

การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี จุลชีววิทยา และประสาทสัมผัสของปูทะเลนิ่ม (*Scylla serrata*, Forskal) ภายใต้สภาวะการบรรจุต่าง ๆ

Biochemical, Microbiological and Sensory Changes in Soft Shell Mud Crab (*Scylla serrata*, Forskal) Stored Different Packaging

คำนำ

ปูทะเลเป็นสัตว์ทะเลที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศไทย การบริโภคปูทะเลภายในประเทศจึงมีการนำมาบริโภคหลายรูปแบบ ซึ่งปูทะเลที่มีจำหน่ายโดยทั่วไปนั้น สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท คือ ปูเนื้อ ปูไข่ และ ปูทะเลนิ่ม

เนื่องจากการจำหน่ายปูทะเลนิ่มโดยทั่วไปนั้น จะมีการบรรจุใส่กล่องพลาสติกใส และแช่แข็ง ซึ่งการแช่แข็งนี้เอง ที่เป็นสาเหตุให้บริเวณภายนอกของตัวปูทะเลนิ่มมีเกล็ดน้ำแข็งเกาะอยู่ ทำให้เมื่อนำไปละลายเพื่อประกอบอาหารจะเกิดการสูญเสียของเหลวภายในตัวปูขึ้น (Drip) เป็นผลให้ความสดในตัวปูลดลง และเป็นการสูญเสียคุณค่าทางอาหาร รวมไปถึงการสูญเสียลักษณะเนื้อสัมผัสด้วย และสำหรับผู้บริโภคที่ต้องการบริโภคปูทะเลนิ่มที่ไม่ผ่านการแช่แข็งนั้น ข้อจำกัดที่สำคัญ คือ จะสามารถบริโภคได้เฉพาะภายในจังหวัดที่มีฟาร์มปูทะเลนิ่ม หรือบริเวณที่ใกล้เคียงกับฟาร์มปูทะเลนิ่มเท่านั้น เมื่อความต้องการของผู้บริโภคนั้นต้องการบริโภคปูที่มีความสดมาก ๆ สภาวะที่ทำการเก็บรักษาจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น ซึ่งจะส่งผลต่อการเพิ่มโอกาสทางการค้าตามไปด้วย

งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาปูทะเลนิ่มและการเปลี่ยนแปลงของความสดที่เกิดขึ้นขณะเก็บรักษาที่สภาวะต่างๆ โดยในการทดลองได้ทำการศึกษาใน 3 สภาวะ คือ สภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ สภาวะการล้างด้วยน้ำไอโซนเข้มข้น 1 พีพีเอ็ม แล้วบรรจุแบบสุญญากาศ และสภาวะการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ ซึ่งในทุกสภาวะทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการทดลองนี้สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ประกอบการอธิบายผลการวิจัยในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายใต้สภาวะสุญญากาศได้ นอกจากนี้ยังสามารถใช้อายุการเก็บรักษาที่สภาวะต่างๆ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานให้กับผู้ประกอบการได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาอายุในการเก็บรักษาปูทะเลนึ่งที่สภาวะการบรรจุต่างๆ
2. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี, จุลชีววิทยา และประสาทสัมผัสของปูทะเลนึ่งที่สภาวะการบรรจุต่างๆ

การตรวจเอกสาร

1. ปูทะเล

ปูทะเลเป็นสัตว์น้ำอีกประเภทหนึ่งที่นิยมนำมาบริโภคและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ โดยปูทะเล สามารถจัดอนุกรมวิธานได้ดังนี้

Phylum Arthropoda

Superclass Crustacea

Class Malacostraca

Order Decapoda

Family Portunidae

Genus *Scylla*

Species *serrata*

ถ้าใช้ลักษณะทางสัณฐานภายนอกของปูทะเลมาวิเคราะห์ตามหลักเกณฑ์ของ Estampador (1949a; อ้างใน บรรจง และบุญรัตน์, 2545) จะพบว่าปูทะเลในน่านน้ำไทยมี 3 ชนิด คือ ปูดำหรือปูแดง (*Scylla serrata* Forskal) ปูขาวหรือปูทองเหลือง (*Scylla oceanica* Dana) และปูม่วง (*Scylla tranquebarica* Fabricius)

ปูทะเล (*Scylla* sp., Mud crab) เป็นปูขนาดใหญ่และเป็นที่นิยมในการนำมาบริโภค เนื่องจากเป็นปูที่มีรสชาติดี สามารถเก็บรักษาไว้ในสภาพที่ยังมีชีวิตได้หลายวัน ปูทะเลจัดว่าเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีราคาสูง รสชาติดี เป็นที่นิยมบริโภค โดยปริมาณการส่งออกปูทะเลนั้นจะส่งออกในรูปแบบแช่แข็งหรือต้ม ซึ่งแนวโน้มการขยายตัวของตลาดตั้งแต่ปี พ.ศ. 2544 ที่มีอัตราการส่งออกอยู่ที่ 1,581.3 ล้านบาท แต่ในปีต่อๆ มา อัตราการส่งออกมีปริมาณที่ลดลงอันเนื่องมาจากการเกิดวิกฤติทางเศรษฐกิจ โดยในปี พ.ศ. 2548 มีอัตราการส่งออกอยู่ที่ 1,084.3 ล้านบาท (ศูนย์สารสนเทศ กรมเศรษฐกิจการพาณิชย์, 2549) นอกจากการบริโภคเนื้อปูแล้ว ในปัจจุบันได้มีความพยายามที่จะนำเอาเทคโนโลยีสมัยใหม่และเทคนิคต่างๆ มาทำการทดลองค้นคว้าวิจัย เพื่อให้ได้ปูทะเลที่มีกระดองนิ่ม เรียกว่า “ปูทะเลนิ่ม” ที่สามารถบริโภคได้ทั้งตัว มีสภาพสดสะอาด และคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าปูกระดองแข็ง อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของ

สัตว์น้ำชนิดนี้ เนื่องจากราคาสูงกว่าปูกระดองแข็ง และกำลังได้รับความนิยมในการบริโภค โดยทั่วไปทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยเฉพาะในประเทศญี่ปุ่น ไต้หวัน สหรัฐอเมริกา เกาหลี จีน เป็นต้น (ศศิณูช, 2545)

ปูทะเลนิ่ม (Soft shell crab) คือ ปูที่ลอกคราบใหม่ๆ กระดองมีลักษณะเป็นแผ่นเนื้อเยื่อ บางๆ หรือกระดองใหม่มีลักษณะนิ่มยังไม่แข็งตัว หากปล่อยทิ้งไว้ในภาชนะที่เลี้ยงเกิน 6 ชั่วโมง กระดองของปูทะเลนิ่มจะแข็ง ปูที่นิยมนำมาทำเป็นปูทะเลนิ่ม เช่น ปูดำหรือปูทะเล (*Scylla serrata* Forskal) เนื่องจากหาได้ง่าย ราคาถูก อีกทั้งยังมีความทนทานต่อโรค และสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง สามารถหาได้จากธรรมชาติได้มากกว่าปูชนิดอื่นๆ และที่สำคัญ คือ เนื้อมีคุณภาพดี เป็นที่ต้องการของตลาด ส่วนปูขาว (*Scylla oceanica* Dana) และปูเขียว (*Scylla tranquebarica* Fabricius) มีราคาสูงกว่าและมีความแข็งแรงน้อยกว่าปูดำ โดยเฉพาะเมื่อเป็นปูทะเลนิ่มแล้วราคาจะเหมือนกันหมดไม่ว่าจะเป็นปูดำ ปูขาวหรือปูเขียว ขนาดที่เหมาะสมควรเป็นปูขนาดกระดองกว้าง ระหว่าง 5–6 เซนติเมตร (ประมาณ 15–18 ตัว/ กก.) เมื่อลอกคราบแล้วจะได้ปูขนาด 8–9 เซนติเมตร (ประมาณ 10–12 ตัว/ กก.) ถ้านำปูที่ขนาดใหญ่กว่า 10–12 ตัว / กก. มาทำปูทะเลนิ่ม ต้นทุนในการซื้อพันธุ์ปูจะสูง ราคาขายปูทะเลนิ่มจะไม่แตกต่างกับปูทะเลนิ่มขนาดเล็กมากนัก อย่างไรก็ตามถึงแม้การบริโภคปูทะเลนิ่มจะได้รับความนิยมสูงและมียอดการส่งออกของประเทศ ไทยสูงขึ้นทุกปี แต่ปริมาณการผลิตก็ยังไม่เพียงพอกับยอดสั่งซื้อจากต่างประเทศ เนื่องจากจำนวน ฟาร์มในประเทศไทยยังมีไม่มาก ส่วนใหญ่คุณภาพการผลิตยังไม่ได้มาตรฐานและขาดการควบคุม คุณภาพ (บรรจง และ บุญรัตน์, 2545)



ภาพที่ 1 ลักษณะภายนอกของปูทะเลนิ่ม

ตารางที่ 1 คุณค่าทางอาหารของกุ้ง ปู และหอยบางชนิด

ชนิดสัตว์น้ำ	โปรตีน (%)	ไขมัน (%)	คาร์โบไฮเดรต (%)	พลังงาน (แคลอรี/100 ก.)
ปูทะเล ¹	20.1	4.0	0.8	ไม่มีข้อมูล
ปูม้า ¹	15.8	1.7	ไม่มีข้อมูล	76
ปูทะเลนี้ม ²	12.63	1.92	1.33	ไม่มีข้อมูล
กุ้งกุลาดำ ¹	23.2	3.2	2.2	99
หอยแมลงภู่ ¹	9.1	0.8	3.1	56

ที่มา : ¹ บรรจง และ บุญรัตน์ (2545), ² แคทรียา (2549)

การเติบโต หมายถึง การเพิ่มขนาดและรูปร่างของสิ่งมีชีวิต รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงตามความยาวและน้ำหนัก เมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลาที่เปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นในการเจริญของปูทะเล การลอกคราบถือเป็นกระบวนการที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาที่เกิดขึ้น ยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้าง (metabolism) กระบวนการลอกคราบที่เกิดขึ้นจะถูกควบคุมจากฮอร์โมนสองชนิด คือ ฮอร์โมนลอกคราบ หรือ MH (molting hormone) เป็นฮอร์โมนที่สร้างจากวายอร์แกน (Y-organ) และฮอร์โมนยับยั้งการลอกคราบ หรือ MIH (molt inhibiting hormone) เป็นฮอร์โมนที่สร้างจากเซลล์ประสาทส่วนกลางบริเวณเซลล์นิวโรซีครีทอรี (Neurosecretory Cell) (ชลธิ์, 2539) การลอกคราบจะเริ่มจากการสะสมอาหารที่จำเป็นสำหรับการลอกคราบโดยเฉพาะแคลเซียม ซึ่งจะเก็บไว้ในอวัยวะส่วนเฮพาโตแพนแครีซ (hepatopancreas) ทำให้ในช่วงการลอกคราบนี้ ปูจะมีปริมาณของแคลเซียมในเลือดสูงมากกว่าปกติ เนื่องจากมีแคลเซียมบางส่วนถูกดึงมาจากเปลือกเก่าเพื่อนำกลับไปใช้ในการสร้างเปลือกใหม่ทันทีที่มีการสลัดเปลือกเก่าทิ้ง หลังจากการลอกคราบปูจะมีขนาดเพิ่มขึ้น 0.8 – 1.5 เซนติเมตร ซึ่งปูทะเลจะมีการลอกคราบทั้งปี ระยะเวลาในการลอกคราบของปูทะเลขึ้นอยู่กับอายุความสมบูรณ์ของปูทะเล ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมภายนอกที่เหมาะสม และขนาดของปู ถ้าปูมีอายุมาก ระยะเวลาในการลอกคราบจะนานขึ้น ปูขนาดเล็กจะลอกคราบบ่อยกว่าปูขนาดใหญ่และปูขนาดเล็กเมื่อลอกคราบแล้วจะมีขนาดใหญ่เพิ่มขึ้นมากกว่าปูขนาดใหญ่ เช่น ปูที่มีขนาด 4.8–7.5 เซนติเมตร ลอกคราบทุกๆ 4 วัน ในขณะที่ปูขนาดกว้างของกระดอง 11-14 เซนติเมตร ลอกคราบทุกๆ 8 วัน ปูขนาด 3–3.5 เซนติเมตร หลังลอกคราบมีขนาดโตกว่าเดิมประมาณ ร้อยละ 50 แต่ในปูขนาด 14–15 เซนติเมตร มีขนาดโตขึ้น ร้อยละ 27

ระยะเวลาที่ปูใช้ในการลอกคราบจนกระทั่งกระดองแข็งใหม่ใช้เวลาประมาณ 7 วัน ปัจจัยที่มีผลต่อการลอกคราบของปูทะเล ได้แก่ แสง อุณหภูมิ ความเค็มของน้ำทะเล ระบบฮอร์โมน และความสมบูรณ์ของร่างกาย ปูทะเลนี้ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต้องอยู่ในระยะการลอกคราบใหม่ไม่เกิน 4 ชั่วโมง กระดองยังนิ่มนำไปปรุงอาหารได้ ถ้าเกิน 4 ชั่วโมง ปูจะมีกระดองแข็งแต่จะไม่มีเนื้อ เรียกว่า ปูโพรก ต้องรอให้ปูลอกคราบแล้วประมาณ 7-15 วันจึงจะมีเนื้อแน่นตามปกติ

ลักษณะพิเศษของปูทะเลนี้คืออย่างหนึ่ง คือ ก่อนลอกคราบ 2 วันปูจะไม่กินอาหารทำให้กระเพาะว่างไม่มีอาหารในช่องท้อง มีความสะอาด มีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยเฉพาะปริมาณแคลเซียม จังหวัดที่มีการเลี้ยงปูทะเลนี้ ได้แก่ ตรัง ชุมพร ระนอง สตูล สมุทรปราการ วิธีการเลี้ยงในปัจจุบันส่วนใหญ่ใช้วิธีเลี้ยงในตะกร้าพลาสติก โดยใช้ปู 1 ตัวต่อ 1 ตะกร้าเมื่อปล่อยปูอยู่ในตะกร้าแล้วจะตรวจสอบการลอกคราบของปูทุกๆ 4 ชั่วโมง เมื่อปูลอกคราบแล้วจะต้องรีบนำปูมาแช่น้ำจืดทันที โดยแช่ประมาณ 2 ชั่วโมงเพื่อทำความสะอาดและลดความเค็ม น้ำที่ใช้ล้างมักมาเช็ดด้วยโอโซนจากนั้นจะนำไปใส่กล่องโรยด้วยน้ำแข็งเพื่อให้สลบด้วยความเย็นทันที และเป็นการรักษาคุณภาพด้านความสดระยะตั้งแต่เก็บปูจนนำไปแช่น้ำแข็งใช้เวลาไม่เกิน 6-8 ชั่วโมงเพื่อป้องกันไม่ให้กระดองเริ่มแข็งซึ่งเมื่อใช้มือลูบจะมีลักษณะเป็นกระดากถือว่ามีความคุณภาพต่ำ ปูทะเลนี้เมื่อเก็บเกี่ยวแล้วจะนำไปบรรจุหีบห่อแช่เย็นหรือแช่แข็งเพื่อการจำหน่าย โดยบรรจุในกล่องพลาสติกใสชนิดอ่อนกล่องละ 1-2 ตัว (บรรจง และ บุญรัตน์, 2545)

บรรจง และ บุญรัตน์ (2545) ได้จัดระดับเยื่อกระดาก (paper shell) ของปูทะเลนี้จากการแข็งตัวของเปลือกและความสาก เป็น 5 ระดับ ได้แก่

- ระดับ 0 นุ่มมากและผิวลื่น ไม่สาก
- ระดับ 1 นุ่มปานกลางและผิวลื่น ไม่สาก
- ระดับ 2 นุ่มปานกลางและผิวสากเล็กน้อย
- ระดับ 3 กระด้างและผิวสากเล็กน้อย
- ระดับ 4 กระด้างและผิวสากปานกลาง
- ระดับ 5 กระด้างและผิวสากมาก

2. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของสัตว์น้ำ

การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของสัตว์น้ำ เป็นการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและจุลชีววิทยาที่เกิดขึ้นหลังจากที่สัตว์น้ำถูกจับ และเมื่อสัตว์น้ำตายจะเกิดการเปลี่ยนแปลง 5 ลักษณะ คือ

1. การสลายตัวของไกลโคเจน (glycolysis)

ไกลโคเจนเป็นพลังงานสะสมของสัตว์น้ำมีอยู่ในปริมาณต่างๆ กันแล้วแต่ชนิดของสัตว์น้ำ ส่วนมากจะสะสมที่ตับและกล้ามเนื้อ ตามปกติแล้วสัตว์น้ำที่ยังมีชีวิตอยู่จะได้รับออกซิเจนจากเลือด ไกลโคเจนจะออกซิไดส์คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำรวมทั้งสารให้พลังงานพวก adenosine 5' triphosphate และเมื่อสัตว์น้ำตายไกลโคเจนจะไม่สามารถทำงานได้เหมือนเดิม แต่ไกลโคเจนยังสามารถแตกตัวไปได้เรื่อยๆ ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยการทำงานของเอนไซม์ที่อยู่ภายในตัวของสัตว์น้ำนั้น เป็นผลให้ไกลโคเจนจะถูกขับออกมาจากที่สะสมไว้แล้วถูกย่อยสลายกลายเป็นกรดแลกติก (lactic acid) มีผลทำให้ความเป็นกรด-ด่างลดลง เรียกกระบวนการนี้ว่า ไกลโคลิซิส (glycolysis) (นงลักษณ์, 2531) การลดลงนี้จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณของไกลโคเจน การเกิดกรดแลกติกและความเป็นกรด-ด่างจะเปลี่ยนแปลงมากขึ้น หากได้ค่าความเป็นกรด-ด่างใกล้เคียงกับจุด isoelectric point เพราะจะทำให้โปรตีนที่เคี้ยวรวมตัวกันในสัตว์น้ำแยกออกจากกัน (มยุรี, 2532)

2. การเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อในสัตว์น้ำ (rigor-mortis)

ขณะที่สัตว์น้ำยังมีชีวิต กล้ามเนื้อในสัตว์น้ำจะยึดหดได้โดยอาศัย ATP (adenosine 5' triphosphate) ซึ่งเป็นสารประกอบโพลีฟอสเฟต (polyphosphate) เมื่อสัตว์น้ำตายกล้ามเนื้อจะสูญเสียคุณสมบัติทำให้ไม่สามารถยึดหดได้ตามปกติ ทำให้เนื้อสัตว์น้ำมีลักษณะที่นิ่มลง (มยุรี, 2532)

3. การสลายตัวของ ATP (ATP degradation)

เมื่อสัตว์น้ำตาย ATP จะถูกทำลายโดยเอนไซม์ตามธรรมชาติที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อทำให้ได้โมเลกุลที่เล็กลง คือ ADP (adenosine diphosphate) ; AMP (adenosine monophosphate) ; IMP (inosine-5'-phosphate) ; Ino (inosine) ; Hyp (hypoxanthine) และ D-ribose ปฏิกริยาการสลายตัวของ ATP จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ หากอุณหภูมิสูงจะเกิดปฏิกิริยาเร็วขึ้น คุณภาพของสัตว์น้ำจะเสื่อมเร็วยิ่งขึ้น (มยุรี, 2532)

4. การย่อยสลายตัวเอง (autolysis)

หลังสัตว์น้ำตาย การไหลเวียนของเลือดภายในสัตว์น้ำรวมถึงกระบวนการเมตาบอลิซึมจะหยุดชะงักลง แต่เอนไซม์ทั้งหลายยังมีกิจกรรมอยู่ แม้จะไม่ได้กินอาหาร เอนไซม์เหล่านั้นจะเกิดการย่อยตัวสัตว์น้ำเอง โดยย่อยองค์ประกอบของเนื้อสัตว์น้ำให้เล็กลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีนที่

จะถูกย่อยสลายไปเป็นเปปไทด์ (peptide) กรดอะมิโน (amino acid) แอมโมเนีย (ammonia) เอมีน (amine) และอื่นๆ โดยสารประกอบที่เกิดขึ้นบางอย่างให้กลิ่น เช่น แอมโมเนีย (ammonia) อินโดล (indole) TMA (trimethylamine) เป็นต้น ปฏิกริยาขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ หากอุณหภูมิสูงจะเกิดปฏิกิริยาขึ้นได้เร็ว

การเปลี่ยนแปลงในระยณั้ขึ้นอยู่กัับอุณหภูมิเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้น การลดการเปลี่ยนแปลงเพื่อชะลอการเสื่อมเสียของสัตว์น้ำจึงขึ้นอยู่กัับอุณหภูมิในการเก็บรักษา ดังนั้น เมื่อสัตว์น้ำถูกจับแล้วควรคงไว้ในน้ำแข็งหรือห้องเย็น เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าว (มยุรี, 2532)

5. การเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์

เมื่อความสดลดลง ปริมาณของจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้น แต่ไม่แสดงออกทางลักษณะภายนอกอย่างเด่นชัดนัก เช่น เกิดกลิ่นคาว เหม็น หรือเป็นเมือกเหนียว และมีผลทำให้เกิดการแตกตัวของสารอาหาร ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ขึ้น จุลินทรีย์ที่พบในสัตว์น้ำส่วนใหญ่ ได้แก่ *Shewanella putrefaciens*, *Pseudomonas* spp., *Achromobacter* sp. เป็นต้น ส่วนจุลินทรีย์ที่พบมากในปูสด ได้แก่ *Clostridium botulinum* Type E, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio* species, *Listeria* sp. ส่วนในปูแช่เย็นจะพบจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Pseudomonas* sp., *Maraxella* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus* sp. (สุทธวัฒน์, 2548) อย่างไรก็ตาม ปริมาณจุลินทรีย์ในสัตว์น้ำมีความแตกต่างกันมากเนื่องจากปัจจัยต่างๆ อาทิ สภาพแวดล้อม อุณหภูมิ แหล่งจับปลา ขนาดและชนิด เป็นต้น ซึ่งสิ่งเหล่านี้มีผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในสัตว์น้ำแตกต่างกันไป โดยปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มมากขึ้นหรือน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับกระบวนการควบคุมคุณภาพ (นงลักษณ์, 2531)

3. การเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัสในสัตว์น้ำ

การเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัสในสัตว์น้ำภายหลังการตายจะแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของสัตว์น้ำ รวมทั้งวิธีการเก็บรักษา การเปลี่ยนแปลงของสัตว์น้ำ แบ่งได้เป็น 4 ระยะ ดังนี้ (สุทธวัฒน์, 2548)

ระยะที่ 1 สัตว์น้ำมีลักษณะสด และมีรสชาติอร่อย หวาน กลิ่นมีลักษณะคล้าย
สำหรับทะเล

- ระยะที่ 2** สัตว์น้ำมีการสูญเสียรสชาติและกลิ่น เนื้อมีรสชาติจืด ลักษณะเนื้อสัมผัสอยู่ในระดับที่ยอมรับได้
- ระยะที่ 3** สัตว์น้ำมีการเสื่อมเสียโดยที่จะเกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของสัตว์น้ำและสภาวะการเน่าเสีย องค์ประกอบที่สำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นรส ประกอบด้วยไตรเมทิลเอมีน (Trimethylamine) ซึ่งให้กลิ่นคาว (Fishy) ในช่วงแรกอาจมีรสแปลกปลอม เช่น รสเปรี้ยว รสขม โดยเฉพาะมักพบในปลาที่มีไขมันสูง ในช่วงหลังมักพบกลิ่นแอมโมเนีย กลิ่นกำมะถัน กลิ่นเหม็นหืน มีเนื้อสัมผัสที่เปลี่ยนแปลงไปบ้าง เช่น มีลักษณะนิ่มและหรือมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่แห้ง หรือแข็งกระด้าง
- ระยะที่ 4** สัตว์น้ำมีลักษณะเน่าเสีย การเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางประสาทสัมผัสของสัตว์น้ำจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว

4. ความสดของสัตว์น้ำ

การจับสัตว์น้ำที่ดีจะทำให้รักษาคุณภาพของสัตว์น้ำได้นานขึ้น โดยในการจับสัตว์น้ำควรทำการจับอย่างรวดเร็วและเกิดการบอบช้ำกับสัตว์น้ำให้น้อยที่สุด หลังจากทำการจับสัตว์น้ำแล้วควรใส่น้ำแข็งภายใน 1-3 ชั่วโมงเพื่อให้สัตว์น้ำยังคงความสดได้มากที่สุด แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพขณะนั้น ได้แก่ อุณหภูมิของน้ำทะเล อุณหภูมิของอากาศ ระดับความเค็มของน้ำทะเล และการเก็บรักษาที่ยังคงมีความชื้นไม่สูงกว่าสภาวะความชื้นของทะเลในขณะนั้น และสัตว์น้ำต้องไม่อยู่ในสภาวะที่มีการเกร็งตัว (rigor mortis) เพื่อที่จะเก็บรักษาความสดให้นานที่สุด (มยุรี, 2532)

การสูญเสียความสดในสัตว์น้ำเป็นปรากฏการณ์ที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทุกอย่างตั้งแต่เริ่มจับสัตว์น้ำจนถึงการเก็บรักษา โดยการเสื่อมเสียในระหว่างการเก็บเกี่ยวมักเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของจุลินทรีย์ การเกิดปฏิกิริยาของไขมัน และการเกิดการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ซึ่งการเสื่อมเสียในขั้นตอนเหล่านี้จะส่งผลให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์ โดยกลิ่นไม่พึงประสงค์นี้จะเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพในด้านความสดของสัตว์น้ำได้ ในการยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิด

การเสื่อมเสีย จึงควรมีการป้องกันการเกิดการปนเปื้อนข้าม (cross-contaminate) (สุทธวัฒน์, 2548)

เนื่องจากความสดเป็นดัชนีที่บ่งบอกถึงคุณภาพของสัตว์น้ำ ในด้านต่างๆ ทั้งสี กลิ่น รส และ เนื้อสัมผัส การตรวจสอบความสดในปูที่มีชีวิต สามารถตรวจสอบได้ทั้งทางกายภาพและชีวภาพ (Botta, 1995) ความสดของสัตว์น้ำสามารถตรวจสอบได้หลายวิธี ทั้งการตรวจสอบทางเคมี และ จุลชีววิทยา (สุทธวัฒน์, 2548)

5. การตรวจสอบคุณภาพ

5.1 การตรวจสอบคุณภาพทางเคมี

5.1.1) การตรวจสอบไตรเมทิลเอมีนและอนุพันธ์ (trimethylamine and related compounds)

ไตรเมทิลเอมีน หรือ TMA เป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นเบสที่สามารถระเหยได้ทั้งหมด ในการประเมินคุณภาพด้วยวิธีนี้จะขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์น้ำ ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงไปตามชนิดของสัตว์น้ำ และยิ่งขึ้นกับเวลา แหล่งที่จับ ขั้นตอนในการเก็บรักษา รวมไปถึงวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วย (Botta, 1995)

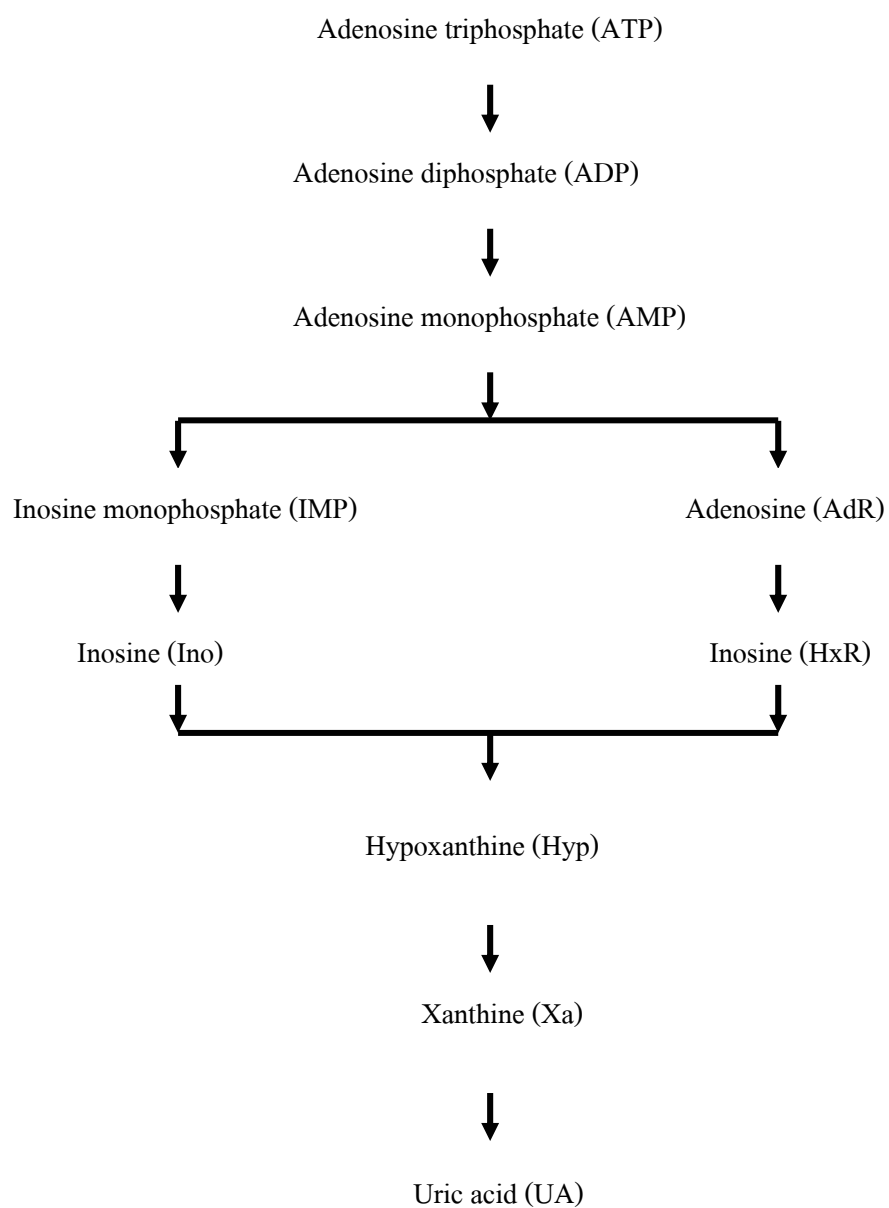
5.1.2) การตรวจสอบสารประกอบนิวคลีโอไทด์

เมื่อสัตว์น้ำตาย ปฏิกริยาทางชีวเคมีในสัตว์น้ำจะเกิดการสลายตัว (autolysis) โดยเกิดการเสื่อมเสียภายหลังการจับสัตว์น้ำ ในขั้นตอนนี้มักเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี โดย adenosine 5' triphosphate (ATP), adenosine 5' diphosphate (ADP) และ adenosine 5' monophosphate (AMP) จะเกิดการสลายตัวอย่างรวดเร็ว แล้วเปลี่ยนเป็น inosine (Ino) และ Hypoxanthine (Hyp) ดังแสดงในภาพที่ 2

