สารสกัดธรรมชาติบางชนิดสำหรับการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น

Some Natural Preservative Extracts for Shelf-life Extension of Red Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fillets During Refrigerated Storage

Prince of Songkla University
Pattani Campus

อิลยาส ดอเลาะ
Alyas Doloh

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Food Science and Nutrition
Prince of Songkla University
2559

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ สารสกัดธรรมชาติบางชนิด สำหรับการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น

ผู้เขียน นายอิลยาส ดอเลาะ

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พายัพ มาศนิยม)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จารุวรรณ มณีศรี)

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุจริต ส่วนไพโรจน์)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(ดร.สมรักษ์ พันธ์ผล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พายัพ มาศนิยม)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จารุวรรณ มณีศรี)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุจริต ส่วนไพโรจน์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุทธนา พงษ์พิริยะเดชะ)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ

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

Prince of Songkla University Pattani Campus

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พายัพ มาศนิยม)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....
(นายอิลยาส ดอเลาะ)
นักศึกษา

Prince of Songkla University Pattani Campus

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นายอิลยาส ดอเลาะ)

นักศึกษา

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ชื่อวิทยานิพนธ์	สารสกัดธรรมชาติบางชนิดสำหรับการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น
ผู้เขียน	นายอิลยาส ดอเลาะ
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ
ปีการศึกษา	2559

บทคัดย่อ

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลานิลแดงแล่ (*Oreochromis niloticus*) ในการแช่ด้วยสารสกัดจากรางจืด หม่อนและชะพลูร้อยละ 1 พบว่าปลานิลแดงแล่ที่แช่ด้วยสารสกัดจากรางจืดสามารถลดการเสื่อมเสียคุณภาพทางจุลินทรีย์และเคมี เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืดมีปริมาณแบคทีเรีย mesophilies psychrotrophs พีเอช ปริมาณรวมด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) และไตรเมทิลเอมีน (TMA) น้อยกว่าตัวอย่างชุดควบคุม ($p<0.05$) ปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดมีค่าสี (L*, a*, b*) ค่าความแข็ง (Hardness) และแรงเฉียน (Shear) ดีกว่าตัวอย่างชุดควบคุม ($p<0.05$) นอกจากนี้ปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดมีการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม มากกว่าตัวอย่างที่แช่สารสกัดหม่อน ชะพลูและชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน อย่างไรก็ตามตัวอย่างที่แช่สารสกัดหม่อนและชะพลู มีการยอมรับทางประสาทสัมผัสได้ 12 และ 9 วัน ตามลำดับ ชุดควบคุมมีการยอมรับทางประสาทสัมผัสได้เพียง 6 วัน ดังนั้นการแช่ด้วยสารสกัดรางจืดสามารถชะลอการเสื่อมเสียและรักษาคุณภาพเนื้อปลานิลแดงระหว่างการเก็บรักษา 15 วัน

ศึกษาการประเมินคุณภาพของปลานิลแดงแล่ร่วมกับสารสกัดรางจืดร้อยละ 1 ที่เก็บรักษาแบบดัดแปลงบรรยากาศ (60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2: MAP) และการบรรจุแบบสุญญากาศ (VAP) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าการเก็บตัวอย่างร่วมกับสารสกัดรางจืดภายใต้การบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ สามารถชะลอหรือยับยั้งปริมาณแบคทีเรีย mesophilies และ psychrotrophs ได้ดีที่สุด ตัวอย่างปลานิลแดงแล่ร่วมกับสารสกัดรางจืดภายใต้การบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมีค่าพีเอช ปริมาณรวมด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด และไตรเมทิลเอมีนน้อยกว่าตัวอย่างที่เก็บในบรรยากาศปกติ ($p<0.05$) ตัวอย่างปลานิลแดงแล่ร่วมกับสารสกัดรางจืดที่เก็บรักษาแบบดัดแปลงบรรยากาศมีค่าสี (L*, a*, b*) ค่าความแข็ง (Hardness) และแรงเฉียน (Shear) ดีกว่าตัวอย่างที่เก็บในบรรยากาศปกติ ($p<0.05$) ตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืดภายใต้การบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ มีการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมมากกว่าตัวอย่างอื่นๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน อย่างไรก็ตามตัวอย่างที่เก็บในบรรยากาศปกติมีการยอมรับทางประสาทสัมผัสได้เพียง 9 วัน ของการเก็บรักษา ดังนั้นการเก็บรักษาแบบดัดแปลงบรรยากาศร่วมกับสารสกัดรางจืดเหมาะสมในการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่

ศึกษาผลของสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศต่อการอยู่รอดของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ที่เติมในเนื้อปลานิลแดงแล่ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยพบว่าตัวอย่างของปลานิลแดงแล่ร่วมกับสารสกัดรางจืดภายใต้การเก็บแบบดัดแปลงบรรยากาศสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียกรดแลคติก เมื่อเทียบกับตัวอย่างชุดควบคุม นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ที่เติมในเนื้อปลานิลแดงแล่ (10^4 โคโลนี/กรัม) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศในปลานิลแดงแล่ สามารถลดจำนวนเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ดังนั้นการใช้สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศสามารถลดหรือยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้

Prince of Songkla University
Pattani Campus

คำสำคัญ : อายุการเก็บ; ปลานิลแดง; รางจืด; การบรรจุสุญญากาศ; การบรรจุดัดแปลงบรรยากาศ

Thesis Title	Some Natural Preservative Extracts for Shelf-life Extension of Red Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fillets During Refrigerated Storage
Author	Mister Alyas Doloh
Major Program	Food Science and Nutrition
Academic Year	2016

ABSTRACT

The quality changes of red tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillet dipped within 1% rang chueat, 1% mulberry and 1% chaplu extracts treatment was investigated. The tilapia dipped with rang chueat extract could lower microbiological and chemical deterioration, compared to the control sample. The sample treated with rang chueat extract had lower mesophilies, psychrotrophs, pH, total volatile base (TVB-N), trimethylamine (TMA) and thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) than those with control ($p<0.05$). The tilapia dipped with rang chueat extract had the color (L*, a*, b*), hardness and the shear more than those the control. Moreover, the tilapia dipped with rang chueat extract exhibited the great acceptability including color, flavor, texture and overall-acceptability than those dipped in mulberry extract, chaplu and the control throughout the storage 15 days. However, the sample treated with mulberry extract and chaplu could be accepted within 12 and 9 days of storage, respectively. The control sample had the acceptability only for 6 days. Therefore, dipping with rang chueat extract could be retard the deterioration and maintain the quality of tilapia during 15 days of storage.

The assessment effect of combination with 1% rang chueat under modified atmosphere packaging (60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2; MAP) and vacuum packaging on the quality of tilapia fillet stored at 4 °C was studied. Maximum inhibition of the mesophilies and psychrotrophs growth in the rang chueat were achieved with stored under MAP. Moreover, tilapia dipped with rang chueat kept under CO_2-enriched atmosphere had lower pH, TVB-N, TMA, TBARS than those stored in air (control) ($p<0.05$). The color (L*, a*, b*), hardness and the shear of tilapia fillet treated with rang chueat kept under MAP were higher than those with other samples. Samples were dipped with rang chueat under MAP, showed the greater acceptability (color, flavor, texture and overall-acceptability) than those packed in other samples throughout the storage of 21 days. However, the samples stored in air had the acceptability only 9 days of storage. Therefore, combination with rang chueat under MAP was chosen as the optimum condition for extending the shelf-life of tilapia.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Effect of tilapia fillets treated with rang chueat stored in MAP on the survival of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* inoculated on the tilapia stored at 4 °C was investigated. Rang chueat treatment with MAP on the tilapia fillets showed the antimicrobial effect on total viable counts (TVC) and lactic acid bacteria (LAB) counts, compared with control samples. Microbiological changes of the tilapia fillet inoculated with levels of *E. coli* or *S. aureus* (10^4 CFU/g) were monitored during refrigerated storage. Rang chueat treatment on tilapia fillets stored under MAP reduced colony counts of *E. coli* and *S. aureus*. Therefore, the tilapia fillets dipped with rang chueat under MAP showed that it reduced or inactivated some pathogenic bacteria to some extent.

Prince of Songkla University
Pattani Campus

Keywords : shelf-life; red tilapia; rang chueat; modified atmosphere packaging; vacuum packaging

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สามารถบรรลุวัตถุประสงค์และเป็นไปตามเป้าหมายที่ได้วางไว้ด้วยดี โดยได้รับความร่วมมืออย่างดีจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พายัพ มาศนิยม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จารุวรรณ มณีศรี และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุจริต ส่วนไพโรจน์ ซึ่งเป็นคณะผู้ร่วมวิจัย ที่กรุณาให้คำแนะนำและช่วยเหลือให้การวิจัยครั้งนี้ได้อย่างสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์อาหารฮาลาล ที่ให้การสนับสนุนเงินในงานวิจัย และภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ที่ให้อุปกรณ์และเครื่องมือในการดำเนินโครงการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่ในภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการที่คอยซักถามเกี่ยวกับความก้าวหน้าของงานวิจัย

ขอขอบคุณพ่อคุณแม่ ญาติพี่น้องที่เป็นสนับสนุนทั้งกำลังทรัพย์และเป็นกำลังใจเสมอมา

ท้ายสุดขอขอบคุณพี่ๆเพื่อนๆนักศึกษาปริญญาโททุกท่านที่คอยเป็นกำลังใจและช่วยเหลือให้งานวิจัยเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

อิลยาส ดอเลาะ

Prince of Songkla University Pattani Campus

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... (5)
ABSTRACT ..... (7)
กิตติกรรมประกาศ ..... (9)
สารบัญ ..... (10)
รายการตาราง ..... (13)
รายการรูป ..... (14)
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 บทนำต้นเรื่อง 1
1.2 วัตถุประสงค์ 2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
1.4 ขอบเขตการศึกษา 3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
2.1 ปลานิลแดง 4
2.1.1 การจำแนกชั้นทางวิทยาศาสตร์ของปลานิล 4
2.2 สารกันเสีย 5
2.2.1 ประเภทของสารกันเสีย 6
2.2.2 กลไกของวัตถุกันเสีย 6
2.3 สารสกัดจากธรรมชาติ 7
2.4 การเสื่อมเสียของสัตว์น้ำหลังการตาย 10
2.4.1 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและเอนไซม์ 10
2.4.2 การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ 12
2.5 การบรรจุชนิดดัดแปลงบรรยากาศ 13
2.5.1 ชนิดของการบรรจุด้วยสภาพดัดแปลงบรรยากาศ 14
2.5.2 ก๊าซที่ใช้ในการบรรจุชนิดดัดแปลงบรรยากาศ 15
2.6 การถนอมและรักษาคุณภาพสัตว์น้ำ 17

Prince of Songkla University Pattani Campus

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง 22
3.1 วัสดุ 22
3.1.1 ปลานิลแดง 22
3.1.2 พืช 22
3.1.3 สารเคมี 22
3.2 เครื่องมือวิเคราะห์และอุปกรณ์ 23
3.3 วิธีการทดลอง 23
3.3.1 การเตรียมตัวอย่างปลานิลแดงแล่และการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและจุลินทรีย์ 24
3.3.1.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและจุลินทรีย์ของเนื้อปลานิลแดงแล่ 24
3.3.1.2 ศึกษาความเข้มข้นสารสกัดจากพืชในการแช่เนื้อปลานิลแดง 24
3.3.2 ศึกษาผลของสารสกัดจากพืชต่อการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่ 25
3.3.3 ศึกษาผลของสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศและดัดแปลงบรรยากาศต่อการยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อปลานิลแดง 25
3.3.4 ศึกษาผลของสารสกัดรางจืดที่มีผลต่อปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* และเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่เติมลงในปลานิลแดงแล่ 26
3.3.4.1 การเก็บเชื้อและการเตรียมเชื้อ 26
3.3.4.2 การเตรียมตัวอย่างปลาและเติมเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อปลานิลแดงแล่ 26
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล 27
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 28
4.1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและจุลินทรีย์ของปลานิลแดงแล่ 28
4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของปลานิลแดงแล่ 28
4.1.2 องค์ประกอบทางจุลินทรีย์ของปลานิลแดงแล่ 28
4.1.3 ตรวจหาปริมาณพอลิฟีนอลและฟลาโวนอยด์ในตัวอย่างพืช 28

Prince of Songkla University Pattani Campus

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 ผลของการใช้สารสกัดจากใบรางจืด หม่อน และชะพลู ในการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่ 30
4.2.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ 30
4.2.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี 32
4.2.3 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ 36
4.2.4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส 41
4.3 ศึกษาผลของสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศและดัดแปลงบรรยากาศ ต่อการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่ 43
4.3.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ 43
4.3.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี 45
4.3.3 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ 50
4.3.4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส 55
4.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงจุลินทรีย์ในเนื้อปลานิลแดงที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ 57
4.4.1 ผลของสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศต่อการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* และเชื้อ *Staphylococcus aureus* 59
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 63
เอกสารอ้างอิง 65
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ 75
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ทางเคมี 83
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ทางกายภาพ 92
ภาคผนวก ง แบบประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัส 93
ประวัติผู้เขียน 94

Prince of Songkla University Pattani Campus

รายการตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่นและความชอบของปลานิลแดงที่แช่ด้วยสารสกัดจากรางจืด หม่อนและชะพลู 29

Prince of Songkla University
Pattani Campus

รายการรูป

รูปที่ **หน้า**

1 ปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus*).....4
2 ใบชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.).....8
3 ใบรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.).....9
4 ใบหม่อน (*Morus alba* Linn.).....9
5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียชนิด Mesophilies (A) และ Psychrotrophs (B) ของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดจากรางจืด (●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส 31
6 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดจากรางจืด (●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส 33
7 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณรวมด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดจากรางจืด (●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส 34
8 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA) ของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดจากรางจืด (●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส..... 35
9 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณมาลอนาลดีไฮด์ (TBARs) ของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดจากรางจืด (●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส..... 36
10 การเปลี่ยนแปลงค่าสี L* (A), a* (B) และ b* (C) ของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดจากรางจืด (●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส..... 38
11 การเปลี่ยนแปลงค่าความแข็ง (hardness (A)) และค่าแรงเฉียน (Shear (B)) ของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดจากรางจืด (●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส 40
12 การเปลี่ยนแปลงคะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี (A) กลิ่นรส (B) เนื้อสัมผัส (C) และความชอบโดยรวม (D) ของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดจากรางจืด (●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส 42

Prince of Songkla University Pattani Campus

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียชนิด Mesophilies (A) และ Psychrotrophs (B) ของปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (○); 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส 45

14 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30%N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (○); 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส 46

15 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณรวมด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ของปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (○); 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส 48

16 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA) ของปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (○); 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส 49

17 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณมาลอนาลดีไฮด์ (TBARs) ของปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (○); 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส 50

18 การเปลี่ยนแปลงค่าสี L* (A), a* (B) และ b* (C) ของปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (○); 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส 52

Prince of Songkla University Pattani Campus

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

19 การเปลี่ยนแปลงค่าความแข็ง (Hardness (A)) และค่าแรงเฉือน (Shear (B)) ของปลานิลแดงที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (○); 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส..... 54

20 การเปลี่ยนแปลงคะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี (A) กลิ่นรส (B) เนื้อสัมผัส (C) และความโดยชอบรวม (D) ของปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (○); 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส 56

21 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (A) และแบคทีเรียกรดแลคติก (B) ในเนื้อปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (■); และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส 58

22 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (A) แบคทีเรียกรดแลคติก (B) และ *E. coli* (C) ในเนื้อปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; T+MAP+E (Δ); T+E (●) และชุดควบคุมที่มีเชื้อ *E. coli* (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส..... 61

23 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (A) แบคทีเรียกรดแลคติก (B) และ *S. aureus* (C) ในเนื้อปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; T+MAP+S (Δ); T+S (●) และชุดควบคุมที่มีเชื้อ *S. aureus* (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส 62

Prince of Songkla University Pattani Campus

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

ปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาเศรษฐกิจที่สำคัญนิยมเลี้ยงกันมาก ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ผลผลิตปลานิลโลกในอีก 20 ปีข้างหน้าคาดว่าจะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า จาก 4.3 ล้านตัน ในปี 2553 เป็น 7.3 ล้านตัน ในปี 2573 สถานการณ์ปลานิลโลกไตรมาส 2 (ณัฐรียา , 2557) ส่วนใหญ่มักมีการจำหน่ายในลักษณะปลาสดและปลาแล่ นอกจากนี้การบริโภคปลานิลแดงอยู่ในรูปที่พร้อมสำหรับการปรุง เช่น ปลาแล่ หรือปลาเป็นชิ้น กำลังได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น เนื่องมาจากมีความสะดวกสบายและความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ให้กับผู้บริโภคเนื้อปลามีรสชาติดี และเป็นแหล่งของโปรตีน มีคุณค่าทางอาหารสูง อย่างไรก็ตามปลานิลแดงเกิดการเน่าเสียได้ง่าย เนื่องจากมีองค์ประกอบของโปรตีนและความชื้นที่สูง เป็นสาเหตุให้สูญเสียทั้งปริมาณและคุณภาพ รวมทั้งอาจเกิดอาการอาหารเป็นพิษเนื่องจากจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคที่ปนเปื้อนในระหว่างการผลิต การขนส่ง และการวางจำหน่ายที่ไม่เหมาะสม ปัจจุบันอุตสาหกรรมสัตว์น้ำและอาหารฮาลาลได้ขยายตัวไปอย่างรวดเร็ว ตลาดทั้งในและต่างประเทศได้ขยายตัวขึ้น ทำให้ความสำคัญทางด้านคุณภาพและความปลอดภัยของสัตว์น้ำเป็นสิ่งที่ต้องคำนึงถึง ซึ่งจะส่งผลต่อระยะเวลาของการเก็บรักษา ทำให้อายุการเก็บรักษาสัตว์น้ำนานขึ้น จึงจำเป็นต้องศึกษาวิธีการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ และศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษาสัตว์น้ำที่เหมาะสม เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเป็นผลให้มีการขยายตัวของตลาดสัตว์น้ำ รวมทั้งการเพาะเลี้ยงปลานิลแดงให้เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากความต้องการอาหารสำเร็จรูปที่มีความสดและปราศจากสารกันบูดที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

สัตว์น้ำที่มีคุณภาพดีควรมีการปฏิบัติที่ถูกต้อง ภายหลังการจับสัตว์น้ำ การขนส่ง ตลอดจนถึงการเก็บรักษาสัตว์น้ำในสภาวะที่เหมาะสม เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาสัตว์น้ำให้คงสภาพความสด มีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้อยและเก็บรักษาได้นาน (Adam and Moss, 1995) การใช้สารสกัดจากธรรมชาติ (Natural derived preservatives) เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำได้ การใช้สารสกัดจากธรรมชาติเป็นการยับยั้งหรือลดจำนวนจุลินทรีย์ให้อยู่ในระดับที่มีการยอมรับได้ เพื่อรักษาคุณภาพของอาหาร (Goulas and Kontominas, 2007) ปัจจุบันสารสกัดจากธรรมชาติที่ใช้ในอาหารได้แก่ สารประกอบพอลิฟีนอล น้ำมันกานพลู อบเชย ขมิ้น ตะไคร้ และสารประกอบอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง (Holley and Patel, 2005; Gharras, 2009; Masniyom *et al*., 2012) กลุ่มที่ได้เป็นสารพวก aromatic และ phenolic เมื่อนำมาใช้กับอาหาร สารเหล่านี้สามารถต้านจุลินทรีย์ในอาหาร ซึ่งมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของ

เชื้อจุลินทรีย์ และทำปฏิกิริยากับอนุมูลโลหะซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จึงมีคุณสมบัติเป็นการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ และยังมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระทำให้ลดปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ (Ignat *et al.,* 2011; Holley and Patel, 2005)

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและจุลินทรีย์ของปลานิลแดงแล่ การใช้สารสกัดจากใบรางจืด หม่อนและชะพลู ในการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่ การใช้สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศและดัดแปลงบรรยากาศ ต่อการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่และการใช้สารสกัดรางจืดมีผลต่อปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* และเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่เติมลงในเนื้อปลานิลแดงแล่

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและจุลินทรีย์ของปลานิลแดงแล่ก่อนแช่สารสกัด
2. เพื่อศึกษาผลของการใช้สารสกัดใบหม่อน รางจืดและชะพลู ในการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่
3. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศและดัดแปลงบรรยากาศ ต่อการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่
4. เพื่อศึกษาการใช้สารสกัดรางจืดที่มีผลต่อปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* และเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่เติมลงในเนื้อปลานิลแดงแล่

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีและจุลินทรีย์ของปลานิลแดงแล่ก่อนแช่สารสกัด
2. ทราบผลของสารสกัดต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่
3. ทราบผลของการใช้สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศและการดัดแปลงบรรยากาศเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่
4. สามารถเป็นแนวทางนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

Prince of Songkla University Pattani Campus

1.4 ขอบเขตของการศึกษา

1. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี (ความชื้น โปรตีน เถ้าและไขมัน) และจุลินทรีย์ชนิด mesophilies, psychrotrophs, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* sp. ในปลานิลแดงแล่ก่อนแช่สารสกัด

2. ศึกษาผลของการใช้สารสกัดด้วยน้ำจากใบรางจืด หม่อนและชะพลูที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ในการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. ศึกษาผลของสารสกัดใบรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศและดัดแปลงบรรยากาศ ต่อการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4. ศึกษาการใช้สารสกัดจากธรรมชาติที่มีผลต่อปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* และเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่เติมในเนื้อปลานิลแดงแล่ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Prince of Songkla University Pattani Campus

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปลานิลแดง

รูปที่ 1 ปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus*)

2.1.1 การจำแนกชั้นทางวิทยาศาสตร์ของปลานิล

อาณาจักร : Animalia

ไฟลัม : Chordata

ชั้น : Actinopterygii

อันดับ : Perciformes

วงศ์ : Cichlidae

สกุล : *Oreochromis*

สปีชีส์ : *O. niloticus*

ปลานิลแดงมีชื่อสามัญ Red tilapia และชื่อวิทยาศาสตร์ *Oreochromis niloticus* (Linn.) เป็นปลาที่สามารถอาศัยได้ทั้งน้ำจืดและน้ำกร่อย เจริญเติบโตได้ดีที่ความเค็ม 25-30 ppt. และจัดเป็นปลาจำพวกกินพืช เลี้ยงง่าย เนื้อมีรสชาติที่ดี เจริญเติบโตได้รวดเร็วในระยะเวลา 1 ปี โดยจะมีน้ำหนักประมาณครึ่งกิโลกรัม ปลานิลแดงเป็นปลาลูกผสมระหว่างปลานิลกับปลาหมอเทศ ลักษณะของปลานิลแดงดังรูปที่ 1 คือมีริมฝีปากบนและล่างเสมอกัน บริเวณแก้มมีเกล็ด 4 แถว ลำตัวมีสีแดงปนชมพูและมีลาดพาดขวาง 9–10 แถบ ครีบหลัง ครีบก้นและครีบหางมีจุดขาวและเส้นสีขาวตัดขวาง ครีบหลังมีอันเดียวประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 15–18 อัน และก้านครีบอ่อน 12–14 อัน ครีบก้นมีก้านครีบแข็ง 3 อัน และก้านครีบอ่อน 12–14 อัน บนแถบเส้นข้างลำตัวมีเกล็ด

Prince of Songkla University Pattani Campus

33 เกล็ด และจากเส้นข้างลำตัวลงมาถึงแนวส่วนหน้าของครีบก้น 13 เกล็ด ลำตัวมีสีแดงปนชมพู ตรงกลางเกล็ดมีสีเข้ม ที่กระดูกแก้มมีจุดสีเข้มอยู่ 1 จุด ปลานิลมีนิสัยชอบอยู่รวมกันเป็นฝูง มีความอดทนและปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี มีอุปนิสัยกินอาหารทั้งพืชและสัตว์ สามารถกินแพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ ซากอินทรีย์และอนินทรีย์ที่เน่าเปื่อย รวมทั้งจุลินทรีย์และพืชน้ำต่างๆ เป็นปลาที่กินอาหารในเวลากลางวันและหยุดกินอาหารในเวลากลางคืน กินอาหารได้ทั้งที่ผิวน้ำ กลางน้ำ และก้นบ่อ

การเพาะพันธุ์ปลานิลในประเทศไทยเริ่มมีการบันทึกสถิติในปี พ.ศ.2517 นับจากนั้นมา ปลานิลหน้าฟาร์มได้สร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรไม่น้อยกว่า 107,000 ล้านบาท จนถึงปัจจุบันประเทศไทยมีการผลิตปลานิลไม่น้อยกว่า 220,000 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่าหน้าฟาร์ม 12,000 ล้านบาท ปลานิลยังเป็นปลาน้ำจืดเพื่อการส่งออกที่มีศักยภาพสูงกว่าปลาชนิดอื่น นอกจากนี้แล้ว ปลานิลยังเป็นปลาที่ชาวไทยบริโภคกันมากที่สุดแล้ว ยังทำให้เกิดการมีงานทำแก่ประชาชนมากกว่าล้านคนในฟาร์มปลานิลที่มีอยู่ไม่ต่ำกว่า 300,000 แห่งทั่วประเทศ

ในปัจจุบัน ประเทศไทยยังส่งออกปลานิลไปยังตลาดต่างประเทศทั้งในยุโรปตะวันออกกลาง สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย และเอเชีย ในปี พ.ศ.2551 ตลาดสหภาพยุโรปกลายเป็นตลาดอันดับ 1 ของปลานิล คิดเป็นปริมาณส่งออก 7,758.98 ตัน รองลงมาคือ ประเทศในกลุ่มตะวันออกกลาง มีปริมาณการส่งออก 5,583.91 ตัน ส่วนตลาดสหรัฐฯอยู่ในลำดับที่ 3 มีปริมาณ 4,786.27 ตัน คิดเป็นสัดส่วนการส่งออกปลานิลไทยไปยังประเทศต่างๆในสหภาพยุโรปมากที่สุดถึงร้อยละ 40 รองลงมาคือ สหรัฐฯร้อยละ 37 ส่วนประเทศในแถบตะวันออกกลางมีสัดส่วนราวร้อยละ 15 ของการส่งออกรวม โดยทำการส่งออกทั้งหลายรูปแบบทั้งปลานิลสด ปลานิลที่ยังมีชีวิต และแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ

ในปี พ.ศ. 2549 องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) รายงานว่าประเทศไทยสามารถผลิตปลานิลได้เป็นอันดับที่ 4 ของภูมิภาคเอเชีย รองลงมาจากประเทศจีน ฟิลิปปินส์และอินโดนีเซีย

2.2 สารกันเสีย (preservative)

สารกันเสียหรือวัตถุกันเสีย หมายถึงสารประกอบเคมีหรือส่วนผสมของสารประกอบเคมีที่เติมในอาหารเพื่อชะลอการเน่าเสียหรือช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร (ศิวาพร, 2546) ซึ่งมีคุณสมบัติดังนี้ คือ (สุมาลี, 2527)

1. ต้องไม่เป็นพิษต่อผู้บริโภค
2. เป็นสารที่ทำลายเซลล์จุลินทรีย์ได้ดี

Prince of Songkla University Pattani Campus

3. ต้องเป็นสารที่ยังคง active อยู่เสมอ ไม่ถูกยับยั้งด้วยอาหารหรือผลผลิตที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์

4. ต้องเป็นสารที่ไม่กระตุ้นให้จุลินทรีย์เกิดการผ่าเหล่าหรือดื้อต่อสารที่ใช้

5. ไม่ควรเป็นสารปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาโรค

6. ไม่ควรเป็นสารพวกที่ถูกทำลายด้วยความร้อน

7. ไม่ควรทำให้กลิ่นรสของอาหารเปลี่ยนแปลงไป

2.2.1 ประเภทของสารกันเสีย ปัจจุบันมีการจัดกลุ่มสารกันเสียไว้ 3 ประเภทดังนี้คือ (สุมาลี, 2527)

1. สารที่ไม่กำหนดปริมาณที่ใช้เติมในอาหาร ได้แก่กลุ่มของกรดอินทรีย์ธรรมชาติและเกลือของกรดเหล่านั้น ได้แก่กรดแลกติก กรดซิตริก กรดมาลิก กรดอะซิติกเป็นต้น นอกจากนี้ยังรวมถึงเกลือแกง น้ำตาล เครื่องเทศและน้ำมันของเครื่องเทศ

2. สารที่มีการกำหนดปริมาณที่ใช้เติมในอาหาร เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค ได้แก่โพรพิโนลิก กรดซอร์บิก กรดแบนโซอิค และเกลือแกงของกรดเหล่านั้น ได้แก่ซัลเฟอร์ไดออกไซย์และซัลไฟด์

3. สารเคมีที่ไม่ได้กล่าวไว้ในข้อที่ 1 และ 2 ซึ่งสามารถนำมาใช้ได้เมื่อได้พิสูจน์แล้วว่ามีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและเป็นที่ยอมรับของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (Food and Drug Administration, FDA)

2.2.2 กลไกของวัตถุกันเสีย กลไกของวัตถุกันเสียในการชะลอการเจริญเติบโตหรือทำลายจุลินทรีย์ได้นั้น เนื่องจากวัตถุกันเสียที่ใช้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่อจุลินทรีย์ ทำให้ไม่สามารถเจริญเติบโตได้และตายในที่สุด โดยทั่วไปกลไกของวัตถุกันเสียไปมีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ได้ 3 แบบด้วยกันดังนี้

1. ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ การที่วัตถุกันเสียจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายจุลินทรีย์ได้นั้น ไม่จำเป็นว่าวัตถุกันเสียจะต้องแทรกซึมเข้าไปในเซลล์ของจุลินทรีย์เสมอไป เพียงแต่ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นที่ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ก็เพียงพอแล้ว ตัวอย่างเช่นการทำให้คุณสมบัติของเซลล์เปลี่ยนแปลงไป อันเป็นสาเหตุทำให้เส้นทางอาหารจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เกิดการขัดข้องไปด้วย เป็นสาเหตุทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่างๆ ชะงักและตายได้ในที่สุด นอกจากนี้การศึกษาวิจัยพบว่าวัตถุกันเสียบางชนิดจะไปมีผลต่อกระบวนการสร้างหรือสังเคราะห์ส่วนประกอบของผนังเซลล์ ทำให้จุลินทรีย์มีผนังที่ไม่สมบูรณ์ ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้จุลินทรีย์ตายได้เช่นกัน Adam and Moss (1995) กล่าวว่าน้ำมันหอมระเหยมีส่วนที่เป็น

Prince of Songkla University Pattani Campus

hydrophobicity ซึ่งสามารถทำให้ไขมันภายใน cell membrane และ mitochondria เกิดการแตกตัวได้ ทำให้เกิดการซึมผ่านและนำไปสู่การรั่วไหลของสารภายในเซลล์

2. ผลต่อการทำงานของเอนไซม์ โดยทั่วไปการที่เอนไซม์จะทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพนั้น ส่วนประกอบต่างๆของเอนไซม์ควรจะมีครบและอยู่ในสภาพที่พร้อมจะทำงานได้ เช่นควรมีคุณสมบัติเป็นคอลลอยด์ (colloid) พรอสเททิกกรุ๊ป (prosthetic group) หรือโคเฟคเตอร์ หรือฟังก์ชันแนลกรุ๊ป (cofactor or functional group) อื่นๆ เป็นส่วนประกอบ ถ้าหากองค์ประกอบต่างๆของเอนไซม์ถูกทำลายไปหรือผิดปกติไป ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ก็เสียไปด้วย จึงส่งผลต่อเนื่องทำให้จุลินทรีย์หยุดทำงานหรือตายได้

3. ผลต่อกลไกทางพันธุกรรม การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์นั้น โดยส่วนใหญ่จะเป็นวิธีการแบ่งเซลล์และในกระบวนการแบ่งเซลล์นั้น จะมีโครโมโซม (chromosome) และยีน (gene) เป็นองค์ประกอบภายใน ยีนจะมีดีเอ็นเอ (DNA) และอาร์เอนเอ (RNA) เป็นองค์ประกอบ ดังนั้นหากมีสิ่งผิดปกติเกิดขึ้นกับส่วนนี้ ก็จะทำให้การแบ่งเซลล์หยุดทำงาน ทำให้จุลินทรีย์อ่อนแอและตายในที่สุด

2.3 สารสกัดจากธรรมชาติ

ในปัจจุบันอุตสาหกรรมการแปรรูปสัตว์น้ำต้องมีการพัฒนาระบบการผลิต การเก็บรักษาและการควบคุมการผลิต เพื่อให้อาหารมีความปลอดภัย รักษาคุณภาพให้สม่ำเสมอ โดยเฉพาะการบริโภคสัตว์น้ำ ซึ่งต้องการให้อาหารมีความสดเป็นธรรมชาติ ปราศจากการใช้สารเคมี ทำให้อาหารมีความปลอดภัยมากขึ้น อีกทั้งสามารถเก็บรักษาได้นานขึ้น โดยยังคงคุณภาพด้านจุลินทรีย์ กายภาพ เคมี และประสาทสัมผัสของอาหารไว้ได้ อย่างไรก็ตามสัตว์น้ำเป็นอาหารที่เน่าเสียได้ง่าย เนื่องจากมีปริมาณน้ำที่สูง คุณค่าทางโภชนาการสูงและมีค่าความเป็นกรดด่างของสัตว์น้ำเป็นกลาง ซึ่งเหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ทำให้มีโอกาสเสื่อมเสียได้ง่าย ความสำคัญของการควบคุมคุณภาพสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์ จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเพื่อให้สัตว์น้ำมีความปลอดภัย ลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และยืดอายุการเก็บรักษาสัตว์น้ำไว้ได้นาน ซึ่งสามารถทำได้โดยควบคุมการผลิต การเก็บรักษาด้วยความเย็น การบรรจุแบบสุญญากาศ การบรรจุภายใต้ดัดแปลงบรรยากาศ หรือการใช้สารสกัดจากธรรมชาติ สารสกัดจากธรรมชาติที่มีการใช้ในสัตว์น้ำ ได้แก่สารประกอบพอลิฟีนอล น้ำมันหอมระเหย (essential oil) จากขมิ้น ตะไคร้ กานพลู rosemary, oregano ไคโตซาน (Masniyom *et al*., 2012; Gharras, 2009) และสารสกัดจากชาเขียว ได้แก่ epigallocatechin gallate, epicatechin gallate, epicatechin, catechin และ epigallocatechin ซึ่งจะมีผลในการป้องกันการเปลี่ยนแปลงคุณภาพผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ (Banerjee, 2006)

สารสกัดจากธรรมชาติเป็นสารที่ได้จากการสกัดจากพืช สมุนไพรและเครื่องเทศ โดยวิธีการต่างๆได้แก่ การต้มด้วยน้ำ การใช้ไอน้ำ การสกัดด้วยตัวทำละลาย ซึ่งแต่ละวิธีอาจส่งผลต่อคุณสมบัติทางเคมีของสารสกัดที่ได้ (Pinelo *et al*., 2005) ประเทศไทยมีสมุนไพรหลายชนิดที่สามารถนำมาสกัดเป็นสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อนำมาใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ ได้แก่ ขมิ้น ตะไคร้ ชะพลู รางจืด หม่อนและอื่น ๆ อีกหลายชนิด

ชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.) อยู่ในวงศ์ Piperaceae มีชื่อเรียกท้องถิ่นได้แก่ ช้าพลู (ภาคกลาง) ผักอีเลิศ (ภาคอีสาน) พลูลิง (ภาคเหนือ) นมวา (ภาคใต้) ต้นชะพลูเป็นพืชล้มลุกขนาดเล็ก เจริญได้ทั่วไปตามที่ชื้น มีลักษณะเป็นเถาเลื้อยอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ลำต้นจะแบ่งเป็นข้อ ๆ แต่ละข้อจะมีรากในการยึดเกาะ ลักษณะของใบมีสีเขียวสดเป็นมัน คล้ายรูปหัวใจ ใบมีกลิ่นฉุนและมีดอกสีขาวขนาดเล็กออกเป็นช่อ ใบชะพลูมีคุณค่าทางสารอาหารที่สำคัญคือ แคลเซียม วิตามินเอ สารคลอโรฟิลล์ และสารเบต้าแคโรทีน สรรพคุณของชะพลูช่วยขับเสมหะ ช่วยย่อยอาหาร ขับลมในลำไส้และบำรุงธาตุ (อรทัย, 2551) ลักษณะของใบชะพลูดังแสดงในรูปที่ 2

รูปที่ 2 ชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.)

รางจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.) อยู่ในวงศ์ Acanthaceae มีชื่อเรียกท้องถิ่นได้แก่ เครือเขาเขียว (ภาคกลาง) คายรางเย็น (ยะลา) ดุเหว่า (ปัตตานี) และอื่นๆ รางจืดเป็นไม้เถาขนาดกลาง ลำต้นเลื้อยพันกับต้นไม้อื่น ใบเป็นใบเดียวออกตรงข้ามเป็นคู่ๆ ขนาดของใบจะเรียงขนาดใหญ่จากโคนไปหาปลาย ใบมีสีเขียวคล้ายรูปหัวใจยาว ออกดอกเป็นช่ออยู่ตามง่ามใบ 3-4 ดอก (วิทย์, 2539; พนิดา, 2542) สรรพคุณของรางจืดช่วยถอนพิษไข้ ถอนพิษผิดสำแดง แก้ร้อนใน พิษจากแมงดาทะเลและสารหนู สารสำคัญที่พบในรางจืดได้แก่ กลุ่ม flavonoid, phenolic apigenin, cosmosin, clorogenic acid และ caffeic acid (วิรวรรณ และคณะ, 2546) ลักษณะของใบรางจืดดังแสดงในรูปที่ 3

รูปที่ 3 ใบรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.)

หม่อน (*Morus alba* Linn.) อยู่ในวงศ์ Moraceae เป็นไม้ยืนต้นจำพวกไม้พุ่ม ใบมีรูปร่างแตกต่างกันตามสายพันธุ์ เพศเดียว ดอกเพศเมียจะมีเมล็ดสำหรับขยายพันธุ์ และสามารถเจริญได้ดีในเขตอบอุ่นถึงเขตร้อน สรรพคุณของหม่อนช่วยให้เลือดลมไหลเวียนสะดวก บำรุงหัวใจ และรักษาโรคเบาหวานได้ สารที่พบในหม่อน คือสารประกอบพอลิฟีนอล (Chan, 2013) ลักษณะของใบหม่อนดังแสดงในรูปที่ 4

รูปที่ 4 ใบหม่อน (*Morus alba* Linn.)

Prince of Songkla University Pattani Campus

2.4 การเสื่อมคุณภาพของสัตว์น้ำหลังการตาย

ปลาและอาหารทะเลเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน และเกลือแร่ โปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนที่ย่อยง่าย เช่น ไกลซีน ไลซีน กลูตามิก ไขมันในสัตว์น้ำประกอบด้วยไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว สัตว์น้ำมีปริมาณไขมันไม่อิ่มตัวสูง ง่ายต่อการเกิดออกซิเดชันในสภาพที่มีออกซิเจน เป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น รสและลักษณะทางประสาทสัมผัส จึงเกิดการเสื่อมคุณภาพและเน่าเสียได้ง่าย นอกจากนี้อาหารทะเลมีค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ (water activity, a_w) สูง มีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและจุลินทรีย์ได้เร็วกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่น โดยปฏิกิริยาดังกล่าวจะเกิดขึ้นทันทีหลังจากสัตว์น้ำตาย การเน่าเสียจะเกิดขึ้นเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ วิธีการจับ แหล่งที่จับ ฤดูกาลที่จับ เพศ ขนาด และกระบวนการดูแลหลังการจับ ซึ่งจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้านจุลินทรีย์ เคมี และกายภาพของสัตว์น้ำ Hobbs (1991) พบว่าการเปลี่ยนแปลงทางด้านจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน ดังนั้นวิธีการถนอมอาหารที่ได้มาจากสารสกัดธรรมชาติ เป็นอีกวิธีหนึ่งในการลดการเสื่อมเสียของอาหาร หรือชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และสามารถลดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ สารสกัดจากธรรมชาติที่นิยมใช้ได้แก่ พืชสมุนไพร เครื่องเทศ ชา น้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากธรรมชาติอื่น ๆ (Gharras, 2009)

สัตว์น้ำเป็นอาหารที่เน่าเสียได้ง่ายโดยกล้ามเนื้อของสัตว์น้ำจะเน่าเสียได้เร็วกว่ากล้ามเนื้อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เนื่องจากกล้ามเนื้อสัตว์น้ำมีองค์ประกอบของน้ำและกรดอะมิโนในปริมาณสูง และในขณะที่ปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันต่ำเมื่อเทียบกับกล้ามเนื้อของสัตว์ชนิดอื่น ส่งผลทำให้สัตว์น้ำนั้นมีการเน่าเสียได้เร็วกว่า นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างของสัตว์น้ำค่อนข้างเป็นกลาง จึงทำให้มีการเน่าเสียอย่างรวดเร็วโดยทั่วไปการเสื่อมเสียคุณภาพของสัตว์น้ำ สามารถจำแนกเป็น 2 ประเภท คือ

2.4.1. การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและเอนไซม์

โดยทั่วไปกล้ามเนื้อของสัตว์น้ำประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน น้ำ คาร์โบไฮเดรต เกลือแร่ และกรดนิวคลีอิกเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงไปตามชนิด ประเภท ฤดูการวางไข่ของสัตว์น้ำ (Foegeding *et al*., 1996) การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและเอนไซม์จึงส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของสัตว์น้ำ ซึ่งสามารถจำแนกได้เป็น 2 ประเภทดังนี้

1. การเปลี่ยนแปลงของโปรตีน

การเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อในสัตว์น้ำจะเกิดขึ้นเมื่อสัตว์น้ำตาย เอนไซม์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพสัตว์น้ำ ได้แก่ คาลเพน (calpain) คาเทปซิน (cathepsin D B และ L) (Godiksen *et al*., 2009) เอนไซม์ภายในตัวของสัตว์น้ำโดยเฉพาะโปรตีเนส (proteinase) จะมีผล

ต่อการเปลี่ยนแปลงกล้ามเนื้อสัตว์น้ำ การเก็บรักษาสัตว์น้ำในน้ำแข็ง ทำให้เกิดการย่อยสลายของโปรตีน ทำให้เกิดโครงสร้างที่มีลักษณะหลวมและอ่อนตัว พบเห็นได้บริเวณผิวหนังหน้าท้องของสัตว์น้ำ ทำให้เกิดการพองและแตกออกของลำไส้ ส่งผลต่อการไม่ยอมรับของผู้บริโภค นอกจากนี้กิจกรรมของแบคทีเรียที่พบในสัตว์น้ำส่งผลต่อการย่อยสลายกล้ามเนื้อ (Regenstein *et al*., 1982) ซึ่งขั้นตอนแรกหลังจากสัตว์น้ำตายจะเป็นการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ (rigor mortis) ในระยะนี้แบคทีเรียไม่สามารถย่อยสลายกล้ามเนื้อสัตว์น้ำเพื่อเป็นอาหารได้ หลังจากกล้ามเนื้อสัตว์น้ำคลายตัวแล้วโปรตีนจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์น้ำและทางเดินอาหาร เอนไซม์ที่มีอยู่จะยังคงทำงานต่อไปได้อีกระยะหนึ่ง โดยย่อยสลายส่วนต่างๆในกล้ามเนื้อสัตว์น้ำ

Hobbs (1982) พบว่าเมื่อสัตว์น้ำตาย เอนไซม์ในกล้ามเนื้อจะยังคงดำเนินกิจกรรมอยู่ พลังงานที่ใช้ในการหดตัวนี้มาจากไกลโคเจนที่สะสมไว้ในกล้ามเนื้อ โดยอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (ATP) จะแตกตัวได้อย่างรวดเร็วได้เป็นอะดีโนซีนไดฟอสเฟต (ADP) และหมู่ฟอสเฟต (P) โดย Mg activated actomyosin ATPase และพลังงานอิสระที่ได้รับการแตกตัวจาก ATP ถูกนำไปใช้ในการหดตัว ภายหลังการตายการสังเคราะห์ ATP จะไม่สังเคราะห์ได้อีก ดังนั้นเมื่อไม่มี ATP ก็จะเกิดการสร้างพันธะระหว่างแอกตินและ ไมโอซินเป็นแอกโตไมโอซิน ผลของปฏิกิริยานี้ทำให้กล้ามเนื้อของสัตว์น้ำเกิดหดตัว หรือเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ นอกจากนี้มีกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายตัวเอง ทำให้กล้ามเนื้อของสัตว์น้ำเกิดการเสียสภาพโปรตีนซึ่งมีสาเหตุมาจากเอนไซม์แอนโดจีเนส และโปรตีเอส ได้แก่ คาลเพน (Wang and Brown, 1983) และคาเทปซิน (Visessanguan *et al*., 2001) หลังจากนี้มีเอนไซม์จากแบคทีเรียได้แก่ *Pseudomonas marinoglentinosa* สามารถย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อโดยย่อยแอคโตไมโอซินที่อุณหภูมิ 0-2 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมสูงกว่า 7 (Venugopol *et al*., 1983) รวมทั้งเอนไซม์จากทางเดินอาหารมีกิจกรรมที่ย่อยสลายสูง ดังนั้นการเอาเครื่องใน ลำไส้ปลาออก จึงสามารถลดการแพร่กระจายของเอนไซม์และแบคทีเรียเข้าสู่ช่องท้องและเนื้อเยื่อ ในปลาบางชนิด เช่น ปลาเฮอริ่ง ปลาแมคเคอเรลและปลาแคป ทั้งนี้เนื่องจากปลามีกระเพาะและลำไส้ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสที่สูง ซึ่งเป็นสาเหตุของลักษณะท้องแตก (belly burst) ลักษณะดังกล่าวสามารถลดลงได้ด้วยการเก็บปลาไว้ที่อุณหภูมิต่ำและผ่านกรรมวิธีการแปรรูปอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะการควักไส้ควรจะทำทันทีหลังจากจับปลา

2. การเปลี่ยนแปลงของไขมัน

ไขมันสัตว์น้ำประกอบด้วยสัดส่วนของไขมันไม่อิ่มตัวในปริมาณสูง ซึ่งง่ายต่อการเกิดออกซิเดชันในสภาพที่มีออกซิเจน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง และเสื่อมเสียของไขมันเป็นสาเหตุให้กลิ่น รส สี และเนื้อสัมผัสเปลี่ยนแปลง (Hobbs, 1982) เอนไซม์ไลเปสสามารถย่อยสลายไขมันไม่อิ่มตัวได้ง่ายเกิดเป็นสารประกอบคาร์บอนิล ซึ่งเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ การสะสมสารประกอบ

ที่เกิดจากปฏิกิริยาดังกล่าวทำให้เกิดกลิ่น และรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ นอกจากนี้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสสามารถเกิดขึ้นได้โดยเอนไซม์ไลเปสจากแบคทีเรีย ในขณะที่สัตว์น้ำเกิดการเน่าเสีย กระบวนการไลโพไลซิส (lipolysis) และออกซิเดชันของไขมันส่วนใหญ่เกิดขึ้นเนื่องจากเอนไซม์ในเนื้อเยื่อสัตว์น้ำรวมกับสภาวะที่มีออกซิเจน และทำให้เกิดการหืน (rancidity) เนื่องจากกระบวนการไลโพไลซีส และออกซิเดชันเกิดขึ้นจากกิจกรรมของแบคทีเรีย การบรรจุสัตว์น้ำเป็นบล็อกโดยการเอาน้ำใส่ก่อนนำไปแช่แข็งน้ำจะหุ้มตัวสัตว์น้ำเอาไว้ไม่ให้ไขมันสัมผัสกับออกซิเจนก็สามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ปริมาณไขมันในเนื้อปลาจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของปลา ความสมบูรณ์ของอาหารที่กิน แหล่งที่อยู่อาศัย ระยะการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ

2.4.2 การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์

ชนิดและปริมาณของแบคทีเรียในแต่ละถิ่นที่อยู่ของสัตว์น้ำแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน สำหรับสัตว์น้ำเย็นพบว่า การเน่าเสียเป็นผลจากแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Achromobacter, Flavobacterium, Pseudomonas* และที่พบไม่บ่อยนักคือ *Vibrio* หรือ *Enterobacteriaceae* ส่วนแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus* spp., *Micrococcus*, *Bacillus*, *Clostridium, Cornynebacterium, Brochothric thermophacta และ Streptococcus* เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในสัตว์น้ำอุ่น (Liston, 1980) แบคทีเรียเหล่านี้พบมากบริเวณผิวของสัตว์น้ำ แต่สามารถผลิตเอนไซม์เข้าไปยังเนื้อเยื่อซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงมากมาย แบคทีเรียประจำถิ่นของปลาสดจะเริ่มใช้สารประกอบโมเลกุลต่ำในเนื้อเยื่อ (คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโนอิสระ เปปไทด์สายสั้นๆ และกรด แลคติก) เพื่อเป็นแหล่งพลังงานในการเจริญของจุลินทรีย์ โดย *Pseudomonas, Achromobacter* ใช้กรดอะมิโนไดเปปไทด์และไตรเปปไทด์อย่างรวดเร็ว (Gill and Newton, 1977) Chung (1968) พบว่าไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ (trimethyamine oxide, TMAO) เป็นสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนพบมากในสัตว์ทะเลโดยมีปริมาณร้อยละ 1-5 ของกล้ามเนื้อ สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยจุลินทรีย์พวก *Shewanella, Photobacterium, Vibrio, Alteromonas* ภายใต้สภาวะมีออกซิเจนน้อย โดยสามารถเปลี่ยนเป็นไตรเมทิลเอมีน (trimethy amine, TMA) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับกลิ่นของปลาที่เน่าเสีย เมื่อ TMA ทำปฏิกิริยากับไขมันในกล้ามเนื้อปลาจะก่อให้เกิดลักษณะกลิ่นคาวปลา (fishy odor) (Hobbs, 1991)

Prince of Songkla University Pattani Campus

2.5 การบรรจุชนิดดัดแปลงบรรยากาศ (สุรีพันธ์และเอกฤทธิ์, 2542)

การดัดแปลงบรรยากาศและควบคุมบรรยากาศเป็นระบบที่เปลี่ยนแปลงก๊าซในบรรยากาศ ในสภาพแวดล้อมของผลิตภัณฑ์หรือเติมก๊าซอื่นที่แตกต่างลงไป เช่นซัลเฟอร์ไดออกไซด์และคาร์บอนไดออกไซด์ สำหรับการเก็บรักษาแบบดัดแปลงบรรยากาศต้องมีการผสมแก๊สเริ่มต้นและภาชนะบรรจุต้องปิดผนึกและจะเกิดการเปลี่ยนแปลงบรรยากาศระหว่างการเก็บรักษาขึ้น ในทางกลับกัน การเก็บรักษาในภาชนะควบคุมบรรยากาศจำเป็นต้องมีการควบคุมบรรยากาศโดยใช้การไหลอย่างต่อเนื่องของก๊าซผสม หรือใช้การตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของก๊าซและปรับค่าใหม่ล่วงหน้า ซึ่งทั้งสองระบบจะควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์มีผลให้อายุการเก็บรักษานานขึ้น ซึ่งก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ออกซิเจน คาร์บอนมอนอกไซด์และไนโตรเจนเป็นก๊าซที่ใช้ในระบบนี้ ซึ่งอาจจะใช้เพียงชนิดเดียวหรือใช้ในรูปของก๊าซผสม Coyne (1933) รายงานถึงคุณสมบัติของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการถนอมรักษาเนื้อและปัจจุบันมีรายงานเกี่ยวกับเรื่องนี้มากขึ้น ซึ่งเกี่ยวข้องกับผลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นในน้ำเมือกและทางเดินอาหารของปลาสด พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญในปลา Cod haddock และ whiting ถูกยับยั้งได้ในบรรยากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 25

Lawrie (1974) กล่าวว่าการเก็บรักษาซากวัวในสภาวะการดัดแปลงบรรยากาศโดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูงร่วมกับการแช่เย็นในประเทศออสเตรียและประเทศนิวซีแลนด์ รวมทั้งในประเทศอังกฤษในปี 1930 และ Callow (1932) รายงานว่าภายใต้บรรยากาศที่ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 100 สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อหมูสดและเบคอนได้ค่อนข้างนาน ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียไม่ได้เป็นผลมาจากการกำจัดก๊าซออกซิเจนออกไป โดยการเก็บรักษาในสภาวะที่มีก๊าซไนโตรเจนร้อยละ 100 พบว่าไม่มีผลแตกต่างจากการเก็บรักษาในสภาวะปกติ Haines (1933) ได้ทดลองใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระดับต่ำที่ร้อยละ 10-20 ของบรรยากาศ พบว่าเพียงพอต่อการยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas* และ *Achromobacter* ซึ่งเป็นสาเหตุของการเน่าเสียของเนื้อ โดยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีผลเพิ่มระยะ log phase และชะลออัตราการเจริญในระยะ logarithmic นอกจากนี้ Coyne (1933) ยังพบอีกว่าที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สำหรับการถนอมรักษาปลาสด จะอยู่ระหว่างร้อยละ 40-60 ในขณะที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 เป็นสาเหตุบางประการที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อปลา ทำให้เกิดสีแดงตลอดความยาวของกระดูกสันหลัง ทำให้หนังซีดลงและทำให้เนื้อนิ่มลง

การเปลี่ยนแปลงสีของผิวหน้าเนื้อแดงเกิดจากการเปลี่ยนแปลงจากออกซีไมโอโกลบิล (สีอมม่วง) ไปเป็นเมทไมโอโกลบิล (สีน้ำตาล) การใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ช่วยรักษาสีแดงของคาร์บอกซีไมโอโกลบิล (CMb) ก่อนเก็บเนื้อสัตว์ในสภาวะที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ CMb มี

คุณสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าออกซีไมโอโกลบิล Brown *et al*. (1980) พบว่าการเติมก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ร้อยละ 1 มีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสีที่เพิ่มขึ้น

2.5.1 ชนิดของการบรรจุด้วยสภาพดัดแปลงบรรยากาศ

การบรรจุผลิตภัณฑ์ในสภาวะการแช่เย็น จะเลือกวิธีการใดขึ้นกับสภาพและความต้องการของตลาด ตลอดจนขอบขีดความสามารถของเทคโนโลยีที่มีอยู่ ชนิดของการบรรจุด้วยสภาพดัดแปลงบรรยากาศมี ดังนี้ (สุนีย์, 2548)

1. การบรรจุแบบสุญญากาศ (vacuum packaging) คือการดูดเอาอากาศในภาชนะบรรจุออกให้มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เหลืออยู่ร้อยละ 20-40 และออกซิเจนน้อยกว่าร้อยละ 1 การบรรจุแบบสุญญากาศทำให้สีของเนื้อเกิดการเปลี่ยนแปลงจากแดงเป็นม่วง ออกซิเจนที่เหลืออยู่ถูกใช้ไปในกระบวนการหายใจและทำให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น เป็นผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชนิด *Pseudomonas* ในขณะเดียวกันก็ทำให้แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกเจริญเติบโตแทน ทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษานาน 10-12 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 0^0C อย่างไรก็ตามการบรรจุโดยวิธีนี้มีข้อจำกัดอยู่สองประการคือสีม่วงของเนื้อจะลดการยอมรับของผู้บริโภคและชิ้นเนื้อที่บรรจุต้องมีความเป็นกรดด่างเริ่มต้นที่ต่ำกว่า 6.0

2. การบรรจุแบบสุญญากาศแนบผิว (vacuumskin packaging) คือการทำฟิล์มพลาสติกที่ขึ้นรูปด้วยความร้อนแล้วจะถูกทำให้นิ่มลงด้วยความร้อน หลังจากนั้นให้สุญญากาศดูดฟิล์มให้แนบตึดกับชิ้นเนื้อ อายุการเก็บของเนื้อโดยวิธีการบรรจุแบบนี้จะขึ้นกับชนิดและความเป็นกรดด่างของเนื้อ ถ้าอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่ 0^0C เนื้อจะคงสีแดงไว้ได้ แต่ถ้าเก็บที่อุณหภูมิ 5^0C เนื้อจะเป็นสีม่วง ซึ่งมักไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค การแก้ไขปัญหาดังกล่าวสามารถทำได้โดยการใช้ฟิล์มพลาสติก 2 ชั้นหุ้มเนื้อ ชั้นนอกจะมีคุณสมบัติไม่ยอมให้อากาศผ่าน ส่วนชั้นในยอมให้อากาศผ่าน ซึ่งจะไปสัมผัสกับเนื้อทำให้เนื้อมีสีแดง

3. การบรรจุใช้ก๊าซ (gas packaging) เป็นวิธีการที่บรรจุส่วนผสมของก๊าซออกซิเจน ไนโตรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์เข้าไปในภาชนะบรรจุ โดยอัตราส่วนของก๊าซผสมนี้จะเปลี่ยนแปลงไปในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งเป็นผลมาจากปฏิกิริยาทางชีวเคมีของเนื้อ บางครั้งการบรรจุก๊าซเฉื่อย เช่นก๊าซไนโตรเจนเพียงอย่างเดียวลงไปในภาชนะบรรจุ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อรักษารูปร่างของผลิตภัณฑ์ให้คงไว้ ส่วนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับน้ำ ได้กรดคาร์บอนิก ซึ่งช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ผลจากการทดลองในเรื่องพบว่าการบรรจุก๊าซผสมที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 20 และออกซิเจนร้อยละ 80 ในภาชนะบรรจุมีความเหมาะสมที่สุด เพราะนอกจากยืดอายุได้นานขึ้นกว่าปกติ 2 เท่าแล้ว ยังสามารถรักษาสีแดงของเนื้อไว้ได้อีกด้วย

4. การบรรจุแบบปรับบรรยากาศ (Modified Atmosphere Packaging : MAP) เป็นการบรรจุที่ใช้การแทนที่ของอากาศภายในภาชนะบรรจุด้วยก๊าซผสมที่แตกต่างกันไป โดยที่สัดส่วนของก๊าซแต่ละชนิดต้องคงที่ในช่วงแรกของการบรรจุ แต่จะไม่มีควบคุมระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งเทคนิคการบรรจุแบบนี้ได้รับการออกแบบพิเศษ เพื่อแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นกับการบรรจุชนิดสุญญากาศ นั้นคือเพื่อยับยั้งการเน่าเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ในช่วงกว้างและหลีกเลี่ยงอันตรายจากแรงบีบอัดหรือกดทับ ก๊าซที่ใช้กันโดยทั่วไปในการบรรจุแบบนี้มีอยู่สามชนิด คือก๊าซออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์และไนโตรเจน โดยก๊าซแต่ละชนิดจะมีหน้าที่เฉพาะแตกต่างกันออกไป

5. การบรรจุแบบควบคุมบรรยากาศ (Controlled Atmosphere Packaging : CAP) เป็นวิธีที่มีการบรรจุในสภาพบรรยากาศที่องค์ประกอบของก๊าซแต่ละชนิดถูกควบคุมให้คงที่อย่างต่อเนื่องตลอดการเก็บรักษา CAP จำเป็นต้องมีการติดตามเพื่อควบคุมและรักษาความสมดุลของก๊าซ นิยมใช้เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ปริมาณมาก เช่นของสดที่ยังคงมีการหายใจหลังการเก็บเกี่ยว

2.5.2 ก๊าซที่ใช้ในการบรรจุชนิดดัดแปลงบรรยากาศ

สุรีพันธ์และเอกฤทธิ์ (2542) กล่าวว่าก๊าซนิยมใช้กันโดยทั่วไปในการบรรจุชนิดดัดแปลงบรรยากาศ คือก๊าซออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์และไนโตรเจน

ก. ก๊าซออกซิเจน ในสภาพบรรยากาศทั่วไปมีก๊าซออกซิเจนประมาณร้อยละ 20.9 และมีคุณสมบัติสำคัญต่อระบบของการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหารหลายประการด้วยกัน

1. สามารถทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารประกอบต่างๆ ในอาหาร เช่นไขมัน วิตามิน โดยเฉพาะอาหารที่มีไขมันสูงหรืออาหารที่สูญเสียวิตามินได้ง่าย จึงควรบรรจุให้อยู่ภายใต้สภาพบรรยากาศที่ปราศจากก๊าซออกซิเจน เพื่อป้องกันปฏิกิริยาเหล่านี้

2. จำเป็นสำหรับปฏิกิริยาออกซิจิเนชันของไมโอโกลบิลในผลิตภัณฑ์จำพวกเนื้อ เพื่อให้เนื้อมีสีแดงของออกซีไมโอโกลบิล

3. จำเป็นสำหรับการหายใจของพืช ผักและผลไม้ เนื่องจากยังคงมีการหายใจตลอดเวลาภายหลังการเก็บเกี่ยวจนกว่าเซลล์จะตาย จึงต้องมีก๊าซออกซิเจนเพียงพอระหว่างการเก็บรักษา

4. สามารถทำปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (Browning Reaction) ในอาหารมีผลทำให้คุณภาพทางด้านสีของอาหารลดลง

5. จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ ซึ่งการบรรจุอาหารในสภาพปราศจากก๊าซออกซิเจนหรือมีก๊าซออกซิเจนต่ำกว่าร้อยละ 0.1 สามารถป้องกันการเสื่อมเสียคุณภาพของอาหารจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ดังกล่าวได้

Prince of Songkla University Pattani Campus

ข. ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ในบรรยากาศทั่วไปมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อยู่เพียงร้อยละ 0.03 และที่ความเข้มข้นสูงจะมีบทบาทสำคัญต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งคุณสมบัติที่สำคัญของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์คือ

1. ชะลอการหายใจของพืช โดยทั่วไปเมื่อความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศเพิ่มขึ้น อัตราการหายใจของพืชจะลดลง ทำให้อาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นด้วย ทั้งนี้ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมจะแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช

2. ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จัดเป็น Bacteriostatic หรือ Fungistatic agent คือสามารถยับยั้งการเจริญเท่านั้น แต่ไม่มีผลในการทำลายหรือฆ่าจุลินทรีย์ โดยทั่วไปมีผลต่อต้านแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียที่ต้องการอากาศที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหารอันเป็นสาเหตุให้เกิดกลิ่นรสอันไม่พึงประสงค์ Hintlian and Hotchkiss (1986) รายงานว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีก็ต่อเมื่อเชื้อจุลินทรีย์นั้นอยู่ในช่วง lag phase โดยมีผลให้ช่วงเวลานี้เพิ่มขึ้นทำให้การแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์เป็นได้ช้ายิ่งขึ้นและผลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นี้จะเพิ่มมากยิ่งขึ้นเมื่ออุณหภูมิลดลงหรือเมื่อความดันบรรยากาศเพิ่มขึ้น

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เมื่อละลายน้ำจะเกิดเป็นกรดคาร์บอนิกขึ้นประมาณร้อยละ 2 และการรวมตัวนี้จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิลดลง กรดคาร์บอนิกจึงสามารถแตกตัวต่อไป ดังนั้นที่ความเข้มข้นสูงๆ ของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อาจเป็นสาเหตุทำให้รูปแบบการบรรจุเสียหายได้ โดยเกิดจากการยุบตัวของภาชนะบรรจุ เนื่องจากความดันภายในต่ำกว่าความดันบรรยากาศและหากการแตกตัวเกิดขึ้นในอัตราที่สูงมากพอก็จะทำให้เกิดกลิ่นรสของกรดในผลิตภัณฑ์ได้ จึงจำเป็นต้องจำกัดความเข้มข้นที่ใช้ให้เหมาะสมกับประเภทของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุ (งามทิพย์, 2538)

