บทที่ 2
เอกสารและผลงานที่เกี่ยวข้อง

2.1 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพสัตว์น้ำ

สัตว์น้ำจัดเป็นอาหารที่เน่าเสียได้ง่าย โดยกล้ามเนื้อของสัตว์น้ำจะเน่าเสียได้เร็วกว่ากล้ามเนื้อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เนื่องจากกล้ามเนื้อของสัตว์น้ำมีปริมาณน้ำและกรดอะมิโนในปริมาณสูง ในขณะที่มีปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันต่ำ เมื่อเทียบกับกล้ามเนื้อของสัตว์ชนิดอื่น ส่งผลทำให้สัตว์น้ำมีการเน่าเสียอย่างรวดเร็ว โดยทั่วไปการเน่าเสียของสัตว์น้ำ สามารถจำแนกเป็น 2 ประเภท คือ

2.1.1 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและเอนไซม์

โดยทั่วไปกล้ามเนื้อของสัตว์น้ำประกอบไปด้วย โปรตีน ไขมัน น้ำ คาร์โบไฮเดรต เกลือแร่ และกรดนิวคลีอิกเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงไปตามชนิด ประเภท ฤดูกาลวางไข่ของสัตว์น้ำ (Foegeding *et al.*, 1996) การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี และเอนไซม์จึงส่งผลต่อการเน่าเสียของสัตว์น้ำภายหลังสัตว์น้ำตายซึ่งสามารถจำแนกออกได้เป็น 2 ประเภทดังนี้

2.1.1.1 การเปลี่ยนแปลงของโปรตีน

การเปลี่ยนแปลงของส่วนประกอบต่างๆในสัตว์น้ำจะเกิดขึ้นเมื่อสัตว์น้ำตายโดยเอนไซม์ภายในตัวของสัตว์น้ำรวมทั้งกิจกรรมของแบคทีเรียที่พบในสัตว์น้ำ (Regenstein *et al.*, 1982) ซึ่งขั้นตอนแรกหลังจากสัตว์น้ำตายจะเป็นการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อหรือที่เรียกว่า rigor mortis ในระยะนี้แบคทีเรียไม่สามารถย่อยสลายเนื้อสัตว์น้ำเพื่อเป็นอาหารได้ หลังจากกล้ามเนื้อสัตว์น้ำคลายตัวแล้วโปรตีนจะสลายตัวด้วยเอนไซม์ที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์น้ำและทางเดินอาหาร ถึงแม้ว่าสัตว์น้ำตายแล้วก็ตาม เอนไซม์ที่มีอยู่จะยังคงทำงานต่อไปได้อีกระยะหนึ่ง โดยย่อยสลายส่วนต่างๆในเนื้อสัตว์น้ำ

Hobbs (1982) พบว่าเมื่อสัตว์น้ำตาย เอนไซม์บางชนิดในกล้ามเนื้อจะยังคงดำเนินกิจกรรมอยู่ พลังงานที่ใช้ในการหดตัวนี้มาจากไกลโคเจนที่เก็บสะสมไว้ในกล้ามเนื้อโดย อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (ATP) จะแตกตัวได้อย่างรวดเร็วได้เป็นอะดีโนซีนไดฟอสเฟต (ADP) และหมู่ฟอสเฟต (P) โดย Mg activated actomyosin ATPase และพลังงานอิสระที่ได้รับการแตกตัวจาก ATP ถูกนำไปใช้ในการหดตัว ภายหลังการตายการสังเคราะห์ ATP จะไม่สังเคราะห์ได้อีก ดังนั้นเมื่อไม่มี ATP ก็จะเกิดการสร้างพันธะระหว่างแอกตินและไมโอซินเป็นแอกโตไมโอซิน ผลของปฏิกิริยานี้ทำให้สัตว์น้ำเกิดการเกร็งตัวจนกระทั่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยโปรตีน โดยโปรตีนจะสลายตัวด้วยเอนไซม์ ทำให้กล้ามเนื้อของสัตว์น้ำเกิดการเสียสภาพโปรตีนซึ่งมีสาเหตุมาจาก เอนโดจีนัสและโปรตีเอส เช่น คาเพน (Wang and Brown, 1983; Jiang *et al.*,1991) และคาเทปซิน (Visessanguan *et al* 2001; Gomez–Guillen and Batista, 1997) *Pseudomonas marinoglentinoa* สามารถย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อโดยแอกโตไมโอซินที่อุณหภูมิ 0-2 องศาเซลเซียสและพีเอชที่เหมาะสมคือสูงกว่า 7 (Venugopol *et al.*, 1983) เนื่องจากเอนไซม์จากทางเดินอาหารมีกิจกรรมในการย่อยสลายสูง ดังนั้น การควักไส้ปลาจึงสามารถลดการแพร่ของเอนไซม์ในช่องท้องเข้าสู่เนื้อเยื่อ ในปลา

