



การวิเคราะห์และการจัดการปัญหาการเกิดจุดขาวในเปลือกกุ้งขาวแวนนาไมระหว่าง
การเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

**Analysis and Management on White Spot Problem in Vannamei White Shrimp
(*Litopenaeus vannamei*) Shell during Frozen Storage**

จิราพร เทศนุ้ย

Jiraporn Thednui

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาการจัดการเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of
Master of Science in Agro-Industrial Technology Management
Prince of Songkla University**

2557

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

| | |
|-----------------|--|
| ชื่อวิทยานิพนธ์ | การวิเคราะห์และการจัดการปัญหาการเกิดจุดขาวในเปลือกกุ้งขาวแวนนาไม ระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง |
| ผู้เขียน | นางสาวจิราพร เทศนุ้ย |
| สาขาวิชา | การจัดการเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร |

| อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก | คณะกรรมการสอบ |
|--|--|
| (รองศาสตราจารย์ ดร.ไพรัตน์ โสภโณคร) |ประธานกรรมการ (ดร.กัญญา อัครอารีย์) |
| |กรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไพศาล วุฒิจำนงค์) |
| |กรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.ไพรัตน์ โสภโณคร) |

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการ
เทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่าผลงานวิจัยนี้เป็นผลมาจากการศึกษาของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพรัตน์ โสภโณคร)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....

(นางสาวจิราพร เทศนุ้ย)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน
และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวจิราพร เทศนุ้ย)

นักศึกษา

| | |
|-----------------|--|
| ชื่อวิทยานิพนธ์ | การวิเคราะห์และการจัดการปัญหาการเกิดจุดขาวในเปลือกกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง |
| ผู้เขียน | นางสาวจิราพร เทศนุ้ย |
| สาขาวิชา | การจัดการเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร |
| ปีการศึกษา | 2556 |

บทคัดย่อ

การเกิดจุดขาวในเปลือกกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง เนื่องจากการเกิดผลึกแคลเซียมและวาทีไรต์ ซึ่งเป็นโครงสร้างของแคลเซียมคาร์บอเนต โดยเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้นขนาดของจุดขาวจะขยายใหญ่ขึ้นส่งผลกระทบต่อคุณภาพของกุ้งแช่เยือกแข็งที่ลดลง งานวิจัยนี้ได้มีการวิเคราะห์และจัดการปัญหาการเกิดจุดขาวในเปลือกกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็งขึ้น ผลการวิเคราะห์เบื้องต้นพบว่าสาเหตุที่สำคัญเกิดจากระยะเวลาในการเก็บรักษาและสารเคมีที่ใช้มีผลต่อการเกิดจุดขาว จึงได้ศึกษาผลของสารเคมีคือ โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์เข้มข้นร้อยละ 4.3 กรดซिटริกเข้มข้นร้อยละ 0.075 โพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 0.5 ทั้งแบบชนิดเดียวและร่วมกันสองและสามชนิด แล้วผ่านและไม่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 23 ก่อนการแช่เยือกแข็งและเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง ผลการตรวจสอบคุณภาพและการเกิดจุดขาวในเปลือกกุ้งขาว ทุก 1 เดือน เป็นเวลา 5 เดือน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช ปริมาณเกลือ และปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยค่าพีเอชของทุกชุดการทดลองเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และชุดการทดลองที่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือมีแนวโน้มทำให้ค่าพีเอชสูงกว่าชุดการทดลองที่ไม่ผ่านน้ำเกลือ ปริมาณโซเดียมคลอไรด์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทุกชุดการทดลองที่ไม่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือมีปริมาณโซเดียมคลอไรด์อยู่ในช่วงร้อยละ โดยน้ำหนัก 0.24-1.26 ส่วนชุดการทดลองที่ผ่านการพ่นน้ำเกลืออยู่ระหว่างร้อยละ โดยน้ำหนัก 0.33 - 1.29 เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และชุดการทดลองที่ไม่ผ่านน้ำเกลือมีแนวโน้มของปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์มากกว่าชุดการทดลองที่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือ

ผลการตรวจสอบการเกิดจุดขาวที่เปลือกของกุ้งขาวแช่เยือกแข็งที่ผ่านการแช่ด้วยสารเคมีชนิดและความเข้มข้นต่างกัน และผ่านการพ่นและไม่พ่นด้วยน้ำเกลือ พบว่าการไม่ผ่านน้ำเกลือ สามารถชะลอการเกิดจุดขาวได้ดีกว่าการผ่านน้ำเกลือ ชุดการทดลองที่ไม่ผ่านน้ำเกลือและใช้

สารเคมีร่วมกันสามชนิดในการแช่ สามารถชะลอการเกิดจุลชีวได้ดีกว่าการใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ และกรดซัลฟูริก เพียงชนิดเดียวหรือร่วมกัน สำหรับชุดการทดลองที่ผ่านน้ำเกลือและใช้สารเคมีเพียงชนิดเดียวหรือร่วมกันสองชนิดสามารถชะลอการเกิดจุลชีวได้น้อยกว่าการใช้สารเคมีร่วมกันสามชนิดในการแช่ ที่สามารถชะลอได้นานถึง 4 เดือน ซึ่งสอดคล้องกับการตรวจพบผลึกแคลไซต์ โดยที่คุณภาพด้านอื่นอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ ดังนั้นหากต้องการผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีเกลือควรเลือกชุดการทดลองที่ไม่ต้องแช่สารเคมี แต่ถ้าต้องการผลิตภัณฑ์ที่มีเกลือควรเลือกชุดการทดลองที่แช่สารเคมีร่วมกันทั้งสามชนิด

Thesis Title Analysis and management on white spot problem in Vannamei white shrimp
 (*Litopenaeus vannamei*) shell during frozen storage.

Author Jiraporn Thednui

Major Program Agro-Industrial Technology Management

Academic Year 2013

ABSTRACT

White spot occurred on the shell of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) shell during frozen storage was proved to be due to calcium carbonate precipitation. This problem was continuously expand to cover the entire transparent shell during frozen storage. This research aimed to analyze the cause of white spot problem and to find out approaches to reduce the white spot occurrence on the shell of frozen white shrimp. The results from cause-effect analysis revealed that the major causes of white spot occurrence included long storage times and chemical treatments before freezing. Therefore the study on effect of chemical treatments i.e. 4.3% sodium metabisulphite, 0.075% citric acid, 0.5% pyrophosphate and 23% sodium chloride was carried out. The treated frozen sample were kept under frozen condition and samples were subjected to analyze for some chemical parameter and white spot occurrence every month for 5 months. The results showed some changes on pH, NaCl and SO₂ including the significantly increases of pH ($p < 0.05$) of every treatments. Treatments with brine spraying tended to show higher pH than those without brine spraying. The NaCl content in treatment without brine spraying contained about 0.24-1.26 % by weight whereas treatments with brine spraying showed about 0.33-1.29 % by weight. As the storage time increased the SO₂ of samples treated with SMS were significantly increased ($p < 0.05$). The treatment without brine spraying showed higher SO₂ content than those with brine spraying.

The results on white spot occurrence of chemical treated samples with and without brine spraying indicated that treatment without brine can delay the occurrence of white spot better than those with brine. The treatment soaked in the combination of three chemicals and without brine spraying showed better delaying than those soaked in SMS and citric acid whether only one chemical or in the combination. For those treatments with brine, they showed that using only one or two chemicals can delay the white spot occurrence less than those used the combination of three chemical which showed 4 months delaying. The results were confirmed with the calcite crystallization and the tested quality parameters were at acceptable level. Therefore, it is suggested that three chemical combination soaking with brine spraying for the salted product. Whereas no chemical soaking without brine spraying is good for unsalted products.

สารบัญ

| | หน้า |
|--|------|
| สารบัญ..... | (10) |
| รายการตาราง..... | (11) |
| รายการภาพประกอบ..... | (12) |
| บทที่ | |
| 1 บทนำ..... | 1 |
| บทนำตั้งเรื่อง..... | 1 |
| การตรวจเอกสาร..... | 2 |
| วัตถุประสงค์..... | 22 |
| 2 วิธีการวิจัย..... | 23 |
| วัสดุ..... | 23 |
| อุปกรณ์..... | 23 |
| วิธีการทดลอง..... | 24 |
| 3 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง..... | 29 |
| 4 บทสรุปและข้อเสนอแนะ..... | 51 |
| เอกสารอ้างอิง..... | 53 |
| ภาคผนวก..... | 56 |
| ก. ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ..... | 58 |
| ข. ดัชนีการเกิดจุดขาว..... | 63 |
| ค. การวิเคราะห์ทางเคมี..... | 67 |
| ง. มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ เรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร และอาหารแห่งชาติ การชั้นสูตรโรคจุดขาวในกุ้ง..... | 74 |
| จ. ตารางการตรวจสอบจุดขาว..... | 84 |
| ประวัติผู้เขียน..... | 86 |

รายการตาราง

| ตารางที่ | หน้า |
|---|------|
| 1. องค์ประกอบทางเคมีของกุ้งขาว (<i>Penaeus vannamei</i>) | 5 |
| 2. ชนิดและโครงสร้างของสารประกอบฟอสเฟต | 19 |
| 3. ระดับคะแนนการเกิดจุดขาวโดยการตรวจสอบด้วยสายตา | 26 |
| 4. ชุดการทดลองการใช้สารเคมีทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือของกุ้งขาวก่อนการแช่เยือกแข็ง | 27 |
| 5. ขนาดของกุ้งที่พบในแต่ละเดือนตั้งแต่เดือนเมษายนถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555 | 32 |
| 6. คำนีการเกิดจุดขาวของตัวอย่างกุ้งขาวแช่เยือกแข็งที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็งเป็นเวลาต่างกัน | 34 |
| 7. ผลของสารเคมีต่อค่าพีเอชของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง | 39 |
| 8. ผลของสารเคมีต่อค่าโซเดียมคลอไรด์ของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง | 41 |
| 9. ผลของสารเคมีต่อค่าซัลเฟอร์ไดออกไซด์ของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง | 43 |
| ก1. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการใช้สารเคมีต่อค่าพีเอชของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง | 59 |
| ก2. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการใช้สารเคมีต่อค่าโซเดียมคลอไรด์ของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง | 60 |
| ก3. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการใช้สารเคมีต่อค่าซัลเฟอร์ไดออกไซด์ของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง | 61 |
| ก4. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการใช้สารเคมีต่อค่าดัชนีการเกิดจุดขาวของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง | 62 |
| ข1. ผลของสารเคมีต่อค่าดัชนีการเกิดจุดขาวของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง | 64 |
| จ1. ตารางการตรวจสอบจุดขาว | 85 |

รายการภาพประกอบ

| ภาพที่ | หน้า |
|--|------|
| 1. กุ้งขาว (<i>Litopenaeus vannamei</i>) | 3 |
| 2. กุ้งกุลาดำ (<i>Penaeus monodon</i>) | 3 |
| 3. ห่วงโซ่อุปทานของกุ้งไทย | 10 |
| 4. โครงสร้างของเปลือกกุ้ง | 15 |
| 5. กระบวนการผลิตกุ้งสดแช่เยือกแข็งของโรงงานกรณีศึกษา | 30 |
| 6. แผนผังสาเหตุและผลของการเกิดจุดขาวในเปลือกกุ้งขาวระหว่างการแช่เยือกแข็ง | 36 |
| 7. ผลของการใช้สารเคมีเพียงชนิดเดียวต่อค่าดัชนีการเกิดจุดขาวของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง | 46 |
| 8. ผลของการใช้สารเคมีร่วมกันสองชนิดต่อค่าดัชนีการเกิดจุดขาวของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง | 46 |
| 9. ผลของการใช้สารเคมีร่วมกันสามชนิดต่อค่าดัชนีการเกิดจุดขาวของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง | 46 |
| 10. ผลของการใช้สารเคมีเพียงชนิดเดียวต่อการพบผลึกแคลไซต์ในเปลือกกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง | 48 |
| 11. ผลของการใช้สารเคมีร่วมกันสองชนิดต่อการพบผลึกแคลไซต์ในเปลือกกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง | 49 |
| 12. ผลของการใช้สารเคมีร่วมกันสามชนิดต่อการพบผลึกแคลไซต์ในเปลือกกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง | 50 |
| ค1. เครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรคโทมิเตอร์ ยี่ห้อ Philips รุ่น X'Pert MPD | 73 |

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ประเทศไทยมีการส่งออกอาหารทะเลแช่เยือกแข็งไปจำหน่ายต่างประเทศเป็นจำนวนมาก และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในอนาคตทั้งปริมาณและมูลค่าการส่งออกโดยเฉพาะตลาดเอเชีย เช่น ประเทศจีน เกาหลีใต้ และมาเลเซีย เนื่องจากผู้บริโภคนิยมบริโภคอาหารทะเล และสภาพเศรษฐกิจมีการขยายตัวมากขึ้น (ณัฐชา เพชรคาภู และคณะ, 2551) สำหรับอุตสาหกรรมแปรรูปกุ้งแช่เยือกแข็งของไทยมีตลาดสำคัญได้แก่ สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น และสหภาพยุโรป โดยมีสัดส่วนปริมาณร้อยละ 33.63, 31.50 และ 14.16 ของการนำเข้าทั้งหมดของโลก ตามลำดับ (Thai Frozen Foods Association, 2014) และมีแนวโน้มของตลาดใหม่ที่ขยายตัวเพิ่มขึ้น แต่การส่งออกกุ้งสดแช่เยือกแข็งของไทยมีสถานะการแข่งขันที่ค่อนข้างสูง ประกอบกับการเกิดอุทกภัยในพื้นที่ภาคใต้เมื่อต้นปี 2554 จึงส่งผลกระทบต่อโดยตรงต่อการเลี้ยงกุ้ง และการส่งออกกุ้งสดแช่เยือกแข็งของไทยในช่วงตั้งแต่ปี 2555 ถึง 2557 อุตสาหกรรมกุ้งไทยได้รับผลกระทบจากโรคตายด่วน (Early Mortality Syndrome: EMS) ทำให้ผลผลิตกุ้งลดต่ำลงมาก เนื่องจากเกิดการตายในบ่อเลี้ยงกุ้งสูงถึงร้อยละ 40 ส่งผลให้วัตถุดิบกุ้งมีราคาสูงและไม่เพียงพอต่อการส่งออก ผู้ผลิตยังไม่กล้าลงทุนอย่างเต็มที่ เนื่องจากยังมีความกังวลเกี่ยวกับการระบาดของโรคดังกล่าว และเกรงว่าอาจเกิดความเสียหายขึ้นอีก นอกจากนี้ยังมีข้อจำกัดด้านคุณภาพของสินค้า ประสิทธิภาพการผลิต และการจัดการที่ดีในโรงงานอุตสาหกรรม

อุตสาหกรรมกุ้งขาวแปรรูปในประเทศไทยเป็นอุตสาหกรรมที่มีการส่งออกมากเป็นอันดับหนึ่งของการส่งออกในอุตสาหกรรมอาหารทั้งหมด โดยคิดเป็นร้อยละ 70.54 ใช้เพื่อการส่งออก ส่วนที่เหลือใช้บริโภคภายในประเทศ (Thai Frozen Foods Association, 2014) การส่งออกผลิตภัณฑ์กุ้งส่วนใหญ่อยู่ในรูปกุ้งแช่เยือกแข็ง คิดเป็นร้อยละ 51.12 ของมูลค่าการส่งออกทั้งหมด รองลงมาได้แก่ กุ้งปรุงแต่ง และกุ้งแห้ง ตามลำดับ อุตสาหกรรมกุ้งขาวแปรรูปมีปริมาณการส่งออกเพิ่มสูงขึ้นซึ่งแตกต่างจากอดีตที่มีการผลิตกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็งเป็นส่วนใหญ่ เนื่องจากเกษตรกรหันมาเลี้ยงกุ้งขาวเพราะโตเร็ว เลี้ยงง่ายและต้นทุนต่ำทำให้มีผลผลิตส่งเข้าโรงงานแปรรูปเพิ่มมากขึ้น การแปรรูปกุ้งของประเทศไทยมีความได้เปรียบในด้านความสม่ำเสมอและความสดของวัตถุดิบ จำนวนห้องเย็น โรงงานแปรรูปมีจำนวนมาก โรงงานส่วนใหญ่ของประเทศไทยได้รับการรับรอง

ระบบ GMP และ HACCP ซึ่งถือเป็นข้อได้เปรียบที่สำคัญของอุตสาหกรรมส่งออก (ณัฐชา เพชรดา กุล และคณะ, 2551)

ปัจจุบันการดำเนินธุรกิจของโรงงานกรณีศึกษาในการแปรรูปกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) แซ่เยือกแข็ง ประสบปัญหาการเกิดจุดขาวที่เปลือกของกุ้งระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง ซึ่งมีลักษณะปรากฏภายนอกเป็นจุดสีขาวคล้ายกับอาการของโรคที่เกิดจากไวรัสตัวแดงดวงขาว ทำให้ผลิตภัณฑ์ขาดความน่าเชื่อถือด้านคุณภาพและความไว้วางใจจากลูกค้า จึงต้องการวิเคราะห์สาเหตุของปัญหา และการจัดการเพื่อหาแนวทางป้องกันการเกิดจุดขาว ที่ส่งผลให้ลูกค้ามีความเชื่อถือในคุณภาพและความพึงพอใจเพิ่มขึ้น และเป็นแนวทางในการพัฒนาอุตสาหกรรมแปรรูปกุ้งขาวแช่เยือกแข็งของไทยให้เป็นที่ยอมรับ ทำให้สามารถเพิ่มขีดความสามารถการแข่งขันในตลาดโลกได้

การตรวจเอกสาร

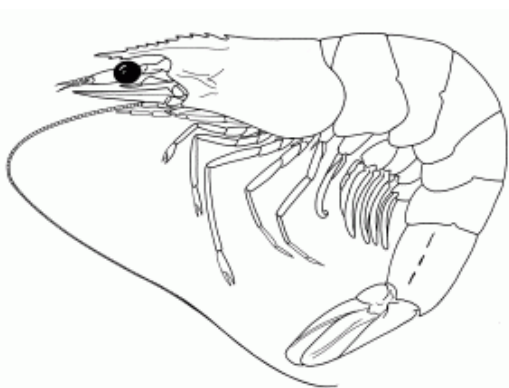
1. กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*)

กุ้งขาวลิโทพีเนียสแวนนาไม เป็นสายพันธุ์กุ้งทะเลในกลุ่มกุ้งขาวแปซิฟิก มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Litopenaeus vannamei* ชื่อสามัญที่องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) รับรองและใช้เรียกกันทั่วโลกคือ Whiteleg shrimp กุ้งขาวที่เพาะเลี้ยงกันอยู่ในปัจจุบันนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ตามสภาพภูมิศาสตร์ของโลก กลุ่มแรกเรียกว่ากุ้งขาวตะวันตก (Western coast white shrimp) ได้แก่ กุ้งขาวลิโทพีเนียสแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) กุ้งสีน้ำเงิน (*Penaeus stylirostenis*) และกลุ่มที่สองเรียกว่า กุ้งขาวตะวันออก (Eastern coast white shrimp) ได้แก่ กุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguensis*) กุ้งขาวจีน (*Penaeus chinensis* หรือ *Penaeus orientalis*) กุ้งขาวอินเดีย (*Penaeus indicus*) (แก้วตา ลิมเฮง, 2548) ประเทศไทยเริ่มนำกุ้งขาวมาเลี้ยงในปี 2541 ในช่วงแรกไม่ค่อยได้รับความสนใจเท่าที่ควร ประกอบกับการจัดหาพันธุ์กุ้งขณะนั้นมีความยากลำบากและมีราคาแพง นอกจากนั้นยังพบว่า การเลี้ยงกุ้งกุลาดำประสบปัญหาโรคระบาด ขาดแคลนพ่อแม่พันธุ์กุ้งคุณภาพดี ราคาลูกกุ้งปรับตัวสูงขึ้น และที่สำคัญคือ กุ้งกุลาดำมีการเจริญเติบโตที่ช้า เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งจึงหันมาเลี้ยงกุ้งขาวกันมากขึ้น

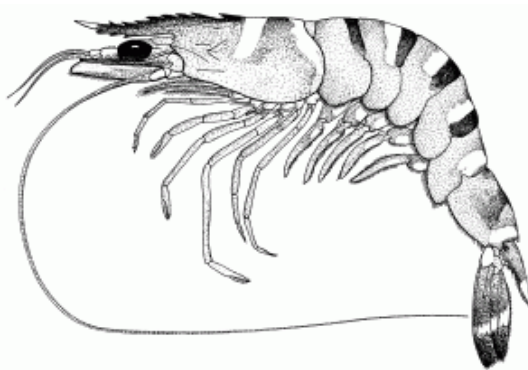
ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาว

ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาว ลำตัวมี 8 ปล้อง ประกอบด้วย ส่วนหัว 1 ปล้อง ส่วนตัว 6 ปล้อง และส่วนหางอีก 1 ปล้อง ลักษณะของปล้องส่วนหัวมีกรีขนาดยาวประมาณ 0.8 เท่าของ

ความยาวเปลือกหัว สันกรีสอง ปลายกรีแคบ มีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมมีสีแดงอมน้ำตาล กรีด้านบนมี 8 ฟัน กรีด้านล่างมี 2 ฟัน ร่องบนกรีมองเห็นได้ชัด เปลือกหัวสีขาวอมชมพูถึงแดง ขาดินมีสีขาว เป็นลักษณะที่โดดเด่น หนวดมีสีแดง 2 เส้นยาว ตาสีแดงเข้ม เปลือกส่วนลำตัวมีสีขาวอมชมพูถึงแดง เปลือกบาง หน่ออกใหญ่ สามารถเคลื่อนไหวได้เร็ว ขาวขุ่นน้ำ 5 คู่ มีสีขาวข้างในที่ปลายมีสีแดง เปลือกส่วนปลายหางมีสีแดงเข้ม แพนหางมี 4 ใบ และ 1 กรีหาง กุ้งสายพันธุ์นี้เมื่อมีการเจริญเติบโต จะมีขนาดที่เล็กกว่ากุ้งกุลาดำ หากกินทุกระดับความลึกของน้ำ (ฉัฐชา เพชรดากุล และคณะ, 2551) ลักษณะปรากฏของกุ้งขาวเทียบกับกุ้งกุลาดำ แสดงดังภาพที่ 1 และภาพที่ 2



ภาพที่ 1. กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*)
ที่มา : FAO (2011a)



ภาพที่ 2. กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*)
ที่มา : FAO (2011b)

พฤติกรรมการดำรงชีวิตของกุ้งขาว

กุ้งขาวเป็นกุ้งที่มีความสามารถในการปรับตัวสูง จึงสามารถอาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลงในช่วงกว้าง เช่น ความเค็ม กุ้งขาวสามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มี

ระดับความเค็มตั้งแต่ 0 - 35 พีพีที (ส่วนในพันล้านส่วน) แต่ไม่ควรต่ำกว่า 3 พีพีที ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง และกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาร์วามีความต้านทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มอย่างเฉียบพลัน (Gomez-Jimenez *et al.*, 2004) การเลี้ยงกุ้งขาวมีระยะเวลาของการเจริญเติบโตที่เร็วกว่า กุ้งกุลาดำ และมีการลอกคราบบ่อย ดังนั้นกุ้งขาวจึงต้องการแร่ธาตุในปริมาณสูง โดยเฉพาะแมกนีเซียม และแคลเซียม ซึ่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความกระด้างและค่าความเป็นด่างของน้ำ (แก้วตา ลีเมง, 2548) กุ้งขาวมีความสามารถในการเคลื่อนที่ได้เร็ว และว่ายน้ำตลอดเวลา จึงต้องการออกซิเจนในการดำรงชีวิตสูงกว่ากุ้งกุลาดำ ดังนั้นระบบการให้อากาศในการเลี้ยงกุ้งขาว จึงต้องมีปริมาณออกซิเจน เพียงพอต่อความต้องการของระยะการเจริญเติบโตของกุ้งขาว (Wyban *et al.*, 1995) ดังนั้นกุ้งขาวสามารถกินได้ทั้งพืช สัตว์ และซากของสิ่งมีชีวิตที่อยู่บริเวณกลางน้ำ ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะเป็นอาหารกึ่งจมกึ่งลอยทั้งพืชและสัตว์ เป็นกุ้งที่กินอาหารในปริมาณมาก กินสหารายได้เมื่ออาหารอื่นไม่เพียงพอต่อความต้องการ โดยกุ้งขาวจะหากินในลักษณะกึ่งว่ายน้ำ กึ่งคลานตามพื้นบ่อ (แก้วตา ลีเมง, 2548) โดยปกติอุณหภูมิของน้ำจะเกิดการเปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิอากาศ ทำให้กุ้งขาวซึ่งเป็นสัตว์เลือดเย็นมีอุณหภูมิของร่างกายอยู่ในระดับเดียวกับอุณหภูมิน้ำ และสามารถเปลี่ยนแปลงไปตามการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิน้ำได้เช่นกัน (วิรัช จิวแหยม, 2544) อุณหภูมิมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมจะต้องมีอุณหภูมิน้ำอยู่ระหว่าง 26-33 องศาเซลเซียส ซึ่งหากอุณหภูมิจากการลดต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส ทำให้กุ้งขาวกินอาหารลดลงและส่งผลให้การเจริญเติบโตของกุ้งขาวลดลงด้วยเช่นกัน (ยนต์ มุสิก, 2539)

2. องค์ประกอบทางเคมีของกุ้ง

สัตว์น้ำโดยทั่วไปมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ คือ น้ำ โปรตีน และไขมัน ประมาณร้อยละ 98 ของน้ำหนักเนื้อทั้งหมด องค์ประกอบเหล่านี้มีผลต่อคุณค่าทางโภชนาการ สมบัติเชิงหน้าที่ คุณภาพด้านประสาทสัมผัส และอายุการเก็บรักษา สำหรับองค์ประกอบอื่นๆ เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และเกลือแร่ มีปริมาณน้อยแต่มีความสำคัญต่อกลิ่นรส และคุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณขององค์ประกอบหลักอาจเปลี่ยนแปลงตามชนิด ระยะการเจริญเติบโต และสภาวะทางโภชนาการของสัตว์น้ำ (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544) มีรายงานการตรวจวิเคราะห์ องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม พบว่ากุ้งขาวมีองค์ประกอบหลักที่ประกอบด้วย โปรตีนปริมาณสูงคือ ร้อยละ 18.75 โดยน้ำหนัก ซึ่งบอกได้ว่าเป็นแหล่งกรดอะมิโนที่ดี และกุ้งขาวมีไขมันต่ำคือ ร้อยละ 1.30 โดยน้ำหนัก ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1. องค์ประกอบทางเคมีของกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*)

| Composition | white shrimp (% wet weight) |
|-------------|-----------------------------|
| Moisture | 77.21 ± 0.18 |
| Ash | 1.47 ± 0.10 |
| Protein | 18.75 ± 0.23 |
| Fat | 1.30 ± 0.09 |

ที่มา : Sriket (2006)

3. ลักษณะและโครงสร้างของเปลือกกุ้ง

สัตว์น้ำในกลุ่มครัสเตเชีย เป็นกลุ่มสัตว์น้ำที่มีความหลากหลายมากที่สุดชนิดหนึ่ง มีเปลือกเป็น โครงสร้างที่ปกคลุมภายนอกของลำตัว เพื่อป้องกันอันตรายและอวัยวะภายใน และช่วยในการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อ

3.1 ลักษณะของเปลือก

มีความหนาและแข็ง สามารถแบ่งออกเป็น 2 ชั้น (ประจวบ หล้าอุบล, 2537; ไพโรจน์ พวงลดดา, 2538) ดังนี้

3.1.1 เอพิคิวติเคิล (Epicuticle) เป็นเปลือกชั้นนอกสุด ชั้นนี้ไม่มีสารประเภทไคติน (Chitin) แต่จะมีปริมาณแคลเซียมมาก เปลือกชั้นนี้ประกอบด้วยไลปิดและเกลือแคลเซียม สีของเอพิคิวติเคิลเป็นสีเหลืองอ่อน มีเอนไซม์โพลีฟีนอล ออกซิเดส (Polyphenol oxidase) และควิโนนแทนนิง (Quinine tanning) เป็นสารที่ให้ความแข็งแรงแก่คิวติเคิล

3.1.2 ชั้นเอ็กโซคิวติเคิล (Exocuticle) เป็นชั้นถัดจากชั้นเอพิคิวติเคิลลงไป ชั้นนี้ประกอบด้วยสารไคตินและแคลเซียม นอกจากนั้นชั้นนี้ยังมีรงควัตถุคล้ายเมลานินกระจายอยู่ทั่วไปอีกด้วย เรียกชั้นนี้ว่า pigment layer มีชั้นบางๆตามแนวนอนซึ่งมีช่องว่างภายใน

3.1.3 ชั้นเอ็นโดคิวติเคิล (Endocuticle) เป็นชั้นที่ถัดลงมาจกชั้นเอ็กโซคิวติเคิล ชั้นนี้ประกอบด้วยสารไคตินและแคลเซียมเช่นเดียวกับชั้นเอ็กโซคิวติเคิล แต่ชั้นนี้มีแคลเซียมมากกว่า ชั้นเอ็นโดคิวติเคิลเป็นชั้นที่คิวติเคิลมีความหนามากที่สุด ชั้นนี้ไม่มี Vacuoles และรงควัตถุคล้ายเมลานินเรียกชั้นนี้ว่า ชั้นแคลซิฟายด์ เลเยอร์ (Calcified layer) ในสัตว์พวกกุ้งและปูชั้นนี้จะมีการแพร่ของรงควัตถุสีน้ำเงิน (Blue pigment)

3.1.4 ชั้นเมมเบรนัส หรือ อันแคลซิฟายด์ เลเยอร์ (membranous หรือ uncalcified layer) เป็นชั้นในสุดของคิวติเคิล องค์ประกอบหลักของชั้นนี้คือ สารไคตินและโปรตีนซึ่งอยู่ในรูป

สารประกอบเชิงซ้อนของไคตินกับโปรตีน (Chitin-protein complex) ซึ่งไม่มีการสะสมเกลือแคลเซียม เป็นชั้นที่มีการเปลี่ยนแปลงก่อนการลอกคราบ

3.2 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของเปลือกสัตว์น้ำกลุ่มครัสเตเชีย มีดังนี้

3.2.1 สารไคติน จัดเป็นสารโพลีเมอร์ (Polymer) ของแอนไฮโดรเอซีดีกลูโคซามีน (anhydro-N-acetylglucosamine) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้ากลูโคซิดิก (B-glucosidic) ระหว่างคาร์บอนอะตอม 1 และ 4 ของโมเลกุล (สุทรวัดน์ เบญจกุล, 2534) พบมากในชั้น Calcified cuticle ของสัตว์พวกกุ้งปู ซึ่งพบไคตินเป็นส่วนประกอบอยู่ประมาณร้อยละ 60 ถึงร้อยละ 80 ของน้ำหนักแห้งของส่วนที่เป็นสารอินทรีย์ของเปลือก