ค. ก๊าซไนโตรเจน ในบรรยากาศทั่วไปจะมีก๊าซไนโตรเจนประมาณร้อยละ 79 สมบัติของก๊าซนี้คือ เป็นก๊าซเฉื่อยต่อปฏิกิริยาเคมี จึงมักใช้ในการแทนที่ก๊าซออกซิเจนเพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในอาหารและยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ โดยปราศจากก๊าซออกซิเจน นิยมใช้ก๊าซไนโตรเจนเพื่อการรักษาระดับความดันภายในภาชนะบรรจุป้องกันการยุบตัวของภาชนะและการแตกหักเสียรูปทรงของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ก๊าซไนโตรเจนละลายในน้ำและไขมันได้น้อยมาก จึงสามารถพ่นฟองอากาศไนโตรเจนผ่านเข้าไปยังวัตถุดิบหรือผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเหลว เช่นน้ำมัน โดยก๊าซไนโตรเจนจะเข้าไปห่อหุ้มโมเลกุลของน้ำมัน ทำให้สามารถลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและกลิ่นเหม็นหืนได้ การพ่นก๊าซไนโตรเจนเข้าไปเพื่อไล่อากาศในภาชนะบรรจุของผลิตภัณฑ์อาหารจำพวกมันฝรั่งทอดและขนมขบเคี้ยวต่างๆ เป็นขั้นตอนหนึ่งที่ช่วยให้ผู้ผลิตสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ได้นานยิ่งขึ้น

2.6 การถนอมและรักษาคุณภาพสัตว์น้ำ

สัตว์น้ำเป็นแหล่งคุณค่าทางอาหารที่สูง ประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน และเกลือแร่ โปรตีนเป็นองค์ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่ย่อยได้ง่าย มีไขมันประเภทไตรกลีเซอไรด์ฟอสโพลิปิดอยู่สูง สัตว์น้ำจึงเกิดการเน่าเสียได้ง่ายและรวดเร็ว โดยเกิดขึ้นทันทีหลังจากสัตว์น้ำตาย การเน่าเสียจะเกิดขึ้นเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น วิธีการจับ แหล่งที่จับ กระบวนการดูแลรักษาหลังการจับ ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ดังนั้นการถนอมและรักษาคุณภาพของสัตว์น้ำ จึงมีความจำเป็นเพื่อรักษาคุณภาพของสัตว์น้ำ ซึ่งอาจทำได้โดยการใช้ความเย็น การใช้สารสกัดจากธรรมชาติ ส่งผลในการยืดอายุการเก็บรักษาสัตว์น้ำ

สารสกัดจากธรรมชาติส่วนใหญ่มาจากพืชสมุนไพร พบในส่วนต่าง ๆ ของพืช ได้แก่ เมล็ด ดอก ใบ ผล เปลือก ลำต้น รากและเหง้า เป็นต้น ส่วนต่าง ๆ ของพืชเหล่านี้นำมาสกัดด้วยวิธีต่างๆเช่น การเพิ่มแรงกด (บีบหรือคั่น) การหมัก การกลั่น การสกัดด้วยน้ำมันหรือสารเคมี และการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว เป็นต้น สารที่ได้เป็นสารอินทรีย์หรือน้ำมันหอมระเหย (essential หรือ volatile oils) สารเหล่านี้มีคุณสมบัติแตกต่างกันขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของสารที่อยู่ในพืชสมุนไพรแต่ละชนิด เช่น น้ำมันตะไคร้ ประกอบด้วย genaniol, citronella และ borneol น้ำมันกานพลู ประกอบด้วย eugenol น้ำมัน oregano ประกอบด้วย carvacrol เป็นต้น สารสกัดจากธรรมชาติที่ได้มีลักษณะเป็น aromatic และ phenolic เมื่อนำมาใช้กับอาหาร สารเหล่านี้มีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ และทำปฏิกิริยากับอนุมูลโลหะซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จึงมีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (Holley and Patel, 2005) และสารต้านปฏิกิริยาของไขมันในสัตว์น้ำได้ (Mahmoud *et al*., 2006)

Jeon *et al*. (2002) พบว่าการเคลือบไคโตซานในเนื้อปลา herring และ cod พบว่าตัวอย่างปลาที่เคลือบไคโตซาน มีค่า TBARS น้อยกว่าเนื้อปลาที่ไม่เคลือบตลอดอายุการเก็บรักษา เนื่องจากคุณสมบัติของไคโตซาน ที่สามารถต้านการซึมผ่านของแก๊สซออกซิเจนและสามารถจับอนุมูลโลหะที่ทำให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้

Harpaz *et al*. (2003) พบว่าการใช้น้ำมัน thyme oregano ร้อยละ 0.05 ในปลากะพงขาว (Sea bass, *Lates calcarifer*) สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 33 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่สามารถเก็บได้เพียง 12 วัน ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส

Mahmoud *et al*. (2004) พบว่าการแช่สารละลาย carvacrol และ thymol ร้อยละ 0.5 ปลาคาร์พ สามารถลดจุลินทรีย์เริ่มต้นทั้งหมดได้ 100 เท่า ของชุดควบคุมที่ไม่มีสารละลาย carvacrol และ thymol นอกจากนี้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาปลาคาร์พได้นานถึง 2 เท่า เมื่อมีการแช่สารละลาย carvacrol และ thymol ร้อยละ 0.5

Fan *et al*. (2008) พบว่าการแช่ปลาลิ่น (*Hypophthalmicthys molitrix*) ในสารสกัดจากชา (tea polyphenol, TP) ร้อยละ 0.2 ในการเก็บรักษาในน้ำแข็ง สามารถชะลอค่าปริมาณด่างที่ระเหยได้ (TVB-N) ค่า TBA และค่า K-value เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นไปได้ว่าการใช้สารสกัดจากชาสามารถชะลอการเสื่อมเสียและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลาลิ่นได้

Ozogul *et al*. (2011) พบว่าการใช้โรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis*) และ sage tea (*Salvia officinalis*) ในผลิตภัณฑ์ปลาซาร์ดีน (*Sardina pilchardus*) บรรจุแบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน จะช่วยลดปริมาณ ammonia และ biogenic amines ในกล้ามเนื้อของปลาซาร์ดีน เป็นไปได้ว่าโรสแมรี่และ sage tea จะมีสารต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งจะช่วยลดการเกิดสารดังต่อไปนี้ histamine, putrescine, cadaverine และ trimethylamine ที่สะสมในกล้ามเนื้อของปลาซาร์ดีน

Li *et al*. (2012) ศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษาปลา Crucian carp (*Carassius auratus*) โดยการใช้สารสกัดจากธรรมชาติ ได้แก่ พอลิฟีนอลจากชา (tea polyphenol) และโรสแมรี่ (rosemary) พบว่าการแช่เนื้อปลาด้วยโรสแมรี่ร้อยละ 0.2 สามารถยืดอายุการเก็บรักษาปลาได้นาน 15-16 วัน ในขณะที่ใช้พอลิฟีนอลจากชา สามารถเก็บรักษาได้ 13-14 วันเปรียบเทียบกับชุดควบคุม(ไม่มีการใช้สาร) ซึ่งเก็บรักษาได้เพียง 7-8 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4±1 องศาเซลเซียส การใช้โรสแมรี่ร้อยละ 0.2 สามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ค่า K-value และค่า Thiobarbituric acid (TBA) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นไปได้ว่าการใช้สารสกัดจากโรสแมรี่และพอลิฟีนอลจากชา สามารถชะลอการเสื่อมเสียและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของสัตว์น้ำได้

Li *et al*. (2012) พบว่าผลของการใช้สารพอลิฟีนอลจากชา (tea polyphenol) และโรสแมรี่ร่วมกับไคโตซาน (chitosan) ในปลา croaker (*Pseudosciaena crocea*) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส สามารถลดค่าปริมาณด่างที่ระเหย (TVB-N) ค่า K-value ค่า Peroxide และค่า Thiobarbituric acid (TBA) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม แสดงให้เห็นว่าผลของโรสแมรี่ร่วมกับไคโตซานมีประสิทธิภาพในการชะลอการเสื่อมเสีย การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์และยืดอายุการเก็บรักษาได้ดีกว่าการใช้สารพอลิฟีนอลจากชาร่วมกับไคโตซาน

Xi *et al*. (2012) ศึกษาผลของสารสกัดจากชาเขียวในการชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในหอยนางรม (Pacific oyster; *Crassostrea gigas*) พบว่าการใช้สารสกัดจากชาเขียวซึ่งมีปริมาณพอลิฟีนอลทั้งหมด 4.6 กรัม (gallic acid equivalents /L) สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหาร trytic soy broth ที่มีเกลือร้อยละ 1.5 จาก 4.5 log (CFU/mL) จนไม่พบเชื้อดังกล่าว (<1 log CFU/mL) ภายใน 8 ชั่วโมง

Prince of Songkla University Pattani Campus

นอกจากนี้พบว่าหอยนางรมที่มีการแช่สารสกัดจากชาเขียวร้อยละ 10 (9.1 กรัม (gallic acid equivalents /L)) เวลา 2 ชั่วโมง สามารถลดเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้ 0.8 log CFU/mL เปรียบเทียบกับการแช่หอยด้วยน้ำปราศจากไอออน เมื่อเก็บรักษาหอยนางรมเป็นเวลา 18 วัน การแช่หอยนางรมในสารสกัดจากชาเขียวสามารถลดปริมาณ *V. parahaemolyticus* ได้มากกว่าที่ใช้น้ำปราศจากไอออน

Gao *et al.* (2014) ศึกษาผลของสารสกัดโรสแมรี่ร่วมกับ nisin ในการยืดอายุการเก็บรักษาปลาจาราเม็ดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าการร่วมกันของโรสแมรี่และ nisin ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพต่อคุณภาพทางเคมี (ค่า peroxide, ค่า TBARS, ค่า TVB-N, ค่า TMA, ค่าพีเอช ค่า texture และค่าสี) คุณภาพทางประสาทสัมผัส และสามารถชะลอปริมาณของแบคทีเรียได้ดีกว่าการใช้โรสแมรี่ nisin และชุดควบคุม ตลอดการเก็บรักษา 15 วัน

Khalafalla *et al*. (2015) ศึกษาผลของการแช่สารสกัด thyme (*Thymus vulgaris*) ร้อยละ 0.5 และสารสกัดโรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis*) ร้อยละ 1.5 ต่อคุณภาพและการเก็บรักษาของปลานิลแล่ที่อุณหภูมิ 2±1 องศาเซลเซียส พบว่าสารสกัด thyme สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและลดค่าปริมาณด่างที่ระเหย (TVB-N) และค่า Thiobarbituric acid (TBA) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้การแช่สารสกัด thyme สามารถเก็บรักษาปลานิลแล่ได้ 18 วัน ขณะที่ชุดควบคุมสามารถเก็บรักษาได้เพียง 9 วัน ของการเก็บรักษา

นอกจากนี้การใช้การบรรจุภัณฑ์แบบดัดแปลงบรรยากาศที่มี CO_2 เป็นอีกวิธีหนึ่งในการชะลอการเสื่อมเสียของอาหารหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เนื่องจากกรดคาร์บอนิคจากการสลายของ CO_2 บริเวณผิวหน้าสัตว์น้ำในระหว่างการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (Ordonez *et al*., 2000 ; Masniyom, 2011) กรดคาร์บอนิคเป็นกรดอินทรีย์ที่เป็นชนิดกรดอ่อนมีลักษณะที่แตกตัวได้น้อยจึงมีบทบาทในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ดี กรดอ่อนสามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปภายในได้โดยอิสระและเกิดการแตกตัวโดยจะให้โปรตอนจึงมีแนวโน้มที่จะทำให้เซลล์มีสภาพเป็นกรดและทำให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ขึ้นภายในเซลล์จุลินทรีย์ เซลล์จะพยายามรักษาสภาวะความเป็นกรด-ด่าง ที่เป็นกลางไว้ โดยขับไล่โปรตอนออกไปจากเซลล์ กลไกนี้มีผลทำให้เซลล์จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ช้าลง เนื่องจากต้องใช้พลังงานส่วนหนึ่งขับไล่โปรตีนออกไป (Adams and Moss, 1995)

Masniyom *et al.* (2002) ศึกษาผลของ CO_2 ต่อคุณภาพปลากะพงแล่แช่เย็น พบว่า การใช้ CO_2 ร้อยละ 80 มีปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด ไตรเมทิลเอมีน แอมโมเนีย ต่ำกว่าชุดควบคุมที่เก็บภายใต้บรรยากาศปกติ และสามารถเก็บรักษาปลากะพงภายใต้การเก็บดัดแปลงบรรยากาศได้นานถึง 3 เท่าของชุดควบคุม

Prince of Songkla University Pattani Campus

Ozogul *et al*. (2004) ศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาซาร์ดีนภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้ 60%CO_2 40%O_2 สามารถชะลอการเกิดฮีสตามีนได้มากกว่าเก็บภายใต้บรรยากาศปกติ ขณะที่การเก็บแบบดัดแปลงบรรยากาศมีปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด ไตรเมทิลเอมีนต่ำกว่าเก็บภายใต้บรรยากาศปกติ ผลทางประสาทสัมผัสแสดงให้เห็นว่าการเก็บแบบดัดแปลงบรรยากาศสามารถยอมรับได้ที่ 15 วัน ในขณะการเก็บภายใต้บรรยากาศปกติยอมรับได้ที่ 3 วัน

Ozogul *et al*. (2004) ศึกษาผลของสารสกัดโรสแมรี่ต่อประสิทธิภาพ ในการป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมันในปลาซาร์ดีนบรรจุแบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้สารสกัดโรสแมรี่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 สามารถปรับปรุงคุณภาพทางประสาทสัมผัสของปลาซาร์ดีนทั้งดิบและสุกได้ดีกว่าชุดควบคุม นอกจากนี้สารสกัดโรสแมรี่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด ค่า thiobarbituric acid ค่า peroxide และกรดไขมันอิสระเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

Goulas *et al.* (2005) ศึกษาผลของการบรรจุเนื้อหอยแมลงภู่ภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้ 80%CO_2 20%O_2 สามารถชะลอการเจริญเติบโตของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด *Pseudomonas* spp. และจุลินทรีย์ที่สร้าง H_2S ได้ 0.9-1, 0.7-0.8 และ 0.7-1.2 log CFU/g ตามลำดับ นอกจากนี้การบรรจุเนื้อหอยแมลงภู่ภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศสามารถยืดอายุได้ 15 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ได้ 8 วัน

Nirmal and Benjakul (2011) ศึกษาผลของสารสกัดจากชาเขียวในการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ 50% CO_2, 5% O_2 และ 45% N_2 ต่อคุณภาพของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าสารสกัดจากชาเขียวร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ สามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของค่า pH ปริมาณรวมด่างที่ระเหยได้ (TVB-N) และ thiobarbituric acid (TBARS) ได้ดีกว่าการเก็บแบบบรรยากาศปกติ (ชุดควบคุม) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 10 วัน

Yesudhasan *et al*. (2014) ศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์และการเก็บรักษาของปลา seer ในการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (70% CO_2 และ 30% O_2) และการใช้สาร sodium acetate ที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง พบว่าการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศสามารถชะลอการเจริญเติบโตของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์ที่สร้าง H_2S และแบคทีเรียแลกติกน้อยกว่าชุดควบคุมที่เก็บภายใต้บรรยากาศปกติ นอกจากนี้ผลของ sodium acetate ในการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศสามารถเก็บรักษาได้นานถึง 2 เท่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

Prince of Songkla University Pattani Campus

Duman and Ozpolat (2015) ศึกษาผลของสารสกัดน้ำผึ้งต่อคุณภาพด้านเคมีจุลินทรีย์และกายภาพของปลา shibuta (*Barbus grypus*) ในการบรรจุแบบสุญญากาศที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส พบว่าสารสกัดจากน้ำผึ้งร้อยละ 0.5 (v/w) สามารถลดปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ค่า pH ปริมาณด่างรวมที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) และค่า thiobarbituric acid (TBARS) เมื่อเทียบกับชุดควบคุมตลอดการเก็บรักษา 24 วัน เป็นไปได้ว่าสารประกอบกลุ่มพอลิฟีนอลในสารสกัดน้ำผึ้ง สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและต้านอนุมูลอิสระได้

ดังนั้นการลดการปนเปื้อนและรักษาคุณภาพจำเป็นต้องปฏิบัติ การใช้สารสกัดจากธรรมชาติจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งเพื่อรักษาคุณภาพผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการใช้สารสกัดจากธรรมชาติในปลานิลแดงมีน้อย จึงจำเป็นต้องสร้างองค์ความรู้ในเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวการเก็บรักษาปลานิลแดงอย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งลดการเสื่อมเสียและเพิ่มผลิตภัณฑ์ของปลานิลแดงและสัตว์น้ำอื่นๆ เพื่อส่งเสริมการพัฒนาเศรษฐกิจของอุตสาหกรรมสัตว์น้ำในประเทศ

Prince of Songkla University Pattani Campus

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุ

3.1.1 ปลานิลแดง

ปลานิลแดงที่ใช้ในการทดลองเป็นปลานิลแดงที่ได้จากฟาร์มของชาวบ้านในปัตตานี โดยมีขนาดหรือน้ำหนัก 2-3 ตัว/กิโลกรัม ปลานิลแดงที่ใช้ในการทดลองเป็นปลารุ่นเดียวกัน คือมีอายุประมาณ 6-8 เดือน และเลี้ยงในสภาวะเดียวกัน

3.1.2 พืช

พืชที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ใบชะพลู ขอความอนุเคราะห์จากชาวบ้านในจังหวัดปัตตานี ใบรางจืด ขอความอนุเคราะห์จากแผนกวิชาเทคโนโลยีการเกษตร และ ใบหม่อน ขอความอนุเคราะห์จากศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติฯ จังหวัดนราธิวาส

3.1.3 สารเคมี

กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid: H_2SO_4)

กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric: HCl)

กรดบอริก (Boric acid: H_3BO_3)

กรดแอสคอบิค (Ascorbic acid: $C_8H_8O_6$)

กรดบอริก (Boric acid: H_3BO_3)

โซเดียมไฮดรอกไซค์ (Sodium hydroxide: NaOH)

โซเดียมไนเตรท (Sodiumnitrate: $NaNO_3$)

เอทานอล (Ethanol: C_2H_5OH)

เมทานอล (Methanol: CH_3OH)

คลอโรฟอร์ม (Chloroform: $CHCl_3$)

เมทิลเรด (Methyl red: $C_{15}H_{15}N_3O_2$)

กรดกาลิค (Gallic acid monohydrate: $C_7H_6O_5\ H_2O$)

โบรโมกลีซอลกรีน (Bromocresol green: $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$)

Prince of Songkla University Pattani Campus

3.2 เครื่องมือวิเคราะห์และอุปกรณ์

3.2.1 เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง (Model ED 32025S Sartorius, USA)

3.2.2 เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (Model TE 313S-DS 310, Sartorius, USA)

3.2.3 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) (Model SevenEasy, Mettler Toledo, Switzerland)

3.2.4 เครื่องอบลมร้อน (Hot air oven, Model UNB 500 mermert, German)

3.2.5 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer, Model Libra S22, Biochrom England)

3.2.6 เครื่องวัดสีแบบมือถือ (Hunter lab)

3.2.7 เครื่อง Texture analyzer TA.TX.plus

3.2.8 เครื่องผสมแก๊ส GasMixer, KM 100-3 MEM/WITT, Gasetechnik S/N 909513 อินเตอร์โซล เอ็นจิเนียริ่ง แอนด์เทคโนโลยี จำกัด ประเทศไทย

3.2.9 เครื่องตีปั่นตัวอย่าง (Stomacher, Stomacher 400, Seward, England)

3.2.10 หม่อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave, HIRA-YAMA, Japan)

3.2.11 อ่างให้ความร้อน (Water bath, Model WB-22, Memert, Germany)

3.2.12 อ่างให้ความร้อน (Water bath, Model DH-30-110, Memert, Germany)

3.2.13 เครื่องแก้ว เช่นบีคเกอร์ ขวดรูปชมพู บิวเรต ปิเปต ขวดปรับปริมาตรเป็นต้น

3.3 วิธีการทดลอง

จับปลาในฟาร์มในช่วงเช้า แล้วทำการแช่ในน้ำแข็ง เพื่อขนส่งมายังห้องปฏิบัติการแผนกวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ภายในเวลา 30 นาที

3.3.1 การเตรียมตัวอย่างปลานิลแดงแล่และการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและจุลินทรีย์

การเตรียมตัวอย่างปลา ล้างปลาทั้งตัวด้วยน้ำสะอาด ขอดเกล็ด ลอกหนังและเอาเครื่องในออก ล้างน้ำสะอาดอีกครั้ง จากนั้นแล่เนื้อปลาเป็นชิ้นขนาด 5×7×1 (กว้าง×ยาว×หนา) เซนติเมตร แล้วบรรจุเนื้อปลาลงในถุง pouch (PET/NY/CPP) ขนาด 15×25 เซนติเมตร ถุงละครึ่งกิโลกรัมเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป เก็บรักษาไม่เกิน 1 ชั่วโมง

Prince of Songkla University Pattani Campus

3.3.1.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและจุลินทรีย์ของเนื้อปลานิลแดงแล่

3.3.1.1.1 ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมี โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โปรตีน เถ้าและไขมันด้วยวิธีการของ (AOAC, 1999) ดังแสดงในภาคผนวก ข หน้า 83-86

3.3.1.1.2 ตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียชนิด mesophilies และแบคทีเรียชนิด psychrotrophs ด้วยวิธีการของ (Hernandez, 2009) ปริมาณ *Escherichia coli* ปริมาณ *Staphylococcus aureus* และปริมาณ *Salmonella* spp. ด้วยวิธีการของ FDA (1998) ดังแสดงในภาคผนวก ก หน้า 75-82

การเตรียมตัวอย่างพืช นำใบพืชทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ใบชะพลู ใบรางจืด และใบหม่อน ที่เก็บมาจากต้นจากใบกึ่งแก่ กึ่งอ่อนและให้มีขนาด สีที่ใกล้เคียงกันในแต่ละชนิดพืช นำมาคัดแยกสิ่งปนเปื้อน ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำ จากนั้นทำการตัดแต่ง นำใบพืชที่ผ่านการตัดแต่ง มาอบให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-16 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำมาปั่นหรือบดให้มีขนาดเล็ก จากนั้นมาเก็บบรรจุแบบสุญญากาศในถุงพลาสติกและเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

นำพืชที่เตรียมทั้ง 3 ชนิด มาสกัดด้วยน้ำร้อนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0 และ 1.5 ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ในบีคเกอร์เป็นเวลา 10 นาที โดยควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ โดยมีการกวนด้วยแท่งแก้วคนทุก 5 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำสารสกัดจากพืชทำการกรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.3.1.2 ศึกษาความเข้มข้นสารสกัดจากพืชในการแช่เนื้อปลานิลแดง

นำสารสกัดพืชที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาแช่ปลานิลแดงแล่ที่ได้จากข้อ 3.3.1 ด้วยอัตราส่วนเนื้อปลาต่อสารสกัดหยาบ 1:2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ตั้งให้สะเด็ดน้ำ 10 นาที บรรจุลงในถุง pouch (PET/NY/CPP) ขนาด 15×25 เซนติเมตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำปลานิลแดงแล่มาตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่นและความชอบโดยรวม ด้วยวิธีของ 9 - Point Hedonic scale (Mailgaad *et al*., 1991) เกณฑ์ไม่ยอมรับคะแนนที่น้อยกว่า 4 โดยใช้ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ผ่านการคัดเลือกจำนวน 30 คน คัดเลือกสารสกัดจากพืชที่เหมาะสมในแต่ละพืชมาศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่ต่อไป นอกจากนี้นำสารสกัดที่ความเข้มข้นเหมาะสมมาวิเคราะห์หาปริมาณพอลิฟีนอลโดยรวม ตามวิธีของ AOAC (1990) และฟลาโวนอยด์โดยรวม ตามวิธีของ Zhishen *et al*. (1999) ดังแสดงในภาคผนวก ข หน้า 89-91 และทำการทดลองในขั้นตอน 3.3.2 ต่อไป

Prince of Songkla University Pattani Campus

3.3.2 ศึกษาผลของสารสกัดจากพืชต่อการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่

นำปลานิลแดงแล่ที่ผ่านการคัดเลือกในแต่ละพืชจากข้อ 3.3.1.2 ที่เหมาะสม นำมาวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ เคมีและประสาทสัมผัส ทุกๆ 3 วัน จนกว่ามีปริมาณเชื้อมากกว่า 10^7 CFU/g (เกณฑ์มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ) ซึ่งไม่ยอมรับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่แช่ในน้ำกลั่น

3.3.2.1 วิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ ดังแสดงในภาคผนวก ก

ปริมาณแบคทีเรีย mesophilies (Hernandez, 2009)

ปริมาณแบคทีเรีย psychrotrophs (Hernandez, 2009)

3.3.2.2 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ดังแสดงในภาคผนวก ข

ค่า pH

ปริมาณรวมด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) โดยวิธีของ Conway (1950)

ปริมาณไตรเมทธิลเอมีน (TMA) โดยวิธีของ Conway (1950)

ค่า Thiobarbituric acid reaction substances (TBARS) โดยวิธีของ Khalafalla *et al*. (2015)

3.3.2.3 วิเคราะห์ทางกายภาพ ดังแสดงในภาคผนวก ค

วัดสี (L*, a*, b*) ด้วยเครื่อง Hunter lab

ลักษณะเนื้อสัมผัสแบบ Texture profile analysis ด้วยเครื่อง Texture analyzer

ค่าแรงเฉือน จาก Warnar-Bratgler ด้วยเครื่อง Texture analyser

3.3.2.4 วิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส ดังแสดงในภาคผนวก ง

สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม โดยวิธีของ 9 - Point Hedonic scale (Mailgaad *et al*., 1991)

3.3.3 ศึกษาผลของสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศและดัดแปลงบรรยากาศต่อการยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อปลานิลแดง

นำปลานิลแดงแล่ที่ดีที่สุดจากข้อ 3.3.2 ที่มีคุณภาพและเก็บรักษาได้นานที่สุด บรรจุในถุง pouch (PET/NY/CPP) ขนาด 15×25 เซนติเมตร ภายใต้แก๊ส 60% CO_2 10% O_2 และ 30% N_2 โดยใช้อัตราส่วนของเนื้อปลา : แก๊ส เป็น 1:2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ดัดแปลงมาจาก Masniyom *et al*. (2002) และเก็บแบบสุญญากาศ โดยชุดควบคุมเก็บแบบบรรยากาศปกติ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตัวอย่างทั้งหมดจะนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี จุลินทรีย์ กายภาพและประสาทสัมผัสทุก ๆ 3 วัน โดยเปรียบเทียบกับคุณภาพทางจุลินทรีย์ ที่มีปริมาณมากกว่า 10^7 CFU/g

Prince of Songkla University Pattani Campus

(มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ) จะไม่ยอมรับ โดยวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ คุณภาพทางเคมี ทางกายภาพและคุณภาพทางประสาทสัมผัสเหมือนกับหัวข้อ 3.3.2

3.3.4 ศึกษาผลของสารสกัดรางจืดที่มีผลต่อปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* และเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่เติมลงในปลานิลแดงแล่

3.4.1 การเก็บเชื้อและการเตรียมเชื้อ

เชื้อ *Escherichia coli* TISTR 887 และเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ที่ใช้ในการทดลองมีการขอความอนุเคราะห์จากสถาบันฮาลาล เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง Trypticase soy agar (TSA) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเก็บเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการถ่ายเชื้อทุก 2 อาทิตย์ ก่อนที่จะเติมเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ลงในเนื้อปลานิลแดงแล่ ทำการเพาะเชื้อในอาหารเหลว TSB บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ให้ได้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^4 CFU/ml

3.4.2 การเตรียมตัวอย่างปลาและเติมเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อปลานิลแดงแล่

ตัวอย่างเนื้อปลานิลแดงแล่ที่เตรียมเหมือน ข้อ 3.3.1 นำเนื้อปลานิลแดงแล่ไปแช่ในสารละลายจากสารสกัดรางจืดความเข้มข้นร้อยละ 1 ด้วยอัตราส่วน 1:2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งให้สะเด็ดน้ำนาน 10 นาที เติมเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.4.1 โดยหยดกระจายทั่วเนื้อปลานิลแดงแล่ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร บรรจุลงในถุงพลาสติก แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างปลามาวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ทุก ๆ 3 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้แช่สารสกัดรางจืด

วิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ ดังแสดงในภาคผนวก ก

ปริมาณแบคทีเรียชนิด mesophilies (Hernandez, 2009)

ปริมาณแบคทีเรีย psychrotrophs (Hernandez, 2009)

ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก (Casla *et al*, 1996)

ปริมาณเชื้อ *E. coli* (FDA, 1998)

ปริมาณเชื้อ *S. aureus* (FDA, 1998)

Prince of Songkla University Pattani Campus

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ CRD วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยวิธี Analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test (DMRT) (Steel and Torrie, 1980) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Prince of Songkla University Pattani Campus

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและจุลินทรีย์ของปลานิลแดงแล่

4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของปลานิลแดงแล่

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น ไขมัน โปรตีน เถ้า ในปลานิลแดงแล่พบว่าปลานิลแดงแล่ประกอบด้วยความชื้น ไขมัน โปรตีนและเถ้า ร้อยละ 73.78, 1.69, 21.15 และ 1.25 ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของ สาวิณี (2550) รายงานว่า องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาทับทิมส่วนที่บริโภคได้มีปริมาณความชื้น ไขมัน โปรตีนและเถ้า ร้อยละ 76.79, 1.06, 21.15 และ 1.32 ตามลำดับ และการรายงานของ Jason (1965) พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาที่สามารถบริโภคได้ โดยมีความชื้น ไขมัน โปรตีนและเถ้าร้อยละ 74.8, 5.0, 19.0 และ 1.2 ตามลำดับ เนื่องจากปลานิลแดงเป็นแหล่งของโปรตีนที่สูง เจริญเติบโตเร็ว สามารถเลี้ยงได้ทั้งน้ำจืดและน้ำกร่อย เจริญเติบโตได้ดีที่ความเค็ม 25-30 ppt ทั้งนี้องค์ประกอบทางเคมีสัตว์น้ำจะมีความแตกต่างกันในแต่ละประเภทและชนิดของสัตว์น้ำหรือแม้แต่ปลาชนิดเดียวกันยังมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน

4.1.2 องค์ประกอบทางจุลินทรีย์ของปลานิลแดงแล่

ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ในปลานิลแดงแล่ โดยการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ชนิด mesophilies พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ชนิด mesophilies เท่ากับ 3.94 log CFU/g และปริมาณจุลินทรีย์ psychrotrophs พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ psychrotrophs เท่ากับ 3.52 log CFU/g ส่วนจุลินทรีย์ชนิด *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella* sp. ตรวจไม่พบในตัวอย่างปลานิลแดงแล่ที่นำมาวิเคราะห์ แสดงว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารในปลานิลแดงอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานทางจุลินทรีย์ของสัตว์น้ำ (ICMSF, 1986) มาตรฐานของ ICMSF (1986) โดยจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดต้องไม่เกิน 7 log CFU/g หรือ 10^7 โคโลนีในตัวอย่าง 1 กรัม เชื้อ *E. coli* ต้องไม่เกิน 100 โคโลนีในตัวอย่าง 1 กรัม เชื้อ *S. aureus* ต้องไม่เกิน 100 โคโลนีในตัวอย่าง 1 กรัม และเชื้อ *Salmonella* sp. ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

4.1.3 ตรวจหาปริมาณพอลิฟีนอลและฟลาโวนอยด์ในตัวอย่างพืช

จากการทดลองนำใบรางจืด หม่อนและชะพลูมาสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0 และ 1.5 (w/v) จากนั้นทำสารสกัดให้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำปลานิลแดงแล่มาแช่ในสารสกัดที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ด้วยอัตรา