บางชนิดเช่น ปลาแฮริ่ง ปลาแมคเคอเรล และปลาเคป ซึ่งมีการจับในระยะที่มีอาหารสมบูรณ์มักมีการย่อยสลายตัวเองของเนื้อเยื่อสูง ทั้งนี้เนื่องจากปลามีกระเพาะและลำไส้ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสที่สูง ซึ่งเป็นสาเหตุของ "Belly Burst" หรือลักษณะท้องแตกปรากฏการณ์ดังกล่าวสามารถลดลงได้ด้วยการเก็บปลาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ และผ่านกรรมวิธีการแปรรูปอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะการควักไส้ควรจะทำทันทีหลังจากจับปลา

2.1.1.2 การเปลี่ยนแปลงไขมัน

ไขมันสัตว์น้ำประกอบด้วยสัดส่วนของไขมันไม่อิ่มตัวในปริมาณสูงซึ่งง่ายต่อการเกิดออกซิเดชันในสภาพที่มีออกซิเจน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง และเสื่อมเสียของไขมันเป็นสาเหตุให้กลิ่นรสชาติ สี และ เนื้อสัมผัสเปลี่ยนแปลง (Hobbs, 1982) เอนไซม์ไลเปส (Lipase) สามารถย่อยสลายไขมันไม่อิ่มตัวได้ง่ายเกิดเป็นสารประกอบคาร์บอนิล (Carbonyl) ซึ่งเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ การสะสมองค์ประกอบที่เกิดจากปฏิกิริยาดังกล่าวทำให้เกิดกลิ่น และ รสชาติไม่พึงประสงค์ นอกจากนี้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสสามารถเกิดขึ้นได้โดยเอนไซม์ไลเปสจากแบคทีเรีย ในขณะที่สัตว์น้ำเกิดการเน่าเสียกระบวนการไลโพไลซีส (Lipolysis) และ ออกซิเดชันของไขมันส่วนใหญ่เกิดขึ้นเนื่องจากเอนไซม์ในเนื้อเยื่อสัตว์น้ำรวมกับสภาวะที่มีออกซิเจน และต่อมาเกิดการหืนเนื่องจากกระบวนการไลโพไลซีส และออกซิเดชันเกิดขึ้นจากกิจกรรมของแบคทีเรีย การบรรจุสัตว์น้ำเป็นบล็อกโดยการเอาน้ำใส่ก่อนนำไปแช่แข็งน้ำจะหุ้มตัวสัตว์น้ำเอาไว้ไม่ให้ไขมันสัมผัสกับอากาศก็สามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้

2.1.2 การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์

ชนิดและปริมาณของแบคทีเรียในแต่ละถิ่นของสัตว์น้ำแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน สำหรับสัตว์น้ำเย็นพบว่า การเน่าเสียเป็นผลมาจากแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *Achromobacter, Flavobacterium, Pseudomonas* และที่พบไม่บ่อยนักคือ *Vibrio* หรือ *Enterobacteriaceae* ส่วนแบคทีเรียแกรมบวกสามารถพบเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในสัตว์น้ำอุ่น (Liston, 1980) แบคทีเรียเหล่านี้พบมากที่บริเวณผิวของสัตว์น้ำ แต่สามารถผลิตเอนไซม์เข้าไปยังเนื้อเยื่อซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงมากมาย แบคทีเรียประจำถิ่นของปลาสดจะเริ่มใช้สารประกอบโมเลกุลต่ำในเนื้อเยื่อ (คาร์โบไฮเดรท, กรดอะมิโนอิสระ, เปปไทด์สายสั้นๆ และ กรดแลกติก) เพื่อเป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดย *Pseudomonas, Achromobacter* ใช้กรดอะมิโนไดเปปไทด์ และไตรเปปไทด์อย่างรวดเร็ว (Gill and Newton, 1977) Chung (1968) พบว่าการย่อยสลายโปรตีนไม่มีความสำคัญมากนักสำหรับการเน่าเสียในระยะแรกเนื่องจากสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนซึ่งมีปริมาณสูงสามารถยับยั้งโปรตีเอสอย่างเด่นชัด การย่อยสลายโปรตีนจะมีความสำคัญในระยะหลังของการเน่าเสียเมื่อกรดอะมิโนอิสระจำนวนมากลดลง ส่งผลให้เกิดสารประกอบเอมีน ต่างๆ ได้แก่ agmatine cadaverine dopamine histamine noradrenaline putrescine และ tryptamine ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเน่าเสียเนื่องจากแบคทีเรีย นอกจากนี้ Trimethyamine (TMA) มีความสัมพันธ์กับกลิ่นของปลาที่เน่าเสีย เมื่อ TMA ทำปฏิกิริยากับไขมันในกล้ามเนื้อปลาจะก่อให้เกิดลักษณะกลิ่นคาวปลา (fishy odor) (Masniyom, 2011)