3.2.2 แคลเซียมคาร์บอเนต เป็นส่วนประกอบทางเคมีที่สำคัญมากของโครงร่างภายนอก (Exoskeleton) ของสัตว์พวกครัสเตเชีย อยู่ในรูปของแคลไซต์ (Calcite) ทั้งที่เป็นผลึกขนาดเล็กและขนาดใหญ่ (จิราภรณ์ ไตรศักดิ์, 2533)

3.2.3 โปรตีน มีปริมาณที่น้อยกว่าไคตินและแคลเซียมคาร์บอเนต ซึ่งอยู่ในรูปของโปรตีนที่ละลายในน้ำ และไม่ละลายน้ำ ส่วนใหญ่โปรตีนที่พบในเปลือกจะรวมตัวกับไคติน โดยพันธะที่เชื่อมต่อกันนั้นจะแข็งแรง

เมื่อมีการเจริญเติบโตสัตว์น้ำกลุ่มครัสเตเชียจำพวกกุ้งนี้ จำเป็นต้องมีการลอกคราบเพื่อขยายขนาดของลำตัว เมื่อมีการลอกคราบเปลือกชั้นเอพิคิวติเคิลมีความสำคัญในการช่วยป้องกันความคงตัวของสัตว์จากสภาพแวดล้อมภายนอก จึงต้องสร้างเปลือกใหม่ขึ้นมาก่อนการสลัดเปลือกเก่าออก หลังจากนั้นจึงสร้างชั้นเอนโดคิวติเคิลตามมาในระยะเวลาที่สลัดเปลือกเก่าออก ซึ่งเป็นช่วงวิกฤตอย่างยิ่งของครัสเตเชียกลุ่มนี้ เมื่อคิวติเคิลใหม่ยังไม่สมบูรณ์และมีลักษณะอ่อนนุ่ม ส่งผลให้ปริมาณเกลือแร่ที่สะสมอยู่ในเปลือกครัสเตเชียมีปริมาณที่เปลี่ยนแปลงไปตามระยะของวงจรการลอกคราบ (ประจวบ หล้าอุบล, 2537) การเปลี่ยนแปลงของเปลือกในกระบวนการลอกคราบ มี 2 ขั้นตอนที่สำคัญ คือ การทำให้เปลือกนิ่ม หรือการละลายของเนื้อเยื่อชั้นในของเปลือกเก่าให้หลุดออกจากเอพิเดอมิส และการเจริญของเปลือกใหม่ (ไพโรจน์ พวงลดา, 2538)

3.3 วงจรการลอกคราบของกุ้ง แบ่งออกเป็นระยะต่างๆ ดังนี้

3.3.1 ระยะที่ 1 Proecdysis หรือ Premolt เป็นระยะที่สัตว์เตรียมตัวในการลอกคราบ มีการดึงแคลเซียมออกจากเปลือกเก่า โดยมีกลุ่มเซลล์และอวัยวะที่สร้างฮอร์โมนเพื่อควบคุมการลอกคราบคือ Y-organ ซึ่งเป็นอวัยวะกลุ่มขั้วสารที่สร้าง Molting Hormone ของสัตว์สามารถผลิตฮอร์โมนลอกคราบมากขึ้น ขณะที่ฮอร์โมนยับยั้งการลอกคราบลดลง ซึ่งมีผลทำให้เปลือกเปราะและแตก ปริมาณแคลเซียมในเลือดสูง เนื่องจากแคลเซียมเป็นแร่ธาตุที่จะต้องใช้ในการพัฒนาเปลือกชุดใหม่ ระยะนี้สัตว์จะไม่กินอาหารและไม่เคลื่อนที่ ก่อนการลอกคราบจะมีการสะสม

อาหารพวกไขมัน คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม และแมกนีเซียม ไว้ใน Hepatopancreas เมื่อมีการสะสมอาหารไว้ใน Hepatopancreas อย่างเพียงพอแล้ว จะมีผลไปกระตุ้นให้การทำงานของประสาทส่วนกลาง จะทำให้เกิดการลอกคราบเร็วขึ้น (Holland and Skinner, 1976)

3.3.2 ระยะเวลาที่ 2 Ecdysis หรือ Molt เป็นระยะที่เปลือกเก่าแยกหรือแตกออก

3.3.3 ระยะเวลาที่ 3 Metaecdysis หรือ Postmolt เป็นระยะที่เปลือกใหม่มีโครงสร้างภายนอกอ่อนนุ่ม สามารถยืดหยุ่นได้ สามารถดูดซึมน้ำเข้าร่างกาย และสะสมแร่ธาตุที่เปลือกใหม่ ทำให้เนื้อแน่นขึ้น และมีการเจริญเติบโตขึ้น มีการสร้างฮอร์โมนยับยั้งการลอกคราบมากขึ้น และมีผลไปยับยั้งการทำงานของอวัยวะ Y-organ ของสัตว์ ทำให้ฮอร์โมนการลอกคราบลดลง (Holland and Skinner, 1976)

3.3.4 ระยะเวลาที่ 4 Intermolt เป็นระยะที่สัตว์เข้าสู่ภาวะปกติ ส่วนของเปลือกชุดใหม่แข็งแรงเพิ่มขึ้น มีการสร้างแคลเซียมในเลือดต่ำ เมื่อเปลือกชุดใหม่แข็งเพียงพอแล้ว สัตว์จะเคลื่อนไหวและเริ่มกินอาหารได้ อาหารที่เหลือจะถูกเก็บไว้ใน Hepatopancreas ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูปไขมันหรืออาจอยู่ในรูปไกลโคเจน และโปรตีน

4. การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของสัตว์น้ำ

สัตว์น้ำมีชีวิต มีองค์ประกอบของสารชีวโมเลกุลหลายชนิดได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต กรดนิวคลีอิก ไขมัน แร่ธาตุ น้ำ รวมทั้งหน่วยย่อยของสารโมเลกุลใหญ่ เช่น กรดอะมิโน นิวคลีโอไทด์ และน้ำตาล ระดับของสารประกอบเหล่านี้ในเนื้อเยื่อของสัตว์ขณะที่มีชีวิตปกติจะถูกรักษาให้อยู่ในสภาพสมดุลโดยผ่านกระบวนการสังเคราะห์ (Catabolic pathways) ด้วยกลไกที่ซับซ้อน (Lehninger, 1985) แต่ภายหลังจากสัตว์ตายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายในเนื้อเยื่อที่สำคัญ คือ

4.1 ระยะเวลาก่อนการเกร็งตัว (Pre-Rigor Mortis Stage)

เริ่มตั้งแต่สัตว์น้ำตาย การขนส่งออกซิเจนจะหยุดชะงักทำให้เนื้อเยื่อขาดออกซิเจน แต่ยังมีชีวิตต้องการพลังงานในรูปของ ATP โดยกระบวนการ ATP hydrolysis และมีการสร้าง ATP ใหม่ขึ้นมาชดเชยจึงทำให้ปริมาณ ATP ในเนื้อเยื่อมีปริมาณคงที่อยู่ชั่วเวลาหนึ่ง เป็นระยะที่ยังไม่เกิดการเกร็งตัว จึงเรียกระยะก่อนการเกร็งตัว การขาดออกซิเจนของเนื้อเยื่อทำให้เกิดการสร้าง ATP จากกลูโคสแบบไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งเป็นผลให้ระดับความเป็นกรดต่างของเนื้อเยื่อลดต่ำลง เนื่องจากมีการผลิตกรดเกิดขึ้น

4.2 ระยะการเกร็งตัว (Rigor Mortis Stage)

เป็นระยะการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังที่สัตว์ตายแล้ว เกิดขึ้นเนื่องจากโปรตีนที่ประกอบอยู่ในเส้นใยเนื้อเยื่อ คือ Actin รวมตัวกับ Myosin ได้ Actomyosin ซึ่งการรวมตัวนี้อาศัยพลังงานจาก ATP แต่ปริมาณ ATP ในเนื้อเยื่อของสัตว์เริ่มลดต่ำลง ทำให้เกิดการรวมตัวอย่างถาวรของ Actomyosin เพิ่มมากขึ้น เป็นผลให้กล้ามเนื้อเริ่มเกิดการเกร็งแข็งและสูญเสียความสามารถในการยืดตัว (Extensibility)

4.3 ระยะหลังการเกร็งตัว (Post Rigor Stage)

เมื่อสิ้นสุดระยะของการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ กล้ามเนื้อจะค่อยๆ อ่อนตัวลง ทั้งนี้เป็นผลจากการย่อยสลายเนื่องจากเอนไซม์ภายในกล้ามเนื้อนั่นเอง นอกจากนี้อาจมีปฏิกิริยาจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเนื้อเยื่อเกิดร่วมด้วย เมื่อปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลานานจะเกิดการอ่อนตัวและยุบและไปในที่สุด (สุทรวัดน์ เบญจกุล, 2544)

5. การตรวจวัดคุณภาพสัตว์น้ำ

สัตว์น้ำที่มีคุณภาพสูงในเชิงอุตสาหกรรมหมายถึง สัตว์น้ำที่มีราคาแพงและมีขนาดใหญ่ สำหรับผู้บริโภคจะให้ความสำคัญของคุณภาพ เช่น ลักษณะปรากฏ ความสด หรือการเน่าเสีย ในแง่ของรัฐบาลจะเกี่ยวข้องกับความปลอดภัย ดังนั้นสัตว์น้ำที่มีคุณภาพดี จึงหมายถึงสัตว์น้ำที่ปราศจากสารที่มีอันตรายและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (สุทรวัดน์ เบญจกุล, 2544) คุณภาพของสัตว์น้ำที่มีความสำคัญที่สุด คือ ความสด (Freshness) ทั้งนี้เพราะสัตว์น้ำเป็นวัตถุดิบที่เสื่อมคุณภาพง่าย (Perishable) โดยทันทีที่สัตว์น้ำตายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ ปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้สัตว์น้ำมีความสดลดลง เช่น อุณหภูมิภายในตัวสัตว์น้ำ อุณหภูมิภายในสัตว์น้ำต่ำ ปฏิกิริยาของเอนไซม์และปฏิกิริยาเคมีต่างๆจะเกิดได้ซ้ำทำให้การเจริญของจุลินทรีย์มีอัตราลดลง จึงช่วยรักษาคุณภาพของสัตว์น้ำให้คงความสดอยู่ได้นาน การระวังรักษาความสะอาด เครื่องมือเครื่องใช้ การแช่เยือกแข็งและการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็งจึงเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเน่าเสียของอาหารจากจุลินทรีย์ (Sriket, 2006) วิธีการตรวจวัดคุณภาพสัตว์น้ำ (กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ, 2548) แบ่งได้ดังนี้

5.1 การตรวจวัดทางประสาทสัมผัส (Sensory Methods) เพื่อการตรวจวัดคุณภาพผลิตภัณฑ์ โดยใช้ระบบประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบ เพื่อประเมินคุณลักษณะด้าน รสชาติ กลิ่น สี และลักษณะเนื้อสัมผัส โดยกำหนดค่าของตัวเลขแสดงเป็นระดับคะแนน และใช้การวิเคราะห์ทางสถิติมาช่วยในการสร้างความน่าเชื่อถือของข้อมูลที่ตรวจวัด (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2545)

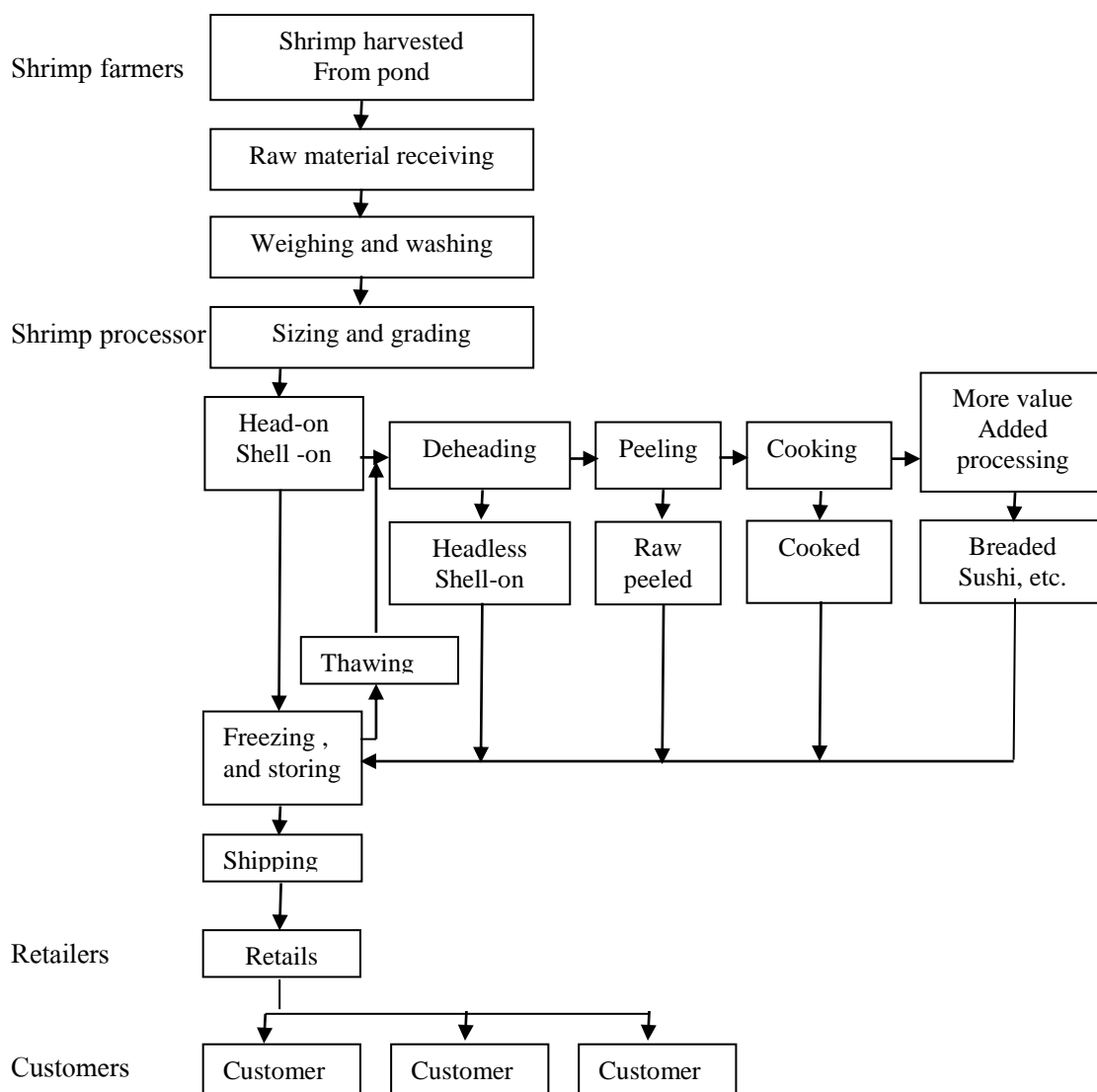
5.2 การตรวจวัดทางกายภาพ (Physical Methods) เป็นการตรวจวัดคุณภาพด้วยเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ เช่น ค่าอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์ ค่าออกซิเจนละลายน้ำด้วยเครื่องวัดค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO Meter) ค่าพีเอชด้วยเครื่องวัดพีเอช (pH Meter)

5.3 การตรวจวัดทางเคมีและชีวเคมี (Chemical and Biochemical Methods) เป็นการตรวจวัดสารเคมีต่างๆที่อยู่ในสัตว์น้ำ ที่เป็นตัวชี้วัดคุณภาพด้านความสดและความปลอดภัยของผู้บริโภค เช่น โลหะหนักที่เป็นพิษหรือตกค้าง (ปรอท ตะกั่ว แคดเมียม) สารชีวพิษ (PSP, DSP) เป็นต้น โดยปริมาณสารแต่ละชนิดไม่ให้เกินมาตรฐานที่กำหนดไว้เพื่อความปลอดภัยสำหรับการบริโภค

5.4 การตรวจวัดทางจุลินทรีย์ (Microbiological Methods) เป็นการตรวจวัดทางด้านความปลอดภัยทางด้านจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอาหารและก่อโรค และเป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสีย เมื่อผู้บริโภคได้รับเข้าไป มีผลทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรคอหิวาตกโรค มีอาการปวดท้อง ท้องเสีย เนื่องจากมีเชื้อ *Vibrio cholera* โรคไทฟอยด์ เนื่องจากเชื้อ *Salmonella typhi* เป็นต้น แต่ทางด้านความสดสามารถวัดคุณภาพโดยการตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count, TPC) ถ้า TPC เกิน 10^5 cfu/g แสดงว่าไม่ค่อยสด (กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ, 2548)

6. ระบบการจัดการห่วงโซ่อุปทานของกุ้งไทย

Pathumnakul และคณะ (2009) ได้ศึกษาระบบการจัดการห่วงโซ่อุปทานของกุ้งไทย แสดงดังภาพที่ 3 พบว่าเริ่มจากการจับกุ้งจากบ่อโดยชาวประมง ส่งมายังผู้รับโดยผ่านขั้นตอนการรับวัตถุดิบ การชั่ง และการคัดขนาด แล้วแยกออกเป็นกุ้งทั้งตัว และกุ้งที่เอาหัวออก โดยกุ้งทั้งตัวจะเข้าสู่กระบวนการแช่เยือกแข็งและจัดเก็บ ส่วนกุ้งที่เอาหัวออกจะเข้าสู่กระบวนการโดยการปอก เปลือก ทำให้สุก และแปรรูปให้เป็นสินค้าที่มีมูลค่ามากขึ้น แล้วนำออกจำหน่ายในตลาดจากระบบดังกล่าวทำให้เห็นภาพรวมของระบบห่วงโซ่อุปทานของกุ้งไทย โดยทำให้เกิดการประสานงานและร่วมมือกันตั้งแต่กระบวนการจากผู้ส่งมอบวัตถุดิบไปยังผู้ผลิต ผู้กระจายสินค้า ผู้แทนจำหน่าย จนกระทั่งผู้บริโภค ทำให้สามารถปรับระบบการทำงานให้สอดคล้องกัน แบ่งปันข้อมูลที่จำเป็นเพื่อความคล่องตัวในการดำเนินงาน และใช้ทรัพยากรที่มีอย่างจำกัดให้เกิดประโยชน์สูงสุดร่วมกัน



ภาพที่ 3. ห่วงโซ่อุปทานของกุ้งไทย

ที่มา: Pathumnakul และคณะ (2009)

7. แนวทางการจัดการวัตถุดิบ

การจัดการวัตถุดิบที่ไม่ถูกต้องและไม่เหมาะสม ทำให้วัตถุดิบมีปัญหาค่าเสื่อมคุณภาพ การปนเปื้อนจุลินทรีย์และสิ่งแปลกปลอมอื่น ดังนั้นเพื่อให้วัตถุดิบได้รับการจัดการตั้งแต่บ่อเลี้ยง ระหว่างขนส่งและการแปรรูปเบื้องต้น รวมถึงการแปรรูปในโรงงานอุตสาหกรรม อย่างมีมาตรฐานและถูกสุขลักษณะอนามัยของสินค้า โดยสามารถประยุกต์กับวัตถุดิบกุ้งสด ได้ดังนี้

7.1 การจัดการหลังการจับ

หลังการจับกุ้งขึ้นมาจากบ่อเลี้ยงควรมีการล้างด้วยน้ำในบ่อเลี้ยงที่สะอาดหรือน้ำสะอาดทันที จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนัก สำหรับการจับเก็บกุ้งมีชีวิตบนรถบรรทุกนิยมนำไซรด์ที่มีการเติมออกซิเจนในน้ำ แล้วใส่น้ำแข็งเพื่อปรับอุณหภูมิ โดยรักษาอุณหภูมิน้ำไว้ไม่เกิน 20 องศาเซลเซียส จะทำให้ยังคงรักษาสภาพความมีชีวิตและความสดไว้ได้นาน (นงลักษณ์ สุทธิวิช, 2531)

7.2 การจัดการระหว่างขนส่ง

การขนส่งกุ้งสดมีชีวิตควรนำส่งเข้าโรงงานแปรรูปให้เร็วที่สุดเพื่อป้องกันการตายของกุ้งระหว่างการขนส่ง โดยกำหนดระยะเวลาการขนส่งไม่ควรเกิน 2 ชั่วโมง ขณะขนส่งใส่ออกซิเจนและรักษารักษาอุณหภูมิน้ำไว้ไม่เกิน 20 องศาเซลเซียส

7.3 การจัดการก่อนการแปรรูป

เมื่อรถบรรทุกกุ้งมาถึงยังโรงงานแปรรูป ฝ่ายผลิตควรจัดการขนถ่ายอย่างรวดเร็วและด้วยความระมัดระวัง โดยการเปิดท้ายตู้แล้วนำถังใส่กุ้งลงมาจากรถ จากด้านท้ายลงมาก่อน พร้อมทั้งการเปิดน้ำในถังออกอย่างเบาๆ ให้ค่อยๆลดระดับต่ำลง จากนั้นจึงลำเลียงกุ้งในถังจากรถลงสู่สายพานลำเลียงเข้าสู่แผนกรับวัตถุดิบ ผ่านการล้างน้ำคลอรีนที่มีความเข้มข้นของคลอรีนที่เหมาะสม อุณหภูมิน้ำล้างต้องไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส และมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำล้างกุ้งเมื่อล้างกุ้งครบ 1 คันรถ หลังจากล้างน้ำคลอรีนแล้วจึงล้างน้ำเปล่าอีกครั้งหนึ่ง ก่อนทำการชั่งน้ำหนักของวัตถุดิบบันทึกน้ำหนักของวัตถุดิบ ลำเลียงกระบะใส่กุ้งสู่ขั้นตอนถัดไป

8. กระบวนการแช่เยือกแข็ง

การแช่เยือกแข็งคือการลดอุณหภูมิของอาหารหรือผลิตภัณฑ์นั้นให้ต่ำลงจนถึงระดับที่สิ่งมีชีวิตนั้นไม่สามารถดำเนินปฏิกิริยาทางชีวเคมีต่อไปได้ จุลินทรีย์ที่ปะปนอยู่ชะงักการเจริญเติบโตและหยุดกระบวนการทางเมแทบอลิซึมลง แต่เนื้อเยื่อของอาหารยังคงลักษณะอยู่ได้ โดยทั่วไปมักใช้อุณหภูมิ - 18 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่าซึ่งหลักสำคัญคือการเปลี่ยนสภาวะของน้ำในอาหารที่เป็นของเหลวให้เป็นของแข็งเพื่อป้องกันน้ำเข้าไปทำหน้าที่ต่างๆ ในปฏิกิริยาเคมีและไม่เป็นสารอาหารให้กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ปะปนมากับอาหารได้ การแช่แข็งในอุตสาหกรรมมีหลายวิธีด้วยกัน ดังนี้ (คณาจารย์คณะอุตสาหกรรมเกษตร, 2549)

8.1 การแช่เยือกแข็งโดยใช้อากาศเย็นจัด (Air Freezing) เป็นการนำอาหารที่อาจจะห่อหุ้มด้วยภาชนะบรรจุหรือไม่ได้ก็ได้แล้วนำไปวางไว้ในห้องที่มีความเย็นจัดซึ่งมีระดับอุณหภูมิ - 18 องศาเซลเซียส ถึง - 40 องศาเซลเซียส บางครั้งนิยมเรียกว่า Sharp freezing ซึ่งการหมุนเวียนอากาศในห้องเย็นเป็นแบบการพา (Convection) และผลิตภัณฑ์ก็เย็นตัวลงโดยวิธีการพาแบบธรรมชาติ จึงทำให้อัตราการแช่เยือกแข็งช้ามาก ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 3 ถึง 72 ชั่วโมง วิธีนี้เป็นวิธีแช่เยือกแข็งแบบช้าซึ่งมีผลกระทบต่อคุณภาพต่อคุณภาพอาหารมากและเสียเวลามาก ต่อมาได้มีการคิดแปลงวิธีการเสียใหม่โดยอาศัยวิธีทำให้อากาศภายในห้องมีการหมุนเวียนเร็วขึ้นเพื่อช่วยเร่งให้อัตราการแช่เยือกแข็งเร็วขึ้นอีก ถ้าเพิ่มอัตราเร็วของอากาศโดยใช้เวลาการแช่เยือกแข็งที่น้อยกว่า 4 ชั่วโมงวิธีการนี้เรียกว่า Air-blast freezing วิธีนี้คือการนำผลิตภัณฑ์ที่ต้องการแช่เยือกแข็งวางบนถาดหรือวางบนสายพาน โลหะที่มีรู แล้วเคลื่อนอาหารนี้เข้าไปในเครื่องที่มีการเป่าลมเย็นจัดลงไปบนอาหารนั้น ซึ่งมีระดับอุณหภูมิ - 18 องศาเซลเซียส ถึง - 34 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า สำหรับลมเย็นที่เป่าลงมาจะควบคุมการหมุนเวียนให้เป็นอย่างดีเหมาะสมจะเป็นเท่าไรนั้นขึ้นอยู่กับความหนาของผลิตภัณฑ์ที่จะนำไปแช่เยือกแข็ง ลมเย็นที่เป่าสู่อาหารมักจะทำในทิศทางตรงข้ามกับการเคลื่อนที่ของอาหารเข้าสู่เครื่อง ลักษณะของเครื่องแช่เยือกแข็งที่ออกแบบมาในระบบของ Air-blast freezing แบ่งได้ 2 แบบใหญ่ๆ

8.1.1 Fixed Position Freezers หมายถึงผลิตภัณฑ์ที่ส่งเข้าแช่เยือกแข็งจะนั่งอยู่กับที่ไม่มีใครเปลี่ยนที่วางเลย เครื่องแช่เยือกแข็งในแบบนี้มีการออกแบบทั้งในรูปแบบไม่ต่อเนื่อง (Batch type) แบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-continuous freezer) และแบบต่อเนื่อง (Continuous freezer) สำหรับเครื่องแช่เยือกแข็งแบบไม่ต่อเนื่องอาจจะมีทั้งแบบตู้ (Cabinet blast freezer) และแบบอุโมงค์ (Tunnel blast freezer) ส่วนแบบกึ่งต่อเนื่องมักเป็นแบบอุโมงค์เหมือนกันแต่จะมีเครื่องมือช่วยส่งล้อเลื่อนซึ่งมีถาดของแข็งเข้าสู่เครื่องตามช่วงเวลาที่ได้คำนวณไว้เรียบร้อยแล้วโดยไม่ต้องมีคนช่วย บางครั้งนิยมเรียกระบบนี้ว่า Tray and truck system ซึ่งเป็นแบบที่ใช้กว้างขวางมากในอุตสาหกรรม สำหรับในแบบต่อเนื่องมักจะเรียกว่า Chain conveyor freezer

8.1.2 Fluidizing Freezers การทำงานประกอบด้วยการเป่าอากาศเย็นจัดด้วยกำลังสูงจนทำให้มีแรงดันให้ชิ้นอาหารมีการเคลื่อนที่ตลอดเวลาขณะผ่านลมเย็น

8.2 การแช่เยือกแข็งแบบสัมผัสแผ่นโลหะเย็นจัด (Plate Freezing หรือ Contact Plate Freezing) เป็นวิธีการแช่เยือกแข็งโดยการนำอาหารที่ต้องการแช่เยือกแข็งมาวางระหว่างแผ่นโลหะกลวง โดยอาจวางเฉยๆหรืออาจใช้แรงกดช่วยในระหว่างแผ่นโลหะ 2 ชั้น ภายในช่องว่างของแผ่นโลหะทำให้เย็นด้วยสารทำความเย็นที่ถูกเปลี่ยนจากไอไปเป็นของเหลว

8.3 การแช่เยือกแข็งแบบจุ่มในของเหลวเย็นจัด (Liquid-Immersion Freezing หรือ Direct-Immersion Freezing) การแช่เยือกแข็งวิธีนี้ทำได้โดยนำผลิตภัณฑ์ที่ต้องการแช่เยือกแข็งมาหุ้มห่อด้วยภาชนะบรรจุหรืออาจไม่มีการหุ้มห่อเลยก็ได้ จุ่มลงในถังของเหลวที่จะคงสภาพเป็นของเหลวอยู่ได้ที่ อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่านั้น และต้องไม่เป็นพิษ ไม่มีกลิ่น ไม่มีผลกระทบต่อองค์ประกอบและคุณลักษณะของอาหาร

8.4 การแช่เยือกแข็งแบบไครโอจินิก (Cryogenic Freezing) เป็นการแช่เยือกแข็งที่มีอัตราเร็วสูงสุดจัดอยู่ในขั้น Ultra rapid freezing rate ทำได้โดยการนำเอาสิ่งที่ต้องการแช่เยือกแข็งโดยไม่มีการหุ้มห่อหรืออาจจะหุ้มห่อด้วยวัสดุชนิดบางจุ่มลงในสารไครโอเจน (Cryogen) ของเหลวที่มีจุดเดือด (Boiling point) ต่ำมาก ใช้เป็นตัวกลางสำหรับการแช่เยือกแข็งอาหารซึ่งการดึงความร้อนออกจากผลิตภัณฑ์โดยการแช่เยือกแข็งวิธีนี้จะเข้าไปในระหว่างการเปลี่ยนสถานะสารไครโอเจน ซึ่งเป็นจุดที่ต่างจากวิธีการแช่เยือกแข็งแบบจุ่ม สารไครโอเจนที่นิยมใช้กับอาหารเช่น ไนโตรเจนเหลว คาร์บอน ไดออกไซด์เหลว คาร์บอน ไดออกไซด์แข็ง ไนตรัสออกไซด์ ฟลูออโรคาร์บอนเหลว เป็นต้น

วิธีการแช่เยือกแข็งที่ดีและเหมาะสมเพียงอย่างเดียวจะไม่ช่วยให้คุณภาพผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งดีที่สุดได้ เพราะผลิตภัณฑ์นั้นต้องนำมาเก็บรักษาไว้ก่อนส่งจำหน่ายถึงผู้บริโภค ถ้าเก็บไว้ในสภาพที่ไม่เหมาะสม คุณภาพจะลดลงมากในช่วงของการเก็บรักษานี้ จึงทำให้เป็นข้อเสียเปรียบจากผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการถนอมอาหารโดยวิธีอื่นในทางการค้า เพราะทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น ถ้าเก็บรักษาให้อยู่ในสภาพที่ดีมีระดับความเย็นเหมาะสม มีฉนวนป้องกันเพื่อรักษาระดับอุณหภูมิในห้องแช่แข็งที่อยู่ตลอดเวลา และควรอยู่ในระดับต่ำเพื่อป้องกันจุลินทรีย์ที่ปะปนมาหยุดการทำงาน โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆเกิดขึ้นกับอาหาร ซึ่งอุณหภูมิดังกล่าวควรอยู่ในระดับ -18 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า สำหรับอาหารและผลิตภัณฑ์ที่เสื่อมเสียง่ายทุกชนิดก่อนเก็บรักษาต้องแน่ใจว่าใจกลางของชิ้นอาหารนั้นมีอุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสด้วย หรืออีกนัยหนึ่งก็คือ อาหารนั้นๆต้องผ่านการแช่เยือกแข็งมาอย่างสมบูรณ์แล้วเท่านั้น ต้องไม่นำห้องเก็บอาหารแช่เยือกแข็งมาใช้เพื่อทำการแช่เยือกแข็งอาหารโดยเด็ดขาด (คณาจารย์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร, 2549)

