การผลิตน้ำปลาโดยกระบวนการแบบต่อเนื่อง

Fish Sauce Production by Continuous Process

หอสมุด สุนทรภู่งหลง ยรรถกระวีสุนทรี
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
วิทยาเขตหาดใหญ่
ได้รับรา
20 .
วันที่ เดือน 2 0 ม.ค. 2543

จริยา ภู่เจริญ

Jariya Pucharoen

Order Key 28300
BIB Key 176070

เลขหมู่ TX612.F5 จ46
เลขทะเบียน 3543 ฉ.2
2 ม.ค. 2543

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Food Technology

Prince of Songkla University

2543

ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตน้ำปลาโดยกระบวนการแบบต่อเนื่อง

ผู้เขียน นางสาวจริยา ภู่เจริญ

สาขาวิชา เทคโนโลยีอาหาร

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....ประธานกรรมการ
(ดร. สุกัญญา จันทะชุม)

.....(ติดราชการ).....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชัยรัตน์ ศิริพัธนะ)

.....กรรมการ
(อาจารย์สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกร)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(ดร. สุกัญญา จันทะชุม)

.....(ติดราชการ).....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชัยรัตน์ ศิริพัธนะ)

.....กรรมการ
(อาจารย์สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกร)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรัญ หันพงศ์กิตติกูล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อโนชา ตั้งโพธิธรรม)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. นพรัตน์ บำรุงรักษ์)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตน้ำปลาโดยกระบวนการแบบต่อเนื่อง
ผู้เขียน นางสาวจริยา ภู่เจริญ
สาขาวิชา เทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา 2542

บทคัดย่อ

สภาวะที่เหมาะสมในการเร่งการผลิตน้ำปลาโดยกระบวนการแบบต่อเนื่องในถังหมักที่มีการหมุนตลอดเวลา คือ การหมักวัสดุเศษเหลือปลาสีกุนทองตาโตที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนในน้ำปลา มีปริมาณคงที่หลังจากหมักได้ 10 วัน โดยมีค่า 4.52, 13.29 และ 4.08 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ การบ่มที่อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน พบว่า ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สามารถเร่งกระบวนการบ่มได้มากที่สุด โดยมีค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนเท่ากับ 8.02, 18.02 และ 6.97 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่น้ำปลาที่ได้มีกลิ่นน้ำปลาอ่อนมาก แม้จะได้มีการทดลองใช้เชื้อ *Pediococcus halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการบ่มน้ำปลา สำหรับการเปลี่ยนแปลงของเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด แบคทีเรียที่ผลิตกรด และแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนมีปริมาณลดลงในระหว่างการหมักน้ำปลา

Thesis Title	Fish Sauce Production by Continuous Process
Author	Miss Jariya Pucharoen
Major Program	Food Technology
Academic Year	1999

Abstract

An accelerated continuous process for fish sauce formation was developed by using rotary fermentation. The optimum condition involved fermentation of fish processing waste (head and bone of Bigeye scad) at 45 °C in the presence of salt at the ratio of 4:1 (w/w) and 10% pineapple peel. After 10 days of fermentation, formol titration, total nitrogen and amino nitrogen in the liquid remained constant at 4.52, 13.29 and 4.08 g/L, respectively. Among temperatures tested (35, 40 and 45 °C), 45 °C accelerated the ripening process (21 days) to the highest extent in comparison with other temperatures. Ripened liquid showed formol titration, total nitrogen and amino nitrogen at the values of 8.02, 18.02 and 6.97 g/L, respectively. To enhance the flavor formation in fish sauce, *Pediococcus halophilus* was inoculated during ripening. However, the flavor of fish sauce was still very mild. It was also found that total viable count, acid producing bacteria and proteolytic bacteria decreased during fermentation.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร. สุกัญญา จันทะชุม ประธานคณะกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชัยรัตน์ ศิริพัธนะ และอาจารย์สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกร กรรมการที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำแนะนำในการค้นคว้าวิจัย การเขียนวิทยานิพนธ์ รวมทั้งตรวจสอบความถูกต้องและความสมบูรณ์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรัญ หันพงศ์กิตติกูล กรรมการผู้แทนคณะอุตสาหกรรมเกษตร และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อโนชา ตั้งโพธิธรรม กรรมการผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ครูพรชัย ศรีไพบูลย์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและจัดทำอุปกรณ์ในการหมักน้ำปลา

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนเงินทุนในการวิจัย บริษัทแหลมทองซีเฟรช จำกัด ที่สนับสนุนเงินทุนและอนุเคราะห์วัสดุเศษเหลือปลาสีกุนทองตาโต คุณสมพงษ์ คูประมงอารักษ์ หัวหน้าศูนย์ควบคุมตรวจสอบสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์ สงขลา ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้เป็นอย่างดียิ่ง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์ควบคุมตรวจสอบสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์ สงขลา ที่มีส่วนช่วยเหลือในงานวิจัยทุกท่าน

ขอกราบขอบพระคุณ คุณย่า คุณแม่ พี่ชายและพี่สาว ด้วยความเคารพยิ่งที่เป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนการศึกษามาโดยตลอด

จริยา ภู่เจริญ

สารบาญ

หน้า

บทคัดย่อ.....(3)
Abstract.....(4)
กิตติกรรมประกาศ.....(5)
สารบาญ.....(6)
รายการตาราง.....(7)
รายการภาพ.....(16)
บทที่
1 บทนำ.....1
บทนำต้นเรื่อง.....1
ตรวจเอกสาร.....3
วัตถุประสงค์.....28
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ.....29
3 ผลและวิจารณ์.....38
4 สรุป.....73
เอกสารอ้างอิง.....76
ภาคผนวก.....85
ก วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี.....85
ข วิธีการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์.....97
ค ข้อมูลปฐมภูมิของการวิจัย.....101
ง ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ.....128
จ แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส.....140
ประวัติผู้เขียน.....141

รายการตาราง

ตารางที่ หน้า

1 ปลาชนิดต่างๆ ที่ใช้ทำน้ำปลา.....5

2 ชนิดของเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีนในปลา..... 9

3 องค์ประกอบต่างๆ ที่ตรวจพบในน้ำปลา..... 13

4 คุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำปลาไทย..... 27

5 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่หมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 3 ระดับ และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น.....40

6 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่หมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 3 ระดับ และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น..... 41

7 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาเมื่อหมักไว้ 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 และเติมเปลือกสับปะรด 3 ระดับ ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น.....47

8 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาเมื่อหมักไว้ 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น.....51

9 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาเมื่อหมักไว้ 30 วัน ที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส..... 54

10 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้นในสภาวะการหมัก 2 ลักษณะ.....59

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

11 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ในสภาวะการหมัก 2 ลักษณะ..... 60

12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำปลา ในระหว่างการหมัก เป็นเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อ เกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ในสภาวะการหมัก 2 ลักษณะ.....61

13 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาในระหว่างการบ่มของเหลว ที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะ ที่ใช้และไม่ใช้ P. halophilus เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น..... 65

14 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของน้ำปลาในระหว่างการบ่ม ของเหลวที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น..... 66

15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนของน้ำปลาในระหว่าง การบ่มของเหลวที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น.....67

16 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาเมื่อบ่มของเหลวที่ได้จากการหมักแบบ ต่อเนื่องเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น.....68

17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดของน้ำปลา ในระหว่างการบ่ม ของเหลวที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น.....69

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลา ในระหว่างการบ่ม ของเหลวที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น..... 70

19 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลา ในระหว่างการบ่ม ของเหลวที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น..... 71

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

ค1 ผลของปริมาณเกลือต่อค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จาก การหมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส..... 102

ค2 ผลของปริมาณเกลือต่อค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการ หมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส.....103

ค3 ผลของปริมาณเปลือกสับปะรดต่อค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลา ที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น.....104

ค4 ผลของเชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* ต่อค่า ฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลาและหมัก ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส.....105

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

ค5 ผลของอุณหภูมิต่อค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา โดยไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น..... 106

ค6 ผลของการหมักแบบต่อเนื่องต่อค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา โดยไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส..... 107

ค7 ผลของการหมักแบบต่อเนื่องต่อคุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่หมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลาโดยไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส..... 108

ค8 ผลของปริมาณเกลือต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ*P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส..... 110

ค9 ผลของปริมาณเกลือต่อปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส..... 111

ค10 ผลของปริมาณเกลือต่อปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ*P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส..... 112

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

ค11 ผลของปริมาณเกลือต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส.....113

ค12 ผลของปริมาณเกลือต่อปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส.....114

ค13 ผลของปริมาณเกลือต่อปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส.....115

ค14 ผลของปริมาณเปลือกสับปะรดต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น 116

ค15 ผลของปริมาณเปลือกสับปะรดต่อปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น.....117

ค16 ผลของปริมาณเปลือกสับปะรดต่อปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น.....118

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

ค17 ผลของเชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* ต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส..... 119

ค18 ผลของเชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* ต่อปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส..... 120

ค19 ผลของเชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* ต่อปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส..... 121

ค20 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา โดยไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น..... 122

ค21 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา โดยไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น..... 123

ค22 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา โดยไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น..... 124

ค23 ผลของการหมักแบบต่อเนื่องต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา โดยไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส..... 125

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

ค24 คะแนนการทดสอบกลิ่นในน้ำปลาที่ได้หลังจากการบ่มเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น.....127

ง1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักโดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 3 ระดับ เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส.....128

ง2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่ได้จากการหมักโดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 3 ระดับ เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส.....129

ง3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักโดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 3 ระดับ เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส.....130

ง4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่ได้จากการหมักโดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 3 ระดับ เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส.....131

ง5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรด 3 ระดับ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น.....132

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

ง6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรด 3 ระดับ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น.....133

ง7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรด ร้อยละ 10 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น.....134

ง8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรด ร้อยละ 10 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น..... 135

ง9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรด ร้อยละ 10 ไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ.....136

ง10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรด ร้อยละ 10 ไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ.....137

ง11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรด ร้อยละ 10 ไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสภาวะการหมัก 2 ลักษณะ.....138

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

ง12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสภาวะการหมัก 2 ลักษณะ.....138

ง13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนการทดสอบกลิ่นในน้ำปลาที่ได้หลังจากการบ่มเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น.....139

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1	บ่อคอนกรีตสำหรับหมักปลา	4
2	โครมาโตแกรมของสารประกอบที่ระเหยได้ของน้ำปลาไทย	14
3	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดในปาทีสที่ได้จากการหมักปลาดีลีส และปลาแมคเคอเรลผสมที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ	19
4	ลักษณะของการหมักโดยใช้ระบบหมุนเวียน	24
5	วัสดุเศษเหลือปลาสีกุนทองตาโต	29
6	เปลือกสับปะรด	30
7	ถังหมักแบบหมุน	32
8	การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1 และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น	39
9	การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1 และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น	39
10	การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1, 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1 และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น	42
11	การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1, 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1 และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น	43

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1, 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1 และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น.....43

13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1, 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1 และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น..... 44

14 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1, 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1 และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น..... 44

15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1, 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1 และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น.....45

16 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 0 ร้อยละ 5 และร้อยละ 10.....46

17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 0 ร้อยละ 5 และร้อยละ 10.....48

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 0 ร้อยละ 5 และร้อยละ 10..... 48

19 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 0 ร้อยละ 5 และร้อยละ 10.....49

20 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้นหรือใช้เชื้อ *P. halophilus* หรือ *B. licheniformis* หรือใช้เชื้อทั้งสองชนิด เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น..... 50

21 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น หรือใช้เชื้อ *P. halophilus* หรือ *B. licheniformis* หรือใช้เชื้อทั้งสองชนิด เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น..... 53

22 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น หรือใช้เชื้อ *P. halophilus* หรือ *B. licheniformis* หรือใช้เชื้อทั้งสองชนิดเป็นหัวเชื้อเริ่มต้น....53

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

23 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น หรือใช้เชื้อ*P. halophilus* หรือ *B. licheniformis* หรือใช้เชื้อทั้งสองชนิดเป็นหัวเชื้อเริ่มต้น..... 54

24 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส..... 55

25 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส..... 57

26 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส.....57

27 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส..... 58

28 ลักษณะของวัสดุเศษเหลือปลาสีกุนทองตาโตภายหลังจากหมักแบบหมุนเป็นเวลา 4 วัน..... 60

29 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ในสภาวะการหมักแบบต่อเนื่อง..... 62

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

30 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้นในสภาวะการหมักแบบต่อเนื่อง.....63

ภาพภาคผนวกที่ หน้า

ค1 การเจริญของเชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* ใน Tryptic Soy Broth ที่มีเกลือร้อยละ 15 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส.....36

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

น้ำปลาเป็นอาหารหมักพื้นบ้านที่มีบทบาทสำคัญต่อการบริโภคของคนไทยมาแต่โบราณ โดยใช้เป็นเครื่องปรุงแต่งรสของอาหาร และช่วยเพิ่มคุณค่าทางด้านโภชนาการ เนื่องจากในน้ำปลามีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายครบทั้ง 8 ชนิด ได้แก่ ทริพโตแฟน ลิวซีน ทรีโอนีน ไอโซลิวซีน ไลซีน เมธิโอนีน เฟนนิลอะลานีน และวาลีน นอกจากนี้ ยังมีกรดอะมิโนอื่น ๆ อีกด้วย เช่น ไทโรซีน อะลานีน กรดแอสพาร์ติก กรดกลูตามิก ไกลซีน โปรลีน เซรีน อาจินีน และฮิสติดีน (สุวิทย์ อารีกุล, 2518) สำหรับวิตามิน พบว่าในน้ำปลามีวิตามินที่จำเป็นต่อร่างกายหลายชนิด เช่น วิตามินบี 12 มีอยู่ 1 - 5 ไมโครกรัมต่อน้ำปลา 100 มิลลิลิตร ซึ่งคนปกติต้องการวิตามินบี 12 เฉลี่ยคนละประมาณวันละ 1 ไมโครกรัม เมื่อรับประทานน้ำปลาชั้นคุณภาพที่หนึ่งวันละ 10 - 15 มิลลิลิตร จะทำให้ร่างกายได้รับวิตามินบี 12 ส่วนหนึ่ง ซึ่งเมื่อรวมกับที่ได้รับจากสารอาหารชนิดอื่นอีกเพียงเล็กน้อย ก็จะเพียงพอแก่ความต้องการของร่างกายและทำให้ปลอดภัยจากโรคโลหิตจางชนิดเม็ดเลือดแดงโตได้ นอกจากนี้ ยังมีวิตามินบี 1 วิตามินบี 2 ไนอาซีน กรดโฟลิค และ เกลือแร่อื่นๆ เช่น เหล็ก ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม แมงกานีส และไอโอดีน (ข่าวสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2529) เนื่องจากมีการผลิตน้ำปลามากมายหลายชนิดหลายยี่ห้อวางขายในตลาด ซึ่งมีทั้งที่มีคุณภาพและบางชนิดก็ไม่ได้มาตรฐาน กระทรวงสาธารณสุขจึงได้ออกประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 118 (พ.ศ.2532) เรื่องน้ำปลา โดยให้น้ำปลาเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ และกำหนดความหมายของน้ำปลาไว้ว่า เป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเหลวรสเค็ม ใช้ปรุงแต่งกลิ่นรสของอาหาร แบ่งเป็น 3 ชนิด ได้แก่

(1) น้ำปลาแท้ หมายถึง น้ำปลาที่ได้จากการหมักหรือย่อยปลาหรือส่วนของปลาหรือกากของปลาที่เหลือจากการหมักตามกรรมวิธีการผลิตน้ำปลา

(2) น้ำปลาที่ทำจากสัตว์อื่น หมายถึง น้ำปลาที่ได้จากการหมักหรือย่อยสัตว์อื่นซึ่งมิใช่ปลาหรือส่วนของสัตว์อื่นหรือกากของสัตว์อื่นที่เหลือจากการหมักตามกรรมวิธีการผลิตน้ำปลา และให้หมายความรวมถึงน้ำปลาที่ทำจากสัตว์อื่นที่มีน้ำปลาแท้ผสมอยู่ด้วย

(3) น้ำปลาผสม หมายถึง น้ำปลาตาม (1) หรือ (2) ที่มีสิ่งอื่นที่ไม่เป็นอันตรายแก่ผู้บริโภคเจือปนหรือเจือจางหรือปรุงแต่งกลิ่นรส ทั้งนี้หมายความรวมถึงน้ำปลาตาม (1), (2) หรือ (3) ที่ได้ระเหยน้ำออกด้วย

น้ำปลานอกจากจะผลิตในประเทศไทยแล้ว ยังผลิตในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เช่นกัน แต่ใช้ชื่อพื้นเมืองแตกต่างกันไป เช่น น้ำปลาเวียตนามเรียกว่า น็อคมาม (Nouc Mam) น้ำปลาฟิลิปปินส์เรียกว่า ปาทิส (Patis) เป็นต้น (ประเสริฐ สายสิทธิ์, 2527) สำหรับในประเทศไทย มีการบริโภคน้ำปลากันแทบทุกครัวเรือน ทำให้มีการผลิตน้ำปลากันเป็นอุตสาหกรรม โดยในปีหนึ่งๆ มีการใช้ปลาเพื่อผลิตเป็นน้ำปลามากกว่า 40,000 ตัน มีผลผลิตไม่ต่ำกว่า 30 ล้านลิตรต่อปี มูลค่าการส่งออกไปยังต่างประเทศ 400 - 500 ล้านบาทต่อปี (ดวงทิพย์ อรุณไพโรจน์ และ ไพโรจน์ หลวงพิทักษ์, 2539) อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันนี้ อุตสาหกรรมน้ำปลาประสบปัญหาในเรื่องของวัตถุดิบ เนื่องจากสาเหตุ 2 ประการคือ ประการที่หนึ่ง จากกฎหมายคุ้มครองสัตว์น้ำ โดยได้มีความพยายามผลักดันให้มีการห้ามจับปลากระตัก เพราะเกรงว่าการใช้อวนตาถี่ในการจับปลากระตัก จะทำให้ลูกปลาชนิดอื่นถูกจับไปด้วยซึ่งก่อให้เกิดการทำลายนิเวศน์วิทยาทางน้ำ และประการที่สอง การที่มีอุตสาหกรรมประเภทอื่นร่วมใช้วัตถุดิบชนิดเดียวกัน ได้แก่ อุตสาหกรรมปลาป่นและอุตสาหกรรมปลาตากแห้ง นอกจากปัญหาในเรื่องของวัตถุดิบแล้ว อุตสาหกรรมน้ำปลายังประสบกับปัญหาในเรื่องของระยะเวลาการผลิตที่ยาวนาน เป็นผลให้ต้นทุนการผลิตสูงและเงินลงทุนหมุนเวียนต่ำ (วัฏจักรอุตสาหกรรม, 2536) แนวทางหนึ่งที่น่าจะช่วยแก้ปัญหานี้ได้คือ การใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือของโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปปลาทะเล ได้แก่ หัวปลา ก้าง กระดูกและเครื่องในปลา เนื่องจากวัสดุเศษเหลือเหล่านี้ยังคงมีคุณค่าทางอาหาร เช่น ในหัวปลามีโปรตีนในเครื่องในปลามีเอนไซม์อยู่สูง ส่วนก้างและกระดูกมีแคลเซียมเป็นปริมาณมาก ซึ่งอาจจะสามารถนำไปทำเป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำปลาได้ นอกจากจะเป็นการแก้ปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบในอุตสาหกรรมน้ำปลาแล้ว ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเศษเหลือและเพิ่มรายได้ให้กับโรงงานอีกด้วย

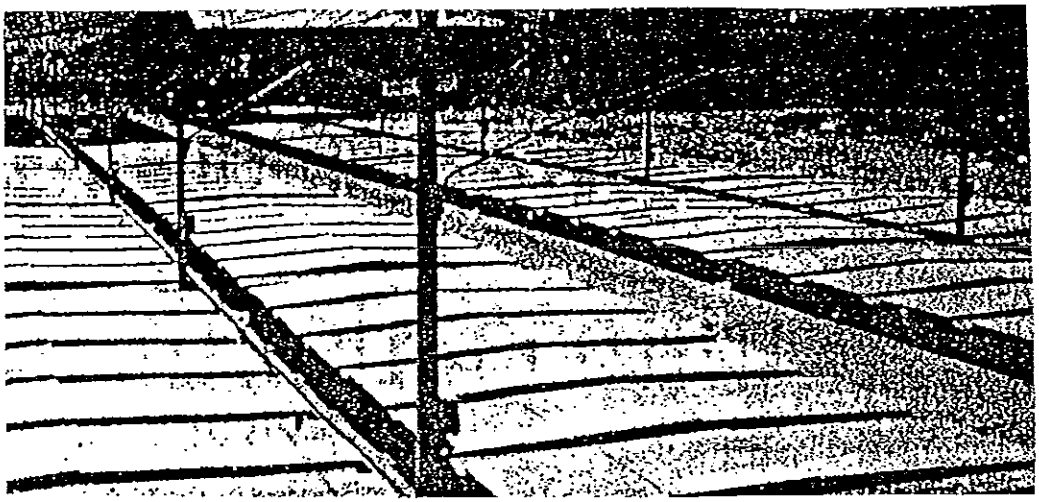
ตรวจเอกสาร

กรรมวิธีในการผลิตน้ำปลา

การผลิตน้ำปลาในแต่ละแห่งอาจแตกต่างกันไปบ้างเล็กน้อย แต่วิธีการส่วนใหญ่จะคล้ายคลึงกัน โดยมีขั้นตอนในการผลิตคือ นำปลาทั้งตัวมาล้างให้สะอาด แล้วจึงผสมกับเกลือโดยใช้อัตราส่วน 1 ต่อ 1 ถึง 5 ต่อ 1 ส่วนใหญ่นิยมใช้เกลือ 1 ส่วนต่อปลา 2 ส่วน แล้วนำไปหมักในถังหมักปลาโดยด้านข้างของถังหมักปลาจะมีรูเจาะเพื่อที่จะไขน้ำปลาที่หมักได้ที่ออกมา ระยะเวลาในการหมักไม่แน่นอนขึ้นกับขนาดของปลา โดยทั่วไปมักหมักทิ้งไว้ 12 - 18 เดือน เมื่อหมักจนได้ที่ก็ไขเอาน้ำปลาออกมาตามสายยางให้น้ำปลาไหลผ่านกากปลาและเกลือลงมา น้ำปลาที่ได้นี้จัดเป็นหัวน้ำปลา ต้องนำไปผึ่งแดดอีกระยะหนึ่งราว 2 สัปดาห์ถึง 1 เดือน เพื่อให้กลิ่นคาวหมดไปและทำให้น้ำปลามีกลิ่นหอม

ส่วนกากที่เหลืออาจใช้สกัดเอาน้ำปลาออกมาได้อีก โดยการเติมน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 30 ลงไป และหมักไว้ประมาณ 3 - 4 เดือน จึงไขออกเอาไปผึ่งแดด 1 - 2 วัน ก็จะได้น้ำปลาครั้งที่ 2 กากปลาที่เหลืออยู่ก็ทำเช่นเดียวกันอีก ซึ่งจะได้น้ำปลาครั้งที่ 3 และที่ 4 กากที่เหลือจากการทำน้ำปลาครั้งที่ 4 นั้น จะเอามาสกัดอีกโดยต้มกับน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นร้อยละ 30 ในกะทะประมาณ 4 ชั่วโมง เพื่อจะสกัดเอาเนื้อปลาที่ติดอยู่ที่กากปลาออกให้หมด (สุวิทย์ อารีกุล, 2518)

สำหรับในระดับอุตสาหกรรม โรงงานผลิตน้ำปลามักจะตั้งอยู่ในแถบที่ใกล้แหล่งที่ซื้อหาปลา เพื่อความสะดวกในการขนย้ายปลา โรงงานจะทำการเคล้าปลากับเกลือให้เข้ากันแล้วหมักในปอคอนกรีตซึ่งเป็นบ่อที่ก่อฝังลึกลงไปในดิน (ภาพที่ 1) เมื่อน้ำปลาได้ที่ซึ่งใช้เวลาประมาณ 1 ปี ส่วนที่เป็นน้ำจะถูกสูบออกมากรอง แล้วเก็บไว้ใช้เป็นหัวน้ำปลา ซึ่งหัวน้ำปลาจะถูกนำไปเจือจางและปรุงแต่งกลิ่น สี รส แล้วจึงบรรจุขวดและไหต่อไป (สายพิณ ไชยนันทน์, 2528)



ภาพที่ 1 บ่อคอนกรีตสำหรับหมักปลา
ที่มา : วัฏจักรอุตสาหกรรม (2536)

จากกรรมวิธีการผลิตน้ำปลาจะเห็นได้ว่า องค์ประกอบที่สำคัญของการหมักปลาคือ ปลา และเกลือ ซึ่งทั้งสองสิ่งนี้มีผลต่อคุณภาพของน้ำปลาดังนี้

1. ปลา

คุณภาพของน้ำปลาขึ้นอยู่กับชนิดของปลา เช่น

- ปลาไส้ตัน (*Stolephorus* spp.) จะได้น้ำปลาที่มีรสและกลิ่นดี สีน้ำตาลแดง
- ปลาหลังเขียว (*Clupea* spp.) จะได้น้ำปลาที่มีสีแดง กลิ่นไม่ค่อยหอม
- ปลาทู (*Rastrelliger* spp.) เวลาทำเป็นน้ำปลาแล้วมักจะมีกลิ่นเหม็นหืน
- ปลาสร้อย (*Cirrhinus jullieni*) เป็นปลาน้ำจืด น้ำปลาที่ได้มักจะมีคุณภาพด้อยกว่าปลาน้ำเค็มในด้านกลิ่นและรส (ลูกจันทร์ ภัครัชพันธุ์, 2522)

สำหรับปลาที่นิยมใช้ทำน้ำปลาในบางประเทศแสดงดังตารางที่ 1 มักเป็นปลาทั้งตัวคือมีอวัยวะภายในอยู่ด้วย เนื่องจากในการย่อยสลายปลาโดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีนจะต้องอาศัยเอนไซม์ที่อยู่ในระบบการย่อยอาหารของปลานั่นเอง มีรายงานว่าการใช้ปลาทั้งตัวเป็นวัตถุดิบ จะใช้เวลาในการเกิดน้ำปลาน้อยกว่าการใช้ปลาที่ควักไส้ออก และมีปริมาณกรดอะมิโนสูงกว่าปลาที่ควักไส้ออก (Greig and Estrella, 1988)

ตารางที่ 1 ปลาชนิดต่างๆ ที่ใช้ทำน้ำปลา

ประเทศ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ถิ่นอาศัย
ฮ่องกง	*Sphyraena* spp.	น้ำเค็ม
	Carangidae	น้ำเค็ม
	Sardinella aurita	น้ำเค็ม
	Teuthis albapuncatus	น้ำเค็ม
	Engraulis purava	น้ำเค็ม
อินโดนีเซีย (บอร์เนียว)	*Clupea* spp.	น้ำเค็ม
	Stolephorus spp.	น้ำเค็ม
	Osteochilus spp.	น้ำจืด
	Puntius spp.	น้ำจืด
	Ctenops spp.	น้ำจืด
ฟิลิปปินส์	*Stolephorus commersonii*	น้ำเค็ม
	Stolephorus indicus	น้ำเค็ม
	Clupeioides lile	น้ำเค็ม
	Sardinella perforata	น้ำเค็ม
	Sardinella frimbriata	น้ำเค็ม
	Sardinella longiceps	น้ำเค็ม
	Decapterus macrosoma	น้ำเค็ม
ไทย	*Stolephorus indicus*	น้ำเค็ม
	Stolephorus commersonii	น้ำเค็ม
	Rastrelliger tri	น้ำเค็ม
	Clupea spp.	น้ำเค็ม
	Sardinella spp.	น้ำเค็ม
	Cirrhinus spp.	น้ำจืด
เวียตนาม	*Stolephorus* spp.	น้ำเค็ม
	Clupeioides lile	น้ำเค็ม
	Engraulis mystax	น้ำเค็ม
	Decapterus spp.	น้ำเค็ม

ที่มา : ประเสริฐ สายสิทธิ์ (2527)

2. เกลือ

เกลือเป็นปัจจัยสำคัญต่อการกำหนดชนิดจุลินทรีย์ที่จะเจริญและสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยเนื้อปลา จุลินทรีย์ที่ปะปนมากับปลาจะมีทั้งชนิดที่ทนเกลือได้และทนเกลือไม่ได้ ส่วนใหญ่พวกที่ทนเกลือได้จะเป็นพวกที่มีบทบาทในการทำอาหารหมัก ส่วนพวกที่ทนเกลือไม่ได้มักจะเป็นพวกที่ทำให้เกิดการบูดเน่า โดยเปลี่ยนโปรตีนในเนื้อปลาให้กลายเป็นสารประกอบที่มีกลิ่นไม่พึงปรารถนา ดังนั้น ปริมาณของเกลือจึงเป็นปัจจัยที่ควบคุมการเปลี่ยนแปลงเนื้อปลา โดยกำหนดชนิดของจุลินทรีย์ที่จะย่อยสลายเนื้อปลาให้ได้น้ำปลาที่มีกลิ่นและรสตามต้องการ ถ้าใช้เกลือน้อยไปปลาจะเน่า ทำให้น้ำปลาที่ได้กลิ่นไม่ดี มีคุณภาพต่ำ ถ้าใช้เกลือมากเกินไป การเกิดน้ำปลาจะช้าลง ดังนั้นการใช้เกลือจึงต้องมีปริมาณที่เหมาะสม ส่วนใหญ่จะใช้เกลือประมาณร้อยละ 30 - 40 (สายพิณ ไชยนันทน์, 2528)

Beddows และคณะ (1976) พบว่า ในการผลิตน้ำปลาที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส โดยผสมปลากับโบรมิเลนทิ้งไว้ 20 ชั่วโมง จึงเติมเกลือลงไปร้อยละ 20 จะทำให้เกิดการเปลี่ยนสภาพเป็นโปรตีนที่ละลายน้ำร้อยละ 89.7 แต่ถ้าเติมเกลือทันที จะได้เพียงร้อยละ 41.7

เกลือที่ยังไม่ผ่านการฟอกสี จะประกอบด้วยโซเดียมคลอไรด์ ดิน ทราย ฝุ่น และสารอื่นๆ เช่น เกลือคลอไรด์ของแคลเซียมและแมกนีเซียม เกลือซัลเฟต เกลือคาร์บอเนต เป็นต้น ซึ่งทำให้คุณภาพของการหมักต่ำลง เนื่องจากแคลเซียมและแมกนีเซียมคลอไรด์จะดูดความชื้นได้ง่าย ซึ่งอาจทำให้ปลาเน่าเสียได้เพราะความเค็มไม่พอ นอกจากนี้ยังมีส่วนทำให้เกลือซึมผ่านเข้าไปในเนื้อปลาได้ช้า ทำให้เกิดกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ในน้ำปลาได้ (อรพิน ภูมิภมร, 2526)

Rose (1918 อ้างโดย Owens และ Mendoza, 1985) รายงานว่า ถ้าความเข้มข้นของเกลือสูงจะสามารถป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ย่อยสลายโปรตีนเกิดเป็นแอมโมเนียมากเกินไป โดยพบว่าน้ำปลาที่ใช้เกลือร้อยละ 20 - 25 จะมีแอมโมเนียน้อยกว่าร้อยละ 10 ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ในขณะที่ถ้าใช้เกลือร้อยละ 8 และ 14 จะมีแอมโมเนียร้อยละ 31 และ 24 ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดตามลำดับ

ขั้นตอนในการหมักน้ำปลา

ในการหมักน้ำปลานั้น มีขั้นตอนที่สำคัญ 3 ขั้นตอน คือ การย่อยปลา การเกิดสี และการเกิดกลิ่นรสของน้ำปลา (ประเสริฐ สายสิทธิ์, 2511) ดังนี้

1. **การย่อยปลา** เป็นการเปลี่ยนสภาพเนื้อปลาจากของแข็งไปเป็นของเหลว ได้แก่ การย่อยสลายโปรตีน และการย่อยสลายไขมัน

1.1 **การย่อยสลายโปรตีน**

เมื่อปลาตายเอนไซม์ที่สามารถย่อยโปรตีนทั้งในส่วนเนื้อปลา กระเพาะ ลำไส้ หรือจากจุลินทรีย์ จะย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลาเป็นเปปไทด์และกรดอะมิโน ซึ่งกรดอะมิโนอาจจะถูกย่อยสลายต่อไปกลายเป็นเอมีน กรดคีโต แอมโมเนีย และคาร์บอนไดออกไซด์ (อรพิน ภูมิภมร, 2526) ซึ่งเอนไซม์ที่สามารถย่อยโปรตีน (protease) สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม ตามกลไกการทำงาน (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2535) ดังนี้

1.1.1 serine proteases เป็นเอนไซม์ที่มีอนุมูลเซริล (seryl residue) และมีหมู่อิมิดาโซลอยู่ที่บริเวณเร่ง เอนไซม์ทั้งหมดเป็นพวกเอนโดเปปติเดส (endopeptidases) มีความสามารถในการทำงานได้อย่างเหมาะสมในสภาวะความเป็นกรด-ด่างเป็นกลางจนถึงด่าง (7 – 11) ตัวอย่างของเอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่

- กลุ่มที่มีแหล่งจากสัตว์ เช่น ทริปซิน, ไคโมทริปซิน, ทรอมบิน และอิลาสเทส

- กลุ่มที่มีแหล่งจากจุลินทรีย์ เช่น subtilisin และ α-lytic protease

1.1.2 sulfhydryl proteases เป็นเอนไซม์ที่มีหมู่ซัลไฟดริลที่บริเวณเร่ง ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์กลุ่มนี้ค่อนข้างจะเป็นกลาง คือที่ 6 - 7.5 และเป็นพวกเอนโดเปปติเดส ตัวอย่างของเอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่

- กลุ่มที่มีแหล่งจากพืช เช่น ปาเปน (จากมะละกอ), ฟิซิน (จากมะเดื่อ) และโบรมิเลน (จากสับปะรด)

- กลุ่มที่มีแหล่งจากจุลินทรีย์ เช่น *Streptococcus* protease

1.1.3 metal - containing proteases เป็นเอนไซม์ที่มีอิออนของโลหะเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในบริเวณเร่ง และเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์จากปลายสายของ

โปรตีน (exopeptidase) มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานคือ 6.5 - 7.5 ตัวอย่างของเอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่

- กลุ่มที่มีแหล่งจากสัตว์ เช่น Carboxypeptidase A, B และ Glycyl-glycine dipeptidase

- กลุ่มที่มีแหล่งจากจุลินทรีย์ เช่น เอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อ *B. subtilis* (วรรณา ชูฤทธิ์ และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2532)

