รหัสโครงการ BT-B-06-FG-19-45-03

รายงานการวิจัย

การพัฒนากระบวนการผลิตลูกชิ้นและไส้กรอกจากปลาน้ำจืด

Process Development of Fishball and Sausage from Freshwater Fish

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล

สาขาเทคโนโลยีอาหาร

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. กนกอร อินทราพิเชฐ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเวทย์ นิงสานนท์

รองศาสตราจารย์ ดร. หนึ่ง เตียอำรุง

ได้รับทุนอุดหนุนโครงการวิจัยพัฒนาและวิศวกรรม

จาก

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กันยายน 2547

ศูนย์บรรณสารและสื่อการศึกษา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์พันธุวิศวกรรมแห่งชาติ ที่ให้ทุนสนับสนุนโครงการวิจัยนี้ ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ให้การสนับสนุนสถานที่และสารเคมีบางส่วน เจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือ และบริษัท สำปะหลังพัฒนา จำกัด ที่ได้เอื้อเฟื้อตัวอย่างแป้งสำหรับงานวิจัย ขอขอบคุณคณะผู้ช่วยวิจัย ที่อุทิศตน และมุ่งมั่นในการทำวิจัยด้วยความอุตสาหะเพื่อให้ได้ผลงานที่ดี

บทคัดย่อ

ความสามารถในการเกิดเจลของ ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) และ ปลานวลจันทร์ (*Cirrhiana microlepis*) เพิ่มขึ้นเมื่อบ่มที่ 40-55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ปริมาณโอลิโกเปปไทด์ในเจลปลายี่สกเทศมีค่าสูงสุดที่ 65 องศาเซลเซียส แต่ระดับการเสื่อมสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อเกิดขึ้นน้อยมากในปลา 3 ชนิด การเติมวีทสตาร์ชทำให้ค่าแรง ณ จุดแตกหักของเจลจากปลาน้ำจืด 3 ชนิดเพิ่มขึ้นและได้รับการยอมรับสูงสุดเมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัสเปรียบเทียบกับแป้งมันฝรั่ง แป้งสาลี และแป้งมันสำปะหลัง แม้การเพิ่มความเข้มข้นจาก 1.8% เป็น 5.4% ทำให้ค่าแรงที่วัดได้ลดลง แต่ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) การล้างปลานวลจันทร์เพื่อกำจัดซาร์โคพลาสมิกโปรตีนมีผลเพิ่มความขาวของเจล แต่สามารถลดกิจกรรมของโปรติเนสได้ประมาณ 33% เท่านั้น ปลาบดที่ผ่านการล้าง 1 ครั้งและบ่มที่ 40 องศาเซลเซียส สามารถเกิดเจลที่มีค่าแรง ณ จุดแตกหักสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับการเกิดโปรตีนที่มีมวลขนาดใหญ่ การล้างเนื้อปลาบดสามารถลดจำนวนแบคทีเรียกลุ่ม mesophile เริ่มต้นในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นได้ แต่อายุการเก็บของลูกชิ้นที่ผลิตจากปลาบดและปลาบดล้างน้ำไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) คือไม่เกิน 10 วัน การบรรจุแบบปรับแปรสภาพบรรยากาศ (Modified atmospheric packaging, MAP) ที่มีสัดส่วนของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อไนโตรเจน 25:75 และ 50:50 สามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่ม mesophiles, psychrotrophs, *Enterobacteriaceae* และแบคทีเรียแลคติค แต่ไม่สามารถชะลอการเกิดเมือก กลิ่นเปรี้ยว และกลิ่นเน่า ในผลิตภัณฑ์ได้ การแช่เข็งเป็นแนวทางหนึ่งในการยืดอายุผลิตภัณฑ์ การเพิ่มระดับแป้งมันสำปะหลังดัดแปรแบบ cross-linking และ hydroxypropylation (HP) จาก 5.4 เป็น 9.0% มีผลให้ค่าความแข็งของเจลเมื่อวัดโดย Warner bratzler และความยืดหยุ่นและความชอบลดลง ($p<0.05$) โครงสร้างระดับจุลภาคของเจล และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นปลานิล ปลายี่สกเทศ และปลานวลจันทร์ ที่เติมแป้งมันสำปะหลัง หรือ HP ในระดับ 5.4% เปลี่ยนแปลงน้อยมากตลอดระยะเวลาการเก็บ 4 เดือนที่ -18 องศาเซลเซียส

กล้ามเนื้อปลานิลและปลาดุกแอฟริกัน (*Clarias garispinus*) มีความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ได้ดีกว่าปลายี่สกเทศและปลานวลจันทร์ การเพิ่มระดับน้ำมันจาก 15 ถึง 30% ในไส้กรอกปลานิล ปลายี่สกเทศ และปลานวลจันทร์ มีผลเพิ่มค่าความสว่าง (L*) ส่วนค่าแรง ณ จุดแตกหักและแรงเฉือนลดลง แต่การยอมรับไม่เปลี่ยนแปลงจากการทดสอบโดยผู้บริโภค (Consumer test) ไส้กรอกปลาดุกแอฟริกัน ไส้กรอกปลานวลจันทร์ และไส้กรอกปลายี่สกเทศได้รับคะแนนความชอบรวมไม่ต่างกัน ($p>0.05$) อุณหภูมิในการรมควันที่ 55-65 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ไส้กรอกปลามีค่าแรงเฉือนและแรง ณ จุดแตกหัก สูงกว่าที่ 45 องศาเซลเซียส ($p<0.05$) โดยไม่เกิดการเสื่อมสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อโดยโปรติเนส ไส้กรอกปลานวลจันทร์และปลาดุกแอฟริกันบรรจุแบบปิดผนึกธรรมดาและสุญญากาศมีอายุการเก็บไม่เกิน 20 และ 30 วัน ตามลำดับ และเมื่อบรรจุในสภาวะMAP ที่มีสัดส่วนของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อไนโตรเจน 25:75 สามารถยืดอายุการเก็บได้ไม่เกิน 40 วัน

Abstract

Gel-forming ability of tilapia (TP) (*Oreochromis niloticus*), rohu (RH) (*Labeo rohita*), and small scale mud carp (SC) (*Cirrhiana microlepis*) minces increased when pre-incubated at 40-55°C for 30 min. Oligopeptide content of RH mince gels were highest at 65°C. The extent of proteolysis was minimal in all 3 species. Addition of wheat starch to mince gels resulted in an increased breaking force and overall acceptance, as compared to potato starch, wheat flour, and tapioca starch. Although textural properties of mince gels measured by the instrument decreased as wheat starch content increased from 1.8 to 5.4%, sensory characteristics of these gels were not different ($p>0.05$). Washing of SC mince to remove sarcoplasmic proteins increased whiteness of gels, but reduced only 33% autolytic activity. The single washed mince with preincubation at 40°C showed the highest breaking force, which corresponded to an increase of higher molecular weight proteins. The use of washed mince fish reduced initial load of mesophiles in the finished products. However, shelf-life of fishball prepared from mince fish and washed mince fish was not different ($p>0.05$), which was less than 10 days. The modified atmospheric packing (MAP) with the mixture of CO_2 to N_2 of 25:75 and 50:50 reduced the growth of mesophiles, psychrotrophs, *Enterobacteriaceae*, and lactic acid bacteria, but did not delay the onset of sliminess, sour odor, and smell of rotten in the products. Freezing could be applied to extend the shelf-life of fishball. When the level of cross-linked and hydroxypropylated tapioca starch (HP) increased from 5.4 to 9.0%, shear force and springiness of mince gels as well as hedonic score decreased. Gel microstructures and sensory characteristics of the products added either 5.4% HP or native tapioca starch were comparable during 4 month storage at -18°C.

TP and African catfish (AC) (*Clarias garispinus*) minces exhibited better emulsifying properties than those of RH and SC. When the addition of oil was increased from 15 to 30%, lightness (L*) increased, while the breaking force and shear force decreased. However, overall acceptance evaluated by panelists was not affected. Based on the consumer tests, overall liking of sausages prepared from AC, SC, and RH minces was not different ($p>0.05$). Breaking force and shear force of sausages smoked at 55-65°C were higher than those smoked at 45°C ($p<0.05$). No evidence of proteolysis was observed at all temperatures studied. SC and AC sausages packed either with air or under vacuum underwent spoilage at 20 and 30 days of storage at 4-7°C, respectively. MAP with 25%CO_2:75%N_2 extended the shelf-life of fish sausage to 40 days.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อไทย	ii
บทคัดย่ออังกฤษ	iii
สารบัญ	iv
สารบัญตาราง	vi
สารบัญภาพ	vii
บทนำ	1
วิธีการทดลอง	
อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเซทติ้งลูกชิ้น	5
ปริมาณและชนิดของแป้งที่เหมาะสม	5
คุณสมบัติทางเนื้อสัมผัสของเจลปลานวลจันทร์ล้างน้ำ	6
การศึกษาอายุการเก็บของลูกชิ้นปลาน้ำจืด	6
- การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์	7
- การเปลี่ยนแปลงทางเคมี	7
- การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ	7
- การเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัส	8
การผลิตลูกชิ้นปลาแช่แข็ง	8
ความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนปลาน้ำจืด	9
ผลของปริมาณน้ำมันต่อลักษณะเนื้อสัมผัส	9
ผลของอุณหภูมิรมควันต่อลักษณะเนื้อสัมผัส	10
การศึกษาอายุการเก็บของไส้กรอกปลาน้ำจืด	10
ผลการทดลองและวิจารณ์	
องค์ประกอบโดยประมาณ (Proximate composition) ของวัตถุดิบ	12
อุณหภูมิในการเซทติ้ง	12
ชนิดและปริมาณแป้งที่เหมาะสม	18

คุณสมบัติทางเนื้อสัมผัสของเจลปลานวลจันทร์ล้างน้ำ 23
อายุการเก็บของลูกชิ้นแช่เย็น 31
ชนิดและปริมาณของแป้งต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นแช่แข็ง 43
คุณสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของปลาน้ำจืด 54
ผลของน้ำมันต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของไส้กรอกปลา 57
อุณหภูมิที่เหมาะสมในการรมควัน 64
อายุการเก็บของไส้กรอกปลา 68
สรุปผลการทดลอง 77
ข้อเสนอแนะ 78
เอกสารอ้างอิง 79
ภาคผนวก
ภาคผนวกที่ 1 วิธีปฏิบัติที่ดีในการผลิต 84
ภาคผนวกที่ 2 มาตรฐานที่ใช้ในการฝึกผู้ทดสอบ 91
ภาคผนวกที่ 3 แบบทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นปลา 92
ภาคผนวกที่ 4 แบบทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัสของไส้กรอกปลา 93
ภาคผนวกที่ 5 แบบสอบถามลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ (อายุการเก็บ) 94
ภาคผนวกที่ 6 แบบทดสอบสำหรับลักษณะทั่วไปของไส้กรอกปลา 95
ภาคผนวกที่ 7 แบบทดสอบความชอบ (การศึกษาลูกชิ้นแช่แข็ง) 96
ภาคผนวกที่ 8 แบบสอบถาม consumer test 97

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	ผลผลิตและมูลค่ารวมของปลาน้ำจืดในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2544	2
ตารางที่ 2	องค์ประกอบโดยประมาณของปลาน้ำจืด 4 ชนิด	12
ตารางที่ 3	กิจกรรมการย่อยสลายตัวเองและทรานสกลูทามิเนสในกล้ามเนื้อปลา	16
ตารางที่ 4	ลักษณะทางเนื้อสัมผัสและสีของลูกชิ้นปลาน้ำจืดที่เติมแป้งชนิดต่างๆ ในระดับ 1.8%	19
ตารางที่ 5	ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นปลาน้ำจืดที่เติมแป้งชนิดต่างๆ ในระดับ 1.8%	20
ตารางที่ 6	องค์ประกอบทางเคมีของปลานวลจันทร์ซึ่งผ่านกระบวนการล้างน้ำ	23
ตารางที่ 7	การเปลี่ยนแปลงของประชากรแบคทีเรียในระหว่างกระบวนการผลิตลูกชิ้น	31
ตารางที่ 8	แป้งชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาเบื้องต้น (preliminary) เพื่อคัดเลือกแป้งที่เหมาะสมในการผลิตลูกชิ้นแช่แข็ง	44
ตารางที่ 9	ผลของความเข้มข้นและชนิดของโปรตีนจากปลาน้ำจืดต่อความเสถียรของอิมัลชัน (%) ที่อุณหภูมิห้อง	56
ตารางที่ 10	เสถียรภาพของอิมัลชัน (%) ของโปรตีนปลาน้ำจืดที่ 50 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นโปรตีน 1 mg/ml	57
ตารางที่ 11	การสูญเสียน้ำหนักหลังการรมควันและการต้มของไส้กรอกปลาชนิดต่างๆ	67
ตารางที่ 12	ผลการทดสอบความชอบของผู้บริโภค (consumer test) ต่อไส้กรอกปลาชนิดต่างๆ	67
ตารางที่ 13	การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการผลิตไส้กรอกปลาดุกแอฟริกันและปลานวลจันทร์	69

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 แรงเฉือนของเจลปลาน้ำจืดบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ 13

รูปที่ 2 ค่าแรง (a) และระยะทาง (b) ณ จุดแตกหัก ของเจลปลาน้ำจืดบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ 14

รูปที่ 3 ปริมาณ TCA-soluble oligopeptide ในตัวอย่างลูกชิ้นปลาน้ำจืดบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ 15

รูปที่ 4 รูปแบบโปรตีนจากการวิเคราะห์โดย SDS-PAGE ของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ 17

รูปที่ 5 ค่าแรงเฉือนของลูกชิ้นปลาน้ำจืดผสมแป้งชนิดต่างๆที่ระดับ 1.8% 18

รูปที่ 6 ผลของวีทสตาร์ชและแป้งมันสำปะหลังที่ระดับต่างๆ ต่อค่าแรงเฉือน (WB) และแรง ณ จุดแตกหัก(punch) ของเจลแท่งปลานิล(a) ปลานวลจันทร์(b) และปลายี่สกเทศ(c) ให้ความร้อนที่ 55 องศาเซลเซียส 30 นาที และให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส 15 นาที บรรจุใน casing ขนาด 25 มิลลิเมตร 21

รูปที่ 7 ผลของวีทสตาร์ชและแป้งมันสำปะหลังที่ระดับต่างๆ ต่อค่าแรงเฉือน (WB) และผลทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ให้ความร้อนที่ 55 องศาเซลเซียส 30 นาที และให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา15 นาที ลูกชิ้นมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 มิลลิเมตร 22

รูปที่ 8 ค่าความขาวของเจลปลานวลจันทร์บดที่ผ่านการล้างน้ำและบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ โดยไม่ผ่าน refiner (a) และผ่าน refiner (b) 24

รูปที่ 9 กิจกรรมการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อโดยโปรติเนส (autolytic activity) ของปลานวลจันทร์ที่ผ่านการล้างและ refining บ่มตัวอย่างที่ 65 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง 25

รูปที่ 10 ปริมาณโอลิโกเปปไทด์ในเจลปลานวลจันทร์บดและปลานวลจันทร์ที่ล้างน้ำที่บ่มในสภาวะต่างๆ 26

รูปที่ 11 ค่าแรง ณ จุดแตกหักของตัวอย่างที่ไม่ผ่าน refiner (a) และตัวอย่างที่ผ่าน refiner (b) 28

รูปที่ 12 ค่าระยะทาง ณ จุดแตกหักของตัวอย่างที่ไม่ผ่าน refiner(a) และตัวอย่างที่ผ่าน refiner (b) 29

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 13 SDS-PAGE ของเนื้อปลานวลจันทร์บดไม่ได้ล้างน้ำ (a), เจลปลาบดบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ (b), เจลปลานวลจันทร์บดที่เตรียมจากปลาล้างน้ำ 1 ครั้ง บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ (c), และ เจลปลานวลจันทร์บดที่เตรียมจากปลาล้างน้ำ 2 ครั้ง บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ (d) 30

รูปที่ 14 การเปลี่ยนแปลงจำนวน mesophilic bacteria ในลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด(a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ 33

รูปที่ 15 การเปลี่ยนแปลงจำนวน psychrotrophic bacteria ในลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ 34

รูปที่ 16 การเปลี่ยนแปลงจำนวน *Enterobacteriaceae* ในลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ 35

รูปที่ 17 การเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียแลคติคในลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ 36

รูปที่ 18 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ 37

รูปที่ 19 การเปลี่ยนแปลงค่าการสูญเสียน้ำ (drip loss) ของลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด(a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ(b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ 38

รูปที่ 20 การเปลี่ยนแปลงของค่าแรงเฉือนของลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ 39

รูปที่ 21 ระดับของเมือกในลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ ซึ่งประเมินโดยผู้ทดสอบ 41

รูปที่ 22 ระดับกลิ่นเปรี้ยวของลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ ซึ่งประเมินโดยผู้ทดสอบ 42

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 23 ระดับกลิ่นเน่าในลูกชิ้นที่ผลิตจากปลาบด (a) และปลาบดล้างน้ำ เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ ซึ่งประเมินโดยผู้ทดสอบ 42
รูปที่ 24 ค่าแรงเฉือนของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ผสมแป้งในระดับต่างๆ และแช่แข็ง 0-4 เดือน 45
รูปที่ 25 ค่า drip loss ของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ผสมแป้งในระดับต่างๆ และแช่แข็ง 0-4 เดือน 46
รูปที่ 26 ค่า centrifugal loss ของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ผสมแป้งในระดับต่างๆ และแช่แข็ง 0-4 เดือน 47
รูปที่ 27 ค่าความขาว (whiteness) ของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ผสมแป้งในระดับต่างๆ และแช่แข็ง 0-4 เดือน 48
รูปที่ 28 คะแนนความชอบของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ผสมแป้งในระดับต่างๆ และแช่แข็ง 0-4 เดือน 49
รูปที่ 29 ค่าความยืดหยุ่น (springiness) ของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ผสมแป้งในระดับต่างๆ และแช่แข็ง 0-4 เดือน 50
รูปที่ 30 ค่าความแข็ง (hardness) ของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ผสมแป้งในระดับต่างๆ และแช่แข็ง 0-4 เดือน 51
รูปที่ 31 โครงสร้างเจลลูกชิ้นปลานวลจันทร์ก่อนการแช่แข็ง (a,c,e,g) และแช่แข็งที่ -18 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 เดือน (b,d,f,h)วิเคราะห์โดยใช้กำลังขยาย 800 เท่า 53
รูปที่ 32 การเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของเนื้อปลาบด (a,c,e,g,i) และโปรตีนมัยโอฟิบริลลาร์ (b,d,f,h,j) ของปลาน้ำจืดชนิดต่างๆ 54
รูปที่ 33 การเปลี่ยนแปลงรูปแบบโปรตีนกล้ามเนื้อของปลาดุกแอฟริกันเมื่อบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง 58
รูปที่ 34 ผลของระดับการเติมน้ำมันต่อค่าแรงเฉือนของไส้กรอกปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ 58
รูปที่ 35 ค่าแรง (a) และระยะทาง ณ จุดแตกหัก (b) ของไส้กรอกปลาที่เติมน้ำมันในระดับต่างๆ 59
รูปที่ 36 ค่าความสว่าง (L*) ของไส้กรอกปลาที่เติมน้ำมันในระดับต่างๆ 60

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 37 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกปลาที่เติมน้ำมันในระดับต่างๆ 61
รูปที่ 38 ผลของ soy protein isolate และ sodium caseinate ต่อค่าแรงเฉือน (a) ค่าแรง (b) และระยะทาง(c) ณ จุดแตกหักของไส้กรอกปลานวลจันทร์ 62
รูปที่ 39 ผลของ soy protein isolate และ sodium caseinate ต่อความแข็ง(a) และการยอมรับรวม(b) ของไส้กรอกปลานวลจันทร์จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส 63
รูปที่ 40 ผลของอุณหภูมิรมควันต่อค่าแรงเฉือน (a) ค่าแรง (b) และระยะทาง (c) ณ จุดแตกหักของไส้กรอกปลายี่สกเทศ (RH) ปลานวลจันทร์ (SC) และปลาดุกแอฟริกัน (AC) 64
รูปที่ 41 Autolytic activity ของเนื้อปลาดุกแอฟริกัน (AC) ปลานวลจันทร์ (SC) และปลายี่สกเทศ (RH) โดยบ่มที่ 65 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 65
รูปที่ 42 ปริมาณโอลิโกเปปไทด์ของไส้กรอกปลายี่สกเทศ (RH) ปลานวลจันทร์ (SC) และปลาดุกแอฟริกัน (AC) รมควันที่อุณหภูมิต่างๆ 66
รูปที่ 43 SDS-PAGE ของไส้กรอกปลานวลจันทร์ (SC) ปลายี่สกเทศ (RH) และปลาดุกแอฟริกัน (AC) รมควันที่อุณหภูมิต่างๆ 66
รูปที่ 44 สัดส่วนของผู้ทดสอบต่อการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาทั้ง 3 ชนิด 68
รูปที่ 45 การเปลี่ยนแปลงของ aerobic mesophiles ของไส้กรอกปลานวลจันทร์ (a) และปลาดุกแอฟริกัน (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการเก็บต่างๆ 70
รูปที่ 46 การเปลี่ยนแปลงของ aerobic psychrotrophss ของไส้กรอกปลานวลจันทร์ (a) และปลาดุกแอฟริกัน (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการเก็บต่างๆ 71
รูปที่ 47 การเปลี่ยนแปลงของ enteric bactreria ของไส้กรอกปลานวลจันทร์ (a) และปลาดุกแอฟริกัน (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการเก็บต่างๆ 72
รูปที่ 48 การเกิดเมือกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาดุกแอฟริกัน (a) และปลานวลจันทร์ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการเก็บต่างๆ จากการทดสอบโดยผู้ทดสอบ 75
รูปที่ 49 การเกิดกลิ่นเปรี้ยวในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาดุกแอฟริกัน (a) และปลานวลจันทร์(b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการเก็บต่างๆ จากการทดสอบโดยผู้ทดสอบ 75

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 50 การเกิดกลิ่นเน่าในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาดุกแอฟริกัน (a) และปลานวลจันทร์(b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียส ในสภาวะการเก็บต่างๆ จากการทดสอบโดยผู้ทดสอบ 76

รูปที่ 51 การเปลี่ยนแปลง drip loss ของไส้กรอกปลาดุกแอฟริกัน (a) และปลานวลจันทร์(b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการเก็บต่างๆ 76

บทนำ

ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ปลาเป็นอาหารที่ได้รับความนิยม เนื่องจากมีไขมันอิ่มตัวและคลอเรสเตอรอลต่ำ ลูกชิ้นและไส้กรอกปลาเป็นผลิตภัณฑ์จากปลาที่นิยมบริโภคโดยทั่วไป ซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวผลิตจากปลาทะเลเป็นหลัก แต่เนื่องจากปริมาณปลาทะเลที่ลดลง ปริมาณและคุณภาพของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตจึงลดลงและไม่สามารถควบคุมได้ ซึ่งเป็นปัญหาต่ออุตสาหกรรมแปรรูปดังกล่าวทั้งในเชิงการควบคุมคุณภาพและต้นทุน การหาวัตถุดิบปลาแหล่งใหม่ที่มีคุณภาพดีกว่าหรือเทียบเท่าปลาทะเล จึงน่าจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ประมงของประเทศ

ปลาน้ำจืดมีการเลี้ยงอย่างแพร่หลาย โดยในปี 2544 ปริมาณผลผลิตปลาน้ำจืดทั่วประเทศประมาณ 280,000 ตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 9.3 พันล้านบาท (www.fisheries.go.th) ปลาน้ำจืดที่สำคัญสามารถแสดงได้ดังตารางที่ 1 การบริโภคอยู่ในรูปปลาสดเป็นส่วนใหญ่ การแปรรูปปลาน้ำจืดให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่มเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มมูลค่าปลาน้ำจืด ลดปัญหาความไม่แน่นอนในเรื่องราคา และยังเป็นการเพิ่มรายได้และอาชีพให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงปลาอีกด้วย ปลานิลเป็นปลาที่เกษตรกรนิยมเลี้ยง เนื่องจากเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว ในปัจจุบันยังไม่มีการแปรรูปปลานิล นอกจากบริโภคในรูปปลาสด หรือส่งออกในรูปปลาแช่แข็งเท่านั้น ส่วนปลายี่สกเป็นปลาที่เลี้ยงง่ายราคาถูก (10-15 บาท/กิโลกรัม) แม้ว่าในปัจจุบัน มีการรวมตัวกันเพื่อแปรรูปผลิตภัณฑ์ปลาน้ำจืดชนิดอื่นๆ เช่น ปลาดุก ปลาช่อน อยู่บ้าง แต่ก็เป็นการผลิตโดยอาศัยประสบการณ์ลองผิดลองถูกของกลุ่มเกษตรกรเป็นสำคัญ โดยยังมิได้คำนึงถึงกระบวนการผลิตที่ถูกต้องตามหลักวิชาการ นอกจากนี้ยังอาจขาดความรู้ความเข้าใจในธรรมชาติ (nature) ของวัตถุดิบและส่วนผสม รวมถึงกระบวนการผลิตที่ใช้ และยังขาดการพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่ที่เป็นระบบเพื่อตอบสนองความต้องการของตลาด ด้วยสาเหตุดังกล่าว ผลิตภัณฑ์ปลาน้ำจืดแปรรูปโดยกลุ่มเกษตรกรจึงยังไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคส่วนใหญ่เท่าที่ควร

ปลาน้ำจืดแต่ละชนิดมีสมบัติภายในเฉพาะตัว (intrinsic propoerties) ที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ใช้เป็นเกณฑ์ในการกำหนดส่วนผสม (ingredients) และกระบวนการผลิตที่เหมาะสม โดยธรรมชาติเนื้อปลามีเอนไซม์จำพวกโปรตีเนสอยู่ในเซลล์กล้ามเนื้อ (endogenous proteinases) ซึ่งโปรตีเนสบางชนิดสามารถย่อยสลายโปรตีนมัยโอฟิบริลลาร์ (myofibrillar proteins) โดยเฉพาะมัยโอซิน (myosin) ที่อุณหภูมิสูงประมาณ 50-65 องศาเซลเซียส หรือที่เรียกว่า "heat-activated proteinases" ดังนั้นในเนื้อปลาหลายๆ ชนิดที่มีเอนไซม์เหล่านี้ เช่น ปลานิล (Yongsawatdigul et al., 2000) ปลา Pacific whiting (*Merluccius productus*) ปลา arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*) (Patashnik et al., 1982; Erickson et al., 1982; Greene and Babbitt, 1990) เมื่อได้รับความร้อน โปรตีนกล้ามเนื้อจะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ในกลุ่มนี้ จึงไม่สามารถเกิดเจล (gel) ที่มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดีได้ ผลิตภัณฑ์จึงมีเนื้อสัมผัสยุ่ยเละ ไม่ยืดหยุ่น การเติมสารยับยั้งเอนไซม์ เช่น ไข่ขาวผง โปรตีนถั่วเหลือง สารสกัดจากมันฝรั่ง หรือเลือดวัวผงสามารถลดการเสื่อมสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อโดยโปรตีเนสได้ ทำให้ได้เจลที่มีเนื้อสัมผัสดีขึ้น (Morrissey et al., 1993) ปริมาณที่เหมาะสมสำหรับสารยับยั้งแต่ละชนิดจะแตกต่างกันขึ้นกับประเภทของผลิตภัณฑ์ โดยปกติอยู่ในช่วง 0.5-3% ข้อเสียของไข่ขาวผงคืออาจเกิดกลิ่นไข่ (sulfurous odor) หากเติมในปริมาณสูงเกินไป ส่วนโปรตีนถั่วเหลืองและเลือดวัวผงทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีเหลืองแก่จึงไม่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการความขาวเช่น ลูกชิ้น นอกจากนี้เลือดวัวผงมีราคาแพงต้องนำเข้าจากต่างประเทศ และยังมีปัญหาในเรื่องความปลอดภัยเกี่ยวกับ

โรควัวบ้า (Mad cow disease) ซึ่งเคยระบาดในกลุ่มประเทศยุโรปและสหรัฐอเมริกาซึ่งเป็นผู้ผลิตเลือดวัวผงที่สำคัญของโลก

ตารางที่ 1 ผลผลิตและมูลค่ารวมของปลาน้ำจืดในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2544

ชนิดของปลา	ผลผลิตรวม (ตัน)	มูลค่า (พันบาท)
ปลานิล (Nile tilapia)	84,480	2,269,588
ปลาดุก (Walking catfish)	77,905	2,032,625
ปลาตะเพียน (Thai silver carp)	42,152	1,119,297
ปลาสลิด (Snake skin gourami)	22,519	898,385
ปลาสวาย (Striped catfish)	14,638	215,691
ปลาช่อน (Striped snake-head)	6,830	345,610
ปลาไน (Common carp)	4,773	146,659
ปลายี่สกเทศ (Rohu)	1,610	44,525
ปลาแรด (Giant gourami)	1,167	65,380
ปลานวลจันทร์ (Small scale mud carp)	799	17,007
ปลาหมอไทย (Common climbing perch)	403	16,428

ที่มา: กรมประมง) www.fisheries.go.th)

นอกจากเอนไซม์โปรติเนสแล้ว ในกล้ามเนื้อปลายังมีเอนไซม์ทรานสกลูทามิเนส (transglutaminase) ซึ่งเร่งปฏิกิริยาการเชื่อมโยงสายโปรตีนระหว่างกรดอะมิโนกลูทามีน (glutamine) และ ไลซีน (lysine) เกิดพันธะโคเวเลนท์ระหว่างสายโปรตีน (Folk, 1980) จึงทำให้เกิดโครงสร้างร่างแหของเจลที่แข็งแรง ทรานสกลูทามิเนสมีหลายชนิด แบบที่ 1 (type I) เอนไซม์จับอยู่กับ membrane ของไลโซโซม หรือไมโตคอนเดรีย (mitochondria) ดังนั้นในการสกัดเอนไซม์ส่วนนี้อาจหลุดออกมาไม่หมด เอนไซม์แบบที่ 2 (type II) อยู่ในส่วนของ cytosol ซึ่งสามารถละลายออกมาได้เมื่อสกัด ขนาดของเอนไซม์จะแตกต่างตามแหล่ง เช่นทรานสกลูทามิเนสจากตับหนูตะเภาเป็นเปปไทด์สายเดี่ยว (monomer) มีขนาด 75-80 กิโลดาลตัน ในขณะที่ทรานสกลูทามิเนสจากเชื้อรา *Physarum polycephalum* มี 2 หน่วยย่อย (subunit) ซึ่งมีขนาด 77 กิโลดาลตัน ส่วน plasma factor XIII ซึ่งจัดเป็นรูปหนึ่งของทรานสกลูทามิเนสมี 4 หน่วยย่อย และมีขนาด 300-350 กิโลดาลตัน (Ashie and Lanier 2000) ทรานสกลูทามิเนสที่พบในปลาเป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วยโปรตีนสายเดียว (monomer) และมีการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์นี้ในปลาไน (*Cyprius carpio*) ปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ปลา chum salmon (*Oncorhynchus keta*) ปลา atka mackerel (*Pleurogrammus azonus*) และ white croaker (*Argyrosomus argentatus*) (Kishi et al., 1991; Kumazawa et al., 1997; Nozawa et al.,

1997) ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ประกอบด้วยการเชื่อมต่อของกรดอะมิโน 5 ตัวคือ Tyr-Gly-Gln-Cys-Trp และเนื่องจากซิสติอีน (cys) มีบทบาทในการเร่งปฏิกิริยา (Folk, 1980) ทรานสกลูทามิเนสจึงถูกยับยั้งโดยสารที่ทำปฏิกิริยากับกลุ่มซิสติอีน เช่น N-ethylmaleimide (NEM), iodoacetic acid (IAA), p-chloromercuribenzoate (PCMB) นอกจากนี้ทรานสกลูทามิเนสยังถูกยับยั้งโดย Cu^{2+} Zn^{2+} (Kumazawa et al., 1997) เนื่องจากไอออนเหล่านี้สามารถจับกับซิสติอีนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์