การสลายตัวของ ATP ไปเป็น IMP มีสาเหตุจากเอนไซม์ในตัวของสัตว์น้ำเอง และสามารถเกิดขึ้นได้ภายใน 1 วัน ภายหลังการตาย อัตราการสลายของ ATP ขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น การดิ้นรนของสัตว์น้ำก่อนตาย อุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษา วิธีการขนส่ง เป็นต้น ส่วนการ

เปลี่ยนแปลงจาก IMP ไปเป็นไฮโปแซนทีน (Hyp) มักจะเกิดได้ช้าและมีสาเหตุมาจากเอนไซม์จากตัวสัตว์น้ำเองและจากจุลินทรีย์ ดังนั้นการตรวจสอบความเข้มข้นของสารประกอบนิวคลีโอไทด์จึงสามารถบอกความสด โดยสามารถทดสอบการย่อยสลายตัวเองและการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากจุลินทรีย์ (Botta, 1995)

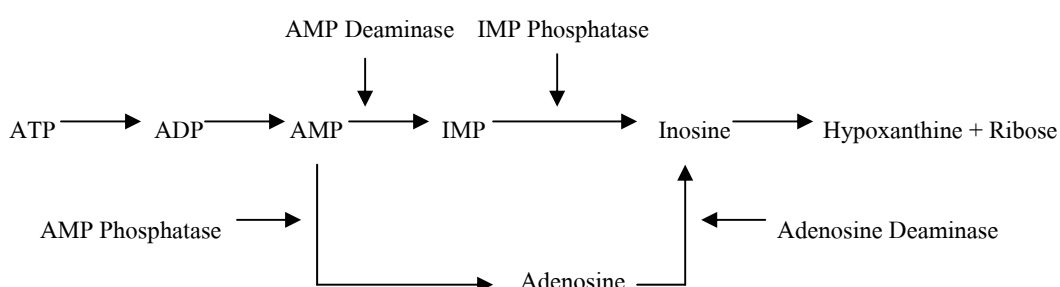
ในปัจจุบันมีการใช้ค่า ATP เป็นดัชนีในการใช้วัดความเสื่อมเสียกันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากให้ผลที่แน่นอนถึงการบ่งชี้ในด้านความสดในเรื่องของกลิ่นและกลิ่นรส (Shahidi and Botta, 1994) หลังจากที่สัตว์น้ำตาย เซลล์จะมีการปล่อยเอนไซม์ออกมาจากตัวเพื่อย่อยเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำ ได้สารพวกกรดอะมิโนที่ได้จากการแตกพันธะของโปรตีน กรดแลกติกจากการแตกพันธะของไกลโคเจนในกล้ามเนื้อและไฮโปแซนทีนจากการแตกพันธะของสารพวกนิวคลีโอไทด์ (Nettleton, 1985) ATP จะเกิดการสูญเสียหมู่ฟอสเฟตและหมู่อะมิโนอย่างรวดเร็ว ทำให้ได้สารใหม่ คือ Inosine monophosphate (IMP) ภายในหนึ่งวันจากการย่อยตัวเอง (autolysis) IMP จะเกิดการสูญเสียหมู่ฟอสเฟตเช่นกัน แต่จะเกิดอย่างช้าๆ ซึ่งจะแตกต่างกับ ATP ตรงที่จะมีการไฮโดรไลซ์ จาก autolytic และเอนไซม์จากจุลินทรีย์ ไฮโปแซนทีนเกิดการออกซิไดส์ไปเป็นแซนทีนและ ได้กรดยูริกออกมาตามลำดับ (สุทธวัฒน์, 2548)



ภาพที่ 2 การเกิดปฏิกิริยาการเสื่อมเสีย

ที่มา: Uchiyama and Ehira, 1970 อ้างใน นงลักษณ์ (2532)

เนื่องจากไฮโปแซนทีนเป็นผลิตภัณฑ์จากกระบวนการย่อยสลายตัวเองและจุลินทรีย์ จึงสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งบอกคุณภาพหรือความสดได้ดี การแปรรูปด้วยความร้อนหรือความเย็นจะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของไฮโปแซนทีน ดังนั้น จึงสามารถใช้ไฮโปแซนทีนเป็นดัชนีบ่งบอกความสดของวัตถุดิบก่อนการแปรรูปได้ ซึ่งการใช้อัตราส่วนของอินโนซีนและไฮโปแซนทีนต่อปริมาณทั้งหมดของ ATP และอนุพันธ์ของ ATP เป็นตัวทดสอบคุณภาพทางชีวเคมีของสัตว์น้ำ จะเรียกวิธีนี้ว่า K-Value (สุทธวัฒน์, 2548)



ภาพที่ 3 การลดลงของ ATP ผ่านการทำงานของเอนไซม์

ATP = adenosine 5'-triphosphate; ADP = adenosine 5'-diphosphate;

AMP = adenosine 5'-monophosphate and IMP = inosine 5'-monophosphate

ที่มา : Komata (1990) อ้างใน Shahidi (1998)

อย่างไรก็ตามการใช้ไฮโปแซนทีนเป็นดัชนีบ่งบอกความสดมีข้อด้อยหลายประการ เช่น อัตราการเกิดไฮโปแซนทีนขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์น้ำ และปริมาณจะแตกต่างกันไปตามชนิดของกล้ามเนื้อ โดยในกล้ามเนื้อดำมักพบไฮโปแซนทีนในปริมาณที่สูงกว่าในกล้ามเนื้อขาว นอกจากนี้ไฮโปแซนทีนยังถูกออกซิไดส์ไปเป็นแซนทีน (xanthine) และกรดยูริกตามลำดับ และปริมาณของไฮโปแซนทีนจะมีค่าที่ไม่คงที่ ทำให้ผลที่ได้เกิดความผิดพลาดขึ้น ดังนั้น การใช้อัตราส่วนความเข้มข้นของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ในการบ่งคุณภาพของสัตว์น้ำ สามารถใช้ค่า K ในการบ่งบอกความสด แต่เนื่องจาก ATP สามารถสลายตัวอย่างรวดเร็วไปเป็น IMP ในช่วง 1 วันแรก ดังนั้น จึงมีการใช้ค่า K_i ซึ่งไม่จำเป็นต้องตรวจสอบปริมาณ ATP ADP และ AMP เมื่อเปรียบเทียบการใช้ปริมาณไฮโปแซนทีนเพียงอย่างเดียว การใช้ค่า K_i จะลดความแปรปรวนต่างๆ อันเกิดจากความแตกต่างของชนิดของสัตว์น้ำ และปัจจัยอื่นๆ ดังนั้น การใช้สัดส่วนที่เหมาะสมของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ ในการบ่งบอกความสดของสัตว์น้ำจึงขึ้นกับชนิดของสัตว์น้ำ และการสุ่มตัวอย่างต้องกระทำอย่างระมัดระวังเนื่องจากปริมาณนิวคลีโอไทด์และอนุพันธ์จะขึ้นกับชนิดและตำแหน่งของกล้ามเนื้อ (สุทธวัฒน์, 2548)

โดยการหาค่าดัชนีความสดในสัตว์น้ำแต่ละค่านั้น สามารถคำนวณได้ตามวิธีต่างๆ ดังต่อไปนี้
(สุทธวัฒน์, 2548 และ Alasalvar *et al.*, 2002)

$$K = \frac{[Hyp] + [Ino]}{[ATP]+[ADP]+[AMP]+[IMP]+[Hyp]+[Ino]} \times 100$$

$$K_i = \frac{[Hyp] + [Ino]}{[IMP] + [Hyp] + [Ino]} \times 100$$

$$G = \frac{[Hyp] + [Ino]}{[IMP]+[Hyp]+[AMP]} \times 100$$

$$H = \frac{[Ino]}{[IMP] + [Hyp] + [Ino]} \times 100$$

$$P = \frac{[Hyp] + [Ino]}{[Ino] + [IMP] + [Hyp] + [AMP]} \times 100$$

ATP	:	adenosine 5' triphosphate
AMP	:	adenosine 5' monophosphate
ADP	:	adenosine 5' diphosphate
IMP	:	inosine monophosphate
Ino	:	inosine
Hyp	:	hypoxanthine

ค่า K ที่สามารถบ่งบอกความสดของสัตว์น้ำภายหลังการตายทันทีควรมีค่าใกล้เคียง 0 ส่วนสัตว์น้ำที่มีคุณภาพปานกลางมีค่า K เท่ากับร้อยละ 10 -20 ส่วนสัตว์น้ำที่เริ่มมีการเสื่อมเสียหรือไม่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคจะมีค่า K มากกว่าร้อยละ 60 และสัตว์น้ำที่มีการเน่าเสียจะมีค่า K ร้อยละ 90 (สุทธวัฒน์, 2548)

5.1.3) การตรวจสอบความเป็นกรด-ด่าง

กระบวนการไกลโคไลซิสก่อให้เกิดกรดแลคติก ส่งผลต่อการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในกล้ามเนื้อของสัตว์น้ำ ปริมาณกรดแลคติกที่เกิดขึ้นจะขึ้นกับปริมาณไกลโคเจนที่สะสมก่อนการตาย รวมทั้งการปฏิบัติต่อสัตว์น้ำ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วสัตว์น้ำจะมีค่าความเป็นกรด-ด่างหลังการตายสูงกว่าสัตว์เลือดอุ่น โดยจะมีค่าประมาณ 6.2-6.6 ขณะที่มีการเกร็งตัวสูงสุด การคืนรนของสัตว์น้ำระหว่างการจับมีผลในการลดปริมาณไกลโคเจนที่สะสมอย่างเด่นชัดส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในขณะที่มีการเกร็งตัวมีค่าประมาณ 7.0 ซึ่งก่อให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “alkaline rigor” (สุทธรวัฒน์, 2548)

กรณีที่สัตว์น้ำที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำมาก เช่น 5.4 เกิดจากการที่ปล่อยให้สัตว์น้ำนั้นมีการคืนรนภายหลังการจับ ก่อให้เกิดการส่งผ่านของออกซิเจนลดลง และเร่งการเกิด acidolysis ในกล้ามเนื้อ โดยไมโอโกลบิน จะถูกออกซิไดส์ไปเป็นเมทไมโอโกลบิน และก่อให้เกิดการสูญเสียสภาพโปรตีน นอกจากนี้ การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในกล้ามเนื้อของสัตว์น้ำจะขึ้นกับการปลดปล่อยสารประกอบพวกฟอสเฟตและแอมโมเนียในกระบวนการสลาย ATP รวมทั้งขึ้นกับสมบัติการเป็นบัฟเฟอร์ของเนื้อ (สุทธรวัฒน์, 2548)

5.1.4) การตรวจสอบปริมาณโปรตีน

เนื่องจากการย่อยสลายตัวเองทำให้ได้เปปไทด์ กรดอะมิโนสายสั้นๆ มากขึ้น ดังนั้น การวัดปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติกที่ทำให้ได้เปปไทด์สายสั้นๆ จึงน่าจะสามารถนำมาใช้เป็นดัชนีหาความสดได้ (Riebroy *et al.*, 2004) โดยการหาปริมาณของโปรตีนชนิดต่างๆ สามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งวิธีโฟลิน-ลาวรี (Folin-Lowry) เป็นการทำปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบโฟลีนกับโปรตีน ได้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีฟ้าที่สามารถวัดได้ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร โดยเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนอะโรมาติก พวกลิวซีน (tyrosine) และทริปโตเฟน (tryptophane) ที่มีในโปรตีนนั้นทำปฏิกิริยากับด่าง (alkaline buffer) ความเข้มของสีที่วัดได้จึงเป็นตัวที่บ่งบอกความสดของสัตว์น้ำ ดังนั้น ความเข้มของสีขึ้นกับปริมาณของกรดอะมิโนอะโรมาติกที่ปรากฏและจะเปลี่ยนไปตามชนิดของโปรตีนนั้น (Owusu-Apenten, 2002)

5.2) การตรวจสอบทางจุลินทรีย์

5.2.1) การตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total bacterial count)

เป็นการตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นเปรียบเทียบกับปริมาณจุลินทรีย์เมื่อความสดลดลงหรือเมื่อเกิดการเน่าเสีย (นงลักษณ์, 2531)

5.2.2) การตรวจนับจุลินทรีย์โดยตรง (Direct bacterial count)

เป็นการตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์โดยการตัดชิ้นส่วนของสัตว์น้ำเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ แล้วนำมาแผ่กระจายบนแผ่นสไลด์ที่ย้อมด้วยสี safranin ทำให้แห้ง อ่านค่าภายใต้กล้องจุลทรรศน์ วิธีกรนี้ใช้ได้ดีเนื่องจากปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ เมื่อความสดลดลง แต่วิธีนี้ไม่เหมาะสมสำหรับสัตว์น้ำที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง (นงลักษณ์, 2531)

6. การยืดอายุการเก็บรักษาสัตว์น้ำ

การยืดอายุการเก็บรักษาสัตว์น้ำนั้น ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเพื่อให้ได้เทคนิคใหม่ที่ไม่ต้องใช้ความร้อน โดยเทคนิคต่างๆ เป็นดังนี้ (ชวิช, 2548)

6.1 การใช้คลื่นไฟฟ้าแรงสูง (high electric field pulse)

การใช้คลื่นไฟฟ้าแรงสูงในการควบคุมจุลินทรีย์นั้น จะควบคุมโดยการทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ แต่วิธีนี้มีข้อจำกัด คือ สามารถใช้ได้กับผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติเป็นของเหลวเท่านั้น

6.2 การใช้คลื่นแม่เหล็ก (oscillating magnetic field pulse)

หลักการของวิธีนี้ คือ ทำให้พันธะโควาเลนต์ของสารโมเลกุลใหญ่ภายในเซลล์ถูกทำลาย แต่วิธีนี้ให้ประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์น้อยกว่าวิธีที่ใช้คลื่นไฟฟ้า ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ที่ใช้วิธีนี้ คือ ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติเป็นของเหลวเช่นเดียวกับวิธีคลื่นไฟฟ้าแรงสูง

6.3 การถนอมอาหารโดยใช้ความดันสูง (high hydrostatic pressure; HHP)

วิธีนี้เริ่มจากการใช้กับอาหารประเภทผักและผลไม้ วิธีนี้สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากทำให้ส่วนของผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ทำงานผิดปกติ อีกทั้งยังมีผลต่อเอนไซม์ภายในเซลล์ด้วย

6.4 การควบคุมโดยใช้โอโซน

ข้อดีของวิธีนี้ คือ โอโซนส่วนเกินจะสลายตัวกลายเป็นออกซิเจน ซึ่งจะทำให้ไม่ก่อให้เกิดปัญหาสารตกค้างในอาหาร

6.5 การใช้หลายวิธีร่วมกัน

6.5.1 การใช้ความร้อนระดับต่ำ การใช้ความร้อนต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียสไม่สามารถทำลายสปอร์ของจุลินทรีย์ได้ แต่ถ้าร่วมกับการลดความเป็นกรด-ด่างในอาหารลงจะสามารถทำลายสปอร์ได้

6.5.2 การลดอุณหภูมิขณะเก็บรักษา สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์พวก *Clostridium botulinum* และ *Listeria monocytogenes* แต่ถ้ามีเกลืออยู่จะช่วยยับยั้งการเจริญได้ดีขึ้น

6.5.3 การลดความเป็นกรด-ด่าง สามารถยับยั้งจุลินทรีย์พวกที่ไม่ทนกรดได้

6.5.4 การลดค่าออกซิเจนแอคทีวิตี ลดปริมาณน้ำอิสระที่จุลินทรีย์นำไปใช้ได้ทำให้จุลินทรีย์เจริญได้ช้าลง

6.5.5 การใช้บรรยากาศดัดแปลง ลดการเจริญของจุลินทรีย์พวกใช้อากาศ แต่ในสภาพนี้จะทำให้จุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ใช้อากาศเจริญได้ดีขึ้น

6.5.6 การใช้สารกันเสีย การใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) และบีเอชเอ (BHA) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ของซอร์เบท

6.5.7 การใช้ความดันสูงร่วมกับวิธีอื่น ได้แก่ การใช้ร่วมกับความร้อน ความเป็นกรด-ด่าง การใช้แบคทีเรียโอโซน และโคโคซาน

6.5.8 การใช้โอโซนร่วมกับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ทั้งสองวิธีนี้สามารถลดการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี

7. โอโซนและการประยุกต์ใช้งาน

7.1) ลักษณะและความสำคัญของโอโซน

โอโซนเป็นอนุพันธ์ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของออกซิเจน โดยที่สภาวะอุณหภูมิปกติและความดันจะมีลักษณะที่เป็นก๊าซสีน้ำเงินเข้ม มีกลิ่นฉุน (sharp smell) ที่ความเข้มข้นที่ระดับสูงที่อุณหภูมิต่ำกว่า -111.5 องศาเซลเซียส โอโซนจะเกิดการกลั่นตัวทำให้เกิดสภาวะที่ไม่คงตัว ทำให้เกิดเป็นสารละลายสีน้ำเงินเข้ม โอโซนมีคุณสมบัติในการกลั่นตัวที่อุณหภูมิสูงกว่าออกซิเจน คือ จะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ -182.97 องศาเซลเซียส ซึ่งที่สภาวะนี้ถือเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ใช้ในการแยกส่วนของโอโซนออกจากส่วนของออกซิเจน (Roshchina and Roshchina, 2003)

โอโซนมีคุณสมบัติเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าทำให้มีลักษณะที่แตกต่างไปจากออกซิเจน โดยโอโซนสามารถดูดกลืนคลื่นแสงอัลตราไวโอเล็ต ในช่วงความยาวคลื่น 200 – 360 นาโนเมตร ช่วงความยาวคลื่นที่สามารถดูดกลืนคลื่นแสงได้ดีที่สุด คือ 255 นาโนเมตร ขณะที่ออกซิเจนจะดูดกลืนคลื่นแสงอัลตราไวโอเล็ต ในช่วงความยาวคลื่นที่ต่ำกว่า 200 นาโนเมตร แต่ในช่วงความยาวคลื่น 220 นาโนเมตรจะสามารถดูดกลืนแสงได้ทั้งสองชนิด (Roshchina and Roshchina, 2003)

ความแตกต่างระหว่างโอโซนและออกซิเจนสามารถจำแนกได้ดังนี้ คือ โอโซนมีลักษณะที่มีสี มีคุณสมบัติเป็นตัวเหนียวทำให้เกิดสนามแม่เหล็กสามารถเกิดการระเบิดขึ้นได้ อีกทั้งยังคงมีคุณสมบัติที่เป็นพิษอีกด้วย โอโซนยังสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิไดส์กับเหล็ก เงิน และแพลททินัม สามารถเกิดปฏิกิริยาระหว่างองค์ประกอบสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ได้ โดยโอโซนจะเปลี่ยนรูปเป็นโอโซนไนด์ (ozonide) ซึ่งเป็นรูปหนึ่งของสารพวกรเปอร์ออกไซด์ที่มีความเป็นพิษ (Roshchina and Roshchina, 2003)

7.2) การเกิดโอโซน

โอโซนเกิดจากการแตกตัวของอะตอมออกซิเจนในชั้นบรรยากาศด้วยรังสีอัลตราไวโอเล็ต ที่ความยาวคลื่น 242 นาโนเมตร อะตอมอิสระที่เป็นผลจากการแตกตัวของอะตอมออกซิเจนจะไปรวมตัวกับอะตอมออกซิเจนที่อยู่กับอนุภาคอื่นๆ ทำให้เกิดเป็นพลังงานขึ้น อะตอมของออกซิเจนจะมีครึ่งชีวิต (half life) ที่ค่อนข้างสั้นเมื่ออยู่ในชั้นบรรยากาศ ในปี ค.ศ. 1965 Hunt ได้ทำการทดลองการเกิดปฏิกิริยาของโอโซนในไอน้ำ โดยอะตอมไฮโดรเจนและไฮดรอกไซด์จะรวมตัวกันเกิดเป็นน้ำเมื่อมีการผ่านแสงอัลตราไวโอเล็ต อะตอมของออกซิเจนจะเกิดปฏิกิริยากับอะตอมไฮโดรเจนเกิดเป็นกลุ่มเปอร์ไฮดรอกซี (perhydroxy) ขึ้น เป็นผลทำให้เกิดเป็นโอโซนขึ้น (Roshchina and Roshchina, 2003)

7.3) คุณสมบัติของโอโซน

โอโซนมีสูตร คือ O_3 น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 48 จุดหลอมเหลวอยู่ที่ -192.5 องศาเซลเซียส จุดเดือดที่ -119.5 องศาเซลเซียส ความต่างศักย์ทางไฟฟ้าเท่ากับ 2.07 โวลต์ ความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 570 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในน้ำบริสุทธิ์ (Roshchina and Rochina, 2003)

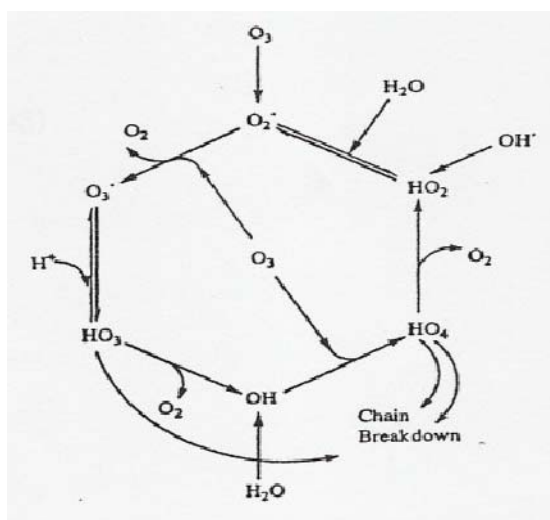
7.4) ปฏิกิริยาการละลายน้ำของโอโซน

โอโซนเป็นก๊าซที่ไม่เสถียร สามารถสลายตัวเป็นออกซิเจนได้อย่างรวดเร็ว เมื่อโอโซนละลายน้ำจะแตกตัวให้ radicals ต่างๆ ได้แก่ hydroxyl radicals ($OH^\cdot$), $OH_2^\cdot$, $OH_3^\cdot$, $OH_4^\cdot$ และ superoxide ($O_2^\cdot$) ซึ่ง radicals ต่างๆ ที่เกิดขึ้นจะมีความว่องไวมากในการทำปฏิกิริยากับสารต่างๆ (strong oxidant) เมื่อ โอโซนละลายน้ำจะเกิดการแตกตัว ปฏิกิริยาที่แตกตัวแสดงดังสมการ (Roshchina and Roshchina, 2003)





การสลายตัวของโอโซนจะเพิ่มขึ้น เมื่อความเป็นด่าง (alkalinity) เพิ่มขึ้น ทำให้โอโซนสามารถทำปฏิกิริยากับน้ำและ hydroxide ion (OH^-) ได้ hydroxyl radicals ในปริมาณที่มากขึ้น ปฏิกิริยาการแตกตัวของโอโซนเมื่อละลายน้ำกลายเป็น radicals ชนิดต่างๆ แสดงดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 ปฏิกิริยาการแตกตัวของโอโซนเมื่อละลายน้ำ

ที่มา: Langlais *et al.*, 1991

7.5) ความสามารถในการละลายน้ำของโอโซน

ความสามารถในการละลายน้ำของโอโซนขึ้นกับปัจจัยดังต่อไปนี้ คือ อุณหภูมิของน้ำ และ ความดันบรรยากาศ ปริมาณการละลายน้ำของโอโซนจะลดลงเมื่ออุณหภูมิของน้ำเพิ่มขึ้น ปริมาณการละลายน้ำของโอโซนสามารถอธิบายได้ด้วยกฎของ Henry โดยโอโซนจะละลายน้ำได้ดีที่อุณหภูมิต่ำแต่เมื่ออุณหภูมิของน้ำเพิ่มขึ้น ความสามารถในการละลายน้ำของโอโซนจะลดลง ซึ่งความสามารถในการละลายน้ำของโอโซนแสดงได้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความสามารถในการละลายน้ำของโอโซนที่อุณหภูมิต่างๆ

Ozone concentration %w/w	Ozone Solubility (mg/L)					
	5 °C	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C
0.001	0.007	0.007	0.006	0.005	0.004	0.003
0.1	0.74	0.65	5.6	0.42	3.53	0.27
1	7.34	6.5	0.55	4.29	0.35	2.70
1.5	11.09	9.75	8.4	6.43	5.29	4.04
2	14.79	13.0	11.19	8.57	7.05	5.39
3	22.18	19.5	16.79	12.86	10.58	8.09

ที่มา: Steven (1997) อ้างใน ภาณุมาศ, (2548)

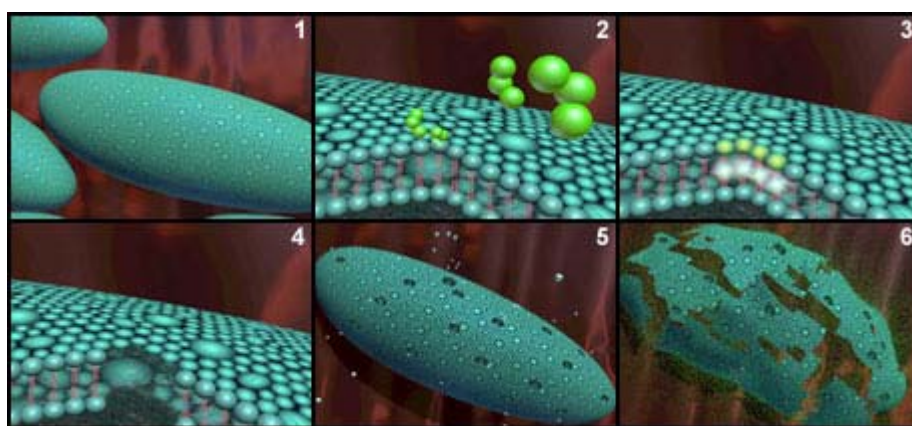
โอโซนเป็นก๊าซพิษที่อาจก่อให้เกิดความระคายเคืองอย่างรุนแรง ถ้าได้รับโดยตรงและในความเข้มข้นปริมาณสูง (เกินกว่า 0.01 พีพีเอ็มจะเป็นอันตรายโดยตรงต่อปอดและตา ทำให้เยื่อหุ้มอักเสบ) ผู้ที่อยู่ในบรรยากาศโอโซนที่เข้มข้นอาจถึงแก่ความตายได้ (Kim *et al.*, 1999)

7.6) กลไกการทำงานของโอโซนในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

โอโซนสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แก่ *Escherichia coli* O157: H7, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* รวมทั้งยีสต์และสปอร์เชื้อรา เช่น *Aspergillus niger* ประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ของโอโซนขึ้นกับความเข้มข้นของโอโซน ระยะเวลาที่สัมผัสกับจุลินทรีย์ และสภาพที่เป็นกรดของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์จะช่วยให้โอโซนทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีขึ้น (Kim and Yousef, 2000)

ลักษณะการทำลายจุลินทรีย์ของโอโซน ดังแสดงในภาพที่ 5 ประกอบด้วย
(Khadre *et al.*, 2000)

