



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (คหกรรมศาสตร์)

ปริญญา

คหกรรมศาสตร์

คหกรรมศาสตร์

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง

ผลของเกลือและซูโครสต่อการหมักและการยอมรับของกุ้งส้มที่ผลิตจากกุ้งขาว

Effect of Salt and Sucrose on Fermentation and Acceptability of *Kung-Som*
Production from Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

นามผู้วิจัย

นางสาวผกาดี เอี่ยมกำแพง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ศิริพร เรียบร้อย, ปร.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์นื่องนุช ศิริวงศ์, ปร.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศุภศิลป์ มณีรัตน์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุธีลักษณ์ ไกรสุวรรณ, ปร.ด.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของเกลือและซูโครสต่อการหมักและการยอมรับของกุ้งส้มที่ผลิตจากกุ้งขาว

Effect of Salt and Sucrose on Fermentation and Acceptability of *Kung-Som* Produced from
Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

โดย

นางสาวผกาดี เอี่ยมกำแพง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สหกรรมศาสตร์)

พ.ศ. 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผกาวดี เอี่ยมกำแพง 2553: ผลของเกลือและชูโครสต่อการหมักและการยอมรับของกึ่งส้ม
ที่ผลิตจากกึ่งขาว ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (คหกรรมศาสตร์)

สาขาคหกรรมศาสตร์ ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:

อาจารย์ศิริพร เรียบร้อย, ประ.ด. 71 หน้า

จากการศึกษาผลของเกลือต่อการหมักและการยอมรับของกึ่งส้มที่ผลิตจากกึ่งขาวด้วยการ
เติมเกลือร้อยละ 5 (KS-50) 7.5 (KS-75) และ 10 (KS-100) พบว่า ระหว่างการหมักกึ่งส้มทุกชุดการ
ทดลองมีจำนวนแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria; LAB) และปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น
สอดคล้องกับการลดลงของค่าพีเอช กึ่งส้ม KS-50 มีการลดลงของค่าพีเอชเร็วกว่าชุดการทดลอง
อื่น ($p < 0.05$) การเติมเกลือที่ระดับความเข้มข้นต่ำสำหรับการผลิตกึ่งส้มมีผลต่อการลดระยะเวลา
การหมัก อย่างไรก็ตามกึ่งส้ม KS-75 ได้รับคะแนนการยอมรับทุกด้านมากกว่ากึ่งส้ม KS-50 และ
KS-100 ($p < 0.05$) จากการศึกษาผลของชูโครสที่ผ่านการฟอกและไม่ฟอกสต่อการหมักกึ่งส้มที่
ระดับความเข้มข้นร้อยละ 15 30 และ 45 พบว่า เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นกึ่งส้มมีจำนวน LAB
และปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นและมีค่าพีเอชลดลง กึ่งส้มที่มีการเติมชูโครสร้อยละ 30 และ 45 มี
ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นและค่าพีเอชลดลงเร็วกว่ากึ่งส้มที่มีการเติมชูโครสร้อยละ 15 ($p < 0.05$)
จากผลการทดลองระดับความเข้มข้นของชูโครสเพิ่มขึ้นมีผลต่อการเร่งการเจริญของ LAB และมี
ผลเร่งการลดลงของค่าพีเอชและการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมด อย่างไรก็ตาม กึ่งส้มที่มีการ
เติมชูโครสที่ผ่านการฟอกร้อยละ 30 ได้รับคะแนนการยอมรับมากที่สุด ($p < 0.05$) จากการศึกษา
องค์ประกอบทางเคมี พลังงานและจุลินทรีย์ก่อโรคของกึ่งส้มที่มีการเติมเกลือร้อยละ 7.5 และ
ชูโครสที่ผ่านการฟอกร้อยละ 30 พบว่า กึ่งส้ม ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 13.04 ไขมันร้อยละ
0.28 ความชื้นร้อยละ 68.42 เถ้าร้อยละ 5.08 เกลือร้อยละ 3.87 และมีพลังงานทั้งหมด 105.94 กิโล
แคลอรี/100 กรัม รวมทั้งไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรค ดังนั้นกึ่งส้มจึงมีความปลอดภัยสำหรับการบริโภค
และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง และจากการศึกษาความคงตัวของกึ่งส้มระหว่างการเก็บรักษาที่
อุณหภูมิห้อง (RT) และอุณหภูมิแช่เย็น (RF) นาน 15 วัน พบว่า กึ่งส้มที่เก็บรักษาที่ RT มีอัตราการ
เพิ่มขึ้นของจำนวน LAB และปริมาณกรดทั้งหมดมากกว่ากึ่งส้มที่เก็บรักษาที่ RF และกึ่งส้มที่เก็บ
รักษาที่ RF ยังคงได้รับการยอมรับมากกว่าตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ดังนั้นการเก็บรักษาแบบ
RF เป็นวิธีที่เหมาะสมต่อการยืดอายุการเก็บรักษา กึ่งส้ม

Pakawadee Iamkampang 2010: Effect of Salt and Sucrose on Fermentation and Acceptability of *Kung-Som* Produced from Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Master of Science (Home Economics), Majou Field: Home Economics, Department of Home Economics. Thesis Advisor: Miss Siriporn Riebroy, Ph.D. 71 pages.

Fermentation and acceptance of *Kung-Som* produced from Pacific white shrimp as affected by different salt levels were studied. *Kung-som* was produced by addition of salt at 5% (KS-50), 7.5% (KS-75), and 10% (KS-100). During fermentation, the increase in lactic acid bacteria (LAB) and total acidity with the concomitant decrease in pH were observed in all samples. Additionally, KS-50 sample exhibited the faster decrease in pH compared with other samples ($p < 0.05$). The results suggested that lower concentration of salt in *Kung-Som* production decreased in fermentation time. Generally, KS-75 showed a greater acceptability than KS-50 and KS-100. Effect of different concentrations of bleached and unbleached sucrose on *Kung-Som* fermentation was also investigated. The concentrations of sucrose were 15%, 30%, and 45%. As the fermentation proceeded, LAB and total acidity increased, whereas pH decreased in all samples. The increase in total acidity and decreased in pH was more pronounce in *Kung-Som* added with 30% and 45% sucrose compared those added with 15% sucrose ($p < 0.05$). From the results, higher sugar concentration stimulated the rapid growth of LAB, resulting in a rapid decline in pH and consequently increases in total acidity. However, *Kung-Som* added with 30% bleached sucrose had more likeness in all attributes than other samples ($p < 0.05$). Chemical composition, energy value and pathogens of fermented *Kung-Som* added with 7.5% salt and 30% bleached sucrose was carried out. Fermented *Kung-Som* contained 13.04% protein, 0.28% lipid, 68.42% moisture, 5.08% ash, 3.87% salt and 105.94 kcal/100g. Additionally, no pathogens were found. Thus, fermented *Kung-Som* could be safety for consumption with high nutritional value. Changes in microbiological, chemical and acceptability of fermented *Kung-Som* during 15 days of room (RT) and refrigerated (RF) temperature storages were investigated. With increasing storage time, the number of LAB and total acidity increase and the rate of increase was more pronounce in *Kung-Som* stored at RT. The results revealed that refrigeration storage could be a means to extend the shelf-life of *Kung-Som*.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

____/____/____

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีต้องขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ศิริพร เรียบร้อย ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร. นื่องนuch ศิริวงศ์ และ ผศ. ดร. ศุภศิลา ปิรมณีรัตน์ กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้ความรู้และคำแนะนำและปรึกษาในการค้นคว้า วิจัย ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ กราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. มนัส ชัยจันทร์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก และ ผศ. ดร. นฤมล ศราภพันธุ ประธานกรรมการการสอบปากเปล่า ขั้นสุดท้ายที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะเพื่อให้วิทยานิพนธ์สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ทุกท่าน ที่ได้อบรมสั่งสอนและมอบความรู้อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการนำไปประโยชน์ต่อไป และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำต่างๆ

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่ที่ได้อบรมและเป็นกำลังใจมาโดยตลอด และขอขอบคุณเพื่อนๆ ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำ งานวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ผกาวิดี เอี่ยมกำแพง

เมษายน 2553

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	19
อุปกรณ์	19
วิธีการ	20
ผลและวิจารณ์	24
สรุปและข้อเสนอแนะ	42
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	43
ภาคผนวก	51
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์	52
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา	55
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี	61
ภาคผนวก ง แบบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของกุ้งส้ม	68
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	71

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อจากกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำ	6
2	องค์ประกอบทางเคมีและค่า pH ของกุ้งส้มทางการค้า	7
3	ผลของระดับการเติมหัวเชื้อ (Starter culture) ต่ออัตราการหมักกุ้ง <i>Parapenaeopsis styliifera</i>	16
4	การใช้ซูโครสในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยแบคทีเรียแลกติกสายพันธุ์ต่างๆ หลังจากการหมัก 16 ชั่วโมง	18
5	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count) และจำนวนแบคทีเรียแลกติก (Lactic acid bacteria) ระหว่างการหมักกุ้งส้มที่มีการเติมเกลือร้อยละ 5 (KS-50) 7.5 (KS-75) และ 10 (KS-100)	26
6	คะแนนการยอมรับของกุ้งส้มที่มีการเติมเกลือปริมาณแตกต่างกัน	29
7	คะแนนการยอมรับของกุ้งส้มที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสที่ผ่านการฟอกสีและไม่ฟอกสีปริมาณแตกต่างกัน	35
8	องค์ประกอบทางเคมีของกุ้งส้มที่ผลิตจากกุ้งขาว	36
9	ชนิดและจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ของกุ้งส้มที่ผ่านการหมักแล้ว	37
10	คะแนนการยอมรับของกุ้งส้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น	41

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของกุ้งขาวแวนนาไม	5
2	การหมักน้ำตาลโดยแลกติกแอซิคแบคทีเรียกลุ่มโสมิเฟอร์เมนเททีฟ (A) และเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (B)	13
3	ค่าพีเอช (A) และปริมาณกรดทั้งหมด (B) ระหว่างการหมักของกุ้งสั้มที่มีการเติมเกลือร้อยละ 5 (KS-50) 7.5 (KS-75) และ 10 (KS-100)	27
4	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่างการหมักกุ้งสั้มที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสแบบฟอกสี (KSG) (A) และไม่ฟอกสี (KBSG) (B) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 30 และ 45	31
5	จำนวนแบคทีเรียแลกติกระหว่างการหมักกุ้งสั้มที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสแบบฟอกสี (KSG) (A) และไม่ฟอกสี (KBSG) (B) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 30 และ 45	32
6	ค่าพีเอช (A) และปริมาณกรดทั้งหมด (B) ระหว่างการหมักของกุ้งสั้มที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสแบบฟอกสี (KSG) และไม่ฟอกสี (KBSG) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 30 และ 45	33
7	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (A) และแบคทีเรียแลกติก (B) ระหว่างการเก็บรักษากุ้งสั้มที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น	38
8	จำนวนยีสต์และราระหว่างการเก็บรักษากุ้งสั้มที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น	39
9	ค่าพีเอช (A) และปริมาณกรดทั้งหมด (B) ระหว่างการเก็บรักษากุ้งสั้มที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น	40

ผลของเกลือและซูโครสต่อการหมักและการยอมรับของกุ้งส้มที่ผลิตจากกุ้งขาว

Effect of Salt and Sucrose on Fermentation and Acceptability of *Kung-Som* Produced from Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

คำนำ

การหมักเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารจากสัตว์น้ำวิธีหนึ่ง ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีคุณลักษณะเฉพาะตัว ด้านเนื้อสัมผัส กลิ่นรส ปัจจุบันอาหารหมักจากสัตว์น้ำได้รับความนิยมจากผู้บริโภคเพิ่มขึ้น เนื่องจากเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงอุดมไปด้วยสารอาหารต่างๆ เช่น โปรตีน วิตามิน และ มีปริมาณไขมันต่ำ (Steinkraus, 1997) รวมทั้งกิจกรรมการเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชัน (Faithong *et al.*, 2010) กระบวนการผลิตอาหารหมักเป็นวิธีการถนอมอาหารที่มีต้นทุนการผลิตต่ำและใช้พลังงานน้อยทำให้อายุการเก็บรักษาอาหารนานขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มความปลอดภัยต่อผู้บริโภค (Lee, 1997) โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์น้ำ แบ่งได้ 2 กลุ่ม ได้แก่ อาหารหมักจากสัตว์น้ำที่มีการเติมเกลือปริมาณมาก (ร้อยละ 20-30 โดยน้ำหนัก) และอาหารหมักจากสัตว์น้ำที่มีการเติมเกลือปริมาณน้อย (ร้อยละ 3-10 โดยน้ำหนัก) ร่วมกับการเติมคาร์โบไฮเดรต (Cook *et al.*, 1987) อาหารหมักประเภทนี้มักอาศัยการเจริญของแบคทีเรียแลคติกซึ่งสามารถสร้างกรดอินทรีย์จากคาร์โบไฮเดรตระหว่างการหมักอาหาร จึงมีผลทำให้ค่าพีเอชของอาหารลดลง สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค และจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย นอกจากนี้ระหว่างการหมักอาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมี กายภาพ ซึ่งเป็นผลมาจากกิจกรรมของเอนไซม์จากอาหารและจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของอาหาร เช่น เกิดกลิ่นรสและเนื้อสัมผัสเฉพาะตัว เป็นต้น

กุ้งส้มเป็นอาหารหมักพื้นเมืองที่นิยมบริโภคบริเวณแถบภาคใต้ของประเทศไทย โดยทั่วไปกุ้งส้มผลิตจากกุ้งทะเล ผสมด้วยเกลือ น้ำตาลและ/หรือน้ำข้าวข้าว และน้ำ บรรจุขวดหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์จากธรรมชาติที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7-10 วัน จนกระทั่งเกิดรสเปรี้ยว และกลิ่นหอม เนื้อสัมผัสมีความแน่นเพิ่มขึ้น กุ้งสำหรับการผลิตกุ้งส้ม ได้แก่ กุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguensis*) และกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) กุ้งส้มจัดเป็นอาหารหมักจากสัตว์น้ำที่มีการเติมเกลือปริมาณน้อยร่วมกับคาร์โบไฮเดรต จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญระหว่างหมักได้แก่ *Lactobacillus plantarum* *Saccharomyces* spp. และ *Candida* sp. (Phitakpol, 1995) แบคทีเรียแลคติกสร้างกรดอินทรีย์จากน้ำตาลระหว่างหมัก มีผลทำให้ค่าพีเอชของกุ้งส้มลดลง โดยทั่วไป

กุ้งส้มทางการค้ามีค่าพีเอช 3.71 - 3.89 (Faithong *et al.*, 2010) ซึ่งค่าพีเอชของกุ้งส้มสามารถบ่งชี้ถึงความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ได้ การผลิตอาหารหมักพื้นบ้านมักอาศัยการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับวัตถุดิบและสภาวะสิ่งแวดล้อมเป็นหลัก ทำให้คุณภาพและกลิ่นรสที่ได้มีความแปรผันมากเนื่องจากชนิดของเชื้อจุลินทรีย์สำหรับการหมักแต่ละครั้งแตกต่างกัน ซึ่งหากอยู่ในสภาพที่ไม่เหมาะสมจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพลดลง ลักษณะเนื้อสัมผัส และกลิ่นรสของอาหารหมักจะมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการพัฒนาคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารหมักเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

การลดลงของค่าพีเอชและการสร้างกรดอินทรีย์ (กรดแลกติก) โดยแบคทีเรียแลกติก ระหว่างการหมักอาหารเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการถนอมอาหาร (Riebrooy *et al.*, 2004) ค่าพีเอชของอาหารหมักควรต่ำกว่า 5-4.5 เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารหมักจากสัตว์น้ำ (Owens and Mendoza, 1985) อย่างไรก็ตาม เนื้อสัตว์น้ำมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตน้อย (น้อยกว่าร้อยละ 0.5) ดังนั้นการหมักสัตว์น้ำควรเติมส่วนประกอบกลุ่มคาร์โบไฮเดรต เพื่อเป็นสารอาหารสำหรับการเจริญของแบคทีเรียแลกติก นอกจากนี้การเติมเกลือในอาหารมีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (Jay, 1992) ทั้งนี้ข้อมูลเกี่ยวกับการศึกษาผลของปริมาณเกลือและน้ำตาลซูโครสต่อการหมักกุ้งส้มยังคงมีน้อย ดังนั้นการศึกษาผลของปริมาณเกลือและน้ำตาลซูโครสต่อการหมักกุ้งส้ม คุณค่าทางโภชนาการ และการยอมรับของกุ้งส้ม ตลอดจนอายุการเก็บรักษาสามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการใช้ประโยชน์ด้านการพัฒนากระบวนการผลิตกุ้งส้มให้มีคุณภาพสม่ำเสมอ และได้รับการยอมรับรวมทั้งความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของปริมาณเกลือต่อการหมักและการยอมรับกุ้งส้ม
2. เพื่อศึกษาผลของชนิดและปริมาณน้ำตาลชูโครสต่อการหมักและการยอมรับกุ้งส้ม
3. เพื่อศึกษาคุณภาพและคุณค่าทางโภชนาการของกุ้งส้ม
4. เพื่อศึกษาความคงตัวและการยอมรับของกุ้งส้มระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น

การตรวจเอกสาร

กุ้งขาว

ลักษณะทั่วไป

กุ้งขาวแวนนาไม (Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*) เป็นสายพันธุ์กุ้งทะเลที่มีการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย เช่น สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก กัวเตมาลา นิการากัว คอสตาริกา ปานามา โคลัมเบีย เอกวาดอร์ และเปรู กุ้งสายพันธุ์นี้เป็นสัตว์ที่มีความแข็งแรง ทนทาน จึงมีการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติได้กว้างไกลในแถบแนวชายฝั่งตะวันออกของมหาสมุทรแปซิฟิก ตั้งแต่เม็กซิโกถึงเปรู เนื่องจากภูมิภาคในแถบนี้ที่ระดับความลึกจากเส้นแนวชายฝั่งลงไปประมาณ 72 เมตร หรือ 235 ฟุต มีพื้นท้องทะเลเป็นเหมือนโคลน (Muddy bottom) ที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตและเป็นแหล่งอาหารที่อุดมสมบูรณ์ ประเทศเอกวาดอร์เป็นประเทศผู้ผลิตรายใหญ่ที่มีฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้งลูกกุ้ง พ่อ-แม่พันธุ์กุ้งสายพันธุ์นี้ (ปิยะบุตร, 2545) กุ้งขาวแวนนาไม มี 8 ปล้องตัว ลำตัวสีขาว หน้าอกใหญ่ การเคลื่อนไหวเร็ว ส่วนหัวมี 1 ปล้อง มีกรืออยู่ในระดับยาวประมาณ 0.8 เท่าของความยาวเปลือก หัวสั้นกริสสูง ปลายกริแคบ ส่วนของกริมีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมมีสีแดงอมน้ำตาล กริด้านบนมี 8 ฟัน กริด้านล่างมี 2 ฟัน ร่องบนกริมองเห็นได้ชัด เปลือกหัวสีขาวอมชมพูถึงแดง ขาดินมีสีขาวเป็นลักษณะที่โดดเด่น หนวดแดง 2 เส้นยาว ตาแดงเข้ม ส่วนตัวมี 6 ปล้อง เปลือกตัวสีขาวอมชมพูถึงแดง เปลือกบาง ขาววายน้ำ 5 คู่ มีสีขาวข้างในที่ปลายมีสีแดง ส่วนหางมี 1 ปล้อง ปลายหางมีสีแดงเข้ม แพนหางมี 4 ใบ และ 1 กริหาง (ภาพที่ 1) ขนาดตัวที่โตสมบูรณ์เต็มที่ของกุ้งสายพันธุ์นี้จะมีขนาดเล็กกว่ากุ้งกุลาดำ โดยความยาวจากกริหัวถึงปลายกริหาง 230 มิลลิเมตร น้ำหนักตัวเฉลี่ย 120 กรัม หากินทุกระดับความลึกของน้ำ ชอบว่ายน้ำต่อน้ำแก่ ลอกคราบเร็วทุก ๆ สัปดาห์ ไม่หมกตัว เป็นกุ้งที่เลี้ยงได้ทั้งในระบบธรรมชาติและระบบกึ่งหนาแน่นโดยมีระดับน้ำประมาณ 1.0-1.5 เมตร (กมลศิริ, 2547)



ภาพที่ 1 ลักษณะของกุ้งขาวแวนนาไม

ที่มา: กมลศิริ (2547)

องค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบที่สำคัญของกุ้งหรือสัตว์น้ำทั่วไปนั้นประกอบด้วย น้ำ โปรตีน และไขมันซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้จะมีประมาณร้อยละ 98 ของน้ำหนักเนื้อทั้งหมด องค์ประกอบเหล่านี้มีผลต่อคุณค่าทางโภชนาการ สมบัติเชิงหน้าที่ คุณภาพด้านประสาทสัมผัส และอายุการเก็บรักษา สำหรับองค์ประกอบอื่นๆ เช่น คาร์โบไฮเดรต วิตามิน และเกลือแร่มีปริมาณเล็กน้อย แต่มีความสำคัญต่อกลิ่นรสและคุณค่าทางโภชนาการของกุ้ง ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของกุ้งเปลี่ยนแปลงตามชนิด ระยะเวลาเจริญเติบโต และสภาวะทางโภชนาการของสัตว์น้ำ (สุทรวัดน์, 2548; Sikorski *et al.*, 1990)