ทรานสกลูทามิเนสจากเนื้อปลาจำเป็นต้องมีแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) เป็นสารกระตุ้น (activator) ซึ่งเป็นคุณสมบัติจำเพาะของทรานสกลูทามิเนสจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ส่วนทรานสกลูทามิเนสจากเชื้อจุลินทรีย์ไม่จำเป็นต้องใช้แคลเซียมไอออนในการเร่งปฏิกิริยา Folk and Cole (1966) รายงานว่าแคลเซียมไอออนเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบ (conformation) ของทรานสกลูทามิเนส ทำให้กลุ่ม SH ของซิสติอีนอยู่ในตำแหน่งที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยา ปริมาณแคลเซียมไอออนที่ต้องการสำหรับทรานสกลูทามิเนสแตกต่างกันตามแหล่งของเอนไซม์ ปริมาณแคลเซียมไอออนที่เหมาะสมสำหรับทรานสกลูทามิเนสจากปลา walley pollock คือ 3 มิลลิโมลาร์ ในขณะที่ปริมาณที่เหมาะสมสำหรับปลา red sea bream และปลาไนคือ 0.5 และ 5 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ (Kishi et al., 1991; Kumazawa et al., 1997; Yasueda et al., 1994) Kamath et al. (1992) พบว่าการบ่มเนื้อปลาบดที่ผสมเกลือแล้วที่ 25 หรือ 40°C มีผลให้ค่า shear stress ของเจลเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการเชื่อมโยงสายโปรตีนโดยทรานสกลูทามิเนส Worratao and Yongsawatdigul (2003) พบว่าทั้งปลานิล และปลายี่สกมีกิจกรรมทรานสกลูทา-มิเนส 60.78 และ 11.36 Unit/g sample ตามลำดับ ซึ่งเป็นปริมาณที่ค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับปลาในต่างประเทศ (Araki and Seki, 1993) โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยาของทรานสกลูทามิเนสอยู่ที่ 50°C, pH 7.5 เนื่องจากปลาแต่ละชนิดมีปริมาณโปรติเนสและทรานกลูทามิเนสที่แตกต่างกัน จึงทำให้มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่แตกต่างกัน ปลาที่มีโปรติเนสในปริมาณสูง จะเกิดลักษณะเนื้อสัมผัสที่ยุ่ยละเมื่อได้รับความร้อน ในขณะที่ปลาซึ่งมีทรานกลูทามิเนสในปริมาณสูงจะมีลักษณะเนื้อสัมผัสยืดหยุ่นเมื่อนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ ดังนั้นวิธีปรับปรุงเนื้อสัมผัสของเจลจากเนื้อปลาน้ำจืดคือพยายามลดกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนส และพยายามเร่งกิจกรรมทรานสกลูทามิเนส Yongsawatdigul et al. (2000) พบว่ากิจกรรมโปรติเนสในปลายี่สกเทศและปลานิลสูงสุดที่ 65 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0.5% โดยปลายี่สกมีระดับของกิจกรรมโปรติเนสสูงกว่าปลานิล จากการศึกษาสารยับยั้ง สามารถจำแนกกลุ่มได้เป็น serine proteinase ข้อมูลดังกล่าวสามารถนำมาประยุกต์ใช้พัฒนากระบวนการผลิตลูกชิ้นและไส้กรอกปลานิลและปลายี่สกให้มีคุณภาพเจลที่ดีได้ โดยพยายามหลีกเลี่ยงการให้ความร้อนที่ 60-65°C แต่เลือกใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง และเลือกใช้สารยับยั้งจำพวกไข่ขาวผง หรือโปรตีนจากถั่วเหลืองซึ่งมีปริมาณสารยับยั้ง serine proteinase อยู่ในระดับสูง ส่วนการเร่งปฏิกิริยาทรานสกลูทามิเนสสามารถทำได้โดยการบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิเหมาะสมสำหรับทรานสกลูทามิเนส (30-45°C) หรือเพิ่มปริมาณแคลเซียมไอออนในปริมาณ 0.05-0.2% ซึ่งเป็นไอออนที่จำเป็นต่อการเร่งปฏิกิริยาของทรานสกลูทามิเนส (Wan et al., 1994)

สตาร์ช (starch) เป็นส่วนผสมหนึ่งที่สำคัญสำหรับผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นและไส้กรอก สตาร์ช ซึ่งมีปริมาณอะไมโลสสูงเช่น คอร์นสตาร์ช (corn starch) และ วีทสตาร์ช (wheat starch) ทำให้ได้เจลที่อ่อนนุ่ม ส่วนแป้งที่มีปริมาณอะไมโลเพคตินสูง เช่น แป้งมันสำปะหลัง จะทำให้ได้เจลที่มีการยืดเกาะ (cohesive) สูง การเติมสตาร์ชเป็นการเพิ่มผลผลิต (yield) และทำให้เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสที่ยืดหยุ่นพอเหมาะไม่เหนียวกระด้าง (ruberry) นอกจากนี้ยังเพิ่มความคงตัวในผลิตภัณฑ์เจลเนื้อปลาบดที่แช่เย็นหรือแช่แข็ง (Park, 2000) การแช่แข็งลูกชิ้นเป็นแนวทางหนึ่งใน

การยืดอายุของผลิตภัณฑ์ แต่ปัญหาที่พบในลูกชิ้นแช่แข็งคือหลังจากนำมาทำละลาย (thaw) ผลิตภัณฑ์เกิดการสูญเสียน้ำ (drip loss) เนื้อสัมผัสของเจลจึงเหนียวกระด้าง Kim and Lee (1987) พบว่าการใช้ cross-linking starch สามารถช่วยลดการสูญเสียน้ำหลังจากทำละลายเจลเนื้อปลาบดแช่แข็ง ดังนั้น การเลือกใช้แป้งที่เหมาะสมจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการแช่แข็งผลิตภัณฑ์เพื่อยืดอายุการเก็บโดยไม่เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสที่เหนียวกระด้าง

นอกจากการแช่แข็งแล้ว การยืดอายุผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นและไส้กรอกสามารถใช้เทคโนโลยีการปรับแปรบรรยากาศการบรรจุ Ritcher and Banwart (1983) พบว่าปลาบรรจุในถุง nylon-surlyn ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 80% เกิดการเน่าเสียช้ากว่าการบรรจุในสภาวะที่ปกติที่มีอากาศ Farber (1991) รายงานว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในปลาได้แก่ *Pseudomonas, Moraxella, Acinetobacter, Flavobacterium,* และ *Cytophaga* ปริมาณและชนิดของแก๊สซึ่งเหมาะสมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้แตกต่างกันตามแต่ชนิดของปลาและผลิตภัณฑ์

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือ

1. พัฒนากระบวนการผลิตลูกชิ้นและไส้กรอกปลาน้ำจืด
2. ศึกษาอายุการเก็บของลูกชิ้นและไส้กรอกโดยใช้เทคนิคการปรับแปรบรรยากาศการบรรจุ (Modified atmosperic packaging)

วิธีการวิจัย

1. ตัวอย่างปลา

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาที่เลี้ยงโดยฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีในเชิงการค้า ดังนั้นการเลี้ยงจึงคล้ายคลึงกับบ่อปลาของเกษตรกร ปลาที่นำมาใช้ในการศึกษามีอายุประมาณ 6-8 เดือน มีน้ำหนักประมาณตัวละ 400-500 กรัม จับปลาใส่น้ำแข็งเป็นเวลาประมาณ 30 นาที หลังจากปลาสลบแล้ว ชำแหละควักไส้ แล่เนื้อ และลอกหนัง ปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) และ ปลานวลจันทร์ *(Cirrhiana microlepis)* ซื้อจากตลาดค้าส่งปลาน้ำจืดประจำจังหวัดนครราชสีมา (ตลาดย่าโม) ซึ่งมีน้ำหนักประมาณตัวละ 500-600 กรัม ปลาดุกแอฟริกัน (*Clarias garispinus*) ซื้อจากบ่อเลี้ยงปลาเกษตรกรมีน้ำหนักประมาณตัวละ 900-1,200 กรัม ฆ่าปลาโดยการทุบหัว จากนั้นบรรจุใส่กล่องโฟมบรรจุน้ำแข็ง และขนส่งมายังห้องปฏิบัติการแปรรูปเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ซึ่งใช้เวลาประมาณ 20 นาที จากนั้นทำความสะอาด ควักไส้ แล่เนื้อ และลอกหนังทันที บดเนื้อปลาทุกชนิดโดยใช้เครื่องบด (Biro 8-22, Biro Manufacture, USA) ซึ่งรูบดมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร วิเคราะห์ความชื้น (AOAC, 2000) ปริมาณโปรตีนในรูปไนโตรเจนรวมทั้งหมด (AOAC, 2000) ปริมาณไขมัน (Folch et al., 1957) และเถ้า (AOAC, 2000)

2. การพัฒนากระบวนการผลิตลูกชิ้นจากปลาน้ำจืด

2.1 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเซทติ้งลูกชิ้น

เตรียมตัวอย่างลูกชิ้นปลานิล ปลานวลจันทร์ และปลายี่สกเทศ โดยผสมแป้งสาลี 1.8% เกลือ 2.2% พอลีฟอสเฟต 0.3%, น้ำตาล 1%, พริกไทย 0.25%, และแคลเซียมคลอไรด์ 0.22% เติมน้ำแข็งเพื่อให้ความชื้นสุดท้ายของลูกชิ้นเป็น 83 % ของน้ำหนักรวมทั้งหมด สับผสมโดยใช้ vacuum silent cutter (UM 5, Stephan Co., Germany) เป็นเวลา 6 นาที แบ่งขึ้นรูปโดยบรรจุใส่ casing เส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร บ่มตัวอย่างที่ 40, 50, 55, 65 เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส 15 นาที ส่วนตัวอย่างควบคุมให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส โดยไม่ได้บ่ม จากนั้นทำให้เย็นโดยแช่ในน้ำผสมน้ำแข็ง (อุณหภูมิประมาณ 2-5 องศาเซลเซียส) นาน 15 นาที สะเด็ดน้ำ บรรจุใส่ถุงพลาสติก เพื่อวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture Analyzer (Stable Micro System, UK) โดยใช้หัววัด spherical probe ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร และหัววัด Warner bratzler อัตราการเคลื่อนที่ของหัววัด 1 มิลลิเมตร/วินาที สุ่มวัดตัวอย่างละ 5 ซ้ำ วิเคราะห์ปริมาณโอลิโกเปปไทด์ในแต่ละตัวอย่างตามวิธีของ Yongsawatdigul and Piyadhammaviboon (2004) วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนโดย SDS-PAGE (Laemmli, 1970)

2.2 ปริมาณและชนิดของแป้งที่เหมาะสม

สับผสมลูกชิ้นปลานวลจันทร์ ปลานิล ปลายี่สกเทศ เติมแป้งมันสำปะหลัง (TF) และ วีทสตาร์ช (wheat starch, WS) โดยแปรระดับ 1.8, 3.6 และ 5.4 % และส่วนผสมอื่นๆ ดังรายละเอียดใน 2.1 ขึ้นรูปลูกชิ้นให้มีขนาดเส้น

ผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร บ่มที่ 55 องศาเซลเซียส 30 นาที และให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส 15 นาที นอกจากนี้ บรรจุตัวอย่างใน casing ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร และให้ความร้อนในสภาวะเช่นเดียวกับลูกชิ้น เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture Analyze (Stable Micro System, UK) และการทดสอบทางประสาทสัมผัส วิเคราะห์ค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (Chroma meter CR-300, Minolta, Japan)

2.3 คุณสมบัติทางเนื้อสัมผัสของเจลปลานวลจันทร์ล้างน้ำ

การศึกษาในส่วนนี้ไม่ได้อยู่ในแผนเดิมที่วางไว้เดิม แต่คาดว่าจะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้จริง เนื่องจากผู้ผลิตลูกชิ้นปลาบางราย นิยมนำเนื้อปลาล้างน้ำ เพื่อเพิ่มค่าความเหนียวและความยืดหยุ่นของเจล อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลว่าการล้างเนื้อปลาเพื่อกำจัดซาร์พลาสมิกโปรตีนเป็นสิ่งจำเป็นหรือไม่ในปลาน้ำจืด และการล้างมีผลต่อคุณภาพของเจลปลาน้ำจืดมากน้อยเพียงใด ในการศึกษานี้ใช้ปลานวลจันทร์ชนิดเดียวเนื่องจากเป็นปลาที่มีศักยภาพในการใช้เป็นวัตถุดิบมากที่สุดเมื่อพิจารณาในด้านผลผลิต และราคา

ทำความสะอาดปลานวลจันทร์สด ตัดหัว ควักไส้ และล้างทำความสะอาด จากนั้นนำเข้าเครื่องแยกเนื้อ (deboner) ซึ่งมีขนาดรูตะแกรง 5 มิลลิเมตร นำเนื้อปลาที่ได้ผ่านเครื่องบดเนื้อ (Biro 8-22, Biro Manufacturing, USA) ซึ่งมีรูบดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร แบ่งตัวอย่างเนื้อปลาบดออกเป็น 6 ส่วน คือ (1) เนื้อปลาบด (2) เนื้อปลาบดผ่าน refiner (CZ-112A. Chuang Zong Machine, Taiwan) ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางของรูตะแกรง 2 มิลลิเมตร (3) เนื้อปลาล้างน้ำ 1 ครั้ง โดยนำเนื้อปลาผสมกับน้ำเย็นในอัตราส่วน 1 ต่อ 3 กวนเป็นเวลา 5 นาที กรองผ่านผ้าขาวบางแล้วกำจัดน้ำออก (4) เนื้อปลาล้างน้ำ 1 ครั้งและผ่าน refiner (5) เนื้อปลาล้างน้ำ 2 ครั้ง โดยในครั้งที่ 2 ใช้น้ำเกลือเข้มข้น 0.5% (6) เนื้อปลาล้างน้ำ 2 ครั้งตามตัวอย่างที่ (5) และผ่าน refiner

เนื่องจากการศึกษาในส่วนนี้ต้องการทราบผลของการล้างและ refining ต่อคุณสมบัติการเกิดเจล จึงเตรียมเพสโดยใช้เกลือ 2.2, แคลเซียมคลอไรด์ 0.22% และพอลีฟอสเฟต 0.3% เท่านั้นโดยไม่เติมแป้ง เพื่อไม่ต้องการให้แป้งมีส่วนช่วยเสริมการค่าเจลของโปรตีนกล้ามเนื้อ ปรับความชื้นของเจลในทุกตัวอย่างให้ได้ 83% เตรียมเจลด้วย vacuum silent cutter (UM 5, Stephan Co., Germany) เติมสารละลาย และสับผสมต่อเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นสับผสมที่ความเร็วรอบสูงภายใต้สภาวะสุญญากาศเป็นเวลา 2 นาที บรรจุเพส (paste) ใน casing ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นขนาดมาตรฐานที่ใช้ในอุตสาหกรรมซูริมิ นำไปบ่มที่ 40, 55, 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปให้ความร้อนต่อที่ 90 องศาเซลเซียส 30 นาที ส่วนตัวอย่างควบคุมให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส 30 นาที โดยไม่ได้บ่ม จากนั้นทำให้เย็น และวิเคราะห์ค่าแรงและระยะทาง ณ จุดแตกหักด้วย spherical probe วิเคราะห์ปริมาณโอลิโกเปป์ไทด์ตามวิธีของ Yongsawatdigul and Piyadhammaviboon (2004) การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนโดย SDS-PAGE (Laemmli, 1970) และวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (Chroma meter CR-300, Minolta, Japan)

2.4 การศึกษาอายุการเก็บของลูกชิ้นปลาน้ำจืด

ศึกษาอายุการเก็บของลูกชิ้นปลานวลจันทร์ที่ผลิตจากเนื้อปลาบดและเนื้อปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ 1 ครั้ง โดยมีส่วนผสมของเกลือ 2.2% แป้งมันสำปะหลัง 3.6% น้ำตาลทราย 1% แคลเซียมคลอไรด์ 0.22% พอลีฟอสเฟต 0.3% พริกไทย 0.25% และผงชูรส 0.17% โดยเติมน้ำแข็งให้มีความชื้นสุดท้ายประมาณ 83% ขึ้นรูปลูกชิ้นด้วยเครื่องปั้นลูกชิ้นให้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.2 เซนติเมตร ให้ความร้อนที่ 55 องศาเซลเซียส 30 นาที ก่อนนำไปให้ความร้อนต่อ

ที่ 90 องศาเซลเซียส 15 นาที ทำให้เย็นในน้ำผสมน้ำแข็ง จากนั้นสะเด็ดน้ำ แบ่งตัวอย่างบรรจุใส่ถุง Linear low density polyethylene(LLDPE)/nylon ถุงละ 200 กรัม โดยปิดผนึกแบบธรรมดาซึ่งยังคงมีอากาศอยู่ภายในถุงบรรจุ (Non vac) ปิดผนึกแบบสุญญากาศ (Vac) ปิดผนึกโดยปรับแปรบรรยากาศการบรรจุ (MAP) ให้มีอัตราส่วนของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อไนโตรเจน 25:75 และ 50:50 โดยใช้เครื่องปิดผนึก (Vac-star S225, New wave manufacturing, Switzerland) ตรวจวัดปริมาณก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ในถุงบรรจุด้วย PacCheck ™ 650 (Mocon, USA). เก็บตัวอย่างในห้องเย็นอุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส ทำการทดลองโดยใช้ตัวอย่างปลา 2 lot (replication) สุ่มวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางจุ- ลินทรีย์ เคมี กายภาพ และลักษณะทางประสาทสัมผัสในวันที่ 2, 4, 6, 10, 15 วัน สำหรับตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP ส่วนตัวอย่างที่บรรจุแบบ Non vac และ Vac มีลักษณะปรากฏของการเน่าเสียที่เด่นชัดในวันที่ 10 จึงวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของตัวอย่างจนถึงวันที่ 10 เท่านั้น

2.4.1 *การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์*

ติดตามการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียในกลุ่ม mesophile และ psychrophile โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar (PCA, Merck, Germany) โดยบ่มที่ 35 และ 7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ 7-10 วัน ตามลำดับ โดยบ่มในสภาวะที่มีออกซิเจนและในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ใน anaerobic jar ที่บรรจุ anaerogen (Oxiod, England) นอกจากนี้ติดตามการเปลี่ยนแปลงของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Violet red bile glucose agar (VRBG, Merck, Germany) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ติดตามการเปลี่ยนแปลงของแลคติคแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ DeMan Rogosa Sharpe agar (MRS, Merck, Germany) บ่มตัวอย่างในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน ทำการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำ (duplication) ในแต่ละตัวอย่าง

2.4.2 *การเปลี่ยนแปลงทางเคมี*

วัดค่า pH ของตัวอย่างโดยใช้ pH meter (Sentron, USA) ที่อิเลคโทรด (electrode) สามารถแทงเข้าตัวอย่าง โดยสุ่มวัดถุงละ 5 ตัวอย่าง

2.4.3 *การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ*

วัดการเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อสัมผัสโดยใช้หัววัด Warner bratzler ที่อัตราการเคลื่อนที่ของหัววัด 1 มิลลิเมตร/วินาที โดยสุ่มวัดตัวอย่างละ 5 ซ้ำ

วัดปริมาณการสูญเสียน้ำ (drip loss) โดยวางตัวอย่างซึ่งทราบน้ำหนักแน่นอน (ประมาณ 100 กรัม) ระหว่างกระดาษซับน้ำ (paper towel) 2 ชั้น วางแผ่นน้ำหนัก 1.5 กิโลกรัมบนตัวอย่างนาน 1 นาที จากนั้นซับน้ำและชั่งน้ำหนักตัวอย่าง คำนวณปริมาณน้ำที่สูญเสียหลังการกดทับ เป็นร้อยละเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้น ทำการทดลอง 2 ซ้ำในแต่ละสภาวะการเก็บ

วัดการเปลี่ยนแปลงของค่า L*,a*,b* โดยใช้เครื่องวัดสี (Chroma meter CR-300, Minolta, Japan) และคำนวณค่าความขาว (L*-3b*) (Park, 2000)

2.4.4 *การเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัส*

ประเมินการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏคือการเกิดเมือก กลิ่นเน่า และกลิ่นเปรี้ยวของผลิตภัณฑ์ โดยการให้คะแนนซึ่งมีช่วงคะแนน 1-5 โดยคะแนน 1 คือไม่เกิดลักษณะปรากฏดังกล่าว และ 5 คือ ลักษณะปรากฏนั้นมากที่สุด ตามตัวอย่างแบบสอบถามในภาคผนวก

2.5 <u>การผลิตลูกชิ้นปลาแช่แข็ง</u>

สับผสมลูกชิ้นปลานิล ปลานวลจันทร์และปลายี่สกเทศ โดยเติมแป้งมันสำปะหลังที่ดัดแปรแบบ cross-linking/hydroxypropylation ในระดับ 5.4, 7.2 และ 9.0 % โดยใช้ตัวอย่างที่ผสมแป้งมันสำปะหลัง 5.4% เป็นตัวอย่างควบคุม ทุกตัวอย่างเติมเกลือ 2.2% พอลีฟอสเฟต 0.3% น้ำตาล 1% พริกไทย 0.25% ผงชูรส 0.17 % แคลเซียมคลอไรด์ 0.22% และ ปรับความชื้นให้เป็น 83% ของน้ำหนักรวมทั้งหมด ขึ้นรูปลูกชิ้นให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร บ่มในน้ำอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำให้เย็นในน้ำผสมน้ำแข็งเป็นเวลา 15 นาที เก็บตัวอย่างลูกชิ้นที่สะเด็ดน้ำแล้วที่ 4-7 องศาเซลเซียสข้ามคืน ทำการแบ่งบรรจุใส่ถุงเพื่อแช่แข็งในวันต่อมา บรรจุลูกชิ้น 6 ลูก (น้ำหนักประมาณ 45-55 กรัม) โดยชั่งน้ำหนักที่แน่นอนสำหรับวัดค่า drip loss และบรรจุลูกชิ้นถุงละ 20 ลูก สำหรับวัดค่าสี เนื้อสัมผัสและประเมินผลทางประสาทสัมผัส ปิดผนึกตัวอย่างภายใต้สุญญากาศ 45 % เรียงถุงบรรจุในถาดอลูมิเนียมในห้องแช่แข็ง -20 องศาเซลเซียสโดยไม่มีการซ้อนทับกัน นำถาดอลูมิเนียมปิดทับตัวอย่าง เพื่อเพิ่มอัตราส่งผ่านความเย็น ติดตามการเปลี่ยนแปลงทุกๆ 1 เดือน เป็นระยะเวลา 4 เดือน ทำละลายตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องจนน้ำแข็งละลายหมด (ประมาณ 2 ชั่วโมง) ก่อนนำมาทดสอบ วิเคราะห์ค่าแรงเฉือนด้วยหัววัด Warner bratzler และติดตามการเปลี่ยนแปลง ความขาว drip loss ตามรายละเอียดที่กล่าวมาแล้วข้างต้น นอกจากนี้วิเคราะห์การสูญเสียน้ำเนื่องจากแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (centrifugal loss) ตามวิธีของ Kocher and Foegeding (1993) โดยตัดตัวอย่างลูกชิ้นให้มีรูปทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร สูง 10 มิลลิเมตร ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ใส่ตัวอย่างในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มีแผ่นเยื่อกรอง(membrane)ขนาด 0.45 ไมโครเมตร (Micropure, Amicon Inc., MA, USA) ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 200×g เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ลดลง คำนวณการสูญเสียน้ำเป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับน้ำหนักเริ่มต้น

วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเจลลูกชิ้นเก็บแช่แข็งนาน 4 เดือนเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้แช่แข็ง โดยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (scanning electron microscopy, SEM) แช่ตัวอย่างใน glutaraldehyde เข้มข้น 2.5% ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 7.2 ข้ามคืน ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ครั้งละ 10-15 นาที จากนั้นแช่ตัวอย่างใน OsO_4 เข้มข้น 1% ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 7.2 นาน 2 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ครั้งละ 10-15 นาที กำจัดน้ำด้วย acetone เข้มข้น 30, 50, 70, 90, 95 (1 ครั้ง) และ 100% (2 ครั้ง) ตามลำดับ ครั้งละ 10-15 นาที ทำแห้งด้วยเครื่อง vacuum evaporator (JEE-400, JEOL Ltd., Japan) เคลือบตัวอย่างด้วยทองคำโดยใช้ Ion sputtering device (JFC-1100E, JEOL Ltd., Japan) ศึกษาโครงสร้างภายในด้วยเครื่อง Scanning electron microscope (JSM-6400; JEOL Ltd., Japan) โดยใช้กำลัง 15 KV และกำลังขยาย 300 และ 800 เท่า

3. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไส้กรอก

3.1 ความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนปลาน้ำจืด

ศึกษาความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของปลาน้ำจืด 4 ชนิดคือ ปลานิล ปลานวลจันทร์ ปลายี่สกเทศ และปลาดุกแอฟริกัน โดยใช้เนื้อปลาบด (mince) และ โปรตีนมัยโอฟิบริลลาร์ (myofibrillar proteins) โดยนำเนื้อปลาแต่ละชนิดมาละลายในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์, ฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (pH 7) ปริมาตร 10 เท่าของตัวอย่าง ปั่นผสมตัวอย่างในอ่างน้ำแข็ง 15 วินาที ปั่นเหวี่ยงตัวอย่าง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 9,000 rpm 30 นาที เพื่อกำจัดโปรตีนซาร์โคพลาสมิก ทำซ้ำขั้นตอนนี้อีกครั้ง จากนั้นนำตะกอนโปรตีนละลายในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.6 โมลาร์, ฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (pH 7) ปริมาตร 6 เท่าของน้ำหนักตะกอน ปั่นผสมตัวอย่างในอ่างน้ำแข็ง 15 วินาที นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9,000 rpm 30 นาที เพื่อกำจัดเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน สารละลายส่วนใสคือโปรตีนมัยโอฟิบริลลาร์ วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry et al. (1951) และใช้ bovine serum albumin (BSA) เป็นสารมาตรฐาน

เตรียมอิมัลชันโดยปั่นผสม น้ำมันข้าวโพด 10%, โปรตีนกล้ามเนื้อในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์, ฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (pH 7) โดยใช้เครื่องปั่นผสม (homogenizer) ที่ความเร็วรอบ 60,000 rpm 15 วินาที วัดความสามารถในการเป็นอิมัลชันโดยติดตามการเปลี่ยนแปลงความขุ่น ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร (Pearce and Kinsella, 1978) ติดตามการเปลี่ยนแปลงความขุ่นทุกๆ 10 นาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง คำนวณค่าดัชนีความสามารถในการเป็นอิมัลชัน (emulsification activity index, EAI) จากสมการ

$$\text{EAI } (m^2/g \text{ protein}) = \left\{ \frac{2 \times 2.303 \times A}{L \times C \times \Phi} \right\} \times (k)$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 500 นาโนเมตร, L คือ pathlength, C คือ ความเข้มข้นของโปรตีนในสารละลาย (mg/ml), Φ คือ สัดส่วนของน้ำมันต่อปริมาตรทั้งหมด, K คือ dilution factor ของโปรตีนในสารละลาย SDS

ความเสถียรของอิมัลชันคำนวณได้จากสมการ

$$\text{ES } (\%) = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่เวลา 1 ชั่วโมง}}{\text{ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่เวลาเริ่มต้น}} \times 100$$

3.2 ผลของปริมาณน้ำมันต่อลักษณะเนื้อสัมผัส

ศึกษาผลของระดับการเติมน้ำมันต่อลักษณะเนื้อสัมผัสและการยอมรับของไส้กรอกปลานวลจันทร์ ปลายี่สกเทศ และปลาดุกแอฟริกัน โดยกำหนดให้ส่วนผสมหลัก (major component) คือ เนื้อปลา น้ำมันและน้ำ เป็น 100 % และแปรสัดส่วนระหว่างเนื้อปลาต่อน้ำมัน คือ 65:15, 60:20, 55:25, 50:30 โดยกำหนดให้ปริมาณน้ำแข็งที่เติมคือ 20% น้ำมัน ส่วนผสมรอง (minor component) คือ แป้ง เครื่องเทศ น้ำตาลทราย โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate)

เกลือ ผงชูรส และ พอลีฟอสเฟต คิดเป็น 2.2, 1.5, 1.1, 0.95, 0.95, 0.14 และ 0.24% ของน้ำหนักทั้งหมด ตามลำดับ สับผสมตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่อง silent cutter (Heinrich Wedel, Hohentengen, Germany) เป็นเวลา 7-10 นาที บรรจุใส่ cellophane casing ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร รมควันที่ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาทีในตู้รมควัน (ESR-500, Nu-Vu Food Service Systems, Menominee, MI, USA) โดยใช้ขานอ้อยแห้งเป็นเชื้อเพลิง และให้ความร้อนที่ 85 องศาเซลเซียส 10 นาที จากนั้นทำให้เย็นโดยแช่ในน้ำผสมน้ำแข็งเป็นเวลา 15 นาที เก็บตัวอย่างวิเคราะห์สีด้วยเครื่องวัดสี (Chroma meter CR-300, Minolta, Japan) วิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสโดย Qunatitative Descriptive Analysis (QDA) และการวัดด้วยเครื่อง Texture Analyzer ด้วยหัววัด Warner bratzler และ spherical probe เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร โดยใช้สภาวะการทดสอบดังในรายละเอียด 2.1

3.3 ผลของอุณหภูมิรมควันต่อลักษณะเนื้อสัมผัส

ศึกษาอุณหภูมิการรมควันต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของไส้กรอก เนื่องจากเอนไซม์ในกล้ามเนื้อปลาทั้งโปรติเนสและทรานสกลูทามิเนสมีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้ในการรมควันจะมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสอง เตรียมไส้กรอกปลานวลจันทร์และปลายี่สกเทศในสัดส่วนเนื้อปลาต่อน้ำมัน 55:25 และเตรียมไส้กรอกปลาดุกแอฟริกันในสัดส่วนเนื้อปลาต่อน้ำมัน 65:15 เติมน้ำแข็ง 20% ในไส้กรอกปลาทุกชนิด ใช้ส่วนผสมรองในปริมาณเดียวกับที่ระบุในข้อ 2.1 บรรจุใส่ casing ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร รมควันที่ 45, 55, และ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นให้ความร้อนที่ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำให้เย็นโดยแช่ในน้ำผสมน้ำแข็ง วิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture Analyzer ตามรายละเอียดข้างต้น วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของโอลิโกเปปไทด์ตามวิธีของ Yongsawatdigul and Piyadhammaviboon (2004) ติดตามการเปลี่ยนแปลงของของโปรตีนกล้ามเนื้อโดย SDS-PAGE (Laemmli, 1970)

3.4 การศึกษาอายุการเก็บของไส้กรอกปลาน้ำจืด

ศึกษาอายุการเก็บของไส้กรอกปลานวลจันทร์และปลาดุกแอฟริกัน ซึ่งเป็นปลาที่มีศักยภาพในการนำมาผลิตเป็นไส้กรอก โดยใช้สูตรที่มีส่วนผสมของน้ำมัน 25 และ 15% สำหรับปลานวลจันทร์และปลาดุกแอฟริกันตามลำดับ หลังจากทำให้เย็น แบ่งบรรจุใส่ถุง LLDPE/nylon ถุงละ 200 กรัม โดยปิดผนึกแบบธรรมดา (Non vac) ปิดผนึกแบบสุญญากาศ (Vac) ปิดผนึกโดยปรับแปรบรรยากาศการบรรจุให้มีอัตราส่วนของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อไนโตรเจน 25:75 โดยใช้เครื่องปิดผนึก (Vac-star S225, New wave manufacturing, Switzerland) ตรวจวัดปริมาณก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ในถุงบรรจุด้วย PacCheck ™ 650 (Mocon, USA). เก็บตัวอย่างในห้องเย็นอุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส ทำการทดลองโดยใช้ตัวอย่างปลา 2 lot (replication) สุ่มวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ เคมี กายภาพ และลักษณะปรากฏโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส ทุกๆ 3 วัน ตามรายละเอียดใน 2.3.1-2.3.4 โดยทำการทดลองตัวอย่างละ 2 ซ้ำ (duplication)

4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลของตัวแปรที่ศึกษาโดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$) โดยใช้ Duncan's multiple range test (DMRT)

โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ SAS (1996) ในการศึกษาผลของอุณหภูมิ (เซทติ้ง/รมควัน) ต่อการเกิดเจลและอื่นๆ ใช้แผนการทดลองแบบ Split plot โดยชนิดของปลา หรือสูตรผสมเป็น main plot และอุณหภูมิเป็น sub-plot การทดสอบทางประสาทสัมผัสใช้แผนการทดลอง Randomized complete block design (RCBD) โดยใช้ซ้ำ (replication) ของการทดลองเป็น block

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. องค์ประกอบโดยประมาณ (Proximate composition) ของวัตถุดิบ

องค์ประกอบโดยประมาณของวัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษาซึ่งได้แก่ ปลานิล ปลานวลจันทร์ ปลายี่สกเทศ และปลาดุกแอฟริกัน แสดงในตารางที่ 2 ข้อมูลดังกล่าวเป็นค่าเฉลี่ยจากการเก็บข้อมูลประมาณ 10-15 ครั้งสำหรับปลาแต่ละชนิดในช่วง มกราคม 2545-เมษายน 2547 ปลานิล ปลานวลจันทร์และปลายี่สกเทศ เป็นปลาที่มีไขมันต่ำ (< 2%) ซึ่งเหมาะสำหรับการผลิตเจล เช่น ลูกชิ้น ส่วนปลาดุกแอฟริกันเป็นปลาที่มีไขมันสูง และปริมาณไขมันมีความแตกต่างระหว่าง lot ค่อนข้างสูง เนื่องจากปริมาณไขมันแปรตามขนาดของตัวปลา การใช้ปลาดุกแอฟริกันเพื่อเป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตไส้กรอก จึงควรมีการควบคุมขนาดของตัวปลาให้คงที่เพื่อลดความแปรปรวนของปริมาณไขมันในเนื้อปลา ขนาดของตัวปลาประมาณ 1-2 กิโลกรัม มีไขมันประมาณ 14% ซึ่งเป็นระดับที่เหมาะสมในการใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไส้กรอก เนื่องจากการวิเคราะห์ไขมันในการศึกษานี้ใช้วิธีของ Folch ซึ่งใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วและไม่มีขั้ว ปริมาณไขมันที่ได้จึงรวมทั้งไขมันที่ไม่มีขั้ว เช่น triacylglycerol และไขมันที่มีขั้ว เช่น phospholipids

