทางจุลินทรีย์ คุณภาพทางกายภาพ และคุณภาพทางเคมี ดังนี้

2.10.1 คุณภาพทางจุลินทรีย์ จุลินทรีย์เป็นสาเหตุหลักในการเสื่อมเสียของอาหารประเภทที่เสื่อมเสียได้ง่าย (perishable food) เช่น ผักและผลไม้สด ผลิตภัณฑ์นมอบ เนื้อสัตว์ต่างๆ น้ำผลไม้ และนม การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ป้องกันได้โดยการควบคุมจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นที่จะปนเปื้อนในอาหาร การลด a_w ค่า pH อุณหภูมิการเก็บรักษาอาหาร การใช้สารถนอมอาหาร และการเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม จึงต้องเข้าใจปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งประกอบด้วยปัจจัยภายในตัวของอาหาร เช่น a_w ความชื้น และค่า pH

โครงสร้างทางชีววิทยา สารอาหาร ค่า redox potential สารยับยั้งจุลินทรีย์ธรรมชาติในอาหารหรือที่เติมเข้าไปในอาหาร และการแข่งขันของจุลินทรีย์ในการเจริญเติบโต เป็นต้น และปัจจัยภายนอก เช่น อุณหภูมิที่เก็บรักษาอาหาร ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณก๊าซออกซิเจน เป็นต้น (Singh and Anderson, 2004)

2.10.2 คุณภาพทางกายภาพ เป็นสาเหตุแรกของการเสียของอาหาร โดยเฉพาะการถ่ายเทความชื้นจากอาหารสู่บรรยากาศ หรือจากบรรยากาศสู่อาหาร เช่น การไหม้ด้านของอาหารจากการแช่แข็ง (freezer burn) ของอาหารแช่แข็ง การสูญเสียเนื้อของผลไม้ ทำให้เกิดผลไม้เหี่ยว การดูดซับความชื้นจากอากาศของคุกกี้ทำให้เนื้อสัมผัสนุ่ม การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพอื่น เช่น การแยกชั้นของมาการีน มายองเนส และน้ำสลัด และการขี้ของผลไม้ซึ่งนอกจากเป็นตำหนิทำให้ผลไม้มีคุณภาพต่ำลงแล้วยังทำให้จุลินทรีย์สามารถปนเปื้อนเข้ามาเจริญเติบโตได้ง่าย (Kilcast and Subramaniam, 2000; Singh and Anderson, 2004)

2.10.3 คุณภาพทางเคมี เกิดขึ้นเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาหรือการสลายตัวของสารประกอบทางเคมีในอาหาร ได้แก่ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต อัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น a_w อุณหภูมิ ค่า pH และการได้รับแสงและออกซิเจน แต่ละปฏิกิริยามีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาแตกต่างกัน เช่น เอนไซม์จะทำงานได้ดีที่ a_w ประมาณ 0.40 - 0.80 โดยเฉพาะมีความชื้นที่ monolayer ต่ำ เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงทางเคมียังเป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่นรส กลิ่น เนื้อสัมผัสของอาหาร ตัวอย่างการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ได้แก่ การทำงานของเอนไซม์ ทำให้เกิดสีน้ำตาล การเกิด gelatinization และ retrogradation ของอาหารที่มีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบ การเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดระหว่างกรดอะมิโนและน้ำตาลรีดิวซิ่ง ทำให้เกิดสีน้ำตาลในอาหารและยังทำให้คุณค่าทางอาหารลดลง โดยเฉพาะการสูญเสียกรดอะมิโนไลซีน โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด เช่น a_w ที่ปฏิกิริยาเกิดได้ดีที่สุดคือ 0.6 - 0.8 และ pH ที่เกิดปฏิกิริยาได้ดีคือที่ pH สูง และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน เป็นต้น (Singh and Anderson, 2004)

2.11 แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ประมง

แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ประมง มีดังนี้ (มัทนา แสงจินดาวงษ์, 2545)

2.11.1 *Escherichia* จัดเป็นแบคทีเรียในตระกูล Enterobacteriaceae (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ, 2539) เป็นแบคทีเรียรูปท่อน แกรมลบ สามารถสร้างรงควัตถุ (pigments) เช่น สีเหลือง ส้ม แดง เมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง เป็นเชื้อที่ชอบ

เจริญในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 30 °C พบทั่วไปตามธรรมชาติในอาหารประเภทผัก นม และเป็นสาเหตุให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสัตว์ *E. coli* ไม่สร้างสปอร์ สามารถเคลื่อนที่ได้ เป็นเชื้อประเภท Facultative anaerobe มีถิ่นที่อยู่ในลำไส้ของมนุษย์ สัตว์เลือดอุ่น และสัตว์ปีก *E. coli* จัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (coliform bacteria) ซึ่งใช้เป็นจุลินทรีย์ดัชนี (index microorganisms) บ่งชี้การปนเปื้อนของอุจจาระในอาหารเนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่น (normal flora) ในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์เลือดอุ่น อาหารที่ตรวจพบเชื้อโคลิฟอร์ม แสดงว่าอาหารนั้นไม่สะอาด อาจมีสิ่งโสโครก เช่น อุจจาระลงไปปะปน และอาจมีเชื้อโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหารอาหารเติบโตในอาหารนั้น ทำให้ไม่ปลอดภัยต่อการบริโภค

2.11.2 *Listeria* เป็นแบคทีเรียรูปท่อนสั้น ไม่สร้างสปอร์ แต่สร้างเอนไซม์คะตะเลสได้ ต้องการออกซิเจนในการเจริญ พบได้ในนม เนื้อไก่ อาหารทะเล และน้ำ เป็นเชื้อก่อโรคในคนได้ เช่น เชื้อ *L. monocytogenes* ก่อโรคอาหารเป็นพิษหรือโรค Listeriosis เกิดจากการรับประทานอาหารที่ทำจากเนื้อสัตว์และพืชที่มีเชื้อชนิดนี้เข้าไปทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารและอาจรุนแรงจนถึงขั้นเสียชีวิต *L. monocytogenes* สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนได้ในอาหารแช่เย็นแม้ว่าจะมีการปนเปื้อนเพียงเล็กน้อย สามารถพบเชื้อชนิดนี้ได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อม เช่น ดิน น้ำ สิ่งโสโครก ซากพืช และจากลำไส้ของสัตว์เลี้ยงรวมทั้งสัตว์ปีกต่างๆ มีการตรวจพบในอาหารที่ปรุงไม่สุก เช่น นม ไข่ อาหารทะเลต่างๆ ปลา และพืชผัก โดยเฉพาะห้วผักกาดขาว มันฝรั่ง อาจพบเชื้อนี้ในอาหารที่ผ่านความร้อนแล้ว เช่น นมและผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์แล้ว รวมทั้งเนื้อปรุงสำเร็จ เป็นต้น

2.11.3 *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียที่ติดสีแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ เติบโตได้ทั้งที่มีอากาศ และไม่มีอากาศ อยู่ในสภาวะที่มีค่า a_w ตั้งแต่ 0.83 - 0.94 และมีชีวิตอยู่ในที่แห้งและเย็นเป็นเวลานาน อุณหภูมิที่แบคทีเรียเติบโตได้อยู่ในช่วง 7 - 48°C เติบโตได้ดีที่สุดที่ 37°C ค่า pH ที่เติบโตได้ในช่วง 4.0 - 9.3 แต่ที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตอยู่ที่ 7.0 - 7.5 การเติบโตลดลงเมื่อ a_w น้อยกว่า 0.83 และไม่สร้างสารพิษ เมื่อ a_w น้อยกว่า 0.86 ส่วนสารพิษของ *S. aureus* ทนความร้อนได้ดี ทนต่ออุณหภูมิน้ำเดือดได้มากกว่าชั่วโมง พบจุลินทรีย์ชนิดนี้ได้ทั่วไปในอากาศ ตามร่างกาย ได้แก่ ผิวหนัง รูขุมขน เยื่อหู แบคทีเรียชนิดนี้ก่อให้เกิดโรค *Staphylococcus aureus* Intoxication เมื่อบริโภคสารพิษจากจุลินทรีย์ชนิดนี้ ทำให้มีอาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน พิษอาจรุนแรงและเป็นอันตรายต่อชีวิตได้

2.11.4 *Salmonella* เป็นแบคทีเรียติดสีแกรมลบ เซลล์เป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ เติบโตได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ไม่ทนความร้อน ทำลายด้วยความร้อนได้ในระยะเวลาสั้น มีชีวิตอยู่ได้ในที่เย็น การปนเปื้อนมาจากอุจจาระของคนหรือสัตว์

2.11.5 *Clostridium botulinum* เป็นแบคทีเรียติดสีแกรมบวก เซลล์เป็นรูปท่อน สร้างสปอร์ที่ทนความร้อนได้ดี เติบโตในที่ไม่มีออกซิเจน สร้างสารพิษที่ไม่ทนความร้อน สารพิษทำให้เกิดอาการปวดท้อง อาเจียน ต่อมามีอาการตาพร่ามัว มองเห็นภาพซ้อน พิษอาจรุนแรงถึงขั้นอัมพาต ลิ้นแข็ง พูดและกลืนอาหารไม่ได้ การทำงานของหัวใจอ่อนลง และเป็นอันตรายต่อชีวิตได้ มักพบในอาหารกระป๋อง ปลารมควันบรรจุภายใต้สุญญากาศ

2.11.6 *Clostridium perfringens* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เซลล์เป็นรูปท่อน สร้างสปอร์ที่ทนความร้อนได้ดี เติบโตได้ในที่ไม่มีอากาศ พบได้ทั่วไปในดิน น้ำ อาหาร ฝุ่นละออง เครื่องเทศ และระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ อาการของโรค คือ ปวดท้อง มีก๊าซในกระเพาะอาหารมาก คลื่นไส้ อาเจียน อาจเกิดแผลในลำไส้เล็ก และอาจรุนแรงถึงตายได้ มักพบในอาหารแห้ง

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบสำหรับผลิตปลากะพงรมควันเย็น

- ปลากะพงขาว (ตลาดสดสามย่าน, กรุงเทพฯ) นำหนักตัวประมาณ 500-600 กรัม ล้างให้สะอาด ขอดเกล็ด ตัดแต่ง และแลชิ้นเนื้อ (fillet) เก็บไว้ที่ 4°C ก่อนนำไปทอดลงในขั้นต่อไป
- เปลือกป่นเสริมไอโอดีน ตราปรุททิพย์ (บริษัท อุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์ จำกัด, นครราชสีมา)
- ตะไคร้ (ตลาดสดสามย่าน, กรุงเทพฯ)

3.1.2 วัตถุดิบสำหรับผลิตฟิล์มและสารเคลือบบริโภคได้

- ไคโตซาน (บริษัท สตาร์ ไคโตซาน จำกัด, ประเทศไทย degree of deacetylation 94.0%)
- LM-Pectin (Poly-D-galacturonic acid methyl ester, Himedia, India)
- L- α -Lecithin (phosphatidyl choline \geq ร้อยละ 96.4, Merck, Germany)
- คาราจีแนน ชนิด แคปปารี-คาจีแนน (Carrageenan MSC 5744) (บริษัท ไทย ฟู้ด แอนด์ เคมิคอล จำกัด, ประเทศไทย)
- ไนซิน (บริษัท สยามวิคตอรี เคมิคอล จำกัด, ประเทศไทย)
- น้ำมันกานพลู (บริษัท อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด, ประเทศไทย)
- น้ำมันกระเทียม (บริษัท อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด, ประเทศไทย)
- อบเชยจีนผง (*Cinnamomun cassia* Ness) (บริษัท กิจบรรลือ มัลติฟู้ด จำกัด, ประเทศไทย)
- สารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอล

3.1.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

- กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (A.R. grade) (Merck, Germany)
- Ethanol ความเข้มข้น 95% (Merck, Germany)

- สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก (A.R. grade)
- สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (A.R. grade)
- สารละลายกรดบอริก (A.R. grade) ความเข้มข้น 4 % (w/v)
- สารเร่งปฏิกิริยา (selenium reagent mixture) (A.R. grade)
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (A.R. grade)
- Ethanol, 95%, AR grade (Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italy)
- 2-thiobarbituric acid (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)
- 1-butanol (A.R. grade) (Merck, Germany)
- Standard plate count agar (Himedia, India)

3.2 อุปกรณ์

- ตู้อบลมร้อน (Memmert รุ่น W350, Germany)
- ถ้วยอะลูมิเนียม
- เครื่องชั่งละเอียดตศนิยม 4 ตำแหน่ง (Denver Instrument รุ่น SI-234, Germany)
- โถดูดความชื้น (desiccator)
- Buchi digestion unit (รุ่น K-424, Switzerland)
- Buchi scrubber (รุ่น B-414, Switzerland)
- เครื่องกลั่นหาปริมาณไนโตรเจน (VELP scientific รุ่น UDK 127, USA)
- เตาเผา (Muffle furnace, Fisher Scientific รุ่น Isotemp, USA)
- Soxhlet (Gerhardt รุ่น HC61, Germany)
- เครื่อง evaporator (Eyela รุ่น SB-651, Japan)
- Micrometer, model 7301 (Mitutoyo, Tokyo, Japan)
- Ultrasonic bath, Ultrasonik™, model 136H (Fisher Scientific, Schwerte, Germany)
- Color meter system, Chroma meter CR-400 series (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan)
- Homogenizer, model X10/25 (Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany)
- Shaking water bath, model SW23 (Julabo Labortechnik GMBH, Seelbach, Germany)
- Water activity meter, AquaLab®, series 3TE (Decagon Devices, Pullman, WA)
- Ultrasonication probe (Dr.hielscher Up400s, Germany)

- Texture analyzer รุ่น TA-XT2
- pH meter (Horiba รุ่น F-21, Kyoto, Japan)
- 3M™ Petrifilm™ Listeria Plate (บริษัท 3M จำกัด, ประเทศไทย)
- Rotary Evaporator (Eyela รุ่น SB-651, Tokyo, Japan)

3.3 ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

3.3.1 วิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบ

นำปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) น้ำหนักตัวประมาณ 500 – 600 กรัม ล้างให้สะอาด ขอดเกล็ด ตัดแต่ง และแลชิ้นเนื้อ (fillet) จากนั้นนำเนื้อปลากะพงสดมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางจุลชีววิทยา ดังต่อไปนี้

- ปริมาณไขมัน ตามวิธี AOAC (1995)
- ปริมาณโปรตีน ตามวิธี AOAC (1995)
- ค่า TBA ตามวิธีของ AOCS (1997)
- วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่
จุลินทรีย์ทั้งหมด ตามวิธี AOAC (1995)
จุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* ตามวิธี FDA-BAM (2001)
จุลินทรีย์ *Salmonella* spp. ตามวิธี AOAC (1995)
จุลินทรีย์ *E.coli* ตามวิธี FDA-BAM (2002)
จำนวนปราสาทโดยส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ (จากตัวอย่าง 147 กรัม)
ในแต่ละการวิเคราะห์ ทดลอง 3 ซ้ำ และหาค่าเฉลี่ย

3.3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการรมควันเย็นของปลากะพงด้วยซันอ้อย

3.3.2.1 การเตรียมน้ำตะไคร้

ล้างตะไคร้ให้สะอาด ตัดส่วนใบทิ้ง ใช้เฉพาะลำต้น นำมาหั่นซอยเป็นชิ้นย่อยๆ จากนั้นชั่งน้ำหนักตะไคร้ บดกับน้ำด้วยเครื่องบดสับอาหาร โดยใช้อัตราส่วนตะไคร้ต่อน้ำเป็น 1:1 โดยน้ำหนัก บดนาน 10 นาที นำตะไคร้ที่บดละเอียดแล้วมารองด้วยกระชอน คั้นเอาแต่น้ำ นำไปใช้ทันที

3.3.2.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการรมควันเย็นปลากะพงขาวด้วยซันอ้อย

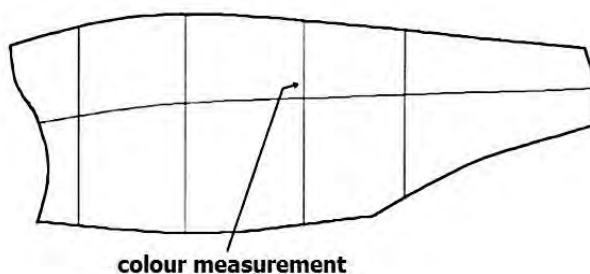
เตรียมน้ำตะไคร้ ตามขั้นตอนที่ 3.3.2.1 จากนั้นเติมเกลือลงในน้ำตะไคร้ โดยแปรความเข้มข้นของเกลือ ที่ 5, 10 และ 15% (w/v) แช่เนื้อปลากะพงขาวที่แลแล้ว 30 นาที

(ปลา : น้ำตะไคร้ผสมเกลือ 1:1) จากนั้นแปรอุณหภูมิรมควันปลากะพงขาว 3 ระดับ ได้แก่ 35, 40 และ 45 °C และเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม. จัดสิ่งทดลองแบบ 3³ factorial (รวมเป็น 27 สิ่งทดลอง) วิเคราะห์คุณภาพต่างๆ ดังนี้

ค่า water activity (a_w) ด้วยเครื่องวัด Water activity (AquaLab[®], series 3TE) ทดลอง 3 ซ้ำ และหาค่าเฉลี่ย

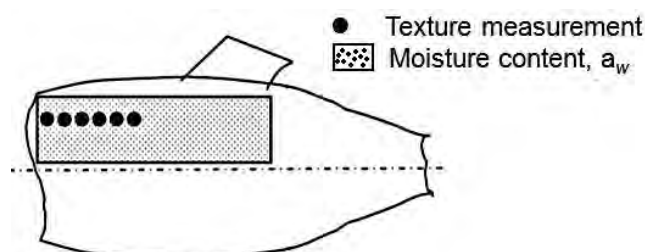
ปริมาณความชื้น (AOAC, 1995) ทดลอง 3 ซ้ำ และหาค่าเฉลี่ย

ค่าสี ในระบบ CIE L* a* b* ด้วยเครื่อง chroma meter (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan) โดยตำแหน่งในการวัดค่าของชิ้นเนื้อปลาบริเวณด้านหลังครีบหลัง แต่ละตัวอย่างวัดค่า 3 ครั้ง โดยหมุนตัวอย่าง 90° ระหว่างการวัดในแต่ละครั้ง (Rorá et al., 1998)



รูปที่ 3.1 ตำแหน่งในการวัดค่าสี L* a* b* ด้วยเครื่อง chroma meter ในชิ้นปลากะพงรมควัน
ที่มา : Rorá และคณะ, 1998

ลักษณะเนื้อสัมผัส โดยใช้เครื่อง Texture analyzer TA-XT2 load cell 5 กก. และ plunger รูปทรงกระบอกปลายแบน (เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มม.) วัดค่า force (g) บนชิ้นเนื้อปลาบริเวณเหนือเส้นกึ่งกลางตัวปลา ตั้งแต่บริเวณเหนืออกถึงครีบหลัง ตามวิธีของ Gallart – Jornet และคณะ (2006) โดยแต่ละตัวอย่างวัดค่า 3 ครั้ง



รูปที่ 3.2 ตำแหน่งในการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของชิ้นปลากะพงรมควัน
ที่มา : Gallart-Jornet และคณะ (2006)

วางแผนการทดลองแบบ 3^3 factorial in CRD วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

3.3.3 คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตปลากะพงรมควันเย็นและผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์

3.3.3.1 คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตปลากะพงรมควันเย็น

เมื่อนำตัวอย่างสูตรปลากะพงรมควันทั้งหมดมาเปรียบเทียบกัน โดยใช้ค่าความชื้นประมาณร้อยละ 75% (ภานุวัฒน์ ทรัพย์ปรุ่ง, 2537) เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกสูตรปลากะพงรมควันที่เหมาะสม 3-5 สูตร เพื่อทดสอบการยอมรับด้วยวิธีการทดสอบ Acceptance test ด้วยสเกลแบบ 9-point hedonic scale ใช้ผู้ประเมินที่รู้จักและรับประทานผลิตภัณฑ์ปลารมควันและปลาดิบจำนวน 30 คน โดยวางแผนการทดลองแบบ 3^3 factorial in RCBD วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS คัดเลือกสูตรที่ให้ผลทางกายภาพและประสาทสัมผัสเหมาะสมที่สุด 1 สูตรสำหรับทดลองขั้นต่อไป