Prince of Songkla University Pattani Campus

ส่วนเนื้อปลานิลแดงต่อสารละลายเท่ากับ 1:2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ตั้งให้สะเด็ดน้ำ 10 นาที ผลทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่นและความชอบ พบว่าเมื่อใช้รางจืดที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 มีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสที่ดีกว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1.5 เช่นเดียวกับการใช้สารสกัดหม่อนและชะพลู จะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 มีคะแนนการยอมรับทางประสารทสัมผัสที่สูงกว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.5 นอกจากนี้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ในตัวอย่างที่แช่สารสกัดจากรางจืดมีคะแนนการยอมรับด้านสี กลิ่นและความชอบโดยรวมที่ดีกว่า เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่แช่สารสกัดหม่อนและชะพลูที่ความเข้มข้นเดียวกัน (ตารางที่ 1) จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาตรวจวิเคราะห์ปริมาณพอลิฟีนอลทั้งหมด พบว่าในสารสกัดจากรางจืด หม่อนและชะพลู มีปริมาณพอลิฟีนอลเท่ากับ 14.17, 9.10 และ 7.43 มิลลิกรัม (galic acid equivalents)/ กรัม ตามลำดับ และวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดรางจืด หม่อนและชะพลูพบว่า มีปริมาณ 2.87, 0.98 และ 1.45 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ

ตารางที่ 1 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่นและความชอบของเนื้อปลานิลแดงที่แช่ด้วยสารสกัดจากรางจืด หม่อนและชะพลู

ตัวอย่าง	ร้อยละ	คุณภาพ (คะแนน)		
		สี	กลิ่น	ความชอบโดยรวม
ชุดควบคุม	0	7.62 ± 0.94	6.69 ± 0.74	6.73 ± 0.72
รางจืด	0.5	7.46 ± 1.30	6.04 ± 1.56	6.85 ± 1.22
	1.0	7.81 ± 0.94	6.62 ± 1.20	7.04 ± 1.11
	1.5	7.31 ± 1.41	6.42 ± 1.36	6.69 ± 1.12
หม่อน	0.5	6.65 ± 1.50	6.15 ± 1.22	6.04 ± 1.11
	1.0	7.19 ± 1.23	6.38 ± 1.44	6.50 ± 1.24
	1.5	6.54 ± 1.45	6.04 ± 1.46	6.08 ± 1.20
ชะพลู	0.5	7.04 ± 1.04	5.69 ± 1.16	6.12 ± 1.73
	1.0	7.46 ± 1.10	6.42 ± 1.14	6.38 ± 1.36
	1.5	6.92 ± 1.44	6.08 ± 1.06	6.15 ± 1.38

ค่าเฉลี่ยการทดลอง 30 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Prince of Songkla University Pattani Campus

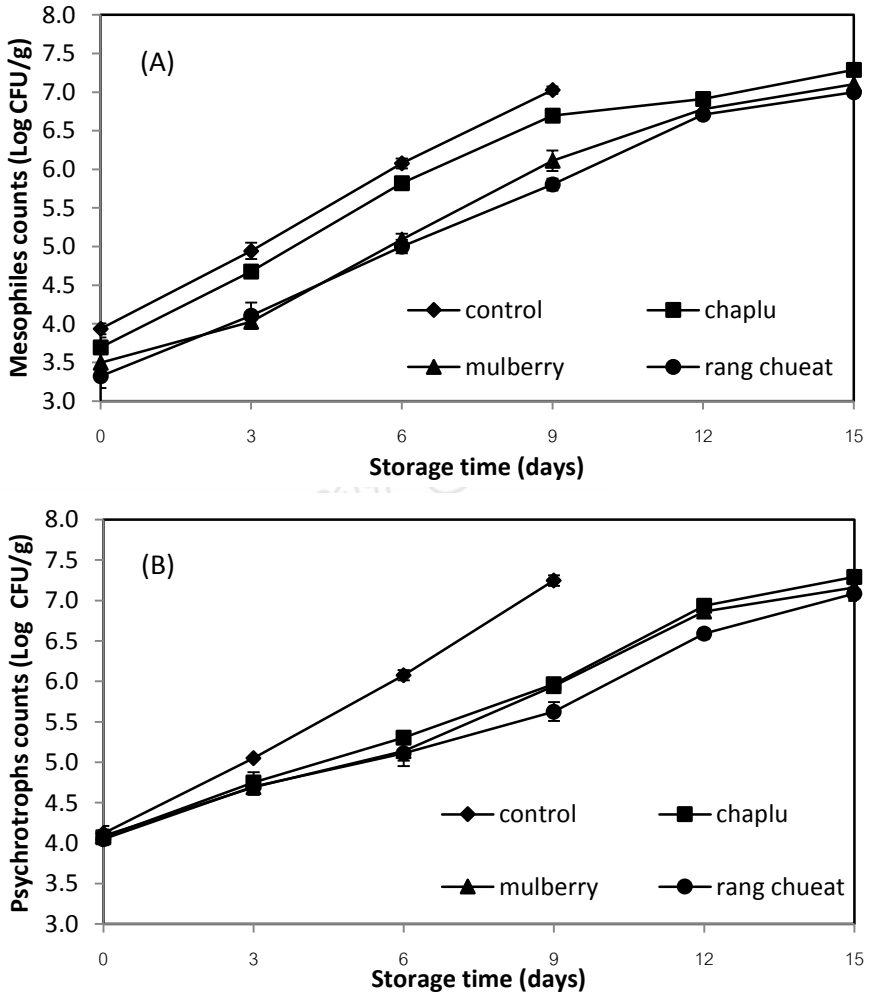
4.2 ผลของการใช้สารสกัดจากใบรางจืด หม่อน และชะพลู ในการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่

4.2.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

ผลการศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ของตัวอย่างปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดใบรางจืด หม่อน และชะพลูความเข้มข้นร้อยละ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ผลการทดลอง พบว่า ตัวอย่างชุดควบคุมมีปริมาณจุลินทรีย์ชนิด mesophilies เพิ่มขึ้นจาก 3.94 log CFU/g ถึง 7.00 log CFU/g ภายในเวลา 9 วันของการเก็บรักษา และเพิ่มสูงขึ้นกว่าชุดการทดลองอื่นๆ (รูปที่ 4 (A)) การทดลองปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นน้อยกว่าตัวอย่างที่แช่สารสกัดหม่อนและสารสกัดชะพลู ($p<0.05$) เมื่อเก็บรักษานานขึ้น เป็นไปได้ว่า สารสกัดรางจืดมีองค์ประกอบพวกฟลาโวนอยด์ เช่น apigenin สารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย โดยส่งผลต่อโครงสร้างของสารชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบหลัก ๆ ภายในเซลล์แบคทีเรีย ส่งผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Chivapat *et al*., 2009) สารสกัดใบหม่อน มีองค์ประกอบพวก flavonoid, rutin, quercetin และ apigenin (Devi *et al*., 2013) นอกจากนี้สารสกัดใบชะพลูมีองค์ประกอบพวก amide, flavonoids และ pyrone (Amran *et al*., 2010) ในการทดลองครั้งนี้ พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ชนิด mesophilies ในตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืดร้อยละ1 เพิ่มขึ้นจาก 3.32 log CFU/g ถึง 7 log CFU/g ภายในเวลา 15 วันของการเก็บรักษา ในตัวอย่างที่แช่สารสกัดหม่อนร้อยละ1 เพิ่มขึ้นจาก 3.50 log CFU/g ถึง 7.04 log CFU/g ภายในเวลา 15 วันของการเก็บรักษา และในตัวอย่างที่แช่สารสกัดชะพลูร้อยละ1 เพิ่มขึ้นจาก 3.69 log CFU/g ถึง 7.23 log CFU/g ภายในเวลา 15 วันของการเก็บรักษา ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นไม่เท่ากันอาจเป็นไปได้ว่าในสารสกัดรางจืดที่มีปริมาณพอลิฟีนอลและปริมาณฟลาโวนอยด์ที่มากกว่า อาจยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เริ่มต้นได้ดีกว่าตัวอย่างอื่นๆ ทำให้ปริมาณเริ่มต้นของจุลินทรีย์ไม่เท่ากัน ICMSF (1986) ได้กำหนดปริมาณแบคทีเรียของสัตว์น้ำต้องไม่เกิน 7 log CFU/g หรือ 10^7 โคโลนีในตัวอย่าง 1 กรัม ซึ่งถ้าปริมาณจุลินทรีย์เกินกว่าค่านี้ ไม่เหมาะสมในการนำมาบริโภค Li *et al*. (2012) พบว่า สารประกอบพอลิฟีนอลเป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์สามารถลดการชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ส่งผลในการยืดอายุการเก็บรักษาสัตว์น้ำ Fan *et al*. (2008) ได้รายงานว่าการใช้สารพอลิฟีนอลจากใบชา ในการยืดอายุการเก็บรักษาปลาคาร์พ (carp) ที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง พบว่าที่ความเข้มข้นของสารพอลิฟีนอลร้อยละ 0.2 (w/w) ที่ใช้ในการแช่ปลาคาร์พ (carp) สามารถลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าไม่ใช้สารพอลิฟีนอลและสามารถเก็บรักษาปลาคาร์พ (carp) ได้นานถึง 35 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ไม่ใช้สารพอลิฟีนอลสามารถเก็บรักษาได้เพียง 28 วัน Ozyurt *et al*. (2012) รายงานว่าสารสกัดโรสแมรี่สามารถชะลอการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและยืดอายุการเก็บรักษาของปลาซาร์ดีน (*Sardinella aurita*) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น Gao *et al*. (2014) รายงานว่าสารสกัด

Prince of Songkla University Pattani Campus

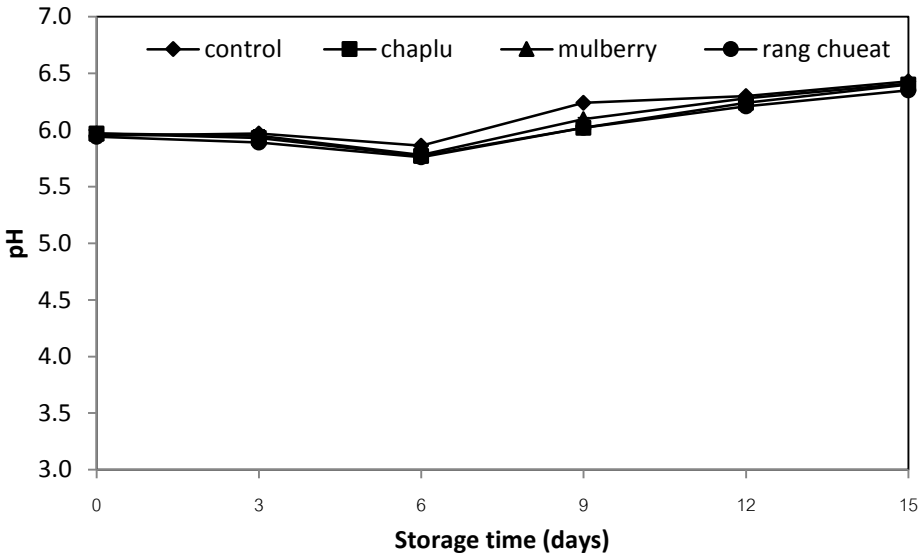
โรสแมรี่ร่วมกับไนซิน (nisin) สามารถชะลอหรือยับยั้งปริมาณของแบคทีเรียในระหว่างการเก็บรักษาของ ปลาจาราเม็ด ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และยืดอายุการเก็บรักษาได้นานกว่าชุดควบคุม 6 วัน จากการทดลองเป็นไปได้ว่าในตัวอย่างปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดสามารถชะลอหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าตัวอย่างชุดการทดลองอื่นๆ ตัวอย่างปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดจากรางจืดร้อยละ 1 สามารถลดการเจริญเติบโตของปริมาณแบคทีเรียชนิด psychrotrophs เทียบกับชุดควบคุม เมื่อเก็บรักษานานขึ้น รูปที่ 5 (B) เป็นไปได้ว่าในตัวอย่างปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดสามารถชะลอหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าตัวอย่างชุดการทดลองอื่นๆ



รูปที่ 5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียชนิด Mesophilies (A) และ Psychrotrophs (B) ของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดรางจืด (●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

4.2.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

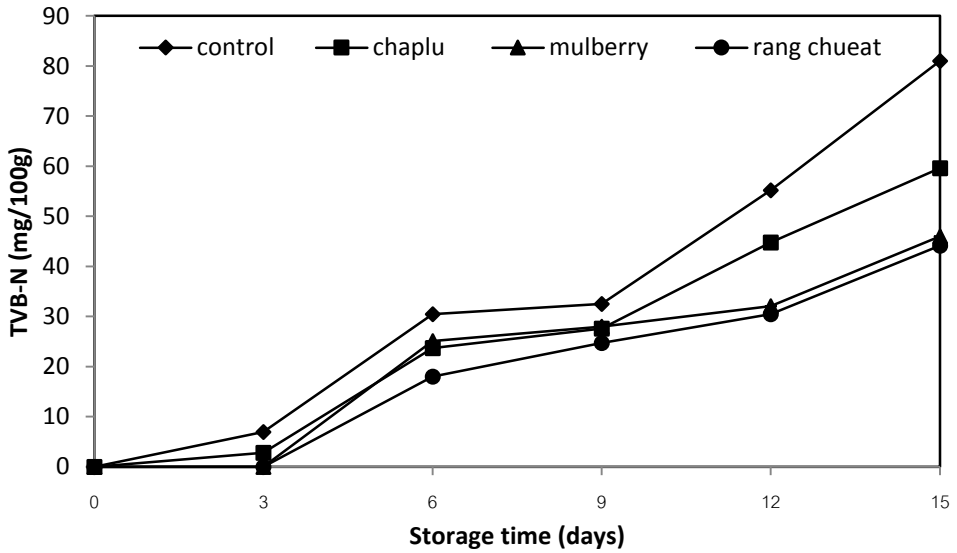
ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของปลานิลแดงแล่ที่เก็บรักษาในสารสกัดรางจืด หม่อน ชะพลูและชุดควบคุมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (รูปที่ 6) พบว่าค่าพีเอชปลานิลแดงแล่ในตัวอย่างชุดควบคุม มีค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 5.9 เมื่อเก็บรักษานาน 6 วัน ค่าพีเอชที่ลดลงเป็นไปได้ว่าเกิดการสลายของไกลโคเจนเป็นกรดแลกติก หลังจากการเก็บรักษานานขึ้นพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของค่าพีเอช เป็นไปได้ว่าเกิดจากสารประกอบด่างที่ระเหยได้ ซึ่งเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ทำให้มีค่าพีเอชของสัตว์น้ำเพิ่มขึ้น (Bensid *et al*., 2014) เมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับปริมาณแบคทีเรีย mesophilies ที่เพิ่มขึ้น แสดงในรูปที่ (5 (A)) ในขณะที่ชุดการทดลองที่มีการแช่ด้วยสารสกัดรางจืด หม่อนและชะพลู ค่าพีเอชจะลดลงเล็กน้อย เป็นไปได้ว่าในสารสกัดจากธรรมชาติมีสารประกอบพวก phenolic ทำให้ค่าพีเอชของเนื้อปลาลดลงเล็กน้อย เมื่อเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้ในตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืดมีการเพิ่มขึ้นของค่าพีเอชน้อยกว่าตัวอย่างอื่นตลอดการเก็บรักษา 15 วัน เป็นไปได้ว่าองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารสกัดรางจืด สามารถชะลอหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ สอดคล้องกับ Wang and Brown (1983) พบว่าการเพิ่มขึ้นของพีเอชมีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารประกอบเอมีนที่ระเหยได้ Fan *et al*. (2008) พบว่าในตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ใช้สารประกอบพอลิฟีนอลมีค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.2 และมีค่าพีเอชลงลดเมื่อเก็บรักษาผ่านไป 7 วัน หลังจากนั้นค่าพีเอชจะเพิ่มสูงขึ้นตลอดการทดลอง ซึ่งเกิดจากสารประกอบด่างที่ระเหยได้ เนื่องจากกิจกรรมของแบคทีเรีย Khalafalla *et al*. (2015) ได้ศึกษาการใช้สารสกัดโรสแมรี่ร้อยละ 1.5 และสารสกัด thyme ร้อยละ 0.5 ในการยืดอายุการเก็บรักษา ปลานิลแดง ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส พบว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่แช่สารสกัดมีค่า พีเอชเริ่มต้น 6.2 จากนั้นค่าพีเอชเพิ่มสูงขึ้นถึง 7.2 เมื่อเวลาผ่านไป 9 วัน ดังนั้นการใช้สารสกัดรางจืดสามารถลดการเน่าเสียของสัตว์น้ำได้



รูปที่ 6 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดรางจืด (●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

ผลการศึกษาปริมาณรวมด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ของปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืด หม่อน ชะพลูและตัวอย่างชุดควบคุม (รูปที่ 7) ตัวอย่างชุดควบคุมที่ไม่ได้แช่สารสกัดจากพืชมีค่า TVB-N สูงกว่าชุดการทดลองที่แช่ด้วยรางจืด หม่อนและชะพลู ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p<0.05$) พบว่าตัวอย่างชุดควบคุมมีค่า TVB-N มากกว่า 25 mg/100g ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา 15 วัน ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ของสัตว์น้ำที่ไม่สามารถบริโภคได้เนื่องจากเกิดการเน่าเสีย (Geo *et al*., 2014) ค่า TVB-N เป็นการแสดงถึงปริมาณไตรเมทิลเอมีน ไดเมทิลเอมีนและแอมโมเนีย ซึ่งมีความสัมพันธ์ต่อการเน่าเสียของสัตว์น้ำและกิจกรรมของจุลินทรีย์ Lannelongue *et al*. (1982) ได้แบ่งระดับของ TVB (mgN/100g) ตามระดับความสดของปลาไว้ดังนี้ ที่ระดับกว่า 12 (mgN/100g) แสดงว่าเป็นปลาที่สด ; ที่ระดับ 12-20 (mgN/100g) แสดงว่าปลาเริ่มมีกลิ่นคาว แต่ยังคงรับประทานได้ ในขณะที่ระดับ 20-25 (mgN/100g) ถือว่าเป็น border line และที่ระดับสูงกว่า 25 (mgN/100g) อยู่ในเกณฑ์ของปลาไม่สามารถบริโภคได้ เนื่องจากเกิดการเน่าเสีย จากการทดลองพบว่าตัวอย่างที่แช่สารสกัดจากชะพลูมีค่า TVB-N มากกว่า 25 mg/100g หลังจากวันที่ 6 ของการเก็บรักษา ในขณะที่ตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืดและหม่อนมีค่า TVB-N มากกว่า 25 mg/100g หลังจากวันที่ 12 เป็นไปในทิศทางเดียวกับ Fan *et al*. (2008) ได้ศึกษาการใช้สารพอลิฟีนอลจากใบชา ในการยืดอายุการเก็บรักษาปลาคาร์พ (carp) ที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง พบว่าที่ความเข้มข้นของสารพอลิฟีนอลร้อยละ 0.2 (w/w) ของสารละลายที่ใช้ในการแช่ปลา Carp สามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของค่า TVB-N ได้ดีกว่าชุดควบคุม Quitral *et al*. (2009) พบว่าการแช่ปลา Chilean jack mackerel (*Trachurus murphyi*) ในสารสกัด oregano (*Origanum vulgare*) และโรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis*) สามารถลด

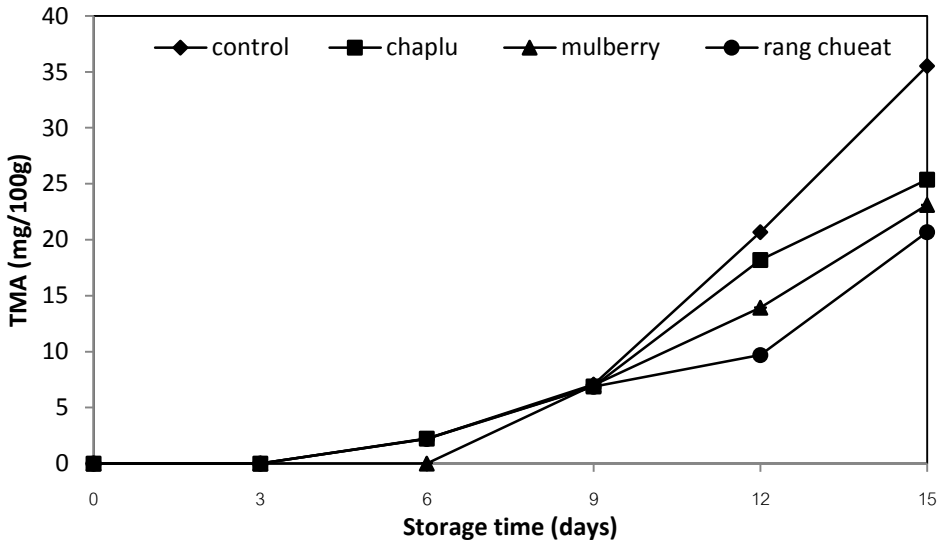
การเพิ่มขึ้นของค่า TVB-N ได้มากกว่าที่ไม่ได้ใช้สารสกัดเหล่านี้ เป็นไปได้ว่าสารสกัดจากพืชมีสารพวกพอลิฟีนอล สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ adenosine monophosphate deaminase ที่มีผลทำให้มีค่า TVB-N เพิ่มขึ้นในสัตว์น้ำ (Nirmal and Benjakul., 2011) นอกจากนี้ปลานิลแดงแล่ที่แช่ด้วยสารสกัดรางจืดยังมีบทบาทในการยับยั้งหรือชะลอการเจริญของแบคทีเรียและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีของสัตว์น้ำได้ดีกว่าตัวอย่างอื่นๆ ตลอดการเก็บรักษา



รูปที่ 7 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณรวมด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดรางจืด (●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

ผลการศึกษาปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA) ของปลานิลแดงที่แช่สารสกัดรางจืด หม่อน ชะพลูและตัวอย่างควบคุม (รูปที่ 8) พบว่าตัวอย่างปลาที่แช่ด้วยสารสกัดรางจืดมีค่าไตรเมทิลเอมีนเพิ่มขึ้นน้อยกว่าตัวอย่างที่แช่ด้วยสารสกัดหม่อน ชะพลูและชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน ($p<0.05$) ปริมาณไตรเมทิลเอมีนเป็นการแสดงถึงการลดลงของปริมาณไตรเมทิลออกไซด์ (TMAO) ที่เกิดจากกิจกรรมของแบคทีเรีย ส่งผลทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ยอมรับและการเสื่อมเสียของสัตว์น้ำ จากการรายงานของ สุทธวัฒน์ (2548) พบว่า TMA-N มาจากการเปลี่ยนแปลงในรูปของ trimethylamine oxide (TMAO) โดยกิจกรรมของแบคทีเรีย ในปลาสดมีค่า TMA ประมาณ 5-10 mg TMA/100g แต่ในปลาที่เน่าเสียจะมีค่าเกิน 10 mg TMA/100g (Ocano-Higuera *et al*. 2011) สำหรับในตัวอย่างชุดควบคุมมีปริมาณไตรเมทิลเอมีนเพิ่มขึ้นในอัตราที่สูงกว่าตัวอย่างที่แช่สารสกัดจากพืช หลังจากวันที่ 6 ของการเก็บรักษา การเพิ่มขึ้นของปริมาณไตรเมทิลเอมีนมีความสัมพันธ์กับการเน่าเสียเนื่องจากแบคทีเรีย นอกจากนี้ TMA มีความสัมพันธ์กับกลิ่นของปลาที่เน่าเสีย เมื่อ TMA ทำปฏิกิริยากับไขมันในกล้ามเนื้อปลาจะก่อให้เกิดลักษณะกลิ่นคาวปลา (fishy odor)

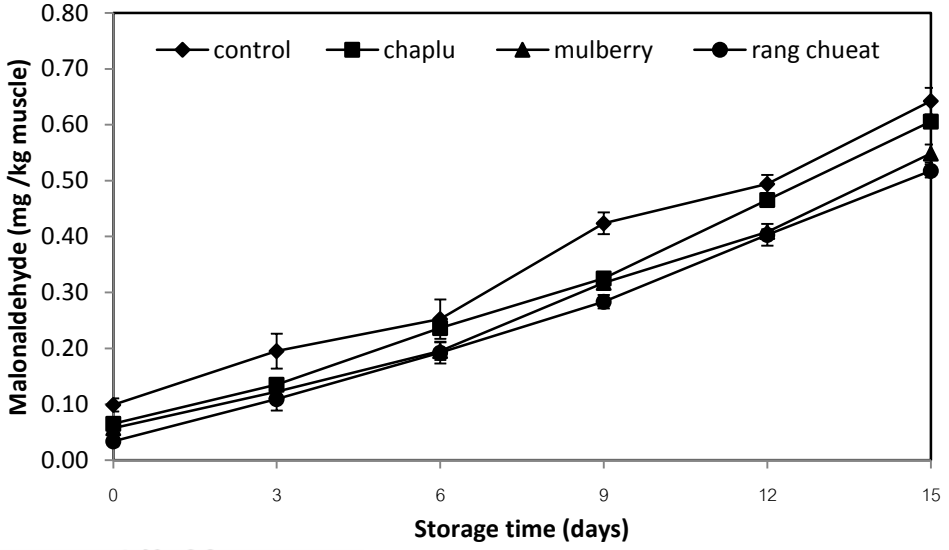
(Masniyom, 2011) Fan *et al*. (2008) ได้ศึกษาการใช้สารพอลิฟีนอลจากใบชา ในการยืดอายุการเก็บรักษา ปลาคาร์พ (carp) ที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง พบว่าที่ความเข้มข้นของสารพอลิฟีนอลร้อยละ 0.2 (w/w) ของสารละลายที่ใช้ในการแช่ปลา Carp สามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของค่า TMA ได้ดีกว่าชุดควบคุม Gao *et al*. (2014) รายงานว่าสารสกัดโรสแมรี่ร่วมกับไนซิน (nisin) ในการยืดอายุการเก็บรักษาปลาจาราเม็ดสามารถยับยั้งเอ็นไซม์และกิจกรรมของแบคทีเรียได้ดีกว่าสารสักดโรสแมรี่ ไนซินและชุดควบคุม ตลอดการเก็บรักษา 15 วัน นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของค่า TMA อาจมาจากการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนอิสระ การออกซิเดชันของหมู่เอมีนและกิจกรรมของจุลินทรีย์ (Ocano-Higuera *et al*., 2011) ดังนั้นการใช้สารสกัดรางจืดในการแช่ปลานิลแดงแล่สามารถชะลอการเน่าเสียและอาจไปมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้



รูปที่ 8 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA) ของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดรางจืด (●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆)ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

ผลการศึกษาปริมาณมาลอนาลดิไฮด์ของเนื้อปลานิลแดงที่ผ่านการแช่สารสกัดจากรางจืดมีการเพิ่มขึ้นน้อยกว่าปลานิลแดงที่ผ่านการแช่สารสกัดหม่อน ชะพลูและชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน (รูปที่ 9) เป็นไปได้ว่าการแช่สารสกัดจากรางจืดมีสารประกอบ phenolic acid, polyphenols ซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ส่วนชุดควบคุมมีการเพิ่มขึ้นของค่า TBARs ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา เนื่องจากในปลานิลแดงมีไขมันเป็นองค์ประกอบ เมื่อเก็บรักษานานขึ้นทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Budge and Parrish, 2003) ปริมาณ TBARs ของเนื้อปลานิลแดงที่ผ่านการแช่สารสกัดจากพืชมีการเพิ่มขึ้นน้อยกว่าชุดควบคุม สอดคล้องกับ Fan *et al*. (2008) พบว่าการใช้สารพอลิฟีนอลจากใบชา ในการยืดอายุการเก็บรักษาปลาปลาคาร์พ (carp) ที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง ที่ความเข้มข้นของสารพอลิฟีนอลร้อยละ 0.2 (w/w)

ของสารละลายที่ใช้ในการแช่ปลาคาร์พ (carp) สามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของค่า TBARs ได้ดีกว่าชุดควบคุม Maqsood and Benjakul (2010) พบว่าการใช้สารประกอบ phenolic สามารถลดปฏิกิริยาออกซิเดชันในเนื้อปลาแมคคาเรล (mackerel) บด ได้ดีกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารประกอบ phenolic นอกจากนี้ Khalafalla *et al*. (2015) พบว่าสารสกัดโรสแมรี่ร้อยละ 1.5 และสารสกัด thyme ร้อยละ 0.5 ในการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดง ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส ในตัวอย่างที่แช่ thyme ร้อยละ 0.5 สามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของค่า TBARs ได้ดีกว่าชุดการทดลองที่แช่สารสกัดโรสแมรี่ร้อยละ 1.5 และชุดควบคุม ตอลดระยะเวลาการเก็บรักษา 18 วัน ดังนั้นการใช้สารสกัดรางจืดในการแช่ปลานิลแดงแล่สามารถลดหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าชุดควบคุม ส่งผลในการลดการเกิดกลิ่นหืนได้ในระหว่างการเก็บรักษา



รูปที่ 9 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณมาลอนาลดีไฮด์ (TBARs) ของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดรางจืด(●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆)ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

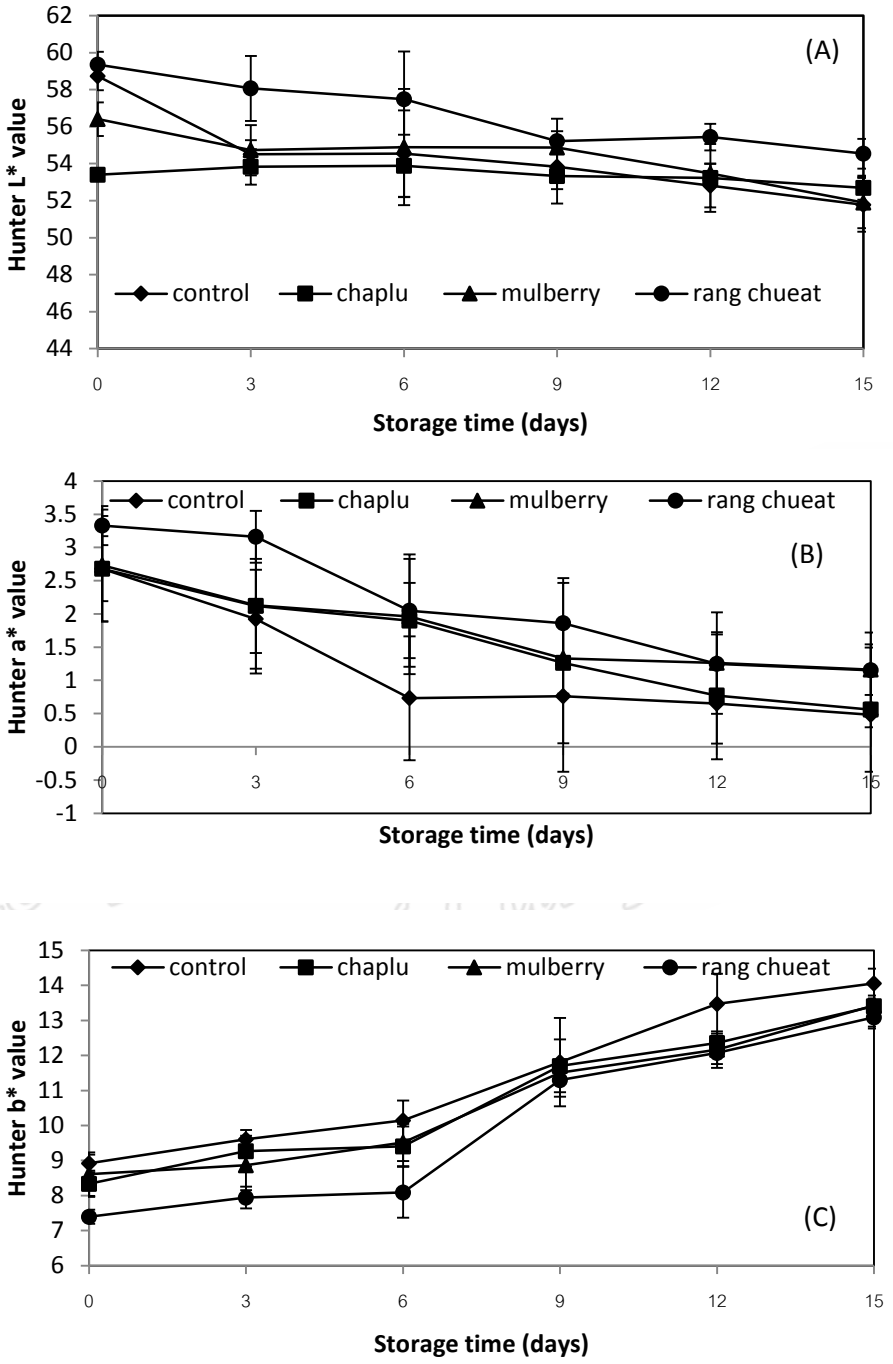
4.2.3 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