9. การเกิดจุดขาวของเปลือกกุ้ง

การเกิดลักษณะปรากฏเป็นจุดขาวที่เปลือกของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง ได้มีการสันนิษฐานว่าอาจเนื่องจากวัฏดุคิบัเริ่มต้นที่มีอาการตัวแดงดวงขาวของโรคที่เกิดจากไวรัสตัวแดงดวงขาว (White Spot Syndrome: WSSV) แต่มีลักษณะที่ต่างจากลักษณะจุดขาวที่

เกิดขึ้นหลังการตายและเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็งเป็นเวลานาน ดังนั้นจึงขอกกล่าวถึงสาเหตุของการเกิดจุดขาวไว้ ดังนี้

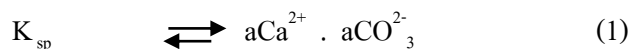
9.1 การเกิดจุดขาวจากไวรัสตัวแดงดวงขาว (White Spot Syndrome: WSSV)

กึ่งขณะมีชีวิตพบว่ามีอาการตัวแดงและมีจุดขาว เกิดจากโรคที่เกิดจากไวรัสตัวแดงดวงขาว ซึ่งเรียกอาการดังกล่าวว่า White Spot Syndrome (WSSV) พบว่ากึ่งที่แสดงอาการตัวแดงและมีจุดขาวในเปลือกและผิวหนัง ไม่ได้เป็นอาการที่เกิดขึ้นในระยะสุดท้ายของการได้รับไวรัสตัวแดงดวงขาวเสมอไป กึ่งที่ได้รับไวรัสตัวแดงดวงขาวและมีอาการลำตัวเป็นดวงขาวอาจมีชีวิตอยู่รอดได้ ถ้าเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่ก่อให้เกิดอาการเครียดแก่กึ่ง ในระหว่างที่ได้รับไวรัส กึ่งสามารถกินอาหารได้น้อยลง ต่อมาเมื่ออัตราการตายสูงซึ่งสังเกตเห็นได้ภายใน 2-3 วัน หลังจากได้รับการติดเชื้อไวรัสดังกล่าว และสามารถทำให้กึ่งตายได้ทั้งหมด ซึ่งจะส่งผลทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างมาก (Lightner, 1998)

จากผลการตรวจเนื้อเยื่อจากอวัยวะต่างๆ ที่มีการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว พบลักษณะของการติดเชื้อน้ำตาลภายในนิวเคลียส แสดงว่าไวรัสตัวแดงดวงขาวซึ่งเป็น DNA virus มีการเพิ่มจำนวนภายในนิวเคลียส โดยนิวเคลียสจะมีการรวมโตผิดปกติ อวัยวะเป้าหมายในการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวได้แก่ เหงือก เนื้อเยื่อน้ำเหลือง และเนื้อเยื่อใต้เปลือก สามารถยืนยันผลการติดเชื้อไวรัสได้อย่างดีด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) ซึ่งสามารถตรวจสอบการชันสูตรโรคดังกล่าวได้ตามมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ เรื่อง การชันสูตรโรคจุดขาวในกึ่ง (ภาคผนวก ง)

9.2 การเกิดจุดขาวจากผลึกแคลไซต์ (Calcite) และวาทีไรต์ (Vaterite)

มีรายงานว่าในขณะที่กึ่งมีชีวิตหรือภายหลังการจับใหม่ ๆ จะไม่พบจุดขาวบริเวณเปลือกกึ่ง แต่ภายหลังการเก็บรักษาภายใต้สภาวะแช่เยือกแข็งจะเกิดจุดขาวในเปลือก โดยเฉพาะเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลาเพิ่มขึ้น ขนาดของจุดขาวจะขยายใหญ่ขึ้นส่งผลต่อคุณภาพของกึ่งที่ลดลง (Mikkelsen *et al.*, 1997a) การเกิดจุดขาวที่เปลือกกึ่งดังกล่าว เนื่องจากการเกิดผลึกแคลไซต์ (Calcite) และวาทีไรต์ (Vaterite) ซึ่งเป็นโครงสร้างของแคลเซียมคาร์บอเนตที่เป็นส่วนประกอบอยู่ในร่างแหของไคติน โดยเปลือกกึ่งประกอบด้วยแคลเซียมและคาร์บอเนตไอออน เมื่อกึ่งผ่านขั้นตอนการแช่เยือกแข็ง น้ำจะรวมตัวกันเกิดเป็นผลึกน้ำแข็งทำให้คาร์บอเนตไอออนซึ่งเป็นตัวถูกละลายมีความเข้มข้นขึ้น การเกิดผลึกของแคลเซียมคาร์บอเนตเกิดขึ้นเมื่อค่าคงที่การละลาย (Solubility product constant : K_{sp}) สูงเกินกว่าความสัมพันธ์ระหว่างไอออนของแคลเซียมและคาร์บอเนต ดังสมการ (1)



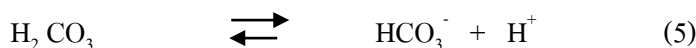
เมื่อ aCa^{2+} คือกิจกรรมของแคลเซียมไอออน

aCO_3^{2-} คือกิจกรรมของคาร์บอเนตไอออน

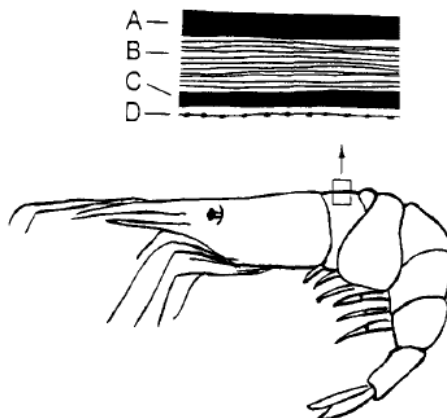
ค่าคงที่การละลาย (K_{sp}) ขึ้นกับอุณหภูมิ ความเค็ม รูปแบบ ความบริสุทธิ์ และขนาดผลึก โดยการจับตัวของไอออนทั้ง 2 ชนิดเกิดเป็นผลึก สามารถอธิบายได้ดังสมการที่ (2)



การเกิดผลึกแคลเซียมคาร์บอเนต ส่งผลให้ค่าพีเอชและความสมดุลของก๊าซและสารละลายเปลี่ยนแปลงดังสมการ (3) ถึง (6)



เมื่อมีคาร์บอเนตไอออนมากขึ้น ส่งผลให้เกิดผลึกของแคลเซียมคาร์บอเนตมากขึ้น ทำให้เปลือกกุ้งเป็นจุดขาวมากขึ้น (Mikkelsen *et al.*, 1997a) ซึ่งการเกิดจุดขาวในเปลือกกุ้งพบที่ชั้น B ของโครงสร้างเปลือกกุ้ง แสดงดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4. โครงสร้างของเปลือกกุ้ง (A) ชั้นพิวติเคิลชั้นนอก; (B) ชั้นเนื้อเยื่อที่ทำให้เกิดจุดขาว; (C) ชั้นเนื้อเยื่อที่มี a-chitin; (D) ชั้นพิวติเคิลชั้นในที่มีสาร astaxanthin

ที่มา : Mikkelsen และคณะ (1997a)

Mikkelsen และคณะ (1997b) ศึกษาการเกิดจุดขาวในเปลือกกุ้งสีชมพู (*Pandalus borealis*) ดิบ ระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง โดยศึกษาผลของฤดูกาล ขนาดกุ้ง ช่วงเวลาการแปรรูป การใช้สารเคมี และอุณหภูมิในการเก็บรักษา พบว่ากุ้งที่จับในฤดูร้อนมีแนวโน้มของ

การเกิดจุดขาวมากกว่ากุ้งที่จับในช่วงเวลาอื่น การใช้สารเคมีชนิด Sulphite, Phosphate หรือ Phthalate ก่อนการแช่เยือกแข็ง ช่วยชะลอการเกิดผลึกของแคลเซียมคาร์บอเนต ในขณะที่การใช้สารละลายบอแรกซ์ส่งผลเพิ่มการเกิดผลึกของแคลเซียมคาร์บอเนต ($p < 0.05$) การยืดเวลาจากการจับ ไปจนถึงการแช่สารเคมี และเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น มีความเสี่ยงของการเกิดจุดขาวมากขึ้น อุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อการเกิดจุดขาวอย่างมีนัยสำคัญโดยอัตราการเกิดเป็นไปตามปฏิกิริยาของ Arrhenius equation นอกจากนี้ยังพบว่าขนาดของกุ้งไม่มีอิทธิพลต่อการเกิดจุดขาว จึงสรุปได้ว่าการเกิดตะกอนของแคลเซียมคาร์บอเนตส่งผลให้เกิดจุดสีขาวในเปลือกกุ้ง ซึ่งอาจชะลอได้ด้วยการควบคุมช่วงเวลาของการแปรรูปให้สั้นลง ตลอดจนการใช้สารเคมีที่เหมาะสมและเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

Mikkelsen และคณะ (1997a) ได้รายงานว่าจุดขาวที่เกิดในเปลือกกุ้งสีชมพู (*Pandalus borealis*) ดิบระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็งที่นานขึ้นมีขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อทำการวิเคราะห์โดยการนำเปลือกกุ้งที่มีจุดขาวไปอบแห้ง แล้ววิเคราะห์ด้วย Infrared and Raman spectrophotometer, Scanning electron microscopy (SEM) และ Energy Dispersive X-ray analyses (EDX analyses) พบว่าจุดขาวประกอบด้วยผลึกของแคลเซียมคาร์บอเนตที่อยู่ในรูปผลึกของแคลไซต์ (Calcite) และวาทีไรต์ (Vaterite) และ Amorphous α - chitin ซึ่งสันนิษฐานว่า α - chitin มีบทบาทสำคัญในการเกิดผลึกที่ส่งผลต่อการเกิดจุดขาว และอัตราส่วนความเข้มข้นของ α - chitin กับแคลเซียมคาร์บอเนตในจุดขาว มีค่าคงที่ที่ 0.34 : 0.66 โดยไม่ได้ขึ้นกับการใช้สารเคมี

10. การวิเคราะห์หาสาเหตุที่ทำให้เกิดจุดขาวของเปลือกกุ้งขาว

การวิเคราะห์หาสาเหตุที่ทำให้เกิดจุดขาวของเปลือกกุ้งขาว จำเป็นต้องมีหลักเกณฑ์และวิธีการแก้ปัญหาที่เป็นระบบโดยเริ่มตั้งแต่ การตั้งปัญหา การวิเคราะห์ปัญหา และการค้นหาสาเหตุของปัญหา (วันรัตน์ จันทกิจ, 2547) เทคนิคที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์และแก้ไขปัญหา ได้แก่

10.1 การวิเคราะห์ปัญหาด้วยหลักการทำไม-ทำไม (Why Why Analysis) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์หาปัจจัยที่เป็นต้นเหตุให้เกิดปรากฏการณ์อย่างเป็นระบบ โดยการระดมสมองเพื่อถามคำถาม แล้วหาคำตอบที่มีเหตุผล จากสภาพความเป็นจริงของแต่ละสถานการณ์ อันเป็นที่มาของปัญหาเพื่อสร้างความเข้าใจเกี่ยวกับรายละเอียดของปัญหาให้ถูกต้องชัดเจน

10.2 การวิเคราะห์โดยใช้ทฤษฎีแกงปลาหรือแผนผังสาเหตุและผล (Cause and Effect Diagram) เป็นแผนผังที่ใช้ในการวิเคราะห์ค้นหาสาเหตุที่มีส่วนเกี่ยวข้องกันหรือสัมพันธ์กัน ที่

ส่งผลปรากฏตามมาในขั้นสุดท้าย โดยการระดมความคิดอย่างเป็นอิสระของทุกคนในกลุ่ม ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างคุณลักษณะทางคุณภาพกับปัจจัยที่เกี่ยวข้อง การกำหนดหัวข้อปัญหาควรกำหนดให้ชัดเจนและมีความเป็นไปได้ เทคนิคการระดมความคิดเพื่อให้ได้ก้างปลาที่เหมาะสม (สถาบันเพิ่มผลผลิตแห่งชาติ, 2550) แผนผังก้างปลาแสดงเหตุและผล ประกอบด้วยส่วนของปัญหาหรือผลลัพธ์ (Problem or Effect) ซึ่งจะแสดงอยู่ที่หัวปลา และส่วนสาเหตุ (Causes) ของปัญหา จะเขียนไว้ในก้างปลาแต่ละก้าง ก้างย่อยเป็นสาเหตุของก้างรอง และก้างรองเป็นสาเหตุของก้างหลัก เป็นต้น

การกำหนดปัจจัยบนก้างปลา สามารถกำหนดกลุ่มปัจจัยที่มั่นใจว่าปัจจัยนั้นสามารถช่วยแยกแยะและกำหนดสาเหตุได้อย่างเป็นระบบ และเป็นเหตุเป็นผล (วันรัตน์ จันทกิจ, 2547) ส่วนมากมักใช้หลักการ 4M 1E เป็นกลุ่มปัจจัย (Factors) ดังนี้

M - Man คนงาน หรือพนักงาน หรือบุคลากร

M - Machine เครื่องจักรหรืออุปกรณ์อำนวยความสะดวก

M - Material วัตถุดิบหรืออะไหล่ อุปกรณ์อื่นๆ ที่ใช้ในกระบวนการ

M - Method กระบวนการทำงาน

E - Environment อากาศ สถานที่ ความสว่าง และบรรยากาศการทำงาน

ประโยชน์ของการใช้ผังก้างปลา

1. ใช้เป็นเครื่องมือในการระดมความคิดจากสมองของทุกคน
2. แสดงให้เห็นสาเหตุต่าง ๆ ของปัญหา ของผลที่เกิดขึ้นที่มีมาอย่างต่อเนื่องจนถึงปมสำคัญที่นำไปปรับปรุงแก้ไข
3. แผนผังนี้สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ปัญหาต่าง ๆ

11. บทบาทของสารเคมีในการปรับปรุงคุณภาพและการป้องกันการเกิดจุดขาวของเปลือกกุ้ง

11.1 สารประกอบฟอสเฟต สารประกอบฟอสเฟตที่มีใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ สารประกอบออร์โทฟอสเฟต (Orthophosphates) และสารประกอบคอนเดนส์ฟอสเฟต (Condensed phosphates)

สารประกอบออร์โทฟอสเฟตประกอบด้วยฟอสฟอรัส 1 อะตอม ล้อมรอบด้วยออกซิเจน 4 อะตอม มีตำแหน่งที่จะรับอะตอมที่มีประจุบวกได้ 3 อะตอม ซึ่งอาจจะเป็นอะตอมไฮโดรเจนหรือไอออนบวกของโลหะที่เป็นด่างหรือทั้งสองอย่างรวมกัน

สารประกอบคอนเดนส์ฟอสเฟตประกอบด้วยฟอสฟอรัสตั้งแต่ 2 อะตอมขึ้นไป เชื่อมต่อกันด้วยออกซิเจน คอนเดนส์ฟอสเฟตเกิดจากการให้ความร้อนกับส่วนผสมของออร์โทฟอสเฟต ภายใต้สภาวะที่ควบคุม ฟอสเฟตที่มีฟอสฟอรัส 2 อะตอม เรียกว่า ไพโรฟอสเฟต (Pyrophosphate) ส่วนฟอสเฟตที่เรียงต่อเป็นโซ่ยาว มีฟอสฟอรัสมากกว่า 3 อะตอมขึ้นไป เรียกว่า พอลิฟอสเฟต (Polyphosphate) สำหรับฟอสเฟตที่จัดเรียงตัวเป็นวงแหวน เรียกว่า เมตาฟอสเฟต (Metaphosphate) ซึ่งปัจจุบันมีใช้เพียง 2 ชนิดคือ โซเดียมไตรเมตาฟอสเฟต (Sodium trimetaphosphate) และ โซเดียมเตตระเมตาฟอสเฟต (Sodium tetrametaphosphate) นอกจากนี้ อัลตราฟอสเฟต (Ultraposphate) เป็นสารประกอบฟอสเฟตอีกชนิดหนึ่งที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นกิ่งก้านของสารประกอบฟอสเฟตชนิดวงแหวนหรือชนิดโซ่ แต่ฟอสเฟตชนิดนี้มีการใช้ค่อนข้างจำกัดในทางการค้า สารประกอบฟอสเฟตเหล่านี้มีชื่อเรียก ลักษณะและสูตรโครงสร้างที่แตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 2

การใช้ฟอสเฟตในผลิตภัณฑ์อาหารทะเล

สารประกอบฟอสเฟตที่นิยมใช้ในอาหารทะเลจำพวกพอลิฟอสเฟต ซึ่งมีหลายชนิด เช่น โซเดียมแอซิดไพโรฟอสเฟต (Sodium acid pyrophosphate, SAPP) และ โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต (Sodium hexametaphosphate, SHMP) ใช้โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต (Sodium tripolyphosphate, STPP) มากที่สุด แต่โดยปกติมักนิยมใช้ร่วมกับฟอสเฟตชนิดอื่นๆ และสารประกอบอื่นๆ เช่น เกลือ สารกันหืน และสารกันบูด ในสัตว์น้ำแช่เยือกแข็ง ฟอสเฟตมีหน้าที่หลัก คือ ยืดอายุการเก็บรักษาโดยลด Freezer burn ซึ่งเกิดจากการสูญเสียน้ำบริเวณผิวหน้าของอาหารและลดการสูญเสียร่างกายหลังการทำละลาย (Thaw drip losses) และยับยั้งการหืนเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน การใช้นิยมพ่นสารละลายฟอสเฟตลงบนสัตว์น้ำหรือจุ่มสัตว์น้ำลงในสารละลาย (อาสีนะ หมัดเจริญ, 2547)

ฟอสเฟตสามารถเพิ่มคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสได้โดยฟอสเฟตสามารถช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ ซึ่งเข้าไปช่วยปรับสภาพต่างๆ ให้มีความเหมาะสมในการอุ้มน้ำของโมเลกุลโปรตีนให้เพิ่มความแข็งแรงและความสามารถในการอุ้มน้ำ มีผลทำให้ค่าพีเอชและความแรงไอออนเพิ่มขึ้นและทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโปรตีนที่จับอยู่กับแมกนีเซียมและแคลเซียมทำให้โปรตีนสามารถแตกตัวและมีคุณสมบัติในการรวมตัวหรือจับกับน้ำได้มากขึ้น ไพโรฟอสเฟต และไตรพอลิฟอสเฟตสามารถเพิ่มการละลายของโปรตีน และสามารถซึมผ่านชั้นเนื้อได้ดีกว่าเฮกซะเมตาฟอสเฟต ไพโรฟอสเฟตสามารถซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อได้มากที่สุด และไพโรฟอสเฟตยังทำให้เกิดการแตกตัวของแอคโตไมโอซินเป็นไมโอซิน และแอคติน ซึ่งการแตกตัวของ

แอกโตไมโอซินทำให้เกิดการขยายตัวของช่องว่างในไมโอไฟบริล ทำให้เพิ่มการดูดซับน้ำ (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2549)

ตารางที่ 2. ชนิดและโครงสร้างของสารประกอบฟอสเฟต

| Class of phosphate | Basic structure | Phosphate name | Generally accepted formula |
|--------------------------|---|--|---|
| Orthophosphate | $\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{MO}-\text{P}-\text{OM} \\ \\ \text{OM} \end{array}$ | Monosodium phosphate | NaH_2PO_4 |
| | | Disodium phosphate | Na_2HPO_4 |
| | | Disodium phosphate dehydrate | $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ |
| | | Tri Disodium phosphate | Na_3PO_4 |
| | | Monopotassium phosphate | KH_2PO_4 |
| | | Dipotassium phosphate | K_2HPO_4 |
| | | Tripotassium phosphate | K_3PO_4 |
| | | Monocalcium phosphate | $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ |
| Condensed Phosphates | $\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\ \quad \\ \text{MO}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{OM} \\ \quad \\ \text{OM} \quad \text{OM} \end{array}$ | Sodium acid pyrophosphate | $\text{NaH}_2\text{P}_2\text{O}_7$ |
| | | Tetrasodium pyrophosphate | $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ |
| Pyrophosphate | _____ | Tetrapotassium pyrophosphate | $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ |
| Tripolyphosphate | $\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \\ \quad \quad \\ \text{MO}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{OM} \\ \quad \quad \\ \text{OM} \quad \text{OM} \quad \text{OM} \end{array}$ | Sodium tripolyphosphate | $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ |
| | | Potassium tripolyphosphate | $\text{K}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ |
| Long chain polyphosphate | $\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \\ \quad \quad \\ \text{MO}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{OM} \\ \quad \quad \quad \\ \text{OM} \quad \text{OM} \quad \text{OM} \quad \text{OM} \end{array}$ | Sodium Polyphosphates, | $(\text{NaPO}_3)_6 \cdot \text{Na}_2\text{O}$ |
| | | Glassy, or Graham's | $(\text{NaPO}_3)_{13} \cdot \text{Na}_2\text{O}$ |
| | | Salt; three chain lengths; | $(\text{NaPO}_3)_{21} \cdot \text{Na}_2\text{O}$ |
| | | Sodium hexametaphosphate has an average chain length of 13 | |
| Metaphosphate | $\begin{array}{c} \text{MO} \quad \text{O} \quad \text{Tri-} \quad \text{O} \quad \text{O} \quad \text{Tetra-} \\ \quad \quad \text{MO}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{OM} \\ \quad \quad \quad \\ \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \\ \quad \quad \quad \\ \text{O}=\text{P} \quad \text{P}-\text{OM} \quad \text{MO}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{OM} \\ \quad \quad \quad \\ \text{OM} \quad \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \end{array}$ | Sodium Trimetaphosphate | $(\text{NaPO}_3)_3$ |
| | | Sodium Tetrametaphosphate | $(\text{NaPO}_3)_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ |

*M stand for one equivalent of a metal ion or hydrogen

^b Solubility is higher than 40% but this value is recommended for ease of preparation and use

ที่มา: Dziezak (1990)

การใช้ฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์

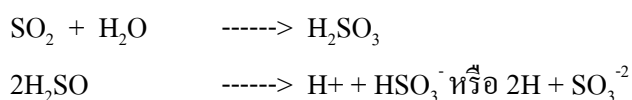
โดยทั่วไปฟอสเฟตมักใช้ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงาน การใช้ฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถเพิ่มการอุ้มน้ำได้มากกว่าใช้โซเดียมคลอไรด์ อย่างเดียว (Xiong *et al.*, 2000)

อาลีนะ หมัดเจริญ (2547) พบว่าการแช่กุ้งขาวในสารละลายผสมประกอบด้วย โซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 2.5 โซเดียมแอสซิไคไฟโรฟอสเฟตร้อยละ 0.875 และเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตร้อยละ 2.625 ส่งผลให้กุ้งมีความใสลดลง รวมทั้งให้น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ขนาด และตำแหน่งกล้ามเนื้อมีผลต่อประสิทธิภาพของฟอสเฟตผสมในการเพิ่มผลผลิต และลดการสูญเสียภายหลังการให้ความร้อนของกุ้งขาว การใช้โซเดียมแอสซิไคไฟโรฟอสเฟต ในระดับที่สูงสุดที่ ร้อยละ 5 มีผลทำให้ความชื้นของกุ้งขาวลดลง ทั้งนี้อาจเป็นผลจากฟิสิกของสารละลายที่ลดลงอันมีสาเหตุจากโซเดียมแอสซิไคไฟโรฟอสเฟตที่เพิ่มขึ้น ส่วนการใช้ฟอสเฟตมักใช้ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงาน การใช้ฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ สามารถเพิ่มการอุ้มน้ำได้มากกว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์อย่างเดียว

11.2 กรดซิตริก มีสูตร $C_6H_{10}O_8$ เป็นกรดอินทรีย์ที่มีสำคัญ ปลอดภัยและสามารถดูดซึมได้รวดเร็วให้ ATP ในวัฏจักร Tricarboxylic acid cycle (TCA cycle) เป็นสารให้ความเปรี้ยว ใช้แต่งกลิ่นรสต่อต้านอนุมูลอิสระ และเป็นสารที่ช่วยจับไอออนของโลหะใช้เป็นวัตถุเจือปนในอาหาร ยา และอุตสาหกรรมอาหาร (Xie *et al.*, 2010) มีรายงานการใช้กรดซิตริกร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในการเพิ่มผลผลิต พบว่าใช้กรดซิตริกปริมาณ 4 กรัมต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร สามารถช่วยลดการสูญเสียจากการแช่แข็งประมาณ 6.83-10.28 กรัมต่อน้ำหนักกุ้ง 100 กรัม และใช้โซเดียมคลอไรด์ ปริมาณ 3 กรัมต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร สามารถช่วยลดการสูญเสียจากการแช่แข็งประมาณ 6.41-12.4 กรัมต่อน้ำหนักกุ้ง 100 กรัม ซึ่งนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของผลผลิตกุ้งสดแช่เยือกแข็งที่เป็นผลิตภัณฑ์กุ้งดิบและกุ้งปรุงสุก (Lopkulkiaert *et al.*, 2009)

เยาวลักษณ์ รัตนพรวารีสกุล (2539) พบว่าการใช้กรดซิตริกมีผลต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษากุ้งแห้ง กุ้งแห้งที่ใช้กรดซิตริกมีคุณภาพด้านสี ปริมาณแอสตาแซนทีน คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสและปริมาณแอมโมเนียต่ำกว่ากุ้งแห้งที่ไม่ใช้กรดซิตริกทั้งที่เก็บรักษาในสภาพสุญญากาศและบรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและ 10 องศาเซลเซียส และมีอายุการเก็บรักษานานกว่ากุ้งที่ไม่ใช้กรดซิตริกถึง 14 สัปดาห์

11.3 สารประกอบซัลเฟอร์ นำมาใช้เพื่อป้องกันการเสื่อมเสียอาหาร และได้มีการใช้ในรูปเกลือต่างๆ เช่น โซเดียมซัลไฟต์ (Na_2SO_3) โซเดียมไบซัลไฟต์ (NaHSO_3) โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) รวมทั้งเกลือในรูปของโพแทสเซียมด้วยนิยมเรียกรวมสารประกอบในกลุ่มนี้รวมๆว่า Sulfiting agents สารประกอบกลุ่มนี้นับว่ามีบทบาทสำคัญมากในการแปรรูปอาหาร สารประกอบกลุ่มนี้จะยับยั้งการเจริญเติบโตของทั้งเชื้อรา แบคทีเรียและยีสต์ได้ แต่ประสิทธิภาพจะต่างกันไป ขึ้นกับปัจจัยที่เกี่ยวข้องและปัจจัยที่สำคัญที่สุดคือค่าพีเอช ซึ่งพบว่าเมื่อระดับพีเอชลดลง ประสิทธิภาพการทำงานของสารประกอบนี้ยิ่งสูงขึ้น ทั้งนี้เพราะเมื่อซัลเฟอร์ไดออกไซด์หรือเกลือต่างๆ เมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำ เกิดเป็นกรดซัลฟิวรัส (Sulfurous acid) และแตกตัวต่อไปให้อิออนต่างๆดังแสดงในสมการ



การจะเกิดอิออนชนิดใดและในปริมาณเท่าใดขึ้นกับระดับพีเอช ที่ระดับพีเอชสูงกว่า 7 การแตกตัวจะมีแต่อิออนของซัลไฟต์ (SO_3^{2-}) ส่วนในระดับที่พีเอชต่ำกว่า 4.5 การแตกตัวจะให้ไบซัลไฟต์อิออน (HSO_3^-) และในระดับที่พีเอช ตั้งแต่ 3 ลงมาจะมีปริมาณของกรดซัลฟิวรัสในสภาพที่ไม่แตกตัวอยู่สูงสุด ซึ่งในสถานะสูงสุดนี้จะมีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยส่วนที่ไม่แตกตัวสามารถซึมผ่านผนังเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์เข้าไปรบกวนการทำงานของเซลล์ดังกล่าว แต่ในสภาพที่มี HSO_3^- ก็สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับแอซีตัลดีไฮด์ (Acetaldehyde) ภายในเซลล์จุลินทรีย์ (คณาจารย์คณะอุตสาหกรรมเกษตร, 2549)

การใช้ในรูปของสารละลาย Sulfiting agents ชนิดต่างๆ ทำได้ทั้งในรูปของการจุ่มหรือแช่ในสารละลายนั้นรวมทั้งการพ่นในอาหาร เช่น โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์จึงถูกมาใช้เพื่อป้องกันการเกิดจุดดำในกุ้งแช่เยือกแข็ง แต่ทั้งนี้ต้องใช้ในปริมาณไม่เกินกว่า 100 พีพีเอ็มของส่วนที่รับประทานได้

11.4 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ช่วยในการถนอมอาหารที่สำคัญ มีบทบาทสำคัญในยีสต์อายุการเก็บรักษาอาหาร ชะลอการเสื่อมเสียของอาหาร ช่วยลดปริมาณน้ำอิสระที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ (Water activity, A_w) และเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ (Rouquier *et al.*, 2007) ในขณะที่น้ำภายในเซลล์เปลี่ยนเป็นน้ำแข็ง เกลือและสารอินทรีย์ที่ละลายน้ำจะถูกทำให้มีความเข้มข้นมากขึ้นในเฟสที่ไม่มีการแข็งตัว ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงค่า Ionic strength และพีเอช การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมีผลมีผลต่อทำให้เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน ความเข้มข้นของเกลือและปริมาณของสารละลายเกลือที่ไม่ถูกแช่แข็งมีความสำคัญต่อการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2549)

โดยปกตินิยมใช้โซเดียมคลอไรด์ร่วมกับพอลิฟอสเฟตในการเพิ่มการอุ้มน้ำของเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Paterson *et al.*, 1988) Young และ Lyon (1986) ศึกษาผลของโซเดียมไตรฟอสเฟต ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ และแคลเซียมคลอไรด์ ต่อคุณสมบัติการอุ้มน้ำ และค่าแรงเหวี่ยงของกล้ามเนื้อไก่หลังระยะเกร็งตัว และพบว่าการใช้โซเดียมไตรฟอสเฟต ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถเพิ่มการอุ้มน้ำ และเพิ่มปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ของเนื้อไก่บด การแช่ชิ้นเนื้อไก่ในสารละลายโซเดียมไตรฟอสเฟตร่วมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ และแคลเซียมคลอไรด์สามารถเพิ่มการอุ้มน้ำ เพิ่มผลผลิตของผลิตภัณฑ์หลังให้ความร้อนและเพิ่มความนุ่มของเนื้อไก่ได้มากกว่าการแช่น้ำเพียงอย่างเดียว

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดจุดขาวที่เปลือกกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง
2. เพื่อศึกษาผลของการแช่และการพ่นด้วยสารละลายก่อนการแช่เยือกแข็งต่อการเกิดจุดขาวในเปลือกกุ้งขาวแวนนาไมในระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุ

1. กุ้งขาวลิโทพีเนียสแวนนาไม (*Litopenaeus vanamei*) ที่มีชีวิตจากแหล่งเลี้ยงในเขตจังหวัดสงขลา ขนาด 50-60 ตัวต่อกิโลกรัม
2. โซเดียม เมตาไบซัลไฟต์ (Sodium Metabisulphite, Food grade)
3. กรดซิตริก (Citric Acid, Food grade)
4. ไพโรฟอสเฟต (Pyrophosphate, Food grade)
5. เกลือ (Salt, Food grade)
6. สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (A.O.A.C., 2006)
7. สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเกลือ (A.O.A.C., 2006)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมี ประกอบด้วย ประกอบด้วย

- 1.1 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter) ยี่ห้อ Benchtop รุ่น AZ 86502
- 1.2 เครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermometer) ยี่ห้อ Taylor รุ่น LT225R
- 1.3 เครื่องวัดค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen meter) ยี่ห้อ YSI รุ่น Ysi 550A
- 1.4 เครื่องวัดความเค็ม (Salinometer) ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น DL50
- 1.5 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (A.O.A.C., 2006)
- 1.6 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเกลือ (A.O.A.C., 2006)
- 1.7 เครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรคโทมิเตอร์ (X-Ray Diffractometer) ยี่ห้อ Philips รุ่น X'Pert MPD
- 1.8 แผ่นเทียบสี (SalmoFan TM)

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางกายภาพ ประกอบด้วย อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการประเมินทางสายตา เช่น ถาด ถุงมือ ไม้บรรทัด

วิธีการทดลอง

1. ตำราจและรวบรวมข้อมูลย้อนหลังของโรงงานกรณีศึกษา ประกอบด้วย

1.1 แผนภูมิการผลิตกุ้งขาวแวนนาไมแช่เยือกแข็ง รวมทั้งรายละเอียดวิธีการปฏิบัติงานที่สำคัญ ได้แก่ การจับกุ้งจากบ่อ การขนส่งกุ้งมีชีวิต การตรวจรับกุ้งสด การล้างน้ำคลอรีน การแช่สารเคมี การแช่เยือกแข็ง การเคลือบน้ำ การบรรจุและการจัดเก็บ

1.2 ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการผลิตกุ้งขาวแช่เยือกแข็งระหว่างเดือนเมษายนถึงเดือนกรกฎาคม 2555 ประกอบด้วย

1.2.1 แหล่งของวัตถุดิบจาก จ.สงขลา ของ โรงงานกรณีศึกษา และวันเดือนปีของการผลิต

1.2.2 ลักษณะของวัตถุดิบ (กุ้งมีชีวิต) เมื่อขนส่งถึงโรงงาน ได้แก่

1.2.2.1 อัตราการรอดตาย (ร้อยละของน้ำหนักกุ้งทั้งหมด) โดยสังเกตจากลักษณะของเปลือกกุ้งที่ขุ่นและมีสีซีดลง โดยแยกเป็น กุ้งเป็น กุ้งตายใส กุ้งตายขุ่น จากนั้นคำนวณเป็นร้อยละโดยน้ำหนักของกุ้งทั้งหมด

1.2.2.2 ลักษณะทางกายภาพ ได้แก่

(1) ขนาด คัดขนาดด้วยกุ้งโดยใช้สายตาเปรียบเทียบกับเกณฑ์ที่กำหนด จากขนาดเล็กสุดไปจนถึงขนาดใหญ่สุด รายงานผลเป็นร้อยละโดยน้ำหนักของแต่ละขนาด

(2) คำนิยามทางกายภาพ โดยการสังเกตด้วยสายตาและการสัมผัสด้วยมือ เช่น หัวหลุด หัวคลอน หัวแดง น่วม นิ่ม แผล จุดดำ เปลือกหลุด เปลือกแตก ตัวหัก หางเสีย เปลือกหลวม เป็นต้น

1.2.2.3 ลักษณะทางเคมี ได้แก่

(1) อุณหภูมิ วัดค่าอุณหภูมิของน้ำ ที่ใช้ในการขนส่งด้วยเครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermometer)

(2) ค่าออกซิเจนละลายน้ำ วัดค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ของน้ำ ที่ใช้ในการขนส่งด้วยเครื่องวัดค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO Meter)

1.2.2.4 ลักษณะทางประสาทสัมผัส (สีและกลิ่น) โดยการสุ่มกุ้งตัวอย่างละ 10 ตัว นำมาต้มในน้ำเดือด 5 นาที แล้วแช่ในน้ำเย็น 5 นาที ตรวจสอบสีของกุ้งหลังต้มโดยเทียบสีกุ้งปล้องที่ 2 และ 3 โดยใช้แผ่นเทียบสี (SalmoFan TM) ตามวิธีปฏิบัติของโรงงานกรณีศึกษา จากนั้นทำการแกะเปลือก และทดสอบกลิ่นผิดปกติในตัวกุ้ง (กลิ่นโคลน กลิ่นน้ำมัน กลิ่นข้าวโพด กลิ่นหญาแห้ง) โดยพนักงานฝ่ายควบคุมคุณภาพ

1.3 ปริมาณการเกิดจุดขาวของผลิตภัณฑ์

สุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์กึ่งขาวแช่เยือกแข็งที่เก็บรักษาในห้องเย็นของโรงงานกรณีศึกษาที่ จ. สงขลา ในระหว่างปี พ.ศ.2554-2555 ที่มีอายุการเก็บรักษาที่แตกต่างกันและคงเหลืออยู่ในแต่ละช่วงเวลาจำนวน 3 กล่อง กล่องละ 2 ก้อน น้ำหนักก้อนละ 2 กิโลกรัม นำมาตรวจสอบการเกิดจุดขาว โดยวิธีสังเกตด้วยสายตา (Mikkelsen *et al.*, 1997b) โดยแกะถุงพลาสติกออก แล้วทำละลายโดยแช่ในน้ำประปาที่เป็นน้ำนิ่งในอัตราส่วนกึ่งขาวแช่เยือกแข็ง 2 กิโลกรัมต่อน้ำ 6 กิโลกรัมเป็นเวลา 10 นาที (หากกึ่งยังไม่ละลายไม่หมด ให้ตั้งทิ้งไว้อีก 5 นาที) แล้วทำการตรวจสอบทันที โดยมีหลักเกณฑ์การให้คะแนนดังตารางที่ 3 จากนั้นนำมาคำนวณดัชนีการเกิดจุดขาวโดยใช้สูตร

$$\text{Index} = \sum c_j N_j / N$$

| | | |
|-------|-------|--|
| เมื่อ | C_j | เป็นคะแนน (0-4) การเกิดจุดขาวของกึ่งแต่ละตัว |
| | N_j | เป็นจำนวนกึ่งที่พบจุดขาว |
| | N | เป็นจำนวนกึ่งในกล่อง |

2. วิเคราะห์หาสาเหตุการเกิดปัญหาจุดขาวที่เปลือกกึ่งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

หาสาเหตุของการเกิดปัญหาจุดขาวที่เปลือกกึ่งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็งโดยใช้ข้อมูลทางวิชาการ การสังเกต และการสัมภาษณ์พนักงานเพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยแผนผังก้างปลาที่มีองค์ประกอบหลัก คือ ผู้ทำงาน วัตถุดิบ วิธีการ และ เครื่องมือ ด้วยการระดมสมองกับผู้ที่เกี่ยวข้องในโรงงานกรณีศึกษา

3. ศึกษาผลของสารเคมีต่อการเกิดจุดขาวในเปลือกกึ่งขาว ประกอบด้วย

3.1 ตัวอย่างวัตถุดิบกึ่งขาวมีชีวิต ขนาด 50-60 ตัวต่อกิโลกรัม จากแหล่งเลี้ยงในเขต จ.สงขลา












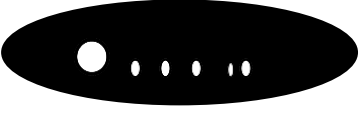

3.2 สารละลายที่ใช้ในการแช่ก่อนการแช่เยือกแข็ง

3.2.1 Sodium Metabisulphite (SMS) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 และ 4.3

3.2.2 Citric Acid (CA) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 และร้อยละ 0.075

3.2.3 Pyrophosphate (PP) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 และร้อยละ 0.5

ตารางที่ 3. ระดับคะแนนการเกิดจุดขาวโดยการตรวจสอบด้วยสายตา

| คะแนน | ลักษณะ | นิยาม | รูปภาพประกอบ |
|-------|--------------------------------|--|--|
| 0 | ไม่มีจุดขาว | ไม่พบจุดขาวทั่วทั้งเปลือก  |  |
| 1 | จุดขาว เล็ก ๆ น้อย ๆ | พบจุดขาวขนาดเล็กกว่า 1 mm. ไม่เกิน 3 จุด   |  |
| 2 | จุดขาว ขนาดเล็ก | พบจุดขาวขนาดใหญ่มากกว่า 1-2 mm. ไม่เกิน 3 จุด   |  |
| 3 | จุดขาว ขนาดใหญ่ | พบจุดขาวขนาดใหญ่มากกว่า 2-3 mm. ไม่เกิน 3 จุด   |  |
| 4 | จุดขาวขนาด ใหญ่จำนวน มาก | พบจุดขาวเป็นรอยขนาดใหญ่ มากกว่า 3 mm. มากกว่า 1 จุดขึ้นไป และมีจุดขาวขนาดอื่นๆปะปน  |  |

ที่มา: ดัดแปลงจาก Mikkelsen และคณะ (1997b)

ออกแบบการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) รวมมี 8 ชุดการทดลอง หลังจากนั้นแบ่งกลุ่มชุดการทดลองที่ผ่านและไม่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือ จึงรวมเป็นทั้งหมด 16 ชุดการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 4 โดยชุดการทดลองที่ 4 ใช้สารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟด์ และผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือ เป็นชุดการทดลองที่โรงงานกรณีศึกษาใช้ในปัจจุบัน

ตารางที่ 4. ชุดการทดลองการใช้สารเคมีทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือของกุ้งขาวก่อนการแช่เยือกแข็ง

| No. | Chemical* | Brine** |
|-----|--------------|---------|
| 1 | - | - |
| 2 | - | NaCl |
| 3 | SMS | - |
| 4 | SMS | NaCl |
| 5 | CA | - |
| 6 | CA | NaCl |
| 7 | PP | - |
| 8 | PP | NaCl |
| 9 | SMS + CA | - |
| 10 | SMS + CA | NaCl |
| 11 | SMS + PP | - |
| 12 | SMS + PP | NaCl |
| 13 | CA + PP | - |
| 14 | CA + PP | NaCl |
| 15 | SMS + CA+ PP | - |
| 16 | SMS + CA+ PP | NaCl |

* SMS of 4.3%, CA of 0.075% and PP of 0.5%

** Brine of 23% NaCl

3.3 การแปรรูปกุ้งขาวแช่เยือกแข็ง

นำตัวอย่างกุ้งที่มีชีวิต มาแปรรูปเป็นกุ้งขาวทั้งตัวแช่เยือกแข็งแบบบล็อก ที่โรงงานกรณีศึกษา โดยมีขั้นตอน คือ เมื่อผ่านการตรวจรับ นำตัวอย่างกุ้งมาผ่านการล้างด้วยน้ำคลอรีน 3 ครั้ง ครั้งที่ 1 เข้มข้น 100-150 พีพีเอ็ม ครั้งที่ 2 เข้มข้น 50-75 พีพีเอ็ม และครั้งที่ 3 เข้มข้น 30-50 พีพีเอ็ม จากนั้นนำมาแช่ด้วยสารละลายก่อนการแช่เยือกแข็ง ตามชุดการทดลองที่กำหนด เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงนำตัวอย่างกุ้งแต่ละชุดการทดลองมาผ่านและไม่ผ่านการพ่นด้วยสารละลายน้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 23 ลงบนตัวอย่างเป็นเวลา 2 นาที โดยใช้ความเร็วสายพาน 29-30 เมตรต่อชั่วโมง แล้วผ่านการแช่เยือกแข็ง จากนั้นทำการเคลือบด้วยน้ำเย็น แล้วเคาะออกจากบล็อกและเก็บรักษาตามวิธีปฏิบัติของโรงงานกรณีศึกษา สุ่มตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ 4 จุด ดังนี้

1. ตัวอย่างวัตถุดิบกุ้งสด เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเกลือด้วยวิธีมาตรฐาน (A.O.A.C., 2005) ค่าพีเอชด้วยเครื่อง pH Meter
2. ตัวอย่างกุ้งหลัง ผ่านการแช่สารเคมี เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ SO_2 ที่คงเหลือในตัวอย่างกุ้ง (เฉพาะชุดการทดลองที่ผ่านการแช่สารละลาย SMS) ด้วยวิธีมาตรฐาน (A.O.A.C., 2006)
3. ตัวอย่างกุ้งหลังผ่านการพ่นด้วยสารละลายน้ำเกลือ เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเกลือที่คงเหลือในตัวอย่างกุ้ง ด้วยวิธีมาตรฐาน (A.O.A.C., 2005)
4. ตัวอย่างกุ้งแช่เยือกแข็งที่ผ่านการแช่สารเคมี และผ่านกับไม่ผ่านการพ่นสารละลายเกลือ รวมทั้งหมดเป็น 16 ชุดการทดลอง ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 1 2 และ 3 เดือน เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเกลือ (A.O.A.C., 2005) ปริมาณ SO_2 (A.O.A.C., 2006) และศึกษาการพบผลึกแคลเซียมและวาทีไรซีนเปลือกกุ้งด้วยเครื่องวิเคราะห์ XRD และการเกิดจุลินทรีย์ (Mikkelsen *et al.*, 1997b)

โดยแต่ละจุดทำการสุ่มตัวอย่างเป็นจำนวนอย่างน้อย 2 ซ้ำ นำผลการทดลองที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย และวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยที่ใช้ด้วย Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (Steel and Torrie, 1960)

4. สรุปผลการทดลองเพื่อเป็นแนวทางที่สามารถประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตกุ้งสดแช่เยือกแข็ง

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การดำเนินการวิจัยเพื่อวิเคราะห์สาเหตุของปัญหาและการจัดการเพื่อหาแนวทางป้องกันการเกิดจุลชีพที่เปลือกกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง ประกอบด้วย การสำรวจและรวบรวมข้อมูลย้อนหลัง การวิเคราะห์หาสาเหตุการเกิดปัญหาจุลชีพ การศึกษาผลของสารเคมีต่อการเกิดจุลชีพในเปลือกกุ้งขาว ผลการศึกษา มีดังนี้

1. ข้อมูลย้อนหลังของโรงงานกรณีศึกษา

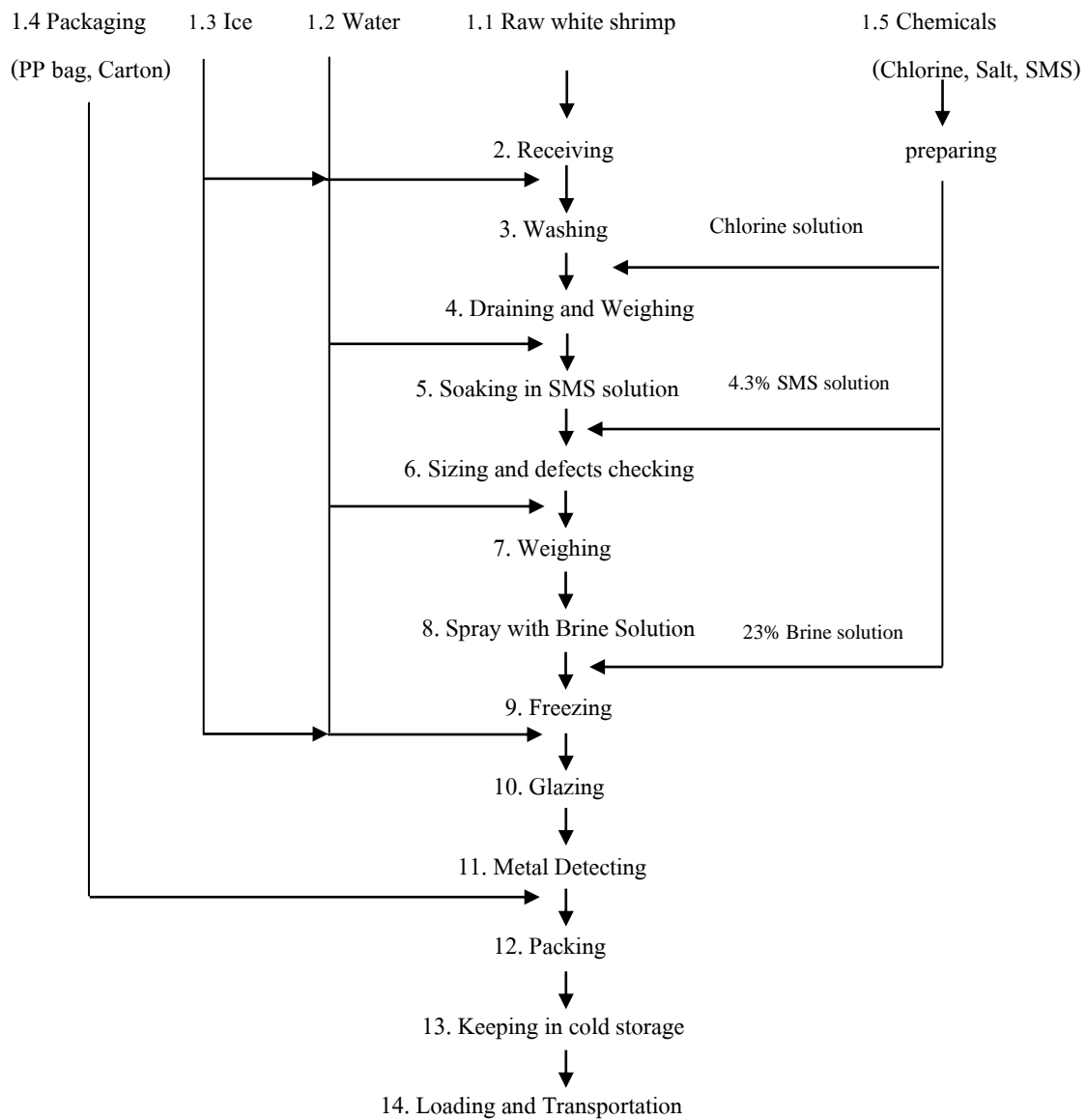
1.1 กระบวนการผลิตกุ้งขาวแวนนาไมแช่เยือกแข็ง

จากการศึกษากระบวนการผลิตกุ้งสดแช่เยือกแข็งของโรงงานกรณีศึกษา มีขั้นตอนการผลิตดังแสดงในภาพที่ 5 โดยเริ่มจากรับวัตถุดิบกุ้งขาวสด ผ่านการล้างทำความสะอาดขึ้นสายพานเพื่อสะเด็ดน้ำและชั่งน้ำหนักโดยฝ่ายผลิต ลำเลียงสู่สายพานแล้วแช่ด้วยสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟด์ จากนั้นผ่านการคัดขนาด คัดตำหนิ และชั่งน้ำหนักใส่บล็อกลบถลอก 2 กิโลกรัม บรรจุลงบล็อกสำหรับแช่เยือกแข็ง แล้วมาผ่านเครื่องพ่นน้ำเกลือ (Brine Freezer) ซึ่งทำหน้าที่ในการแช่เยือกแข็งด้วย และนำมาแช่เยือกแข็ง กุ้งที่ผ่านการแช่เยือกแข็งแล้วนำมาผ่านการเคลือบน้ำ (Glaze) จากนั้นบรรจุลงถุงพลาสติกใส ผ่านเครื่องตรวจจับโลหะบรรจุลงกล่อง จัดเก็บในห้องเย็น และรอส่งให้ทางลูกค้า ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1.1.1 กระบวนการรับวัตถุดิบกุ้งสด

วัตถุดิบที่นำเข้าสู่กระบวนการผลิตต้องอยู่ในสภาพที่ยังมีชีวิตอยู่ และมีข้อกำหนดในการการรับวัตถุดิบกุ้ง โดยมีการตรวจสอบคุณภาพทางด้านเคมีได้แก่ สารปฏิชีวนะชนิด Chloramphenicol, Nitrofurantoin (Metabolite), Oxolinic acid, Oxytetracycline, Malachite Green & Leucomalachite ที่สอดคล้องกับมาตรฐานกรมประมง และต้องมีเอกสารยืนยันว่าไม่มีสารปฏิชีวนะตกค้างหรือได้รับการรับรองว่าไม่มีสารปฏิชีวนะ และต้องมีเอกสาร Animal Movement Document (AMD) จากฟาร์มผู้เลี้ยงแนบมาด้วยทุกครั้ง นอกจากนี้ยังต้องผ่านการตรวจสอบคุณภาพจากพนักงานฝ่ายควบคุมคุณภาพทั้ง 3 ด้าน คือ ด้านกายภาพ ด้านเคมี และด้านชีวภาพ ซึ่งมีวิธีการตรวจสอบดังนี้

1.1.1.1 ตรวจประเมินด้านกายภาพด้วยสายตา โดยการสุ่มตัวอย่างกุ้งจากรถบรรทุกแต่ละคันในตำแหน่งที่แตกต่างกันคือ ช่วงท้าย กลาง และหน้ารถ ช่วงละ 3 กิโลกรัม



ภาพที่ 5. กระบวนการผลิตกุ้งสดแช่เยือกแข็งของโรงงานกรณีศึกษา

1.1.1.2 ตรวจสอบอุณหภูมิในรถที่ขนส่งวัตถุดิบ โดยอุณหภูมิกำหนดให้อยู่ที่ 15-20 องศาเซลเซียส และต้องมีการให้ออกซิเจนแก่กุ้งอยู่ตลอดเวลา จนกระทั่งมีการถ่ายกุ้งออกจากรถขนส่งทั้งหมด

1.1.1.3 ตรวจสอบขนาดและตำหนิของวัตถุดิบ โดยการสุ่มตัวอย่างกุ้งจากรถบรรทุกแต่ละคันในตำแหน่งที่แตกต่างกันคือ ช่วงท้าย กลาง และหน้ารถ ช่วงละ 3 กิโลกรัม

- การตรวจสอบขนาด โดยแยกขนาดกุ้งเป็น 3 ขนาด คือ เล็ก กลาง ใหญ่ โดยตรวจสอบขนาดได้จากจำนวนตัวต่อน้ำหนัก จำนวนร้อยละขนาดเฉลี่ย

- การตรวจสอบตำหนิ โดยการตรวจสอบด้วยสายตา ชนิดของตำหนิ เช่น เปลือกแตก นิม (ตลอดลำตัวกุ้ง) กิ่งนิม (ตลอดลำตัวกุ้งยกเว้นบริเวณหาง) แผล หัวคลอน (หัวกุ้งเกือบหัก) พิการ (กุ้งมีตัวอ) เหงือกดำ โดยแยกเป็นระดับ รุนแรง ปานกลางและเล็กน้อย

1.1.1.4 ตรวจสอบสีและกลิ่น สุ่มกุ้งตัวอย่างละ 10 ตัว นำมาต้มในน้ำเดือด 5 นาที เมื่อกุ้งสุกนำมาแช่ในน้ำเย็น 5 นาที หลังจากนั้นนำกุ้งมาแกะเปลือกและทดสอบชิมและดมกลิ่น ทดสอบกลิ่นเพื่อหากลิ่นผิดปกติในตัวกุ้ง (กลิ่นโคลน กลิ่นน้ำมัน กลิ่นข้าวโพด กลิ่นหญ้าแห้ง) และตรวจสอบสีของกุ้ง ก่อนและหลังต้ม

1.1.2 การล้างและการแช่ด้วยสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟด์

พนักงานลำเลียงกุ้งจากรถลงสู่สายพานลำเลียงเข้าสู่แผนกรับวัตถุดิบ ผ่านการล้างน้ำคลอรีน 3 ครั้ง ครั้งที่ 1 ใช้ความเข้มข้นคลอรีน 100-150 พีพีเอ็ม ครั้งที่ 2 ใช้ความเข้มข้นคลอรีน 50-75 พีพีเอ็ม และครั้งที่ 3 ใช้ความเข้มข้นคลอรีน 30-50 พีพีเอ็ม อุณหภูมิ น้ำคลอรีนต้องไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส จากนั้นผ่านการสะเด็ดน้ำบนสายพาน คัดขนาด คัดสิ่งปลอมปน และชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำกุ้งใส่กระบะแล้วแช่ในสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟด์ ความเข้มข้นร้อยละ 4.3 เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นมาคัดขนาด คัดสิ่งปลอมปน และชั่งน้ำหนักอีกครั้งให้ได้ตามมาตรฐานที่โรงงานกำหนด

1.1.3 การแช่เยือกแข็ง

นำกุ้งที่ผ่านการคัดขนาดและชั่งน้ำหนัก บรรจุลงในบล็อกลพลาสติกขนาด 2 กิโลกรัม แล้วผ่านเข้าเครื่อง Brine Freezer โดยมีการพ่นด้วยน้ำเกลือที่ความเข้มข้นร้อยละ 23 และอุณหภูมิของเครื่องที่อุณหภูมิต่ำกว่า - 20 องศาเซลเซียส ซึ่งจัดว่าเป็นการแช่เยือกแข็งโดยใช้เวลาในการแช่เยือกแข็งประมาณ 25-30 นาที ควบคุมให้อุณหภูมิที่กึ่งกลาง (Core Temp) ของกุ้งที่เป็นบล็อกลต้องต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส หลังจากการแช่เยือกแข็งแล้ว ทำการเคาะออกจากบล็อกลแล้วทำการเคลือบน้ำด้วยน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 0- 5 องศาเซลเซียส ให้ได้ปริมาณการเคลือบประมาณร้อยละ 5 จากนั้นบรรจุลงถุงพลาสติกใส และผ่านเครื่องตรวจจับโลหะ (Metal Detector)

1.1.4 การจัดเก็บในห้องเย็น

ผลิตภัณฑ์กุ้งขาวแช่เยือกแข็งที่ผ่านการตรวจสอบการปนเปื้อนของโลหะโดยเครื่องตรวจจับโลหะแล้ว นำมาจัดเก็บในห้องเย็นที่อุณหภูมิ - 21 องศาเซลเซียส ถึง - 24 องศาเซลเซียส

1.2 ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับวัตถุคิบกุ้งขาว (มีชีวิต)

จากการรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับวัตถุคิบกุ้งขาว (มีชีวิต) เพื่อนำมาแปรรูปเป็น กุ้งขาวแช่เยือกแข็งในระหว่างเดือนเมษายน - กรกฎาคม พ.ศ. 2555 พบว่ามาจากแหล่งเลี้ยงในเขต จังหวัดสงขลา มีการบันทึกและตรวจสอบลักษณะของวัตถุคิบ เมื่อขนส่งถึงโรงงาน ประกอบด้วย

1.2.1 อัตราการรอดตาย (ร้อยละของน้ำหนักกุ้งทั้งหมด) วัตถุคิบที่นำเข้าสู่กระบวนการผลิตอยู่ในสภาพที่ยังมีชีวิตอยู่ ผลการตรวจสอบพบว่าอัตราการตายของกุ้งที่เข้าสู่โรงงานไม่เกินจากข้อกำหนดที่ควบคุมไว้คือร้อยละ 10

1.2.2 ลักษณะทางกายภาพ ได้แก่

1.2.2.1 ขนาด จากการแยกขนาดกุ้งเป็น 3 ขนาด คือ เล็ก (ประกอบด้วยจำนวนกุ้งต่อกิโลกรัม 80-100, 70-80 และ 60-70) กลาง (ประกอบด้วยจำนวนกุ้งต่อกิโลกรัม 50-60 และ 40-50) และ ใหญ่ (ประกอบด้วยจำนวนกุ้งต่อกิโลกรัม 30-40) พบว่าแต่ละเดือนเจอบุญขนาดของกุ้งที่แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5. ขนาดของกุ้งที่พบในแต่ละเดือนตั้งแต่เดือนเมษายนถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555

| ขนาดกุ้งที่พบ (ร้อยละ) | เมษายน | พฤษภาคม | มิถุนายน | กรกฎาคม |
|------------------------|--------|---------|----------|---------|
| เล็ก 80-100 ตัว/กก | - | 9.87 | - | 6.42 |
| 70-80 ตัว/กก | 100 | 60.85 | 55.35 | 45.87 |
| 60-70 ตัว/กก | - | 3.95 | - | 5.50 |
| กลาง 50-60 ตัว/กก | - | 4.61 | 1.88 | 4.59 |
| 40-50 ตัว/กก | - | 20.72 | 35.59 | 28.46 |
| ใหญ่ 30-40 ตัว/กก | - | - | 8.18 | 9.17 |
| รวม | 100 | 100 | 100 | 100 |

1.2.2.2 คำนิยามทางกายภาพ จากการตรวจสอบโดยการสุ่มตัวอย่างทุกคันรถ จากตำแหน่ง ช่วงท้าย กลาง และหน้ารถ ตำแหน่งละ 3 กิโลกรัม ด้วยสายตา ชนิดของคำนิยามที่พบคือ เปลือกแตก นิ่ม (ตัวกุ้งและเปลือกมีลักษณะนุ่มตลอดลำตัว) กึ่งนิ่ม (ตัวกุ้งและเปลือกมีลักษณะนุ่มตลอดลำตัวยกเว้นบริเวณหาง) แผล หัวคลอน (หัวกุ้งเกือบหัก) พิการ (กุ้งมีตัวอ) เหงือกดำ เป็นต้น

1.2.2.3 อุณหภูมิ น้ำ ทำการตรวจสอบอุณหภูมิในรถที่ขนส่งวัตถุคิบ พบว่ามีอุณหภูมิอยู่ที่ 15-20 องศาเซลเซียส และมีการให้ออกซิเจนตลอดเวลาและพบว่ามี ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen) ในช่วง 3-5 มิลลิกรัมต่อลิตร จนกระทั่งมีการถ่ายกุ้งออกจากรถขนส่งทั้งหมด

1.2.3 ลักษณะทางประสาทสัมผัส (สีและกลิ่น) โดยการสู่มุ้งตัวอย่างละ 10 ตัว นำมาต้มในน้ำเดือด 5 นาที แล้วแช่ในน้ำเย็น 5 นาที หลังจากนั้นนำกุ้งมาแกะเปลือกและทดสอบชิมและดมกลิ่น พบกลิ่นผิดปกติในตัวกุ้งคือกลิ่นโคลนเพียงอย่างเดียว เมื่อตรวจสอบสีของกุ้ง ก่อนและหลังต้มพบว่าสีของกุ้งอยู่เมื่อเทียบกับแผ่นเทียบสี พบว่าระดับสีอยู่ในช่วง 21 ถึง 32 ซึ่งมีสีในช่วงของสีแดงส้ม