3.3.3.2 ศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ปลากะพงรมควันเย็น

แปรรูปปลากะพงรมควันเย็นตามวิธีการในข้อ 3.3.3.1 ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคทั่วไปจำนวน 100 คน ประเมินความชอบด้วยสเกลแบบ 9 – point hedonic scale ในคุณลักษณะต่อไปนี้ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส ความชอบรวม การยอมรับผลิตภัณฑ์และบรรจุภัณฑ์ การตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์

3.3.4 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางจุลชีววิทยาของปลากะพงรมควันเย็น

แปรรูปปลากะพงรมควันเย็นจากสูตรที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.3.3 แล้วนำปลากะพงรมควันเย็นที่แปรรูปได้มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางจุลชีววิทยา ดังนี้

- ปริมาณไขมัน ตามวิธี AOAC (1995)
- ปริมาณโปรตีน ตามวิธี AOAC (1995)
- ปริมาณเถ้า ตามวิธี AOAC (1995)
- ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ตามวิธี AOAC (1995)
- วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่
 - จุลินทรีย์ทั้งหมด ตามวิธี AOAC (1995)

จุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* ตามวิธี FDA-BAM (2001)

จุลินทรีย์ *Salmonella spp.* ตามวิธี AOAC (1995)

จุลินทรีย์ *E.coli* ตามวิธี FDA-BAM (2002)

จุลินทรีย์ *Listeria spp.* (โดยใช้ 3M™ Petrifilm™)

แต่ละชนิดของจุลินทรีย์ วิเคราะห์ 3 ซ้ำ

3.3.5 ศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ปลา กะพงรมควันเย็นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

แปรรูปปลากระพงรมควันตามสูตรที่เลือกได้จากข้อ 3.3.3 แล้วนำฟิล์มผสมสารต้านจุลินทรีย์ 3 ชนิด (ใช้ตัวอย่างปลากระพงรมควันที่ไม่ห่อฟิล์มบริโภคเป็นตัวอย่างควบคุม) ดังนี้

3.3.5.1 ฟิล์มเพกตินที่ตรึง liposome ของสารต้านจุลินทรีย์จากสมุนไพรมะนาว น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม กานพลูและสารสกัดจากทับทิมด้วยเอทานอล (อรชร เมฆเกิดชู, 2552) โดยวิธีการเตรียมฟิล์มแสดงในภาคผนวก ข.1

3.3.5.2 ฟิล์มคาราจีแนนเติมน้ำมันหอมระเหยจากอบเชย (วิภาวีร์ ธาระเขตร์, 2551) โดยวิธีการเตรียมฟิล์มแสดงในภาคผนวก ข.2

3.3.5.3 ไคโตซานผสมไนซิน (Mu *et al.*, 2008b) โดยวิธีการเตรียมฟิล์มแสดงในภาคผนวก ข.3

จากนั้นนำตัวอย่างที่หุ้มฟิล์มบรรจุในถุงพลาสติก LDPE ปิดผนึกแบบธรรมดาและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

คัดเลือกฟิล์มที่มีประสิทธิภาพในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ปลากระพงรมควันเย็นได้นานที่สุด โดยสุ่มตัวอย่างปลากระพงรมควัน ทุก 5 วัน ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส จนกว่าผู้บริโภคไม่ยอมรับโดยพิจารณาจากคะแนนการยอมรับรวมต่ำกว่า 6 หรือปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงกว่ามาตรฐาน คือ 6 log CFU/g (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2553) ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส เช่นเดียวกับข้อ 3.3.3.1

3.3.6 ศึกษาอายุการเก็บรักษาของปลากระพงรมควันเย็นด้วยชานอ้อยที่มีการใช้ฟิล์มต้านจุลินทรีย์

แปรรูปปลากระพงรมควันตามสูตรที่เลือกได้จากข้อ 3.3.3 แล้วนำฟิล์มผสมสารต้านจุลินทรีย์ที่เลือกได้จากข้อ 3.3.5 นำมาห่อปลากระพงรมควันเย็น บรรจุในถุงพลาสติก LDPE ปิดผนึกแบบธรรมดา

และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C สุ่มตัวอย่างปลากะพงรมควัน ทุก 5 วัน มาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส คุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลชีววิทยา จนกว่าผู้บริโภคไม่ยอมรับโดยพิจารณาจากคะแนนการยอมรับรวมต่ำกว่า 6 หรือปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงกว่ามาตรฐาน คือ 6 log CFU/g (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2553) โดยวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (ตามวิธี AOAC, 1995) จำนวน Lactic acid bacteria (ตามวิธี ISO 15214: 1998(E)) จำนวนจุลินทรีย์ *Listeria* spp. (โดยใช้ 3M™ Petrifilm™) และ *Staphylococcus aureus* (ตามวิธี FDA-BAM, 2001) และจำนวน *Clostridium perfringens* (ตามวิธี FDA-BAM, 2001) ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบ

จากการวิเคราะห์ห้องค์ประกอบทางเคมี (ตารางที่ 4.1) พบว่า เนื้อปลากะพงสด มีปริมาณ โปรตีนและไขมัน ร้อยละ 20.33 และ 2.34 ตามลำดับ ตัวอย่างเนื้อปลากะพงสดมีค่า Thiobarbituric acid หรือ ค่า TBA เท่ากับ 0.019 มิลลิกรัมมาโลนัลดีไฮด์/กิโลกรัม ซึ่งจากการวิเคราะห์คุณภาพเนื้อปลากะพงสด แสดงให้เห็นว่าเนื้อปลากะพงที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการแปรรูปปลากะพงรมควันเย็นนั้น มีความสดเหมาะสมสำหรับนำไปแปรรูปต่อไป และนำเนื้อปลากะพงสด มาวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนจุลินทรีย์ *S. aureus*, *Salmonella* spp., *E.coli* และ จำนวนปาราสิต พบว่า เนื้อปลากะพงสดมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 2.8×10^5 CFU/g, จำนวน *E.coli* < 3 MPN/g จำนวน *S. aureus* 60 CFU/g ไม่พบ *Salmonella* spp. ในตัวอย่าง 25 กรัม และไม่พบปาราสิต (จากตัวอย่าง 147 กรัม)

ตารางที่ 4.1 คุณภาพของเนื้อปลากะพงสดทางด้านเคมีและทางจุลชีววิทยา

คุณภาพ	ปริมาณ	มาตรฐาน มกอช. (2549)
คุณภาพทางเคมี		
โปรตีน (g/100 g)	20.33	
ไขมัน (g/100 g)	2.34	
TBA (มิลลิกรัมมาโลนัลดีไฮด์/กิโลกรัม)	0.019	
คุณภาพทางจุลชีววิทยา		
จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/g)	2.8×10^5	5×10^5
<i>Staphylococcus aureus</i> (CFU/g)	60	10^3
<i>Salmonella</i> spp. (CFU/g)	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>E.coli</i> (MPN/g)	< 3	<11
ปาราสิต (จากตัวอย่าง 146 กรัม)	ไม่พบ	

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2549) ได้กำหนดมาตรฐานทางด้าน จุลินทรีย์ของเนื้อปลากะพงขาวสดไว้ ดังนี้ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 5×10^5 โคโลนีต่อ ตัวอย่าง 1 กรัม (cfu/g), *S. aureus* ไม่เกิน 10^3 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (cfu/g), *E.coli* ไม่เกิน

11 MPN/g และไม่พบ *Salmonella* spp. ในตัวอย่าง 25 กรัม จากการวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างเนื้อปลากะพงขาวสด พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด จำนวน *S. aureus*, *E.coli* และ *Salmonella* spp. ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานที่สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติกำหนดไว้ แสดงว่าเนื้อปลากะพงขาวที่ใช้ในการทดลอง มีมาตรฐานทางด้านจุลินทรีย์และคุณภาพที่ดี เหมาะแก่การนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการรมควันเย็นของปลากะพงด้วยซันอ้อย

จากการศึกษาสภาวะในการรมควันเย็นปลากะพง โดยแปรความเข้มข้นของเกลือ (5, 10, 15% w/v) อุณหภูมิในการรมควัน (35, 40, 45°C) และเวลาในการรมควัน (2, 2.5, 3 ชม.) นำเนื้อปลากะพงที่แลแล้วแช่ในน้ำตะไคร้ที่เติมเกลือ โดยแปรความเข้มข้นของเกลือ ที่ 5, 10 และ 15% (w/v) ใช้เวลาในการแช่ปลา 30 นาที วิเคราะห์คุณภาพของปลากะพง ได้แก่ a_w , ความชื้น ค่าสี (L^* , a^* และ b^*) และลักษณะเนื้อสัมผัส (hardness) แสดงผลในตารางที่ 4.2 - 4.7

ผลการวัดค่าความชื้น ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และ ตารางที่ 4.1 พบว่า เมื่ออุณหภูมิและเวลาในการรมควันเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ตัวอย่างมีความชื้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากตัวอย่างเกิดการสูญเสียน้ำไปในระหว่างการรมควัน และเมื่อแช่ปลากะพงในสารละลายที่มีความเข้มข้นของเกลือต่างกัน ที่สภาวะรมควันเดียวกัน พบว่า ความเข้มข้นของเกลือมีผลต่อปริมาณความชื้นของตัวอย่าง โดยเมื่อแช่เนื้อปลากะพงในสารละลายเกลือที่เข้มข้นขึ้น ตัวอย่างมีความชื้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากปริมาณเกลือที่ใช้หรือความเข้มข้นของเกลือสูง สามารถกำจัดน้ำออกจากอาหารได้เร็ว (ภานุวัฒน์ ทรัพย์ปรง, 2537) สอดคล้องกับผลการศึกษาสภาวะการรมควันปลาทรายของปรัทิพย์ เกียรติกังวาลไกล (2532) ซึ่งพบว่า ความชื้นของตัวอย่างลดลงเมื่อแช่ตัวอย่างในสารละลายที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้น นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอื่นๆ ที่ให้ผลการทดลองเช่นเดียวกัน (สุพันธ์ แสนกล้า, 2548; อรรถพร สัมปชัญญสถิตย์, 2549)

ตารางที่ 4.2 ปริมาณความชื้น (ร้อยละ) ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในสารละลายเกลือ ความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C แปรระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม.

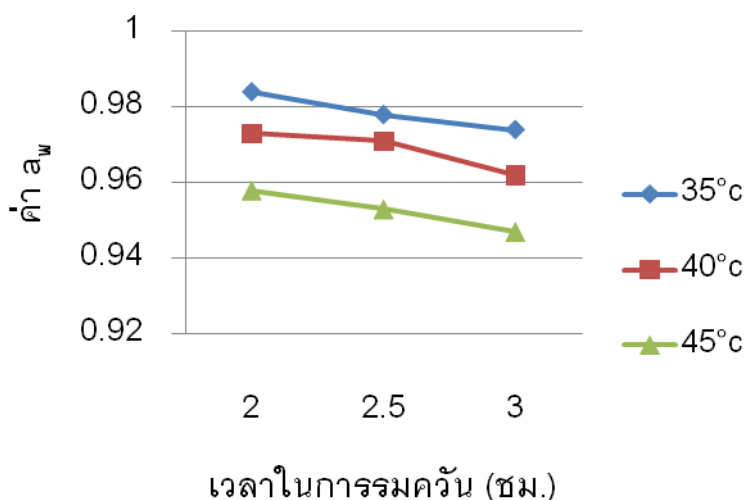
ความเข้มข้น ของเกลือ	35°C			40°C			45°C		
	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.
5%	79.09 ^a ±0.21	78.53 ^{ab} ±0.05	78.07 ^b ±0.02	75.79 ^d ±1.16	74.10 ^e ±0.02	72.52 ^{fg} ±0.04	72.41 ^{fg} ±0.11	71.85 ^{gh} ±0.19	70.38 ^{jk} ±0.24
10%	78.24 ^b ±0.11	77.19 ^c ±0.15	76.05 ^d ±0.04	74.56 ^d ±0.03	72.50 ^{fg} ±0.23	71.82 ^{gh} ±0.22	71.48 ^h ±0.10	70.36 ^{jk} ±0.09	68.92 ^{mn} ±0.27
15%	77.25 ^c ±0.17	76.05 ^d ±0.20	74.40 ^e ±0.11	72.97 ^f ±0.08	71.36 ^{hi} ±0.07	69.83 ^{kl} ±0.06	70.77 ^{ij} ±0.02	69.56 ^{lm} ±0.07	68.77 ⁿ ±0.17

a,...,n ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งและแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.3 ค่า a_w ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในสารละลายเกลือ ความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C แปรระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม.

ความเข้มข้น ของเกลือ	35°C			40°C			45°C		
	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.
5%	0.984 ^a ±0.005	0.979 ^b ±0.01	0.974 ^{cd} ±0.005	0.973 ^{def} ±0.004	0.969 ^{ef} ±0.003	0.962 ^g ±0.004	0.958 ⁱ ±0.009	0.952 ^{jk} ±0.002	0.948 ^{kl} ±0.001
10%	0.984 ^a ±0.006	0.979 ^b ±0.008	0.975 ^{bcd} ±0.002	0.972 ^{def} ±0.002	0.974 ^{cd} ±0.003	0.963 ^g ±0.003	0.958 ^{hi} ±0.002	0.953 ⁱ ±0.002	0.947 ^l ±0.002
15%	0.984 ^a ±0.002	0.977 ^{bc} ±0.005	0.973 ^{cdef} ±0.007	0.973 ^{cde} ±0.004	0.969 ^f ±0.005	0.962 ^{gh} ±0.001	0.957 ^{ij} ±0.001	0.953 ^j ±0.003	0.946 ^l ±0.003

a,...,l ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวและแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4.1 ค่า a_w ของตัวอย่างปลากระพงหมักวันที่แช่ในสารละลายเกลือความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิหมักวัน 35, 40 และ 45°C ระยะเวลาหมักวัน 2, 2.5 และ 3 ชม.

หมายเหตุ: ค่า a_w ที่แสดงในกราฟเป็นค่า a_w เฉลี่ยของตัวอย่างที่ความเข้มข้นเกลือ 5, 10 และ 15% (w/v) ที่สภาวะการหมักวันเดียวกัน

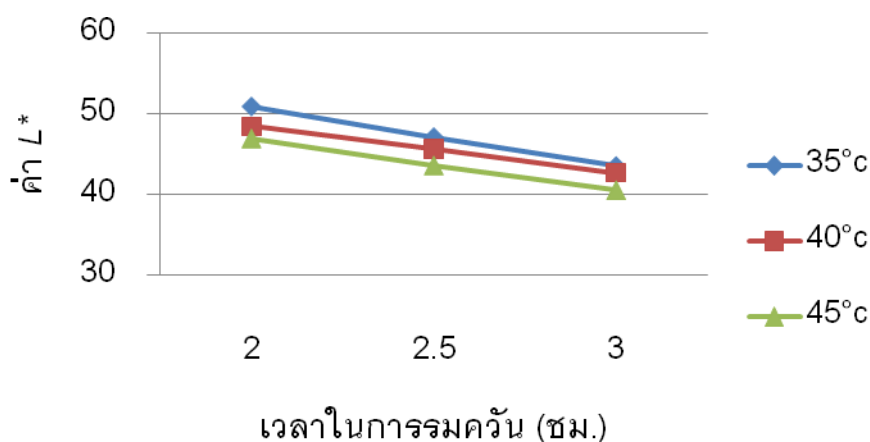
ค่า a_w ของตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และ ตารางที่ ง.1 (ภาคผนวก ง) พบว่า เมื่ออุณหภูมิและเวลาในการหมักวันเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ตัวอย่างมี ค่า a_w ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยความเข้มข้นของสารละลายเกลือไม่มีผลต่อค่า a_w ($p > 0.05$) ที่ความเข้มข้นของสารละลายเกลือและเวลาในการหมักวันเดียวกัน ที่อุณหภูมิ 45°C ตัวอย่างมีค่า a_w ต่ำที่สุด (รูปที่ 4.2) ในขณะที่อุณหภูมิในการหมักวันเดียวกัน ตัวอย่างที่ใช้เวลาในการหมักวันนานขึ้น มีค่า a_w ลดลง ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยในปลาทรายหมักวัน ปลาตุ๋นอุยเทศ และหอยแครงหมักวัน ที่พบว่า เมื่ออุณหภูมิและเวลาในการหมักวันเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ตัวอย่างมี ค่า a_w ลดลง (ปรทิพย์ เกียรติกังวาลไกล, 2532; สุพันธ์ แสนกล้า, 2548; อรรถพร สัมปชัญญสถิตย์, 2549) นอกจากนี้ยังพบว่าค่า a_w ของตัวอย่างไม่ได้ขึ้นอยู่กับค่าความชื้นของตัวอย่างโดยตรง โดยค่า a_w จะขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของความดันไอของน้ำในอาหารต่อความดันไอของน้ำบริสุทธิ์ในอาหารที่อุณหภูมิเดียวกัน (นิธิยา รัตนานนท์, 2545)

ตารางที่ 4.4 ค่าสี (L^*) ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในน้ำเกลือ ความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C และแปรระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม.

ความเข้มข้น ของเกลือ	35°C			40°C			45°C		
	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.
5%	51.25 ^a ±0.04	46.27 ^{def} ±0.08	42.85 ^g ±0.17	48.40 ^b ±0.12	45.48 ^f ±0.05	42.54 ^{gh} ±0.13	46.60 ^{def} ±0.03	43.61 ^g ±0.17	41.37 ^{hi} ±0.07
10%	50.20 ^a ±0.11	47.12 ^{bcde} ±0.21	43.94 ^g ±0.23	48.65 ^b ±0.25	45.69 ^{ef} ±0.02	42.93 ^g ±0.02	46.87 ^{cdef} ±0.01	43.99 ^g ±0.11	40.45 ⁱ ±0.04
15%	51.50 ^a ±0.24	48.15 ^{bc} ±0.12	43.94 ^g ±0.15	48.42 ^b ±0.12	45.97 ^{ef} ±0.21	42.73 ^{gh} ±0.15	47.59 ^{bcd} ±0.12	43.44 ^g ±0.08	40.07 ⁱ ±0.11

a,...,i ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวและแนวอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ค่า L^* คือค่าความสว่าง (lightness) มีค่าตั้งแต่ 100 (สีขาว) ถึง 0 (สีดำ) จากตารางที่ 4.4 เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการหมักวันตัวอย่างนานขึ้น พบว่า ค่า L^* หรือค่าความสว่างของตัวอย่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงว่าตัวอย่างมีสีเข้มขึ้น โดยความเข้มข้นของสารละลายเกลือไม่มีผลต่อค่า L^* ($p > 0.05$) โดยที่ความเข้มข้นของสารละลายเกลือและเวลาในการหมักวันเดียวกัน ที่อุณหภูมิ 45°C ตัวอย่างมีค่า L^* ต่ำที่สุด (รูปที่ 4.2) ในขณะที่อุณหภูมิในการหมักวันเดียวกัน ตัวอย่างที่ใช้เวลาในการหมักวันนานขึ้น ตัวอย่างมีค่า L^* ลดลง ($p \leq 0.05$) ซึ่งสีของตัวอย่างมีค่าความสว่างลดลงหรือตัวอย่างมีสีเข้มขึ้น เนื่องมาจากเกิดการเปลี่ยนแปลงของเม็ดสีหรือการเกิดเม็ดสี (pigmentation) ซึ่งเป็นผลมาจากองค์ประกอบในควันที่มาจากแหล่งให้ควัน และเมื่อใช้อุณหภูมิและเวลาในการหมักวันนานขึ้น ตัวอย่างจะมีสีเข้มขึ้นหรือมีค่าความสว่างลดลง (Shahidi and Botta, 1994) สอดคล้องกับผลการศึกษาของ สุพันธ์ แสนกล้า (2548) ซึ่งพบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการหมักวันนานขึ้น ค่า L^* ของปลาตุ๋นเทศรมควันมีแนวโน้มลดลง และยังพบว่า ที่อุณหภูมิและเวลาในการหมักวันเดียวกัน ตัวอย่างที่แช่ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 5, 10 และ 15 มีค่า L^* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)



รูปที่ 4.2 ค่า L^* ของตัวอย่างปลากระพงรมควันที่แช่ในสารละลายเกลือความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิหมักวัน 35, 40 และ 45°C ระยะเวลาหมักวัน 2, 2.5 และ 3 ชม.