1. ผนังเซลล์ (cell envelope) บริเวณนี้เป็นส่วนแรกที่โอโซนเข้าทำปฏิกิริยา โดยโอโซนจะไปทำปฏิกิริยากับกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว, โกลโคโปรตีน และไกลโคเปปทิเดส ทำให้เกิดการแตกของเซลล์ เป็นผลให้สารที่มีอยู่ภายในเซลล์ไหลออกสู่ภายนอกเซลล์ หรือที่เรียกว่า กระบวนการ lysis ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาออกซิไดส์ของโอโซนที่มีต่อพันธะคู่ของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวและพันธะซัลไฟด์ของเอนไซม์ที่มีในจุลินทรีย์นั้น



ภาพที่ 5 ผลของการใช้โอโซนต่อจุลินทรีย์

ที่มา : Ozone Solutions, Inc. (2006)

2. บริเวณสปอร์ (bacteria spore coat) ส่วนของโปรตีนที่เคลือบสปอร์และบริเวณชั้นนอกของสปอร์ *Bacillus cereus* จะถูกกำจัดออกไปอย่างรวดเร็วโดยโอโซน

3. เอนไซม์ (enzyme) โอโซนมีผลในการทำลายเอนไซม์ได้ดีกว่าคลอรีน เนื่องจากการใช้คลอรีนจะสามารถทำลายได้เฉพาะส่วนของเอนไซม์ แต่โอโซนจะสามารถทำลายเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase enzyme) และทำลายระบบการหายใจของจุลินทรีย์

4. กรดนิวคลีอิก (nucleic acid) เนื่องจากโอโซนที่อยู่ในสภาพสารละลายนั้นสามารถเข้าไปสู่เซลล์ของจุลินทรีย์ได้โดยไปทำลายองค์ประกอบที่เป็นกรดนิวคลีอิก อีกทั้งโอโซนสามารถ

ทำลายในส่วน plasmid DNA และลดคุณสมบัติ transforming และลดปฏิกิริยา transcription ภายในเซลล์จุลินทรีย์ได้

นอกจากนี้ปริมาณโอโซนที่ใช้ในการทำลายจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ เช่น *Vibrio cholerae* ถูกทำลายได้อย่างรวดเร็วในขณะที่ *Bacillus cereus* ในรูป vegetative cell สามารถทำลายได้ง่ายกว่าที่อยู่ในรูปของสปอร์

7.7) การใช้โอโซนในผลิตภัณฑ์ประมง

ในอดีตการนำโอโซนมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารยังมีการใช้อย่างไม่แพร่หลายนัก ซึ่งใช้เพียงในประเทศสหรัฐอเมริกาเท่านั้น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อนำมาใช้ในการกำจัดโลหะ เช่น เหล็ก แมงกานีส กำจัดสี และกลิ่น ในน้ำดื่ม และในปี 1992 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (U.S. Food and Drug Administration) ได้กำหนดให้โอโซนเป็นสารที่มีความปลอดภัยในการใช้งานและสามารถนำมาใช้ล้างทำความสะอาดวัตถุดิบได้

ประโยชน์หลักของโอโซนนอกจากการมีผลต่อสิ่งแวดล้อมแล้ว โอโซนยังสามารถที่จะยับยั้งจุลินทรีย์ รา โปรโตซัว และไวรัสได้ ไม่ว่าจะเป็นสิ่งมีชีวิตหรือไม่ก็ตาม (Kim and Yousef, 2000) ซึ่ง Dosti *et al.* (2005) รายงานว่า การใช้โอโซนในผลิตภัณฑ์อาหารมีข้อควรระวัง คือ ไม่ควรใช้เฉพาะก๊าซโอโซนเพียงอย่างเดียวในช่วงความเข้มข้น 1 พีพีเอ็ม เพราะจะส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกายได้ อีกทั้งการใช้โอโซนยังทำให้เนื้อสัมผัส สี และกลิ่นของผลิตภัณฑ์อาหารเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

Silva *et al.* (1998) ทดลองใช้โอโซนในการลดปริมาณจุลินทรีย์ในปลา 5 ชนิดโดยทำการตรวจสอบค่าทางจุลชีววิทยา ค่าทางชีวเคมี ได้แก่ pH และ TBA และค่าทางกายภาพ ได้แก่ การทดสอบทางประสาทสัมผัสทุกวัน พบว่า ปริมาณของจุลินทรีย์ลดลงถึง $1 \log \text{CFU.cm}^{-2}$ ในทุกๆ วันที่ทำการทดลอง ส่วนค่า pH และค่าทดสอบทางประสาทสัมผัสให้ผลในทางเดียวกับในกลุ่มที่ไม่มีการใช้โอโซน ค่า TBA ให้ผลที่ดีกว่ากลุ่มที่ไม่ใช้โอโซน

8. สถานะที่ใช้ในการเก็บรักษา

การบรรจุผลิตภัณฑ์ให้อยู่ภายใต้บรรยากาศของก๊าซชนิดใดชนิดหนึ่งหรือหลายชนิด โดยอัตราส่วนของก๊าซชนิดต่างๆ นั้นจะแตกต่างไปจากอัตราส่วนที่พบในบรรยากาศปกติ เรียกว่า gas-exchange packaging สามารถแบ่งกระบวนการบรรจุนี้ออกเป็น 4 ประเภท (งามทิพย์, 2538ก) ได้แก่

1. controlled atmosphere packaging (CAP) หมายถึงการบรรจุผลิตภัณฑ์ให้อยู่ภายใต้สภาพบรรยากาศที่มีอัตราส่วนของก๊าซชนิดต่างๆ แตกต่างไปจากบรรยากาศปกติ และอัตราส่วนนี้จะคงที่ตลอดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์

2. modified atmosphere packaging (MAP) หมายถึง การบรรจุผลิตภัณฑ์ให้อยู่ภายใต้บรรยากาศที่มีอัตราส่วนของก๊าซชนิดต่างๆ แตกต่างไปจากบรรยากาศปกติ และอัตราส่วนนี้อาจจะเปลี่ยนแปลงได้ตามระยะเวลา โดยขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุ อัตราส่วนของก๊าซเริ่มต้น วัสดุที่ใช้ และสถานะการเก็บผลิตภัณฑ์นั้น

3. gas-flush packaging หมายถึง การบรรจุผลิตภัณฑ์ให้อยู่ภายใต้บรรยากาศของก๊าซชนิดใดชนิดหนึ่ง เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ หรือก๊าซไนโตรเจน โดยการพ่นก๊าซนั้นๆ เข้าไปแทนที่อากาศภายในภาชนะ วิธีนี้นิยมใช้สำหรับใส่ก๊าซออกซิเจนในภาชนะบรรจุผลิตภัณฑ์ที่ไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น อาหารที่มีไขมันมาก น้ำผลไม้ เป็นต้น

4. vacuum packaging หมายถึง การบรรจุผลิตภัณฑ์ให้อยู่ภายใต้สุญญากาศ โดยการดึงเอาอากาศภายในภาชนะหรือภายในผลิตภัณฑ์ออกไป และไม่มีการพ่นก๊าซใดๆ เข้าไปแทนที่ ซึ่งทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างความดันภายในและภายนอกภาชนะ สังเกตได้จากการหดตัวของภาชนะบรรจุชนิดอ่อนตัว (flexible form) หรือการยุบตัวของภาชนะประเภทกึ่งคงรูป (semi-rigid form) โดยทั่วไปความดันภายในภาชนะจะมีค่าประมาณ 0.5 – 8 ทอร์ (Torr) ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์และระบบการบรรจุ

8.1 วัสดุบรรจุและคุณสมบัติ

8.1.1 ชนิดของวัสดุบรรจุ

วัสดุบรรจุพื้นฐานสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภท คือ (งามทิพย์, 2538ข)

8.1.1.1 เซรามิก (ceramics) ประกอบด้วย เครื่องปั้นดินเผา (Pottery) กระเบื้องเคลือบหรือเครื่องลายคราม (china ware) และเครื่องแก้ว (glass ware)

8.1.1.2 ผลิตภัณฑ์จากพืช (vegetable products) ได้แก่ ไม้ เชื้อไม้ ยางไม้ กระดาษ ลังทอและเครื่องจักสาน

8.1.1.3 โลหะ (metals) คือ แผ่นเหล็กกล้าเคลือบดีบุก (tinplate) อะลูมิเนียม (aluminium) โลหะผสม (alloys) และแผ่นเหล็กกล้าเคลือบโครเมียม (นิยมเรียก tin free steel หรือ TFS)

8.1.1.4 พลาสติก (plastics) รวมทั้งวัสดุธรรมชาติและวัสดุสังเคราะห์ ซึ่งเป็นวัสดุบรรจุที่นิยมนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย

8.1.2 คุณสมบัติของวัสดุบรรจุ คุณสมบัติของฟิล์มแต่ละชนิดเป็นดังนี้ (งามทิพย์, 2538ข)

8.1.2.1 พอลิเอทิลีน (polyethylene, PE) คือ มีลักษณะโปร่งแสงถึงโปร่งใส ยืดตัวได้มาก ถักขาดได้ยาก ด้านทานไขมันได้น้อย ป้องกันการซึมผ่านของความชื้นได้ดี ป้องกันกลิ่นได้น้อย

8.1.2.2 พอลิเอไมด์ (polyamide, PA) เรียกกันโดยทั่วไปว่า ไนลอน (nylon) ในกระบวนการผลิตฟิล์มสามารถใช้วิธีรีด และวิธีเป่า ซึ่งมักทำให้โมเลกุลจัดเรียงตัวกัน เรียกว่า oriented polyamide (OPA) ความแตกต่างกันของฟิล์ม ทั้งสองอยู่ที่ฟิล์มแบบแรก (PA) จะให้ความใสดีกว่า ในขณะที่แบบที่ 2 (OPA) จะให้คุณสมบัติทางกลดีกว่า โดยจะไม่มีกลิ่น ไม่มีรส ด้านทาน

แรงดึงและแรงฉีกขาดได้ดี ป้องกันการซึมผ่านของไขมันได้ดีมาก ป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจนได้ดี การป้องกันการซึมผ่านของก๊าซลดลงเมื่อความชื้นเพิ่มมากขึ้น

8.2 วัตถุประสงค์ในการใช้ก๊าซบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร (งามทิพย์, 2538ก)

1. ชะลอหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาเคมีในอาหาร

ปฏิกิริยาชีวเคมีในอาหารที่สำคัญ คือ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ซึ่งเมื่อเกิดกับไขมันจะทำให้อาหารเหม็นหืน เมื่อมีการเกิดปฏิกิริยากับวิตามินจะทำให้คุณค่าทางอาหารลดลง หรือสีของอาหารซีดจางลง เป็นต้น การชะลอหรือป้องกันปฏิกิริยาจะต้องกำจัดก๊าซออกซิเจนภายในบรรยากาศล้อมรอบอาหารออกไป

2. ชะลอหรือป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของคุณภาพของอาหาร

สภาพบรรยากาศที่ไร้ก๊าซออกซิเจนและมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มากๆ จะช่วยชะลอหรือป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยทั่วไปจะใช้ได้ผลดีกับพวกจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศในการเจริญ (aerobic bacteria) และเชื้อรา (mold) ส่วนยีสต์ (yeast) นั้นให้ผลไม่ค่อยเด่นชัด

3. ชะลออัตราการหายใจของพืช

4. ชะลอหรือป้องกันการเจริญเติบโตและการฟักไข่ของหนอน แมลงต่างๆ ที่อาจติดอยู่ในอาหารในสภาพไร้ออกซิเจน หนอน ไข่หนอน และแมลงต่างๆ ไม่สามารถเจริญเติบโตได้

5. รักษาสีแดงของเนื้อ

เมื่อบรรจุเนื้อไว้ในภาชนะบรรจุที่มีก๊าซออกซิเจนมากๆ จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเจนขึ้น (oxygenation) ของเม็ดสีในเนื้อที่เรียกว่า ไมโอโกลบิน (myoglobin) ได้สารออกซิไมโอโกลบิน (oxymyoglobin) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เนื้อมีสีแดงสดที่ผู้บริโภคต้องการ สารนี้จะเสถียรดีขึ้นเมื่ออยู่ในบรรยากาศที่มีความดันของออกซิเจนสูง สำหรับสภาพบรรยากาศที่มีความดันของก๊าซออกซิเจนน้อยๆ เนื้อจะมีสีคล้ำทำให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับในตัดสินใจซื้อ

6. ป้องกันการเสียรูปทรงของผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์ที่ไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน ต้องบรรจุให้อยู่ในสภาพไร้ออกซิเจน ผลิตภัณฑ์บางประเภทไม่เหมาะที่จะใช้การบรรจุระบบสุญญากาศ เนื่องจากจะทำให้เกิดความเสียหาย เช่น การแตกหักของชิ้นมันฝรั่งทอด การยุบตัวของขนมปัง เป็นต้น จึงควรบรรจุภายใต้สภาพปรับบรรยากาศแทน

8.2) คุณสมบัติของก๊าซที่ใช้ (งามทิพย์, 2538ก)

1. ก๊าซออกซิเจน

ในอากาศมีก๊าซออกซิเจนประมาณร้อยละ 20.9 คุณสมบัติที่สำคัญที่ต้องนำมาพิจารณาในการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร คือ

1.1) สามารถทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารประกอบต่างๆ ในอาหาร เช่น ไขมัน วิตามิน เป็นต้น อาหารที่มีไขมันสูง หรืออาหารที่สูญเสียวิตามินได้ง่าย ควรบรรจุให้อยู่ภายใต้บรรยากาศที่ปราศจากออกซิเจน เพื่อป้องกันปฏิกิริยานี้

1.2) จำเป็นสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ที่สำคัญ คือ จุลินทรีย์ที่ยอมรับออกซิเจนเช่น *Pseudomonas* sp., *Micrococcus* sp. เป็นต้น และเชื้อราเกือบทุกชนิด การบรรจุอาหารในสภาพไร้ก๊าซออกซิเจน หรือมีก๊าซออกซิเจนต่ำกว่าร้อยละ 0.1 จะสามารถป้องกันการเสื่อมเสียคุณภาพของอาหารจากการกระทำของจุลินทรีย์ดังกล่าวได้

1.3) จำเป็นสำหรับการหายใจของพืช ผัก และผลไม้สด แม้จะเก็บเกี่ยวจากต้นแล้วก็ตาม ยังคงมีการหายใจตลอดเวลาจนกว่าเซลล์จะตาย ดังนั้นจึงต้องมีก๊าซออกซิเจนเพียงพอระหว่างการเก็บรักษาผักและผลไม้สดนี้

1.4) จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตและการฟักไข่ของหนอน และแมลงต่างๆ

1.5) จำเป็นสำหรับปฏิกิริยาออกซิเดชันของไมโอโกลบิน เพื่อให้เนื้อมีสีแดงของออกซิไมโอโกลบิน

1.6) สามารถทำปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (browning reaction) ในอาหาร ทำให้คุณภาพด้านสีของอาหารลดลง

2. ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีบทบาทสำคัญต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร คุณสมบัติที่สำคัญของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ คือ

2.1) ชะลออัตราการหายใจของพืช โดยทั่วไปเมื่อความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศเพิ่มขึ้น อัตราการหายใจของพืชจะลดลง ทำให้อายุการเก็บรักษาผักและผลไม้ลดลงด้วย

2.2) ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิด โดยจะมีคุณสมบัติเป็น bacteriostatic หรือ fungistic agent คือ จะยับยั้งการเจริญเท่านั้นแต่ไม่ได้ทำลายหรือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์

2.3) สามารถละลายได้ดีในน้ำและไขมัน การละลายนี้จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิลดลง สังเกตได้จากการยุบตัวของภาชนะบรรจุ เนื่องจากความดันภายในต่ำกว่าบรรยากาศ

3. ก๊าซไนโตรเจน

โดยทั่วไปในอากาศจะมีก๊าซไนโตรเจนอยู่ประมาณร้อยละ 79 คุณสมบัติที่สำคัญที่นำมาบรรจุอาหาร(งามทิพย์, 2538ก) คือ

3.1) เป็นก๊าซเฉื่อยต่อปฏิกิริยาชีวเคมี จึงนิยมใช้แทนที่ออกซิเจนเพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

3.2) ไม่มีสี กลิ่น และรสจึงสามารถใช้ได้กับผลิตภัณฑ์ทุกชนิด

3.3) ละลายในน้ำและไขมันน้อยมาก

8.3) การใช้ก๊าซบรรจุผลิตภัณฑ์อาหารทางด้านผลิตภัณฑ์ประมง

การใช้ก๊าซในการบรรจุอาหารทางด้านผลิตภัณฑ์ประมง ส่วนใหญ่แล้วต้องการใช้ก๊าซเพื่อควบคุมและลดจำนวนจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ให้เหลือน้อยที่สุด เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค การใช้ก๊าซสำหรับบรรจุอาหารทางผลิตภัณฑ์ประมงนั้น ก๊าซที่ใช้มักใช้ในลักษณะที่เป็นก๊าซผสม คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไนโตรเจน ในอัตราส่วน 60 : 40 เช่น ในการทดลองของ Mejlholm and Dalgaard (2002) ได้ทำการทดลองในเนื้อปลาคอดแล่ (fillet) โดยทำการเคลือบปลาด้วยน้ำมันชนิดต่างๆ 9 ชนิด แล้วทำการเก็บรักษาด้วยวิธีการปรับสภาพบรรยากาศ เพื่อศึกษาถึงการลดปริมาณของจุลินทรีย์และอายุการเก็บรักษา ซึ่งผลการทดลองที่ได้ นอกจะทราบว่าน้ำมันจะช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์แล้ว การเก็บรักษาด้วยการใช้วิธี การบรรจุแบบสภาพปรับบรรยากาศ ร่วมด้วยจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น

และในปี 2005 Mejlholm และคณะ ได้ทำการทดลองศึกษาอายุการเก็บของกุ้งดำที่อุณหภูมิ 2, 5 และ 8 องศาเซลเซียส โดยบรรจุในสภาพปรับบรรยากาศ พบว่า ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส จะสามารถควบคุมการกระจายของ *Listeria monocytogenes* ได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ 5 และ 8 องศาเซลเซียส อีกทั้งยังสามารถยืดอายุการใช้งานได้นานถึง 21 วัน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

1.1 ปูทะเลนึ่ง (Scylla serrata, Forskal) มีชีวิต ในระยะความเป็นเชื้อกระดาดระดับ 2-4 ขนาด 8-9 ตัว ต่อ 1 กิโลกรัม ขนส่งโดยรถโดยสารใช้ระยะเวลา 4 - 6 ชั่วโมง จากฟาร์มเลี้ยงปูทะเล นึ่ง จังหวัดตราด

2. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับเก็บรักษา

2.1 เครื่องบรรจุสุญญากาศ (Henkovac 2000)

2.2 เครื่องผลิตไอโซน (OZ-3020)

2.3 เครื่องบรรจุแบบปรับบรรยากาศ (Henkovac Mobile 1602)

2.4 เครื่องวัดปริมาณก๊าซ (Sernomex 1450B)

2.5 ถุงลามิเนต PE/ polyvinylidene / polyethylene polymer /nylon ขนาด 180 x 280 มิลลิเมตร มีค่า water vapour transmission rate เป็น 2.4 กรัม/ลูกบาศก์เมตร/วัน (ที่ 25 องศาเซลเซียส, 0% RH) และค่า oxygen gas transmission rate เป็น 52.2 ซีซี/ลูกบาศก์เมตร.วัน

3. อุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์คุณภาพทางชีวเคมี

3.1 เครื่องวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ (HPLC Agilent 1100series, U.S.A.)

3.2 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (Sartorius 2462, Germany)

3.3 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Jasco Model 7800)

3.4 เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Hettich zentrifugen model Universal 32 R, Germany)

3.5 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Metrohm model 744 , Switzerland)

3.6 เครื่องแก้วที่จำเป็นในการวิเคราะห์

4. อุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

- 4.1 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) (Kokusan model H88 LLD)
- 4.2 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) (Mettler model 600)

5. อุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- 5.1 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Yamato unicell model UC-100, Japan)
- 5.2 ห้องปฏิบัติการชิมพร้อมอุปกรณ์
- 5.3 ใบรายงานผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

6. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

- 6.1 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไตรเมทิลเอมีน
- 6.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ adenosine triphosphate และอนุพันธ์
- 6.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์โปรตีนที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติก

7. อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 7.1 plate count agar (Merck, U.S.A.)

8. เครื่องประมวลผลข้อมูล

- 8.1 เครื่องคอมพิวเตอร์
- 8.2 โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ

วิธีการ

1. ปูทะเลนํ้าและขั้นตอนการเตรียม

1.1 การเตรียมตัวอย่าง

1.1.1) สภาพการบรรจุแบบสุญญากาศ

1.1.1.1 เตรียมน้ำสะอาดที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการล้างปูทะเลนํ้าที่ยังมีชีวิตอยู่

1.1.1.2 แช่ปูทะเลนํ้าในน้ำเย็น 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เมื่อครบเวลานำปูขึ้นมาสะเด็ดน้ำเป็นเวลา 5 นาที บรรจุใส่ถุงลามิเนต ชนิด PE/ polyvinylidene / polyethylene polymer /nylon เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างทุกวันจนสิ้นสุดการเก็บรักษา

1.1.2) สภาพการล้างด้วยน้ำไอโซนเข้มข้น 1 พีพีเอ็มแล้วบรรจุแบบสุญญากาศ

1.1.2.1 เตรียมน้ำไอโซน โดยใช้แก๊สออกซิเจนบริสุทธิ์ (pure oxygen) ผ่านเครื่องผลิตไอโซน (OZ-3020) ให้มีความเข้มข้น 1 พีพีเอ็ม และมีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการล้างปูทะเลนํ้าที่ยังมีชีวิตอยู่

1.1.2.2 แช่ปูทะเลนํ้าในน้ำไอโซนเย็นเข้มข้น 1 พีพีเอ็ม นาน 20 นาที เมื่อครบเวลานำปูขึ้นมาสะเด็ดน้ำเป็นเวลา 5 นาที บรรจุใส่ถุงลามิเนต ชนิด PE/ polyvinylidene / polyethylene polymer /nylon เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างทุกวันจนสิ้นสุดการเก็บรักษา

1.1.3) สภาพการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ

1.1.3.1 เตรียมน้ำสะอาดที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการล้างปูทะเลนํ้าที่ยังมีชีวิตอยู่

1.1.3.2 แช่ปูทะเลนํ้าในน้ำเย็น 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เมื่อครบเวลานำปูขึ้นมาสะเด็ดน้ำเป็นเวลา 5 นาที บรรจุใส่ถุงลามิเนต ชนิด PE/ polyvinylidene / polyethylene polymer /nylon โดยใช้เครื่องบรรจุผสมแก๊ส (Multivac) ใช้ Gas Mixing Unit ให้มีความเข้มข้นของ

คาร์บอนไดออกไซด์ต่อไนโตรเจน เป็น 80 : 20 เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างทุกวันจนสิ้นสุดการเก็บรักษา และตรวจสอบปริมาณแก๊สที่เปลี่ยนแปลงในภาชนะบรรจุ (head space) ของภาชนะบรรจุ โดยใช้ Food Package Analyzer

2. ศึกษาอายุการเก็บรักษาและการเปลี่ยนแปลงทางความสดในปูทะเลนึ่งในสถานะการบรรจุต่างๆ

2.1 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

สุ่มตัวอย่างปูทะเลนึ่ง มาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน ประเมินคุณภาพด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความยอมรับรวมของปูทะเลนึ่งทั้งตัว โดย ใช้การทดสอบแบบ assessment acceptability ระดับคะแนน 1 – 7 (คะแนน 1 หมายถึง ไม่ยอมรับมากที่สุด และ 7 หมายถึง ยอมรับมาก และกำหนดให้คะแนนต่ำกว่า 4 เป็นคะแนนที่ผู้ทดสอบไม่ยอมรับ) สุ่มตัวอย่างทดสอบทุกวันขณะทำการเก็บรักษา จนกว่าผู้ทดสอบจะไม่ยอมรับ (แสดงดังภาคผนวก ข1)

จากการทดลองเบื้องต้น พบว่า คุณลักษณะที่ทำให้ผู้ทดสอบไม่ให้การยอมรับในด้านความสดของปูทะเลนึ่งนั้น คือ คุณลักษณะทางด้านกลิ่นไม่พึงประสงค์ ทางผู้วิจัยจึงได้มีการจัดทำ การทดสอบคุณลักษณะเชิงพรรณนาขึ้น เพื่อเป็นดัชนีที่บ่งชี้ให้เห็นว่า การเปลี่ยนแปลงของระดับความเข้มของกลิ่นไม่พึงประสงค์ระหว่างการเก็บรักษามีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะใด โดยจะทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาค้นคว้าไปกับการทดสอบด้วยความยอมรับ ซึ่งผู้ทดสอบเชิงพรรณนานั้นจะต้องผ่านการฝึกอบรม ตามเกณฑ์ดังนี้

ทำการคัดเลือกและฝึกฝนผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Baardseth *et al.* (1992) โดยคัดเลือกจากผู้ทดสอบ (นิสิตปริญญาโท และเอก ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง) 20 คน ให้เหลือจำนวน 8 คนขึ้นไป ตามเกณฑ์ต่างๆ ดังนี้

คุณสมบัติทั่วไป คือ สนใจและสามารถเข้าร่วมการฝึกฝนและทดสอบ มีสุขภาพดี มีความเข้าใจในการอธิบายคุณลักษณะด้านกลิ่น และเข้าใจเรื่องการใช้สเกล

การฝึกฝนผู้ทดสอบ

ทำการแยกลำดับความเข้มข้นของสารละลายกลี้นไม่พึงประสงค์ เริ่มจากให้ผู้ทดสอบ ทดลองดมสารละลายที่เรียงลำดับความเข้มข้นต่างๆ โดยหมายเลข 1 แทน ความเข้มข้นที่อ่อนที่สุด จนถึงหมายเลข 5 ที่มีระดับความเข้มข้นที่เข้มข้นที่สุด โดยแยกลำดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นดังนี้

กลี้นไม่พึงประสงค์

หมายเลข 5	สารละลายไตรเมทิลเอมีน	ความเข้มข้น	2000	พีพีเอ็ม
หมายเลข 4	สารละลายไตรเมทิลเอมีน	ความเข้มข้น	200	พีพีเอ็ม
หมายเลข 3	สารละลายไตรเมทิลเอมีน	ความเข้มข้น	20	พีพีเอ็ม
หมายเลข 2	สารละลายไตรเมทิลเอมีน	ความเข้มข้น	2	พีพีเอ็ม
หมายเลข 1	น้ำปราศจากกลี้น			

ฝึกฝนผู้ทดสอบโดย

- ทำความเข้าใจถึงวิธีการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา สเกล และการรับกลิ่นของมนุษย์
- ทดลองดมตัวอย่างกลี้นไม่พึงประสงค์ที่พบในเนื้อปูทะเลนึ่งดิบ
- คัดเลือกและกำหนดตัวอย่างที่ใช้อ้างอิงความเข้มของกลี้นไม่พึงประสงค์
- ทดลองประเมินตัวอย่างปูทะเลนึ่ง เพื่อให้เกิดความชำนาญ

การทดสอบแบบพรรณนา Quantitative Descriptive Analysis (QDA) นำเนื้อปูทะเลนึ่งดิบ ปริมาณ 20 กรัมใส่ลงในถ้วยแก้ว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 นิ้ว สูง 2 นิ้ว ปิดฝาด้วยแผ่นกระดาษ อลูมิเนียมฟอยล์ โดยให้ผู้ทดสอบชายและหญิง ที่ผ่านการฝึกฝนตามวิธีการข้างต้น 8 คนขึ้นไป ตามวิธีของ Baardseth *et al.* (1992) โดยให้ผู้ทดสอบทำการดมตัวอย่าง แล้วประเมินตามคุณลักษณะต่างๆ ดังตารางที่ 4 หลังจากนั้นให้ผู้ทดสอบบอกลักษณะของตัวอย่างที่ได้ในเรื่องความเข้มข้นของกลี้นในแต่ละตัวอย่างผ่านสเกลคะแนน (point scale)

ตารางที่ 3 ตัวอย่างที่ใช้ในการอ้างอิงสำหรับผู้ทดสอบแบบพรรณนาในปูทะเลนี้

คุณลักษณะ		ตัวอย่างอ้างอิง
คำศัพท์	ความหมาย	
กลิ่นไม่พึงประสงค์	กลิ่นของอาหารทะเลที่มี การเสื่อมเสีย	สารละลายไตรเมทิลเอมีนเข้มข้น 20 พีพีเอ็ม

ทำการวิเคราะห์คุณภาพทางชีวเคมีและจุลชีววิทยาโดยใช้ดัชนีวัดความสดของปูทะเลนี้
ต่างๆ ดังนี้

2.2 การทดสอบทางด้านจุลชีววิทยา

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (A.O.A.C, 1995)

2.3 การทดสอบทางด้านชีวเคมี

2.3.1 การวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง (ตามวิธีของ A.O.A.C., 1995)