แม้ปลายี่สกเทศและปลานวลจันทร์จะเป็นปลาที่มีก้างฝอย แต่จากการบดผ่านรูตะแกรงขนาดเล็ก (2 มิลลิเมตร) พบว่าสามารถกำจัดก้างฝอยเหล่านั้นได้ ดังจะเห็นได้ว่าปริมาณเถ้าในเนื้อปลาสองชนิดมีค่าใกล้เคียงกับปลานิลและปลาดุกแอฟริกัน ซึ่งเป็นปลาที่ไม่มีก้างฝอย

ตารางที่ 2 องค์ประกอบโดยประมาณของปลาน้ำจืด 4 ชนิด[1]

Fish	Proximate composition (%, wet basis)			
	Moisture	Fat	Crude protein	Ash
Tilapia	78.66 ±1.86	2.05 ± 0.51	16.78 ± 3.57	1.06 ± 0.16
Small scale mud carp	80.33 ± 1.23	1.74 ± 0.62	14.12 ± 4.68	1.09 ± 0.33
Rohu	80.59 ± 0.21	1.81 ± 0.51	13.92 ± 2.79	0.90 ± 0.13
African catfish	65.15 ± 4.51	30.45 ±14.35	12.51 ± 2.83	1.09 ± 0.19

[1] Mean ± standard deviation

2. การพัฒนากระบวนการผลิตลูกชิ้นจากปลาน้ำจืด

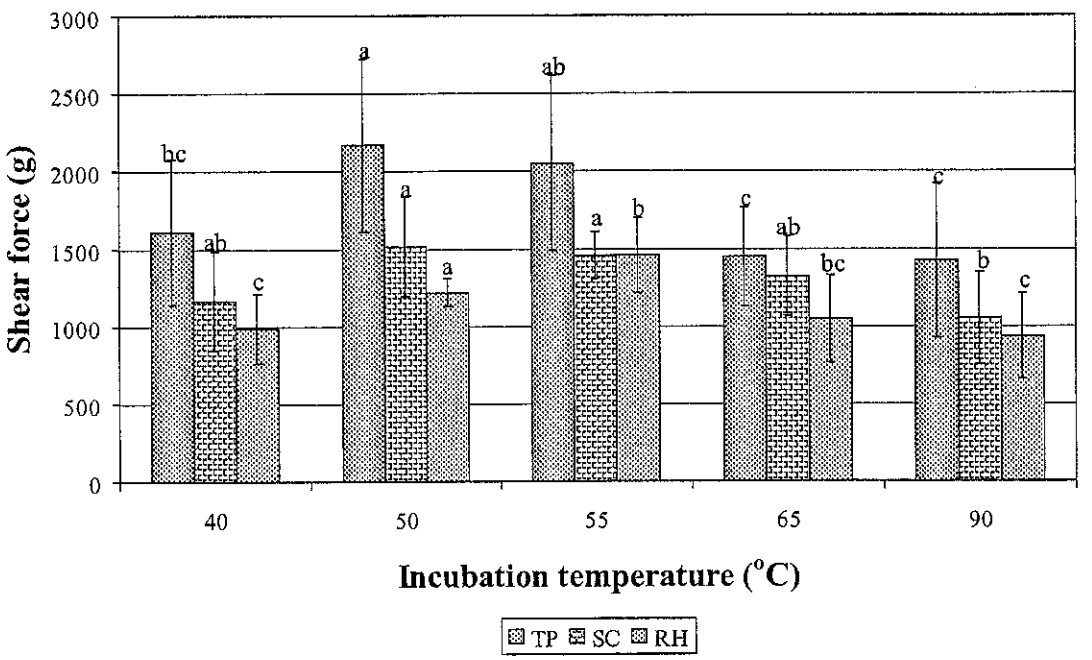
2.1 อุณหภูมิในการเซทติ้ง

โดยทั่วไปในกระบวนการผลิตลูกชิ้น จะมีการบ่มลูกชิ้นที่ขึ้นรูปในอ่างน้ำอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสนาน 20-30 นาที ก่อนทำให้สุกที่ 80-90 องศาเซลเซียส การบ่มที่ 40 องศาเซลเซียส หรือที่เรียกว่าเซทติ้ง (setting) นี้เป็นการกระตุ้นกิจกรรมของทรานสกลูทามิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการเชื่อมโยงสายโปรตีนด้วยพันธะโคเวเลนท์ ทำให้เกิดเจลที่มีโครงสร้างแข็งแรง มีความยืดหยุ่นมากขึ้น เนื่องจากปลาน้ำจืดแต่ละชนิดมีกิจกรรมของทรานสกลูทา-

มิเนสที่แตกต่างกัน และอาจมีกิจกรรมโปรตีเนสที่แตกต่างกันด้วย (จิรวัฒน์ 2547) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดเซทติ้งจึงอาจแตกต่างไปจากที่ 40 องศาเซลเซียส

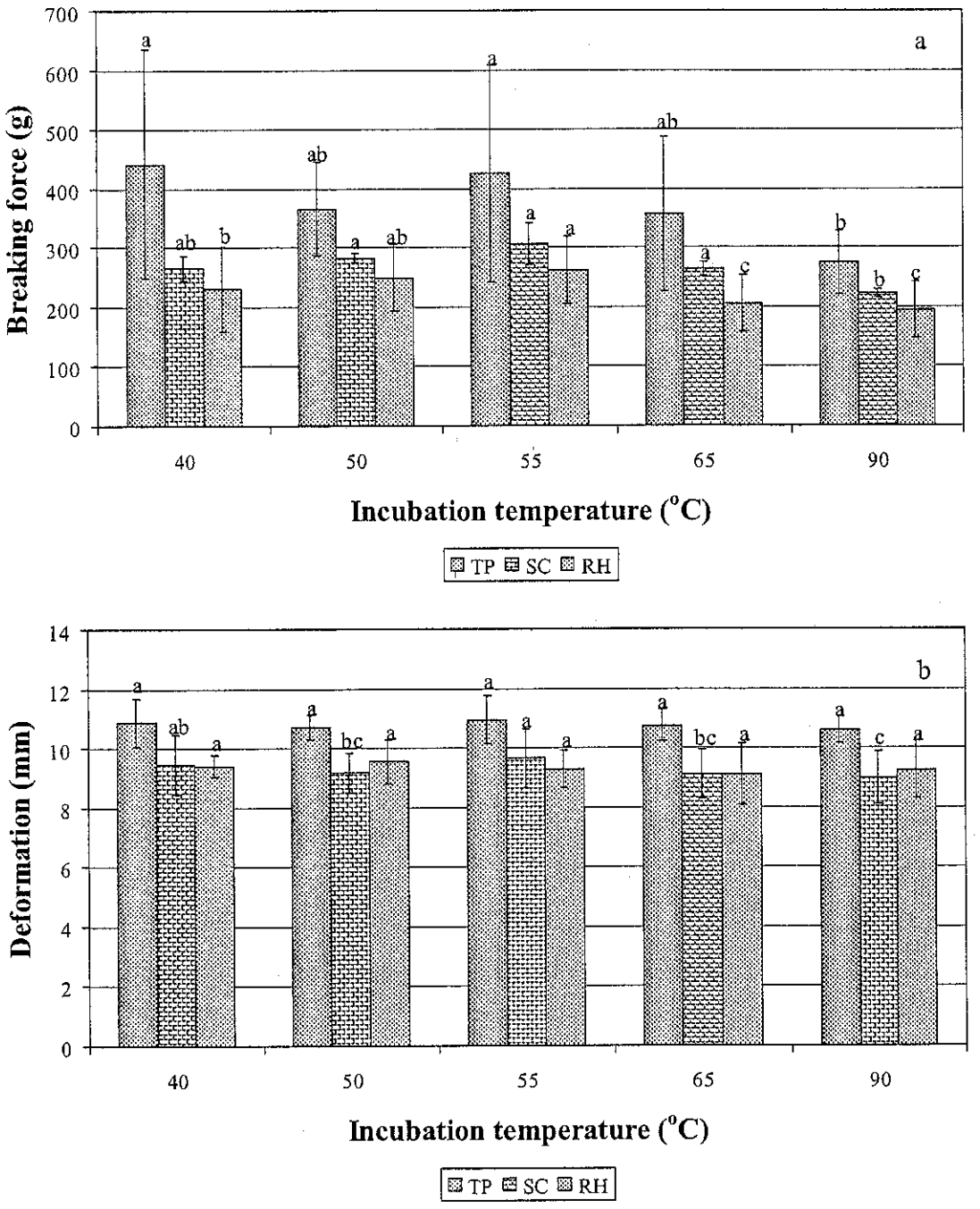
ปลานิลสามารถเกิดเจลที่ให้ค่าแรงจากการวิเคราะห์แรงเฉือนสูงสุด และมากกว่าเจลจากปลานวลจันทร์และปลายี่สกเทศ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบในปลาทั้ง 3 ชนิด การบ่มที่ 50 และ 55 องศาเซลเซียสทำให้ได้เจลที่มีค่าแรงเฉือนสูงสุด ($p<0.05$) (รูปที่ 1) ส่วนตัวอย่างซึ่งบ่มที่ 40, 65 องศาเซลเซียส และตัวอย่างที่ไม่ได้บ่มมีค่าแรงเฉือนไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และมีค่าน้อยกว่าตัวอย่างบ่มที่ 50 และ 55 องศาเซลเซียส ($p<0.05$) ดังนั้นการบ่มตัวอย่างที่ 50 องศาเซลเซียสสามารถเพิ่มความยืดหยุ่นของเจลจากปลาทั้ง 3 ชนิดได้

เมื่อพิจารณาค่าแรง ณ จุดแตกหักโดยใช้หัววัด spherical probe ซึ่งเป็นการประเมินลักษณะเนื้อสัมผัสบริเวณใจกลางของตัวอย่างเจล พบว่าเจลซึ่งบ่มที่ 40-65 องศาเซลเซียสมีค่าแรง ณ จุดแตกหักไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่มีค่ามากกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้บ่ม ($p<0.05$) (รูปที่ 2a) นอกจากนี้อุณหภูมิในการบ่มไม่มีผลต่อระยะทาง ณ จุดแตกหัก (รูปที่ 2b) เนื่องจากตัวอย่างที่ศึกษานี้บรรจุใน casing รูปทรงกระบอก การนำความร้อนไปยังจุดศูนย์กลางจะถูกจำกัดด้วยระยะเวลาในการบ่มที่ค่อนข้างสั้น (30 นาที) และการนำความร้อนจากด้านปลาย (end effect) ดังนั้นเวลาที่บริเวณใจกลางแท่งทรงกระบอกจะมีอุณหภูมิอยู่ในช่วงที่บ่มอย่างแท้จริงจึงน้อยกว่า 30 นาที ทำให้ลักษณะเจลที่บริเวณใจกลางมีค่าไม่แตกต่างกันระหว่างอุณหภูมิการบ่ม ในขณะที่การประเมินลักษณะเนื้อสัมผัสด้วย Warner bratzler เป็นการประเมินจากพื้นผิวด้านนอกที่ถูกเฉือน ซึ่งบริเวณผิวด้านนอกจะเกิดการถ่ายเทความร้อนอย่างรวดเร็วจึงเข้ารับอิทธิพลจากอุณหภูมิการบ่มอย่างแท้จริง



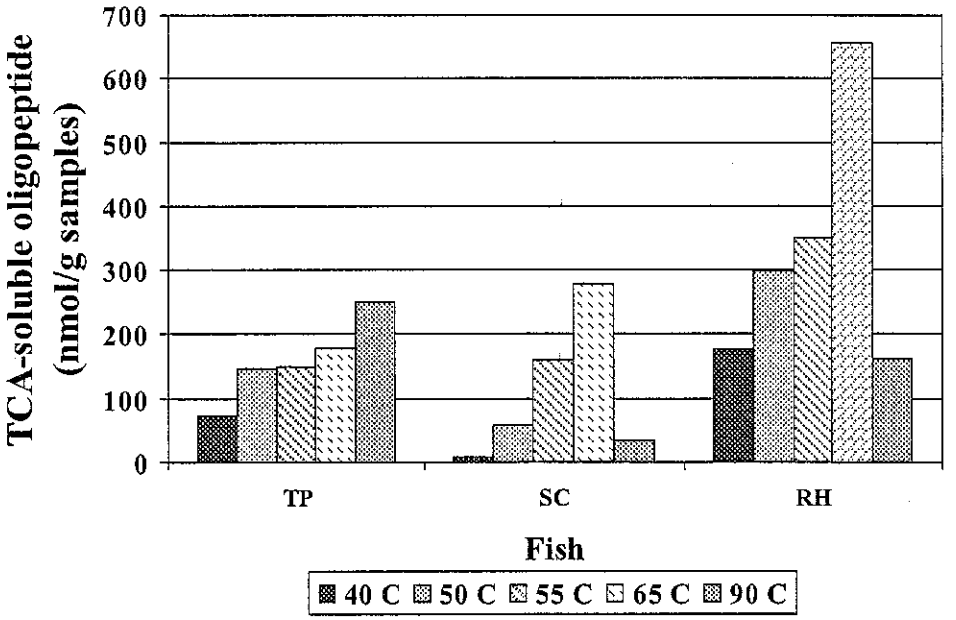
รูปที่ 1 แรงเฉือนของเจลปลาน้ำจืดบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ TP = ปลานิล SC = ปลานวลจันทร์ RH = ปลายี่สกเทศ ตัวอักษร a,b,c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ระหว่างอุณหภูมิการบ่มในปลาชนิดเดียวกัน

ศูนย์บรรณสารและสื่อการศึกษา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



รูปที่ 2 ค่าแรง (a) และระยะทาง (b) ณ จุดแตกหัก ของเจลปลาน้ำจืดบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ ตัวย่อดังรูปที่ 1 ตัวอักษร a,b,c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ระหว่างอุณหภูมิการบ่มในปลาชนิดเดียวกัน

ปริมาณ TCA-soluble oligopeptide ในตัวอย่างเจลบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ แสดงดังรูปที่ 3 ปลายี่สกเทศเกิดการเสื่อมสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อสูงสุดโดยเฉพาะเมื่อบ่มที่ 65 องศาเซลเซียส การเพิ่มอุณหภูมิการบ่มมีแนวโน้มเพิ่มปริมาณ TCA-soluble oligopeptide ในปลาทุกชนิด ผลดังกล่าวบ่งชี้ว่าปลาน้ำจืดทั้ง 3 สายพันธุ์มีกิจกรรมของ heat stable proteinase ในกล้ามเนื้อ ซึ่งเมื่อเอนไซม์ถูกกระตุ้นด้วยความร้อนจะทำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อเกิดเปปไทด์สายสั้น ทำให้ค่าแรงเฉือนของเจลบ่มที่ 65 องศาเซลเซียสลดลง (รูปที่ 1)



รูปที่ 3 ปริมาณ TCA-soluble oligopeptide ในตัวอย่างลูกชิ้นปลาน้ำจืดบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ ตัวย่อตามรูปที่ 1

การเสื่อมสลายของมัยโอซินสายหลัก (myosin heavy chain, MHC) ในลูกชิ้นปลาน้ำจืดทั้ง 3 ชนิดเมื่อบ่มที่ 65 องศาเซลเซียส ไม่เด่นชัดนัก (รูปที่ 4a-c) แม้ในตัวอย่างปลายี่สกเทศซึ่งมีค่า TCA-soluble oligopeptide สูงสุดก็ตาม (รูปที่ 3) ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเสื่อมสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อโดยโปรติเนสในปลาน้ำจืดทั้ง 3 ชนิดเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้พบการลดลงของมัยโอซินสายหลักในเจลปลานิลบ่มที่ 40 องศาเซลเซียส โดยแถบ แอคติน ยังมีความเข้มใกล้เคียงกับตัวอย่างที่ไม่ได้รับความร้อน (P) และไม่พบแถบโปรตีนขนาดเล็กที่เกิดจากการเสื่อมสลายโดยโปรติเนส ดังนั้นการลดลงดังกล่าวน่าจะเกิดขึ้นจากการเร่งกิจกรรมของทรานสกลูทามิเนสในเนื้อปลานิล Worratao and Yongsawatdigul (2003) พบว่าปลานิลเป็นปลาน้ำจืดที่มีกิจกรรมทรานสกลูทามิเนสที่สูงและเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญต่อการเชื่อมโยงสายแอคโตมัยโอซิน ปลานิลมีกิจกรรมทรานสกลูทามิเนสสูงกว่าปลานวลจันทร์และปลายี่สกเทศ (ตารางที่ 3) นอกจากนี้ Worratao and Yongsawatdigul (2004) ได้ทำบริสุทธิ์ (purify) ทรานสกลูทามิเนสจากปลานิลและพบว่าเอนไซม์แสดงกิจกรรมสูงสุดที่ 40-50 องศาเซลเซียส ดังนั้นในเนื้อปลาที่กิจกรรมโปรติเนสต่ำ (ตารางที่ 3) การเหนี่ยวนำเซทติ้งที่อุณหภูมิสูง (50-55 องศาเซลเซียส) อาจเป็นประโยชน์เนื่องจากสามารถกระตุ้นกิจกรรมทรานสกลูทามิเนสได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังจะเห็นได้ว่าค่าแรงเฉือนเพิ่มขึ้น เมื่อ

บ่มที่ 40-55 องศาเซลเซียส การบ่มที่ 55 องศาเซลเซียสอาจสามารถเพิ่มการนำความร้อนเนื่องจากความแตกต่างของอุณหภูมิ (temperature gradient) ทำให้อุณหภูมิในแกนกลางของตัวอย่างอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเร่งกิจกรรมของทรานสกลูทามิเนสได้นานกว่าที่ 40-50 องศาเซลเซียส ดังนั้นการเหนี่ยวนำให้เกิดเซทติ้งในปลานิล ปลายี่สกเทศ และปลานวลจันทร์ ซึ่งเป็นปลาที่ไม่เกิดปัญหาการเสื่อมสลายกล้ามเนื้อโดยโปรติเนส จึงควรใช้อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส หากทำในระยะเวลาสั้น 20-30 นาที แต่ถ้าหากบ่มเป็นระยะเวลานาน (> 1 ชั่วโมง) ยังควรใช้อุณหภูมิการบ่มที่ 40 องศาเซลเซียส เพื่อหลีกเลี่ยงกิจกรรมของโปรติเนสอันเนื่องมาจากระยะเวลา

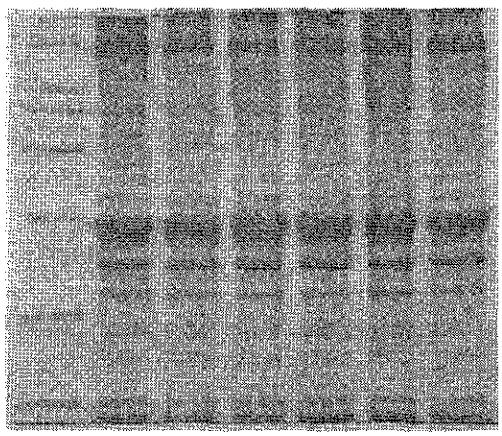
ตารางที่ 3 กิจกรรมการย่อยสลายตัวเองและทรานสกลูทามิเนสในกล้ามเนื้อปลา[1]

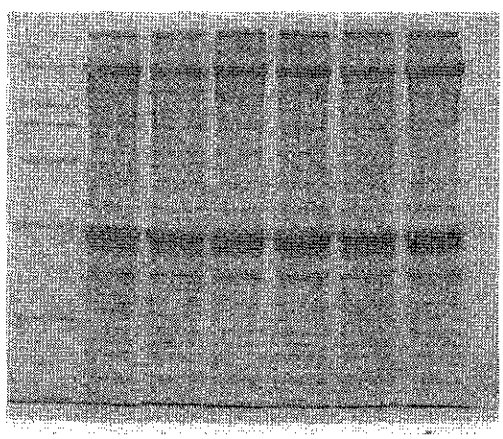
Fish	Autolytic activity (μmol/g)[2]	Transglutaminase activity (Unit/g sample)[3]
Tilapia	1.80±0.55	154.48 ± 34.18
Rohu	2.0±0.85	6.64 ±3.80
Small scale mud carp	1.68±0.29	9.27 ± 1.75

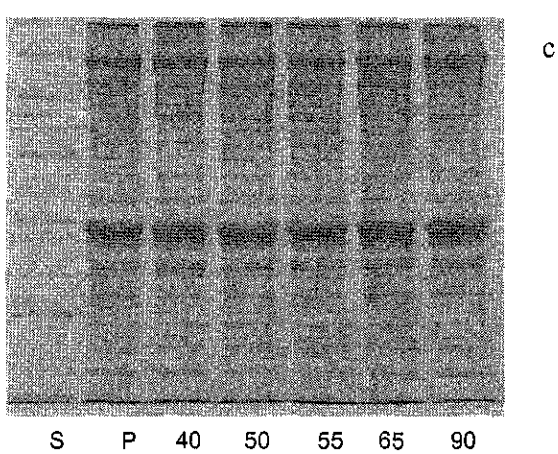
[1] Mean ± standard deviation

[2] µmol of tyrosine released

[3] incorporation of 1 nmol of monodansylcadaverine into N,N'-dimethylated casein







รูปที่ 4 **รูปแบบโปรตีนจากการวิเคราะห์โดย SDS-PAGE ของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ S = standard molecular weight, P = paste, 40-65 =อุณหภูมิในการบ่มเป็นเวลา 30 นาที, 90 = ตัวอย่างที่ไม่ได้บ่ม**

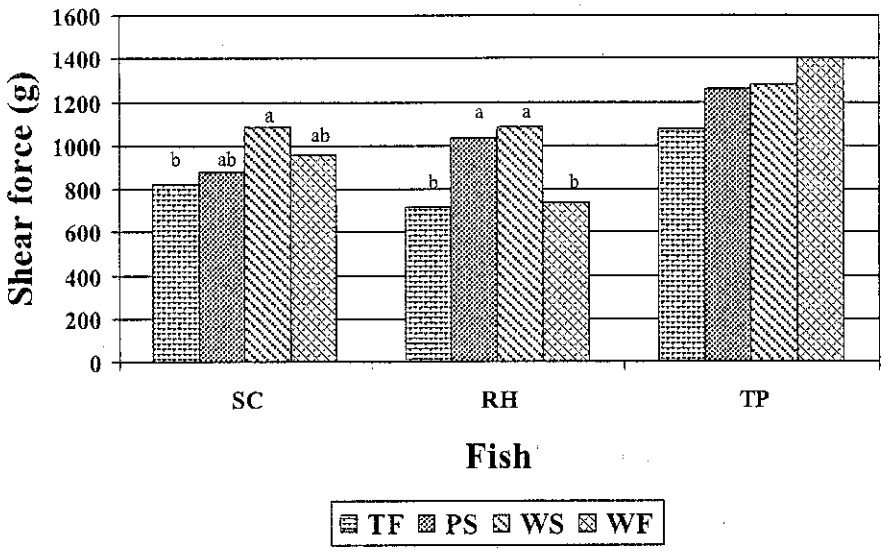
2.2 ชนิดและปริมาณแป้งที่เหมาะสม

การศึกษาในส่วนนี้มีการเปรียบเทียบลักษณะเนื้อสัมผัสของตัวอย่างที่ขึ้นรูป 2 ชนิดคือ การบรรจุใน casing ซึ่งจะได้ตัวอย่างเป็นรูปทรงกระบอก "เจลแท่ง" ส่วนตัวอย่างที่ขึ้นรูปเป็นทรงกลมนั้นเป็นลักษณะของ "ลูกชิ้น" ชนิดของแป้งไม่มีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลแท่งที่เตรียมจากปลานิลและปลานวลจันทร์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยหัววัด Warner bratzler ($p>0.05$) (ตารางที่ 4) ในขณะที่แป้งสาลี (WF) ให้ค่าแรงเฉือนสูงสุดในเจลแท่งปลายี่สกเมื่อเทียบกับแป้งมันสำปะหลัง (TF) แป้งมันฝรั่ง (PS) และวีทสตาร์ช (WS) ($p<0.05$) แต่เมื่อพิจารณาผลจากการวิเคราะห์ด้วย spherical probe พบว่า ชนิดของแป้งมีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลปลานวลจันทร์และปลายี่สกเทศ ($p<0.05$) โดยค่าแรง ณ จุดแตกหักมีค่าสูงสุดในตัวอย่างเจลปลานวลจันทร์ที่เติมแป้งมันฝรั่ง ($p<0.05$) นอกจากนี้การเติมแป้งมันฝรั่งและแป้งสาลีส่งผลให้เจลแท่งปลายี่สกเทศมีค่าแรง ณ จุดแตกหักสูงกว่าตัวอย่างที่เติมแป้งชนิดอื่น ($p<0.05$) (ตารางที่ 4) เมื่อพิจารณาลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นโดยการวัดด้วยหัววัด Warner bratzler (รูปที่ 5) พบว่าชนิดของแป้งไม่มีผลต่อค่าแรงเฉือนของลูกชิ้นปลานิล ซึ่งสอดคล้องกับการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลแท่ง (ตารางที่ 4) ตัวอย่างลูกชิ้นปลายี่สกเทศที่เติมแป้งมันฝรั่งและวีทสตาร์ช มีค่าแรงเฉือนสูงกว่าตัวอย่างที่เติมแป้งชนิดอื่น ($p<0.05$) (รูปที่ 5) เนื่องจากแป้งมันฝรั่งมีความสามารถในการดูดซับน้ำและพองตัวได้ดี รองลงมาคือเม็ดแป้งมันสำปะหลังและแป้งสาลี (Park 2000) คุณสมบัติดังกล่าวทำให้เม็ดแป้งมันฝรั่งสามารถพองตัวและเสริมความแข็งแรงของเจลโปรตีนได้ดี ซึ่งผลการเสริมความแข็งแรงนี้จะเห็นได้ชัดในปลายี่สกเทศ (รูปที่ 4) ซึ่งมีความสามารถในการเกิดเจลต่ำกว่าปลานิลและปลานวลจันทร์ เนื่องจากปลานิลสามารถเกิดเจลได้ดีอยู่แล้ว ชนิดของแป้งจึงไม่มีผลต่อการเสริมสร้างความแข็งแรงของเจล (ตารางที่ 4, รูปที่ 5) ความแตกต่างของค่าแรงเฉือนระหว่างตัวอย่างเจลแท่งและลูกชิ้น สะท้อนให้เห็นถึงอิทธิพลของรูปทรงต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของตัวอย่าง เนื่องจากตัวอย่างลูกชิ้นมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร ซึ่งสั้นกว่าเจลแท่งซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร การนำความร้อนจึงเกิดขึ้นได้ดีกว่าในตัวอย่างลูกชิ้น นอกจากนี้รูปทรงที่ต่างกัน (ทรงกระบอกและทรงกลม) มีผลทำให้เกิดแรงเฉือนกระทำต่อตัวอย่างที่ต่างกัน

ตารางที่ 4 ลักษณะทางเนื้อสัมผัสและสีของเจลแท่งปลาน้ำจืดที่เติมแป้งชนิดต่างๆ ในระดับ 1.8%

Parameters	Temperature (°C)	Small scale mud carp				Rohu				Tilapia			
		TF	PS	WS	WF	TF	PS	WS	WF	TF	PS	WS	WF
Whiteness	55	45.1^{a}	44.1^{b}	43.4^{bc}	44.0^{c}	38.5	39.3	38.7	38.8	54.6	56.0	54.7	53.4
	90	44.0^{a}	43.3^{b}	42.8^{b}	43.9^{a}	39.1^{a}	38.6^{ab}	38.7^{ab}	38.3^{b}	54.6	58.0	55.8	54.8
Shear force (g)	55	1699.7	2091.9	1757.7	1872.5	1317.4^{b}	1383.4^{b}	1394.7^{b}	1528.9^{a}	1662.3	1893.5	2075.4	1932.9
	90	1231.7^{b}	1368.6^{b}	1229.5^{ab}	1280.7^{a}	935.9^{a}	922.3^{ab}	931.6^{ab}	917.3^{a}	1031.5	1268.9	1142.0	1226.9
Breaking force (g)	55	327.4^{b}	389.1^{a}	358.9^{ab}	344.6^{b}	215.3^{b}	242.2^{a}	206.8^{b}	258.1^{a}	377.2	354.8	390.3	392.2
	90	225.7^{b}	266.3^{a}	255.1^{a}	238.3^{ab}	175.0^{b}	193.6^{a}	177.8^{ab}	180.7^{ab}	278.9^{b}	280.6^{b}	278.3^{b}	312.1^{a}
Distance (mm)	55	10.9	14.1	11.1	11.1	9.4^{b}	10.1^{ab}	9.2^{c}	10.3^{a}	11.6	10.7	11.0	10.9
	90	10.4	10.9	10.8	10.3	10.0	10.2	10.0	9.7	11.1	10.2	10.1	10.5

ตัวอักษร a,b,c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ของแป้งที่ทดสอบในปลาแต่ละชนิด ที่แต่ละอุณหภูมิ



รูปที่ 5 ค่าแรงเฉือนของลูกชิ้นปลาน้ำจืดผสมแป้งชนิดต่างๆ ที่ระดับ 1.8% SC=ปลานวลจันทร์,RH= ปลายี่สกเทศ, TP=ปลานิล, TF=แป้งมันสำปะหลัง, PS=แป้งมันฝรั่ง, WS=วีทสตาร์ช, WF=แป้งสาลี ตัวอักษร a,b,c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ของแป้งที่ทดสอบในปลาชนิดเดียวกัน

เมื่อพิจารณาผลของแรง ณ จุดแตกหัก และแรงเฉือนของเจลแท่งที่วัดโดย spherical probe และ Warner bratzler (ตารางที่ 4) ปรากฏว่าในภาพรวมให้ผลในทิศทางเดียวกัน แม้ว่าการวัดโดย spherical probe เป็นการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสที่จุดกึ่งกลางของตัวอย่างซึ่งเป็นจุดที่ได้รับความร้อนช้าที่สุด ในขณะที่การใช้หัววัด Warner bratzler นั้นเป็นการวัดค่าแรงเฉือนของเนื้อสัมผัสด้านนอกของเจล ดังนั้นลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์เจลแท่ง (หรือที่มักนิยมเรียกในท้องตลาดว่าลูกชิ้นแท่ง) สามารถตรวจวัดได้ด้วยหัววัด spherical probe หรือ Warner bratzler ผลจากตารางที่ 4 บ่งชี้ว่าการเซทเจลที่ 55 องศาเซลเซียส มีผลเพิ่มทั้งค่าแรงเฉือนและค่าแรง ณ จุดแตกหักของเจลที่เตรียมจากปลาทั้ง 3 ชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าแป้งไม่มีผลต่อค่าความขาวของลูกชิ้นปลานิลและปลายี่สกเทศ (ตารางที่ 4) แต่แป้งมันสำปะหลังมีผลเพิ่มค่าความขาวในลูกชิ้นปลานวลจันทร์ อย่างไรก็ตามไม่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า และเมื่อเปรียบเทียบค่าความขาวของลูกชิ้นที่ผลิตจากปลา 3 ชนิด พบว่า ลูกชิ้นปลายี่สกเทศมีค่าความขาวต่ำสุด (ตารางที่ 4) ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะปรากฏซึ่งมีสีน้ำตาลอ่อน ส่วนความขาวของลูกชิ้นปลานิลและปลานวลจันทร์มีค่าใกล้เคียงกัน

ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนแล้วพบว่าแป้งไม่มีผลต่อความแข็ง (hardness) และความเกาะตัว (cohesiveness) ($p>0.05$) ของลูกชิ้นปลายี่สกเทศ แต่มีผลต่อความยืดหยุ่น (springiness) ($p<0.05$) (ตารางที่ 5) โดยลูกชิ้นปลายี่สกเทศที่เติมแป้งมันสำปะหลังมีความยืดหยุ่นต่ำสุด ($p<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับค่าแรงเฉือน (รูปที่ 5) ส่วนการเติมวีทสตาร์ชในลูกชิ้นปลานวลจันทร์ทำให้ได้ค่าความยืดหยุ่นและความแข็งสูงสุด ($p<0.05$) และยังทำให้ได้รับการยอมรับรวมสูงสุดด้วย นอกจากนี้การเติมวีทสตาร์ชทำให้ให้ลูกชิ้นปลานิลมีค่าความยืดหยุ่นสูงสุด ($p<0.05$) อีกด้วย อย่างไรก็ตามชนิดของแป้งไม่มีผลต่อการยอมรับรวมของลูกชิ้นปลานิล ทั้งนี้อาจเนื่องจากเจลปลานิลมีความยืดหยุ่นและเกาะ