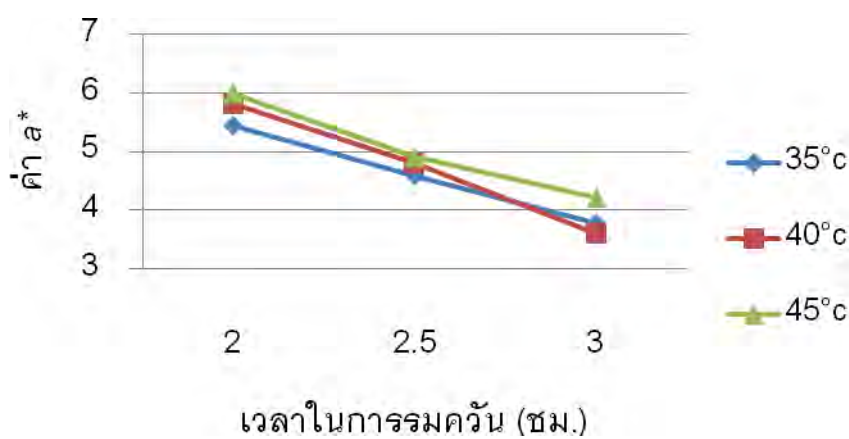
หมายเหตุ: ค่า L^* ที่แสดงในกราฟเป็นค่า L^* เฉลี่ยของตัวอย่างที่ความเข้มข้นเกลือ 5, 10 และ 15% (w/v) ที่สภาวะการหมักวันเดียวกัน

ตารางที่ 4.5 ค่าดี (a^*) ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในน้ำเกลือ ความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C และแปรระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม.

ความเข้มข้น ของเกลือ	35°C			40°C			45°C		
	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.
5%	5.92 ^{abc} ±0.01	4.55 ^{de} ±0.04	3.84 ^g ±0.02	5.79 ^{abc} ±0.07	4.84 ^d ±0.02	3.71 ^g ±0.03	6.25 ^a ±0.02	4.95 ^d ±0.12	4.04 ^{fg} ±0.03
10%	5.47 ^c ±0.03	4.60 ^{de} ±0.03	3.71 ^g ±0.01	5.80 ^{abc} ±0.05	4.77 ^d ±0.02	3.75 ^g ±0.05	6.04 ^{ab} ±0.11	4.96 ^d ±0.06	4.18 ^{efg} ±0.04
15%	5.47 ^c ±0.02	4.63 ^{de} ±0.05	3.77 ^g ±0.03	5.85 ^{abc} ±0.02	4.83 ^d ±0.01	3.37 ^g ±0.01	5.70 ^{bc} ±0.04	4.82 ^d ±0.03	4.45 ^{def} ±0.09

a,...,g ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวและแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาค่า a^* (ค่าสีแดง-เขียว) จากตารางที่ 4.5 พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการหมักวันตัวอย่างนานขึ้น พบว่า ค่า a^* ของตัวอย่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงว่าค่าสีแดง (+ a^*) ของตัวอย่างลดลง โดยความเข้มข้นของสารละลายเกลือไม่มีผลต่อค่า a^* ($p > 0.05$) เช่นเดียวกับค่า L^* โดยความเข้มข้นของสารละลายเกลือและเวลาในการหมักวันเดียวกัน ที่อุณหภูมิ 45°C ตัวอย่างมีแนวโน้มของค่า a^* ต่ำกว่าที่อุณหภูมิต่ำกว่า (รูปที่ 4.3) ในขณะที่อุณหภูมิในการหมักวันเดียวกัน ตัวอย่างที่ใช้เวลาในการหมักวันนานขึ้น ตัวอย่างมีค่า a^* ลดลง ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4.3 ค่า a^* ของตัวอย่างปลากะพงหมักวันที่ใช้ในสารละลายเกลือความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิหมักวัน 35, 40 และ 45°C ระยะเวลาหมักวัน 2, 2.5 และ 3 ชม.

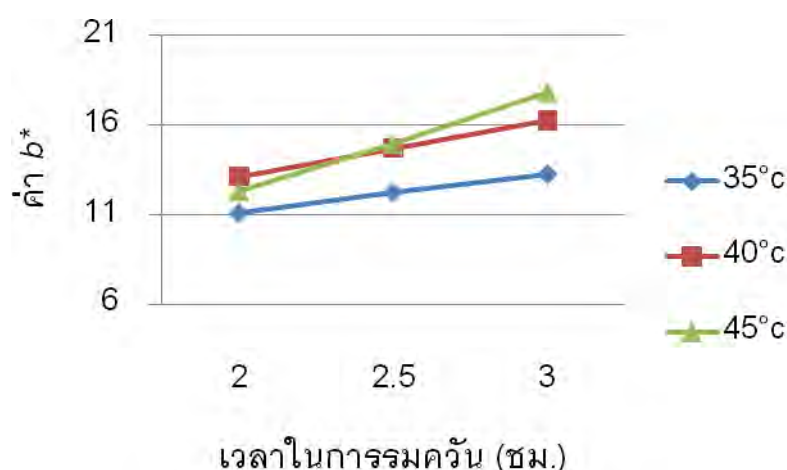
หมายเหตุ: ค่า a^* ที่แสดงในกราฟเป็นค่า a^* เฉลี่ยของตัวอย่างที่ความเข้มข้นเกลือ 5, 10 และ 15% (w/v) ที่สภาวะการหมักวันเดียวกัน

ตารางที่ 4.6 ค่าสี (b^*) ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในน้ำเกลือ ความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C และแปรระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม.

ความเข้มข้นของเกลือ	35°C			40°C			45°C		
	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.
5%	10.97 ^k ±0.11	12.39 ^{ghi} ±0.05	13.14 ^f ±0.04	13.09 ^{fg} ±0.07	14.42 ^{de} ±0.06	16.14 ^b ±0.25	12.79 ^{gh} ±0.06	14.12 ^e ±0.05	17.81 ^a ±0.15
10%	11.21 ^{jk} ±0.12	12.33 ^{hi} ±0.06	13.17 ^f ±0.17	13.11 ^{fg} ±0.08	14.85 ^{cde} ±0.05	16.31 ^b ±0.17	12.36 ^{ghi} ±0.19	15.34 ^c ±0.23	17.77 ^a ±0.08
15%	11.15 ^{jk} ±0.03	11.96 ⁱ ±0.03	13.40 ^f ±0.11	13.2167 ^f ±0.09	14.89 ^{cd} ±0.12	16.32 ^b ±0.08	11.83 ^{ij} ±0.19	15.41 ^c ±0.11	17.88 ^a ±0.06

a,...,k ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ค่า b^* จากตารางที่ 4.6 เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการหมักวันตัวอย่างนานขึ้น พบว่า ค่า b^* ของตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงว่าค่าสีเหลือง ($+b^*$) ของตัวอย่างเพิ่มขึ้น โดยความเข้มข้นของสารละลายเกลือไม่มีผลต่อค่า b^* ($p > 0.05$) เช่นเดียวกับค่า L^* และ a^* โดยความเข้มข้นของสารละลายเกลือและเวลาในการหมักวันเดียวกัน ที่อุณหภูมิ 35°C ตัวอย่างมีค่า b^* ต่ำที่สุด (รูปที่ 4.4) ในขณะที่อุณหภูมิในการหมักวันเดียวกัน ตัวอย่างที่ใช้เวลาในการหมักวันนานขึ้น ตัวอย่างมีค่า b^* เพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4.4 ค่า b^* ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในสารละลายเกลือความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิหมักวัน 35, 40 และ 45°C ระยะเวลาหมักวัน 2, 2.5 และ 3 ชม.

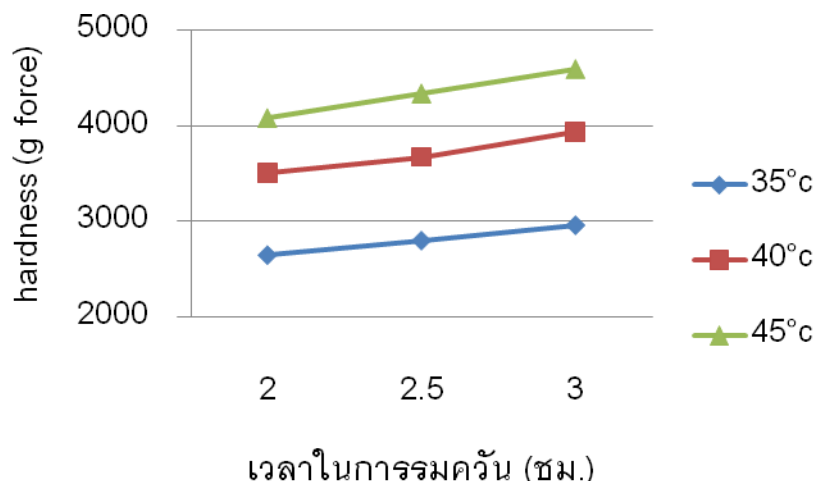
หมายเหตุ: ค่า b^* ที่แสดงในกราฟเป็นค่า b^* เฉลี่ยของตัวอย่างที่ความเข้มข้นเกลือ 5, 10 และ 15% (w/v) ที่สภาวะการหมักวันเดียวกัน

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าการหมักวันมีผลต่อสีของผลิตภัณฑ์ โดยมีรายงานว่าสีของอาหารรมควันเกิดจากปฏิกิริยาของสารประกอบคาร์บอนิล (carbonyl compound) ในควันกับกรดอะมิโน (amino acid) และสารเอมีน (amine) ในอาหาร ทำให้เกิดสีน้ำตาลขึ้นที่ผิวหน้าของอาหาร ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับปฏิกิริยา Maillard reaction (Hall, 1992; อรรถพร สัมปชัญญสถิต, 2549) และสารในกลุ่มฟีนอลิกก็มีส่วนช่วยให้เกิดสีในอาหารรมควันเช่นกัน และความเข้มของสีที่เกิดขึ้นในอาหารรมควัน ขึ้นอยู่กับ 3 ปัจจัย ได้แก่ ความชื้นสัมพัทธ์ อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการหมักวัน นอกจากนี้ควันยังทำให้เกิดความมันเลื่อมที่ผิวหน้าของปลาซึ่งเกิดจากควันและไขมันในตัวปลา (อรรถพร สัมปชัญญสถิต, 2549)

ตารางที่ 4.7 ค่าความแข็งของเนื้อปลา (hardness; g force) ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในน้ำเกลือ ความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิ รมควัน 35,40 และ 45°C และแปรระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม.

ความ เข้มข้น ของเกลือ	35°C			40°C			45°C		
	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.	2ชม.	2.5ชม.	3ชม.
5%	2644.33 ⁱ ±15.45	2786.70 ^h ±8.32	2963.83 ^g ±24.21	3512.07 ^f ±22.72	3687.63 ^e ±19.49	3992.47 ^d ±23.13	4104.27 ^c ±34.64	4337.47 ^b ±25.49	4581.07 ^a ±12.33
10%	2626.33 ⁱ ±23.34	2796.70 ^h ±11.47	2955.53 ^g ±16.11	3521.47 ^f ±18.94	3691.63 ^e ±14.31	3904.4 ^d ±14.75	4062.67 ^c ±13.45	4350.97 ^b ±18.58	4590.10 ^a ±17.77
15%	2659.83 ⁱ ±24.67	2801.47 ^h ±14.23	2942.93 ^g ±11.29	3494.43 ^f ±35.63	3647.03 ^e ±31.23	3918.4 ^d ±36.87	4089.67 ^c ±21.14	4337.40 ^b ±19.05	4620.43 ^a ±35.86

a,...,i ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4.5 ค่าความแข็งของเนื้อปลา (hardness; g force) ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในสารละลายเกลือความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/v) โดยแปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C ระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม.

หมายเหตุ: ค่าความแข็งที่แสดงในกราฟเป็นค่าความแข็งเฉลี่ยของตัวอย่างที่ความเข้มข้นเกลือ 5, 10 และ 15% (w/v) ที่สภาวะการรมควันเดียวกัน

เมื่อพิจารณาค่าความแข็งของเนื้อปลา (hardness; g force) ของตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แช่ในน้ำเกลือ ความเข้มข้น 5, 10 และ 15% ที่แปรอุณหภูมิรมควัน 35, 40 และ 45°C และระยะเวลารมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม. จากตารางที่ 4.7 พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิและระยะเวลาในการรมควันตัวอย่างนานขึ้น ค่า hardness (g force) ของตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื้อสัมผัสของตัวอย่างจึงแข็งและแน่นขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยความเข้มข้นของสารละลายเกลือไม่มีผลต่อค่าความแข็งของเนื้อปลา ($p > 0.05$) โดยความเข้มข้นของสารละลายและเวลาในการรมควันเดียวกัน ที่อุณหภูมิ 35°C ตัวอย่างมีค่าความแข็งต่ำที่สุด (รูปที่ 4.5) ในขณะที่อุณหภูมิในการรมควันเดียวกัน ตัวอย่างที่ใช้เวลาในการรมควันนานขึ้น ตัวอย่างมีค่าความแข็งเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากในระหว่างการรมควันจะเกิดการสูญเสียไขมัน การแพร่กระจายของไขมันและการเปลี่ยนแปลงสภาพของโปรตีนในเนื้อเยื่อโครงสร้างและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โดยปฏิกิริยาของสารประกอบและความร้อนกับโปรตีนที่ผิวหน้าอาหาร ทำให้โปรตีนที่ละลายได้สูญเสียในระหว่างการรมควัน นอกจากนี้ยังมีการเพิ่มขึ้นของ สโตรมา (stroma fraction) ส่วนองค์ประกอบที่ลดลง ได้แก่ myofibrillar proteins และกลุ่มซัลไฟดริลอิสระ (free sulfhydryl group) เนื่องจากปฏิกิริยาเชื่อมข้าม (cross link) ของโปรตีนที่ผิวหน้าอาหาร ทำให้ผิวนอกของอาหารแข็งและแน่น การเกิดปฏิกิริยาเชื่อมข้ามระหว่างองค์ประกอบของควันและโปรตีนที่ผิวหน้าของอาหารมากเกินไปจะ

ทำให้เกิดลักษณะแข็งที่ผิววนอก (hardened casing) ขัดขวางการซึมของควันเข้าไปในเนื้ออาหาร และภาวะเยือกของของน้ำ ส่งผลให้ภายในเนื้ออาหารนุ่มและไม่มีการลื่นรสควัน (วรรณมา ตั้งเจริญชัย, 2534) นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุให้เกิดการเน่าเสียจากด้านในของชิ้นอาหารได้ง่ายขึ้นอีกด้วย ภาณุวัฒน์ ทรัพย์ปรง (2537) กล่าวว่า การรมควันที่อุณหภูมิสูงเกินไปหรือใช้ระยะเวลาในการรมควันนานเกินไปอาจทำให้เกิดกลิ่นควันที่มากอีกด้วย

4.3 การคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตปลากะพงรมควันเย็นและการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ปลากะพงรมควันเย็น

4.3.1 ผลการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตปลากะพงรมควันเย็น

เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างปลากะพงรมควันเย็นทั้งหมด 27 สูตร (ความเข้มข้นของเกลือ 5, 10 และ 15% w/v อุณหภูมิในการรมควัน 35, 40 และ 45°C และเวลาในการรมควัน 2, 2.5 และ 3 ชม.) เพื่อเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการศึกษาต่อไป เนื่องจากการทดลองข้างต้น แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารละลายเกลือโดยรวมไม่มีผลต่อคุณภาพทางกายภาพ ประกอบกับการทดลองเบื้องต้น ผู้ทดสอบให้ความเห็นว่า ตัวอย่างปลากะพงรมควันเย็นที่แช่ในสารละลายเกลือ 10 และ 15 % (w/v) นั้น มีรสเค็มเกินไป นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้เกลือที่มีความเข้มข้นดังกล่าวนั้น เป็นการประหยัดต้นทุนและให้รสชาติเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคอีกด้วย ดังนั้นจึงเลือกสภาวะในการแช่ในสารละลายเกลือเข้มข้น 5 % (w/v) และเมื่อพิจารณาด้วยปริมาณความชื้นซึ่งควรมีค่าประมาณ 75% เป็นเกณฑ์ประกอบการพิจารณา (ภาณุวัฒน์ ทรัพย์ปรง, 2537) จึงเลือกสูตรปลากะพงรมควันได้ 4 สูตร ได้แก่ ตัวอย่างแช่ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 5 ใช้ อุณหภูมิในการรมควัน 35°C รมควันนาน 3 ชม. ตัวอย่างแช่ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 5 ใช้อุณหภูมิในการรมควัน 40°C รมควันนาน 2 และ 2.5 ชม. และ ตัวอย่างแช่ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 5 ใช้อุณหภูมิในการรมควัน 45°C รมควันนาน 2 ชม. จากนั้นนำสูตรที่เลือกทั้ง 4 สูตรมาประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ด้วยสเกลแบบ 9-point hedonic scale ผู้ทดสอบ 30 คน โดยผู้ประเมิน 1 คน ประเมินการยอมรับทั้ง 4 สูตร คัดเลือกสูตรปลากะพงรมควันที่ให้ผลทางกายภาพและประสาทสัมผัสเหมาะสมที่สุด 1 สูตร ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของสูตรที่คัดเลือกได้ แสดงในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 คะแนนการประเมินผลทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ของปลากระพงรมควันที่
สภาวะต่างๆ

ตัวอย่าง	คะแนนความชอบ					ความชอบ รวม
	ลักษณะ ปรากฏ	เนื้อสัมผัส	สี	กลิ่น	รสชาติ ^{ns}	
35°C, 3 ชม.	6.90±1.29 ^c	7.50±0.86 ^{ab}	6.93±1.20 ^b	7.43±0.93 ^{ab}	7.70±0.65	7.00±1.21 ^b
40°C, 2 ชม.	7.20±0.96 ^b	7.43±0.93 ^{ab}	7.26±1.17 ^{ab}	7.63±0.61 ^a	7.63±0.71	7.38±0.97 ^b
40°C, 2.5 ชม.	7.43±0.81 ^{ab}	7.60±0.81 ^a	7.20±1.24 ^{ab}	7.50±0.90 ^{ab}	7.68±0.85	7.43±1.07 ^{ab}
45°C, 2 ชม.	7.60±0.77 ^a	7.63±0.71 ^a	7.53±1.04 ^a	7.50±0.86 ^{ab}	7.70±0.65	7.71±0.58 ^a

a,...,c ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ns แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.8 พบว่าผลการประเมินทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างที่เลือกมาในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัสและความชอบรวม พบว่าผู้บริโภคให้คะแนนการยอมรับในผลิตภัณฑ์มากที่สุด 2 สูตร คือ ปลากระพงรมควันเย็นที่ผลิตจากเนื้อปลากระพงขาวแช่ในน้ำตะไคร้ที่เติมเกลือ ความเข้มข้นของเกลือ 5% (w/v) ใช้เวลาในการแช่ปลา 30 นาที รมควันที่อุณหภูมิ 40°C ใช้เวลาในการรมควัน 2.5 ชม. และ รมควันที่อุณหภูมิ 45°C ใช้เวลาในการรมควัน 2 ชม. ซึ่งมีคะแนนการยอมรับไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาค่า a_w ของสภาวะทั้งสองพบว่า สภาวะในการรมควันที่อุณหภูมิ 45°C ใช้เวลาในการรมควัน 2 ชม. มีค่าต่ำกว่าซึ่งค่า a_w หรือค่า water activity คือ น้ำที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ ซึ่งหากผลิตภัณฑ์มีค่า a_w สูงนั้น จะมีผลให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเสื่อมเสียได้เร็วขึ้น นอกจากนี้การใช้เวลาในการรมควันที่สั้นกว่านั้นช่วยลดพลังงานและประหยัดเชื้อเพลิงในการใช้รมควันผลิตภัณฑ์อีกด้วย ดังนั้นจึงเลือกสภาวะดังกล่าวสำหรับทดลองขั้นต่อไป