1.1.4 acid proteases เป็นเอนไซม์ที่มีความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานในสภาวะของกรด โดยทั่วไปความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 2 - 4 ตัวอย่างของเอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่

- กลุ่มที่มีแหล่งจากสัตว์ เช่น เรนนินและเปปซิน

- กลุ่มที่มีแหล่งจากจุลินทรีย์ เช่น เอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อ *Mucor* sp. (วรรณา ชูฤทธิ์ และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2532)

โปรติเอสที่พบในปลามีหลายชนิด เช่น ทริปซิน, ไคโมทริปซิน, คาเทปซิน, เปปซิน, แกสทริซิน (gastricin), คอลลาจีเนส (collagenase) และ คาลเปน (calpains) เป็นต้น (Haard and Simpson, 1994) (ตารางที่ 2) การย่อยสลายโปรตีนนอกจากเกิดจากเอนไซม์ภายในตัวปลาแล้ว ยังเกิดจากเอนไซม์ของจุลินทรีย์ เช่น อัลคาเลส (Alcalase) ซึ่งเป็นเอนโด-โปรติเอส (endoprotease) ที่ได้จากเชื้อ *Bacillus licheniformis* เป็นต้น (Shahidi, 1994) และยังมีรายงานการตรวจพบเชื้อต่างๆ เช่น *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Halobacterium* และ Coryneform ในผลิตภัณฑ์ปลาหมักและน้ำปลา (สายพิณ ไชยนันทน์ และ นิวัฒน์ ฉายโชติเจริญ, 2530; Saisithi, 1987; มัทนา แสงจินดาวงศ์ และ สมศักดิ์ วินิจนันทรัตน์, 2527)

ความสามารถในการย่อยโปรตีนของเอนไซม์แต่ละชนิดจะมีมากน้อยอย่างไรนั้นขึ้นอยู่กับความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ความเข้มข้นของเกลือ เช่น ที่ความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง ทริปซินจะมีบทบาทอย่างมาก แต่ถ้าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 5.5 เปปซินจะมีบทบาทมาก ถ้าความเข้มข้นของเกลือสูงกว่าร้อยละ 5 เปปซินจะถูกยับยั้งการทำงาน เป็นต้น (Gildberg, *et al*, 1984)

ตารางที่ 2 ชนิดของเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีนในปลา

เอนไซม์	อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน (องศาเซลเซียส)
cathepsin	37
peptidase	40
transaminase	37
amino acid decarboxylase (16 different amino acid)	40
glutamate dehydrogenase	25
asparaginase	37
glutaminase I (+ phosphate)	37
glutaminase II (+ pyruvate)	37
D - amino acid oxidase	37
mono amine oxidase (dopamine, tyramine, histamine)	37

ที่มา : Siebert และ Schmitt (1965 อ้างโดย อรพิน ภูมิภมร, 2526)

Orejana และ Liston (1981) รายงานว่า Trypsin-like enzyme เป็นแหล่งสำคัญที่ทำให้เกิดการย่อยโปรตีนในปาทีส ส่วน Gildberg และ Xian-Quan (1994) พบว่าเมื่อนำน้ำปลาที่ได้จากการหมักเครื่องในของปลาคอด (cod) มาผ่าน ultrafiltration จะได้ทริปซินที่เข้มข้น ในขณะที่ Rosario และ Maldo (1984 อ้างโดย Raksakulthai, 1986) รายงานว่า เอนไซม์ที่มีความสำคัญในการย่อยปลาในระหว่างการหมักปลาเพื่อทำปาทีส คือ คาเทปซินเอ และคาเทปซินซี ซึ่งมีความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการทำงานที่ 5.0 - 7.0

Vo Van และคณะ (1984 อ้างโดย Raksakulthai, 1986) รายงานว่าเอนไซม์อะมิโนเปปติเดส (aminopeptidase) มีส่วนในการย่อยโปรตีนและเปปไทด์ในการทำน้ำปลา ส่วนคาร์บอกซีเปปติเดส (carboxypeptidase) ไม่มีบทบาทสำคัญเนื่องจากถูกยับยั้งการทำงานโดยเกลือที่ใช้ในการหมัก Noda และคณะ (1982 อ้างโดย Raksakulthai, 1986)

รายงานว่าพบแอซิดโปรติเอส (acid protease) ในน้ำปลาที่ทำจากปลาซาร์ดีนหมักกับเกลือร้อยละ 22

Mittranond และ Okada (1987) ได้นำเอนไซม์ที่มีอยู่ในไส้ติ่งของปลา (pyloric caeca) มาทำให้บริสุทธิ์แล้วทดสอบกิจกรรมการทำงาน (activity) พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้น กิจกรรมการทำงานจะลดลง แสดงว่าเอนไซม์เหล่านี้ไม่ใช่กลุ่มที่ทนเกลือได้มาก และเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 50 องศาเซลเซียส กิจกรรมการทำงานจะเพิ่มขึ้นด้วย และยังพบว่าเอนไซม์เหล่านี้มีความคงตัวในช่วงอุณหภูมิที่กว้าง (จนถึง 50 องศาเซลเซียส) แม้ว่าจะมีเกลือร้อยละ 20 อยู่ด้วยก็ตาม

Beddows และคณะ (1976) รายงานว่าเมื่ออุณหภูมิและความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้น โบรมิเลนจะมีกิจกรรมการทำงานลดน้อยลง โดยพบว่าที่ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 20 โบรมิเลนจะสูญเสียกิจกรรมการทำงานไปร้อยละ 65 ในขณะที่ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 10 โบรมิเลนจะสูญเสียกิจกรรมการทำงานไปร้อยละ 45 และการหมักที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส จะสูญเสียกิจกรรมการทำงานน้อยกว่าที่ 45 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตาม ทนง ภัครัชพันธุ์ (2533) รายงานว่า โบรมิเลนมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ที่ 27-60 องศาเซลเซียส

1.2 การย่อยสลายไขมัน

ไขมันในตัวปลาจะถูกย่อยสลายเนื่องจากเอนไซม์ในตัวปลาและจากจุลินทรีย์ ได้เป็นกรดไขมันทั้งชนิดที่ระเหยได้และระเหยไม่ได้รวมทั้งคีโตนและอัลดีไฮด์ ซึ่งการเกิดกรดไขมันในน้ำปลาอาจเกิดขึ้นได้จากการเกิดออกซิเดชันของไขมันหรือจากการเกิดออกซิเดทีฟดีอะมิเนชั่น (oxidative deamination) ของกรดอะมิโน (อรพิน ภูมิภมร, 2526) มีรายงานว่า กรดที่ระเหยได้เป็นผลของปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งอาจเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ หรือเอนไซม์จากปลา หรือปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างไขมันกับออกซิเจนในอากาศ (Dougan and Howard, 1975) แต่มีผลการศึกษาแย้งว่า กรดที่ระเหยได้นั้นไม่น่าจะเกิดจากไขมันในปลาแต่เกิดจากกรดอะมิโน โดย Beddows และคณะ (1980) ได้เติม radioactive protein hydrolysate (U-^{14}C) ลงในปลาบด ก่อนนำไปหมักที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมงสามารถตรวจพบ radioactivity ในกรดบิวทีริก (n – butyric acid), กรดไอโซบิวทีริกและกรดไอโซวาเลอริก (iso – valeric acid) ที่เกิดขึ้นในน้ำปลา

2. การเกิดสีของน้ำปลา

สีน้ำตาลของน้ำปลาเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างสารประกอบที่มีอนุมูลอะมิโน ($-NH_2$) กับสารประกอบที่มีอนุมูลคาร์บอนิล ($-C=O$) (ประเสริฐ สายสิทธิ์, 2527) การเกิดปฏิกิริยามี 3 ขั้นตอน คือ ระยะแรกจะเกิดสารประกอบไกลโคซิลเอมีน (glycosylamine) จากนั้นสารชนิดนี้จะจัดตัวกันใหม่เกิดเป็นสารประกอบ 1-amino-1-deoxy-2-ketose (Amadori compound) ซึ่งภายหลังจะเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบที่มีสีน้ำตาล (melanoidin) (Weir, 1986 อ้างโดย ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538) สีของน้ำปลาที่ได้จะอยู่ระหว่างสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ความเข้มของสีน้ำปลาจะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับอุณหภูมิและปริมาณออกซิเจนที่เพิ่มขึ้น รวมทั้งชนิดของเกลือ เช่น K_2HPO_4 ส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด ส่วน Ca^{2+}, Fe^{2+}, และ Mg^{2+} ในปริมาณ 0.1-1.0 ppm จะกระตุ้นการเกิดสีน้ำตาลได้ นอกจากนี้น้ำตาลเป็นปัจจัยอีกอย่างหนึ่งที่สำคัญต่อการเกิดสีน้ำตาล ซึ่งขณะที่ปลาตายใหม่ๆ สามารถตรวจพบไรโบสและไรโบสฟอสเฟต (อรพิน ภูมิภมร, 2526) สำหรับกรดอะมิโนที่สำคัญในการเกิดสีน้ำตาลในระยะแรกของการหมักคือ ทอรีน (van Klaveren and Legendre, 1965 อ้างโดย ประเสริฐ สายสิทธิ์, 2514) การเกิดปฏิกริยาสีน้ำตาลระหว่างกรดอะมิโนกับสารประกอบคาร์บอนิลเป็นปฏิกิริยาแบบลูกโซ่ ถึงแม้ว่าไรโบสและทอรีนจะเกิดปฏิกริยาจนหมดไปแล้ว แต่ผลพลอยได้จากปฏิกิริยาข้างต้นเกิดเป็นสารประกอบคาร์บอนิล ซึ่งทำปฏิกริยากับกรดอะมิโนอื่นๆ ต่อไป นอกจากนี้ สีน้ำตาลอาจเกิดจากปฏิกริยาของสารประกอบอะมิโนกับไขมันที่ถูกเติมออกซิเจนได้อีกด้วย (ประเสริฐ สายสิทธิ์, 2514)

การใช้ปลาทั้งตัวจะทำให้ได้น้ำปลาที่มีสีเข้มกว่าการใช้ปลาที่ควักไส้ออก (Greig and Estrella, 1988) นอกจากนี้ชนิดของปลายังมีผลต่อสีของน้ำปลา เช่น การใช้ปลาแมคเคอเรลจะได้น้ำปลาสีน้ำตาลแดง แต่ถ้าใช้ปลาแองโชวี (anchovy) จะได้น้ำปลาสีเหลืองทอง (Chaiyanan, *et al*, 1988)

3. การเกิดกลิ่นรสของน้ำปลา

3.1 การเกิดกลิ่น

ในการบ่งบอกถึงคุณภาพของน้ำปลา ผู้บริโภคมักจะใช้กลิ่นของน้ำปลาเป็นตัวกำหนด ซึ่ง Dougan และ Howard (1975) รายงานว่ากลิ่นของน้ำปลาประกอบด้วยกลิ่น 3 ชนิด ได้แก่ ชนิดแรก กลิ่นคล้ายแอมโมเนีย เกิดจากแอมโมเนียและไตรเมทิลลามีน

(trimethylamine) ชนิดที่สอง กลิ่นคล้ายเนย เกิดจากกรดไขมันที่ระเหยได้ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ประกอบด้วยกรดอะซิติกและกรดบิวทีริกเป็นส่วนใหญ่ ชนิดสุดท้ายคือ กลิ่นคล้ายเนื้อซึ่งยังไม่สามารถจำแนกได้ว่าเป็นสารประกอบชนิดใด อย่างไรก็ตาม Withycombe และ Mussinan (1988 อ้างโดย Lindsay, 1994) รายงานว่า สารที่ให้กลิ่นคล้ายเนื้อในปลาทูน่ากระป๋องคือ 2-methyl-3-furanthiol ในขณะที่ Wong (1989) รายงานว่าสารที่ให้กลิ่นคล้ายเนื้อในเนื้อวัวสุก ได้แก่ thiazoles, thiazolines, 3-mercapto-2-methyl-4,5-dihydrofuran, 4-mercapto-2-methylfuran, 4-mercapto-3-oxo-tetrahydrofuran, 3-mercapto-2-methyl-thiophene, 4-mercapto-2-methyl-2,3-dihydrothiophene และ 3-mercapto-4-hydroxy-2-methyl-2,3-dihydrothiophene

McIver และคณะ (1982) ศึกษาองค์ประกอบต่างๆของน้ำปลา พบว่าประกอบด้วยกรด 14 ชนิด แอลกอฮอล์ 10 ชนิด เอมีน 8 ชนิด สารประกอบอื่นที่มีไนโตรเจนอยู่ด้วย 9 ชนิด แลคโตน 4 ชนิด คาร์บอนิล 3 ชนิด และสารประกอบที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ 5 ชนิด (ตารางที่ 3) นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำปลาที่มีกรดไขมันที่ระเหยได้น้อย จะมีกลิ่นเนยน้อยและมีกลิ่นแอมโมเนียมาก ปริมาณของกรดไขมันที่ระเหยได้ในน้ำปลาแต่ละชนิดมีค่าต่างๆ กันขึ้นอยู่กับชนิดและคุณภาพของน้ำปลานั้นๆ ซึ่ง Dougan และ Howard (1975) รายงานว่า น็อคมามมีอัตราส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดบิวทีริกเท่ากับ 1 ต่อ 1 ในขณะที่น้ำปลาไทยซึ่งมีคุณภาพดี มีอัตราส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดบิวทีริกเท่ากับ 20 ต่อ 1

Sanceda และคณะ (1984) พบว่า กลิ่นของปาทีสประกอบด้วยกรด 19 ชนิด แอลกอฮอล์ 14 ชนิด สารประกอบที่มีไนโตรเจนอยู่ด้วย 12 ชนิด คาร์บอนิล 3 ชนิด เอสเทอร์ 5 ชนิด สารประกอบที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ 3 ชนิด ฟีนอล 1 ชนิด และสารประกอบอื่นอีก 2 ชนิด กรดที่พบส่วนใหญ่ได้แก่ กรดบิวทีริก กรดโพรพิโอนิก กรดไอโซ-วาเลอริก กรดอะซิติกและกรดไอโซบิวทีริก สารประกอบที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบที่พบได้แก่ ไพราซีน (pyrazines) และไพริดีน (pyridines) ซึ่งให้กลิ่นไหม้และกลิ่นที่ไม่ยอมรับ

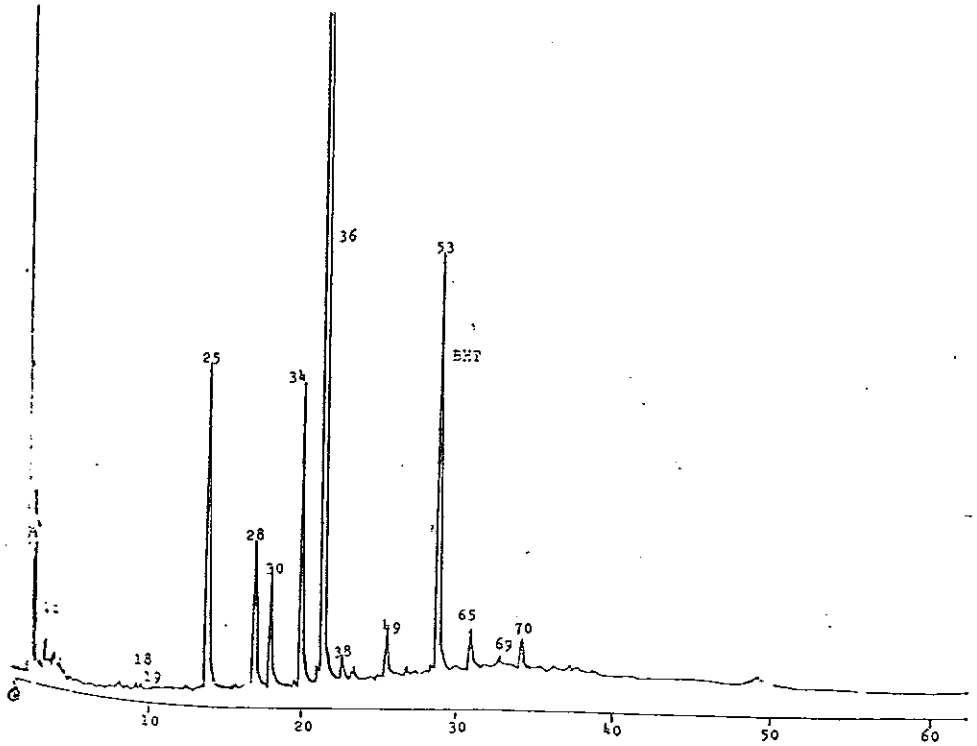
Sanceda และคณะ (1986) เปรียบเทียบกลิ่นของน้ำปลา 3 ชนิด ได้แก่ น้ำปลาญี่ปุ่น (Shottsuru) น้ำปลาไทย และน้ำปลาเวียตนาม โดยใช้เครื่องกาซโครมาโตกราฟฟี-แมสสเปคโตรเมตรี (GC-MS) พบว่า กลิ่นและสารประกอบของน้ำปลาทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกัน โดยน้ำปลาญี่ปุ่นมีสารประกอบที่ระเหยได้ 50 ชนิด น้ำปลาไทยมี 44 ชนิด

ตารางที่ 3 องค์ประกอบต่างๆ ที่ตรวจพบในน้ำปลา

ประเภท	ชนิด
กรด	Formic acid, Acetic acid, Propionic acid, n-Butyric acid, Isobutyric acid, Valeric acid, Isovaleric acid, Caproic acid, Isocaproic acid, Heptanoic acid, Levulinic acid, Benzoic acid, Phenylacetic acid, 3-Phenylpropionic acid
แอลกอฮอล์	Ethanol, Butanol, 2-Methyl-1-propanol, Pentanol, Glycerol, 3-Methyl-1-butanol, 1,2-propanediol, 4-Methylcyclohexanol, 2-Furanmethanol, 2,3-Butanediol
เอมีน	Dimethylamine, Trimethylamine, Histamine, Tryptamine, Tyramine, Dopamine, Octopamine, Phenylethylamine
สารประกอบอื่นๆที่มีไนโตรเจนอยู่ด้วย	Amino acids, Ammonia, 2-Ethylimidazole, 3-Methylindole, Indole, 2-Methylpyrazine, 2,5-Dimethylpyrazine, 2-pyrrolidinone, 2-piperidinone
แลคโตน	4-Hydroxyvaleric acid lactone, γ-Butyrolactone, γ-Caprolactone, 2-Methyl-4-hydroxyvaleric acid lactone
คาร์บอนิล	Benzaldehyde, 3-Hydroxy-2-butanone, 5-Methyl-2-furanone
สารประกอบที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ	Methylmercaptan, 3-(Methylthio)-1-propanol, 3-(Methylthio) propionic acid, 2-(Methylthio) pentane, 2-(4-Methyl-5-thiazolidyl) ethanol

ที่มา : McIver และคณะ (1982)

น้ำปลาเวียตนามมี 49 ชนิด สารประกอบส่วนใหญ่ ได้แก่ กรด แอลกอฮอล์ สารประกอบที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ คาร์บอนิล เอสเทอร์ สารประกอบที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ ฟีนอล แลคโตน และไฮโดรคาร์บอน และยังได้กล่าวว่าแลคโตนในน้ำปลาอาจจะทำให้เกิดกลิ่นหวานแม้จะมีอยู่เพียงเล็กน้อย แต่สารประกอบที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบอาจจะทำให้เกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ สำหรับลักษณะโครมาโตแกรมของสารประกอบที่ระเหยได้ของน้ำปลาไทยเป็นดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 โครมาโตแกรมของสารประกอบที่ระเหยได้ของน้ำปลาไทย โดยที่

25 = กรดอะซิติก 28 = กรดโพรพิโอนิก 30 = กรดไอโซบิวทีริก 34 = กรดบิวทีริก

36 = กรดไอโซวาเลอริก 38 = 2,6,10-trimethyl hexadecane 49 = กรดคาโพรอิก

65 = 2-methoxy-3-isopropyl pyrazine 70 = 3-phenylpropionic acid

ที่มา : Sanceda และคณะ (1986)

ประเสริฐ สายสิทธิ์ (2511) วิเคราะห์สารประกอบในน้ำปลาโดยใช้วิธีเปเปอร์โครมาโตกราฟฟี (paper chromatography) พบว่า สารที่ทำให้เกิดกลิ่นน้ำปลา ได้แก่ กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก กรดไอโซบิวทีริก และกรดไขมันที่ระเหยได้อีกหนึ่งชนิด ซึ่งเมื่อกลั่นเอากรดเหล่านี้ออกจากน้ำปลา จะทำให้น้ำปลาไม่มีกลิ่น แม้ว่าจะทำให้ความเป็นกรด-ด่างของน้ำปลากลับเป็น 6.5 อย่างเดิมก็ตาม นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Pediococcus halophilus* สามารถสร้างกรดอินทรีย์จากโปรตีน และเมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารที่ทำจากเนื้อปลา จะทำให้เกิดกลิ่นของน้ำปลาขึ้น ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาของสายพิณ ไชยนันทน์ และ สิทธิพันธุ์ ไชยนันทน์ (2526) และ ยงยศ จุฑามาตยางกูร (2522) ที่พบว่าเชื้อ *P. halophilus* ซึ่งพบเป็นประชากรส่วนใหญ่ในน้ำปลา สามารถทำให้เกิดกลิ่นคล้ายน้ำปลา ในขณะที่เชื้อ *Bacillus* spp. ซึ่งพบเป็นประชากรส่วนน้อยไม่สามารถทำให้เกิดกลิ่นของน้ำปลาได้

สิทธิพันธุ์ ไชยนันทน์ (2533) ได้วิเคราะห์สารระเหยได้ในน้ำปลาที่ชายในท้องตลาดโดยใช้ก๊าซโครมาโตกราฟฟี (gas chromatography) พบว่า ในจำพวกกรดไขมันที่ระเหยได้พบกรดอะซิติกมากที่สุด ส่วนสารระเหยจำพวกแอลกอฮอล์ พบโพรพานอล (propanol) สำหรับสารระเหยประเภทอัลดีไฮด์ พบอะเซตตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) และจากการนำแบคทีเรีย 4 กลุ่ม ได้แก่ *Bacillus* sp. , *Micrococcus* sp. , *Staphylococcus* sp. และ *Pediococcus* sp. มาเลี้ยงในฟิชมีลไฮโดรไลเซท (fish meal hydrolysate) เป็นเวลา 14 วัน พบว่า มีเพียง *Pediococcus* sp. เท่านั้นที่สามารถสร้างกรดไขมันที่ระเหยได้

Greig และ Estrella (1988) รายงานว่า น้ำปลาที่ได้จากการหมักปลาทั้งตัวจะมีกลิ่นรสที่ดีกว่าน้ำปลาที่ได้จากการหมักปลาที่ควักไส้ออก โดยที่การเพิ่มขึ้นของกลิ่นรสจะมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของสารประกอบที่ระเหยได้ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ

Sanceda และคณะ (1992) พบว่า การหมักปลาในสภาพที่มีอากาศจะทำให้ได้น้ำปลาที่มีกรดที่ระเหยได้สูงกว่าน้ำปลาที่ได้จากการหมักแบบไม่มีอากาศ และจะมีกลิ่นกรด กลิ่นเนย กลิ่นหืน และกลิ่นฉุน (pungent) สูงกว่าน้ำปลาที่ได้จากการหมักแบบไม่มีอากาศ

Beddows และคณะ (1980) ได้ศึกษาถึงแหล่งกำเนิดของการเกิดกรดไขมันที่ระเหยได้ในบูดู โดยเติม radioactive protein hydrolysate (U-^{14}C) ลงในปลาบด นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง สามารถตรวจพบ radioactivity ในกรดบิวทีริก กรดไอโซบิวทีริก และกรดไอโซวาเลอริกที่เกิดขึ้นในน้ำปลา

กรดอะซิติก อาจเกิดจากการกระทำของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น การใช้กลูโคสโดยเชื้อ *Clostridium kluyveri* (Barker,1956 อ้างโดย Beddows และคณะ, 1980) การใช้กรดซิตริกโดยเชื้อ *Streptococcus faecalis* (Gillespie,1953 อ้างโดย Beddows และคณะ, 1980) การใช้ไกลโคเลท (glycollate) โดยเชื้อ *Pseudomonas* sp. (Kornberg,1961 อ้างโดย Beddows และคณะ, 1980) การใช้เพนโตส (pentose) โดยเชื้อ *Lactobacilli* (Bernstein, 1953 อ้างโดย Beddows และคณะ, 1980) นอกจากนี้ กรดอะซิติกอาจเกิดจากการแตกตัวของทริปโตแฟน (Hayaishi, 1961 อ้างโดย Beddows และคณะ, 1980) ส่วนกลูตาเมตเมื่อถูกออกซิไดส์สามารถเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกและกรดบิวทีริกได้ (Waschman, 1955 อ้างโดย Beddows และคณะ, 1980)

Beddows และคณะ (1976) ได้ทดลองใช้เทคนิคบางอย่างเพื่อหาสาเหตุของการเกิดกลิ่นน้ำปลาในการหมักปลาแมคเคอเรลบด ได้แก่ การให้ความร้อนก่อนหมัก การเติมยาปฏิชีวนะก่อนหมัก และการเติมกรดไตรคลอโรอะซิติก (trichloroacetic acid) ก่อนหมัก พบว่า การใช้เทคนิคเหล่านี้ไม่ทำให้เกิดกลิ่นที่ดีในน้ำปลา แสดงว่าเชื้อจุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญที่ทำให้เกิดกลิ่นน้ำปลา และกล่าวว่าความสำคัญของขั้นตอนการย่อยโปรตีนที่มีต่อกลิ่นคือการทำให้เกิดกรดอะมิโน จากนั้นแบคทีเรียจะใช้เป็นสับสเตรทเพื่อสร้างสารประกอบที่ให้กลิ่น

Sanceda และคณะ (1988) ปรับปรุงกลิ่นของน้ำปลาโดยการเติมโปรตีนจากแหล่งต่างๆ ในการหมักน้ำปลา พบว่า การเติมตับหมูและเนื้อหมูจะได้น้ำปลาที่มีกลิ่นหมู กลิ่นหืนและไม่เป็นที่ยอมรับ การเติมสารโมโนโซเดียมกลูตาเมตจะไม่มีผลต่อกลิ่นของน้ำปลา ส่วนการเติมไลซีน จะได้น้ำปลาที่มีกลิ่นหืน กลิ่นแอมโมเนีย และกลิ่นผลไม้เล็กน้อย แต่ยังเป็นที่ยอมรับ

3.2 การเกิดรสชาติ

รสชาติของน้ำปลาประกอบด้วยเปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระหลายชนิด ซึ่งมีรสเฉพาะตัว แม้ว่าน้ำปลาจะประกอบด้วยกรดอินทรีย์หลายชนิด เช่น กรดแลคติกและกรดอะซิติก แต่กรดเหล่านี้ไม่ทำให้เกิดรสชาติในน้ำปลา เนื่องจากในสภาพความเป็นกรด-ด่างของน้ำปลาที่ 5.3-6.7 กรดเหล่านี้จะอยู่ในรูปของเกลือ ซึ่งไม่ทำให้เกิดรสเปรี้ยว (Fuke, 1994) รสที่เกิดจากกรดอะมิโนแบ่งออกได้เป็น 4 ชนิด คือ รสหวาน รสขม รสเปรี้ยว และรสอร่อย กรดอะมิโนที่ให้รสหวานคือ ไกลซีน อะลานีน ซิลีน ทรีโอนีน โปรลีน ไฮดรอกซี-โปรลีน ไลซีน และกลูตามีน รสขมเกิดจากวาลีน ลิวซีน ไอโซลิวซีน เมทไทโอนีน เฟนนิล-

อะลานีน ทริพโตแฟน อาร์จินีน และฮีสติดีน รสเปรี้ยวเกิดจากกรดแอสพาร์ติกและกรดกลูตามิก ส่วนรสอร่อยเกิดจากโซเดียมแอสพาร์เตต และโมโนโซเดียมกลูตาเมต สำหรับเปปไทด์เป็นสารที่ให้รสขม (Weir, 1986 อ้างโดย ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538) กรดอะมิโนที่พบเกือบทุกระยะของการหมักน้ำปลาคือ ไลซีน กรดแอสพาร์ติก กรดกลูตามิก ไกลซีน ฮีสติดีน ลิวซีน และเฟนนิลอะลานีน (ประเสริฐ สายสิทธิ์, 2511)

Barzana และ Garcia-Garibay (1994) รายงานว่า การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์มักจะทำให้เกิดรสขม ซึ่งเป็นผลของเปปไทด์ที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic peptide) ที่เกิดขึ้นในระหว่างการย่อยสลายโปรตีน รสขมจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับขนาดของเปปไทด์และชนิดของพันธะเปปไทด์ที่แตกออก ตัวอย่างเช่นการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนโดเปปติเดสจะทำให้เกิดรสขม ในขณะที่เอนไซม์เอกโซเปปติเดสจะย่อยสลายโปรตีนได้มากกว่าและทำให้เกิดกรดอะมิโนอิสระเป็นจำนวนมากซึ่งทำให้รสขมมีน้อยลง

Sanceda และคณะ (1990) ทดลองเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของน้ำปลาโดยเติมไลซีนร้อยละ 0.5, 1, 2 และ 3 ในการผลิตน้ำปลา พบว่าการเติมไลซีนมีผลช่วยเพิ่มระดับโปรตีนในน้ำปลา ซึ่งจากการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า การเติมไลซีนจนถึงร้อยละ 2 ยังคงเป็นที่ยอมรับ แต่การเติมในระดับที่สูง จะมีผลให้การยอมรับทางด้านรสชาติและสีลดน้อยลง เนื่องจากน้ำปลาที่ได้มีรสหวานและสีเข้มกว่าน้ำปลาที่ไม่ได้เติมไลซีน แต่ไม่มีผลต่อการยอมรับทางด้านกลิ่น

Raksakulthai และ Haard (1992) ได้ทดลองผลิตน้ำปลาโดยหมักปลาเคปลิน (capelin : *Mallotus villosus*) กับเกลือในอัตราส่วน 4 ต่อ 1 ผสมกับต่อมสร้างเอนไซม์ (hepatopancreas) ของปลาหมึกร้อยละ 2.5 หลังจากหมักไว้ 6 เดือน พบว่า น้ำปลาที่ได้มีกรดอะมิโนอิสระ กรดอะมิโนทั้งหมด และคะแนนทางประสาทสัมผัสสูงกว่าน้ำปลาที่ได้จากการหมักโดยไม่เติมต่อมสร้างเอนไซม์ของปลาหมึก และแม้ว่าน้ำปลาที่มีกรดอะมิโนอิสระในปริมาณที่มากกว่าจะทำให้คะแนนการยอมรับเพิ่มขึ้น แต่เมื่อกำจัดเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 10,000 ดาลตันออกจากน้ำปลาก็มีผลทำให้คะแนนการยอมรับลดลง

การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในระหว่างการหมัก

Beddows และคณะ (1979c) ศึกษาการผลิตบูดูในมาเลเซีย พบว่า จะได้บูดูมากที่สุดหลังจากหมักไว้ 140 วัน ปริมาณสูงสุดของการเปลี่ยนเป็นโปรตีนที่ละลายน้ำได้คือร้อยละ 56 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเปลี่ยนจาก 1.44 กรัมเปอร์เซ็นต์ เป็น 1.77 กรัม

เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอะมิโนไนโตรเจนเปลี่ยนจาก 0.40 กรัมเปอร์เซ็นต์ เป็น 1.17 กรัมเปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของกรดบิวทีริกค่อนข้างคงที่ตลอดช่วงการหมัก (0.2 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร) แต่กรดอะซิติกเพิ่มขึ้นจาก 1.29 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร เป็น 2.15 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ความเข้มข้นของเกลือ และความเป็นกรด-ด่างค่อนข้างคงที่ตลอดช่วงการหมักคือ ร้อยละ 26 และ 5.65 ตามลำดับ ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Riaz และคณะ (1986) ที่พบว่าหลังจากหมักปลาซาร์ดีนไว้ 160 วัน จะได้โปรตีนที่ละลายน้ำปริมาณสูงสุดร้อยละ 50 ความเข้มข้นของเกลือและความเป็นกรด-ด่างค่อนข้างคงที่ตลอดช่วงการหมักคือ ร้อยละ 27-28 และ 5.5-5.6 ตามลำดับ

Ijong และ Ohta (1996) ศึกษาการผลิต Bakasang ซึ่งเป็นน้ำปลาของอินโดนีเซีย เตรียมโดยนำปลาซาร์ดีนขนาดเล็ก (*Engraulis japonicus*) มาหมักโดยใช้เกลือและน้ำตาลกลูโคสในปริมาณต่างๆ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 40 วัน พบว่า ความเป็นกรด-ด่างลดลงตลอดช่วงการหมักไม่ว่าความเข้มข้นของเกลือและน้ำตาลจะเป็นเช่นไร ปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ทั้งหมดและอะมิโนไนโตรเจนอิสระเพิ่มขึ้น พบกรดกลูตามิก, อะลานีน, ไอโซลิวซีน และไลซีนมาก

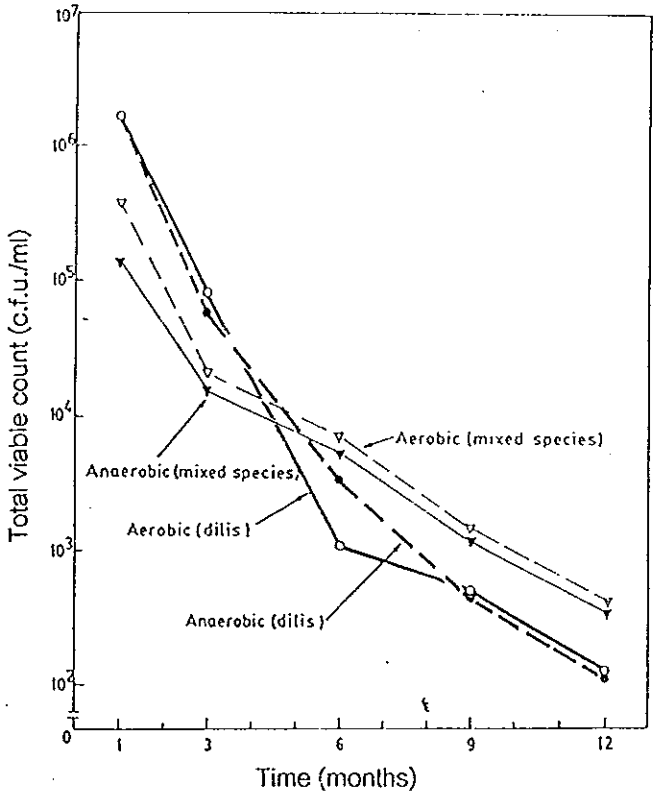
ชนิดของจุลินทรีย์ในน้ำปลา

มัทนา แสงจินดาวงษ์ และ สมศักดิ์ วินิจนันทรัตน์ (2527) ได้ศึกษาการผลิตน้ำปลาโดยหมักปลาทูแขก (*Decapterus* spp.) กับเกลือในอัตราส่วน 3 ต่อ 1 พบว่า ในช่วง 15 - 55 วันแรก มีแบคทีเรียรูปกลมมากกว่ารูปแท่ง โดยมีปริมาณเชื้อทั้งหมด 1.5×10^5 - 2.0×10^4 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ในช่วง 55 - 120 วัน มีแบคทีเรียรูปแท่งเท่าๆ กับรูปกลม โดยมีปริมาณเชื้อทั้งหมดเฉลี่ย 2.8×10^3 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งแบคทีเรียรูปกลมได้แก่ *Micrococcus roseus, P. halophilus* ส่วน *M. varians* และ *P. cerevisiae* พบน้อย แบคทีเรียรูปแท่ง ได้แก่ *Bacillus pumilus, B. megaterium, B. firmus, B. laterosporus* และ *B. alvei* ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ในน้ำปลาของ Saisithi (1987) ที่พบว่า มีเชื้อ *P. halophilus, Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp. และ *Halobacterium* sp.