ผลการศึกษาค่าสีทางกายภาพโดยทำการตรวจวัดค่า L*, a* และค่า b* โดยค่า L* แสดงถึงค่าความสว่างของชิ้นเนื้อ a* แสดงถึงค่าความเป็นสีแดงและค่า b* แสดงถึงค่าความเป็นสีเหลือง จากการศึกษาพบว่าค่าความสว่างในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานาน 15 วัน (รูปที่ 10 (A,B)) พบว่าตัวอย่างชุดควบคุมมีค่าความสว่างน้อยกว่าตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืด เป็นไปได้ว่าชุดควบคุมมีการเน่าเสียเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณแบคทีเรียและปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ส่งผลทำให้ค่าความสว่างและค่า a* ลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา Morkore *et al*. (2010) รายงานว่าความเข้มข้นของรงควัตถุหรือเม็ดสีและลักษณะโครงสร้างของกล้ามเนื้อจะมีผลต่อค่าสีของกล้ามเนื้อปลา Li *et al.* (2012) พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่าสีใน

กล้ามเนื้อปลามีสาเหตุมาจากการเกิดออกซิเดชันของโปรตีน ในขณะเดียวกันตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืดมีค่าความสว่างและค่า a* ลดลงน้อยกว่าตัวอย่างชุดควบคุม เป็นไปได้ว่าสารสกัดรางจืดสามารถชะลอหรือลดปริมาณแบคทีเรียและการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ ส่งผลทำให้มีคุณภาพทางกายภาพที่ดีกว่าชุดควบคุมตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา

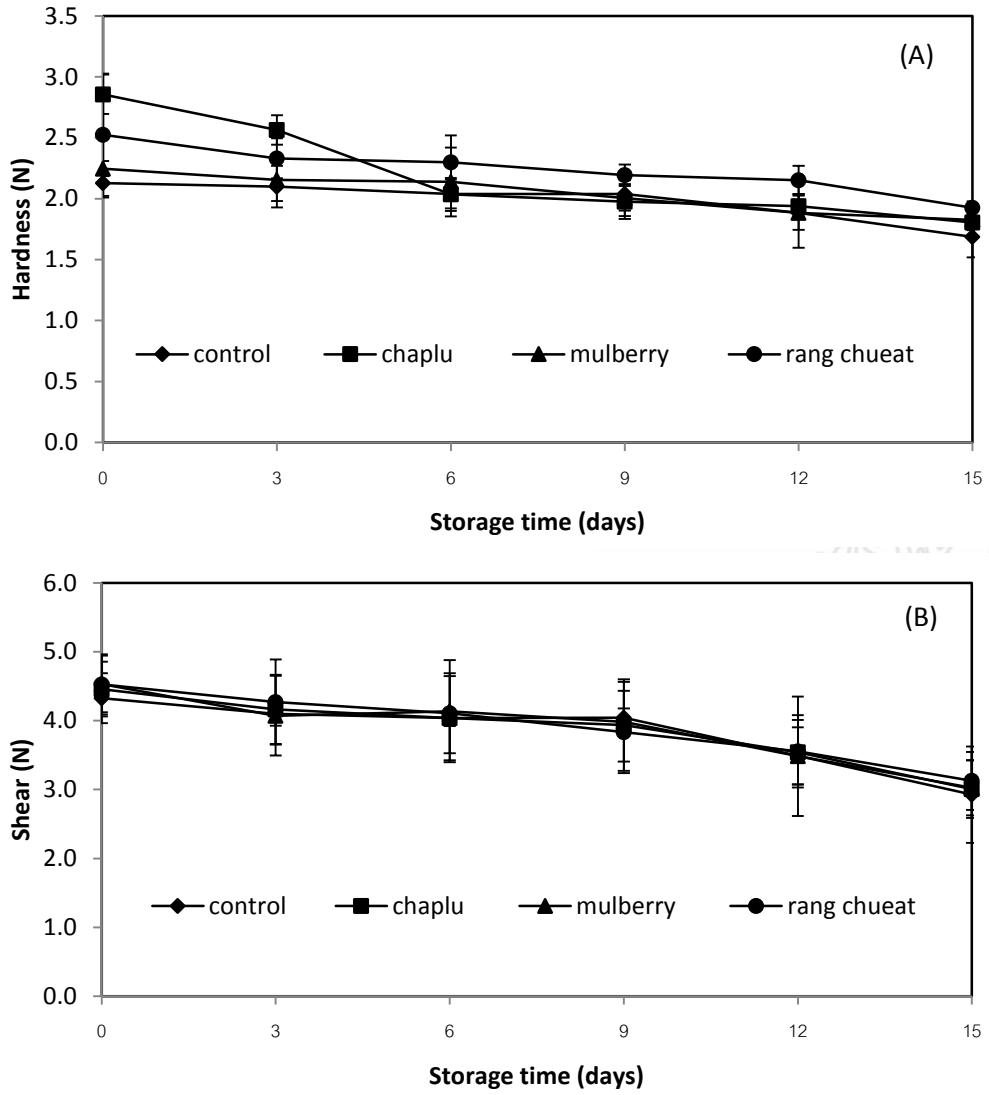
ผลการศึกษาค่า b* พบว่าทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน (รูปที่ 10 (C)) ในตัวอย่างชุดควบคุมมีค่า b* มีการเพิ่มขึ้นมากกว่าปลานิลแดงแล่ที่ผ่านการแช่สารสกัดจากพืช เป็นไปได้ว่าการเพิ่มของค่า b* อาจเกิดจากกิจกรรมระหว่างโปรตีนในกล้ามเนื้อและการออกซิเดชันของไขมันทำให้มีสีเหลือง (Masniyom, 2011) การใช้สารสกัดจากรางจืดร้อยละ 1 ในการแช่ปลานิลแดงแล่ให้การเปลี่ยนแปลงต่อค่าสีน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างอื่นๆ เป็นไปได้ว่าสารสกัดรางจืดสามารถชะลอหรือลดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้ค่า b* ในตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืดมีค่าการเพิ่มขึ้นที่น้อยกว่า ส่งผลต่อลักษณะปรากฏของปลานิลแดงแล่ในระหว่างการเก็บรักษา

Prince of Songkla University Pattani Campus



รูปที่ 10 การเปลี่ยนแปลงค่าสี L* (A), a* (B) และ b* (C) ของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดรางจืด (●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

ผลการศึกษาค่าความแข็ง (Hardness) ในเนื้อปลานิลแดงทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานาน 15 วัน ชุดควบคุมมีค่าความแข็งลดลงมากกว่าตัวอย่างที่แช่สารสกัดจากรางจืดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน แสดงในรูปที่ 11 (A) สอดคล้องกับ Gao *et al*. (2014) ได้ศึกษาผลของสารสกัดโรสแมรี่ร่วมกับไนซิน (nisin) ในการยืดอายุการเก็บรักษาปลา pompano (*Trachinotus ovatus*) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน ค่าความแข็งของเนื้อปลา pompano ที่แช่สารสกัด โรสแมรี่ร่วมกับไนซิน (nisin) มีค่าความแข็งที่สูงกว่าชุดควบคุม เป็นไปได้ว่าการลดลงของค่าความแข็งในเนื้อปลาเกิดหลังจากระยะ rigor mortis เนื่องจากเอนไซม์ในกล้ามเนื้อมีการย่อยสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อและกิจกรรมจากจุลินทรีย์ส่งผลทำให้ความแน่นเนื้อในเนื้อปลาลดลง ส่วนตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืดมีค่าความแข็งที่สูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ เป็นไปได้ว่าการแช่สารสกัดรางจืดสามารถชะลอกิจกรรมของแบคทีเรีย ทำให้ค่าความแข็งของตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืดมีค่าความแข็งสูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ สอดคล้องกับ ผลการศึกษาค่าแรงเฉียน (Shear) ในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานาน 15 วัน แสดงในรูปที่ 11 (B) มีอัตราการลดลงอย่างช้าๆ โดยชุดการทดลองที่แช่สารสกัดรางจืด มีการลดลงของค่าแรงเฉียนน้อยกว่าชุดการทดลองอื่นๆ เป็นไปได้ว่าค่าความแข็งลดลง ส่งผลทำให้ค่าแรงเฉียนลดลงตามไปด้วย เนื่องจากโปรตีนที่อยู่ในกล้ามเนื้อถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในกล้ามเนื้อและกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้น ทำให้ค่าแรงเฉียนมีค่าลดลงเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น นอกจากนี้ Delbarre-Ladrat *et al*. (2006) รายงานว่าหลังจากปลาตายจะเกิดการย่อยสลายตัวเอง autolysis ทำให้กล้ามเนื้อปลานุ่มขึ้น มีความยืนหยุ่นน้อยลง โดยมีความสัมพันธ์กับกิจกรรมและปริมาณแบคทีเรียที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเก็บรักษานานขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 5 ดังนั้นการใช้สารสกัดรางจืดส่งผลชะลอการลดลงของค่าความแข็งและแรงเฉียนของสัตว์น้ำได้

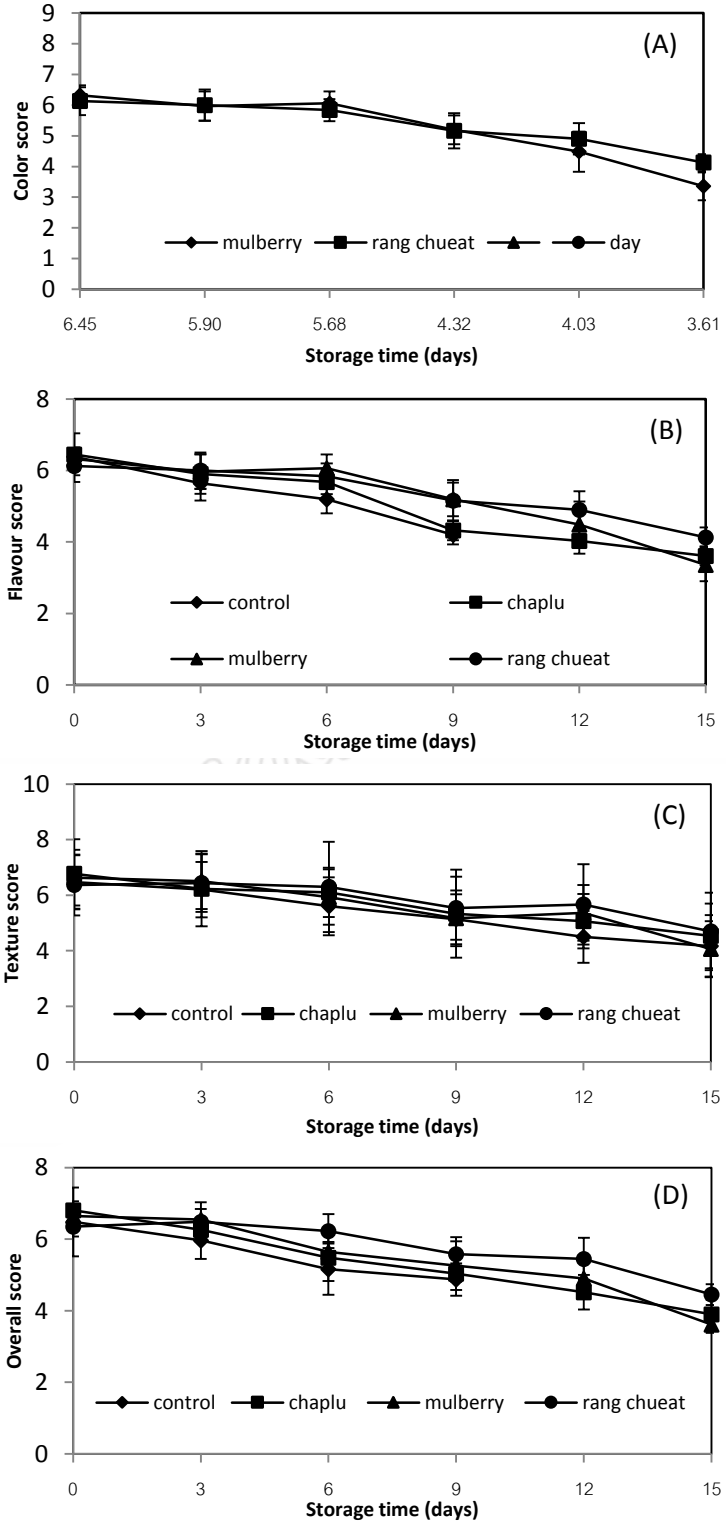


รูปที่ 11 การเปลี่ยนแปลงค่าความแข็ง (Hardness (A)) และค่าแรงเฉือน (Shear (B)) ของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดรางจืด (●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

4.2.4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลการศึกษาการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมของปลานิลแดงแล่ พบว่าทุกชุดการทดลองมีคะแนนการยอมรับสูงในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา เมื่อเวลาการเก็บรักษานานขึ้น คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสลดลงอย่างต่อเนื่อง (รูปที่ 12 A, B, C, D) โดยคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสที่มี 4 คะแนนหรือน้อยกว่าจะไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งจากการทดลองพบว่าตัวอย่างชุดควบคุมมีคะแนนการยอมรับลดลงหลังจากวันที่ 6 ของการเก็บรักษา เนื่องจากเริ่มมีสีคล้ำ กลิ่นเหม็นและเน่าเสียไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ ในขณะตัวอย่างปลานิลแดงแล่ที่ผ่านการแช่ด้วยสารสกัดรางจืดมีคะแนนการยอมรับสูงกว่าชุดการทดลองที่มีการใช้หม่อนและชะพลูตลอดระยะเวลา 15 วันของการเก็บรักษา ในขณะที่ปลานิลแดงที่แช่สารสกัดชะพลูและหม่อน มีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสมากกว่า 9 และ 12 วันตามลำดับ Gao *et al*. (2014) อธิบายว่าการใช้สารสกัดจากโรสแมรี่ร่วมกับไนซิน (nisin) สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงของค่าสี กลิ่นและการเกิดออกซิเดชันได้ และชะลอการเน่าเสียได้ดีกว่าไม่ใช้สารสกัด ในการยืดอายุการเก็บรักษาปลาจาราเม็ด ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น นอกจากนี้สารสกัดโรสแมรี่ร่วมกับไนซินมีผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสได้นาน 15 วัน เมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆ ดังนั้นความเข้มข้นของสารสกัดรางจืดร้อยละ 1 สามารถเป็นที่ยอมรับทางคุณภาพประสาทสัมผัสและยืดอายุการเก็บรักษาได้ดีกว่าหม่อนและชะพลู ซึ่งน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่

Prince of Songkla University Pattani Campus



รูปที่ 12 การเปลี่ยนแปลงคะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี (A) กลิ่นรส (B) เนื้อสัมผัส (C) และความชอบโดยรวม (D) ของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดรางจืด (●) หม่อน (▲) ชะพลู (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

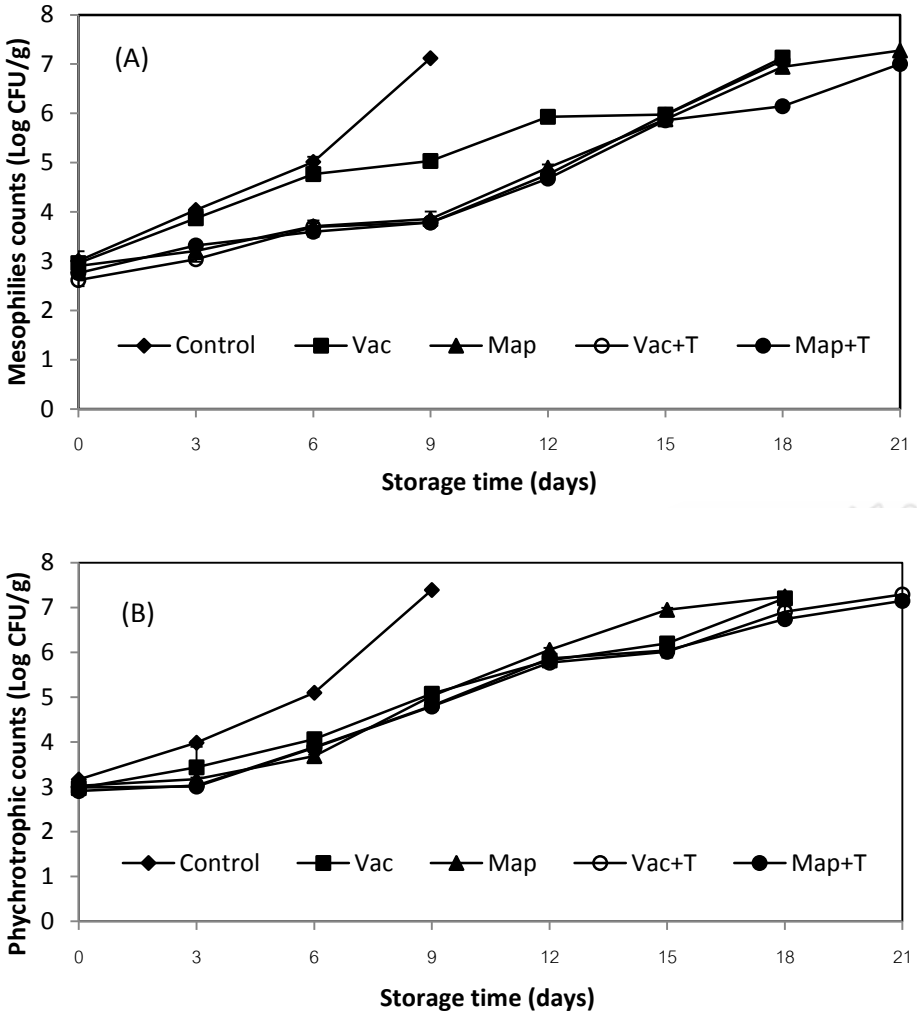
4.3 ศึกษาผลของสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศและดัดแปลงบรรยากาศ ต่อการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่

4.3.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

ผลการศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ของปลานิลแดงแล่ทุกชุดการทดลอง พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียชนิด mesophilies ทั้งหมดทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ($p<0.05$) (รูปที่ 13 (A)) ปริมาณแบคทีเรียชนิด mesophilies ทั้งหมดของปลานิลแดงแล่ของชุดควบคุมเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจาก 3.01 log CFU/g ถึง 7.12 log CFU/g ภายใน 9 วัน และ ชุดการทดลองปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (MAP) ที่มีปริมาณ 60% CO_2 มีปริมาณแบคทีเรียชนิด mesophilies เพิ่มขึ้นจาก 2.76 log CFU/g ถึง 7.00 log CFU/g ตลอดระยะเวลา 21 วัน ของการเก็บรักษา โดยเพิ่มขึ้นน้อยกว่าชุดควบคุม เป็นไปได้ว่าผลของสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศสามารถยับยั้งหรือลดการเจริญของแบคทีเรีย เนื่องจากในสารสกัดรางจืดมีองค์ประกอบพวก phenolic, carotenoid aromatic caffeic และ apigenin สารเหล่านี้มีผลต่อเยื้อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ ส่งผลในการชะลอหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Chivapat *et al*., 2009) นอกจากนี้การใช้ CO_2 สามารถชะลอหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เนื่องจากกรดคาร์บอนิคจากการละลายของ CO_2 บริเวณผิวหน้าสัตว์น้ำในระหว่างการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (Ordonaz *et al*. 2000) กรดคาร์บอนิคเป็นกรดอินทรีย์ที่เป็นชนิดกรดอ่อนมีลักษณะที่แตกตัวได้น้อย จึงมีบทบาทในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Daniela *et al*., 1985) ICMF (1986) ได้กำหนดปริมาณแบคทีเรียของสัตว์น้ำต้องไม่เกิน 7 log CFU/g หรือ 10^7 โคโลนีในตัวอย่าง 1 กรัม สอดคล้องกับ Nirmal and Benjakul (2011) พบว่าการใช้สารสกัดชาเขียวร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (50% CO_2, 5% O_2, 45% N_2) ใน Pacific white shrimp สามารถยืดอายุการเก็บรักษากุ้งได้นานถึง 21 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม Masniyom *et al*. (2012) พบว่าผลร่วมของน้ำมันตะไคร้ร้อยละ 0.2 และบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (MAP) ที่มีปริมาณ 80% CO_2, 10% O_2, 10% N_2 มีปริมาณแบคทีเรียชนิด mesophilies ทั้งหมดน้อยกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 30 วัน ซึ่งปริมาณ TVC ที่เพิ่มขึ้นจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณ TVBN และ TMA นอกจากนี้ชุดการทดลองปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลง บรรยากาศ (MAP) ที่มีปริมาณ 60% CO_2 มีปริมาณแบคทีเรียชนิด psychrotrophs ทั้งหมดน้อยกว่าชุดการทดลองอื่นๆ เมื่อเก็บรักษานานขึ้น (รูปที่ 13 (B)) ปริมาณแบคทีเรียชนิด psychrotrophs ของปลานิลแดงแล่ของชุดควบคุมเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจาก 3.17 log CFU/g ถึง 7.39 log CFU/g ภายใน 9 วัน และชุดการทดลองปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (MAP) ที่มีปริมาณ 60% CO_2 มีปริมาณแบคทีเรียชนิด psychrotrophs เพิ่มขึ้นจาก 3.01 log CFU/g ถึง 7.12

log CFU/g ตลอดระยะเวลา 21 วัน ของการเก็บรักษา โดยเพิ่มขึ้นน้อยกว่าชุดควบคุมเป็นไปได้ว่าการใช้สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ ไม่เพียงแต่สามารถยับยั้งปริมาณแบคทีเรียชนิด mesophilies แต่สามารถยับยั้งแบคทีเรียชนิด psychrotrophs ได้อีกด้วย สอดคล้องกับ Nirmal and Benjakul (2011) รายงานว่าสารสกัดจากชาเขียวร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1 ร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ สามารถลดปริมาณแบคทีเรียชนิด psychrotrophs ในกุ้งขาวที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง ตลอดการเก็บรักษา 12 วัน ดังนั้นการใช้สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ สามารถลดหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียนำไปสู่การลดการปนเปื้อนแบคทีเรียในอาหารได้

Prince of Songkla University
Pattani Campus



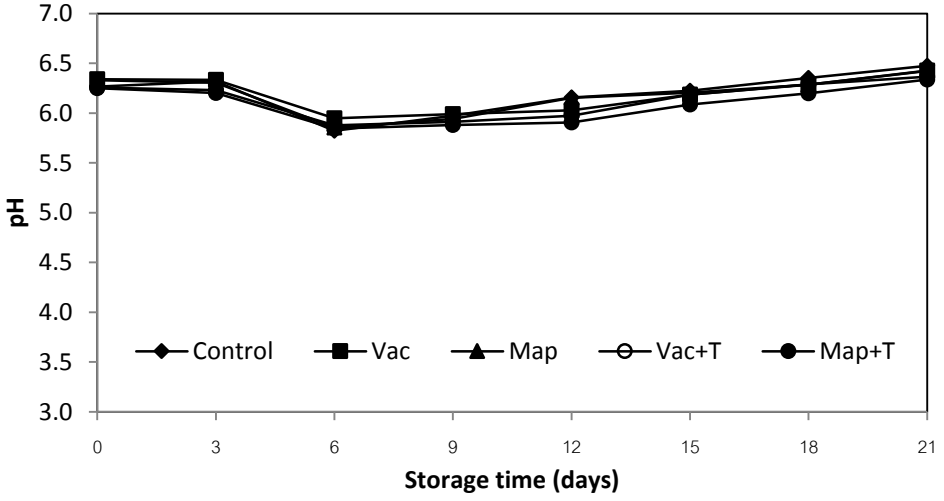
รูปที่ 13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียชนิด Mesophilies (A) และ Psychrotrophs (B) ของปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (○); 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

4.3.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของปลานิลแดงแล่ที่เก็บรักษาในสภาวะต่างๆ (รูปที่ 14) พบว่าค่าพีเอชในปลานิลแดงแล่ของตัวอย่างชุดควบคุม มีค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.29 เมื่อเก็บรักษานานขึ้น ค่าพีเอช ลดลงในช่วง 6 วันแรก เป็นไปได้ว่าเกิดการสลายของไกลโคเจนไปเป็นกรดแล็กติกและค่าพีเอชในตัวอย่างชุดควบคุมหลังวันที่ 6 ของการเก็บรักษามีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นตลอดการเก็บรักษา 21 วัน เป็นไปได้ว่าเกิดจากสารประกอบด่างที่ระเหยได้และสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลง

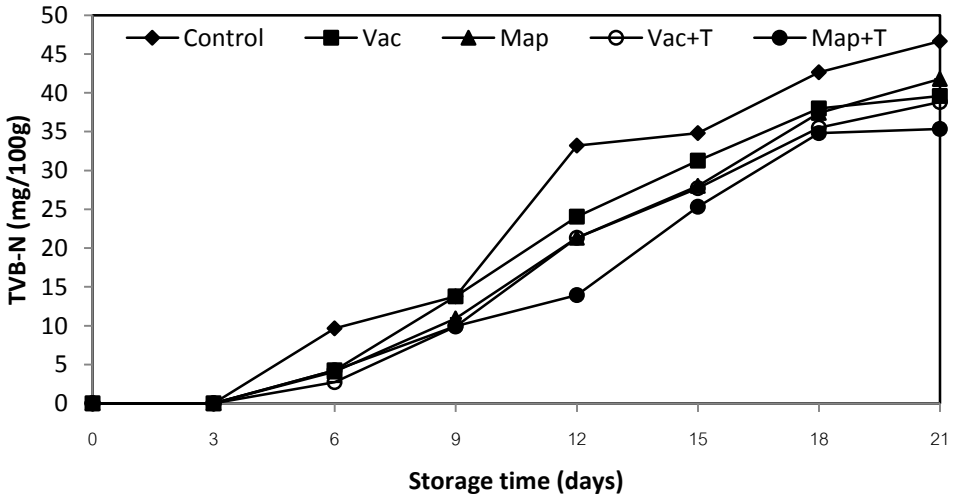
ปริมาณของด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVBN) ซึ่งเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ทำให้มีพีเอชของสัตว์น้ำเพิ่มขึ้น (Pastoriza *et al*., 1996) เมื่อเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นแสดงดังรูปที่ 13 การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชจะส่งผลทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพ ซึ่งสอดคล้องกับค่าความแข็งและแรงเฉือนที่มีแนวโน้มลดลง เมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้นและปริมาณจุลินทรีย์ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้น (Fernandez *et al*. 2009)

ขณะที่ชุดการทดลองที่แช่ด้วยสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมีการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชลดลงมากกว่าชุดควบคุมใน 6 วันแรกของการเก็บรักษา เป็นไปได้ว่าการเก็บบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมี CO_2 ทำให้เกิดกรดคาร์บอนิคจากการละลายของ CO_2 บริเวณผิวหน้าสัตว์น้ำในระหว่างการเก็บรักษา (Ordonez *et al*., 2000) ทำให้ค่าพีเอชของปลานิลแดงแล่มีการลดลงกว่าชุดควบคุม กรดอ่อนที่เกิดขึ้นส่งผลต่อการชะลอการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย หลังจากวันที่ 6 ของการเก็บรักษาค่าพีเอชของตัวอย่างที่แช่ด้วยสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นน้อยกว่าชุดการทดลองอื่นๆ การเพิ่มขึ้นของค่าพีเอชสอดคล้องกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นในรูปที่ 13 ดังนั้นการใช้สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศสามารถทำให้ค่าพีเอชเพิ่มขึ้นน้อยกว่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม



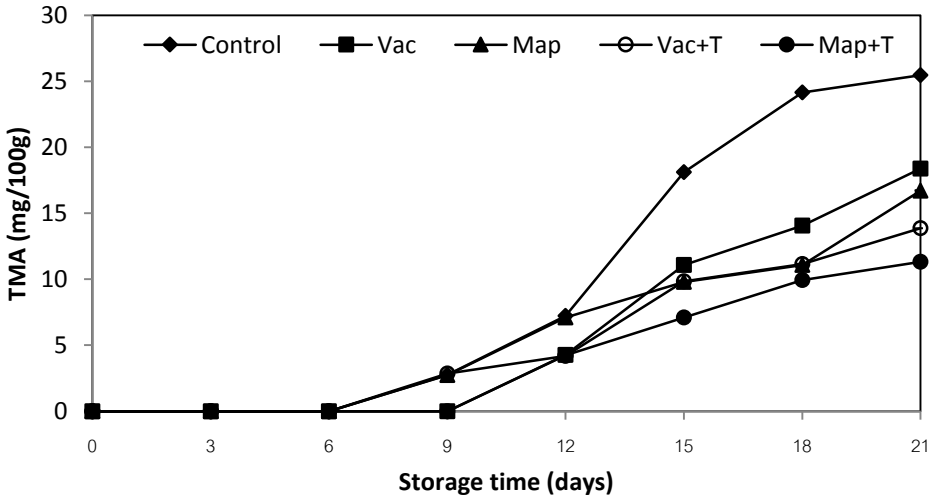
รูปที่ 14 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (○); 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

ผลการศึกษาปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ของสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศและดัดแปลงบรรยากาศ (รูปที่ 15) พบว่า ตัวอย่างชุดควบคุมมีค่า TVB-N สูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน ปริมาณ TVB-N เป็นค่าที่แสดงปริมาณรวมด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดซึ่งสามารถบ่งชี้การเน่าเสียของคุณภาพสัตว์น้ำเนื่องจากปริมาณแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย Lannelongue *et al*. (1982) ได้แบ่งระดับของ TVB (mgN/100g) ตามระดับความสดของปลาไว้ดังนี้ ที่ระดับกว่า 12 (mgN/100g) แสดงว่าเป็นปลาที่สดที่ระดับ 12-20 (mgN/100g) แสดงว่าปลาเริ่มมีกลิ่นคาว แต่ยังคงรับประทานได้ ในขณะที่ระดับ 20-25 (mgN/100g) ถือว่าเป็น border line และที่ระดับสูงกว่า 25 (mgN/100g) อยู่ในเกณฑ์ของปลาไม่สามารถบริโภคได้ เนื่องจากเกิดการเน่าเสีย โดยชุดควบคุมมีค่า TVB-N มากกว่า 25 mg/100g หลังจากการเก็บรักษา 9 วัน ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ของสัตว์น้ำที่ไม่สามารถบริโภคได้เนื่องจากเกิดการเน่าเสีย (Bank *et al*., 1980) ตัวอย่างปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดจากรางจืดร่วมกับการเก็บบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมีการเพิ่มขึ้นของค่า TVB-N น้อยกว่าปลานิลแดงแล่ที่สารสกัดรางจืดและเก็บแบบสุญญากาศตลอดของการเก็บรักษา 21 วัน ผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งหรือชะลอการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ทำให้ค่า TVB-N เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ สอดคล้องกับการรายงาน Kostaki *et al*. (2009) พบว่าการเก็บปลา sea bass (*Dicentrachus labrax*) ภายใต้การบรรจุ 60% CO_2 มีการเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ของปริมาณ TVB-N เมื่อเทียบกับการเก็บปลาแบบบรรยากาศปกติ Masniyom *et al*. (2012) พบว่าในตัวอย่างหอยแมลงภู่ที่ผสมร่วมกันด้วยน้ำมันตะไคร้ร้อยละ 0.2 และบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (80% CO_2) ที่เก็บในน้ำแข็งผสมกับน้ำเกลือร้อยละ 3 มีการเพิ่มขึ้นค่า TVB-N ในอัตราที่น้อยกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 30 วัน