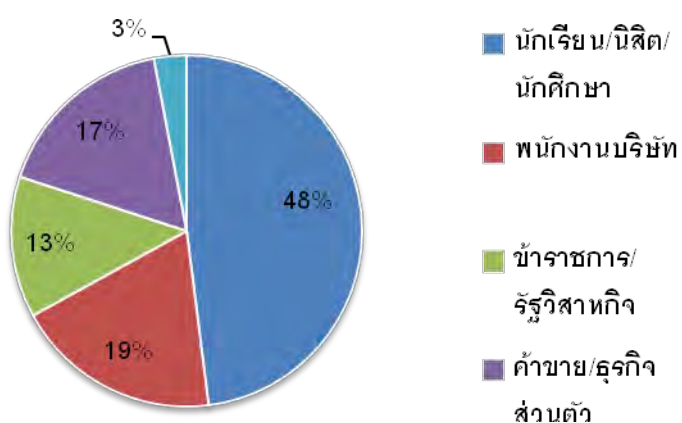
4.3.2 การยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ปลากระพงรมควันเย็น

เมื่อผลิตปลากระพงรมควันเย็นโดยวิธีการที่คัดเลือกแล้ว โดยนำเนื้อปลากระพงแช่ในน้ำตะไคร้ที่เติมเกลือ ความเข้มข้นของเกลือ 5% (w/v) ใช้เวลาในการแช่ปลา 30 นาที รมควันที่อุณหภูมิ 45°C ใช้เวลาในการรมควัน 2 ชม. บรรจุในถุง LDPE ปิดผนึก บรรจุถุงละ 1 ชิ้น (fillet) นำไปทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค ดังนี้

ใช้แบบสอบถาม (ภาคผนวก ข.) ทดสอบผู้บริโภครวมไปในเขตกรุงเทพมหานคร จำนวน 100 คน แบ่งตามช่วงอายุ ได้แก่ ต่ำกว่า 20 ปี, 20 – 30 ปี, 31 – 40 ปี, 41 – 50 ปี และมากกว่า 50 ปี ช่วงอายุละ 20 คน เป็นเพศหญิง 48 คน และเพศชาย 52 คน โดยในแต่ละช่วงอายุมีจำนวนผู้ทดสอบมาเป็นเพศชายและเพศหญิง ดังแสดงในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ลักษณะทางประชากรศาสตร์ของผู้ทดสอบ

ช่วงอายุ	ชาย	หญิง
ต่ำกว่า 20 ปี	11	9
20 – 30 ปี	10	10
31 – 40 ปี	9	11
41 – 50 ปี	10	10
มากกว่า 50 ปี	10	10



รูปที่ 4.6 แผนภาพแสดงสัดส่วนของอาชีพของผู้ตอบแบบสอบถาม



รูปที่ 4.7 แผนภาพแสดงสัดส่วนของรายได้ต่อเดือนของผู้ตอบแบบสอบถาม

ผู้ตอบแบบสอบถามเป็นเพศชาย ร้อยละ 52 และเป็นเพศหญิง ร้อยละ 48 จากรูปที่ 4.6 พบว่า อาชีพส่วนใหญ่เป็นนักเรียน/นิสิต/นักศึกษา คิดเป็นร้อยละ 48 รองลงมาคือ พนักงานบริษัทและค้าขาย/ธุรกิจส่วนตัว คิดเป็นร้อยละ 19 และ 17 ตามลำดับ มีการศึกษาระดับปริญญาตรีมากที่สุด คือ ร้อยละ 57 รองลงมา คือ อนุปริญญา/ปวช., ปวส. และ ประถมศึกษา/มัธยมศึกษา คิดเป็นร้อยละ 18 และ 12 ตามลำดับ รายได้ต่อเดือนส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 5,000 - 10,000 บาท คิดเป็นร้อยละ 47 รองลงมา คือ 15,001 - 20,000 บาท และ น้อยกว่า 5,000 บาท คิดเป็นร้อยละ 16 และ 13 ตามลำดับ (รูปที่ 4.7)

ผลการสอบถามเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบได้ผลดังตารางที่ 4.10 กล่าวคือ ผู้บริโภคมีความชอบเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์ในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัสและความชอบรวมอยู่ในระดับชอบปานกลาง คือระดับความชอบเฉลี่ยของปัจจัยดังกล่าวเท่ากับ 7.05, 7.06, 7.40, 7.51, 7.40 และ 7.46 ตามลำดับ จากคะแนน 1 – 9 (1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด)

ตารางที่ 4.10 คะแนนเฉลี่ยระดับความชอบของผลิตภัณฑ์ต่อคุณลักษณะด้านต่างๆ จากผล
การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคจำนวน 100 คน

คุณลักษณะ	คะแนนเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ลักษณะปรากฏ	7.05±0.87
สี	7.06±0.89
กลิ่น	7.40±0.85
รสชาติ	7.51±0.81
เนื้อสัมผัส	7.40±0.84
ความชอบรวม	7.46±0.80

ผลการสอบถามด้านการยอมรับของผู้บริโภคทั้งบรรจุภัณฑ์และผลิตภัณฑ์ (ตารางที่ 4.11) พบว่าผู้บริภคยอมรับในบรรจุภัณฑ์และผลิตภัณฑ์ปลากะพงรมควัน ในระดับปานกลาง โดยมีคะแนนการประเมินเท่ากับ 3.71 และ 3.84 ตามลำดับ จากคะแนน 1 – 5 (1 หมายถึง ไม่ยอมรับมากที่สุด 5 หมายถึง ยอมรับมากที่สุด)

ผู้บริโภคร้อยละ 92 มีแนวโน้มที่จะซื้อผลิตภัณฑ์ในราคา 150 บาท อีกร้อยละ 8 ผู้บริโภคไม่เต็มใจซื้อในราคาดังกล่าว แต่เต็มใจซื้อในราคา 140 บาท ต่อ 1 บรรจุก้อน คิดเป็นร้อยละ 37.5 และต้องการที่จะซื้อในราคา 130 บาท ต่อ 1 บรรจุก้อน คิดเป็นร้อยละ 62.5 ของจำนวนผู้ที่ไม่เต็มใจซื้อในราคา 150 บาท ต่อ 1 บรรจุก้อน โดยผู้ทดสอบให้ความเห็นว่าปลากะพงรมควันเย็นอยู่ในบรรจุก้อนที่ไม่สวยงาม ไม่ดึงดูดใจให้ซื้อผลิตภัณฑ์ในราคาดังกล่าว

ตารางที่ 4.11 คะแนนการยอมรับในบรรจุก้อนและผลิตภัณฑ์ปลากะพงรมควัน

ระดับคะแนนการยอมรับ	บรรจุก้อน	ผลิตภัณฑ์
	ความถี่	ความถี่
	(คน)	(คน)
1 น้อยที่สุด	-	-
2 น้อย	-	3
3 ปานกลาง	45	37
4 มาก	39	33
5 มากที่สุด	16	27
รวม	100	100
ระดับคะแนนเฉลี่ย	3.71	3.84

4.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางจุลชีววิทยาของปลากะพงรมควันเย็น

แปรรูปปลากะพงรมควันเย็นจากสูตรที่คัดเลือกได้ โดยนำปลากะพงขาว น้ำหนักตัว 500 - 600 กรัม ล้างให้สะอาด ขอดเกล็ด ตัดแต่ง และแลชิ้นเนื้อ (fillet) จากนั้นนำเนื้อปลากะพงแช่ในน้ำตะไคร้ที่เติมเกลือ ความเข้มข้นของเกลือ 5% (w/v) ใช้เวลาในการแช่ปลา 30 นาที รมควันที่อุณหภูมิ 45°C ใช้เวลาในการรมควัน 2 ชม. นำผลิตภัณฑ์ปลากะพงรมควันที่ผลิตได้มาวิเคราะห์คุณภาพของปลากะพงรมควันทางด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา แสดงในตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 คุณภาพของปลากะพงรมควันทางด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา

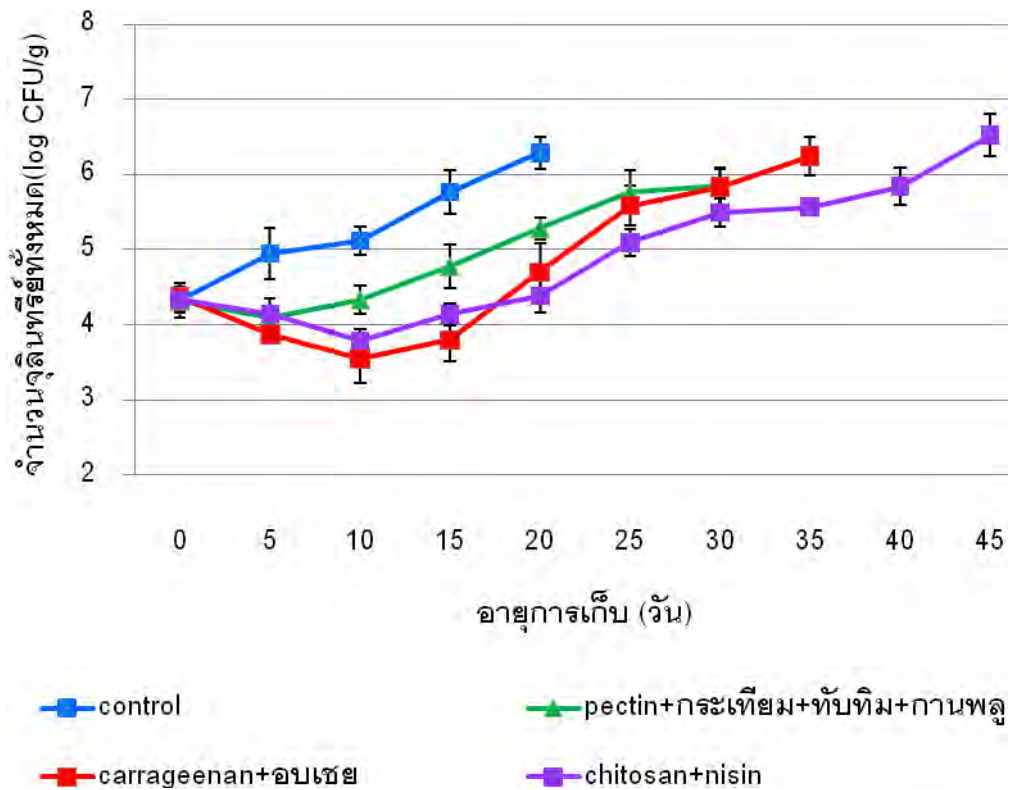
คุณภาพ	ปริมาณ	มาตรฐาน กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2553)
คุณภาพทางเคมี		
ความชื้น (ร้อยละ)	71.48±1.48	
โปรตีน (ร้อยละ)	18.9±0.28	
ไขมัน (ร้อยละ)	2.31±0.48	
เถ้า (ร้อยละ)	2.78±0.55	
คาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ)	4.53±0.21	
ปริมาณเกลือ (g/100g)	2.98±0.04	
คุณภาพทางกายภาพ		
a_w	0.957±0.07	
L^*	46.87±0.12	
a^*	6.04±2.54	
b^*	13.17±3.18	
คุณภาพทางจุลชีววิทยา		
จุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนี/กรัม)	3.5×10^3	$< 1 \times 10^6$
<i>Listeria</i> spp. (โคโลนี/กรัม)	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>S. aureus</i> (โคโลนี/กรัม)	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>Salmonella</i> spp. (โคโลนี/กรัม)	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>E.coli</i> (MPN/กรัม)	ไม่พบ	น้อยกว่า 3
ยีสต์และรา	< 30 CFU/g	

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2553) ได้กำหนดมาตรฐานคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารที่ผ่านกรรมวิธีแปรรูปไว้ ดังนี้ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด น้อยกว่า 1×10^6 โคโลนี/กรัม จำนวน *E.coli* น้อยกว่า 3 MPN/กรัม ไม่พบ *S. aureus* *Salmonella* spp. และ *Listeria* spp. พบว่าคุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างปลากะพงรมควันเย็นอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่ทางกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนด

4.5 การศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มบิโกลด์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ปลากระป๋องรมควันเย็นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

เมื่อแปรรูปปลากระป๋องรมควันตามสูตรที่เลือกได้จากข้อ 4.3 โดยนำปลากระป๋องขาว น้ำหนักตัว 500-600 กรัม ล้างให้สะอาด ขอดเกล็ด ตัดแต่ง และแลชิ้นเนื้อ (fillet) จากนั้นเนื้อปลากระป๋องแช่ในน้ำตะไคร้ที่เติมเกลือ ความเข้มข้นของเกลือ 5% (w/v) ใช้เวลาในการแช่ปลา 30 นาที รมควันที่อุณหภูมิ 45°C ใช้เวลาในการรมควัน 2 ชม. แล้วนำฟิล์มผสมสารต้านจุลินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ ฟิล์มคาราจีแนนเติมน้ำมันหอมระเหยจากอบเชย (ดัดแปลงจาก วิภาวีร์ ธาระเชษฐ์, 2551) ฟิล์มเพกตินที่ตรึง liposome ของสารต้านจุลินทรีย์จากสมุนไพร ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม กานพลู และสารสกัดจากทับทิมด้วยเอธานอล (ดัดแปลงจาก อรชร เมฆเกิดชู, 2552) และฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน (ดัดแปลงจาก Mu *et al.*, 2008b) มาห่อขึ้นปลากระป๋องรมควัน (น้ำหนักประมาณ 150 กรัม/ชิ้น) ทั้งด้านบนและด้านล่าง โดยใช้ตัวอย่างปลากระป๋องรมควันที่ไม่ห่อฟิล์มบิโกลด์เป็นตัวอย่างควบคุม บรรจุในถุงพลาสติก LDPE ปิดผนึกแบบธรรมดาและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C และศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มทั้ง 3 ชนิดในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ปลากระป๋องรมควันเย็นได้นานที่สุด โดยสุ่มตัวอย่างปลากระป๋องรมควัน ทุก 5 วัน ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส จนกว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงกว่ามาตรฐาน คือ 6 log CFU/g (กรมวิทยาศาสตร์ การแพทย์, 2553) หรือผู้บริโภคไม่ยอมรับโดยพิจารณาจากคะแนนการยอมรับรวมต่ำกว่า 6 จะถือว่าผลิตภัณฑ์สิ้นสุดอายุการเก็บรักษา

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของปลากระป๋องรมควันควบคุม (ไม่ได้หุ้มด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์) และปลากระป๋องรมควันหุ้มฟิล์มในระหว่างการเก็บรักษา แสดงในรูปที่ 4.8 พบว่า ปลากระป๋องรมควันควบคุม มีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น 4.33 log CFU/g เป็น 5.77 log CFU/g ในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา และมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินกว่ามาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2553) คือ 6 log CFU/g ในวันที่ 20 โดยมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 6.29 log CFU/g จึงถือว่าปลากระป๋องรมควันที่ไม่ได้หุ้มด้วยฟิล์มต้านจุลินทรีย์ บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาเก็บรักษา 4°C มีอายุการเก็บได้นาน 15 วัน



รูปที่ 4.8 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total bacteria count) ในปลากะพงรมควันควบคุมและปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มเสริมสารต้านจุลินทรีย์ บรรจุลง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C

ฟิล์มไคโตซานผสมไนซินสามารถยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ได้นานที่สุด คือ 40 วันโดยมีคะแนนการยอมรับรวมของผลิตภัณฑ์ไม่ต่ำกว่า 6 ตลอดอายุการเก็บรักษา (ดังตารางที่ 4.13) โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในปลากะพงรมควันที่หุ้มด้วยฟิล์มดังกล่าว มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 5.84 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 40) และพบว่าหลังจากเก็บรักษาตั้งแต่วันที่แรกจนถึงวันที่ 10 ฟิล์มดังกล่าวสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ประมาณ 0.62 log CFU/g และช่วยชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ กล่าวคือ หลังจากการเก็บวันที่ 10 พบว่า จุลินทรีย์มีแนวโน้มค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hudaa และคณะ (2008) ที่ศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้ฟิล์มไคโตซานผสมไนซินในผลิตภัณฑ์ปลาแซลมอนรมควัน พบว่า ฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน 2,000 IU/cm² สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีและสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ประมาณ 2.4 log CFU/g เมื่อสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา 60 วัน โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่หุ้มฟิล์ม เก็บรักษาที่ 4°C ในถุง LDPE ปิดผนึกแบบสุญญากาศ

ตารางที่ 4.13 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของปลากระพงรมควันห่อด้วยฟิล์ม
ไคโตซานผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษา 4°C

อายุการเก็บ (วัน)	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
0	7.30±0.52 ^a	7.25±0.26 ^a	7.34±0.45 ^a	7.34±0.28 ^a	7.29±0.59 ^a	7.22±0.24 ^a
5	7.29±0.48 ^a	7.26±0.32 ^a	7.35±0.26 ^a	7.31±0.31 ^a	7.28±0.28 ^a	7.21±0.35 ^a
10	7.19±0.48 ^b	7.25±0.38 ^a	7.22±0.20 ^{ab}	7.25±0.26 ^{ab}	7.24±0.34 ^a	7.18±0.42 ^a
15	7.18±0.15 ^b	7.18±0.39 ^b	7.18±0.32 ^b	7.24±0.51 ^{ab}	7.18±0.25 ^{ab}	7.15±0.19 ^{ab}
20	7.16±0.65 ^{bc}	7.17±0.29 ^b	7.17±0.45 ^b	7.22±0.28 ^{ab}	7.15±0.21 ^{ab}	7.11±0.35 ^{ab}
25	7.10±0.50 ^c	7.14±0.52 ^b	7.16±0.26 ^b	7.19±0.43 ^{ab}	7.10±0.19 ^{bc}	7.01±0.25 ^b
30	7.15±0.49 ^{bc}	7.15±0.26 ^b	7.18±0.33 ^b	7.20±0.41 ^{ab}	7.14±0.43 ^{ab}	7.08±0.28 ^{ab}
35	7.09±0.52 ^c	7.14±0.26 ^b	7.14±0.13 ^b	7.18±0.45 ^{ab}	7.00±0.11 ^c	6.95±0.29 ^b
40	7.05±0.42 ^c	7.10±0.34 ^c	7.15±0.25 ^b	7.12±0.33 ^b	6.97±0.20 ^c	6.88±0.30 ^c

a, ..., c ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.14 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของปลากระพงรมควันห่อด้วยฟิล์ม
คาราจีแนนเติมสารสกัดจากอบเชย บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาใน
ระหว่างการเก็บรักษา 4°C

อายุการเก็บ (วัน)	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
0	7.24±0.52 ^a	7.25±0.25 ^a	7.16±0.19 ^a	7.33±0.35 ^a	7.25±0.44 ^a	7.21±0.24 ^a
5	7.21±0.64 ^a	7.24±0.26 ^a	7.16±0.25 ^a	7.31±0.19 ^a	7.24±0.28 ^a	7.20±0.43 ^a
10	7.19±0.50 ^a	7.22±0.35 ^a	7.15±0.31 ^a	7.30±0.24 ^a	7.22±0.35 ^a	7.18±0.35 ^a
15	7.15±0.51 ^{ab}	7.13±0.45 ^b	7.13±0.29 ^a	7.31±0.29 ^a	7.23±0.34 ^a	7.16±0.26 ^{ab}
20	7.12±0.56 ^{ab}	7.20±0.32 ^{ab}	7.11±0.27 ^{ab}	7.28±0.35 ^{ab}	7.18±0.50 ^b	7.14±0.29 ^b
25	7.11±0.42 ^{ab}	7.18±0.15 ^{ab}	7.10±0.41 ^{ab}	7.27±0.29 ^{ab}	7.17±0.42 ^b	7.13±0.37 ^b
30	7.08±0.61 ^b	7.15±0.22 ^{ab}	7.08±0.26 ^b	7.20±0.46 ^c	7.17±0.38 ^b	7.13±0.33 ^b

a, ..., c ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

สำหรับฟิล์มคาราจีแนนเติมน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยนั้น สามารถยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ได้นาน 30 วัน โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 6 log CFU/g และมีคะแนนการยอมรับรวมของผลิตภัณฑ์ไม่ต่ำกว่า 6 ตลอดอายุการเก็บรักษา (ดังตารางที่ 4.14) โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในปลากะพงรมควันที่หุ้มด้วยฟิล์มดังกล่าว มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 5.84 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 30) และสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ประมาณ 0.83 log CFU/g เช่นเดียวกับงานวิจัยของวิภาวีร์ ธาระเชษฐ์ (2551) ที่ศึกษาผลการนำสารเคลือบบริเวณผสมสารสกัดจากพืชสมุนไพร พบว่า คาราจีแนนร้อยละ 2.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ผสมสารสกัดจากอบเชยนำมาเคลือบตัวอย่างปลาสดเค็มสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน 28 วัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น (4°C) ในถุงโพลีโพรพิลีนที่พับปากถุง