Zuberi และคณะ (1988) ตรวจวิเคราะห์เชื้อในน้ำปลาของปากีสถาน 5 ชนิด พบว่า เชื้อส่วนใหญ่เป็น Bacillus รองลงมาคือ Micrococcus ในกลุ่มของ Bacillus เชื้อที่เด่นคือ *B. megaterium, B. licheniformis, B. pumilus* และ *B. cereus* ซึ่งคล้ายคลึงกับ

การศึกษาของ Crisan และ Sands (1975) ที่พบว่าเชื้อส่วนใหญ่ในน้ำปลาไทย, ปาทีส, โคอะมิ (Koami) และ ออนาโกะ (Ounago) เป็น *Bacillus* ซึ่ง *Bacillus* ในน้ำปลาไทยชั้นคุณภาพที่หนึ่ง ได้แก่ *B. licheniformis, B. megaterium* และ *B. subtilis* ซึ่งตรงกับการศึกษาของวรรณา ชูฤทธิ์ และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ (2532) ที่ตรวจพบ *B. licheniformis* และ *B. subtilis* ในระหว่างการหมักบูดู

Sanchez และ Klitsaneephaiboon (1983) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเชื้อจุลินทรีย์ในการผลิตปาทีสแบบดั้งเดิม โดยใช้ปลาดีลีส (dilis : *Stolephorus* sp.) เปรียบเทียบกับการใช้ปลาแมคเคอเรลสองชนิดผสมกัน (*Rastrilliger* sp. กับ *Sardinella* sp.) นำน้ำปลาที่เกิดขึ้นมาตรวจสอบเชื้อ เมื่อหมักไว้ 1, 3, 6, 9 และ 12 เดือน โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar ที่ผสมเกลือร้อยละ 10 บ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส ในสภาพที่มีอากาศ และบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องในสภาพไร้อากาศ พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ทั้งชนิดที่ต้องการอากาศและไม่ต้องการอากาศในการเจริญลดลงตลอดช่วงการหมักดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดในปาทีสที่ได้จากการหมักปลาดีลีสและปลาแมคเคอเรลผสมที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

ที่มา : Sanchez และ Klitsaneephaiboon (1983)

Central Library

Ijong และ Ohta (1996) ศึกษาการผลิต Bakasang ซึ่งเป็นน้ำปลาของอินโดนีเซีย เตรียมโดยนำปลาซาร์ดีนขนาดเล็ก (*Engraulis japonicus*) มาหมักโดยใช้เกลือและน้ำตาลกลูโคสในปริมาณต่างๆ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 40 วัน พบว่า ปริมาณเชื้อทั้งหมดเพิ่มขึ้นในช่วง 10 วันแรก หลังจากนั้นลดลงรวมทั้งแบคทีเรียแลกติก สำหรับเชื้อที่พบเป็นส่วนใหญ่ในระหว่างการหมักคือ *Micrococcus, Streptococcus* และ *Pediococcus*

สายพิณ ไชยนันทน์ และ นิวัฒน์ ฉายโชติเจริญ (2530) รายงานว่า ในผลิตภัณฑ์ปลาหมัก เชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ ได้แก่ *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp., *Pseudomonas* sp. และแบคทีเรียกลุ่ม Coryneform ซึ่งเมื่อทดสอบความสามารถในการย่อยโปรตีน พบว่า แบคทีเรียกลุ่ม Coryneform มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยที่ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ของเชื้อนี้จะสูงสุด เมื่ออายุ 24 ชั่วโมงของการเจริญ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 และที่ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 0 - 5

การเร่งการผลิตน้ำปลา

การผลิตน้ำปลา ใช้ระยะเวลาในการผลิตนาน เป็นเหตุให้ต้นทุนการผลิตสูง อัตราเงินทุนหมุนเวียนต่ำ จึงมีความพยายามที่จะลดระยะเวลาในการผลิตน้ำปลาให้สั้นลง ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนและเพิ่มผลผลิตน้ำปลา ซึ่งจากขั้นตอนการผลิตน้ำปลาจะเห็นได้ว่า ขั้นตอนที่ใช้เวลานานคือ ขั้นตอนการย่อยปลา งานวิจัยส่วนใหญ่จึงเน้นไปที่การเร่งอัตราการย่อยสลายปลาให้เร็วขึ้น ซึ่งมีวิธีการเร่งที่สามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้

1. **การเพิ่มอุณหภูมิของกระบวนการหมัก**

มีการศึกษาการหมักน้ำปลาโดยใช้ปลากะตักบด (*Stolephorus* sp.) จำนวน 100 กรัม ผสมกับเกลือ 66 กรัม เติมโบรมิเลนร้อยละ 0.8 ของน้ำหนักปลา และซิสเตอีนเข้มข้น 0.6 M จำนวน 1 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นโคเอนไซม์ พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 30 องศาเซลเซียส ไปเป็น 50 องศาเซลเซียส จะทำให้การเปลี่ยนรูปของโปรตีน (protein conversion) เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 62.5 ไปเป็นร้อยละ 67.2 (Beddows and Ardeshir, 1979a) และการหมักปลาแองโชวีบดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 10 วัน จะได้ผลผลิตน้ำปลาร้อยละ 43.2 ซึ่งมากกว่าผลผลิตน้ำปลาที่ได้จากการหมักปลาไว้ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน

2 เดือน ซึ่งมีเพียงร้อยละ 33.2 (Gildberg, *et al*, 1984)

2. การใช้กรด

Beddows และ Ardeshir (1979b) พบว่า การใช้กรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 ย่อยปลากะตักบด (*Stolephorus* sp.) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 6 วัน ที่ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 2.0 ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 5 จะทำให้ได้น้ำปลาที่มีปริมาณไนโตรเจนสูงที่สุด แต่ของเหลวที่ได้จะมีความหนืดมาก ทำให้ยากต่อการกรอง แต่ที่ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3 ใช้ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 10 จะกรองของเหลวได้ง่าย และใช้ปริมาณของกรดในการปรับความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่าที่ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 2 น้ำปลาที่ได้มีกลิ่นรสของน้ำปลาน้อย แต่มีปริมาณไนโตรเจนสูง จึงเหมาะสำหรับใช้ผสมในน้ำปลาแบบดั้งเดิมเพื่อเพิ่มปริมาตร และจากการทดลองนี้พบว่า การใช้เกลือในปริมาณมากจะทำให้การย่อยสลายช้าลง แต่จะช่วยให้กรองน้ำปลาได้ง่ายขึ้น

Gildberg และคณะ (1984) ศึกษาการผลิตน้ำปลาโดยใช้ปลาแองโชวีบด ปรับความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกให้เท่ากับ 4 เติมเกลือร้อยละ 5, 10, 15 และ 25 หมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน จากนั้นปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 5 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ แล้วเติมเกลือให้เป็นร้อยละ 25 หมักต่อไปอีก 5 วัน พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ การปรับความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นให้เป็น 4 ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 5 ถ้าใช้เกลือที่ความเข้มข้นมากขึ้น ผลผลิตที่ได้จะลดน้อยลง และการใช้กรดจะช่วยปรับปรุงการย่อยสลายเฉพาะที่ความเข้มข้นของเกลือต่ำเท่านั้น ถ้าปรับความเป็นกรด-ด่างให้เท่ากับ 2-3 การย่อยสลายจะมากขึ้น แต่มีข้อเสียคือต้องใช้กรดเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า และอาจก่อให้เกิดการกัดกร่อนโลหะได้ สำหรับน้ำปลาที่ได้เมื่อหมักต่อไปที่อุณหภูมิห้องนาน 2 เดือน พบว่าน้ำปลาจะมีกลิ่นรสคล้ายคลึงกับน้ำปลาหมักแบบดั้งเดิม

Poosaran (1986a) พบว่าการย่อยปลาบดด้วยกรดไฮโดรคลอริก ที่ความเป็นกรด-ด่าง 3.6 - 3.8 เติมเกลือร้อยละ 10 และร้อยละ 15 หมักไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลานาน 6 วัน จะย่อยโปรตีนได้ร้อยละ 10.8 และร้อยละ 7.2 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าเมื่อไม่เติมเกลือซึ่งจะได้ร้อยละ 25.2 แต่น้ำปลาที่ได้จากการย่อยโดยไม่เติมเกลือจะมีกลิ่นเหม็นเน่าและกรองยาก

3. การใช้ด่าง

อรพิน ภูมิภมร (2526) ได้กล่าวถึงการใช้ด่างในการย่อยสลายปลาว่า เป็นการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 10 - 12 ย่อยสลายปลาที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จากนั้นปรับความเป็นกรด-ด่างของน้ำปลาที่ได้ให้เป็นกลางด้วยกรดอะซิติก วิธีนี้มีข้อเสียคือ การย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลาไม่สมบูรณ์เท่ากับการใช้กรดและกลิ่นรสไม่ดีเท่ากับการใช้กรด

4. การใช้เอนไซม์

Beddows และ Ardeshir (1979a) ได้ศึกษาการใช้เอนไซม์เร่งการผลิตน้ำปลาโดยใช้ปลาแองโชวีบดผสมกับเกลือในอัตราส่วน 3 ต่อ 2 หมักที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส พบว่าโบรมิเลนทำให้เกิดการย่อยสลายเนื้อปลาได้ดีกว่าปาเปนและฟิซินเล็กน้อย และเมื่อปรับเปลี่ยนปริมาณของโบรมิเลนพบว่า เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์มากขึ้น อัตราการย่อยจะเพิ่มขึ้น สำหรับน้ำปลาที่ได้มีสีน้ำตาลอ่อน มีกลิ่นของน้ำปลาน้อย แต่มีปริมาณไนโตรเจนสูง

Poosaran (1986b) ใช้น้ำสับปะรดเป็นแหล่งของโบรมิเลนในการหมักปลา โดยใช้น้ำสับปะรดผสมกับปลาและเกลือในอัตราส่วน 2 มิลลิลิตร ต่อ 100 กรัม ต่อ 66 กรัม หมักไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 - 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 35 วัน พบว่า การใช้น้ำสับปะรดจะย่อยปลาได้สูงสุดร้อยละ 21.76 แต่ถ้าไม่เติมน้ำสับปะรดจะย่อยปลาได้สูงสุดร้อยละ 13.42

Greig และ Estrella (1988) เปรียบเทียบการใช้เอนไซม์ 2 ชนิดคืออัลคาเลส (Alcalase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อ *Bacillus licheniformis* และนิวเตรส (Neutrase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อ *Bacillus subtilis* พบว่า การย่อยเกิดอย่างสมบูรณ์ เมื่อหมักไว้นาน 24 ชั่วโมง ที่ 45 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่มีการเขย่าตลอดเวลา ของเหลวที่ได้จากการใช้นิวเตรสมีสีค่อนไปทางเขียวและมีกลิ่นเหม็นเน่า มีไนโตรเจนที่ละลายได้สูงกว่าของเหลวที่ได้จากการใช้อัลคาเลสซึ่งมีสีน้ำตาลแดงและมีกลิ่นปลา เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์มากขึ้น ปริมาณของไนโตรเจนที่ละลายได้ก็สูงขึ้นเช่นกัน ในการทดสอบผลของเกลือที่มีต่อการย่อยปลา พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้น ปริมาณของไนโตรเจนที่ละลายได้ลดน้อยลง แม้ว่าที่ระดับความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 5 จะทำให้มีปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้สูงที่สุด แต่ที่ระดับความเข้มข้นนี้ไม่สามารถป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ซึ่งจากผลการทดลองของ Beddows และ Ardeshir (1979a) พบว่าไม่เกิดการเน่าเสียในชุดการทดลองที่มีเกลือมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 10 ดังนั้น สภาวะที่เหมาะสมที่จะใช้ในการเร่งการผลิตน้ำปลาคือปริมาณของเกลือร้อยละ 10 อัลคาเลสร้อยละ

1.5 หมักที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยเขย่าตลอดเวลา นาน 24 ชั่งโมง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบน้ำปลาที่ได้กับน้ำปลาที่ได้จากการหมักแบบดั้งเดิมนาน 6 เดือน พบว่าน้ำปลาที่ได้จากการเติมอัลคาเลสมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนสูงกว่าน้ำปลาที่ได้จากการหมักแบบดั้งเดิม เมื่อพิจารณาระหว่างการใช้ปลาที่ไม่ได้ควักไส้กับปลาที่ควักไส้ออก พบว่า ปลาที่ไม่ได้ควักไส้จะให้น้ำปลาที่มีสีน้ำตาลแดงและมีปริมาณอะมิโนไนโตรเจนสูงกว่าน้ำปลาที่ได้จากปลาที่ควักไส้ออกซึ่งมีสีของน้ำปลาอ่อนกว่า สำหรับกลิ่นรสของน้ำปลาที่ได้จากปลาที่ไม่ได้ควักไส้ออก จะมีความคล้ายคลึงกับน้ำปลาที่ได้จากการหมักแบบดั้งเดิม

Raksakulthai และคณะ (1986) เปรียบเทียบการใช้เอนไซม์ต่างๆ ได้แก่ เอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อรา (fungal protease), โปรเนส (pronase), ทริปซิน, ไคโมทริปซิน และต่อมที่ผลิตเอนไซม์ของปลาหมึกในการทำน้ำปลา โดยหมักปลาเคปลินบดกับเกลือในอัตราส่วน 4 ต่อ 1 ที่อุณหภูมิ 20-25 อาศาเซลเซียส พบว่า กรดอะมิโนอิสระในน้ำปลาที่ได้จากการใช้ต่อมที่ผลิตเอนไซม์ของปลาหมึกมีมากที่สุด และให้ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงเมื่อเทียบกับปาทีส เอนไซม์ที่พบในระหว่างการหมักเป็นพวกซัลไฟดริลโปรติเอส (sulfhydryl protease) ได้แก่ ไดเปปติดิลไฮโดรเลส (dipeptidylhydrolase หรือเรียกว่าคาเทปซินซี) ซึ่งมีความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมที่ 6

5. การใช้เชื้อจุลินทรีย์

กฤษดา สมิตะสิริ (2529) ได้ทดลองเติมเชื้อแบคทีเรีย *Halobacterium salinarium* ร้อยละ 10 ในการหมักปลาไส้ตัน พบว่า น้ำปลาที่ได้จากการหมักนาน 28 วัน มีกลิ่นและรสคล้ายกับน้ำปลามากกว่าน้ำปลาที่หมักไว้ 28 วันโดยไม่ได้เติมเชื้อลงไป และมีกรดอะมิโนทั้งหมดร้อยละ 40.73 - 50.91 ในขณะที่น้ำปลาที่ได้จากการหมักโดยไม่ได้เติมเชื้อมีกรดอะมิโนทั้งหมดร้อยละ 29.60

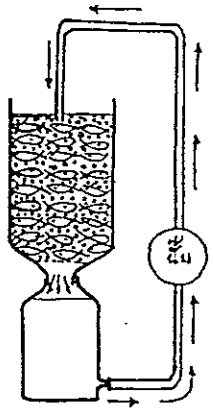
บุญศรี จงเสรีจิตต์ (2533) ศึกษาการใช้โคจิของเชื้อรา *Aspergillus oryzae* F ร้อยละ 12.5 ลงไปในการหมักปลา โดยเติมเกลือร้อยละ 5 หมักไว้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 1 วัน จากนั้นเติมเกลือให้เป็นร้อยละ 25 หมักที่อุณหภูมิเดิมจนครบ 7 วัน พบว่า เอนไซม์โปรติเอสจากโคจิมีบทบาทในการเร่งกระบวนการย่อยสลายโปรตีนของเนื้อปลา ทำให้ได้กรดอะมิโนปริมาณมากในระยะเวลาสั้น และสารประกอบอะมิโนกับสารประกอบคาร์บอนิลในโคจิ มีผลส่งเสริมการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด ทำให้น้ำปลาที่ได้มีสีน้ำตาลแดงใน

ระยะเวลาสั้นลง ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ 11.84 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเป็นกรด-ด่าง 5.47 เกลือร้อยละ 28.93

วิไลลักษณ์ กลมกลาง (2538) ทดลองใช้เชื้อ *Halobacterium salinarium* และใช้เชื้อผสมระหว่าง *Halobacterium salinarium*, *Staphylococcus saprophyticus* และ *Bacillus pantothenticus* ในการผลิตน้ำปลา พบว่าการใช้เชื้อช่วยเร่งการผลิตได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ไม่คุ้มกับค่าใช้จ่ายในการลงทุน ส่วนการใช้เชื้อ *Halobacterium salinarium* ร่วมกับโคจิเชื้อรา พบว่า น้ำปลาเกิดเร็วขึ้น เนื่องจากเกิดการย่อยสลายเนื้อปลาด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากโคจิ ส่วนเชื้อ *Halobacterium salinarium* ไม่มีส่วนช่วยให้เกิดน้ำปลาเร็วขึ้นแต่อย่างใด

6. การใช้ระบบหมุนเวียนของน้ำปลาในถังหมัก

สายพิณ ไชยนันทน์ (2527) ได้ทดลองใช้ระบบหมุนเวียนของน้ำปลาเพื่อเร่งการย่อยสลายปลา โดยบรรจุปลากับเกลือในอัตราส่วน 3 ต่อ 1 สลับชั้นกันในขวดที่ตัดเปิดทางด้านก้น (ภาพที่ 4) วางขวดในลักษณะคว่ำลง ด้านล่างมีตะแกรงไว้กันตัวปลา น้ำจากปลาและเกลือจะไหลลงสู่ภาชนะด้านล่าง และจะถูกนำกลับไปผ่านคอลัมน์ซ้ำๆ อีก 2 - 3 ครั้ง ใช้เวลาในการหมัก 1 เดือน พบว่า น้ำปลาที่ได้จากการผ่านคอลัมน์ 3 ครั้ง มีปริมาณไนโตรเจนสูงกว่าน้ำปลาที่ได้จาการหมักแบบดั้งเดิมที่ใช้เวลาในการหมักเท่ากัน รวมทั้งมีกลิ่นและสีคล้ายคลึงกับน้ำปลามากกว่า ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาของปราณิศา เชื้อโพธิ์หัก และคณะ (2541) ที่ผลิตน้ำปลาโดยใช้ถังที่มีเครื่องกวนอยู่ภายใน



ภาพที่ 4 ลักษณะของการหมักโดยใช้ระบบหมุนเวียน
ที่มา : สายพิณ ไชยนันทน์ (2527)

7. การใช้เชื้อจุลินทรีย์ร่วมกับระบบหมุนเวียน

Chaiyanan และคณะ (1988) ศึกษาการเร่งการผลิตน้ำปลา โดยเติมเชื้อ *P. halophilus, Micrococcus* sp. และแบคทีเรียกลุ่ม Coryneform ร้อยละ 10 ผสมในการหมักปลาแองโชวี่ทั้งตัว และใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 3 ต่อ 1 ร่วมกับการใช้ระบบหมุนเวียนน้ำปลาที่ได้กลับลงไปในถังหมักจะทำให้สามารถผลิตน้ำปลาที่มีคุณภาพคล้ายคลึงกับน้ำปลาที่ได้จากการหมักแบบดั้งเดิมภายใน 30 วัน โดยที่การหมักแบบนี้ น้ำปลาจะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน และความเข้มของสีมากกว่าน้ำปลาที่ได้จากการหมักแบบดั้งเดิมที่ใช้ระยะเวลาในการหมักเท่ากัน ระบบการไหลหมุนเวียนของน้ำปลานี้จะทำให้การละลายและการแพร่ของเกลือเข้าไปในปลาเป็นไปอย่างสม่ำเสมอทั่วทั้งถังหมักซึ่งจะช่วยเร่งกระบวนการย่อยสลายให้เร็วขึ้น สำหรับสีของน้ำปลาที่ได้จากวิธีนี้มีสีเข้มกว่าแบบดั้งเดิม เนื่องจากการไหลหมุนเวียนของน้ำปลาจะทำให้โปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในเนื้อปลาที่ถูกย่อยละลายอยู่ในส่วนที่เป็นน้ำได้มากขึ้น ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดได้มากขึ้น นอกจากนี้การไหลหมุนเวียนของน้ำปลาจะไปเพิ่มปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในน้ำปลาเป็นเหตุให้สีของน้ำปลาเข้มขึ้นแต่ไม่มีกลิ่นหืน เนื่องจากกลิ่นของน้ำปลามีความแรงมากกว่าจึงไปกลบกลิ่นหืนที่เกิดขึ้น (ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538 และ ประเสริฐ สายสิทธิ์, 2514)

8. การใช้กรดอะมิโน

Sanceda และคณะ (1996) ทดลองใช้ฮีสติดีนร้อยละ 0.1 - 2.0 ผสมในปลาซาร์ดีนสับหมักเกลือในอัตราส่วน 3 ต่อ 1 พบว่าการเติมฮีสติดีนร้อยละ 0.5 - 2.0 สามารถเร่งการย่อยสลายโปรตีนในปลาได้ โดยใช้เวลา 4 เดือน จะได้น้ำปลาที่มีกลิ่นรสคล้ายคลึงกับน้ำปลาที่ได้จากการหมักแบบดั้งเดิม โดยที่การเติมฮีสติดีนไม่ทำให้ปริมาณฮีสตามีนในน้ำปลาเพิ่มขึ้นแต่อย่างใด ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้นของเกลือที่มีอยู่สูงจะไปยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเปลี่ยนฮีสติดีนไปเป็นฮีสตามีน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Chin และ Koehler (1986) ที่ว่าการเกิดฮีสตามินและไทรามีนในมิโซ (miso) จะถูกยับยั้งเมื่อมีความเข้มข้นของเกลือสูง

การผลิตน้ำปลาจากวัสดุเศษเหลือของปลา

Chaiyanan และคณะ (1988) ได้ทดลองผลิตน้ำปลาจากหัวและไส้ของปลาทูน่าโดยการเติมเชื้อ *P. halophilus, Micrococcus* sp., แบคทีเรียกลุ่ม Coryneform ร้อยละ 10

ผสมในการหมักร่วมกับการใช้ระบบหมุนเวียนน้ำที่ได้กลับลงไปในถังหมัก พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 45 วัน น้ำปลาที่ได้จะมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลแดง มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 22.15 กรัมต่อลิตร และปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน 13.83 กรัมต่อลิตร ในขณะที่การหมักแบบธรรมดาจะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 10.17 กรัมต่อลิตร และปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน 4.05 กรัมต่อลิตร

การบ่มน้ำปลา

ในการผลิตน้ำปลาแบบดั้งเดิมนั้น เมื่อหมักปลากับเกลือไว้จนได้ที่แล้ว จะนำน้ำปลาออกมาจากถังหมัก หัวน้ำปลาที่ได้มานี้จะขุ่นและมีกลิ่นคาวจัด ต้องนำไปผึ่งแดด 2-4 สัปดาห์ กลิ่นคาวในน้ำปลาจะหมดไปและมีกลิ่นหอมน่ารับประทาน (ประเสริฐ สายสิทธิ์, 2527) ในระหว่างการบ่ม หัวน้ำปลาจะใสขึ้นเนื่องจากสารแขวนลอยต่างๆ จะตกตะกอน สีของหัวน้ำปลาจะเข้มมากขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิกลางแดดมักจะสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส ซึ่งจะเร่งการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Berk, 1976 อ้างโดย Raksakulthai, 1986) ยงยศ จุฑามาตยางกูร (2522) รายงานว่าเมื่อบ่มของเหลวใสที่ได้จากการหมักส่วนผสมของปลาป่นกับน้ำและเอนไซม์ปาเปนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน (fish meal hydrolysate) โดยมีการเติมแหล่งธาตุคาร์บอนต่างๆ (ซูโครส กากน้ำตาล และกลูโคส) เกลือ และเชื้อ *P. halophilus* ไว้ 15 วัน จะเกิดกลิ่นน้ำปลาขึ้น ซึ่งเมื่อนำไปบ่มกลางแดดอีก 15 วัน พบว่า มีกลิ่นและรสของน้ำปลามากยิ่งขึ้น

Orejana (1978 อ้างโดย Raksakulthai, 1986) รายงานผลการบ่มปาทีสว่า ปริมาณของกรดอะมิโนลดลงเล็กน้อย สีของปาทีสเข้มขึ้นและกลิ่นดีขึ้น ในขณะที่ Ok และคณะ (1982b อ้างโดย Raksakulthai, 1986) กล่าวว่าในการบ่มน้ำปลา ควรให้น้ำปลาได้สัมผัสกับอากาศเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการเติมออกซิเจน ซึ่งจากการศึกษาของ Sanceda และคณะ (1992) ที่เปรียบเทียบการผลิตน้ำปลาโดยการหมักในสภาพที่มีอากาศและไร้อากาศ พบว่า น้ำปลาที่ได้จากการหมักในสภาพที่มีอากาศจะมีกรดที่ระเหยได้มากกว่าน้ำปลาที่ได้จากการหมักในสภาพไร้อากาศ ซึ่งเมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า น้ำปลาที่ได้จากการหมักในสภาพที่มีอากาศจะมีกลิ่นกรด กลิ่นหืน กลิ่นเนยและกลิ่นฉุนคล้ายคลึงน้ำปลาที่ผลิตแบบดั้งเดิมมากกว่าน้ำปลาที่ได้จากการหมักในสภาพไร้อากาศ

สำหรับน้ำปลาที่ได้หลังจากการหมักกากปลาที่เหลือในครั้งหลังๆ อาจนำมาปรับปรุงกลิ่นรสโดยการเติมน้ำตาลไหม้ ข้าวคั่ว หรือข้าวโพดคั่ว แล้วนำไปต้ม จะทำให้มีกลิ่นรสและสีดีขึ้น และช่วยให้เก็บน้ำปลาไว้ได้นาน (ประเสริฐ สายสิทธิ์, 2533)

คุณภาพของน้ำปลา

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมได้กำหนดคุณภาพของน้ำปลาพื้นเมืองไว้ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 คุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำปลาไทย

ลำดับที่	คุณลักษณะที่ต้องการ	ชั้นคุณภาพที่	
		1	2
1	ความใส	ใส	ใส
2	กลิ่น รส และ สี (คะแนนรวม) ไม่น้อยกว่า	80 *	70 *
3	ความหนาแน่นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 27/27 °C ไม่น้อยกว่า	1.20	1.20
4	ความเป็นกรด-ด่าง	5.0 - 6.0	5.0 - 6.0
5	โซเดียมคลอไรด์ (กรัมต่อลิตร) ไม่น้อยกว่า	230	230
6	ไนโตรเจนทั้งหมด (กรัมต่อลิตร) ไม่น้อยกว่า	20	15
7	ไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (กรัมต่อลิตร) ไม่น้อยกว่า	10	7.5
8	อัตราส่วนของกรดกลูตามิกต่อไนโตรเจนทั้งหมด	0.4 - 0.6	0.4 - 0.6

* นอกจากนี้ น้ำปลาต้องได้คะแนนต่ำสุดของแต่ละคุณลักษณะไม่น้อยกว่าร้อยละ 50 ของคะแนนเต็ม โดยที่กลิ่น จะต้องดีตามธรรมชาติของน้ำปลา มีคะแนนเต็มเป็น 50 คะแนน รส ดี มีคะแนนเต็ม 40 คะแนน และสีเป็นสีน้ำตาลอมแดง มีคะแนนเต็ม 10 คะแนน

ที่มา : มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2526)

วัตถุประสงค์

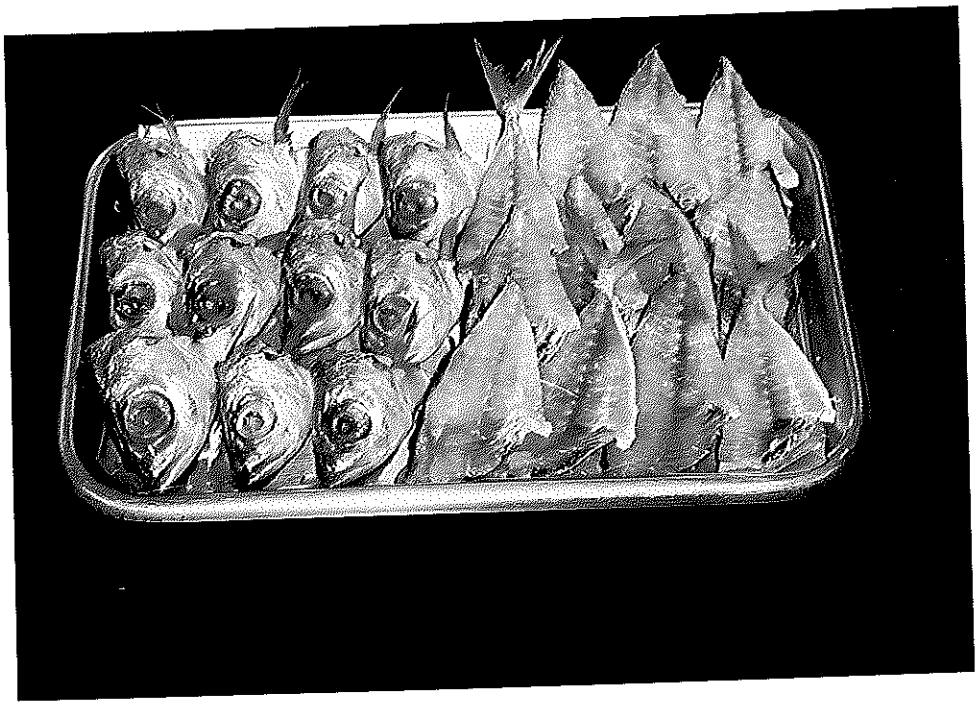
1. เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตน้ำปลาให้มีระยะเวลาสั้นลง โดยใช้วัสดุเศษเหลือของปลาสีกุนทองตาโตเป็นวัตถุดิบ
2. เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตน้ำปลาเป็นแบบต่อเนื่องในระดับห้องปฏิบัติการ

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

1. วัสดุเศษเหลือปลาสีกุนทองตาโต (Bigeye scad : *Carangoides sexfasciatus*) ประกอบด้วยส่วนหัวและก้างของปลาสีกุนทองตาโต (ภาพที่ 5) จากโรงงานแหลมทองซีเฟรช ซึ่งวัสดุเศษเหลือปลามีค่าเฉลี่ยของปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด 21.96 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ความชื้นร้อยละ 69.20 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 27.93 กรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณเกลือร้อยละ 0.22 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด 6.27 log c.f.u./g ปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน 4.02 log c.f.u./g และปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรด 2.95 log c.f.u./g เก็บวัสดุเศษเหลือปลาในถุงพลาสติก บรรจุลงในกล่องโฟม แล้วนำไปเก็บในห้องเย็นที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการใช้ นำมาละลายน้ำแข็ง



ภาพที่ 5 วัสดุเศษเหลือปลาสีกุนทองตาโต

2. เปลือกสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย (*Ananas comosus*) มีค่าเฉลี่ยของกิจกรรมโบรมิเลน 0.71 ยูนิตต่อกรัมเปลือกสับปะรด ความชื้นร้อยละ 83.29 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด 6.49 log c.f.u./g ปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน 4.86 log c.f.u./g และปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรด 3.71 log c.f.u./g ล้างเปลือกสับปะรดด้วยน้ำประปา 3 ครั้ง พักไว้ให้สะเด็ดน้ำ ก่อนหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 5 x 5 ตารางมิลลิเมตร (ภาพที่ 6) เก็บใส่ถุงพลาสติก แล้วนำไปเก็บในห้องเย็นที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส ประมาณ 1 สัปดาห์ เมื่อต้องการใช้ นำมาละลายโดยตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 1 ชั่วโมง

ภาพที่ 6 เปลือกสับปะรด

3. เชื้อ *Pediococcus halophilus* บริสุทธิ์ที่เก็บอยู่ในสภาพเชื้อแห้ง (freeze-dry) (หมายเลข TISTR 432) จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย นำมาเลี้ยงในอาหารเหลว GYP-Sodium Acetate Mineral Salts Broth ที่มีเกลือผสมอยู่ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จากนั้นถ่ายเชื้อลงในหลอดทดลองซึ่งมีอาหารวุ้นเอียง Tryptic Soy Agar ที่มีเกลือผสมอยู่ร้อยละ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เมื่อเชื้อเจริญดีจึงนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส) มีการถ่ายเชื้อเดือนละครั้ง เมื่อต้องการใช้

เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นให้นำมาถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth ที่มีเกลือผสมอยู่ร้อยละ 15 ทำการถ่ายเชื้อรวม 3 ครั้งเพื่อให้ได้เชื้อที่มีความแข็งแรง โดยที่ระยะ log phase ซึ่งเป็นระยะที่เชื้อมีความแข็งแรงและกำลังเจริญอย่างรวดเร็วเหมาะในการทำเป็นหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *P. halophilus* อยู่ในช่วง 25-45 ชั่วโมง (ภาคผนวก ค) จึงเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 36 ชั่วโมง ซึ่งเป็นจุดกึ่งกลางของระยะ log phase เพื่อทำเป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการหมักปลา

4. เชื้อ *Bacillus licheniformis* บริสุทธิ์ที่เก็บอยู่ในสภาพเชื้อแห้ง (หมายเลข TISTR 1010) จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย นำมาเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient Broth ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จากนั้นถ่ายเชื้อลงในหลอดทดลองซึ่งมีอาหารวุ้นเอียง Tryptic Soy Agar ที่มีเกลือผสมอยู่ร้อยละ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เมื่อเชื้อเจริญดีจึงนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส) มีการถ่ายเชื้อเดือนละครั้ง เมื่อต้องการใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นให้นำมาถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth ที่มีเกลือผสมอยู่ร้อยละ 15 ทำการถ่ายเชื้อรวม 3 ครั้งเพื่อให้ได้เชื้อที่มีความแข็งแรง โดยที่ระยะ log phase ซึ่งเป็นระยะที่เชื้อมีความแข็งแรงและกำลังเจริญอย่างรวดเร็วเหมาะในการทำเป็นหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *Bacillus licheniformis* อยู่ในช่วง 10-30 ชั่วโมง (ภาคผนวก ค) จึงเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 22 ชั่วโมง ซึ่งเป็นจุดกึ่งกลางของระยะ log phase เพื่อทำเป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการหมักปลา

5. เกลือป่น
6. วัสดุ และเคมีภัณฑ์ สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี
7. วัสดุ และอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์
8. น้ำปลาชั้นคุณภาพที่ 1 ยี่ห้อทิพรส

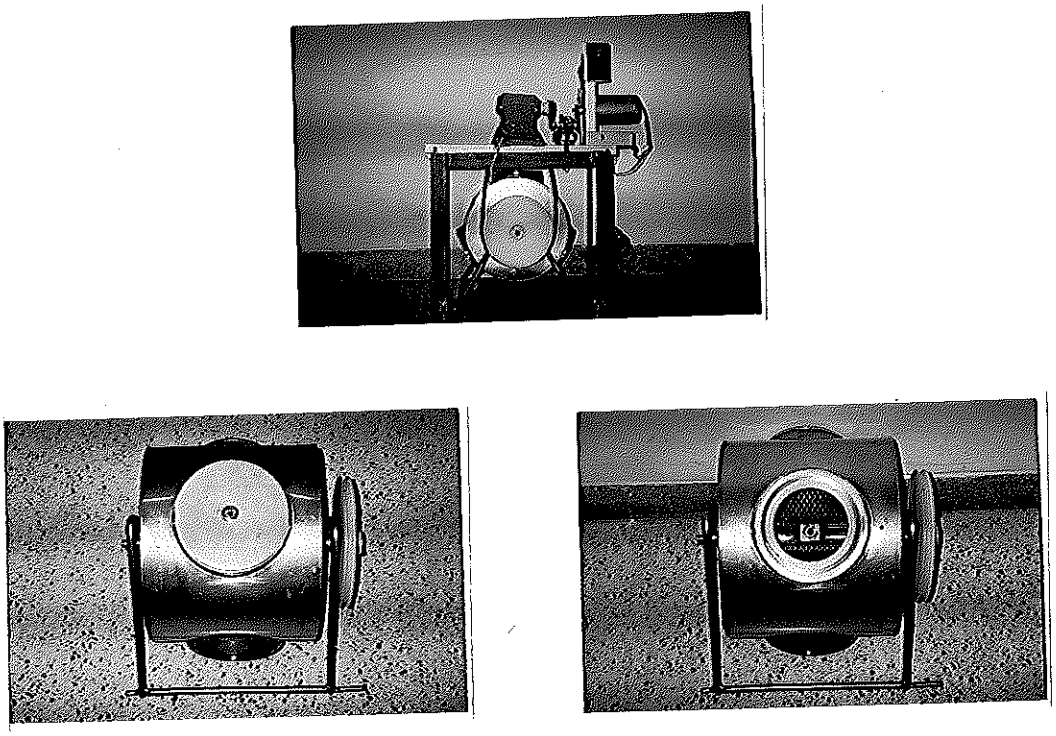
อุปกรณ์

1. **อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการหมักปลา**
   - เครื่องชั่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น Q16
   - ตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์ ยี่ห้อ Heraeus, ยี่ห้อ Eyela รุ่น LT1-1000D และยี่ห้อ WTB Binder รุ่น BD 400

- ขวดโหลแก้วสี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาดประมาณ 6 x 6 x 6 ลูกบาศก์นิ้ว ผ่านการล้างสะอาด และใช้แอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 70 ฉีดภายในขวด จากนั้นนำไปอบแห้งที่ 65 องศาเซลเซียส

- ถังสแตนเลสทรงกระบอกมีฝาปิด เส้นผ่าศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร สูง 25 เซนติเมตร ทำความสะอาดเช่นเดียวกับขวดโหลแก้ว

- ถังหมักหมุนได้ มีลักษณะดังภาพที่ 7 ตัวถังทำจากสแตนเลส รูปทรงกระบอกแนวนอน ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร ยาว 25 เซนติเมตร ภายในแบ่งเป็น 3 ช่องด้วยแผ่นตะแกรงสแตนเลส เพื่อให้ของเหลวที่เกิดขึ้นในแต่ละช่องสามารถไหลผ่านตะแกรงผสมกันได้ ด้านบนของแต่ละช่องถูกเจาะเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 13 เซนติเมตร และปิดด้วยฝาสแตนเลส ช่องเหล่านี้ทำไว้สำหรับเติมวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักและนำของเหลวที่เกิดขึ้นและเศษเหลือจากการหมักออกมา ถังหมักสามารถหมุนได้โดยใช้มอเตอร์ และสามารถปรับอัตราการหมุนได้ มีการทำความสะอาดภายในถังเช่นเดียวกับขวดโหลแก้ว



ภาพที่ 7 ถังหมักแบบหมุน

2. **อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี**

- เครื่องหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ยี่ห้อ Gerhardt ประกอบด้วย เครื่องย่อยตัวอย่าง รุ่น Kjeldatherm และเครื่องกลั่น รุ่น Vapodest 30
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ยี่ห้อ Schott รุ่น CG 840
- เครื่องชั่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น PT 210 และ AC 211S

3. **อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์**

- หม้อต้มฆ่าเชื้อด้วยไฟฟ้า ยี่ห้อ Tomy รุ่น SS 325
- ตู้อบไฟฟ้า ยี่ห้อ Heraeus
- ตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์ ยี่ห้อ Heraeus
- เครื่องตีปั่นตัวอย่าง ยี่ห้อ Seward รุ่น 400
- เครื่องนับโคโลนี ยี่ห้อ Leica
- เครื่องชั่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น B3100S

วิธีการ

ประกอบด้วยการศึกษา 3 ขั้นตอนหลัก คือ

- ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตน้ำปลา
- การหมักแบบต่อเนื่อง
- การบ่มน้ำปลา

1. **ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตน้ำปลา**

ปัจจัยที่ศึกษาในงานวิจัยครั้งนี้ประกอบด้วย ปริมาณเกลือ ปริมาณเปลือกสับปะรด ชนิดของหัวเชื้อเริ่มต้น อุณหภูมิในการหมัก และการหมักในถังหมักแบบหมุน คัดเลือกชุดการทดลองที่ให้ผลการย่อยสลายเร็วที่สุดจากปัจจัยเริ่มต้นไปใช้ในการศึกษาปัจจัยอื่นต่อไป โดยที่อัตราการย่อยสลายปลาพิจารณาจากค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น (formol titration) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน การวางแผนการทดลองตลอดการวิจัยในครั้งนี้เป็นแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design)

1.1 **ผลของปริมาณเกลือต่อการผลิตน้ำปลา**

สุ่มตัวอย่างวัสดุเศษเหลือปลาสีกุนทองตาโตที่ผ่านการละลายน้ำแข็งอย่างสมบูรณ์แล้วมา 1,800 กรัม หมักกับเกลือ 900, 600 และ 450 กรัม (คิดเป็นอัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1, 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1) เติมเปลือกสับปะรด 90 และ 180 กรัม (คิดเป็นร้อยละ 5 และ 10 ของน้ำหนักปลา) ในขวดโหลแก้ว จากนั้นเติมเชื้อ *P. halophilus* จำนวน 180 มิลลิลิตร และ *B. licheniformis* จำนวน 180 มิลลิลิตร ซึ่งคิดเป็นปริมาตรร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา ในทุกชุดการทดลอง (โดยปริมาณเชื้อ *P. halophilus* เริ่มต้นประมาณ 8 log c.f.u./ml ในขณะที่ปริมาณเชื้อ *B. licheniformis* เริ่มต้นประมาณ 7 log c.f.u./ml) หมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 วัน ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ สุ่มตัวอย่างของเหลวที่เกิดขึ้นเมื่อหมักได้ 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20 และ 30 วัน โดยก่อนสุ่มตัวอย่างจะเขย่าภาชนะที่ใช้หมักเพื่อให้ของเหลวเข้ากันดี การสุ่มตัวอย่างจะใช้จวักตักของเหลว แล้วกรองให้ใสโดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่วางในกรวยแก้ว และรองรับของเหลวใสที่ได้ด้วยหลอดแก้ว โดยอุปกรณ์ที่สัมผัสกับตัวอย่างได้ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำของเหลวใสที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น ซึ่งเป็นดัชนีบ่งชี้การย่อยสลายโปรตีน ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด ปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนและปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรด สำหรับในวันที่ 30 ของการหมัก วิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลา ได้แก่ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน ความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเกลือเพิ่มเติมจากค่าต่างๆ ที่กล่าวมาแล้วข้างต้น เพื่อตรวจสอบชั้นคุณภาพของน้ำปลาที่ได้ (วิธีการวิเคราะห์แสดงไว้ในภาคผนวก ก และ ข)

1.2 **ผลของปริมาณเปลือกสับปะรดต่อการผลิตน้ำปลา**

เลือกชุดการทดลองที่ให้ผลการย่อยสลายเนื้อปลาเร็วที่สุดจากข้อ 1.1 มาศึกษาผลของปริมาณเปลือกสับปะรด โดยใช้ก้างและหัวปลาสีกุนทองตาโตจำนวน 1,800 กรัม ผสมกับเกลือจำนวน 450 กรัม ในขวดโหลแก้ว เติมเปลือกสับปะรด 0, 90 และ 180 กรัม (คิดเป็นร้อยละ 0, 5 และ 10 ของน้ำหนักปลา) เติมเชื้อ *P. halophilus* จำนวน 180 มิลลิลิตร และ *B. licheniformis* จำนวน 180 มิลลิลิตร (ปริมาณเชื้อ *P. halophilus* เริ่มต้นประมาณ 8 log c.f.u./ml ในขณะที่ปริมาณเชื้อ *B. licheniformis* เริ่มต้นประมาณ 7 log c.f.u./ml) หมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 วัน ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ โดยที่วิธีการสุ่มตัวอย่างและการวิเคราะห์ค่าต่างๆ ทำเช่นเดียวกับข้อ 1.1

1.3 **ผลของ *B. licheniformis* และ *P. halophilus* ต่อการผลิตน้ำปลา**

เลือกชุดการทดลองที่ให้ผลการย่อยสลายเนื้อปลาเร็วที่สุดจากข้อ 1.2 มาศึกษาผลของเชื้อ *B. licheniformis* และ *P. halophilus* โดยใช้ก้างและหัวปลาสีกุนทองตาโตจำนวน 1,600 กรัม ผสมกับเกลือจำนวน 400 กรัม ในขวดโหลแก้ว เติมเปลือกสับปะรดจำนวน 160 กรัม จัดชุดการทดลอง 4 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดแรกเป็นชุดการทดลองที่ไม่เติมหัวเชื้อเริ่มต้น แต่เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy broth ที่ผสมเกลือร้อยละ 15 จำนวน 320 มิลลิลิตร ชุดที่สอง เติม *P. halophilus* จำนวน 160 มิลลิลิตรและอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy broth ที่ผสมเกลือร้อยละ 15 จำนวน 160 มิลลิลิตร ชุดที่สาม เติม *B. licheniformis* จำนวน 160 มิลลิลิตรและอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy broth ที่ผสมเกลือร้อยละ 15 จำนวน 160 มิลลิลิตร และชุดสุดท้ายเติมทั้ง *P. halophilus* และ *B. licheniformis* อย่างละ 160 มิลลิลิตร (ปริมาณเชื้อ *P. halophilus* เริ่มต้นประมาณ 8 log c.f.u./ml ในขณะที่ปริมาณเชื้อ *B. licheniformis* เริ่มต้นประมาณ 7 log c.f.u./ml) หมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 วัน ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ โดยที่วิธีการสุ่มตัวอย่างและการวิเคราะห์ค่าต่างๆ ทำเช่นเดียวกับข้อ 1.1

1.4 **ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตน้ำปลา**

เลือกชุดการทดลองที่ให้ผลการย่อยสลายเนื้อปลาเร็วที่สุดจากข้อ 1.3 มาศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการผลิตน้ำปลา โดยใช้วัสดุเศษเหลือปลาสีกุนทองตาโต 1,600 กรัม ผสมกับเกลือจำนวน 400 กรัม เปลือกสับปะรด 160 กรัม ในขวดโหลแก้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ โดยที่วิธีการสุ่มตัวอย่างและการวิเคราะห์ค่าต่างๆ ทำเช่นเดียวกับข้อ 1.1

1.5 **ผลของลักษณะการหมักปลาต่อการผลิตน้ำปลา**

เลือกชุดการทดลองที่ให้ผลการย่อยสลายเนื้อปลาเร็วที่สุดจากข้อ 1.4 มาศึกษาผลของลักษณะการหมักปลา โดยหมักวัสดุเศษเหลือปลาสีกุนทองตาโตจำนวน 2,000 กรัม ผสมกับเกลือจำนวน 500 กรัม เปลือกสับปะรด 200 กรัม ในแต่ละช่องของถังสแตนเลสแบบหมุนที่สร้างขึ้นทั้งสามช่อง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยปรับถังหมักให้มีอัตราการหมุนประมาณ 4 นาทีต่อรอบ เป็นเวลา 4 วัน สำหรับชุดควบคุมใช้วัสดุเศษเหลือปลาสีกุนทองตาโตจำนวน 6,000 กรัม ผสมกับเกลือ 1,500 กรัม เปลือกสับปะรด 600 กรัม

หมักในถังสแตนเลสทรงกระบอกที่ไม่มีการหมุน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยที่วิธีการสุ่มตัวอย่างและการวิเคราะห์ค่าต่างๆ ทำเช่นเดียวกับข้อ 1.1

2. **การหมักแบบต่อเนื่อง**

ใช้วัสดุเศษเหลือปลาสีกุนทองตาโตจำนวน 2 กิโลกรัม ผสมกับเกลือ 500 กรัม และเปลือกสับปะรด 200 กรัม เพื่อทำการหมักแบบต่อเนื่องโดยการเติมตัวอย่างใหม่ตลอดระยะเวลาการหมัก 30 วัน ดังนี้

- วันที่ 1 นำอัตราส่วนผสมต่างๆ ที่กล่าวแล้วข้างต้น เติมลงในช่องที่ 1 ของถังหมักแบบหมุน หมักที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยปรับถังหมักให้มีอัตราการหมุนประมาณ 4 นาทีต่อรอบ

- วันที่ 2 สุ่มตัวอย่างของเหลว เพื่อตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด ปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน ปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรด ค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน ความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเกลือดังวิธีการสุ่มในข้อ 1.1 จากนั้นเติมส่วนผสมของวัตถุดิบในอัตราส่วนเดิมลงในช่องที่ 2

- วันที่ 3 สุ่มตัวอย่างของเหลวเพื่อตรวจสอบเช่นวันที่ 2 จากนั้นเติมส่วนผสมของวัตถุดิบใหม่ลงในช่องที่ 3

- วันที่ 4 สุ่มตัวอย่างของเหลวเพื่อตรวจสอบเช่นวันที่ 2 และนำเศษปลาออกจากช่องที่ 1 จากนั้นเติมส่วนผสมของวัตถุดิบใหม่ลงไปแทนที่

- วันที่ 5 สุ่มตัวอย่างของเหลวเพื่อตรวจสอบเช่นวันที่ 2 และนำเศษปลาออกจากช่องที่ 2 จากนั้นเติมส่วนผสมของวัตถุดิบใหม่ลงไปแทนที่

- วันที่ 6 สุ่มตัวอย่างของเหลวเพื่อตรวจสอบเช่นวันที่ 2 และนำเศษปลาออกจากช่องที่ 3 จากนั้นเติมส่วนผสมของวัตถุดิบใหม่ลงไปแทนที่

- วันที่ 7 สุ่มตัวอย่างของเหลวเพื่อตรวจสอบเช่นวันที่ 2 นำเศษปลาพร้อมทั้งระบายของเหลวจำนวนหนึ่ง (ให้เหลือของเหลวอยู่ประมาณครึ่งถัง) ออกจากช่องที่ 1 จากนั้นเติมส่วนผสมของวัตถุดิบใหม่ลงไปแทนที่

- วันต่อๆ มาทำเช่นเดียวกับวันที่ 7 โดยเวียนไปเป็นช่องที่ 2, 3 แล้วกลับมาช่องที่ 1 เช่นนี้เรื่อยไป จนครบ 30 วัน

3. การบ่มน้ำปลา

นำของเหลวที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่อง (ข้อ 2) ซึ่งยังไม่ได้กรองตะกอนทิ้งมาบรรจุลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตรที่มีฝาเกลียวปิดจำนวน 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส โดยที่แต่ละอุณหภูมิแบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ไม่เติมเชื้อ *P. halophilus* และชุดการทดลองที่มีการเติม *P. halophilus* ในปริมาตรร้อยละ 10 ของของเหลวที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่อง เพื่อยืนยันบทบาทของเชื้อ *P. halophilus* ในการทำให้เกิดกลิ่นของน้ำปลา สุ่มตัวอย่างหลังจากบ่ม 7, 14, 21 และ 28 วัน เพื่อตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด ปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน ปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรด ค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน ความเป็นกรด-ด่าง สีและกลิ่นของน้ำปลาที่ได้ โดยในการทดสอบกลิ่นใช้วิธีทดสอบแบบ Multiple Comparison Test (ภาคผนวก ง) เพื่อพิจารณาระดับความแตกต่างของน้ำปลาที่ได้กับน้ำปลายี่ห้อทิพรสซึ่งเป็นน้ำปลาชั้นคุณภาพที่หนึ่ง โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกแล้วจำนวน 10 คน

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์

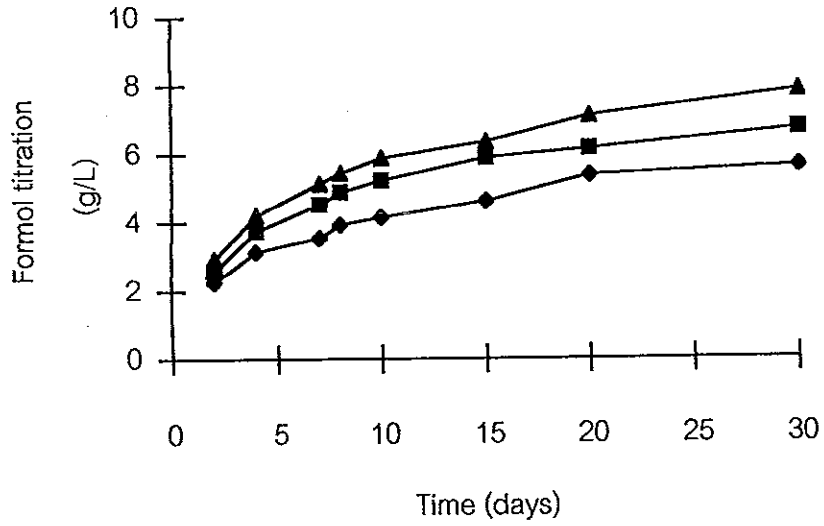
1. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตน้ำปลา

1.1 ผลของปริมาณเกลือต่อการผลิตน้ำปลา

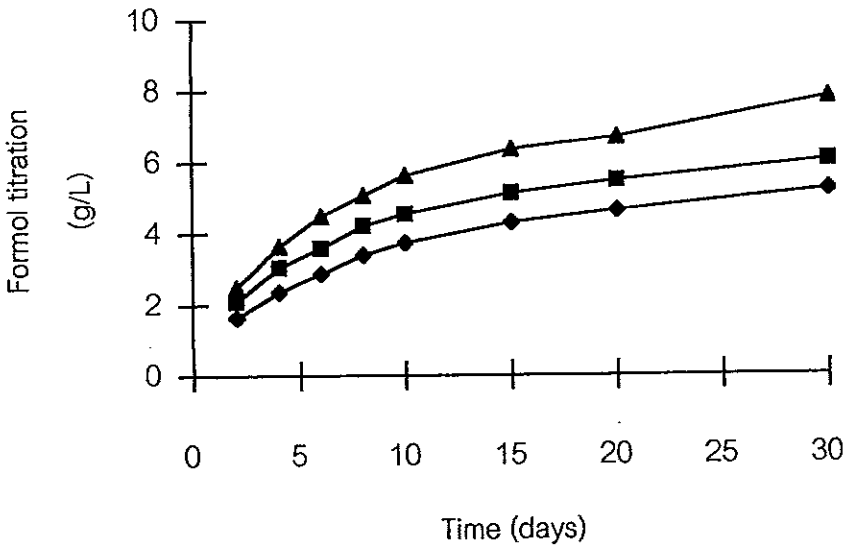
1.1.1 การเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมี

การศึกษาปริมาณเกลือที่ใช้ในการหมักปลา 3 ระดับ คือ ที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 2 ต่อ 1, 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1 ที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 5 และร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา พบว่าที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 4 ต่อ 1 จะมีการย่อยสลายเนื้อปลาได้เร็วกว่าที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 3 ต่อ 1 และ 2 ต่อ 1 ตามลำดับ โดยเมื่อพิจารณาค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น จะเห็นได้ว่าในช่วง 10 วันแรกของการหมัก การย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลาจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 8-9) จากนั้นค่าที่ได้ค่อนข้างคงที่ในทุกชุดการทดลองไม่ว่าจะใช้ปริมาณเกลือเท่ากับ 2 ต่อ 1, 3 ต่อ 1 หรือ 4 ต่อ 1 ก็ตาม โดยการใช้เกลือในอัตราส่วนต่ำสุด จะให้ผลของการย่อยสลายปลาเร็วที่สุดตลอดระยะเวลา 30 วันของการหมัก ($P<0.05$)

ผลของอัตราส่วนระหว่างปลาต่อเกลือทั้ง 3 ระดับ ที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 5 พบว่า หลังจากหมักไว้ 30 วัน ค่าเฉลี่ยของปริมาณเกลือเท่ากับร้อยละ 29.13, 27.24, 23.56 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเท่ากับ 12.34, 13.92, 15.73 กรัมต่อลิตร ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนเท่ากับ 4.89, 5.69, 6.54 กรัมต่อลิตร และค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.87, 5.84, 5.90 เมื่อใช้อัตราส่วนของปลาต่อเกลือเท่ากับ 2 ต่อ 1 , 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1 ตามลำดับ (ตารางที่ 5)



ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น ของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1 (-◆-) 3 ต่อ 1 (-■-) และ 4 ต่อ 1 (-▲-) และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น



ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1 (-◆-) 3 ต่อ 1 (-■-) และ 4 ต่อ 1 (-▲-) และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ตารางที่ 5 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่หมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 3 ระดับ และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ชุดการทดลอง	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด [1] (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน [1] (กรัมต่อลิตร)	เกลือ [1] (ร้อยละ)	ความเป็นกรด-ด่าง [1]
ปลาต่อเกลือเท่ากับ 2 ต่อ 1	12.34 ± 0.42^{a2}	4.89 ± 0.03^{a2}	29.13 ± 0.59^{c2}	5.87 ± 0.03^{a2}
ปลาต่อเกลือเท่ากับ 3 ต่อ 1	13.92 ± 0.52^{b}	5.69 ± 0.09^{b}	27.24 ± 0.08^{b}	5.84 ± 0.04^{a}
ปลาต่อเกลือเท่ากับ 4 ต่อ 1	15.73 ± 0.39^{c}	6.54 ± 0.12^{c}	23.56 ± 0.51^{a}	5.90 ± 0.07^{a}

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

[2] ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

สำหรับผลของอัตราส่วนระหว่างปลาต่อเกลือทั้ง 3 ระดับ ที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 10 มีค่าเฉลี่ยของปริมาณเกลือเท่ากับร้อยละ 29.61, 28.21, 23.31 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเท่ากับ 11.29, 12.51, 15.33 กรัมต่อลิตร ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนเท่ากับ 4.31, 4.96, 6.44 กรัมต่อลิตร และค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.81, 5.67, 5.65 เมื่อใช้อัตราส่วนของปลาต่อเกลือเท่ากับ 2 ต่อ 1, 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1 ตามลำดับ (ตารางที่ 6) จะเห็นได้ว่าน้ำปลาที่ได้จากชุดการทดลองที่ใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 4 ต่อ 1 ให้ผลการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลาได้สูงที่สุด เนื่องจากมีค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนสูงกว่าในชุดการทดลองที่ใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 3 ต่อ 1 และ 2 ต่อ 1 ไม่ว่าระดับการใช้เปลือกสับปะรดจะเป็นร้อยละ 5 หรือ 10 ก็ตาม นอกจากนี้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างน้ำปลาของการทดลองที่ใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 4 ต่อ 1 ยังให้ค่าอยู่ในน้ำปลาชั้นคุณภาพที่สอง ตามมาตรฐานของสำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรมที่กำหนดให้ค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต้องไม่ต่ำกว่า 15 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ถ้าใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 3 ต่อ 1 และ 2 ต่อ 1 จะได้ค่า

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต่ำกว่ามาตรฐานของน้ำปลาชั้นคุณภาพที่สอง แม้ว่าปริมาณเกลือและค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างน้ำปลาที่ได้ อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดไว้ในมาตรฐานของน้ำปลา กล่าวคือปริมาณเกลือไม่ต่ำกว่าร้อยละ 23 และค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 5-6 จากผลการทดลองที่ได้จึงได้เลือกอัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 4 ต่อ 1 ซึ่งให้ผลการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลาได้เร็วที่สุดสำหรับศึกษาในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 6 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่หมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 3 ระดับ และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ชุดการทดลอง	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด [1] (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน [1] (กรัมต่อลิตร)	เกลือ [1] (ร้อยละ)	ความเป็นกรด-ด่าง [1]
ปลาต่อเกลือเท่ากับ 2 ต่อ 1	11.29 ± 0.21^{a2}	4.31 ± 0.07^{a2}	29.61 ± 0.37^{c2}	5.81 ± 0.03^{b2}
ปลาต่อเกลือเท่ากับ 3 ต่อ 1	12.51 ± 0.68^{b}	4.96 ± 0.13^{b}	28.21 ± 0.29^{b}	5.67 ± 0.04^{a}
ปลาต่อเกลือเท่ากับ 4 ต่อ 1	15.33 ± 0.38^{c}	6.44 ± 0.04^{c}	23.31 ± 0.22^{a}	5.65 ± 0.03^{a}

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

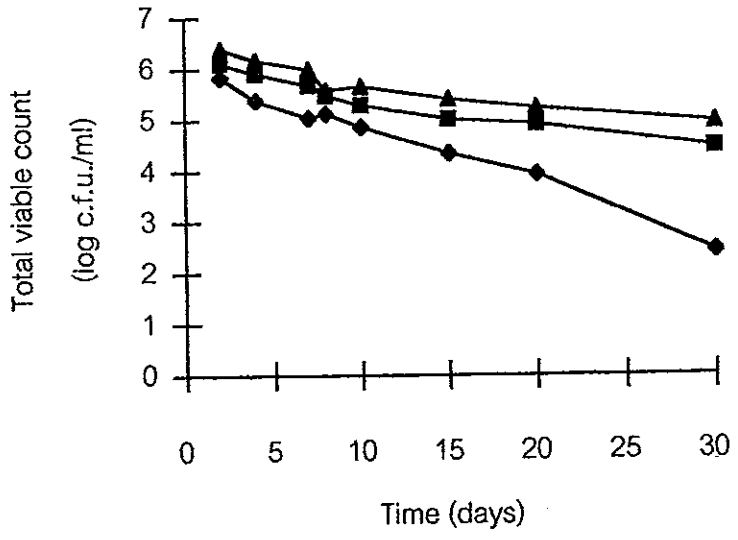
[2] ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

ในการใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1, 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1 นั้น เมื่อคิดเป็นปริมาณเกลือที่มีในการหมักจะได้เท่ากับร้อยละ 33.33, 25.00 และ 20.00 ตามลำดับ แต่น้ำปลาที่ได้จากชุดการทดลองที่ใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1 มีปริมาณเกลือร้อยละ 27.24 และ 23.56 ซึ่งสูงกว่าปริมาณเกลือที่เติมลงไป ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากเกลือที่ใช้ในการหมักจะละลายอยู่ในน้ำปลาที่เกิดขึ้น ในขณะที่ชุดการทดลองที่ใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1 นั้น มีน้ำปลาเกิดขึ้นน้อย เกลือละลายไม่หมด จึงพบว่ามีปริมาณเกลือในน้ำปลาร้อยละ 29.13 ซึ่งน้อยกว่าปริมาณเกลือที่เติมลงไป

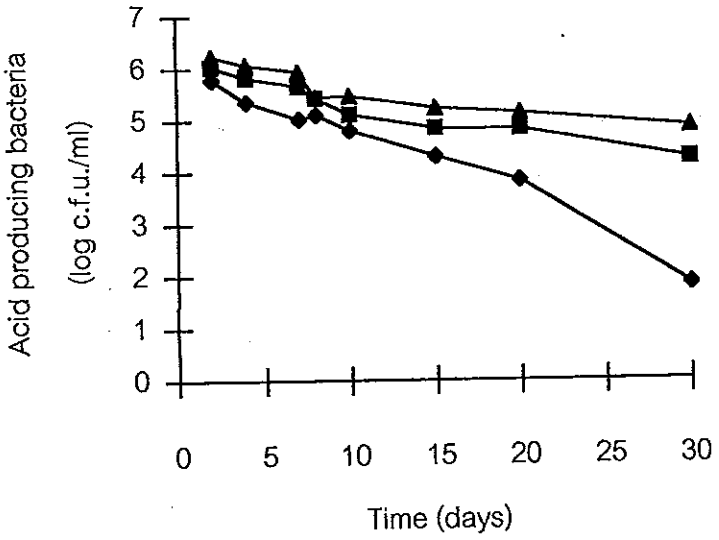
จากผลการเติมเกลือที่อัตราส่วนระดับต่างๆ แสดงให้เห็นว่า เมื่อปริมาณเกลือสูงขึ้น จะทำให้การย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลาช้าลง ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ที่สามารถย่อยโปรตีนที่มีอยู่ในปลาและเอนไซม์โบรมิเลนที่มีอยู่ในเปลือกสับปะรดจะถูกยับยั้งการทำงานมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Mittranond และ Okada (1987) และ Beddows และคณะ (1976)

1.1.2 การเปลี่ยนแปลงทางด้านจุลินทรีย์

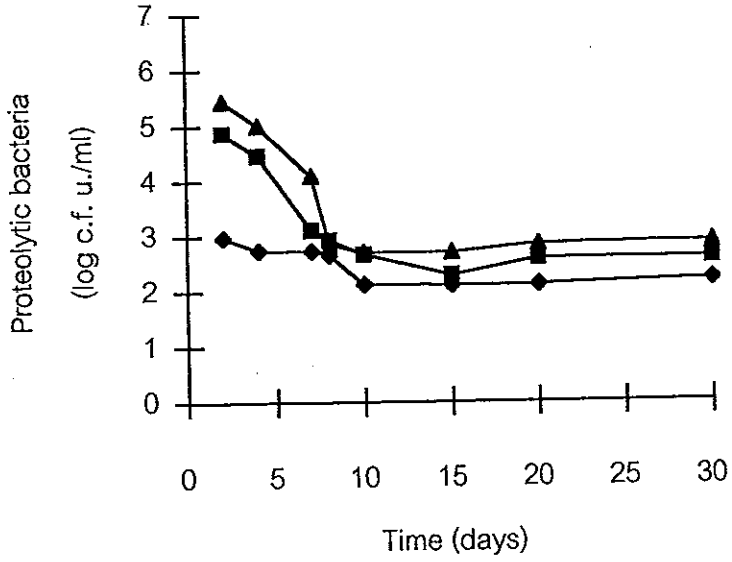
การเปลี่ยนแปลงของเชื้อจุลินทรีย์ระหว่างการหมักน้ำปลาที่ความเข้มข้นของเกลือที่ใช้ในการหมักระดับต่างๆ ได้แก่ อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 2 ต่อ 1, 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1 ไม่ว่าจะใช้ปริมาณของเปลือกสับปะรดร้อยละ 5 หรือร้อยละ 10 พบว่า รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของเชื้อจุลินทรีย์ในแต่ละความเข้มข้นของเกลือจะคล้ายคลึงกัน ดังภาพที่ 10-15 จะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดและเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดจะค่อยๆ ลดลงเมื่อระยะเวลาหมักเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 10 วันแรกของการหมัก หลังจากนั้นปริมาณเชื้อค่อนข้างคงที่



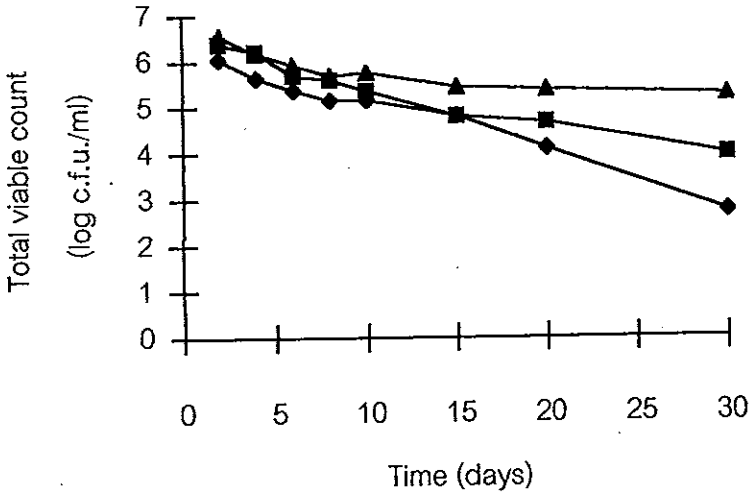
ภาพที่ 10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1 (-◆-) 3 ต่อ 1 (-■-) และ 4 ต่อ 1 (-▲-) และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น



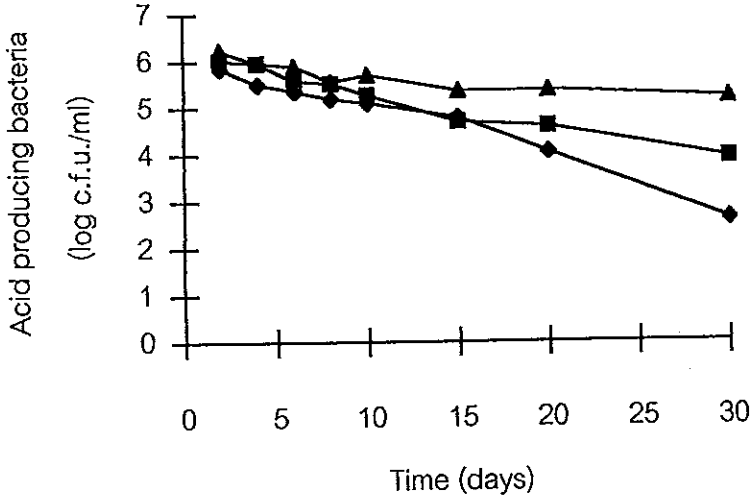
ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1 (-◆-) 3 ต่อ 1 (-■-) และ 4 ต่อ 1 (-▲-) และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น