1.3 ปริมาณการเกิดจุดขาวของผลิตภัณฑ์

จากการศึกษาและรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นในกระบวนการผลิตกุ้งขาวแช่เยือกแข็งแบบเปลือกของโรงงานกรณีศึกษา พบปัญหาการเกิดจุดขาวของกุ้งขาวแช่เยือกแข็งหลังจากการจัดเก็บที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็งเป็นระยะเวลาสั้นๆ จากการรายงานของผู้ที่เกี่ยวข้องว่า การเกิดจุดขาวทุกขนาดเริ่มเกิดขึ้นเมื่อระยะเวลาเก็บรักษาผ่านไป 3 เดือน และกุ้งทุกขนาดมีการเกิดจุดขาวต่างกัน กุ้งที่มีขนาดใหญ่มีการเกิดจุดขาวมากกว่ากุ้งที่มีขนาดเล็ก แต่ไม่ได้มีการตรวจสอบเป็นค่าดัชนีการเกิดจุดขาวอย่างเป็นทางการ ดังนั้นจึงได้สำรวจตัวอย่างกุ้งแช่เยือกแข็งที่คงเหลืออยู่ในห้องเก็บ พบว่าที่เหลือมากที่สุดเป็นขนาด 50-60 ตัวต่อกิโลกรัม จึงได้นำตัวอย่างที่มีขนาดดังกล่าวมาตรวจสอบการเกิดจุดขาว แล้วคำนวณค่าดัชนีการเกิดจุดขาว ผลการตรวจสอบพบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษามากขึ้น ค่าดัชนีการเกิดจุดขาวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 6) โดยเริ่มจากเดือนที่ 7 มีค่าดัชนีการเกิดจุดขาวเท่ากับ 0.32 จนกระทั่งเดือนที่ 35 มีค่าดัชนีการเกิดจุดขาวเท่ากับ 3.25 โดยมีรายงานว่า การเกิดจุดขาวในเปลือกกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็งเกิดจากแคลไซต์ (Calcite) และวาทีไรต์ (Vaterite) ซึ่งเป็นโครงสร้างของแคลเซียมคาร์บอเนตที่เป็นส่วนประกอบอยู่ในร่างแหของไคตินที่เป็นส่วนประกอบของเปลือกกุ้งในชั้น Epicuticle ซึ่งมีลักษณะบางและอยู่บริเวณชั้นนอก (Mikkelsen *et al.* 1997a)

ตารางที่ 6. ดัชนีการเกิดจุดขาวของตัวอย่างกุ้งขาวแช่เยือกแข็งที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็งเป็นเวลาต่างกัน

| ระยะเวลาในการเก็บรักษา (เดือน) | ดัชนีการเกิดจุดขาว ($\bar{x} \pm SD$) |
|--------------------------------|---|
| 7 | 0.32 ± 0.02^a |
| 8 | 0.44 ± 0.02^b |
| 9 | 0.58 ± 0.05^c |
| 10 | 0.79 ± 0.04^d |
| 11 | 1.33 ± 0.11^e |
| 12 | 1.70 ± 0.10^f |
| 19 | 2.17 ± 0.09^g |
| 22 | 2.43 ± 0.03^h |
| 31 | 2.69 ± 0.05^i |
| 35 | 3.25 ± 0.18^j |

อักษร a, b, c ที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (N=3)

2. การวิเคราะห์หาสาเหตุการเกิดปัญหาจุดขาวที่เปลือกกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

การวิเคราะห์หาสาเหตุการเกิดจุดขาวที่เปลือกกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง จำเป็นต้องใช้ข้อมูลจากการสังเกต การสัมภาษณ์พนักงาน การระดมสมองกับผู้ที่เกี่ยวข้องในโรงงานกรณีศึกษา โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ฟังก์ชันปลา โดยพิจารณาจาก 4 องค์ประกอบ คือ พนักงาน วิธีการ วัตถุดิบ และเครื่องจักร ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในภาพที่ 6 ซึ่งอธิบายรายละเอียดได้ดังนี้

2.1 พนักงาน

เนื่องจากพนักงานขาดความเชี่ยวชาญ ขาดการฝึกอบรมและขาดทักษะในการจัดการกุ้งขาวในระหว่างขั้นตอนการแปรรูป หรือพนักงานที่เข้ามาทำงานเป็นพนักงานใหม่ทำให้ขาดความชำนาญในการทำงาน จากการวิเคราะห์พบว่าหากพนักงานขาดการฝึกอบรมและขาดทักษะอาจทำให้การปฏิบัติงานผิดพลาดได้ เช่น แช่สารเคมีไม่ครบตามเวลาที่กำหนด เป็นต้น ซึ่งอาจส่งผลต่อการเกิดจุดขาวของผลิตภัณฑ์ แต่ไม่สามารถหาข้อมูลเชิงประจักษ์ ที่ทีมงานจึงลงความเห็นว่า มีผลต่อการเกิดจุดขาวน้อยมาก

2.2 วิธีการ

เนื่องจากการกระบวนการผลิตมีการใช้คลอรีน โซเดียมเมตาไบซัลไฟด์ และเกลือ ซึ่งอาจมีผลต่อการเกิดจุดขาว วิธีการแช่แข็งที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิถึงกลางผลิตภัณฑ์ไม่ได้ตามที่กำหนด คือ -18 องศาเซลเซียส หรือในระหว่างการแช่เยือกแข็งได้มีจัดเก็บร่วมกับผลิตภัณฑ์อื่นในห้องเดียวกัน อาจส่งผลให้อุณหภูมิในการจัดเก็บไม่คงที่อาจสูงหรือต่ำเกินไป ความเย็นกระจายไม่ทั่วถึงผลิตภัณฑ์ และมีระยะเวลาในการจัดเก็บที่ยาวนานทำให้มีผลต่อการเกิดจุดขาว

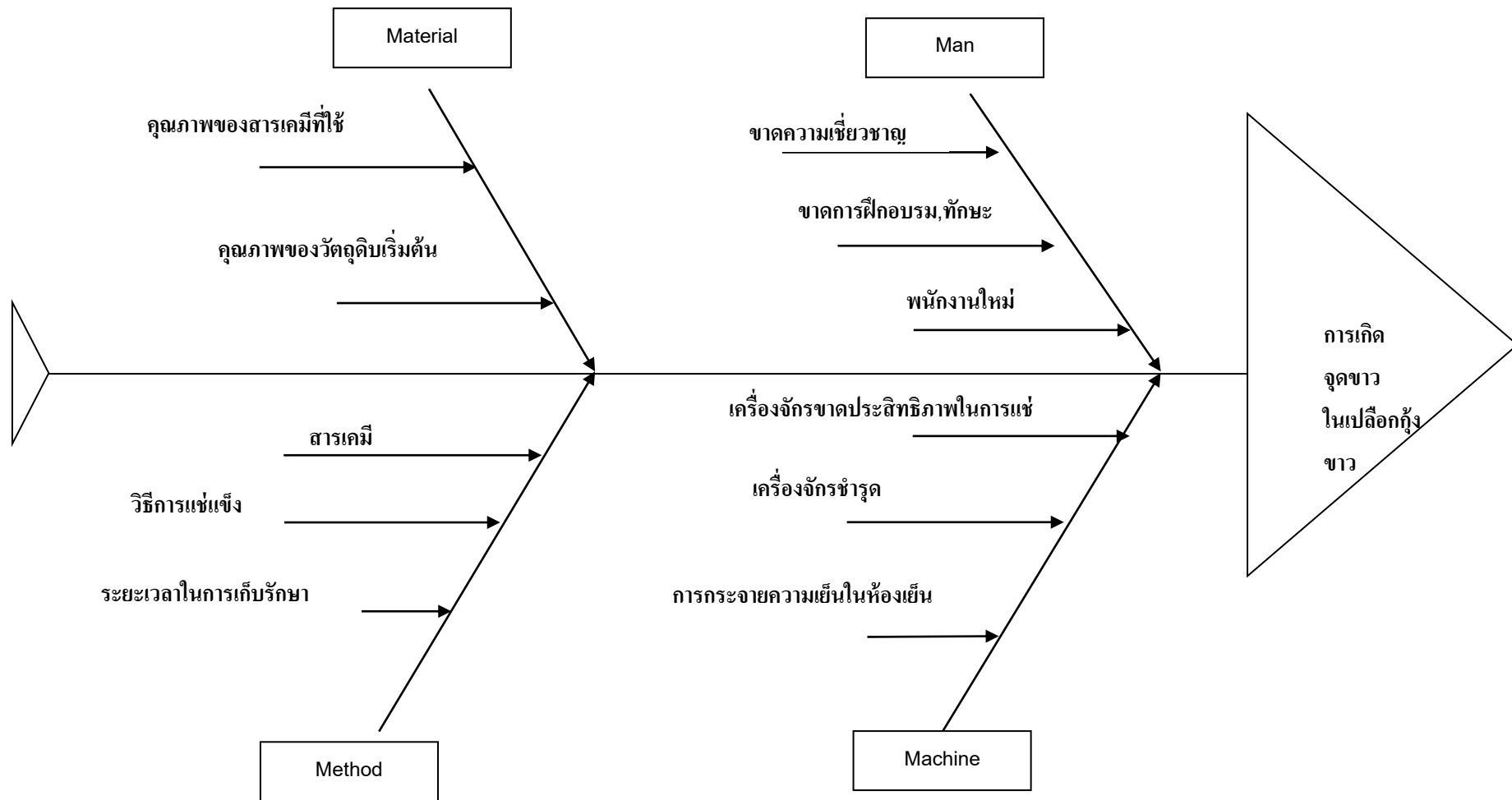
2.3 วัตถุดิบ (สารเคมี)

เกลือซึ่งเป็นสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิตจำนวนมาก มีคุณภาพไม่ดี เช่น เมื่อเตรียมเป็นสารละลายเกลือแล้ว พบว่ามีตะกอน หรือมีความเข้มข้นไม่ได้ตามที่กำหนด หรือสารเคมีอื่นที่ใช้ อาจไม่เหมาะสม เสื่อมคุณภาพหรือหมดอายุมาใช้ในโรงงาน ซึ่งสิ่งเหล่านี้ล้วนมีผลต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์

2.4 เครื่องจักร

เนื่องจากการออกแบบเครื่องจักรให้มีระบบการทำงานแบบต่อเนื่อง ใช้งานตลอดเวลา จึงทำให้ประสิทธิภาพในการทำงานลดลง เครื่องจักรเก่าตกทุน หรือใช้งานมากเกินไป (Over load) ก็ทำให้ขาดประสิทธิภาพในการทำงานและย่อมส่งผลต่อการแช่สารเคมี เมื่อสินค้าผ่านขั้นตอนการแปรรูปก็พบว่ามีการกระจายความเย็นในห้องเย็นจัดเก็บสินค้าไม่ทั่วถึง อุณหภูมิกระจายเฉพาะจุดหรืออุณหภูมิกระจายไม่สม่ำเสมอ ซึ่งสิ่งเหล่านี้ทำให้มีผลต่อการเกิดจุดขาว

จากผลจากการวิเคราะห์แผนผังก้างปลา ร่วมกับทีมงานของโรงงานกรณีศึกษา ได้สรุปว่าสาเหตุหลักที่เกิดปัญหาจุดขาวที่เปลือกกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง ที่สามารถนำไปสู่การศึกษาวิจัย เนื่องจากการแช่สารเคมีและระยะเวลาในการเก็บรักษานาน ดังนั้นจึงได้ดำเนินการศึกษาผลของสารเคมีในระหว่างกระบวนการผลิตต่อคุณภาพและการเกิดจุดขาวที่เปลือกกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็งต่อไป



ภาพที่ 6. แผนผังสาเหตุและผลของการเกิดจุดขาวในเปลือกกุ้งขาวระหว่างการแช่เยือกแข็ง

3. ผลของสารเคมีต่อคุณภาพและการเกิดจุลชีวในเปลือกกุ้งขาว

การศึกษาผลของสารเคมี คือ โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ กรดซिटริก และโพโรฟอสเฟต ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน รวมถึงการพ่นและไมพ่นด้วยน้ำเกลือที่ความเข้มข้นร้อยละ 23 ก่อนการแช่เยือกแข็งและเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง ตรวจสอบคุณภาพ (ค่าพีเอช ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และปริมาณเกลือ) การเกิดจุลชีวในเปลือกกุ้งขาวในรูปของค่าดัชนีการเกิดจุลชีว การวิเคราะห์การเกิดผลิตภัณฑ์และเวอร์ติไลด์ ทุกๆ 1 เดือน เป็นเวลา 5 เดือน ผลการทดลองเป็นดังนี้

3.1 ผลของสารเคมีต่อค่าพีเอชของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

จากผลการทดลอง (ตาราง 7) การใช้สารเคมีในการแช่กุ้งประกอบด้วย กลุ่มการใช้สารเคมีเพียงชนิดเดียว กลุ่มการใช้สารเคมีร่วมกันสองชนิด และกลุ่มที่ใช้สารเคมีร่วมกันสามชนิด แบบที่ผ่านและไม่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือ พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ทำให้ค่าพีเอชของทุกชุดการทดลองเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และชุดการทดลองที่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือมีแนวโน้มทำให้ค่าพีเอชสูงกว่าชุดการทดลองที่ไม่ผ่านน้ำเกลือ เมื่อเก็บรักษาครบ 5 เดือน พบว่าค่าพีเอชของทุกชุดการทดลองอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกันคือ 6.61 – 6.94 ซึ่งไม่แตกต่างจากค่าเริ่มต้นซึ่งอยู่ในช่วง 5.95-6.13 มากนัก

3.2 ผลของสารเคมีต่อค่าโซเดียมคลอไรด์ของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

ชุดการทดลองที่ผ่านการแช่สารเคมีที่แตกต่างกัน แล้วผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือมีแนวโน้มที่ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีปริมาณเกลือที่มากกว่าชุดการทดลองที่ไม่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือ (ตารางที่ 8) เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ปริมาณโซเดียมคลอไรด์เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้อาจมีสาเหตุเนื่องจากการระเหิดของน้ำออกจากผลิตภัณฑ์ ทำให้ปริมาณสารถูกละลายเข้มข้นมากขึ้น เมื่อเก็บรักษาครบ 5 เดือนพบว่าค่าโซเดียมคลอไรด์ของทุกชุดการทดลองที่ไม่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลืออยู่ในช่วงร้อยละโดยน้ำหนัก 0.24-1.26 ส่วนชุดการทดลองที่ผ่านการพ่นน้ำเกลืออยู่ระหว่างร้อยละโดยน้ำหนัก 0.33 - 1.29

3.3 ผลของสารเคมีต่อค่าซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์สำหรับชุดการทดลองที่มีการใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือ (ตารางที่ 9) พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ค่าซัลเฟอร์ไดออกไซด์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ชุดการทดลองที่ไม่ผ่านน้ำเกลือมีแนวโน้มของค่าซัลเฟอร์ไดออกไซด์มากกว่าชุดการทดลองที่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือ เมื่อเก็บรักษาครบ 5 เดือนพบว่าค่าซัลเฟอร์ไดออกไซด์ของทุกตัวอย่างอยู่ในช่วงที่ต่าง

จากค่าเริ่มต้น การใช้สารประกอบของซัลเฟอร์มีประสิทธิภาพที่ต่างกัน ขึ้นอยู่กับระดับของพีเอช ประสิทธิภาพการทำงานของสารประกอบนี้ยิ่งสูงขึ้นเมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้น (คณาจารย์คณะ อุตสาหกรรมเกษตร, 2549) จากการทดลองพบว่าค่าพีเอชเมื่อเก็บรักษาครบ 5 เดือน อยู่ในช่วง 6.13 – 6.94 ซึ่งเพิ่มจากเริ่มต้น ช่วยทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของสารประกอบนี้เพิ่มขึ้นด้วย

ตารางที่ 7. ผลของสารเคมีต่อค่าพีเอชของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

| No. | Chemical* | Brine** | pH during storage (month) | | | | | |
|-----|-----------|---------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | - | - | 5.95 ± 0.03 ^{Df} | 6.06 ± 0.01 ^{Ge} | 6.13 ± 0.02 ^{Ed} | 6.22 ± 0.01 ^{Dc} | 6.46 ± 0.01 ^{Fb} | 6.67 ± 0.01 ^{Ea} |
| 2 | - | NaCl | 5.95 ± 0.02 ^{Dd} | 6.44 ± 0.03 ^{Fc} | 6.50 ± 0.02 ^{Dc} | 6.64 ± 0.04 ^{BCb} | 6.73 ± 0.01 ^{Ca} | 6.74 ± 0.01 ^{Da} |
| 3 | SMS | - | 6.03 ± 0.02 ^{Cd} | 6.65 ± 0.01 ^{BCc} | 6.67 ± 0.03 ^{Bc} | 6.76 ± 0.02 ^{Ab} | 6.76 ± 0.01 ^{Bb} | 6.83 ± 0.01 ^{Ba} |
| 4 | SMS | NaCl | 6.08 ± 0.01 ^{BCd} | 6.55 ± 0.02 ^{Ec} | 6.57 ± 0.01 ^{Cc} | 6.62 ± 0.02 ^{Cb} | 6.65 ± 0.01 ^{Eb} | 6.77 ± 0.01 ^{Ca} |
| 5 | CA | - | 6.03 ± 0.01 ^{Ce} | 6.57 ± 0.04 ^{DEd} | 6.62 ± 0.02 ^{Ccd} | 6.67 ± 0.02 ^{Bbc} | 6.70 ± 0.00 ^{Dab} | 6.73 ± 0.01 ^{Da} |
| 6 | CA | NaCl | 6.04 ± 0.02 ^{Be} | 6.61 ± 0.01 ^{CDd} | 6.68 ± 0.01 ^{Bc} | 6.69 ± 0.01 ^{BCc} | 6.72 ± 0.01 ^{CDb} | 6.79 ± 0.01 ^{Ca} |
| 7 | PP | - | 6.05 ± 0.01 ^{BCe} | 6.71 ± 0.01 ^{Ad} | 6.76 ± 0.02 ^{Ac} | 6.80 ± 0.01 ^{Ab} | 6.82 ± 0.00 ^{Ab} | 6.87 ± 0.02 ^{Aa} |
| 8 | PP | NaCl | 6.13 ± 0.01 ^{Af} | 6.68 ± 0.01 ^{ABe} | 6.72 ± 0.02 ^{ABd} | 6.76 ± 0.01 ^{Ac} | 6.81 ± 0.01 ^{Ab} | 6.86 ± 0.01 ^{Aa} |
| 1 | - | - | 5.95 ± 0.03 ^{Cf} | 6.06 ± 0.01 ^{Ec} | 6.13 ± 0.02 ^{Fd} | 6.22 ± 0.01 ^{Ec} | 6.46 ± 0.01 ^{Fb} | 6.67 ± 0.01 ^{Da} |
| 2 | - | NaCl | 5.95 ± 0.02 ^{Cd} | 6.44 ± 0.03 ^{Dc} | 6.50 ± 0.02 ^{Ec} | 6.64 ± 0.04 ^{CDb} | 6.73 ± 0.01 ^{BCa} | 6.74 ± 0.01 ^{Ca} |
| 9 | SMS + CA | - | 6.02 ± 0.00 ^{Be} | 6.44 ± 0.01 ^{Dd} | 6.61 ± 0.01 ^{Cc} | 6.66 ± 0.01 ^{Cb} | 6.69 ± 0.01 ^{Dab} | 6.71 ± 0.01 ^{Ca} |
| 10 | SMS + CA | NaCl | 6.06 ± 0.01 ^{ABd} | 6.51 ± 0.01 ^{Cc} | 6.56 ± 0.03 ^{Db} | 6.61 ± 0.02 ^{Da} | 6.62 ± 0.01 ^{Ea} | 6.62 ± 0.01 ^{Ea} |
| 11 | SMS + PP | - | 6.04 ± 0.01 ^{ABc} | 6.71 ± 0.01 ^{Ab} | 6.81 ± 0.01 ^{Aa} | 6.82 ± 0.02 ^{Aa} | 6.82 ± 0.01 ^{Aa} | 6.82 ± 0.01 ^{Ba} |
| 12 | SMS + PP | NaCl | 6.08 ± 0.01 ^{Af} | 6.49 ± 0.01 ^{Ce} | 6.53 ± 0.01 ^{DEd} | 6.68 ± 0.01 ^{Cc} | 6.74 ± 0.01 ^{Bb} | 6.81 ± 0.01 ^{Ba} |
| 13 | CA + PP | - | 5.95 ± 0.01 ^{Cd} | 6.51 ± 0.01 ^{Cc} | 6.55 ± 0.02 ^{Dc} | 6.74 ± 0.02 ^{Ba} | 6.71 ± 0.01 ^{CDa} | 6.61 ± 0.01 ^{Eb} |
| 14 | CA + PP | NaCl | 5.97 ± 0.04 ^{Ce} | 6.62 ± 0.03 ^{Bd} | 6.72 ± 0.02 ^{Bc} | 6.80 ± 0.01 ^{Ab} | 6.82 ± 0.01 ^{Ab} | 6.94 ± 0.01 ^{Aa} |

ตารางที่ 7. ผลของสารเคมีต่อค่าพีเอชของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง (ต่อ)

| No. | Chemical* | Brine** | pH during storage (month) | | | | | |
|-----|--------------|---------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | - | - | 5.95 ± 0.03 ^{Bf} | 6.06 ± 0.01 ^{De} | 6.13 ± 0.02 ^{Cd} | 6.22 ± 0.01 ^{Cc} | 6.46 ± 0.01 ^{Cb} | 6.67 ± 0.01 ^{Ba} |
| 2 | - | NaCl | 5.95 ± 0.02 ^{Bd} | 6.44 ± 0.03 ^{Cc} | 6.50 ± 0.02 ^{Bc} | 6.64 ± 0.04 ^{Bb} | 6.73 ± 0.01 ^{Aa} | 6.74 ± 0.01 ^{Aa} |
| 15 | SMS + CA+ PP | - | 6.06 ± 0.04 ^{Ad} | 6.52 ± 0.01 ^{Bc} | 6.56 ± 0.03 ^{Bbc} | 6.60 ± 0.02 ^{Bb} | 6.61 ± 0.01 ^{Bb} | 6.76 ± 0.01 ^{Aa} |
| 16 | SMS + CA+ PP | NaCl | 6.13 ± 0.01 ^{Ac} | 6.61 ± 0.01 ^{Ab} | 6.66 ± 0.04 ^{Ab} | 6.72 ± 0.01 ^{Aa} | 6.73 ± 0.01 ^{Aa} | 6.77 ± 0.02 ^{Aa} |

* SMS of 4.3%, CA of 0.075% and PP of 0.5%

** brine of 23% NaCl

Mean ± SD followed by different small letters in the same row are significantly different (p < 0.05)

Mean ± SD followed by different large letters in the same column for each group of chemical are significantly different (p < 0.05)

ตารางที่ 8. ผลของสารเคมีต่อค่าโซเดียมคลอไรด์ของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

| No. | Chemical* | Brine** | NaCl (%) during storage (month) | | | | | |
|-----|-----------|---------|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | - | - | 0.48 ± 0.01 ^{Eb} | 0.55 ± 0.02 ^{Eb} | 0.60 ± 0.01 ^{Ea} | 0.65 ± 0.06 ^{Da} | 0.65 ± 0.02 ^{Ga} | 0.67 ± 0.01 ^{Fa} |
| 2 | - | NaCl | 0.57 ± 0.00 ^{Dd} | 1.01 ± 0.01 ^{BCc} | 1.02 ± 0.02 ^{Cc} | 1.03 ± 0.01 ^{Bc} | 1.06 ± 0.01 ^{Db} | 1.11 ± 0.02 ^{Da} |
| 3 | SMS | - | 0.30 ± 0.01 ^{Ff} | 0.46 ± 0.01 ^{Fc} | 1.01 ± 0.01 ^{Cd} | 1.13 ± 0.01 ^{Ac} | 1.19 ± 0.01 ^{Bb} | 1.26 ± 0.01 ^{Ba} |
| 4 | SMS | NaCl | 0.78 ± 0.01 ^{Bf} | 1.02 ± 0.01 ^{Bc} | 1.10 ± 0.01 ^{Ad} | 1.15 ± 0.01 ^{Ac} | 1.18 ± 0.01 ^{Bb} | 1.20 ± 0.01 ^{Ca} |
| 5 | CA | - | 0.74 ± 0.06 ^{Bc} | 0.72 ± 0.01 ^{Dc} | 0.69 ± 0.01 ^{Dc} | 0.82 ± 0.01 ^{Cb} | 0.82 ± 0.01 ^{Fb} | 0.92 ± 0.01 ^{Ea} |
| 6 | CA | NaCl | 0.88 ± 0.01 ^{Ae} | 0.99 ± 0.01 ^{Cd} | 1.04 ± 0.01 ^{BCc} | 1.06 ± 0.01 ^{Bc} | 1.14 ± 0.01 ^{Cb} | 1.22 ± 0.01 ^{Ca} |
| 7 | PP | - | 0.24 ± 0.01 ^{Gf} | 0.44 ± 0.01 ^{Fc} | 0.45 ± 0.01 ^{Fd} | 0.80 ± 0.01 ^{Cc} | 0.99 ± 0.01 ^{Eb} | 1.12 ± 0.01 ^{Da} |
| 8 | PP | NaCl | 0.68 ± 0.01 ^{Ce} | 1.06 ± 0.01 ^{Ad} | 1.07 ± 0.02 ^{ABd} | 1.16 ± 0.01 ^{Ac} | 1.25 ± 0.01 ^{Ab} | 1.29 ± 0.01 ^{Aa} |
| 1 | - | - | 0.48 ± 0.01 ^{Cb} | 0.55 ± 0.02 ^{Db} | 0.60 ± 0.01 ^{Ca} | 0.65 ± 0.06 ^{Ca} | 0.65 ± 0.02 ^{Ea} | 0.67 ± 0.01 ^{Ea} |
| 2 | - | NaCl | 0.57 ± 0.00 ^{Bd} | 1.01 ± 0.01 ^{Bc} | 1.02 ± 0.02 ^{Bc} | 1.03 ± 0.01 ^{Bc} | 1.06 ± 0.01 ^{Cb} | 1.11 ± 0.02 ^{Ca} |
| 9 | SMS + CA | - | 0.44 ± 0.01 ^{Dc} | 0.44 ± 0.01 ^{Ec} | 0.42 ± 0.01 ^{Fc} | 0.41 ± 0.01 ^{Ec} | 0.51 ± 0.01 ^{Gb} | 0.58 ± 0.01 ^{Fa} |
| 10 | SMS + CA | NaCl | 0.29 ± 0.01 ^{Ff} | 0.45 ± 0.02 ^{Ec} | 0.52 ± 0.01 ^{Dd} | 0.64 ± 0.01 ^{Cc} | 0.83 ± 0.01 ^{Db} | 1.01 ± 0.01 ^{Da} |
| 11 | SMS + PP | - | 0.32 ± 0.01 ^{Ef} | 0.37 ± 0.01 ^{Fc} | 0.48 ± 0.01 ^{Ed} | 0.51 ± 0.01 ^{Dc} | 0.57 ± 0.01 ^{Fb} | 0.61 ± 0.01 ^{Fa} |
| 12 | SMS + PP | NaCl | 0.63 ± 0.01 ^{Af} | 1.04 ± 0.00 ^{Ac} | 1.10 ± 0.01 ^{Ad} | 1.12 ± 0.01 ^{Ac} | 1.15 ± 0.00 ^{Bb} | 1.17 ± 0.01 ^{Ba} |
| 13 | CA + PP | - | 0.24 ± 0.01 ^{Gf} | 0.36 ± 0.01 ^{Fc} | 0.51 ± 0.01 ^{Dd} | 0.56 ± 0.01 ^{Dc} | 0.59 ± 0.01 ^{Fb} | 0.70 ± 0.01 ^{Ea} |
| 14 | CA + PP | NaCl | 0.59 ± 0.01 ^{Be} | 0.96 ± 0.01 ^{Cd} | 1.09 ± 0.01 ^{Ac} | 1.12 ± 0.01 ^{Ab} | 1.20 ± 0.01 ^{Aa} | 1.22 ± 0.01 ^{Aa} |

ตารางที่ 8. ผลของสารเคมีต่อค่าโซเดียมคลอไรด์ของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง (ต่อ)

| No. | Chemical* | Brine** | NaCl (%) during storage (month) | | | | | |
|-----|--------------|---------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | - | - | 0.48 ± 0.01 ^{Bb} | 0.55 ± 0.02 ^{Bb} | 0.60 ± 0.01 ^{Ba} | 0.65 ± 0.06 ^{Ba} | 0.65 ± 0.02 ^{Ba} | 0.67 ± 0.01 ^{Ca} |
| 2 | - | NaCl | 0.57 ± 0.00 ^{Ad} | 1.01 ± 0.01 ^{Ac} | 1.02 ± 0.02 ^{Ac} | 1.03 ± 0.01 ^{Ac} | 1.06 ± 0.01 ^{Ab} | 1.11 ± 0.02 ^{Aa} |
| 15 | SMS + CA+ PP | - | 0.24 ± 0.01 ^{De} | 0.32 ± 0.02 ^{Dd} | 0.51 ± 0.01 ^{Cc} | 0.59 ± 0.01 ^{BCb} | 0.61 ± 0.01 ^{Bb} | 0.66 ± 0.01 ^{Ca} |
| 16 | SMS + CA+ PP | NaCl | 0.33 ± 0.01 ^{Cf} | 0.49 ± 0.01 ^{Cc} | 0.51 ± 0.01 ^{Cd} | 0.55 ± 0.01 ^{Cc} | 0.62 ± 0.01 ^{Bb} | 0.75 ± 0.01 ^{Ba} |

* SMS of 4.3%, CA of 0.075% and PP of 0.5%

** brine of 23% NaCl

Mean ± SD followed by different small letters in the same row are significantly different ($p < 0.05$)

Mean ± SD followed by different large letters in the same column for each group of chemical are significantly different ($p < 0.05$)

ตารางที่ 9. ผลของสารเคมีต่อค่าซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

| No. | Chemical* | Brine** | SO ₂ (mg/kg) during storage (month) | | | | | |
|-----|-----------|---------|--|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | - | - | 0.00 ± 0.00 ^{Ca} | 0.00 ± 0.00 ^{Ca} | 0.00 ± 0.00 ^{Ca} | 0.00 ± 0.00 ^{Ca} | 0.00 ± 0.00 ^{Ca} | 0.00 ± 0.00 ^{Ca} |
| 2 | - | NaCl | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 3 | SMS | - | 28.16 ± 0.98 ^{Bf} | 33.10 ± 0.97 ^{Bc} | 40.68 ± 0.74 ^{Bd} | 47.07 ± 0.99 ^{Bc} | 68.00 ± 0.77 ^{Bb} | 81.70 ± 0.93 ^{Aa} |
| 4 | SMS | NaCl | 52.28 ± 0.03 ^{Af} | 64.58 ± 0.73 ^{Ac} | 68.64 ± 0.60 ^{Ad} | 70.72 ± 0.47 ^{Ac} | 77.93 ± 0.74 ^{Aa} | 74.32 ± 0.23 ^{Bb} |
| 5 | CA | - | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 6 | CA | NaCl | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 7 | PP | - | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 8 | PP | NaCl | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 1 | - | - | 0.00 ± 0.00 ^{Ea} | 0.00 ± 0.00 ^{Ea} | 0.00 ± 0.00 ^{Ea} | 0.00 ± 0.00 ^{Da} | 0.00 ± 0.00 ^{Da} | 0.00 ± 0.00 ^{Ea} |
| 2 | - | NaCl | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 9 | SMS + CA | - | 64.08 ± 0.11 ^{Be} | 68.31 ± 0.27 ^{Bd} | 69.29 ± 0.23 ^{Bd} | 77.11 ± 0.55 ^{Bc} | 83.77 ± 0.74 ^{Bb} | 101.16 ± 0.93 ^{Ca} |
| 10 | SMS + CA | NaCl | 57.46 ± 0.62 ^{Cf} | 65.03 ± 0.36 ^{Cc} | 67.93 ± 0.07 ^{Cd} | 75.03 ± 0.17 ^{Bc} | 89.21 ± 0.93 ^{Bb} | 105.76 ± 0.57 ^{Ba} |
| 11 | SMS + PP | - | 80.12 ± 0.17 ^{Ad} | 86.75 ± 0.35 ^{Ac} | 84.11 ± 0.15 ^{Ac} | 90.78 ± 0.66 ^{Ac} | 11.44 ± 0.96 ^{Ab} | 164.02 ± 0.05 ^{Aa} |
| 12 | SMS + PP | NaCl | 10.47 ± 0.16 ^{De} | 12.94 ± 0.18 ^{De} | 21.10 ± 0.11 ^{Dd} | 53.27 ± 0.67 ^{Cc} | 68.18 ± 0.91 ^{Cb} | 72.89 ± 0.92 ^{Da} |
| 13 | CA + PP | - | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 14 | CA + PP | NaCl | ND | ND | ND | ND | ND | ND |