ในขณะที่ปลากะพงรมควันที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มเพกตินเติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม กานพลูและสารสกัดจากทับทิมด้วยเอทานอล ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 5.76 log CFU/g ในวันที่ 25 ของการเก็บรักษาซึ่งไม่เกินมาตรฐานที่กำหนดก็ตาม แต่เนื่องจากตัวอย่างที่ห่อหุ้มด้วยฟิล์มดังกล่าว มีคะแนนความชอบรวม 5.79 (ตารางที่ 4.15) ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์คะแนนการยอมรับรวมของผลิตภัณฑ์ที่กำหนด โดยผู้บริโภคไม่ยอมรับกลิ่นของน้ำมันกระเทียมที่ใช้ผสมลงในฟิล์มเพกติน เนื่องจากน้ำมันกระเทียมนั้นมีกลิ่นแรงและทำให้ตัวอย่างปลามีกลิ่นไม่พึงประสงค์ และบดบังกลิ่นรมควันของผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 4.15 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของปลากะพงรมควันห่อด้วยฟิล์ม

เพกตินเติมสารต้านจุลินทรีย์จากสมุนไพรได้แก่ น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม กานพลูและสารสกัดจากทับทิมด้วยเอทานอลบรรจุถุง LDPE แบบธรรมดา ในระหว่างการเก็บรักษา 4°C

อายุการเก็บ (วัน)	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
0	7.15±0.20 ^a	7.30±0.45 ^a	6.84±0.28 ^a	6.80±0.25 ^a	7.10±0.48 ^a	6.94±0.26 ^a
5	7.16±0.35 ^a	7.28±0.15 ^a	6.75±0.26 ^a	6.78±0.26 ^a	6.95±0.28 ^a	6.85±0.59 ^{ab}
10	7.01±0.35 ^{ab}	7.20±0.16 ^{ab}	6.41±0.24 ^b	6.61±0.32 ^{ab}	6.94±0.28 ^a	6.45±0.52 ^b
15	6.78±0.41 ^b	7.16±0.45 ^{ab}	6.28±0.11 ^{bc}	6.35±0.23 ^b	6.91±0.40 ^a	6.29±0.58 ^b
20	6.74±0.32 ^b	7.00±0.42 ^c	5.75±0.36 ^c	5.90±0.33 ^{bc}	6.83±0.22 ^{ab}	6.11±0.51 ^{bc}
25	6.75±0.29 ^b	7.00±0.19 ^c	5.65±0.34 ^c	5.78±0.29 ^c	6.74±0.19 ^{ab}	5.79±0.31 ^c

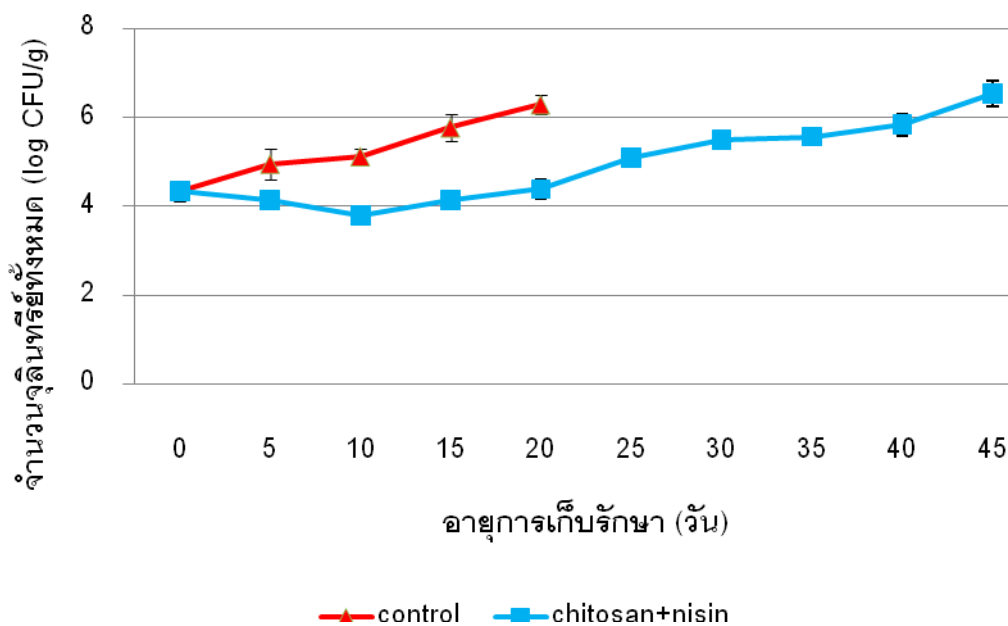
a, ..., c ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า พิล์มไคโตซานผสมไนซินสามารถยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ได้นานที่สุด รองลงมาคือ พิล์มคาราจีแนนเติมสารสกัดจากอบเชยและฟิล์มเพกตินเติม น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม กานพลูและสารสกัดจากทับทิมด้วยเอธานอลตามลำดับ เนื่องจากไคโตซานนอกจากจะเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติในการขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้แล้ว ตัวไคโตซานเองยังมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและราได้ เนื่องจากไคโตซานเป็นพวกพอลิแคทไอออนิก (polycationic) บนโมเลกุลของไคโตซาน ซึ่งประจุบวกจะเข้าทำปฏิกิริยากับ phosphoryl group (ที่มีประจุลบ) ของ phospholipid components ในเซลล์เมมเบรนของเชื้อจุลินทรีย์ แล้วทำให้เกิดการรั่วของสารสำคัญภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ (Li *et al.*, 2006) และในเชื้อรา ไคโตซานจะเข้าทำปฏิกิริยากับ capsular polysaccharide ทำให้การทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนแปลงจากการทำปฏิกิริยากับประจุลบที่ผิวเซลล์จึงมีผลต่อการผ่านเข้าออกของสาร รบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึมจึงมีผลทำให้เซลล์ตาย (Davidson and Zivanovic, 2003; Durango *et al.*, 2005) ในขณะที่ไนซินจัดเป็นแบคทีริโอซินที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และได้รับการรับรอง GRAS (general reconized as safe) จากสหรัฐอเมริกาในการนำไปใช้ในอาหาร ปัจจุบันสามารถผลิตไนซินโดยวิธีสังเคราะห์ได้ ไนซินทำหน้าที่ต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Clostridium*, *Lactococcus*, *Listeria*, *Staphylococcus* และ *Streptococcus* เป็นต้น กลไกการทำงานของไนซินจะเข้าทำปฏิกิริยากับผนังเซลล์หรือเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้ความสามารถในการยอมให้สารต่างๆ แทรกซึมผ่านผนังเซลล์เปลี่ยนแปลง เป็นผลให้การเจริญของจุลินทรีย์หยุดชะงัก นอกจากนี้ไนซินยังซึมผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์และจะทำให้ไซโทพลาซึมแตกตะกอน และยังทำลายไขมันที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ฉีกขาด ทำให้ส่วนประกอบต่างๆ เช่น โซเดียมหรือโพแทสเซียมรั่วไหลออกจากเซลล์ทำให้จุลินทรีย์ตายได้ (Ouattara *et al.*, 2000) เมื่อพิจารณาจากคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของทั้งไนซินและไคโตซานแล้ว เมื่อนำสารทั้งสองมาผลิตเป็นฟิล์มสำหรับเคลือบหรือห่อหุ้มอาหาร จึงทำให้ฟิล์มหรือสารเคลือบที่ผลิตได้มีคุณสมบัติในการยับยั้งหรือชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี ตัวอย่างงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน เช่น ปลาแชลมอดรมควันเย็น (Hudaa *et al.*, 2008; Mu *et al.*, 2008a) แฮม สเต็ก (Mu *et al.*, 2008b) เป็นต้น

4.6 การศึกษาอายุการเก็บรักษาของปลากะพงรมควันเย็นด้วยขานอ้อยที่มีการใช้ฟิล์มด้านจุลินทรีย์

นำฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน (จากข้อ 4.3) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นานที่สุด มาห่อชิ้นปลา (น้ำหนักประมาณ 150 กรัม/ชิ้น) ทั้ง

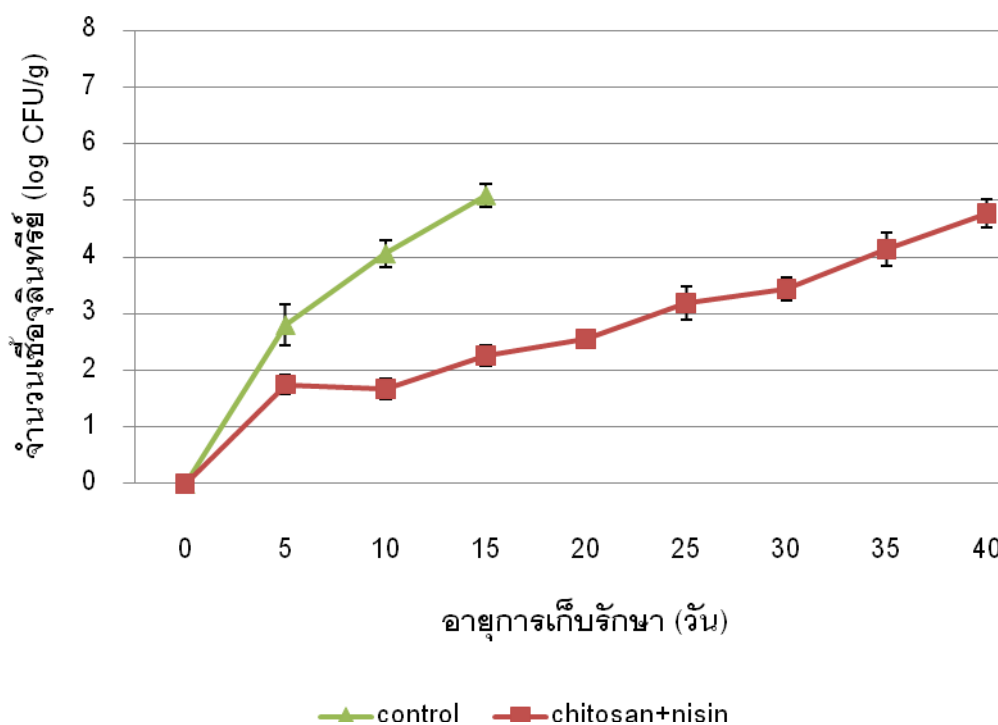
ด้านบนและด้านล่าง โดยใช้ตัวอย่างปลากะพงรมควันที่ไม่ห่อฟิล์มบริโภคเป็นตัวอย่างควบคุม จากนั้นนำไปบรรจุในถุงพลาสติก LDPE ปิดผนึกแบบธรรมดา เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C สุ่มตัวอย่างปลากะพงรมควัน ทุก 5 วัน มาวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวน Lactic acid bacteria จำนวนจุลินทรีย์ *Listeria* spp. และ *Staphylococcus aureus* และจำนวน *Clostridium perfringens*



รูปที่ 4.9 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total bacteria count) ในปลากะพงรมควันควบคุม และปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C

จากรูปที่ 4.9 ฟิล์มไคโตซานผสมไนซินสามารถยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ได้นานถึง 40 วัน โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในปลากะพงรมควันที่หุ้มด้วยฟิล์มดังกล่าว มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 5.84 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 40) และพบว่าหลังจากเก็บรักษาตั้งแต่วันที่แรกจนถึงวันที่ 10 ฟิล์มดังกล่าวสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ประมาณ 0.62 log CFU/g และช่วยชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ กล่าวคือ หลังจากการเก็บวันที่ 10 พบว่า จุลินทรีย์มีแนวโน้มค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยงานวิจัยของ Huda et al. (2008b) ศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้ฟิล์มไคโตซานผสมไนซินในผลิตภัณฑ์แฮมสเต็ก พบว่า ตัวอย่างแฮมสเต็กที่ไม่ได้หุ้มด้วยฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน (ตัวอย่างควบคุม) มีจำนวนจุลินทรีย์เจริญอย่างต่อเนื่อง

โดยมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด $> 7 \log \text{CFU/g}$ หลังจากเก็บรักษานาน 28 วันในถุง LDPE แบบสุญญากาศ ที่ 4°C ในขณะที่ฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน 500 IU/cm^2 และ $2,000 \text{ IU/cm}^2$ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์และยืดอายุการเก็บรักษาแฮมสเต็ก ได้นานถึง 49 และ 56 วันตามลำดับ

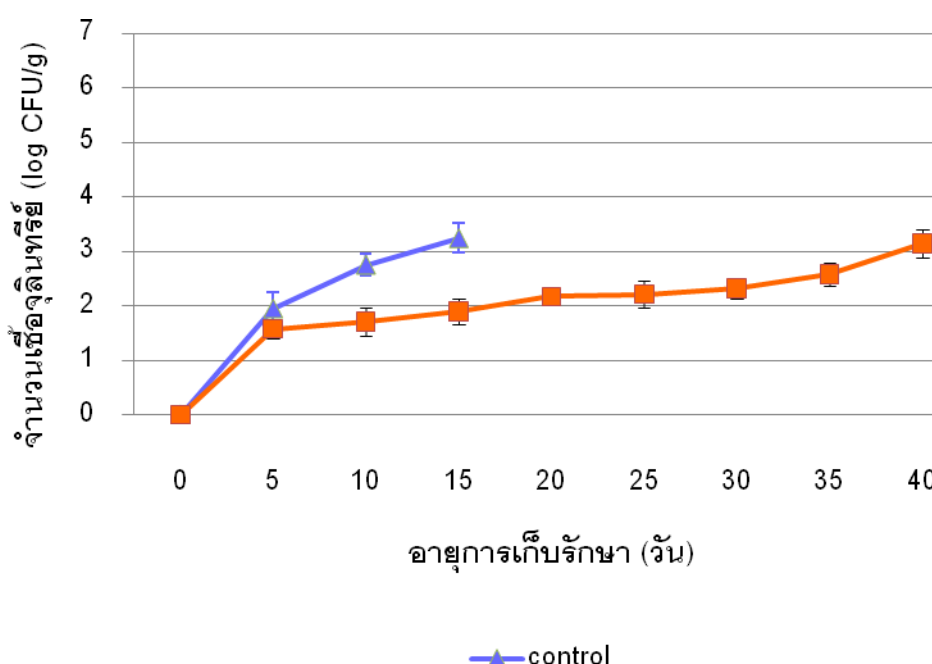


รูปที่ 4.10 จำนวนจุลินทรีย์ *Listeria* spp. ในปลากะพงรมควันควบคุมและปลากะพง

รมควันหุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C

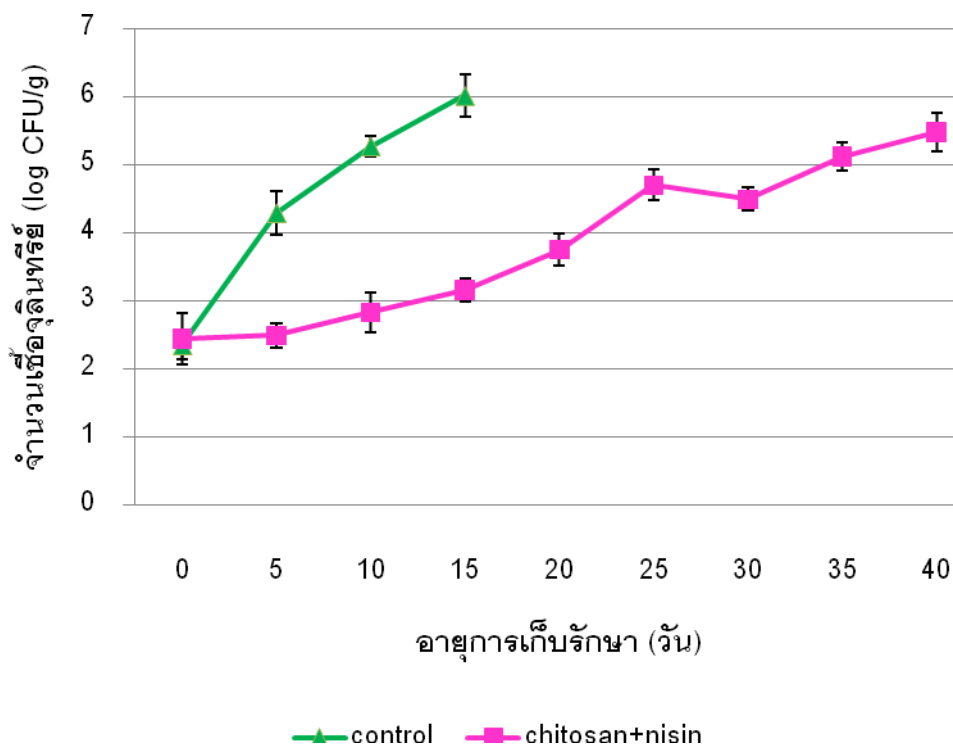
จากการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ *Listeria* spp. ในตัวอย่างควบคุมและปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C (รูปที่ 4.10) พบว่าตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แปรรูปได้ ไม่พบ *Listeria* spp. ในตัวอย่างเริ่มต้นก่อนการเก็บรักษา โดยตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้หุ้มฟิล์มนั้น *Listeria* spp. มีการเจริญอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งสิ้นอายุการเก็บรักษาในวันที่ 15 และมีจำนวน *Listeria* spp. สูงถึง $5.09 \log \text{CFU/g}$ ในขณะที่ตัวอย่างที่หุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน พบว่า *Listeria* spp. มีการเจริญอย่างช้าๆ จนกระทั่งสิ้นอายุการเก็บรักษาในวันที่ 40 และมีจำนวน *Listeria* spp. $4.77 \log \text{CFU/g}$ จากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่าฟิล์มไคโตซานผสมไนซินมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ

เชื้อ *Listeria* spp. ได้ดี เช่นเดียวกับการทดลองของ Hudaa *et al.* (2008a) ศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* โดยใช้ฟิล์มไคโตซานผสมไนซินในผลิตภัณฑ์ปลาแซลมอนรมควันที่มีการเติม *L. monocytogenes* (inoculation) ที่ 5×10^5 CFU/cm² เก็บรักษาที่ 4°C พบว่าฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน 2,000 IU/cm² สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อดังกล่าวได้ดี สามารถลดจำนวน *L. monocytogenes* ลงได้ถึง 2.4 log CFU/g และยืดอายุการเก็บตัวอย่างได้นานถึง 60 วัน ส่วนตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่ได้หุ้มด้วยฟิล์มไคโตซานผสมไนซินที่มีการเติม *L. monocytogenes* (inoculation) ที่ 5×10^5 CFU/cm² นั้นพบว่าเชื้อจุลินทรีย์เจริญอย่างรวดเร็ว โดยมีจำนวน > 7 log CFU/g หลังจากเก็บรักษานานเพียง 6 วัน



รูปที่ 4.11 จำนวนจุลินทรีย์ *S. aureus* ในปลากะพงรมควันควบคุมและปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บที่ 4°C