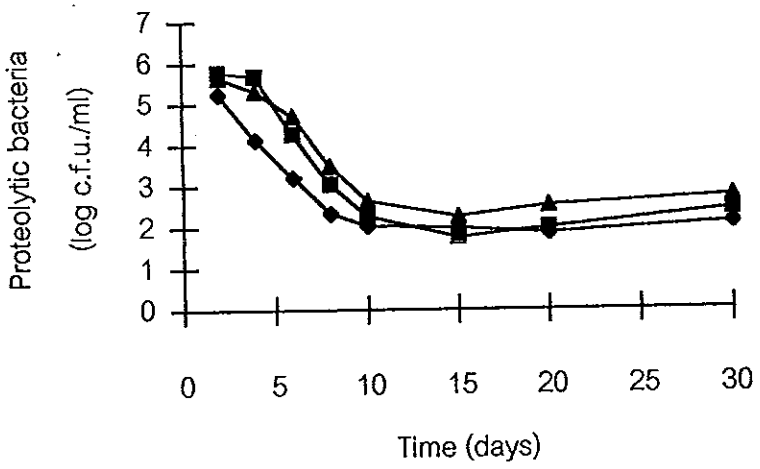
ภาพที่ 12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1 (-◆-) 3 ต่อ 1 (-■-) และ 4 ต่อ 1 (-▲-) และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น



ภาพที่ 13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1 (-◆-) 3 ต่อ 1 (-■-) และ 4 ต่อ 1 (-▲-) และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น



ภาพที่ 14 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1 (-◆-) 3 ต่อ 1 (-■-) และ 4 ต่อ 1 (-▲-) และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น



ภาพที่ 15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 2 ต่อ 1 (-◆-) 3 ต่อ 1 (-■-) และ 4 ต่อ 1 (-▲-) และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

1.2 ผลของปริมาณเปลือกสับปะรดต่อการผลิตน้ำปลา

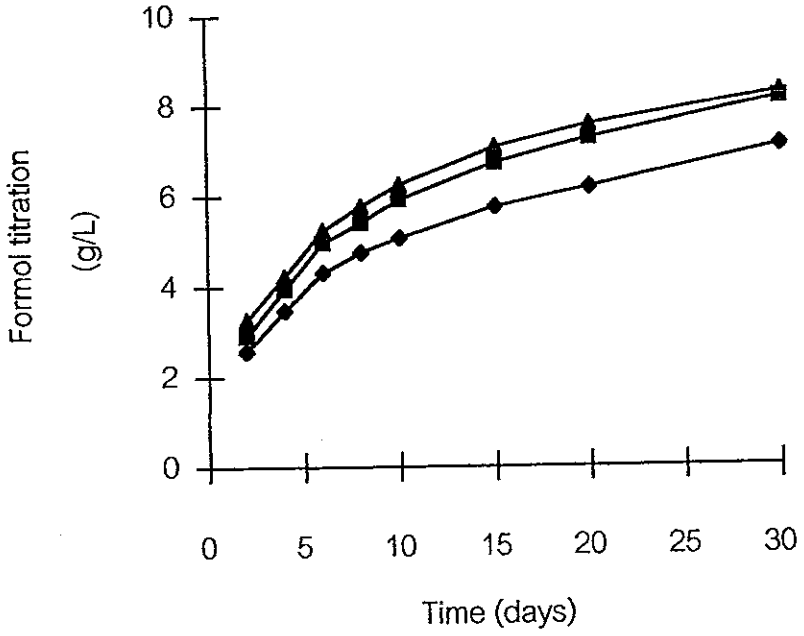
1.2.1 การเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมี

ในการทดลองหมักปลาโดยใช้เปลือกสับปะรด 3 ระดับ ที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 4 ต่อ 1 พบว่า การหมักน้ำปลาโดยใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 10 จะให้ค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น สูงกว่าการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 5 และไม่ใช้เปลือกสับปะรดตามลำดับ ($P < 0.05$) ยกเว้นในวันที่ 30 ของการหมัก (ภาพที่ 16)

คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่ได้เมื่อหมักไว้ 30 วัน พบว่าการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 0, 5 และ 10 มีค่าเฉลี่ยของปริมาณเกลือเท่ากับ 25.93, 24.57, 23.46 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเท่ากับ 16.14, 17.00, 17.18 กรัมต่อลิตร ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนเท่ากับ 5.60, 6.50, 6.52 กรัมต่อลิตร และค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.30, 5.99, 5.82 ตามลำดับ (ตารางที่ 7) ซึ่งเมื่อทดสอบทางสถิติแล้วพบว่า การใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 5 และ 10 ให้ค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนและค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นไม่แตกต่างกัน แต่จะสูงกว่าการทดลองที่ไม่ใส่เปลือกสับปะรด อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 10 จะมีการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลาในช่วงการ

หมักแรกๆ ได้ดีกว่าการใช้เปลือกสับปะรดเพียงร้อยละ 5 และไม่ใช้เปลือกสับปะรด (โดยพิจารณาจากค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น) ซึ่งเป็นผลมาจากกิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลนในเปลือกสับปะรด จึงได้เลือกชุดการทดลองที่ใช้ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลาสำหรับการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

จากผลการทดลองนี้แสดงว่าเอนไซม์โบรมิเลนที่มีในเปลือกสับปะรดมีผลทำให้การย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลาเร็วขึ้น และปริมาณเอนไซม์ที่มากขึ้นทำให้การย่อยสลายเกิดเร็วขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Poosaran (1986b) และ Beddows และ Ardeshir (1979a)



ภาพที่ 16 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 0 (-◆-) ร้อยละ 5 (-■-) และร้อยละ 10 (-▲-)

ตารางที่ 7 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาเมื่อหมักไว้ 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 และเติมเปลือกสับปะรด 3 ระดับ ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

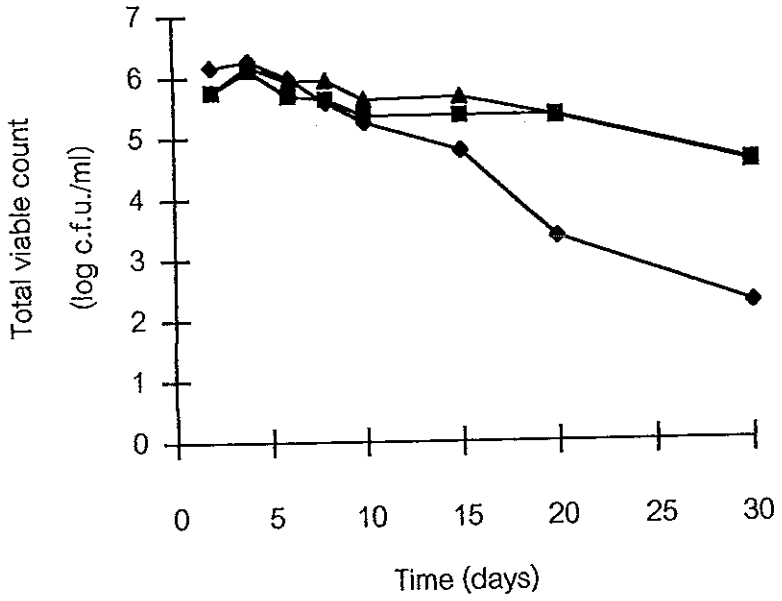
ชุดการทดลอง	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด [1] (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน [1] (กรัมต่อลิตร)	เกลือ [1] (ร้อยละ)	ความเป็นกรด-ด่าง [1]
เปลือกสับปะรดร้อยละ 0	16.14 ± 0.30 [a2]	5.60 ± 0.11 [a2]	25.93 ± 0.22 [c2]	6.30 ± 0.07 [c2]
เปลือกสับปะรดร้อยละ 5	17.00 ± 0.27 [ab]	6.50 ± 0.17 [b]	24.57 ± 0.39 [b]	5.99 ± 0.01 [b]
เปลือกสับปะรดร้อยละ 10	17.18 ± 0.72 [b]	6.52 ± 0.10 [b]	23.46 ± 0.17 [a]	5.82 ± 0.12 [a]

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

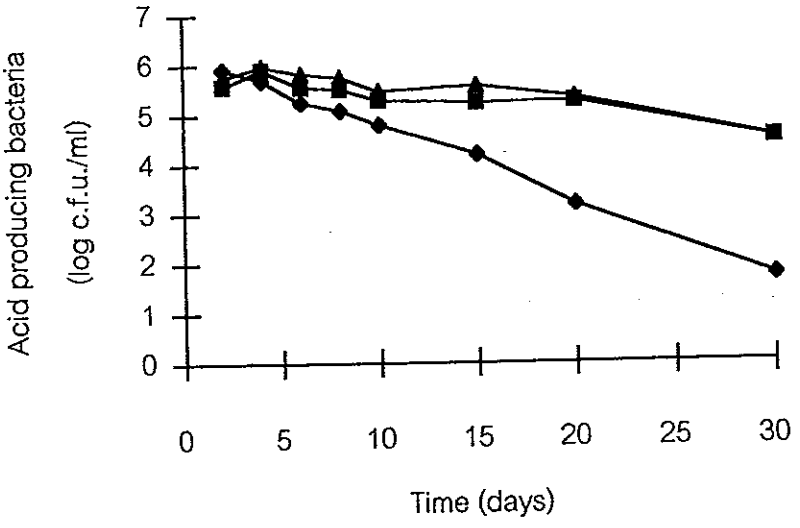
[2] ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05)

1.2.2 การเปลี่ยนแปลงทางด้านจุลินทรีย์

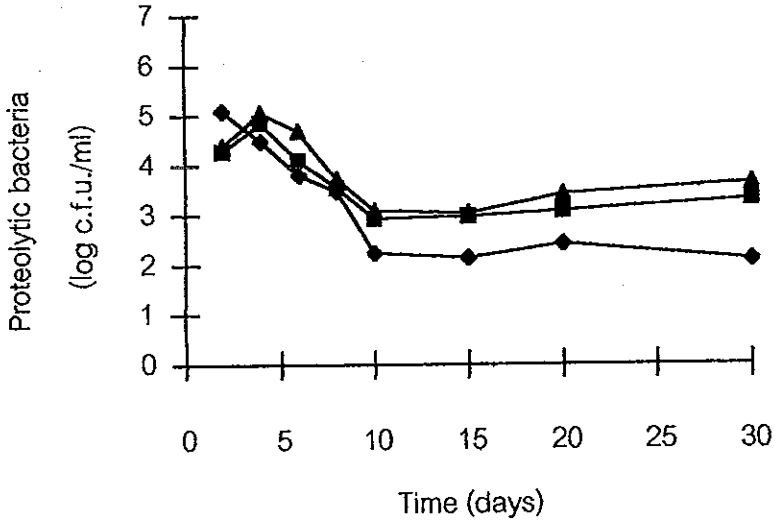
ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดและเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดในชุดการทดลองที่เติมเปลือกสับปะรด มีปริมาณค่อนข้างคงที่ในช่วง 20 วันแรกของการหมัก หลังจากนั้นจะค่อยๆ ลดลง ในขณะที่ชุดการทดลองที่ไม่ได้เติมเปลือกสับปะรด เชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดและเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดมีปริมาณลดลงตลอดช่วงการหมัก สำหรับปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนในชุดการทดลองที่มีการเติมเปลือกสับปะรด มีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วง 4 วันแรกของการหมัก แล้วลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงวันที่ 10 หลังจากนั้นปริมาณเชื้อค่อนข้างคงที่ ในขณะที่ชุดการทดลองที่ไม่ได้เติมเปลือกสับปะรด มีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงวันที่ 10 หลังจากนั้นปริมาณเชื้อค่อนข้างคงที่ (ภาพที่ 17-19)



ภาพที่ 17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 0 (-◆-) ร้อยละ 5 (-■-) และร้อยละ 10 (-▲-)



ภาพที่ 18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 0 (-◆-) ร้อยละ 5 (-■-) และร้อยละ 10 (-▲-)

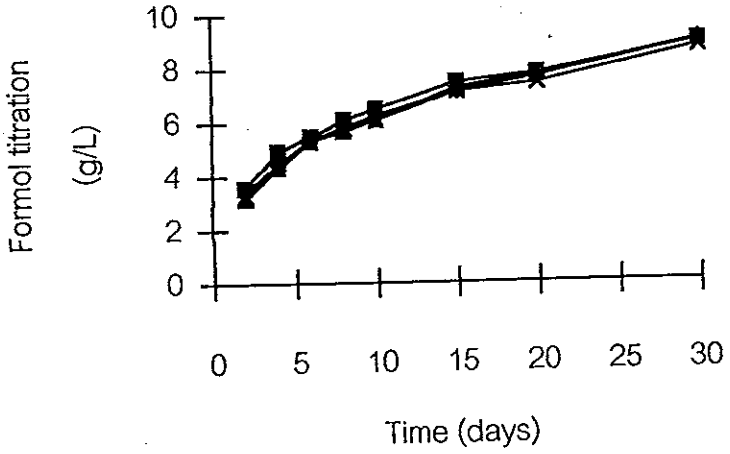


ภาพที่ 19 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และเติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 0 (-◆-) ร้อยละ 5 (-■-) และร้อยละ 10 (-▲-)

1.3 ผลของ *B. licheniformis* และ *P. halophilus* ต่อการผลิตน้ำปลา

1.3.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

จากการทดลองใช้เชื้อ *B. licheniformis* และ *P. halophilus* เพื่อเร่งการผลิตน้ำปลา พบว่า เชื้อทั้งสองไม่มีผลทำให้การหมักน้ำปลาเร็วขึ้น เนื่องจากค่าฟอร์มัล-ไตเตรชั่นของแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) (ภาพที่ 20) ทั้งๆ ที่มีรายงานการตรวจพบเชื้อทั้งสองชนิดนี้ในน้ำปลา (วรรณา ชูฤทธิ์ และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2532; Zuberi, *et al.*, 1988; Saisithi, 1987; มัทนา แสงจินดาวงษ์ และ สมศักดิ์ วินิจนันทรัตน์, 2527; Crisan and Sands, 1975) อย่างไรก็ตาม รายงานเหล่านี้ไม่ได้ระบุว่าเชื้อที่ตรวจพบมีผลทำให้การย่อยสลายปลาเกิดได้เร็วขึ้น ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าเชื้อเพียงแต่ทนอยู่ในน้ำปลาได้เท่านั้น



ภาพที่ 20 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น (-◆-) หรือใช้เชื้อ *P. halophilus* (-■-) หรือ *B. licheniformis* (-▲-) หรือใช้เชื้อทั้งสองชนิด (-×-) เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่ได้เมื่อหมักปลาไว้ 30 วัน พบว่า ในทุกชุดการทดลองมีปริมาณเกลือ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน และค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในน้ำปลาชั้นคุณภาพที่สอง (ตารางที่ 8) เมื่อทดสอบทางสถิติ พบว่า ชุดการทดลองที่ไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้นมีค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดไม่แตกต่างจากการทดลองที่ใช้เชื้อ *B. licheniformis* แต่จะมีค่าสูงกว่าการทดลองที่ใช้เชื้อทั้งสองชนิดร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในขณะที่การใช้เชื้อ *P. halophilus* ให้ผลไม่แตกต่างจากการทดลองอื่นๆ สำหรับปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง ($P > 0.05$)

ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากทั้งค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนแล้ว จึงไม่จำเป็นต้องเลือกการทดลองที่ต้องมีการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นในการหมักให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการเตรียมเชื้อ

ตารางที่ 8 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาเมื่อหมักไว้ 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น

ชุดการทดลอง	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด [1] (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน [1] (กรัมต่อลิตร)	เกลือ [1] (ร้อยละ)	ความเป็นกรด-ด่าง [1]
ไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น	16.66 ± 0.08^{b2}	7.54 ± 0.12^{a2}	24.19 ± 0.22^{a2}	5.68 ± 0.11^{b2}
ใช้ *P. halophilus*	16.30 ± 0.12^{ab}	7.45 ± 0.16^{a}	23.85 ± 0.29^{a}	5.45 ± 0.06^{a}
ใช้ *B. licheniformis*	16.74 ± 0.33^{b}	7.28 ± 0.17^{a}	23.99 ± 0.00^{a}	5.87 ± 0.10^{c}
ใช้เชื้อทั้งสองชนิด	16.12 ± 0.32^{a}	7.43 ± 0.24^{a}	23.99 ± 0.39^{a}	5.40 ± 0.03^{a}

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

[2] ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

1.3.2 การเปลี่ยนแปลงทางด้านจุลินทรีย์

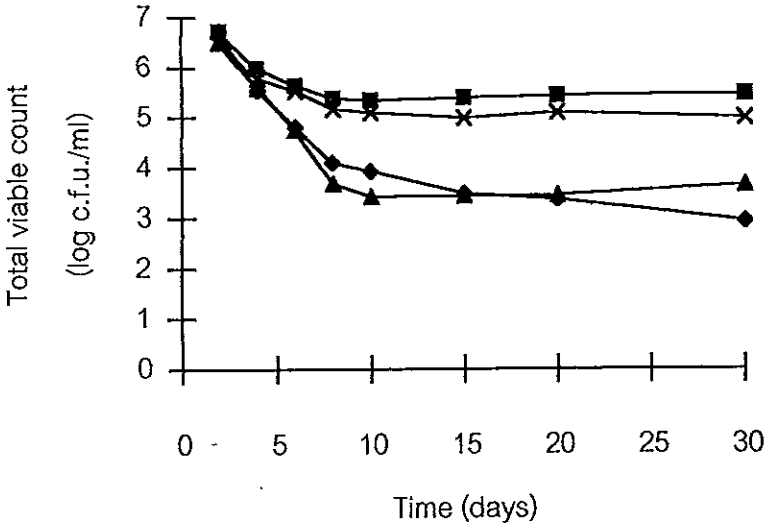
ในการทดลองที่ใช้เชื้อ *P. halophilus* เพียงอย่างเดียว และการทดลองที่ใช้ทั้งเชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* ร่วมกัน พบว่าการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดและปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดค่อยๆลดลงในช่วง 8 วันแรกของการหมัก จากนั้นปริมาณเชื้อค่อนข้างคงที่ ส่วนการทดลองที่ใช้เชื้อ *B. licheniformis* เพียงอย่างเดียวและชุดการทดลองที่ไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น พบว่า ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 8 วันแรกของการหมัก จากนั้นปริมาณเชื้อค่อนข้างคงที่ ส่วนปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดค่อยๆ ลดลงตลอดช่วงการหมัก (ภาพที่ 21-23)

ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดในชุดการทดลองที่ใช้เชื้อ *P. halophilus* เพียงอย่างเดียว และชุดการทดลองที่ใช้เชื้อทั้งสองชนิดมีค่าใกล้เคียงกัน แต่จะมากกว่าในชุดการทดลองที่ใช้เชื้อ *B. licheniformis* เพียงอย่างเดียวและชุดการทดลองที่ไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น

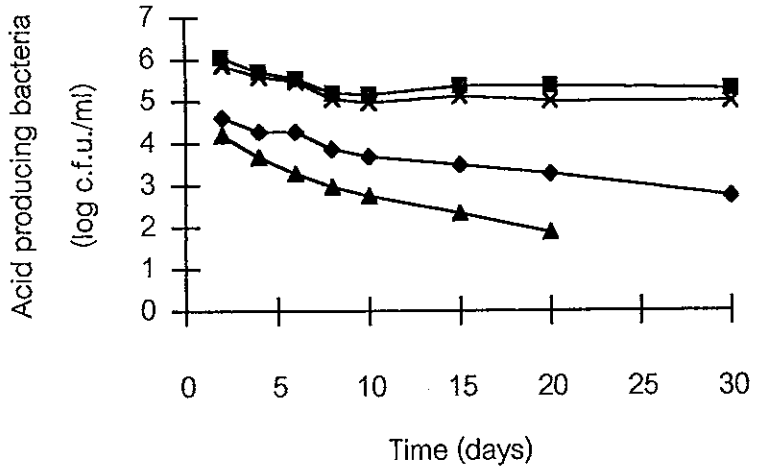
ตามลำดับ เนื่องจากในชุดการทดลอง 2 ชุดแรกมีการใช้ *P. halophilus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรด และสามารถทนอยู่ได้ในสภาวะการหมักน้ำปลาที่มีเกลืออยู่ประมาณร้อยละ 24 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (Buchanan and Gibbons, 1974) จึงตรวจพบแบคทีเรียที่ผลิตกรดสูงกว่า 2 ชุดการทดลองหลังไม่ได้ใช้ *P. halophilus*

สำหรับปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน พบว่า ในชุดการทดลองที่ใช้เชื้อ *B. licheniformis* เพียงอย่างเดียวและชุดการทดลองที่ใช้เชื้อทั้งสองชนิดมีค่าใกล้เคียงกัน โดยที่เชื้อแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 8 วันแรกของการหมัก หลังจากนั้นปริมาณเชื้อค่อนข้างคงที่ สำหรับชุดการทดลองที่ไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้นและชุดการทดลองที่ใช้เชื้อ *P. halophilus* เพียงอย่างเดียว พบว่า เชื้อแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 8 วันแรกของการหมัก และมีค่าใกล้เคียงกับสองชุดการทดลองข้างต้น หลังจากนั้นตรวจไม่พบ

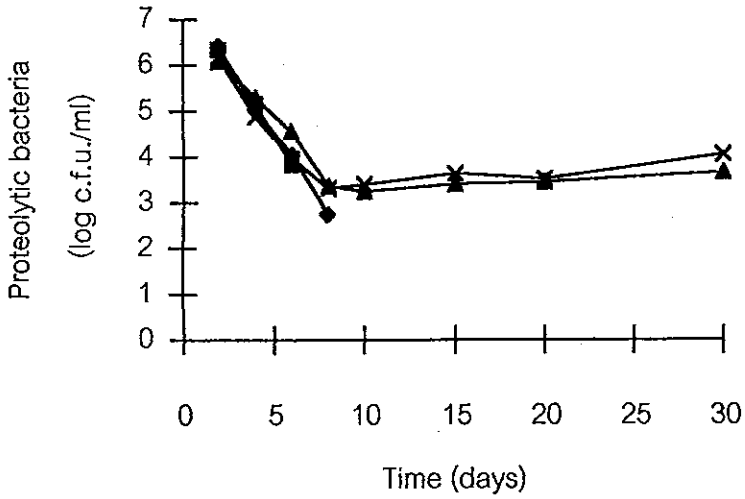
จากการทดลองในครั้งนี้ แสดงว่า เชื้อจุลินทรีย์ไม่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายปลา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Raksakulthai (1986) และ Orejana และ Liston (1981) ที่รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียมีความสำคัญน้อยในการย่อยสลายเนื้อปลา โดย Raksakulthai (1986) พบว่า ไม่มีความแตกต่างของการย่อยสลายโปรตีนระหว่างชุดการทดลองที่มีการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อฆ่าเชื้อก่อนการหมักกับชุดการทดลองที่หมักตามปกติ แต่สิ่งที่มีบทบาทสำคัญคือเอนไซม์ที่มีในปลา ซึ่งได้แก่ ทริปซิน (Gildberg and Xian-Quan, 1994 และ Orejana and Liston, 1981) คาเทปซินเอ คาเทปซินซี (Rosario and Maldo, 1984 อ้างโดย Raksakulthai, 1986) และอะมิโนเปปติเดส (Vo Van, *et al*, 1984 อ้างโดย Raksakulthai, 1986) อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดสามารถเร่งการผลิตน้ำปลา ได้แก่ โคจิของ *Aspergillus oryzae* F (บุญศรี จงเสรีจิตต์, 2533) และ *Halobacterium salinarium* (กฤษดา สมิตะสิริ, 2529) ซึ่งเชื้อชนิดหลังนี้มีการศึกษาค้นว่าไม่มีส่วนช่วยให้เกิดน้ำปลาเร็วขึ้น (วิไลลักษณ์ กลมกลาง, 2538)



ภาพที่ 21 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น (-◆-) หรือใช้เชื้อ *P. halophilus* (-■-) หรือ *B. licheniformis* (-▲-) หรือใช้เชื้อทั้งสองชนิด (-x-) เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น



ภาพที่ 22 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น (-◆-) หรือใช้เชื้อ *P. halophilus* (-■-) หรือ *B. licheniformis* (-▲-) หรือใช้เชื้อทั้งสองชนิด (-x-) เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

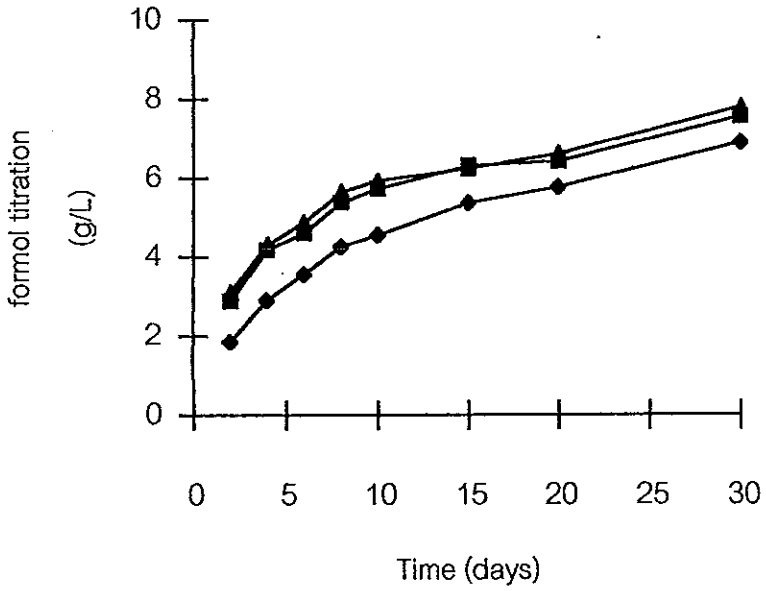


ภาพที่ 23 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น (-◆-) หรือใช้เชื้อ *P. halophilus* (-■-) หรือ *B. licheniformis* (-▲-) หรือใช้เชื้อทั้งสองชนิด (-x-) เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

1.4 ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตน้ำปลา

1.4.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

เมื่อพิจารณาค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น พบว่า การหมักปลาที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส ทำให้การย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลาเร็วกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 24 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (-◆-) 40 องศาเซลเซียส (-■-) และ 45 องศาเซลเซียส (-▲-)

เมื่อวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาหลังจากหมักไว้ 30 วัน พบว่า น้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนสูงกว่าการหมักไว้ที่อุณหภูมิ 40 และ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยต่างๆ ดังนี้ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน ปริมาณเกลือ และความเป็นกรด-ด่างมีค่าเท่ากับ 15.99 กรัมต่อลิตร, 6.53 กรัมต่อลิตร, ร้อยละ 26.36 และ 5.75 ตามลำดับ (ตารางที่ 9) แสดงว่าการหมักที่อุณหภูมิสูงจะช่วยเร่งการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Gildberg และคณะ (1984) และ Beddows และ Ardeshir (1979a) ที่พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิทำให้ผลผลิตน้ำปลาเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 9 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาเมื่อหมักไว้ 30 วัน ที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

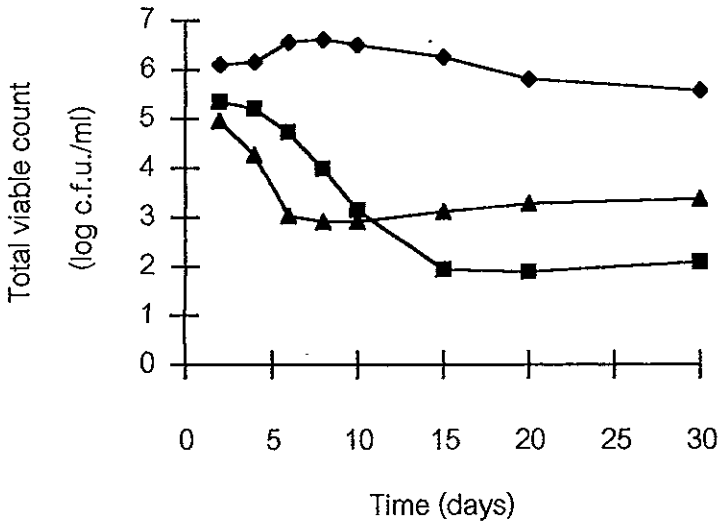
ชุดการทดลอง	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด [1] (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน [1] (กรัมต่อลิตร)	เกลือ [1] (ร้อยละ)	ความเป็นกรด-ด่าง [1]
35 องศาเซลเซียส	12.21 ± 0.22^{a2}	4.82 ± 0.03^{a2}	27.10 ± 0.30^{b2}	6.04 ± 0.22^{a2}
40 องศาเซลเซียส	15.29 ± 0.27^{b}	6.09 ± 0.14^{b}	26.61 ± 0.25^{ab}	5.93 ± 0.12^{a}
45 องศาเซลเซียส	15.99 ± 0.07^{c}	6.53 ± 0.24^{b}	26.36 ± 0.31^{a}	5.75 ± 0.05^{a}

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

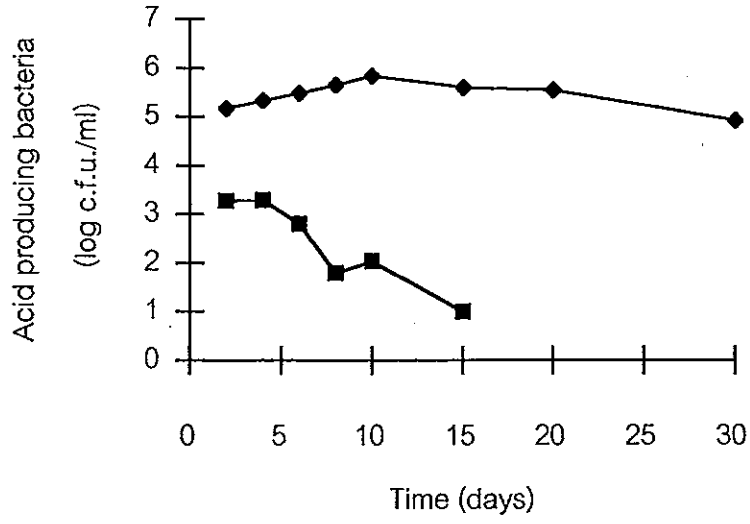
[2] ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

1.4.2 การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์

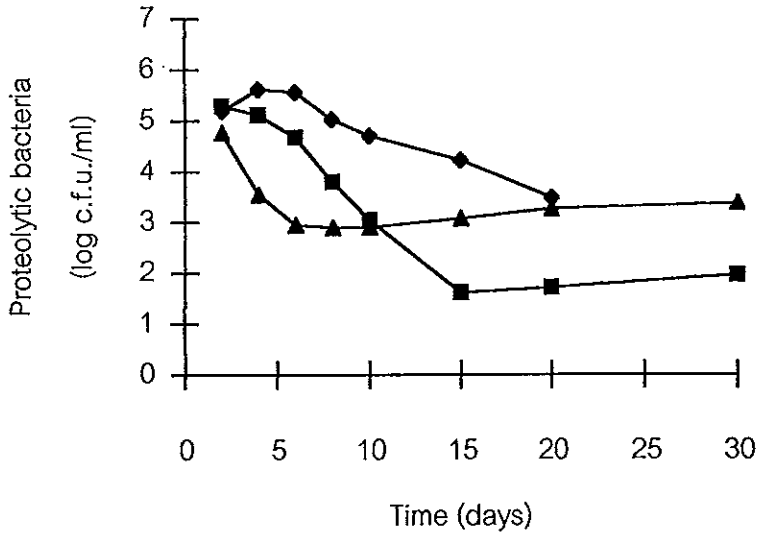
จากการหมักน้ำปลาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดและแบคทีเรียที่ผลิตกรด มีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วง 10 วันแรก หลังจากนั้นค่อยๆ ลดลง ส่วนแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน มีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วง 6 วันแรก หลังจากนั้นมีปริมาณลดลง สำหรับที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดและปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 15 วันแรก จากนั้นปริมาณค่อนข้างคงที่ ในขณะที่แบคทีเรียที่ผลิตกรดลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 15 วันแรกของการหมัก จากนั้นไม่สามารถตรวจพบเชื้อชนิดนี้ สำหรับที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดและปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 6 วันแรก จากนั้นปริมาณค่อนข้างคงที่ ในขณะที่ไม่สามารถตรวจพบแบคทีเรียที่ผลิตกรดตั้งแต่เริ่มแรกของการหมัก (ภาพที่ 25-27) แสดงว่าแบคทีเรียที่ผลิตกรดซึ่งมีอยู่ในวัตถุดิบปลา (3.63 log c.f.u./g) และเปลือกสับปะรด (5.00 log c.f.u./g) ไม่สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส แต่สามารถทนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ได้นาน 15 วัน ในขณะที่ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเชื้อชนิดนี้สามารถเจริญได้ ทั้งนี้มีรายงานว่าเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส โดยที่มีอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30-32 องศาเซลเซียส (Pederson, 1979)



ภาพที่ 25 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (-◆-) 40 องศาเซลเซียส (-■-) และ 45 องศาเซลเซียส (-▲-)



ภาพที่ 26 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (-◆-) และ 40 องศาเซลเซียส (-■-)



ภาพที่ 27 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (-◆-) 40 องศาเซลเซียส (-■-) และ 45 องศาเซลเซียส (-▲-)

1.5 ผลของลักษณะการหมักปลาต่อการผลิตน้ำปลา

1.5.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

เมื่อหมักน้ำปลาโดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดเท่ากับร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา ในถังหมักแบบหมุนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส อัตราการหมุนประมาณ 4 นาทีต่อรอบ พบว่า เมื่อหมักได้ 2 และ 4 วัน ค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักแบบหมุนสูงกว่าการหมักแบบไม่หมุน ($P<0.05$) (ตารางที่ 10) โดยมีค่า 3.39 กรัมต่อลิตร และ 4.74 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในขณะที่การหมักแบบไม่หมุนมีค่า 2.73 กรัมต่อลิตร และ 4.35 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน ปริมาณเกลือ และค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำปลาที่ได้จากการหมักแบบหมุนเมื่อหมักได้ 4 วัน มีค่าเท่ากับ 15.22 กรัมต่อลิตร, 4.42 กรัมต่อลิตร, ร้อยละ 25.29และ 5.52 ตามลำดับ ส่วนน้ำปลาที่ได้จากการหมักแบบไม่หมุน มีค่าเท่ากับ 12.71 กรัมต่อลิตร, 3.98 กรัมต่อลิตร, ร้อยละ 26.46 และ 5.86 ตามลำดับ (ตารางที่ 11) จะเห็นได้ว่าการหมักแบบหมุนทำให้การย่อยโปรตีนในเนื้อปลาเกิดขึ้นเร็วกว่า