รูปที่ 15 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณรวมด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ของปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (○); 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

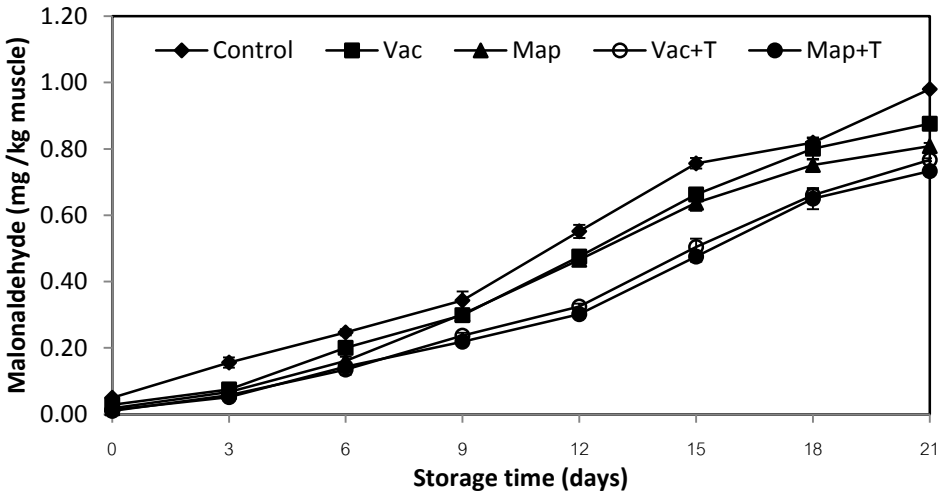
ผลการศึกษาปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ มีค่าไตรเมทิลเอมีน (TMA) เพิ่มขึ้นน้อยกว่าเนื้อปลานิลแดงที่ผ่านการแช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศและชุดควบคุมตลอดการเก็บรักษา 21 วัน (รูปที่ 16) ปริมาณไตรเมทิลเอมีนเป็นการแสดงถึงการลดลงของปริมาณไตรเมทิลออกไซด์ (TMAO) ที่เกิดจากกิจกรรมของแบคทีเรีย ส่งผลทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ยอมรับและการเสื่อมเสียของสัตว์น้ำ แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงไตรเมทิลออกไซด์ เป็นไตรเมทิลเอมีนในสัตว์น้ำ ได้แก่ *Shewanella putrefaciens*, *Aeromonas* spp., *Photobacterium* และ *Vibrio* spp. (Huss, 1995) การแช่ปลานิลแดงแล่ด้วยสารสกัดรางจืดที่เก็บแบบดัดแปลงบรรยากาศ สามารถชะลอหรือลดการเสื่อมเสียได้ดีกว่าปลานิลแดงแล่ที่แช่ด้วยสารสกัดรางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศและชุดควบคุม การเพิ่มขึ้นของค่า TMA มีผลสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ ดังแสดงในรูปที่ 13 และผลของการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น ดังแสดงในรูปที่ 20 นอกจากนี้ Masniyom *et al*. (2012) พบว่าในตัวอย่างหอยแมลงภู่ที่ผสมร่วมกันด้วยน้ำมันตะไคร้ร้อยละ 0.2 และบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (80% CO_2) ที่เก็บในน้ำแข็งผสมกับน้ำเกลือร้อยละ 3 มีการเพิ่มขึ้นค่า TMA ในอัตราที่ต่ำกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 30 วัน



รูปที่ 16 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA) ของปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ

(○); 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

ผลการศึกษาปริมาณมาลอนาลดีไฮด์ของปลานิลแดงแล่ที่ผ่านการแช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการเก็บบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศทุกชุดการทดลองมีปริมาณ TBARs เพิ่มขึ้นน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างชุดทดลองที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศและตัวอย่างชุดทดลองที่เก็บแบบดัดแปลงบรรยากาศหรือสุญญากาศ ตลอดการเก็บรักษา 21 วัน (รูปที่ 17) เป็นไปได้ว่าการแช่สารสกัดรางจืดมีสารออกฤทธิ์ ได้แก่ apigenin ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในผลิตภัณฑ์ปลาและกุ้งไม่เป็นที่ยอมรับ โดยปฏิกิริยานี้จะเกิดจาก autoxidation และ enzymatic reaction ที่เกี่ยวข้องกับ lipoxygenase peroxidase และเอ็นไซม์จากแบคทีเรีย (Nirmal and Benjakul., 2009) Nirmal and Benjakul (2011) รายงานว่าการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ 50% CO_2 ต่อคุณภาพของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของค่า TBARs ได้ดีกว่าการเก็บแบบบรรยากาศปกติ (ชุดควบคุม) ตลอดการเก็บรักษา 10 วัน Masniyom *et al*. (2012) พบว่าตัวอย่างหอยแมลงภู่ที่ผสมร่วมด้วยน้ำมันตะไคร้ร้อยละ 0.2 และบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (80% CO_2) ที่เก็บในน้ำแข็งผสมกับน้ำเกลือร้อยละ 3 มีการเพิ่มขึ้นค่า TBARS ในอัตราที่ต่ำกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 30 วัน ขณะที่ชุดควบคุมมีการเพิ่มขึ้นของค่า TBARs เนื่องจากในปลามีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (Budge and Parrish, 2003) นอกจากนี้ระหว่างการเก็บรักษาเนื้อปลาพบว่าเนื้อปลาเกิดการสูญเสียสภาพโปรตีน ทำให้เกิดการปล่อยเหล็กจากฮีม (heam iron) ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันในระบบ ดังนั้นการใช้สารสกัดรางจืดภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศ สามารถยับยั้งหรือชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้และสามารถลดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้



รูปที่ 17 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณมาลอนาลดีไฮด์ของปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (○);60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

4.3.3 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

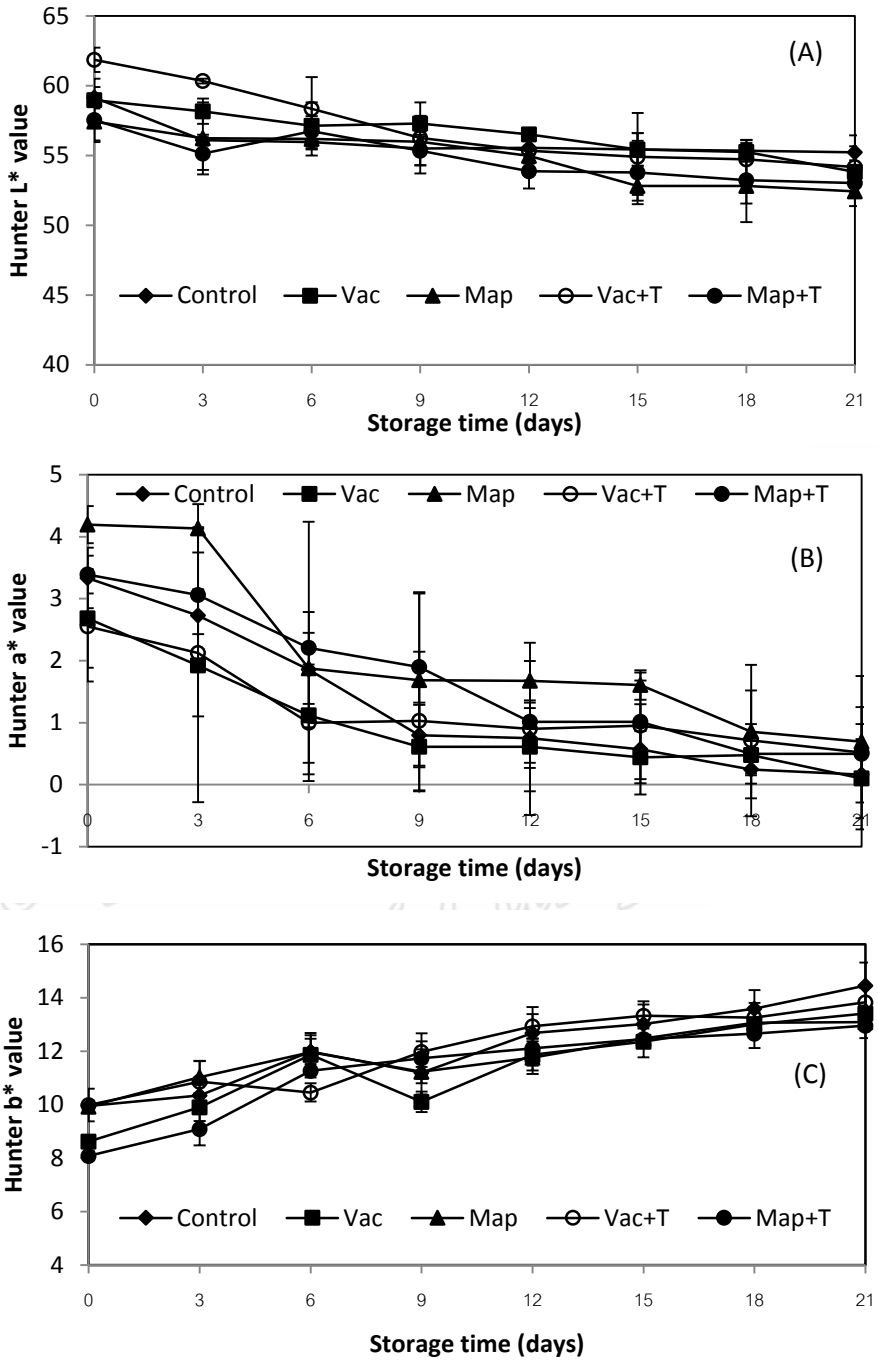
ผลการศึกษาค่าสีทางกายภาพโดยทำการตรวจวัดค่า L*, a* และค่า b* โดยค่า L* แสดงถึงค่าความสว่างของชิ้นเนื้อ a* แสดงถึงค่าความเป็นสีแดงและค่า b* แสดงถึงค่าความเป็นสีเหลือง จากการศึกษาพบว่าค่าความสว่าง (L*) และค่า a* ของปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการเก็บแบบดัดแปลงบรรยากาศหรือการเก็บแบบสุญญากาศ และชุดควบคุมทุกชุดการทดลองมีค่าความสว่างและค่า a* ลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน (รูปที่ 18 (A),(B)) ชุดควบคุมมีค่าความสว่างลดลงต่ำกว่าตัวอย่างชุดทดลองอื่นๆ เป็นไปได้ว่าการลดลงของค่าความสว่างเกิดจากการสูญเสียคุณภาพของโปรตีนในเนื้อปลานิลแดงแล่ ทำให้ค่าความสว่างของปลานิลแดงแล่ลดลง ขณะที่ค่า a* มีแนวโน้มลดลง เป็นไปได้ว่าค่าของสีแดงเกิดจากการสูญเสียของเม็ดสีที่เกิดขึ้นไปพร้อมกับปฏิกิริยา TBARS ในระหว่างการเก็บรักษาด้วยความเย็นของสัตว์น้ำ (Lee *et al*., 2003) ในตัวอย่างปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมีค่าความสว่างและค่า a* ลดลงน้อยกว่าชุดควบคุม เป็นไปได้ว่าการแช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศสามารถชะลอหรือลดปริมาณแบคทีเรียและปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในระหว่างการเก็บรักษา ส่งผลทำให้ลักษณะปรากฏของปลานิลแดงแล่ดีขึ้น

ผลการศึกษาค่า b* พบว่าทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน (รูปที่ 18 (C)) ในตัวอย่างชุดควบคุมที่ค่า b* เพิ่มขึ้นมากกว่าปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการเก็บแบบดัดแปลงบรรยากาศ เป็นไปได้ว่าการเพิ่มขึ้นของค่า b* เกิดจาก

Prince of Songkla University Pattani Campus

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโปรตีน ส่งผลทำให้เนื้อปลามีสีเหลือง (Masniyom *et al*., 2002) การเสื่อมเสียของปลานิลแดงแล่ในชุดควบคุม สอดคล้องกับปริมาณแบคทีเรียและปริมาณมาลอนาลดีไฮด์ ส่งผลทำให้ค่า b* มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมีการเพิ่มขึ้นของค่า b* น้อยกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน เป็นไปได้ว่าการแช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศสามารถชะลอหรือลดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโปรตีน ดังนั้นการใช้สารสกัดรางจืดที่ร่วมกับการเก็บแบบดัดแปลงบรรยากาศในปลานิลแดงแล่มีการเปลี่ยนแปลงค่าสีที่น้อยกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ส่งผลต่อลักษณะปรากฏที่ดีของผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำในระหว่างการเก็บรักษา

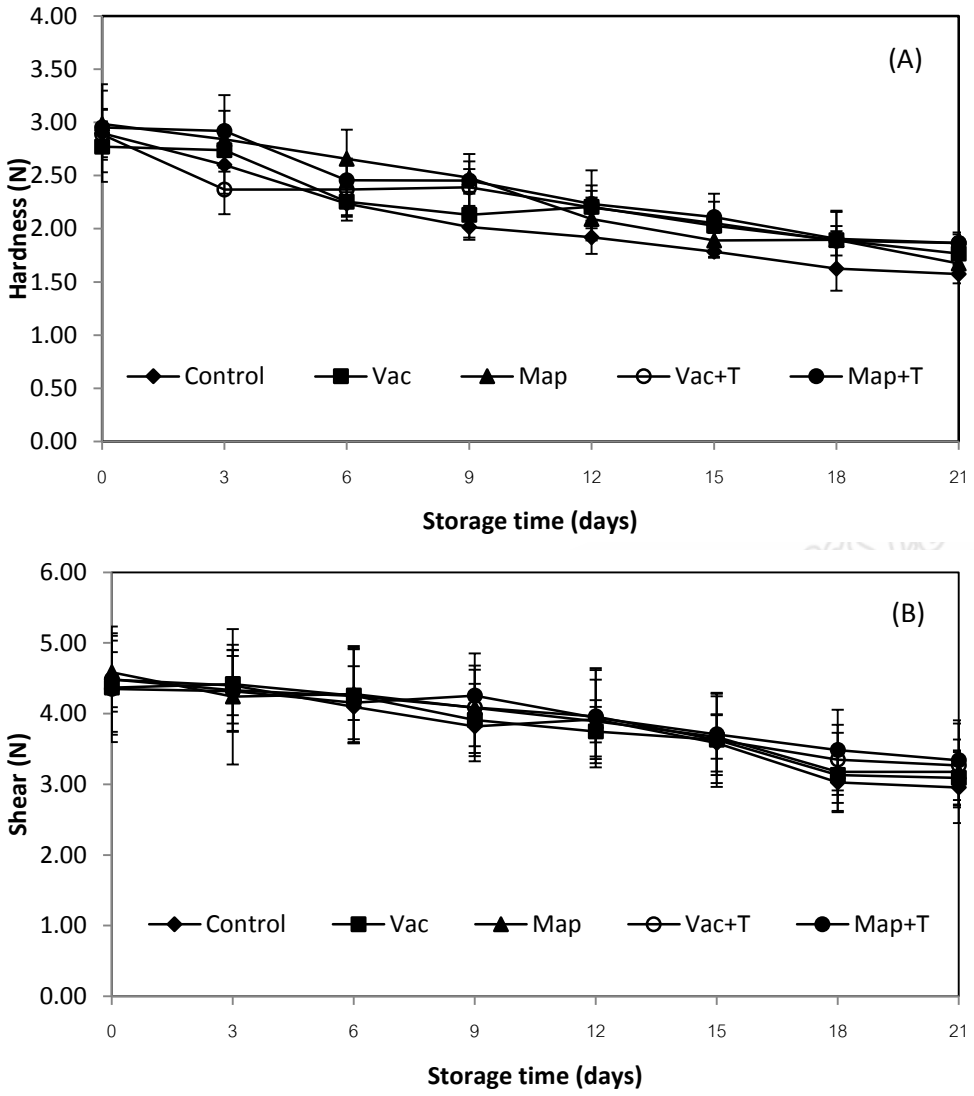
Prince of Songkla University
Pattani Campus



รูปที่ 18 การเปลี่ยนแปลงค่าสี L* (A), a* (B) และ b* (C) ของปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (○); 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

ผลการศึกษาค่าความแข็ง (Hardness) ของปลานิลแดงแล่ทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน (รูปที่ 19 (A)) มีค่าความแข็งในทุกตัวอย่างไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ค่าความแข็งในตัวอย่างชุดควบคุมมีค่าลดลงน้อยกว่าชุดการทดลองอื่น ซึ่งเป็นผลมาจากเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น ปริมาณจุลินทรีย์ก็เพิ่มจำนวนมากขึ้น ส่งผลทำให้กล้ามเนื้อโปรตีนของเนื้อปลาเกิดการย่อยของโปรตีนและการเสียสภาพของโปรตีน เนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ ส่งผลให้ค่าความแข็งของชิ้นเนื้อปลามีแนวโน้มลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น เช่นเดียวกันกับผลการศึกษาค่าแรงเฉียน (Shear) ของปลานิลแดงแล่ทุกชุดการทดลองที่มีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานาน 21 วัน (รูปที่ 19 (B)) ชุดการทดลองปลานิลแดงแล่ทีแช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการเก็บแบบดัดแปลงบรรยากาศ มีการลดลงของค่าแรงเฉียนน้อยกว่าชุดการทดลองอื่นๆ เป็นผลจากการใช้สกัดรางจืดที่มีองค์ประกอบพวก flavonoids ได้แก่ apigenin สารเหล่านี้มีผลต่อเยื้อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ (Chivapat *et al*., 2009) ส่งผลต่อการยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ ทำให้ค่าแรงเฉียนสูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ นอกจากนี้ค่าแรงเฉียนที่ลดลงมีผลสอดคล้องกับค่าความแข็งที่ลดลง ดังนั้นการแช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ ไม่เพียงแต่ชะลอหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แต่ยังคงรักษาคุณภาพทางกายภาพของปลานิลแดแล่ในระหว่างการเก็บรักษาได้ด้วย

Prince of Songkla University Pattani Campus

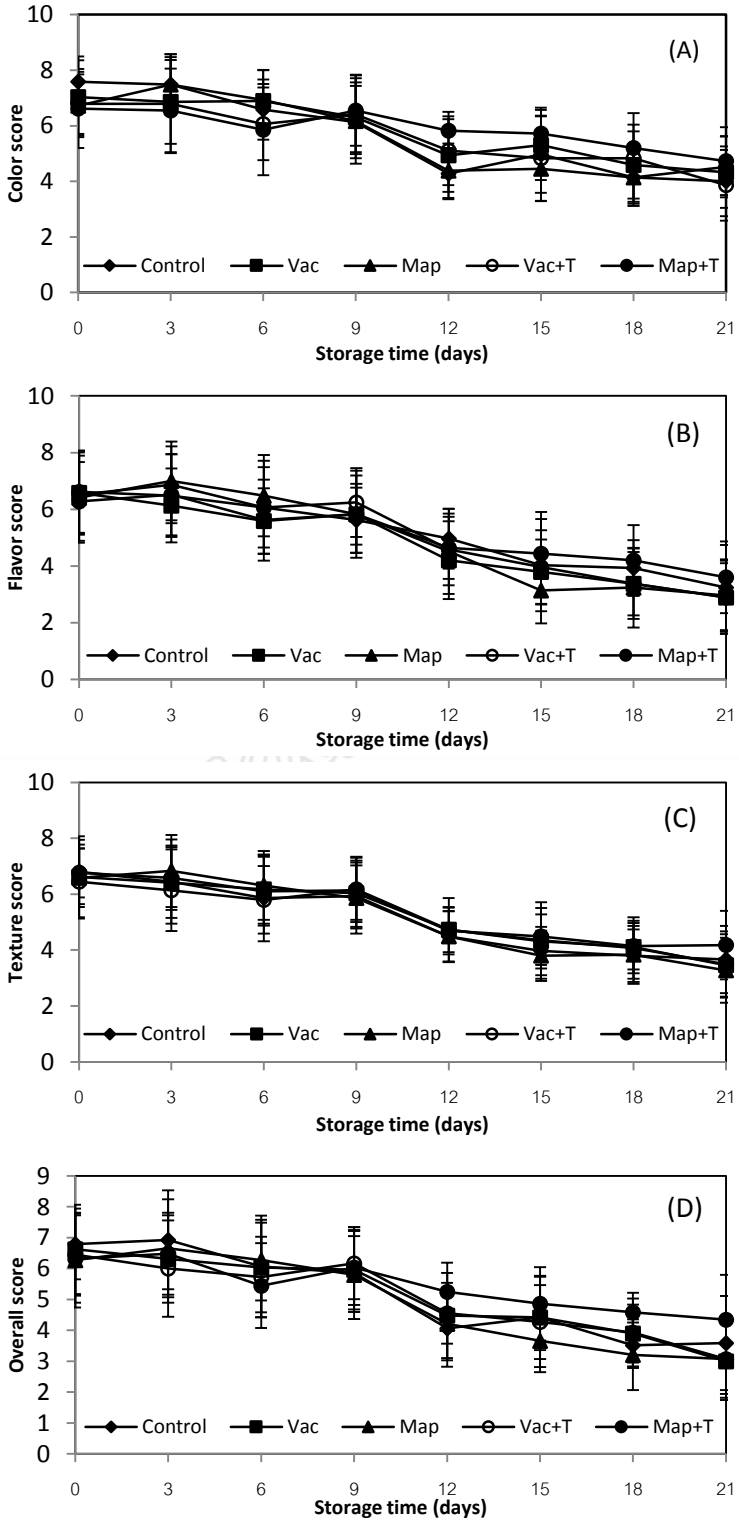


รูปที่ 19 การเปลี่ยนแปลงค่าความแข็ง (Hardness (A)) และค่าแรงเฉือน (Shear (B)) ของปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (○); 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

4.3.4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสในด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมในปลานิลแดงแล่ พบว่าทุกชุดการทดลองมีคะแนนการยอมรับสูงในวันเริ่มต้นและเมื่อเวลาผ่านไปคะแนนการยอมรับลดลง (รูปที่ 20) โดยคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสที่มี 4 คะแนนหรือน้อยกว่า จะไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งพบว่าตัวอย่างชุดควบคุมมีคะแนนการยอมรับลดลงหลังจากวันที่ 6 ของการเก็บรักษา เนื่องจากเริ่มมีสีที่จืด กลิ่นเหม็นเน่าและไม่เป็นที่ยอมรับของชุดการทดลอง ในขณะที่ปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ มีคะแนนการยอมรับสูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน ดังนั้นจากการทดลองการเก็บปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ สามารถรักษาคุณภาพด้านจุลินทรีย์ เคมี กายภาพและประสาทสัมผัสได้ดีกว่าการเก็บตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศและชุดควบคุม ดังนั้นการใช้สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (60% CO_2) น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อปลานิลแดง

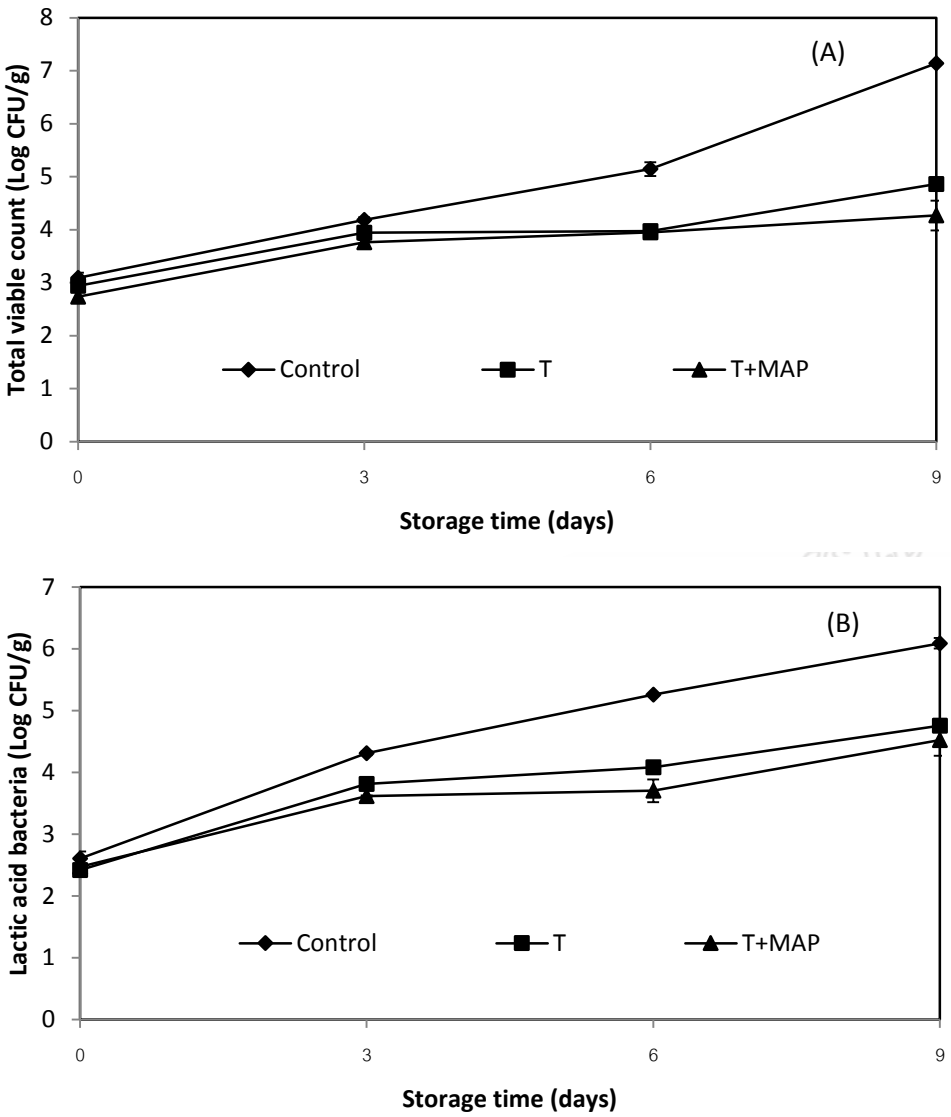
Prince of Songkla University Pattani Campus



รูปที่ 20 การเปลี่ยนแปลงคะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี (A) กลิ่นรส (B) เนื้อสัมผัส (C) และความชอบโดยรวม (D) ของปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (●); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (○); 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); การเก็บแบบสุญญากาศ (■) และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

4.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงจุลินทรีย์ในเนื้อปลานิลแดงที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ

ผลการศึกษาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียกรดแลคติก ในตัวอย่างเนื้อปลานิลแดงแล่ที่แช่ด้วยสารสกัดจากรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียกรดแลคติก เพิ่มสูงขึ้นในทุกชุดการทดลองตลอดการเก็บรักษา 9 วัน ($p<0.05$) (รูปภาพที่ 21 (A และ B)) โดยพบว่าแบคทีเรียทั้งหมดของเนื้อปลานิลแดงในตัวอย่างชุดควบคุมที่ไม่ได้แช่ด้วยสารสกัดรางจืดมีปริมาณสูงกว่าตัวอย่างที่แช่ด้วยสารสกัดรางจืด ในตัวอย่างชุดควบคุมเริ่มเน่าเสียในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา ซึ่งมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด มากกว่า 10^7 CFU/g อย่างไรก็ตามตัวอย่างที่แช่ด้วยสารสกัดจากรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดน้อยกว่า 10^7 CFU/g ตลอดระยะเวลา 9 วันของการเก็บรักษา ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดรางจืดสามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียได้ เนื่องจากสารสกัดรางจืดมีองค์ประกอบพวก flavonoids ได้แก่ apigenin สารเหล่านี้มีผลต่อเยื้อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ (Chivapat *et al*. 2009) สอดคล้องกับ kostaki *et al*. (2009) พบว่าการใช้น้ำมัน thyme ร้อยละ 0.2 ร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2) ในปลา sea bass สามารถชะลอหรือลดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดีกว่าปลาที่ไม่ได้ใช้น้ำมัน thyme และการเก็บแบบดัดแปลงบรรยากาศเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก พบว่ามีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นในทุกชุดการทดลองตลอดช่วงการเก็บรักษาเช่นเดียวกัน โดยในชุดการทดลองที่แช่ด้วยสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ มีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก น้อยกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้แช่สารสกัดรางจืดตลอดช่วงการเก็บรักษา (รูปภาพที่ 21 (B)) เป็นไปได้ว่าสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศไม่เพียงแต่สามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียทั้งหมด แต่สามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกได้ด้วยเช่นกัน ทั้งนี้เป็นไปได้ว่าการใช้สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศสามารถชะลอหรือลดปริมาณของแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ดีกว่าตัวอย่างที่สารสกัดรางจืดและชุดควบคุม ในระหว่างการเก็บรักษาได้



รูปที่ 21 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (A) และแบคทีเรียกรดแลคติก (B) ในเนื้อปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; รางจืดร่วมกับ 60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2 (▲); รางจืดร่วมกับการเก็บแบบสุญญากาศ (■); และชุดควบคุม (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

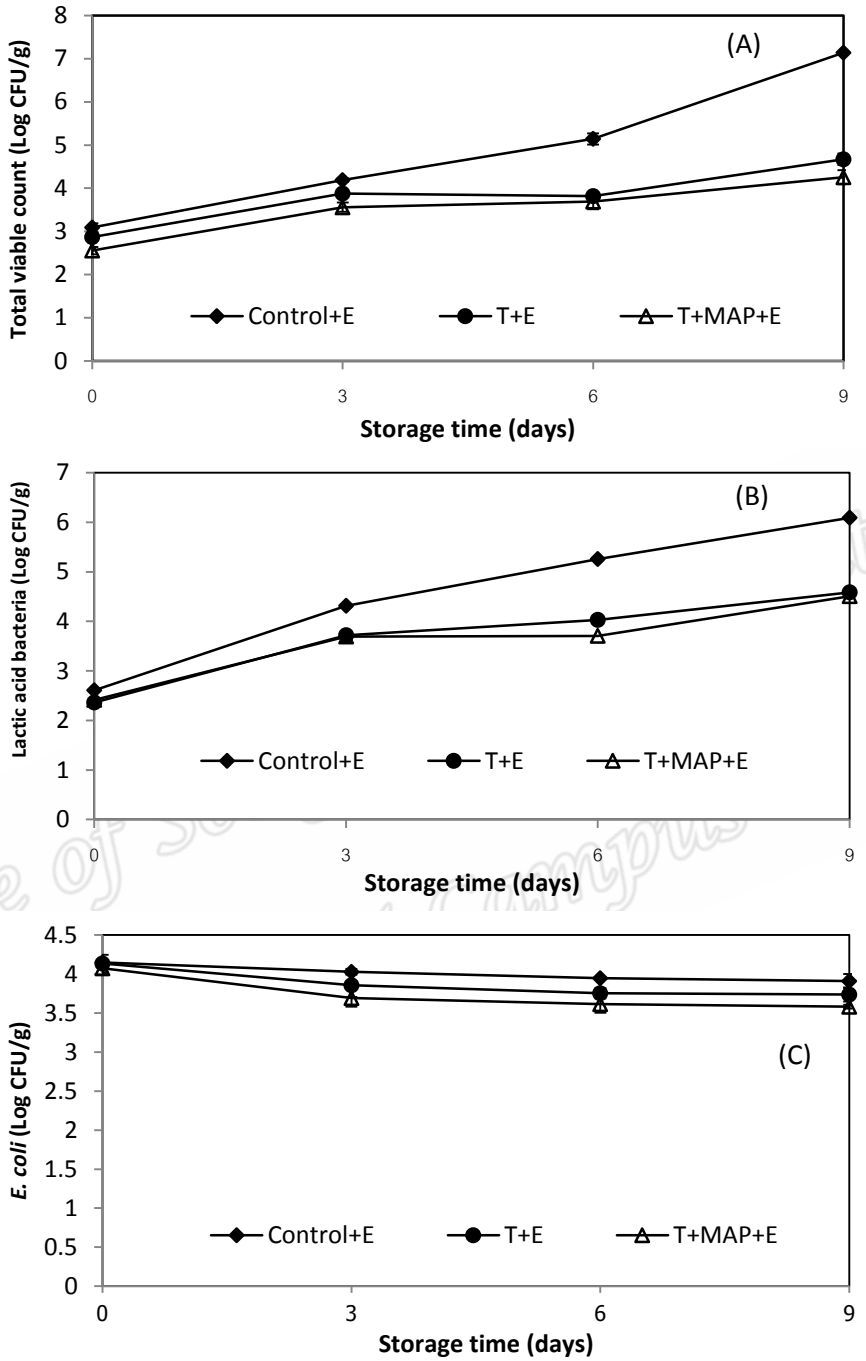
4.4.1 ผลของสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศต่อการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* และเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ผลการศึกษาเนื้อปลานิลแดงที่มีการเติมเชื้อ *E. coli* โดยมีเชื้อเริ่มต้น 10^4 พบว่ามีปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา โดยชุดที่แช่ด้วยสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมีปริมาณแบคทีเรียเพิ่มขึ้นน้อยกว่าตัวอย่างชุดควบคุม (รูปที่ 22 (A)) เช่นเดียวกันกับการศึกษาที่มีการเติมเชื้อ *S. aureus* (รูปที่ 23 (A)) แสดงให้เห็นว่าการใช้สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศสามารถชะลอการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งหมดได้ดีกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้แช่สารสกัดรางจืด ในขณะเดียวกันเนื้อปลาที่มีการเติมเชื้อ *E. coli* พบว่าในตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมีปริมาณแบคทีเรียแล็กติกเพิ่มขึ้นช้ากว่าตัวอย่างชุดควบคุม (รูปที่ 22 (B)) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่มีการเติมเชื้อ *S. aureus* (รูปที่ 23 (B)) โดยการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียแล็กติกในชุดควบคุม เป็นไปได้ว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้ส่วนมากเป็นแบคทีเรียที่เจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ ทำให้สามารถเจริญได้ดีกว่าในตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียแล็กติกจะมีผลต่อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้และสร้างสารแบคเทอริโอซินที่เป็นสารประกอบแปปไทด์หรือโปรตีนที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย (สุมณฑา, 2545) สอดคล้องกับ Samelis *et al*. (2002) พบว่าเชื้อ *E. coli* O157 ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 4 หรือ 10 องศาเซลเซียส Vold *et al.* (2000) พบว่า ปริมาณเชื้อทั่วไป (natural flora) อาจยับยั้งเชื้อ *E. coli* ที่อยู่ในเนื้อวัวที่เก็บรักษาแบบใช้อากาศและไม่ใช้อากาศ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส

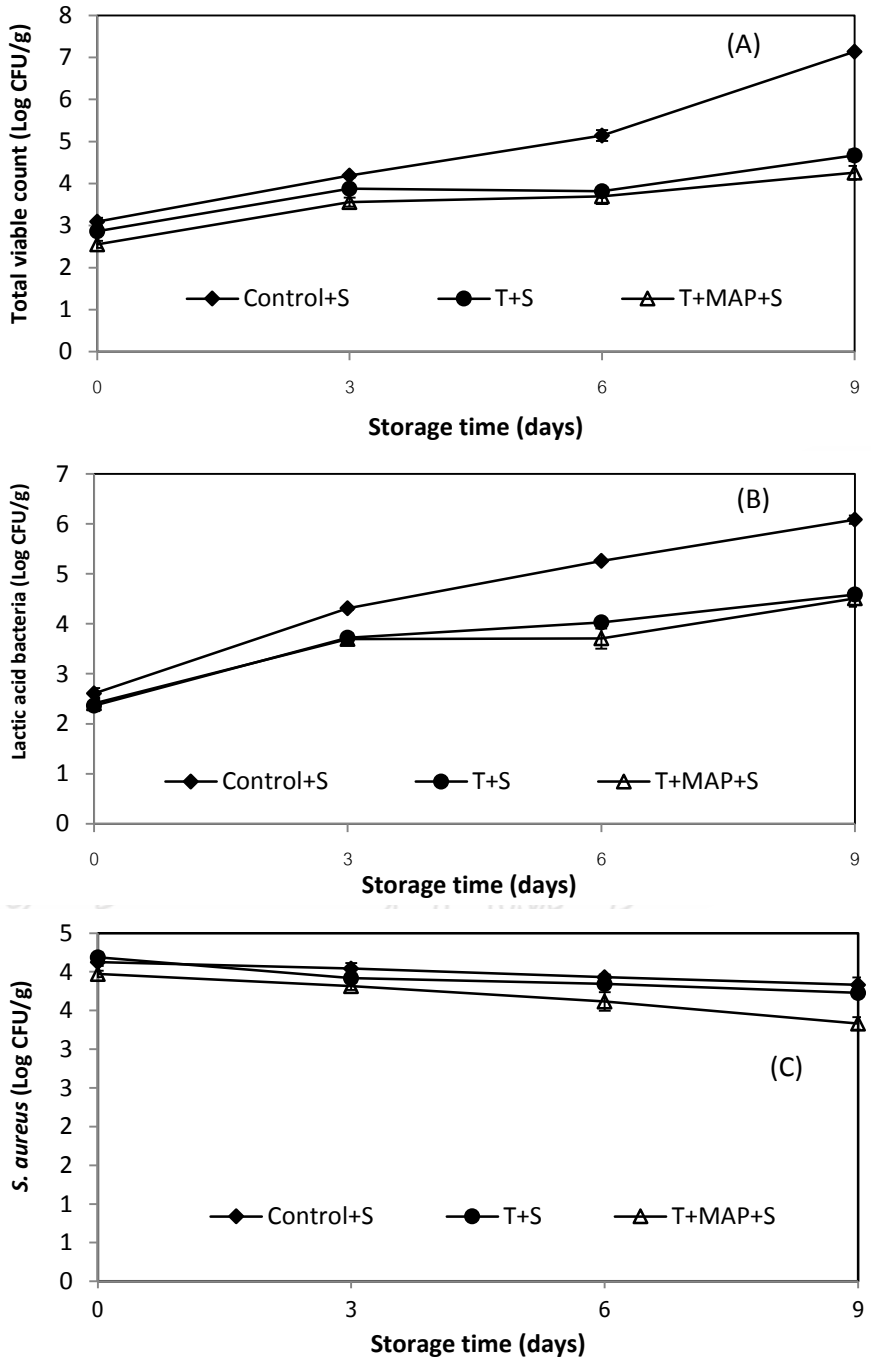
การศึกษาปริมาณเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ที่เติมในตัวอย่างเนื้อปลานิลแดงแล่ พบว่าปริมาณเชื้อมีแนวโน้มลดลง ในทุกชุดการทดลองตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยปริมาณเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างชุดควบคุมของเนื้อปลานิลแดงมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย ในขณะที่ตัวอย่างเนื้อปลานิลแดงที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมีปริมาณเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ลดลงร้อยละ 49 และ 64 ตามลำดับ ตลอดอายุการเก็บรักษา รูปที่ 22 (C) และ 23 (C) พบว่าปริมาณเชื้อ *S. aureus* มีแนวโน้มลดลงมากกว่าเชื้อ *E. coli* เนื่องจากความแตกต่างของผนังเซลล์ โดยเชื้อ *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบจะมีผนังเซลล์ 2 ชั้น ชั้นนอกจะประกอบด้วย lipoprotein, phospholipid และ lipopolysaccharide ซึ่งทำหน้าที่ต่อต้านสิ่งแปลกปลอมไม่เข้าไปภายในเซลล์ของแบคทีเรียหรือเมื่อผ่านเข้าไปได้แล้วก็จะมีผนังเซลล์ชั้นใน (inner membrane) อีกชั้นหนึ่ง ส่วนเชื้อ *S. aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีผนังเซลล์เพียงชั้นเดียว (Zheng and Zhu, 2003) ซึ่งมีผลสอดคล้องกับ Wang (1992) พบว่าการใช้ไคโตแซนสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้มากกว่าเชื้อ *E. coli*

นอกจากนี้การที่ปริมาณเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* มีแนวโน้มลดลง เป็นไปได้ว่าสภาวะในการเก็บรักษาเนื้อปลานิลแดงแล่ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* เพราะเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* เป็นแบคทีเรียชนิด mesophilies เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง นอกจากนั้นเชื้อ normal flora ที่มีปริมาณมากขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น จึงทำให้ปริมาณเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* มีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

Prince of Songkla University
Pattani Campus



รูปที่ 22 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (A) แบคทีเรียกรดแลคติก (B) และ *E. coli* (C) ในเนื้อปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; T+MAP+E (∆); T+E (●) และชุดควบคุมที่มีเชื้อ *E. coli* (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส



รูปที่ 23 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (A) แบคทีเรียกรดแลคติก (B) และ *S. aureus* (C) ในเนื้อปลานิลแดงแล่ที่บรรจุแบบสภาวะต่างๆ ; T+MAP+S (∆); T+S (●) และชุดควบคุมที่มีเชื้อ *S. aureus* (◆) ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

บทที่ 5

สรุป

1. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลานิลแดงแล่ พบว่ามีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมันและเถ้า ร้อยละ 73.78, 21.15, 1.69 และ 1.25 ตามลำดับ ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ชนิด mesophilies และ psychrotrophs พบว่ามีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 3.94 และ 3.52 log CFU/g ส่วนจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่เชื้อ *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella* sp. ตรวจไม่พบในตัวอย่างปลานิลแดงแล่ ส่วนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่นและความชอบโดยรวม พบว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 มีคะแนนการยอมรับที่ดีในสามชนิดพืช นอกจากนี้ในสารสกัดรางจืด หม่อนและชะพลูมีปริมาณพอลิฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 14.17, 9.10 และ 7.43 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ 2.87, 0.98 และ 1.45 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

2. การศึกษาผลของปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดรางจืด หม่อนและชะพลู พบว่าปลานิลแดงแล่ที่แช่ในสารสกัดรางจืดร้อยละ 1 สามารถชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โดยมีปริมาณแบคทีเรียชนิด mesophilies และ psychrotrophs น้อยกว่าตัวอย่างชุดควบคุม โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ 15 วัน เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่เก็บรักษาได้เพียง 9 วัน ส่วนการวิเคราะห์ทางเคมีพบว่าตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืดมีค่าพีเอช, ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด, ไตรเมทิลเอมีน และ TBARS ต่ำกว่าตัวอย่างชุดควบคุม ส่วนการวิเคราะห์ทางกายภาพ พบว่าปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดมีค่าความสว่าง L* และค่าสีแดง a* มีค่าที่ดีกว่าชุดควบคุม และค่า b* ในตัวอย่างชุดควบคุมมีค่าสูงกว่าในตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืด ส่วนค่าความแข็งและแรงเฉือนในตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืดมีค่าที่ลดลงน้อยกว่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างชุดควบคุม นอกจากนี้การทดสอบประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม พบว่าตัวอย่างที่แช่สารสกัดรางจืดมีผลการยอมรับได้ 15 วัน ในขณะที่ปลานิลแดงที่แช่สารสกัดหม่อน ชะพลูและชุดควบคุมมีผลการยอมรับได้ 12, 9 และ 6 วัน ตามลำดับ

3. การศึกษาผลของปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2) พบว่าปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ สามารถชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โดยมีปริมาณแบคทีเรียชนิด mesophilies และ psychrotrophs น้อยกว่าตัวอย่างชุดควบคุม โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ 21 วัน เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่เก็บรักษาได้เพียง 9 วัน ส่วนการวิเคราะห์ทางเคมีพบว่าปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมีค่าพีเอช, ปริมาณ

Prince of Songkla University Pattani Campus

ด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด, ไตรเมทิลเอมีนและ TBARS ต่ำกว่าตัวอย่างชุดควบคุม ส่วนการวิเคราะห์ทางกายภาพ พบว่าปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ มีค่าความสว่าง L* และค่าสีแดง a* ที่ดีกว่าชุดควบคุม และค่า b* ในตัวอย่างชุดควบคุมมีค่าสูงกว่าในตัวอย่างปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ ส่วนค่าความแข็งและแรงเฉือนในตัวอย่างปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมีค่าที่ลดลงน้อยกว่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างชุดควบคุม นอกจากนี้การทดสอบประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม พบว่าตัวอย่างปลานิลแดงแล่ที่แช่สารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมีผลการยอมรับได้ 21 วัน ในขณะที่ชุดควบคุมมีผลการยอมรับได้ 6 วัน

4. การศึกษาผลของสารสกัดรางจืดร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (60% CO_2, 10% O_2, 30% N_2) มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ที่เติมลงในเนื้อปลานิลแดงแล่ (ปริมาณ 10^4 โคโลนี/กรัม) พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ได้ โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ได้มากกว่าเชื้อ *E. coli* ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาสารสกัดรางจืดร่วมกับการใช้สารอื่นๆ ในการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่

2. ควรศึกษาสารสกัดรางจืดในการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแดงแล่ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส

3. ควรศึกษาการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมระหว่างเนื้อปลานิลแดงที่แช่สารสกัดรางจืด (เนื้อปลาดิบ) และเนื้อปลานิลแดงที่แช่สารสกัดรางจืดที่ผ่านการทำสุก (เนื้อปลาสุก)

Prince of Songkla University Pattani Campus

เอกสารอ้างอิง

งามทิพย์ ภู่วโรดม. 2538. ผลิตภัณฑ์อาหารเบ็ดเตล็ด. ก๊าซกับการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณัฐรียา เกียรติไพบูลย์. 2557. สถานการณ์ปลานิลโลกไตรมาส 2 (ออนไลน์). สืบค้นได้จาก: http://www.fisheries.go.th/foreign/images/pdf/Tilapia%20Q2%202557.pdf [30 เมษายน 2559]

พนิดา ใหญ่ธรรมสาร. 2542. รางจืด. จุลสารข้อมูลสมุนไพร. 16(1), 4-7.

มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2548. ปลาแล่เยือกแข็ง. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2539. พจนานุกรมสมุนไพรไทย. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: อักษรพิทยา.

วิรวรรณ วิสิฐพงศ์พันธ์ วีระวรรณ เรืองยุทธิการณ์ ไชยยง รุจจนเวท อำไพ ปั้นทอง อุษณีย์ รินิจเขต คำนวณและนิรัชร์ เลิศประเสริฐสุข. 2546. การทดสอบความเป็นพิษของน้ำสกัดในรางจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.) ในหนูขาว. วารสารสมุนไพร. 10(2), 23-36.

ศิวาพร ศิวเวชช. 2546. วัตถุเจือปนอาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ. นครปฐม.

สาวิณี แซ่โค้ว. 2550. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพปลาทับทิมที่เก็บในสภาวะแช่เย็นแบบยิ่งยวดและในน้ำแข็ง. ภาควิชาเทคโนโลยีและการอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2548. เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพมหานคร.

สุนีย์ มะประสิทธิ์. 2548. การยืดอายุหอยแมลงภู่แช่เย็นภายใต้การบรรจุชนิดดัดแปลงบรรยากาศ. ภาควิชาเทคโนโลยีและการอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์ . 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

สุมาลี เหลืองสกุล. 2527. จุลชีววิทยาทางอาหาร. สำนักพิมพ์ชัยเจริญ. กรุงเทพมหานคร.

สุรีพันธ์ อรทัยและเอกฤทธิ์ อรทัย. 2542. ผลของการบรรจุชนิดดัดแปลงบรรยากาศต่ออายุการเก็บรักษาชิ้นปลากะพงสด. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

Prince of Songkla University Pattani Campus

อรทัย วรสุทธิ์พิศาล. 2551. ประสิทธิภาพในการเป็นสารกำจัดแมลงของน้ำมันหอมระเหยจากใบชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxburgh.) ต่อหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* Linnaeus.) วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (กีฏวิทยา) สาขากีฏวิทยา ภาควิชากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Adams, M.R. and Moss, M.O. 1995. Food Microbiology. The Royal Society of Chemistry, Cambridge., pp. 156-215.

Amran, A., Zakaria, Z., Othman, F., Das, S., Raj, S. and Nordin, N. MM. 2010. Aqueous extract of Piper sarmentosum decreases atherosclerotic lesions in high cholesterolemic experimental rabbits, Lipids in Health and Disease., pp. 9-44.

A.O.A.C. 1990. Determinations method of polyphenols In: Official Method of Analysis. 15th Ed., 952.03 Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.

A.O.A.C. 1999. Official Method of Analysis. 16th Ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington. D.C.

Banerjee, S. 2006. Inhibition of mackerel (*Scomber scombrus*) muscle lipoxygenase by green tea polyphenols. Food Research International. 39, 486-491.

Bank, H., Nichelson, R. and Finne, G. 1980. Shelf-life studies on carbon dioxide packaged finfish from the Gulf Mexico. Journal of Food Science. 45, 157-162.

Bensid, A., Ucar, Y., Bendeddouche, B. and Ozogul, F. 2014. Effect of the icing with thyme, oregano and clove extracts on quality parameters of gutted and beheaded anchovy (*Engraulis encrasicholus*) during chilled storage. Food Chemistry. 145, 681–686.

Budge, S.M. and Parrish, C.C. 2003. Fatty acid determination in cold water marine samples. Lipids. 38, 781–791.

Buege, J.A. and Aust, S.D. 1978. Microsomal lipid peroxidation. Method Enzymology. 52, 302-310.

Brown, W.D., Albright, M., Watts, D.A., Heyer, B., Spruce, B. and Price, R.J. 1980. Modified atmosphere storage of rockfish (*Sebasted miniatus*) and silver salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Journal of Food Science. 45, 93-96.

Callow, E.H. 1932. Gas storage of pork and bacon. Preliminary experiments. Journal of the Society of Chemical Industry. 51, 116-119.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Casla, D., Requena, T. and Gomez, R. 1996. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria from goat, s milk and artisanel cheeses : characteristics of a bacteriocin produced by *Lactobacillus curvatus* IFPL105. Journal of Applied Bacteriology. 81, 35-41.

Chan, E.W.C., Lye, P.Y., Eng, S.Y. and Tan, Y.P. 2013. Antioxidant properties of herbs with enhancement effects of drying treatments: A synopsis. Free Radicals and Antioxidants. 2, 1-5.

Chivapat, S., Chavalittumrong, P., Attawish, A., Bansiddhi, J. and Padungpat, S. 2009. Chronic toxicity of Thunbergia laurifolia Lindl. Extract. Journal of Thai Traditional and Alternative Medicine. 7, 17-23.

Chung, J. 1968. Postmortem degradation of fish muscle protein : The role of proteolytic *Pseudomonas* spp.: Their mechanism of action. Ph. D. Thesis, university of washington seattle wa.

Conway, E.T. 1950. Microdiffusion and volumetric error. Crosby Lookwood and Son Ltd., London.

Coyne, F.P. 1932. The effect of carbon dioxide on bacterial growth with special reference to the preservation of fish. Part 1. Journal of the Society of Chemical Industry. 51, 119-121.

Daniels, J.A., Krishnamurthi, R. and Rizvi, S.S.H. 1985. A review of effects of carbon dioxide on microbial growth and food quality. Journal of Food Protection. 48, 532-537.

Delbarre-Ladrat, C., Cheret, R., Taylor, R. and Verrez-Bagnis, V. 2006. Trends in postmortem aging in fish: understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 46, 409-421.

Devi, B., Sharma, N., Kumar, D. and Jeet, K. 2013. Morus alba Linn. : A phytopharmacological review. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 5(2), 14-18.

Duman, M. and Ozpolat, E. 2015. Effects of water extract of propolis on fresh shibuta (*Barbus grypus*) fillets during chilled storage. Food Chemistry. 189, 80–85.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Fan, W., Chi, Y. and Zhang, S. 2008. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmicthys molitrix*) during storage in ice. Food Chemistry. 108, 148-153.

Fang, S.W., Li, C.F. and Shih, D.Y.C. 1994. Anifungi activity of chitosan and its preservative effect on low-sugar candied kumquat. Journal of Food Protection. 57, 136-140.

FDA. 1998. Bacteriological Analytical Manual 8th Eds, Food and Drug Administration, Gaitherburg.

Fernandez, K., Aspe, E. and Roeckel, M. 2009. Shelf-life extension on fillets of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) using natural additives, super chilling and modified atmosphere packaging. Food Control. 20, 1036–1042.

Foegeding, E.A., Lanier, T.C. and Hultin, H.O. 1996. Characteristics of edible muscle tissues. In: O.R. Fennema, editor. Food Chemistry, Marcel Dekker, New York., pp. 879-942.

Gao, M., Feng, L., Jiang, T., Zhu, J., Fu, L., Yuan, D. and Li, J. 2014. The use of rosemary extract in combination with nisin to extend the shelf life of pompano (*Trachinotus ovatus*) fillet during chilled storage. Food Control. 37, 1-8.

Gharras, H.E. 2009. Polyphenols: food source, properties and applications a review. International Journal of Food Science and Technology. 44, 2512-2518.

Gill, C.O. and Newton, K.G. 1977. The development of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperatures. Journal of Applied Bacteriology. 43, 189-195.

Godiksen, H., Morzel, M., Hyldig, G. and Jessen, F. 2009. Contribution of cathepsins B, L and D to muscle protein profiles correlated with texture in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Food Chemistry. 113, 889–896.

Goulas, A.E., Chouliara, I., Nessi, E., Kontominas, M.G. and Savvaidis, I.N. 2005. Microbiological, biochemical and sensory assessment of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) stored under modified atmosphere packaging. Journal of Applied Microbiology. 98, 752-760.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Goulas, A.E. and Kontominas, M.G. 2007. Combined effect of light salting, atmosphere packaging and oregano oil the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): biochemical and sensory attributes. Food Chemistry. 100, 287-296.

Haines, R.B. 1933. The influence of carbon dioxide on the rate of multiplication of certain bacteria, as judged by viable counts. Journal of the Society of Chemical Industry. 52, 13-17.

Harpaz, S.L., Glatman, V., Drabkin, V. and Gelman, A. 2003. Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater reared Asian sea bass fish (*Lates calcarifer*). Journal of Food Protection. 66, 410-417.

Hernandez, M.D., Lopez, M.B., Alvarez, A., Ferrandini, E., Garcia Garcia, B. and Garrido, M.D. 2009. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. Food Chemistry. 114, 237–245.

Hintlain, C.B. and Hotchkiss, J.H. 1986. The safety of modified atmosphere packaging: A review. Food Technology. 40(12), 70.

Hobbs, G. 1982. Changes in fish after catching, In: A. Aitkin, Eds., Fish handling and processing, Torry Research Station, Eddinburgh, pp. 20-27.

Hobbs, G. 1991. Fish: microbiological spoilage and safety. Food Science and Technology. 5, 166-173.

Holley, R.A. and Patel, D. 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Microbiology. 22, 273-292.

Huss, H.H. 1995. Quality changes in fresh fish. FAO. Fisheries Technical Paper No 348. Food and agriculture of the united nations, Rome, Italy, pp. 195-202.

Ignat, I., Volf, I. and Popa, V.I. 2011. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. Food Chemistry. 126, 1821–1835.

International Commission on Microbiological Specification for Food (ICMSF). 1986. Sampling plans for fish and shellfish. In: ICMSF, microorganisms in food: sampling for microbiological analysis. Principles and scientific applications. 2nd Ed., vol, 2.Toronto, Buffalo, London: University of Toronto Press, pp. 181-196

Prince of Songkla University Pattani Campus

Jeon, Y.I., Kamil, J.Y.V.A. and Shahidi, F. 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 20, 5167-5178.

Kader, A.A. 1986. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. Food Technology. 40(5), 99-104.

Khalafalla, F.A., Ali, F.H.M. and Hassan, A.H.A. 2015. Quality improvement and shelf-life extension of refrigerated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets using natural herbs. Journal of Basic and Applied Science. 4, 33-40.

Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I.N. and Kontominas, M.G. 2009. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. Food Microbiol. 26, 475-482.

Lannelongue, M., Finne, G., Hanna, M.D., Nickelson, F. and Vanderzant, C. 1982. Microbiological and chemical changes during storage of swordfish (*Xiphias gladius*) steaks in retail packages containing CO_2 enriched atmospheres. Journal of Food Protection. 45, 1197-1203.

Lawrie, R.A. 1974. Meat Science, 2 nd Ed. Pergamon press. Oxford.

Lee, S., Joo, S.T., Alderton, A.L., Hill, D.W. and Faustman, C. 2003. Oxymyoglobin and lipid oxidation in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) loins. Journal of Food Science. 68, 1664-1668.

Li, T., Hu, W., Li, J., Zhang, X., Zhu, J. and Li, X. 2012. Coating effects of tea polyphenol and rosemary extract combined with chitosan on the storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Food Control. 25, 101-106.

Li, T., Li, J., Hu, W., Zhang, X., Li, X. and Zhao, J. 2012. Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. Food Chemistry. 135, 140–145.

Liston, J. 1980. Microbiology in fishery science, In: Advances in Fish Science and Technology Fishing News Books: England, pp. 137-157.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Mahmoud, B.S.M., Yamazaki, K., Miyashita, K., Il-Shin, S., Dong-Suk, C. and Suzuki, T. 2004. Bacterial microflora of crap (*Cyrinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. Food Microbiology. 21, 657–666.

Mahmoud, B.S.M., Yamazaki, K., Miyashita, K., Kawai, Y., Shin, I. and Suzuki, T. 2006. Preservative effect of combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds on carp fillets during convectional airdrying. International Journal of Food Microbiology. 106 (3), 331–337.

Mailgaad, M., Civille, G.V. and Carr, B.T. 1991. Sensory evaluation techniques, Boca Raton: CRS Press, Florida.

Maqsood, S. and Benjakul, S. 2010. Comparative studies of four different phenolic compounds on in antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. Food Chemistry. 119, 123-132.

Masniyom, P. 2011. Deterioration and shelf-life extension of fish and fishery products by modified atmosphere packaging. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 33, 181–192.

Masniyom, P., Benjakul, S. and Visessanguan, W. 2002. Shelf-life extension of refrigerated sea bass slices under modified atmosphere packaging. Journal of the Science of Food and Agriculture. 82, 873-880.

Masniyom, P., Benjama, O. and Maneesri, J. 2012. Effect of turmeric and lemongrass essential oils and their mixture on quality changes of refrigerated green mussel (*Perna viridis*). International Journal of Food Science and Technology. 47, 1079–1085.

Morkore, T., Rodbotten, M., Vogt, G., Fjaeara, S. O., Kristiansen, I. O. and Manseth, E. 2010. Relevance of season and nucleotide catabolism on changes in fillet quality during chilled storage of raw Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Food Chemistry. 119, 1417–1425.

Nirmal, N.P. and Benjakul, S. 2009. Effect of ferulic acid on inhibition of polyphenoloxidase and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during iced storage. Food Chemistry. 116, 323–331.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Nirmal, N.P. and Benjakul, S. 2011. Retardation of quality changes of Pacific white shrimp by green tea extract treatment and modified atmosphere packaging during refrigerated storage. International Journal of Food Microbiology. 149, 247–253.

Ocano-Higuera, V.M., Maeda-Martinez, A.N., Marquez-Rios, E., Canizales-Rodriguez, D.F., Castillo-Yanez, F.J. and Ruiz-Bustos, E. 2011. Freshness assessment of ray fish stored in ice by biochemical, chemical and physical methods. Food Chemistry. 125, 49-54.

Ordonez, J.A., Lopez-Galvez, D.E., Fernandez, M., Hieero, E. and Hoz, L. 2000. Microbial and physicochemical modification of hake (*Merluccius merluccius*) steaks stored under carbon dioxide enriched atmosphere. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80, 1831-1840.

Ozogul, F., Kuley, E. and Kenar, M. 2011. Effects of rosemary and sage tea extract on biogenic amines formation of sardine (*Sardina pilchardus*) fillets. International Journal of Food Science and Technology. 46, 761-766.

Ozogul, F., Polat, A. and Ozogul, Y. 2004. The effect of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). Food Chemistry. 85, 49-57.

Ozogul, Y., Ayas, D., Yazgan, H., Ozogul, F., Boga, E.K. and Ozyurt, G. 2010. The capability of rosemary extract in preventing oxidation of fish Lipid. International Journal of Food Science and Technology. 45, 1717–1723

Özyurt, G., Kuley, E., Balikçi, E., Kaçar, Ç., Gökdogan, S. and Etyemez, M. 2012. Effect of the icing with rosemary extract on the oxidative stability and biogenic amine formation in sardine (*Sardinella aurita*) during chilled storage. Food and Bioprocess Technology. 5, 2777-2786.

Pastoriza, L., Sampedro, G., Herrera, J.J. and Cabo, M.L. 1996. Effect of modified atmosphere packaging on shelf-life of iced fresh hake slices. Journal of the Science of Food and Agriculture. 71, 541-547.

Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sineiro, J. and Nunez, M. J. 2005. Effect of solvent, temperature, and solvent-to solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53, 2111-2117.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Quitral, V., Donoso, M.L., Ortiz, J., Herrera, M.V., Araya, H.C., Santiago P. and Aubourg, S.P. 2009. Chemical changes during the chilled storage of Chilean jack mackerel (*Trachurus murphyi*): Effect of a plant-extract icing system. LWT - Food Science and Technology 42, 1450–1454

Regenstien, J.M., Schlosser, M.A., Samson, A. and Fey, M. 1982. Chemical changes of trimethylamine oxide during fresh and frozen storage of fish. In: R. Martin, G. Flick, C. E. Hebard, and D. R. Ward, Eds., Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products, AVI Publish Co., Westport, CT. pp. 137-145.

Samelis, J., Sofos, J.N., Kendall, P.A. and Smith, G. 2001. Fate of Echerichia coli O157:H7, Salmonella typhimurium DT 104 and Listeria monocytogenes in fresh meat decontamination fluids at 4 and 10 ^{0}C. Journal of Food Protection. 64, 950-957.

Samelis, J., Sofos, J. N., Kendall, P.A. and Smith, G. 2002. Effect of acid adaptation on survival of *Escherichia coli* O157:H7 in meat decontamination washing fluids and potential effects of organic acid intervention on the microbial ecology of the meat plant environment. Journal of Food Protection. 65, 33-40.

Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. Principle and Procedures of Statistic, 2nd Ed., Mc Graw-Hill, New York.

Uyttendaele, M., Jozwik, E., Tutenel, A., De-Zutter, L., Uradzinski, J., Pierard, D. and Debevere, J. 2001. Effect of acid resistance of *Escherichia coli* O157:H7 on efficacy of buffered lactic acid to decontaminate chilled beef tissue and effect of modified atmosphere packaging on survival of *Escherichia coli* O157:H7 on red meat. Journal of Food Protection. 64, 1661-1666.

Venugopal, V., Alur, M.P. and Lewis, N.F. 1983. Extracellular protease from *Pseudonomas marinoglutinosa*: some properties and its action on fish actomyosin. Journal of Food Science. 48, 671-675.

Visessanguan, W., Menino, A.R., Kim, S.M., and An, H. 2001. Cathepsin L: a predominant heat–activated proteinases in arrowtooth flounder muscle. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49, 2633-2640.

Vold, L., Holek, A., Wasteson, Y. and Nissen, H. 2000. High levels of background flora inhibit growth of *Escherichia coli O157:H7* in ground beef. International Journal of Food Microbiology. 56, 219-225.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Wang, M.Y. 1992. Inhibition and inactivation of five species of foodborn pathogens by Chitosan. Journal of Food Protection. 55, 916-919.

Wang, M.Y. and Brown, W.D. 1983. Effects of elevated CO_2 atmosphere on storage of freshwater crayfish *(Pacijiutacus leniusculus).* Journal of Food Science. 48, 158-162.

Xi, D., Liu, C. and Su, Y.C. 2012. Effects of green tea extract on reducing *Vibrio parahaemolyticus* and increasing shelf life of oyster meats. Food Control. 25, 368-373.

Yesudhason, P., Lalitha, K.V., Srinivasa Gopal, T.K. and Ravishankar. C.N. 2014. Retention of shelf life and microbial quality of seer fish stored in modified atmosphere packaging and sodium acetate pretreatment. Food Packaging and Shelf Life. 1, 123-130.

Zheng, L.Y. and Zhu, J.F. 2003. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. Carbohydrate Polymers. 54, 527-530.

Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents inmulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry. 64, 555-559.