ตารางที่ 9. ผลของสารเคมีต่อค่าซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง (ต่อ)

| No. | Chemical* | Brine** | SO ₂ (mg/kg) during storage (month) | | | | | |
|-----|--------------|---------|--|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | - | - | 0.00 ± 0.00 ^{Ca} | 0.00 ± 0.00 ^{Ca} | 0.00 ± 0.00 ^{Ca} | 0.00 ± 0.00 ^{Ca} | 0.00 ± 0.00 ^{Ca} | 0.00 ± 0.00 ^{Ca} |
| 2 | - | NaCl | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 15 | SMS + CA+ PP | - | 69.88 ± 0.18 ^{Ac} | 75.61 ± 0.78 ^{Abc} | 81.78 ± 0.74 ^{Abc} | 97.83 ± 0.37 ^{Ab} | 166.32 ± 0.05 ^{Aa} | 186.00 ± 0.98 ^{Aa} |
| 16 | SMS + CA+ PP | NaCl | 65.58 ± 0.11 ^{Bf} | 69.98 ± 0.10 ^{Be} | 75.11 ± 0.86 ^{Bd} | 85.06 ± 0.08 ^{Bc} | 100.02 ± 0.23 ^{Bb} | 104.10 ± 0.14 ^{Ba} |

* SMS of 4.3%, CA of 0.075% and PP of 0.5%

** brine of 23% NaCl

Mean ± SD followed by different small letters in the same row are significantly different ($p < 0.05$)

Mean ± SD followed by different large letters in the same column for each group of chemical are significantly different ($p < 0.05$)

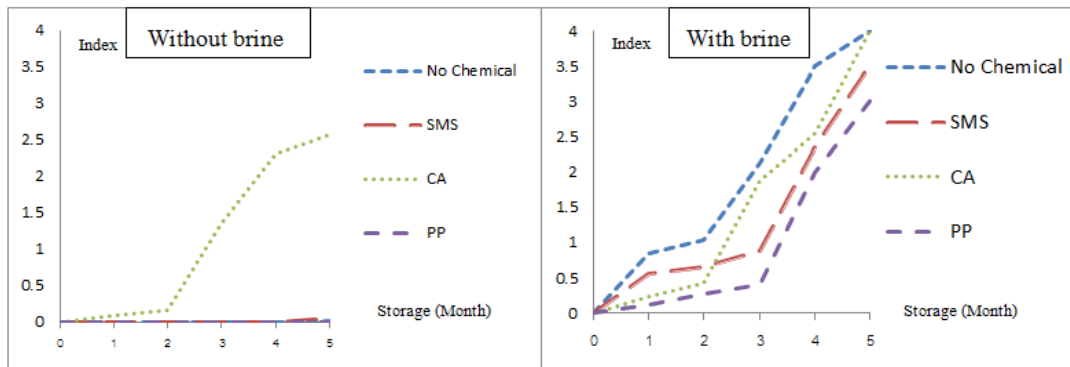
3.4 ผลของสารเคมีต่อค่าดัชนีการเกิดจุดขาวของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

การเกิดจุดขาวของกุ้งขาวที่ผ่านการแช่สารเคมีที่แตกต่างกันระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง พบว่า เมื่อเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ชุดการทดลองที่ใช้สารเคมีเพียงชนิดเดียวที่ไม่ผ่านน้ำเกลือไม่พบการเกิดจุดขาว จึงมีค่าดัชนีการเกิดจุดขาวน้อยมาก (ภาพที่ 7 และตารางที่ ข.1) ยกเว้นชุดการทดลองที่ใช้กรดซัลฟิวริกที่มีดัชนีการเกิดจุดขาวเพิ่มสูงขึ้น ส่วนชุดการทดลองที่ผ่านน้ำเกลือมีค่าดัชนีการเกิดจุดขาวเพิ่มขึ้น ชุดการทดลองที่ไม่แช่สารเคมีพบการเพิ่มขึ้นของค่าดัชนีสูงสุด รองลงมา คือชุดการทดลองที่แช่ด้วยกรดซัลฟิวริก โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ และโพโรฟอสเฟตตามลำดับ

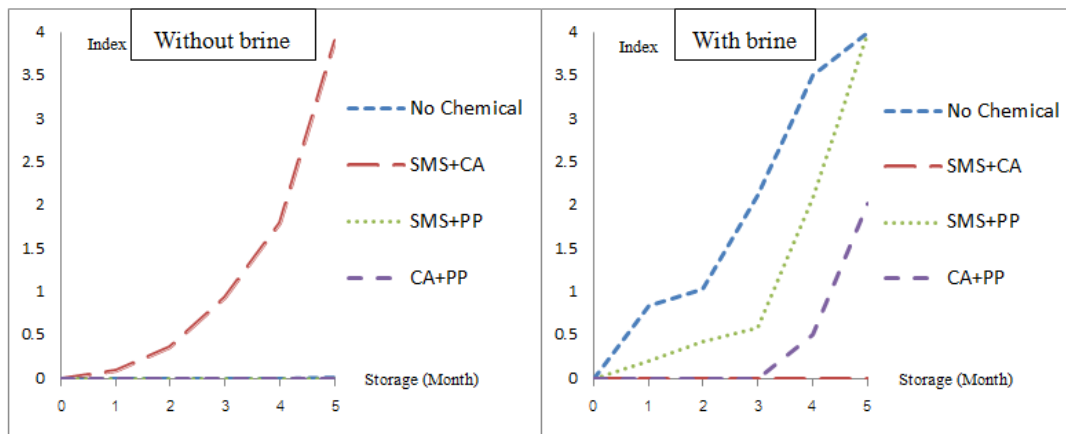
ผลการใช้สารเคมีร่วมกันสองชนิดทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านน้ำเกลือแสดงในภาพที่ 8 และตารางที่ ข.1 และเมื่อเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น การใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ร่วมกับกรดซัลฟิวริกที่ไม่ผ่านน้ำเกลือมีค่าดัชนีการเกิดจุดขาวเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ชุดการทดลองอื่นที่ไม่ผ่านน้ำเกลือพบการเกิดจุดขาวน้อยมากเมื่อเวลาผ่านไป 5 เดือน ส่วนการทดลองที่ผ่านน้ำเกลือมีค่าดัชนีการเกิดจุดขาวเพิ่มขึ้น การไม่แช่สารเคมีพบการเกิดจุดขาวมากที่สุด รองลงมาคือการแช่ด้วยโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ร่วมกับโพโรฟอสเฟต ส่วนการใช้กรดซัลฟิวริกร่วมกับโพโรฟอสเฟตพบการเกิดจุดขาวเมื่อเก็บรักษาผ่านไป 3 เดือน และการแช่ด้วยโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ร่วมกับกรดซัลฟิวริกพบการเกิดจุดขาวน้อยมาก

สำหรับผลของการใช้สารเคมีในการแช่ร่วมกันสามชนิดที่ไม่ผ่านน้ำเกลือ พบการเกิดจุดขาวน้อยมาก (ภาพที่ 9 และตารางที่ ข.1) เมื่อเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น นั้นแสดงว่าการไม่ใช้สารเคมีใดๆเลยส่งผลให้สามารถชะลอการเกิดจุดขาวได้เป็นอย่างดี ส่วนชุดการทดลองที่ใช้สารเคมีร่วมกันสามชนิด และผ่านน้ำเกลือสามารถชะลอการเกิดจุดขาวได้ถึง 4 เดือน ในขณะที่ใช้แต่น้ำเกลือเพียงอย่างเดียวส่งผลให้เกิดจุดขาวโดยค่าดัชนีเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น

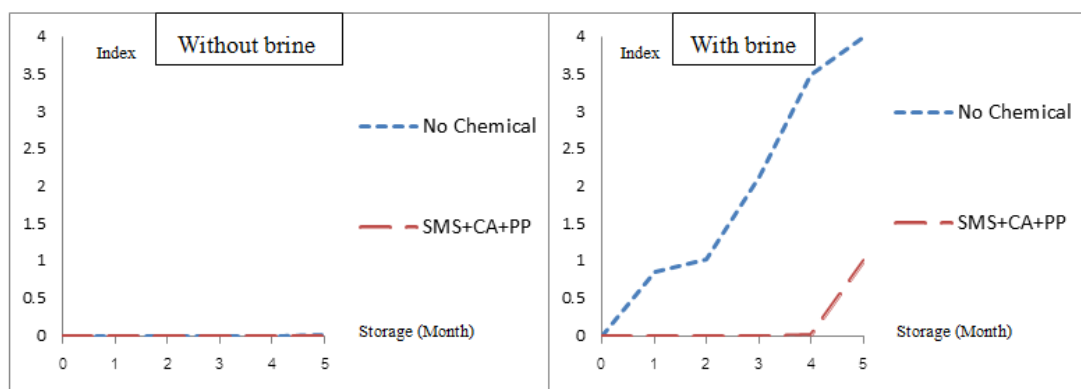
จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการไม่ผ่านน้ำเกลือ สามารถชะลอการเกิดจุดขาวได้ดีกว่าการผ่านน้ำเกลือ ส่วนการใช้สารเคมีร่วมกันสามชนิดในการแช่สามารถชะลอการเกิดจุดขาวได้ดีกว่าการใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ กรดซัลฟิวริก และโพโรฟอสเฟตเพียงชนิดเดียวหรือร่วมกัน ดังนั้นหากต้องการประยุกต์ใช้ในการผลิตจริง ควรพิจารณาความเหมาะสมกับความต้องการของลูกค้า หากลูกค้าเป็นกลุ่มที่ไม่ต้องการเกลือเสนอว่าควรเลือกชุดการทดลองที่ไม่ต้องแช่สารเคมี แต่ถ้าเป็นลูกค้ากลุ่มที่ต้องการเกลือเสนอว่าควรเลือกชุดการทดลองที่ใช้สารเคมีร่วมกันทั้งสามชนิดซึ่งสามารถชะลอการเกิดจุดขาวได้นานถึง 4 เดือน



ภาพที่ 7. ผลของการใช้สารเคมีเพียงชนิดเดียวต่อค่าดัชนีการเกิดจุดขาวของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง



ภาพที่ 8. ผลของการใช้สารเคมีร่วมกันสองชนิดต่อค่าดัชนีการเกิดจุดขาวของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง



ภาพที่ 9. ผลของการใช้สารเคมีร่วมกันสามชนิดต่อค่าดัชนีการเกิดจุดขาวของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

3.5 ผลของสารเคมีต่อการพบผลึกแคลไซต์และวาทีไรต์ระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

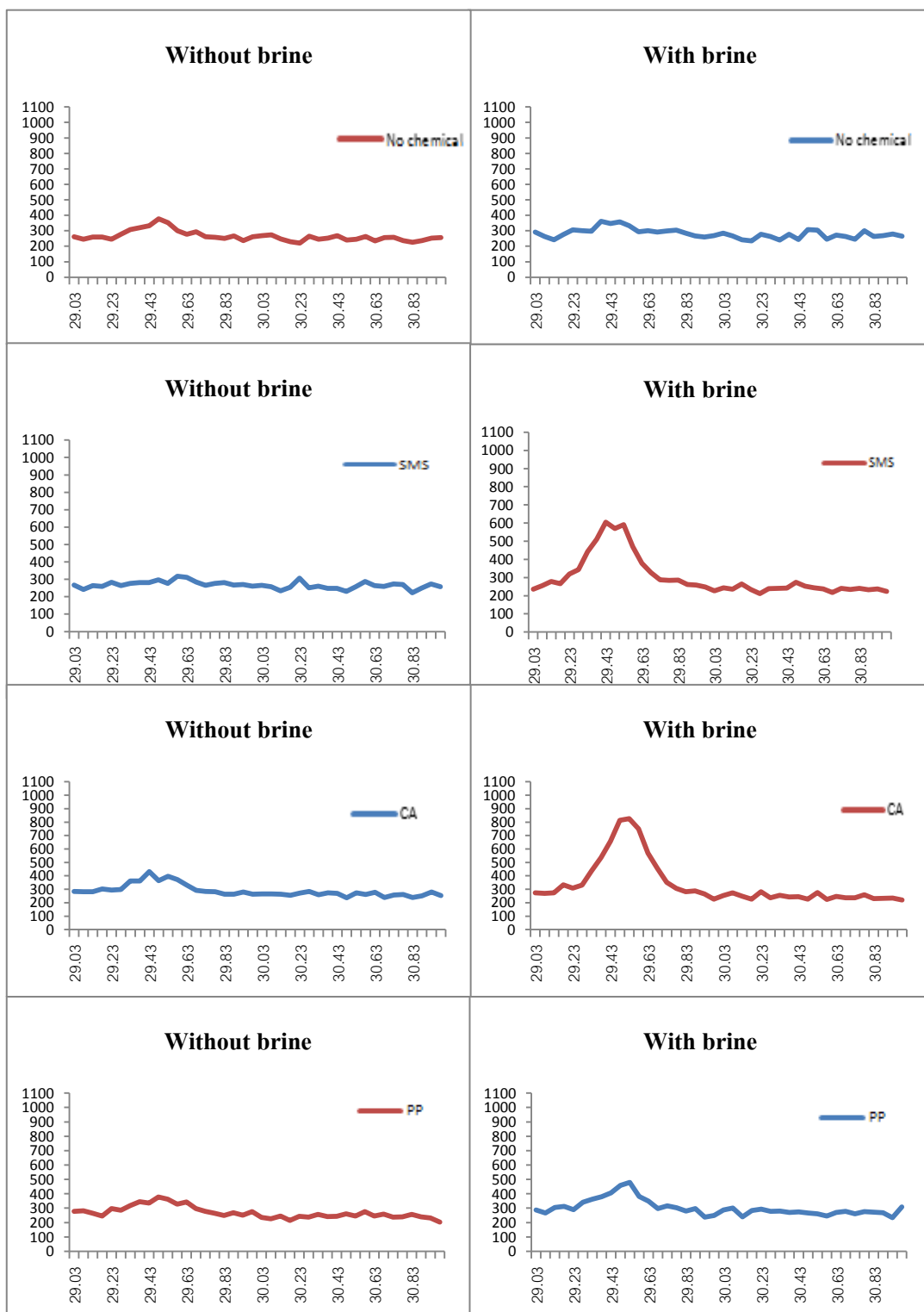
เนื่องจากข้อจำกัดในการวิเคราะห์ผลึกแคลไซต์และวาทีไรต์ด้วยเครื่อง XRD ของเปลือกกุ้งขาวที่ผ่านการแช่สารเคมีและพ่นด้วยน้ำเกลือระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็ง จึงไม่สามารถหาปริมาณของผลึกที่เกิดขึ้นได้ และตรวจพบเฉพาะผลึกแคลไซต์เท่านั้น ดังนั้นผลการทดลองจึงเป็นลักษณะของการพบหรือไม่พบ เมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 5 เดือน ดังนี้

เปลือกกุ้งที่ผ่านการแช่สารเคมีเพียงชนิดเดียวแบบที่ไม่ผ่านน้ำเกลือ พบผลึกแคลไซต์เพียงเล็กน้อย ส่วนชุดการทดลองที่ผ่านน้ำเกลือ ตรวจพบผลึกแคลไซต์ในชุดการทดลองที่ใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ และกรดซิตริก มากกว่าชุดการทดลองที่ใช้โพโรฟอสเฟตและไม่ใช้สารเคมี (ภาพที่ 10)

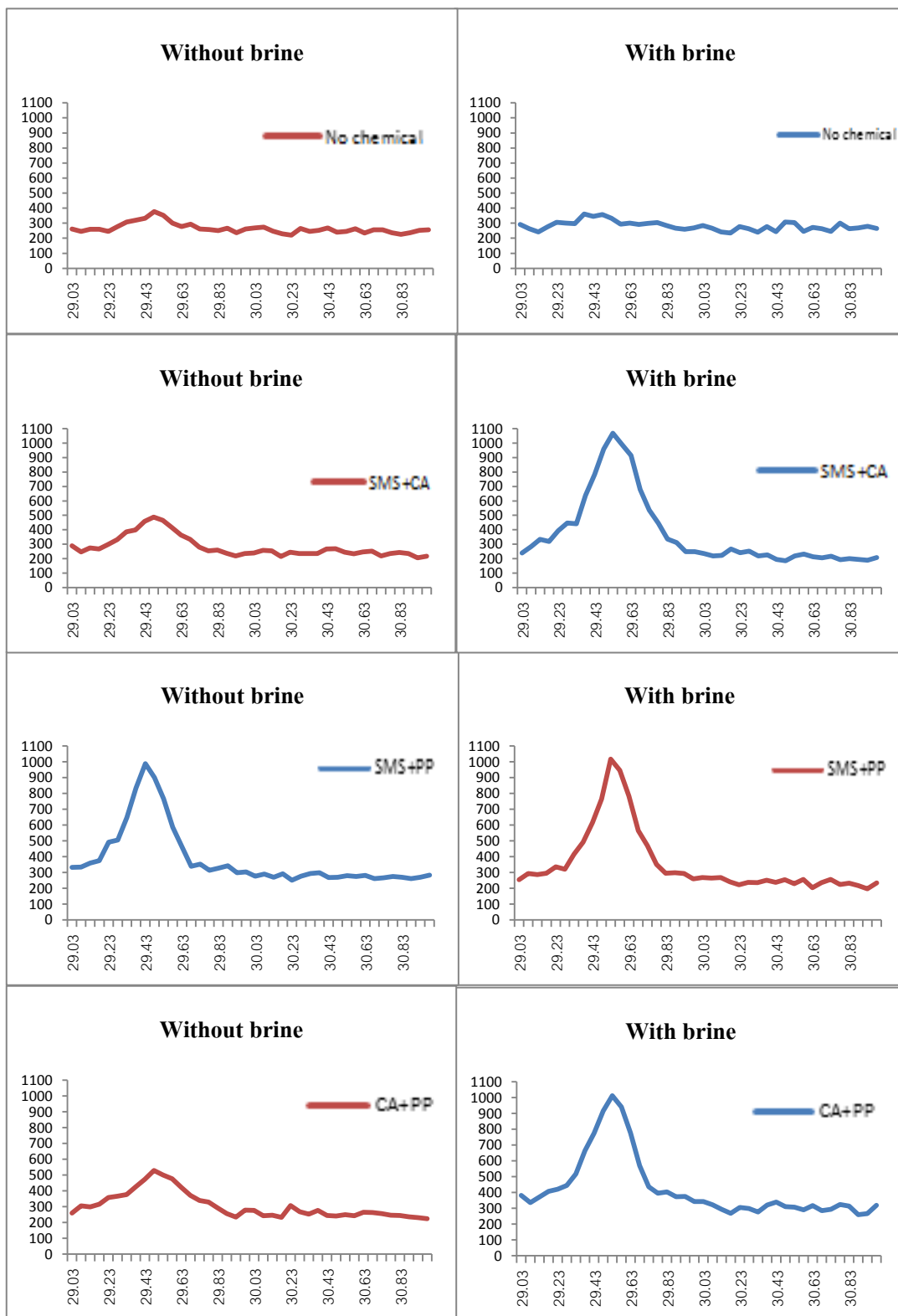
ผลการตรวจผลึกแคลไซต์ในชุดการทดลองที่ผ่านการแช่สารเคมีร่วมกันสองชนิด ทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านน้ำเกลือ (ภาพที่ 11) พบว่าการผ่านน้ำเกลือส่งผลให้พบเฉพาะผลึกแคลไซต์มากกว่าการไม่ผ่านน้ำเกลือในทุกชุดการทดลอง การไม่ใช้สารเคมีพบการเกิดผลึกน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มที่ใช้สารเคมีพบว่าการใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ร่วมกับกรดซิตริก (SMS+CA) แบบที่ไม่ผ่านน้ำเกลือพบผลึกแคลไซต์น้อยกว่าแบบที่ผ่านน้ำเกลือ ในทำนองเดียวกันกับชุดการทดลองที่ใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ร่วมกับโพโรฟอสเฟต (SMS+PP) ส่วนชุดการทดลองที่ใช้กรดซิตริกร่วมกับโพโรฟอสเฟต (CA+PP) พบการเกิดผลึกน้อยที่สุด

สำหรับผลการตรวจวิเคราะห์การพบผลึกแคลไซต์ในชุดการทดลองที่ผ่านการแช่สารเคมีร่วมกันสามชนิดทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านน้ำเกลือ (ภาพที่ 12) พบว่าชุดการทดลองที่ผ่านน้ำเกลือมีแนวโน้มการพบผลึกแคลไซต์มากกว่าการไม่ผ่านน้ำเกลือ

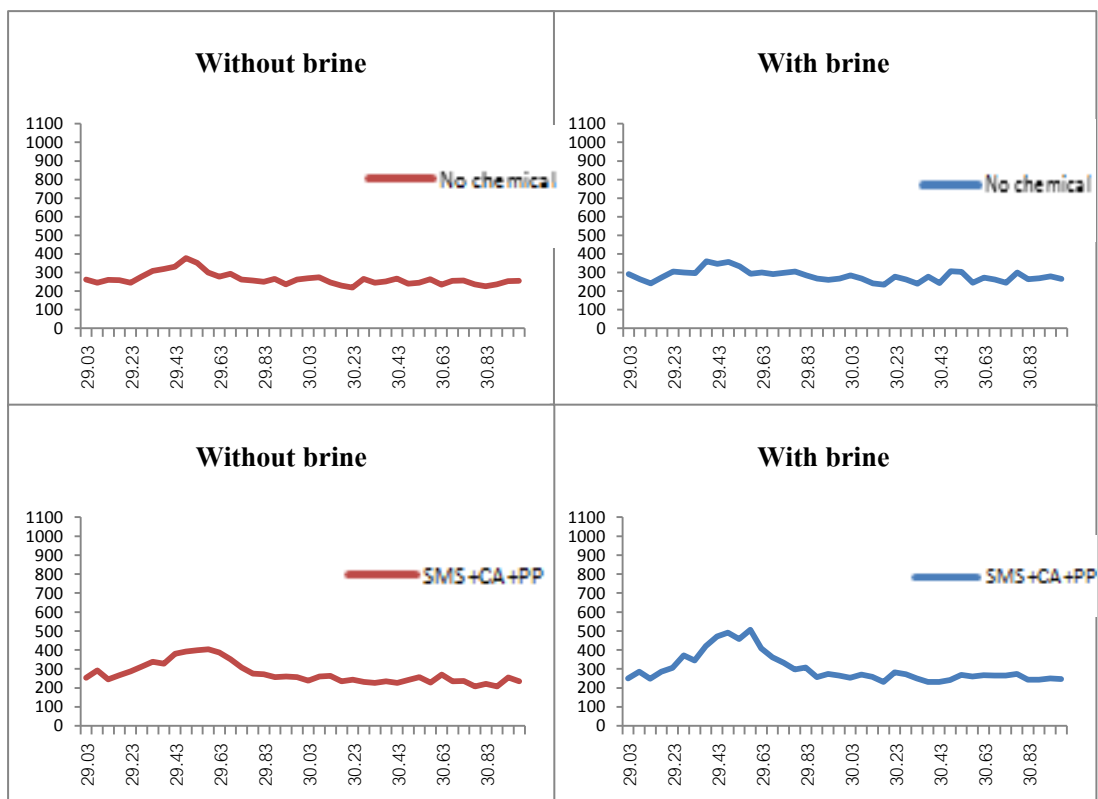
จากผลการตรวจวิเคราะห์ผลึกดังกล่าวสามารถยืนยันสรุปผลที่สอดคล้องกันไปในการทำนองเดียวกับการเกิดจุดขาว คือการไม่ผ่านน้ำเกลือ สามารถชะลอการเกิดผลึกแคลไซต์ได้ดีกว่าการผ่านน้ำเกลือ ดังนั้นหากต้องการประยุกต์ใช้ในการผลิตจริง ควรพิจารณาความเหมาะสมกับความต้องการของลูกค้า หากลูกค้าเป็นกลุ่มที่ไม่ต้องการเกลือเสนอว่าควรเลือกชุดการทดลองที่ไม่ต้องแช่สารเคมี แต่ถ้าเป็นลูกค้ากลุ่มที่ต้องการเกลือเสนอว่าควรเลือกชุดการทดลองที่ใช้สารเคมีร่วมกันทั้งสามชนิด ซึ่งสามารถชะลอการเกิดจุดขาวได้นานถึง 4 เดือน



ภาพที่ 10. ผลของกลุ่มการใช้สารเคมีเพียงชนิดเดียวต่อการพบฟลิคแคลไชค์และวาที่ไรต์ระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง



ภาพที่ 11. ผลของกลุ่มการใช้สารเคมีร่วมกันสองชนิดต่อการพบผลึกแคลไซต์และวาทีไรต์ระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง



ภาพที่ 12. ผลของกลุ่มการใช้สารเคมีร่วมกันสามชนิดต่อการพบผลึกแคลไซต์และวาทีไรต์ระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

บทที่ 4

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

จากการการดำเนินการวิจัยเพื่อวิเคราะห์สาเหตุของปัญหาและการจัดการเพื่อหาแนวทางป้องกันการเกิดจุดขาวในเปลือกกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง ประกอบด้วย การสำรวจและรวบรวมข้อมูลย้อนหลัง การวิเคราะห์หาสาเหตุการเกิดจุดขาวที่เปลือกกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง การศึกษาผลของสารเคมีต่อคุณภาพและการเกิดจุดขาว ซึ่งสรุปผลได้ว่า เมื่อระยะเวลาเก็บรักษานานขึ้นพบปริมาณการเกิดจุดขาวของผลิตภัณฑ์กุ้งสดแช่เยือกแข็งที่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น และการวิเคราะห์หาสาเหตุการเกิดจุดขาวที่เปลือกกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง พบว่าสาเหตุหลักที่สำคัญเกิดจากระยะเวลาในการเก็บรักษาและสารเคมีที่ใช้มีผลต่อการเกิดจุดขาว

ผลของการใช้สารเคมีในระหว่างกระบวนการผลิตกุ้งขาวแช่เยือกแข็ง ประกอบด้วย โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์เข้มข้นร้อยละ 4.3 กรดซिटริกเข้มข้นร้อยละ 0.075 ไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 0.5 ทั้งแบบชนิดเดี่ยวและร่วมกันสองและสามชนิด แล้วผ่านและไม่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 23 ก่อนการแช่เยือกแข็ง พบว่าระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 5 เดือน การไม่ผ่านน้ำเกลือ สามารถชะลอการเกิดจุดขาวได้ดีกว่าการผ่านน้ำเกลือ ส่วนการใช้สารเคมีร่วมกันสามชนิดในการแช่และไม่ผ่านน้ำเกลือ สามารถชะลอการเกิดจุดขาวได้ดีกว่าการใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ และกรดซิทริก เพียงชนิดเดียวหรือร่วมกัน ซึ่งสอดคล้องกับการตรวจพบผลึกแคลเซียมออกไซด์และวาทีไรต์โดยที่คุณภาพด้านอื่นจากการตรวจวิเคราะห์คือ ค่าพีเอช ปริมาณเกลือ ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช ปริมาณเกลือ และปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยค่าพีเอชของทุกชุดการทดลองเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และชุดการทดลองที่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือมีแนวโน้มทำให้ค่าพีเอชสูงกว่าชุดการทดลองที่ไม่ผ่านน้ำเกลือ ปริมาณ โซเดียมคลอไรด์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทุกชุดการทดลองที่ไม่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือมีปริมาณโซเดียมคลอไรด์อยู่ในช่วงร้อยละ โดยน้ำหนัก 0.24-1.26 ส่วนชุดการทดลองที่ผ่านการพ่นน้ำเกลืออยู่ระหว่างร้อยละ โดยน้ำหนัก 0.33 - 1.29 เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และชุดการทดลองที่ไม่ผ่านน้ำเกลือมีแนวโน้มของปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์มากกว่าชุดการทดลองที่ผ่านการพ่นด้วยน้ำเกลือ อย่างไรก็ตามคุณภาพที่ตรวจวัดเมื่อเวลาเก็บรักษา 5 เดือน อยู่ในระดับที่ยอมรับได้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการควบคุมและตรวจติดตามการปฏิบัติงานของพนักงาน รวมทั้งจัดอบรมและให้ความรู้แก่พนักงานเกี่ยวกับขั้นตอนการปฏิบัติงานอย่างสม่ำเสมอ เพื่อรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์
2. ควรศึกษาคุณภาพด้านประสาทสัมผัส สี กลิ่น และศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ด้านอื่นๆเพิ่มขึ้น เพื่อรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้เป็นไปตามที่ลูกค้ากำหนด และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์อย่างต่อเนื่อง
3. แนวทางในการแก้ปัญหาการเกิดจุดขาวของเปลือกกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็งขึ้นอยู่กับความต้องการของลูกค้า จึงควรเลือกวิธีการที่เหมาะสมกับลูกค้าแต่ละกลุ่ม

เอกสารอ้างอิง

- กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ. 2548. คู่มือการดูแลรักษาสัตว์น้ำที่ฟาร์มเลี้ยงสัตว์น้ำ. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- แก้วตา ลิมเฮง. 2548. การเปรียบเทียบการเจริญเติบโต ผลผลิต และผลตอบแทน ระหว่างการเลี้ยง กุ้งกุลาดำและกุ้งขาวแวนนาไมในน้ำความเค็มต่ำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- คณาจารย์คณะอุตสาหกรรมเกษตร. 2549. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 5. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- จิราภรณ์ ไตรศักดิ์. 2533. ระยะเวลาการลอกคราบของกุ้งกุลาดำขนาดต่างๆ และการทดลองกระตุ้น การลอกคราบโดยการเปลี่ยนน้ำ การปรับความเค็ม การตัดก้านตา และการใช้กากชา. วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ณัฐชา เพชรดากุล วัชริน มีรอด จรัสพรรณ องหุ้มนันทกุล และ โชติมา เอี่ยมสวัสดิกุล. 2551. โครงการ ศึกษาเชิงเปรียบเทียบศักยภาพในเชิงคู่แข่งและคู่ค้าระหว่างประเทศเวียดนามและไทยในกลุ่มสินค้าอาหารทะเลแปรรูป. รายงานวิจัยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
- นงลักษณ์ สุทธิวนิช. 2531. คุณภาพสัตว์น้ำ : พิมพ์ครั้งที่ 1 ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะ ทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ประจวบ หล้าอุบล. 2537. สรีระวิทยาของกุ้ง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ไพโรจน์ พวงลดา. 2538. ระยะเวลาการลอกคราบของกุ้งกุลาดำในบ่อเลี้ยง. วิทยานิพนธ์วิทยาศา สตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ไพโรจน์ วิริยจारी. 2545. การประเมินทางประสาทสัมผัส. ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- ยนต์ มุสิก. 2539. คุณภาพน้ำกับกำลังผลิตของบ่อปลา. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

- วิรัช จิวแหยม. 2544. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับคุณภาพและการวิเคราะห์สำหรับการวิจัยทางการประมง. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- วันรัตน์ จันทกิจ. 2547. 17 เครื่องมือนักคิด. สถาบันเพิ่มผลผลิตแห่งชาติ. กรุงเทพฯ
- สถาบันเพิ่มผลผลิตแห่งชาติ. 2550. เครื่องมือคุณภาพ 7 ชนิด (7 QC Tools) (ออนไลน์). http://ns.ftpi.or.th/th/KNWINF_pcornerdetail.php?pdttid=894 (10 พฤษภาคม 2557)
- สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2534. แนวทางการใช้ประโยชน์จากเปลือกกุ้ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2544. เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2549. ชูริมิ: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเนื้อปลาบด. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- อาสินะ หมัดเจริญ. 2547. ผลของสารประกอบฟอสเฟตต่อคุณภาพและสมบัติของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- AOAC 2006. Official Methods of Analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington. D.C.
- Dziezak, J. D. 1990. Phosphate improve many foods. Food Technol. 44: 80-90.
- FAO . 2011a. Cultured Aquatic Species Information Programme. (Online). Available http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus_vannamei/en (13 October 2011)
- FAO. 2011b. Cultured Aquatic Species Information Programme. (Online). Available http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus_monodon/en (13 October 2011)
- Gomez-Jimenez, S., Urias-Reyes, A. A., Vazquez-Ortiz, F. and Hernandez-Watanabe, G. 2004. Ammonia efflux rates and free amino levels in *Litopenaeus vannamei* postlarvae during sudden salinity changes. J. Aquaculture. 233:573-581.
- Holland, C. A. and Skinner, D. M. 1976. Interactions between molting and regeneration in the land crab. Biol. Bull. 150: 222-240.
- Lehninger, A. L. 1985. Principles of Biochemistry. Worth Publisher, Inc. New York.