การหมักแบบไม่หมุน และน้ำปลาที่ได้จากการหมักแบบหมุนไว้เพียง 4 วัน มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณเกลือและค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในน้ำปลาชั้นคุณภาพที่สอง ซึ่งกำหนดไว้ว่า ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต้องไม่น้อยกว่า 15 กรัมต่อลิตร ปริมาณเกลือต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 23 และค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 5-6 ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากการเคลื่อนที่เสียดสีกันของวัสดุเศษเหลือปลาภายในถังหมักและการไหลเวียนของของเหลวทำให้เนื้อปลาหลุดออกจากหัวและก้างกลายเป็นเนื้อที่มีขนาดเล็กๆ เป็นเหตุให้พื้นที่ผิวสัมผัสกับเอนไซม์มีมากขึ้น ทำให้เอนไซม์สามารถย่อยปลาได้ทั่วถึงตลอดเวลา จึงทำให้การย่อยปลาเกิดได้เร็วกว่าการหมักแบบไม่หมุน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของปราณิศา เชื้อโพธิ์หัก และคณะ (2541) ที่ใช้วิธีหมักในถังกวน และสายพิณ ไชยนันทน์ (2527) ที่ใช้ระบบหมุนเวียนของน้ำปลาเพื่อเร่งการย่อยสลายปลาว่า น้ำปลาที่ได้จากการหมักโดยวิธีนี้มีปริมาณไนโตรเจนสูงกว่าน้ำปลาที่ได้จากการหมักแบบปกติเมื่อใช้เวลาในการหมักเท่ากัน

ลักษณะของหัวปลาและก้างปลาเมื่อหมักไว้ 2 วันพบว่า ในการหมักแบบหมุน ก้างปลาจะแตกเป็นชิ้นเล็กๆ ที่ไม่มีเนื้อปลาติดอยู่ ส่วนเนื้อที่หัวปลาจะหลุดออกเกือบหมด เหลือลักษณะเป็นโครงของหัวปลาเพียงบางส่วน ซึ่งหลังจากหมักไว้ 4 วัน หัวปลาและก้างปลาจะแตกเป็นเศษเล็กๆ ที่ไม่มีเนื้อปลาติดอยู่อีก (ภาพที่ 28) ในขณะที่การหมักแบบไม่หมุน ก้างและหัวปลาจะยังคงรูปเดิม แต่เนื้อที่ติดอยู่จะยุ่ยขึ้นเล็กน้อย

ตารางที่ 10 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ในสภาวะการหมัก 2 ลักษณะ

ชุดการทดลอง	ฟอร์มัลไตเตรชั่น (กรัมต่อลิตร)[1]	
	หมัก 2 วัน	หมัก 4 วัน
ถังหมักแบบไม่หมุน	2.73 ± 0.09^{a2}	4.35 ± 0.14^{a2}
ถังหมักแบบหมุน	3.39 ± 0.06^{b}	4.74 ± 0.09^{b}

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

[2] ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

ตารางที่ 11 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ในสภาวะการหมัก 2 ลักษณะ

ชุดการทดลอง	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)[1]	ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (กรัมต่อลิตร)[1]	เกลือ (ร้อยละ)	ความเป็นกรด-ด่าง
ถังหมักแบบไม่หมุน	12.71 ± 0.02^{a2}	3.98 ± 0.00^{a2}	26.46	5.86
ถังหมักแบบหมุน	15.22 ± 0.01^{b}	4.42 ± 0.01^{b}	25.29	5.52

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

[2] ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

ภาพที่ 28 ลักษณะของวัสดุเศษเหลือปลาสีกุนทองตาโตภายหลังจากหมักแบบหมุนเป็นเวลา 4 วัน

1.5.2 การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด ปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดและปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนในการหมักน้ำปลาในวันที่ 2 และวันที่ 4 ของการหมักแบบไม่หมุนถังหมัก มีปริมาณลดลงจาก 5.03, 3.48 และ 4.89 log c.f.u./ml เป็น 3.99, 1.97 และ 3.60 log c.f.u./ml ตามลำดับ โดยที่แบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนมีปริมาณมากกว่าแบคทีเรียที่ผลิตกรด ในขณะที่การทดลองแบบหมุนถังหมักมีปริมาณเชื้อทั้งสามชนิดน้อยกว่า 1 log c.f.u./ml ดังแสดงในตารางที่ 12 การที่ตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ (ปริมาณที่ได้ <1 log c.f.u./ml) ในชุดการทดลองแบบหมุน อาจเนื่องมาจากเชื้อจุลินทรีย์ที่มีในวัตถุดิบเริ่มต้นอยู่ในระยะปรับตัวกับสภาวะการหมักที่มีการเคลื่อนที่อยู่ตลอดเวลา (ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดในวัสดุเศษเหลือปลาสีกุนทองตาโตและเปลือกสับปะรดเท่ากับ 5.08 และ 4.80 log c.f.u./g ปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดเท่ากับ 3.17 และ <2 log c.f.u./g และปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนเท่ากับ 3.94 และ 3.67 log c.f.u./g ตามลำดับ)

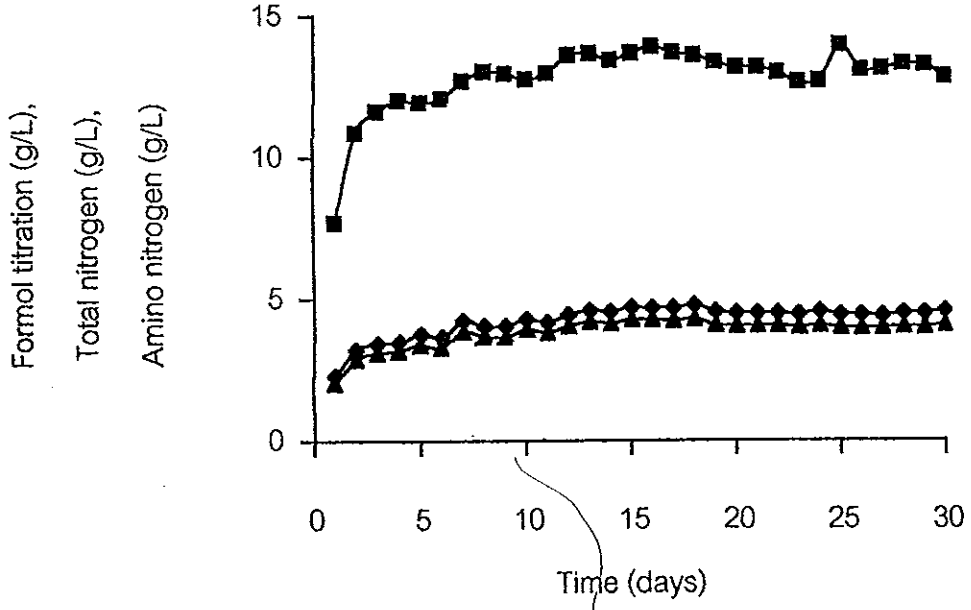
ตารางที่ 12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ในสภาวะการหมัก 2 ลักษณะ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณเชื้อ (log c.f.u./ml)			
	การหมักแบบไม่หมุน		การหมักแบบหมุน	
	หมัก 2 วัน	หมัก 4 วัน	หมัก 2 วัน	หมัก 4 วัน
เชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด	5.03	3.99	<1	<1
แบคทีเรียที่ผลิตกรด	3.48	1.97	<1	<1
แบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน	4.89	3.60	<1	<1

2. ผลของการหมักแบบต่อเนื่อง

2.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

ในช่วง 3 วันแรกของการหมักน้ำปลา อัตราการย่อยปลาจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นการย่อยปลาค่อยๆเพิ่มขึ้น หลังจากหมัก 10 วัน การย่อยปลาค่อนข้างคงที่ โดยสังเกตได้จากค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (ภาพที่ 29) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนมีปริมาณค่อนข้างคงที่อยู่ที่ 13.3 และ 4.1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าน้ำปลาชั้นคุณภาพที่สองซึ่งกำหนดไว้ที่ 15.0 และ 7.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากการหมักยังเกิดไม่สมบูรณ์ สำหรับปริมาณเกลือและค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำปลาเป็นไปตามมาตรฐานของน้ำปลาตั้งแต่เริ่มแรกของการหมัก และมีค่าค่อนข้างคงที่ตลอดช่วงการหมัก โดยปริมาณเกลือมีค่าประมาณร้อยละ 25 ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าประมาณ 5.6

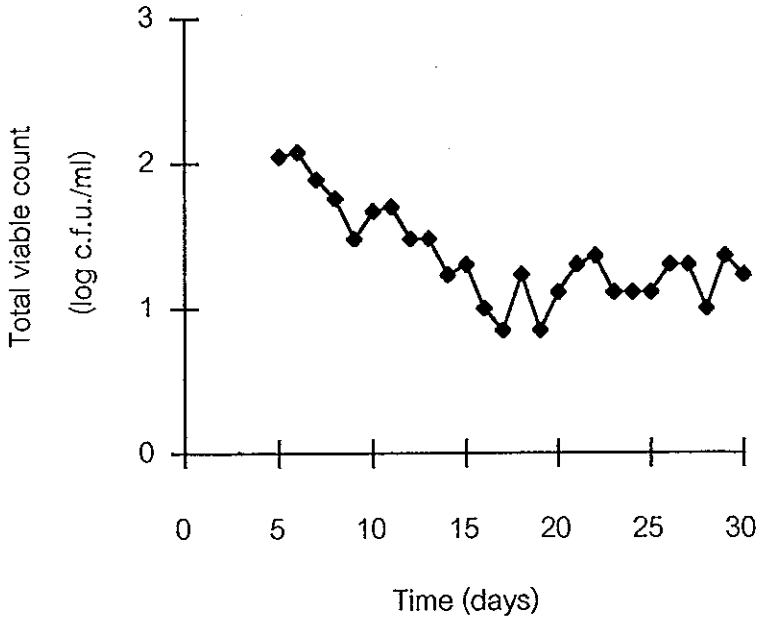


ภาพที่ 29 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น (-◆-) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (-■-) และปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (-▲-) ของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกส้มปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ในสภาวะการหมักแบบต่อเนื่อง

จากผลที่ได้จึงมีความเป็นไปได้ที่จะผลิตน้ำปลาโดยวิธีการหมักแบบต่อเนื่อง โดยนำของเหลวที่ได้จากการหมักซึ่งยังไม่ได้กรองตะกอนของปลาออกไปบ่มต่อ เพื่อให้เกิดการย่อยโปรตีนในเนื้อปลาและเกิดกลิ่นของน้ำปลาเพิ่มขึ้น

2.2 การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์

ในช่วง 4 วันแรกของการหมัก ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำปลามีน้อยกว่า 1 log c.f.u./ml หลังจากนั้นเชื้อที่ตรวจพบมีเพียงเชื้อแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน โดยมีปริมาณที่ตรวจพบในวันที่ 5 ของการหมักเท่ากับ 2.05 log c.f.u./ml ในวันต่อๆ มาปริมาณเชื้อมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ จนถึงประมาณวันที่ 15 ของการหมัก จึงเริ่มมีปริมาณค่อนข้างคงที่อยู่ที่ประมาณ 1.3 log c.f.u./ml (ภาพที่ 30)



ภาพที่ 30 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลา ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้นในสภาวะการหมักแบบต่อเนื่อง

3. การบ่มน้ำปลา

3.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

เมื่อบ่มของเหลวที่ได้จากการหมักน้ำปลาแบบต่อเนื่องซึ่งยังไม่ได้กรองตะกอนของเศษปลาทิ้ง เป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 35 40 และ 45 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้เชื้อ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น พบว่า ค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนจะมีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดหลังจากบ่มไว้ 21 วัน (ตารางที่ 13-15) โดยในชุดการทดลองที่บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น จะมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณเหล่านี้มากที่สุด โดยมีค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนเพิ่มขึ้นจาก 6.19, 14.19 และ 5.45 กรัมต่อมิลลิลิตร เป็น 8.02, 18.02 และ 6.97 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงว่าในระหว่างการบ่มของเหลวซึ่งไม่ได้กรองตะกอนของเศษทิ้งนั้น การย่อยสลายเนื้อปลายังคงดำเนินต่อไป โดยพบว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสภาพที่ใช้หรือไม่ใช้ *P. halophilus* ก็ตามจะให้ผลการย่อยสลายได้ดีที่สุด น้ำปลาที่ได้จากทุกชุดการทดลองมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมากกว่า 15 กรัมต่อลิตร ซึ่งอยู่ในมาตรฐานของน้ำปลาชั้นคุณภาพที่สอง ในขณะที่ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนมีค่าต่ำกว่ามาตรฐานของน้ำปลาชั้นคุณภาพที่สองซึ่งกำหนดไว้ว่าจะต้องไม่ต่ำกว่า 7.5 กรัมต่อลิตรเล็กน้อย ส่วนปริมาณเกลือและความเป็นกรด-ด่างของน้ำปลามีค่าเป็นไปตามมาตรฐานของน้ำปลา (ตารางที่ 16) กล่าวคือ ปริมาณเกลือสูงกว่าร้อยละ 23 และความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 5-6

ตารางที่ 13 การเปลี่ยนแปลงค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลา ในระหว่างการบ่มของเหลวที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ชุดการทดลอง	ฟอร์มัลไตเตรชั่น (กรัมต่อลิตร)[1]				
	บ่ม 0 วัน	บ่ม 7 วัน	บ่ม 14 วัน	บ่ม 21 วัน	บ่ม 28 วัน
35 องศาเซลเซียส	6.19	6.47	6.57	6.93	6.89
40 องศาเซลเซียส	6.19	6.96	6.79	7.24	7.24
45 องศาเซลเซียส	6.19	7.38	7.45	8.02	7.80
35 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	6.19	6.12	6.64	6.82	6.86
40 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	6.19	6.40	6.96	7.10	7.35
45 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	6.19	6.79	7.03	7.95	7.80

[1] ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ 1 ซ้ำ

ตารางที่ 14 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของน้ำปลา ในระหว่างการบ่มของเหลวที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ชุดการทดลอง	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (กรัมต่อลิตร) [1]				
	บ่ม 0 วัน	บ่ม 7 วัน	บ่ม 14 วัน	บ่ม 21 วัน	บ่ม 28 วัน
35 องศาเซลเซียส	14.19	15.06	15.00	15.97	15.52
40 องศาเซลเซียส	14.19	15.72	16.05	16.61	16.68
45 องศาเซลเซียส	14.19	16.05	17.41	18.02	18.02
35 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	14.19	14.11	14.71	15.33	15.27
40 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	14.19	14.65	15.36	15.52	15.68
45 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	14.19	15.27	16.86	17.60	17.45

[1] ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ 1 ซ้ำ

ตารางที่ 15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนของน้ำปลา ในระหว่างการบ่มของเหลวที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ชุดการทดลอง	ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (กรัมต่อลิตร)[1]				
	บ่ม 0 วัน	บ่ม 7 วัน	บ่ม 14 วัน	บ่ม 21 วัน	บ่ม 28 วัน
35 องศาเซลเซียส	5.45	5.71	5.74	6.03	5.95
40 องศาเซลเซียส	5.45	6.16	5.92	6.35	6.26
45 องศาเซลเซียส	5.45	6.55	6.47	6.97	6.72
35 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	5.45	5.36	5.84	5.99	5.99
40 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	5.45	5.59	6.13	6.20	6.41
45 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	5.45	5.96	6.13	6.92	6.73

[1] ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ 1 ซ้ำ

ตารางที่ 16 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลา เมื่อบ่มของเหลวที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ชุดการทดลอง	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)[1]	ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (กรัมต่อลิตร)[1]	เกลือ (ร้อยละ)[1]	ความเป็นกรด-ด่าง[1]
35 องศาเซลเซียส	15.52	5.95	27.34	5.48
40 องศาเซลเซียส	16.68	6.26	28.52	5.47
45 องศาเซลเซียส	18.02	6.72	28.52	5.42
35 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	15.27	5.99	27.34	5.46
40 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	15.68	6.41	28.96	5.51
45 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	17.45	6.73	28.22	5.43

[1] ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ 1 ซ้ำ

3.2 การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด ปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดและปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนในทุกชุดการทดลองมีปริมาณค่อนข้างคงที่ในระหว่างวันที่ 7 – 28 ของการบ่ม ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดมีค่าใกล้เคียงกันในทุกชุดการทดลองยกเว้นในชุดการทดลองที่บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสและใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นที่มีปริมาณสูงกว่าในชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 17) ที่เป็นเช่นนี้เพราะว่า *P. halophilus* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิดังกล่าว (Buchanan and Gibbons, 1974) นอกจากนี้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดในชุดการทดลองอื่นๆ เป็นแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนทั้งสิ้น โดยตรวจไม่พบแบคทีเรียที่ผลิตกรด (ตารางที่ 18) ซึ่งแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนมีปริมาณใกล้เคียง

กันในทุกชุดการทดลอง รวมทั้งชุดการทดลองที่บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น (ตารางที่ 19) จึงเป็นสาเหตุให้ชุดการทดลองที่บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสและใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นมีปริมาณสูงกว่าในชุดการทดลองอื่นๆ

ตารางที่ 17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดของน้ำปลา ในระหว่างการบ่มของเหลวที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ชุดการทดลอง	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (log c.f.u./ml) [1]				
	บ่ม 0 วัน	บ่ม 7 วัน	บ่ม 14 วัน	บ่ม 21 วัน	บ่ม 28 วัน
35 องศาเซลเซียส	2.01	1.63	1.63	1.90	1.78
40 องศาเซลเซียส	2.01	1.67	1.52	1.89	1.90
45 องศาเซลเซียส	2.01	1.89	1.63	2.00	1.89
35 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	6.39	2.85	3.29	2.90	2.72
40 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	6.39	1.52	1.89	1.78	1.70
45 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	6.39	2.08	2.09	1.97	1.72

[1] ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ 1 ซ้ำ

ตารางที่ 18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลา ในระหว่างการบ่มของเหลวที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรด (log c.f.u./ml) [1]				
	บ่ม 0 วัน	บ่ม 7 วัน	บ่ม 14 วัน	บ่ม 21 วัน	บ่ม 28 วัน
35 องศาเซลเซียส	<1	<1	<1	<1	<1
40 องศาเซลเซียส	<1	<1	<1	<1	<1
45 องศาเซลเซียส	<1	<1	<1	<1	<1
35 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	6.39	2.81	2.26	2.87	2.70
40 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	6.39	<1	<1	<1	<1
45 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	6.39	<1	<1	<1	<1

[1] ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ 1 ซ้ำ

ตารางที่ 19 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลา ในระหว่างการบ่มของเหลวที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน (log c.f.u./ml) [1]				
	บ่ม 0 วัน	บ่ม 7 วัน	บ่ม 14 วัน	บ่ม 21 วัน	บ่ม 28 วัน
35 องศาเซลเซียส	2.01	1.63	1.63	1.90	1.78
40 องศาเซลเซียส	2.01	1.67	1.52	1.89	1.90
45 องศาเซลเซียส	2.01	1.89	1.63	2.00	1.89
35 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	1.97	1.67	1.90	1.76	1.48
40 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	1.97	1.52	1.89	1.78	1.70
45 องศาเซลเซียส + เชื้อ *P. halophilus*	1.97	2.08	2.09	1.97	1.72

[1] ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ 1 ซ้ำ

3.3 สีและกลิ่นของน้ำปลา

น้ำปลาที่ได้หลังจากบ่มไว้ 28 วันในทุกชุดการทดลอง มีสีน้ำตาลอ่อนไม่เข้ม เป็นสีน้ำตาลแดงเหมือนของน้ำปลายี่ห้อทิพรสซึ่งเป็นน้ำปลาชั้นคุณภาพที่หนึ่ง และมีกลิ่นด้อยกว่าน้ำปลายี่ห้อทิพรสอย่างชัดเจน (ตารางภาคผนวกที่ ค24) ที่เป็นเช่นนี้อาจมีสาเหตุได้หลายประการ ได้แก่ ประการแรก ชนิดของปลาที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการหมัก น้ำปลายี่ห้อทิพรสใช้ปลาไส้ตันทั้งตัว ซึ่งจะทำให้ได้น้ำปลาสีน้ำตาลแดง และมีกลิ่นหอม (ลูกจันทร์ ภัครัชพันธุ์, 2522) ในขณะที่การทดลองครั้งนี้ใช้วัสดุเศษเหลือปลา ซึ่งมีเฉพาะหัวและก้างของปลาสีกุนทองตาโต ไม่มีเครื่องในและเนื้อปลาซึ่งจะเป็นแหล่งของเอนไซม์ จุลินทรีย์และโปรตีนที่สมบูรณ์ ประการที่สอง เชื้อจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในของเหลวที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องมีแต่เชื้อ *Bacillus* ซึ่งไม่ใช่เชื้อจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการเกิดกลิ่นน้ำปลา (สายพิณ ไชยนันทน์ และ สิทธิพันธ์ ไชยนันทน์, 2526 และ ยงยศ จุฑามาตยางกูร, 2522) อย่างไรก็ตาม ได้ทดลองใช้เชื้อ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการบ่มน้ำปลา แต่พบว่าน้ำปลาที่ได้ยังคงมีกลิ่นน้ำปลาน้อยมาก ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากว่าในของเหลวที่นำมาบ่มไม่มีแหล่งธาตุคาร์บอนที่จะทำให้เชื้อ *P. halophilus* เจริญได้ดี จึงทำให้ไม่สร้างกลิ่นของน้ำปลา (ยงยศ จุฑามาตยางกูร, 2522) ประการที่สาม ระยะเวลาในการหมักน้ำปลาไม่นาน ทำให้การเกิดสีและกลิ่นของน้ำปลายังไม่สมบูรณ์ ประการที่สี่ ในการทดลองครั้งนี้ใช้วัสดุเศษเหลือปลาที่ผ่านการแช่แข็งแล้วนำมาละลายก่อนการหมักน้ำปลา ซึ่งจากการศึกษาของผ่องเพ็ญ รัตตกูล และคณะ (2536) พบว่า การใช้ปลาแช่แข็งจะทำให้น้ำปลาที่ได้มีกลิ่นรสด้อยกว่าการใช้ปลาสด ประการที่ห้า ตามปกติแล้วหลังจากบ่ม ต้องนำน้ำปลาไปต้มและมีการปรุงแต่งสีและกลิ่น แต่ในการทดลองครั้งนี้ไม่ได้ทำ

บทที่ 4

สรุป

จากผลการศึกษาการผลิตน้ำปลาโดยกระบวนการแบบต่อเนื่องได้ข้อสรุปดังนี้

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตน้ำปลา

ผลของปริมาณเกลือต่อการผลิตน้ำปลา

การหมักวัสดุเศษเหลือปลาสีกุนทองตาโต 3 ระดับ คือ ที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 2 ต่อ 1, 3 ต่อ 1 และ 4 ต่อ 1 ที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 5 และร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา โดยใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่า ที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 4 ต่อ 1 มีการย่อยสลายเนื้อปลาได้เร็วที่สุดตลอดระยะเวลาของการหมัก

ผลของปริมาณเปลือกสับปะรดต่อการผลิตน้ำปลา

การใช้เปลือกสับปะรดในปริมาณร้อยละ 0, 5 และ 10 ของน้ำหนักปลา ที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 4 ต่อ 1 โดยใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น หมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่า ในช่วง 20 วันแรกของการหมัก การใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 10 มีการย่อยสลายเนื้อปลาได้เร็วที่สุด

ผลของ *B. licheniformis* และ *P. halophilus* ต่อการผลิตน้ำปลา

การใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการหมักน้ำปลา โดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา หมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่า เชื้อทั้งสองไม่มีผลทำให้การผลิตน้ำปลาเร็วขึ้น

ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตน้ำปลา

ในการหมักน้ำปลาที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น หมักที่อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่า น้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนสูงกว่าการหมักไว้ที่อุณหภูมิ 40 และ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

ผลของลักษณะการหมักปลาต่อการผลิตน้ำปลา

เมื่อหมักน้ำปลาโดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือเท่ากับ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดเท่ากับร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา โดยไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ในถังหมักแบบหมุนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน อัตราการหมุนประมาณ 4 นาทีต่อรอบ พบว่าการหมักในถังหมักแบบหมุนทำให้การย่อยโปรตีนในเนื้อปลาเกิดขึ้นเร็วกว่าในถังหมักแบบไม่หมุน โดยที่ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณเกลือและค่าความเป็นกรด-ด่าง มีค่าอยู่ในมาตรฐานน้ำปลาชั้นคุณภาพที่สองเมื่อหมักได้ 4 วัน

ผลของการหมักแบบต่อเนื่อง

ในการหมักแบบต่อเนื่องในถังหมักแบบหมุนที่เติมวัตถุดิบใหม่ทุกวันตลอดระยะเวลาการหมัก 30 วัน พบว่า ค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน มีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วง 10 วันแรกของการหมัก จากนั้นค่อนข้างคงที่ โดยมีค่า 4.52, 13.29 และ 4.08 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าน้ำปลาชั้นคุณภาพที่สอง

การบ่มน้ำปลา

เมื่อบ่มของเหลวที่ได้จากการหมักน้ำปลาแบบต่อเนื่องที่ยังไม่ได้กรองตะกอนของเศษปลาทิ้ง ที่อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้เชื้อ *P. halophilus* เป็นเวลา 28 วัน พบว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโนเพิ่มขึ้นสูงสุด เมื่อบ่มได้ 21 วัน โดยมีค่า 8.02, 18.02 และ 6.97 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ น้ำปลาที่ได้ในทุกชุดการทดลองมีสีน้ำตาลอ่อนและมีกลิ่นด้อยกว่าน้ำปลายี่ห้อทิพรส

ข้อเสนอแนะ

แม้ว่าการผลิตน้ำปลาแบบต่อเนื่องในงานวิจัยครั้งนี้ จะสามารถลดระยะเวลาในการผลิตน้ำปลาได้ในระดับหนึ่ง แต่เพื่อให้งานวิจัยเกิดความสมบูรณ์ยิ่งขึ้นและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริงในระดับอุตสาหกรรม ทางผู้วิจัยมีความเห็นว่าควรจะได้มีการศึกษาเพิ่มเติมดังนี้

1. ศึกษาค่าใช้จ่ายในการลงทุนเพื่อผลิตน้ำปลาแบบต่อเนื่องในระดับอุตสาหกรรม
2. ศึกษาวิธีการที่จะทำให้น้ำปลาที่ได้มีกลิ่นที่ดี เช่น การใช้วัสดุเศษเหลือปลาที่มีเครื่องในผสมอยู่ด้วยและไม่ผ่านการแช่แข็งก่อนการหมักน้ำปลา
3. ศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการใช้ปลาชนิดอื่นมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำปลา
4. ศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการนำน้ำปลาที่ได้ไปผสมกับหัวน้ำปลาแท้ เนื่องจากน้ำปลาที่ได้มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงพอสมควร ซึ่งจะเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการผลิตน้ำปลาได้ส่วนหนึ่ง
5. ศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการนำของเหลวที่ได้จากการหมักน้ำปลาแบบต่อเนื่องที่ยังไม่ได้กรองตะกอนของเศษปลาทิ้งมาผลิตบูดู เนื่องจากมีลักษณะและกลิ่นคล้ายบูดู

เอกสารอ้างอิง

กฤษดา สมิตะสิริ. 2529. บักเตรีชอบเกลือในการหมักน้ำปลา. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ข่าวสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 2529. การเปรียบเทียบวิธีการเตรียมน้ำปลาที่ผลิตขึ้นบริโภคเอง. 27 : 4-7.

ณรงค์ นิยมวิทย์. 2538. องค์ประกอบและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของอาหาร. บริษัทฟอร์แมทพริ้นติ้ง จำกัด, กรุงเทพฯ.

ตวงทิพย์ อรุณไพโรจน์ และ ไพโรจน์ หลวงพิทักษ์. 2539. น้ำปลา..อย่างไรจึงมีคุณภาพ. วารสารเพื่อคุณภาพและเทคนิคการบริหารธุรกิจ. 3 : 97-99.

ทนง ภัครัชพันธุ์. 2533. บรอมิเลน : สารทรงคุณค่าจากต้นสับปะรด. อุตสาหกรรมเกษตร. 1 : 63-69.

บุญศรี จงเสรีจิตต์. 2533. การผลิตโคจิเพื่อใช้ในการหมักน้ำปลา. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประเสริฐ สายสิทธ์. 2511. กลิ่นและรสของน้ำปลา. วารสารการประมง. 21 : 467-476.

ประเสริฐ สายสิทธ์. 2514. ผลิตภัณฑ์ประมงและหลักการถนอม. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประเสริฐ สายสิทธ์. 2527. น้ำปลา. ใน กรรมวิธีอุตสาหกรรมประมง.หน้า 112-124. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประเสริฐ สายสิทธ์. 2533. การถนอมปลาในประเทศเอเชียอาคเนย์. อาหาร. 20 : 75-95.

ปราณิศา เชื้อโพธิ์หัก, นงนุช รักสกุลไทย และ ดวงเดือน กุลวิลัย. 2541. ผลการเพิ่มปริมาณออกซิเจนต่อกระบวนการหมักน้ำปลา. อาหาร. 28 : 22-30.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2535. โปรติเอส. ใน เอนไซม์ทางอาหาร ตอนที่ 1. หน้า 171-192. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ผ่องเพ็ญ รัตตกูล, วารุณี เสนสุภา และ วิสันต์ แสนสิงห์. 2536. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตน้ำปลา. เอกสารวิชาการฉบับที่ 10/2536. กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ. กรมประมง.

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก. 2532. กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร. โอ เอส พริ้นติ้ง เฮ้าส์, กรุงเทพฯ.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2526. น้ำปลาพื้นเมือง. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ.

มัทนา แสงจินดาวงศ์ และ สมศักดิ์ วินิจนันทรัตน์. 2527. การศึกษาชนิดและปริมาณแบคทีเรียในระยะต้นของการทำน้ำปลา. วารสารการประมง. 37 : 69-72.

ยงยศ จุฑามาตยางกูร. 2522. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของบักเตรี *Pediococcus sp.* ที่แยกได้จากน้ำปลา. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลูกจันทน์ ภัครัชพันธุ์. 2522. อาหารหมักจากปลา. ใน อุตสาหกรรมอาหารหมักดอง. หน้า 136-144. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วรรณา ชูฤทธิ์ และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์. 2532. การแยกจุลินทรีย์ย่อยโปรตีนและคุณสมบัติบางประการของเอนไซม์โปรติเอส. รายงานการวิจัยภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วิไลลักษณ์ กลมกลาง. 2538. การศึกษาการหมักน้ำปลาโดยใช้เชื้อแบคทีเรียชอบเกลือร่วมกับโคจิ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สายพิณ ไชยนันทน์. 2527. การศึกษาการผลิตน้ำปลาโดยใช้แพคเบดคอลัมน์. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. ครั้งที่ 10. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 25-27 ต.ค. 2527.

สายพิณ ไชยนันทน์. 2528. น้ำปลาอาหารหมักพื้นบ้าน. ชัยพฤกษ์วิทยาศาสตร์. 32 : 8-10.

สายพิณ ไชยนันทน์ และ นิวัฒน์ ฉายโชติเจริญ. 2530. กิจกรรมย่อยสลายโปรตีนของแบคทีเรียที่ทนเกลือได้ 10%. วารสารครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์. 6 : 115-125.

สายพิณ ไชยนันทน์ และ สิทธิพันธุ์ ไชยนันทน์ . 2526. การศึกษาบักเตรีที่มีบทบาททำให้เกิดกลิ่นในน้ำปลาไทย. วารสารครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์. 2 : 1-14.

สิทธิพันธุ์ ไชยนันทน์. 2533. การสร้างสารระเหยได้ของแบคทีเรียที่พบในน้ำปลา. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. ครั้งที่ 16. ลาดกระบังและเซ็นทรัลพลาซ่า. 25-27 ต.ค. 2533.

สุวิทย์ อารีกุล. 2518. คุณค่าทางอาหารของน้ำปลาไทย. วารสารสุขภาพ. 3 : 109-117.

อรพิน ภูมิภมร. 2526. น้ำปลาและผลิตภัณฑ์ปลาหมัก. ใน จุลินทรีย์ในเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์และอาหารหมักพื้นเมือง. หน้า 71-84. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

A.O.A.C. 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 16th Ed. The Association of Official Analytical Chemists Inc., Verginia.

Barzana, E. and Garcia-Garibay, M. 1994. Production of Fish Protein Concentrates *In* Fisheries Processing Biotechnological Applications. (A.M. Martin, ed.) p. 206-222. Chapman & Hall, London.

Beddows, C.G. and Ardeshir, A.G. 1979a. The production of soluble fish protein soluble for use in fish sauce manufacture I. The use of added enzymes. J. Fd. Technol. 14 : 603-612.

Beddows, C.G. and Ardeshir, A.G. 1979b. The production of soluble fish protein soluble for use in fish sauce manufacture II. The use of acids at ambient temperature. J. Fd. Technol. 14 : 613-623.

Beddows, C.G., Ardeshir, A.G. and Daud, W.J. 1979c. Biochemical changes occuring during the manufacture of Budu . J. Sci. Food Agric. 30 : 1097-1103.

Beddows, C.G., Ismail, M. and Steinkraus, K.H. 1976. The use of bromelain in the hydrolysis of mackerel and the investigation of fermented fish aroma. J. Fd. Technol. 11 : 379-388.

Beddows, C.G., Ardeshir, A.G. and Daud, W.J. 1980. Development and origin of the volatile fatty acids in Budu. J. Sci. Food Agric. 31 : 86-92.

Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E. 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th Ed. Williams & Wilkins. Co, Baltimore.

Chaiyanan, S., Sarayanit, S., Chamaoot, M. and Kesornmala, C. 1988. Fish Sauce Fermentation by Using Microbial Inoculation and Recycling System. *In* Food Science and Technology in Industrial Development Vol. I. Proceedings of the food conference, 88 Bangkok, Thailand, 24-26 October 1988. p. 320-325.

Chin, K.D. and Koehler, P.E. 1986. Effect of salt concentration and incubation temperature on formation of histamine, phenetylamine, tryptamine and tyramine during miso fermentation. J. Food Prot. 49 : 423-427.

Crisan, E.V. and Sands, A. 1975. Microflora of four fremented fish sauces. Appl. Microbiol. 29 : 106-108.

Dougan, J. and Howard, G.E. 1975. Some flavouring constituents of fermented fish sauces. J. Sci. Food Agric. 26 : 887-894.