ตัวดีอยู่แล้ว ผลของแป้งต่อลักษณะเนื้อสัมผัสจึงไม่เด่นชัด จะเห็นได้ว่าวีทสตาร์ชอาจเป็นแป้งที่มีความเหมาะสมในการนำมาเป็นส่วนผสมในการผลิตลูกชิ้นปลาน้ำจืด จึงนำแป้งชนิดนี้มาศึกษาหาปริมาณที่เหมาะสมต่อไป โดยเปรียบเทียบกับแป้งมันสำปะหลังซึ่งเป็นแป้งที่ผลิตได้ภายในประเทศ

ตารางที่ 5 ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นปลาน้ำจืดที่เติมแป้งชนิดต่างๆ ในระดับ 1.8%

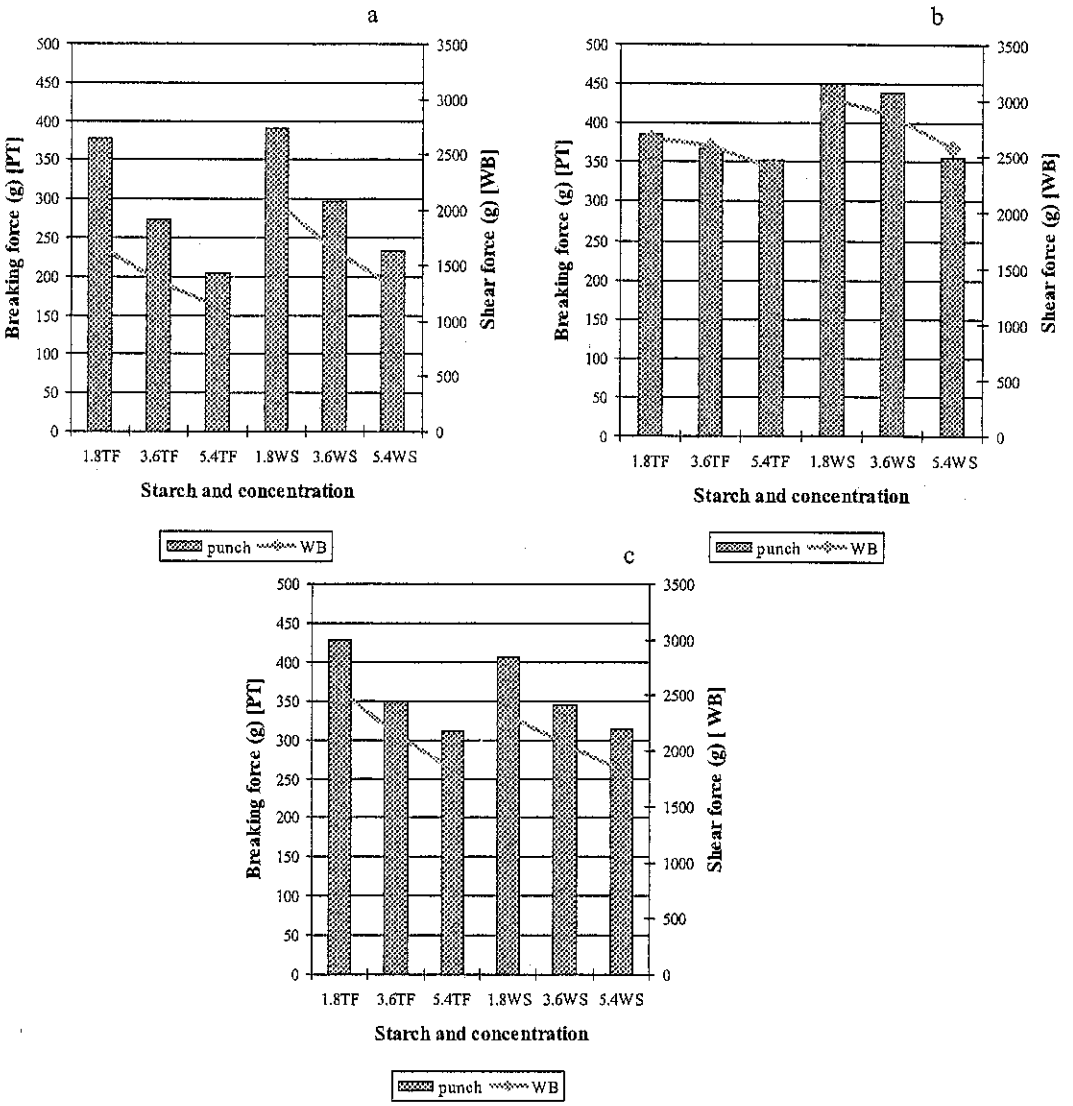
Attributes	Small scale mud carp				Rohu				Tilapia			
	TF	PS	WS	WF	TF	PS	WS	WF	TF	PS	WS	WF
Springiness	2.7^{b}	4.4^{ab}	5.0^{a}	3.9^{ab}	2.9^{b}	4.5^{ab}	5.0^{a}	3.9^{ab}	3.9^{b}	4.0^{b}	4.7^{a}	4.0^{b}
Hardness	3.8^{b}	4.8^{b}	5.5^{a}	4.3^{b}	3.5	4.7	5.2	4.0	4.2	5.6	5.8	4.7
Cohesiveness	6.0	4.9	5.9	4.6	3.5	4.8	5.0	3.8	4.2^{b}	4.5^{ab}	5.3^{a}	4.1^{b}
Juiciness	5.5	5.2	4.5	5.3	5.4	5.0	5.3	5.5	5.2	6.1	5.8	6.1
Particle size	3.1	3.2	4.0	3.2	3.2	2.6	2.8	3.2	2.9	3.4	3.1	2.6
Paste	1.2^{c}	2.1^{b}	3.0^{a}	1.7^{bc}	2.8	2.9	3.5	3.2	1.3	1.9	2.3	1.9
Fishy	3.4	3.7	3.2	4.1	4.8	4.8	4.2	5.2	3.3	3.3	3.0	3.2
Earthy	4.5	3.8	4.4	4.1	3.0	3.0	2.9	3.3	3.5	3.2	3.4	3.1
Overall	4.8^{b}	4.6^{b}	5.3^{a}	4.2^{c}	4.0^{b}	5.0^{ab}	5.6^{a}	4.3^{ab}	4.9	5.3	4.5	4.9

ตัวอักษร a,b,c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ของแป้งที่ทดสอบในปลาแต่ละชนิดที่แต่ละอุณหภูมิ

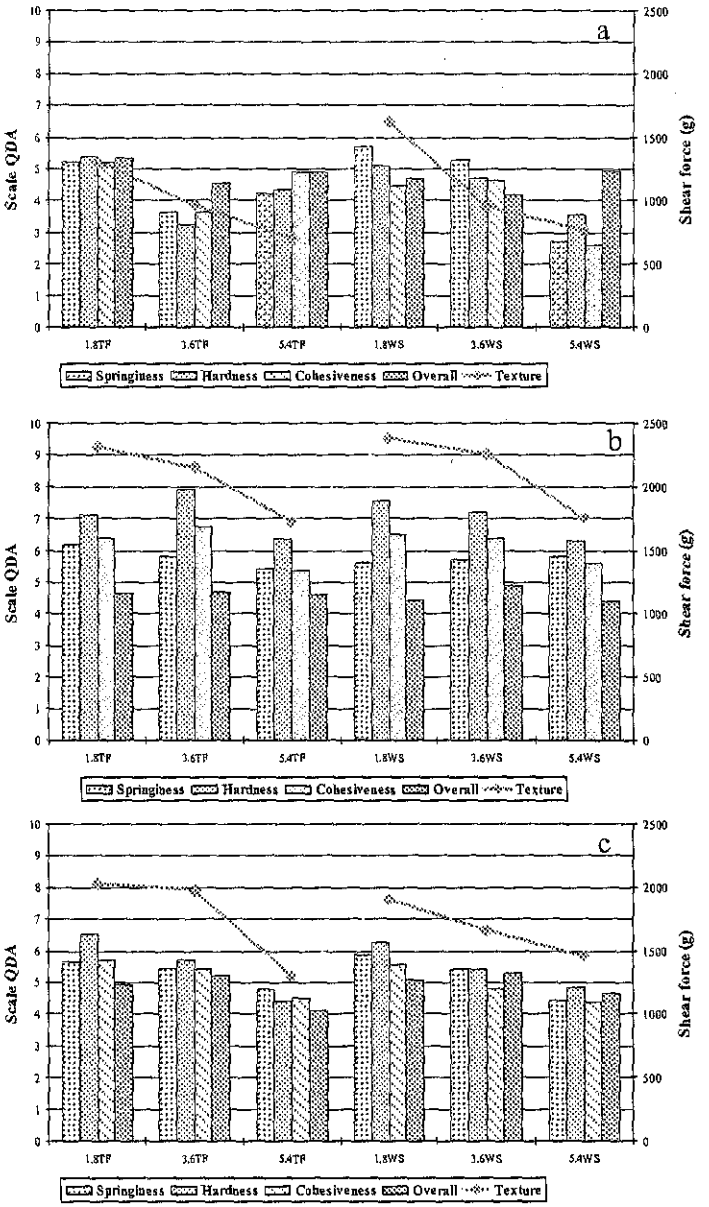
การเพิ่มระดับแป้งมันสำปะหลังและวีทสตาร์ช มีผลให้ค่าแรงเฉือนและแรง ณ จุดแตกหักของเจลแท่ง (รูปที่ 6a-c) และลูกชิ้น (รูปที่ 7a-c) ที่เตรียมจากปลาน้ำจืดทั้ง 3 สายพันธุ์ลดลง ($p<0.05$) ในภาพรวมวีทสตาร์ชมีผลเพิ่มค่าแรง (ที่วัดด้วย Warner bratzler และ spherical probe) มากกว่าแป้งมันสำปะหลังในช่วงความเข้มข้นที่ศึกษา ($p<0.05$) (รูปที่ 6a-c) การช่วยเสริมความแข็งแรงของแป้ง เกิดจากการดูดซับน้ำและขยายตัวของเม็ดแป้งในโครงข่ายของเจลโปรตีน (gel matrix) (Lee et al., 1992) แม้ว่าเม็ดแป้งจากข้าวสาลีจะมีกำลังการพองตัว (21 g water/g) น้อยกว่าแป้งมันสำปะหลัง (71 g water/g) (Park 2000) แต่โครงสร้างของเม็ดแป้งที่พองตัวนี้อาจช่วยเสริมความแข็งแรงของเจลโปรตีนได้ดี Park (2000) รายงานการเพิ่มขึ้นของค่า shear stress ในซูริมิ Alaska pollock เมื่อเติมวีทสตาร์ช 3%

เมื่อพิจารณาผลทางประสาทสัมผัสพบว่าการเพิ่มระดับวีทสตาร์ชและแป้งมันสำปะหลังไม่มีผลต่อค่าความยืดหยุ่น ($p>0.05$) แต่มีผลให้ความแข็งของลูกชิ้นลดลง ($p<0.05$) (รูปที่ 7a-c) การเพิ่มปริมาณแป้งทำให้สัดส่วนของปริมาณโปรตีนกล้ามเนื้อในส่วนผสมลดลง ซึ่งโปรตีนมัยโอฟิบริลลาร์มีความสามารถในการเกิดเจลที่ดี และเป็นโครงสร้างของเจลที่แข็งแรงกว่าเจลจากแป้ง เมื่อปริมาณโปรตีนลดลง ความแข็งแรงของโครงข่ายเจลโดยรวม (แป้ง+ปลา) จึงลดลง อย่างไรก็ตามชนิดและปริมาณแป้งไม่มีผลต่อการยอมรับรวมของผู้ทดสอบ ($p>0.05$) อาจกล่าวได้ว่าความแข็ง (hardness) อาจไม่ใช่ลักษณะสำคัญเด่นของลูกชิ้น ความยืดหยุ่นและความแน่นเนื้อเป็นลักษณะที่ผู้ทดสอบเล็งเห็น (perceive) ว่าเป็นลักษณะสำคัญของเนื้อสัมผัสของลูกชิ้น ดังนั้นเมื่อการเพิ่มปริมาณแป้งไม่มีผลต่อความยืดหยุ่นและความแน่นเนื้อแล้ว การยอมรับรวมของผู้ทดสอบจึงไม่แตกต่างกัน การเติมแป้งมันสำปะหลังหรือวีทสตาร์ชในลูกชิ้นปลานิล ปลานวลจันทร์และปลายี่สกเทศในระดับ 1.8-5.4% ไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของเนื้อสัมผัส

เมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัส เป็นที่น่าสังเกตว่าการยอมรับรวมไม่ได้แปรผันเป็นสัดส่วนกับค่าแรงเฉือน (รูปที่ 7a-c) แม้ค่าแรงเฉือนที่สูงแสดงถึงการเกิดโครงสร้างเจลที่แข็งแรงก็ตาม ในขณะที่ความเกาะตัว ความยืดหยุ่น และความแข็งที่เหมาะสม (ไม่ใช่ที่สูงสุด) เป็นลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดีของลูกชิ้น



รูปที่ 6 ผลของวีทสตาร์ชและแป้งมันสำปะหลังที่ระดับต่างๆ ต่อค่าแรงเฉือน (WB) และแรง ณ จุดแตกหัก (punch) ของเจลแท่งปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ให้ความร้อนที่ 55 องศาเซลเซียส 30 นาที และให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส 15 นาที บรรจุใน casing ขนาด 25 มิลลิเมตร TF = แป้งมันสำปะหลัง, WS =วีทสตาร์ช, 1.8,3.6,5.4 = ปริมาณแป้งที่เติมเป็น % ของน้ำหนักทั้งหมด



รูปที่ 7 ผลของวีทสตาร์ชและแป้งมันสำปะหลังที่ระดับต่างๆ ต่อค่าแรงเฉือน (WB) และผลทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ให้ความร้อนที่ 55 องศาเซลเซียส 30 นาที และให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส 15 นาที ลูกชิ้นมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 มิลลิเมตร ตัวย่อเหมือนรูปที่ 6

2.3 คุณสมบัติทางเนื้อสัมผัสของเจลปลานวลจันทร์ล้างน้ำ

จากการศึกษาข้างต้นพบว่าปลานวลจันทร์และปลานิลมีคุณสมบัติในการเกิดเจลที่ดี ส่วนปลายี่สกเทศมีคุณสมบัติในการเกิดเจลที่ด้อยกว่า อย่างไรก็ตาม ปลานิลเป็นปลาที่มีโครงกระดูกใหญ่ ต่อน้ำหนักตัวปลาที่ใกล้เคียงกัน ปริมาณเนื้อปลานิลมีน้อยกว่าปลานวลจันทร์ นอกจากนี้ราคาปลานิลขายปลีกกิโลกรัมละ 45-60 บาท ซึ่งสูงกว่าปลานวลจันทร์ซึ่งมีราคาขายปลีกกิโลกรัมละ 15-20 บาท ดังนั้นปลานวลจันทร์จึงเป็นปลาที่มีศักยภาพในการใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ลูกชิ้น หรือผลิตภัณฑ์เนื้อปลาบดอื่นๆ

นอกจากความสามารถในการเกิดเจลแล้ว สียังเป็นคุณลักษณะที่สำคัญอีกประการหนึ่งของผลิตภัณฑ์เจลปลาบด ข้อจำกัดของการใช้ผลิตภัณฑ์เนื้อปลาบดคือสีที่ค่อนข้างคล้ำเนื่องจากรงควัตถุในกล้ามเนื้อ เช่น มัยโอโกลบิน ซึ่งเมื่อสูญเสียสภาพธรรมชาติโดยความร้อนจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ซึ่งเป็นปัญหาในการนำเนื้อปลาบดมาใช้แม้ว่าจะมีคุณสมบัติในการเกิดเจลที่ดีก็ตาม โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์ประเภทลูกชิ้น แนวทางหนึ่งในการลดปัญหาดังกล่าวคือการล้างเนื้อปลาด้วยน้ำ ซึ่งเป็นกระบวนการที่นิยมใช้ในการผลิตซูริมิ ทางโครงการฯ จึงศึกษาแนวทางปรับปรุงคุณสมบัติการเกิดเจลและสีของเนื้อปลานวลจันทร์บดโดยการล้าง

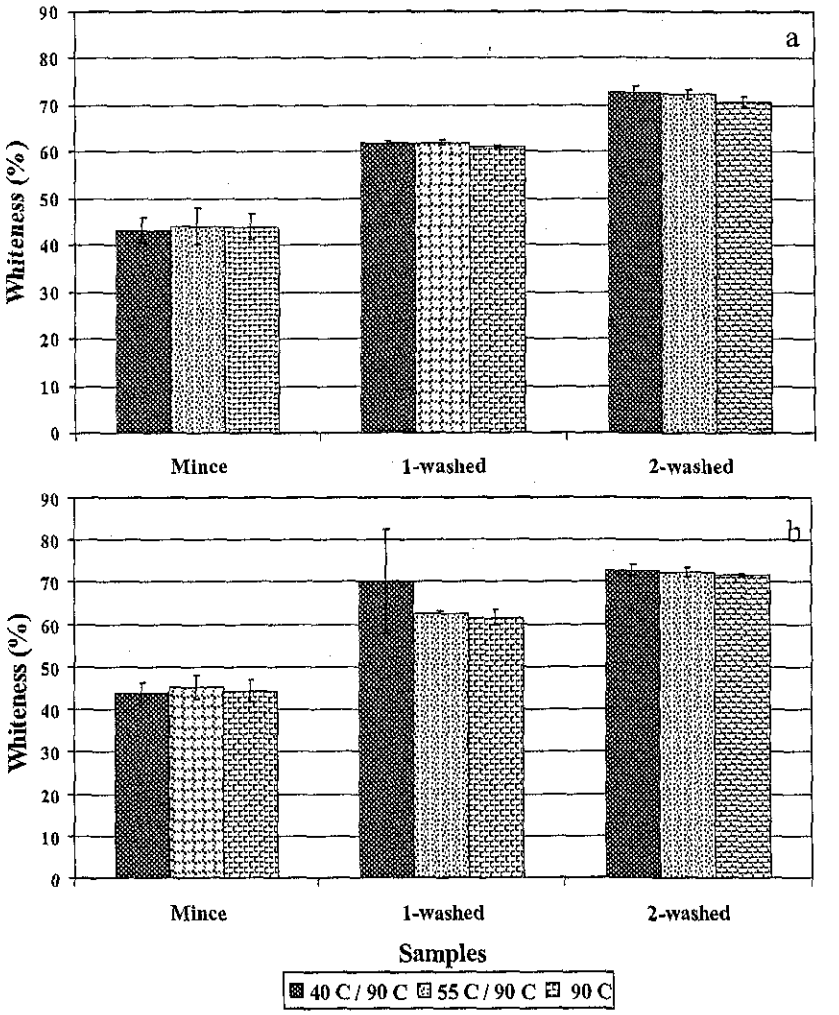
จากตารางที่ 6 จะเห็นว่ากระบวนการล้างน้ำทำให้ปริมาณโปรตีนลดลง ทั้งนี้เป็นการกำจัดซาร์โคพลาสมิกโปรตีนซึ่งเป็นโปรตีนที่ละลายน้ำออกไปบางส่วน นอกจากนี้ปริมาณเถ้าซึ่งบ่งชี้ถึงสารอนินทรีย์ มีปริมาณลดลงกระบวนการล้างและการกรอง (dewatering) อาจสามารถกำจัดเศษก้างฝอยขนาดเล็กออกได้จำนวนหนึ่ง ปริมาณไขมันลดลงเล็กน้อยหลังจากล้างเป็นครั้งที่ 2 ไขมันที่เหลืออยู่นี้อาจเป็นไขมันที่จับอยู่ในส่วนของเนื้อเยื่อ (membrane lipids) ประเภทฟอสโฟลิปิดซึ่งไม่ถูกกำจัดออกโดยง่ายด้วยการล้าง ในการศึกษานี้ใช้การล้างเพียง 2 ขั้นตอน เพื่อให้เกิดการสูญเสียผลผลิต (yield) น้อยที่สุด และใช้น้ำในกระบวนการผลิตน้อยที่สุด

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีของปลานวลจันทร์ซึ่งผ่านกระบวนการล้างน้ำ[1]

Sample	Proximate composition (%, wet basis)			
	Moisture	Fat	Protein	Ash
Mince	78.89 ± 1.26	1.89 ± 0.04	17.04 ±0.65	1.85 ± 0.35
Mince/Refining	79.13 ± 1.18	1.64 ± 0.08	16.54 ± 0.23	1.26 ± 0.11
1-Washed mince	84.92 ±1.16	1.79 ±0.10	14.07 ± 0.38	0.33 ± 0.13
1-Washed mince/ Refining	85.29 ± 1.04	1.79 ± 0.06	13.78 ± 0.64	0.38 ± 0.12
2-Washed mince	85.72 ± 0.62	1.43 ± 0.04	11.34 ± 1.53	0.33 ± 0.09
2-Washed mince/ Refining	87.03 ± 1.27	1.42 ± 0.06	12.37 ± 0.62	0.38 ± 0.04

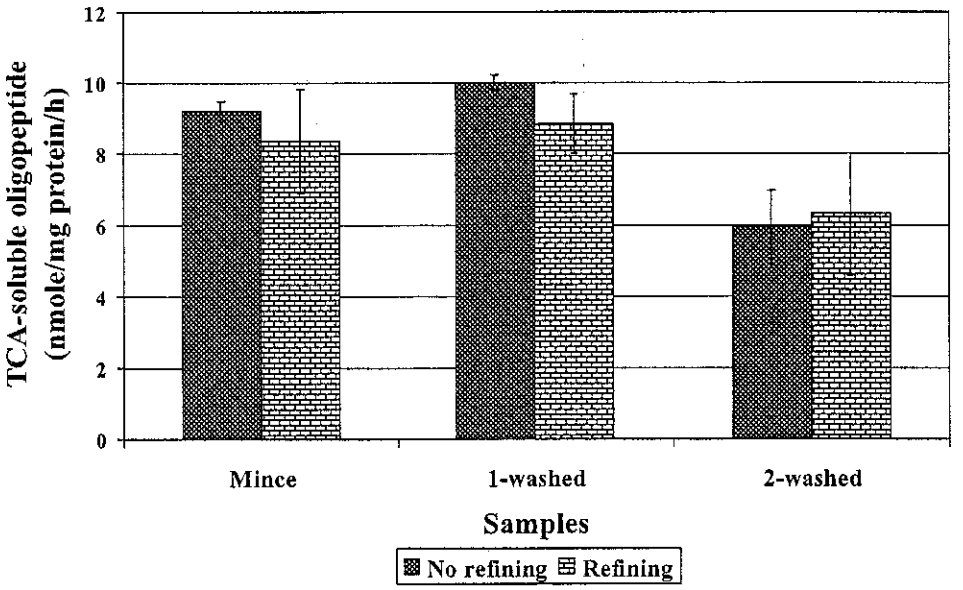
[1] Mean ± standard deviation

กระบวนการล้างเนื้อปลาทำให้ค่าความขาวของผลิตภัณฑ์เจลเนื้อปลาบดเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) (รูปที่ 8a-b) ทั้งนี้การล้างสามารถกำจัดซาร์โคพลาสมิก และรงควัตถุ เช่น มัยโอโกลบิน และฮีโมโกลบินออกได้ ค่าความขาวของเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้าง 2 ครั้งมีค่าใกล้เคียงกับซูริมิ (Park, 2000) เมื่อไม่มีการใช้กระบวนการ refining ค่าความขาวของเนื้อปลาที่ล้าง 1 ครั้งมีค่าต่ำกว่าการล้างน้ำ 2 ครั้ง ($p<0.05$) (รูปที่ 8a) อย่างไรก็ตาม การนำเนื้อปลาผ่าน refiner ทำให้ค่าความขาวของเนื้อปลาที่ผ่านการล้าง 1 ครั้งไม่แตกต่างจากเนื้อปลาที่ผ่านการล้าง 2 ครั้ง ($p>0.05$) (รูปที่ 8b) กระบวนการ refining สามารถกำจัดเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเศษก้างฝอยขนาดเล็กและสิ่งปนเปื้อน จึงไม่จำเป็นล้างเนื้อปลาถึง 2 ครั้ง กระบวนการให้ความร้อน (การเหนี่ยวนำให้เกิดเซทติ้ง) ไม่มีผลต่อค่าความขาวของเจล ($p>0.05$) (รูปที่ 8a-b)



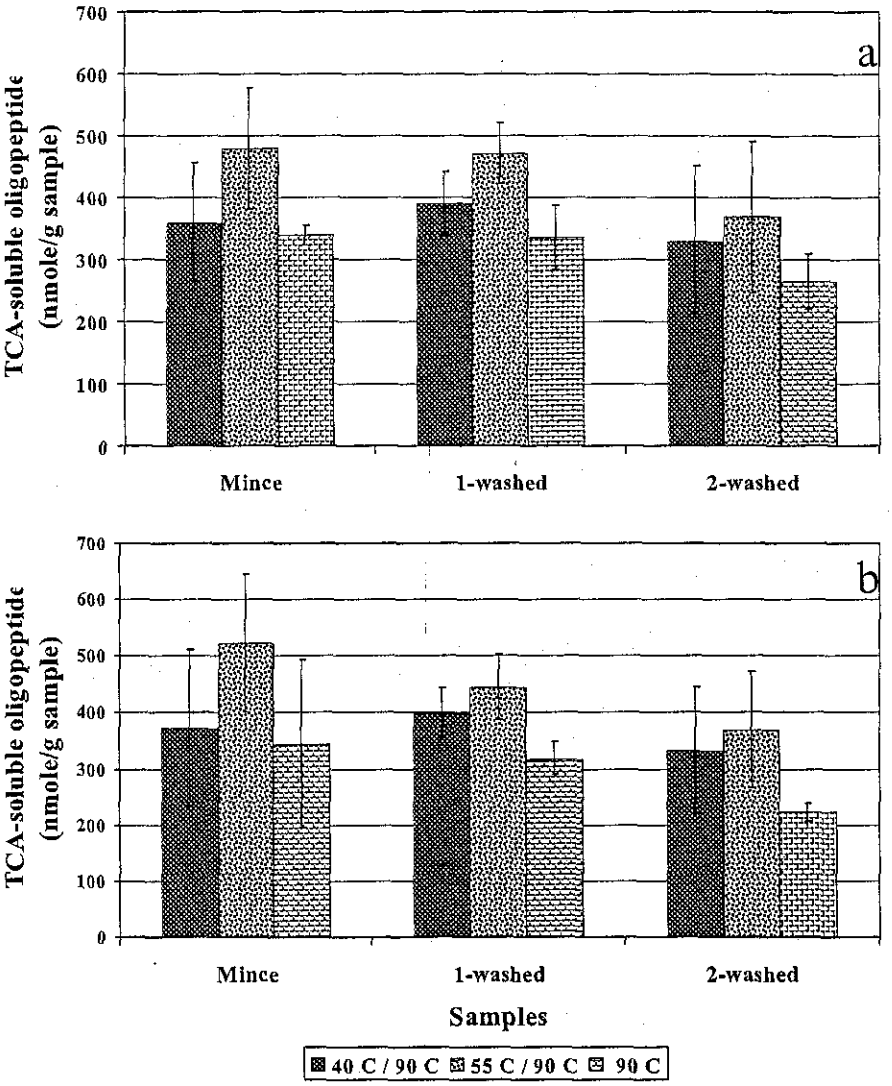
รูปที่ 8 ค่าความขาวของเจลปลานวลจันทร์บดที่ผ่านการล้างน้ำและบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ โดยไม่ผ่าน refiner (a) และผ่าน refiner โดยบ่มที่ 40 (40C/90C) หรือ 55 (55/90C) ก่อนให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส (90C) หรือไม่ได้บ่ม (90C) Mince = ปลาบด; 1- washed = ล้าง 1 ครั้ง; 2-washed=ล้าง 2 ครั้ง

การล้างเนื้อปลานวลจันทร์ 2 ครั้ง มีผลลดกิจกรรมการเสื่อมสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อโดยโปรติเนส (autolytic activity) ($p<0.05$) (รูปที่ 9) ส่วนกระบวนการ refining ไม่มีผลลดกิจกรรมโปรติเนส แม้ว่ากิจกรรมของโปรติเนส จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญหลังจากการล้าง 2 ครั้ง แต่ยังคงมีกิจกรรมที่สามารถตรวจพบได้คิดเป็นประมาณ 66% ของกิจกรรมเริ่มต้นในเนื้อปลาบด แสดงว่ากระบวนการล้างนี้ไม่สามารถกำจัดโปรติเนสออกโดยสมบูรณ์ อย่างมีประสิทธิภาพ และอาจเป็นไปได้ว่าโปรติเนสที่มีอยู่นี้เป็นโปรติเนสที่จับอยู่กับส่วนของมัยโอไฟบริล ซึ่งไม่สามารถถูกกำจัดออกได้ด้วยการล้าง ดังที่มีรายงานการพบโปรติเนสดังกล่าวในปลาไน (Osatomi et al., 1997) กิจกรรมโปรติเนสที่ตรวจพบนี้มีค่าน้อยเมื่อเทียบกับปลาที่มีปัญหาการเสื่อมสลายของกล้ามเนื้อเนื่องจากโปรติเนสที่รุนแรง Yongsawatdigul and Piyadhammaviboon (2004) รายงานค่ากิจกรรมการเสื่อมสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อปลาป่ากคม มีค่าประมาณ 45 nmol/mg protein/h ซึ่งสูงกว่าในปลานวลจันทร์เกือบ 5 เท่า กิจกรรมโปรติเนสจึงไม่ใช่ข้อจำกัดในการใช้ประโยชน์จากเนื้อปลานวลจันทร์ ดังนั้นการล้างเนื้อปลาเพื่อมุ่งกำจัดโปรติเนสจึงไม่ใช่ประเด็นสำคัญในปลานวลจันทร์



รูปที่ 9 กิจกรรมการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อโดยโปรติเนส (autolytic activity) ของปลานวลจันทร์ที่ผ่านการล้างและ refining บ่มตัวอย่างที่ 65 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง

เมื่อพิจารณาปริมาณไฮดรอกซีโพรลีนในเจลพบว่ามีค่าไม่ต่างกันระหว่างตัวอย่างปลาบดและตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการล้างน้ำ 1 ครั้งและ 2 ครั้ง ($p>0.05$) (รูปที่ 10a-b) เนื่องจากกล้ามเนื้อปลานวลจันทร์เกิดการย่อยสลายตัวเองเนื่องจากโปรติเนสที่น้อย การล้างเนื้อปลาจึงลดกิจกรรมของโปรติเนสอย่างไม่มีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามการบ่มที่ 55 องศาเซลเซียสมีผลให้ปริมาณไฮดรอกซีโพรลีนสูงสุด ($p<0.05$) ทั้งในตัวอย่างเนื้อปลาบดและตัวอย่างที่ผ่านการล้าง(รูปที่ 10a-b) แสดงว่าโปรติเนสในปลานวลจันทร์อาจเป็นเอนไซม์ที่ยึดกับมัยโอไฟบริลซึ่งไม่ถูกกำจัดออกโดยง่ายด้วยการล้าง



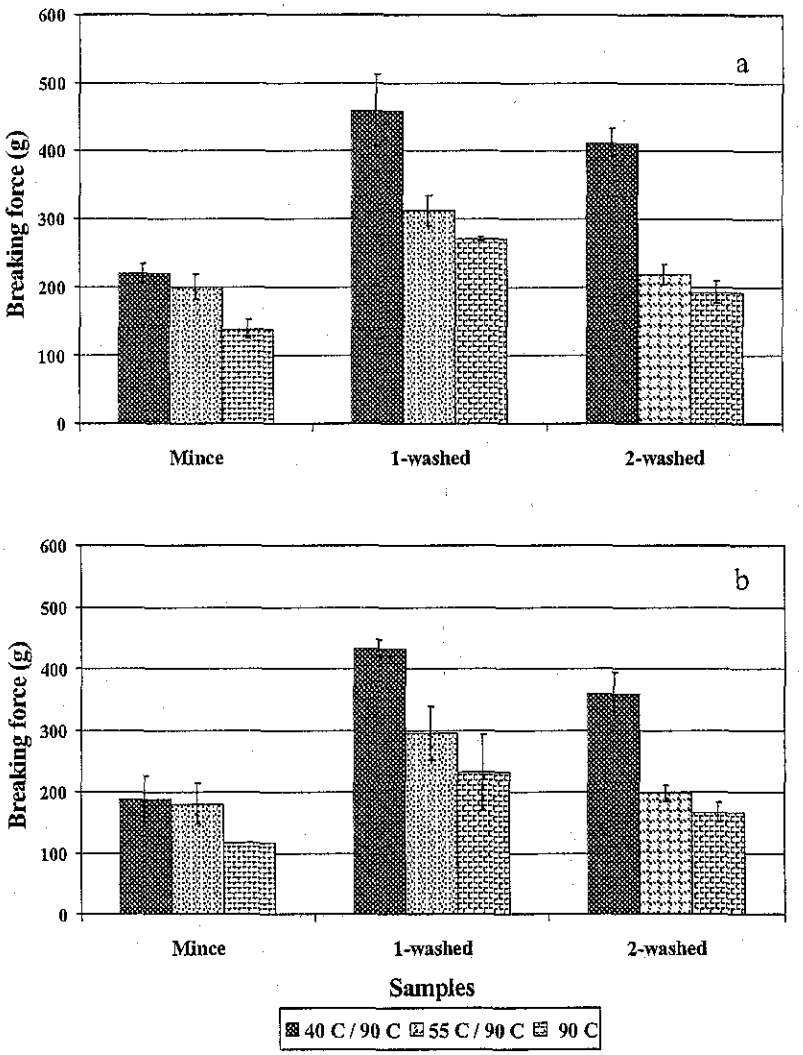
รูปที่ 10 ปริมาณโอลิโกเปปไทด์ในเจลปลานวลจันทร์บดและปลานวลจันทร์ที่ล้างน้ำ รายละเอียดดังรูปที่ 8