2.2 การถนอมและรักษาคุณภาพสัตว์น้ำ

สัตว์น้ำเป็นแหล่งคุณค่าทางอาหารที่สูง ประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน และเกลือแร่ โปรตีนประกอบด้วยอะมิโนที่ย่อยง่าย มีไขมันประเภทไตรกลีเซอร์ไรด์ ฟอสโฟไลปิดอยู่ปริมาณสูง สัตว์น้ำจึงเกิดการเสื่อมคุณภาพและเน่าเสียได้ง่ายและรวดเร็ว โดยเกิดขึ้นทันทีหลังจากที่สัตว์น้ำตาย การเน่าเสียจะเกิดขึ้นเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น วิธีการจับ แหล่งจับ กระบวนการดูแลรักษาหลังการจับ ซึ่งมีเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้าน กายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ Sivertsvik *et al.* (2002) พบว่า การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับชนิด และ ปริมาณแบคทีเรียที่แตกต่างกันไป สำหรับสัตว์น้ำในเขตน้ำเย็น พบว่า การเน่าเสียเป็นผลมาจากแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Achromobacter* spp., *Flavobacterium* spp. และ *Pseudomonas* spp. ส่วนในสัตว์น้ำเขตน้ำอุ่นจะพบพวกแบคทีเรียแรมบวก *Staphylococcus* spp., *Micrococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Cornynebacterium, Brochothric thermosphacta* และ *Streptococcus* (Al Bulushi *et al.*, 2010) การใช้สารจากธรรมชาติเป็นวิธีในการลดการเสื่อมเสียของอาหาร หรือ ยับยั้งปริมาณจุลินทรีย์ สารจากธรรมชาติที่นิยมใช้ได้แก่ น้ำมันหอมระเหย กรดอินทรีย์ ชา ไวน์แดง กาแฟ และสารจากธรรมชาติอื่นๆ (Bakkali *et al.*, 2008; Frangos *et. al.*, 2010)

สารจากธรรมชาติส่วนใหญ่มาจากพืชและสมุนไพร พบในส่วนต่างๆ ของพืช ได้แก่ เมล็ด ดอก ใบ ผล เปลือก ลำต้น รากและเหง้า เป็นต้น ส่วนต่างๆของพืชเหล่านี้นำมาสกัดโดยวิธีต่างๆเช่น การเพิ่มแรงกด (บีบหรือคั่น) การหมัก การกลั่น การสกัดด้วยน้ำ น้ำมันหรือสารเคมี และการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว เป็นต้น สารที่ได้เป็นสารอินทรีย์หรือน้ำมันหอมระเหย (essential หรือ volatile oils) สารเหล่านี้มีคุณสมบัติแตกต่างกันขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของสารที่อยู่ในพืชและสมุนไพรแต่ละชนิด เช่น พอลิฟีนอลเป็นสารจากธรรมชาติที่ได้มีลักษณะเป็น phenolic acids flavonoids stillbens และ lignans (Ignat *et al.*, 2011) เมื่อนำมาใช้กับอาหาร สารเหล่านี้มีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ และทำปฏิกิริยากับอนุมูลโลหะซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จึงมีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ นอกจากนี้พอลิฟีนอลเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารได้ (Holley and Patel, 2005) สารสกัดจากชาประกอบด้วยพอลิฟีนอล พอลิฟีนอลสามารถจับกับโปรตีน ส่งผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และ การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Gharras, 2009) สารสกัดจากชาเขียวและชาดำได้แก่ epigallocatechin gallate, epicatechin gallate, epicatechin, catechin, epigallocatechin ซึ่งจะมีผลในการป้องกันการเปลี่ยนแปลงคุณภาพสัตว์น้ำ (Burt, 2004; Banerjee, 2006)