Fuke, S. 1994. Taste-Active Components of Seafoods with Special Reference to Umami Substances. *In* Seafoods : Chemistry, Processing Technology and Quality. (F. Shahidi and J. R. Botta, eds.) p. 115-139. St Edmundsbury Press, London.

Gildberg, A., Hermes, J.E. and Orejana, F.M. 1984. Acceleration of autolysis during fish sauce fermentation by adding acid and reducing the salt content. J. Sci. Food Agric. 35 : 1363-1369.

Gildberg, A. and Xian-Quan, S. 1994. Recovery of tryptic enzymes from fish sauce. Process. Biochem. 29 : 151-155.

Greig, R.W. and Estrella, D.C. 1988. A Study of the Acceleration of Fish Sauce Production Using Enzymes. *In* Food Science and Technology in Industrial Development Vol. I. Proceedings of the food conference, 88 Bangkok, Thailand, 24-26 October 1988.

Haard, N.F. and Simpson, B.K. 1994. Proteases from Aquatic Organisms and Their Uses in the Seafood Industry. *In* Fisheries Processing Biotechnological Applications (A.M. Martin, ed.) p.132-154. Chapman & Hall, London.

Ijong, F.G. และ Ohta, Y. 1996. Physicochemical and microbiology changes associated with Bakasang processing - a traditional Indonesian fermented fish sauce. J. Sci. Food Agric. 71 : 69-74.

Kirk, R.S. and Sawyer, R. 1991. Pearson's Composition and Analysis of Food. 9th Ed. Longman, U.K.

Lindsay, R.C. 1994. Flavour in Fish. *In* Seafoods : Chemistry, Processing Technology and Quality. (F. Shahidi and J. R. Botta, eds.) p. 75-84. St Edmundsbury Press, London.

McIver, R.C., Brooks, R.I. and Reineccius, G.A. 1982. Flavor of fermented fish sauce. J. Agric. Food Chem. 30 : 1017-1020.

Mittranond, C. and Okada, H. 1987. Purification and characterization of halotolerant protease from fish visceral organ. Annual Report of ICBiotech Vol. 10, International Center of Cooperative Research in Biotechnology, Japan Faculty of Engineering Osaka University. Japan.

Miwa, K. and Low, S.J. 1992. Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish Products. 2nd Ed. Marine Fisheries Research Department, Singapore.

Murachi, T. 1970. Bromelain Enzymes *In* Methods in Enzymology Vol XIX Proteolytic Enzymes. (G.E. Perlmann and L. Lorand, eds.) p. 273-284. Academic Press, Inc., New York.

Orejana, F.M. and Liston, J. 1981. Agents of proteolysis and its inhibition on Patis (fish sauce) fermentation. J. Food Sci.47 : 198-203, 209.

Owens, J.D. and Mendoza, L.S. 1985. Enzymically hydrolysed and bacterially fermented fishery products. J. Fd. Technol. 20 : 273-293.

Pederson, C.S. 1979. Microbiology of Food Fermentation. 2nd Ed. AVI Publishing Co.,Inc, Westport.

Poosaran, N. 1986a. Fish sauce. I : acid hydrolysis at ambient temperature. Songklanakarin J. Sci. Technol. 8 : 43-46.

Poosaran, N. 1986b. Fish sauce. II : enzyme hydrolysis. Songklanakarin J. Sci. Technol. 8 : 205-207.

Raksakulthai, N. 1986. Role of Protein Degradation in Fermentation of Fish Sauce. Ph.D. Philosophy, Memorial University of Newfoundland. Canada.

Raksakulthai, N. and Haard, N.F. 1992. Correlation between the concentration of peptides and amino acids and the flavour of fish sauce. ASEAN Food J. 7 : 86-90.

Raksakulthai, N., Lee, Y.Z. and Haard, N.F. 1986. Effect of enzyme supplements on the production of fish sauce from male capelin (*Mallotus villosus*). Can. Inst. Food Sci Technol. J. 19 : 28-33.

Riaz, M., Fatima, R. and Qadri, R.B. 1986. Biochemical changes during the preparation of fish sauce using sardines. Trop. Sci. 26 : 213-222.

Saisithi, P. 1987. Traditional fermented fish products with special reference to Thai products. ASEAN Food J. 3 : 3-10.

Sanceda, N.G., Kurata, T. and Arakawa, N. 1984 . Fractionation and identification of volatile compounds in Patis, a Philippine fish sauce. Agric. Biol. Chem. 48 : 3047-3052.

Sanceda, N.G., Kurata, T. and Arakawa, N. 1986 . Study on the volatile compounds of fish sauces - Shottsuru, Nampla and Noucmam. Agric. Biol. Chem. 50 : 1201-1208.

Sanceda, N.G., Kurata, T. and Arakawa, N. 1988. Effect of the addition of various kinds of protein sources and amino acids on the aroma of fish sauce. Phil. Agr. 71 : 125-132.

Sanceda, N.G., Kurata, T., and Arakawa, N. 1990 . Overall quality and sensory acceptance of a lysine-fortified fish sauce. J. Food Sci. 55 : 983–988.

Sanceda, N.G., Kurata, T. and Arakawa, N. 1996. Accelerated fermentation process for the manufacture of fish sauce using histidine. J. Food Sci. 61 : 220-222, 225.

Sanceda, N.G., Kurata, T., Suzuki, Y. and Arakawa, N. 1992. Oxygen effect on volatile acids formation during fermentation in manufacture of fish sauce. J. Food Sci. 57 : 1120-1122.

Sanchez, P.C. and Klitsaneephaiboon, M. 1983. Traditional fish sauce (Patis) fermentation in the Philippines. Phil. Agr. 66 : 251-269.

Shahidi, F. 1994. Seafood Proteins and Preparation of Protein Concentrates. *In* Seafoods : Chemistry, Processing Technology and Quality (F. Shahidi and J.R. Botta, eds.) p. 3-9. Chapman & Hall, Glasgow.

Vanderzant, C. and Splittstoesser, D.F. 1992. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3rd Ed. American Public Health Association, Washington.

Wong, D.W.S. 1989. Mechanism and Theory in Food Chemistry. Van Nostrand Reinhold, New York.

Zuberi, R., Shamshad, S.I. and Qadri, R.B. 1988. Bacterial flora of fermented fish sauce prepared from sardines in Pakistan. Trop. Sci. 28 : 239-246.

ภาคผนวก

ก. วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี

1. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (A.O.A.C., 1995)

อุปกรณ์

1. หลอดย่อยตัวอย่าง ขนาด 250-300 มล.
2. ชุดย่อยตัวอย่าง ยี่ห้อ Gerhardt รุ่น Kjeldatherm
3. ชุดกลั่นตัวอย่าง ยี่ห้อ Gerhardt รุ่น Vapodest 30
4. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มล.
5. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 1,000 มล.
6. ปิเปต ขนาด 1 มล.
7. บิวเรต ขนาด 25 มล.
8. เครื่องหมุนแบบแม่เหล็ก (magnetic stirrer) และแท่งแม่เหล็ก

สารเคมี

1. กรดซัลฟุริกเข้มข้น
2. คอปเปอร์ซัลเฟต
3. โปแตสเซียมซัลเฟต
4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 10

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 100 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล.

5. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 400 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล.

6. สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4

ละลายกรดบอริก 40 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล.

7. สารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.06 นอร์มัล
8. อินดิเคเตอร์ที่ใช้ในการย่อย

ละลายเมธิลเรด 0.05 กรัม ในเอธานอลเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 50 มล.

9. อินดิเคเตอร์ที่ใช้ในการกลั่น

9.1 ละลายเมธิลเรด 0.0625 กรัม และเมธิลลีนบลู 0.0410 กรัม ในเอธานอลเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 50 มล.

9.2 ละลายโบรโมครีซอลกรีน 0.01 กรัม ในน้ำกลั่นจำนวน 10 มล.

9.3 ผสมสารละลายข้อ 9.1 และ 9.2 เข้าด้วยกัน

วิธีการ

1. ชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต 0.45 กรัม และโปแตสเซียมซัลเฟต 4.54 กรัม ใส่ในหลอดย่อยตัวอย่าง

2. ปิเปตน้ำปลา 1 มล. ลงในหลอดย่อยตัวอย่าง

3. เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 20 มล.

4. นำไปย่อยด้วยชุดย่อยตัวอย่าง จนกระทั่งได้สารละลายใส ปล่อยทิ้งให้เย็น ในระหว่างการย่อย ให้ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 10 ที่ผสมอินดิเคเตอร์ที่ใช้ในการย่อยเป็นสารที่รองรับกรดที่ระเหยจากการย่อย

5. เตรียมชุดกลั่นตัวอย่างโดยใส่สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 50 มล. ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. เติมอินดิเคเตอร์ 5 หยด จากนั้นนำไปรองรับของเหลวที่จะกลั่น โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายนี้

6. นำหลอดใส่ตัวอย่างที่ย่อยแล้วมาต่อเข้ากับชุดกลั่นตัวอย่างนี้

7. ตั้งโปรแกรมให้เครื่องเติมน้ำและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 จากนั้นกลั่นจนกระทั่งได้สารละลายในขวดรูปชมพู่ประมาณ 180 มล.

8. ไตเตรตสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.06 นอร์มัล จนได้สารละลายสีม่วงแดง

9. ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกับข้างต้นแต่ไม่ต้องใส่ตัวอย่าง

การคำนวณ

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (กรัม/ลิตร) = $(a-b) \times N \times 14.007$

โดยที่ a = ปริมาตรของกรดเกลือที่ใช้ในการไตเตรตกับตัวอย่าง หน่วยเป็น มล.

b = ปริมาตรของกรดเกลือที่ใช้ในการไตเตรตกับ blank หน่วยเป็น มล.

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือ หน่วยเป็น นอร์มัล

14.007 = น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของไนโตรเจน

2. **ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน** (มอก.3-2526)

ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน คือ ผลต่างระหว่างฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจนกับอัมโมเนียคัลไนโตรเจน

2.1 **ฟอร์มัลไตเตรชั่น หรือ ฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน** (Kirk and Sawyer, 1991)

อุปกรณ์

1. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มล.
2. ปิเปต ขนาด 1 มล. และ 10 มล.
3. บิวเรต ขนาด 25 มล.

สารเคมี

1. สารละลายฟอร์มัลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 37
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มัล
3. ฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์

ละลายฟีนอล์ฟทาลีน 0.5 กรัม ในเอธานอลเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 50 มล.

วิธีการ

1. ปิเปตตัวอย่างน้ำปลาจำนวน 1 มล. ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล.
2. เติมน้ำกลั่นลงไป 40 มล.
3. เติมฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ 10 หยด
4. ปรับสารละลายตัวอย่างให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มัล
5. เติมสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 37 จำนวน 10 มล. เขย่าให้เข้ากัน ตั้งไว้ 2 นาที

6. ไตเตรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งได้สารละลายสีชมพู บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในข้อ 6 นี้

7. ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกับข้างต้นแต่ไม่ต้องใส่ตัวอย่าง

การคำนวณ

ฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน (กรัม/ลิตร) = $(a-b) \times N \times 14.007$

โดยที่ a = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรตกับตัวอย่าง หน่วยเป็น มล.

b = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรตกับ blank หน่วยเป็น มล.

N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ หน่วยเป็น นอร์มัล

14.007 = น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของไนโตรเจน

2.2 อัมโมเนียคัลไนโตรเจน

อุปกรณ์

1. หลอดกลั่นตัวอย่าง ขนาด 250-300 มล.
2. ชุดกลั่นตัวอย่าง ยี่ห้อ Gerhardt รุ่น Vapodest 30
3. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มล.
4. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 1,000 มล.
5. ปิเปต ขนาด 1 มล.
6. บิวเรต ขนาด 25 มล.
7. เครื่องหมุนแบบแม่เหล็ก (magnetic stirrer) และแท่งแม่เหล็ก

สารเคมี

1. แมกนีเซียมออกไซด์
2. สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4

ละลายกรดบอริก 40 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล.

3. สารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.06 นอร์มัล

4. อินดิเคเตอร์

4.1 ละลายเมธิลเรด 0.0625 กรัม และเมธิลลีนบลู 0.0410 กรัม ในเอธานอลเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 50 มล.

4.2 ละลายโบรโมครีซอลกรีน 0.01 กรัม ในน้ำกลั่นจำนวน 10 มล.

4.3 ผสมสารละลายข้อ 4.1 และ 4.2 เข้าด้วยกัน

วิธีการ

1. เตรียมชุดกลั่นตัวอย่างโดยใส่สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 50 มล. ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. เติมอินดิเคเตอร์ 5 หยด จากนั้นนำไปรองรับของเหลวที่จะกลั่น โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายนี้

2. ชั่งแมกนีเซียมออกไซด์ 3 กรัม ใส่ในหลอดกลั่นตัวอย่าง

3. ปิเปตน้ำปลา 1 มล. ลงไป รีบต่อเข้ากับชุดกลั่น

4. ตั้งโปรแกรมให้เครื่องเติมน้ำ จากนั้นกลั่นจนกระทั่งได้สารละลายในขวดรูปชมพู่ประมาณ 180 มล.

8. ไตเตรตสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.06 นอร์มัล จนได้สารละลายสีม่วงแดง

9. ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกับข้างต้นแต่ไม่ต้องใส่ตัวอย่าง

การคำนวณ

อัมโมเนียคัลไนโตรเจน (กรัม/ลิตร) = $(a-b) \times N \times 14.007$

โดยที่ a = ปริมาตรของกรดเกลือที่ใช้ในการไตเตรตกับตัวอย่าง หน่วยเป็น มล.

b = ปริมาตรของกรดเกลือที่ใช้ในการไตเตรตกับ blank หน่วยเป็น มล.

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือ หน่วยเป็น นอร์มัล

14.007 = น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของไนโตรเจน

3. **ปริมาณเกลือ** (A.O.A.C.,1995)

อุปกรณ์

1. เตาไฟฟ้า
2. เครื่องหมุนแบบแม่เหล็ก (magnetic stirrer) และแท่งแม่เหล็ก
3. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มล.
4. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 1,000 มล.
5. ออโตปิเปต ขนาด 0.1 มล.
6. ปิเปต ขนาด 5 มล.
7. บิวเรต ขนาด 25 มล.

สารเคมี

1. สารละลายซิลเวอร์ไนเตรตเข้มข้น 0.1 นอร์มัล
2. กรดไนตริกเข้มข้น
3. สารละลายแอมโมเนียมไธโอไซยาเนตเข้มข้น 0.1 นอร์มัล
4. สารละลายแอมโมเนียมเฟอร์ริกซัลเฟตอิ่มตัว

วิธีการ

1. ปิเปตตัวอย่างน้ำปลาลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. จำนวน 0.1 มล.
2. ปิเปตสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จำนวน 5 มล. ลงไปผสม
3. เติมกรดไนตริกเข้มข้นจำนวน 20 มล.
4. ตั้งบนเตาไฟฟ้า ต้มให้เดือดอ่อนๆ นานประมาณ 15 นาที ยกลง ตั้งไว้ให้เย็น
5. เติมน้ำกลั่น 50 มล.
6. เติมสารละลายแอมโมเนียมเฟอร์ริกซัลเฟตอิ่มตัวจำนวน 5 มล.
7. ไตเตรตกับสารละลายแอมโมเนียมไธโอไซยาเนตเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งได้สารละลายสีน้ำตาลแดงอ่อน

การคำนวณ

ปริมาณเกลือ (ร้อยละ) = [(a x N1) - (b x N2)] x 58.44

โดยที่ a = ปริมาตรของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตที่ใช้ หน่วยเป็น มล.

b = ปริมาตรของสารละลายแอมโมเนียมไธโอไซยาเนตที่ใช้ หน่วยเป็น มล.

N1 = ความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต หน่วยเป็น นอร์มัล

N2 = ความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมไธโอไซยาเนต หน่วยเป็น นอร์มัล

4. **กิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลน** (Murachi, 1970)

อุปกรณ์

1. เตาไฟฟ้า
2. หลอดทดลอง ขนาด 16 x 150 มม.
3. ออโตปิเปต ขนาด 0.1 มล.
4. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

สารเคมี

1. สารละลายเคซีนเข้มข้น 1.2 กรัมต่อ 100 มล.

ละลายเคซีน 3 กรัม ในสารละลายโปแตสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.03 โมลาร์ (ความเป็นกรด-ด่าง 7.5) จำนวน 250 มล. โดยการต้มในน้ำเดือดนาน 15 นาที ความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.2

2. สารละลายแอล-ซีสเตอีนเข้มข้น 0.15 โมลาร์ โดยเตรียมเมื่อต้องการใช้

3. สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก

ละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก 9 กรัม โซเดียมอะซิเตต 15 กรัม ในน้ำกลั่น เติมกรดอะซิติกเข้มข้นจำนวน 19.5 มล. ปรับปริมาตรเป็น 500 มล. ด้วยน้ำกลั่น

วิธีการ

1. ปั่นเปลือกสับปะรดจำนวน 100 กรัม ให้ละเอียด ใส่ในผ้าขาวบาง บีบน้ำออกมาให้หมด นำไปชั่งน้ำหนักจะได้น้ำหนักเฉลี่ย 50 กรัม

2. ปิเปตสารละลายเคซีน จำนวน 5 มล. และสารละลายแอล-ซีสเตอีน จำนวน 0.2 มล. ลงในหลอดทดลอง

3. ปิเปตน้ำกลั่นจำนวน 0.75 มล. ลงไปผสม

4. ปิเปตน้ำสับปะรดจำนวน 0.05 มล. ลงไปผสม

5. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

6. ปิเปตสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกจำนวน 5.0 มล. ลงไปผสมอย่างรวดเร็ว เขย่าให้เข้ากัน

7. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

8. กรองตะกอนทิ้งโดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

9. นำสารละลายที่กรองได้ไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 275 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

10. ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกับข้างต้น โดยในข้อ 3 ให้ใช้น้ำกลั่น 0.8 มล. และไม่ต้องเติมน้ำสับปะรด

11. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ มาคำนวณความเข้มข้นของไทโรซีนที่เกิดขึ้น โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของไทโรซีน

การเตรียมกราฟมาตรฐานของไทโรซีน

1. ละลายไทโรซีนจำนวน 0.0010 กรัม ในสารละลายโปแตสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จำนวน 10 มล. จะได้สารละลายไทโรซีนเข้มข้น 100.00 ไมโครกรัมต่อมล.

2. ปิเปตสารละลายไทโรซีนเข้มข้น 100.00 ไมโครกรัมต่อมล. จำนวน 2 มล. ลงในหลอดทดลอง ปิเปตน้ำกลั่นจำนวน 3 มล. ลงไปผสม เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายไทโรซีนเข้มข้น 40.00 ไมโครกรัมต่อมล.

3. ปิเปตสารละลายไทโรซีนเข้มข้น 100.00 ไมโครกรัมต่อมล. จำนวน 2 มล. ลงในหลอดทดลอง ปิเปตน้ำกลั่นจำนวน 2 มล. ลงไปผสม เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายไทโรซีนเข้มข้น 50.00 ไมโครกรัมต่อมล.

4. ปิเปตสารละลายไทโรซีนเข้มข้น 100.00 ไมโครกรัมต่อมล. จำนวน 2 มล. ลงในหลอดทดลอง ปิเปตน้ำกลั่นจำนวน 1 มล. ลงไปผสม เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายไทโรซีนเข้มข้น 66.67 ไมโครกรัมต่อมล.

5. นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 275 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปคโตร-โฟโตมิเตอร์ ใช้สารละลายโปแตสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์เป็น blank

6. เขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไทโรซีน (หน่วยเป็นไมโครกรัมต่อมล.) กับค่าการดูดกลืนแสง

การคำนวณ

กิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลน (ยูนิตต่อกรัมของเปลือกสับปะรด)

$$= \frac{\text{(ความเข้มข้นไทโรซีนของน้ำเปลือกสับปะรด - ความเข้มข้นไทโรซีนของ blank)} \times 50}{\text{น้ำหนักโมเลกุลของไทโรซีน} \times \text{ระยะเวลาที่บ่ม} \times \text{ปริมาตรน้ำเปลือกสับปะรดที่ใช้} \times 100}$$

5. **ความชื้น** (A.O.A.C., 1995)

อุปกรณ์

1. ตู้อบไฟฟ้า
2. ภาชนะหาความชื้น (ถ้วยอลูมิเนียม พร้อมฝา)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. ทำเช่นข้อ 1 ซ้ำ จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการหาความชื้นให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 4-5 กรัม ในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนัก นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ตลอดคืน นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่างนั้น

การคำนวณ

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

6. **ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด** (Miwa and Low, 1992)

อุปกรณ์

1. จานคอนเวย์ (Conway's unit)
2. ไมโครบิวเรต
4. ปิเปต ขนาด 1 มล.
5. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มล.
6. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 1,000 มล.
7. เครื่องชั่งไฟฟ้า
8. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

สารเคมี

1. อินดิเคเตอร์

ละลายโบรโมครีซอลกรีน 0.01 กรัม และเมธิลเรด 0.02 กรัม ในเอธานอลเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 10 มล.

2. สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 1 ผสมด้วยอินดิเคเตอร์

ละลายกรดบอริก 10 กรัม ในเอธานอลเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 200 มล. เติมอินดิเคเตอร์ 10 มล. ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล. ด้วยน้ำกลั่น

3. สารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.02 นอร์มัล

4. สารละลายอิ่มตัวของโปแตสเซี่ยมคาร์บอร์เนต

ชั่งโปแตสเซี่ยมคาร์บอร์เนต 60 กรัม เติมน้ำกลั่น 50 มล. ต้ม 10 นาที หลังจากเย็นให้กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

5. สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 4

ละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก 40 กรัม ในน้ำกลั่น 960 มล.

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดแล้ว 10 กรัม

2. เติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 40 มล. คนให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที โดยเขย่าเป็นครั้งคราว

3. กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 (ถ้ายังไม่ได้ทำการทดลองต่อ ให้เก็บสารละลายที่กรองได้ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส)

4. ทาวาสลีนที่ขอบจานคอนเวย์

5. ปิเปตสารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 1 ผสมด้วยอินดิเคเตอร์แล้ว ลงในวงในของจานคอนเวย์ จำนวน 1 มล.

6. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่กรองได้ลงในวงนอกของจานคอนเวย์ จำนวน 1 มล.

7. ปิเปตสารละลายอิ่มตัวของโปแตสเซี่ยมคาร์บอร์เนตลงในวงนอกของจานคอนเวย์ จำนวน 1 มล.

8. ปิดฝาจานคอนเวย์ทันที ขยับจานคอนเวย์อย่างระวังให้สารละลายตัวอย่างผสมกับสารละลายอิ่มตัวของโปแตสเซี่ยมคาร์บอร์เนต

9. ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 60 นาที

10. ไตเตรตสารละลายกรดบอริกซึ่งอยู่วงในด้วยสารละลายกรดเกลือ โดยใช้ไมโครบิวเรต จนกระทั่งได้สารละลายสีชมพู

11. ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกับข้างต้น โดยใช้สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก จำนวน 1 มล.แทนตัวอย่าง

การคำนวณ

ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์)

$$= (Vs-Vb) \times N \times 14.007 \times \frac{[(Ws \times M/100) + Ve] \times 100}{Ws}$$

โดยที่ Vs = ปริมาตรของสารละลายกรดเกลือที่ไตเตรตกับตัวอย่าง หน่วยเป็น มล.

Vb = ปริมาตรของสารละลายกรดเกลือที่ไตเตรตกับ blank หน่วยเป็น มล.

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือ หน่วยเป็น นอร์มัล

Ws = น้ำหนักตัวอย่าง หน่วยเป็น กรัม

M = ความชื้นของตัวอย่าง หน่วยเป็น ร้อยละ

Ve = ปริมาตรของสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกที่ใช้สกัดตัวอย่าง

ข. วิธีการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

1. ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดและปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน

(Vanderzant and Splittstoesser, 1992)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Tryptic soy agar ที่เติมเกลือร้อยละ 5 และเคซีนร้อยละ 1
2. Peptone water โดยใช้ Peptone ร้อยละ 0.1 ที่มีเกลือร้อยละ 5

วิธีการ

1. เจือจางน้ำปลาเป็น 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000 และ 1:100000 โดยใช้ Peptone water ที่มีเกลือร้อยละ 5
2. ปิเปตน้ำปลาแต่ละความเข้มข้นจำนวน 0.1 มล. ลงบนจานเพาะเชื้อที่มี Tryptic soy agar ที่เติมเกลือร้อยละ 5 และเคซีนร้อยละ 1 ทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ
3. เกลี่ยเชื้อให้กระจายทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยแท่งแก้ว
4. นำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 48-72 ชั่วโมง
5. นับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีประมาณ 30-300 โคโลนี รายงานผลเป็น log c.f.u./ml
6. สำหรับแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน ให้นับเฉพาะโคโลนีที่มีโซนขุ่นและ/หรือโซนใสรอบโคโลนี

การคำนวณ

ปริมาณเชื้อ (log c.f.u./ml) = log [ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนี x dilution factor x 10]

2. **ปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรด** (Vanderzant and Splittstoesser, 1992)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. APT agar ที่เติมเกลือร้อยละ 5, โบรโมครีซอลเพอร์พัลร้อยละ 0.004 และโซเดียมเอไซด์ร้อยละ 0.01

2. Peptone water โดยใช้ Peptone ร้อยละ 0.1 ที่มีเกลือร้อยละ 5

วิธีการ

1. เจือจางน้ำปลาเป็น 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000 และ 1:100000 โดยใช้ Peptone water

2. ปิเปตน้ำปลาแต่ละความเข้มข้นจำนวน 0.1 มล. ลงบนจานเพาะเชื้อที่มี APT agar ที่เติมเกลือร้อยละ 5, โบรโมครีซอลเพอร์พัลร้อยละ 0.004 และโซเดียมเอไซด์ร้อยละ 0.01 ทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

3. เกลี่ยเชื้อให้กระจายทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยแท่งแก้ว

4. นำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง

5. นับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีประมาณ 30-300 โคโลนี โดยนับเฉพาะโคโลนีที่อาหารเลี้ยงเชื้อรอบๆ โคโลนีเปลี่ยนเป็นสีเหลือง รายงานผลเป็น log c.f.u./ml

การคำนวณ

ปริมาณเชื้อ (log c.f.u./ml) = log [ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนี x dilution factor x 10]

3. **การเจริญของเชื้อ** *P. halophilus* **และ** *B. licheniformis*

1. ถ่ายเชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* จากอาหารวุ้นเอียง Tryptic Soy Agar ที่มีเกลือผสมอยู่ร้อยละ 5 ลงในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth ที่มีเกลือผสมอยู่ร้อยละ 15

2. บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

3. วัดค่าปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืน (O.D.) ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ทุกๆ 1 ชั่วโมง

4. นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนกับเวลาที่บ่มเชื้อ

4. ส่วนผสมของอาหารเลี้ยงเชื้อ

4.1 APT agar ที่เติมเกลือร้อยละ 5, โบรโมครีซอลเพอร์พัลร้อยละ 0.004 และโซเดียมเอไซด์ร้อยละ 0.01

APT broth	46.18	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	50	กรัม
โซเดียมเอไซด์	0.10	กรัม
โบรโมครีซอลเพอร์พัล	0.04	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มล.

4.2 GYP-Sodium Acetate Mineral Salts Agar ที่มีเกลือร้อยละ 5

Glucose	10	กรัม
Yeast extract	10	กรัม
Peptone	10	กรัม
Sodium acetate	10	กรัม
Solution B*	5	มล.
Agar	20	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	50	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มล.

ปรับความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 6.8

*Solution B

$MgSO_4.7H_2O$	0.2	กรัม
$FeSO_4.7H_2O$	10	มก.
$MnSO_4.4H_2O$	10	มก.
โซเดียมคลอไรด์	10	มก.
น้ำกลั่น	1,000	มล.

4.3 Peptone water โดยใช้ Peptone ร้อยละ 0.1 ที่มีเกลือร้อยละ 5

Peptone	1	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	50	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มล.

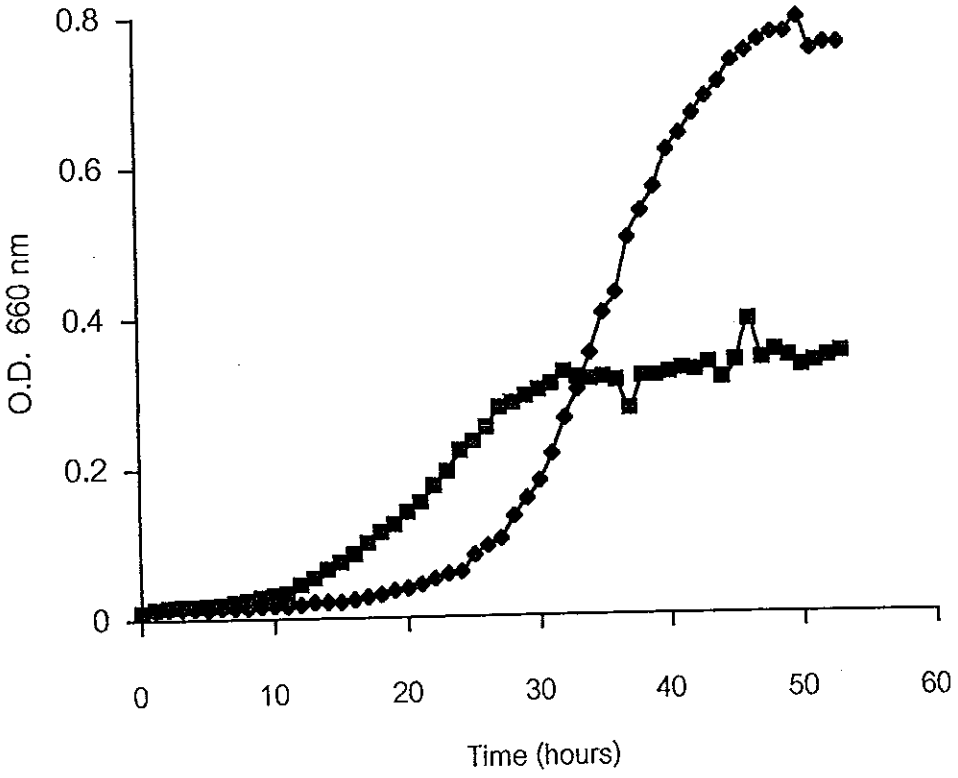
4.4 Tryptic Soy Agar ที่เติมเกลือร้อยละ 5 และเคซีนร้อยละ 1

Tryptic soy agar	40	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	50	กรัม
เคซีน	10	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มล.

4.5 Tryptic Soy Broth ที่เติมเกลือร้อยละ 15

Tryptic soy broth	30	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	150	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มล.