เมื่อนำตัวอย่างควบคุมและปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน มาวิเคราะห์จำนวน *S. aureus* (รูปที่ 4.11) พบว่า ตัวอย่างที่หุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซินนั้น มีการเจริญของ *S. aureus* อย่างช้าๆ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้หุ้มฟิล์ม จึงแสดงให้เห็นว่าฟิล์มไคโตซานผสมไนซินสามารถชะลอการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ อีกประการหนึ่ง คือ *S. aureus* จะเติบโตได้น้อยลง เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ



รูปที่ 4.12 จำนวนจุลินทรีย์ lactic acid bacteria ในปลากะพงรมควันควบคุมและปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C

รูปที่ 4.12 แสดงจำนวน lactic acid bacteria ในตัวอย่างควบคุมและปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C พบว่าตัวอย่างควบคุมมีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจาก 2.34 เป็น 6.02 CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ในขณะที่ปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซินมีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจาก 2.44 เป็น 5.48 CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (40 วัน) จากผลการทดลองข้างต้นจึงเห็นได้ว่าฟิล์มไคโตซานผสมไนซินมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ lactic acid bacteria ได้ดี เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Hudaa *et al.* (2008a) ที่ศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้ฟิล์มไคโตซานผสมไนซินในผลิตภัณฑ์ปลาแซลมอนรมควัน พบว่า ตัวอย่างปลาแซลมอนรมควันเย็นที่ไม่ได้หุ้มด้วยฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน (ตัวอย่างควบคุม) มีจำนวนจุลินทรีย์ > 7 log CFU/cm² หลังจากเก็บรักษานาน 28 วัน ในขณะที่ฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน 500 IU/cm² และ 2,000 IU/cm² สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์และยืดอายุการเก็บรักษาปลาแซลมอนรมควันได้นานถึง 56 วัน

สำหรับ lactic acid bacteria เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่พบโดยทั่วไปในสิ่งมีชีวิต (normal flora) เช่น มนุษย์และสัตว์ จึงเห็นได้ว่าเมื่อเริ่มต้นการเก็บรักษาได้ตรวจพบ lactic acid bacteria เริ่มต้นประมาณ 2 log CFU/g

เมื่อนำตัวอย่างควบคุมและปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน มาวิเคราะห์จำนวน *Clostridium perfringens* พบว่า ตัวอย่างปลากะพงรมควันที่แปรรูปได้ ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว ในตัวอย่างเริ่มต้นก่อนการเก็บรักษา และยังพบว่าทั้งในตัวอย่างที่หุ้มและไม่หุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซินนั้น ไม่มี *Clostridium perfringens* ตลอดอายุการเก็บรักษาของตัวอย่างอีกด้วย เนื่องจาก *Clostridium perfringens* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เติบโตได้ดีในที่ที่ไม่มีอากาศ ในขณะที่บรรจุภัณฑ์ที่ใช้ในการเก็บรักษาตัวอย่างนั้น เป็นการบรรจุแบบปิดผนึกในสภาวะบรรยากาศปกติ จึงมีอากาศอยู่ภายใน ไม่เหมาะแก่การเจริญของจุลินทรีย์ดังกล่าว นอกจากนี้ ตัวอย่างปลากะพงรมควันเย็นนั้นยังนำไปแช่น้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 5 ซึ่งที่ความเข้มข้นเกลือดังกล่าว ไม่เหมาะกับการเจริญของ *Clostridium perfringens*

จากผลการทดลองข้างต้น แสดงให้เห็นว่า ฟิล์มไคโตซานผสมไนซินสามารถยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ได้นานถึง 40 วันและมีคะแนนการยอมรับรวมของผลิตภัณฑ์ไม่ต่ำกว่า 6 ตลอดอายุการเก็บรักษา นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาถึงค่าใช้จ่ายในการผลิตฟิล์มแต่ละชนิดแล้ว พบว่า ฟิล์มไคโตซานมีต้นทุนการผลิตต่ำที่สุด เนื่องจากในปัจจุบัน โรงงานหลายแห่งในประเทศไทย สามารถผลิตไคโตซานจากสัตว์จำพวก ปู กุ้ง ได้เอง ราคาขายต่อกิโลกรัมจึงค่อนข้างต่ำ (ประมาณ 400-500 บาท/กก.) นอกจากนี้ไคโตซานที่ผลิตได้ในรูปผงจึงสะดวกในการใช้งานและมีคุณภาพที่ดี สามารถนำมาขึ้นรูปฟิล์มได้ง่าย ในขณะที่คาราจีแนนและเพกติน มีการผลิตใช้เองในประเทศค่อนข้างน้อย ทำให้ราคาขายสูง คือ ประมาณ 800-1000 บาท/กก. ส่วนราคาน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ นั้นก็มีราคาสูงเช่นกัน กล่าวคือ น้ำมันกระเทียม ราคาประมาณ 5,000 บาท/กก. น้ำมันกานพลู 5,000-8,000 บาท/กก. และสารสกัดจากทับทิมและผงอบเชยด้วยเอธานอลนั้น มีวิธีการสกัดที่ซับซ้อนและต้องใช้เครื่องกลั่นในการสกัด จึงไม่เหมาะในการนำมาใช้ในระดับอุตสาหกรรมในครัวเรือนหรือขนาดย่อม อย่างไรก็ตาม แม้ว่าไนซินมีราคาสูง (1,800 บาท/100 กรัม) แต่เนื่องจากอยู่ในรูปผงจึงมีวิธีการใช้ที่ไม่ยุ่งยาก ประกอบกับปริมาณการใช้ที่น้อยและมีความคงตัวค่อนข้างมาก ดังนั้น การนำฟิล์มไคโตซานผสมไนซินไปใช้กับผลิตภัณฑ์ปลากะพงรมควันเย็นจึงเป็นแนวทางที่ดีที่ควรศึกษาและพัฒนาต่อไปและนำไปประยุกต์ใช้กับอาหารได้หลากหลายชนิดมากยิ่งขึ้น

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาสภาวะในการรวมควันเย็นปลากะพง โดยแปรความเข้มข้นของเกลือ (5, 10, 15% w/v) อุณหภูมิในการรวมควัน (35, 40, 45 °C) และเวลาในการรวมควัน (2, 2.5, 3 ชม.) นำเนื้อปลากะพงแช่ในน้ำตะไคร้ที่เติมเกลือ โดยแปรความเข้มข้นของเกลือ ที่ 5, 10 และ 15% (w/v) ใช้เวลาในการแช่ปลา 30 นาที วิเคราะห์คุณภาพของปลากะพง ได้แก่ a_w ความชื้น ค่าสี (L^* , a^* และ b^*) และลักษณะเนื้อสัมผัส (hardness) พบว่าอุณหภูมิและเวลาเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อค่าความชื้น ค่า a_w เนื้อสัมผัส และค่าสี (L^* , a^* และ b^*) โดยเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการรวมควันและเวลาในการรวมควันนานขึ้น ตัวอย่างปลาที่ได้มีความชื้นลดลง เนื้อสัมผัสแข็งขึ้น ค่า L^* และ a^* ของตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ค่า b^* ของตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตัวอย่างปลารวมควันมีสีเข้มขึ้น จากนั้นนำตัวอย่างสุตรปลากะพงรวมควันทั้งหมดมาเปรียบเทียบกัน โดยใช้ปริมาณความชื้นประมาณ 75% (w.b.) เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือก พบว่าผู้บริโภคให้คะแนนการยอมรับในผลิตภัณฑ์ปลากะพงรวมควันเย็นที่ผลิตจากเนื้อปลากะพงขาวแช่ในน้ำตะไคร้ที่เติมเกลือ ความเข้มข้นของเกลือ 5% (w/v) ใช้เวลาในการแช่ปลา 30 นาที รวมควันที่อุณหภูมิ 45°C ใช้เวลารวมควัน 2 ชม. มากที่สุด จึงเลือกสภาวะดังกล่าวเพื่อแปรรูปปลากะพงรวมควันและเมื่อนำฟิล์มต้านจุลินทรีย์ 3 ชนิด ไปใช้ร่วมกับผลิตภัณฑ์โดยนำฟิล์มหุ้มขึ้นปลากะพงบรรจุในถุง LDPE ปิดผนึกแบบธรรมดา เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C พบว่า ฟิล์มโคโตซานผสมไนซินมีประสิทธิภาพในการยืดอายุของผลิตภัณฑ์ได้นานที่สุด 40 วัน ในขณะที่ฟิล์มคาราจีแนนที่ใส่สารสกัดจากอบเชยและฟิล์มเพกตินผสมไลโปโซมของน้ำมันกานพลู น้ำมันกระเทียมและสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอทานอล สามารถยืดอายุของผลิตภัณฑ์ได้นาน 30 และ 25 วันตามลำดับ ในขั้นตอนต่อไปจึงเลือกฟิล์มโคโตซานผสมไนซินมาใช้กับปลากะพงรวมควันเย็นมาศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยนำฟิล์มหุ้มขึ้นปลากะพง บรรจุในถุง LDPE ปิดผนึกแบบธรรมดา เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C พบว่าฟิล์มสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ total plate count, Lactic acid bacteria, *Listeria* spp. and *Staphylococcus aureus* ได้ตลอดอายุการเก็บรักษา 40 วัน

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. จากการการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการรวมควันเย็นของปลากะพงด้วยชานอ้อยพบว่า ผลิตภัณฑ์ปลากะพงรวมควันเย็นที่ผลิตได้ ได้รับคะแนนการยอมรับในระดับปานกลางถึงชอบมาก จึงควรพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้ได้รับการยอมรับมากขึ้น เช่น การพัฒนารูปแบบบรรจุภัณฑ์ให้สวยงามเป็นที่ดึงดูดใจผู้บริโภคมากขึ้น
2. จากการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค พบว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่มีความสนใจในผลิตภัณฑ์ปลากะพงรวมควันเย็น จึงควรส่งเสริมให้ผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป
3. การศึกษาประสิทธิภาพในการยืดอายุการเก็บรักษาของปลากะพงรวมควันเย็นด้วยชานอ้อยที่มีการใช้ฟิล์มต้านจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C พบว่าฟิล์มไคโตซานผสมในซินสามารถยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ได้ 40 วัน ซึ่งอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นั้นยังไม่ยาวนานเท่าที่ควร ในขณะที่ปลาแชลมนรวมควันที่จำหน่ายในท้องตลาดซึ่งส่วนใหญ่มีอายุการเก็บรักษาประมาณ 30 วัน เมื่อเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์แบบสุญญากาศ ดังนั้นหากใช้การบรรจุแบบสุญญากาศร่วมกับการใช้ฟิล์มห่อหุ้มปลากะพงรวมควันเย็นน่าจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้นานยิ่งขึ้น

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- ชยันต์ พิเชียรสุนทร และ วิเชียร จีรวงศ์. 2545. คู่มือเกษตรกรรมแผนไทย เล่ม 2 เครื่องยา และพฤกษวัตถุ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อมรินทร์.
- ณรงค์วิทย์ นิยมวิทย์. 2538. องค์ประกอบและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของอาหาร. กรุงเทพฯ : ฟอรัมเพรินติ้ง.
- นงนุช รักสกุลไทย. 2538. กรรมวิธีการแปรรูปสัตว์น้ำ. ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2539. จุดชีววิทยาทั่วไป. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นเรศ กิจจาพัฒน์พันธ์. สินค้าปลากะพงและผลิตภัณฑ์. [ออนไลน์]. 2553. แหล่งที่มา: http://www.fishco.fisheries.go.th/fisheconomic/fish_News79.html
[2552, 23 ตุลาคม]
- นิตยา รัตนานนท์. 2549. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์.
- ประทีพย์ เกียรติกังวลไกล. การพัฒนากระบวนการผลิตและอายุการเก็บรักษาปลาสดรวมควัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2532.
- ปนัดดา พวงเกษม. การเตรียมฟิล์มไบโโกลด์จากแป้งมันสำปะหลังและแนวทางการใช้ประโยชน์. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2540.
- ปณิธี ทิพย์ธรรม. การพัฒนาฟิล์มต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีการเติมสารธรรมชาติเพื่อการบรรจุอาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2550.
- ปาริชาติ ธรรมนราทิพย์. การพัฒนาสารเคลือบและฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2550.
- ไพบุลย์ ธรรมรัตน์วาลิก. 2532. กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

- ภัทรทิพย์ รอดสำราญ. ฟิล์มไบโโคกได้จากเนื้อมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ เพื่อให้เคลือบผิวผลมะม่วงสดเพื่อตลาดส่งออก และมะม่วงตัดแต่งที่เก็บในบรรจุภัณฑ์ที่มีการตัดแปรรวยาภาค. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2548.
- ภาณุวัฒน์ ทรัพย์ปรง. การปรับปรุงคุณภาพและกรรมวิธีการผลิตปลาเนื้ออ่อนรมควันโดยใช้ชานอ้อย. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2537.
- มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2545. ผลิตภัณฑ์ประมงไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วรรณดา ตั้งเจริญชัย. 2534. ควีน สำหรับรมอาหาร. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- วันชัย พันธุ์ทวี. การคัดเลือกและศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างสารต้านจุลชีพจากสาหร่ายขนาดเล็ก. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546.
- วิทยาศาสตร์การแพทย์, กรม. เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาสำหรับอาหารทั่วไปที่ไม่มีใช้อาหารควบคุมเฉพาะ. [ออนไลน์]. 2553. แหล่งที่มา: <http://www.dmsc.moph.go.th/webroot/BQSF/File/VARITY/cheme/confict21.htm> [2553, 23 กรกฎาคม]
- วิภาวีร์ ธาระเชษฐ์. การพัฒนาสารเคลือบไบโโคกได้ต้านจุลินทรีย์ร่วมกับสารสกัดพืชสมุนไพร. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2551.
- ศิวาพร ศิวเวทช. 2546. วัตถุดิบอาหาร เล่ม 1. ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, นครปฐม.
- สถานีวิจัยประมงศรีราชา. การเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว. [ออนไลน์]. 2546. แหล่งที่มา: http://www.ku.ac.th/e-magazine/july46/agri/fish_kapong.html [2552, 23 ตุลาคม]
- สุพันธ์ แสนกล้า. ผลของเครื่องเทศบางชนิดต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาปลาตากแดดรมควัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2548.
- สุมาลี เหลืองสกุล. 2541. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. ชัยเจริญ. กรุงเทพฯ.
- สุรศักดิ์ วงศ์กิตติเวช. 2542. สารานุกรมปลาไทย. เอ็ม ชับพลาย, กรุงเทพฯ.

- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2549. มาตรฐานสินค้าปลากระพงขาว [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.acfs.go.th/datakm/standard/.html> [2552, 1 ตุลาคม]
- อรรถพร สัมปชัญญสถิตย์. การพัฒนาผลิตภัณฑ์หอยแครงรมควัน. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2549.
- อรรชร เมฆเกิดชู. ไลโปโซมเอนแคปซูลเส้นของสารต้านจุลินทรีย์ในฟิล์มเพกตินเพื่อยืดอายุการเก็บของเนื้อสัตว์ตากแห้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2552.

ภาษาอังกฤษ

- Adams, M. 2003. Nisin in multifactorial food preservation. In S. Roller, ed. Natural antimicrobials for the minimal processing of foods. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cambridge. pp. 11-26
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.
- AOCS. 1997. Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils. Official Methods Cd19-90 Reapproved.
- Arora, D. S. and Kaur, J. 1999. Antimicrobial activity of spices. International Journal of Antimicrobial Agents 12: 257-262
- Baldwin, E.A., Burns, J. K., Kazokas, W., Brecht, J. K., Hagenmaier, R. D., Bender, R. J. and Pesis, E. 1999. Effect of two edible coatings with different permeability characteristics on mango (*Mangifera indica* L.) ripening during storage. International Journal of Postharvest 17: 215-226.
- Banks, H., Nickelson, R. and Finne, G. 1980. Shelf-life studies on carbon dioxide packaged fish from the Gulf of Mexico. Journal of Food Science 45: 157-162
- Budavari, S., ÒNeil, M. J., A. Smith, Heckelman, P. E. and Kinneary, J.F. 1996. The Merck Index. 12 ed. Merck & Co., Inc., USA.
- Burt, J. R. 1988. Fish smoking and drying : the effect of smoking and drying on the nutritional properties of fish. London : Elsevier Applied Science.

- Butler, B. L., Vergano, P. J., Testin, R. F., Bunn, J. M. and Wiles, J. L. 1996. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. Journal of Food Science 61: 952-955.
- Caner, C., Vergano, P. J. and Wiles, J. L. 1998. Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer and storage. Journal of Food Science 63: 1049-1053.
- Cha, D. S., Choi, J. H., Chinnan, M. S. and Park, H. J. 2002. Antimicrobial films based on Na-alginate and K-carrageenan. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 35: 715–719.
- Cha, D. S., Cooksey, K. , Chinnan, M. S. and Park, H. J. 2003. Release of nisin from various heatpress and cast films. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 36: 209–213.
- Chien, P.J., Sheu, F. and Yang, F.H. 2007. Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. Journal of Food Engineering 78: 225–229.
- Davidson, P. M. and Zivanovic, S. 2003. The use of natural antimicrobials. In P. Zeuthen and L. Bøgh-Sørensen, eds. Food preservation techniques. Woodhead Publishing Limited, Cambridge. pp. 5-22
- Devlieghere, F., Vermeulen, A. and Debevere, J. 2004. Chitosan : Antimicrobial activity interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetable. Journal of Food Microbiology 21:703-714.
- Durango, A.M., Soares, N. F. F. and Andrade, N. J. 2005. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. Food Control 17: 336-341.
- Enderson, K. 1980. Home smoking and curing : How you can smokecure, salt and preserve fish, meat and game. London: Barrie and Jenkins.
- Gallart-Jornet L., Rustad T., Barat J.M., Fito P. & Escriche I. 2006. Effect of superchilled storage on the freshness and salting behavior of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. Food Chemistry. 103, 1268–1281.
- Gennadios, A. and Weller, C. L. 1990. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. Journal of Food Technology 44: 63-69

- Ghaouth, A. E., Arul, J. and Ponnampalam, R. 1991. Use of chitosan coating to reduce water loss and maintain quality of cucumber and bell pepper fruits. Journal of Food Processing 15: 359-368.
- Giese, J. 1992. Developing low-fat meat product. Journal of Food Technology 50: 100-108.
- Hall, G. M. 1992. Fish Processing Technology. Blackie Academic & Professional, New York.
- Han, J.H. 2000. Antimicrobial food packaging. Journal of Food Technology 54: 56–65.
- Hudaa, N., Mu, Y., Haiqiang, C., Rolf, D. J., Doris, T. H. and Dallas, G. H. 2008. Use of nisin-coated plastic films to control *Listeria monocytogenes* on vacuum-packaged cold- smoked salmon. Journal of Food Microbiology International 122: 8-15.
- Kester, J. J. and Fennema, O. R. 1986. Edible films and coatings: A review. Journal of Food Technology 40: 47-59.
- Kester, J. J. and Fennema, O. R. 1989. An edible film of lipids and cellulose ethers: Barrier properties to moisture vapor transmission and structural evaluation. Journal of Food Science 54: 1383–1389.
- Kilcast, D. and Subramaniam, P. 2000. Introduction. In D. Kilcast and P. Subramaniam, eds. The stability and shelf-life of food. Woodhead Publishing Limited, Cambridge. pp. 1-19.
- Lazridou, A. and Billiaderis, C.G. 2002. Thermophysical properties of chitosan-starch and chitosan-pullulan films near the glass transition. Carbohydrate Polymers 48: 179-190.
- Li, B., Kennedy, J. F., Peng, J. L., Yie, X. and Xie, B. J. 2006. Preparation and performance evaluation of glucomannan-chitosan-nisin ternary antimicrobial blend film. Carbohydrate Polymer 65: 488-494.
- Luck, E. and Jager M., 1997. Antimicrobial food additives: characteristics, uses, effect. Springer, Berlin.
- Marcos, B., Aymerich, T., Monfort, J. M. and Garriga, M. 2007. Use of antimicrobial biodegradable packaging to control *Listeria monocytogenes* during storage of cooked ham. Journal of Food Microbial 120: 152–158.