Sriket *et al.* (2007) รายงานว่า กุ้งขาวมีปริมาณโปรตีนและไขมันมากกว่ากุ้งกุลาดำ (ตารางที่ 1) นอกจากนี้กุ้งขาวมีปริมาณไขมันต่ำกว่ากุ้งกุลาดำ เนื้อกุ้งมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง เช่น Eicosapentaenoic acid (20:5 *n*3, EPA) และ Docosahexaenoic acid (22:6 *n*3, DHA) (Feliz *et al.*, 2002) นอกจากนี้เนื้อกุ้งยังมีแร่ธาตุสำคัญ เช่น แคลเซียม (Yanar and Celik, 2006) เป็นต้น อย่างไรก็ตามความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีของกุ้งขึ้นกับระยะเวลาเจริญอาหาร ความหนาแน่นของกุ้งในบ่อเพาะเลี้ยง และคุณภาพน้ำ รวมทั้งฤดูกาล (Cruz-Suarez *et al.*, 1993; Sikorski *et al.*, 1990; Yanar *et al.*, 2004) ทั้งนี้จะส่งผลกระทบต่อความแตกต่างด้านคุณค่าทางโภชนาการ คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสและอายุการเก็บรักษาของกุ้ง

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อจากกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำ

องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก)	กุ้งขาว (<i>Penaeus vannamei</i>)	กุ้งกุลาดำ (<i>Penaeus monodon</i>)
ความชื้น	77.21	80.47
เถ้า	1.47	0.95
โปรตีน	18.8	17.1
ไขมัน	1.30	1.23

ที่มา: คัดแปลงจาก Sriket *et al.* (2007)

สุทธรวัฒน์ (2548) กล่าวว่าคอลลาเจนจากกุ้งประกอบด้วยทริปโตเฟนในระดับสูง คอลลาเจนในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรตปริมาณสูง ส่วนใหญ่ประกอบด้วยน้ำตาลอราบินโนส ไฮโลส และไรโบส โดยคาร์โบไฮเดรตเหล่านี้จะจับกับไฮดรอกซีไลซีนเกิดเป็นไกลโคซิลิกาเล็กโทซิล และไฮดรอกซีไลซีน (Glucosylgalactosylhydroxylysine) กุ้งประกอบด้วยคอลลาเจนกลุ่มหลัก คือ type AR-1 ซึ่งมี 2 รูปแบบ คือ $[\alpha 1(\text{AR}-1)]_3$ หรือ $[\alpha 1(\text{AR}-1)]_2 \alpha 2(\text{AR}-1)$ หรือ $\alpha 1(\text{AR}-1) [\alpha 2(\text{AR}-1)]_2$ ซึ่งมีชื่อเรียกว่า type AR-1a AR-1b และ AR-1c ตามลำดับ นอกจากนี้กุ้งประกอบด้วยคอลลาเจนอีกกลุ่มซึ่งพบปริมาณน้อย คอลลาเจนกลุ่มนี้ประกอบด้วยพันธะไดซัลไฟด์ และคอลลาเจนเหล่านี้ มีกรดอะมิโนในโครงสร้างแตกต่างกันเล็กน้อย

กุ้งส้ม

คุณลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีของกุ้งส้ม

โดยทั่วไปอาหารหมักจากเนื้อสัตว์ที่มีการเติมเกลือร่วมกับน้ำตาลหรือแหล่งคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ มีคุณลักษณะเฉพาะตัว คือ รสชาติเปรี้ยว เนื่องจากการผลิตกรดแลกติกโดยแบคทีเรียแลกติกทั้งนี้รสชาติเปรี้ยวมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับระยะเวลาการหมัก (บุหลัน และ ทัดนี, 2538) กุ้งส้มเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำกุ้งน้ำจืดหรือกุ้งน้ำเค็มขนาดเล็กถึงปานกลางมาล้างให้สะอาด โดยอาจใช้ทั้งตัวหรือตัดหัวออก นำมาผสมกับน้ำที่ได้จากการต้มข้าว น้ำแป้งสุก และเครื่องปรุง เช่น เกลือ น้ำตาลทรายหรือน้ำตาลโตนด (Phitakpol *et al.*, 1995) หมักในระยะเวลาที่เหมาะสมจนเกิดรสเปรี้ยว กุ้งส้มมักผลิตจากกุ้งทะเลหลายชนิด เช่น กุ้งกลุ่ม *Acetes* spp. หรืออาจเป็นชนิดอื่นๆ โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักกุ้งส้มได้แก่ *Pediococcus halophilus* *Bacillus* sp. และ *Pichia* sp.

Hwanhlem *et al.* (2010) รายงานว่า จุลินทรีย์ที่แยกได้จากกึ่งสัสมได้แก่ แบคทีเรียแลคติกซึ่งบางสายพันธุ์จัดอยู่ในกลุ่มโพรไบโอติก กึ่งสัสมมีค่าพีเอช อยู่ในช่วง 3.8-5.6 อย่างไรก็ตาม กึ่งสัสมที่ผ่านการหมักแล้วมีรสเปรี้ยว เค็ม และหวาน (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, 2548)

Faithong *et al.* (2010) รายงานว่า กึ่งสัสมทางการค้ามีปริมาณความชื้นระหว่าง ร้อยละ 73.35 – 80.81 โปรตีนร้อยละ 6.38 – 7.21 ไขมันร้อยละ 0.11 – 7.21 และเกลือร้อยละ 2.47 – 3.81 กึ่งสัสมมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 6.39 - 15.75 ซึ่งเป็นแหล่งสารอาหารสำหรับแบคทีเรียแลคติก

Faithong *et al.* (2010) รายงานเพิ่มเติมว่า กึ่งสัสมทางการค้ามีค่าพีเอชระหว่าง 3.71 – 3.89 ซึ่งจัดเป็นอาหารที่มีความเป็นกรด เนื่องจากกรดแลคติกที่เกิดขึ้นจากการหมักโดยแบคทีเรียแลคติก กึ่งสัสมที่มีค่าพีเอชต่ำ มีผลทำให้เกิดการย่อยสลาย (Hydrolysis) ของโปรตีนไมโอไฟบริล (Myofibrillar proteins) เกิดเป็นเปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระ ซึ่งมีความสามารถเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชัน (Antioxidant) (Faithong *et al.*, 2010)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีและค่า pH ของกึ่งสัสมทางการค้า

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (ร้อยละ)
ความชื้น	73.35 - 80.71
โปรตีน	6.38 - 7.21
ไขมัน	0.11 - 0.15
เกลือ	4.41 - 5.00
คาร์โบไฮเดรต	6.39 - 15.75
เกลือ (โซเดียมคลอไรด์)	2.81 - 3.47
ค่า pH	3.71 - 3.89

ที่มา: คัดแปลงจาก Faithong *et al.* (2010)

การผลิตและส่วนประกอบกุ้งส้ม

การผลิตกุ้งส้ม

กุ้งส้มจัดเป็นอาหารหมักที่ผลิตจากกุ้งทะเลหรือกุ้งน้ำจืดขนาดเล็กถึงปานกลาง นำมาผสมกับเกลือ น้ำตาลทราย น้ำตาลโตนด หรือน้ำข้าวข้าว และเครื่องปรุงรสอื่น ๆ จากนั้นบรรจุส่วนผสมในภาชนะปิดสนิท และหมักทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส) ระยะเวลา 7-10 วัน กุ้งส้มที่ผ่านการหมักแล้วมีรสชาติเปรี้ยว เค็ม เนื้อแน่น สีส้ม การบริโภคกุ้งส้มมักเป็นแบบปรุงสุกและไม่ปรุงสุก และนิยมรับประทานร่วมกับอาหารมื้อหลัก

ส่วนประกอบการผลิตกุ้งส้ม

กุ้ง

กุ้งส้มส่วนใหญ่ผลิตจากกุ้งตะกาด (*Acetes spp.*) นอกจากนี้ยังอาจนำกุ้งน้ำจืด เช่น กุ้งฝอย มาผลิตเป็นกุ้งส้ม ซึ่งส่วนใหญ่กุ้งเหล่านี้ได้มาจากการเพาะเลี้ยงและการทำประมง และมักเป็นกุ้งขนาดเล็กจนถึงปานกลาง

เกลือ

โดยทั่วไปการผลิตกุ้งส้ม มีการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ประมาณ ร้อยละ 5 - 7 Faithong *et al.* (2010) รายงานว่า กุ้งส้มทางการค้ามีปริมาณเกลือร้อยละ 2.81 - 3.74 การเติมเกลือมีผลต่อรสชาติ และมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิด โดยการลดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (A_w) ในอาหาร และการแตกตัวของคลอไรด์ไอออน (Raccach and Planck, 1985) นอกจากนี้เกลือยังมีผลต่อการเพิ่มความสามารถในการละลายของโปรตีนกล้ามเนื้อ (Peterson *et al.*, 1988)

น้ำตาล

การผลิตกุ้งส้มมักนิยมเติมน้ำตาลโตนด หรือน้ำตาลทรายเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตสำหรับการเจริญของแบคทีเรียแลกติก น้ำตาลทรายหรือน้ำตาลซูโครส (Sucrose) เป็นน้ำตาลที่วางจำหน่ายทั่วไป โมเลกุลของน้ำตาลซูโครสประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์ 2 โมเลกุล คือ น้ำตาล

กลูโคส และน้ำตาลฟรุคโตส ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -(1 $\rightarrow$ 2) ทำให้ไม่มีหมู่แอลดีไฮด์และหมู่คีโตนอิสระ น้ำตาลซูโครส จึงไม่จัดเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลซูโครสไม่คงตัวในสารละลายที่มีความเป็นกรด ซึ่งจะถูกไฮโดรไลซ์เป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุคโตส (นิธิยา, 2545) น้ำตาลซูโครส หรือแซคคาไรส (Saccharose) ผลิตจากอ้อยและบีท ปัจจุบันน้ำตาลทรายมีทั้งแบบฟอกสีและไม่ฟอกสี คุณภาพของน้ำตาลทรายแบ่งได้ตามสีโดยเริ่มจากสีเหลืองอ่อนจนถึงสีน้ำตาลเข้ม (Bemeller and Whistler, 1996) มีการนำน้ำตาลมาใช้ในการผลิตอาหารเพื่อรสชาติหวาน และนอกจากนี้ยังนำมาใช้ประโยชน์เพื่อเป็นตัวเพิ่มปริมาณ (Bulking agent) คัดแปลงเนื้อสัมผัสช่วยในการถนอมอาหาร และเป็นสารอาหารสำหรับการหมัก (Bemeller and Whistler, 1996)

บทบาทของแบคทีเรียแลคติกะหว่างการหมักอาหาร

จุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria) มีบทบาทสำคัญต่อการผลิตอาหารหมักที่มีการเติมเกลือปริมาณต่ำร่วมกับคาร์โบไฮเดรต ระหว่างการหมักอาหาร แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติกจากคาร์โบไฮเดรต ปริมาณกรดแลคติกที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักมีผลทำให้ค่าพีเอชลดลง มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในอาหารหมัก นอกจากนี้การลดลงของค่าพีเอชยังมีผลต่อสมบัติการอุ้มน้ำของโปรตีนกล้ามเนื้อ กรดอินทรีย์มีผลต่ออาหารหมักจากเนื้อสัตว์ทั้งด้านความปลอดภัยและด้านคุณภาพทางประสาทสัมผัส (Charlier *et al.*, 2009) ซึ่งเป็นผลมาจากการเจริญของแบคทีเรียแลคติกที่มีการใช้สารอาหารคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน ทำให้ปริมาณน้ำตาลและค่าพีเอชลดลงรวมทั้งเกิดสารประกอบที่ให้อroma (Hammes *et al.*, 1990; Roca and Incze, 1990) นอกจากนี้การลดลงของค่าพีเอชยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์

แบคทีเรียแลคติก เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญต่อการเกิดกลิ่นรสเฉพาะของผลิตภัณฑ์อาหารหมักประเภทเนื้อ เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่สร้างสปอร์ ลักษณะเซลล์เป็นเม็ดกลมหรือแท่ง การจัดเรียงตัวของเซลล์จะเรียงต่อกันยกเว้น *Pediococcus* ที่ต่อกันเป็นคู่มี 2 ระบาย ไม่สร้างเอนไซม์คะตาเลส (Catalase) แบคทีเรียแลคติก บางสายพันธุ์สามารถสร้างซูโดคะตาเลส (Pseudocatalase) ซึ่งพบเมื่อเจริญในอาหารที่มีปริมาณน้ำตาลน้อย เซลล์ไม่เคลื่อนที่ เจริญได้ดีในสภาวะไม่มีออกซิเจนแต่สามารถทนออกซิเจนได้ ระหว่างการหมักน้ำตาลแบคทีเรียแลคติกจะสร้างกรดแลคติก กรดที่ระเหยได้ พร้อมกับคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งแบคทีเรียแลคติก สามารถแบ่งออกได้ 12 กลุ่ม ดังนี้

1. สกุล *Streptococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 - 1.2 ไมครอน จัดเป็น Heterofermentative จัดเรียงตัวกันเป็นสายโซ่หรือคู่ ผลิตรกรดแลกติก ชนิด L (+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักเท่านั้นจากการหมักกลูโคส ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญ มีหลายสปีชีส์ เป็นปรสิตในคนหรือสัตว์ บางสปีชีส์สามารถทำให้เกิดโรคได้ เจริญที่อุณหภูมิ 20-41 องศาเซลเซียส ปัจจุบันประกอบด้วย 39 สปีชีส์ มี mol% G+C ระหว่าง 34 -46% (Hardie and Whiley, 1995)

2. สกุล *Vagococcus* เป็นแบคทีเรียกรดแลกติกซึ่งเคลื่อนที่ได้ (ไม่ทุกสายพันธุ์) ประกอบด้วย 2 สปีชีส์คือ *Vagococcus fluvialis* ซึ่งเดิมอยู่ใน streptococci กลุ่ม N และ *V. salmoninarum* ซึ่งแยกได้จากปลาแซลมอนที่เป็นโรค (Stiles and Holzapfel, 1997)

3. สกุล *Lactococcus* เป็นแบคทีเรียแลกติกเซลล์มีรูปร่างกลม หรือรูปไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 -1 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่หรือต่อกันเป็นสายโซ่ ผลิตรกรดแลกติก ชนิด L (+) จากการหมักกลูโคส มักใช้เป็นก้ำเชื้อในผลิตภัณฑ์นมสามารถเจริญได้ที่ 10 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่ 45 องศาเซลเซียส พบในแหล่งต่าง ๆ เช่น ผักกาด ถั่ว หนุ่ย มันฝรั่ง น้านมดิบ ปัจจุบันประกอบด้วย 5 สปีชีส์ ได้แก่ *Lc. lactis* spp. *lactic*, *Lc. lactis* spp. *cremoris*, *Lc. lactis* spp. *hordniae*, *Lc. garvieae*, *Lc. plantarum*, *Lc. raffinolactis* และ *Lc. piscium* มี mol % G + C ระหว่าง 34 – 43 % (Teuber, 1995)

4. สกุล *Enterococcus* เซลล์มีรูปไข่ จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว หรือสายโซ่สั้นๆ ผลิตรกรดแลกติกชนิด L (+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักเท่านั้นจากการหมักกลูโคส ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญสามารถเจริญที่ 10 หรือ 45 องศาเซลเซียส บางสายพันธุ์ผลิตเอนไซม์ซูโดเคตาเลสได้และบางสปีชีส์ทำให้เกิดโรค ปัจจุบันประกอบด้วย สปีชีส์ ได้แก่ กลุ่ม *Enterococcus faecalis*, กลุ่ม *Ent. avium*, กลุ่ม *Ent. gallinarum* และกลุ่ม *Ent. cecorum* มี mol % G + C ระหว่าง 37-40 % (Devriese and Pot, 1995)

5. สกุล *Pediococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.36–1.43 ไมครอน แบ่งตัวลักษณะ 2 ทิศทางบนระนาบเดียวกัน โดยแบ่งตัวครั้งที่ 2 ในทิศด้านขวามือของครั้งแรกทำให้เกิดลักษณะเฉพาะเป็นเซลล์ 4 เซลล์ติดกันคล้ายจัตุรัส (Tetrad formation) ในสภาวะไม่มีอากาศผลิตรกรดแลกติก ชนิด DL และ L (+) จากการหมักกลูโคส บางสปีชีส์ทำให้เบียร์และไวน์เสีย ปัจจุบันประกอบด้วย 6 สปีชีส์ ได้แก่ *Pediococcus acidilactici*, *P. damonosus*, *P. dextrinicus*, *P. inopinatus*, *P. parvulus*, และ *P. pentosaceus* (Stiles and Holzapfel, 1997)

6. สกุล *Tetragenococcus* มีลักษณะการแบ่งตัวเหมือน *Pediococcus* เนื่องจากเดิม คือ สปีชีส์ *P. halophilus* ซึ่งจัดจำแนกใหม่จากการเจริญในอาหารซึ่งมีเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 18 % และมีลำดับเบสบน 16s rRNA ใกล้เคียงกับเชื้อสกุล *Enterococcus* และ *Carnobacterium*

7. สกุล *Aerococcus* มีลักษณะการแบ่งตัวเหมือน *Pediococcus* ประกอบด้วย 2 สปีชีส์ คือ *Aerococcus viridians* และ *A. urinae* ซึ่งเปลี่ยนแปลงจาก *P. homari* และ *P. urinae-equi* ตามลำดับ โดย *A. viridians* ทำให้กึ่งลอบสเตอร์เกิดโรคและเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในคน (Stiles and Holzapfel, 1997)

8. สกุล *Leuconostoc* เชลล์มีพื้นฐานขึ้นกับอาหารเลี้ยงเชื้อในอาหารซึ่งมีกลูโคสเชลล์มีลักษณะยีสต์ออกคล้ายกลุ่ม *Lactobacilli* แต่ในน้ำนมเชลล์จะมีรูปร่างกลม การจัดเรียงตัวเป็นเชลล์เดี่ยวอยู่เป็นคู่ หรือเป็นสายโซ่สั้นถึงปานกลาง ผลิตรกรดแลคติกชนิด D (-) เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ และสารหอมระเหยจากการหมักกลูโคส จัดเป็นกลุ่ม Heterofermentative จึงช่วยสร้างกลิ่นรสในอาหารหมักดอง การเจริญต้องการสารอาหารสูงปัจจุบันประกอบด้วย 8 สปีชีส์ *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuc. lactis* *Leuc. gelidum* *Leuc. Carnosum*, *Leuc. pseudomesenteroides*, *Leuc. citreum*, *Leuc. argentinum* และ *Leuc. fallax* (Stiles and Holzapfel, 1997) มี mol % G + C ระหว่าง 37-40 % (Dellaglio et al., 1995)

9. สกุล *Oenococcus* ประกอบด้วยสปีชีส์เดียวคือ *Oenococcus oeni* ซึ่งเปลี่ยนมาจาก *Leuc. oenos* ด้วยสมบัติการทนต่อกรดและเอทานอลปริมาณสูง รวมทั้งข้อมูลพันธุกรรมจากดีเอ็นเอ: ดีเอ็นเอไฮบริไดเซชันและลำดับเบสของ 16s rRNA ต่างจากสปีชีส์อื่นในสกุล *Leuconostoc* อย่างชัดเจน (Dellaglio et al., 1995)

10. สกุล *Weissella* ประกอบด้วยแบคทีเรีย 7 สปีชีส์ ซึ่งลักษณะคล้าย *Leuconostoc* (*leuconostoc* – like bacteria) รูปร่างเชลล์เป็นแท่งและกลม มีสปีชีส์ซึ่งเดิมอยู่ในสกุล *Leuconostoc* และ *Lactobacillus* คือ *Leuc. paramesenteroides* (*Weissella paramesenteroides*) *Lactobacillus confusus* (*W. confusus*) *Lb. halotolerans* (*W. halotolerans*) *Lb. kandleri* (*W. kandleri*) *Lb. minor* (*W. minor*) *Lb. viridescens* (*W. viridescens*) และสปีชีส์ใหม่ซึ่งแยกได้จากไส้กรอกหมัก คือ *W. hellenica* (Stiles and Holzapfel, 1997)

11. สกุล *Lactobacillus* เป็นแบคทีเรียแลคติกกลุ่มใหญ่ที่สุด มีความหลากหลายของลักษณะทางฟีโนไทป์สมบัติทางชีวเคมีและสรีระ เนื่องจากความแตกต่างของ mol % G+C

ภายในสกุลสูง คือระหว่างร้อยละ 32- 53 (Axelsson, 1998) พบในแหล่งต่างๆ เช่น เยื่อเมือกของมนุษย์ และสัตว์ พืช และน้ำทิ้ง เป็นต้น บางสปีชีส์เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในมนุษย์ (Adams, 1999) เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนหรือทรงรี (Coccobacilli) ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญประกอบด้วย 55 สปีชีส์ ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม (Stiles and Holzapfel, 1997) คือ กลุ่ม Obligately homofermentative lactobacilli หมักน้ำตาลแลคโทส (มากกว่า 85 %) เป็นกรดแลกติกโดยวิธี Embden -Meyerhof -Parnas (EMP) ผลิตเอนไซม์ 1,6 biphosphate-aldolase แต่ไม่ผลิตเอนไซม์ phosphoketolase จึงไม่สามารถหมักน้ำตาลเพนโทส และกลูโคเนทได้ ประกอบด้วย 18 สปีชีส์ กลุ่ม Facultatively heterofermentative lactobacilli หมักน้ำตาลเฮกโซส เป็นกรดแลกติกผ่านวิธี EMP มีการผลิตเอนไซม์ทั้ง aldolase และ phosphoketolase จึงหมักน้ำตาลเพนโทสได้ กลุ่ม Obligately heterofermentative lactobacilli หมักน้ำตาลเฮกโซส และเพนโทส ผ่านวิธี ฟอสโฟกลูโคเนทเป็น แลคเตท เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ ประกอบด้วย 19 สปีชีส์