ค. ข้อมูลปฐมภูมิของการวิจัย



ภาพภาคผนวกที่ ค1 การเจริญของเชื้อ *P. halophilus* (-◆-) และ *B. licheniformis* (-■-) ใน Tryptic Soy Broth ที่มีเกลือร้อยละ 15 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

ตารางภาคผนวกที่ ค1 ผลของปริมาณเกลือต่อค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ฟอร์มัลไตเตรชั่น (กรัมต่อลิตร)[1]		
	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 2 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 3 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 4 ต่อ 1
2	[2]2.26 ± 0.07[a]	2.59 ± 0.10[b]	2.93 ± 0.06[c]
4	[2]3.31 ± 0.12[a]	3.74 ± 0.15[b]	4.21 ± 0.08[c]
7	[2]3.53 ± 0.03[a]	4.52 ± 0.04[b]	5.13 ± 0.17[c]
8	[2]3.93 ± 0.06[a]	4.87 ± 0.13[b]	5.44 ± 0.13[c]
10	[2]4.14 ± 0.05[a]	5.22 ± 0.05[b]	5.87 ± 0.07[c]
15	[2]4.61 ± 0.09[a]	5.89 ± 0.24[b]	6.35 ± 0.19[c]
20	[2]5.38 ± 0.04[a]	6.16 ± 0.19[b]	7.12 ± 0.18[c]
30	[2]5.64 ± 0.04[a]	6.73 ± 0.13[b]	7.85 ± 0.14[c]

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

[2] ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละแถวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ค2 ผลของปริมาณเกลือต่อค่าฟอร์มัลไตเตรชั่น ของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ฟอร์มัลไตเตรชั่น (กรัมต่อลิตร)[1]		
	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 2 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 3 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 4 ต่อ 1
2	[2]1.64 ± 0.03[a]	2.08 ± 0.26[b]	2.48 ± 0.09[c]
4	[2]2.36 ± 0.10[a]	3.05 ± 0.28[b]	3.64 ± 0.07[c]
6	[2]2.87 ± 0.08[a]	3.59 ± 0.29[b]	4.49 ± 0.12[c]
8	[2]3.39 ± 0.12[a]	4.22 ± 0.36[b]	5.06 ± 0.13[c]
10	[2]3.74 ± 0.08[a]	4.54 ± 0.33[b]	5.62 ± 0.16[c]
15	[2]4.30 ± 0.10[a]	5.12 ± 0.33[b]	6.36 ± 0.13[c]
20	[2]4.63 ± 0.06[a]	5.47 ± 0.32[b]	6.68 ± 0.14[c]
30	[2]5.20 ± 0.03[a]	6.02 ± 0.16[b]	7.80 ± 0.07[c]

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

[2] ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละแถวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05)

ตารางภาคผนวกที่ ค3 ผลของปริมาณเปลือกสับปะรดต่อค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ฟอร์มัลไตเตรชั่น (กรัมต่อลิตร)[1]		
	เปลือกสับปะรด ร้อยละ 0	เปลือกสับปะรด ร้อยละ 5	เปลือกสับปะรด ร้อยละ 10
2	[2]2.57 ± 0.09[a]	2.91 ± 0.04[b]	3.26 ± 0.28[c]
4	[2]3.46 ± 0.04[a]	3.94 ± 0.04[b]	4.22 ± 0.28[b]
6	[2]4.30 ± 0.01[a]	4.97 ± 0.07[b]	5.24 ± 0.09[c]
8	[2]4.75 ± 0.08[a]	5.41 ± 0.05[b]	5.78 ± 0.22[c]
10	[2]5.07 ± 0.17[a]	5.92 ± 0.07[b]	6.25 ± 0.07[c]
15	[2]5.76 ± 0.13[a]	6.74 ± 0.02[b]	7.08 ± 0.16[c]
20	[2]6.18 ± 0.08[a]	7.27 ± 0.13[b]	7.58 ± 0.08[c]
30	[2]7.09 ± 0.12[a]	8.15 ± 0.21[b]	8.27 ± 0.14[b]

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

[2] ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละแถวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05)

ตารางภาคผนวกที่ ค4 ผลของเชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* ต่อค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลาและหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ฟอร์มัลไตเตรชั่น (กรัมต่อลิตร)[1]			
	ชุดควบคุม	เติม *P. halophilus*	เติม *B. licheniformis*	เติมเชื้อทั้งสองชนิด
2	[2]3.42 ± 0.24[a]	[2]3.58 ± 0.29[a]	[2]3.17 ± 0.22[a]	[2]3.29 ± 0.20[a]
4	[2]4.45 ± 0.24[a]	[2]4.92 ± 0.49[a]	[2]4.33 ± 0.26[a]	[2]4.48 ± 0.28[a]
6	[2]5.33 ± 0.39[a]	[2]5.47 ± 0.25[a]	[2]5.30 ± 0.25[a]	[2]5.29 ± 0.10[a]
8	[2]5.81 ± 0.04[a]	[2]6.10 ± 0.39[a]	[2]5.68 ± 0.27[a]	[2]5.76 ± 0.32[a]
10	[2]6.23 ± 0.21[a]	[2]6.49 ± 0.37[a]	[2]6.10 ± 0.21[a]	[2]6.07 ± 0.19[a]
15	[2]7.13 ± 0.29[a]	[2]7.46 ± 0.74[a]	[2]7.25 ± 0.22[a]	[2]7.12 ± 0.34[a]
20	[2]7.66 ± 0.25[a]	[2]7.77 ± 0.38[a]	[2]7.73 ± 0.15[a]	[2]7.42 ± 0.36[a]
30	[2]8.94 ± 0.08[a]	[2]8.90 ± 0.30[a]	[2]8.95 ± 0.07[a]	[2]8.72 ± 0.30[a]

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

[2] ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละแถวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05)

ตารางภาคผนวกที่ ค5 ผลของอุณหภูมิต่อค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา โดยไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ฟอร์มัลไตเตรชั่น (กรัมต่อลิตร)[1]		
	35 องศาเซลเซียส	40 องศาเซลเซียส	45 องศาเซลเซียส
2	[2]1.85 ± 0.08[a]	2.89 ± 0.27[b]	3.11 ± 0.32[b]
4	[2]2.90 ± 0.12[a]	4.18 ± 0.34[b]	4.31 ± 0.34[b]
6	[2]3.56 ± 0.09[a]	4.61 ± 0.36[b]	4.88 ± 0.32[b]
8	[2]4.26 ± 0.09[a]	5.38 ± 0.29[b]	5.64 ± 0.27[b]
10	[2]4.56 ± 0.10[a]	5.73 ± 0.32[b]	5.93 ± 0.03[b]
15	[2]5.36 ± 0.27[a]	6.31 ± 0.12[b]	6.24 ± 0.29[b]
20	[2]5.75 ± 0.10[a]	6.41 ± 0.20[b]	6.60 ± 0.14[b]
30	[2]6.89 ± 0.24[a]	7.55 ± 0.17[b]	7.79 ± 0.29[b]

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

[2] ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละแถวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05)

ตารางภาคผนวกที่ ค6 ผลของการหมักแบบต่อเนื่องต่อค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา โดยไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ฟอร์มัลไตเตรชั่น (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ฟอร์มัลไตเตรชั่น (กรัมต่อลิตร)
1	2.32	16	4.68
2	3.21	17	4.68
3	3.43	18	4.77
4	3.49	19	4.54
5	3.76	20	4.50
6	3.67	21	4.50
7	4.22	22	4.50
8	4.04	23	4.45
9	4.04	24	4.54
10	4.29	25	4.43
11	4.18	26	4.43
12	4.43	27	4.40
13	4.59	28	4.50
14	4.54	29	4.50
15	4.70	30	4.56

ตารางภาคผนวกที่ ค7 ผลของการหมักแบบต่อเนื่องต่อคุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่หมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา โดยไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (กรัมต่อลิตร)	เกลือ (ร้อยละ)	ความเป็นกรด-ด่าง
1	7.69	2.03	27.49	5.83
2	10.87	2.88	24.71	5.83
3	11.61	3.10	25.00	5.65
4	12.02	3.16	25.15	5.65
5	11.94	3.39	25.59	5.64
6	12.07	3.29	25.59	5.75
7	12.69	3.85	23.24	5.76
8	13.02	3.67	24.56	5.77
9	12.95	3.67	25.59	5.78
10	12.75	3.92	25.15	5.78
11	12.97	3.81	24.12	5.78
12	13.59	4.05	25.29	5.57
13	13.66	4.20	25.88	5.59
14	13.43	4.14	26.02	5.59
15	13.66	4.27	25.73	5.60
16	13.90	4.26	25.00	5.58
17	13.68	4.22	25.44	5.62
18	13.59	4.28	26.32	5.62
19	13.35	4.08	25.59	5.62
20	13.16	4.04	24.56	5.62
21	13.16	4.06	25.73	5.63

ตารางภาคผนวกที่ ค7 (ต่อ)

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (กรัมต่อลิตร)	เกลือ (ร้อยละ)	ความเป็นกรด-ด่าง
22	12.97	4.06	25.88	5.63
23	12.64	4.00	26.17	5.63
24	12.66	4.06	25.88	5.62
25	13.92	3.99	26.46	5.56
26	13.06	3.97	26.17	5.59
27	13.10	3.99	26.32	5.59
28	13.28	4.02	27.34	5.61
29	13.24	4.00	24.71	5.60
30	12.81	4.07	25.88	5.53

ตารางภาคผนวกที่ ค8 ผลของปริมาณเกลือต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (log c.f.u./ml)[1]		
	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 2 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 3 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 4 ต่อ 1
2	5.83 ± 0.10	6.11 ± 0.06	6.39 ± 0.19
4	5.38 ± 0.21	5.90 ± 0.12	6.17 ± 0.08
7	5.04 ± 0.12	5.67 ± 0.20	6.00 ± 0.15
8	5.12 ± 0.08	5.48 ± 0.03	5.58 ± 0.03
10	4.86 ± 0.06	5.29 ± 0.07	5.65 ± 0.24
15	4.34 ± 0.09	5.01 ± 0.07	5.40 ± 0.18
20	3.93 ± 0.32	4.91 ± 0.11	5.23 ± 0.06
30	2.42 ± 0.13	4.45 ± 0.11	4.94 ± 0.17

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ ค9 ผลของปริมาณเกลือต่อปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรด (log c.f.u./ml) [1]		
	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 2 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 3 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 4 ต่อ 1
2	5.79 ± 0.07	6.03 ± 0.11	6.23 ± 0.03
4	5.36 ± 0.21	5.82 ± 0.12	6.07 ± 0.08
7	5.02 ± 0.10	5.65 ± 0.17	5.93 ± 0.26
8	5.10 ± 0.07	5.42 ± 0.07	5.44 ± 0.14
10	4.80 ± 0.07	5.10 ± 0.04	5.46 ± 0.20
15	4.30 ± 0.07	4.84 ± 0.11	5.22 ± 0.15
20	3.84 ± 0.35	4.83 ± 0.06	5.13 ± 0.06
30	1.84 ± 0.72	4.25 ± 0.11	4.86 ± 0.23

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ ค10 ผลของปริมาณเกลือต่อปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน (log c.f.u./ml)[1]		
	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 2 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 3 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 4 ต่อ 1
2	2.98 ± 0.18	4.86 ± 0.60	5.44 ± 0.61
4	2.74 ± 0.37	4.46 ± 0.36	5.01 ± 0.33
7	2.73 ± 0.21	3.11 ± 0.36	4.09 ± 0.15
8	2.66 ± 0.16	2.93 ± 0.11	2.85 ± 0.14
10	2.13 ± 0.29	2.67 ± 0.26	2.71 ± 0.24
15	2.11 ± 0.12	2.29 ± 0.21	2.71 ± 0.24
20	2.12 ± 0.25	2.59 ± 0.10	2.85 ± 0.14
30	2.20 ± 0.04	2.59 ± 0.12	2.88 ± 0.11

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ ค11 ผลของปริมาณเกลือต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (log c.f.u./ml) [1]		
	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 2 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 3 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 4 ต่อ 1
2	6.06 ± 0.34	6.38 ± 0.30	6.56 ± 0.11
4	5.64 ± 0.26	6.22 ± 0.22	6.18 ± 0.07
6	5.37 ± 0.17	5.69 ± 0.07	5.93 ± 0.16
8	5.15 ± 0.25	5.59 ± 0.34	5.69 ± 0.14
10	5.15 ± 0.38	5.36 ± 0.22	5.75 ± 0.27
15	4.82 ± 0.14	4.81 ± 0.27	5.44 ± 0.30
20	4.10 ± 0.19	4.67 ± 0.05	5.37 ± 0.39
30	2.73 ± 0.25	3.97 ± 0.09	5.26 ± 0.22

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ ค12 ผลของปริมาณเกลือต่อปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรด (log c.f.u./ml) [1]		
	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 2 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 3 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 4 ต่อ 1
2	5.84 ± 0.22	6.01 ± 0.03	6.23 ± 0.14
4	5.50 ± 0.25	5.96 ± 0.27	5.95 ± 0.13
6	5.35 ± 0.23	5.57 ± 0.17	5.89 ± 0.15
8	5.18 ± 0.29	5.51 ± 0.28	5.55 ± 0.08
10	5.09 ± 0.35	5.26 ± 0.20	5.69 ± 0.28
15	4.78 ± 0.20	4.69 ± 0.30	5.35 ± 0.25
20	4.05 ± 0.20	4.59 ± 0.10	5.36 ± 0.40
30	2.60 ± 0.38	3.91 ± 0.06	5.19 ± 0.19

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ ค13 ผลของปริมาณเกลือต่อปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่ระดับการใช้เปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน (log c.f.u./ml) [1]		
	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 2 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 3 ต่อ 1	ปลาต่อเกลือ เท่ากับ 4 ต่อ 1
2	5.25 ± 0.38	5.78 ± 0.59	5.65 ± 0.32
4	4.12 ± 0.95	5.67 ± 0.32	5.31 ± 0.16
6	3.21 ± 0.63	4.27 ± 0.23	4.70 ± 0.28
8	2.33 ± 0.43	3.04 ± 0.67	3.50 ± 0.29
10	2.04 ± 0.06	2.27 ± 0.41	2.64 ± 0.27
15	1.98 ± 0.09	1.75 ± 0.13	2.26 ± 0.20
20	1.86 ± 0.18	1.98 ± 0.09	2.53 ± 0.34
30	2.10 ± 0.09	2.42 ± 0.11	2.75 ± 0.21

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ ค14 ผลของปริมาณเปลือกสับปะรดต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (log c.f.u./ml) [1]		
	เปลือกสับปะรด ร้อยละ 0	เปลือกสับปะรด ร้อยละ 5	เปลือกสับปะรด ร้อยละ 10
2	6.16 ± 0.38	5.75 ± 0.25	5.76 ± 0.38
4	6.27 ± 0.48	6.11 ± 0.06	6.17 ± 0.43
6	5.98 ± 0.49	5.68 ± 0.05	5.93 ± 0.16
8	5.58 ± 0.61	5.63 ± 0.42	5.94 ± 0.28
10	5.25 ± 0.38	5.35 ± 0.12	5.62 ± 0.22
15	4.77 ± 0.72	5.35 ± 0.35	5.66 ± 0.10
20	3.35 ± 0.19	5.35 ± 0.38	5.33 ± 0.46
30	2.24 ± 0.24	4.58 ± 0.47	4.56 ± 0.26

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ ค15 ผลของปริมาณเปลือกสับปะรดต่อปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรด (log c.f.u./ml)[1]		
	เปลือกสับปะรด ร้อยละ 0	เปลือกสับปะรด ร้อยละ 5	เปลือกสับปะรด ร้อยละ 10
2	5.92 ± 0.20	5.57 ± 0.25	5.75 ± 0.37
4	5.69 ± 0.17	5.90 ± 0.08	5.97 ± 0.31
6	5.24 ± 0.29	5.55 ± 0.10	5.82 ± 0.02
8	5.08 ± 0.29	5.51 ± 0.42	5.75 ± 0.29
10	4.79 ± 0.13	5.28 ± 0.08	5.47 ± 0.22
15	4.19 ± 0.27	5.23 ± 0.36	5.57 ± 0.22
20	3.18 ± 0.33	5.26 ± 0.34	5.34 ± 0.44
30	1.74 ± 0.34	4.49 ± 0.48	4.50 ± 0.37

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ ค16 ผลของปริมาณเปลือกสับปะรดต่อปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน (log c.f.u./ml)[1]		
	เปลือกสับปะรด ร้อยละ 0	เปลือกสับปะรด ร้อยละ 5	เปลือกสับปะรด ร้อยละ 10
2	5.09 ± 0.77	4.28 ± 0.25	4.39 ± 0.34
4	4.49 ± 0.59	4.86 ± 0.17	5.06 ± 0.75
6	3.81 ± 0.32	4.11 ± 0.36	4.69 ± 0.61
8	3.48 ± 0.63	3.55 ± 0.71	3.73 ± 0.96
10	2.24 ± 0.34	2.93 ± 0.11	3.09 ± 0.23
15	2.15 ± 0.21	2.98 ± 0.17	3.04 ± 0.52
20	2.42 ± 0.28	3.08 ± 0.52	3.42 ± 0.10
30	2.10 ± 0.27	3.32 ± 0.15	3.65 ± 0.15

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ ค17 ผลของเชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* ต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (log c.f.u./ml) [1]			
	ชุดควบคุม	เติมเชื้อ *P. halophilus*	เติมเชื้อ *B. licheniformis*	เติมเชื้อทั้งสองชนิด
2	6.73 ± 0.26	6.71 ± 0.26	6.49 ± 0.11	6.49 ± 0.20
4	5.54 ± 0.10	5.98 ± 0.25	5.59 ± 0.15	5.77 ± 0.11
6	4.81 ± 0.28	5.64 ± 0.20	4.76 ± 0.07	5.53 ± 0.23
8	4.11 ± 0.34	5.38 ± 0.09	3.68 ± 0.20	5.17 ± 0.04
10	3.94 ± 0.51	5.34 ± 0.23	3.43 ± 0.10	5.10 ± 0.07
15	3.49 ± 0.64	5.40 ± 0.22	3.45 ± 0.06	4.99 ± 0.10
20	3.38 ± 0.77	5.44 ± 0.17	3.46 ± 0.08	5.10 ± 0.02
30	2.95 ± 0.82	5.47 ± 0.30	3.66 ± 0.08	4.99 ± 0.23

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ ค18 ผลของเชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* ต่อปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรด (log c.f.u./ml)[1]			
	ไม่ใส่ starter culture	ใส่เชื้อ *P. halophilus*	ใส่เชื้อ *B. licheniformis*	ใส่เชื้อทั้งสองชนิด
2	4.61 ± 0.37	6.05 ± 0.27	4.19 ± 0.32	5.86 ± 0.07
4	4.28 ± 0.62	5.70 ± 0.11	3.67 ± 0.26	5.59 ± 0.04
6	4.28 ± 0.38	5.54 ± 0.03	3.28 ± 0.57	5.48 ± 0.12
8	3.86 ± 0.44	5.20 ± 0.04	2.96 ± 0.27	5.05 ± 0.06
10	3.69 ± 0.44	5.16 ± 0.17	2.74 ± 0.39	4.97 ± 0.10
15	3.48 ± 0.64	5.36 ± 0.22	2.32 ± 0.41	5.12 ± 0.06
20	3.26 ± 0.74	5.36 ± 0.19	1.87 ± 0.58	5.00 ± 0.09
30	2.73 ± 0.82	5.28 ± 0.27	<1	4.99 ± 0.22

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ ค19 ผลของเชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* ต่อปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน (log c.f.u./ml)[1]			
	ไม่ใส่ starter culture	ใส่เชื้อ *P. halophilus*	ใส่เชื้อ *B. licheniformis*	ใส่เชื้อทั้งสองชนิด
2	6.41 ± 0.20	6.34 ± 0.29	6.09 ± 0.15	6.18 ± 0.25
4	5.05 ± 0.30	5.16 ± 0.24	5.30 ± 0.09	4.88 ± 0.36
6	4.05 ± 0.38	3.83 ± 0.49	4.55 ± 0.09	3.97 ± 0.19
8	2.75 ± 0.57	<3	3.36 ± 0.15	3.32 ± 0.10
10	<2	<3	3.25 ± 0.02	3.40 ± 0.04
15	<1	<2	3.39 ± 0.00	3.63 ± 0.20
20	<1	<2	3.44 ± 0.07	3.51 ± 0.13
30	<1	<1	3.66 ± 0.08	4.06 ± 0.13

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ ค20 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา โดยไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น

ระยะเวลาหมัก	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (log c.f.u./ml)[1]		
(วัน)	35 องศาเซลเซียส	40 องศาเซลเซียส	45 องศาเซลเซียส
2	6.10 ± 0.55	5.35 ± 0.01	4.96 ± 0.36
4	6.16 ± 0.43	5.21 ± 0.14	4.27 ± 0.16
6	6.56 ± 0.31	4.74 ± 0.15	3.03 ± 0.07
8	6.61 ± 0.33	3.99 ± 0.06	2.91 ± 0.73
10	6.50 ± 0.21	3.15 ± 0.21	2.91 ± 0.76
15	6.26 ± 0.24	1.94 ± 0.12	3.12 ± 0.63
20	5.79 ± 0.25	1.89 ± 0.44	3.27 ± 0.73
30	5.58 ± 0.28	2.09 ± 0.27	3.38 ± 0.85

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ ค21 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกส้มโอร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา โดยไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น

ระยะเวลาหมัก	ปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรด (log c.f.u./ml) [1]		
(วัน)	35 องศาเซลเซียส	40 องศาเซลเซียส	45 องศาเซลเซียส
2	5.17 ± 0.70	3.27 ± 0.38	<3
4	5.33 ± 0.53	3.29 ± 0.62	<3
6	5.48 ± 0.68	2.80 ± 0.28	<1
8	5.65 ± 0.36	1.79 ± 0.48	<1
10	5.83 ± 0.22	2.03 ± 0.11	<1
15	5.59 ± 0.23	0.99 ± 0.88	<1
20	5.54 ± 0.20	<1	<1
30	4.91 ± 0.22	<1	<1

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ ค22 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีนของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา โดยไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น

ระยะเวลาหมัก	ปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน (log c.f.u./ml)[1]		
(วัน)	35 องศาเซลเซียส	40 องศาเซลเซียส	45 องศาเซลเซียส
2	5.20 ± 0.37	5.29 ± 0.05	4.77 ± 0.36
4	5.61 ± 0.18	5.11 ± 0.13	3.55 ± 0.41
6	5.56 ± 0.52	4.67 ± 0.13	2.95 ± 0.09
8	5.03 ± 0.33	3.80 ± 0.12	2.90 ± 0.74
10	4.71 ± 0.83	3.05 ± 0.25	2.91 ± 0.76
15	4.23 ± 0.50	1.62 ± 0.41	3.08 ± 0.65
20	3.48 ± 0.00	1.71 ± 0.64	3.27 ± 0.73
30	<3	1.96 ± 0.41	3.38 ± 0.85

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ ค23 ผลของการหมักแบบต่อเนื่องต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 ปริมาณเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา โดยไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (log c.f.u./ml)	ปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน (log c.f.u./ml)	ปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรด (log c.f.u./ml)
1	<1	<1	<1
2	<1	<1	<1
3	<1	<1	<1
4	<1	<1	<1
5	2.05	2.05	<1
6	2.08	2.08	<1
7	1.89	1.89	<1
8	1.76	1.76	<1
9	1.48	1.48	<1
10	1.67	1.67	<1
11	1.70	1.70	<1
12	1.48	1.48	<1
13	1.48	1.48	<1
14	1.23	1.23	<1
15	1.30	1.30	<1
16	1.00	1.00	<1
17	0.85	0.85	<1
18	1.23	1.23	<1
19	0.85	0.85	<1

ตารางภาคผนวกที่ ค23 (ต่อ)

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (log c.f.u./ml)	ปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน (log c.f.u./ml)	ปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรด (log c.f.u./ml)
20	1.11	1.11	<1
21	1.30	1.30	<1
22	1.36	1.36	<1
23	1.11	1.11	<1
24	1.11	1.11	<1
25	1.11	1.11	<1
26	1.30	1.30	<1
27	1.30	1.30	<1
28	1.00	1.00	<1
29	1.36	1.36	<1
30	1.23	1.23	<1

ตารางภาคผนวกที่ ค24 คะแนนการทดสอบกลิ่นในน้ำปลาที่ได้หลังจากการบ่มเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ชุดการทดลอง	คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัส [1]									
	ผู้ทดสอบชิม									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
35 องศาเซลเซียส	8	8	8	9	8	8	8	8	9	8
40 องศาเซลเซียส	8	8	8	8	8	8	8	9	9	8
45 องศาเซลเซียส	8	8	9	8	8	8	8	9	9	9
35 องศาเซลเซียส + *P. halophilus*	9	9	8	8	8	9	8	8	9	8
40 องศาเซลเซียส + *P. halophilus*	8	8	9	8	8	8	8	9	9	8
45 องศาเซลเซียส + *P. halophilus*	7	8	8	8	8	8	8	9	8	9

[1] คะแนน 1 = ดีกว่าน้ำปลายี่ห้อทิพรสมากที่สุด
คะแนน 5 = ไม่มีความแตกต่างจากน้ำปลายี่ห้อทิพรส
คะแนน 9 = ด้อยกว่าน้ำปลายี่ห้อทิพรสมากที่สุด

ง. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ ง1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักโดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 3 ระดับ เติมเปลือกส้มปะรดร้อยละ 5 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก(วัน)	SV	DF	SS	MS	F
2	ปริมาณเกลือ (S)	2	0.694	0.347	54.49**
	Error	6	0.038	0.006	
	Total	8	0.732		
4	ปริมาณเกลือ (S)	2	1.748	0.874	60.89**
	Error	6	0.086	0.014	
	Total	8	1.834		
7	ปริมาณเกลือ (S)	2	3.942	1.971	184.19**
	Error	6	0.064	0.011	
	Total	8	4.006		
8	ปริมาณเกลือ (S)	2	3.464	1.732	136.36**
	Error	6	0.076	0.013	
	Total	8	3.540		
10	ปริมาณเกลือ (S)	2	4.544	2.272	647.15**
	Error	6	0.021	0.004	
	Total	8	4.565		
15	ปริมาณเกลือ (S)	2	4.848	2.424	72.08**
	Error	6	0.202	0.034	
	Total	8	5.050		
20	ปริมาณเกลือ (S)	2	4.572	2.286	96.37**
	Error	6	0.142	0.024	
	Total	8	4.714		
30	ปริมาณเกลือ (S)	2	7.349	3.674	299.82**
	Error	6	0.074	0.012	
	Total	8	7.423		

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

ตารางภาคผนวกที่ ง2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่ได้จากการหมักโดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 3 ระดับ เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 5 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ปัจจัยคุณภาพ	SV	DF	SS	MS	F
ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	ปริมาณเกลือ (S)	2	17.197	8.598	43.47**
	Error	6	1.187	0.198	
	Total	8	18.384		
ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน	ปริมาณเกลือ (S)	2	4.068	2.034	256.77**
	Error	6	0.048	0.008	
	Total	8	4.116		
ปริมาณเกลือ	ปริมาณเกลือ (S)	2	48.139	24.070	118.84**
	Error	6	1.215	0.202	
	Total	8	49.354		
ความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณเกลือ (S)	2	0.006	0.003	1.16^{ns}
	Error	6	0.014	0.002	
	Total	8	0.020		

^{ns} ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

ตารางภาคผนวกที่ ง3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักโดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 3 ระดับ เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาหมัก(วัน)	SV	DF	SS	MS	F
2	ปริมาณเกลือ (S)	2	1.059	0.530	21.27**
	Error	6	0.149	0.025	
	Total	8	1.208		
4	ปริมาณเกลือ (S)	2	2.450	1.225	39.49**
	Error	6	0.186	0.031	
	Total	8	2.636		
6	ปริมาณเกลือ (S)	2	3.940	1.970	57.01**
	Error	6	0.207	0.035	
	Total	8	4.147		
8	ปริมาณเกลือ (S)	2	4.150	2.075	38.68**
	Error	6	0.322	0.054	
	Total	8	4.472		
10	ปริมาณเกลือ (S)	2	5.325	2.662	56.78**
	Error	6	0.281	0.047	
	Total	8	5.606		
15	ปริมาณเกลือ (S)	2	6.473	3.236	72.08**
	Error	6	0.269	0.045	
	Total	8	6.742		
20	ปริมาณเกลือ (S)	2	6.413	3.207	76.19**
	Error	6	0.252	0.042	
	Total	8	6.665		
30	ปริมาณเกลือ (S)	2	10.572	5.286	499.18**
	Error	6	0.064	0.011	
	Total	8	10.636		

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

ตารางภาคผนวกที่ ง4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่ได้จากการหมักโดยใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 3 ระดับ เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ของน้ำหนักปลา ใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ปัจจัยคุณภาพ	SV	DF	SS	MS	F
ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	ปริมาณเกลือ (S)	2	25.692	12.846	59.29**
	Error	6	1.300	0.217	
	Total	8	26.992		
ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน	ปริมาณเกลือ (S)	2	7.107	3.554	468.27**
	Error	6	0.046	0.008	
	Total	8	7.153		
ปริมาณเกลือ	ปริมาณเกลือ (S)	2	65.585	32.793	364.72**
	Error	6	0.540	0.090	
	Total	8	66.125		
ความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณเกลือ (S)	2	0.046	0.023	20.73**
	Error	6	0.007	0.001	
	Total	8	0.053		

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

ตารางภาคผนวกที่ ง5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรด 3 ระดับ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ระยะเวลาหมัก(วัน)	SV	DF	SS	MS	F
2	ปริมาณเปลือกสับปะรด (P)	2	0.714	0.357	12.62**
	Error	6	0.170	0.028	
	Total	8	0.884		
4	ปริมาณเปลือกสับปะรด (P)	2	0.898	0.449	16.67**
	Error	6	0.162	0.027	
	Total	8	1.060		
6	ปริมาณเปลือกสับปะรด (P)	2	1.405	0.703	168.65**
	Error	6	0.025	0.004	
	Total	8	1.430		
8	ปริมาณเปลือกสับปะรด (P)	2	1.626	0.813	41.50**
	Error	6	0.118	0.020	
	Total	8	1.744		
10	ปริมาณเปลือกสับปะรด (P)	2	2.224	1.112	87.09**
	Error	6	0.077	0.013	
	Total	8	2.301		
15	ปริมาณเปลือกสับปะรด (P)	2	2.841	1.420	99.55**
	Error	6	0.086	0.014	
	Total	8	2.927		
20	ปริมาณเปลือกสับปะรด (P)	2	3.244	1.622	159.03**
	Error	6	0.061	0.010	
	Total	8	3.305		
30	ปริมาณเปลือกสับปะรด (P)	2	2.528	1.264	47.13**
	Error	6	0.161	0.027	
	Total	8	2.689		

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

ตารางภาคผนวกที่ ง6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรด 3 ระดับ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เชื้อ *P. halophilus* และ *B. licheniformis* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ปัจจัยคุณภาพ	SV	DF	SS	MS	F
ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	ปริมาณเปลือกสับปะรด (P)	2	1.854	0.927	4.12^{ns}
	Error	6	1.350	0.225	
	Total	8	3.204		
ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน	ปริมาณเปลือกสับปะรด (P)	2	1.656	0.828	48.09**
	Error	6	0.103	0.017	
	Total	8	1.759		
ปริมาณเกลือ	ปริมาณเปลือกสับปะรด (P)	2	9.181	4.590	60.74**
	Error	6	0.453	0.076	
	Total	8	9.634		
ความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณเปลือกสับปะรด (P)	2	0.354	0.177	29.00**
	Error	6	0.037	0.006	
	Total	8	0.391		

^{ns} ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

ตารางภาคผนวกที่ ง7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น

ระยะเวลาหมัก(วัน)	SV	DF	SS	MS	F
2	Starter culture ที่ใช้ (St)	3	0.275	0.092	1.60^{ns}
	Error	8	0.459	0.057	
	Total	11	0.734		
4	Starter culture ที่ใช้ (St)	3	0.604	0.201	1.82^{ns}
	Error	8	0.886	0.111	
	Total	11	1.490		
6	Starter culture ที่ใช้ (St)	3	0.063	0.021	<1
	Error	8	0.570	0.071	
	Total	11	0.633		
8	Starter culture ที่ใช้ (St)	3	0.291	0.097	1.18^{ns}
	Error	8	0.655	0.082	
	Total	11	0.946		
10	Starter culture ที่ใช้ (St)	3	0.324	0.108	1.65^{ns}
	Error	8	0.522	0.065	
	Total	11	0.846		
15	Starter culture ที่ใช้ (St)	3	0.212	0.070	<1
	Error	8	1.584	0.198	
	Total	11	1.796		
20	Starter culture ที่ใช้ (St)	3	0.213	0.071	<1
	Error	8	0.721	0.090	
	Total	11	0.934		
30	Starter culture ที่ใช้ (St)	3	0.107	0.036	<1
	Error	8	0.382	0.048	
	Total	11	0.489		

^{ns} ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ง8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น

ปัจจัยคุณภาพ	SV	DF	SS	MS	F
ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	การใช้หัวเชื้อเริ่มต้น (St)	3	0.781	0.260	4.50*
	Error	8	0.463	0.058	
	Total	11	1.244		
ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน	การใช้หัวเชื้อเริ่มต้น (St)	3	0.103	0.034	1.14^{ns}
	Error	8	0.241	0.030	
	Total	11	0.344		
ปริมาณเกลือ	การใช้หัวเชื้อเริ่มต้น (St)	3	0.172	0.057	<1
	Error	8	0.566	0.071	
	Total	11	0.738		
ความเป็นกรด-ด่าง	การใช้หัวเชื้อเริ่มต้น (St)	3	0.424	0.141	22.65**
	Error	8	0.050	0.006	
	Total	11	0.474		

^{ns} ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05)

* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01)

ตารางภาคผนวกที่ ง9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ

ระยะเวลาหมัก(วัน)	SV	DF	SS	MS	F
2	อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (T)	2	2.728	1.364	22.27**
	Error	6	0.368	0.061	
	Total	8	3.096		
4	อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (T)	2	3.580	1.790	21.87**
	Error	6	0.491	0.082	
	Total	8	4.071		
6	อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (T)	2	2.934	1.467	18.41**
	Error	6	0.478	0.080	
	Total	8	3.412		
8	อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (T)	2	3.254	1.627	29.37**
	Error	6	0.332	0.055	
	Total	8	3.586		
10	อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (T)	2	3.279	1.640	43.31**
	Error	6	0.227	0.038	
	Total	8	3.506		
15	อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (T)	2	1.696	0.848	14.87**
	Error	6	0.342	0.057	
	Total	8	2.038		
20	อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (T)	2	1.218	0.609	27.31**
	Error	6	0.134	0.022	
	Total	8	1.352		
30	อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (T)	2	1.314	0.657	11.42**
	Error	6	0.345	0.058	
	Total	8	1.659		

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

ตารางภาคผนวกที่ ง10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ

ปัจจัยคุณภาพ	SV	DF	SS	MS	F
ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (T)	2	24.281	12.140	283.80**
	Error	6	0.257	0.043	
	Total	8	24.538		
ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน	อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (T)	2	4.759	2.380	90.71**
	Error	6	0.157	0.026	
	Total	8	4.916		
ปริมาณเกลือ	อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (T)	2	0.845	0.423	5.07^{ns}
	Error	6	0.500	0.083	
	Total	8	1.345		
ความเป็นกรด-ด่าง	อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (T)	2	0.129	0.064	2.92^{ns}
	Error	6	0.133	0.022	
	Total	8	0.262		

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

^{ns} ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ง11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าฟอร์มัลไตเตรชั่นของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสภาวะการหมัก 2 ลักษณะ

ระยะเวลาหมัก(วัน)	SV	DF	SS	MS	F
2	ลักษณะการหมัก (T)	2	6.076	3.038	675.16**
	Error	6	0.027	0.004	
	Total	8	6.103		
4	ลักษณะการหมัก (T)	2	15.029	7.514	772.91**
	Error	6	0.058	0.010	
	Total	8	15.087		

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01)

ตารางภาคผนวกที่ ง12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณลักษณะทางเคมีของน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 4 ต่อ 1 เติมเปลือกสับปะรดร้อยละ 10 ไม่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสภาวะการหมัก 2 ลักษณะ

ปัจจัยคุณภาพ	SV	DF	SS	MS	F
ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	ลักษณะการหมัก (T)	2	136.999	68.499	90660.94**
	Error	6	0.005	0.001	
	Total	8	137.004		
ปริมาณไนโตรเจนจากกรดอะมิโน	ลักษณะการหมัก (T)	2	14.0062	7.0031	78784.62**
	Error	6	0.0005	0.0001	
	Total	8	14.0067		

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01)

ตารางภาคผนวกที่ ง13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนการทดสอบกลิ่นในน้ำปลาที่ได้หลังจากการบ่มเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ *P. halophilus* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

ปัจจัยที่ทดสอบ	SV	DF	SS	MS	F
กลิ่นน้ำปลา	สภาวะที่ใช้ในการบ่ม	5	0.733	0.147	<1
	ผู้ทดสอบชิม	9	4.400	0.489	2.56*
	Error	45	8.600	0.191	
	Total	59	13.733		

* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

จ. แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

Multiple Comparisons Test

Difference Analysis

ผู้ทดสอบชิม.....วันที่.....

ท่านจะได้รับตัวอย่างที่เสนอให้คือ...น้ำปลา...เพื่อทำการเปรียบเทียบในด้านกลิ่น ท่านจะได้รับตัวอย่างที่เขียนว่า "R" เพื่อให้ท่านได้ใช้ตัวอย่างนี้ในการเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นๆ ที่ให้รหัสทางสถิติว่า .... ทดสอบแต่ละตัวอย่างแล้วทำการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง "R" และให้เครื่องหมายในช่องที่ท่านเห็นว่าตัวอย่างที่ทดสอบ ดีกว่า เท่ากับ หรือ ด้อยกว่า ตัวอย่าง "R"

ตัวอย่าง	.....	.....	.....	.....	.....	.....
ดีกว่า	.....	.....	.....	.....	.....	.....
เท่ากับ	.....	.....	.....	.....	.....	.....
ด้อยกว่า	.....	.....	.....	.....	.....	.....

ปริมาณความแตกต่าง

ไม่มีความแตกต่างเลย	.....	.....	.....	.....	.....	.....
แตกต่างเล็กน้อย	.....	.....	.....	.....	.....	.....
แตกต่างปานกลาง	.....	.....	.....	.....	.....	.....
แตกต่างมาก	.....	.....	.....	.....	.....	.....
แตกต่างมากที่สุด	.....	.....	.....	.....	.....	.....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวจริยา ภู่เจริญ

วัน เดือน ปีเกิด 30 สิงหาคม 2506

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมี)	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2528