2.3.2 ตรวจวัดปริมาณไตรเมทิลเอมีน (Trimethylamine Nitrogen; TMA-N)
(ตามวิธีของ Cobb *et al.*, 1973)

2.3.3 การตรวจหาโปรตีนที่ละลายได้ในกรดไทรคลอโรอะซิติก (ตามวิธี Greene and
Babbit, 1990 และ Lowry *et al.*, 1951)

2.3.4 การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ Adenosine triphosphate และอนุพันธ์
(ตามวิธีของ Hwang *et al.*, 2000)

2.3.5 วิเคราะห์ชนิดและปริมาณนิวคลีโอไทด์ด้วย HPLC (ดัดแปลงจาก Supelco, 1997)

3. วิธีการวิเคราะห์ทางสถิติ

การวางแผนการทดลองเพื่อวิเคราะห์หาวิธีที่เหมาะสมเก็บรักษาทุเรียนด้วยวิธีการต่างๆ ในทางด้านชีวเคมีและจุลชีววิทยา เปรียบเทียบความแตกต่างของตัวอย่างโดยใช้วิธี Completely Random Design (CRD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) เปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ Duncan's multiple range test (DMRT) และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ให้คะแนนแบบ QDA และ Sensory acceptability วางแผนการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ Duncan's multiple range test (DMRT)

4. สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทดลองตั้งแต่เดือน กรกฎาคม 2548 สิ้นสุดเดือน สิงหาคม 2549

ผลและวิจารณ์

1. ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ในการทดลองนี้ได้แบ่งออกเป็น 3 ทริทเมนต์ ดังนี้ ทริทเมนต์ที่ 1 คือ แช่ปูทะเลที่มีชีวิตในน้ำเย็น แล้วบรรจุแบบสุญญากาศ (Vac) ทริทเมนต์ที่ 2 คือ แช่ปูทะเลที่มีชีวิตในน้ำโอโซนเย็นเข้มข้น 1 พีพีเอ็ม แล้วบรรจุแบบสุญญากาศ (Vac + Ozone) และทริทเมนต์ที่ 3 คือ แช่ปูทะเลที่มีชีวิตในน้ำเย็นแล้วบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ (MAP) ผลการทดสอบเป็นดังนี้

นำตัวอย่างปูทะเลมาทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบ ใช้การยอมรับของผู้ทดสอบเป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจการเก็บรักษาของปูทะเลในคุณลักษณะเป็นปูทั้งตัว โดยสุ่มตัวอย่างทุกวันจนผู้ทดสอบไม่ให้เกิดการยอมรับ โดยใช้การทดสอบแบบ sensory acceptability ใช้ระดับคะแนน 1 – 7 (คะแนน 7 คือ ยอมรับมากที่สุด 1 คือ ไม่ยอมรับมากที่สุดและคะแนนต่ำกว่า 4 ถือว่าผู้ทดสอบไม่ยอมรับตัวอย่างนั้น) จากการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่า คะแนนการยอมรับของคุณลักษณะด้านกลิ่น เนื้อสัมผัส ลักษณะปรากฏ สี และความชอบรวมในระหว่างการเก็บรักษามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (ภาพที่ 6 - 10) โดยปูทะเลมีคิบทั้งตัว ในทริทเมนต์ที่ 1 ผู้ทดสอบให้การยอมรับจนถึงวันที่ 4 ของการทดลอง ทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 ผู้ทดสอบให้การยอมรับจนถึงวันที่ 6 และ 5 ของการเก็บรักษา ตามลำดับ โดยคุณลักษณะที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนและผู้ทดสอบไม่ให้เกิดการยอมรับ คือ คุณลักษณะด้านกลิ่น และเนื้อสัมผัส

ผลการทดลอง พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความยอมรับของปูทะเลที่มีเก็บรักษาในทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 ใกล้เคียงกัน และมีคะแนนความยอมรับสูงกว่าทริทเมนต์ที่ 1 ในทุกคุณลักษณะตลอดช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา และคะแนนความยอมรับจะลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น

คะแนนความยอมรับด้านกลิ่น (ภาพที่ 6) ในวันแรกของการเก็บรักษาทั้ง 3 สภาวะมีคะแนนใกล้เคียงกัน คือ ยอมรับมาก (คะแนนความยอมรับอยู่ระหว่าง 6.93 – 7.00) และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นทำให้คะแนนความยอมรับลดลง โดยทริทเมนต์ที่ 1 มีคะแนนความไม่ยอมรับมาก (คะแนนความยอมรับ = 2.87) ในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา ส่วนทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 เริ่มไม่ยอมรับ ในวันที่ 7 และ 6 ของการเก็บรักษาตามลำดับ

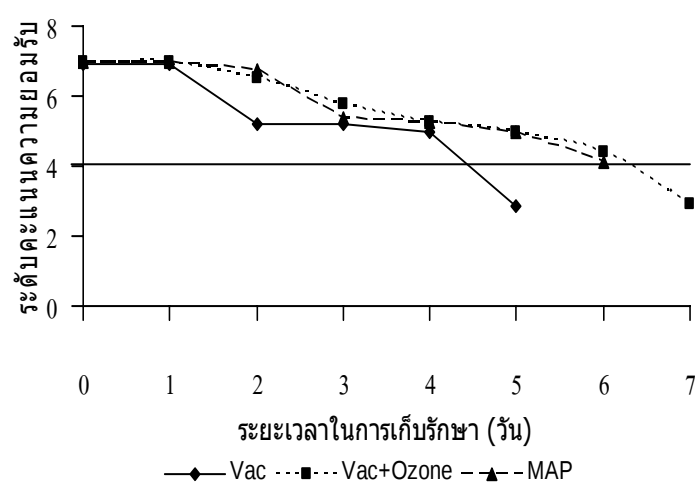
คะแนนความยอมรับด้านเนื้อสัมผัส (ภาพที่ 7) ในวันแรกของการเก็บรักษาทั้ง 3 สภาวะมีคะแนนใกล้เคียงกัน คือ ยอมรับมาก (คะแนนความยอมรับอยู่ระหว่าง 6.93 – 7.00) และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นทำให้คะแนนความยอมรับลดลง โดยทริทเมนต์ที่ 1 เริ่มมีคะแนนอยู่ในช่วงไม่ยอมรับ (คะแนนความยอมรับ = 2.73) ในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา ส่วนทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 เริ่มไม่ยอมรับ (คะแนนความยอมรับอยู่ระหว่าง 3.60 -3.70) ในวันที่ 7 และ 6 ของการเก็บรักษา ตามลำดับ

คะแนนความยอมรับด้านลักษณะปรากฏ (ภาพที่ 8) และสี (ภาพที่ 9) ในวันแรกของการเก็บรักษาทั้ง 3 สภาวะมีคะแนนใกล้เคียงกัน คือ ยอมรับมาก (คะแนนความยอมรับ = 7) และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นทำให้คะแนนความยอมรับลดลง โดยในวันที่ 5 ของการเก็บรักษาปูทะเลนิ่มในทริทเมนต์ที่ 1 มีคะแนนอยู่ในช่วงยอมรับ (คะแนนความยอมรับมากกว่า 4) ส่วนปูทะเลนิ่มในทริทเมนต์ที่ 2 มีคะแนนอยู่ในช่วงยอมรับ (คะแนนความยอมรับอยู่ระหว่าง 5.20 – 5.50) ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา และในทริทเมนต์ที่ 3 มีคะแนนอยู่ในช่วงยอมรับ (คะแนนความยอมรับอยู่ระหว่าง 4.40 – 4.70) ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา

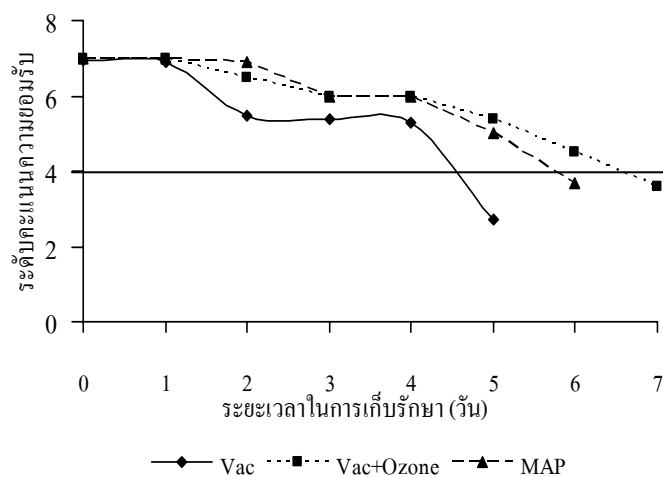
คะแนนความยอมรับรวม (ภาพที่ 10) ในวันแรกของการเก็บรักษาทั้ง 3 สภาวะมีคะแนนใกล้เคียงกัน คือ ยอมรับมาก (คะแนนความยอมรับอยู่ระหว่าง 6.88 – 7.00) และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นทำให้คะแนนความยอมรับลดลง โดยปูทะเลนิ่มในทริทเมนต์ที่ 1 ไม่ยอมรับมาก (คะแนนความยอมรับ 2.20 ในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา) ส่วนทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 ยังยอมรับ (คะแนนความยอมรับอยู่ระหว่าง 4.00 – 4.40) ในวันที่ 7 และ 6 ของการเก็บรักษา ตามลำดับ

ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับผลการทดลองของนางนุชและคณะ (2549) ที่ศึกษาอายุการเก็บรักษาความสดของปูทะเลนิ่มที่บรรจุในสภาวะเก็บรักษาโดยไม่เป็นสุญญากาศที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่า ปูทะเลนิ่มที่เก็บรักษาในน้ำแข็งและน้ำผสมน้ำแข็ง โดยทั้ง 2 สภาวะนี้มี

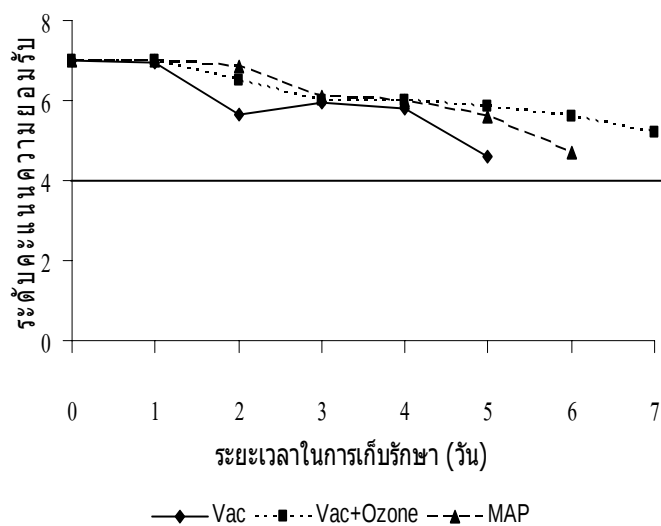
อายุการเก็บรักษา 6 วัน ส่วนปูทะเลนึ่งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C ที่มีอายุการเก็บรักษา 5 วัน ซึ่งระดับคะแนนความชอบจะลดลง เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น และในการทดลองของ Mizuta *et al.* (2001) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของ snow crab (*Chionoecetes opilio*) ที่ยังมีชีวิตในลักษณะกระดองแข็งและกระดองนึ่ง พบว่า ปูที่มีกระดองนึ่งจะมีคะแนนเนื้อสัมผัสต่ำกว่าปูกระดองแข็ง เนื่องจากปูกระดองนึ่งมีปริมาณโปรตีนที่น้อยกว่า และมีปริมาณน้ำในตัวปูมากกว่าปูกระดองแข็ง และจากการทดลองนี้ พบว่าจะพบว่าทริทเมนต์ที่ 2 เป็นสถานะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาปูทะเลนึ่งมากกว่าทริทเมนต์ที่ 3 และ 1 โดยมีอายุการเก็บรักษาเป็น 6, 5 และ 4 วัน ตามลำดับ



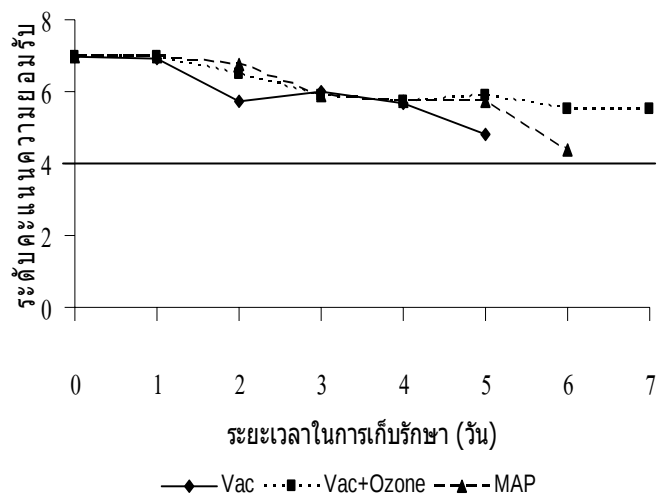
ภาพที่ 6 ระดับคะแนนความยอมรับของคุณลักษณะด้านกลิ่นในปูทะเลนึ่งดิบทั้งตัวที่สถานะการบรรจุต่างๆ



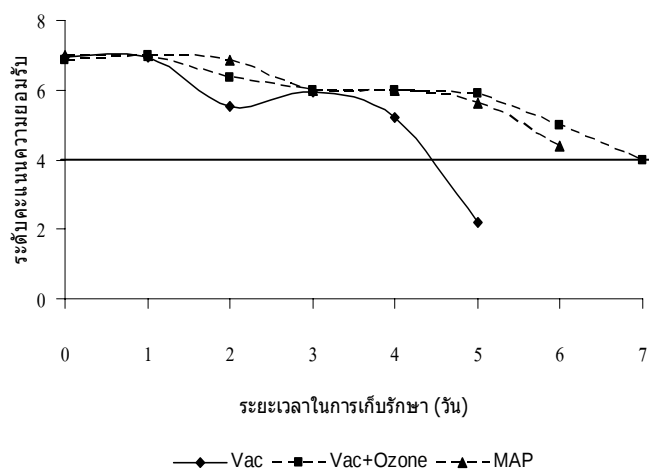
ภาพที่ 7 ระดับคะแนนความยอมรับของคุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัสในปูทะเลนึ่งดิบทั้งตัวที่สภาวะการบรรจุต่างๆ



ภาพที่ 8 ระดับคะแนนความยอมรับของคุณลักษณะด้านลักษณะปรากฏในปูทะเลนึ่งดิบทั้งตัวที่สภาวะการบรรจุต่างๆ



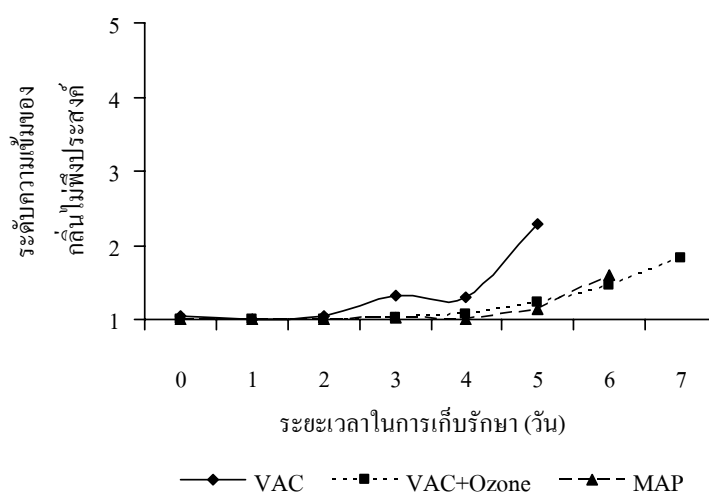
ภาพที่ 9 ระดับคะแนนความยอมรับของคุณลักษณะด้านสีในปทุมเพนังมดทั้งตัวที่สภาวะการบรรจุ
ต่างๆ



ภาพที่ 10 ระดับคะแนนความยอมรับของคุณลักษณะด้านความยอมรับรวมในปทุมเพนังมดทั้งตัวที่
สภาวะการบรรจุต่างๆ

ในขั้นตอนการทดสอบเบื้องต้น (Preliminary test) ของการทดสอบการยอมรับคุณภาพของปูทะเลนึ่งทางประสาทสัมผัส พบว่า ในระหว่างการเก็บรักษาคุณลักษณะสำคัญที่ทำให้ผู้ทดสอบไม่ให้เกิดการยอมรับในตัวปูทะเลนึ่ง คือ คุณลักษณะด้านกลิ่น โดยเฉพาะกลิ่นไม่พึงประสงค์ ทางผู้วิจัยจึงได้มีการฝึกอบรมผู้ทดสอบเพื่อทดสอบระดับความเข้มของกลิ่นไม่พึงประสงค์ในเนื้อปูทะเลนึ่งดิบ เนื่องจากปูทะเลนึ่งดิบทั้งตัวเมื่อนำมาทดสอบระดับความเข้มของกลิ่น พบว่า ระดับความเข้มของกลิ่นที่ได้มีความไม่แน่นอนโดยจะขึ้นกับตำแหน่งที่ผู้ทดสอบทำการดมกลิ่น ทำให้ระดับคะแนนมีความแปรปรวนสูงจึงไม่เหมาะที่จะนำมาทดสอบคุณลักษณะในเชิงพรรณนา ซึ่งผลการประเมินคุณลักษณะเชิงพรรณนาในกลิ่นไม่พึงประสงค์ เป็นดังนี้

ระดับความเข้มของกลิ่นไม่พึงประสงค์ในทุกทริทเมนต์มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ภาพที่ 11) ในวันแรกของการเก็บรักษาของทริทเมนต์ที่ 1 2 และ 3 มีระดับความเข้มของกลิ่นที่ใกล้เคียงกัน คือ มีค่าอยู่ระหว่าง 1 – 1.04 คะแนน ซึ่งแทบไม่มีกลิ่นไม่พึงประสงค์เลย และในวันที่สิ้นสุดการเก็บรักษา คือในวันที่ 5 ของการเก็บรักษาในทริทเมนต์ที่ 1 ระดับความเข้มของกลิ่นไม่พึงประสงค์ อยู่ในระดับ 2.71 คะแนน ส่วนระดับความเข้มของกลิ่นไม่พึงประสงค์ในวันสิ้นสุดการเก็บรักษาในทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 จะมีระดับคะแนน 1.83 และ 1.60 คะแนน ในวันที่ 7 และ 6 ของการเก็บรักษา ตามลำดับ



ภาพที่ 11 ระดับความเข้มของกลิ่นไม่พึงประสงค์ในการบรรยายเชิงพรรณนาในเนื้อปูทะเลนึ่งดิบที่สภาวะการบรรจุต่างๆ

2. ผลการศึกษาอายุการเก็บรักษาปุ๋ยมะเลนั่มที่สภาวะต่างๆ

ส่วนในเรื่องอายุการเก็บรักษาปุ๋ยมะเลนั่มที่สภาวะการเก็บรักษาต่างกัน พบว่า อายุการเก็บรักษาของปุ๋ยมะเลนั่มที่เก็บรักษาในสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ (ทริทเมนต์ที่ 1) สภาวะล้างด้วยน้ำไอโซนแล้วบรรจุแบบสุญญากาศ (ทริทเมนต์ที่ 2) และสภาวะการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ (ทริทเมนต์ที่ 3) สามารถเก็บรักษาได้นาน 4 วัน 6 วัน และ 5 วัน ตามลำดับ ซึ่งในการพิจารณาอายุการเก็บรักษานั้น จะใช้คะแนนการยอมรับของปุ๋ยมะเลนั่มสดทั้งตัวในการพิจารณา เนื่องจากเป็นสิ่งที่ผู้บริโภคใช้พิจารณาในการเลือกซื้อปุ๋ยมะเลนั่มที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด และโดยการจำหน่ายส่วนใหญ่แล้ว เมื่อนำปุ๋ยมะเลนั่มมาแช่น้ำจืดหลังการลอกคราบแล้ว จะมีการบรรจุลงในกล่องพลาสติกใสที่มีฝาปิด โดยในหนึ่งกล่องจะมีการบรรจุปุ๋ยมะเลนั่มประมาณ 1-2 ตัว หลังจากนั้นจึงนำมาแช่ที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส และเมื่อทำการขนส่ง จะมีการขนส่งโดยใช้กล่องโฟม ชั้นล่างมีน้ำแข็งห่อด้วยถุงโพลีเอทิลีนเพื่อรักษาอุณหภูมิภายในหีบห่อ ส่วนชั้นบนมีการใช้ตาข่ายเพื่อป้องกันไม่ให้ปุ๋ยมะเลนั่มน้ำแข็ง ซึ่งการบรรจุแบบนี้จะมีโอกาสทำให้น้ำเข้าสู่ตัวปุ๋ยมะเลนั่มได้ (บรรจงและบุญรัตน์, 2545) เป็นผลให้อายุการเก็บรักษาปุ๋ยมะเลนั่มสั้นลง อีกทั้งคุณภาพของปุ๋ยมะเลนั่มมีการเปลี่ยนแปลงไปด้วย ซึ่งจากการทดลองนี้ พบว่า ที่สภาวะการล้างด้วยน้ำไอโซนแล้วบรรจุแบบสุญญากาศจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาปุ๋ยมะเลนั่มได้ดีที่สุด นอกจากนั้น การบรรจุภายในภาชนะที่ปิดสนิทจะช่วยรักษาคุณภาพของปุ๋ยมะเลนั่มและป้องกันการปนเปื้อนได้อีกด้วย

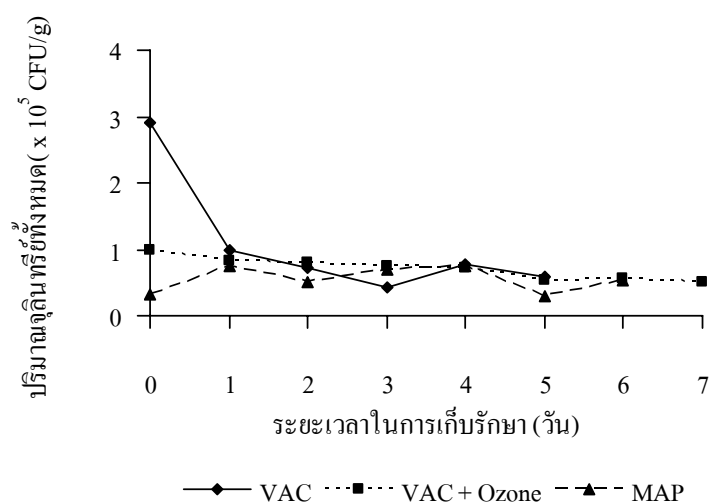
3. การศึกษาผลของระดับของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณไตรเมทิลเอมีน และค่าความสดอื่นๆ ที่มีผลต่อการเสื่อมเสียของปูทะเลนึ่ง

ทดสอบทางด้านจุลชีววิทยา

จากผลการทดลองภายหลังการบรรจุปูทะเลนึ่งลงในภาชนะบรรจุที่สภาวะการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบระหว่างทริทเมนต์ที่ 1 ทริทเมนต์ที่ 2 และทริทเมนต์ที่ 3 จากภาพที่ 12 ภายหลังการเก็บรักษา พบว่า การเปลี่ยนแปลงของปริมาณของจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่างการเก็บรักษามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ภาพที่ 12) โดยทริทเมนต์ที่ 1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดจะลดลงอย่างชัดเจนในช่วงวันแรกของการเก็บรักษา โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด คือ 2.92×10^5 CFU/g ส่วนในทริทเมนต์ที่ 2 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดจะค่อยๆ ลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น โดยในวันแรกมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด คือ 1×10^5 CFU/g แต่ทริทเมนต์ที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษาจะมีการเปลี่ยนแปลงที่ไม่แน่นอน โดยในวันแรกมีค่า 3.15×10^4 CFU/g ส่วนในวันที่สิ้นสุดการเก็บรักษา คือ วันที่ 5 ของทริทเมนต์ที่ 1 มีปริมาณจุลินทรีย์ คือ 6.00×10^4 CFU/g ทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 มีปริมาณจุลินทรีย์ คือ 5.20×10^4 CFU/g และ 5.25×10^4 CFU/g ในวันที่ 7 และ 6 ของการเก็บรักษา ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้มีความสอดคล้องกับการทดลองของ García-Linares *et al.* (2004) ที่ศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาและคุณค่าทางโภชนาการของปลาแซลมอนและปลาเทราต์ที่สภาวะสุญญากาศ พาสเจอร์ไรซ์แช่เย็นในสภาวะแช่เย็น โดยพบว่า ในช่วงแรกของการเก็บรักษาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดจะลดลงอย่างชัดเจนแล้วจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น ซึ่งการลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วนี้ เกิดจากการปนเปื้อนในขั้นตอนรับวัตถุดิบ ซึ่งจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนส่วนใหญ่แล้วจะเป็นพวกมีโซไฟล์ (Mesophiles) และไซโครไฟล์ (Psychrophiles) การแช่เย็นจึงลดปริมาณของจุลินทรีย์เหล่านี้ลงได้ อีกทั้งการลดลงของจุลินทรีย์นั้นยังขึ้นกับสภาวะที่ใช้บรรจุ เช่น ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ และองค์ประกอบของสัตว์น้ำที่เกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น ความเป็นกรด-ด่าง และค่า Aw ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ลดลงได้

และจากการรายงานของ Goulas *et al.* (2005) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลชีววิทยาชีวเคมี และทางประสาทสัมผัสในหอยแมลงภู่ที่เก็บรักษาในสภาวะปรับสภาพบรรยากาศที่อุณหภูมิ 4°C พบว่า ที่สภาวะสุญญากาศและปรับสภาพบรรยากาศจะเกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในระหว่างการเก็บรักษาช้ากว่าที่สภาวะการบรรจุแบบมีอากาศ โดยปริมาณเริ่มต้นของทั้ง 3

สภาวะมีค่าเท่ากัน คือ 4.5 log CFU แต่ในวันที่สิ้นสุดการเก็บรักษา คือ วันที่ 15 ของการเก็บรักษา ที่สภาวะสุญญากาศและปรับสภาพบรรยากาศ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีค่า 7 log CFU ส่วนที่สภาวะที่มีอากาศมีปริมาณจุลินทรีย์ 8 log CFU/g และจากการรายงานของ Al-Haddad *et al.* (2005) ได้ศึกษาการใช้แก๊สโอโซนและแก๊สที่ใช้ในการบรรจุเพื่อควบคุมปริมาณ *Salmonella infantis* และ *Pseudomonas aeruginosa* ในเนื้อไก่ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7 °C พบว่า การใช้แก๊สโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3000 พีพีเอ็มในการบรรจุจะสามารถลดปริมาณของ *Salmonella infantis* ลงได้ 95% และ *Pseudomonas aeruginosa* ลงได้ 97% เนื่องจากแก๊สโอโซนสามารถยับยั้งการเกิดจุลินทรีย์แกรมบวกและลบ รวมไปถึงสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้อีกด้วย แต่ในการวิจัยนี้ การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในปุ๋ยมะเลนั่มมีลักษณะที่ไม่แน่นอน เนื่องจากปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นของแต่ละสภาวะมีปริมาณที่แตกต่างกัน อีกทั้งสภาวะที่ใช้ในการบรรจุที่เอื้อต่อการเจริญของจุลินทรีย์ก็มีค่าที่แตกต่างกันด้วย จึงเป็นผลให้ผลการทดลองนี้ ไม่สามารถใช้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเป็นดัชนีความสดในปุ๋ยมะเลนั่มได้

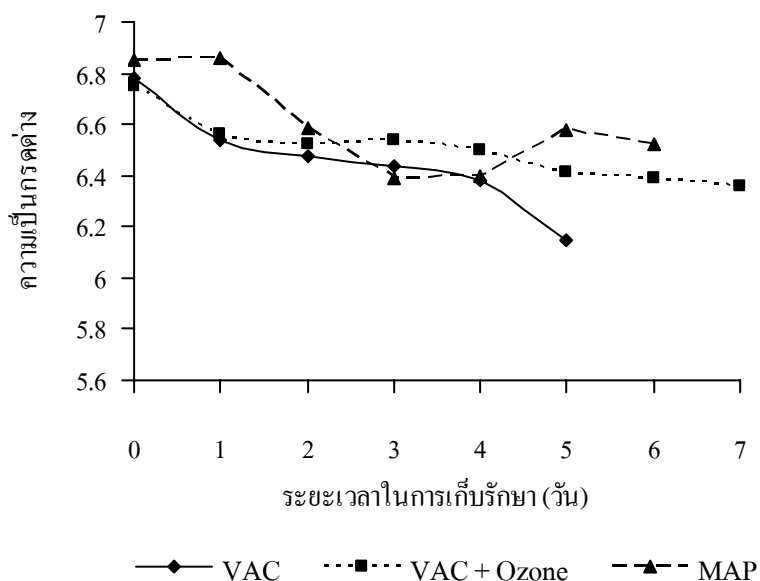


ภาพที่ 12 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของปุ๋ยมะเลนั่มที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