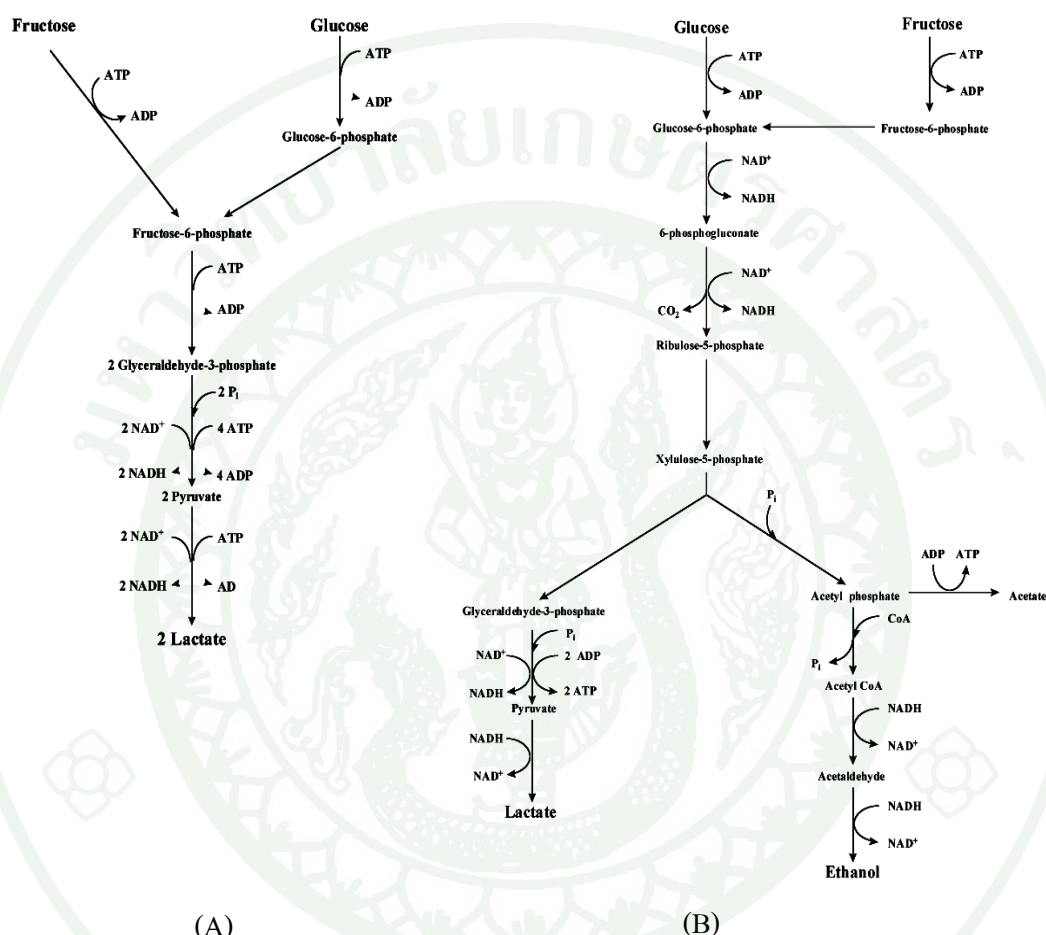
12. สกุล *Carnobacterium* เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนตรงขนาดสั้นถึงปานกลางหรือเป็นท่อนเรียว (Slender rod) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.7 ไมครอน และยาว 1.1-3.0 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเชลล์เดี่ยวหรือคู่ มักไม่พบการเรียงเป็นสายโซ่ผลิตกรดแลกติก ชนิด L (+) คาร์บอนไดออกไซด์ อะซิเตท และเอทานอลจากการหมักน้ำตาลเฮกโซส ประกอบด้วย 6 สปีชีส์ คือ *Carnobacterium divergens*, *C. piscicola*, *C. mobile*, *C. funditum* และ *C. alterfunditum* มี mol % G+C ระหว่าง 31.6 - 37.2 % (Stiles and Holzapfel, 1997)

นอกจากนี้แบคทีเรียแลกติกสามารถแบ่งออกได้ 2 กลุ่ม ตามรูปแบบการใช้อาหารและการผลิตสารระหว่างการหมัก ได้แก่ (Reddy *et al.*, 2008)

1. โฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (Homofermentative) เป็นแบคทีเรียแลกติกที่ผลิตกรดแลกติกได้ประมาณร้อยละ 85 หรือมากกว่าจากน้ำตาลกลูโคส แต่ไม่สร้างแก๊ส อย่างไรก็ตามอาจเกิดการสร้างแก๊สจากกลูโคเนท การหมักน้ำตาลไรโบสเกิดกรดแลกติก และกรดอะซิติกไม่ต้องการไทอะมิน (Thiamine) ในการเจริญ และสร้างเอนไซม์เอนโดเลส สามารถเจริญได้ที่ 45 องศาเซลเซียส และ 15 องศาเซลเซียส แบคทีเรียแลกติกกลุ่มนี้ ได้แก่ *Lactobacillus sake* *L. acidilactici* และ *L. casei* เป็นต้น

2. เฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (Heterofermentative) เป็นแบคทีเรียแลกติกที่ผลิตกรดแลกติก แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และแอลกอฮอล์ หรือผลิตแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์อย่างเดียว

การหมักทั้ง 2 แบบทำให้ได้ผลิตภัณฑ์แตกต่างกัน (ภาพที่ 2) การหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททิฟจะมีเอนไซม์เอนโคเลสเป็นตัวบ่งชี้ในกระบวนการไกลโคไลซิส (Glycolysis) ในขณะที่การหมักแบบเฮเทอโรเฟอร์เมนเททิฟจะไม่มีการสร้างเอนไซม์ดังกล่าว (McDonal *et al.*, 1987)



ภาพที่ 2 การหมักน้ำตาลโดยแบคทีเรียแลคติกกลุ่มโฮโมเฟอร์เมนเททิฟ (A) และเฮเทอโรเฟอร์เมนเททิฟ (B)

ที่มา: McDonal *et al.* (1987)

โดยทั่วไประหว่างการเจริญของแบคทีเรียแลคติก ไพรูเวตจะเป็นตัวรับไฮโดรเจนและทำให้เกิดการหมัก โดยเปลี่ยนกลูโคสเป็นกรดแลคติก อย่างไรก็ตามหากแบคทีเรียแลคติกเจริญภายใต้สภาวะมีออกซิเจน จะเกิดการถ่ายเทอิเล็กตรอนผ่านฟลาโวโปรตีน (Flavoprotein) ไปยังออกซิเจน ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย ทำให้เกิดน้ำหรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂) และสารประ

กอบแอนติไบโอติก (Antibiotic compound) แบคทีเรียโอซิน (Bacteriocin) เป็นผลิตภัณฑ์เมตาบอไลต์ (Metabolite product) จากแบคทีเรียแลคติกบางชนิด แบคทีเรียโอซินเป็นโพลีเปปไทด์ที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial polypeptides) โดยด้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกที่มีสายพันธุ์ใกล้เคียง แบคทีเรียโอซินจัดเป็นสารประกอบในกลุ่มที่ได้รับการยอมรับว่าปลอดภัย (Generally Recognized as Safe, GRAS) และผลิตได้จากธรรมชาติจึงสามารถใช้กับอาหารได้ ส่วนแบคทีเรียแกรมลบซึ่งจัดเป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจะถูกยับยั้งการเจริญโดยกรดอินทรีย์

Hwanhlem *et al.* (2010) รายงานว่า แบคทีเรียที่แยกได้จากกุ่มส้มและจัดเป็นโพรไบโอติก ได้แก่ *Lactobacillus plantarum* สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด เช่น *Staphylococcus aureus* *Bacillus cereus* *Vibrio parahaemolyticus* และ *Salmonella* spp.

Tanasupawat *et al.* (1998) ได้ทำการศึกษาชนิดของแบคทีเรียแลคติกจากอาหารหมักจากสัตว์น้ำของประเทศไทย เช่น ปลาร้า ปลาจ่อม กุ้งจ่อม และหอยคอง พบว่า แบคทีเรียแลคติก ที่พบในกุ้งจ่อม ได้แก่ *L. pentosus* *L. plantarum* *L. farcuminis* ทั้งนี้กุ้งจ่อมเป็นอาหารหมักที่ผลิตจากกุ้งน้ำจืด มีปริมาณเกลือร้อยละ 3.2 ถึง 9.4 มีค่าพีเอชระหว่าง 3.85 ถึง 4.67

บทบาทของเกลือต่อการหมักอาหาร

เกลือเป็นปัจจัยสำคัญต่อการผลิตอาหารหมักจากสัตว์น้ำ เนื่องจากเกลือสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ต้องการ เช่น จุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย โดยเกลือมีผลต่อการลดค่าวอเตอร์แอกทีวิตีของอาหาร และการเพิ่มแรงดันออสโมติก (Osmotic pressure) ระหว่างการหมักอาหาร ปัจจุบันอาหารที่มีการลดลงของค่าพีเอชเนื่องจากกรดอินทรีย์ ร่วมกับการเติมเกลือจัดเป็นเทคนิคการถนอมอาหารแบบฮาร์ดเดิล (Hurdle technique) อย่างไรก็ตาม ปริมาณเกลือมีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ การเติมเกลือในอาหารเลี้ยงเชื้อน้อยกว่าร้อยละ 6 ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Vibrio* และ *Salmonella* ได้ ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเกลือประมาณร้อยละ 9 พบว่า เชื้อ *Salmonella* สามารถเจริญได้ (Jay, 1992) ระหว่างการหมักอาหารจากสัตว์น้ำแบบเติมเกลือร่วมกับคาร์โบไฮเดรต แบคทีเรียแลคติกสามารถเจริญได้ อย่างไรก็ตามปริมาณเกลือมากเกินไปอาจมีผลต่อการลดอัตราการเจริญของแบคทีเรียแลคติก และส่งผลทำให้การผลิตกรดอินทรีย์ลดลง (Stamer, 1975)

Mares *et al.* (1994) ได้ทำการศึกษาผลของเกลือต่อกิจกรรมของเอนไซม์ heme-dependent catalase ของแบคทีเรียแลกติก พบว่า การเจริญและกิจกรรมของเอนไซม์ heme-dependent catalase จาก *L. sake* และ *L. plantarum* ลดลงเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้น ส่วน *Pediococcus acidilactici* มีกิจกรรมของเอนไซม์ heme-dependent catalase คงที่และลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 7

ผ่องเพ็ญ และ สุภาพรรณ (2532) รายงานว่า สัมปัทม์ที่มีการเติมเกลือร้อยละ 1-2 มีคุณภาพดีกว่าสัมปัทม์ที่มีการเติมเกลือร้อยละ 3-5 ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียแลกติกเจริญได้ดีในสภาพที่มีความเข้มข้นของเกลือต่ำ (ร้อยละ 1-2) และที่อุณหภูมิที่เหมาะสม (28-30 องศาเซลเซียส) โดยมีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน

Abraham และ Rudrasetty (1993) รายงานว่า การผลิตกุ้งหมักโดยการเติมเกลือร้อยละ 8 และการเติมหัวเชื้อ *L. plantarum* ที่ระดับมากกว่า 10^7 เซลล์/กรัม มีผลดีต่อการหมักและคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์กุ้งหมัก ได้แก่ การสร้างกรดและการลดลงของค่าพีเอช และได้ทำการศึกษาผลของเกลือและหัวเชื้อแบคทีเรียแลกติก ต่อการหมักกุ้ง *Parapenaeopsis stylifera* พบว่าปริมาณเกลือมีผลต่ออัตราการเจริญต่อหัวเชื้อแบคทีเรียแลกติก กุ้งหมักที่มีการเติมเกลือร้อยละ 10 ร่วมกับหัวเชื้อแบคทีเรียแลกติกมีค่าพีเอชลดลงช้ากว่ากุ้งหมักที่มีการเติมเกลือร้อยละ 8 ร่วมกับหัวเชื้อแบคทีเรียแลกติก และการหมักแบบธรรมชาติ (ตารางที่ 3) การเติมเกลือปริมาณมากมีผลทำให้แบคทีเรียแลกติกไม่สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลได้ (Adams *et al.*, 1987) การสร้างกรดอย่างรวดเร็วระหว่างการหมักเป็นการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคที่อาจปนเปื้อนมาในวัตถุดิบ เช่น *Staphylococcus aureus* และจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดอื่น ๆ (Zaika and Kissinger, 1984)

ตารางที่ 3 ผลของระดับการเติมหัวเชื้อ (Starter culture) ต่ออัตราการหมักกึ่ง *Parapenaeopsis stylifera*

กล้าเชื้อแบคทีเรีย แลคติก/ความเข้มข้น ของเกลือ (%)	ระยะเวลา การเก็บ รักษา (วัน)	pH			Titratable acidity (ร้อยละของกรดแลคติก)		
		ระดับการเติมหัวเชื้อ			ระดับการเติมหัวเชื้อ		
		(เซลล์/กรัม)			(เซลล์/กรัม)		
		0	10 ⁴	10 ⁷	0	10 ⁴	10 ⁷
a. <i>L. plantarum</i>							
8	0	6.95	7.00	6.90	0.09	0.09	0.09
	15	6.90	6.50	6.25	0.12	0.22	0.26
	30	6.80	6.30	5.85	0.12	0.25	0.40
10	0	6.95	6.90	6.95	0.09	0.09	0.09
	15	ND*	6.80	6.75	ND	0.13	0.14
	30	6.90	6.60	6.40	0.12	0.18	0.23
b. <i>L. acidophilus</i>							
8	0	6.95	7.00	6.90	0.09	0.09	0.09
	15	6.90	6.60	6.30	0.12	0.18	0.25
	30	6.80	6.50	5.95	0.12	0.22	0.38
10	0	6.95	6.95	6.90	0.09	0.09	0.09
	15	ND	6.80	6.70	ND	0.13	0.17
	30	6.90	6.60	6.45	0.12	0.18	0.22

*ND: Not done

ที่มา: คัดแปลงจาก Abraham and Rudrasetty (1993)

บทบาทของน้ำตาลต่อการหมักอาหาร

กระบวนการหมักอาหารแบบเกิดกรดแลคติก แหล่งคาร์โบไฮเดรตส่วนใหญ่เป็นน้ำตาล ซูโครส น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรุคโตส (Bobillo and Marshall, 1991) น้ำตาลโตนด ข้าว และข้าวสาลี (Faithong *et al.*, 2010) การผลิตอาหารหมักเติมน้ำตาลทรายเป็นสารที่ให้รสชาติหวานแก่อาหาร เนื่องจากน้ำตาลทรายหรือน้ำตาลซูโครสวางจำหน่ายอย่างแพร่หลาย จึงทำให้น้ำตาลทราย

เป็นที่นิยมใช้ในการประกอบอาหาร น้ำตาลทรายสามารถแบ่งได้ 2 ชนิด คือ น้ำตาลทรายสีขาวเป็นน้ำตาลที่ผ่านกระบวนการฟอกสี และน้ำตาลทรายสีน้ำตาลเป็นน้ำตาลที่ไม่ผ่านกระบวนการฟอกสี (Matheus *et al.*, 1996) ทั้งนี้ น้ำตาลจัดเป็นสารอาหารตั้งต้นสำหรับการหมักอาหารโดยอาศัยการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในการผลิตกรดอินทรีย์เพื่อทำให้ค่าพีเอชของอาหารลดลง

โดยทั่วไปน้ำตาลที่นิยมใช้ในการผลิตอาหารได้แก่ น้ำตาลทรายหรือน้ำตาลซูโครสซึ่งมีทั้งแบบฟอกสีและไม่ฟอกสี นอกจากนี้อาจมีการใช้น้ำตาลในรูปของน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุกโตสบ้าง แต่คุณสมบัติไม่ดีเท่าซูโครส เพราะจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์สามารถใช้น้ำตาลทั้ง 2 ชนิดนี้ได้อย่างรวดเร็ว และมีผลให้ไมโอโกลบิน เปลี่ยนเป็น เมทไมโอโกลบิน ซึ่งมีผลต่อสีของเนื้อสัตว์ในระหว่างการหมัก (เขาวลัษณ์, 2536)

Cochu *et al.* (2008) รายงานว่าแบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างกรดแลคติกได้จากน้ำตาลซูโครสในอาหารเลี้ยงเชื้อ (20 กรัม/ลิตร) และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 16 ชั่วโมงพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อมีน้ำตาลซูโครสลดลงดังตารางที่ 4 การลดลงของปริมาณน้ำตาลซูโครสอาจเป็นผลมาจากการไฮโดรไลซิสของน้ำตาลโดยแบคทีเรียแลคติก (Riebroy *et al.*, 2008)

Tittsler *et al.* (1952) กล่าวว่า สารละลายคาร์โบไฮเดรตมีความสำคัญต่อ แบคทีเรียสำหรับการสร้างกรดแลคติกซึ่งแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการหมักน้ำตาลต่างชนิดกันทำให้สามารถจำแนกแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ น้ำตาลกลูโคสจัดเป็นคาร์โบไฮเดรตที่แบคทีเรียแลคติกทุกสายพันธุ์สามารถใช้ได้ ทำให้สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่ม homofermentative bacterium และ heterofermentative bacterium โดยกลุ่ม homofermentative สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 ตัวหรือ disaccharides ได้กรดแลคติก ประมาณร้อยละ 95 และน้ำตาลที่เหลือก็เปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ กรดระเหย การสร้างกรดแลคติกนี้เกิดจากกระบวนการ embden-meyerhof pathway ส่วนกลุ่ม heterofermentative bacterium นั้นนอกจากการสร้างกรดแลคติกจากน้ำตาลคาร์บอน 6 ตัวแล้วยังมีกรดอะซิติก เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ และผลิตภัณฑ์อื่นๆอีกหลายชนิด

Prescott และ Dunn (1959) กล่าวว่า การใช้น้ำตาลกลูโคส ของแบคทีเรียแลคติก กลุ่ม heterofermentative bacterium คือ เปลี่ยนกลูโคส 1 โมเลกุล เป็นกรดไพรูวิก 2 โมเลกุลจากนั้นกรดไพรูวิก 1 โมเลกุลเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก ส่วนกรดไพรูวิกอีก 1 โมเลกุลเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก และคาร์บอนไดออกไซด์

ตารางที่ 4 การใช้จุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ต่างๆ หลังจากการหมัก 16 ชั่วโมง

แบคทีเรียแลคติก	จุลินทรีย์ (กรัม/ลิตร)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> AC-3	1.05
<i>Lactobacillus acidophilus</i> R0240	2.41
<i>Lactobacillus helveticus</i> R0052	3.42
<i>Lactobacillus casei</i> AC-8	0.92
<i>Lactobacillus acidophilus</i> AC-10	3.20

ที่มา: ดัดแปลงจาก Cochu *et al.* (2008)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

วัสดุ

1. กุ้งขาว ขนาด 12 เซนติเมตร จากตลาดอมรพันธ์ จังหวัด กรุงเทพมหานคร
2. ส่วนประกอบสำหรับการผลิตกุ้งส้ม ประกอบด้วย น้ำตาลทราย ตรามิตรผล เกลือ (โซเดียมคลอไรด์) ตราพยาบาล
3. อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ประกอบด้วย
 - 3.1 อาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด คือ Plate Count Agar (PCA) (HiMedia)
 - 3.2 อาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแลกติก คือ Man Rogosa Sharpe (MRS) (Merck)
 - 3.3 อาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อยีสต์ รา คือ Potato Dextrose Agar (PDA) (HiMedia)
4. สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ ได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ฟีนอล์ฟธาไลน์ และกรดไฮโดรคลอริก (HCl)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับการเตรียมวัตถุดิบ ได้แก่ ทัพพี อ่างผสม ตะแกรง ถาด กล่องโฟม
2. อุปกรณ์สำหรับการผลิตกุ้งส้ม ได้แก่ ขวดแก้วพร้อมฝาปิดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร
3. อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี จุลินทรีย์ และกายภาพ ได้แก่
 - 3.1 ชุดวิเคราะห์โปรตีน ได้แก่ ชุดย่อยโปรตีน (DK 6, Velp S/N 50826) และชุดกลั่นโปรตีน (Vep 20, Gerhardt, Germany)
 - 3.2 ชุดวิเคราะห์ไขมัน แบบ Soxhlet (MoDEI ser 148, Germany)
 - 3.3 เตาเผา (EF 11/8, Lenton, Germany)

- 3.4 เครื่องวัดค่า pH (pH meter) (ORION 420A, USA)
- 3.5 เครื่องปั่นผสมตัวอย่าง (Homogenizer) (IKA, T25basic, Germany)
- 3.6 ตู้บ่ม (Incubator) (BE 500, Memmert, Germany)
- 3.7 ไมโครปีเปต (Gilson)
- 3.8 เครื่องชั่งไฟฟ้า (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) (ER214C, Explorer Pro, Switzerland)
- 3.9 ตู้อบไฟฟ้า (Hot air Oven) (FD 115, WTB binder, Germany)
- 3.10 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) (LS-2D, HIRAKAWA SEISAKUSHO, Taiwan)
- 3.11 อุปกรณ์สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัส

วิธีการ

การเตรียมกุ้ง

1. การเตรียมกุ้ง

นำกุ้งขาวที่มีความยาวลำตัวขนาด 12 เซนติเมตร (80 ตัว/กิโลกรัม) จากตลาดอมรภัณฑ์ บรรจุกุ้งลงในถุงน้ำแข็งโดยมีอัตราส่วนระหว่างกุ้ง:น้ำแข็ง เท่ากับ 1:2 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) และขนส่งมายังห้องปฏิบัติการทางอาหารและโภชนาการ ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ภายในระยะเวลา 15 นาที นำกุ้งมาล้างให้สะอาด และวางบนตะแกรง เพื่อสะเด็ดน้ำ บรรจุกุ้งในถุงพลาสติก และเก็บรักษาในน้ำแข็ง (0 - 2 องศาเซลเซียส) เพื่อรอการผลิตกุ้งสัปดาห์ต่อไป

2. การผลิตกุ้งสัปดาห์

ทำการผลิตกุ้งสัปดาห์ตามวิธีการของ นรภัทร (2551) และ Hwanhlem *et al.* (2010) โดยนำกุ้งขาวทั้งตัวที่ผ่านการทำความสะอาดแล้ว (1 กิโลกรัม) ผสมกับเกลือ 75 กรัม และน้ำตาลทราย 300 กรัม จากนั้นแบ่งส่วนผสม 75 กรัม บรรจุขวดแก้วขนาด 200 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำสะอาด 25 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

3. การศึกษาผลของปริมาณเกลือต่อการหมักและการยอมรับกึ่งส้ม

ทำการผลิตกึ่งส้มตามข้อ 2 โดยเติมปริมาณเกลือ 3 ระดับ คือ ร้อยละ 5 7.5 และ 10 (โดยน้ำหนักกึ่ง) ทำการหมักกึ่งส้มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 10 วัน และทำการเก็บตัวอย่างกึ่งส้มทุก ๆ 1 วัน นำไปวิเคราะห์ดังนี้

- จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Count) ตามวิธีของ AOAC (2000)
- จำนวนแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria) ตามวิธีของ AOAC (2000)
- ค่า pH (Benjakul *et al.*, 1997)
- ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดแลคติก (Total acidity) ตามวิธีของ AOAC (2000)

นำกึ่งส้มที่ผ่านการหมักแล้ว (ค่า pH $\leq$ 4.6) มาทดสอบการยอมรับโดยผู้ทดสอบที่มีความคุ้นเคยกับอาหารหมักดอง จำนวน 30 คน ด้วยวิธี 9-point hedonic scale (1 = ไม่ชอบมากที่สุด 5 = เฉย ๆ 9 = ชอบมากที่สุด) (Chamber IV and Wolf, 1996) ทำการเตรียมตัวอย่างกึ่งส้มสำหรับการทดสอบดังรายละเอียด ภาคผนวก ง. จากนั้นนำชุดการทดลองกึ่งส้มที่ได้รับคะแนนการยอมรับสูงสุดไปวิเคราะห์ต่อไป

4. การศึกษาผลของชนิดและปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการหมักและการยอมรับกึ่งส้ม

ทำการผลิตกึ่งส้มตามข้อ 2 โดยเติมเกลือตามตัวอย่างกึ่งส้มที่ได้รับคะแนนการยอมรับสูง สุดจากข้อ 3 และเติมน้ำตาลซูโครสแบบฟอกสีและไม่ฟอกสีความเข้มข้น 3 ระดับ คือ ร้อยละ 15 30 และ 45 (โดยน้ำหนักกึ่ง) ทำการหมักกึ่งส้มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 10 วัน และทำการเก็บตัวอย่างกึ่งส้มทุก ๆ 1 วัน นำไปวิเคราะห์ดังนี้

- จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Count) ตามวิธีของ AOAC (2000)
- จำนวนแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria) ตามวิธีของ AOAC (2000)
- ค่า pH (Benjakul *et al.*, 1997)
- ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดแลคติก (Total acidity) ตามวิธีของ AOAC (2000)

นำกึ่งส้มที่ผ่านการหมักแล้ว (ค่า pH $\leq$ 4.6) มาทดสอบการยอมรับโดยผู้ทดสอบที่มีความคุ้นเคยกับอาหารหมักดอง จำนวน 30 คน ด้วย 9-point hedonic scale (1 = ไม่ชอบมากที่สุด 5 = เฉย ๆ 9 = ชอบมากที่สุด) (Chamber IV and Wolf, 1996) ทำการเตรียมตัวอย่างกึ่งส้มสำหรับการ

ทดสอบดังรายละเอียด ภาคผนวก ง. จากนั้นนำชุดการทดลองกึ่งสัปดาห์ที่ได้รับคะแนนการยอมรับสูงสุดไปวิเคราะห์ดังนี้

- องค์ประกอบทางเคมี (โปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า และเกลือ) ตามวิธีของ AOAC (2000)
- พลังงานทั้งหมด (kcal) โดย Atwater values ตามวิธีของ Mansour and Khalil (1997)
- ชนิดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนหมายเลข 1032/2548 ได้แก่

- *Salmonella* spp.
- *Staphylococcus aureus*
- *Clostridium perfringens*
- *Escherichia coli*
- รว

5. การศึกษาความคงตัวของกึ่งสัปดาห์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น

ทำการผลิตกึ่งสัปดาห์ตามข้อ 2 โดยเติมเกลือและน้ำตาลสำหรับการผลิตกึ่งสัปดาห์ที่ได้รับคะแนนการยอมรับสูงสุดจากข้อ 4 ทำการหมักกึ่งสัปดาห์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสจนกระทั่งค่า pH น้อยกว่า 4.6 จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27-32 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิแช่เย็น (10-15 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 15 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทุก 3 วัน นำไปวิเคราะห์ดังนี้

- จำนวนแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria) ตามวิธีของ AOAC (2000)
- จำนวนยีสต์และรา ตามวิธีของ AOAC (2000)
- ค่า pH (Benjakul *et al.*, 1997)
- ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดแลคติก (Total acidity) ตามวิธีของ AOAC (2000)
- การทดสอบการยอมรับโดย 9-point hedonic scale ตามวิธีของ Chamber IV and Wolf (1996)

6. การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical analysis)

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนแบบทางเดียว (One way ANOVA) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (Steel and Torrie, 1980) ด้วยโปรแกรมสำหรับการวิเคราะห์ทางสถิติ โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS



ผลและวิจารณ์

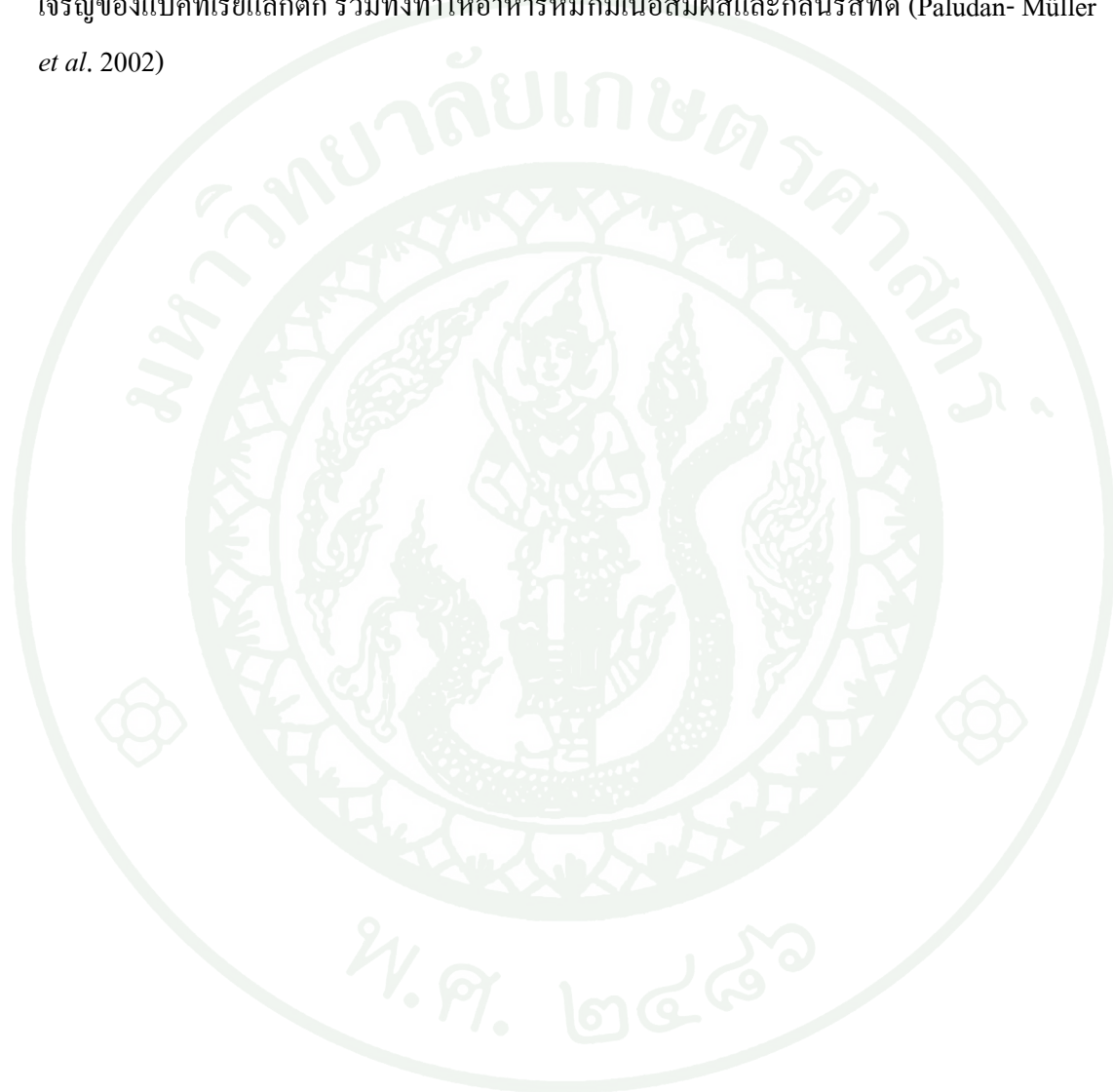
1. ผลของปริมาณเกลือต่อการหมักและการยอมรับกึ่งส้ม

1.1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count: TVC) และจำนวนแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria: LAB) ระหว่างการหมัก

การเปลี่ยนแปลงจำนวน TVC และ LAB ของกึ่งส้มระหว่างการหมัก แสดงดังตารางที่ 5 ส่วนผสมกึ่งส้ม (Kung-Som mixture) มีจำนวน TVC เริ่มต้น $3.87 - 15.3 \times 10^5$ CFU/กรัม ระหว่างการหมักวันที่ 3 - 6 กึ่งส้มมีจำนวน TVC เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ระหว่างการหมักกึ่งส้มที่มีการเติมเกลือร้อยละ 5 (KS-50) มีจำนวน TVC มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกึ่งส้มที่มีการเติมเกลือร้อยละ 7.5 (KS-75) และร้อยละ 10 (KS-100) ($p < 0.05$) ระหว่างการหมักวันที่ 7 - 10 กึ่งส้ม KS-50 และ KS-75 มีจำนวน TVC เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนกึ่งส้ม KS-100 มีจำนวน TVC ลดลงอย่างเด่นชัด Axelsson (1998) รายงานว่าแบคทีเรียแลคติกสามารถแบ่งกลุ่มได้ตามความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) ร้อยละ 6.5 ได้แก่ enterococci lactococci/vagococci และ streptococci Faithong *et al.* (2010) รายงานว่ากึ่งส้มทางการค้ามีปริมาณเกลือประมาณร้อยละ 2.81 และ 3.74 การเติมเกลือมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ โดยการลดค่าออกเตอรแอคตีวี้ (A_w) ของอาหาร การเพิ่มแรงดันออสโมติกและการแตกตัวเป็นคลอไรด์ไอออน (Raccach and Planck, 1985) จากผลการทดลองกึ่งส้ม KS-100 มีจำนวน TVC ลดลงอาจเนื่องมาจากปริมาณเกลือมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

กึ่งส้มมีจำนวน LAB เริ่มต้นอยู่ในช่วง $2.29 - 3.80 \times 10^5$ CFU/กรัม แสดงดังตารางที่ 5 ระหว่างการหมัก 5 วัน กึ่งส้ม KS-50 และ KS-75 มีจำนวน LAB เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และกึ่งส้ม KS-100 มีจำนวน LAB เพิ่มขึ้นน้อยกว่ากึ่งส้ม KS-50 และ KS-75 ($p < 0.05$) ระหว่างการหมักกึ่งส้มมีจำนวน LAB ประมาณร้อยละ 66 ของจำนวน TVC จากผลการทดลองแบคทีเรียแลคติกจัดเป็นจุลินทรีย์หลักระหว่างการหมักกึ่งส้ม กึ่งส้ม KS-50 KS-75 และ KS-100 มีจำนวน LAB ลดลงอย่างเด่นชัดเมื่อระยะเวลาการหมัก 9 8 และ 7 วัน ตามลำดับ แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างสารประกอบที่สามารถต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ เช่น กรดอินทรีย์ แบคเทอรีโอซิน คาร์บอนออกไซด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เอทานอล ไดอะซิติล นอกจากนี้ระหว่างการเจริญของแบคทีเรียแลคติกมีผลทำให้สารอาหารสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นลดลง (Adams and Nicolaides, 1997) Mares *et al.* (1994) รายงานว่า แบคทีเรียแลคติกโดยเฉพาะ *Pediococcus acidilactici* (strain a) สามารถเจริญได้ดีในสถานะที่มีความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 6 ซึ่งจากการเพิ่มความเข้มข้นของ

เกลือจะมีผลการลดกิจกรรมของเอ็นไซม์คาตะเลส ส่วน *L. sake* และ *L. plantarum* เจริญได้ดีที่ความเข้มข้นเกลือสูง (ร้อยละ 20-30) Raccach and Planck (1985) รายงานว่า การหมักแบบกรดแลกติกที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 3 มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *P. pentosaceus* มากกว่า *L. plantarum* จากผลการทดลองปริมาณเกลือมีผลต่ออัตราการเจริญของแบคทีเรียแลกติก ซึ่งเป็นจุลินทรีย์หลักในการผลิตกึ่งสับ ปริมาณเกลือที่เหมาะสมต้องไม่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแลกติก รวมทั้งทำให้อาหารหมักมีเนื้อสัมผัสและกลิ่นรสที่ดี (Paludan- Müller *et al.* 2002)



ตารางที่ 5 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count) และจำนวนแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria) ระหว่างการหมักกึ่งสัสม์ที่มีการเติมเกลือร้อยละ 5 (KS-50) 7.5 (KS-75) และ 10 (KS-100)

Fermentation time (days)	Total Viable Count (CFU/g)			Lactic acid bacteria (CFU/g)		
	KS-50*	KS-75	KS-100	KS-50	KS-75	KS-100
0	$3.87 \times 10^5 \pm 0.01^{***D}$	$3.89 \times 10^5 \pm 0.01^{bC}$	$15.13 \times 10^5 \pm 0.01^{aA}$	$3.80 \times 10^5 \pm 0.05^{aC}$	$2.41 \times 10^5 \pm 0.01^{bD}$	$2.29 \times 10^5 \pm 0.01^{cC}$
1	$7.08 \times 10^6 \pm 0.11^{aB***}$	$4.34 \times 10^6 \pm 0.05^{cB}$	$4.83 \times 10^6 \pm 0.12^{bC}$	$6.05 \times 10^6 \pm 0.02^{aB}$	$4.09 \times 10^6 \pm 0.02^{bB}$	$3.79 \times 10^6 \pm 0.01^{cB}$
2	$7.55 \times 10^6 \pm 0.09^{aA}$	$5.83 \times 10^6 \pm 0.09^{cA}$	$6.27 \times 10^6 \pm 0.08^{bB}$	$6.71 \times 10^6 \pm 0.04^{aA}$	$4.91 \times 10^6 \pm 0.05^{bA}$	$4.07 \times 10^6 \pm 0.01^{cA}$
3	$1.11 \times 10^7 \pm 0.02^{aH}$	$0.83 \times 10^7 \pm 0.02^{bFG}$	$0.81 \times 10^7 \pm 0.02^{bH}$	$0.87 \times 10^7 \pm 0.01^{aH}$	$0.60 \times 10^7 \pm 0.01^{bG}$	$0.57 \times 10^7 \pm 0.02^{bEF}$
4	$6.58 \times 10^7 \pm 0.07^{aC}$	$1.11 \times 10^7 \pm 0.01^{bG}$	$1.08 \times 10^7 \pm 0.01^{bG}$	$1.21 \times 10^7 \pm 0.01^{aG}$	$1.03 \times 10^7 \pm 0.02^{bF}$	$0.65 \times 10^7 \pm 0.01^{cF}$
5	$2.63 \times 10^8 \pm 0.04^{aFG}$	$0.46 \times 10^8 \pm 0.04^{bH}$	$0.45 \times 10^8 \pm 0.05^{bI}$	$0.58 \times 10^8 \pm 0.01^{aI}$	$0.41 \times 10^8 \pm 0.01^{abH}$	$0.37 \times 10^8 \pm 0.01^{bH}$
6	$2.79 \times 10^8 \pm 0.10^{aG}$	$2.31 \times 10^8 \pm 0.04^{abEF}$	$2.25 \times 10^8 \pm 0.02^{bEF}$	$2.35 \times 10^8 \pm 0.02^{aDE}$	$2.07 \times 10^8 \pm 0.04^{bE}$	$0.93 \times 10^8 \pm 0.07^{cE}$
7	$2.97 \times 10^8 \pm 0.04^{aF}$	$2.58 \times 10^8 \pm 0.02^{abF}$	$2.54 \times 10^8 \pm 0.02^{bEF}$	$2.49 \times 10^8 \pm 0.02^{aE}$	$2.40 \times 10^8 \pm 0.04^{bD}$	$1.15 \times 10^8 \pm 0.02^{cD}$
8	$3.40 \times 10^8 \pm 0.07^{aDE}$	$2.74 \times 10^8 \pm 0.05^{bE}$	$2.66 \times 10^8 \pm 0.05^{cF}$	$2.61 \times 10^8 \pm 0.04^{aD}$	$2.58 \times 10^8 \pm 0.04^{bC}$	$0.42 \times 10^8 \pm 0.00^{cG}$
9	$3.61 \times 10^8 \pm 0.01^{aE}$	$2.86 \times 10^8 \pm 0.04^{bCD}$	$2.81 \times 10^8 \pm 0.04^{bE}$	$2.69 \times 10^8 \pm 0.02^{aD}$	$0.07 \times 10^8 \pm 0.01^{cI}$	$0.43 \times 10^8 \pm 0.01^{bG}$
10	$3.49 \times 10^8 \pm 0.02^{aDE}$	$3.13 \times 10^8 \pm 0.05^{abD}$	$3.06 \times 10^8 \pm 0.05^{bD}$	$1.94 \times 10^8 \pm 0.05^{aF}$	$0.53 \times 10^8 \pm 0.01^{bGH}$	$0.36 \times 10^8 \pm 0.01^{cH}$

หมายเหตุ

*กึ่งสัสม์ที่มีการเติมเกลือร้อยละ 5 (KS-50) 7.5 (KS-75) และ 10 (KS-100) **ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

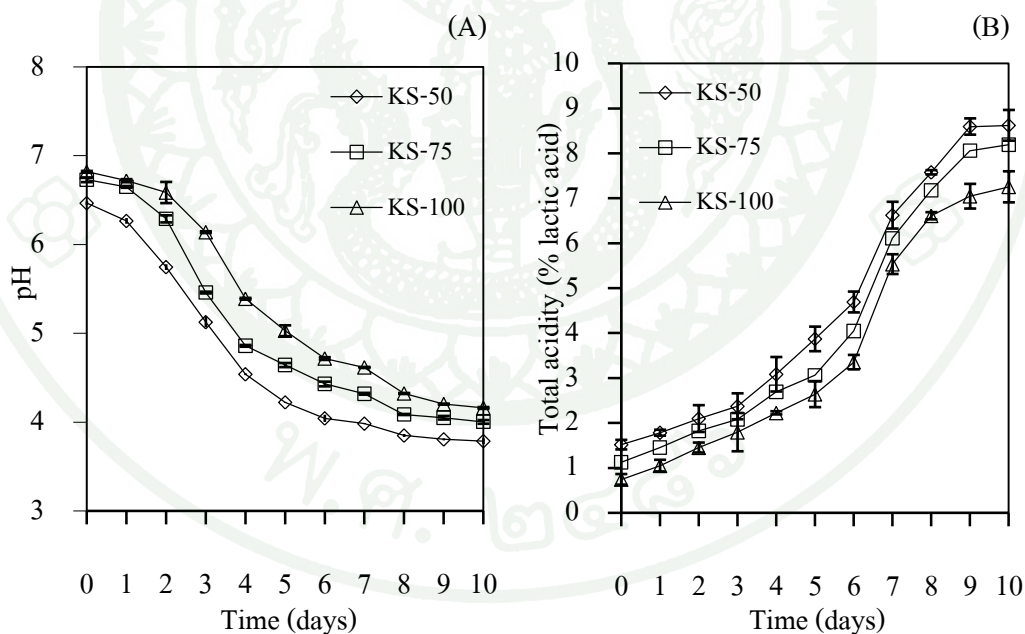
***ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันตามแนวนอนมีความแตกต่างของกึ่งสัสม์ที่มีการเติมเกลือร้อยละ 5 (KS-50) 7.5 (KS-75) และ 10 (KS-100)

อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

****ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างของระยะเวลาการหมักกึ่งสัสม์อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

1.2 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชและปริมาณกรดทั้งหมดระหว่างการหมัก

การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชและปริมาณกรดทั้งหมดระหว่างการหมัก แสดงดังภาพที่ 3A และ 3B ตามลำดับ ส่วนผสมกึ่งสับมีค่าพีเอชเริ่มต้น ประมาณ 6.6 ระหว่างการหมัก 10 วัน กึ่งสับมีค่าพีเอชลดลงอย่างรวดเร็ว กึ่งสับ KS-50 มีค่าพีเอชลดลงมากกว่ากึ่งสับ KS-75 และ KS-100 ระหว่างการหมัก 6 วันแรก ($p < 0.05$) สอดคล้องกับการเพิ่มจำนวน LAB (ตารางที่ 5) กึ่งสับ KS-50 KS-75 และ KS-100 มีค่าพีเอชลดลงเหลือน้อยกว่า 4.6 ภายในระยะเวลาการหมัก 4 6 และ 8 วัน ตามลำดับ กึ่งสับที่ผ่านการหมักแล้ว ($pH \leq 4.6$) มีปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดแลกติกอยู่ในช่วงร้อยละ 3.35 ถึง 4.68 ค่าพีเอชของอาหารหมักบ่งชี้ถึงความปลอดภัยสำหรับการบริโภค เนื่องจากอาหารหมักที่มีค่าพีเอชน้อยกว่าหรือเท่ากับ 4.6 เป็นปัจจัยสำคัญที่มีต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสีย และจุลินทรีย์ก่อโรค (Saisithi *et al.*, 1986) จากผลการทดลองกึ่งสับที่มีการเติมเกลือปริมาณน้อยมีผลทำให้ค่าพีเอชลดลงเร็วที่สุดและเกิดการหมักที่สมบูรณ์



ภาพที่ 3 ค่าพีเอช (A) และปริมาณกรดทั้งหมด (B) ระหว่างการหมักกึ่งสับที่มีการเติมเกลือ ร้อยละ 5 (KS-50) 7.5 (KS-75) และ 10 (KS-100)

1.3 ผลของเกลือต่อการยอมรับกุ้งส้ม

คะแนนการยอมรับกุ้งส้มที่มีการเติมเกลือปริมาณแตกต่างกันแสดงดังตารางที่ 6 กุ้งส้ม KS-75 ได้รับคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบรวมมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งส้ม KS-50 และ KS-100 ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตาม คะแนนความชอบด้านสีและกลิ่นรสของกุ้งส้ม KS-50 และ KS-75 ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) กุ้งส้ม KS-50 ได้รับคะแนนความชอบด้านรสน้อยกว่ากุ้งส้ม KS-100 อาจเป็นผลมาจากการสเปี่ยซึ่งเกิดจากปริมาณกรดทั้งหมดที่เกิดขึ้นมีปริมาณมากกว่ากุ้งส้มชุดการทดลองอื่นๆ (ภาพที่ 3B) ระหว่างการหมัก นอกจากนี้กรดอะมิโนบางชนิดยังมีผลต่อรสชาติ Sriket *et al.* (2007) รายงานว่า กุ้งขาวอุคมไปด้วยอาร์จินีนซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่พบในสัตว์น้ำกลุ่มครัสเตเชียน (Crustaceans) และมีผลให้รสชาติหวานและคล้ายกับกลิ่นรสของอาหารทะเล (Sikorski *et al.* 1990) Fuke (1994) รายงานว่า อะลานีน โพรลีน และเซรีนมีผลต่อการยอมรับผลิตภัณฑ์อาหารจากกุ้ง อย่างไรก็ตาม ระหว่างการหมักกุ้งส้มอาจเกิดการย่อยสลายของโปรตีน เกิดเป็นเปปไทด์ และกรดอะมิโนอิสระ (Faithong *et al.*, 2010) ซึ่งกรดอะมิโนบางชนิดให้รสขม ได้แก่ อาร์จินีน ลูซีน วาลีน เมไทโอนีน ฟีนิลอะลานีน ฮิสติดีน และไอโซลูซีน (Sikorski *et al.* 1990) จากผลการทดลองกุ้งส้ม KS-50 มีอัตราการหมักค่อนข้างเร็วจึงอาจส่งผลต่อการย่อยสลายของโปรตีนระหว่างการหมักมากกว่ากุ้งส้มชุดการทดลองอื่น ส่วนกุ้งส้ม KS-100 ได้รับคะแนนความชอบด้านสีและกลิ่นรสน้อยที่สุด ($p < 0.05$) โดยทั่วไปกลิ่นรสของอาหารหมักเป็นผลมาจากคุณภาพทางประสาทสัมผัสและการเปลี่ยนแปลงของไขมัน (Faithong *et al.*, 2010) Riebroy *et al.* (2007) รายงานว่า ผลิตภัณฑ์จากการออกซิเดชันของไขมันมีผลต่อการยอมรับด้านกลิ่นรสและรสชาติ ซึ่งการยอมรับด้านรสชาติอาจมีผลมาจากการย่อยสลายโปรตีนร่วมด้วย (Molly *et al.*, 1997; Faithong *et al.*, 2010)

กุ้งส้ม KS-50 ได้รับการยอมรับด้านสีมากที่สุด ($p < 0.05$) สีของกุ้งส้มที่ผ่านการหมักแล้ว คือ สีส้ม รงควัตถุที่สำคัญของกุ้ง คือ แอสทาแซนทีน (Astaxanthin) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มแคโรทีนอยด์ มีสีส้ม-ส้มแดง (Katayama *et al.*, 1972) แอสทาแซนทีนอยู่ในรูปที่รวมตัวกับไขมัน ไคติน และโปรตีนด้วยพันธะเอสเทอร์ อิมมิม การรวมตัวของแคโรทีนอยด์และโปรตีน เรียกว่า แคโรทีโนโปรตีน (Armenta and Guerrero-Legarreta, 2009) ซึ่งเมื่อโปรตีนเกิดการสูญเสียสภาพมีผลทำให้แอสทาแซนทีนถูกปลดปล่อยออกมา และกลายเป็นสีส้มแดง (Kim *et al.*, 2003) แอสทาแซนทีนอิสระไวต่อการเกิดออกซิเดชัน เนื่องจากโครงสร้างประกอบด้วยไอโซพรีน ซึ่งมีพันธะคู่จำนวนมาก อย่างไรก็ตาม รงควัตถุกลุ่มนี้มีบทบาทต่อร่างกายมนุษย์ โดยจัดเป็นสารต้านการออกซิเดชัน ป้องกันความเสียหายของเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระและซิงเกิลออกซิเจน (Singlet oxygen) (Di Marcio *et al.*, 1994) การเติมเกลืออาจมีผลต่อการเร่งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน โดยเฉพาะ

อย่างยิ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Benjakul *et al.*, 1997) ซึ่งผลิตภัณฑ์จากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันอาจมีผลต่อกลิ่นรสของกุ้งส้ม จากผลการทดลองปริมาณเกลือมีผลต่อการยอมรับกุ้งส้ม และกุ้งส้ม KS-75 ได้รับการยอมรับทุกด้านมากที่สุด จึงนำไปศึกษาผลของชนิดและปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการหมักและการยอมรับกุ้งส้มต่อไป

ตารางที่ 6 คะแนนการยอมรับของกุ้งส้มที่มีการเติมเกลือปริมาณแตกต่างกัน

คุณลักษณะ	ตัวอย่างกุ้งส้ม *		
	KS-50	KS-75	KS-100
ลักษณะปรากฏ	6.80±0.88 ^{a***}	7.60 ± 0.81 ^a	6.47 ± 1.04 ^b
สี	6.67 ± 0.88 ^{ab}	7.27 ± 0.90 ^a	6.87 ± 1.04 ^b
กลิ่น	6.43 ± 1.13 ^b	7.23 ± 0.93 ^a	6.43 ± 0.77 ^b
รสชาติ	6.67 ± 0.71 ^b	7.43 ± 0.81 ^a	6.23 ± 0.85 ^b
กลิ่นรส	7.07 ± 0.96 ^a	7.17 ± 1.31 ^a	6.03 ± 1.04 ^b
เนื้อสัมผัส	6.50 ± 0.99 ^b	7.37 ± 1.06 ^a	6.67 ± 0.86 ^b
ความชอบรวม	6.73 ± 0.74 ^b	7.53 ± 0.90 ^a	6.40 ± 0.85 ^b

หมายเหตุ

*กุ้งส้มที่มีการเติมเกลือร้อยละ 5 (KS-50) 7.5 (KS-75) และ 10 (KS-100)

**ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดสอบ 30 ซ้ำ

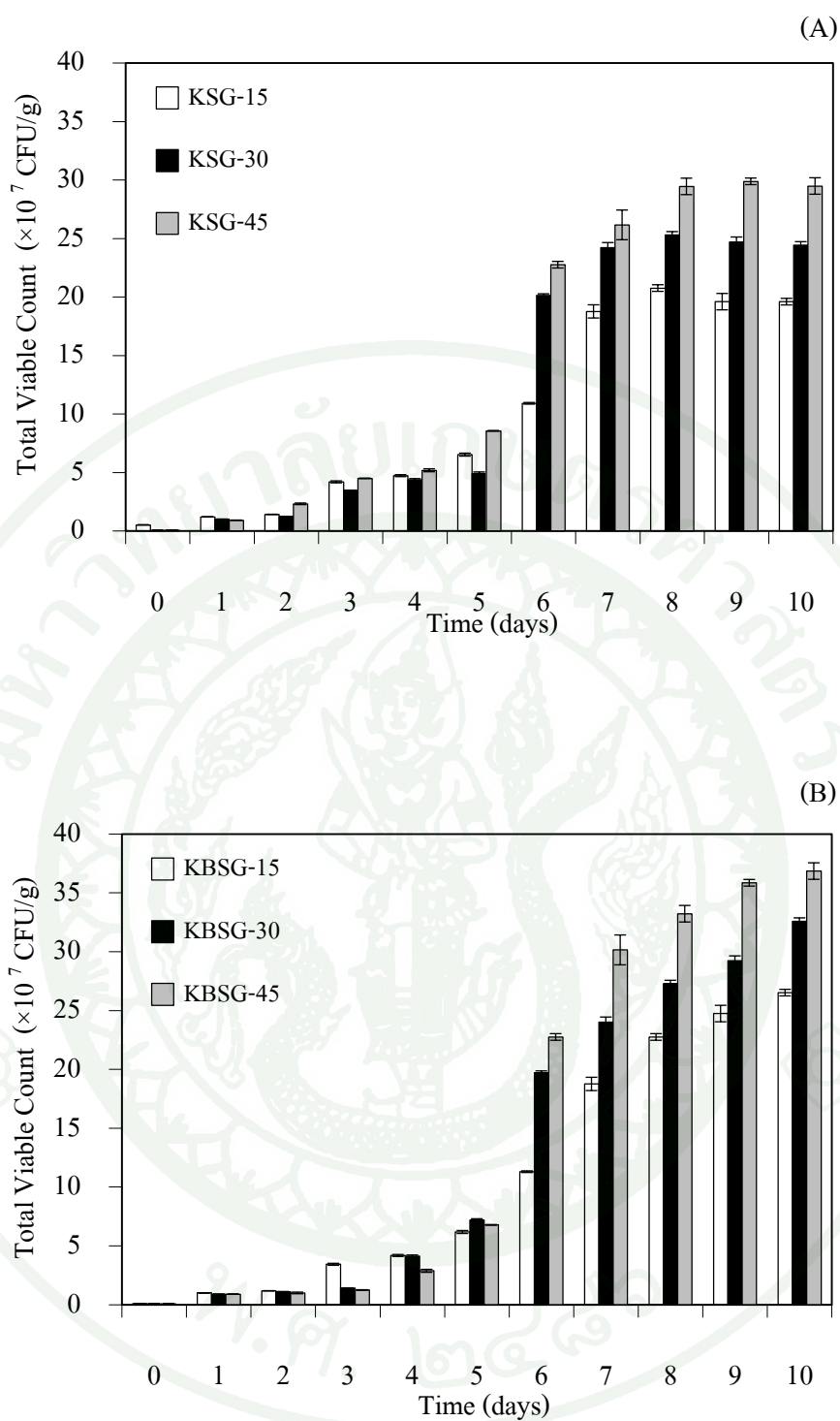
***ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

2. ผลของชนิดและปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการหมักและการยอมรับกุ้งส้ม

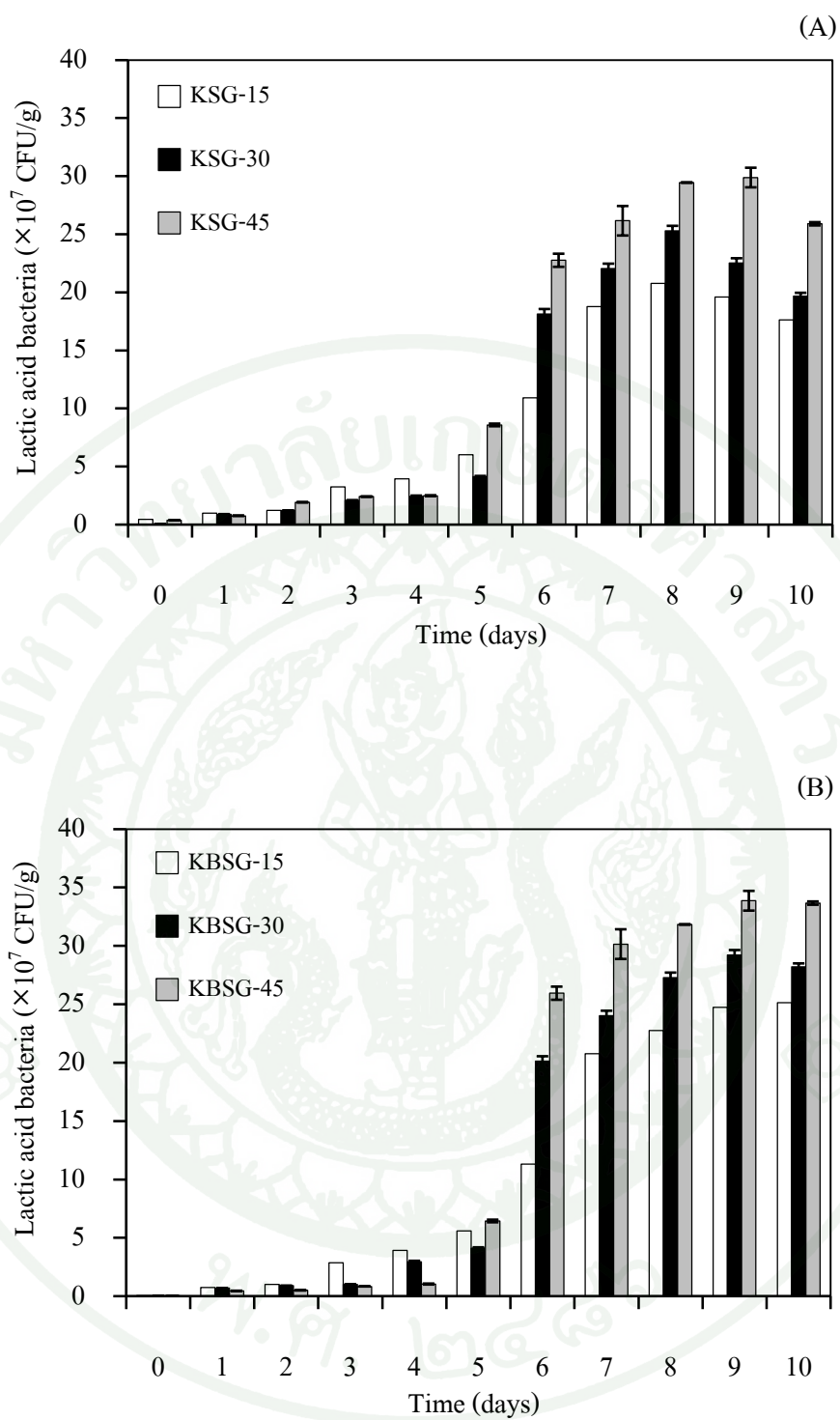
2.1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count: TVC) และจำนวนแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria: LAB) ระหว่างการหมัก

การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียแลคติกของกุ้งส้มที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสที่ผ่านและไม่ผ่านการฟอกสีร้อยละ 15 30 และ 45 โดยน้ำหนักกุ้ง ระหว่างการหมักแสดงดังภาพที่ 4A 4B และ 5A 5B ตามลำดับ ส่วนผสมกุ้งส้ม (Kung-Som mixture) (ชั่วโมงที่ 0) มีจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียแลคติกอยู่ในช่วง $5 - 8 \times 10^5$ CFU/กรัม และ $3 - 6 \times 10^5$ CFU/กรัม ตามลำดับ จากผลการทดลองแบคทีเรียแลคติกเป็นจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่พบในส่วนผสมกุ้งส้ม

(Kung-Som mixture) Hwanhlem *et al.* (2010) รายงานว่า ระหว่างการหมัก (0 ถึง 5 วัน) กุ้งส้มมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียแลกติกเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วภายใน 7 วัน กุ้งส้มที่เติมน้ำตาลซูโครสแบบฟอกสีและไม่ฟอกสีที่ระดับความเข้มข้นเท่ากันไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) กุ้งส้มที่เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 45 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียแลกติกมากกว่ากุ้งส้มที่เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 30 และ 15 ตามลำดับ ($p<0.05$) โดยทั่วไปการหมักกุ้งส้มมักเติมน้ำตาลโตนดเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตสำหรับการเจริญของแบคทีเรียแลกติก (Faithong *et al.*, 2010) อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียแลกติกสามารถย่อยน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุคโตส และสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรต (Gonzalez และ Kunka, 1986) องค์ประกอบทางเคมีส่วนใหญ่ของน้ำตาลซูโครสที่ผ่านการฟอกสีและไม่ฟอกสีไม่แตกต่างกัน แต่น้ำตาลซูโครสที่ไม่ผ่านการฟอกสีจะมีแร่ธาตุต่างๆ เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส และเหล็ก เป็นต้น (กองยวภาษาศกรมพลศึกษา, 2531) จากผลการทดลองการเติมน้ำตาลซูโครสแบบไม่ฟอกสีมีผลต่อการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียแลกติกของกุ้งส้มระหว่างการหมัก การเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสมีผลต่อการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียแลกติก



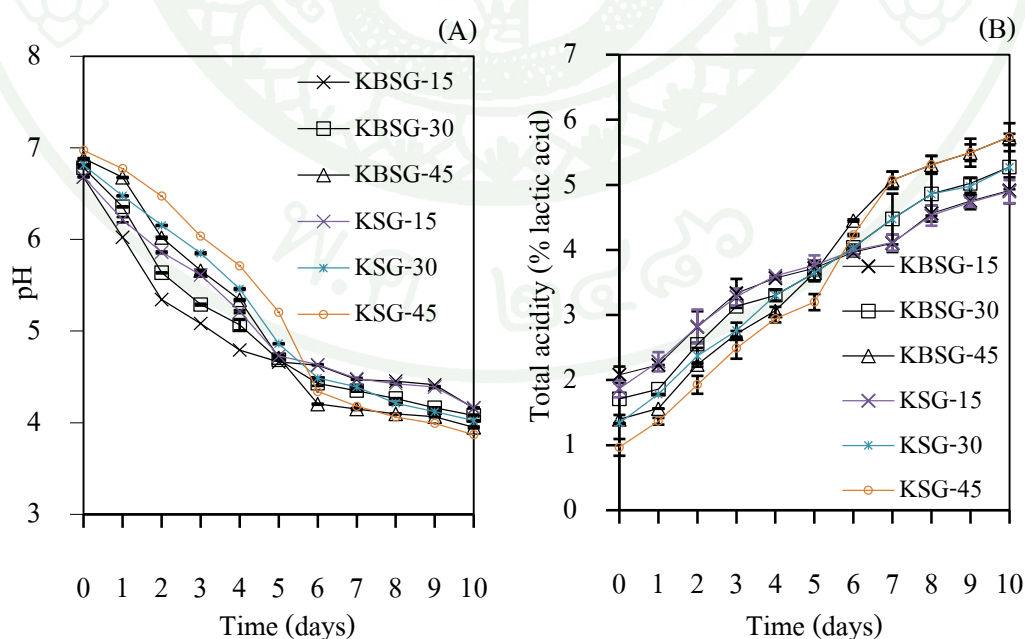
ภาพที่ 4 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่างการหมักกุ้งส้มที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสแบบฟอกสี (KSG) (A) และไม่ฟอกสี (KBSG) (B) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 30 และ 45



ภาพที่ 5 จำนวนแบคทีเรียแลคติกระหว่างการหมักกึ่งสัสมที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสแบบฟอกสี (KSG) (A) และไม่ฟอกสี (KBSG) (B) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 30 และ 45

2.2 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชและปริมาณกรดทั้งหมดระหว่างการหมัก