ค่าแรง ณ จุดแตกหักของเจลปลานวลจันทร์ที่ล้างน้ำ 1 หรือ 2 ครั้งสูงกว่าตัวอย่างปลาบด ($p<0.05$) (รูปที่ 11a) การบ่มที่ 40 องศาเซลเซียสเพิ่มค่าแรงของเจลได้มากที่สุด ($p<0.05$) กระบวนการ refining ไม่มีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัส เป็นที่น่าสังเกตว่าแม้ว่าตัวอย่างเจลบ่มที่ 40 หรือ 55 องศาเซลเซียส มีค่าโอลิโกเปปไทด์สูงกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้บ่ม (รูปที่ 10) แต่ก็มีค่าแรงสูงกว่าด้วย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเสื่อมสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อที่เกิดขึ้นในปลานวลจันทร์ไม่มีผลกระทบต่อลักษณะเนื้อสัมผัส เนื่องจากกิจกรรมโปรติเนสเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น เป็นที่น่าสังเกตว่าการบ่มที่ 40 องศาเซลเซียสมีผลเพิ่มค่าแรงของตัวอย่างที่ผ่านการล้างน้ำมากกว่าตัวอย่างปลาบด แสดงว่าตัวอย่างล้างน้ำเกิดเซทติ้งที่เด่นชัดว่าตัวอย่างปลาบด การเกิดเซทติ้งอาจเป็นปัจจัยที่ส่งเสริมให้ได้ค่าแรงที่สูง จะเห็น

ได้ว่าผลที่ได้จากการทดลองนี้แตกต่างจากตัวอย่างที่บรรจุใน casing ขนาด 25 มิลลิเมตร (รูปที่ 2) ทั้งนี้เนื่องจากสภาวะในการทดลองที่ต่างกัน การทดลองในส่วนนี้ใช้ casing ขนาด 30 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นขนาดมาตรฐานที่ใช้ในอุตสาหกรรมซูริมิ และใช้เวลาบ่ม 1 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการนำความร้อนอย่างทั่วถึง ผลที่ได้สามารถใช้เปรียบเทียบคุณภาพในการเกิดเจลกับซูริมิปลาทะเลได้ ในขณะที่การทดลองใน 2.1 นั้นเป็นสภาวะที่ใช้ในกระบวนการผลิตลูกชิ้น คือ casing มีขนาดเล็ก และใช้ระยะเวลาการบ่มสั้น เนื่องจากการล้างไม่สามารถกำจัดโปรตีเนสออกได้อย่างมีประสิทธิภาพ การบ่มที่อุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลานานย่อมไม่เป็นผลดีต่อลักษณะเนื้อสัมผัส (รูปที่ 11a) ในทางตรงข้าม หากเจลมีขนาดเล็ก (ลูกชิ้นมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-2.2 เซนติเมตร) การบ่มระยะสั้นที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสจะมีผลดีมากกว่าการบ่มที่ 40 องศาเซลเซียส เนื่องจากทำให้อุณหภูมิภายในเจลอยู่ในช่วงที่ทรานสกลูทามิเนสสามารถเร่งปฏิกิริยาได้ดี

การล้าง 1 ครั้งทำให้ได้เจลที่มีค่าระยะทาง ณ จุดแตกหักสูงสุด ($p<0.05$) (รูปที่ 12a-b) เป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่าการกำจัดซาร์โคพลาสมิกโปรตีนบางส่วน ทำให้มัยโอฟิบริลลาร์เข้มข้นขึ้น จึงสามารถเกิดเจลที่มีลักษณะเนื้อสัมผัสยืดหยุ่นขึ้น นอกจากนี้การบ่มเจลที่ผ่านการล้าง 1 ครั้งที่ 40 องศาเซลเซียส ทำให้ระยะทาง ณ จุดแตกหักสูงสุด ($p<0.05$) ดังนั้นเซทติ้งเกิดสูงสุดในตัวอย่างปลานวลจันทร์ล้าง 1 ครั้งและบ่มที่ 40 องศาเซลเซียส 60 นาที

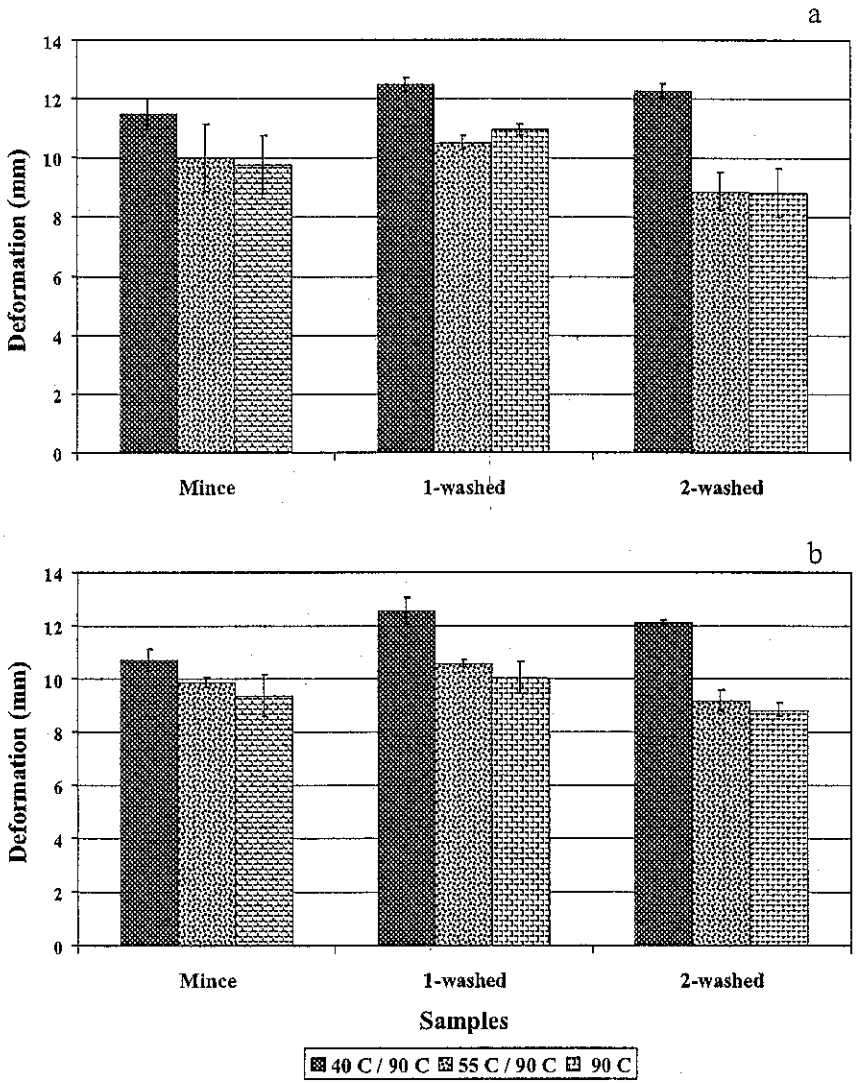
ผลจากการวิเคราะห์ SDS-PAGE (รูปที่ 13a-d) สนับสนุนผลของกิจกรรมการย่อยสลายตัวเองโดยโปรตีเนส (autolysis) (รูปที่ 9) และ ปริมาณไอลิโกเปปไทด์ (รูปที่ 10a-b) ซึ่งบ่งชี้ว่ากิจกรรมของโปรตีเนสในกล้ามเนื้อมีน้อย เนื่องจากการเสื่อมสลายของมัยโอซินสายหลักเกิดขึ้นค่อนข้างน้อยในทุกตัวอย่าง (รูปที่ 13a-d) เป็นที่น่าสังเกตว่าการล้างมีผลทำให้เกิดพอลิเมอร์โปรตีนขนาดใหญ่ (CP) ที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ผ่าน stacking gel ในตัวอย่างที่ล้าง 1 ครั้งและบ่มที่ 40 องศาเซลเซียส และความเข้มของแถบ CP เห็นได้ชัดขึ้นในตัวอย่างที่ล้าง 2 ครั้ง การพบแถบโปรตีน CP สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของค่าแรงและระยะทาง ณ จุดแตกหักของเจล (รูปที่ 11-12) เป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่าแถบโปรตีนที่มีมวลโมเลกุลขนาดใหญ่นี้เป็นผลิตผลที่เกิดจากการเร่งปฏิกิริยาของทรานสกลูทามิเนส ทำให้สายมัยโอซินเชื่อมโยงกันด้วยพันธะไอโซเปปไทด์ ไม่สามารถถูกทำลายได้ด้วยสารละลาย sodium dodecyl sulfate (SDS) หรือ β-mercaptoethanol และเนื่องจากมีโมเลกุลขนาดใหญ่จึงไม่สามารถเคลื่อนที่ผ่าน stacking gel (acrylamide 4%) ได้ มีความเป็นไปได้สูงที่แถบโปรตีน CP ที่พบในการศึกษานี้ เกิดจากการเร่งปฏิกิริยาของทรานสกลูทามิเนส เนื่องจากแถบ CP เกิดขึ้นพร้อมกับการลดลงของแถบมัยโอซินสายหลักซึ่งเป็นสารตั้งต้นของทรานสกลูทามิเนส (รูปที่ 13d) จากรายงานที่มีมาก่อน ทรานสกลูทามิเนสเป็นเอนไซม์ที่สามารถสกัดจากกล้ามเนื้อโปรตีนโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายเกลือที่ต่ำ (low ionic strength) (Araki and Seki, 1993) อย่างไรก็ตาม Yongsawatdigul et al. (2002) พบกิจกรรมของทรานสกลูทามิเนสในซูริมิปลาทรายแดงซึ่งผ่านการล้างถึง 3 ครั้ง และในการศึกษานี้กิจกรรมของทรานสกลูทามิเนสในตัวอย่าง (วัดจากปริมาณ CP) เด่นชัดมากขึ้นเมื่อล้างปลา 2 ครั้ง ผลดังกล่าวบ่งชี้ว่าการล้างอาจไม่สามารถกำจัดทรานสกลูทามิเนสออกได้ทั้งหมด ทำให้มีปริมาณเอนไซม์หลงเหลืออยู่ นอกจากนี้อาจเป็นไปได้ว่าอาจมีทรานสกลูทามิเนสบางส่วนที่ยึดติดกับส่วนกล้ามเนื้อและไม่สามารถถูกกำจัดออกโดยการล้าง การล้างเนื้อปลาเป็นการกำจัดซาร์โคพลาสมิกโปรตีน ซึ่งเปรียบเสมือนการทำให้มัยโอฟิบริลลาร์และทรานสกลูทามิเนสที่ยึดติดกับกล้ามเนื้อเข้มข้นมากขึ้น ซึ่งเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้แถบ CP เกิดอย่างเด่นชัดพร้อมกับการลดลงของมัยโอซินสายหลักในตัวอย่างที่ผ่านการล้างน้ำ 2 ครั้ง



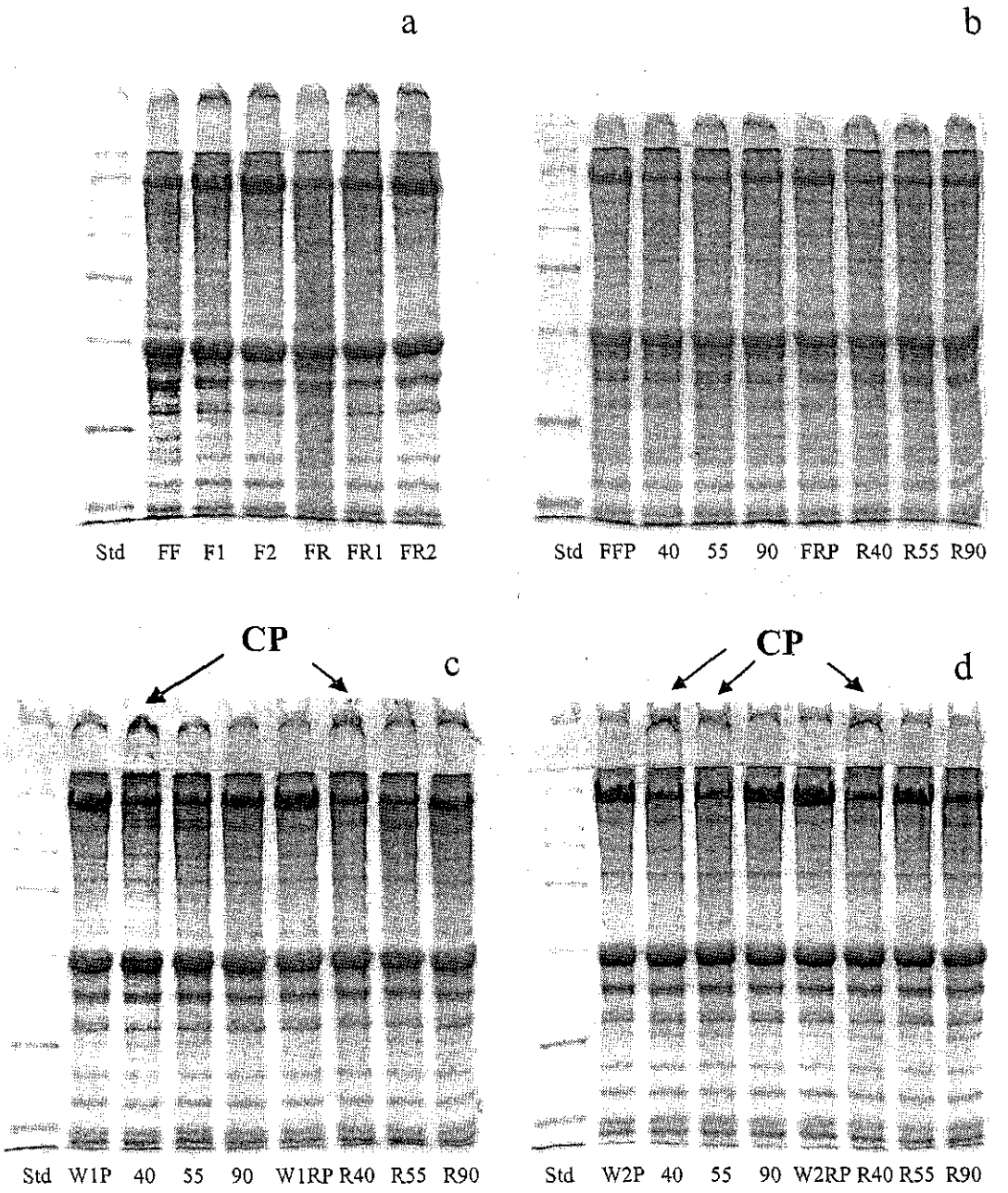
รูปที่ 11 ค่าแรง ณ จุดแตกหักของตัวอย่างที่ไม่ผ่าน refiner (a) และตัวอย่างที่ผ่าน refiner (b) รายละเอียดดังรูปที่ 8

จากการศึกษานี้จะเห็นได้ว่า การล้างเนื้อปลานวลจันทร์ทำให้ค่าความขาวเพิ่มขึ้น แม้การล้างมีผลในการลดกิจกรรมโปรติเนสในเนื้อปลานวลจันทร์ แต่กิจกรรมการย่อยสลายโปรติเนสในเนื้อปลานวลจันทร์เกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย การลดกิจกรรมโปรติเนสจึงไม่ใช่ประโยชน์หลักที่ได้จากการล้าง อย่างไรก็ตาม การล้างมีผลทำให้ปริมาณมัยโอฟิบริลลาร์และทรานสกลูทามิเนสเข้มข้นขึ้น มีผลให้เกิดโปรตีนขนาดใหญ่ (CP) ซึ่งสันนิษฐานว่าเกิดจากกิจกรรมของทรานสกลูทามิเนสส่งผลเพิ่มค่าแรงของเจลอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการบ่มตัวอย่างเนื้อปลาที่ผ่านการล้างน้ำคือ 40 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง นอกจากนี้กระบวนการ refining ไม่มีผลต่อค่าความขาวและคุณภาพของเจลแต่อย่างใด จากผลการศึกษานี้พบว่าการนำเนื้อปลานวลจันทร์ล้างน้ำ 1 ครั้ง มีผลให้ค่าความขาวเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) (รูปที่ 8a,b) และคุณสมบัติในการเกิดเจลดีกว่าในเนื้อปลาบด ($p<0.05$) (รูปที่ 11a,b) โดยปริมาณ

ผลผลิตของปลาล้างน้ำ 1 ครั้งประมาณ 30-35 % ของปลาทั้งตัว ซึ่งใกล้เคียงกับปริมาณผลผลิตของเนื้อปลาบด ดังนั้น การล้างน้ำจึงเป็นกระบวนการที่สามารถปรับปรุงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของเนื้อปลานวลจันทร์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ



รูปที่ 12 ค่าระยะทาง ณ จุดแตกหักของตัวอย่างที่ไม่ผ่าน refiner (a) และตัวอย่างที่ผ่าน refiner (b) รายละเอียดดังรูปที่ 8



รูปที่ 13 SDS-PAGE ของเนื้อปลานวลจันทร์บดไม่ได้ล้างน้ำ (a), เจลปลานวลจันทร์บดบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ (b), เจลปลานวลจันทร์บดที่เตรียมจากปลาล้างน้ำ 1 ครั้ง บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ (c), และ เจลปลาบดที่เตรียมจากปลาล้างน้ำ 2 ครั้ง บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ (d) FF=เนื้อปลานวลจันทร์บด; F1, F2= เนื้อปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ 1,2 ครั้ง; FR=เนื้อปลานวลจันทร์บดผ่าน refiner; FR1, FR2= เนื้อปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ 1 และ 2 ครั้ง และผ่าน refiner; FFP=เพส (paste) เนื้อปลานวลจันทร์บด; FRP=เพสเนื้อปลาบดผ่าน refiner; W1P, W2P = เพสเนื้อปลาล้างน้ำ 1,2 ครั้ง; W1RP, W2RP = เพสเนื้อปลาล้างน้ำ 1,2 ครั้งและผ่าน refiner; 40-90= อุณหภูมิในการบ่มและให้ความร้อนในหน่วย องศาเซลเซียส; Std=โปรตีนมาตรฐาน

2.4 อายุการเก็บของลูกชิ้นแช่เย็น

เนื่องจากทั้งปลานวลจันทร์ และปลานวลจันทร์ล้างน้ำ 1 ครั้งมีศักยภาพในการใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตลูกชิ้น จึงศึกษาอายุการเก็บของลูกชิ้นที่ผลิตจากวัตถุดิบทั้ง 2 เหตุผลที่เลือกใช้กระบวนการล้างน้ำ 1 ครั้งแทนการล้างน้ำ 2 ครั้ง เนื่องจากค่าแรง ณ จุดแตกหักของตัวอย่างที่ล้างน้ำ 1 ครั้งมีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่ผ่านการล้างน้ำ 2 ครั้ง และเมื่อพิจารณาถึงต้นทุนในการผลิต การล้างน้ำ 1 ครั้ง ย่อมได้ผลผลิตที่มากกว่าการล้างน้ำ 2 ครั้ง และมีต้นทุนในการใช้น้ำและการกำจัดน้ำเสียที่ถูกกว่า การศึกษาในส่วนนี้ใช้อุณหภูมิในการเซทติ้งที่ 55 องศาเซลเซียสทั้งตัวอย่างเนื้อปลาบดและตัวอย่างปลาล้างน้ำ เนื่องจากเป็นการบ่มระยะสั้น (30 นาที) การใช้อุณหภูมิสูง สามารถเร่งกิจกรรมของทรานสกลูทามิเนสได้ดีกว่า

ตารางที่ 7 การเปลี่ยนแปลงของประชากรแบคทีเรียในระหว่างกระบวนการผลิตลูกชิ้น[1]

Sample	Bacterial count (cfu/g)
Whole fish	9.9×10^4
Mince fish	1.5×10^4
Washed mince flesh	7.6×10^3
Mince paste[2]	7.5×10^3
Washed mince paste[2]	4.5×10^3
Fish ball (mince)[3]	1.9×10^3
Fish ball (washed mince)[3]	5×10^2

[1] Plate count agar, ค่าเฉลี่ยจากปลา 3 lots

[2] หลังจากขั้นตอนการสับผสม

[3] หลังจากขั้นตอนการขึ้นรูปและให้ความร้อน

ขั้นตอนการทำความสะอาดปลาสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์จาก 9.9×10^4 เป็น 1.5×10^4 cfu/g (ตารางที่ 7) และเมื่อนำเนื้อปลาบดมาล้างน้ำ สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ลงได้อีกประมาณ 1 log cycle ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นสุดท้ายที่ผลิตจากวัตถุดิบที่ผ่านการล้างน้ำมีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่าที่ผลิตจากปลาบด ดังนั้นกระบวนการล้างนอกจากสามารถช่วยปรับปรุงในด้านความขาวของผลิตภัณฑ์สุดท้ายแล้ว ยังสามารถช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ลงได้อีกทางหนึ่ง

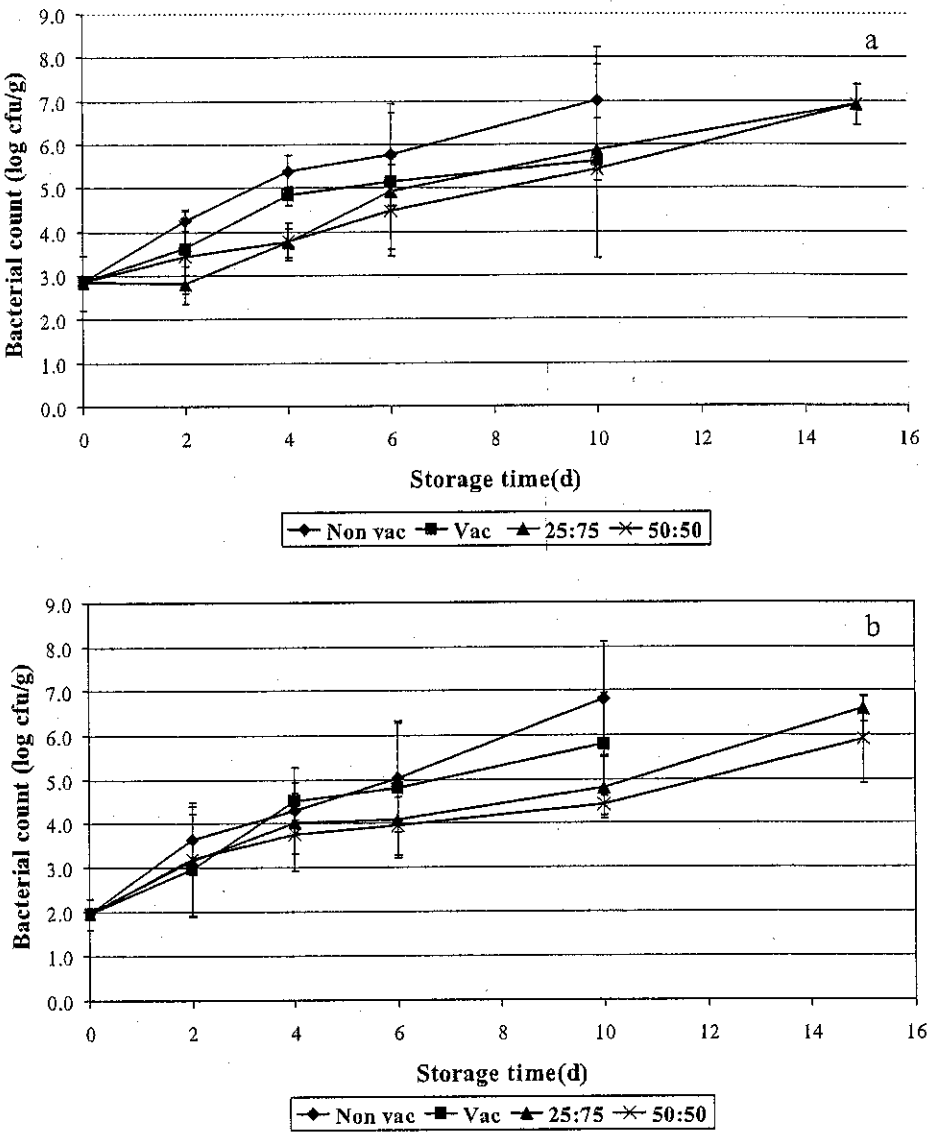
2.4.1 การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์

จำนวนแบคทีเรียในกลุ่ม mesophile ที่ใช้ออกซิเจนของลูกชิ้นปลานวลจันทร์ที่ผลิตจากเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดล้างน้ำเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บ โดยมีอัตราการเพิ่มขึ้นแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาวะการบรรจุ (รูปที่ 14a,b) เนื่องจากจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นของลูกชิ้นที่ผลิตจากปลาบดมีมากกว่าตัวอย่างปลาบดล้างน้ำประมาณ 1 log cycle ดังนั้นจำนวนแบคทีเรียในลูกชิ้นที่เตรียมจากปลาบดจึงมีมากกว่าที่เตรียมจากปลาบดล้างน้ำตลอดช่วงระยะเวลาที่ศึกษา เมื่อพิจารณาสภาวะในการบรรจุพบว่าตัวอย่างที่ปิดผนึกแบบธรรมดาซึ่งมีอากาศอยู่ในถุงบรรจุ (Non vac) มีจำนวน mesophile เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยมีจำนวนมากกว่า 10^6 cfu/g หลังจากเก็บไว้ 10 วัน (รูปที่ 14a,b) การบรรจุในสุญญากาศ (Vac) สามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของ mesophile ได้ โดยเฉพาะในในวันที่ 10 ของการเก็บลูกชิ้นในสภาวะปรับแปรบรรยากาศ (modified atmospheric packaging, MAP) สามารถชะลอการเพิ่มจำนวน mesophilic bacteria ได้อย่างมีประสิทธิภาพ จำนวน mesophile ในลูกชิ้นที่ผลิตจากปลาบดที่เก็บรักษาแบบ MAP มีมากกว่า 10^7 cfu/g ในวันที่ 15 ในขณะที่ตัวอย่างที่ผลิตจากเนื้อปลาบดล้างน้ำมีจำนวน 10^6 cfu/g ในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีผลต่อการสร้างเอนไซม์ที่จำเป็นต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย จึงส่งผลให้การเจริญของเชื้อแบคทีเรียลดลงได้ (Nadon et al., 2001) แนวโน้มการเพิ่มจำนวนของกลุ่ม mesophile ที่ไม่ใช้ออกซิเจนมีลักษณะคล้ายกัน (ไม่ได้แสดงผล)

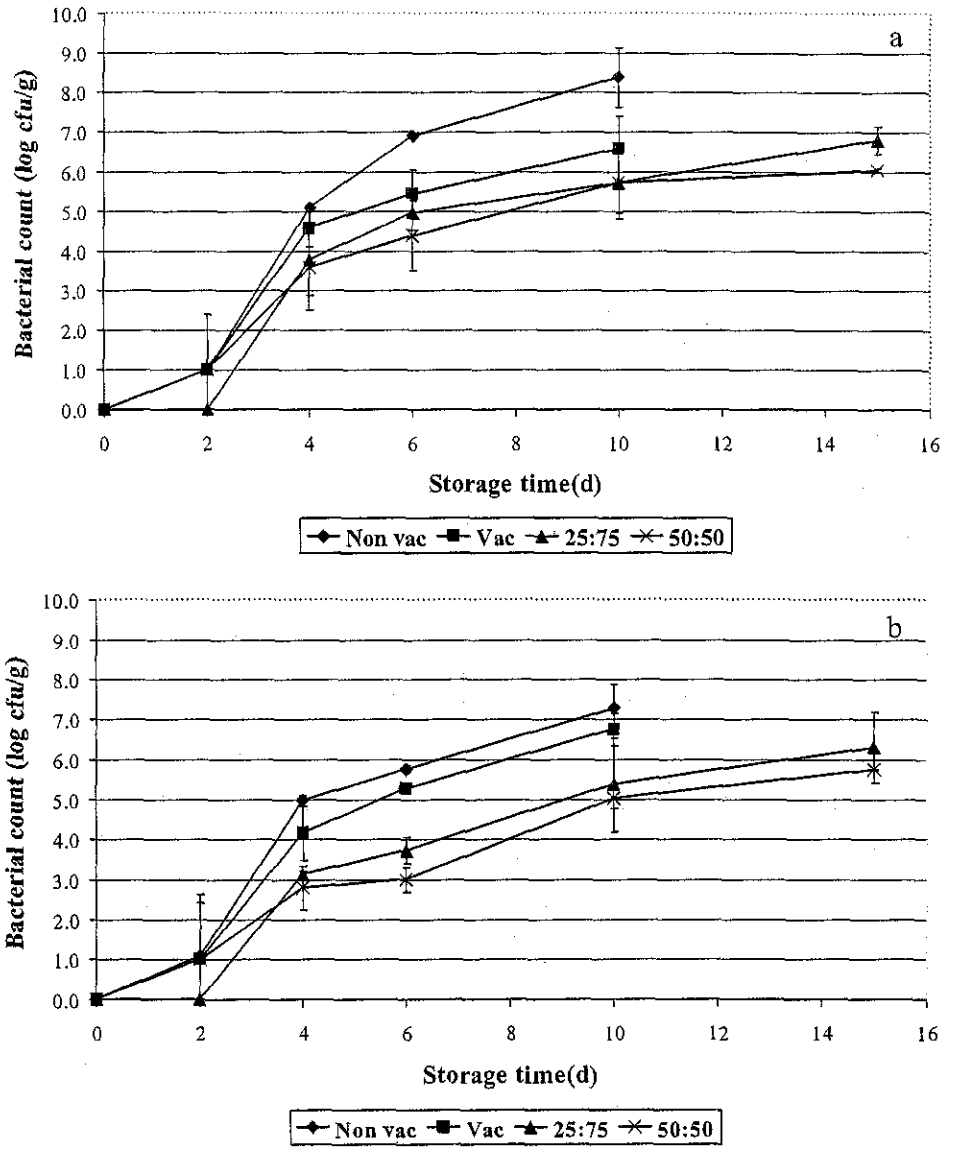
แบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ (psychrotroph) ในสภาวะที่มีออกซิเจน เพิ่มจำนวนสูงขึ้นในลูกชิ้นที่ผลิตจากเนื้อปลาบดและปลาบดล้างน้ำ 1 ครั้งในวันที่ 4 (รูปที่ 15) การล้างเนื้อปลาสามารถชะลอการเจริญของ psychrotrophs ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นได้ จำนวน psychrotrophs เพิ่มจำนวนในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุแบบ Non vac และ Vac ในอัตราที่สูงกว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP จำนวน psychrotrophs มีมากกว่า mesophilic bacteria เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์นานกว่า 6 วัน (รูปที่ 14-15a,b) ดังนั้น psychrotrophs อาจเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นแช่เย็น Gram et al. (1987) รายงานว่า จุลินทรีย์ที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำเป็นสาเหตุสำคัญของการเน่าเสียในอาหารและพบ *Alteromonas* ในปลาที่เน่าเสียที่ 0 องศาเซลเซียส Gram and Huss (1996) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำและเป็นสาเหตุของการเน่าเสียในปลาคือ *Pseudomonas, Moraxella, Acinetobacter, Shewanella, Flavobacterium, Vibrionaceae, Aeromonadaceae* แนวโน้มการเพิ่มจำนวนของกลุ่ม psychrotrophs ที่ไม่ใช้ออกซิเจนมีลักษณะคล้ายกัน (ไม่ได้แสดงผล)

จำนวน *Enterobacteriaceae* ในลูกชิ้นปลานวลจันทร์ซึ่งใช้วัตถุดิบปลาบดหรือปลาบดล้างน้ำ เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บ (รูปที่ 16a-b) โดยตัวอย่างที่บรรจุแบบ Non vac และ Vac มีจำนวน *Enterobacteriaceae* สูงกว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP ดังนั้นการบรรจุแบบ MAP สามารถชะลอการเจริญของ *Enterobacteriaceae* ในลูกชิ้นปลาได้ นอกจากนี้พบว่าแบคทีเรียแลคติคมีจำนวนเพิ่มขึ้น แต่ในอัตราที่ช้ากว่าแบคทีเรียกลุ่มอื่น (รูปที่ 17a,b) การใช้เนื้อปลาล้างน้ำเป็นวัตถุดิบ ทำให้การเจริญของแบคทีเรียกลุ่มนี้เกิดช้าลง โดยเริ่มตรวจพบแบคทีเรียแลคติคในลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์ล้างน้ำในวันที่ 6-10 (รูปที่ 17b) ในขณะที่ลูกชิ้นที่ผลิตจากเนื้อปลาบดพบการเจริญของแบคทีเรียแลคติคในวันที่ 2-4 (รูปที่ 17a) นอกจากนี้การบรรจุแบบ MAP ไม่มีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแลคติคในลูกชิ้นที่ผลิตจากเนื้อปลาบด แต่สามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียแลคติคในตัวอย่างลูกชิ้นที่ผลิตจากเนื้อปลาล้างน้ำ โดยเฉพาะในตัวอย่างที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไนโตรเจน 50% (รูปที่ 17b) การนำเนื้อปลาบดมาล้าง