การทดสอบด้านชีวเคมี

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความสดในระหว่างการเก็บรักษา พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ได้จากการทดลองนั้น (ภาพที่ 13) มีค่าลดลงจากวันแรกที่มีค่าอยู่ระหว่าง 6.75 – 6.85 และในวันสิ้นสุดการเก็บรักษาในทุกทริทเมนต์มีค่า pH อยู่ในช่วง 6.52 – 6.15 เมื่อเก็บรักษานานขึ้นในทุกสภาวะการทดสอบ โดยค่า pH ของทุกทริทเมนต์ระหว่างการเก็บรักษา มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Arashisar *et al.* (2004) ที่ทำการทดลองในปลาเรนโบว์เทราต์แล้วบรรจุในสภาวะสุญญากาศ และสภาวะปรับบรรยากาศ ที่อุณหภูมิ 4 ± 1 °C โดยค่า pH จะอยู่ระหว่าง 6.5 – 6.3 ในระหว่างการเก็บรักษานาน 14 วัน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในทริทเมนต์ที่ 1 เป็นผลมาจากการการแตกตัวของไกลโคเจนในสภาพที่ปราศจากออกซิเจน มีผลให้เกิดกรดแลคติกในสัตว์น้ำขึ้น รวมไปถึงการเปลี่ยนรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นกรดคาร์บอนิก (นงลักษณ์, 2531) และจากการทดลองของ Chen *et al.* (1997) ที่ศึกษาคุณสมบัติของสีและการเกิดเจลในการล้างเนื้อปลาแมคเคอเรลสดด้วยน้ำชนิดต่างๆ พบว่า การล้างเนื้อปลาสดด้วยน้ำไอโซนทำให้ pH ลดลงจาก 5.5 ไปเป็น 4.1 โดยไอโซนจะทำให้เกิดการออกซิเดชันทำให้ pH ลดลง

ซึ่งผลการวิจัยที่ได้ในครั้งนี้ให้ผลในทางตรงกันข้ามกับการทดลองของนงนุช และคณะ (2549) ที่ทำการทดสอบหาความสดในปูทะเลนี้ที่สภาวะการบรรจุแบบไม่เป็นสุญญากาศที่อุณหภูมิ 4 °C โดยผลการทดลองที่ได้ ค่า pH จะเพิ่มขึ้นจาก 6.90 เป็น 7.20 เมื่อทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน และการทดลองของ Chiou and Huang (2004) ที่เก็บรักษาในปูทะเล (*Scylla serrata*) มีชีวิตที่อุณหภูมิ 10 และ 25 °C ที่มีการรายงานผลว่า การเปลี่ยนแปลงค่า pH จะเกิดขึ้นหลังจากเก็บรักษาได้ 2 วัน โดยค่าเริ่มต้น คือ 6.99 และเพิ่มขึ้นเป็น 8.32 ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C

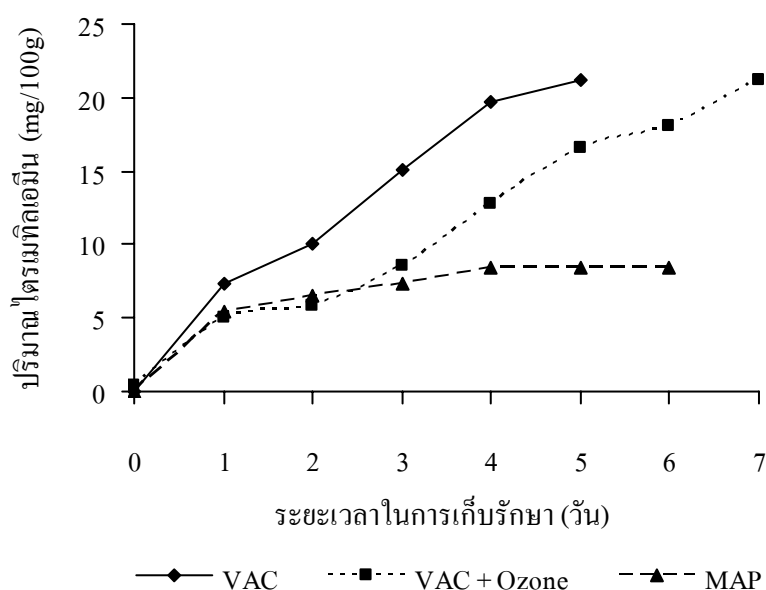


ภาพที่ 13 การเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรดต่างของปูทะเลชนิดที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

ปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA-N) (ภาพที่ 14) ในระหว่างการเก็บรักษาของทุกทริทเมนต์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) คือ เมื่อเก็บรักษานานขึ้น ปริมาณ TMA-N มีปริมาณที่เพิ่มขึ้น โดยค่าปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA-N) ที่ได้จากการทดลอง คือ ทริทเมนต์ที่ 1 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ TMA-N ในวันแรกของการเก็บรักษา และเกิดการเปลี่ยนแปลงของค่า TMA-N โดยเพิ่มขึ้นในวันที่ 5 ของการเก็บรักษามีค่าเป็น 21.18 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ทริทเมนต์ที่ 2 ค่าเริ่มต้น คือ 0.38 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และเพิ่มขึ้นเป็น 21.20 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา ส่วนทริทเมนต์ที่ 3 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ TMA-N ในวันแรกของการเก็บรักษาเช่นเดียวกับทริทเมนต์ที่ 1 และค่า TMA-N เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 8.47 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา โดยการทดลองของ Pérez-Villarreal and Pozo (1990) ทำการทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในทูน่า Albacore โดยเก็บรักษาในน้ำแข็ง พบว่า ในระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 25 วัน การเปลี่ยนแปลงของค่า TMA-N มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ แต่ไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม จากการรายงานของ Goulas and Kontominas (2007) ศึกษาอายุการเก็บรักษาปลากระพง โดยใช้เกลือร่วมกับสภาวะการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศและ oregano essential oil โดยเก็บรักษาในน้ำแข็ง พบว่า ค่า TMA-N เริ่มต้นมีค่า 0.31 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และหลังเก็บรักษานาน 33 วัน ค่า TMA-N เพิ่มขึ้นเป็น

7.38 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งการเกิด TMA-N จะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ที่เปลี่ยน TMAO-N ไปเป็น TMA-N เป็นผลให้สัตว์น้ำนั้นเกิดกลิ่นคาวได้

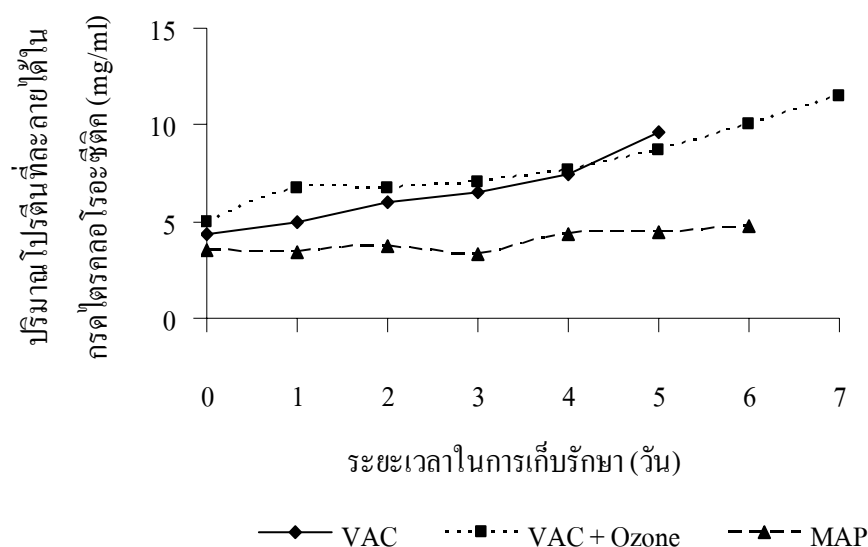
และในการทดลองของ Nerantzaki *et al.* (2005) ที่ศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ และเคมีในปลาเรนโบว์เทราต์จากการใช้โอโซนร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 4 ± 0.5 °C พบว่า การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ TMA-N ในสภาวะสุญญากาศที่ไม่มีการใช้โอโซน ร่วมด้วยของปลาเรนโบว์เทราต์และสภาวะที่มีการใช้โอโซนร่วมกับการบรรจุแบบสุญญากาศ เริ่มต้นมีค่าเท่ากัน คือ 2 – 4 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และเพิ่มขึ้นเป็น 12.2 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ใน วันที่ 15 ของการเก็บรักษาในสภาวะสุญญากาศที่ไม่มีการใช้โอโซนร่วมด้วย ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่ เกิดขึ้นจะเกิดอย่างช้าๆ เมื่อมีการใช้โอโซนร่วมด้วย จากผลการวิจัยในครั้งนี้ พบว่า ปริมาณ ไตรเมทิลเอมีนสามารถใช้เป็นดัชนีความสดที่ดีได้ในปูทะเลนึ่งที่เก็บรักษาที่สภาวะสุญญากาศ สภาวะล้างด้วยน้ำโอโซนแล้วบรรจุแบบสุญญากาศ และสภาวะปรับสภาพบรรยากาศ



ภาพที่ 14 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA-N) ของปูทะเลนึ่งที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

สำหรับปริมาณของโปรตีนที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซีติก (Trichloroacetic acid ; TCA) นั้น (ภาพที่ 15) พบว่า ปริมาณของโปรตีนที่ละลายได้ใน TCA มีปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น เมื่อ เก็บรักษานานขึ้น โดยที่ที่เริ่มต้นที่ 1 และ 2 พบว่า ระหว่างการเก็บรักษามีการเปลี่ยนแปลงปริมาณ

โปรตีนที่ละลายได้ใน TCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ยกเว้นทริทเมนต์ที่ 3 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนในทริทเมนต์ 1 และ 2 ในวันแรกของการเก็บรักษาจะอยู่ในช่วง 4.38 – 4.94 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และในวันที่สิ้นสุดการเก็บรักษา มีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 9.59 – 11.49 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนทริทเมนต์ 3 การเปลี่ยนแปลงจะอยู่ระหว่าง 3.52 – 4.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตลอดการเก็บรักษา ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในการศึกษาชนิดของเอนไซม์ในเนื้อหมูของไส้กรอกหมักของ Molly *et al.* (1997) ที่รายงานผลถึงการเกิดไฮโดรไลซิสของโปรตีนจะขึ้นกับปริมาณของเอนไซม์ที่มีในสัตว์น้ำนั้นและปริมาณของจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เปปติเดสที่มีคุณสมบัติในการย่อยโปรตีน จึงเป็นผลให้โปรตีนเกิดการแตกตัวเป็นเปปไทด์สายสั้นๆ และกรดอะมิโนออกมา ซึ่งการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ใน TCA ที่ได้จะขึ้นกับวัตถุดิบเริ่มต้น และการเกิดการย่อยสลายโปรตีนจะเกิดเพิ่มขึ้นจากการย่อยสลายตัวเอง และเอนไซม์จากจุลินทรีย์ด้วย ดังนั้น ปริมาณโปรตีนมีละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติกจากการทดลองนี้สามารถใช้เป็นดัชนีความสดในปูทะเลนึ่งที่เก็บที่สภาวะสุญญากาศและสภาวะล้างด้วยน้ำไอโซนแล้วบรรจุแบบสุญญากาศได้ดี



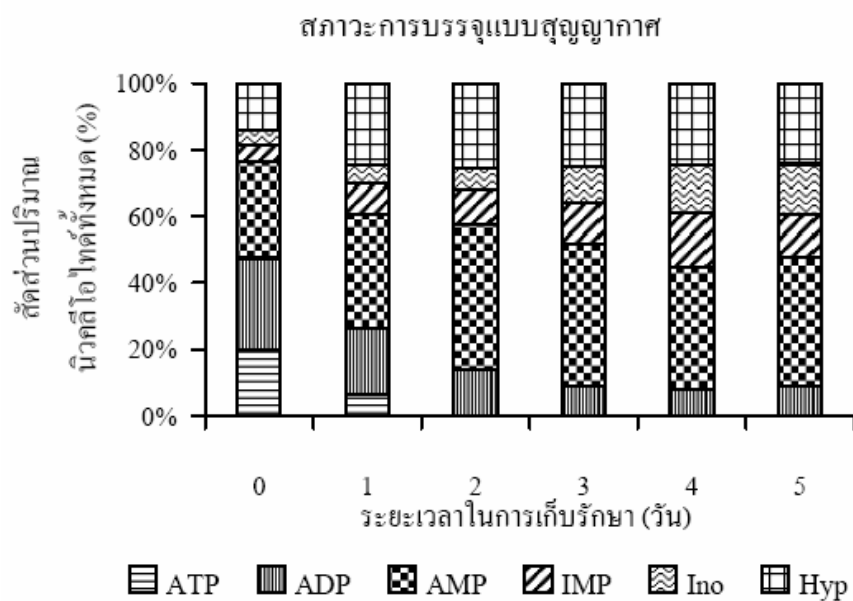
ภาพที่ 15 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติกของปูทะเลนึ่งที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ที่มีผลต่อความสดของสัตว์น้ำนั้น พบว่า ในทุกสภาวะการทดลอง (ภาพที่ 16 - 18) นั้น ปริมาณนิวคลีโอไทด์ส่วนใหญ่ในระหว่างการเก็บรักษามีเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ยกเว้นปริมาณอินโนซีน โมโนฟอสเฟต (IMP) และปริมาณอะดีโนซีน โมโนฟอสเฟต (AMP) ในทริทเมนต์ที่ 1 ที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของปริมาณนิวคลีโอไทด์ในทุกทริทเมนต์นั้นจะเห็นว่า ในช่วงแรกของการเก็บรักษา ปริมาณ อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (ATP) อะดีโนซีนไดฟอสเฟต (ADP) จะมีปริมาณที่ลดลง แต่ปริมาณของอะดีโนซีน โมโนฟอสเฟต (AMP) อินโนซีน โมโนฟอสเฟต (IMP) อินโนซีน (Ino) และไฮโปแซนทีน (Hyp) จะมีปริมาณที่เพิ่มขึ้น โดยปริมาณ ATP ในวันแรกของการเก็บรักษาในทริทเมนต์ที่ 1 มีปริมาณ ATP 10.90 ไมโครโมลต่อกรัม ส่วนในทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 มีค่า 130.47 และ 51.86 ไมโครโมลต่อกรัม ตามลำดับ และลดลงเหลือ 0 ไมโครโมลต่อกรัมในวันที่ 2 ของการเก็บรักษาในทริทเมนต์ที่ 1 ส่วนทริทเมนต์ที่ 2 จะลดลงเหลือ 0 ไมโครโมลต่อกรัมในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา และทริทเมนต์ที่ 3 ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา ค่า ATP ลดเหลือ 2.08 ไมโครโมลต่อกรัม ส่วน ADP ในวันแรกของการเก็บรักษาในทุกทริทเมนต์มีค่าอยู่ระหว่าง 13.26 – 18.74 ไมโครโมลต่อกรัม และในวันที่สิ้นสุดการเก็บรักษามีค่าอยู่ระหว่าง 3.88 – 6.05 ไมโครโมลต่อกรัม

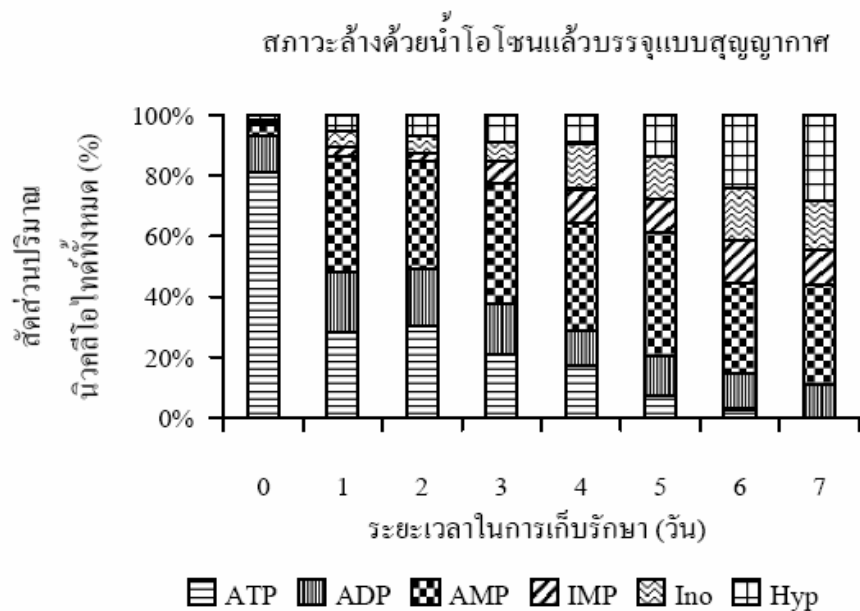
สำหรับ AMP ในทริทเมนต์ที่ 1 วันแรกของการเก็บรักษามีค่า 16.10 ไมโครโมลต่อกรัม และลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่งวันที่ 4 ของการเก็บรักษามีค่า 14.75 ไมโครโมลต่อกรัม และเพิ่มขึ้นในวันที่ 5 ของการเก็บรักษามีค่าเป็น 16.48 ไมโครโมลต่อกรัม ส่วนทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 ในวันแรกของการเก็บรักษา ปริมาณ AMP จะมีค่าอยู่ระหว่าง 4.40 - 6.14 ไมโครโมลต่อกรัม และเพิ่มขึ้นเป็น 15.00 และ 11.64 ไมโครโมลต่อกรัมในวันที่ 7 และ 6 ของการเก็บรักษา ตามลำดับ ส่วน IMP ในทริทเมนต์ที่ 1 มีค่า IMP เป็น 2.70 ไมโครโมลต่อกรัมในวันแรกของการเก็บรักษา และในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา มีค่า 5.43 ไมโครโมลต่อกรัม ส่วนทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 ในวันแรกของการเก็บรักษามีค่าอยู่ระหว่าง 1.35 – 4.45 ไมโครโมลต่อกรัม และมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 5.32 - 7.11 ไมโครโมลต่อกรัม ในวันที่ 7 และ 6 ของการเก็บรักษา สำหรับ Ino ในวันแรกของการเก็บรักษามีค่า Ino ในทริทเมนต์ที่ 1 มีค่าเป็น 2.53 ไมโครโมลต่อกรัม ทริทเมนต์ที่ 2 มีค่าเป็น 0.98 ไมโครโมลต่อกรัม และทริทเมนต์ที่ 3 มีค่าเป็น 4.25 ไมโครโมลต่อกรัม และในวันที่สิ้นสุดการเก็บรักษาของทุกทริทเมนต์มีค่า Ino อยู่ระหว่าง 6.13 – 7.42 ไมโครโมลต่อกรัม ปริมาณของ Hyp ในวันแรกของการเก็บรักษา ทริทเมนต์ที่ 1 มีปริมาณ Hyp มากที่สุดจาก 3 ทริทเมนต์ คือ มีค่า 7.86 ไมโครโมลต่อกรัม รองลงมา คือ ทริทเมนต์ที่ 3 ที่มีค่า Hyp ที่ 5.18 ไมโครโมลต่อกรัม และทริทเมนต์ที่ 2 มีค่า

2.87 ไมโครโมลต่อกรัม ตามลำดับ และในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาปริมาณ Hyp จะเพิ่มขึ้นจนมีค่าอยู่ระหว่าง 6.52 – 13.15 ไมโครโมลต่อกรัม

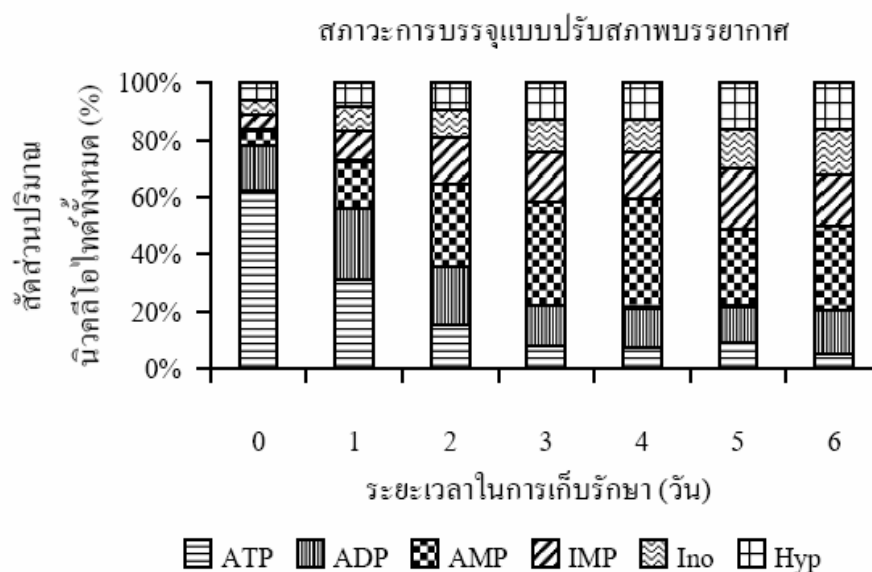
จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า เมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น การเปลี่ยนแปลงของปริมาณนิวคลีโอไทด์จะมากขึ้นตามไปด้วย ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับผลการทดลองของ Özogul *et al.* (2000) ที่ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์ในปลาเฮอริ่งที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง โดยได้มีการรายงานว่าการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์ที่เกิดขึ้นนั้นเกิดจากกระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) ที่มีการสลายตัวของ ATP และเมื่อพิจารณาการทดลองของ Shiao *et al.* (1996) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนอิสระและปริมาณนิวคลีโอไทด์ในปลานวลจันทร์ทะเลในส่วนของกล้ามเนื้อและลำไส้ โดยเก็บรักษาในน้ำแข็ง พบว่า ปลานวลจันทร์ในระยะเกร็งตัว (rigor mortis) จะมีปริมาณของ ATP น้อยกว่า ADP เนื่องจาก ATP สลายตัวไปเป็น ADP อย่างรวดเร็ว จึงเป็นผลให้ปริมาณ ATP มีน้อยกว่า ADP และจากการศึกษาปริมาณนิวคลีโอไทด์ในปูทะเลนั้นจากการทดลองนี้ พบว่าการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ Ino และ Hyp ในปูทะเลนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะที่เพิ่มขึ้นอย่างคงที่ จึงสามารถนำไปใช้เป็นดัชนีความสดในปูทะเลนี้ได้ ซึ่งการนำ Ino และ Hyp เป็นดัชนีความสดนั้น ในการทดลอง Shahidi *et al.* (1994) ที่ศึกษาความสดของ Harp seal ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0 °C ได้รายงานว่าการนำ Ino และ Hyp สามารถใช้เป็นดัชนีความสดที่ดีในสัตว์น้ำได้ เนื่องจากสลายตัวช้ากว่านิวคลีโอไทด์ชนิดอื่นๆ ดังนั้น ปริมาณของ Ino และ Hyp จึงสามารถใช้เป็นดัชนีความสดที่ดีได้ในปูทะเลและ Harp seal โดยค่า Ino และ Hyp ที่ใช้เป็นดัชนีความสดของปูทะเลนั้นในวันที่ผู้ทดสอบบริโภคไม่ให้เกิดการยอมรับคือ 6.13 – 7.42 ไมโครโมลต่อกรัม และ 6.52 -13.15 ไมโครโมลต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งจากการพิจารณาปริมาณ Ino และ Hyp ในปูทะเลนั้นที่ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ สรุปได้ว่า เนื้อปูทะเลนั้นดิบที่มีค่า Ino สูงกว่า 6.13 ไมโครโมล/กรัม และมีค่า Hyp มากกว่า 6.52 ไมโครโมล/กรัม เป็นปูทะเลดิบที่ผู้ทดสอบไม่ให้เกิดการยอมรับในด้านคุณภาพ



ภาพที่ 16 สัดส่วนปริมาณนิวคลีโอไทด์ของปูทะเลนึ่งที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ



ภาพที่ 17 สัดส่วนปริมาณนิวคลีโอไทด์ของปูทะเลนึ่งที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาวะการล้างด้วยน้ำไอโซนเข้มข้น 1 พีพีเอ็ม แล้วบรรจุแบบสุญญากาศ

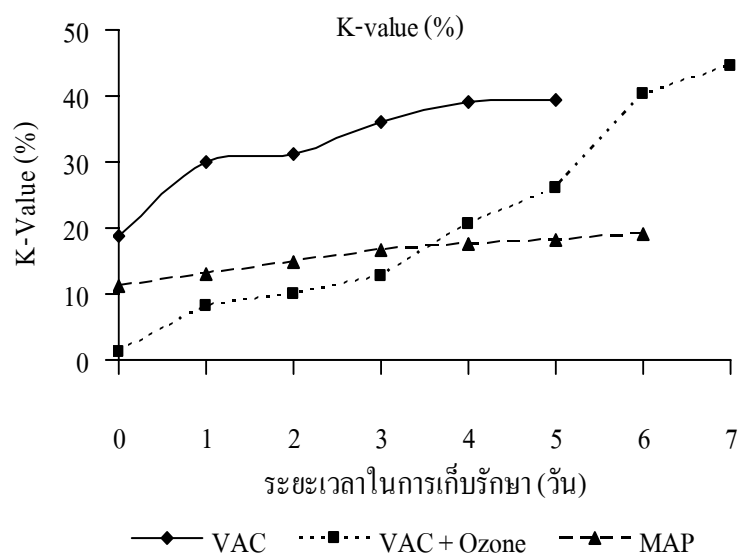


ภาพที่ 18 สัดส่วนปริมาณสารประกอบนิวคลีโอไทด์ของปูทะเลนึ่งที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาวะการแบบปรับสภาพบรรยากาศ

และเมื่อทำการวิเคราะห์ค่าความสดโดยใช้ค่า K-Value (ภาพที่ 19) ซึ่งเป็นการคำนวณปริมาณสัดส่วนระหว่างอินโนซีน (Ino) และไฮโปแซนทีน (Hyp) ต่อปริมาณสารประกอบนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด ภายในกล้ามเนื้อสัตว์น้ำหลังจากสัตว์น้ำตาย (สุทธวัฒน์, 2548) โดยระหว่างการเก็บรักษาค่า K-Value ของทุกทริทเมนต์มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ซึ่งการทดลองที่ได้นั้น พบว่า ในทริทเมนต์ที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของค่า K-Value จะเกิดขึ้นช้ากว่าทริทเมนต์ที่ 1 และ 2 โดยวันแรกของการทดลองในทริทเมนต์ที่ 1 มีค่า 18.92 เปอร์เซ็นต์ ส่วนทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 มีค่า 1.34 และ 11.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยการเปลี่ยนแปลงของค่า K-Value จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในทุกทริทเมนต์จนกระทั่งวันสิ้นสุดการเก็บรักษาโดยในวันที่ 5 ของทริทเมนต์ที่ 1 มีค่าเท่ากับ 39.42 เปอร์เซ็นต์ ทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 44.69 และ 19.12 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 7 และ 6 ของการเก็บรักษา ตามลำดับ จากผลการทดลองจะเห็นได้ ในวันที่เริ่มต้นของการเก็บรักษาที่ทริทเมนต์ที่ 1 จะมีค่า K-Value ที่สูงกว่าทริทเมนต์อื่นๆ ซึ่งเมื่อค่า K-Value มีค่าสูงย่อมหมายถึง ความสดในสัตว์น้ำลดลงตามไปด้วย โดยในทริทเมนต์ที่ 1 จึงมีความสดที่น้อยกว่าทริทเมนต์อื่นๆ แต่ยังถือว่ามีความสดมากอยู่ เนื่องจากในวันเริ่มต้นของทริทเมนต์ที่ 1 ยังมีปริมาณของนิวคลีโอไทด์ คือ ATP อยู่ ซึ่ง ATP นั้น หากยังมีอยู่ในสัตว์น้ำจะถือว่าสัตว์น้ำนั้นยังมีความสดอยู่ โดยผลการทดลองที่ได้จะมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันทั้ง 3 สภาวะ

แต่ที่ทริทเมนต์ที่ 2 วันสุดท้ายของการเก็บรักษาจะมีค่า K-Value เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เป็นผลมาจากปริมาณการสะสมของไฮโปแซนทีนที่มากขึ้น จึงเป็นผลให้ค่า K-value มีค่าที่เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับการทดลองของนงนุชและคณะ (2549) ได้ทดลองหาความสดในปูทะเลนึ่งที่สภาวะการบรรจุแบบไม่เป็นสุญญากาศที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่า ในวันแรกของการเก็บรักษาโดยเริ่มต้นวันแรกที่ 16.00 % จนกระทั่งถึง 85.13 % ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา เช่นเดียวกับการทดลองของ Chiou และ Huang (2004) ที่ทำการทดลองการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในปูทะเลที่มีชีวิต (*Scylla serrata*) ขณะทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 และ 25 °C โดยในวันแรกของการเก็บรักษา ค่า K-Value มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย แต่ในวันสิ้นสุดการเก็บรักษาโดยที่อุณหภูมิ 10 °C วันที่ 8 ของการเก็บรักษา มีค่า K-Value ที่ 71.7 เปอร์เซ็นต์และในวันที่ 4 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C มีค่า K-value 57.2 เปอร์เซ็นต์