ภาพที่ 6 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชและปริมาณกรดทั้งหมดของกึ่งส้มระหว่าง การหมัก 10 วัน ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสที่ผ่านการฟอกสีและไม่ฟอกสี ร้อยละ 15 30 และ 45 โดย น้ำหนักกึ่ง จากการทดลองพบว่าส่วนผสมกึ่งส้ม (Kung-Som mixture) (ชั่วโมงที่ 0) มีค่าพีเอชอยู่ ในช่วง 6.68 - 6.88 ระหว่างการหมัก 6 วันแรก กึ่งส้มทุกชุดการทดลองมีค่าพีเอชลดลงอย่างรวดเร็ว ($p < 0.05$) และลดลงเล็กน้อยจนกระทั่ง 10 วัน กึ่งส้มที่เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 45 และ 30 มีค่า พีเอชลดลงเร็วกว่ากึ่งส้มที่เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 15 ($p < 0.05$) ระหว่างการหมักกึ่งส้มที่เติมน้ำตาล ซูโครสแบบไม่ฟอกสีมีค่าพีเอชลดลงเร็วกว่ากึ่งส้มที่เติมน้ำตาลซูโครสแบบฟอกสี การลดลงของค่า พีเอชของกึ่งส้มทุกชุดการทดลองสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมดระหว่าง การหมัก (ภาพที่ 6 B) โดยทั่วไปแบคทีเรียแลคติกสร้างกรดแลคติกจากกระบวนการไกลโคไลซิส (Embden-Meyerhof pathway) หรือ กระบวนการ 6-phosphogluconate cycle/phosphoketolalate (Axelsson, 1998) การลดลงของค่าพีเอชของกึ่งส้มเป็นผลมาจากการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียแลคติก การทดลอง ค่าพีเอชของอาหารหมักเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำ ให้อาหารเน่าเสียและจุลินทรีย์ก่อโรค (Saisithi *et al.*, 1986) กึ่งส้มที่เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 45 และ 30 มีค่าพีเอชลดลงเหลือน้อยกว่าหรือเท่ากับ 4.6 ภายในระยะเวลาการหมัก 6 วัน ซึ่งเร็วกว่า กึ่งส้มที่เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 15 (ระยะเวลาการหมัก 7 วัน) จากผลการทดลองความเข้มข้น ของน้ำตาลซูโครสมีผลต่อการลดค่าของพีเอชและการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรด



ภาพที่ 6 ค่าพีเอช (A) และปริมาณกรดทั้งหมด (B) ระหว่างการหมักของกึ่งส้มที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสแบบฟอกสี (KSG) และไม่ฟอกสี (KBSG) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 30 และ 45

2.3 ผลของน้ำตาลซูโครสแบบฟอกสีและไม่ฟอกสีต่อการยอมรับกุ้งส้มที่ผ่านการหมัก

คะแนนการยอมรับกุ้งส้มที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสแบบฟอกสีและไม่ฟอกสีที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 7 กุ้งส้มที่เติมน้ำตาลซูโครสแบบฟอกสี ร้อยละ 30 (KSG-30) ได้รับคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบรวมมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งส้มทุกชุดการทดลอง ($p < 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเท่ากัน กุ้งส้มที่เติมน้ำตาลซูโครสที่ผ่านการฟอกสีได้รับคะแนนการยอมรับทุกด้านมากกว่ากุ้งส้มที่เติมน้ำตาลซูโครสแบบไม่ผ่านการฟอกสี ($p < 0.05$) กุ้งส้มที่เติมน้ำตาลซูโครสแบบไม่ผ่านการฟอกสีร้อยละ 45 ได้รับคะแนนการยอมรับทุกด้านน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งส้มทุกชุดการทดลอง ($p < 0.05$) น้ำตาลซูโครสที่ไม่ผ่านการฟอกสีอาจมีผลต่อสีของกุ้งส้มที่ผ่านการหมัก น้ำตาลซูโครสที่ไม่ผ่านการฟอกสีมีสีน้ำตาลเข้มกว่าน้ำตาลซูโครสที่ผ่านการฟอกสี ระหว่างการหมักกุ้งส้มแบบที่เรียลแลกติกสามารถใช้น้ำตาลซูโครสที่ไม่ผ่านการฟอกสีได้อย่างรวดเร็ว เกิดเป็นน้ำตาลโมโนแซ็กคาร์ไรด์ซึ่งอาจทำปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (Maillard reaction) ได้ดีกับเปปไทด์ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักกุ้งส้ม นอกจากนี้เนื่องจากน้ำตาลมีผลต่อรสชาติของกุ้งส้ม (เขาวลัถณ์, 2536) จากผลการทดลองปริมาณน้ำตาลซูโครสแบบฟอกสีและไม่ฟอกสีมีผลต่อการยอมรับกุ้งส้ม และกุ้งส้มที่เติมน้ำตาลซูโครสแบบฟอกสีได้รับการยอมรับมากที่สุด

ตารางที่ 7 คะแนนการยอมรับของกุ้งส้มที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสที่ผ่านการฟอกสีและไม่ฟอกสี ปริมาณแตกต่างกัน

คุณลักษณะ	ตัวอย่างกุ้งส้ม *					
	KSG-15	KSG-30	KSG-45	KBSG-15	KBSG-30	KBSG-45
ลักษณะปรากฏ	7.27±0.52** ^{b***}	7.87 ± 0.73 ^a	6.76 ± 0.63 ^c	6.97 ± 0.32 ^{bc}	7.07 ± 0.32 ^{bc}	6.37 ± 0.80 ^d
สี	7.27 ± 0.45 ^b	7.77 ± 0.77 ^a	6.97 ± 0.41 ^c	6.93 ± 0.45 ^c	6.93 ± 0.52 ^c	6.53 ± 0.73 ^d
กลิ่น	6.67 ± 0.66 ^b	7.63 ± 0.76 ^a	6.23 ± 0.93 ^c	6.80 ± 0.61 ^b	6.40 ± 0.62 ^{bc}	5.30 ± 1.05 ^d
รสชาติ	7.27 ± 0.78 ^b	8.00 ± 0.83 ^a	6.83 ± 0.64 ^c	7.03 ± 0.55 ^{bc}	6.83 ± 0.79 ^c	6.07 ± 0.69 ^d
กลิ่นรส	7.10 ± 0.71 ^b	7.77 ± 1.19 ^a	6.47 ± 0.81 ^c	6.77 ± 0.67 ^{bc}	6.70 ± 0.79 ^{bc}	5.47 ± 1.10 ^d
เนื้อสัมผัส	6.83 ± 0.64 ^b	7.63 ± 1.12 ^a	5.93 ± 1.17 ^c	6.80 ± 0.71 ^b	6.80 ± 0.71 ^b	5.40 ± 1.07 ^d
ความชอบรวม	7.13 ± 0.62 ^b	8.07 ± 0.98 ^a	6.63 ± 0.66 ^c	6.97 ± 0.18 ^{bc}	6.77 ± 0.89 ^{bc}	5.97 ± 0.49 ^d

หมายเหตุ * KSG -15 KSG -30 และ KSG -45: กุ้งส้มที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสที่ผ่านการฟอกสี ปริมาณร้อยละ 15 30 และ 45 ตามลำดับ KBSG -15 KBSG -30 และ KBSG -45: กุ้งส้มที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสที่ไม่ผ่านการฟอกสีปริมาณร้อยละ 15 30 และ 45 ตามลำดับ **ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดสอบ 30 ซ้ำ

***ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

2.4 องค์ประกอบทางเคมีของกุ้งส้ม

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกุ้งส้มที่ผลิตจากกุ้งขาว โดยเดิมเกลือร้อยละ 7.5 และน้ำตาลซูโครสที่ผ่านการฟอกสีร้อยละ 30 พบว่ากุ้งส้มมีปริมาณความชื้นร้อยละ 68.42 ปริมาณเถ้าร้อยละ 5.08 ปริมาณโปรตีนร้อยละ 13.04 ปริมาณไขมันร้อยละ 0.28 ปริมาณเกลือร้อยละ 3.87 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 13.8 และพลังงานที่ได้รับจากการบริโภคกุ้งส้มที่ผ่านการหมักแล้วเท่ากับ 105.94 กิโลแคลอรี/100 กรัม (ตารางที่ 8) คุณค่าทางโภชนาการและพลังงานของกุ้งส้มอาจเป็นผลมาจากปริมาณไขมัน เนื่องจากเป็นแหล่งสารอาหารที่ให้พลังงานมากกว่าโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตประมาณสองเท่า (Geise, 1996) กุ้งส้มจัดเป็นอาหารที่มีความชื้นสูงแต่มีปริมาณไขมันต่ำ อย่างไรก็ตาม กุ้งส้มทางการค้ามีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง ร้อยละ 6.38-7.21 Sikorski *et al.* (1990) รายงานว่า องค์ประกอบทางเคมีของกุ้งขึ้นอยู่กับการสายพันธุ์ ชนิด ขนาด อาหาร สภาพแวดล้อมและระยะเวลาการวางไข่ จากการทดลอง กุ้งที่นำมาผลิตเป็นกุ้งส้มจัดเป็นกุ้งขนาดปานกลาง - เล็ก จึงอาจมีปริมาณโปรตีนสูง นอกจากนี้ปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตสอดคล้องกับองค์ประกอบทางเคมีของกุ้งส้มทางการค้า (Faithong *et al.*, 2010)

ตารางที่ 8 องค์ประกอบทางเคมีของกุ้งส้มที่ผลิตจากกุ้งขาว

องค์ประกอบทางเคมีกุ้งส้ม	ปริมาณ
ความชื้น (ร้อยละ)	68.42
เถ้า (ร้อยละ)	5.08
โปรตีน (ร้อยละ)	13.04
ไขมัน (ร้อยละ)	0.28
เกลือ (โซเดียมคลอไรด์) (ร้อยละ)	3.87
คาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ)	13.18
พลังงาน (Kcal/100 กรัม)	105.94

2.5 ชนิดและจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน

เมื่อนำกุ้งส้มมาทดสอบชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนหมายเลข 1032/2548 (2548) พบว่า กุ้งส้มที่ผ่านการหมักแล้วไม่มี *Salmonella* spp. *Clostridium perfringen* และมี *Escherichia coli* 5 CFU/g *Staphylococcus aureus* น้อยกว่า 10 CFU/กรัม และรำน้อยกว่า 10 CFU/กรัม (ตารางที่ 10) จากผลการทดลองกุ้งส้มมีความปลอดภัยสำหรับการบริโภค เนื่องจากมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคอยู่ในเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 1032/2548 (2548) ทั้งนี้กุ้งส้มที่ผ่านการหมักแล้วมีค่าพีเอชน้อยกว่า 4.6 ภายในระยะเวลา 6 วัน (ภาพที่ 6) ซึ่งบ่งบอกถึงความเป็นกรดของผลิตภัณฑ์ ปริมาณและชนิดของกรดอินทรีย์ที่ถูกผลิตขึ้นระหว่างการหมักขึ้นกับชนิดของแบคทีเรียแลคติก องค์ประกอบอาหารและสภาวะการเจริญ (Lindgren and Dobregosz, 1990) นอกจากนี้ แบคทีเรียแลคติกยังมีการสร้างสารด้านการเจริญของแบคทีเรีย ได้แก่ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในสภาวะที่มีออกซิเจน ซึ่งจะมีผลต่อการเกิดการออกซิเดชันของหมู่ซัลไฮดริลทำให้เอนไซม์เกิดการเสียสภาพเกิดเฟอรอกไซด์ของไขมันบริเวณเมมเบรนของเซลล์แบคทีเรีย และเพิ่มความสามารถในการแพร่ผ่าน (Permeability) ของเมมเบรน (Kang and Davison, 1980; Condon, 1987) อย่างไรก็ตาม การหมักกุ้งส้มเป็นการหมักแบบไร้อากาศ การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคมายังคงมีความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นและมีผลทำให้ค่าพีเอชลดลง กรดอินทรีย์เหล่านี้เมื่อแพร่ผ่านเข้าไปในเซลล์เมมเบรนของแบคทีเรียแล้วเกิดการแตกตัว ทำให้ค่าพีเอชภายในไซโทพลาสซึมลดลงมีผลต่อระบบเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย (Ammor et al., 2006) Hwanhlem et al. (2010) รายงานว่า การสร้างแบคทีเรียโอซินของแบคทีเรียแลคติกระหว่างการหมักกุ้งส้ม มีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Salmonella* spp.

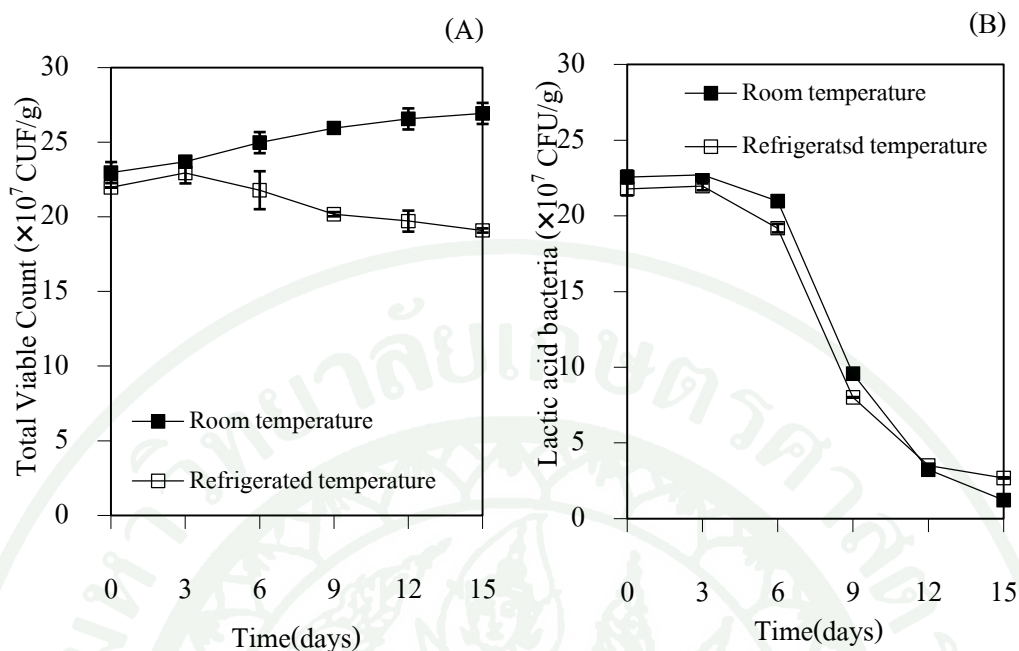
ตารางที่ 9 ชนิดและจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ของกุ้งสัมผัสผ่านการหมักแล้ว

ชนิดของจุลินทรีย์	จำนวน	หน่วย
<i>Salmonella</i> spp.	No Detected	per 25 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 10	cfu/g
<i>Clostridium perfringens</i>	No Detected	per 0.01 g
<i>Escherichia coli</i>	5.0	cfu/g
รา	< 10	cfu/g

3. ความคงตัวของกุ้งสัมผัสระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น

3.1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count: TVC) และจำนวนแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria: LAB) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น

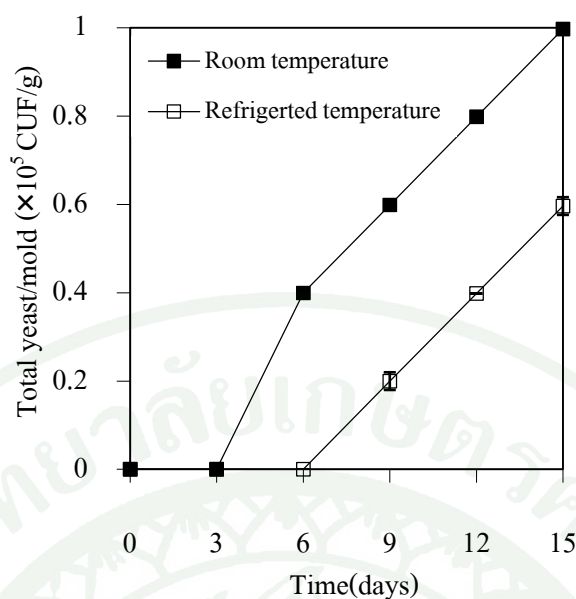
การเปลี่ยนแปลงจำนวน TVC และ LAB ของกุ้งสัมผัสระหว่างการเก็บรักษา แสดงดังภาพที่ 7A และ 7B ตามลำดับ กุ้งสัมผัสที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็นมีจำนวน TVC เริ่มต้น 22.96×10^7 และ 21.97×10^7 CFU/กรัม ตามลำดับ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง กุ้งสัมผัสมีจำนวน TVC เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง 15 วัน ($p < 0.05$) ส่วนกุ้งสัมผัสที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นจนกระทั่งเก็บรักษานาน 15 วัน มีจำนวน TVC เพิ่มขึ้นเล็กน้อยใน 3 วันแรก ($p < 0.05$) กุ้งสัมผัสที่มีการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น มีจำนวน LAB เริ่มต้น 22.59 และ 21.77×10^7 CFU/กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 7B) ระหว่างการเก็บรักษา 6 วัน ชุดการทดลองกุ้งสัมผัสทั้งหมดมีจำนวน LAB ลดลงเล็กน้อย และมีจำนวน LAB ลดลงอย่างเด่นชัดเมื่อระยะเวลาการหมัก 6 9 และ 12 วัน จากผลการทดลองการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย



ภาพที่ 7 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (A) และแบคทีเรียแลคติก (B) ระหว่างการเก็บรักษาถุงส้มที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น

3.2 การเปลี่ยนแปลงจำนวนยีสต์ (yeast) และรา (mold) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น

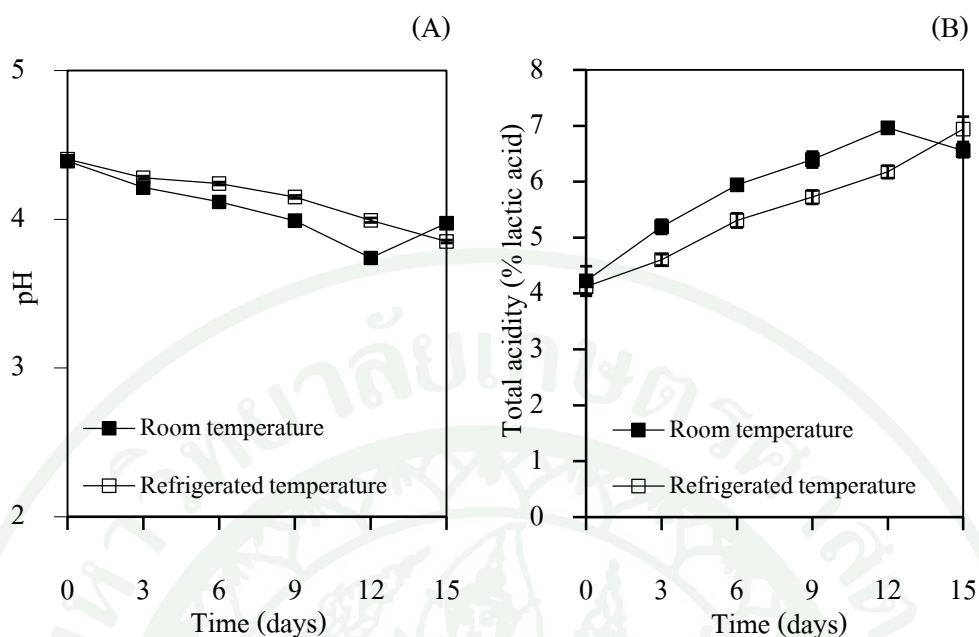
การเปลี่ยนแปลงจำนวนยีสต์และราของถุงส้มระหว่างการเก็บรักษา แสดงดังภาพที่ 8 ถุงส้มที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและถุงส้มที่มีการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น มีจำนวนยีสต์และรา เริ่มต้นไม่แตกต่างกัน (0.0 และ 0.01×10^5 CFU/กรัม) ($p < 0.05$) ระหว่างการเก็บรักษา 3 วัน แรกถุงส้มที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น ไม่พบการเจริญของยีสต์และรา และมีจำนวนยีสต์และราเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่ง 15 วัน โดยถุงส้มที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีการเพิ่มจำนวนของยีสต์และราในระหว่างการเก็บรักษามากกว่าถุงส้มที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น ทั้งนี้อาจเนื่องจากระดับอุณหภูมิที่เก็บรักษาซึ่งเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ โดยส่วนใหญ่ยีสต์และราจะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 - 40 องศาเซลเซียส (Maijala *et al.*, 1993) จากผลการทดลองพบว่า ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็นมีผลต่อการเจริญของยีสต์และรา



ภาพที่ 8 จำนวนยีสต์และราระหว่างการเก็บรักษาทุ้งส้มที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น

3.3 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชและปริมาณกรดทั้งหมดระหว่างการเก็บรักษา

การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชและปริมาณกรดทั้งหมดระหว่างการเก็บรักษา แสดงดังภาพที่ 9A และ 9B ตามลำดับ วันที่ 0 ของการเก็บรักษาทุ้งส้มมีค่าพีเอชเริ่มต้น ประมาณ 4.40 ระหว่างการเก็บรักษาทุ้งส้มมีค่าพีเอชลดลงอย่างต่อเนื่อง ($p < 0.05$) ทุ้งส้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีการลดลงของค่าพีเอชมากกว่าทุ้งส้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเท่ากัน ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตาม ทุ้งส้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา (ค่าพีเอชเท่ากับ 3.97) การลดลงของค่าพีเอชเป็นผลมาจากปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาทุ้งส้ม (ภาพที่ 9B) ซึ่งผลิตโดยแบคทีเรียแลกติก (ภาพที่ 7B) ทุ้งส้มควรมีค่าพีเอชไม่เกิน 4.6 ซึ่งเป็นค่าพีเอชของอาหารหมักบ่งชี้ถึงความปลอดภัยสำหรับการบริโภค เนื่องจากอาหารหมักที่มีค่าพีเอชน้อยกว่าหรือเท่ากับ 4.6 เป็นปัจจัยสำคัญที่มีต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสีย และจุลินทรีย์ก่อโรค (Saisithi *et al.*, 1986) จากผลการทดลองพบว่า อุณหภูมิการเก็บรักษามีผลต่อค่าพีเอชและปริมาณกรดทั้งหมด



ภาพที่ 9 ค่าพีเอช (A) และปริมาณกรดทั้งหมด (B) ระหว่างการเก็บรักษากุ้งส้มที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น