- Lopkulkiaert, W., Prapatsornwattana, P. and Rungsardthong, V. 2009. Effects of sodium bicarbonate containing traces of citric acid in combination with sodium chloride on yield and some properties of white shrimp (*Penaeus vannamei*) frozen by shelf freezing, air-blast and cryogenic freezing. *J. LWT - Food Science and Technology*. 42:768-776.
- Mikkelsen, A., Engelsen, S. B., Hansen, H. C. B., Larsen O. and Skibsted L. H. 1997a. Calcium carbonate crystallization in the α -chitin matrix of the shell of pink shrimp, *Pandalus borealis*, during frozen storage. *J. Crystal Growth*. 177: 125-134.
- Mikkelsen, A., Ronn, B. and Skibsted, L. H. 1997b. Formation of white spots in the shell of raw shrimps during frozen storage. Seasonal variation and effects of some production factors. *J. Sci. Food Agric*. 75: 433-441.
- Paterson, B. C., Parrish, F. C. and Stromer, M. H. 1988. Effect of salt and pyrophosphate on the physical and chemical properties of beef muscle. *J. Food Sci*. 53: 1258-1265.
- Pathumnakul, P., Piewthongngam, K. and Khamjan, S. 2009. Integrating a shrimp-growth function, farming skills information, and a supply allocation algorithm to manage the shrimp supply chain. *J. Aquaculture*. 66:93-105.
- Rougier, T., Bonazzi, C. and Daudin, J. D. 2007. Modeling incidence of lipid and sodium chloride contents on sorption curves of gelatin in the high humidity range. *J. Food Sci*. 40: 1798-1807.
- Sriket, P. 2006. Comparative study on the characteristic and quality change during iced storage of black tiger and white shrimps. Master of Science Thesis. Prince of Songkla University.
- Thai Frozen Foods Association. 2014. Export fresh, chill, frozen preserved shrimp of Thailand. (online). Available http://www.thai-frozen.or.th/hotnews_trends.asp (22 October 2014)
- Wyban, J. Walsh, A.W and Godin, D. M. 1995. Temperature effects on growth feeding rate and feed conversation of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). *J. Aquaculture* 138:267-279.
- Xie, X., Hu, Y., Wang, L., Chen, C., Huang, Q., Zhou, H. and Chen, Q. 2010. Inhibitory kinetics of citric acid on β -N-acetyl-D-glucosaminidase from prawn (*Litopenaeus vannamei*). *J. Fish and Shellfish Immunology*. 29: 674-678

- Xiong, Y.L., Lou, X., Wang, C., Moody, W.G. and Harmon, R.J. 2000b. Salt and pyrophosphate-induced structural changes in myofibrils from chicken red and white muscles. *J. Sci. Food Agric.* 80: 1176-1182.
- Young, L. L. and Lyon, B. G. 1986. Effect of sodium tripolyphosphate in the presence and absence of calcium chloride and sodium chloride on water retention properties and shear resistance of chicken breast meat. *Poultry Sci.* 65: 898-902.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ ก1. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการใช้สารเคมีต่อค่าพีเอชของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

| 1 chemical | | | | | | |
|-----------------|--------------------|----|-------------|---------|------|--|
| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. | |
| Corrected Model | 7.704 ^a | 47 | .164 | 521.074 | .000 | |
| Intercept | 4112.354 | 1 | 4112.354 | 1.307E7 | .000 | |
| treat | 1.516 | 7 | .217 | 688.575 | .000 | |
| month | 5.744 | 5 | 1.149 | 3.652E3 | .000 | |
| treat * month | .444 | 35 | .013 | 40.282 | .000 | |
| Error | .015 | 48 | .000 | | | |
| Total | 4120.074 | 96 | | | | |
| Corrected Total | 7.719 | 95 | | | | |
| 2 chemicals | | | | | | |
| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. | |
| Corrected Model | 7.839 ^a | 47 | .167 | 539.139 | .000 | |
| Intercept | 4076.175 | 1 | 4076.175 | 1.318E7 | .000 | |
| treat | 1.359 | 7 | .194 | 627.586 | .000 | |
| month | 5.866 | 5 | 1.173 | 3.792E3 | .000 | |
| treat * month | .615 | 35 | .018 | 56.776 | .000 | |
| Error | .015 | 48 | .000 | | | |
| Total | 4084.029 | 96 | | | | |
| Corrected Total | 7.854 | 95 | | | | |
| 3 chemicals | | | | | | |
| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. | |
| Corrected Model | 3.580 ^a | 23 | .156 | 320.615 | .000 | |
| Intercept | 2006.607 | 1 | 2006.607 | 4.134E6 | .000 | |
| treat | .839 | 3 | .280 | 576.256 | .000 | |
| month | 2.418 | 5 | .484 | 996.317 | .000 | |
| treat * month | .322 | 15 | .021 | 44.253 | .000 | |
| Error | .012 | 24 | .000 | | | |
| Total | 2010.198 | 48 | | | | |
| Corrected Total | 3.591 | 47 | | | | |

ตารางที่ ก2. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการใช้สารเคมีต่อค่าโซเดียมคลอไรด์ของกุ้งขาว ระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

| 1 chemical | | | | | | |
|-----------------|--------------------|----|-------------|---------|------|--|
| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. | |
| Corrected Model | 7.596 ^a | 47 | .162 | 468.752 | .000 | |
| Intercept | 75.278 | 1 | 75.278 | 2.183E5 | .000 | |
| treat | 3.220 | 7 | .460 | 1.334E3 | .000 | |
| month | 2.747 | 5 | .549 | 1.593E3 | .000 | |
| treat * month | 1.629 | 35 | .047 | 135.024 | .000 | |
| Error | .017 | 48 | .000 | | | |
| Total | 82.891 | 96 | | | | |
| Corrected Total | 7.613 | 95 | | | | |
| 2 chemicals | | | | | | |
| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. | |
| Corrected Model | 8.407 ^a | 47 | .179 | 899.001 | .000 | |
| Intercept | 48.068 | 1 | 48.068 | 2.416E5 | .000 | |
| treat | 5.686 | 7 | .812 | 4.083E3 | .000 | |
| month | .214 | 5 | .043 | 215.302 | .000 | |
| treat * month | 2.506 | 35 | .072 | 359.898 | .000 | |
| Error | .010 | 48 | .000 | | | |
| Total | 56.484 | 96 | | | | |
| Corrected Total | 8.416 | 95 | | | | |
| 3 chemicals | | | | | | |
| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. | |
| Corrected Model | 3.002 ^a | 23 | .131 | 489.510 | .000 | |
| Intercept | 19.892 | 1 | 19.892 | 7.459E4 | .000 | |
| treat | 1.910 | 3 | .637 | 2.388E3 | .000 | |
| month | .848 | 5 | .170 | 636.037 | .000 | |
| treat * month | .244 | 15 | .016 | 61.008 | .000 | |
| Error | .006 | 24 | .000 | | | |
| Total | 22.901 | 48 | | | | |
| Corrected Total | 3.009 | 47 | | | | |

ตารางที่ ก3. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการใช้สารเคมีต่อค่าซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ของกุ้ง
ขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

| 1 chemical | | | | | |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|---------|------|
| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Corrected Model | 7191.777 ^a | 11 | 653.798 | 407.707 | .000 |
| Intercept | 83342.342 | 1 | 83342.342 | 5.197E4 | .000 |
| treat | 2008.059 | 1 | 2008.059 | 1.252E3 | .000 |
| month | 4124.449 | 5 | 824.890 | 514.400 | .000 |
| treat * month | 1059.269 | 5 | 211.854 | 132.112 | .000 |
| Error | 19.243 | 12 | 1.604 | | |
| Total | 90553.362 | 24 | | | |
| Corrected Total | 7211.020 | 23 | | | |
| 2 chemicals | | | | | |
| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Corrected Model | 100304.764 ^a | 29 | 3458.785 | 1.191E3 | .000 |
| Intercept | 211268.202 | 1 | 211268.202 | 7.277E4 | .000 |
| treat | 77065.687 | 4 | 19266.422 | 6.636E3 | .000 |
| month | 15570.420 | 5 | 3114.084 | 1.073E3 | .000 |
| treat * month | 7668.657 | 20 | 383.433 | 132.076 | .000 |
| Error | 87.094 | 30 | 2.903 | | |
| Total | 311660.060 | 60 | | | |
| Corrected Total | 100391.858 | 59 | | | |
| 3 chemicals | | | | | |
| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Corrected Model | 110068.332 ^a | 17 | 6474.608 | 236.786 | .000 |
| Intercept | 153990.840 | 1 | 153990.840 | 5.632E3 | .000 |
| treat | 82250.012 | 2 | 41125.006 | 1.504E3 | .000 |
| month | 14474.746 | 5 | 2894.949 | 105.873 | .000 |
| treat * month | 13343.574 | 10 | 1334.357 | 48.799 | .000 |
| Error | 492.187 | 18 | 27.344 | | |
| Total | 264551.359 | 36 | | | |
| Corrected Total | 110560.519 | 35 | | | |

ตารางที่ ก4. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการใช้สารเคมีต่อค่าดัชนีการเกิดจุดขาวของกุ้ง
ขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

| 1 chemical | | | | | | |
|-----------------|----------------------|----|-------------|---------|------|--|
| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. | |
| Corrected Model | 144.736 ^a | 47 | 3.079 | 5.062E3 | .000 | |
| Intercept | 69.666 | 1 | 69.666 | 1.145E5 | .000 | |
| treat | 48.220 | 7 | 6.889 | 1.132E4 | .000 | |
| month | 57.731 | 5 | 11.546 | 1.898E4 | .000 | |
| treat * month | 38.785 | 35 | 1.108 | 1.822E3 | .000 | |
| Error | .029 | 48 | .001 | | | |
| Total | 214.432 | 96 | | | | |
| Corrected Total | 144.766 | 95 | | | | |
| 2 chemicals | | | | | | |
| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. | |
| Corrected Model | 124.747 ^a | 47 | 2.654 | 1.745E4 | .000 | |
| Intercept | 33.654 | 1 | 33.654 | 2.213E5 | .000 | |
| treat | 47.019 | 7 | 6.717 | 4.417E4 | .000 | |
| month | 34.896 | 5 | 6.979 | 4.589E4 | .000 | |
| treat * month | 42.832 | 35 | 1.224 | 8.047E3 | .000 | |
| Error | .007 | 48 | .000 | | | |
| Total | 158.409 | 96 | | | | |
| Corrected Total | 124.755 | 95 | | | | |
| 3 chemicals | | | | | | |
| Source | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. | |
| Corrected Model | 57.946 ^a | 23 | 2.519 | 2.122E4 | .000 | |
| Intercept | 13.094 | 1 | 13.094 | 1.103E5 | .000 | |
| treat | 31.298 | 3 | 10.433 | 8.785E4 | .000 | |
| month | 8.836 | 5 | 1.767 | 1.488E4 | .000 | |
| treat * month | 17.812 | 15 | 1.187 | 1.000E4 | .000 | |
| Error | .003 | 24 | .000 | | | |
| Total | 71.043 | 48 | | | | |
| Corrected Total | 57.949 | 47 | | | | |

ภาคผนวก ข
ดัชนีการเกิดจุดขาว

ตารางที่ ข1. ผลของสารเคมีต่อค่าดัชนีการเกิดจุดขาวของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง

| No. | Chemical* | Brine** | White spot index during storage (month) | | | | | |
|-----|-----------|---------|---|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | - | - | 0.00 ± 0.00 ^{Aa} | 0.00 ± 0.00 ^{Fa} | 0.00 ± 0.00 ^{Fa} | 0.00 ± 0.00 ^{Fa} | 0.00 ± 0.00 ^{Ea} | 0.02 ± 0.00 ^{Ea} |
| 2 | - | NaCl | 0.00 ± 0.00 ^{Af} | 0.85 ± 0.04 ^{Ac} | 1.03 ± 0.01 ^{Ad} | 2.12 ± 0.03 ^{Ac} | 3.50 ± 0.01 ^{Ab} | 4.00 ± 0.00 ^{Aa} |
| 3 | SMS | - | 0.00 ± 0.00 ^{Ab} | 0.00 ± 0.00 ^{Fb} | 0.00 ± 0.00 ^{Fb} | 0.00 ± 0.00 ^{Fb} | 0.00 ± 0.00 ^{Eb} | 0.05 ± 0.01 ^{Ea} |
| 4 | SMS | NaCl | 0.00 ± 0.00 ^{Af} | 0.56 ± 0.04 ^{Be} | 0.66 ± 0.03 ^{Bd} | 0.89 ± 0.03 ^{Dc} | 2.35 ± 0.01 ^{Cb} | 3.52 ± 0.01 ^{Ba} |
| 5 | CA | - | 0.00 ± 0.00 ^{Ae} | 0.08 ± 0.01 ^{Ee} | 0.17 ± 0.01 ^{Ed} | 1.35 ± 0.07 ^{Cc} | 2.31 ± 0.02 ^{Cb} | 2.57 ± 0.04 ^{Da} |
| 6 | CA | NaCl | 0.00 ± 0.00 ^{Af} | 0.23 ± 0.01 ^{Cc} | 0.43 ± 0.01 ^{Cd} | 1.88 ± 0.09 ^{Bc} | 2.54 ± 0.06 ^{Bb} | 4.00 ± 0.00 ^{Aa} |
| 7 | PP | - | 0.00 ± 0.00 ^{Aa} | 0.00 ± 0.00 ^{Fa} | 0.00 ± 0.00 ^{Fa} | 0.00 ± 0.00 ^{Fa} | 0.00 ± 0.00 ^{Ea} | 0.00 ± 0.00 ^{Ea} |
| 8 | PP | NaCl | 0.00 ± 0.00 ^{Af} | 0.13 ± 0.00 ^{De} | 0.27 ± 0.03 ^{Dd} | 0.40 ± 0.01 ^{Ec} | 2.00 ± 0.03 ^{Db} | 3.00 ± 0.04 ^{Ca} |
| 1 | - | - | 0.00 ± 0.00 ^{Aa} | 0.00 ± 0.00 ^{Da} | 0.00 ± 0.00 ^{Da} | 0.00 ± 0.00 ^{Da} | 0.00 ± 0.00 ^{Ea} | 0.02 ± 0.00 ^{Da} |
| 2 | - | NaCl | 0.00 ± 0.00 ^{Af} | 0.85 ± 0.04 ^{Ac} | 1.03 ± 0.01 ^{Ad} | 2.12 ± 0.03 ^{Ac} | 3.50 ± 0.01 ^{Ab} | 4.00 ± 0.00 ^{Aa} |
| 9 | SMS + CA | - | 0.00 ± 0.00 ^{Af} | 0.09 ± 0.00 ^{Cc} | 0.36 ± 0.03 ^{Cd} | 0.94 ± 0.01 ^{Bc} | 1.80 ± 0.03 ^{Cb} | 3.90 ± 0.01 ^{Ba} |
| 10 | SMS + CA | NaCl | 0.00 ± 0.00 ^{Aa} | 0.00 ± 0.00 ^{Da} | 0.00 ± 0.00 ^{Da} | 0.00 ± 0.00 ^{Da} | 0.00 ± 0.00 ^{Ea} | 0.00 ± 0.00 ^{Ea} |
| 11 | SMS + PP | - | 0.00 ± 0.00 ^{Aa} | 0.00 ± 0.00 ^{Da} | 0.00 ± 0.00 ^{Da} | 0.00 ± 0.00 ^{Da} | 0.00 ± 0.00 ^{Ea} | 0.00 ± 0.00 ^{Ea} |
| 12 | SMS + PP | NaCl | 0.00 ± 0.00 ^{Af} | 0.20 ± 0.03 ^{Be} | 0.43 ± 0.01 ^{Bd} | 0.59 ± 0.01 ^{Cc} | 2.08 ± 0.03 ^{Bb} | 4.00 ± 0.00 ^{Aa} |
| 13 | CA + PP | - | 0.00 ± 0.00 ^{Aa} | 0.00 ± 0.00 ^{Da} | 0.00 ± 0.00 ^{Da} | 0.00 ± 0.00 ^{Da} | 0.00 ± 0.00 ^{Ea} | 0.00 ± 0.00 ^{Ea} |
| 14 | CA + PP | NaCl | 0.00 ± 0.00 ^{Ac} | 0.00 ± 0.00 ^{Dc} | 0.00 ± 0.00 ^{Dc} | 0.00 ± 0.00 ^{Dc} | 0.50 ± 0.03 ^{Db} | 2.02 ± 0.01 ^{Ca} |

ตารางที่ ข1. ผลของสารเคมีต่อค่าดัชนีการเกิดจุดขาวของกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง (ต่อ)

| No. | Chemical* | Brine** | White spot index during storage (month) | | | | | |
|-----|--------------|---------|---|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | - | - | 0.00 ± 0.00 ^{Aa} | 0.00 ± 0.00 ^{Ba} | 0.00 ± 0.00 ^{Ba} | 0.00 ± 0.00 ^{Ba} | 0.00 ± 0.00 ^{Ba} | 0.02 ± 0.00 ^{Ca} |
| 2 | - | NaCl | 0.00 ± 0.00 ^{Af} | 0.85 ± 0.04 ^{Ac} | 1.03 ± 0.01 ^{Ad} | 2.12 ± 0.03 ^{Ac} | 3.50 ± 0.01 ^{Ab} | 4.00 ± 0.00 ^{Aa} |
| 15 | SMS + CA+ PP | - | 0.00 ± 0.00 ^{Aa} | 0.00 ± 0.00 ^{Ba} | 0.00 ± 0.00 ^{Ba} | 0.00 ± 0.00 ^{Ba} | 0.00 ± 0.00 ^{Ba} | 0.00 ± 0.00 ^{Da} |
| 16 | SMS + CA+ PP | NaCl | 0.00 ± 0.00 ^{Ab} | 0.00 ± 0.00 ^{Bb} | 0.00 ± 0.00 ^{Bb} | 0.00 ± 0.00 ^{Bb} | 0.02 ± 0.01 ^{Bb} | 1.00 ± 0.01 ^{Ba} |

* SMS of 4.3%, CA of 0.075% and PP of 0.5%

** brine of 23% NaCl

Mean ± SD followed by different small letters in the same row are significantly different ($p < 0.05$)

Mean ± SD followed by different large letters in the same column for each group of chemical are significantly different ($p < 0.05$)

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ทางเคมี

ค1. การวัดค่า pH

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter) ยี่ห้อ Benchtop รุ่น AZ 86502

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างปริมาตร 10 กรัม ที่อุณหภูมิปกติ
2. น้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิกรัม
3. ใส่ตัวอย่างในน้ำกลั่น จุ่ม pH Meter วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง
4. บันทึกค่าความเป็นกรด-ด่าง

ค2. การวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (A.O.A.C., 2006)

อุปกรณ์

1. Heating mantle
2. Cooling bath
3. Electronic balance
4. Gas flow meter
5. Plastic funnel
6. ซ้อนตัดตัวอย่าง
7. ชุดกลั่นวิเคราะห์ซัลเฟอร์ไดออกไซด์
8. Glass Cylinder ขนาด 50 100 และ 250 มิลลิกรัม
9. Burette ขนาด 50 มิลลิกรัม
10. Volumetric Flask ขนาด 200 500 1000 2000 มิลลิกรัม
11. Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิกรัม

สารเคมี

1. Nitrogen (Purity 99 %)
2. 3% Hydrogen peroxide (H_2O_2)
4. 4M Hydrochloric acid (HCl)
5. 5% Ethanol (C_2H_5OH)
6. 0.25% Methyl red indicator ($C_{15}H_{15}N_3O_2$)

7. 1% Phenolphthalein indicator ($C_{20}H_{14}O_4$)
8. Silicone grease
9. 0.01M Sodium hydroxide (NaOH)
10. น้ำกลั่น
11. Formaldehyde sodium bisulfite addition compound, 95% ($HOCH_2SO_3Na$)

วิธีการ

1. เตรียมตัวอย่าง ที่ประกอบด้วย SO_2 500-1,500 ไมโครกรัม โดยการบดตัวอย่าง ให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น แล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่าง จำนวน 50 กรัม ลงในบีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิกรัม แล้วเติมสารละลาย 5% Ethanol จำนวน 100 มิลลิกรัม ค่อยๆ คนตัวอย่างให้เข้ากัน และเพื่อป้องกันการออกซิไดส์ของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ จึงควรเตรียมอย่างรวดเร็วและเตรียมในที่มืด
2. นำสารละลายตัวอย่างเติมลงในขวดกลั่น แล้วเติมน้ำ DI จำนวน 400 มิลลิกรัม แล้วค่อยๆผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากัน
3. ใส่ Boiling chip (กระเบื้องกันเดือด) จำนวน 2-3 ชิ้น ลงในขวดกลั่นเพื่อให้การเดือดของสารละลายเป็นไปอย่างสม่ำเสมอและป้องกันการเดือดที่รุนแรง
4. นำขวดกลั่น (Round bottom flask) ใส่น้ำในเตาหลุม (Heating mantle)
5. ต่อ Adapter gas inlet joint กับท่อเชื่อมต่อของขวดกลั่น ส่วน neck ที่ 2 ทาด้วย Silicone grease บริเวณข้อต่อของขวดและกรวย แล้วเสียบสายนำก๊าซไนโตรเจน (N_2 Injector) กับ Adapter gas inlet joint
6. ต่อท่อกลั่น Allihn Condenser กับขวดกลั่น ส่วน neck ที่ 3 ทาด้วย Silicone grease บริเวณข้อต่อของขวดและกรวย พร้อมกับเสียบสายน้ำเข้า-ออกจากก๊อกน้ำ โดยให้น้ำเข้าทางที่ต่ำ แล้วไหลออกทางที่สูง
7. ต่อส่วนปลายด้านบนของ Allihn Condenser กับ Bubbler joint แล้วทาด้วย Silicone grease บริเวณข้อต่อของท่อกรวย
8. เตรียมขวดบรรจุสารที่กลั่นได้ (Footed cylinder) ด้วยวิธีการดังนี้
 - 8.1 ปิเปต 3% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จำนวน 30 มิลลิกรัม ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิกรัม
 - 8.2 หยดเมทิลเรด อินดิเคเตอร์ จำนวน 3-5 หยด
 - 8.3 หยดด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์

ความเข้มข้น 0.01 นอร์มอล จำนวน 3-5 หยดจนได้เป็นสารละลายสีเหลืองทอง แล้วถ่ายลงในขวด Footed cylinder

8.4 นำขวด Footed cylinder ต่อเข้ากับส่วนปลายของ
Bubbler joint

8.5 ปิดปากขวด Footed cylinder ด้วยอะลูมิเนียมฟลอยด์ เพื่อป้องกันการระเหย (Leak) ของซัลเฟอร์-ไดออกไซด์

9. เติมสารละลายไฮโดรคลอริก ที่ความเข้มข้น 4 โมลาร์ จำนวน 100 มิลลิกรัม ลงในกรวย Dropping funnel แล้วต่อเข้ากับขวดกลั่น ส่วน neck ที่ 1 ปิดปากกรวย Dropping funnel ด้วย Adapter inlet joint ทาด้วย Silicone grease บริเวณข้อต่อของขวดและกรวย

10. ตรวจสอบความเรียบร้อยของรอยต่อท่อกันทั้งหมด และใช้ตัวหนีบหรือตัวยึด (Boss head) ยึดข้อต่อของชุดกลั่นทั้งหมดไว้อีกครั้ง

11. เปิดวาล์วน้ำ เพื่อให้ น้ำไหลเข้า-ออก Allihn Condenser และระบบตลอดระยะเวลาการกลั่นสาร

12. เปิดวาล์วของก๊าซไนโตรเจนให้เข้าสู่ระบบ โดยควบคุมอัตราการไหลของก๊าซเท่ากับ 1 ฟองก๊าซ/วินาที นาน 15 นาที เพื่อให้ระบบอยู่ในสภาวะอิมตัวของก๊าซไนโตรเจนก่อนเข้าสู่กระบวนการกลั่น

13. หลังจากระบบการกลั่นอยู่สภาวะอิมตัวของก๊าซไนโตรเจนเรียบร้อยแล้ว ให้เปิดเครื่อง Heating mantle เพื่อให้ความร้อนแก่สารละลายตัวอย่างที่ทดสอบ โดยการเปิดความร้อนที่ระดับสูงสุด และเมื่อสารละลายเริ่มเดือด จึงค่อยปรับความร้อนให้ลดลง เพื่อควบคุมการเดือดของสารละลายให้คงที่และสม่ำเสมอ

14. เข้าสู่กระบวนการกลั่นซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในสารละลายตัวอย่างที่ทดสอบ

15. เปิด Stop cock ของกรวย Dropping funnel เพื่อให้สารละลาย

ไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 4 โมลาร์ไหลลงไปทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างในขวดกลั่น และปิด Stop cock เมื่อสารละลายไฮโดรคลอริก คงเหลือ 3-5 มิลลิกรัม เพื่อป้องกัน SO_2 จากภายนอกเข้าสู่ระบบการกลั่นและเพื่อความปลอดภัยของระบบการกลั่น

16. ระบบการไหลของก๊าซและการหมุนเวียนของน้ำจะเป็นไปอย่างต่อเนื่อง โดยจะเกิดความดันของก๊าซเพิ่มขึ้นบริเวณผิวหน้าของสารละลายในขวดกลั่น และ

ควบคุมอัตราการไหลของก๊าซในโตรเจน เท่ากับ 60 ฟองก๊าซต่อนาที หรือเท่ากับ 1 ฟองก๊าซต่อ 1 วินาที

17. ปิดจุก Stop cock ของกรวย Dropping funnel และหยุดให้ความร้อนในกรณีที่เกิดความดันและการเดือดของสารละลายในปริมาณมาก และหลังจากนั้นค่อยเปิดจุก Stop cock อีกครั้ง

18. ระยะเวลาของการให้ความร้อนและการกลั่นซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เท่ากับ 1 ชั่วโมง 45 นาที

19. เมื่อกระบวนการกลั่นเสร็จสิ้นสมบูรณ์ ให้ปิดวาล์วแก๊สในโตรเจน และดึงสาย N2 Injector ออกจาก Adapter gas inlet joint ของขวดกลั่น และหยุดให้ความร้อน โดยการปิดเครื่อง Heating mantle

20. ดึงขวด Footed cylinder ออกจากระบบ และใช้น้ำ DI ชะล้างสารทั้งภายนอกและภายในของหลอด Bubbler joint แล้วนำน้ำที่ชะล้างได้ทั้งหมดใส่ลงไปในขวด Footed cylinder เพื่อเก็บซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่กลั่นได้ทั้งหมด

21. นำสารละลายจากขวด Footed cylinder ถ่ายลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.01 นอร์มอล จนกระทั่งถึงจุดยุติ โดยสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเขียว นาน 20 วินาที บันทึกไตเตอร์ที่ได้ (NaOH-Sample) แล้วคำนวณปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมดในอาหาร

22. การตรวจสอบ % Recovery ของตัวอย่าง เพื่อยืนยันความถูกต้องของการกลั่นซัลเฟอร์ไดออกไซด์

22.1 การทำ Standard ตัวอย่าง โดยการชั่งสารมาตรฐาน Sodium Hydroxymethylsulfonate จำนวน 0.1 กรัม ลงในบีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย 5% Ethanol จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วค่อยๆ คนตัวอย่างให้เข้ากัน

22.2 ทำการทดสอบสารละลาย

23. คำนวณหาปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์

ค3. การวิเคราะห์เกลือในตัวอย่างกึ่ง (A.O.A.C., 2006)

อุปกรณ์

1. Electronic balance
2. Hot plate
3. Hot Air Oven
4. ลูกยาง
5. กระจกยวช
6. ซ้อนตักตัวอย่าง
7. Pipette ขนาด 5 และ 30 มิลลิลิตร
8. Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
9. Beaker 250 มิลลิลิตร
10. Burette ขนาด 50 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. 0.1M Silver nitrate (AgNO_3)
2. 0.1M Ammonium thiocyanate (NH_4SCN)
3. 65% Nitric acid (Conc. HNO_3)
4. NaCl CentriPUR® purity $\geq 99.9\%$
5. 40% Ammonium iron (III) sulfate dodecahydrate ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)
6. น้ำกลั่น

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างปริมาตร 10 กรัม ที่อุณหภูมิปกติ
2. ใส่ NaCl 0.1 กรัม 0.1M AgNO_3 และ Conc. HNO_3 20 มิลลิลิตร
3. นำมาต้ม 15 นาที จน AgCl ละลาย
4. ตั้งให้เย็นแล้วใส่น้ำกลั่นจำนวน 50 มิลลิลิตร
5. ใส่ 40% Ammonium iron (III) sulfate dodecahydrate ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) เป็นอินดิเคเตอร์
6. ไทเทรตกับ 0.1M NH_4SCN จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
7. กำหนดปริมาณเกลือในตัวอย่าง