ส่วนการทดลองหาค่า K-value ในสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ เช่น ในการเปลี่ยนแปลงค่าความสดของปลากะพงที่ทำการเก็บรักษาในน้ำแข็งของ Alasalvar *et al.* (2002) ที่มีการรายงานว่าการเปลี่ยนแปลงของค่า K-Value ในวันแรกของการเก็บรักษาจะเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย แต่ในวันที่ 22 ของการเก็บรักษา ค่า K-value จะมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 50 – 60 เปอร์เซ็นต์ และในการทดลองของ Özogul and Özogul (2002) ที่ทำการทดลองการเปลี่ยนแปลงของปริมาณนิคลิโอดในปลาเรนโบว์เทราต์ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งที่สภาวะปรับสภาพบรรยากาศโดยพบว่า ค่า K-Value จะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างช้าๆ จนผู้ทดสอบไม่ให้การยอมรับตั้งแต่วันที่ 11 ของการเก็บรักษาเป็นต้นไป ซึ่งค่า K-Value มีค่ามากกว่า 73 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น การใช้ค่า K-Value ในการทดลองนี้จึงสามารถใช้เป็นดัชนีในการบ่งบอกความสดในปูทะเลนึ่งในทุกสภาวะของการทดลอง คือ สภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ สภาวะการล้างด้วยน้ำไอโซนแล้วบรรจุแบบสุญญากาศ และสภาวะการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ อีกทั้ง ค่า K-Value ยังสามารถใช้เป็นดัชนีความสดของสัตว์น้ำได้หลากหลายชนิด

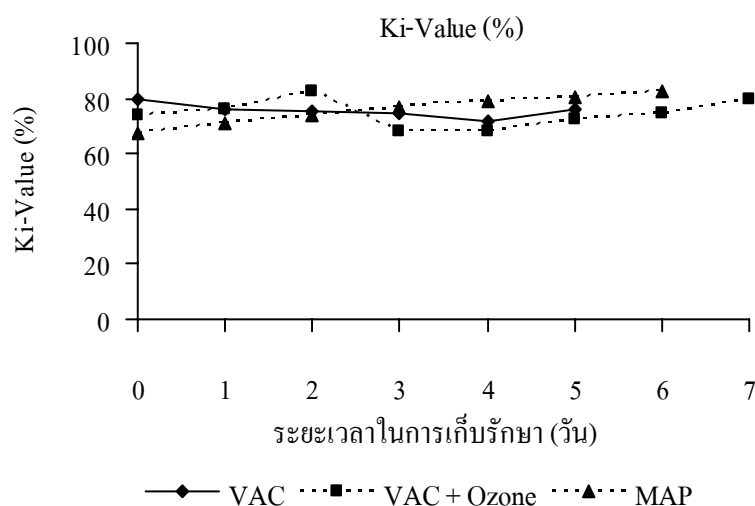


ภาพที่ 19 การเปลี่ยนแปลงของค่า K-Value ของปูทะเลนึ่งที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

ในการวิเคราะห์โดยใช้ค่า Ki-Value (ภาพที่ 20) ซึ่งเป็นการคำนวณปริมาณสัดส่วนระหว่างอินโนซีน (Ino) และไฮโปแซนทีน (Hyp) ต่อปริมาณของ Ino Hyp และ อินโนซีนโมโนฟอสเฟต (IMP) (สุทธวัฒน์, 2548) โดยจากผลการทดลองพบว่า ปริมาณของค่า Ki-Value จะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่คงที่ในปูทะเลนึ่ง โดยในทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 จะมีการเปลี่ยนแปลงของค่า Ki-Value อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) แต่ในทริทเมนต์ที่ 1 นั้นการเปลี่ยนแปลงของค่า K-Value ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยค่า Ki-Value ของทริทเมนต์ที่ 1 ในวันแรกของการเก็บรักษา มีค่า 79.55 เปอร์เซ็นต์ และในวันที่สิ้นสุดการเก็บรักษา คือ วันที่ 5 ค่า Ki-Value มีค่าลดลงเป็น 75.93 เปอร์เซ็นต์ ส่วนทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 วันแรกของการเก็บรักษา มีค่า 74.10 และ 67.56 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 7 ของทริทเมนต์ที่ 2 มีค่า Ki-Value ที่ 79.69 เปอร์เซ็นต์ และ 82.46 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษาในทริทเมนต์ที่ 3 และจากการรายงานของ Alasalvar *et al.* (2001) ทำการประเมินความสดของปลากระพงเลี้ยงที่เก็บที่อุณหภูมิ $2 \pm 2^\circ \text{C}$ โดยพบว่า ค่า K และ Ki จะเพิ่มขึ้น เมื่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสลดลง ซึ่งผู้ทดสอบไม่ให้การยอมรับในวันที่ 17 ของการเก็บรักษา ซึ่งค่า K มีค่า 39 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลการทดลองที่ได้ให้ผลไปในทางเดียวกันกับการทดลองของ Alasalvar *et al.* (2002) ที่ทำการประเมินความสดของปลากระพงเลี้ยงที่เก็บในสภาวะน้ำแข็ง โดยในวันที่ 16 – 18 ของการเก็บรักษา ค่า K, Ki และ G จะมีค่าอยู่ระหว่าง 35 – 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากผลการทดลองทั้ง 2 การทดลองนี้จะเห็นว่า ค่า K-Value และ

ค่า Ki-Value สามารถใช้เป็นดัชนีในการบ่งชี้ความสดได้ดีในปลากระพง ทั้งในสภาวะการเก็บรักษาด้วยน้ำแข็งและสภาวะแช่เย็นที่อุณหภูมิ $2\pm 2^{\circ}\text{C}$

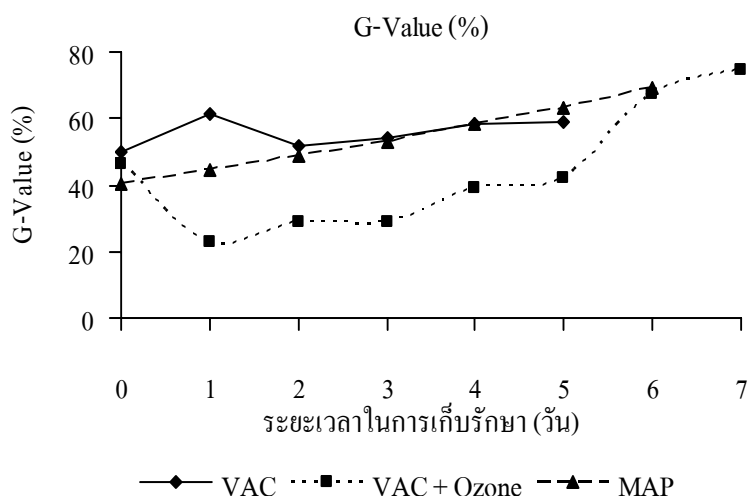
และในการทดลองของ Özogul *et al.* (2006) ได้ศึกษาคุณภาพของ European eel ที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง พบว่า ในวันที่ 12 – 14 ของการเก็บรักษา เป็นวันที่ผู้ทดสอบไม่ให้เกิดการยอมรับ จะมีค่า K-Value, Ki-Value และ H-Value อยู่ระหว่าง 70 – 85 เปอร์เซ็นต์ โดยในปี 2000 Özogul *et al.* ยังได้มีการศึกษาถึงการประเมินคุณภาพทางด้านเคมี จุลชีววิทยา และประสาทสัมผัสในปลาแฮร์ริ่ง ขณะที่ทำการเก็บรักษาที่สภาวะสุญญากาศ และปรับสภาพบรรยากาศ พบว่า ที่สภาวะปรับบรรยากาศ จะมีการเปลี่ยนแปลงของค่า Ki-Value ซ้ำกว่าที่สภาวะสุญญากาศ อาจเนื่องมาจากที่สภาวะปรับสภาพบรรยากาศจะมีคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ จึงทำให้ช่วง log phase ของจุลินทรีย์นานขึ้น เป็นผลให้ที่สภาวะนี้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างช้าๆ ดังนั้น ในการทดลองนี้การใช้ค่า Ki-Value สำหรับเป็นดัชนีความสดในปูทะเลนั้นจะเหมาะกับการทดลองในทริทเมนต์ที่ 3 แต่ไม่เหมาะกับการทดลองในทริทเมนต์ที่ 1 และ 2 เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นมีการเปลี่ยนแปลงที่ไม่คงที่ โดยการเปลี่ยนแปลงของค่า Ki-Value ในการทดลองนี้จะอยู่ระหว่าง 65 – 80 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 20 การเปลี่ยนแปลงของค่า Ki-Value ของปูทะเลที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

การวิเคราะห์โดยใช้ค่า G-Value (ภาพที่ 21) ซึ่งเป็นการอาศัยหลักการสะสมของไฮโปแซนทีน (Hyp) และการลดลงของอินโนซีนโมโนฟอสเฟต (IMP) อะดีโนซีนไดฟอสเฟต (ADP) และอินโนซีน (Ino) (สุทรวัดน์, 2548) โดยจากผลการทดลองพบว่า ปริมาณของค่า G-Value ในปูทะเลนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลง โดยเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ทำการเก็บรักษา ซึ่งในทริทเมนต์ที่ 1 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งในวันแรกของการเก็บรักษา มีค่า G-Value ที่ 49.75 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 5 ที่เป็นวันที่สิ้นสุดการเก็บรักษามีค่าเป็น 59.21 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 นั้นการเปลี่ยนแปลงของค่า G-Value ในระหว่างการเก็บรักษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) คือ วันแรกของการเก็บรักษามีค่า 46.10 และ 40.04 เปอร์เซ็นต์ ในทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 ตามลำดับ และในวันสิ้นสุดการเก็บรักษาในวันที่ 7 และ 6 ของการเก็บรักษาในทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 มีค่า G-Value เป็น 74.69 และ 69.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองของ Özogul *et al.* (2004) ในปลาชาร์ดินที่สภาวะการบรรจุแบบต่างๆ ได้แก่ สภาวะไม่เป็นสุญญากาศ สุญญากาศ และปรับสภาพบรรยากาศที่อุณหภูมิ 4 °C ได้รายงานไว้ว่า ค่า G-Value ในการทดลองนี้จะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ โดยที่สภาวะปรับสภาพบรรยากาศวันที่ 12 ของการเก็บรักษามีค่า G-Value 143 เปอร์เซ็นต์

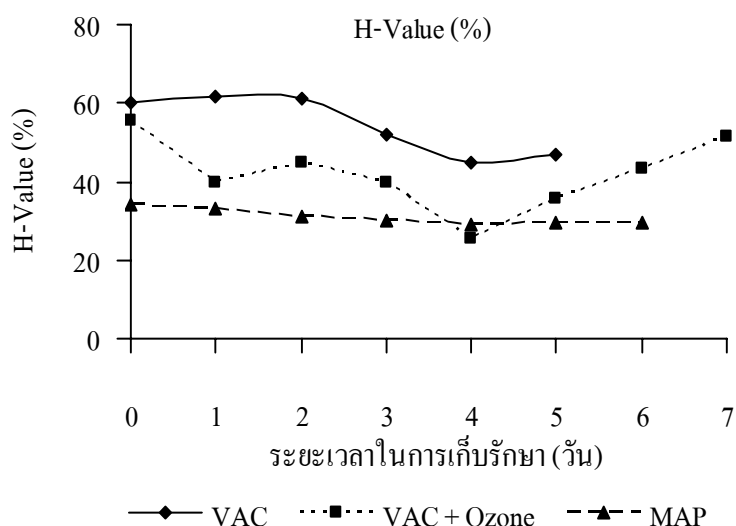
และจากผลการทดลองที่ได้ของ Özogul *et al.* (2004) สรุปได้ว่าค่า G ไม่เหมาะในการใช้บอกความสดในปลาชาร์ดิน ซึ่งผลการทดลองที่ได้สนับสนุนกับการศึกษาในปี 2006 ของ Özogul *et al.* ได้ศึกษาคุณภาพของ European eel ที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง ได้ โดยพบว่า ค่า G-Value ที่ได้จากการทดลองใน European eel นั้น การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่เป็นเส้นตรง จึงไม่เหมาะกับการใช้เป็นดัชนีความสดใน European eel ด้วยเช่นกัน แต่ในการทดลองของ Alasalvar *et al.* (2002) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าความสดของปลาเกะพงที่ทำการเก็บรักษาในน้ำแข็ง พบว่า ค่า G-Value ในวันที่ 18 ของการเก็บรักษาที่เป็นวันที่ผู้ทดสอบไม่ให้เกิดการยอมรับจะมีค่า G-Value อยู่ระหว่าง 60 – 70 เปอร์เซ็นต์ และยังมีการรายงานอีกว่า ค่า G เป็นค่าที่สามารถใช้ในการรายงานผลทางด้านความสดได้ดีกว่าค่า Ki-Value เนื่องจากสามารถใช้ในการบ่งชี้ความสดของสัตว์น้ำได้หลายชนิดกว่า แต่ในการวิจัยนี้ ค่า G-Value เหมาะที่จะใช้เป็นดัชนีความสดในปูทะเลนั้นที่สภาวะการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศได้ดีกว่าที่สภาวะอื่น โดยค่า G-Value ที่ใช้บอกความเสี่ยงในปูทะเลนั้นของการทดลองนี้จะมีค่าระหว่าง 50 – 60 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 21 การเปลี่ยนแปลงของค่า G -Value ของปุ๋ยทะเลนึ่งที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาวะการบรรจุ
ต่างๆ

การวิเคราะห์โดยใช้ค่า H -Value (ภาพที่ 22) ซึ่งเป็นการใช้ไฮโปแซนทีน (Hyp) อินโนซีน โมโนฟอสเฟต (IMP) และอินโนซีน (Ino) เป็นตัวที่ใช้บ่งชี้ความสดในสัตว์น้ำ (สุทรวัดน์, 2548) โดยจากผลการทดลองพบว่า ปริมาณของค่า H -Value จะมีการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยวันแรกของการเก็บรักษาที่ 1 ค่า H-Value มีค่าเริ่มต้นคือ 60.26 เปอร์เซ็นต์ ส่วนวันที่ 2 และ 3 มีค่า 55.44 และ 33.99 เปอร์เซ็นต์ และในวันที่สิ้นสุดการเก็บรักษา ค่า H-Value ของวันที่ 1 2 และ 3 มีค่า 46.74 51.33 และ 29.57 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 5 และ 6 ตามลำดับ โดยผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับการทดลองของ Alasalvar *et al.* (2002) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าความสดของปลากระพงที่ทำการเก็บรักษาในน้ำแข็ง ได้รายงานว่าการทดลองที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงของค่า H-Value ในลักษณะที่ไม่คงที่ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของค่า H-Value จะขึ้นกับปริมาณของ Hyp ดังนั้น ค่า H-Value ไม่เหมาะที่จะใช้เป็นดัชนีความสดในปลากระพง และในผลการทดลองของ Özogul and Özogul (2002) ที่ได้ทดลองในปลาเรนโบว์เทราต์ที่เก็บรักษาในสภาวะปรับสภาพบรรยากาศในน้ำแข็ง ซึ่งค่า H-Value จะมีค่าเพิ่มขึ้นตามอายุการเก็บรักษา โดยที่สภาวะปรับสภาพบรรยากาศจะเกิดการเปลี่ยนแปลงซ้ำที่สุดโดยค่า H-Value จะอยู่ระหว่าง 60 -70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของค่า H-Value จะเกิดขึ้นช้ากว่า การเปลี่ยนแปลงของค่า K-Value และ Ki-Value

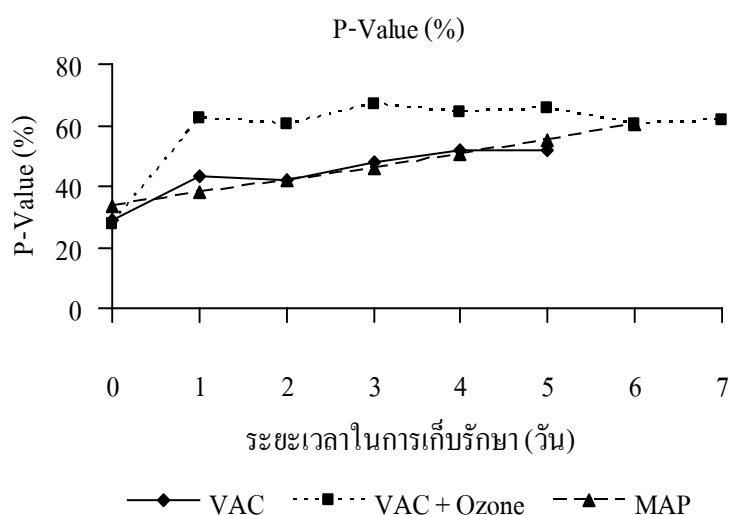
Fletcher *et al.* (2002) ได้ศึกษาการเสื่อมเสียของปลาแซลมอนในสภาวะปรับบรรยากาศที่อุณหภูมิ 0 °C ค่า H-Value ที่ได้จากการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงในเชิงเส้นตรงในสภาวะการบรรจุที่มีคาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจนอยู่ด้วย จากการวิจัยนี้ ค่า H-Value สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ความสดในปูทะเลนึ่งได้ดีที่สภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศและสภาวะปรับสภาพบรรยากาศ



ภาพที่ 22 การเปลี่ยนแปลงของค่า H-Value ของปูทะเลนึ่งที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

การวิเคราะห์โดยใช้ค่า P-Value (ภาพที่ 23) ซึ่งเป็นการใช้ไฮโปเทนสิน (Hyp) อินโนซีนโมโนฟอสเฟต (IMP) อินโนซีน (Ino) และอะดีโนซีนโมโนฟอสเฟต (AMP) เป็นตัวที่ใช้บ่งชี้ความสดในสัตว์น้ำ (สุทธวัฒน์, 2548) โดยจากผลการทดลอง พบว่า ปริมาณของค่า P-Value จะมีการเปลี่ยนแปลง โดยเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ทำการเก็บรักษาในทุกสภาวะการทดลอง ซึ่งในแต่ละวันของการทดลองในทุกทริทเมนต์มีการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในวันแรกของการทริทเมนต์จะมีค่า P-Value อยู่ระหว่าง 27.75 - 33.58 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มขึ้นจนวันที่สิ้นสุดการเก็บรักษา โดยทริทเมนต์ที่ 1 มีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 52.09 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา และทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 มีค่า 61.88 และ 60.26 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 7 และ 6 ของการเก็บรักษา ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน จึงมีความสอดคล้องกับผลการทดลองของ Özogul *et al.* (2006) ที่ทำการทดลองใน European eel ที่อุณหภูมิ 3 ± 1 °C พบว่า ค่า P-Value ในวันที่สิ้นสุดการเก็บรักษามีค่าประมาณ

70 – 85 เปอร์เซ็นต์ และ Alasalvar *et al.* (2002) ได้ประเมินความสดในปลากระพงที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง โดยค่า P-Value มีค่า 60 – 70 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ค่า P-Value เหมาะที่จะใช้เป็นดัชนีความสดใน European eel ปลากระพง และปูทะเลนึ่งที่บรรจุในสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ และสภาวะการบรรจุแบบปรับบรรยากาศได้ดี ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของค่าทางความสด ได้แก่ ค่า K-Value, G-Value, H-Value และ P – Value สามารถใช้เป็นค่าดัชนีความสดที่ดีในสัตว์น้ำได้



ภาพที่ 23 การเปลี่ยนแปลงของค่า P -Value ของปูทะเลนึ่งที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความยอมรับและเชิงพรรณานั้น ผลการทดลองที่ได้ พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความยอมรับลดลงในทุกคุณลักษณะ และกลิ่นไม่พึงประสงค์จะมีระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น เมื่อเก็บรักษานานขึ้น

2. การเปลี่ยนแปลงทางความสดในด้านชีวเคมีที่เกิดขึ้น พบว่า เมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น ค่า TMA-N และปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ใน TCA มีค่าเพิ่มขึ้น แต่ค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าลดลง ส่วนค่าการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์นั้น ค่า ATP ADP AMP ลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น ส่วนค่า Ino และ Hyp จะมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น ดังนั้น ในการทดลองนี้สามารถเลือกใช้ Ino และ Hyp เป็นดัชนีความสดได้ ส่วนค่าการเปลี่ยนแปลงทางความสดซึ่งได้แก่ K-Value, Ki-Value, G-Value, H-Value และ P-Value นั้น มีการเปลี่ยนแปลงตามปริมาณของ Hypoxanthine และ Inosine ที่เพิ่มขึ้น เมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น โดยปุ๋ยมะเลนึมดิบที่มีปริมาณ Ino มากกว่า 6.13 ไมโครโมล/กรัม และ Hyp มีปริมาณมากกว่า 6.52 ไมโครโมล/กรัม เป็นปุ๋ยมะเลนึมที่ผู้ทดสอบไม่ให้การยอมรับ

3. เมื่อนำค่าการเปลี่ยนแปลงความสดมาทำการวิเคราะห์แล้ว พบว่า ค่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและค่า Ki-Value ไม่เหมาะสมในการใช้เป็นดัชนีในการประเมินความสดในการทดลองนี้ เนื่องจากค่าที่ได้มีความไม่แน่นอน

4. สภาวะการล้างด้วยน้ำไอโซนเข้มข้น 1 พีพีเอ็มแล้วบรรจุแบบสุญญากาศ สามารถยืดอายุการเก็บรักษาปุ๋ยมะเลนึมได้นานกว่าที่สภาวะการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศและสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ โดยมีอายุการเก็บรักษา 6 วัน 5 วัน และ 4 วัน ตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่าทางชีวเคมีในการเป็นดัชนีความสดร่วมกับการประเมินทางประสาทสัมผัส เพื่อหาอายุการเก็บรักษาของปุ๋ยมะเลนึมที่บรรจุแบบสุญญากาศ โดยดัชนีความสดทางชีวเคมีที่สามารถใช้ร่วมกับการประเมินทางประสาทสัมผัสในแต่ละวิธีที่มั่นคงเป็นดังนี้

- สภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ สามารถใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณไตรเมทิลเอมีน ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ใน TCA ปริมาณ Ino และ Hyp ค่า K-Value, H-Value และ P-Value

- สภาวะการล้างด้วยน้ำไอโซนเข้มข้น 1 พีพีเอ็มแล้วบรรจุแบบสุญญากาศ สามารถใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณไตรเมทิลเอมีน ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ใน TCA ปริมาณ Ino และ Hyp ค่า K-Value

- สภาวะการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศสามารถใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณไตรเมทิลเอมีน ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ใน TCA ปริมาณ Ino และ Hyp ค่า K-Value, G-Value, H-Value และ P-Value

ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลอง พบว่า มีดัชนีที่ใช้ในการประเมินความสดในปูทะเลนึ่งในสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศนั้นเพียงไม่กี่ดัชนี ดังนั้น ควรมีการศึกษาดัชนีความสดอื่นๆ เช่น ปริมาณของอินโดล ฮิสตามีน หรือไกลโคเจน เพื่อหาดัชนีอื่นที่สามารถนำมาใช้เป็นดัชนีความสดในปูทะเลนึ่งได้หลากหลายมากขึ้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- แคทรียา สะแต่ย์. 2549. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยมะทอบปรุงรส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- งามทิพย์ ภู่วโรดม. 2538ก. ก๊าซกับการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์ลิ้นคอรัน โปรโมชั่น. 173 น..
- งามทิพย์ ภู่วโรดม. 2538ข. เอกสารประกอบการสอน หลักการบรรจุ. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 169 น..
- ชลธิ์ ชีวะเศรษฐกรรม. 2539. การเพาะเลี้ยงปูทะเล. แผนกวิชาเทคโนโลยีการประมง ภาควิชา เทคโนโลยีและการอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี. ปัตตานี. 129 น.
- ธวิษ อินทรพันธุ์. 2548. จุลชีววิทยาทางอาหารเบื้องต้น. ภาควิชาอาหารและโภชนาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล. กรุงเทพฯ.
- นงนุช รักสกุลไทย, สวามินี ชีรวุฒิ และมยุรี จัยวัฒน์. 2549. การเก็บรักษาปุ๋ยมะทอบหลังการเก็บเกี่ยว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. ปีที่ 37. ฉบับที่ 3. หน้า 197 – 201.
- นงลักษณ์ สุทธิวนิช. 2531. คุณภาพสัตว์น้ำ. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา. 262 น.
- บรรจง เทียนสงรัสมิ, บุญรัตน์ ประทุมชาติ. 2545. ปูทะเล : ชีววิทยา การอนุรักษ์ทรัพยากร และการเพาะเลี้ยงในเชิงพาณิชย์แบบยั่งยืน. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. กรุงเทพฯ. 264 น.
- ภาณุมาศ พวงแก้ว. 2548. กระบวนการโอโซนเนชันในการย่อยสลายฟีนอล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มยุรี จัยวัฒน์. 2532. การให้ความเย็นผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง
คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 151 น.

ศศิณัฐ สุวนานันท์เจริญ. 2545. การศึกษาความเป็นไปได้ของโครงการเลี้ยงปูน้ำจืดเพื่อการส่งออก
ประเทศญี่ปุ่น. การศึกษาค้นคว้าด้วยตนเอง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศูนย์สารสนเทศ กรมเศรษฐกิจการพาณิชย์. 2549. แหล่งที่มา : <http://www.ops2.moc.go.th>.
วันที่ 12 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2549.

สุทนต์ เบญจกุล. 2548. เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์. 336 น.

Alasalvar, C., K.D.A. Taylor, A. Öksüz, T. Garthwaite, M.N. Alexis and K. Grigorakis. 2001.
Freshness assessment of cultured Sea Bream (*Sparus aurata*) by chemical, physical and
sensory methods. **Food Chem.** 72: 33-46.

_____, K.D.A. Taylor, A. Öksüz, F. Shahidi and M. Alexis. 2002. Comparison of
freshness quality of cultured and Wild Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*).
J. Food Sci. 67: 3220-3226.

Al-Haddad, K-S.H., R-A.S. Al-Qassemi and R.K. Robinson. 2005. The use of gaseous ozone and
gas packaging to control populations of *Salmonella infantis* and *Pseudomonas*
aeruginosa on the skin of chicken portions. **Food Control.** 16: 405-410.

A.O.A.C. 1995. **Official Method of Analysis.** 16th ed., Association of Official Analytical
Chemists, Arlington, Virginia.

An, H., V. Weerasinghe, T. A. Seymour and M. T. Morrissey. 1994. Cathepsin degradation of
Pacific whiting surimi proteins. **J. Food Sci.** 59: 1013-1017.

- Arashisar, X., O. Hisar, M. Kaya and T. Yanik. 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. **Int J Food Microbiol.** 97: 209-214.
- Baardseth, P., T. Naes, J. Mielnik, G. Skrede, S. Hblland and O. EideI. 1992. Dairy ingredients effects on sausage sensory properties studied by principal component analysis. **J. Food Sci.** 57 : 822-828.
- Botta, J. Richard. 1995. **Evaluation of seafood freshness quality**. New York : VCH. 180 p.
- Chen, H.H., E. M. Chiu, and J.R. Huang. 1997. Color and gel-forming Properties of Horse Mackerel (*Trachurus japonicus*) as related to washing Conditions. **J. Food Sci.** 62: 985-991.
- Cobb, G.E., I. Aoaniz and C.A. Thompson. 1973. Biochemical and microbial studies of shrimp: Volatile nitrogen and amino acids analysis. **J. Food Sci.** 38:431-437.
- Chiou, T.K. and J.P. Huang. 2004. Biochemical changes in the abdominal muscle of mud crab *Scylla serrata* during storage. **Fisheries Sci.** 70: 167 – 173.
- Dosti, B., G.S Zeynep and A.K. Greene. 2005. Effectiveness of ozone, heat and chlorine for destroying common food spoilage bacteria in synthetic media and biofilms. **Int J Dairy Tech.** 58: 19-24.
- Fletcher, G.C., G. Summers, V. Corrigan, S. Cumarasamy and J.P. Dufour. 2002. Spoilage of king Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) fillets stored under different atmospheres. **J. Food Sci.** 67: 2362-2374.

García-Linares, M.C., E. Gonzalez-Fandos, M.C. García-Fernández and M.T. García-Arias. 2004.

Microbiological and nutritional quality sous vide or traditionally processed fish:

Influence of fat content. **J Food Quality**. 27: 371-387.

Greene, D. H. and J. K. Babbitt. 1990. Control of muscle softening and protease–parasite

interaction in arrowtooth flounder *Atheresthes stomias*. **J. Food Sci.** 55: 579–580.

Goulas, A.E., I. Chouliara, E. Nessi, M.G. Kontominas and I.N. Savvaidis. 2005.

Microbiological, biochemical and sensory assessment of mussels

(*Mytilus galloprovincialis*) stored under modified atmosphere packaging.

J. Appl Microbiol. 98: 752–760.

_____ and M. G. Kontominas. 2007. Combined effect of light salting, modified

atmosphere and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*):

Biochemical and sensory attributes. **Food Chem.** 100: 287–296.