Fan และคณะ (2008) ศึกษาผลของการใช้พอลิฟีนอลจากชาต่อคุณภาพในการเก็บรักษาปลาcarp *(Hypophthalmicthys molitrix)* ในน้ำแข็ง พบว่าการใช้สารละลายพอลิฟีนอลร้อยละ 0.2 สามารถลดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านจุลินทรีย์ เคมี และ ประสาทสัมผัสได้ดีกว่าชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นในการแช่ปลา โดยการแช่ในพอลิฟีนอลจากชาเก็บรักษาปลา carp ได้นาน 35 วัน เทียบกับชุดควบคุมเพียง 28 วัน

การใช้การบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศที่มี CO_2 เป็นวิธีในการชะลอการเสื่อมเสียของอาหาร หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เนื่องจากเกิดกรดคาร์บอนิคจากการละลายของ CO_2 บริเวณผิวหน้าสัตว์

น้ำในระหว่างการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (Ordonez *et al.*, 2000) กรดคาร์บอนิคเป็นกรดอินทรีย์ที่เป็นชนิดกรดอ่อนมีลักษณะที่แตกตัวได้น้อยจึงมีบทบาทในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ดี กรดอ่อนสามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปภายในได้โดยอิสระและเกิดการแตกตัวโดยให้โปรตอนจึงมีแนวโน้มที่จะทำให้เซลล์มีสภาพเป็นกรด และทำให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ขึ้นภายในเซลล์จุลินทรีย์ เซลล์จะพยายามรักษาสภาวะความเป็นกรด-ด่าง ที่เป็นกลางไว้ โดยขับไล่โปรตอนออกไปจากเซลล์ กลไกนี้มีผลทำให้เซลล์จุลินทรีย์เจริญเติบโตช้าลง เนื่องจากต้องใช้พลังงานส่วนหนึ่งขับไล่โปรตินออกไป (Adam and Moss, 1995)

Goulas และคณะ (2005) ศึกษาผลของการบรรจุเนื้อหอยแมลงภู่ภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้ 80%CO_2/ 20%O_2 สามารถชะลอการเจริญเติบโตของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด *Pseudomonas* spp. และ จุลินทรีย์ที่สร้าง H_2Sได้ 0.9- 1, 0.7-0.8 และ 0.7-1.2 log CFU/g ตามลำดับ นอกจากนี้ การบรรจุเนื้อหอยแมลงภู่ภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศสามารถยืดอายุได้ 15 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ได้ 8 วัน

Ozogul และคณะ (2004) ศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพปลาซาร์ดีนภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้ 60%CO_2/ 40%O_2 สามารถชะลอการเกิดฮีสตามีนได้มากกว่าเก็บภายใต้บรรยากาศปกติ ขณะที่การเก็บแบบดัดแปลงบรรยากาศมีปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด ไตรเมทิลเอมีน ต่ำกว่าเก็บภายใต้บรรยากาศปกติ การเก็บแบบดัดแปลงบรรยากาศสามารถยอมรับทางประสาทสัมผัสได้ 15 วัน ในขณะการเก็บภายใต้บรรยากาศปกติได้ 3 วัน

การใช้สารจากธรรมชาติร่วมกับการดัดแปลงบรรยากาศจึงเป็นอีกทางที่สามารถชะลอการเสื่อมเสียของอาหารได้และ รักษาคุณภาพอาหาร Masniyom และคณะ (2005) พบว่าการใช้ไฟโรฟอสเฟตร่วมกับการดัดแปลงบรรยากาศในปลากะพงขาวแล่แช่เย็นสามารถรักษาคุณภาพปลากะพงได้ดีกว่าการดัดแปลงบรรยากาศเพียงอย่างเดียว ทำให้ค่า TBARS และ การสูญเสียปริมาณน้ำอิสระน้อยกว่าการบรรจุแบบบรรยากาศปกติ

Goulas และ Kontominas (2007) พบว่าการใช้น้ำมัน oregano ร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (40%CO_2, 30%O_2, 30%N_2) ในปลา sea bream สามารถยืดอายุควรเก็บรักษาปลาได้นานถึง 3 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

2.3 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

2.3.1 เพื่อศึกษาผลของการใช้สารจากธรรมชาติได้แก่ ชาเขียว ชาดำเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อปลา

2.3.2 เพื่อศึกษาผลร่วมของการใช้สารจากธรรมชาติภายใต้การบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อปลา