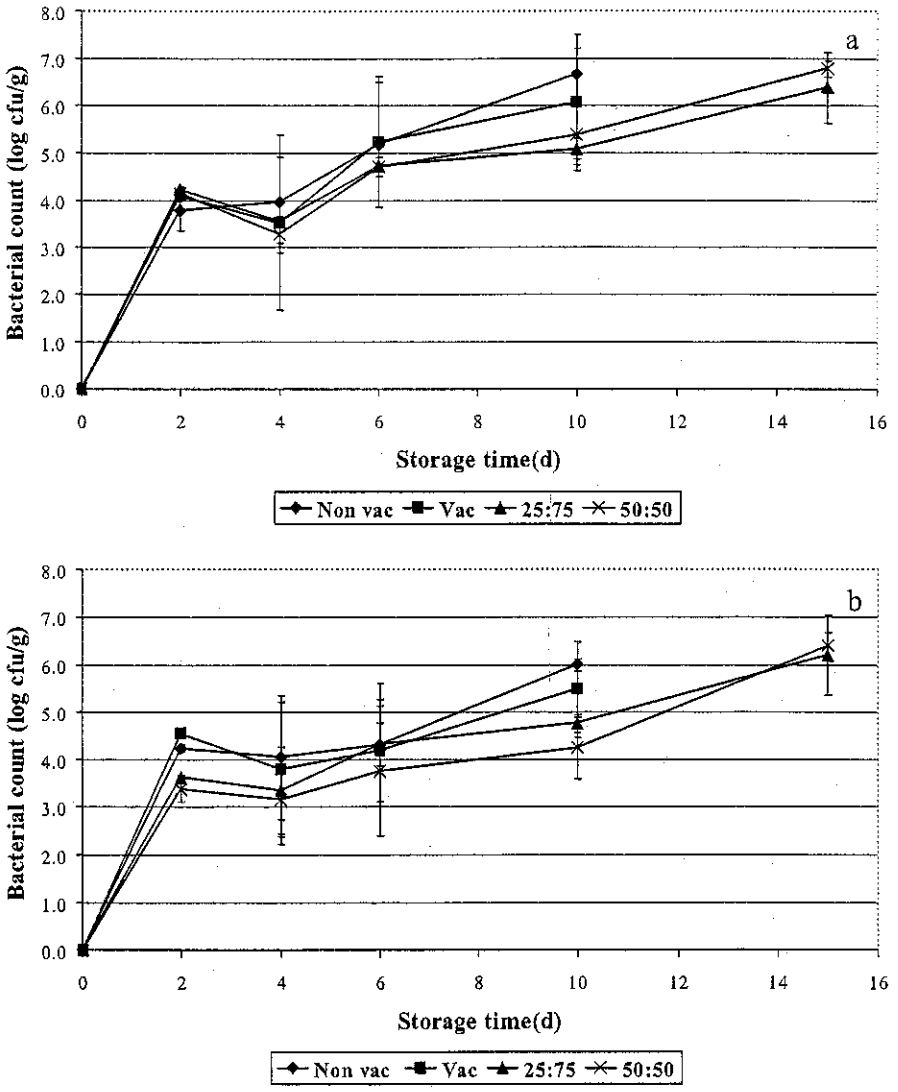
น้ำเป็นการลดจำนวนจุลินทรีย์ และอาจทำให้ microflora แตกต่างไปจากเนื้อปลาบด มีรายงานการพบกลุ่มแบคทีเรียแลคติคเป็นสาเหตุของการเน่าเสียในปลาที่บรรจุในสภาวะที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Gram and Huss, 1996)



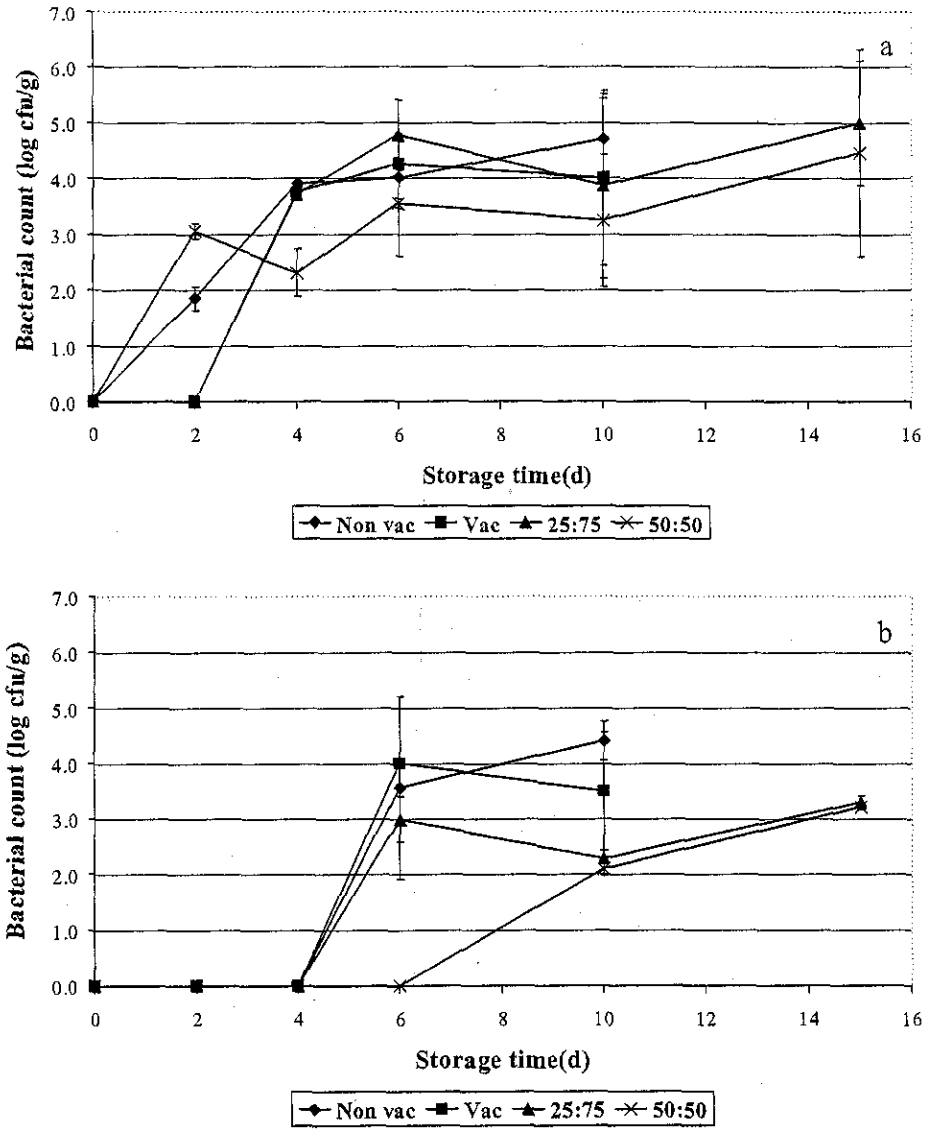
รูปที่ 14 การเปลี่ยนแปลงจำนวน mesophilic bacteria ในลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ Non vac = ปิดผนึกแบบมีอากาศ, Vac = ปิดผนึกสุญญากาศ, 25:75 ปิดผนึกโดยบรรจุก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 25% และไนโตรเจน 75%, 50:50 ปิดผนึกโดยบรรจุก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 50% และไนโตรเจน 50%



รูปที่ 15 การเปลี่ยนแปลงจำนวน psychrotrophic bacteria ในลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ ตัวย่อตามรูปที่ 14



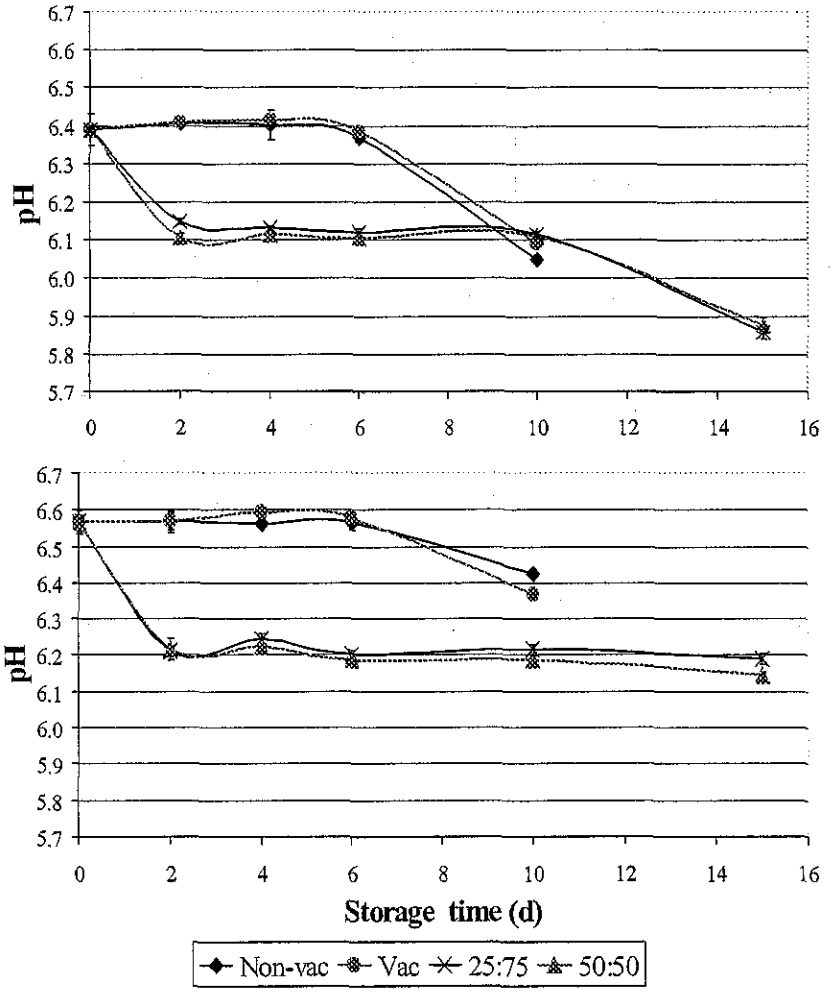
รูปที่ 16 การเปลี่ยนแปลงจำนวน *Enterobecteriaceae* ในลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ ตัวย่อตามรูปที่ 14



รูปที่ 17 การเปลี่ยนแปลงจำนวน แบคทีเรียแลคติค ในลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ ตัวย่อตามรูปที่ 14

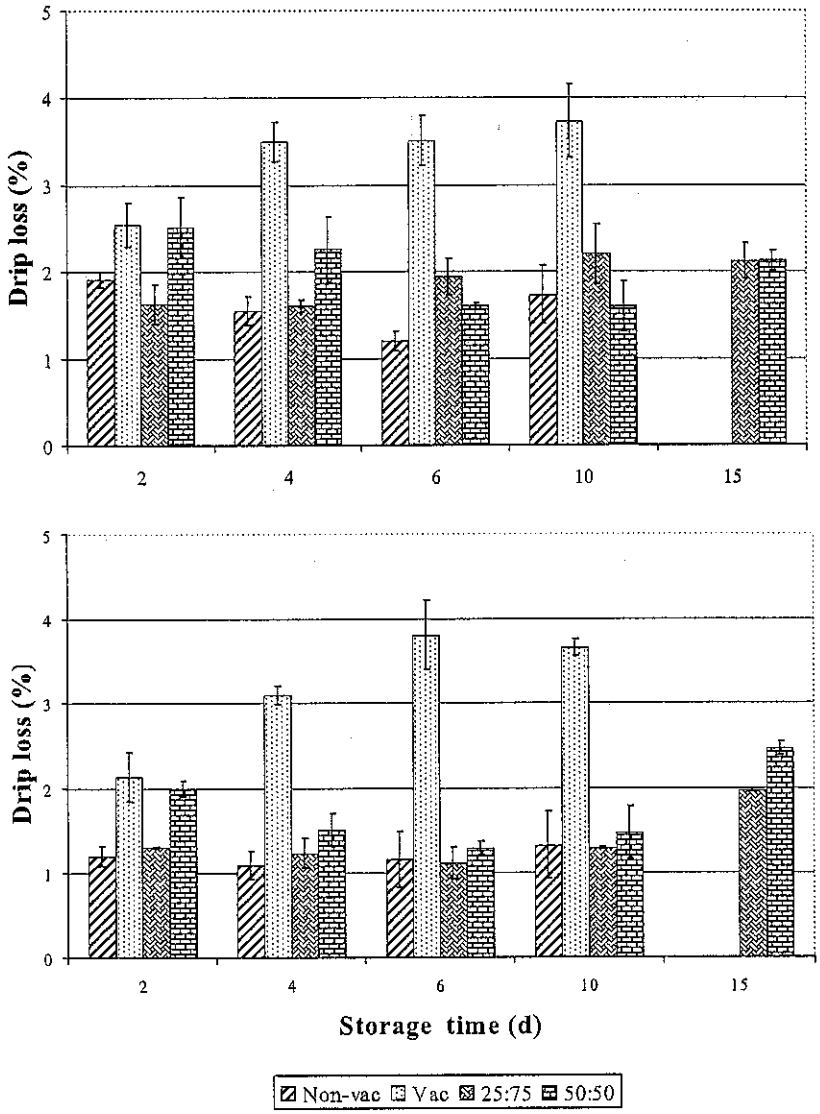
2.4.2 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี-กายภาพ

การเก็บลูกชิ้นปลานวลจันทร์ในสภาวะ MAP ที่มีส่วนผสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 25-50% มีผลทำให้ค่า pH ของตัวอย่างลดลงในวันที่ 2 (รูปที่ 18) ทั้งนี้เนื่องจากการแพร่ผ่านของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่ผลิตภัณฑ์ ซึ่งเมื่อเกิดปฏิกิริยากับน้ำเกิดเป็นกรดคาร์บอนิก (รูปที่ 18) ในตัวอย่างลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บดและเนื้อปลานวลจันทร์บดล้างน้ำเก็บในสภาวะ Non vac และ Vac มีการลดลงของ pH อย่างรวดเร็วหลังจากวันที่ 6 ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียแลคติคในวันที่ 6 เช่นกัน (รูปที่ 17a-b) ส่วนค่า pH ของตัวอย่างที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บดและบรรจุแบบ MAP ลดลงรวดเร็วอีกช่วงหนึ่งหลังจากเก็บไว้นานกว่า 10 วัน (รูปที่ 18a) ซึ่งสอดคล้องกับจำนวนแบคทีเรียแลคติคที่สูงในช่วงระยะเวลาดังกล่าว (รูปที่ 17a) ในขณะที่ตัวอย่างลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บดล้างน้ำบรรจุแบบ MAP มีค่า pH เปลี่ยนแปลงค่อนข้าง



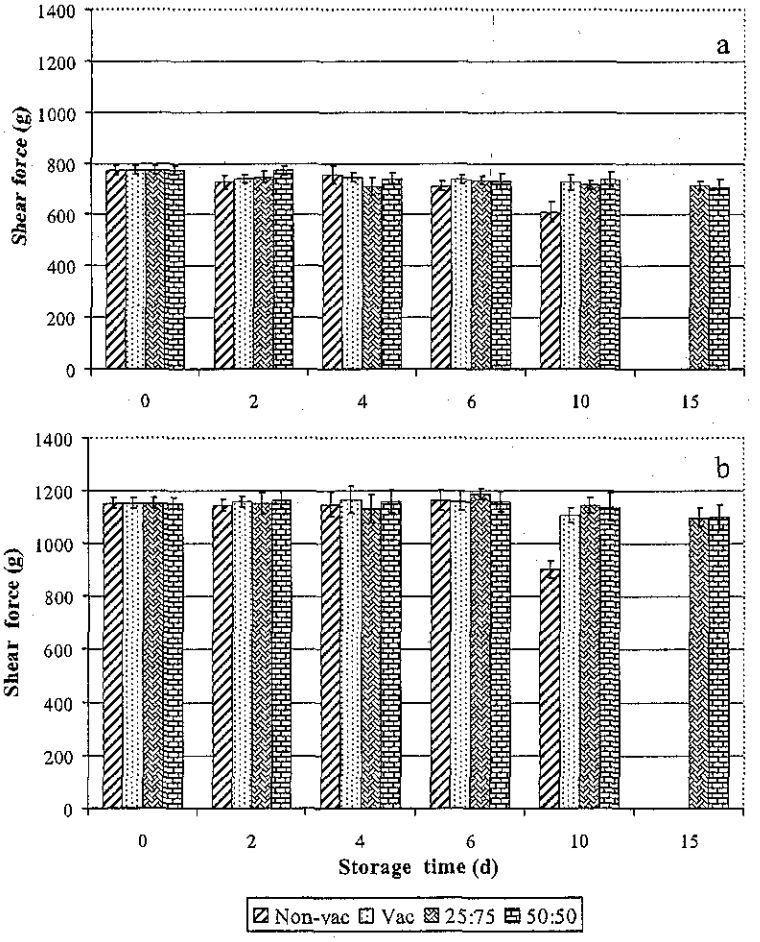
รูปที่ 18 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ ตัวย่อตามรูปที่ 14

น้อยในช่วงอายุการเก็บ 2-15 วัน (รูปที่ 18b) ซึ่งสอดคล้องกับจำนวนแบคทีเรียแลคติคที่ต่ำ (10^3 cfu/g) (รูปที่ 17b) ดังนั้นแบคทีเรียแลคติคอาจเป็นสาเหตุของการลดลงของ pH ในลูกชิ้นปลานวลจันทร์แช่เย็น และอาจเป็นสาเหตุของกลิ่นเปรี้ยวในผลิตภัณฑ์ได้ การใช้ปลาล้างน้ำในการเป็นวัตถุดิบในการผลิตลูกชิ้น ผนวกกับการบรรจุลูกชิ้นแบบ MAP สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลง pH ของลูกชิ้นได้ ดัชนีบ่งชี้อื่นๆ เช่น total volatile base ไม่สามารถใช้เป็นดัชนีชี้วัดความสดของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลาได้ เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในช่วงที่ผลิตภัณฑ์มีการเน่าเสียแล้ว



รูปที่ 19 การเปลี่ยนแปลง ค่าการสูญเสียน้ำ (drip loss) ของลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ ตัวย่อตามรูปที่ 14

การสูญเสียน้ำ (drip loss) ระหว่างการเก็บรักษาเป็นลักษณะสำคัญประการหนึ่งของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้น ในภาพรวม drip loss ของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นเมื่อ เมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) (รูปที่ 19 a,b) โดยชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ (เนื้อปลานวลจันทร์บด/เนื้อปลาล้างน้ำ) ไม่มีผลต่อปริมาณ drip loss ตัวอย่างที่บรรจุแบบ Vac มีปริมาณ drip loss สูงที่สุด ($p<0.05$) (รูปที่ 19 a,b) แรงบีบรัดลูกชิ้นเนื่องจากการบรรจุอาจเป็นสาเหตุให้น้ำในโครงสร้างของเจลซึมออกในระหว่างการเก็บรักษาปริมาณ drip loss ของตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP มีปริมาณมากกว่าในตัวอย่าง Non vac ($p<0.05$) (รูปที่ 19 a,b)Fagan et al. (2004) รายงานว่าการใช้ MAP ในสภาวะที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 100% มีผลเพิ่มค่า drip loss ในเนื้อปลาแล่แช่เย็น (chilled fillet) อย่างไรก็ตามปริมาณ drip loss ในลูกชิ้นที่บรรจุแบบ MAP จัดว่ามีค่าค่อนข้างน้อย (1-2%) ตลอดช่วงระยะเวลาการเก็บ ซึ่งลักษณะปรากฏของการเยิ้มน้ำไม่แตกต่างจาก Non vac โดยเฉพาะในระยะเวลาการเก็บ 2-6 วัน ($p<0.05$)



รูปที่ 20 การเปลี่ยนแปลงของค่าแรงเฉือนของลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ ตัวย่อตามรูปที่ 14

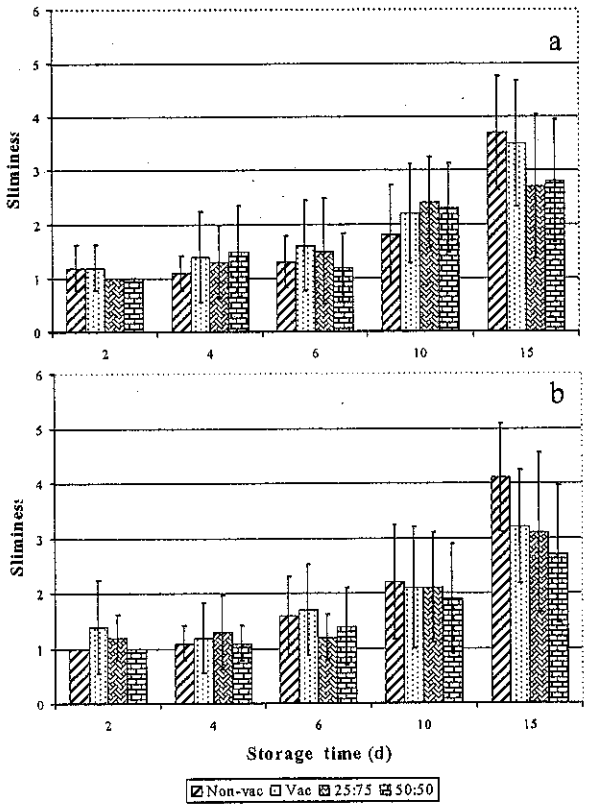
การเปลี่ยนแปลงค่าแรงเฉือนของลูกชิ้นปลานวลจันทร์ในระหว่างการเก็บรักษาแสดงดังในรูปที่ 20 ลูกชิ้นที่ผลิตจากเนื้อปลาล้างน้ำ มีค่าแรงเฉือนสูงกว่าที่ผลิตจากเนื้อปลาบด ($p<0.05$) (รูปที่ 20a,b) ลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นที่ผลิตจากวัตถุดิบทั้ง 2 ประเภทไม่เปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บ 0-10 วัน เมื่อบรรจุแบบ MAP ที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 25-50% และบรรจุ Vac ($p>0.05$) (รูปที่ 20a,b) แต่ตัวอย่างที่เก็บแบบ Non vac เป็นเวลา 6 วัน มีลักษณะปรากฏที่ยุ่ยและซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของค่าแรงเฉือน ($p<0.05$) แบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำในสภาวะที่มีออกซิเจนบางสายพันธุ์สามารถใช้โปรตีนเป็นแหล่งไนโตรเจน จึงมีการย่อยโปรตีนทำให้เนื้อสัมผัสยุ่ยและ จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสีในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าระยะเวลาในการเก็บและวิธีในการบรรจุ (Non vac, Vac, 25:75, 50:50) ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสีของผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากปลาบดและปลาบดล้างน้ำ ($p>0.05$) และเนื่องจากค่าสีใกล้เคียงกันจึงไม่ได้แสดงค่าไว้ ณ ที่นี้

2.4.3 <u>การทดสอบทางประสาทสัมผัส</u>

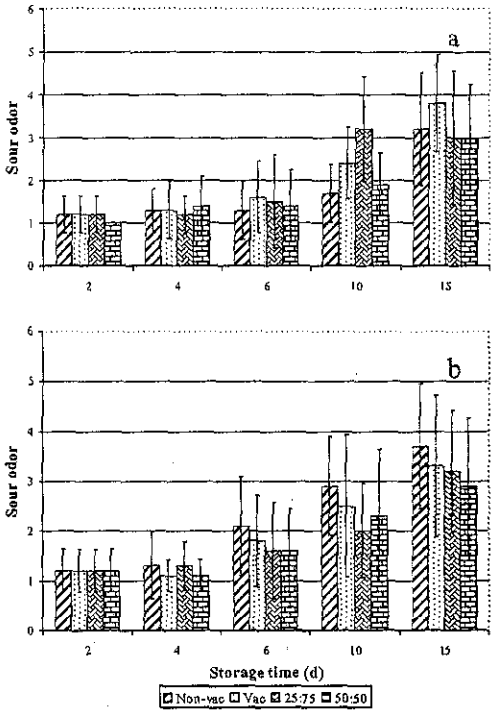
ระดับเมือกของลูกชิ้นที่ผลิตจากเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดล้างน้ำไม่ต่างกัน ($p<0.05$) (รูปที่ 21a,b) โดยทั่วไป ในช่วงระหว่างการเก็บ 0-6 วัน ที่ทุกสภาวะการบรรจุ เมือกของผลิตภัณฑ์อยู่ในระดับน้อยมากจนถึงไม่มีเมือกเลย (รูปที่ 21a,b) ลูกชิ้นที่ผลิตจากวัตถุดิบทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณเมือกเพิ่มขึ้นในวันที่ 10-15 ตัวอย่างที่บรรจุในสภาวะ Non vac และ Vac เป็นเวลา 6-10 วัน มีปริมาณเมือกไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP ($p>0.05$) แต่เมื่อเก็บไว้ 15 วัน ตัวอย่างทั้ง 2 สภาวะมีปริมาณเมือกมากกว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP (25:75, 50:50) ($p<0.05$) สัดส่วนของผู้ทดสอบที่ยอมรับระดับการเกิดเมือกของผลิตภัณฑ์บรรจุแบบ Non vac, Vac, MAP 25:75, MAP 50:50 ในวันที่ 6 คือ 89, 78, 89, 89% ตามลำดับ และลดลงเป็น 40, 30, 30, 50% ในวันที่ 10 ตามลำดับ จึงอาจกล่าวได้ว่าโดยภาพรวมผู้บริโภคไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์ที่บรรจุทั้ง 4 สภาวะในวันที่ 10 การเปลี่ยนแปลงของกลิ่นเปรี้ยวมีแนวโน้มเช่นเดียวกับเมือก (รูปที่ 22a,b) ผู้ทดสอบตรวจพบกลิ่นเปรี้ยวในวันที่ 10 ของการเก็บรักษา ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของค่า pH ในตัวอย่างที่บรรจุแบบ Non vac และ Vac แม้ว่า pH ของตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP ในระหว่างการเก็บรักษา 2-10 วันมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก (รูปที่ 18a,b) แต่ผู้ทดสอบสามารถตรวจพบกลิ่นเปรี้ยวในวันที่ 10 (รูปที่ 22a,b) อย่างไรก็ตาม ระดับของการตรวจพบมีน้อยกว่าในตัวอย่าง Non vac และ Vac โดยเฉพาะในตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP 50:50 ผู้ทดสอบโดยส่วนใหญ่ (60-90%) ไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์หลังจากเก็บเป็นเวลา 10 วัน ที่ทุกสภาวะการบรรจุ การเปลี่ยนแปลงของกลิ่นเน่ามีลักษณะคล้ายคลึงกัน (รูปที่ 23) ผู้ทดสอบเริ่มตรวจพบกลิ่นเน่าในวันที่ 6 ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นที่ผลิตจากปลาล้างน้ำ 1 ครั้ง และกลิ่นเน่าเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดในวันที่ 10 และ 15 ผู้ทดสอบตรวจพบว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบ Vac และ Non vac มีกลิ่นเน่าเหม็นที่มากกว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP (25:75; 50:50) ($p<0.05$) ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ไม่ยอมรับกลิ่นของผลิตภัณฑ์ในวันที่ 10 ของการเก็บที่ทุกสภาวะการบรรจุ จากการสัมภาษณ์ผู้ทดสอบให้ความเห็นตรงกันว่าหากตัวอย่างมีเมือก กลิ่นเปรี้ยว หรือกลิ่นเหม็นเน่า ในระดับ "เล็กน้อยมาก" (ตรงกับคะแนน 2) ซึ่งเป็นระดับที่ผู้ทดสอบเริ่มตรวจพบ ตัวอย่างนั้นจะไม่เป็นที่ยอมรับ หากยึดตามเกณฑ์ลักษณะปรากฏดังกล่าว ผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นที่ผลิตจากเนื้อปลาบดหรือเนื้อปลาบดล้างน้ำ 1 ครั้ง บรรจุแบบ Non vac , Vac หรือ MAP (25:75, 50:50) จะมีอายุการเก็บไม่เกิน 10 วัน

การบรรจุแบบ MAP สามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียทั้งในกลุ่ม aerobic mesophiles, aerobic psychrotrophs ได้ดี และชะลอการเจริญของแบคทีเรียแลคติคได้ในระดับหนึ่ง (รูปที่ 14-17a-b) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Özogul et al. (2000) ซึ่งรายงานว่า ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีผลยับยั้งการเจริญของ psychrotrophs

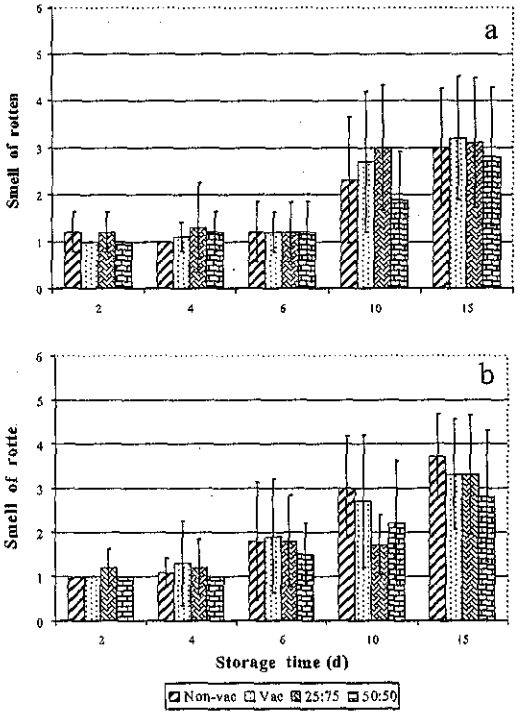
และแบคทีเรียแกรมลบที่ต้องการอากาศ (aerobic Gram negative bacteria) ในปลา หากใช้จำนวนจุลินทรีย์ 10^6 cfu/g เป็นเกณฑ์ในการบ่งชี้การเน่าเสียของอาหาร จะพบว่าลูกชิ้นปลานวลจันทร์บรรจุแบบ Non vac และ Vac มีอายุการเก็บไม่เกิน 6 วัน ส่วนตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP มีอายุการเก็บไม่เกิน 10 วัน โดยสัดส่วนของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 25% ให้ผลไม่แตกต่างจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 50% ($p<0.05$) เป็นที่น่าสังเกตว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบNon vac และ Vac นั้นแม้จะมีจำนวนจุลินทรีย์ใกล้เคียงกับ 10^6 cfu/g ในวันที่ 6 ของการเก็บก็ตาม แต่ยังไม่มีลักษณะปรากฏของการเน่าเสีย นอกจากนี้ถึงแม้การบรรจุแบบ MAP จะสามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียได้ แต่การบรรจุแบบ MAP ไม่สามารถชะลอการเกิดกลิ่นเปรี้ยว กลิ่นเน่าและเมือกซึ่งเป็นลักษณะปรากฏที่บ่งชี้ถึงการเน่าเสียได้ แบคทีเรียที่มีบทบาทต่อการเกิดลักษณะปรากฏดังกล่าวอาจไม่ได้ถูกยับยั้งด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จึงทำให้ลักษณะปรากฏของการเน่าเสียของตัวอย่างที่บรรจุแบบ Non vac และ MAP ถูกตรวจพบในเวลาเดียวกัน Debevere and Boskou (1996) ระบุว่าการบรรจุแบบ MAP ที่มีสัดส่วนของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 60% สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (aerobic bacteria) แบคทีเรียที่สร้าง H_2S และ *Enterobacteriaceae* ในปลาคอดแล่ (cod fillet) แต่ไม่สามารถลดปริมาณ trimethylamine (TMA) ในผลิตภัณฑ์ได้ ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียที่ผลิต trimethylamine ในผลิตภัณฑ์คือ *Photobacterium phosphoreum* ซึ่งสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 60%



รูปที่ 21 ระดับของเมือกในลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ ซึ่งประเมินโดยผู้ทดสอบ ตัวย่อตามรูปที่ 14



รูปที่ 22 ระดับกลิ่นเปรี้ยวของลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ ซึ่งประเมินโดยผู้ทดสอบ ตัวย่อตามรูปที่ 14



รูปที่ 23 ระดับกลิ่นเน่าในลูกชิ้นที่ผลิตจากปลานวลจันทร์บด (a) และปลานวลจันทร์บดล้างน้ำ เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการบรรจุต่างๆ ซึ่งประเมินโดยผู้ทดสอบ ตัวย่อตามรูปที่ 14

2.5 ชนิดและปริมาณของแป้งต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นแช่แข็ง