3.4 การยอมรับกุ้งส้มระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น

คะแนนการยอมรับของกุ้งส้มที่ทำการเก็บรักษาที่ระยะเวลาและอุณหภูมิแตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 10 ระหว่างการเก็บรักษา 15 วัน กุ้งส้มที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น ได้รับคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความชอบรวมมากกว่ากุ้งส้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($p < 0.05$) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น 6 วันแรก กุ้งส้มได้รับคะแนนความชอบทุกด้านไม่แตกต่างกัน ($p < 0.05$) ส่วนกุ้งส้มที่ผ่านระยะเวลาในการหมักวันที่ 9 12 และ 15 ได้รับคะแนนความชอบลดลงตามลำดับ ($p < 0.05$) เนื่องจากการเสียสภาพของโปรตีนโดยกรดและเกลืออาจมีผลต่อการเร่งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Benjakul *et al.*, 1997) ซึ่งผลิตภัณฑ์จากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันอาจมีผลต่อกลิ่นรสของกุ้งส้ม จากผลการทดลองการเก็บรักษาที่ระยะเวลาและอุณหภูมิต่างกันมีผลต่อการยอมรับของกุ้งส้ม และกุ้งส้มที่มีการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นได้รับการยอมรับมากที่สุด

ตารางที่ 10 คะแนนการยอมรับของกุ้งส้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น

ระยะเวลา	คุณลักษณะ						
	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	รสชาติ	กลิ่นรส	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
0 วัน							
อุณหภูมิห้อง	7.20±0.55 ^{b**A}	7.17±0.46 ^{ba}	7.13±0.43 ^{ba}	7.13±0.43 ^{ba}	7.10±0.48 ^{ba}	7.13±0.50 ^{ba}	7.07±0.58 ^{ba}
อุณหภูมิแช่เย็น	8.17±0.53 ^{aA***}	8.03±0.41 ^{aA}	8.10±0.40 ^{aA}	8.17±0.53 ^{aA}	8.13±0.57 ^{aB}	8.23±0.50 ^{aA}	8.07±0.64 ^{aA}
3 วัน							
อุณหภูมิห้อง	7.07±0.58 ^{bb}	6.97±0.49 ^{baB}	6.97±0.41 ^{bb}	6.87±0.57 ^{bb}	6.80±0.48 ^{bb}	7.00±0.52 ^{bb}	7.00±0.45 ^{baB}
อุณหภูมิแช่เย็น	8.17±0.53 ^{aA}	8.00±0.37 ^{aB}	8.07±0.36 ^{aB}	8.10±0.48 ^{aAB}	8.14±0.55 ^{aA}	8.17±0.46 ^{aB}	8.07±0.45 ^{aA}
6 วัน							
อุณหภูมิห้อง	6.69±0.55 ^{bE}	6.93±0.52 ^{bb}	6.93±0.36 ^{bb}	6.83±0.59 ^{bbC}	6.80±0.61 ^{baB}	6.97±0.61 ^{bb}	6.90±0.54 ^{bb}
อุณหภูมิแช่เย็น	8.13±0.57 ^{aAB}	8.03±0.41 ^{aAB}	8.03±0.41 ^{aAB}	8.13±0.57 ^{aB}	8.03±0.49 ^{aAB}	8.07±0.52 ^{aC}	8.00±0.37 ^{aAB}
9 วัน							
อุณหภูมิห้อง	6.93±0.52 ^{bc}	6.97±0.49 ^{baB}	6.90±0.30 ^{baB}	6.67±0.54 ^{bc}	6.73±0.45 ^{bc}	6.83±0.53 ^{bc}	6.77±0.50 ^{bb}
อุณหภูมิแช่เย็น	8.10±0.48 ^{aB}	8.00±0.26 ^{aAB}	7.93±0.25 ^{aC}	7.93±0.65 ^{aC}	7.83±0.34 ^{aC}	7.90±0.40 ^{aBC}	7.97±0.32 ^{aC}
12 วัน							
อุณหภูมิห้อง	6.90±0.40 ^{bc}	6.80±0.40 ^{bc}	6.77±0.43 ^{bc}	6.57±0.56 ^{bd}	6.63±0.55 ^{bd}	6.70±0.70 ^{bd}	6.70±0.53 ^{bc}
อุณหภูมิแช่เย็น	8.00±0.26 ^{aC}	8.00±0.41 ^{aAB}	7.77±0.43 ^{aD}	7.73±0.45 ^{aD}	7.80±0.40 ^{aCD}	7.77±0.50 ^{aD}	7.90±0.30 ^{aD}
15 วัน							
อุณหภูมิห้อง	6.83±0.37 ^{bd}	6.73±0.45 ^{bd}	6.57±0.62 ^{bd}	6.27±0.74 ^{bd}	6.20±0.50 ^{bE}	6.10±0.96 ^{bE}	6.37±0.61 ^{bd}
อุณหภูมิแช่เย็น	7.83±0.37 ^{aD}	7.90±0.30 ^{aC}	7.70±0.53 ^{aE}	7.67±0.47 ^{aE}	7.57±0.56 ^{aD}	7.60±0.62 ^{aE}	7.70±0.46 ^{aE}

หมายเหตุ

*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดสอบ 30 ซ้ำ

**ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างของคะแนนการยอมรับกุ้งส้มที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

***ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างของคะแนนการยอมรับกุ้งส้มระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ปริมาณเกลือและน้ำตาลซูโครสมีความสำคัญต่อการหมักและการยอมรับกึ่งส้ม การผลิตกึ่งส้มโดยการเติมเกลือร้อยละ 7.5 โดยน้ำหนักกึ่ง และน้ำตาลซูโครสที่ผ่านการฟอกสีร้อยละ 30 โดยน้ำหนักกึ่ง เป็นกึ่งส้มที่ได้รับคะแนนการยอมรับทุกด้านมากที่สุด ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการเจริญของแบคทีเรียแลกติก การเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมดและการลดลงของค่าพีเอชระหว่างการหมัก 6 วัน กึ่งส้มที่ผ่านการหมักแล้วมีปริมาณความชื้น ร้อยละ 68.42 ปริมาณเถ้า ร้อยละ 5.08 ปริมาณโปรตีน ร้อยละ 13.04 ปริมาณไขมัน ร้อยละ 0.28 ปริมาณเกลือ ร้อยละ 3.87 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 13.18 พลังงาน 105.94 กิโลแคลอรี/100 กรัม และมีชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรครตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 1032/2548 ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น กึ่งส้มมีค่าพีเอชลดลงและมีปริมาณกรดเพิ่มขึ้นซึ่งส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียและจุลินทรีย์ก่อโรค กึ่งส้มสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและแช่เย็นเป็นเวลา 15 วันและยังคงได้รับการยอมรับ

ข้อเสนอแนะ

ระหว่างการเก็บรักษากึ่งส้มอาจมีลักษณะปรากฏที่ไม่พึงประสงค์ของผู้บริโภค เช่น การเกิดฟิล์มบางบริเวณผิวหน้าของน้ำหมักกึ่งส้ม ซึ่งอาจมาจากการเจริญของยีสต์ในระหว่างการเก็บรักษา และการเพิ่มขึ้นของรสเปรี้ยวเนื่องจากการสร้างกรดเพิ่มขึ้นโดยแบคทีเรียแลกติก ดังนั้นจึงอาจนำเฮอร์เบิลเทคนิคเข้ามาประยุกต์ใช้กับกึ่งส้มเพื่อยืดอายุการเก็บรักษากึ่งส้มต่อไป

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กมลศิริ พันธนียะ. 2547. กุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไม (Pacific white shrimp). แหล่งที่มา:

http://www.nicaonline.com/articles2/site/view_article.asp?idarticle=125,

19 ธันวาคม 2547.

กองยุวภาษาฯ กรมพลศึกษา. 2531. ตารางแสดงคุณค่าอาหารไทยในส่วนที่กินได้ 100 กรัม.

ครุสภาลาดพร้าว, กรุงเทพฯ.

นิธิยา รัตนานนท์. 2545. เคมีอาหาร. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

บุญตัน พิทักษ์พล และ ทศนี สรสุชาติ. 2538. การถนอมผลิตผลการเกษตร. สถาบันคั่นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ผ่องเพ็ญ รัตกุล และ สุภาพรณ สุขประทุม. 2532. การพัฒนาการผลิตและเก็บรักษาส้มผัก.

อาหาร. 19 (3): 294-295.

นรภัทร หวันเหลี่ยม. 2551. การคัดเลือกโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติกจากกุ้งส้มและการผลิตกุ้งส้มจากสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. 2545. ศาสตร์ของกุ้งขาว ลิโทพีเนียส แวนนาไม (ตอนที่ 1). สัตว์น้ำ (158): 87-90.

เขวาลักษณ์ สุรพันธ์พิสิษฐ์. 2536. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2548. เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. โอ.เอส.พรีนติ้ง เฮ้าส์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2548. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกุ้งส้ม.

มอก. 1032/2548.

- Abraham, T.J. and T.M. Rudrasetty. 1993. Studies on the optimization of salt and lactic starter inoculum levels for the development of fermented shrimp pickle. **Asian Fisheries Sci.** 6: 193-202.
- Adams, M.R. 1999. Safety of industrial lactic acid bacteria. **J. Biotech.** 68:171-178.
- Adams, M.R., R.D. Cooke and D.R. Twiddy. 1987. Fermentation parameters involved in the production of lactic acid preserved fish-glucose substrates. **Int. J. Food Sci. Technol.** 22: 105-114.
- Adams, R. M. and Nicolaides, L. 1997. Review of the sensitivity of different foodborne pathogens to fermentation. **Food Control.** 8: 227–239.
- Ammor, S., G. Tauveron, E. Dofour and I. Chevallier. 2006. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meta small-scale facility: I. Screening and characterization of the antibacterial compounds. **Food Control.** 17: 454-461.
- A.O.A.C. 1995. **Official Methods of Analysis.** (16th ed.), Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia. 1043 p.
- A.O.A.C. 2000. **Official Methods of Analysis.** (17th ed.), Gaithersburg, Maryland: Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C.
- A.P.H.A. 1992. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food.** (3rd ed.), American Public Health Association, Washington, D.C. 1219 p.
- Armenta, P.E. and I. Guerrero-Legarreta. 2009. Amino acid profile and enhancement of the enzymatic hydrolysis of fermented shrimp carotenoproteins. **Food Chem.** 112: 310-315

- Axelsson, L. 1998. Lactic acid bacteria: classification and physiology. pp. 1-72 *In* S. Salminen and A.V. Wright, eds. **Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects**. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Benjakul, S., T.A. Seymour, M.T. Morrissey and H. An. 1997. Physicochemical changes in Pacific whiting muscle proteins during iced storage. **J. Food Sci.** 62: 729-733.
- Bemeller, J.N. and R.L. Whistler. 1996. Carbohydrate, pp. 157-223. *In* O.R. Fennema, eds. **Food Chemistry**. Marcel Dekker, New York.
- Bobillo, M. and V.M. Marshall. 1991. Effect of salt and culture aeration on lactate and acetate production by *Lactobacillus plantarum*. **Food Microbiol.** 8: 153-160.
- Chamber IV, E. and M.B. Wolf. 1996. **Sensory testing methods**. 2nd ed. Philadelphia: USA. American Society for Testing and Materials. USA.
- Charlier, C., M. Cretenet, S. Even and Y. Le Loir. 2009. Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: An old story with new perspectives. **Int. J. Food Microbiol.** 131: 30-39.
- Cochu, A., D. Fourmier, A. Halasz and J. Hawari. 2008. Maple sap as a rich medium to grow probiotic lactobacilli and to produce lactic acid. **Let. Appl. Microbiol.** 47: 500-507.
- Condon, S. 1987. Responses of lactic acid bacteria to oxygen. **FEMS Microbiol.** 46: 269-280.
- Cooke, R.D., D.R. Twiddy and P.J.A. Reilly. 1987. Lactic-acid fermentation as a low cost means of food preservation in tropical countries. **FEMS Microbiol.** 46: 369-379.
- Cruz-Suarez, L. E., D. Ricque-Marie, J. A. Martinez- Vega and P. Wesche-Ebeling. 1993. Evaluation of two shrimp by products meals as protein sources in diets for *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**. 115: 53-62.

Delliaglio, F.L., M.T. Dicks and S. Torriani. 1995. The genus *Leuconostoc*, pp. 235-278. In B.J.B. Wood and W.H. Holzapfel, eds. **The Genera of Lactic Acid Bacteria**. Chapman and Hall, Glasgow.

Devriese, L.A. and B. Pot. 1995. The genus *Enterococcus*, pp. 327-367. In B.J.B. Wood and W.H. Holzapfel, eds. **The Genera of Lactic Acid Bacteria**. Chapman and Hall, Glasgow.

Faithong, N., S. Benjakul, S. Phatcharat and W. Binsan. 2010. Chemical composition and antioxidative activity of Thai traditional fermented shrimp and krill products. **Food Chem.** 119(1): 133-140.

Feliz, G.L.A., M.D. Gatlin, L.A. Lawrence and P.M. Velazquez. 2002. Effect of dietary phospholipid on essential fatty acid requirements and tissue lipid composition of *Litopenaeus vannamei* juveniles. **Aquaculture**. 207:151-167

Giese, J. 1996. Fats, oil and fat replacers. **Food Technol.** 50: 78-83.

Gonzalez, C.F. and B.S. Kunka. 1986. Evidence for plasmid linkage of raffinose utilization and associated α -galactosidase and sucrose hydrolase activity in *Pediococcus pentosaceus*. **Appl. Environ. Microbiol.** 51:105-109.

Hammes, W.P., A. Bantleon and S. Min. 1990. Lactic acid bacteria in meat fermentation. **Microbiol.** 87:165-173.

Hardie, J. M. and R. Whiley. 1995. The genus of *Streptococcus*, pp. 75-4-124. In B.J.B. Wood and W.H. Holzapfel, eds. **The Genera of Lactic Acid Bacteria**. Chapman and Hall, Glasgow.

Hwanhlem, N., N. Watthanasakphuban, S. Riebroy, S. Benjakul, A. H-Kittikun and S. Maneerat. 2010. Probiotic lactic acid bacteria from *Kung-Som*: isolation, screening, inhibition of pathogenic bacteria. **Int. J. Food Sci. Technol.** 45: 594-601.

Jay, J.M. 1992. Food borne gastroenteritis caused by *Salmonella*, *Shigella*, and *Escherichia*, pp. 553-582. In J.M. Jay eds. **Modern Food Microbiology**. Chapman and Hall, New York.

Katayama, T., M. Toshiro, S. Makoto and C.O. Chichester. 1972. The biosynthesis of astaxanthin. X. the carotenoids in the red carp, *cyprinus carpio* linne, and the interconversion of β -[15,15'-³H₂]carotene into their body astaxanthin. **Int. J. Biochem.** 3: 569-572

Kim, J.S., F. Shahidi and M.S. Heu. 2003. Characteristics of Salt-Fermented Sauces from Shrimp Processing Byproducts. **Food Chem.** 51: 784-792.

Kong, S. and A.J. Davison. 1980. The role of interactions between O₂, H₂O₂, ·OH, e and O₂ in free radical damage to biological systems. **Biochem and Biophysics.** 204: 18-29

Lee, C.-H. 1997. Lactic acid fermented foods and their benefits in Asia. **Food Control.** 8: 259-269.

Lindgren, S.E. and W.J. Dobrogosz. 1990. Antagonistic activity of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. **FEMS Microbiol.** 7: 149-163.

Maijala, R.L., S.H. Eerola, M.A. Aho and J.A. Hirn. 1993. The effect of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amines in meat. **J. Food Prot.** 56: 125-129.

Mares, A., K. Neyts and J. Debevere. 1994. Influence of pH, salt and nitrite on the heme-dependent catalase activity of lactic acid bacteria. **Int. J. Food. Microbiol.** 24:191-198.

Matheus, D. R., L. K. Okino, R. A. P. Grandi and V. L. R. Bononi. 1996. Isolation of fungi from organochlorine contaminated soil. **Int. Biodeterioration & Biodegradation.** 37: 122

- McDonald, L.C., R.F. McFeeters, M.A. Daeschel and H.P. Fleming. 1987. A differential medium for the enumeration of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria. **Appl. Environ. Microbiol.** 53: 1382-1384.
- Molly, K., D. Demeyer, G. Johanssn, M. Raemeakers, M. Ghistelinck and I. Geenen. 1997. The importance of meat enzymes in ripening and flavor generation in dry fermented sausages. **Food Chem.** 59: 539-545.
- Owens, J.D. and L.S. Mendozs. 1985. Enzymatically hydrolysed and bacterially fermented fishery products. **J. Food Technol.** 20(3): 273-279.
- Paludan-Müller, R. Valyasevi, H.H. Huss and L. Gram. 2002. Genotypic and phenotypic characterization of garlic-fermenting lactic acid bacteria isolated from som-fak, a Thai low-salt fermented fish product. **J. App. Microbiol.** 92: 307-314.
- Peterson, B.C., F.C Parrish and M.H. Stromer. 1988. Effects of salt and pyrophosphate on the physical and chemical properties of beef muscle. **J. Food Sci.** 53(5):1258-1265.
- Phitakpol, B., W. Varanyanond, S. Reungmaneeapaitoon and H. Wood. 1995. **The traditional fermented foods of Thailand.** Institute of Food Research and Products Development. Kasetsart University, Bangkok, Thailand.
- Prescott, S.C. and C.G. Dunn. 1959. **Industrial Microbiology.** 3rd ed. New York: McGraw-Hill Book Company.
- Raccach, M. and C. M. Planck. 1985. Effect of chloride salts on the fermentative activity of meat lactic acid bacteria. **Food Microbial.** 2: 103-106.
- Reddy, G., B.J. M. Altaf, Naveena, M. Venkateshwar and E. V. Kumar. 2008. Amylolytic bacterial lactic acid fermentation-a review. **Biotech Adv.** 26: 22-34.

- Riebroy, S., S. Benjakul, W. Visessanguan, K. Kiroongrojana, and M. Tanaka. 2004. Some characteristics of commercial Som-fug produced in Thailand. **Food Chem.** 88: 527-535.
- _____, M. Tanaka. 2007a. Changes during fermentation and properties of Som-fug produced from different marine fish. **J. Food Process. Pres.** 31: 751-770.
- _____, S. Benjakul and W. Visessanguan. 2008. Properties and acceptability of Som-fug, a Thai fermented fish mince, inoculated with lactic acid bacteria starters. **LWT-Food Sci. Technol.** 41 (4): 569-580.
- Roca, M. and K. Incze. 1990. Fermented sausages. **Food Rev. Int.** 6: 91-118.
- Saisithi, P., C. Wongkhalaung, M. Boonyaratanakprakit, P. Yongmanitchai, P. Chimanage and S. Maleehuan. 1986. **Improvement of Thai traditional fermented fish product: Som-fug.** Institute of Food Research and Product Development. Kasetsart University, Bangkok.
- Sikorski, Z E., A. Kolakowska and B. S. Pan. 1990. The nutritive composition of the major groups of marine food organisms, pp. 29-54. *In* Z. E. Sikorski, eds. **Seafood: resources, nutritional composition and preservation.** CRC Press, Florida.
- Sriket, P., S. Benjakul, W. Visessanguan. and K. Kijroongrojana. 2007. Comparative studies on chemical composition and thermal properties of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) meats. **Food Chem.** 103 (4):1199-1207.
- Stamer, J. R. 1975. Recent developments in the fermentation of sauerkraut, pp. 267 -280. *In* J. G. Carr, C. V. Cutting and G. C. Whiting, eds. **Lactic Acid Bacteria in Beverages and Food.** Academic Press, London.
- Steel, R.G.D. and J.H.Torrie. 1980. **Principle and procedure of statistics.** 2nd ed. Mac-Graw Hill. New York.

Steinkraus, H.K. 1997. Classification of fermented food: worldwide review of household fermentation techniques. **Food Control**. 8: 311-317.

Stiles, M.E. and W.H. Holzapfel. 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. **Int. Food Microbiol.** 36:1-29.

Tanasupawat, S., S. Okada and K. Komagata. 1998. Lactic acid bacteria found in fermented fish in Thailand. **J. Gen. Appl. Microbiol.** 44: 193-200.

Teuber, M. 1995. The genus *Lactococcus*, pp. 173-174. In B.J.B. Wood and W.H. Holzapfel, eds. **The Genera of Lactic Acid Bacteria**. Blackie Academic & Professional, London.

Tittsler, P., C.S. Pederson, E. Snelle, Hendlxdn and F. JR. Nivenc. 1952. Symposium on the lactic acid bacteria. **Bacteriol. Rev.** 16: 227-260.

Yanar, Y. and M. Celik. 2006. Seasonal amino acid profiles and mineral contents of green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus* De Haan, 1844) and speckled shrimp (*Metapenaeus monoceros* Fabricus, 1789) from the Eastern Mediterranean. **Food Chem.** 94: 33-36.

Yanar, Y., M. Celik and M. Yanar. 2004. Seasonal changes in total carotenoid contents of wild marine shrimps (*Penaeus semisulcatus* and *Metapenaeus monoceros*) inhabiting the Eastern Mediterranean. **Food Chem.** 88: 267-269.

Zaika, L.L. and J.C. Kissinger. 1984. Fermentation enhancement by spices Identification of active components. **J. Food Sci.** 49: 5-9.





การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

1. Plate Count Agar (PCA)

ประกอบด้วย

Casein enzymic hydrolysate	5.00	กรัม
Yeast extract	2.50	กรัม
Dextrose	1.00	กรัม
Agar	15.00	กรัม

ซังอาหารสำเร็จรูป 23.5 กรัม ละลายกับน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ให้ความร้อนเพื่อให้ส่วนผสมละลาย แล้วทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. Potato Dextrose Agar (PDA)

ประกอบด้วย

Potato infusion from	200.00	กรัม
Dextrose	20.00	กรัม
Agar	15.00	กรัม

ซังอาหารสำเร็จรูป 39.0 กรัม ละลายกับน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ให้ความร้อนเพื่อให้ส่วนผสมละลาย แล้วทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที และวางทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมสารละลาย Tartaric acid ที่ปราศจากเชื้อ 10 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน

3. Man Rogosa Sharpe (MRS)

ประกอบด้วย

Agar	9.00	กรัม
Man Rogosa Sharpe	26.1	กรัม
CaCo ₃	5.00	กรัม

ซึ่งส่วนผสมทั้งหมด ละลายกับน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที



การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

1. วิธีการตรวจหาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (AOAC, 2000)

1.1 การเตรียมตัวอย่างทำโดยชั่งตัวอย่าง 25 กรัม โดยวิธีปราศจากเชื้อ (Aseptic technique) แล้วเติมสารละลาย Normal saline (เกลือร้อยละ 0.85) ที่ฆ่าเชื้อแล้วลงไป 225 มิลลิลิตร บดตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง (Stomacher) จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 1:10

1.2 ใช้ Pour plate technique โดยการปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆ กันปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้วแล้ว ค่อยๆ รินอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar ลงไปให้มีปริมาตร ประมาณ 18-20 มิลลิลิตร ค่อยๆ เขย่าให้ตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อผสมกันทำซ้ำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ กลับจานเพาะเชื้อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง

1.3 คัดเลือกจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี อยู่ระหว่าง 30 -300 โคโลนี นับจำนวนด้วยเครื่องนับโคโลนี

1.4 หาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีที่นับได้ในแต่ละระดับความเจือจางคูณด้วยค่า Dilution factor ของระดับความเจือจางที่นับได้ คำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่าง

2. วิธีการตรวจหาปริมาณแบคทีเรียแลกติก (AOAC, 2000)

2.1 การเตรียมตัวอย่างทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด

2.2 ใช้วิธี Pour plate technique โดยการปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆ กัน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อแล้วค่อยๆ รินอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ที่มีการเติม CaCO_3 ร้อยละ 0.5 และ Bromocresol purple ร้อยละ 0.004 ลงไป ทำการเจือจางระดับความเข้มข้นของแบคทีเรียครั้งละ 10 เท่า กลับจานเพาะเชื้อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24-28 ชั่วโมง

2.3 นับจำนวนโคโลนีเฉพาะที่สามารถสร้างบริเวณใส (Clear zone) และอาหารเลี้ยงเชื้อรอบโคโลนีเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

2.4 หาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีที่นับได้ในแต่ละระดับความเจือจางคูณด้วยค่า Dilution factor ของระดับเจือจางที่นับได้ คำนวณเป็นจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแลกติกต่อตัวอย่าง 1 กรัม (CFU/ กรัม)

3. วิธีการตรวจหาปริมาณยีสต์และรา (AOAC, 2000)

3.1 เตรียมตัวอย่างอาหารเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด

3.2 ปิเปตต์ตัวอย่างที่เจือจางแล้วปริมาตร 1 มิลลิลิตร (ความเจือจาง 10^{-1} - 10^{-5}) ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ ทำซ้ำความเจือจางละ 2 จาน จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar ที่ปรับความเป็นกรด - เบส เท่ากับ 3.5 โดยใช้ Tartaric acid ร้อยละ 10 ที่หลอมละลายและอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อจานละประมาณ 15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ให้แข็งตัว ไม่ต้องกลับจานเพาะเชื้อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นานประมาณ 2-3 วัน

3.3 นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อ บันทึกผลแล้วคูณด้วย Dilution factor ของความเจือจางที่นับจำนวนได้ และหาค่าเฉลี่ยจากนั้นคำนวณเป็นโคโลนีต่อกรัมของน้ำหนักตัวอย่าง (CFU/กรัม)

4. วิธีการตรวจหา *Clostridium perfringens* (A.P.H.A., 1992)

4.1 เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับการหาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด

4.2 ปิเปตต์ตัวอย่างที่ทำการเจือจางแล้วปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนผิวหน้าทั้งหมดของอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptose sulfite cycloserine egg yolk (TSC-EY) agar หรือ Shahidi ferguson perfringens (SEP) agar แล้วเกลี่ยให้ทั่วผิวอาหาร

4.3 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส นาน 20 – 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน (ใน Anaerobic jar หรือ Anaerobic incubator)

4.4 นับโคโลนีสีดำ มีบริเวณทึบแสงสีขาว (Opaque white zone) นำมาทดสอบยืนยัน

4.5 ถ่ายเชื้อลง Thioglycolate broth บ่มเชื้ออุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 18 -24 ชั่วโมง

4.5.1 Stab ลง Motility nitrate medium บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง *C. perfringens* ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ดังนั้นการเจริญจะเกิดเฉพาะตามรอยแทงของลูปเท่านั้น ทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรดให้เป็นไนไตรต์ด้วยน้ำยาทดสอบ N – (1 - naphthyl) ethylenediamine ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร กับสารละลาย Sulfanilic acid ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหยอด ซึ่งจะให้เห็นสีแดงภายในเวลา 5 นาที ในกรณีที่การทดสอบครั้งแรกได้ผลลบ ให้บ่มหลอดเชื้ออีกหนึ่งหลอดต่ออีก 24 ชั่วโมง แล้วทดสอบซ้ำ

4.5.2 Stab ลง Lactose gelatin medium บ่มที่ 35 - 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง *C. perfringens* สามารถเฟอร์เมนแล็กโทส เกิดฟอง และมีกรดเกิดขึ้น ทำให้อาหารเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง และมีเอนไซม์ย่อยเจลาตินได้ ทดสอบได้โดยการแช่หลอดในน้ำแข็งนานประมาณ 30 นาที เจลาตินที่ถูกย่อยสลายแล้วจะไม่จับเป็นก้อนแข็ง

5. วิธีการตรวจหา *Salmonella* sp. (AOAC,1995)

5.1 ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม โดยวิธี Aseptic technique เติมหอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy broth ลงไป 225 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

5.2 ปิเปตตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Selenite cystine broth (SC) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

5.3 Streak ลงบน Xylose lysine desoxycholate agar (XLD) และ Salmonella Shigella (SS) agar บ่มที่ 35 – 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

5.4 ดูลักษณะโคโลนีของ *Salmonella* sp. บน Xylose lysine desoxycholate agar (XLD) จะใส่ขอบเรียบ อาจมีหรือไม่มีจุดสีดำของเหล็กซัลไฟด์ตรงกลางโคโลนี อาหารเลี้ยงเชื้อครอบโคโลนีจะไม่เปลี่ยนสี ส่วนบน SS agar โคโลนีจะไม่มีสีใสหรือทึบไม่มีจุดสีดำของเหล็กซัลไฟด์ตรงกลางโคโลนี เลือกโคโลนีที่ลักษณะดังกล่าวไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี

5.5 การทดสอบทางชีวเคมี โดยการถ่ายเชื้อจากโคโลนีด้วยเข็มเย็บเชื้อ ถ่ายลงใน Triple sugar iron agar (TSI) และ Lysine undole motility (LIM) บ่มที่อุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง *Salmonella* sp. บน TSI จะให้ผล slant เป็นค้าง (สีแดง) และ butt เป็นกรด (สีเหลือง) [K/A] อาจพบหรือพบการสร้างแก๊สสีดำจาก H_2S ส่วนบน LIM พบว่า Lysine decarboxylase agar ส่วนใหญ่ให้ผลบวก (อาหารเลี้ยงเชื้อสีม่วงเหมือนเดิม) ยกเว้น *S. paratyphi* และการทดสอบอินโดล (indole) ให้ผลลบ (ไม่เกิดสีชมพูในชั้นของ Kovac's reagent) motility ให้ผลบวก (มีการเจริญนอกแนวที่ถ่ายเชื้อ)

5.6 นำเชื้อที่สงสัยว่าจะเป็น *Salmonella* sp. จากการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีมาทดสอบทางซีรัมวิทยา (serology) โดยดูการตกตะกอน (agglutination) กับ antiserum ชนิด polyvalent ของ *Salmonella* sp.

5.7 รายงานผลว่าพบหรือไม่พบ *Salmonella* sp. ในตัวอย่าง 25 กรัม

6. วิธีการตรวจหา *Staphylococcus aureus* (AOAC, 1995)

6.1 เตรียมตัวอย่างอาหารเช่นเดียวกับการตรวจหาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด

6.2 ปิเปตตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร Tryptic soy broth (TSB) เติมเกลือร้อยละบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

6.3 ปิเปตตัวอย่างอาหาร 0.1 มิลลิลิตร ลงบน Mannitol salt egg yolk agar (MS - EY) หรือ Baird – Parker medium (BP agar) เกลี่ยให้ทั่วผิวอาหาร บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

6.4 สังเกตโคโลนีของ *Staphylococcus* sp. ซึ่งอยู่บน MS – EY agar โคโลนีสีขาวหรือเหลืองขนาดเล็กมีบริเวณทึบแสง (opaque zone) และบน BP agar โคโลนีมีสีดำเป็นมัน มีขอบตกตะกอนรอบๆ

6.5 ทดสอบเอนไซม์ coagulase โดยตรวจการแข็งตัว (clot) ของ coagulase plasma EDTA ทุก ๆ 1 ชั่วโมง โดยต้องเกิดการแข็งตัวภายใน 4 -6 ชั่วโมง จึงถือว่าให้ผลบวก เชื้อที่ให้ผลทดสอบเอนไซม์ coagulase เป็นผลบวก จัดเป็น *Staphylococcus* sp.

7. วิธีการตรวจหา *Bacillus cereus* (A.P.H.A., 1992)

7.1 เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับการตรวจหาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด

7.2 ปิเปตตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร Mannitol salt egg yolk agar (MEYP) agar หรือ Baird – Parker medium agar เกลี่ยให้ทั่ว บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

7.3 นับจำนวนโคโลนีที่เป็นลักษณะของ *B. cereus* บน MEYP agar จะมีสีชมพูแดง มีโซนทึบแสงรอบ ๆ โคโลนี และอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เปลี่ยนสี ส่วนโคโลนี *Bacillus cereus* agar จะมีสีฟ้า ขนาดประมาณ 5 มิลลิลิตร และมีโซนทึบแสงรอบ ๆ โคโลนีเช่นเดียวกัน

7.4 เลือกโคโลนีที่ทำการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี และย้อมสีแบบแกรม

7.4.1 *B.cereus* ไม่เฟอร์เมนต้น้ำตาล xylose และไม่เฟอร์เมนต้น้ำตาล Arabinose เมื่อเลี้ยงบน Blood agar จะ hemolyze เลือดเกิดบริเวณใสรอบโคโลนีและให้ผลบวกกับการทดสอบ Voges – Prokauer (VP)

7.4.2 *B.cereus* มีลักษณะเซลล์ใหญ่ติดสีแดง มีเม็ดไขมันติดสีดำของ Sudan black สเปอร์ดิสซีเขียวอยู่กลางเซลล์ ขนาดของสปอร์เล็กกว่าขนาดของเซลล์

8. วิธีการตรวจหาปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *Escherichia coli* (AOAC, 1995)

8.1 เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับการตรวจหาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด

8.2 ปิเปตตัวอย่างอาหารที่ระดับความเจือจาง 1:10, 1:100 และ 1:1000 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร Lauryl sulfate tryptose broth (LST broth) ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

8.3 บ่มที่อุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

8.4 ตรวจดูหลอดที่ให้ผลบวก โดยจะเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส (Presumptive test)

8.5 ใ้รูปถ่ายเชื้อจากหลอดที่มีแก๊สลงในอาหาร Brilliant green lactose bile broth (BGLB) และ EC broth

8.5.1 BGLB นำไปบ่มที่ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนหลอดที่เกิดแก๊สทั้งหมดในขั้นนี้ (Confirm test) นำไปหาค่า MPN ของโคลิฟอร์มจากตาราง MPN

8.5.2 EC broth นำไปบ่มในหม้ออังไอน้ำ (Water bath) ที่อุณหภูมิ 44.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ชั่วโมง นับจำนวนหลอดที่เกิดแก๊สทั้งหมดในขั้นนี้ (Confirm test) นำไปหาค่า MPN ของโคลิฟอร์มจากตาราง MPN

8.6 การตรวจหา E. coli

8.6.1 ใช้ลูปถ่ายเชื้อจากหลอดที่ให้ผลบวกในข้อ 8.5.2 มา streak ลงบนอาหาร Eosin methylene blue (EMB) agar บ่มที่ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 24 ชั่วโมง

8.6.2 เลือกโคโลนีที่มีสีเข้มคล้ำ อาจมีเงาโลหะหรือไม่ก็ได้ ถ่ายเชื้อลงในอาหาร NA – slant บ่มที่ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 16-18 ชั่วโมง

8.6.3 ทดสอบปฏิกิริยา IMViC ได้แก่

Indole production ทำโดยถ่ายเชื้อลงใน Tryptose broth บ่มที่ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบการสร้างอินโดล โดยเติม Kovac's reagent 0.2-0.3 มิลลิลิตร ถ้าเกิดสีชมพูหรือสีแดงที่ผิวหน้าแสดงว่าให้ผลบวก

Methyl red reactive compounds ทำโดยถ่ายเชื้อลงใน MR – VP medium ที่ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 24 ชั่วโมง เติมนสารละลายเมทิลเรดลงไป 5 หยด ถ้าเกิดสีแดงแสดงว่าให้ผลบวก

Voges – Proskauer reactive compounds ทำโดยถ่ายเชื้อลงใน MR – VP medium บ่มที่ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 24 ชั่วโมง เติมนสารละลาย α - naphthol 0.6 มิลลิลิตร และ KOH ร้อยละ 40 ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ถ้ามีสีชมพูเกิดขึ้นแสดงว่าให้ผลบวก

Citrate utilization ถ่ายเชื้อลงในอาหาร Kovac's reagent บ่มที่ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 96 ชั่วโมง ถ้าอาหารขุ่นแสดงว่าให้ผลบวก

8.6.4 ย้อมสีแบบแกรม

8.6.5 คำนวณค่า MPN ของ E. coli ต่อกรัมของอาหารจากหลอดที่ทดสอบแล้วว่า มีแบคทีเรียรูปท่อน แกรมลบ และได้ผลการทดสอบ IMViC เป็น +++ หรือ +--



การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. ภาชนะอะลูมิเนียม (Moisture can)
2. ตู้อบไฟฟ้า (Hot air oven)
3. โถดูดความชื้น (Desiccator)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. หาน้ำหนักที่คงที่ของภาชนะอะลูมิเนียม โดยนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-4 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วนำเข้าตู้อบใหม่ ดำเนินการเหมือนครั้งแรกจนได้น้ำหนักคงที่
2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ใส่ลงในภาชนะอะลูมิเนียม ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว
3. เกลี่ยตัวอย่างแผ่ออกอย่างสม่ำเสมอให้มีเนื้อที่มากที่สุดเท่าที่จะทำได้
4. นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-4 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วนำเข้าตู้อบใหม่ ดำเนินการเหมือนครั้งแรกจนได้น้ำหนักคงที่
5. นำผลที่ได้ไปคำนวณปริมาณความชื้นดังนี้

การคำนวณ

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

2. วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. ตู้อบไฟฟ้า (Hot air oven)
2. เตาเผาอุณหภูมิสูง (Muffle furnace)
3. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Porcelain crucible)
4. โถดูดความชื้น (Desiccator)
5. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. เเผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาที่อุณหภูมิ 550 เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ปิดสวิทซ์เตาเผา แล้วรอประมาณ 30 -40 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาตกลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
2. เเผาซ้ำอีกครั้งละประมาณ 30 นาที โดยทำเหมือนวิธีข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้ง ติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไปเผาในตู้ควันทันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส และทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 1-2 คำนวณหาปริมาณเถ้าจากสูตร

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา}} \times 100$$

3. วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลด้าล (kjeldahl flask) (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. ขวดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask) ขนาด 250 – 300 มิลลิลิตร
2. ชุดกลั่นโปรตีน (Semi-microdistillation apparatus)
3. ขวดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
4. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร
5. ปิเปตต์ (Pipette) ขนาด 25 มิลลิลิตร
6. บิวเรตต์ (Burette) ขนาด 25 มิลลิลิตร
7. ลูกแก้ว
8. กระดาษกรอง (Filter paper)

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4)
2. สารเร่งปฏิกิริยา ใช้คอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_4) 1 ส่วนต่อโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 9 ส่วน
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 32 ซังโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
4. สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 2 ละลายกรดบอริก 20 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร
5. สารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.1 นอร์มัล
6. อินดิเคเตอร์ใช้ fashiro indicator เตรียมเป็น stock solution ซังเมทิลินบลู 0.2 กรัม ละลายในเอทานอล 200 มิลลิลิตร และซังเมทิลเรด 0.05 กรัม ละลายในเอทานอล 50 มิลลิลิตร โดยนำมาผสมในอัตราส่วน stock solution 1 ส่วน : เอทานอล 1 ส่วน : น้ำกลั่น 2 ส่วน

วิธีการ

1. ซังตัวอย่างบนกระดาษกรองให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิด ใส่ลงในขวดย่อยโปรตีน
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 1 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร นำไปย่อยบนเตาไฟในตู้ควั่นจนกระทั่งได้สารละลายใส ปล่อยให้เย็น

3. นำไปกลั่น โดยเติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
เข้มข้นร้อยละ 32 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
4. รองรับสิ่งที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 50
มิลลิลิตร
5. เติมอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด
6. กลั่นโดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดบอริก
7. กลั่นจนได้สารละลายในขวดจับแก๊สประมาณ 250 มิลลิลิตร
8. กลั่นประมาณ 10 นาที ล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ
9. ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนได้
จุดยุติเป็นสีชมพูอ่อน
10. ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกันตั้งแต่ข้อ 2-10

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(a - b) \times N \times 14 \times \text{factor}}{W}$$

โดยที่ a = ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
 b = ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้ในการไทเทรต blank (มิลลิลิตร)
 N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือ (นอร์มัล)
 W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)
 Factor = ตัวเลขที่เหมาะสม = 6.25
 (น้ำหนักกรัมสมบูรณ์ของไนโตรเจนเท่ากับ 14.007)

4. วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (Soxhlet apparatus) ประกอบด้วยบีกเกอร์สำหรับใส่ตัวทำละลายซ็อกเก็ต (Soxhlet) เครื่องควบแน่น (Condenser) และเตาให้ความร้อน
2. หลอดใส่ตัวอย่าง (Extraction thimble)
3. สำลี
4. ตู้อบไฟฟ้า
5. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
6. โถดูดความชื้น (Desiccator)

วิธีการ

1. อบบีกเกอร์สำหรับหาไขมัน ซึ่งมีขนาดความจุ 150 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้าทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิดแล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยสำลีเพื่อให้สารละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ
3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซ็อกเก็ต (soxhlet)
4. เติมนิโตรเลียมอีเทอร์ลงในขวดหาไขมันปริมาณ 50 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตาให้ความร้อน
5. ทำการสกัดไขมันเป็นเวลา 45 นาที โดยปรับความร้อนให้หยดของสารที่ละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยด ต่อ นาที
6. ระเหยจนเหลือสารละลายในขวดกลมเพียงเล็กน้อยด้วยเครื่องระเหยตัวที่ละลายระเหยจนเหลือสารละลายในขวดกลมเพียงเล็กน้อยด้วยเครื่องระเหยตัวที่ละลาย
7. นำขวดไปอบในตู้ที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส จนแห้ง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
8. ชั่งน้ำหนักแล้วอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$





แบบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของกุ้งส้ม

ผลิตภัณฑ์ กุ้งส้ม

ชื่อ.....เบอร์โทรศัพท์.....
วันที่เดือน..... พ.ศ.เวลา.....

คำชี้แจง

กรุณาทดสอบชิมตัวอย่างจากซ้ายไปขวา และให้คะแนนความชอบตั้งแต่ 1 ถึง 9 และกรุณาทำความสะอาดในปากด้วยการดื่มน้ำทุกครั้งเมื่อทดสอบชิมตัวอย่างต่อไป

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

คุณลักษณะ/ตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง		
ลักษณะปรากฏ			
สี			
กลิ่น			
ลักษณะเนื้อสัมผัส			
รสชาติ			
กลิ่นรส			
ความชอบโดยรวม			

คำแนะนำ/ข้อคิดเห็นเพิ่มเติม

.....
.....

----- ชอบคุณค่ะ -----

การเตรียมตัวอย่างกึ่งส้มสำหรับการทดสอบการยอมรับ

ยำกึ่งส้ม

ส่วนผสม

กึ่งส้ม	100	กรัม
พริกขี้หนูซอย	10	กรัม
หอมแดงซอย	20	กรัม

วิธีการ

นำกึ่งส้ม พริกขี้หนูซอย หอมแดงซอย ที่เตรียมไว้นำมาผสมให้เข้ากัน ตักใส่ถ้วยเสิร์ฟ พร้อมผักสด

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ นางสาวผกาดี เอี่ยมกำแพง
 เกิดวันที่ 18 ตุลาคม 2528
 สถานที่เกิด อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร
 ประวัติการศึกษา วท.บ. (คหกรรมศาสตร์) มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา
 ตำแหน่งปัจจุบัน -
 สถานที่ทำงานปัจจุบัน -
 ผลงานทางวิชาการ งานวิจัยเรื่อง ผลของเกลือต่อการหมักและการยอมรับกุ้งส้มที่ผลิตจาก
 กุ้งขาว
 ทุนการศึกษาที่ได้รับ -