Prince of Songkla University Pattani Campus

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

1. การวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Determination of Total Viable Count, TVC) (ดัดแปลงจาก Hernandez, 2009)

วัสดุและอุปกรณ์

1. ถุง stomacher
2. ปิเปต ขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
3. จานเพาะเชื้อ
4. บีกเกอร์
5. หลอดทดลอง
6. แอลกอฮอล์
7. เครื่องชั่งอย่างละเอียด
8. ตะเกียง
9. ตู้บ่มเชื้อ
10. เครื่องตีปั่นตัวอย่าง
11. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave)
12. Peptone water เข้มข้นร้อยละ 0.1
13. อาหารเลี้ยงเชื้อ (Plate Count Agar, PCA)

วิธีการศึกษา

การเตรียมตัวอย่าง

1. สุ่มตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ลงในถุง stomacher จากนั้นเติม Peptone water 225 มิลลิลิตร แล้วตีป่นประมาณ 1 นาที จะได้ตัวอย่างที่ถูกเจือจาง 10^{-1} เท่า
2. ถ่ายตัวอย่างอาหารที่ถูกเจือจางในข้อ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงใน Peptone water 9 มิลลิลิตร ทำการเขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างที่ถูกเจือจาง 10^{-2} เท่า
3. ถ่ายตัวอย่างอาหารที่ถูกเจือจางในข้อ 2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงใน Peptone water 9 มิลลิลิตร ทำการเขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างที่ถูกเจือจาง 10^{-3} เท่า

Prince of Songkla University Pattani Campus

วิธีการ Pour plate

1. ปิเปตตัวอย่างที่ถูกเจือจาง 10^{-1}, 10^{-2}..... และ 10^{-7} เท่า อย่างละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่อุ่นๆประมาณ 10-15 มิลลิลิตร ลงจานเพาะเชื้อในข้อ 1 แล้วทำการหมุนจานตามเข็มนาฬิกาและทวนเข็มนาฬิกา อย่างละ 5 รอบ แล้วตั้งอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องให้แข็งตัว
3. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±1 องศาเซลเซียส ประมาณ 48±2 ชั่วโมง (mesophilic bacteria) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 15±1 องศาเซลเซียส ประมาณ 5 วัน (psychrotrophic bacteria)
4. นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

การคำนวณ

TVC (cfu/g) = (จำนวนโคโลนี x ส่วนกลับของจำนวนเท่าที่ถูกเจือจาง)

หมายเหตุ : ถ้าตรวจพบว่าทุกเพลทมีจำนวนโคโลนีที่เกิดน้อยกว่า 25 ให้รายงานว่าพบจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตน้อยกว่า 250 cfu/g

2. การวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก (ดัดแปลงจาก Casla *et al*, 1996)

วัสดุและอุปกรณ์

1. ถุง stomacher
2. ปิเปต ขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
3. จานเพาะเชื้อ
4. บีกเกอร์
5. หลอดทดลอง
6. แอลกอฮอล์
7. เครื่องชั่งอย่างละเอียด
8. ตะเกียง
9. ตู้บ่มเชื้อ
10. เครื่องตีปั่นตัวอย่าง
11. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave)
12. Peptone water เข้มข้นร้อยละ 0.1
13. อาหารเลี้ยงเชื้อ DE Man, Rogosa and Sharpe (MRS agar) (Merck, Germany)

Prince of Songkla University Pattani Campus

วิธีการศึกษา

การเตรียมตัวอย่าง

1. สุ่มตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ลงในถุง stomacher จากนั้นเติม Peptone water 225 มิลลิลิตร แล้วตีป่นประมาณ 1 นาที จะได้ตัวอย่างที่ถูกเจือจาง 10^{-1} เท่า
2. ถ่ายตัวอย่างอาหารที่ถูกเจือจางในข้อ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงใน Peptone water 9 มิลลิลิตร ทำการเขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างที่ถูกเจือจาง 10^{-2} เท่า
3. ถ่ายตัวอย่างอาหารที่ถูกเจือจางในข้อ 2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงใน Peptone water 9 มิลลิลิตร ทำการเขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างที่ถูกเจือจาง 10^{-3} เท่า

วิธีการ spread plate

1. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่อุ่นๆประมาณ 10-15 มิลลิลิตร ตั้งไว้ให้เย็น
2. ปิเปตตัวอย่างที่ถูกเจือจาง 10^{-1} 10^{-2} และ 10^{-3} เท่า อย่างละ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานที่อาหารแข็งแล้ว ทำการ spread plate
3. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±1 องศาเซลเซียส ประมาณ 48±2 ชั่วโมง
4. นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

การคำนวณ

แบคทีเรียกรดแลคติก (cfu/g) = (จำนวนโคโลนี x ส่วนกลับของจำนวนเท่าที่ถูกเจือจาง)

หมายเหตุ : ถ้าตรวจพบว่าทุกเพลทมีจำนวนโคโลนีที่เกิดน้อยกว่า 25 ให้รายงานว่าพบจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตน้อยกว่า 250 cfu/g

3. การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Escherichia coli* (FDA, 1998)

วัสดุอุปกรณ์

1. ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
2. หลอดแก้วพร้อมฝาปิด (หรือใช้สำลีแทนก็ได้)
3. หลอดดักแก๊ส (Durham tube)
4. ขวดเก็บตัวอย่างขนาด 250 มิลลิลิตร
5. จานเพาะเชื้อ (plate)
6. ลูกยางใช้กับปิเปตสำหรับดูดน้ำตัวอย่าง
7. ตะเกียงแอลกอฮอล์
8. ห่วงถ่ายเชื้อ (loop)
9. ที่วางหลอดทดลอง

Prince of Songkla University Pattani Campus

10. ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ
11. ปากคีบ
12. สไลด์ (slide)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Lauryl Sulphate Tryptose broth (LST)
2. Billiant Green Lactose Bile broth (BGLB)
3. EC medium
4. Eosin Methylene Blue agar (EMB)
5. Nutrient agar (NA)
6. Phosphate buffer solution (PBS)

วิธีการทดสอบเชื้อ *Escherichia coli*

1. ชั่งตัวอย่างปริมาณ 25 กรัม ใส่ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ ใส่ Phosphate buffer solution ปริมาตร 225 มิลลิลิตร จากนั้นตีปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน ได้สารเจือจาง 10^{-1}
2. ใช้ปิเปตดูดสารเจือจาง 10^{-1} มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลองทดลองที่มี PBS ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ได้ความเจือจาง 10^{-2} แล้วเจือจางต่อไปจนได้ความเจือจาง 10^{-3}
3. ดูดสารเจือจางปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในอาหาร Lauryl Sulphate Tryptose broth (LST) ที่บรรจุหลอดดักแก๊ส ความเจือจางละ 3 หลอด รวมเป็น 9 หลอด บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
4. สังเกตหลอดที่ขุ่นและเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส ให้อ่านผลเป็นบวก จากนั้นนำไปตรวจยืนยันโดยใช้ห่วงเขี่ยเชื้อถ่ายเชื้อที่ให้ผลบวกใส่ในหลอดอาหารเหลว BGLB และอาหารเหลว EC ที่บรรจุหลอดดักแก๊สไว้ภายใน บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ส่วนอาหารเหลว EC บ่มไว้ที่อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 45.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
5. ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อ BGLB และ EC มีความขุ่นและเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส ให้อ่านผลเป็นบวก (หลอดอาหารเหลว BGLB อ่านค่าโคลิฟอร์มจากตาราง MPN 3 หลอด ส่วนหลอดอาหารเหลว EC อ่านค่าฟีคัลโคลีฟอร์มจากตาราง MPN 3 หลอด)

Prince of Songkla University Pattani Campus

6. จากนั้นนำไป streak บนจานอาหาร EMB บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
7. ถ้าเกิดโคโลนีสีตะกั่วตัด (metallic sheen) มีจุดดำตรงกลางจะนับเป็นหนึ่งโคโลนี

4. การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Staphylococcus aureus* (FDA, 1998)

วัสดุและอุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol salt egg-yolk agar (MSEY agar) หรือ Mannitol salt agar (MSA) หรือ Baird-Parker medium (MBP) ที่เตรียมและผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
2. Phosphate buffer solution (PBS) ในหลอดที่เตรียมและผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
3. Nutrient gelatin ในหลอดที่เตรียมและผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
4. Mannitol broth ในหลอดที่มีหลอดดักก๊าซบรรจุอยู่
5. Blood agar ในหลอดที่เตรียมและผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
6. อาหารเลี้ยงเชื้อ
7. ตัวอย่างอาหาร
8. ชุดย้อมสีแกรม
9. ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

วิธีการปฏิบัติ

1. เจือจางตัวอย่าง 25 กรัม ใน phosphate buffer solution (PBS) 225 มิลลิลิตร ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำอาหารเจือจาง 1 มิลลิลิตร ไปเจือจางต่อใน phosphate buffer solution (PBS) 9 มิลลิลิตร ทำเช่นเดียวกันนี้จนได้ความเจือจางที่เหมาะสม (10^{-2}, 10^{-3})
2. ดูดสารละลายตัวอย่าง 10^{-2} และ 10^{-3} (ทำ 2 ซ้ำ) แต่ละความเจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในจานอาหาร MSEY agar หรือ MSA หรือ MBP ชนิดใดชนิดหนึ่ง จากนั้น spread plate ให้ทั่วจาน บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
3. สังเกตโคโลนีที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ลักษณะโคโลนีของ *S. aureus* ใน MSEY agar และ MSA จะกลม สีเหลืองทอง รอบโคโลนีมีสีเหลือง ส่วนใน MBP จะมีโคโลนีสีดำล้อมรอบด้วยวงใส

Prince of Songkla University Pattani Campus

4. เมื่อได้โคโลนีที่มีลักษณะตามที่ต้องการแล้ว นำมาย้อมสีแกรม ลักษณะรูปร่างของ *S. aureus* จะมีรูปกลมอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ติดสีแกรมบวก
5. นำเชื้อที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดิม
6. เลี้ยงเชื้อใน Nutrient broth ให้มีอายุ 18 ชั่วโมง
7. ทดสอบการย่อย gelatin ใน nutrient gelatin โดยการ stab เชื้อหรือใช้ห่วงเขี่ยเชื้อที่ต้องการทดสอบแทงลงไปในอาหารตรงๆ แล้วนำขึ้นมาตามรอยเดิม บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หากพบว่า gelatin เหลวที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ถือว่าให้ผลบวกซึ่งเป็นความสามารถของ *S. aureus*
8. ทดสอบการหมักย่อย mannitolถ้าให้กรดถือว่าให้ผลบวก ซึ่งเป็นความสามารถของ *S. aureus*
9. ทดสอบความสามารถในการทำให้เม็ดเลือดแดงใน blood agar แตกหาก เกิดการแตกของเม็ดเลือดแดงแบบ β-haemolysis ถือว่าให้ผลบวก ซึ่งเป็นความสามารถของ *S. aureus*

5. การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* sp. (FDA, 1998)

วัสดุอุปกรณ์

1. ปิเปตขนาด 1 และ 10 ml.
2. หลอดแก้วพร้อมฝาปิด (หรือใช้สำลีแทนก็ได้)
3. จานเพาะเชื้อ (plate)
4. ลูกยางใช้กับปิเปตสำหรับดูดน้ำตัวอย่าง
5. ตะเกียงแอลกอฮอล์
6. ห่วงถ่ายเชื้อ (loop)
7. ช้อนหรือภาชนะตักอาหารที่ปราศจากเชื้อ
8. ที่วางหลอดทดลอง
9. ขวดเก็บตัวอย่างขนาด 225 ml.
10. ปากคีบ
11. สไลด์ (slide)

Prince of Songkla University Pattani Campus

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Buffer peptone water
2. Selenite cystine broth (SC)
3. Rappaport-vassiliadis (RV)
4. Xylose lysine deoxycholate agar (XLD)
5. Hoktone enteric agar (HE)
6. Triple sugar iron (TSI) agar slant
7. Motility Indole Lysine (MIL) medium
8. Urea agar
9. Nutrient agar (NA)
10. Salmonella-Shigella agar
11. MacConkey agar

วิธีการทดสอบเชื้อ *Salmonella* sp.

1. โดยชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ ใส่ buffer peptone water ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปใส่ในหลอดอาหารเหลว Selenite cystine broth (SC) 10 มิลลิลิตร และใช้ปิเปตดูดสารตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปใส่ในหลอดอาหารเหลว Rappaport-vassiliadis (RV) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. ใช้ loop แตะอาหารที่เพาะเชื้อในข้อ 2 นำมา streak ลงใน xylose lysine deoxycholate agar (XLD) หรือ hoktone enteric agar (HE) หรือ Salmonella-Shigella agar หรือ MacConkey agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
4. สังเกต single colony ที่เป็นลักษณะเฉพาะของ *Salmonella* ในอาหารแต่ละชนิดดังนี้
   - โคโลนีบนอาหาร XLD โคโลนีจะมีลักษณะสีชมพูหรือสีแดง อาจพบจุดหรือไม่พบจุดดำตรงกลาง
   - โคโลนีบนอาหาร HE โคโลนีจะมีลักษณะสีฟ้าเขียวหรือฟ้า อาจพบจุดหรือไม่พบจุดดำตรงกลาง

Prince of Songkla University Pattani Campus

- โคโลนีบนอาหาร Salmonella-Shigella agar โคโลนีของ *Salmonella*, *Shigella* และ *Proteus* จะมีขนาดเล็ก ไม่มีสี ส่วนโคลิฟอร์มจะถูกยับยั้งการเจริญ
- โคโลนีบนอาหาร MacConkey agar โคโลนีของ *Salmonella, Shigella* และ *Proteus* จะมีขนาดเล็ก ไม่มีสี ส่วนโคลิฟอร์มจะมีสีชมพูเข้ม

5. เก็บเชื้อโดยการนำมา streak ลงบนอาหาร NA slant บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาทดสอบลักษณะทางชีวเคมี
6. โดย streak เชื้อลงบนหลอดอาหารเลี้ยง TSI (slant) และ stab เชื้อบนหลอดอาหารเดียวกันบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
7. stab เชื้อในหลอดอาหาร MIL บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
8. streak เชื้อลงบนส่วน slant ของอาหาร Urea agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

Prince of Songkla University Pattani Campus

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 1999)

อุปกรณ์ และเครื่องมือ

1) กระป๋องอะลูมิเนียม (Moisture can)

2) ตู้อบลมร้อน

วิธีการ

1) ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ใส่กระป๋องอะลูมิเนียม อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

2) นำออกจากตู้อบปิดฝาทันที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก

3) อบซ้ำหลายๆ ครั้ง จนได้น้ำหนักที่คงที่

$$\text{ความชื้น} = \frac{(\text{นน. moisture can+ตัวอย่างก่อนอบ})-(\text{นน. moisture can+ตัวอย่างหลังอบ})}{(\text{นน. moisture can+นน.ตัวอย่างก่อนอบ})-(\text{นน. moisture can})} \times 100$$

2. วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (AOAC, 1999)

สารเคมี

1) กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 98 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

2) ตัวเร่งปฏิริยาผสม: โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 96 และคอปเปอร์ซัลเฟต (Cu_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 4

3) 40% NaOH (w/v)

4) อินดิเคเตอร์: โบรโมครีซอลบลูความเข้มข้นร้อยละ 0.2 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) และเมธิลเรดความเข้มข้นร้อยละ 0.2 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) อัตราส่วน 1:5

5) สารละลายมาตรฐานซัลฟิวริกความเข้มข้น 1 โมลาร์

อุปกรณ์ เครื่องแก้วและเครื่องมือ

1) หลอดเคลดาห์ล

2) บีกเกอร์

3) ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร

Prince of Songkla University Pattani Campus

4) ชุดกลั่นโปรตีน

5) ชุดย่อยโปรตีน

6) เครื่องชั่งไฟฟ้า

7) ตู้ดูดควัน

วิธีการ

1) ชั่งตัวอย่าง 0.5-2.0 กรัม ถ่ายลงหลอดเคลดาห์ล

2) เติมปฏิกิริยาผสม (96% Na_2SO_4 และ 4% Cu_2SO_4) 8 กรัม

3) เติมกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 98 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

4) ย่อยใยชุดย่อยโปรตีนจนได้สารละลายใส รอจนกระทั่งเย็น ไม่มีไอระเหย

5) นำสารที่ย่อยได้ไปกลั่น โดยนำฟลาส์คที่มี boric acid ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และอินดิเคเตอร์ 3-5 หยดต่อกับปลายส่วนควบแน่น (Condenser) อยู่ต่ำกว่าสารละลาย

6) เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาณมากเกินพอ (สารละลายมีสีดำ)

7) เปิดเครื่องกลั่นโดยทำ Blank ก่อน จึงทำชุดตัวอย่าง

8) นำสารละลายที่ได้จากการกลั่นมาไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานซัลฟิวริกความเข้มข้น 1 โมลาร์จนได้จุดยุติสีชมพูอ่อน บันทึกปริมาณสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 ที่ใช้

ไนโตรเจน (ร้อยละ) = $\frac{(V_a-V_b) \times N \times 1.4007 \times F}{(W_1-W_2)}$

V_a คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานซัลฟิวริกที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

V_b คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานซัลฟิวริกที่ใช้ไตเตรท Blank

N คือ ความเข้มข้นของ H_2SO_4

F คือ เฟกเตอร์ของตัวอย่าง

W_1 คือ น้ำหนักบีกเกอร์ + ตัวอย่าง

W_2 คือ น้ำหนักบีกเกอร์ที่ถ่ายตัวอย่างออกเรียบร้อยแล้ว

Prince of Songkla University Pattani Campus

3. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 1999)

อุปกรณ์ เครื่องมือ

1) เตาเผา (Muffle Furnace)
2) ถ้วยกระเบื้อง (Crucible)
3) เตาให้ความร้อน (Hot plate)

วิธีการ

1) ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน
2) เผาบน hot plate จนควันหมด แล้วเผาต่อในเตาเผา 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาว
3) รอให้เย็น ในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก

$$\text{เถ้า} = \frac{(\text{น้ำหนัก crucible และ น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา}) - (\text{น้ำหนัก crucible})}{(\text{น้ำหนักตัวอย่าง})} \times 100$$

4. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 1999)

สารเคมี และเครื่องมือ

1) ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether)
2) ชุดสกัดไขมัน Soxhlet apparatus

วิธีการ

1) ชั่งตัวอย่างแห่ง 2 กรัม แล้วห่อด้วยกระดาษกรองเบอร์ 6 (Whatman NO. 6)
2) ใส่ห่อตัวอย่างลงในทิมเบิล (Thimble) ซึ่งบรรจุอยู่ในบีกเกอร์สกัดที่แห่งสนิทและทราบน้ำหนักที่แน่นอน
3) เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ 240 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์สกัด
4) สกัดไขมันเป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง
5) ระเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ในตู้ดูดควันเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วอบขวดสกัดที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่
6) ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักขวดสกัด คำนวณปริมาณไขมันโดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน} = \frac{(\text{น้ำหนักขวด+ไขมัน}) - (\text{น้ำหนักขวด}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

Prince of Songkla University Pattani Campus

5. การวิเคราะห์หา pH

วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่อง pH meter
2. บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
3. Stirring Rod
4. Cylander 50 มิลลิลิตร

ขั้นตอนการทดลอง

1. เปิดเครื่อง pH meter
2. ต้มน้ำกลั่นให้เดือด แล้วตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
3. นำชิ้นปลามาซับเป็นชิ้นเล็กๆหรือให้ละเอียด
4. ชั่งตัวอย่าง 5±0.1 กรัม ใส่ในบีกเกอร์
5. เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มแล้วปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วคนให้เข้ากันด้วย Stirring Rod
6. ไปวัดด้วยเครื่อง pH meter (บันทึกผล)

6. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้โดยรวม (Determination of Total Volatile Basic Nitrogen, (mg N/100g)) โดยวิธีของ Conway (1950)

วัสดุอุปกรณ์

1. Conway’s unit
2. ปิเปต
3. ตู้อบ
4. บีกเกอร์
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
6. ขวดวัดปริมาตร
7. วาสลีน
8. กระดาษกรอง

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ในบีกเกอร์แล้วเติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก 8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
2. กรองสารที่ได้ด้วยกระดาษกรอง
3. ทาขอบด้านนอกของ Conway’s unit ด้วยวาสลีน แล้วใส่สารละลายกรดบอริก 1 มิลลิลิตร ในวงด้านใน

Prince of Songkla University Pattani Campus

4. นำสารที่สกัดได้จากตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในวงด้านนอกแล้วเอียง Conway's unit พร้อมเตรียมชุด Blank 1 ชุด โดยใช้สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกแทนสารสกัด
5. เติมสารละลายโปแตสเซียมคาร์บอเนต 1 มิลลิลิตร ในวงด้านนอกแล้วปิดฝา Conway's unit ทันที แล้วหมุนจานเบาๆ เพื่อให้สารในวงด้านนอกผสมกัน
6. บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60-120 นาที
7. ไตเตรทด้วยสารละลายวงด้านในด้วย 0.02 N กรดไฮโดรคลอริก จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีแดง

การคำนวณ TVB-N

TVB-N (mg/100g) = ((S-B) X 0.02X14X10X100) / W

S = ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไทเทรต Blank (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

7. การวิเคราะห์หาปริมาณ TMA (Determination of Trimethy amine, TMA) โดยวิธีของ Conway (1950)

วัสดุอุปกรณ์

1. Conway's unit
2. ปิเปต
3. ตู้อบ
4. บีกเกอร์
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
6. ขวดวัดปริมาตร
7. วาสลีน
8. กระดาษกรอง

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ในบีกเกอร์แล้วเติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก 8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
2. กรองสารที่ได้ด้วยกระดาษกรอง

Prince of Songkla University Pattani Campus

3. ทาขอบด้านนอกของ Conway’s unit ด้วนวาสลีน แล้วใส่สารละลายกรด บอริก 1 มิลลิลิตร ในวงด้านใน
4. นำสารที่สกัดได้จากตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในวงด้านนอกแล้วเอียง Conway’s unit พร้อมเตรียมชุด Blank 1 ชุด โดยใช้สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกแทนสารสกัด
5. เติมสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ 1 มิลลิลิตร
6. เติมสารละลายโปแตสเซียมคาร์บอเนต 1 มิลลิลิตร ในวงด้านนอกแล้วปิดฝา Conway’s unit ทันที แล้วหมุนจานเบาๆ เพื่อให้สารในวงด้านนอกผสมกัน
7. บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60-120 นาที
8. ไตเตรทด้วยสารละลายวงด้านในด้วย 0.02 N กรดไฮโดรคลอริก จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีแดง

การคำนวณ TMA

TMA (mg/100g) = ((S-B) X 0.02X14X10X100)/ W

S = ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไทเทรต Blank (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

8. การวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนาลดีไฮด์ (TBARS) ดัดแปลงจาก Khalafalla *et al.* (2015)

วัสดุอุปกรณ์

1. Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
3. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
4. Volumetric flask 100 ml
5. test tube 10 -15 mm พร้อมฝาปิด
6. water bath
7. ชุดเครื่องกลั่น
8. Spectrophotometer

Prince of Songkla University Pattani Campus

สารเคมี

1. TBA reagent
2. 4 N HCl
3. Antifoaming agent

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรจากนั้นถ่ายใส่ขวดก้นกลมแล้วเติม 4 N. ของกรดไฮโดรคลอริก 2.5 มิลลิลิตร
2. เติม glass bead 2-3 เม็ด และdilution antifoaming agent 0.5 มิลลิลิตร นำไปกลั่นให้ได้ distillate ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
3. ปิเปตดูดสารละลาย 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแห้ง เติม TBA reagent 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด 35 นาที
4. ทำให้เย็นโดยการแช่น้ำเย็นประมาณ 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร เทียบกับ blank และคำนวณตามสมการ

สมการการคำนวณ

TBA number = 7.8 x A538

A = absorbance ของตัวอย่าง

9. การสร้างกราฟมาตรฐานในการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (calibration curve)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 25, 50 และ 100 มิลลิลิตร
2. กระบอกตวง ขนาด 5 มิลลิลิตร
3. ปิเปต ขนาด 5 มิลลิลิตร
4. บีกเกอร์ ขนาด 100 และ 250 มิลลิลิตร
5. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
6. เครื่องสเปกโทรนิค 20
7. กรดแกลลิก
8. โซเดียมคาร์บอเนต
9. สารละลาย Folin-Ciocalteu (FC)

Prince of Songkla University Pattani Campus

วิธีการทดลอง

การเตรียมสารละลาย

1. เตรียมสารละลายแกลลิก 1000 ppm
2. เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 15 % (w/v)
3. เตรียมสารละลาย Folin - Ciocalteu 10 % (v/v)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน และกราฟมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายแกลลิก 50, 100, 150 และ 200 ppm จากสารละลายแกลลิก 1000 ppm
2. นำสารละลายแกลลิก 50 ppm 1 มิลลิลิตรใส่ลงในบีกเกอร์ และเติมสาร ตามลำดับดังนี้
   - สารละลาย FC 10 % (v/v) 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 3-8 นาที
   - สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 15 % (w/v) 2 มิลลิลิตร
3. นำสารละลายจากข้อ 2 อุ่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมินาน 15 นาที และเทสารละลายลงขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโทรนิก 20 ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร
5. นำสารละลายแกลลิก 100, 150 และ 200 ppm โดยทำวิธีเดียวกัน
6. นำค่าการดูดกลืนแสง และความเข้มข้นของสารแกลลิกมาสร้างกราฟมาตรฐาน

10. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (total phenolic content) ตามวิธีของ AOAC (1990)

1. นำสารสกัดแต่ละชนิดมาเตรียมเป็นสารละลายให้มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเมทานอลแล้วเจือจางในน้ำกลั่น
2. เติมสารละลายที่เจือจางปริมาตร 40 ไมโครลิตร ในน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร
3. ผสมกับสารละลาย Folin –Ciocalteu's phenol reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 นาที
4. เติม 35 % Na_2CO_3 ผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 20 นาที
5. นำมาวัดการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร เทียบกับ blank ซึ่งใช้เมทานอลแทนสารสกัด

Prince of Songkla University Pattani Campus

6. หาปริมาณโพลิฟีนอลในสารสกัดโดยเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลายแกลลิก

11. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ โดยประยุกต์ ตามวิธีของ Zhishen *et al.* (1999)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 25, 50 และ 100 มิลลิลิตร
2. กระบอกตวง ขนาด 5 มิลลิลิตร
3. ปิเปต ขนาด 5 มิลลิลิตร
4. บีกเกอร์ ขนาด 100 และ 250 มิลลิลิตร
5. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
6. เครื่องสเปกโทรนิค 20
7. สารละลายคาเทชิน

วิธีการทดลอง

1. นำสารสกัดแต่ละชนิดมาละลายในเมทานอล
2. ดูดสารละลายมา 2.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตร แล้วเติมน้ำกลั่นลงไป 10 มิลลิลิตร
3. เติม 5 % $NaNO_2$ ปริมาตร 0.75 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที
4. เติม 10 % $AlCl_3.6H_2O$ ปริมาตร 0.75 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 6 นาที
5. เติม 1 M NaOH ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 25 มิลลิลิตร
6. นำสารละลายที่ได้มาวัดการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรเทียบกับ blank ซึ่งใช้เมธานอลแทนสารสกัด คำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย catechin

Prince of Songkla University Pattani Campus

ภาคผนวก ค

วิเคราะห์ทางกายภาพ

1. วัดสีในระบบ CIE ด้วยเครื่อง Hunter Lab

เลือกระบบการวัดสีแบบ Hunter Lab ก่อนที่จะนำไปอ่านค่า นำตัวอย่างเนื้อปลานิลแดงแล่ ใส่ในหัววัดสี ให้แน่ใจว่าไม่มีช่องวางระหว่างตัวอย่างและเลนส์ โดยวัดค่า L*, a* และ b* ซึ่งทำการอ่านค่า 5 ครั้งต่อ 1 ชิ้นตัวอย่าง โดยวัดทั้งด้านหน้า ตรงกลางและด้านหลังของเนื้อปลานิลแดงแล่ แล้วหาค่าเฉลี่ย

2. การวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของเนื้อปลานิลแดงแล่ โดยวิธี Texture profile analysis

ทำการตรวจวัดเนื้อปลานิลแดงแล่ด้วยเครื่อง Texture analyzer โดยใช้หัววัดชนิด Stainless steel cylindrical No. P/6 วัดตามแนวขวางของเส้นใยกล้ามเนื้อ โดยเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อเนื้อปลานิลแดงแล่ ขนาด 2.0 x 3.0 x 1.0 เซนติเมตร และทำการวัดแต่ละชุดการทดลอง 5 ซ้ำ ตั้งค่าเครื่องดังต่อไปนี้

การตั้งค่าของ TA-XT2i settings : สำหรับเนื้อเนื้อปลานิลแดงแล่

Mode	:	TPA
Pre-Test Speed	:	2.0 mm/s
Test Speed	:	1.0 mm/s
Post-Test Speed	:	10 mm/s
Distance	:	70 % strain
Trigger Type	:	Auto
Force	:	2 g

ค่า Hardness = แรงกดสูงสุดของการกดครั้งที่ 1 หน่วยเป็นนิวตัน (N)

3. วัดค่าแรงเฉือนของเนื้อปลานิลแดงแล่ด้วยเครื่อง Texture analyzer

ทำการวัดค่าแรงเฉือนของเนื้อปลานิลแดงแล่ โดยตั้งค่าของเครื่อง TA-XT2i โดยใช้หัววัดแบบ Warner-Bratzler Blade (HDP/PB) กำหนดความเร็วของหัววัดเท่ากับ 1.0 มิลลิเมตรต่อวินาที เตรียมเนื้อปลานิลแดงแล่ ขนาด 2.0 x 3.0 x 1.0 เซนติเมตร ทำการวัดตามแนวขว้างของเส้นใยกล้ามเนื้อ แต่ละชุดการทดลองวัด 5 ซ้ำ

Prince of Songkla University Pattani Campus

ภาคผนวก ง

วิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

การทดสอบคุณภาพประสาทสัมผัสด้านต่างๆ ได้แก่ สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมของเนื้อปลานิลแดงแล่ ในสารสกัดจากพืช เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างเนื้อปลามาวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสทุกๆ 3 วัน โดยใช้ผู้ทดสอบ จำนวน 30 คน และเปรียบเทียบกับชุดควบคุมแช่ในน้ำกลั่น

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส (Hedonic scale)

คนที่..... ชื่อผู้ทดสอบ.....

กรุณา สังเกตและประเมินคุณภาพด้าน สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมผลิตภัณฑ์เหล่านี้ และให้คะแนนตามลำดับความชอบ ดังนี้

9 = ชอบมากที่สุด
8 = ชอบมาก
7 = ชอบ
6 = ค่อนข้างชอบ
5 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ (เฉยๆ)
4 = ค่อนข้างไม่ชอบ
3 = ไม่ชอบ
2 = ไม่ชอบมาก
1 = ไม่ชอบมากที่สุด

คุณลักษณะ	ชื่อผลิตภัณฑ์ (ตัวอย่าง)		
	.....	.....	.....
สี			
กลิ่นรส			
เนื้อสัมผัส			
ความชอบโดยรวม			

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

.....

Prince of Songkla University Pattani Campus

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล อิลยาส ดอเลาะ

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5520320402

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ประมง)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2554

ทุนการศึกษา

1. รับทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ประจำปีงบประมาณ 2557

2. ทุนสนับสนุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาปริญญาโท จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

3. ทุนอุดหนุนการวิจัยประเภทมุ่งเป้าด้านฮาลาล ภายใต้โครงการจัดตั้งศูนย์วิทยาศาสตร์อาหารฮาลาล ประจำปีงบประมาณ 2555

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Doloh, A., Masniyom, P., Maneesri, J. and Suanphairoch, S. 2016. Effect of plant-extracts on quality changes of refrigerated Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fillets. Khon Kaen Agriculture Journal. 44(1), 703-708.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Prince of Songkla University
Pattani Campus