ค4. การวิเคราะห์ผลึกแคลไซต์และวาทีไรซ์ระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง ด้วยเครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรคโทมิเตอร์ (X-Ray Diffractometer)

อุปกรณ์

1. เครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรคโทมิเตอร์ (X-Ray Diffractometer) ยี่ห้อ Philips รุ่น X'Pert MPD

วิธีการ

1. บดตัวอย่างให้เป็นผงละเอียดด้วยถ้วยบด (ball mill)
2. บรรจุตัวอย่างผงประมาณ 1 กรัม ในที่ใส่ตัวอย่าง (sample holder)
3. นำไปตรวจวัดแบบ unoriented sample ด้วยเครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรคโทมิเตอร์ (X-ray diffractometer) ของบริษัทฟิลลิปส์ (Philips) รุ่น X' Pert MPD ผลิตโดยประเทศเนเธอร์แลนด์ ใช้หลอดกำเนิดรังสีเอกซ์ชนิดที่มีธาตุทองแดงเป็นโลหะเป้า ปรับค่ากระแสและความต่างศักย์ไฟฟ้าเท่ากับ 30 มิลลิแอมแปร์ และ 40 กิโลโวลต์ ตามลำดับ ให้กับหลอดกำเนิดรังสี อัตราเร็วในการตรวจวัดเท่ากับ 3 องศา (2θ) ต่อนาที
4. วิเคราะห์หาชนิดของแร่ที่มีอยู่ในตัวอย่าง



ภาพที่ ค1. เครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรคโทมิเตอร์ ยี่ห้อ Philips รุ่น X'Pert MPD

ที่มา : ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2557

ภาคผนวก ง

มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ

เรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ การชันสูตรโรคจุดขาวในกุ้ง

ง 1. ประกาศคณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ เรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ การชันสูตรโรคจุดขาวในกุ้ง

1. ขอบข่าย

มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาตินี้ กำหนดรายละเอียดที่สำคัญเกี่ยวกับการชันสูตรโรคจุดขาวในกุ้งทางห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธีย้อมสีแบบรวดเร็ว วิธีทางจุลพยาธิวิทยา และวิธีปฏิกิริยาห่วงโซ่พอลิเมอเรสแบบเนสต์เด็ค

2. นิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาตินี้ มีดังต่อไปนี้

2.1 กุ้ง (shrimp) หมายถึง สัตว์ในสกุล *Penaeus*

2.2 โรคจุดขาว (white spot disease, WSD) หมายถึง โรคที่เกิดในกุ้ง มีสาเหตุจากการติดเชื้อไวรัส (white spot syndrome virus, WSSV) โดยพบรอยโรค (lesion) เป็นจุดขาวหรือดวงขาวได้เปลือกส่วนหัวและโคนหาง บางครั้งมีลักษณะตัวแดงร่วมด้วย และทำให้กุ้งตายได้

2.3 การชันสูตรโรค (diagnosis) หมายถึง การตรวจสอบเพื่อการวินิจฉัยโรค

2.4 กุ้งวัยอ่อน (larva) หมายถึง ลูกกุ้งที่เพิ่งออกจากไข่ และมีการเปลี่ยนรูปร่าง 3 ระยะ คือนอเพลียส (nauplius) โซเอีย (zoea) และไมซิส (mysis) รวมใช้เวลาประมาณ 13 วัน

2.5 กุ้งหลังวัยอ่อน (post larva, PL) หมายถึง กุ้งที่มีรยางค์ (appendage) เหมือนกุ้งเต็มวัย มีขนาดประมาณ 5 mm และใช้เวลาเติบโตจากระยะไมซิสอีกประมาณ 25 วันหรือมากกว่า เพื่อเจริญเข้าสู่วัยรุ่นนิยามเขียนย่อว่า PL แล้วตามด้วยจำนวนวันหลังวัยอ่อน เช่น PL21 หมายถึง กุ้งหลังวัยอ่อนที่มีอายุ 21 วัน

2.6 กุ้งวัยรุ่น (juvenile) หมายถึง กุ้งที่มีขนาด 2 เซนติเมตร ถึง 3 เซนติเมตร มีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย แต่ยังไม่สืบพันธุ์ได้

2.7 กุ้งโตเต็มวัย (adult) หมายถึง กุ้งโตเต็มที่ และสามารถสืบพันธุ์ได้

2.8 เลือด (haemolymph) หมายถึง ของเหลวที่มี heme ไหลเวียนอยู่ในช่องว่าง หรือ haemocoel ของร่างกายสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ซึ่งทำหน้าที่เช่นเดียวกับกับเลือดและน้ำเหลืองในสัตว์มีกระดูกสันหลัง

2.9 พาหะนำโรค (carrier) หมายถึง สัตว์มีเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค โดยไม่แสดงอาการป่วย

2.10 วิธีทดสอบเบื้องต้น (presumptive test) หมายถึง วิธีการตรวจโรคทางห้องปฏิบัติการที่สะดวกหรือรวดเร็ว เช่น วิธีย้อมสีแบบรวดเร็ว วิธีทางจุลพยาธิวิทยา เป็นต้น

2.11 วิธีทดสอบยืนยัน (confirmation test) หมายถึง วิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการยืนยันผลการชันสูตรโรค และเป็นวิธีที่ยอมรับว่ามีความจำเพาะและความไวสูง

3. การชันสูตรโรค

การชันสูตรโรคจูดขาวในกุ้งด้วยวิธีทางห้องปฏิบัติการ เช่น การย้อมสีแบบรวดเร็ว วิธีทางจุลพยาธิวิทยา วิธีปฏิกิริยาห่วงโซ่พอลิเมอเรสแบบเนสต์ In-situ hybridisation, Western blot analysis, dot blot analysis เมื่อได้ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการแล้ว สัตวแพทย์หรือผู้เชี่ยวชาญควรพิจารณา ประวัติทางวิทยาการระบาด พยาธิกำเนิด และอาการป่วยของกุ้งร่วมด้วย เพื่อให้การรักษาป้องกันโรคเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้วิธีการชันสูตรแต่ละวิธีมีความไวและความจำเพาะแตกต่างกัน วิธีชันสูตรโรคจูดขาวเบื้องต้นทางห้องปฏิบัติการที่แนะนำให้ใช้ในมาตรฐานนี้ คือ วิธีย้อมสีแบบรวดเร็ว วิธีทางจุลพยาธิวิทยา กรณีที่ผลเป็นลบจะต้องทดสอบยืนยันด้วยวิธีปฏิกิริยาห่วงโซ่พอลิเมอเรสแบบเนสต์ เนื่องจากมีความจำเพาะและความไวสูง ซึ่งการเลือกใช้วิธีชันสูตรโรคจูดขาวขึ้นกับวัตถุประสงค์และชนิดตัวอย่างที่เก็บ เช่น การตรวจรับรองพ่อแม่พันธุ์ก่อนเพาะฟัก และลูกกุ้งก่อนปล่อยลงเลี้ยงในบ่อดิน หรือกุ้งที่สงสัยว่าติดเชื้อแต่ไม่แสดงอาการ ควรใช้วิธีปฏิกิริยาห่วงโซ่พอลิเมอเรสแบบเนสต์ กุ้งป่วยหรือกุ้งระยะที่เลี้ยงในบ่อดินสามารถใช้วิธีทางจุลพยาธิวิทยา หรือวิธีย้อมสีแบบรวดเร็วได้

3.1 การชักตัวอย่าง

จำนวนตัวอย่างที่ต้องสุ่มตรวจให้เป็นไปแผนการสุ่ม

3.2 วิธีย้อมสีแบบรวดเร็ว (rapid staining test)

หลักการของวิธีนี้ คือ การทดสอบโรคในระดับเนื้อเยื่อ โดยย้อมเนื้อเยื่อสดด้วยสีฮีมาทอกซึลีนและอีโอซิน (hematoxylin and eosin, H&E) ในระยะเวลาสั้นๆ และตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.2.1 การเก็บและรักษาตัวอย่าง

วิธีนี้สามารถใช้ในการชันสูตรโรคจูดขาวได้เฉพาะกับกุ้งหลังวัยอ่อนขนาดใหญ่ (อายุมากกว่า PL30) เท่านั้น ไม่สามารถใช้กับลูกกุ้งหลังวัยอ่อน หรือกุ้งที่ไม่แสดงอาการป่วยได้ ตัวอย่างที่เหมาะสม คือ เหงือกของกุ้ง หรือเนื้อเยื่อใต้เปลือกส่วนหัว (carapace) ที่แสดงรอยโรค โดยขนาดของตัวอย่างเหงือกต้องยาวไม่เกิน 0.5 เซนติเมตร

3.2.2 วิธีการ

(1) ใส่สารละลายคงสภาพเดวิดสันผสมกรดเกลือ (HCl Davidson's fixative)

ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ในหลอดพลาสติกขนาด 1.5 มิลลิลิตร ตัดชิ้นเหงือกจากกุ้งป่วยแช่ในสารละลายคงสภาพผสมกรดเกลือเดวิดสัน นาน 1 ชั่วโมง หรือสามารถใช้ตัวอย่างซึ่งเก็บตามวิธีในข้อ 3.3.1

(2) เทสารละลายคงสภาพเควิดสันผสมกรดเกลือทิ้ง นำผ้าก๊อชปิดที่ปากหลอดพลาสติกแล้วนำไปล้างด้วยน้ำประปาที่ไหลผ่านเบาๆ นาน 15 นาที (ระวังชิ้นตัวอย่างไหลออกจากหลอด)

(3) เทน้ำออก แล้วหยดสีอีมาทอกซีลีน 3 หยดลงในหลอด (ให้ท่วมชิ้นเหงือก) แช่ทิ้งไว้ 10 นาที

(4) เทสีออก แล้วล้างด้วยน้ำประปาที่ไหลผ่านเบาๆ นาน 15 นาที

(5) เทน้ำออก หยดสีอีโอซิน 3 หยดลงในหลอด (ให้ท่วมชิ้นเหงือก) แช่ทิ้งไว้ 2 min

(6) เทสีออก เติมเอทานอล 50% ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 นาที แล้วเทออก

(7) เติมเอทานอล 70% ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นาน 1 นาที แล้วเทออก

(8) เติมเอทานอล 90% ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้ 1 นาทีแล้วเทออก ทำซ้ำอีกครั้งหนึ่ง

(9) เติมเอทานอลสัมบูรณ์ (absolute ethanol) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้ 1 นาที แล้วเทออก ทำซ้ำอีกครั้งหนึ่ง

(10) เติมไซลีน (xylene) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้ 1 นาที แล้วเทออก ทำซ้ำอีกครั้งหนึ่งเก็บเหงือกไว้ในไซลีน ระวังอย่าให้แห้ง

(11) ใช้ปากคีบ (forceps) หักชิ้นเหงือก (gill) เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปวางบนสไลด์ ใช้ปากคีบบดให้แตกออกเป็นชิ้นเล็กๆ จนซี่เหงือก (primary gill lamella) แยกออกเป็นชิ้นเดี่ยวๆ ทำให้สามารถตรวจดูกิ่งเหงือก (secondary gill lamella) ได้สะดวก

(12) หยดเพอร์เมาท์ (permount) 1 หยด ใช้กระจกปิดสไลด์ปิด วางทิ้งไว้ 3 นาที ถึง 5 นาที ตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

3.2.3 การแปลผล

กึ่งที่ป่วยเป็นโรคจุดขาวจะพบอนุภาคฝังใน (inclusion) สีม่วงแดง ในนิวเคลียสที่ใหญ่กว่าปกติของเซลล์เยื่อใต้ผิวหนังเหงือก (subcuticular epithelial cells)

หมายเหตุ อาจลดเวลาที่ย้อมด้วยสีอีโอซิน ลงได้ตามขนาดของเนื้อเยื่อ

3.3 วิธีทางจุลพยาธิวิทยา (histopathological method)

หลักการของวิธีนี้ คือ การทดสอบโรคในระดับเนื้อเยื่อ โดยย้อมเนื้อเยื่อที่ผ่านกระบวนการรักษาให้คงสภาพ ด้วยสี H&E และตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง

3.3.1 การเก็บและรักษาตัวอย่าง

(1) นำก้อนมีชีวิตแช่ในสารละลายคงสภาพเดวิดสัน (Davidson's fixative) ที่แช่เย็น และมีปริมาตรประมาณ 10 เท่าของปริมาตรก้อนโดย

(1.1) ก้อนวัยอ่อนระยะอเนพเลียส ถึง PL20 สามารถเก็บรักษาสภาพทั้งตัวได้ในสารละลายคงสภาพเดวิดสัน

(1.2) ก้อน PL21 จนถึงก้อนที่มีน้ำหนักไม่เกิน 3 กรัม ให้รักษาสภาพทั้งตัว โดยแช่ในสารละลายคงสภาพเดวิดสัน โดยเปิดเปลือกส่วนหัวตามแนวยาว เพื่อให้สารละลายเข้าไปที่ตับและตับอ่อน

(1.3) ก้อนที่มีน้ำหนักตั้งแต่ 3 กรัม ขึ้นไป ให้ฉีดสารละลายคงสภาพเดวิดสันเข้าไปในช่องปากส่วนหัวด้านหลังได้เปลือก ตับและตับอ่อนส่วนท้องบริเวณขาเดินคู่ที่ 3 ถึงขาเดินคู่สุดท้าย และลำตัวทั้งด้านท้องและด้านหลังให้ทั่ว โดยใช้สารละลายคงสภาพเดวิดสันประมาณ 1 มิลลิลิตร ถึง 10 มิลลิลิตร ขึ้นอยู่กับขนาดก้อน ตัดเปลือกก้อนตามแนวยาวตั้งแต่เปลือกช่วงท้องปล้องที่ 6 จนถึงส่วนหัว

(1.4) ก้อนที่มีน้ำหนักมากกว่า 12 กรัม ให้ฉีดสารละลายคงสภาพเดวิดสันเข้าที่ส่วนหัว และส่วนลำตัวด้านท้อง จากหัวไปหางให้ทั่วตัว หลังจากนั้นให้ตัดก้อนตามขวางบริเวณส่วนหัวและส่วนท้อง

(2) นำตัวอย่างตาม (1) แช่ในสารละลายคงสภาพเดวิดสันนาน 24 ชั่วโมง ถึง 48 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับขนาดของก้อน แล้วนำตัวอย่างมาแช่ในเอทานอล 70% เพื่อช่วยให้เก็บตัวอย่างได้นานขึ้น

3.3.2 วิธีการ

นำตัวอย่างที่ได้จากข้อ 3.3.1 มาดำเนินการ ดังนี้

(1) ขจัดน้ำ (dehydration) ออกจากชิ้นเนื้อด้วยเอทานอล 95% และเอทานอล 100% ตามลำดับ

(2) ขจัด (clearing) เอทานอลด้วยไซลีน

(3) ทำให้พาราฟินแทรกเข้าไปในชิ้นเนื้อ (impregnating)

(4) ฝังชิ้นเนื้อ (embedding) ในพาราฟิน

(5) ตัดชิ้นเนื้อที่อยู่ในแท่งพาราฟินให้เป็นแผ่นบางๆ (sectioning) แล้วจัดวางบนสไลด์

(6) ย้อมด้วยสี H&E

(6.1) ละลายพาราฟินในเนื้อเยื่อบนสไลด์ โดยวางสไลด์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีแล้วนำไปแช่ในไซลีน

(6.2) ทำเนื้อเยื่อบนสไลด์ให้ชุ่มน้ำ (rehydration) โดยแช่สไลด์เนื้อเยื่อในเอทานอล 100% และเอทานอล 95% ตามลำดับ

(6.3) ล้างสไลด์เนื้อเยื่อด้วยน้ำไหลผ่าน นาน 5 นาที

(6.4) จุ่มสไลด์เนื้อเยื่อลงในสี Mayer's hematoxylin นาน 5 นาทีถึง 7 นาที

(6.5) ล้างสไลด์เนื้อเยื่อด้วยน้ำไหลผ่านนาน 15 วินาที ถึง 30 วินาที

(6.6) จุ่มสไลด์เนื้อเยื่อในสีอีโอซิน นาน 30 วินาที ถึง 60 วินาที

(6.7) ขจัดน้ำออกจากสไลด์เนื้อเยื่อด้วยเอทานอล 95% และเอทานอล 100% ตามลำดับ

(6.8) ขจัดเอทานอล โดยแช่ในไซลีน

(6.9) หยอดเพอร์เมาท (permount) 1 หยด แล้วปิดสไลด์ด้วยกระจกปิดสไลด์

(6.10) นำสไลด์เนื้อเยื่อมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง

3.3.3 การแปลผล

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของกุ้งที่ติดเชื้อ WSSV จะพบพยาธิสภาพของเซลล์และเนื้อเยื่อที่เจริญมาจากชั้นเอ็กโตเดิร์ม (ectoderm) และเมโซเดิร์ม (mesoderm) ที่สำคัญคือ นิวเคลียสใหญ่ขึ้นและติดสีแดงในระยะแรกของการติดเชื้อ และติดสีน้ำเงินในระยะหลัง บางครั้งโครมาตินจะถูกดันไปติดเยื่อหุ้มนิวเคลียส

3.4 วิธีปฏิกิริยาห่วงโซ่พอลิเมอร์แบบเนสต์เต็ด (nested polymerase chain reaction, nested PCR) หลักการของวิธีนี้ คือ การเพิ่มปริมาณ DNA ของเชื้อ WSSV แบบทวีคูณ จนมีจำนวนมากพอที่จะตรวจพบได้ โดยใช้ไพรเมอร์ (primer) 2 ชุดในปฏิกิริยาริธีต่อไปนี้จะดัดแปลงจาก Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals ของ OIE1 (2003) โดยใช้วิธีปฏิกิริยาห่วงโซ่พอลิเมอร์แบบเนสต์เต็ด

3.4.1 การเก็บและรักษาตัวอย่าง

(1) นำตัวอย่างกุ้งมีชีวิตพร้อมน้ำจากบ่อเลี้ยงใส่ถุงพลาสติกหรือภาชนะอื่นที่เหมาะสม แยกตัวอย่างแต่ละบ่อไม่ปะปนกัน เขียนรายละเอียดให้ชัดเจน และขนส่งในสภาพมีชีวิตจนถึงห้องปฏิบัติการ

(2) ถ้าไม่สามารถนำตัวอย่างกุ้งมีชีวิตส่งตรวจได้ ให้นำตัวอย่างกุ้งใส่ถุงพลาสติกปิดปากถุงให้สนิทแน่นแล้วรีบนำส่งห้องปฏิบัติการทันทีหรือภายใน 24 ชั่วโมง หากไม่สามารถส่งตัวอย่างภายในวันนั้นได้ ให้แช่แข็งตัวอย่างกุ้งทั้งตัว (frozen whole specimens) ในน้ำแข็งแห้งหรือในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า แล้วรีบนำส่งห้องปฏิบัติการ

(3) ถ้าไม่สามารถนำตัวอย่างกุ้งมีชีวิตหรือแช่แข็งส่งห้องปฏิบัติการได้ ให้รักษาสภาพตัวอย่างกุ้งในเอทานอล 90% ถึงเอทานอล 95% ที่เย็น ปริมาตรประมาณ 10 เท่าของตัวอย่างกุ้ง ส่งตรวจภายใน 3 วัน แต่ถ้าต้องการเก็บตัวอย่างกุ้งให้นานขึ้น ให้ใช้สารละลายคงสภาพเนื้อเยื่อ โดยถ้าเป็นกุ้งวัยรุ่นขึ้นไปให้เก็บตัวอย่างเหงือกหรือขาว่ายน้ำ (pleopod) ส่งตรวจ ถ้ากุ้งมีขนาดเล็กกว่า 3 กรัมให้รักษาสภาพตัวอย่างกุ้งทั้งตัวได้ แต่ต้องนำส่งห้องปฏิบัติการภายใน 7 วัน เพื่อตรวจหาเชื้อไวรัส

(4) ถ้าเก็บตัวอย่างเลือด (haemolymph) ส่งตรวจ โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากแอ่งเลือด (haemocoel) ที่ได้ทั้งบริเวณขาว่ายน้ำคู่แรก หรือบริเวณขาเดิน (periopod) คู่ที่ 3 ถึงคู่สุดท้าย หรือที่หัวใจ ด้วยเข็มและกระบอกฉีดยาที่มีสารละลายรักษาสภาพเลือด ในปริมาณเท่ากับตัวอย่างเลือด แล้วแช่เย็นตัวอย่างเลือดกึ่งและนำส่งห้องปฏิบัติการ ภายใน 6 ชั่วโมง ถึง 8 ชั่วโมง หากไม่สามารถส่งตัวอย่างภายในเวลานั้นได้ ให้แช่แข็งตัวอย่างเลือดในน้ำแข็งแห้ง หรือในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า นำตัวอย่างแช่แข็งใส่ในกล่องเก็บความเย็นที่มีน้ำแข็ง แล้วนำส่งห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง

(5) ถ้าต้องการเก็บรักษาตัวอย่างเป็นเวลานาน ให้เก็บเลือดใส่ใน lysis solution ในอัตราส่วนของเลือดต่อ lysis solution เป็น 1:2 หรือนำอวัยวะกุ้ง เช่น ขาว่ายน้ำก้านตาที่ตัดลูกตาออกแล้ว เหงือก หรือลูกกุ้งที่มีอายุน้อยกว่า PL16 ทั้งตัว บดใน storage lysis buffer จะสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นานกว่า 1 ปี

3.4.2 วิธีการ

(1) การสกัด DNA เป้าหมายจากตัวอย่าง

(1.1) การเตรียมตัวอย่าง ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง คือ

(1.1.1) ถ้าเป็นกึ่งวัยรุ่นจนถึงก่อนโตเต็มวัย ให้เก็บตัวอย่างกึ่ง มาบดให้ละเอียด แล้วนำตัวอย่างที่บดแล้ว 100 มิลลิกรัม ถึง 200 มิลลิกรัม เก็บไว้ใช้ในขั้นตอนต่อไป

(1.1.2) ถ้าเป็นกึ่งอายุต่ำกว่า PL15 ให้ใช้ทั้งตัว

(1.1.3) ถ้าเป็นกึ่ง PL16 ถึง PL20 ใช้ทั้งตัว แต่ต้องตัดตาออกก่อน เนื่องจากตาของกึ่งมีสารที่ยับยั้งปฏิกิริยาห้วงโซ่พอลิเมอเรสแบบเนสเต็ด

(1.1.4) ถ้าเป็นเลือด ให้เก็บตามแผนการเก็บ

(1.2) ใส่ตัวอย่างกึ่งในหลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ (microcentrifuge tube) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ตามด้วย lysis solution 600 ไมโครลิตร บดตัวอย่างให้ละเอียดแล้วบ่มที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

หมายเหตุ ในกรณีที่เก็บตัวอย่างเลือดใน lysis solution ตามข้อ 3.4.1 (5) ให้ใช้ตัวอย่าง 800 ไมโครลิตร แล้วดำเนินการในข้อ (1.3) ต่อไป

(1.3) เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 5 โมล ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของ NaCl ในสารประกอบเป็น 0.7 โมล

(1.4) ค่อยๆ เติม N-cetyl-N,N,N-trimethylammonium bromide (CTAB) 10% ที่ละลายอยู่ใน NaCl 0.7 โมล ในสัดส่วน 1:10 ของปริมาตรตัวอย่างในข้อ (1.4) แล้วผสมให้เข้ากัน

(1.5) บ่มที่อุณหภูมิ 65 oC นาน 10 min แล้วนำออกมาวางที่อุณหภูมิห้อง

(1.6) เติมคลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (chloroform/isoamyl alcohol) ที่ผสมในอัตราส่วน 24:1 ในปริมาณเท่ากับตัวอย่างที่ได้จากข้อ (5) ของข้อ 3.4.1 ผสมให้เข้ากันเบาๆ

(1.7) ปั่นเหวี่ยงที่ 13 000 กรัม นาน 5 นาที แล้วดูดเอาสารละลายส่วนใส (supernatant) ใส่ในหลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ใหม่

(1.8) เติมฟีนอล (phenol) ปริมาณเท่ากับตัวอย่าง เบาๆ ให้เข้ากัน

(1.9) ปั่นเหวี่ยงที่ 13 000 กรัม นาน 5 นาที แล้วดูดสารละลายส่วนใสใส่ในหลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ใหม่ ถ้าต้องการให้ได้ DNA ที่บริสุทธิ์มากขึ้น ให้สกัดซ้ำด้วยฟีนอลอีก 1 ครั้ง ถึง 2 ครั้ง

(1.10) นำสารละลายส่วนใสที่ได้จากการสกัดใส่ในหลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ใหม่ ผสมกับคลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (24:1) ปริมาตร 2 เท่า ผสมเบาๆ แล้วปั่นเหวี่ยงที่ 13 000 กรัม นาน 5 นาที

(1.11) นำสารละลายส่วนใสใส่หลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ใหม่ แล้วตกตะกอน DNA ด้วยเอทานอล 95% ปริมาตร 2 เท่าของตัวอย่าง แล้วเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หรือที่ -80 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

(1.12) ปั่นเหวี่ยงที่ 13 000 กรัม นาน 30 นาที เทเอทานอลทิ้งไป แล้วล้างตะกอน DNA ด้วยเอทานอล 70% วางทิ้งไว้ให้เอทานอลระเหยจนหมด

(1.13) ละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที (น้ำกลั่นที่ใช้ต้องปลอดเชื้อและผ่านการกลั่นอย่างน้อยสองครั้ง)

(1.14) เก็บรักษาสารละลาย DNA ที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้

(2) การเพิ่มจำนวน DNA เป้าหมายในขั้นตอนที่ 1

(2.1) เตรียมสารผสม PCR cocktail ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย Tris/HCl 10 mmol pH 8.8, KCl 50 mmol, MgCl₂ 1.5 mmol, Triton X-100 0.1%, 200 μmol ของแต่ละ dNTP, 100 pmol ของแต่ละไพรเมอร์ รหัส 146 F1 และ 146 R1 (ตารางที่ 1) และ DNA polymerase 2 units

ตารางที่ 1. แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ของไพรเมอร์ รหัส 146 F1 และ

146 R1

| Primer | Sequence |
|--------|---|
| 146 F1 | 5'-ACT-ACT-AAC-TTC-AGC-CTA-TCT-AG-3' |
| 146 R1 | 5'-TAA-TGC-GGG-TGT-AAT-GTT-CTT-ACG-A-3' |

(2.2) เติมตัวอย่าง DNA ปริมาตร 1 ไมโครลิตร (มี DNA อยู่ประมาณ 0.1 ไมโครกรัม ถึง 0.3 ไมโครกรัม) ลงในหลอดที่มีสารผสมอยู่ ในการชันสูตรทุกครั้ง ต้องมีชุดควบคุมทั้งที่เป็น positive control, negative control และ blank (non-template control)

(2.3) นำตัวอย่างเข้าเครื่อง PCR โดยตั้งโปรแกรม 1 รอบ ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และที่

อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที แล้วตามด้วยโปรแกรม 39 รอบ ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที และรอบสุดท้าย ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

(3) การเพิ่มจำนวน DNA เป้าหมายในขั้นตอนที่ 2

(3.1) คัด PCR product ที่ได้จากข้อ (2.3) มา 10 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดสารผสม PCR cocktail 90 ไมโครลิตร ซึ่งมีส่วนประกอบเช่นเดียวกับข้อ (2.1) แต่เปลี่ยนไพรเมอร์ เป็น 146 F2 และ 146 R2 (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2. แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ รหัส 146 F2 และ 146 R2

| Primer | Sequence |
|--------|--------------------------------------|
| 146 F2 | 5'-GTA-ACT-GCC-CCT-TCC-ATC-TCC-A-3' |
| 146 R2 | 5'-TAC-GGC-AGC -TGC-TGC-ACC-TTG-T-3' |

(3.2) ดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ (2.3)

(4) แยกแถบ DNA ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis ดังนี้

(4.1) ผสมสีย้อม (6X loading dye) 2 ไมโครลิตร กับ PCR product ที่ได้ เติมประมาณ 10 ไมโครลิตร ลงในหลุมของ agarose gel ที่มีความเข้มข้น 1% ถึง 1.5%

(4.2) แยก DNA ด้วยกระแสไฟฟ้า ในสารละลาย TBE (Tris, boric acid, EDTA)

(4.3) แล้วนำไปย้อมด้วย ethidium bromide (0.5 ไมโครกรัม /มิลลิลิตร) หรือใช้สารย้อม DNA ชนิดอื่น

(4.4) ใช้ DNA ladder ขนาด 100 bp เป็น marker

3.4.3 การแปลผล

- เมื่อพบแถบ DNA ขนาด 941 bp (base pair) ให้อ่านผลเป็นบวก เมื่อเปรียบเทียบกับ positive control อาจพบแถบ DNA ขนาด 1 447 bp ร่วมด้วย

- เมื่อไม่พบแถบ DNA ขนาด 941 bp ให้อ่านผลเป็นลบ เมื่อเปรียบเทียบกับ negative controls

- ความไวของวิธีทดสอบนี้ คือ สามารถพบ PCR product ได้ เมื่อมีปริมาณ DNA เป้าหมาย ในตัวอย่างมีมากกว่า 20 copies ขึ้นไป

หมายเหตุ อาจใช้วิธีการทดสอบปฏิกิริยาห่วงโซ่พอลิเมอเรสอื่นแทน หากมีความไวและความจำเพาะที่เทียบเท่าหรือดีกว่า และได้รับการเผยแพร่ในวารสารทางวิชาการ

ภาคผนวก จ

ตารางการตรวจสอบจุดขาว

ตารางที่ จ1. ตารางการตรวจสอบจุดขาว

| White spot Inspection Report | | | | | | | | |
|------------------------------|-------|------|-----------------------|-------|------|------|-------|------|
| Batch No. | | | Production date | | | | | |
| Inspection Date | | | Block No. | | | | | |
| N | Score | CjNj | N | Score | CjNj | N | Score | CjNj |
| N 1 | | | N 31 | | | N 61 | | |
| N 2 | | | N 32 | | | N 62 | | |
| N 3 | | | N 33 | | | N 63 | | |
| N 4 | | | N 34 | | | N 64 | | |
| N 5 | | | N 35 | | | N 65 | | |
| N 6 | | | N 36 | | | N 66 | | |
| N 7 | | | N 37 | | | N 67 | | |
| N 8 | | | N 38 | | | N 68 | | |
| N 9 | | | N 39 | | | N 69 | | |
| N 10 | | | N 40 | | | N 70 | | |
| N 11 | | | N 41 | | | N 71 | | |
| N 12 | | | N 42 | | | N 72 | | |
| N 13 | | | N 43 | | | N 73 | | |
| N 14 | | | N 44 | | | N 74 | | |
| N 15 | | | N 45 | | | N 75 | | |
| N 16 | | | N 46 | | | N 76 | | |
| N 17 | | | N 47 | | | N 77 | | |
| N 18 | | | N 48 | | | N 78 | | |
| N 19 | | | N 49 | | | N 79 | | |
| N 20 | | | N 50 | | | N 80 | | |
| $\sum CjNj =$ | | | | | | | | |
| N = | | | | | | | | |
| $\sum CjNj/N =$ | | | | | | | | |