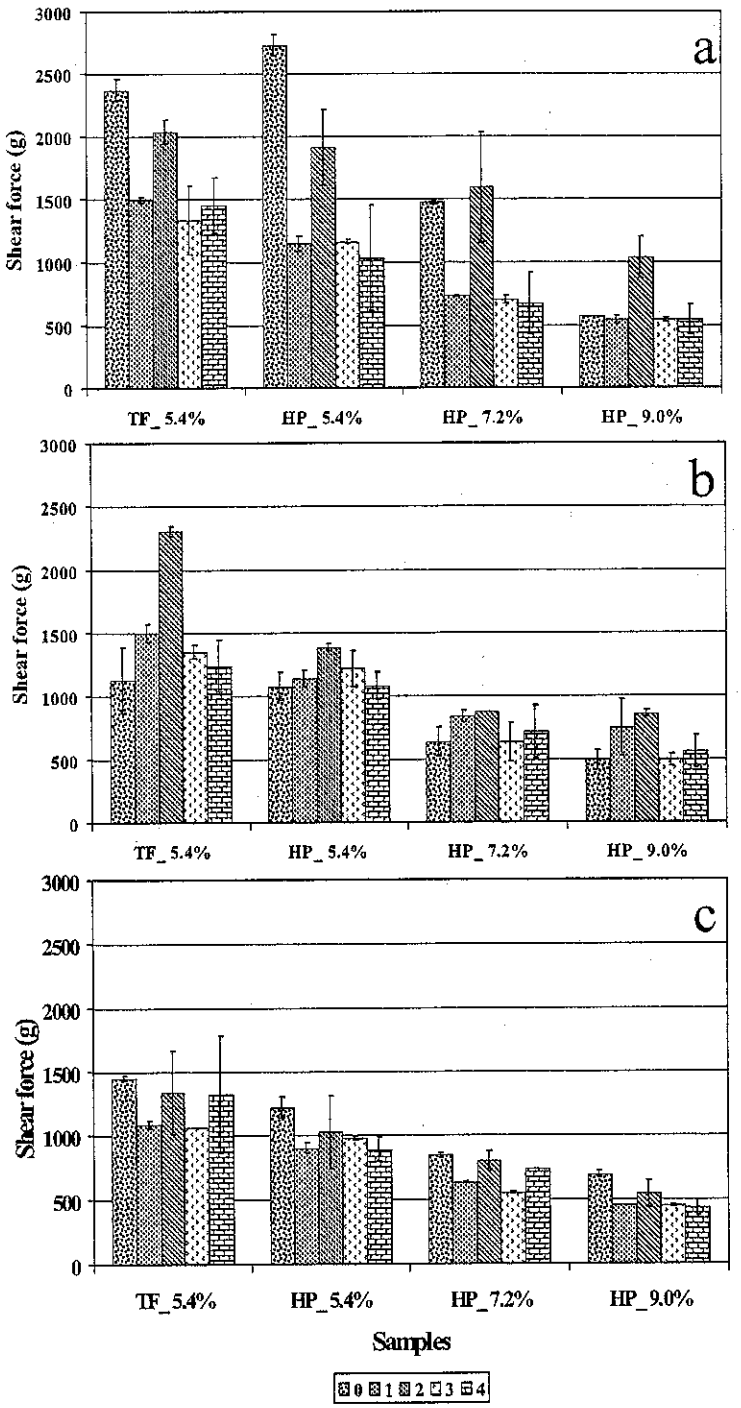
จากการศึกษาอายุการเก็บของลูกชิ้นปลานวลจันทร์ ข้างต้น พบว่ามีอายุการเก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 6 วัน เมื่อบรรจุสภาวะ Non vac และ Vac และไม่เกิน 10 วันเมื่อบรรจุสภาวะ MAP (25% CO_2:75% N_2, 50%CO_2:50% N_2) โดยใช้จำนวนจุลินทรีย์เป็นเกณฑ์ และผลิตภัณฑ์ที่ทุกสภาวะการบรรจุมีอายุไม่เกิน 10 วันเมื่อใช้ลักษณะปรากฏของการเน่าเสียเป็นเกณฑ์ ไม่ว่าจะใช้เกณฑ์ใดผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นจัดว่ามีอายุการเก็บที่สั้น แนวทางหนึ่งในการยืดอายุผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นคือการแช่แข็ง อย่างไรก็ตามผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นจากกระบวนการแช่แข็ง จะทำลายโครงสร้างของเจลโปรตีน เกิดการสูญเสียน้ำออกจากโครงข่าย (gel matrix) เมื่อทำละลาย เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นจึงเหนียวกระด้างคล้ายยาง (rubbery) การวิจัยในส่วนนี้จึงมุ่งศึกษาชนิดและปริมาณแป้งที่เหมาะสมในการผลิตลูกชิ้นปลานิล ปลานวลจันทร์ และปลายี่สกเทศแช่แข็ง **(แม้ว่าปลานวลจันทร์จะเป็นปลาที่มีศักยภาพในการใช้เป็นวัตถุดิบมากที่สุดด้วยเหตุผลในด้านผลผลิตของเนื้อปลาบด ราคาของวัตถุดิบ และคุณภาพของเจล แต่เนื่องจากทางโครงการฯ ได้เสนอแผนการศึกษาลูกชิ้นปลานิลและปลายี่สกเทศแช่แข็งไว้ในตอนต้น จึงนำเสนอผลการศึกษาของปลานิลและปลายี่สกเทศไว้ด้วย)**

จากการศึกษาเบื้องต้นโดยใช้แป้งมันสำปะหลังดัดแปรที่ผลิตภายในประเทศ และแป้งมันฝรั่งดัดแปรจากประเทศฝรั่งเศสซึ่งนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ปูอัดแช่แข็งตามที่ได้แสดงในตารางที่ 8 โดยพบว่าแป้งที่มีศักยภาพในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลาน้ำจืดแช่แข็งคือแป้งมันสำปะหลังที่ดัดแปร cross-linking และ hydroxypropylation (HP) และแป้งมันฝรั่งดัดแปร (CR) เนื่องจากสามารถลดการสูญเสียน้ำหลังทำละลาย (drip loss) ได้มากที่สุด และยังคงให้ลักษณะเนื้อสัมผัสที่มีความยืดหยุ่นและเกาะตัวที่ดี แต่เนื่องจากแป้ง HP ผลิตในประเทศไทย จึงคัดเลือกแป้งชนิดนี้มาศึกษาหาปริมาณที่เหมาะสม

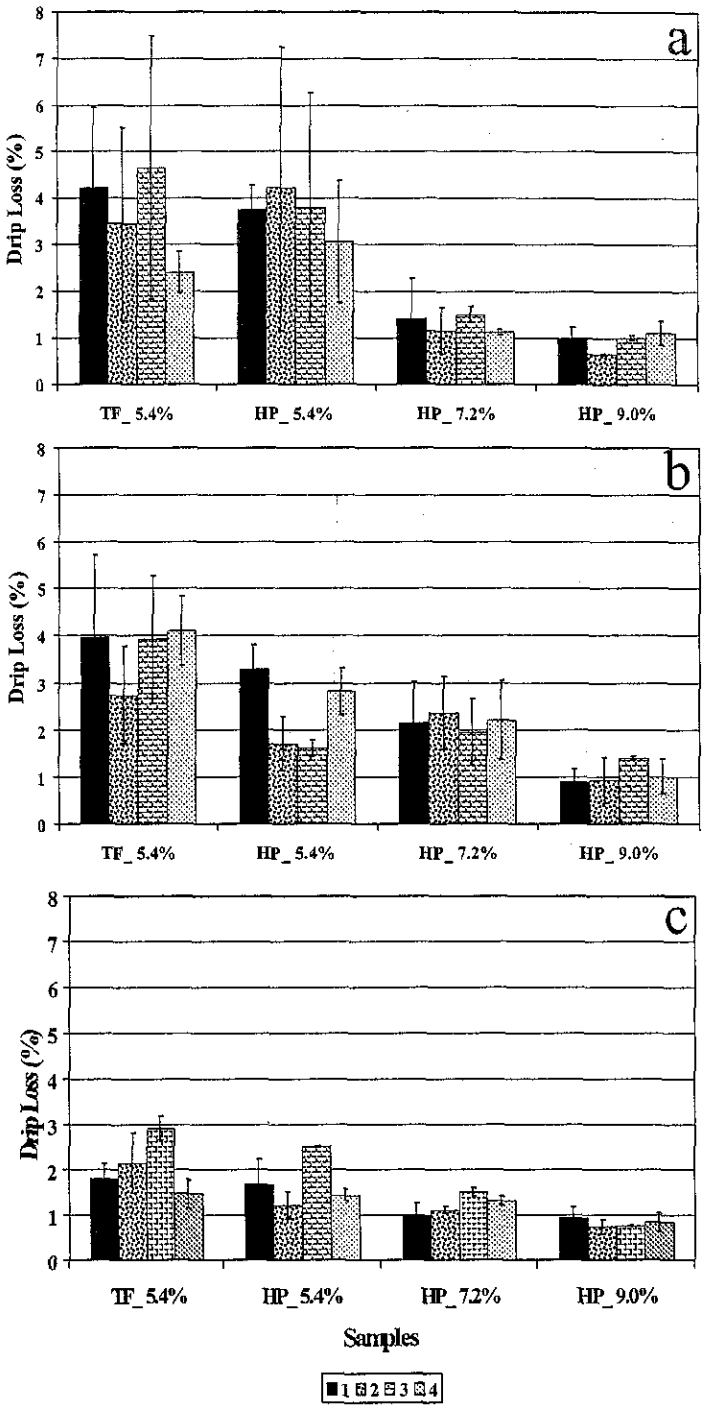
ในการศึกษานี้ใช้แป้งมันสำปะหลัง (TF) ที่ระดับ 5.4% เป็นตัวอย่างควบคุม และแปรระดับแป้งมันสำปะหลังดัดแปร (HP) ที่ 5.4, 7.2, และ 9% ค่าแรงเฉือนของลูกชิ้นก่อนการแช่แข็งที่เติม TF และ HP ที่ระดับ 5.4% มีค่าใกล้เคียงกันในปลาทุกชนิดที่ศึกษา ($p>0.05$) (รูปที่ 24a-c) การเพิ่มระดับ HP มีผลลดค่าแรงเฉือนในลูกชิ้นปลาทั้ง 3 ชนิด ($p<0.05$) เนื่องจากความเข้มข้นของโปรตีนที่ลดลง ค่าแรงเฉือนของลูกชิ้นปลาทั้ง 3 ชนิดเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บแช่แข็ง 4 เดือน ($p<0.05$) โดยทั่วไปค่าแรงเฉือนมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาในการแช่แข็งเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) การลดลงของค่าแรงเฉือนในระหว่างการแช่แข็ง อาจเนื่องจากการสูญเสียโครงสร้างของเจลโปรตีนและเจลแป้งในระหว่างการแช่แข็ง เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของค่า drip loss ในระหว่างการเก็บแบบแช่แข็ง พบว่าค่า drip loss ไม่แตกต่างกันในลูกชิ้นปลา 3 ชนิด ($p>0.05$) ลูกชิ้นปลาที่เติมแป้ง TF และ HP ที่ ระดับ 5.4% มีค่า drip loss ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) (รูปที่ 25a-c) และสูงกว่าตัวอย่างที่เติมแป้งที่ระดับ 7.2 และ 9% เนื่องจาก Hydroxypropylated starch มีคุณสมบัติอุ้มน้ำในผลิตภัณฑ์อาหารแช่แข็งได้ดีกว่าแป้งที่ไม่ได้ดัดแปร จึงสามารถช่วยเพิ่มความคงตัว (Freeze-thaw stability) ให้กับอาหารและลด drip loss ในอาหารแช่แข็ง (Rutenberg and Solarek, 1984) นอกจากนี้พบว่าระยะเวลาการแช่แข็งไม่มีผลต่อค่า drip loss ($p>0.05$) ดังนั้นการลด drip loss ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลาน้ำจืดแช่แข็ง สามารถทำได้โดยใช้แป้งมันสำปะหลังดัดแปรแบบ cross-linking/hydroxypropylation ที่ระดับ 7.2%

ตารางที่ 8 แป้งชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาเบื้องต้น (preliminary) เพื่อคัดเลือกแป้งที่เหมาะสมในการผลิตลูกชิ้นแช่แข็ง

Company, Country (Starch)	Code	Modification
A, Thailand (Tapioca)	AC	Acetylation
	CX	Cross-linking
	CX_AC	Cross-linking/acetylation
B, Thailand (Tapioca)	AC025	Acetylation with degree of substitution (DS) of 0.025%
	AC034	Acetylation with DS of 0.034%
	CX_AC018	Cross-linking/Acetylation with DS of 0.018%
	CX_AC023	Cross-linking/Acetylation with DS of 0.023%
C, Thailand (Tapioca)	CX_AC02	Cross-linking/Acetylation with degree of substitution (DS) of 0.02%
	CX_AC026	Cross-linking/Acetylation with DS of 0.026%
	CX_HP051	Cross-linking/ Hydroxypro pylation with DS of 0.051%
	CX_HP065	Cross-linking/ Hydroxypro pylation with DS of 0.065%
	CX_HP10 (**HP**)	Cross-linking/ Hydroxypro pylation with DS of 0.1%
D, France (Potato)	CR	Cross-linking/ Hydroxypro pylation

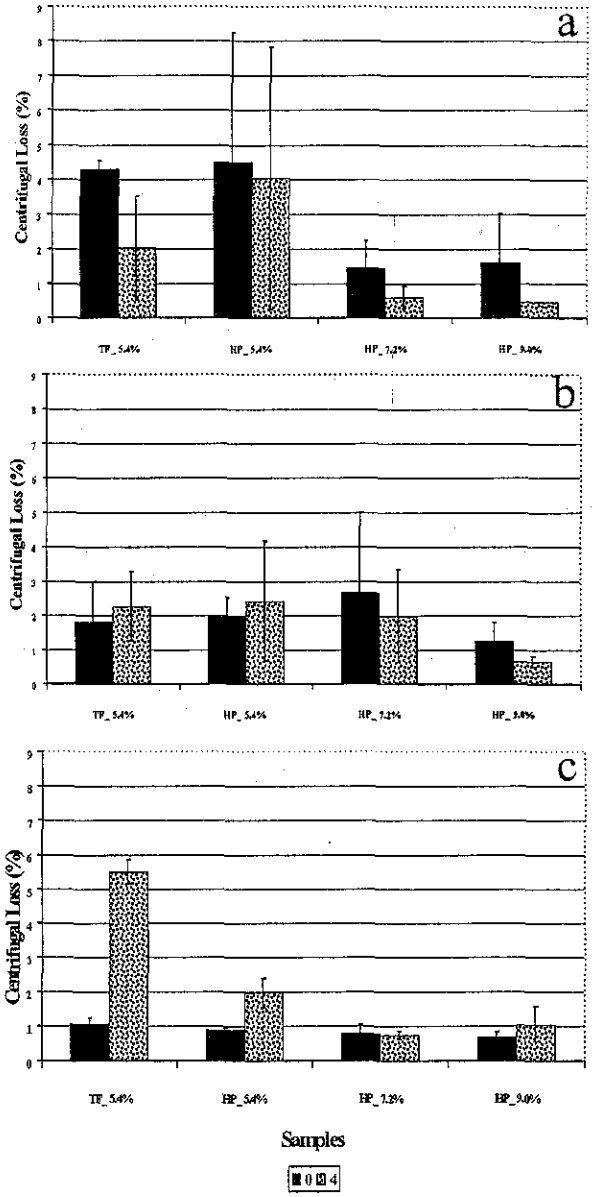


รูปที่ 24 ค่าแรงเฉือนของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ผสมแป้งในระดับต่างๆ และแช่แข็ง 0-4 เดือน TP=แป้งมันสำปะหลัง HP=แป้งมันสำปะหลังดัดแปรแบบ cross-linking / hydroxypropylation, 5.4-9.0=ระดับการเติมเป็น %, 0-4 = ระยะเวลาแช่แข็งเป็นเดือน



รูปที่ 25 ค่า drip loss ของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ผสมแป้งในระดับต่างๆ และแช่แข็ง 0-4 เดือน ตัวย่อตามรูปที่ 24

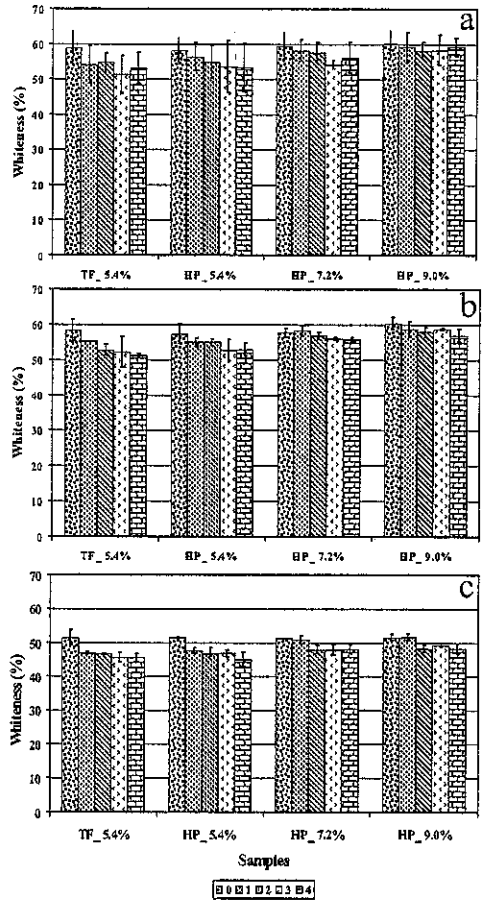
เมื่อพิจารณาค่าการสูญเสียน้ำเนื่องจากแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (centrifugal loss) (รูปที่ 26a-c) พบว่าการเปลี่ยนแปลงมีแนวโน้มเดียวกับ drip loss ค่าการสูญเสียน้ำเนื่องจากแรงเหวี่ยงในตัวอย่างที่เติมแป้ง 7.2%ไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่เติมแป้ง 9% ($p>0.05$) และมีค่าน้อยกว่าตัวอย่างที่เติมแป้ง 5.4% ($p<0.05$) แสดงว่าการเพิ่มปริมาณแป้งมีผลเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของระบบเจลโปรตีน-แป้งได้มากขึ้น และเนื่องจากทั้งปริมาณ drip loss และ centrifugal loss มีค่าไม่แตกต่างกันในระหว่างตัวอย่างไม่ได้แช่แข็ง (0) และตัวอย่างแช่แข็ง 4 เดือน (4) ($p>0.05$) (รูปที่



รูปที่ 26 ค่า **centrifugal loss** ของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ผสมแป้งในระดับต่างๆ และแช่แข็ง 0-4 เดือน ตัวย่อตามรูปที่ 24

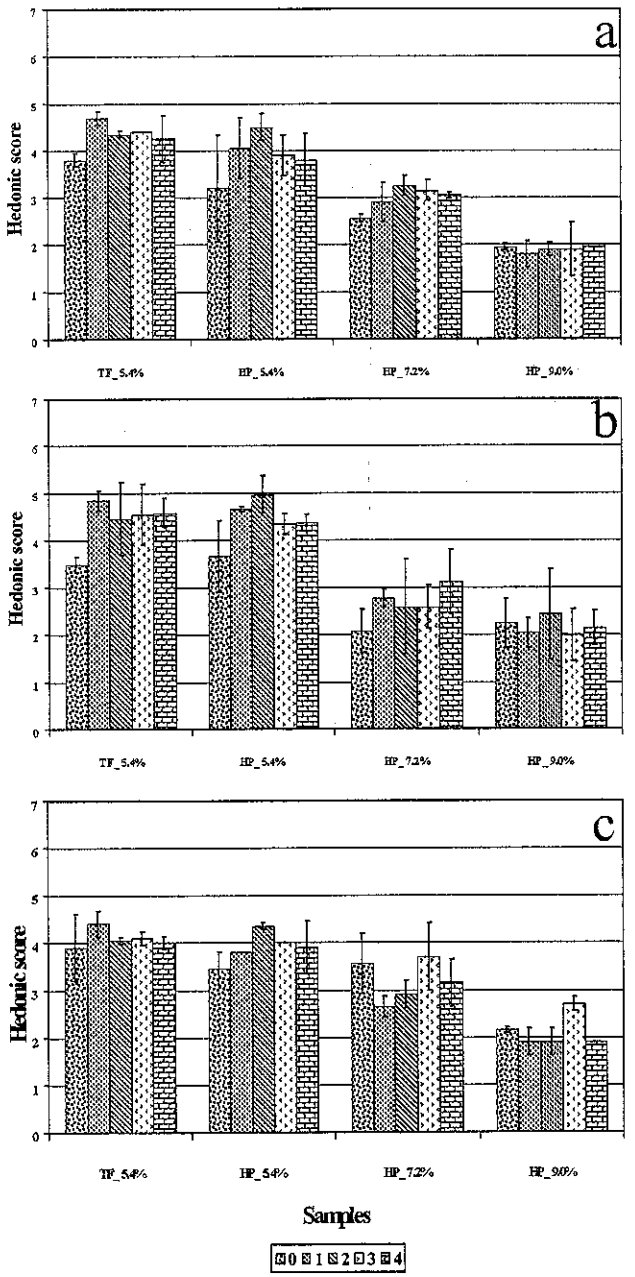
25, 26) จึงอาจกล่าวได้ว่าระดับแป้งที่ใช้ศึกษา 5.4-9% เพียงพอที่จะไม่ทำให้เกิดการสูญเสียโครงข่ายเจลในระหว่างการแช่แข็ง เป็นที่น่าสังเกตว่าค่าที่วัดได้จาก drip loss และ centrifugal loss มีค่าที่ใกล้เคียงกัน แต่ centrifugal loss มีค่าใช้จ่ายที่สูงกว่ามากเนื่องจากต้องใช้ microcentrifuge ที่มีแผ่นเยื่อกรอง (membrane) ขนาด 0.45 ไมครอน ซึ่งมีราคาแพง และไม่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ นอกจากนี้ตัวอย่างที่ใช้มีขนาดเล็ก (1-2 กรัม) ซึ่งอาจทำให้เกิดค่าความแปรปรวนสูงเพราะโครงข่ายเจลอาจไม่สม่ำเสมอ หากตัดส่วนที่ยังคงมีโครงข่ายที่สมบรูณ์ ก็จะทำให้ได้ค่า centrifugal loss ที่ต่ำ แต่หากนำส่วนที่เกิดโครงข่ายไม่สมบรูณ์ จะทำให้เกิดการสูญเสียน้ำมากเมื่อนำไปปั่นเหวี่ยง การวิเคราะห์ค่า drip loss เป็นวิธีที่ง่ายกว่าและอุปกรณ์มีราคาถูกกว่า และยังเป็นการประเมินการสูญเสียน้ำจากลูกชิ้นทั้งลูก ไม่ใช่ส่วนหนึ่งส่วนใดของลูกชิ้น จึงอาจเป็นวิธีที่เหมาะสมและสามารถนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพในสถานประกอบการได้

การเพิ่มระดับแป้งมีผลให้ค่าความขาวเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) (รูปที่ 27) ซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ ค่าความขาวลดลงในระหว่างการแช่แข็ง ($p<0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการสูญเสียน้ำ ทำให้การสะท้อนของแสงเปลี่ยนไปผลิตภัณฑ์จึงมีความคล้ำมัว (dull) มากขึ้น



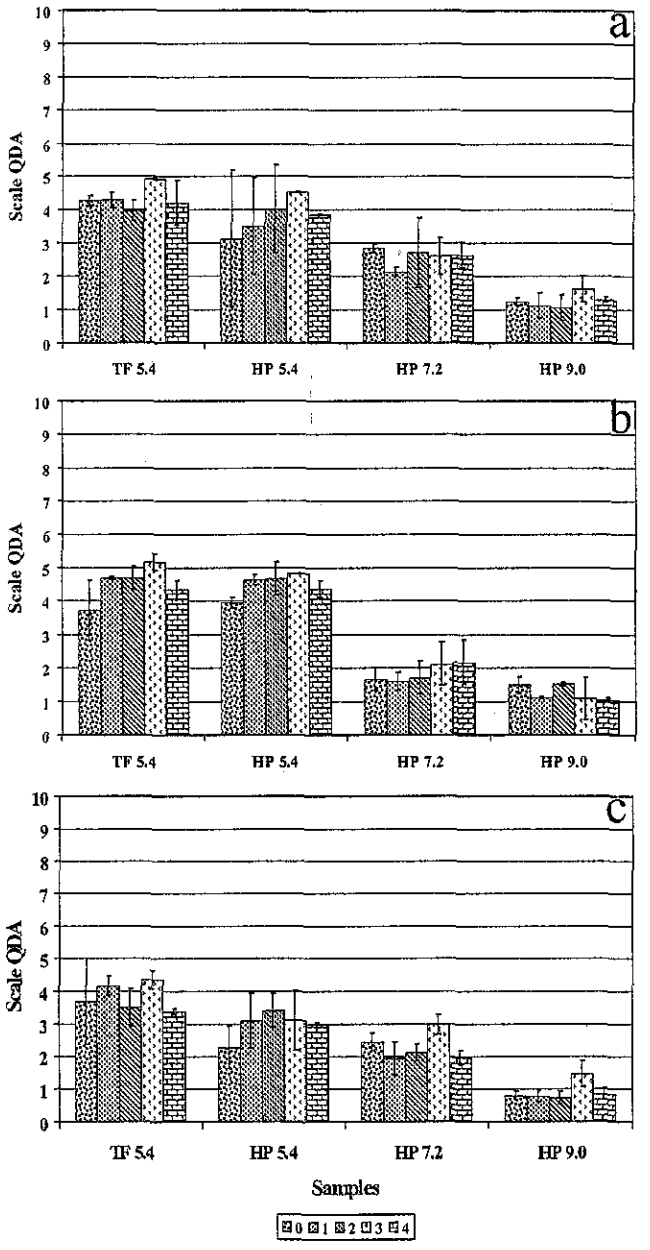
รูปที่ 27 ค่าความขาว (whiteness) ของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ผสมแป้งในระดับต่างๆ และแช่แข็ง 0-4 เดือน ตัวย่อตามรูปที่ 24

ผู้ทดสอบมีความชอบในตัวอย่างลูกชิ้นปลาทั้ง 3 ชนิด ที่เติม TF และ HP ที่ระดับ 5.4% มากกว่าตัวอย่างที่เติมแป้ง 7.2-9% ($p<0.05$) (รูปที่ 28) นอกจากนี้ ความชอบในผลิตภัณฑ์แช่แข็งเป็นระยะเวลา 1-4 เดือนไม่ต่างกัน ($p>0.05$) และผู้บริโภคมีความชอบผลิตภัณฑ์แช่แข็งมากกว่าที่ไม่ได้แช่แข็ง ($p<0.05$)

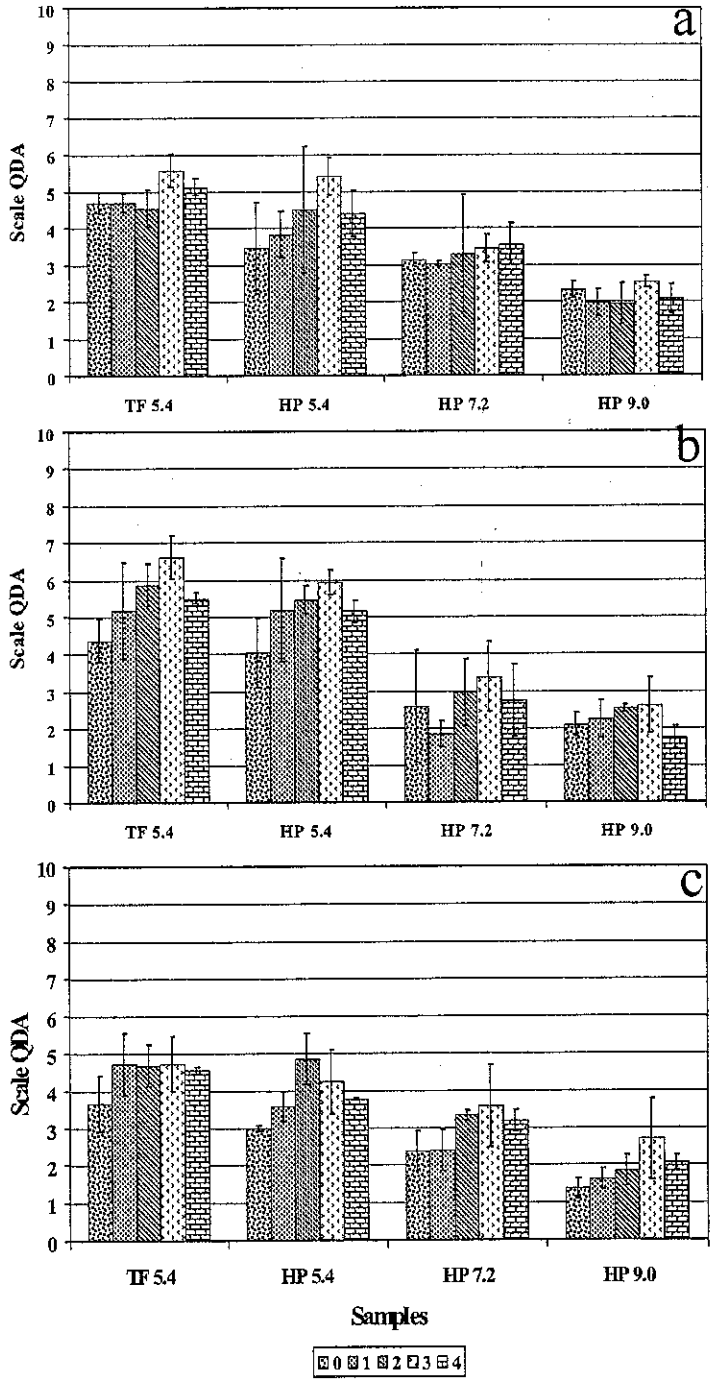


รูปที่ 28 คะแนนความชอบของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ผสมแป้งในระดับต่างๆ และแช่แข็ง 0-4 เดือน ตัวย่อตามรูปที่ 24

จากการทดสอบ Quantitative Descriptive Ananlysis (QDA) พบว่า การเพิ่มระดับแป้ง ส่งผลให้ค่าความยืดหยุ่นและความแข็งลดลง ($p<0.05$) (รูปที่ 29,30a-c) ผู้ทดสอบเห็นว่าลูกชิ้นปลาน้ำจืดแช่แข็งทั้ง 3 ชนิดมีความยืดหยุ่น (springiness) และความแข็ง (hardness) เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้แช่แข็ง ($p<0.05$) (รูปที่ 29,30a-c) การสูญเสียน้ำบางส่วนหลังจากทำละลาย (drip loss) อาจทำให้เนื้อสัมผัสของลูกชิ้นแน่นขึ้น (firm) ทำให้มีค่าความแข็งเพิ่มขึ้น และความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้ผู้ทดสอบมีความชอบในผลิตภัณฑ์มากขึ้นหลังจากแช่แข็ง



รูปที่ 29 ค่าความยืดหยุ่น (springiness) ของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ผสมแป้งในระดับต่างๆ และแช่แข็ง 0-4 เดือน ตัวย่อตามรูปที่ 24

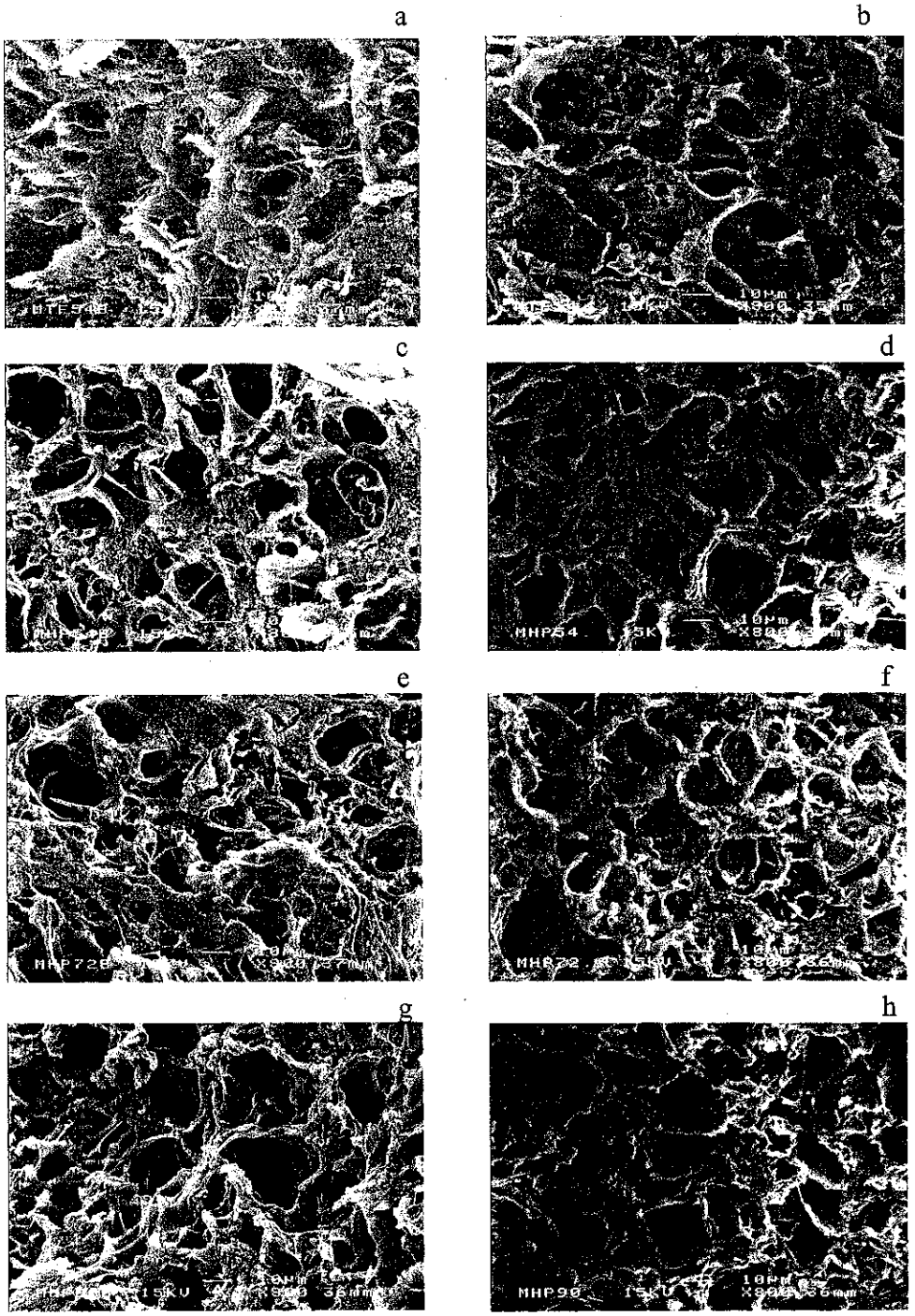


รูปที่ 30 ค่าความแข็ง (hardness) ของลูกชิ้นปลานิล (a) ปลานวลจันทร์ (b) และปลายี่สกเทศ (c) ผสมแป้งในระดับต่างๆ และแช่แข็ง 0-4 เดือน ตัวย่อตามรูปที่ 24