- Mate, J. I. and Krochta, J. M. 1996. Whey protein coating effect on the oxygen uptake of dry roasted peanuts. Journal of Food Science 61: 1202-1210.
- Min, S., Linda, J. H., Han, J. H. and Krochta, J. M. 2005. *Listeria monocytogenes* inhibition by whey protein films and coatings incorporating lysozyme. Journal of Food Protein 68: 2317-2325.
- Mu, Y., Hudaa, N. and Haiqiang, C. 2008a. Effectiveness of chitosan-coated plastic films incorporating antimicrobials in inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon. International Journal of Food Microbiology 127: 235–240.
- Mu, Y., Hudaa, N., Haiqiang, C. 2008b. Control of *Listeria monocytogenes* on ham steaks by antimicrobials incorporated into chitosan-coated plastic films. Food Microbiology 25: 260-268.
- No, H.K. and Meyers, S. P. 2004. Preparation of tofu using as a coagulant for improve shelf-life. Journal of Food Science and Technology 39: 133-141.
- Ouattara, B., Simard, R. E., Piette, G., Begin, A. and Holley, R. A. 2000. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. International Journal of Food Microbiology 62: 139-148.
- Paula, S., Nilida, F. F. S., Juliana, E. N., Marcus, A. W. J, Kiriaque, B. F. B., Ana, C. P. V., Evelyn, R. M. A. Z. and Nédio, J. W. 2009. Antimicrobial efficiency of film incorporated with pediocin (ALTA[®] 2351) on preservation of sliced ham. Food Control 20: 85-89.
- Peter, E. D. 1998. Fish drying & smoking : Production and quality. Technomic Publishing, Lancaster.
- Piggott, G. M. and Tucker, B. W. 1990. Seafood: Effect of technology on nutrition. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Richelle, L. B., Marlene, E. J., Witoon, P. and Hong, K. N. 2008. Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*. Food Microbiology 25 : 534-537.
- Rørå, A., Kvåle, A., Mørkøre, T., Rørvik, K.-A., Hallbjørn, S., Thomassen, S. and Steien, S. 1998. Process yield, colour and sensory quality of smoked Atlantic

- salmon (*Salmo salar*) in relation to raw material characteristics. Food Research International. 31, 601-609.
- Sanla-Ead, Dejsuk, N., Jangchud, A., Chonhenchob, V. and Suppakul, P. 2007. Growth of microorganisms in Vietnamese bologna wrapped with eugenol-incorporated cellulose ether coated LDPE film. S12 03 P. 87. Proceedings of the 10th ASEAN Food Conference. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Seydim, A. C. and Sarikus, G. 2006. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food Research International 39: 639-644.
- Shahidi, F. and Botta, J. R. 1994. Seafoods : Chemistry, processing technology and quality. London: Blackie Academic & Professional.
- Shearon, D. 1970. Sportsman's guide to handling, smoking, and preserving Great Lakes coho salmon. Washington : Bureau of Commercial Fisheries.
- Singh, R. P. and Anderson, B. A. 2004. The major types of food spoilage: An overview. In R. Steele, ed. Understanding and measuring the shelf-life of food. Woodhead Publishing Limited, Cambridge. pp. 3-23
- Soultos, N., Tzikas, Z., Abrahamia, A., Georgantelis, D. and Ambrosiadis, I. 2008. Chitosan effects on quality properties of Greek style fresh pork sausages. Meat Science 80: 1150-1156.
- Tharanathan, R. N. 2003. Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future. Trends in Food Science & Technology 14: 71-78.
- Torres, J. A., Bouzas, J. O. and Karel, M. 1985. Microbial stabilization of intermediate moisture food surface II. Control of surface pH. Journal of Food Processing and Preservation 9: 93-106.
- U. S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM). [Online]. 2011. Available from : <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm> [2011, 30 April]

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์

ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธี AOAC (1995)

อุปกรณ์

- ตู้อบลมร้อน (Mettler รุ่น W350, Germany)
- ถ้วยอะลูมิเนียม
- เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Denver Instrument รุ่น SI-234, Germany)
- โถดูดความชื้น (desiccator)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยอะลูมิเนียมซึ่งอบแห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอน

2. นำตัวอย่างเข้าอบแห้งในตู้อบโดยควบคุมอุณหภูมิ 130 ± 3 °C โดยเปิดฝาไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่

3. ปิดฝาภาชนะในขณะที่ยังอยู่ในตู้อบ แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนัก

4. คำนวณหาความชื้นจากสมการ

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}}$$

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ตามวิธี AOAC (1995)

อุปกรณ์

- Soxhlet (Gerhardt รุ่น HC61, Germany)
- เครื่อง evaporator (Eyela รุ่น SB-651, Japan)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งและทราบน้ำหนักแน่นอน 2 กรัม ห่อด้วยกระดาษ Whatman No.1 ใส่ใน thimble

2. ใส่ thimble ซึ่งมีตัวอย่างบรรจุอยู่ในขวดสกัดที่แห้งสนิทและทราบน้ำหนักแน่นอน

3. เติม petroleum ether ซึ่งใช้เป็นตัวสกัด 250 มิลลิลิตร ลงในขวดสกัด
4. สกัดไขมันเป็นเวลา 3 – 4 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของตัวทำละลายกลั่นจากคอนเดนเซอร์มีอัตรา 300 – 360 หยดต่อนาที
5. ระเหยส่วนของ Petroleum ether ออกจากส่วนไขมันที่สกัดได้ แล้วอบขวดสกัดที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 30 นาที หรือจนน้ำหนักคงที่
6. ทำให้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักขวดสกัด

$$\text{ไขมัน (\%)} = \frac{\text{ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)}}$$

ก. 3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ตามวิธี AOAC (1995)

อุปกรณ์

1. Buchi digestion unit (รุ่น K-424, Switzerland)
2. Buchi scrubber (รุ่น B-414, Switzerland)
3. เครื่องกลั่นหาปริมาณไนโตรเจน (VELP scientific รุ่น UDK 127, USA)
4. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Denver Instrument รุ่น SI-234, Germany)

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (A.R. grade)
2. สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก (A.R. grade) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์
3. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (A.R. grade) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์
4. สารละลายกรดบอริก (A.R. grade) ความเข้มข้น 4 % (w/v)
5. สารเร่งปฏิกิริยา (selenium reagent mixture) (A.R. grade)
6. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (A.R. grade) ความเข้มข้น 45% (w/v)
7. สารละลายอินดิเคเตอร์ เตรียมโดยการละลายเมธิลเรด 1 กรัม ในเมทานอล 100 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้มีน้ำหนักที่แน่นอน 0.25-1.00 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ใส่ลงใน Kjeldahl flask
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 5 กรัม และกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 20 มิลลิลิตร

3. ย่อยตัวอย่างด้วยเครื่อง Buchi Digestion Unit โดยใช้ความร้อนเบอร์ 8 แล้วปิด Kjeldahl flask ด้วยฝาแก้วที่ต่อเข้ากับเครื่องดูดไอน้ำ (scrubber) ย่อยตัวอย่างจนได้ของเหลวสีน้ำตาลใส และทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

4. เทสารละลายกรดบอริกปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร แล้วหยดสารละลายอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ต่อ Kjeldahl flask เข้ากับปลาย condenser ของเครื่องกลั่น (distillation unit)

5. นำ Kjeldahl flask ตัวอย่างที่ผ่านการย่อยต่อเข้ากับเครื่องกลั่น แล้วตั้งโปรแกรม distillation ดังนี้

น้ำกลั่น	20	มิลลิลิตร
NaOH	50	มิลลิลิตร
Time	8	นาที

6. นำสารละลายที่กลั่นได้ในฟลาสก์ทั้งหมดมาไทเทรตด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ จนถึงจุดยุติ (end point) ปรากฏสารละลายสีม่วงแดง

7. ทำ blank โดยเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร แทนตัวอย่าง ทำตามขั้นตอนที่ 2-6

8. คำนวณหาปริมาณโปรตีนตามสมการ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} = \frac{(V_a - V_b) \times N \times 1.4}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)}}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\%)} = \text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} \times 6.25$$

เมื่อ V_a คือ ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง

V_b คือ ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรต blank

N คือ ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

ก.4 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า ตามวิธี AOAC (1995)

อุปกรณ์

- เตาเผา (Muffle furnace, Fisher Scientific รุ่น Isotemp, USA)
- ครุชีเบิล (Crucible)
- Hot plate

4. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Denver Instrument รุ่น SI-234, Germany)
5. โถดูดความชื้น

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 3-5 กรัม ใส่ในครุชชีเบลที่เผาและทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว
2. นำตัวอย่างไปเผาโดยใช้ hot plate ในตู้ดูดควัน จนกระทั่งตัวอย่างหมดควัน
3. นำตัวอย่างไปเผาต่อในเตาเผา ที่อุณหภูมิ 550°C จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว หรือน้ำหนักคงที่
4. ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. ชั่งน้ำหนักเถ้าที่ได้และคำนวณหาปริมาณเถ้า

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)}}$$

ก.5 การวิเคราะห์ค่า TBA ตามวิธี AOCS (1997)

สารเคมี

1. 1-butanol บริสุทธิ์ มีน้ำไม่เกิน 0.5%
2. 2-Thiobarbituric acid (AR grade)
3. สารละลาย TBA เตรียมโดยละลาย 2-thiobarbituric acid ปริมาณ 200 มิลลิกรัม ใน 1-butanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ค้างคืนหรือใช้เครื่องอัลตราโซนิกช่วยละลาย จากนั้นนำมากรองหรือเข้าเครื่องเหวี่ยง ปรับปริมาตรโดยใช้ 1-butanol

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างหนัก 50-200 มิลลิกรัม ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติม 1-butanol ลงไปเล็กน้อยเพื่อละลายตัวอย่าง จากนั้นปรับปริมาตรด้วย 1-butanol
2. ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่แห้งและมีจุกแก้วปิด จากนั้นปิเปตสารละลาย TBA ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงไป ปิดจุกแก้วแล้วผสมสารละลายให้เข้ากัน
3. นำสารละลายไปให้ความร้อนในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 95°C นาน 2 ชม.
4. นำสารละลายมาทำให้อุณหภูมิลดลงจนถึงอุณหภูมิห้อง โดยการให้น้ำไหลผ่าน

5. นำสารละลายที่ได้ไปใส่ cuvette ขนาด 10 มิลลิเมตร วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่น เป็น reference cell และเตรียม blank พร้อมกับตัวอย่างด้วย โดยค่าของ blank ไม่ควรเกิน 0.1

$$\text{TBA value (mg.malonaldehyde/kg.)} = \frac{[50 \times (A-B)]}{m}$$

A = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ blank

m = น้ำหนักเป็น มิลลิกรัม ของตัวอย่าง

50 = ค่าตัวแปรเมื่อใช้ volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร และใช้ cuvette ขนาด 10 มิลลิเมตร

ก.6 การวัดค่าสี (L^* , a^* , b^*) โดยใช้เครื่อง Chroma meter

อุปกรณ์

เครื่องวัดสี (Minolta Chroma Meter รุ่น CR 400 series, Japan)

วิธีการ

1. เปิดเครื่องทิ้งไว้ 15 นาที แล้ว calibrate เครื่องวัดสี
2. ตั้งเครื่องให้วัดค่า L^* (ความสว่าง) + a^* (ค่าสีแดง) + b^* (ค่าสีเหลือง) วัดค่าสีของตัวอย่างโดยนำหัววัดไปสัมผัสกับตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่าง

ก.7 การวัดค่า water activity (a_w) โดยใช้เครื่อง Water activity meter

อุปกรณ์

เครื่อง water activity meter (AquaLab[®], series 3TE)

วิธีการ

1. เปิดเครื่องทิ้งไว้ 15 นาที ก่อนวัดค่า
2. นำตัวอย่างใส่ตลับพลาสติกสำหรับวัดค่า a_w จากนั้นนำตลับพลาสติกใส่ลงในช่องสำหรับวัดค่า ใช้เวลาในการอ่านค่าประมาณ 30 นาที หรือรอจนกระทั่งเครื่องอ่านค่า a_w ของตัวอย่างคงที่

ก.8 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC, 1995)

วิธีการ

1. สุ่มตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ เทสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 225 มิลลิลิตรลงไป เพื่อให้ได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1:10
2. นำไปตีปั่นให้ละเอียดโดยใช้เครื่องตีปั่นอาหารเป็นเวลา 2 นาที
3. ปิเปตตัวอย่างอาหารเจือจาง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 9 มิลลิลิตร จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม 3 ระดับ
4. ปิเปตตัวอย่างอาหารที่ระดับความเจือจางต่างๆ 1 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเชื้อโดยทำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ
5. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ standard plate count agar ที่หลอมเหลวและมีอุณหภูมิประมาณ 45 °C 15 - 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากับตัวอย่างอาหารอย่างทั่วถึง
6. ปลดอยทิ้งให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว กลับจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
7. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 48 ชม.
8. นับจำนวนจุลินทรีย์ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี

ก.9 การวิเคราะห์ *Staphylococcus aureus* (FDA – BAM, 2001)

วิธีการ

1. สุ่มตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ เทสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 225 มิลลิลิตรลงไป จากนั้นนำไปตีปั่นให้ละเอียดโดยใช้เครื่องตีปั่นอาหารเป็นเวลา 2 นาที
2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird – Parker agar ที่หลอมเหลว วางทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว
3. ปิเปตตัวอย่างอาหารเจือจาง 1 มิลลิลิตร ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 จาน โดยแบ่งหยดลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณใกล้เคียงกัน (เช่น 0.3, 0.4 และ 0.3 มิลลิลิตร) เกลี่ยตัวอย่างอาหารให้กระจายทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ วางทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 1 ชม. จากนั้นคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 – 37 °C เป็นเวลา 24 ชม.
4. นับจำนวนจุลินทรีย์ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 20 – 200 โคโลนี

ก.10 การวิเคราะห์ *Salmonella* spp. (AOAC, 1995)

วิธีการ

1. สุ่มตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ เติม Trypticase soy broth 225 มิลลิลิตรลงไป ตีปั่น 25 นาที แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 – 37 °C เป็นเวลา 24 ชม.
2. ปิเปตตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตร ลงใน Selenite cystine broth 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 – 37 °C เป็นเวลา 24 ชม.
3. Streak ลงบน Xylose lysine decarboxylase (XLD) agar และ *Salmonella shigella* (SS) agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 – 37 °C เป็นเวลา 24 ชม.
4. ตรวจสอบโคโลนีที่มีลักษณะของ *Salmonella* บน SS agar โคโลนีจะไม่มีสีขุ่นหรือทึบ อาจมีหรือไม่มีจุดสีดำตรงกลาง ส่วนบน XLD agar โคโลนีใส อาจมีหรือไม่มีจุดสีดำตรงกลางเช่นกัน อาหารเลี้ยงเชื้อรอบๆ จะมีสีบานเย็น
5. ทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี โดยเขียนเชื้อจากโคโลนีที่สงสัยลงในอาหารเพาะเชื้อต่อไปนี้ บ่มที่อุณหภูมิ 35 – 37 °C เป็นเวลา 24 ชม.
 - 5.1 Triple sugar iron agar เชื้อ *Salmonella* จะให้ผลบวก ดังนี้ เกิดต่างที่ slant (สีแดง) เกิดกรดที่ Butt (สีเหลือง) อาจจะมีสร้างหรือไม่สร้างก๊าซ หรือ H₂S ก็ได้
 - 5.2 Lysine indole motility medium เชื้อ *Salmonella* จะให้ผลการทดสอบเป็น lysine + indole – และ motility +
 - 5.3 Urea agar เชื้อ *Salmonella* จะไม่สร้าง Urease อาหารจะไม่เปลี่ยนสี
6. ทดสอบการตกตะกอนด้วย *Salmonella* antiserum
7. เชื้อที่ให้ผลการทดสอบทางชีวเคมีที่แสดงว่าเป็น *Salmonella* และ ตกตะกอนกับ *Salmonella* antiserum จัดเป็น *Salmonella* spp.

ก.11 การวิเคราะห์ *E.coli* และ Coliform (FDA – BAM, 2002)

วิธีการ

1. การตรวจวิเคราะห์ coliform
 - 1.1 สุ่มตัวอย่างอาหาร 50 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ แล้วเติม Butterfield's phosphate – buffered water 450 มิลลิลิตร ลงไป จากนั้นนำไปตีปั่นให้ละเอียดโดยใช้เครื่องตีปั่นอาหารเป็นเวลา 2 นาที
 - 1.2 นำตัวอย่างอาหารมาเจือจางด้วย Butterfield's phosphate – buffered water จนได้ระดับความเจือจาง (decimal dilutions) ที่เหมาะสม

- 1.3 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl sulphate tryptose (LST) broth ในหลอดทดลอง จากนั้นใส่ตัวอย่างอาหารแต่ละระดับความเจือจางในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ ระดับความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด จากนั้นนำปมที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24 ชม. สังเกตหลอดที่ให้ผลบวก (presumptive positive) คือ เกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ
2. การตรวจเพื่อยืนยันผลสำหรับ coliform และหาค่า MPN (Confirmed test for coliforms)
 - 2.1 นำหลอดทดลองที่ให้ผลบวกใน LSTB (จากข้อ 1.3) มาถ่ายเชื้อลงใน Brilliant green lactose bile broth (BGLB) โดยใช้ลูป (loop) แล้วนำไปปมที่ 35 °C เป็นเวลา 48 ชม. สังเกตหลอดที่ให้ผลบวก (positive) คือ เกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ
 - 2.2 นับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวก แล้วนำไปหาค่า MPN จากตารางค่า MPN
3. การตรวจวิเคราะห์ *E. coli*
 - 3.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth ในหลอดทดลอง จากนั้นใช้ลูปถ่ายเชื้อจากหลอดทดลองที่ให้ผลบวก (จากข้อ 2.2) ลงใน EC broth ซึ่งแช่อยู่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 44.5 °C จากนั้นนำไปปมที่ 44.5 °C หรือ 45.5 °C เป็นเวลา 48 ชม. สังเกตหลอดที่ให้ผลบวก (positive) คือ เกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ
 - 3.2 ใช้ลูปแตะเชื้อจากหลอดทดลองที่ให้ผลบวกในข้อ 3.1 แล้ว streak ลงบน Levine's eosin-methylene blue (L – EMB) แล้วนำไปปมที่ 35 - 37 °C เป็นเวลา 18 – 24 ชม.
 - 3.3 เลือกโคโลนีของ *E. coli* 5 โคโลนีซึ่งมีลักษณะตรงกลางโคโลนีมีสีเข้มคล้ำ อาจจะมีเงาโลหะหรือไม่มีก็ได้ จากนั้นถ่ายเชื้อลงบน plate count agar (PCA) slant จำนวน 5 โคโลนี ปมที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24 ชม. เพื่อทำการทดสอบในขั้นต่อไป
4. การทดสอบปฏิกิริยา IMViC เพื่อยืนยันผลสำหรับ *E. coli* และหาค่า MPN (Confirmed test for *E. coli*)
 - 4.1 Indole production โดยถ่ายเชื้อลงใน Tryptophan broth ปมที่ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบการเกิดอินโดลโดยเติมน้ำยาทดสอบ Kovacs' reagent 0.2 - 0.3 มิลลิลิตร ลงในหลอด สังเกตหลอดที่ให้ผลบวก (positive) คือ เกิดสีชมพูหรือสีแดงขึ้นที่ผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ
 - 4.2 Voges – Proskauer (VP) – reactive compounds โดยถ่ายเชื้อลงใน MR – VP medium ปมที่ 35 °C เป็นเวลา 24 ชม. จากนั้นบีบเปิดเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 0.7 มิลลิลิตร หยดลงบนจานกระเบื้องหลุมสีขาว เพื่อตรวจการเกิด acetyl - methylcarbinol โดยเติม α - naphthol 0.1 มิลลิลิตร สารละลาย KOH (ความเข้มข้นร้อยละ 40) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และเติมเกล็ด creatine 2 - 3 เกล็ด เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 2 ชม. สังเกตผลบวก (positive) คือ เมื่อมีสีชมพูเกิดขึ้น