Hwang, D.F., T.Y. Chen, C.Y. Shiau and S.S. Jeng. 2000. Seasonal variations of free amino acids

and nucleotide-related compounds in the muscle of cultured Taiwanese puffer

Takifugu rubripes. **Fisheries Sci** 66: 1123-1129.

Kim, J.G., A.E. Yousef . 2000. Inactivation kinetics of foodborne spoilage and pathogenic

bacteria by ozone. **J. Food Sci.** 65: 521 - 528.

_____, and S. Dave. 1999. Application of ozone for enhancing the

microbiological safety and quality of food: a review. **J. Food Prot.** 62: 1071-1087.

Khadre, M.A., A.E. Yousef and J.G. Kim. 2001. Microbiological aspects of ozone applications

in Food: A review. **J. Food Sci.** 66: 1242 - 1252.

Langlais, B., D.A. Reckhow and D.R. Brink. 1991. **Ozone in Water treatment Application and Engineering**. Lewis Publ. Inc., Chelsea.

Lowry , Q.H., N. J. Rosebrough, L.A. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol Chem.** 193: 256-275.

Mejlholm, O. and P. Dalgaard. 2002. Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism photobacterium phosphoreum in liquid media and Æsh products. **Letters in Appl Microbiol.** 34: 27 – 31.

_____, N. Bøknæs and P. Dalgaard. 2005. Shelf life and safety aspects of chilled cooked and peeled shrimps (*Pandalus borealis*) in modified atmosphere packaging. **J. Appl Microbiol.** 99: 66–76.

Mizuta, S., Y. Kobayashi and R. Yoshinaka. 2001. Chemical and Histological Characterization of Raw Muscle from Soft and Hard Crabs of Snow Crab *Chionoecetes opilio*. **J. Food Sci.** 66: 238-241.

Molly, K., D. Demeyer, G. Johansson, M. Raemaekers, M. Ghistelinck and I. Geenen. 1997. The importance of meat enzymes in ripening and flavour generation in dry fermented sausages. First results of a European project. **Food Chem.** 59: 539–545.

Nettleton, J. A. 1985. **Seafood nutrition : facts, issues and marketing of nutrition in fish and shellfish**. New York : Van Nostrand Reinhold. 280 p.

Nerantzaki, A., A. Tsiotsias, E.K. Paleologos, I.N. Savvaidis, E. Bezirtoglou and M.G. Kontominas. 2005. Effects of ozonation on microbiological, chemical and sensory attributes of vacuum packaged rainbow trout stored at 4±0.5 °C. **Eur Food Res Technol.** 00: 1-9.

Owusu-Apenten, R.K.. 2002. **Food Protein Analysis Quantitative Effects on Processing**.

Marcel Dekker Inc., New York.

Özogul, F., K.D.A. Taylor, P. Quantick and Y. Özogul. 2000. Chemical, microbiological and sensory evaluation of atlantic herring (*Clupea harengus*) stored in ice, modified atmosphere and vacuum pack. **Food Chem.** 71: 263 – 273.

_____ and F Özogul. 2002. Degradation products of adenine nucleotide in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored in ice and in modified atmosphere packaging. **Turk J Zool.** 26 :127-130.

_____, A. Polat and Y. Özogul. 2004. Effects of modified atmosphere packaging packaging on chemical, sensory and microbiological sardines (*Sardina pilchardus*). **Food Chem.** 85: 49-57.

Özogul, Y., F. Özogul and Cengiz Gökbulut. 2006. Quality assessment of wild European eel (*Anguilla anguilla*) stored in ice. **Food Chem.** 95: 458-465.

Ozone Solution, Inc. 2006. Available Source: <http://www.ozoneapplications.com>, January 20, 2006.

Pérez –Villarreal, B. and R. Pozo. 1990. Chemical composition and ice spoilage of albacore (*Thunnus alalunga*). **J. Food Sci.** 55: 678-682.

Reddy, N.R, C.L. Schreiber, K.S. Buzard, G.E. Skinner and D.J. Armstrong. 1994. Shelf life of fresh tilapia fillets packaged in high barrier film with modified atmosphere. **J. Food Sci.** 59: 260-264.

- Riebroy, S., B. Sootawat, V. Wonnop, K. Krongkarn and T. Munehiko. 2004. Some characteristics of commercial Som-fug produced in Thailand. **Food Chem.** 88: 527-535.
- Roshchina, V.V. and V.D. Roshchina. 2003. **Ozone and plant cell.** Dordrecht : Kluwer Academic. 267 p.
- Shahidi, F. 1998. **Flavor of meat, meat products and seafood.** London : Blackie Academic and Professional. 429 p.
- _____ and J.R. Botta 1994. **Seafoods : chemistry, processing technology and quality.** Blackie Academic and Professional. London. 342 p.
- _____, X. Chong, and E. Dunajski. 1994. Freshness quality of Harp Seal (*Phoca groenlandica*) meat. **J. Agri Food Chem.** 42: 868-872.
- Shiau C.Y., Y.J. Pong, T.K. Chiou and T.J. Chai. 1996. Free amino acids and nucleotide-related compounds in milkfish (*Chanos chanos*) muscles and viscera. **J. Agri Food Chem.** 44: 2650-2653.
- Silva, M.V. da, P.A. Gibbs and R.M. Kirby. 1998. Sensorial and microbial effects of gaseous ozone fresh scad (*Trachurus trachurus*). **J. Appl microbiol.** 84: 802-810.
- Supelco. 1997. **Rapid, reliable nucleotides analyses, using SUPELCO -18-T HPLC column.** Bulletin 913. Sigma-Aldrich Co, Ltd..

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์ค่าทางจุลชีววิทยาและเคมี

การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

ภาคผนวกที่ ก1 วิธีตรวจสอบจุลินทรีย์ทั้งหมด

1.1 การเตรียมตัวอย่าง โดย ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม โดยวิธีปราศจากเชื้อ (Aseptic Technique) แล้วเติมสารละลายเจือจาง โซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.85 ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 225 มิลลิลิตร ปั่นตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง (Stomacher) จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 1:10 จากนั้นทำการเจือจางลงครั้งละ 10 เท่า จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม

1.2 ใช้วิธี Pour plate technique โดยปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆ กัน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเลี้ยงที่อบฆ่าเชื้อแล้ว เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar ให้มี ปริมาตรประมาณ 18-20 มิลลิลิตร เขย่าให้อาหารเลี้ยงเชื้อผสมกัน ทำซ้ำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 24-28 ชั่วโมง

1.3 คัดเลือกจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี อยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี นับจำนวนด้วย เครื่องนับโคโลนี (Colony counter)

1.4 หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้แต่ละระดับความเจือจาง คูณด้วยค่า Dilution factor คำนวณเป็นโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง (CFU/g)

การวิเคราะห์ทางเคมี

ภาคผนวกที่ ก2 วิธีวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง (A.O.A.C., 1995)

นำตัวอย่างเนื้อปูนึ่งดิบ 5 กรัม ปั่นผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 10 แล้ววัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วย เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง Methrom บันทึกผลการทดลองที่ได้

ภาคผนวกที่ ก3 การวัดปริมาณไตรเมทิลเอมีน (Cobb *et al.*, 1973)

1. สารเคมี

1.1 Mixed indicator : ละลาย 0.01 กรัม ของ Bromocresol green และ 0.02 กรัม Methyl red ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95

1.2 Inner ring solution : ละลาย Boric acid 10 กรัม ในเอทานอล 200 มิลลิลิตร แล้วเติม Mixed indicator (ที่เตรียมจากข้อ 1) 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

1.3 สารละลาย Neutralized 10% formaldehyde : ละลาย Magnesium carbonate ($MgCO_3$) 10 กรัม ในฟอร์มาลิน (35% formaldehyde solution) 100 มิลลิลิตร เขย่าให้ทั่ว กรองและเจือจางสารละลายส่วนใสที่ได้จากการกรอง 3 เท่าด้วยน้ำกลั่น

1.4 สารละลายอิมิตัว Potasssium carbonate (K_2CO_3) : ละลาย K_2CO_3 60 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ต้มประมาณ 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองผ่านกระดาษกรอง

1.5 4% Trichloroacetic acid (TCA) : ละลาย 40 กรัม TCA ในน้ำกลั่น 960 มิลลิลิตร

1.6 0.02 N Hydrochloric acid (HCl) : เจือจางสารละลายมาตรฐาน 1 N HCl 20 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

1.7 Sealing agent : พาราฟิน

2. การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ปั่นผสมกับ 4% TCA ปริมาณ 8 มิลลิลิตร โดยเครื่องปั่นผสม ควบคุมอุณหภูมิขณะปั่นด้วยน้ำแข็ง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที ที่

อุณหภูมิไม่สูงกว่า 30 องศาเซลเซียส แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ได้สารละลายตัวอย่าง สำหรับวิเคราะห์ปริมาณไตรเมทิลเอมีนได้ทั้งหมด

3. วิธีการทดลอง

- 3.1 ทาวาสตินบางๆ บริเวณขอบฝาจานคอนเวย์
- 3.2 ปิเปต Inner ring solution 1 มิลลิลิตร ใส่ในวงกลมชั้นในของจาน
- 3.3 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในวงแหวนรอบนอกของจานคอนเวย์
- 3.4 ปิเปต Neutralized 10% formaldehyde และ saturate Potassium carbonate อย่างละ 1 มิลลิลิตร ใส่ในวงแหวนรอบนอก คนละด้านกับสารละลายตัวอย่าง
- 3.5 ปิเปต ใส่ในวงแหวนรอบนอก คนละด้านกับสารละลายตัวอย่าง
- 3.6 ปิดฝาจานคอนเวย์ให้สนิทหมุนจานคอนเวย์เบาๆ ให้สารละลายที่อยู่ในวงแหวนรอบนอกผสมกัน
- 3.7 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที
- 3.8 ไตเตรตสารละลายในวงกลมชั้นในด้วย 0.02 N HCl จนกระทั่งสารละลายสีเขียว กลายเป็นสีชมพู บันทึกปริมาณกรดที่ใช้
- 3.9 ทำ Blank โดยใช้ 4% TCA แทนตัวอย่างแล้วดำเนินการเช่นเดียวกัน

การคำนวณ

$$\text{TMA-N} = \frac{(V_S - V_B) \times (N_{\text{HCl}} \times A_N) \times [(W_S \times M/100) + V_E] \times 100}{W_S}$$

(มก./100 กรัมตัวอย่าง)

เมื่อ	V_S	=	ปริมาตรของ 0.02 N HCl ที่ใช้ไตเตรตสารละลายตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
	V_B	=	ปริมาตรของ 0.02 N HCl ที่ใช้ไตเตรต Blank (มิลลิลิตร)
	N_{HCl}	=	Normality ของ HCl ที่ใช้ไตเตรต (= 0.02 N x factor ของ HCl)
	A_N	=	Atomic weight ของไนโตรเจน (14.00)
	W_S	=	น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)
	M	=	ร้อยละของความชื้นในตัวอย่าง
	V_E	=	ปริมาตรของ 4% TCA ที่ใช้สกัด

ภาคผนวกที่ ก4 วิธีวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 1995)

1. อบด้วยหาความชื้นที่อุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น (Desiccator) แล้วชั่งน้ำหนัก นำไปอบต่ออีก 30 นาที ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนักเพื่อให้ได้น้ำหนักคงที่ ถ้าไม่คงที่ให้อบซ้ำอีกครั้ง
2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 2-10 กรัม ลงในถ้วยหาความชื้นแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก
3. นำไปอบอีกครั้งที่สภาวะเดิม ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกว่าน้ำหนักจะคงที่

การคำนวณ

$$\text{ร้อยละของความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

ภาคผนวกที่ ก5 วิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซีติก

(ตามวิธี Green and Babbitt, 1990)

1. นำตัวอย่างเนื้อป่นนํ้ามันดิบนำมาปั่นผสมกับกรดไตรคลอโรอะซีติกเข้มข้น 5% (w/v) 27 มิลลิลิตร
2. นำตัวอย่างที่ปั่นผสมเสร็จแล้วบ่มในอ่างน้ำแข็งนาน 1 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 12,000g นาน 5 นาที
3. นำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์หาตามวิธีของ Lowry *et al.* (1951)

ภาคผนวกที่ 6 วิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนแบบ Lowry Method (Lowry *et al.*, 1951)

1. สารเคมี

- 1.1 Bovine serum albumin (BSA) เข้มข้น 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
- 1.2 Solution A : ผสม Sodium carbonate เข้มข้น 20 กรัม/ลิตร ใน 0.1 M Sodium hydroxide
- 1.3 Solution B : ผสม Copper sulfate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) เข้มข้น 0.5% กับ Sodium potassium tartrate 1%
- 1.4 Folin solution : ผสม Folin reagent ค่อน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1
- 1.5 Alkaline copper solution : อัตราส่วนระหว่าง Solution A และ Solution B ในอัตราส่วน 50:1

2. การเตรียมตัวอย่าง

- 2.1 ใช้ตัวอย่างที่เตรียมได้จากภาคผนวก ก5 ในการทดสอบ

3. วิธีการทดลอง

- 3.1 ปิเปตสารตัวอย่าง 0.2 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง
- 3.2 เติม Alkaline copper solution 6 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองที่มีสารตัวอย่างอยู่
- 3.3 เขย่าให้สารผสมกันจนเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที
- 3.4 นำตัวอย่างออกมาจากที่บ่ม แล้วเติม Folin solution 0.6 มิลลิลิตร
- 3.5 เขย่าให้สารผสมกันจนเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที
- 3.6 นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร
- 3.7 การทำ Blank ให้ใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง ในปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
- 3.8 เติม Alkaline copper solution 9 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นอยู่
- 3.9 เขย่าให้สารผสมกันจนเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที
- 3.10 นำตัวอย่างออกมาจากที่บ่ม แล้วเติม Folin solution 0.9 มิลลิลิตร

3.11 เขย่าให้สารผสมกันจนเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำไปปั่นในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที

3.12 นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

คำนวณปริมาณโปรตีนได้ดังนี้

$$\text{ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง} \times \text{ระดับที่เจือจาง}}{\text{ความชันของสารมาตรฐาน BSA}}$$

ภาคผนวกที่ ก7 การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ Adenosine triphosphate และอนุพันธ์ (ตามวิธีของ Hwang *et al.*, 2000)

ตัวอย่าง 5 กรัม ผสมสารละลายกรดเปอร์คลอริกเข้มข้นร้อยละ 6 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร สกัดนาน 2 นาที จากนั้นนำตัวอย่างไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1600xg นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการแยกส่วนตะกอนมาล้างด้วยสารละลายกรดเปอร์คลอริก 30 มิลลิลิตรและเหวี่ยงแยกอีก 2 ครั้ง นำสารละลายส่วนใสที่ได้จากการสกัดมาปรับ pH ให้เป็น 6.5 ด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 1 นอร์มัล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วย neutralized PCA (pH 6.5) เก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสระหว่างรอการวิเคราะห์ด้วย HPLC

ภาคผนวกที่ ก8 วิเคราะห์ชนิดและปริมาณนิวคลีโอไทด์ด้วย HPLC (ดัดแปลงจาก Supelco, 1997)

วิเคราะห์ชนิดและปริมาณนิวคลีโอไทด์ในสารสกัดจากปูทะเลนี้ด้วยเครื่อง HPLC (Agilent 1100series) ฉีดตัวอย่าง 5 ไมโครลิตร นิวคลีโอไทด์แยกบนคอลัมน์ SUPELCOSIL LC-18-1 ขนาด 15 เซนติเมตร x 4.6 มิลลิเมตร x 3 ไมโครเมตร อัตราการไหลของ mobile phase 1.0 มิลลิลิตร/นาทีที่ใช้การชะสารออกจากคอลัมน์เป็นแบบ gradient condition ซึ่งแสดงรายละเอียดดังตารางที่ 3 ตรวจจับสารที่ถูกชะออกจากคอลัมน์ด้วย Photodiode Array Detector ที่ความยาวแสง 254 นาโนเมตร การระบุชนิดของนิวคลีโอไทด์ทำโดยเปรียบเทียบกับ retention time ของสารละลายมาตรฐานที่วิเคราะห์ที่สภาวะเดียวกัน ปริมาณนิวคลีโอไทด์แต่ละชนิดคำนวณจากการ

เปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของสารกับพื้นที่ใต้พีคของสารนิวคลีโอไทด์มาตรฐานที่ทราบปริมาณ
แน่นอน

ตารางผนวกที่ ก1 การชะสารออกจากคอลัมน์แบบ gradient condition ในการวิเคราะห์
นิวคลีโอไทด์ในปุ๋ยมะเขือเทศ

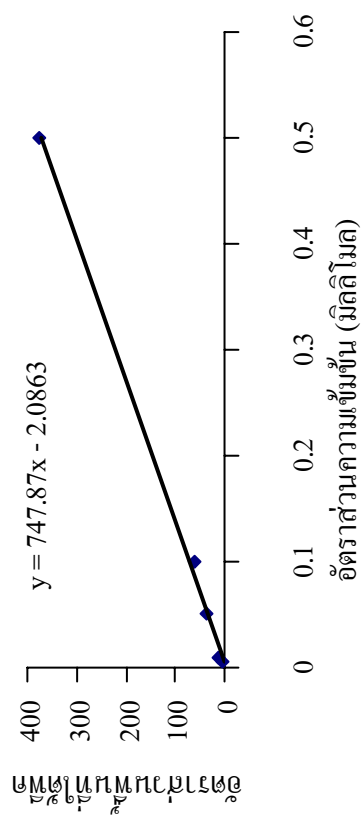
เวลา (นาที)	%mobile phase A ^a	% mobile phase B ^b
0	0	100
2.5	0	100
8	30	70
10	60	40
13	0	100
17	0	100
18	100	0
35	100	0
37	0	100
51	0	100

หมายเหตุ ^amobile phase A คือ Potassium dihydrogenphosphate 0.1 โมลาร์ +
tetrabutylammonium hydrogen sulfate 4 มิลลิโมลาร์ pH 6.5
^bmobile phase B คือ mobile phase A : Methanol (70:30) pH 6.5

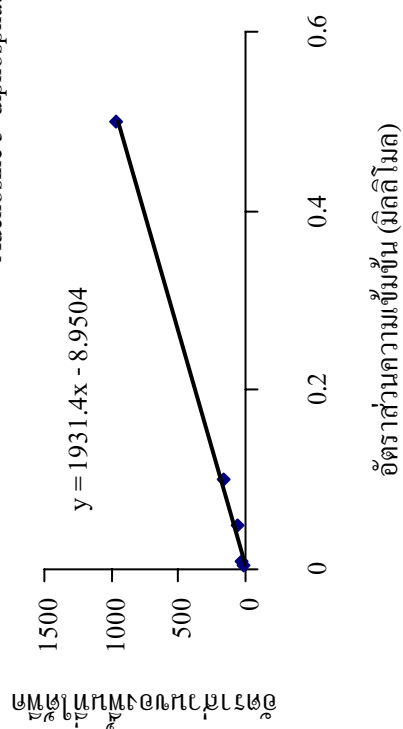
ภาคผนวกที่ ก7 การทำกราฟมาตรฐานของสารนิวคลีโอไทด์มาตรฐาน

เตรียมสารละลายของสารนิวคลีโอไทด์มาตรฐาน Hypoxanthine, Inosine 5' monophosphate, Inosine, Adenosine 5' monophosphate, Adenosine 5' diphosphate และ Adenosine 5' triphosphate ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน โดยเตรียมสารนิวคลีโอไทด์มาตรฐานเข้มข้น 1 มิลลิโมล ลงในขวดเตรียมสาร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตร จากนั้น นำไปเจือจางให้ได้สารละลายนิวคลีโอไทด์มาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.5, 0.1, 0.05, 0.01 และ 0.005 มิลลิโมลตามลำดับ ทำการฉีดตัวอย่าง 5 ไมโครลิตร ด้วยเครื่อง HPLC (Agilent 1100series) เพื่อหาพื้นที่ใต้พีคของสารนิวคลีโอไทด์มาตรฐาน คำนวณอัตราส่วนของพื้นที่ใต้พีคและน้ำหนักของสารนิวคลีโอไทด์มาตรฐานในแต่ละระดับการเจือจาง แล้วสร้างกราฟมาตรฐาน (เลือกช่วงความเข้มข้นของสารนิวคลีโอไทด์มาตรฐานแต่ละชนิดให้ครอบคลุมปริมาณสารนั้นๆ ในตัวอย่างปุ๋ยมะเลนัม)

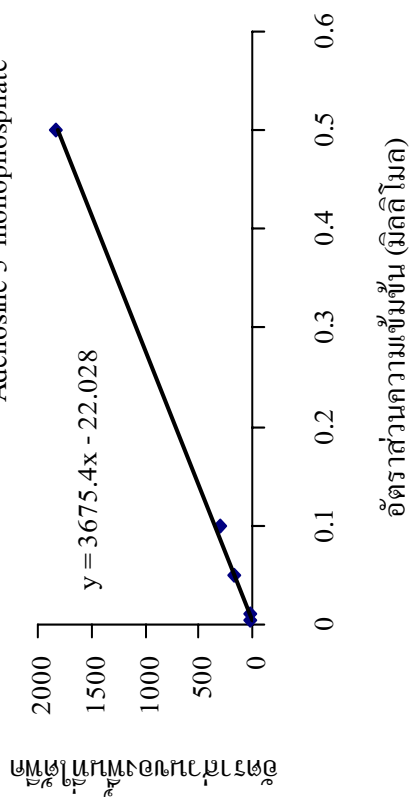
Adenosine 5' triphosphate



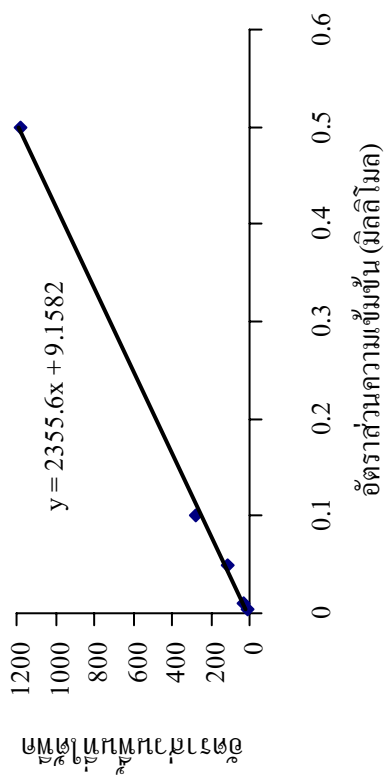
Adenosine 5' diphosphate

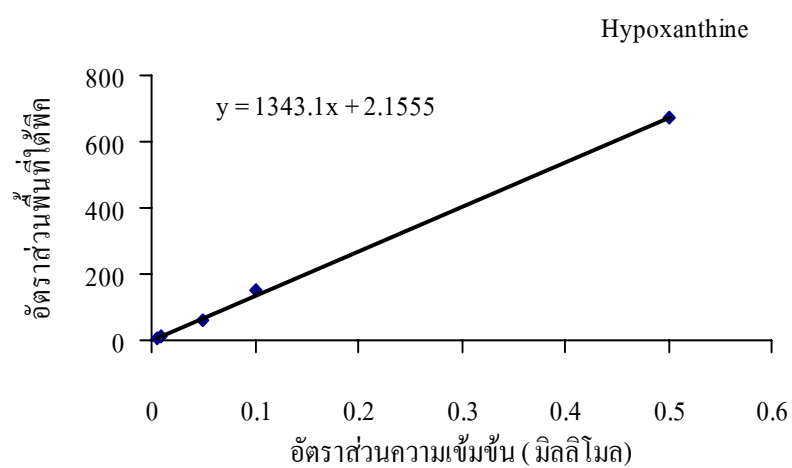
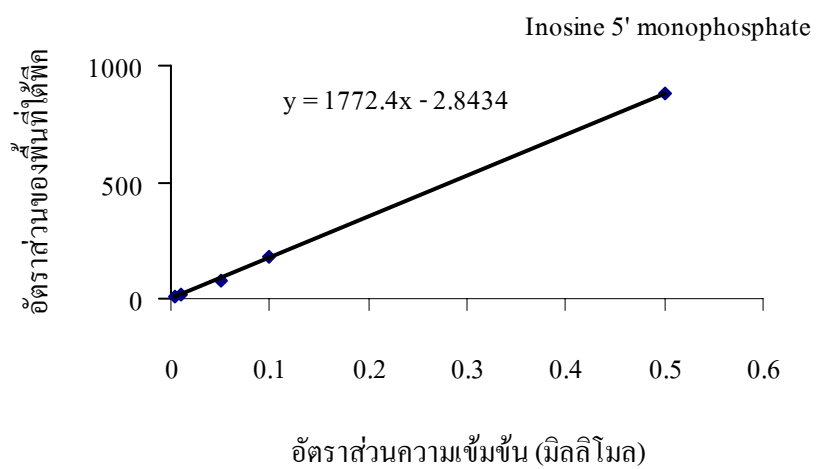


Adenosine 5' monophosphate

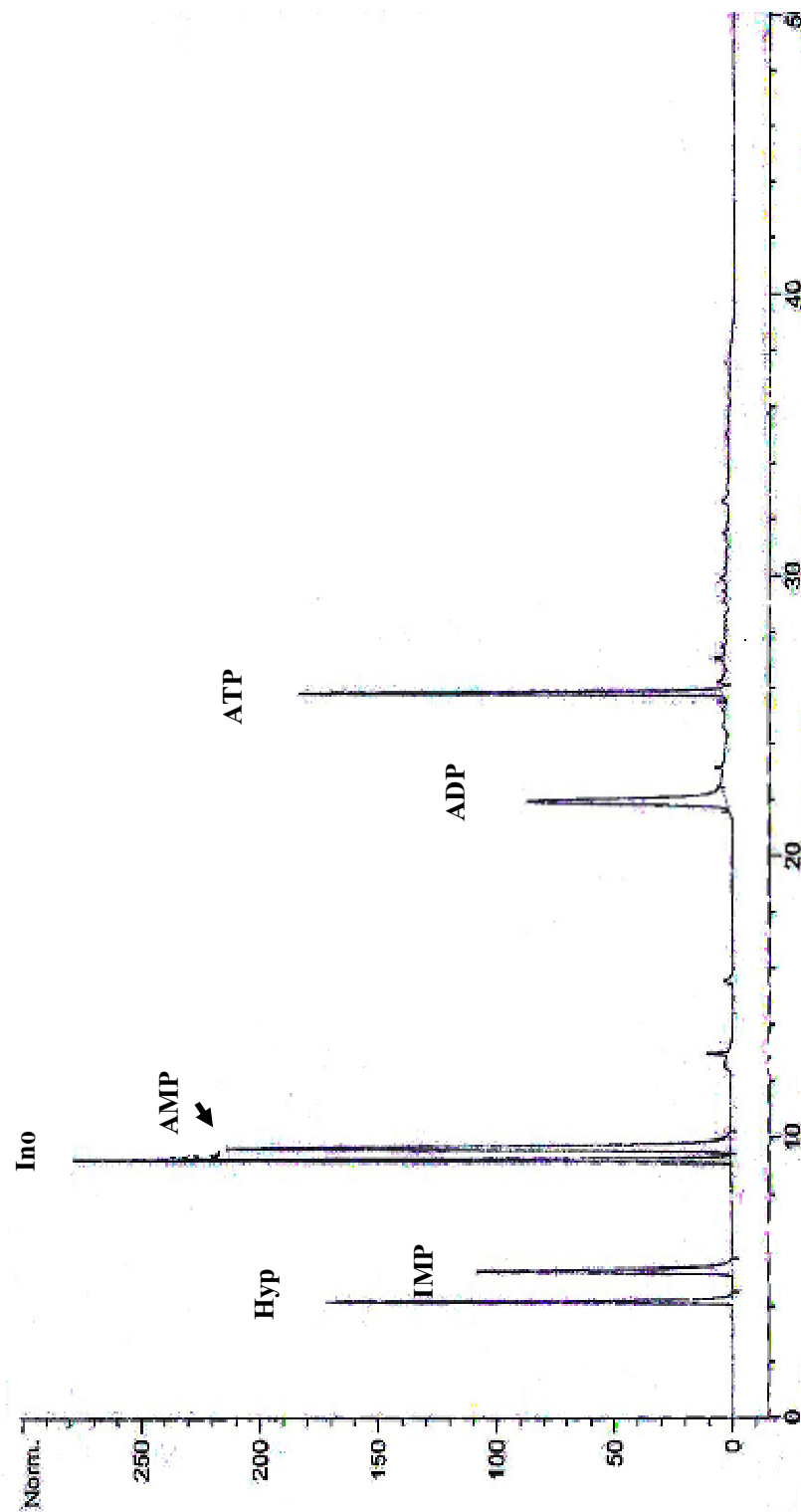


Inosine

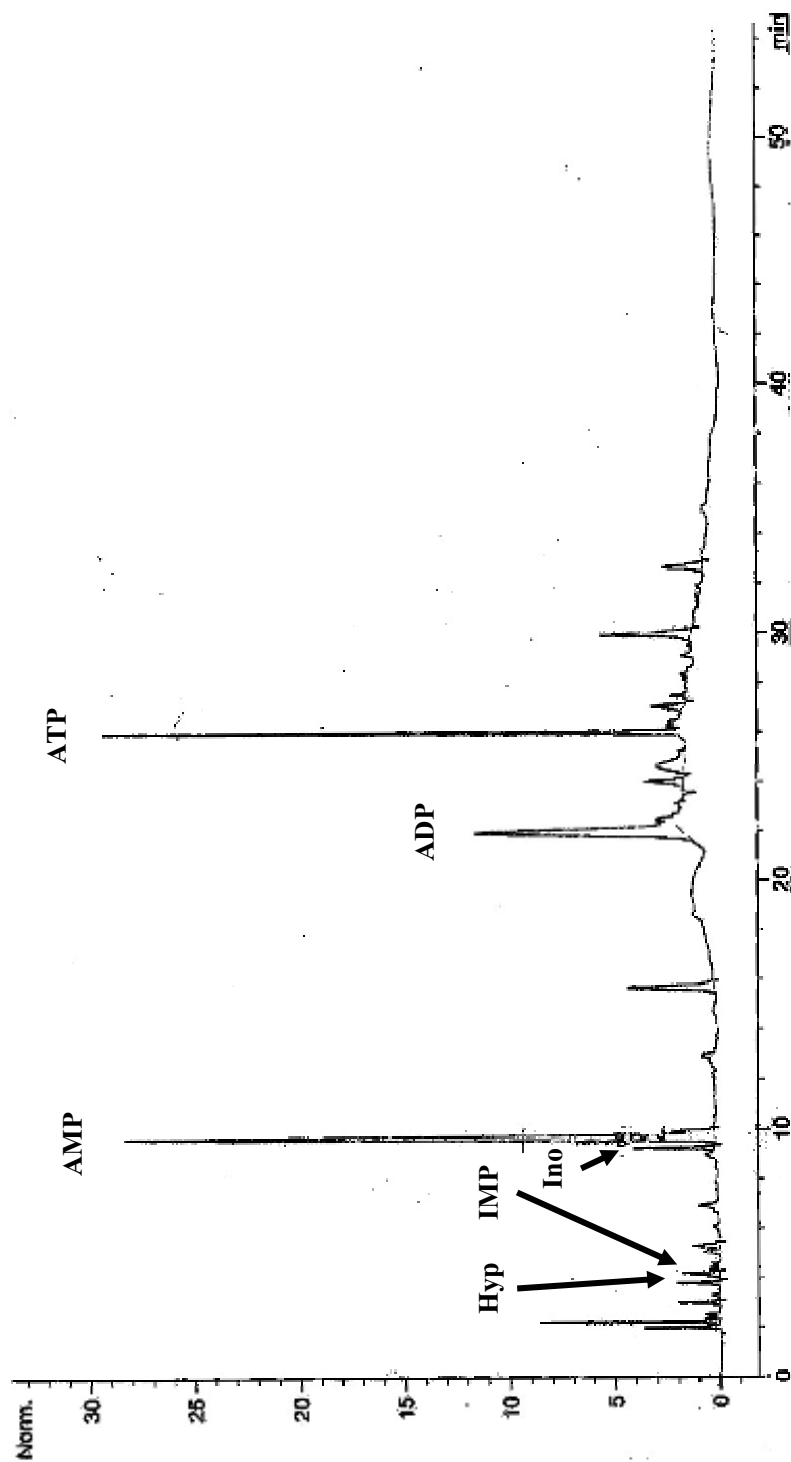




ภาพผนวกที่ ก1 (ต่อ)