4.3 Methyl red-reactive compounds

หลังจากทดสอบ VP test แล้ว ให้นำหลอดเชื้อ (จากข้อ 4.2) ไปบ่มต่ออีก 48 ชม. จากนั้นเติม Methyl red จำนวน 5 หยดลงในหลอดแต่ละหลอด เมื่อเกิดสีแดงเกิดขึ้นแสดงว่าให้ผลบวก เมื่อเกิดสีเหลืองเกิดขึ้นแสดงว่าให้ผลลบ

4.4 Citrate

ถ่ายเชื้อลงใน Koser's citrate broth บ่มที่ 35 °C เป็นเวลา 96 ชม. สังเกตการเจริญของเชื้อในอาหารโดยดูความขุ่น หากอาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นขึ้นแสดงว่าผลเป็นบวก

5. ย้อมสีแบบแกรม *E.coli* จะติดสีแกรมลบ

6. จำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์จากผลของปฏิกิริยาชีวเคมี ดังนี้

จุลินทรีย์	Indol	MR	VP	Citrate
Typical <i>E.coli</i>	+	+	-	-
Atypicao <i>E.coli</i>	-	+	-	-
Typical intermediate	+	+	-	+
Atypical intermediate	-	+	-	+
Typical <i>Enterbacter aerogenes</i>	-	-	+	+
Atypical <i>E.aergoenes</i>	+	-	+	+

7. คำนวณค่า MPN ของ *E.coli* ต่อกรัมของอาหารจากหลอดที่ทดสอบที่ให้ผลทดสอบเป็น ติดสีแกรมลบ และให้ผลการทดสอบ IMViC เป็น ++-- หรือ -+--

ก.12 การวิเคราะห์ lactic acid bacteria (ISO 15214: 1999(E))

วิธีการ

1. สุ่มตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ เทสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 225 มิลลิลิตรลงไป เพื่อให้ได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1:10
2. นำไปตีปั่นให้ละเอียดโดยใช้เครื่องตีปั่นอาหารเป็นเวลา 2 นาที
3. ปิเปตตัวอย่างอาหารเจือจาง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 9 มิลลิลิตร จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม
4. ปิเปตตัวอย่างอาหารที่ระดับความเจือจางต่างๆ 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อโดยทำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ

5. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS medium (de Man, Rogosa and Sharpe) 15 มิลลิลิตร ที่หมอมเหลวและมีอุณหภูมิประมาณ 47 °C ผสมให้เข้ากับตัวอย่างอาหารอย่างทั่วถึง
6. ปล่อยทิ้งให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว กลับจานเพาะเชื้อ
7. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 72 ชม.
8. นับจำนวนจุลินทรีย์ในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 15 – 300 โคโลนี

ก.13 การวิเคราะห์ *Clostridium perfringens* (FDA – BAM, 2001)

วิธีการ

1. สุ่มตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ เทสารละลายเปปโตน (peptone solution) 225 มิลลิลิตรลงไป เพื่อให้ได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1:10
2. นำไปตีปั่นให้ละเอียดโดยใช้เครื่องตีปั่นอาหารเป็นเวลา 2 นาที
3. ปิเปิดตัวอย่างอาหารเจือจาง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.2) 9 มิลลิลิตร จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม
4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptose – sulfite – cycloserine (TSC) agar (ซึ่งไม่มีไข่แดง (egg yolk)) 6 – 7 มิลลิลิตร วางไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว
5. ปิเปิดตัวอย่างอาหารที่ระดับความเจือจางต่างๆ 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อโดยทำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ จากนั้นผสมให้เข้ากับตัวอย่างอาหารอย่างทั่วถึง จากนั้นนำไปบ่ม โดยไม่ต้องกลับจานอาหารเลี้ยงเชื้อใน Anaerobic jar ที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 20 – 24 ชม.
6. นับจำนวนจุลินทรีย์ในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 20 – 200 โคโลนี โดยโคโลนีของ *Clostridium perfringens* จะมีสีดำ มีขนาดประมาณ 2 – 4 มิลลิเมตร

ภาคผนวก ข

วิธีการเตรียมฟิล์มบรีโภาคได้

ข.1 ฟิล์มเพกตินที่ตรึง liposome ของสารต้านจุลินทรีย์จากสมุนไพร ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม กานพลูและสารสกัดจากทับทิมด้วยเอธานอล (อรชร เมฆเกิดชู, 2552)

วิธีการ

1. เอนเคปซูลเลชันสารสกัดจากธรรมชาติทั้ง 3 ชนิด คือ น้ำมันกระเทียม น้ำมันกานพลู และสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอล โดยเทคนิคดับเบิลอิมัลชัน หรือ $W_1/O/W_2$ ซึ่งดัดแปลงจาก อรชร เมฆเกิดชู (2552) โดยเตรียมสารละลายเอธานอลจากความเข้มข้นร้อยละ 99 ให้ได้ความเข้มข้นร้อยละ 11 โดยน้ำหนัก เตรียมวัฏภาคน้ำมัน (oil phase-O) โดยผสมสารละลายเลซิทินกับน้ำมันผสม (ซึ่งประกอบด้วยน้ำมันกระเทียมและน้ำมันกานพลู ในสัดส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก) ให้ได้สัดส่วนโดยน้ำหนักของสารละลายเลซิทินต่อน้ำมันผสมเท่ากับ 1:6 ส่วน วัฏภาคน้ำ (water phase- W_1) คือ สารละลายน้ำของสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอล ที่ความเข้มข้นร้อยละ 17.4 โดยน้ำหนัก ในขั้นตอนแรก ทำอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน (W_1/O) สัดส่วนของวัฏภาคน้ำมันต่อน้ำเท่ากับ 2:1 ทำให้วัฏภาคน้ำเกิดเป็นอนุภาคกระจายในวัฏภาคน้ำมัน โดยปั่นด้วยเครื่อง Homogenizer ที่ความเร็วรอบ 22,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที แล้วนำไป sonicate ด้วยเครื่อง ultrasonic ที่ 60 Hz และ amplitude 400 W นาน 30 นาที โดยทำการกระจายน้ำในน้ำมันนี้ 2 รอบ แล้วนำอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมันที่เตรียมได้นี้ไปผสมกับวัฏภาคน้ำ (W_1 และ W_2 เป็นสารละลายเดียวกัน คือ สารละลายน้ำของสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยเอธานอล) ในสัดส่วน 3:4 ควบคุมอุณหภูมิขณะเตรียมอิมัลชันให้ไม่เกิน 4°C

2. เตรียมสารละลายเพื่อขึ้นรูปฟิล์มเพกติน โดยนำเพกตินละลายใน deionized water ที่ 90°C (ความเข้มข้น ร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นเติม $CaCl_2$ ที่ 65°C (ความเข้มข้น

ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อปริมาตรเพกติน 30 มิลลิลิตร เติม glycerol (ความเข้มข้น ร้อยละ 50 โดยน้ำหนักของเพกติน) และเติม liposome (ความเข้มข้น ร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ นำไปใส่ฟองอากาศออกโดย sonicating ด้วยเครื่อง bath sonicate นาน 25 นาที แล้วนำฟองอากาศออก จากนั้น sonicate ต่อ นาน 25 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้ปรับอุณหภูมิในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 45°C แล้วเทสารละลายลงบนเครื่องขึ้นรูปฟิล์ม โดยกำหนดความหนาของช่องปาดฟิล์ม 1 มิลลิเมตร ปาดฟิล์มลงบนแผ่นอะคริลิก วางไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ลอกแผ่นฟิล์มออกแล้วนำไปเก็บในตู้ควบคุมความชื้น ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50±5 ด้วยสารละลาย magnesium nitrate อิมิตัว นาน 24 ชม. ก่อนนำมาใช้งาน

ข.2 ฟิล์มคาราจีแนนเติมน้ำมันหอมระเหยจากอบเชย (วิภาวีร์ ธาระเชตต์, 2551)

วิธีการ

1. เตรียมสารสกัดหยาบจากอบเชย

ชั่งอบเชยผง น้ำหนัก 20 กรัม ใส่ลงในขวดขนาด 500 มิลลิลิตร เติม เอธิล แอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ตั้งอุณหภูมิในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 60°C เป็นเวลา 24 ชม. (ดัดแปลงจากวาทินี จตุรพรชัย, 2546) แล้วกรองด้วยกระดาษ whatman เบอร์ 4 และนำสารสกัดที่ได้ไปทำให้เข้มข้น โดยใช้เครื่องระเหยแบบสูญญากาศ (rotary evaporator) ที่ 50°C ความดัน 100-150 มิลลิบาร์ จนกระทั่งสารสกัดเหลือ 10 มิลลิลิตร บรรจุสารสกัดที่ได้ในขวดสีชาปิดสนิท เก็บรักษาที่ 4°C

2. ขึ้นรูปฟิล์มคาราจีแนน

นำคาราจีแนนละลายในน้ำกลั่น ที่ 80°C (ความเข้มข้น ร้อยละ 2.5 น้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นเติมน้ำมันอบเชย ร้อยละ 9.4 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) (ดัดแปลงจาก วิภาวีร์ ธาระเชตต์, 2551) เทสารละลายลงบนเครื่องขึ้นรูปฟิล์ม โดยกำหนดความหนาของช่องปาดฟิล์ม 1 มิลลิเมตร ปาดฟิล์มลงบนแผ่นอะคริลิก วางไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ลอกแผ่นฟิล์มออกแล้วนำไปเก็บในตู้ควบคุมความชื้น ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50±5 ด้วยสารละลาย magnesium nitrate อิมิตัว นาน 24 ชม. ก่อนนำมาใช้งาน

ข.3 ไคโตซานผสมไนซิน (Mu *et al.*, 2008b)

วิธีการ

1. เตรียมสารละลายไคโตซาน โดยนำไคโตซาน 2 g ละลายในสารละลายใน 1%(w/v) acetic acid ปริมาตร 100 ml
2. เตรียมสารละลาย HPMC โดยนำ hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) 3 g ละลายใน สารละลาย 1%(w/v) acetic acid ปริมาตร 100 ml
3. นำสารละลายไคโตซาน ผสมกับสารละลาย HPMC ในอัตราส่วน 13:2 จากนั้นเติมไนซิน ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วเทสารละลายลงบนเครื่องขึ้นรูปฟิล์ม โดยกำหนดความหนาของช่องปาดฟิล์ม 1 มิลลิเมตร
4. ปาดฟิล์มลงบนแผ่นอะคริลิค วางไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ลอกแผ่นฟิล์มออกแล้วนำไปเก็บในตู้ควบคุมความชื้น ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50 ± 5 ด้วยสารละลาย magnesium nitrate อิมิตัว นาน 24 ชม. ก่อนนำมาใช้งาน

ภาคผนวก ค

แบบสอบถาม

ค.1 แบบสอบถามการยอมรับของผู้บริโภค

เขียน	ผู้ตอบแบบสอบถาม
เรื่อง	การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ปลากระพงรมควันเย็น
คำชี้แจง	แบบสอบถามชุดนี้เป็นงานสำรวจพฤติกรรมและการยอมรับของผู้บริโภคในการบริโภคผลิตภัณฑ์ปลากระพงรมควันเย็น เพื่อประกอบการทำวิทยานิพนธ์ของนางสาวอินทอร กำแพงทอง นิสิตปริญญาโทภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ข้อมูลที่ท่านตอบจะไม่มีผลใดๆ ต่อผู้ตอบทั้งสิ้น
คำอธิบาย	ผลิตภัณฑ์ปลากระพงรมควันเย็น เป็นอาหารสำเร็จรูปพร้อมรับประทาน แปรรูปโดยนำเนื้อปลากระพงแช่ในน้ำเกลือแล้วนำไปรมควัน วิธีรับประทาน นำไปบริโภคได้ทันทีหรือปรุงเป็นอาหารต่างๆ

ขอขอบพระคุณในความร่วมมือ

ผู้ทำวิจัย

แบบสอบถาม

คำแนะนำ: กรุณาทำเครื่องหมาย ลงในวงเล็บ () ข้างหน้าคำตอบที่ท่านเห็นว่าเหมาะสมและตรงกับความคิดของท่านมากที่สุด

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม

1. เพศ

() ชาย () หญิง

2. อายุ

() 10-20 ปี () 21-30 ปี
() 31-40 ปี () 41-50 ปี
() มากกว่า 50 ปี

3. การศึกษา

() ประถมศึกษา () มัธยมศึกษาตอนต้น
() มัธยมศึกษาตอนปลาย/ปวช. () อนุปริญญา/ปวส.
()ปริญญาตรี () สูงกว่าปริญญาตรี

4. อาชีพ

() นักเรียน/นิสิต/นักศึกษา () พนักงานบริษัท
() ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ () ค้าขาย/ธุรกิจส่วนตัว
() อื่นๆ

5. รายได้ต่อเดือน

() น้อยกว่า 5,000 บาท () 5,000-10,000 บาท
() 10,001-15,000 บาท () 15,001-20,000 บาท
() มากกว่า 20,000 บาท

ตอนที่ 2 ข้อมูลการทดสอบของผลิตภัณฑ์

6. กรุณาทดสอบผลิตภัณฑ์ปลากะพงรมควันเรียบร้อยแล้วทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่องว่างให้ตรงกับ ความชอบของท่านที่มีต่อผลิตภัณฑ์

คุณลักษณะ	ไม่ชอบ มากที่สุด	ไม่ชอบ มาก	ไม่ชอบ ปาน กลาง	ไม่ชอบ เล็กน้อย	เฉยๆ	ชอบ เล็กน้อย	ชอบ ปาน กลาง	ชอบ มาก	ชอบ มากที่สุด
ลักษณะ ปรากฏ									
สี									
กลิ่น									
รสชาติ									
เนื้อสัมผัส									
ความชอบ รวม									

7. ท่านยอมรับผลิตภัณฑ์นี้มากน้อยเพียงใด โปรดระบุการยอมรับ

	น้อยที่สุด	น้อย	ปานกลาง	มาก	มากที่สุด
บรรจุภัณฑ์					
ผลิตภัณฑ์					

8. ท่านจะซื้อผลิตภัณฑ์นี้หรือไม่ ถ้าจำหน่ายในราคา 150 บาทต่อ 1 บรรจุภัณฑ์ (150 กรัม/ถุง)

() ซื้อเพราะ.....

() ไม่ซื้อเพราะ.....

9. สำหรับท่านที่ตอบ ไม่ซื้อในราคา 150 บาท (ในข้อ 8) ท่านเต็มใจซื้อในราคา.....บาท

ข้อเสนอแนะ

.....
.....

ขอขอบพระคุณ

ค.2 แบบทดสอบผลิตภัณฑ์ปลากะพงรมควันเย็น

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่ทดสอบ.....

คำแนะนำ กรุณาชิมตัวอย่างพร้อมให้คะแนนความชอบในคุณลักษณะต่างๆ ดังคำแนะนำต่อไปนี้

- | | | |
|---------------------|---------------|-------------------|
| 1 = ไม่ชอบมากที่สุด | 2 = ไม่ชอบมาก | 3 = ไม่ชอบปานกลาง |
| 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย | 5 = เฉยๆ | 6 = ชอบเล็กน้อย |
| 7 = ชอบปานกลาง | 8 = ชอบมาก | 9 = ชอบมากที่สุด |

“กรูณาบ้วนปากก่อนชิมตัวอย่างใหม่ทุกครั้ง”

รหัสตัวอย่าง ลักษณะ					
ลักษณะปรากฏ					
สี					
กลิ่น					
รสชาติ					
เนื้อสัมผัส					
ความชอบรวม					

ข้อเสนอแนะ

.....

ขอขอบพระคุณในความร่วมมือ

ผู้ทำวิจัย

ภาคผนวก ง

ผลการทดลองเพิ่มเติม

ตารางที่ ง.1 ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้น, a_w , L^* , a^* , b^* และค่าความแข็งของปลากระพงรมควันเย็น

SOV	df	ความชื้น	a_w	L^*	a^*	b^*	ค่าความแข็ง
Temp	2	1,878.02 ^a	788.05 ^a	117.64 ^a	13.45 ^a	383.92 ^a	5,117.39 ^a
Salt	2	237.35 ^a	1.77	1.43	0.538	1.29	0.03
Time	2	237.80 ^a	120.03 ^a	414.963 ^a	321.94 ^a	508.59 ^a	360.72 ^a
Temp x salt	4	4.82	0.402	1.48	0.40	0.29	0.40
Temp x time	4	4.88	1.63	2.32	1.38	39.684	7.63
Salt x time	4	1.47	0.42	0.87	1.46	1.93	0.36
Temp x salt x time	8	2.41	0.72	1.35	0.89	2.59	0.17

หมายเหตุ: แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \pm 0.05$)

Degree of freedom ของ error = 54

a แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ง.2 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total bacteria count) ระหว่างปลากะพงรมควันควบคุม และปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาใน ระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C

อายุการเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/g)	
	หุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน	ไม่หุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน
0	4.33±0.17	4.33±0.23
5	4.14±0.20	4.95±0.34
10	3.79±0.15	5.12±0.18
15	4.14±0.14	5.77±0.29
20	4.39±0.22	6.29±0.22
25	5.10±0.18	-
30	5.50±0.19	-
35	5.57±0.11	-
40	5.84±0.24	-
45	6.53±0.28	-

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

- ไม่ได้วิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา

ตารางที่ ง.3 จำนวนจุลินทรีย์ *Listeria* spp. ระหว่างปลากะพงรมควันควบคุมและปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C

อายุการเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/g)	
	หุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน	ไม่หุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน
0	< 30 โคโลนีต่อกรัม	< 30 โคโลนีต่อกรัม
5	1.75±0.20	2.80±0.35
10	1.67±0.15	4.06±0.24
15	2.26±0.14	5.09±0.20
20	2.55±0.22	-
25	3.19±0.18	-
30	3.43±0.19	-
35	4.14±0.11	-
40	4.77±0.24	-

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

- ไม่ได้วิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา

ตารางที่ ง.4 จำนวนจุลินทรีย์ *S. aureus* ระหว่างปลากะพงรมควันควบคุมและปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C

อายุการเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/g)	
	หุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน	ไม่หุ้มฟิล์มไคโตซานผสมไนซิน
0	< 30 โคโลนีต่อกรัม	< 30 โคโลนีต่อกรัม
5	1.58±0.18	1.95±0.30
10	1.71±0.26	2.76±0.21
15	1.90±0.23	3.25±0.27
20	2.17±0.12	-
25	2.21±0.24	-
30	2.32±0.18	-
35	2.58±0.22	-
40	3.14±0.26	-

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

- ไม่ได้วิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา

ตารางที่ ง.5 จำนวนจุลินทรีย์ lactic acid bacteria ระหว่างปลากะพงรมควันควบคุมและปลากะพงรมควันหุ้มฟิล์มโคโตนผสมไนซิน บรรจุถุง LDPE แบบธรรมดาในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4°C

อายุการเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/g)	
	หุ้มฟิล์มโคโตนผสมไนซิน	ไม่หุ้มฟิล์มโคโตนผสมไนซิน
0	2.44±0.38	2.34±0.20
5	2.49±0.18	4.29±0.32
10	2.83±0.29	5.27±0.15
15	3.15±0.17	6.02±0.31
20	3.75±0.24	-
25	4.69±0.23	-
30	4.49±0.17	-
35	5.12±0.21	-
40	5.48±0.28	-

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

- ไม่ได้วิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวอินทอร กำแพงทอง เกิดวันที่ 17 กรกฎาคม 2527 ที่จังหวัดนครปฐม มีภูมิลำเนาอยู่ที่จังหวัดนครปฐม สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เมื่อปีการศึกษา 2549 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2550

ผลงานวิจัย

1. นำเสนอผลงานในงานประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 3 ภายใต้หัวข้อ “การพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในยุคเศรษฐกิจสร้างสรรค์” ระหว่างวันที่ 23 - 26 พฤศจิกายน พ.ศ. 2553 ณ ศูนย์ประชุมสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ กรุงเทพมหานคร
2. นำเสนอผลงานในงานประชุมวิชาการโครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ครั้งที่ 5 ระหว่างวันที่ 30 มีนาคม - 1 เมษายน พ.ศ.2554 ณ โรงแรมจอมเทียน ปาล์ม บีช รีสอร์ท เมืองพัทยา จ.ชลบุรี