ภาพผนวกที่ ๒2 โครมาโทแกรมของสารนิวคลีโอไทด์มาตรฐาน



ภาพผนวกที่ ๓ โครมาโทแกรมของสารนิวคลีโอไทด์ของปุ๋ยทะเลนี้ขณะทำการเก็บรักษาในสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ

ภาคผนวก ข

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสและตารางแสดงผลการทดลอง

การทดสอบเชิงพรรณนาในปูทะเลนึ่ง

ภาคผนวกที่ ข2 แบบรายงานผลการทดสอบการแบ่งชั้นคุณภาพของปูทะเลนึ่ง (QDA)

ปัจจัยที่ศึกษา	ระดับคะแนน		
กลิ่น ไม่พึงประสงค์			

คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสในสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ

ภาคผนวกที่ ข3 การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความยอมรับในปูทะเลนึ่งดิบทั้งตัวที่บรรจุแบบสุญญากาศ

วันที่เก็บ รักษา	กลิ่น	เนื้อสัมผัส	ลักษณะ ปรากฏ	สี	ความ ยอมรับรวม
0	6.93 ^c ±0.25	6.93 ^c ±0.25	7.00 ^d	7.00 ^d	6.93 ^c ±0.25
1	6.93 ^c ±0.25	6.89 ^c ±0.32	6.96 ^d ±0.21	6.93 ^d ±0.25	6.93 ^c ±0.25
2	5.20 ^b ±1.05	5.47 ^b ±1.03	5.67 ^b ±0.60	5.73 ^b ±0.68	5.53 ^c ±1.09
3	5.20 ^b ±0.54	5.40 ^b ±0.49	5.93 ^c ±0.25	6.00 ^c	5.93 ^d ±0.25
4	5.00 ^b ±1.04	5.27 ^b ±1.00	5.80 ^{bc} ±0.40	5.67 ^b ±0.47	5.20 ^b ±0.99
5	2.87 ^a ±1.26	2.73 ^a ±1.24	4.60 ^a ±0.61	4.80 ^a ±0.75	2.20 ^a ±0.40

^{a,b,c...} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)



ภาพผนวกที่ ข1 ลักษณะปรากฏของปูทะเลนึ่งดิบทั้งตัวในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาที่สภาวะการ
บรรจุแบบสุญญากาศ



ภาพผนวกที่ ข2 ลักษณะปรากฏของปูทะเลนึ่งดิบทั้งตัวในวันที่ 5 ของการเก็บรักษาที่สภาวะการ
บรรจุแบบสุญญากาศ

**คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสในสภาวะการล้างด้วยน้ำไอโซนเข้มข้น 1 พีพีเอ็ม
แล้วบรรจุแบบสุญญากาศ**

ภาคผนวกที่ ข4 การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความยอมรับในปูทะเลนึ่งดิบทั้งตัวที่สภาวะ
การล้างด้วยน้ำไอโซน แล้วบรรจุแบบสุญญากาศ

วันที่เก็บ รักษา	กลิ่น	เนื้อสัมผัส	ลักษณะ ปรากฏ	สี	ความยอมรับ รวม
0	7.00 ^f	7.00 ^f	7.00 ^d	7.00 ^e	6.90 ^d ±0.30
1	7.00 ^f	7.00 ^f	7.00 ^d	7.00 ^e	6.90 ^d ±0.30
2	6.00 ^e	6.00 ^e	6.00 ^c	6.00 ^d	6.00 ^c
3	5.20 ^d ±0.40	6.00 ^e	6.00 ^c	5.70 ^c ±0.46	6.00 ^c
4	4.90 ^c ±0.54	5.40 ^d ±0.49	5.90 ^c ±0.30	5.90 ^d ±0.30	5.90 ^c ±0.30
5	5.00 ^c	5.00 ^c	5.70 ^b ±0.46	5.00 ^a	5.00 ^b
6	4.40 ^b ±0.92	4.50 ^b ±0.67	5.60 ^b ±0.80	5.50 ^b ±1.04	5.00 ^b ±1.00
7	2.90 ^a ±1.05	3.60 ^a ±0.49	5.20 ^a ±0.88	5.50 ^b ±1.04	4.00 ^a ±1.19

^{a,b,c...} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวนอนมีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)



ภาพผนวกที่ ข3 ลักษณะปรากฏของปูทะเลนํ้าจืดทั้งตัวในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาที่สภาวะการ
ล้างด้วยน้ำไอโซน แล้วบรรจุแบบสุญญากาศ



ภาพผนวกที่ ข4 ลักษณะปรากฏของปูทะเลนํ้าจืดทั้งตัวในวันที่ 7 ของการเก็บรักษาที่สภาวะการ
ล้างด้วยน้ำไอโซน แล้วบรรจุแบบสุญญากาศ

คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสในสถานะการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ

ภาคผนวกที่ ข5 การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความยอมรับในปุ๋ยมะเดื่อชนิดทั้งตัวที่สถานะการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ

วันที่เก็บ รักษา	กลิ่น	เนื้อสัมผัส	ลักษณะ ปรากฏ	สี	ความยอมรับ รวม
0	7.00 ^g	7.00 ^g	7.00 ^g	7.00 ^f	7.00 ^g
1	6.13 ^f ±0.96	6.53 ^f ±0.50	6.53 ^f ±0.50	6.33 ^e ±0.79	6.53 ^f ±0.50
2	5.70 ^c ±0.91	6.30 ^c ±0.46	6.30 ^c ±0.46	6.00 ^d ±0.78	6.30 ^c ±0.46
3	5.40 ^d ±0.49	6.00 ^d	6.10 ^d ±0.30	5.90 ^d ±0.54	6.00 ^d
4	5.10 ^c ±0.54	4.90 ^c ±0.70	5.50 ^c ±0.50	5.60 ^c ±0.67	5.50 ^c ±0.50
5	4.40 ^b ±0.49	4.50 ^b ±0.50	5.00 ^b ±0.64	4.80 ^b ±0.40	4.90 ^b ±0.30
6	4.10 ^a ±0.95	3.70 ^a ±0.91	4.70 ^a ±1.11	4.40 ^a ±1.03	4.40 ^a ±1.03

a,b,c... ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)



ภาพผนวกที่ ข5 ลักษณะปรากฏของปูทะเลนึ่งดิบทั้งตัวในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาที่สภาวะการ
บรรจุปรับสภาพบรรยากาศ



ภาพผนวกที่ ข6 ลักษณะปรากฏของปูทะเลนึ่งดิบทั้งตัวในวันที่ 6 ของการเก็บรักษาที่สภาวะการ
บรรจุปรับสภาพบรรยากาศ

ภาคผนวกที่ ข6 การทดสอบเชิงพรรณนาด้านกลิ่นไม่พึงประสงค์ในเนื้อปูทะเลนึ่งดิบที่บรรจุใน
สภาวะต่างๆ

วันที่เก็บรักษา	ระดับความเข้มของกลิ่นไม่พึงประสงค์		
	Vac	Vac + Ozone	MAP
0	1.04 ^{ab} ±0.20	1.00 ^a	1.00 ^a
1	1.00 ^a	1.00 ^a	1.00 ^a
2	1.04 ^{ab} ±0.20	1.00 ^a	1.00 ^a
3	1.33 ^c ±0.48	1.03 ^a ±0.18	1.03 ^{ab} ±0.18
4	1.29 ^{bc} ±0.46	1.07 ^a ±0.25	1.00 ^a
5	2.71 ^d ±0.81	1.23 ^b ±0.43	1.13 ^b ±0.35
6		1.47 ^c ±0.51	1.60 ^c ±0.50
7		1.83 ^d ±0.59	

^{a,b,c...} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ภาคผนวก ค

ตารางแสดงปริมาณของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ในปูทะเลนึ่ง

ตารางผนวกที่ ๗ ปริมาณของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ของปูทะเลที่สภาวะการบรรจุแบบ
สุญญากาศ

วันที่ทำการเก็บรักษา	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/g}$)					
	ATP*	ADP*	AMP	IMP	Ino*	Hyp*
0	10.90 ^c	15.40 ^c	16.10	2.70	2.53 ^{ab}	7.86 ^a
1	1.93 ^b	6.28 ^b	10.58	2.95	1.74 ^a	7.59 ^a
2	0.00	5.12 ^{ab}	16.06	3.91	2.26 ^a	9.50 ^{bc}
3	0.00	3.09 ^a	14.95	4.33	3.83 ^b	8.70 ^{ab}
4	0.00	3.26 ^a	14.75	6.62	5.81 ^c	9.96 ^{bc}
5	0.00	3.88 ^{ab}	16.48	5.43	6.45 ^c	10.36 ^c

^{a,b,c...} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๗8 ปริมาณของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ของปุ๋ยทะเลนึ่งที่สภาวะล้างด้วยน้ำไอโซน
แล้วบรรจุแบบสุญญากาศ

วันที่ทำการเก็บรักษา	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/g}$)					
	ATP*	ADP*	AMP*	IMP*	Ino*	Hyp*
0	130.47 ^b	18.74 ^d	6.14 ^a	1.35 ^{ab}	0.98 ^a	2.87 ^a
1	12.23 ^a	8.56 ^c	16.42 ^b	1.42 ^{ab}	2.18 ^a	2.41 ^a
2	13.44 ^a	8.35 ^{bc}	15.63 ^b	1.19 ^a	2.56 ^a	3.04 ^a
3	9.18 ^a	7.29 ^{bc}	17.31 ^b	3.12 ^b	2.78 ^a	3.84 ^a
4	7.92 ^a	5.16 ^a	16.22 ^b	5.17 ^c	6.92 ^b	4.23 ^a
5	4.52 ^a	8.41 ^{bc}	26.32 ^c	6.88 ^{cd}	8.98 ^{cd}	8.90 ^b
6	1.53 ^a	6.28 ^{ab}	16.05 ^b	7.65 ^d	9.32 ^d	12.95 ^c
7	0.00	5.13 ^a	15.0 ^b	5.32 ^c	7.42 ^{bc}	13.15 ^c

a,b,c... ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๙ ปริมาณของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ของปูทะเลที่สภาวะปรับสภาพ
บรรยากาศ

วันที่ทำการเก็บรักษา	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/g}$)					
	ATP*	ADP*	AMP*	IMP*	Ino*	Hyp*
0	51.86 ^c	13.26 ^d	4.40 ^a	4.45 ^a	4.25 ^a	5.18 ^a
1	18.35 ^d	14.34 ^e	9.79 ^b	6.23 ^b	4.78 ^b	4.96 ^a
2	7.69 ^c	10.33 ^c	14.83 ^e	8.29 ^d	4.91 ^b	4.81 ^a
3	4.26 ^b	7.85 ^b	19.80 ^f	9.45 ^e	6.41 ^c	6.96 ^{bc}
4	4.18 ^b	7.68 ^b	21.22 ^g	9.26 ^e	6.30 ^c	7.14 ^{bc}
5	4.31 ^b	5.74 ^a	12.34 ^d	10.02 ^e	6.16 ^c	7.48 ^c
6	2.08 ^a	6.05 ^a	11.64 ^c	7.11 ^c	6.13 ^c	6.52 ^b

a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความต่างกันอย่างมี ($P \leq 0.05$)

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางผนวกที่ ค1 ความแปรปรวน (ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการทดสอบทางชีวเคมี
ของปุ๋ยทะเลนึ่งที่สภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Sum of Squares	Mean Square	F
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Count)				
Between Groups	5	1269.949	253.9899	208.6916*
Within Groups	12	14.6047	1.217058	
Total	17	1284.554		
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)				
Between Groups	5	0.634494	0.126899	135.9631*
Within Groups	12	0.0112	0.000933	
Total	17	0.645694		
ปริมาณไนโตรเจนอะมีน (Trimethylamine Nitrogen)				
Between Groups	5	968.8441	193.7688	309.5843*
Within Groups	12	7.5108	0.6259	
Total	17	976.3549		
ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติก				
Between Groups	5	53.3842	10.67684	7.220586*
Within Groups	12	17.744	1.478667	
Total	17	71.1282		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ค2 ความแปรปรวน (ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติของสารประกอบ
นิวคลีโอไทด์ของปุ๋ยทะเลนึ่งที่สภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Hypoxanthine				
Between Groups	5	19.20692	3.841385	7.576621*
Within Groups	12	6.08406	0.507005	
Total	17	25.29098		
Inosine				
Between Groups	5	57.9053	11.58106	20.44151*
Within Groups	12	6.798555	0.566546	
Total	17	64.70386		
Inosine 5' monophosphate				
Between Groups	5	33.64195	6.72839	1.540828
Within Groups	12	52.40083	4.366736	
Total	17	86.04278		
Adenosine 5' monophosphate				
Between Groups	5	77.44656	15.48931	2.574971
Within Groups	12	72.18402	6.015335	
Total	17	149.6306		
Adenosine 5' diphosphate				
Between Groups	5	328.3172	65.66344	27.07185*
Within Groups	12	29.1063	2.425525	
Total	17	357.4235		
Adenosine 5' triphosphate				
Between Groups	5	285.1731	57.03463	102.241*
Within Groups	12	6.694138	0.557845	
Total	17	291.8673		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ค3 ความแปรปรวน (ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความสด K, Ki, G, H และ P ของปุ๋ยทะเลนึ่งที่สภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Sum of Squares	Mean Square	F
%K				
Between Groups	5	885.9004	177.1801	29.37608*
Within Groups	12	72.37728	6.03144	
Total	17	958.2777		
%KI				
Between Groups	5	99.99059	19.99812	0.262622
Within Groups	12	913.7744	76.14787	
Total	17	1013.765		
%G				
Between Groups	5	310.8199	62.16398	2.166335
Within Groups	12	344.3455	28.69546	
Total	17	655.1654		
%H				
Between Groups	5	866.6212	173.3242	4.35453*
Within Groups	12	477.6384	39.8032	
Total	17	1344.26		
%P				
Between Groups	5	1131.221	226.2442	12.62989*
Within Groups	12	214.9607	17.91339	
Total	17	1346.182		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๓4 ความแปรปรวน (ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติของการทดสอบทาง
ประสาทสัมผัสตามความยอมรับของปูทะเลนึ่งดิบทั้งตัวที่สภาวะการบรรจุแบบ
สุญญากาศ

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Type III Sum of Squares	Mean Square	F
ลักษณะปรากฏ				
DAY	5	181.2741	36.25481	208.8767*
PANEL	14	1.318519	0.09418	0.542604*
Error	250	43.39259	0.17357	
Total	270	9922		
สี				
DAY	5	157.0667	31.41333	135.8186*
PANEL	14	0.977778	0.069841	0.301966*
Error	250	57.82222	0.231289	
Total	270	10008		
กลิ่น				
DAY	5	510.6667	102.1333	170.4748*
PANEL	14	37.42222	2.673016	4.461636*
Error	250	149.7778	0.599111	
Total	270	8442		
เนื้อสัมผัส				
DAY	5	525.9296	105.1859	179.0049*
PANEL	14	31.94074	2.281481	3.882614*
Error	250	146.9037	0.587615	
Total	270	8719		
ความยอมรับรวม				
DAY	5	686.9667	137.3933	365.9268*
PANEL	14	18.13333	1.295238	3.449675*
Error	250	93.86667	0.375467	
Total	270	8835		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ค5 ความแปรปรวน (ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติของการทดสอบทาง
 ประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาด้านกลิ่นไม่พึงประสงค์ของเนื้อปูทะเลนึ่งดิบที่
 สภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Type III Sum of Squares	Mean Square	F
กลิ่นไม่พึงประสงค์				
DAY	5	51.47222	10.29444	55.48411*
PANEL	7	2.861111	0.40873	2.202939*
Error	131	24.30556	0.185539	
Total	144	362		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๓6 ความแปรปรวน (ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการทดสอบทางชีวเคมีของปุ๋ยทะเลนึ่งที่สภาวะการเลี้ยงด้วยน้ำไอโซนแล้วทำการบรรจุแบบสุญญากาศ

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Sum of Squares	Mean Square	F
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Count)				
Between Groups	7	59.39333	8.484762	48.14049*
Within Groups	16	2.82	0.17625	
Total	23	62.21333		
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)				
Between Groups	7	0.327183	0.04674	11.54086*
Within Groups	16	0.0648	0.00405	
Total	23	0.391983		
ปริมาณไนโตรเจนอะมีน (Trimethylamine Nitrogen)				
Between Groups	7	1112.826	158.9752	191.0731*
Within Groups	16	13.3122	0.832013	
Total	23	1126.138		
ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซีติก				
Between Groups	7	91.73423	13.10489	11.89578*
Within Groups	16	17.62627	1.101642	
Total	23	109.3605		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๓7 ความแปรปรวน (ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติของสารประกอบ
นิวคลีโอไทด์ของปุ๋ยทะเลนึ่งที่สภาวะการเลี้ยงด้วยน้ำไอโซนแล้วทำการบรรจุ
แบบสุญญากาศ

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Hypoxanthine				
Between Groups	7	437.1974	62.45677	46.86835*
Within Groups	16	21.3216	1.3326	
Total	23	458.519		
Inosine				
Between Groups	7	236.6232	33.80332	35.01015*
Within Groups	16	15.44847	0.965529	
Total	23	252.0717		
Inosine 5' monophosphate				
Between Groups	7	141.0208	20.14583	19.63316*
Within Groups	16	16.4178	1.026113	
Total	23	157.4386		
Adenosine 5' monophosphate				
Between Groups	7	620.0289	88.57555	43.76407*
Within Groups	16	32.38293	2.023933	
Total	23	652.4118		
Adenosine 5' diphosphate				
Between Groups	7	401.1784	57.31119	43.01889*
Within Groups	16	21.31573	1.332233	
Total	23	422.4941		
Adenosine 5' triphosphate				
Between Groups	7	40510.52	5787.218	35.78733*
Within Groups	16	2587.382	161.7114	
Total	23	43097.91		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๘ ความแปรปรวน (ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความสด K, Ki, G, H และ P ของปุ๋ยทะเลนึ่งที่สภาวะการล้างด้วยน้ำไอโซนแล้วทำการบรรจุแบบสุญญากาศ

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Sum of Squares	Mean Square	F
%K				
Between Groups	7	5097.14	728.1629	140.8701*
Within Groups	16	82.70459	5.169037	
Total	23	5179.845		
%KI				
Between Groups	7	547.0273	78.14676	5.856372*
Within Groups	16	213.5022	13.34389	
Total	23	760.5295		
%G				
Between Groups	7	7348.622	1049.803	25.26411*
Within Groups	16	664.8502	41.55314	
Total	23	8013.472		
%H				
Between Groups	7	1801.686	257.3838	12.61467*
Within Groups	16	326.4566	20.40353	
Total	23	2128.143		
%P				
Between Groups	7	3392.778	484.6825	70.18813*
Within Groups	16	110.4876	6.905477	
Total	23	3503.265		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๙ ความแปรปรวน (ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติของการทดสอบทาง
ประสาทสัมผัสตามความยอมรับของปูทะเลชนิดบึงที่ตัวที่สภาวะการเลี้ยงด้วยน้ำ

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Type III Sum of Squares	Mean Square	F
ลักษณะปรากฏ				
DAY	7	259.2	37.02857	187.9637*
โอโซนแล้วทำการบรรจุแบบสุญญากาศ				
PANEL	29	18.45	0.636207	3.229501*
Error	683	134.55	0.196999	
Total	720	26766		
สี				
DAY	7	322.2	46.02857	168.7467*
PANEL	29	29.7	1.024138	3.754623*
Error	683	186.3	0.272767	
Total	720	26028		
กลิ่น				
DAY	7	1179	168.4286	631.2028*
PANEL	29	31.95	1.101724	4.128821*
Error	683	182.25	0.266837	
Total	720	21618		
เนื้อสัมผัส				
DAY	7	885.4875	126.4982	1131.053*
PANEL	29	7.3125	0.252155	2.254583*
Error	683	76.3875	0.111841	
Total	720	23247		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ก9 (ต่อ)

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Type III Sum of Squares	Mean Square	F
ความยอมรับรวม				
DAY	7	627.1875	89.59821	284.0526*
PANEL	29	24.8625	0.857328	2.71798*
Error	683	215.4375	0.315428	
Total	720	24363		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ค10 ความแปรปรวน (ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติของการทดสอบทาง
 ประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาด้านกลิ่นไม่พึงประสงค์ของเนื้อปูทะเลนึ่งดิบที่
 สภาวะการล้างด้วยน้ำไอโซนแล้วทำการบรรจุแบบสุญญากาศ

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Type III Sum of Squares	Mean Square	F
กลิ่นไม่พึงประสงค์				
DAY	7	19.1625	2.7375	25.74433*
PANEL	9	2.120833	0.235648	2.216111*
Error	223	23.7125	0.106334	
Total	240	393		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ค11 ความแปรปรวน (ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการทดสอบทางชีวเคมีของปุ๋ยทะเลนึ่งที่สภาวะการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Sum of Squares	Mean Square	F
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Count)				
Between Groups	6	66.57643	11.09607	31.63849*
Within Groups	14	4.91	0.350714	
Total	20	71.48643		
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)				
Between Groups	6	0.666248	0.111041	6.743397*
Within Groups	14	0.230533	0.016467	
Total	20	0.896781		
ปริมาณไนโตรเมทิลเอมีน (Trimethylamine Nitrogen)				
Between Groups	6	166.8923	27.81539	17.62465*
Within Groups	14	22.09493	1.57821	
Total	20	188.9873		
ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซีติก				
Between Groups	6	6.132465	1.022078	1.307519
Within Groups	14	10.94369	0.781692	
Total	20	17.07616		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ค12 ความแปรปรวน (ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติของสารประกอบ
นิวคลีโอไทด์ของปูทะเลที่สภาวะการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Hypoxanthine				
Between Groups	6	23.12318	3.853863	23.75269*
Within Groups	14	2.271493	0.16225	
Total	20	25.39467		
Inosine				
Between Groups	6	14.1261	2.35435	31.11484*
Within Groups	14	1.059331	0.075666	
Total	20	15.18543		
Inosine 5' monophosphate				
Between Groups	6	72.44574	12.07429	64.30686*
Within Groups	14	2.628647	0.187761	
Total	20	75.07439		
Adenosine 5' monophosphate				
Between Groups	6	607.0964	101.1827	2233.995*
Within Groups	14	0.634092	0.045292	
Total	20	607.7305		
Adenosine 5' diphosphate				
Between Groups	6	210.2604	35.04339	567.4689*
Within Groups	14	0.864554	0.061754	
Total	20	211.1249		
Adenosine 5' triphosphate				
Between Groups	6	5746.108	957.6847	13626.81*
Within Groups	14	0.983912	0.070279	
Total	20	5747.092		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ค13 ความแปรปรวน (ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความสด K, Ki, G, H และ P ของปุ๋ยทะเลนึ่งที่สภาวะการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Sum of Squares	Mean Square	F
%K				
Between Groups	6	952.948	158.8247	241.7754*
Within Groups	14	9.196737	0.65691	
Total	20	962.1447		
%KI				
Between Groups	6	530.6658	88.44429	308.2206*
Within Groups	14	4.017317	0.286951	
Total	20	534.6831		
%G				
Between Groups	6	4395.129	732.5215	2603.21*
Within Groups	14	3.939483	0.281392	
Total	20	4399.068		
%H				
Between Groups	6	239.7498	39.95829	35.81013*
Within Groups	14	15.62173	1.115838	
Total	20	255.3715		
%P				
Between Groups	6	3023.738	503.9563	2368.011*
Within Groups	14	2.979457	0.212818	
Total	20	3026.717		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ค14 ความแปรปรวน (ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติของการทดสอบทาง
ประสาทสัมผัสตามความยอมรับของปูทะเลนึ่งดิบทั้งตัวที่สภาวะการบรรจุ
แบบปรับสภาพบรรยากาศ

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Type III Sum of Squares	Mean Square	F
ลักษณะปรากฏ				
DAY	6	379.5429	63.25714	211.5695*
PANEL	29	39.2	1.351724	4.520969*
Error	594	177.6	0.29899	
Total	630	22350		
สี				
DAY	6	425.5714	70.92857	185.8355*
PANEL	29	56.98571	1.965025	5.148439*
Error	594	226.7143	0.381674	
Total	630	21315		
กลิ่น				
DAY	6	537.0857	89.51429	239.1419*
PANEL	29	82.35714	2.839901	7.586938*
Error	594	222.3429	0.374315	
Total	630	19245		
เนื้อสัมผัส				
DAY	6	790.2857	131.7143	475.4063*
PANEL	29	16.22857	0.559606	2.019828*
Error	594	164.5714	0.277056	
Total	630	20460		
ความยอมรับรวม				
DAY	6	461.4857	76.91429	331.8904*
PANEL	29	27.84286	0.960099	4.142891*
Error	594	137.6571	0.231746	
Total	630	21855		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ค15 ความแปรปรวน (ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติของการทดสอบทาง
 ประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาด้านกลิ่นไม่พึงประสงค์ของเนื้อปูทะเลนึ่งดิบที่
 สภาวะการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ

ลักษณะที่ทดสอบ	df	Type III Sum of Squares	Mean Square	F
กลิ่นไม่พึงประสงค์				
DAY	6	8.847619	1.474603	27.78693*
PANEL	9	1.338095	0.148677	2.801624*
Error	194	10.29524	0.053068	
Total	210	279		

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ประวัติการศึกษา

ชื่อ –นามสกุล

นางสาวปริญญ์ องค์ประเสริฐ

วัน เดือน ปี ที่เกิด

วันที่ 4 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2524

สถานที่เกิด

จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ประวัติการศึกษา

วท.บ. (ประมง) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2546)

ทุนการศึกษาที่ได้รับ

ทุนผู้ช่วยสอน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2548)