การแช่แข็งลูกชิ้นปลาน้ำจืด 3 ชนิดที่ศึกษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในเจลอย่างเด่นชัด นอกจากนี้การเติมแป้งในระดับ 5.4-9% ไม่ได้มีผลทำให้เกิดโครงสร้างภายในที่แตกต่างกันหลังจากแช่แข็งผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 4 เดือน ดังตัวอย่างของลูกชิ้นปลานวลจันทร์ (รูปที่ 31a-h) ผลดังกล่าวแสดงว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในเจลโปรตีน-แป้งเนื่องจากการแช่แข็งเป็นเวลา 4 เดือน มีค่อนข้างน้อย ซึ่งสอดคล้องกับค่า drip loss, centrifugal loss ที่เปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ในระหว่างการเก็บแช่แข็งเป็นเวลา 4 เดือน ผลดังกล่าวยังบ่งชี้ว่าการเติมแป้ง TF หรือ HP ในระดับ 5.4% อาจเพียงพอต่อการรักษาโครงสร้างของเจลลูกชิ้นแช่แข็งเป็นเวลา 4 เดือน

ความชอบของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทดลองนี้อยู่ในระดับ "เฉย" - "ชอบเล็กน้อย" เท่านั้น (รูปที่ 28) สาเหตุหลักเกิดจากกลิ่นคาวเฉพาะตัวของปลาน้ำจืด ซึ่งในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นต้ม จะมีกลิ่นดังกล่าวที่เด่นชัด กลิ่นคาวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงระยะ 3-4 เดือนของการเก็บ ทั้งนี้อาจเนื่องจากการสูญเสียน้ำของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการทำละลาย ทำให้ความเข้มข้นของกลิ่นคาวเพิ่มขึ้นในผลิตภัณฑ์ การทอดสามารถช่วยลดกลิ่นคาวดังกล่าวลงได้ สำหรับการนำไปใช้จริงนั้น อาจจำเป็นต้องปรับปรุงในด้านเครื่องปรุงรสให้เหมาะสม หรือพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นทอดหรือใช้กระบวนการล้างน้ำเพื่อลดปัญหากลิ่นคาว

แม้ว่าการเติมแป้ง HP ในระดับ 7.2% สามารถลดปัญหาในเรื่อง drip loss ได้ แต่ผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัสที่ยืดหยุ่นน้อย มีลักษณะคล้ายแป้ง จึงได้รับ "ความชอบ" ค่อนข้างต่ำจากผู้ทดสอบ ลูกชิ้นที่เติมแป้ง TF หรือ HP ที่ระดับ 5.4% มีลักษณะเนื้อสัมผัสเป็นที่ยอมรับ เมื่อแช่แข็งเป็นเวลา 4 เดือน เป็นที่น่าแปลกใจที่แป้งมันสำปะหลังและแป้งมันสำปะหลังดัดแปรให้ผลที่ใกล้เคียงกัน การปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นแช่แข็งมีได้หลายแนวทาง ซึ่งควรค่าแก่การศึกษาต่อ เช่น การใช้ไฮโดรคอลลอยด์ เช่น คาราจีแนน ผงบุก ร่วมกับแป้ง เพื่อช่วยลดขนาดของผลึกน้ำแข็ง และเพิ่มประสิทธิภาพในการจับกับน้ำได้มากขึ้น เมื่อเติมไฮโดรคอลลอยด์ จะสามารถลดปริมาณแป้งลงได้ ซึ่งจะช่วยลดปัญหาลักษณะคล้ายแป้ง(pasty)ในผลิตภัณฑ์ลงได้ โดยไม่เพิ่มค่า drip loss นอกจากนี้ไฮโดรคอลลอยด์มีคุณสมบัติในการเกิดเจล ซึ่งอาจช่วยเสริมโครงสร้างของเจลโปรตีนได้ด้วย นอกจากนี้การใช้เนื้อปลาล้างน้ำหรือซูริมิแทนการใช้เนื้อปลาบด สามารถช่วยแก้ปัญหาในเรื่องเนื้อสัมผัสได้เช่นกัน หากเปรียบเทียบเนื้อปลาบด และเนื้อปลาบดล้างน้ำหรือซูริมิในปริมาณที่เท่ากัน เนื้อปลาบดล้างน้ำหรือซูริมิมีความสามารถเกิดเจลได้ดีกว่า เจลมีความยืดหยุ่นมากกว่า ซึ่งย่อมหมายความว่าตัวอย่างดังกล่าวจะสามารถเติมแป้งในปริมาณที่มากกว่าได้ จากการทดลองนี้ใช้เนื้อปลาบดซึ่งสามารถเติมแป้งได้ประมาณ 5.4% แต่ถ้าหากใช้ปลาบดล้างน้ำหรือซูริมิจะสามารถเติมแป้งได้มากกว่า 5.4% เพื่อให้ได้ลักษณะเนื้อสัมผัสเดียวกัน การเติมแป้งได้มากกว่าจะทำให้ drip loss ลดลง และผลิตภัณฑ์มี freeze-thaw stability ที่ดีขึ้น โดยแป้งยังเสริมความแข็งแรงให้กับโครงสร้างโปรตีนเจลอีกทางหนึ่ง

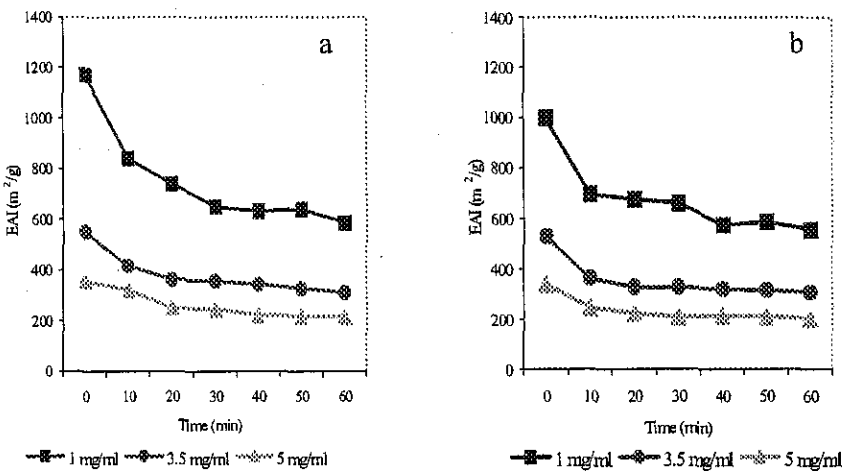


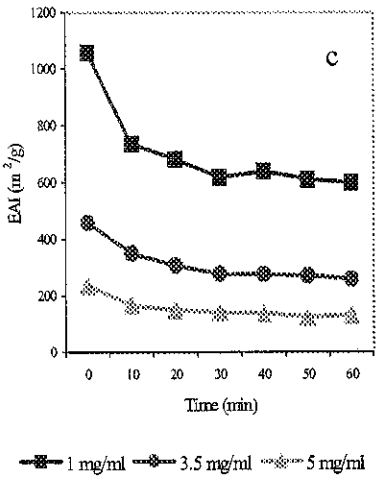
รูปที่ 31 โครงสร้างเจลลูกชิ้นปลานวลจันทร์ก่อนการแช่แข็ง (a,c,e,g) และแช่แข็งที่ -18 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 เดือน (b,d,f,h) วิเคราะห์โดยใช้กำลังขยาย 800 เท่า a,b = แป้ง TF 5.4%; c,d = แป้ง HP 5.4%; e,f = แป้ง HP 7.2%; g,h = แป้ง HP 9%

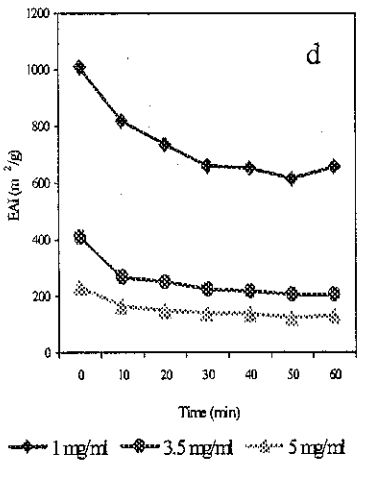
3. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาน้ำจืด

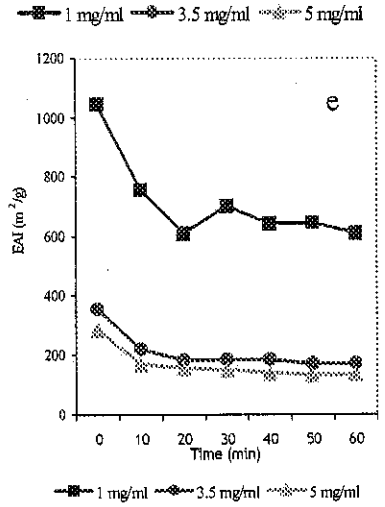
3.1 <u>คุณสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของปลาน้ำจืด</u>

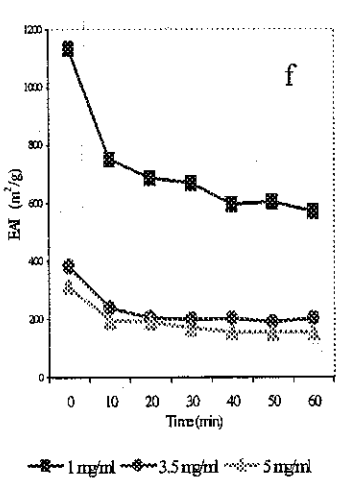
ความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์และความเสถียรของอิมัลชันของโปรตีนปลาน้ำจืดทั้งในส่วนของเนื้อปลาบดและโปรตีนมัยโอฟิบริลลาร์แสดงดังรูปที่ 32a-j โปรตีนเนื้อปลาบดและมัยโอฟิบริลลาร์โปรตีนมีความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ใกล้เคียงกัน โปรตีนมัยโอไฟบริลลาร์เป็นโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ เมื่อพิจารณาถึงผลของความเข้มข้นของโปรตีนต่อค่าดัชนีความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (EAI) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีน 1 mg/ml ค่า EAI มีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับที่ระดับความเข้มข้นอื่น ($p<0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากที่ความเข้มข้นของโปรตีนที่ระดับสูง (3.5-5 mg/ml) นั้นโปรตีนเปิดตัวออก (unfold) และจับตัวกันระหว่างสายโปรตีน แทนที่จะล้อมรอบเม็ดไขมัน ค่า EAI จึงลดลง ซึ่งปรากฏการณ์ดังกล่าวได้มีการรายงานในโปรตีนจากปลาที่ผ่านการกรองด้วยด้วยกระบวนการ ultrafiltration (Huidobro et al., 1998), โปรตีนมัยโอฟิบริลลาร์ ที่สกัดจากเนื้อปลา (Borderias et al., 1985), และ ในคอลลาเจน (collagen) ที่ละลายได้ (soluble collagen) (Montero and Borderias, 1991) เมื่อเปรียบเทียบชนิดของปลา พบว่าปลานิล ปลาดุกแอฟริกันและปลาดุกบิ๊กอุยมีความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ในระบบที่ทดสอบดีกว่าปลาน้ำจืดชนิดอื่น ($p<0.05$) ดังจะเห็นได้ว่าค่า EAI ของปลาทั้งสามที่ความเข้มข้นของโปรตีน 1-5 mg/ml สูงกว่าในปลาชนิดอื่น (รูปที่ 32a,b,g,h,i,j) การศึกษาความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ในปลาดุกบิ๊กอุย เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์กับปลาดุกแอฟริกันเท่านั้น ไม่ได้มีจุดประสงค์เพื่อนำมาใช้ในการผลิตไส้กรอกแต่อย่างใด

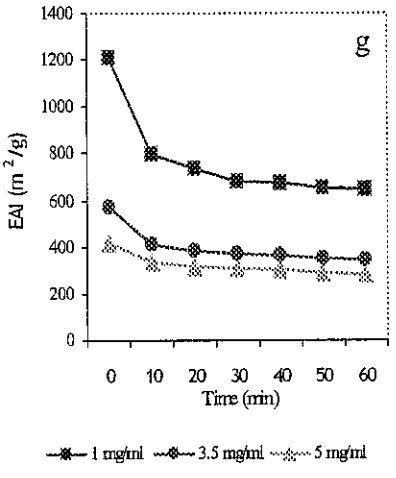


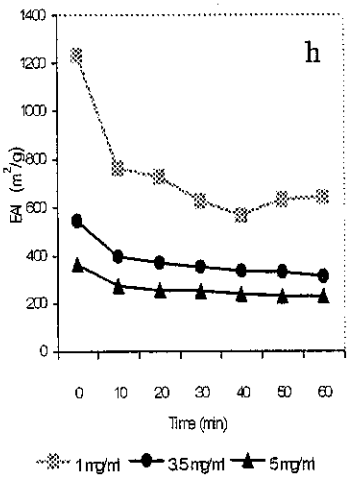




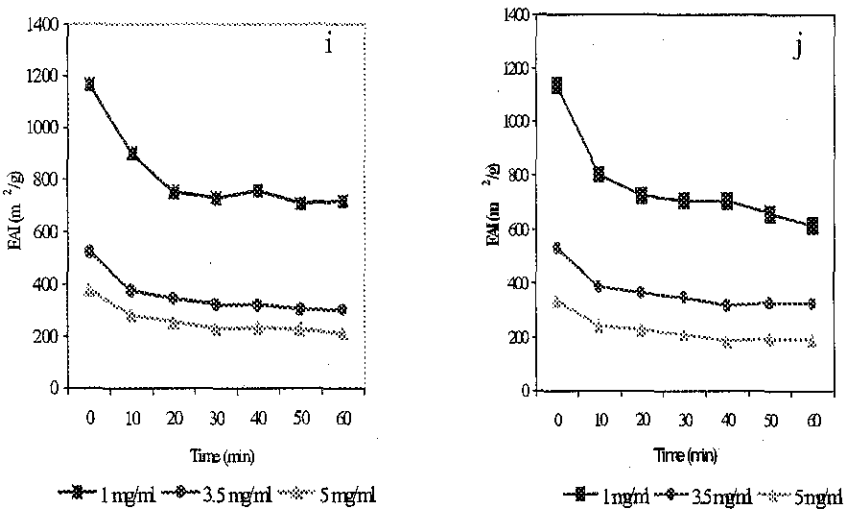








1 mg/ml 3.5 mg/ml 5 mg/ml



รูปที่ 32 การเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของเนื้อปลาบด (a,c,e,g,i) และ โปรตีนมัยโอฟิบริลลาร์ (b,d,f,h,j) ของปลาน้ำจืดชนิดต่างๆ a,b =ปลานิล; c,d = ปลานวลจันทร์; e,f= ปลายี่สกเทศ; g,h=ปลาดุกแอฟริกัน; i,j=ปลาดุกบิ๊กอุย

ความเสถียรของอิมัลชันจากเนื้อปลาบดและ โปรตีนมัยโอฟิบริลลาร์ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) (ตารางที่ 9) นอกจากนี้ เสถียรภาพของอิมัลชันระหว่างเนื้อปลา 5 ชนิดไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และเมื่อศึกษาความเสถียรของอิมัลชันที่ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิในการรมควันไส้กรอก พบว่าความเสถียรของอิมัลชันแตกต่างตามชนิดของปลา ($p<0.05$) (ตารางที่ 10) โปรตีนปลาที่มีความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ได้ดี เช่น ปลานิล และปลาดุก 2 สายพันธุ์ กลับมีความเสถียรต่ำที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นที่น่าสังเกตว่าแม้ว่าลักษณะเนื้อสัมผัสของปลาดุกบิ๊กอุยจะ

ตารางที่ 9 ผลของความเข้มข้นและชนิดของโปรตีนจากปลาน้ำจืดต่อความเสถียรของอิมัลชัน (%) ที่อุณหภูมิห้อง

Concentration (mg/ml)	Emulsion stability (%)									
	Nile tilapia		Rohu		Small scale mud carp		Hybrid walking catfish		African walking catfish	
	MC[1]	MF[2]	MC	MF	MC	MF	MC	MF	MC	MF
1	50.92	53.97	57.14	56.61	60.43	59.23	54.60	55.73	53.60	52.15
3.5	56.64	57.78	52.89	48.39	56.14	50.06	57.42	61.36	60.51	57.40
5	60.30	52.80	48.85	47.34	55.35	55.35	56.41	56.32	67.96	63.00

[1] MF = เนื้อปลาบด (mince)

[2] MF = โปรตีนมัยโอฟิบริลลาร์ (myofibrillar proteins)

ตารางที่ 10 เสถียรภาพของอิมัลชัน (%) ของโปรตีนปลาน้ำจืดที่ 50 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นโปรตีน 1 mg/ml

Fish	Emulsion stability (%)	
	MC[1]	MF[2]
Nile tilapia	39.58[d]	41.18[d]
Rohu	45.87[a]	50.47[a]
Small scale mud carp	40.37[c]	41.93[c]
Hybrid walking catfish	42.23[b]	43.36[b]
African walking catfish	37.73[e]	40.76[e]

[1] MC = เนื้อปลาบด (mince)

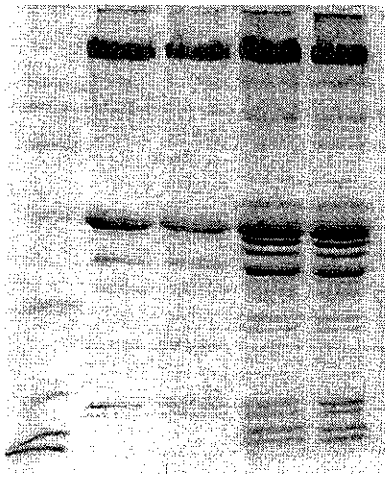
[2] MF = โปรตีนมัยโอฟิบริลลาร์ (myofibrillar proteins)

[a,b,c,d] แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในในคอลัมน์เดียวกัน

แตกต่างจากปลาดุกแอฟริกัน โดยปลาดุกแอฟริกันมีเนื้อค่อนข้างยุ่ยและ แต่คุณสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์กลับมีลักษณะทำนองเดียวกัน สาเหตุที่เสถียรภาพของอิมัลชันแตกต่างกัน อาจเนื่องจากเสถียรภาพของโปรตีนกล้ามเนื้อจากปลาแต่ละชนิดแตกต่างกัน กล้ามเนื้อปลาที่มีกิจกรรมของโปรติเนสอาจมีผลทำให้อิมัลชันไม่เสถียร เนื่องจากเกิดการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อโดยโปรติเนส ทำให้ความสามารถในการหุ้มเม็ดน้ำมันและเกิดฟิล์มล้อมรอบเม็ดน้ำมันลดลง อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์การเสื่อมสลายโปรตีนกล้ามเนื้อโดยโปรติเนสที่ 50 องศาเซลเซียสแล้วพบว่า ไม่มีการเสื่อมสลายโดยโปรติเนสอย่างเด่นชัดในปลานิล ปลานวลจันทร์ และปลายี่สกเทศ ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้จากการศึกษาก่อนหน้านี้ และไม่พบการเสื่อมสลายในปลาดุกบิ๊กอุย แต่พบการเสื่อมสลายโปรตีนกล้ามเนื้อในระดับเล็กน้อยในปลาดุกแอฟริกัน ดังรูปที่ 33 การเสื่อมสลายของมัยโอซินสายหลักอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เสถียรภาพของโปรตีนกล้ามเนื้อปลาดุกแอฟริกันต่ำกว่าปลาชนิดอื่น อย่างไรก็ตามอาจมีสาเหตุอื่นที่มีผลต่อการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนกล้ามเนื้อ

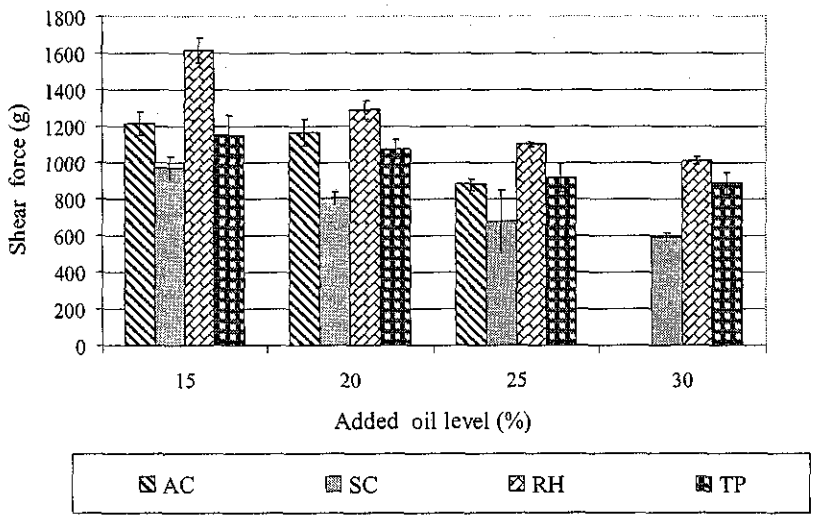
3.2 ผลของน้ำมันต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของไส้กรอกปลา

จากการศึกษาผลของปริมาณน้ำมันพืช (15-30% ของน้ำหนักทั้งหมด) ที่เหมาะสมต่อการผลิตไส้กรอกปลาแต่ละชนิด พบว่าค่าแรงเฉือนของไส้กรอกปลายี่สกเทศ ปลาดุกแอฟริกัน ปลานิล มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และสูงกว่าไส้กรอกปลานวลจันทร์ ($p<0.05$) (รูปที่ 34) การเพิ่มปริมาณน้ำมันมีผลลดค่าแรงเฉือน ($p<0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากเป็นการลดความเข้มข้นของโปรตีนลง โครงข่ายของเจลโปรตีนจึงมีความแข็งแรงน้อยลง ปลาที่มีไขมันต่ำเช่น ปลานิล ปลายี่สกเทศ และปลานวลจันทร์ สามารถเติมน้ำมันได้ในช่วง 15-30% โดยไม่เกิดปัญหาในด้านการแตกตัวของอิมัลชัน อย่างไรก็ การเติมน้ำมันในปริมาณ 30% ในไส้กรอกปลาดุกแอฟริกัน ทำให้เกิดการแยกชั้นของ batter และไม่เกิดอิมัลชัน ทั้งนี้เนื่องจากเป็นปลาที่มีไขมันสูงและมีปริมาณโปรตีนต่ำ (ตารางที่ 2) การเติมน้ำมันในระดับที่เท่ากัน batter ของปลาดุกแอฟริกันจะมีไขมันสูงกว่า batter ของปลาชนิดอื่น ปริมาณโปรตีนที่มีจำกัดอาจไม่เพียงพอสำหรับการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่เสถียร



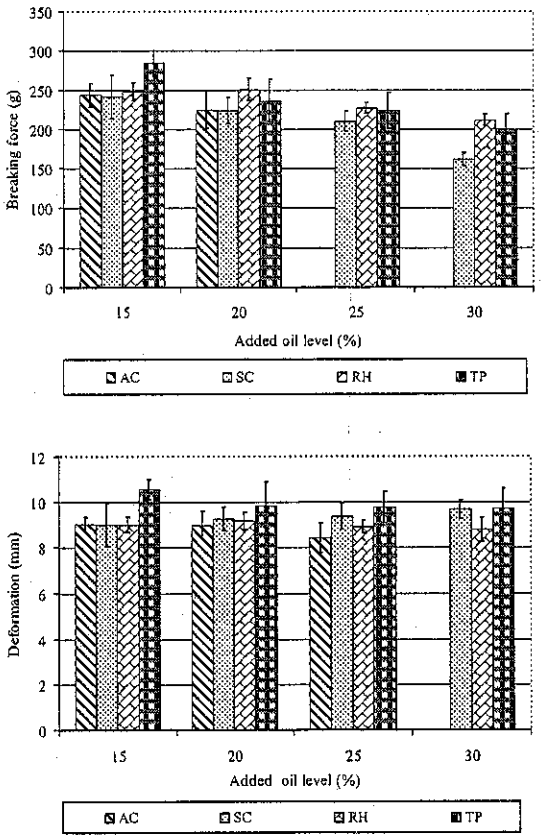
S MF/R MF50 MC/R MC/50

รูปที่ 33 การเปลี่ยนแปลงรูปแบบโปรตีนกล้ามเนื้อของปลาดุกแอฟริกันเมื่อบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง S=standard molecular weight, MF/R=โปรตีนมัยโอฟิบริลลาร์ที่ไม่ได้รับความร้อน, MF50=โปรตีนมัยโอฟิบริลลาร์บ่มที่ 50 องศาเซลเซียส, MC/R=เนื้อปลาบดที่ไม่ได้รับความร้อน, MC/50=เนื้อปลาบดบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส



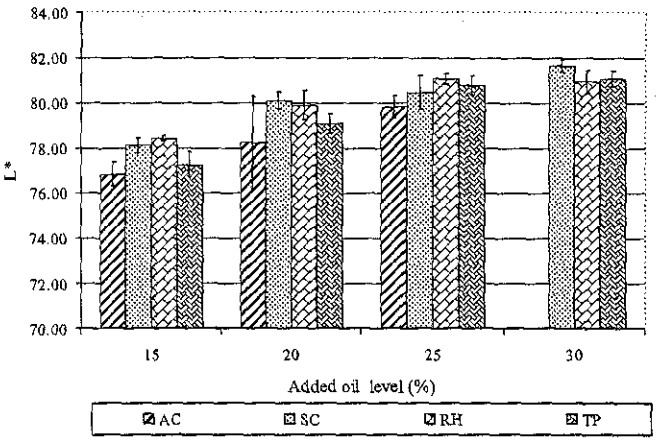
รูปที่ 34 ผลของระดับการเติมน้ำมันต่อค่าแรงเฉือนของไส้กรอกปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ AC=ปลาดุกแอฟริกัน, SC=ปลานวลจันทร์, RH=ปลายี่สกเทศ, TP=ปลานิล

เมื่อพิจารณาค่าแรงและระยะทาง ณ จุดแตกหัก (รูปที่ 35a,b) พบว่าการเติมน้ำมันมีผลลดค่าแรง ณ จุดแตกหัก ($p<0.05$) แต่ไม่มีผลต่อระยะทาง ณ จุดแตกหัก ($p>0.05$) ซึ่งบ่งชี้ว่าการเพิ่มระดับการเติมน้ำมันไม่มีผลต่อความยืดหยุ่นของไส้กรอกปลา แต่มีผลต่อความแข็ง (hardness) และแน่นเนื้อ (firmness)ของไส้กรอกปลาที่ศึกษา



รูปที่ 35 ค่าแรง (a) และระยะทาง ณ จุดแตกหัก (b) ของไส้กรอกปลาที่เติมน้ำมันในระดับต่างๆ ตัวย่อเหมือนดังรูปที่ 34

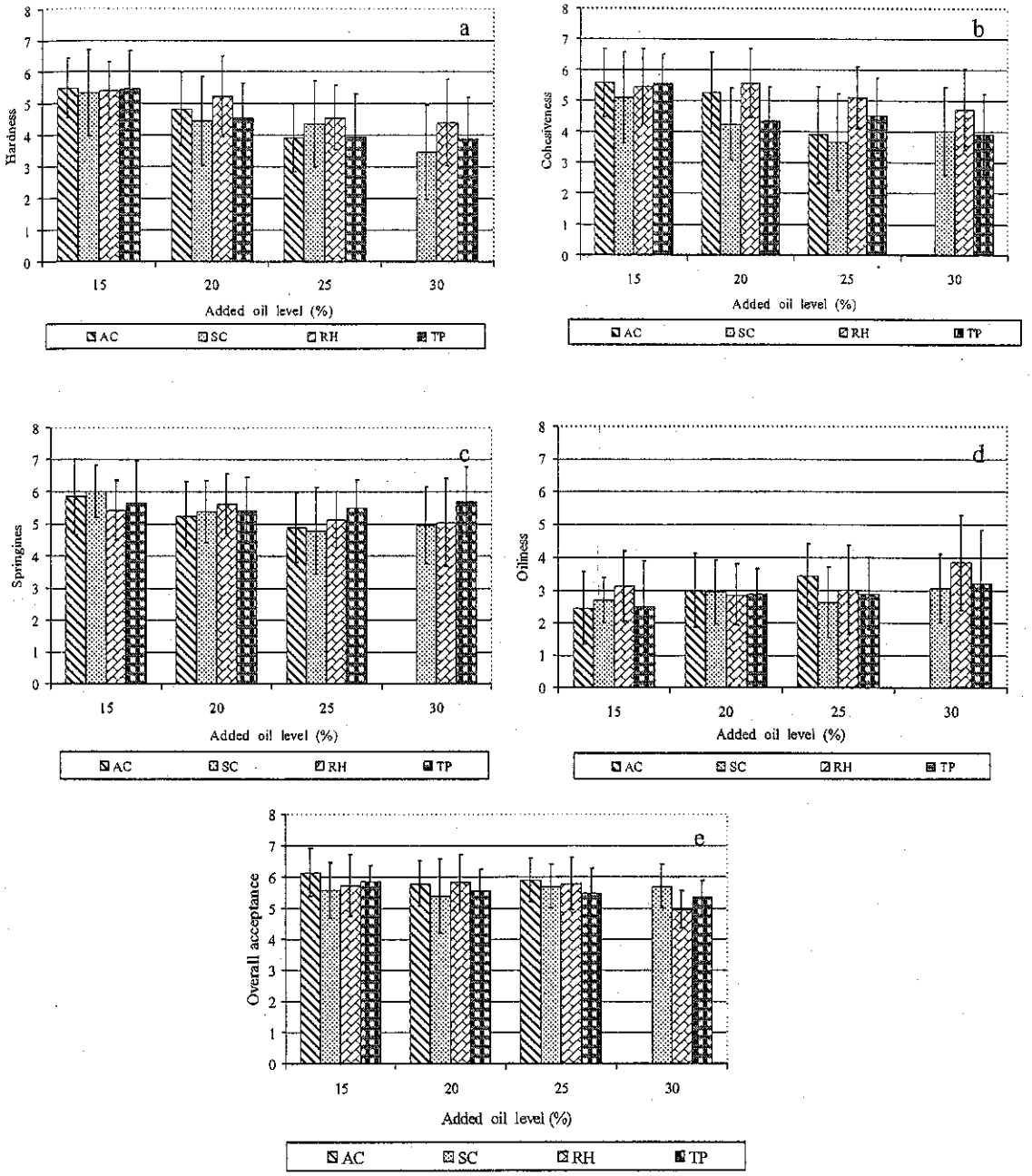
การเพิ่มระดับน้ำมันในไส้กรอกมีผลเพิ่มค่าความสว่าง (L*) ที่บริเวณพื้นผิวหน้าตัดของผลิตภัณฑ์ ($p<0.05$) (รูปที่ 36) โดยตัวอย่างที่เติมน้ำมัน 30% มีค่าความสว่างสูงสุด ในขณะที่ตัวอย่างที่เติมน้ำมัน 15% มีค่าความสว่างน้อยที่สุด ($p<0.05$) อนุภาคเม็ดน้ำมันในผลิตภัณฑ์ทำให้เกิดการหักเหของแสง ดังนั้นในตัวอย่างที่มีขนาดของอนุภาคไขมันจำนวนมาก จะมีผลทำให้เกิดการหักเหของแสงมากด้วย และมีความขาวมากขึ้น การเติมน้ำมันไม่มีผลต่อสีที่บริเวณพื้นผิวด้านนอกของไส้กรอก เนื่องจากเป็นบริเวณที่ถูกรมควัน



รูปที่ 36 ค่าความสว่าง (L*) ของไส้กรอกปลาที่เติมน้ำมันในระดับต่างๆ ตัวย่อเหมือนดังรูปที่ 34

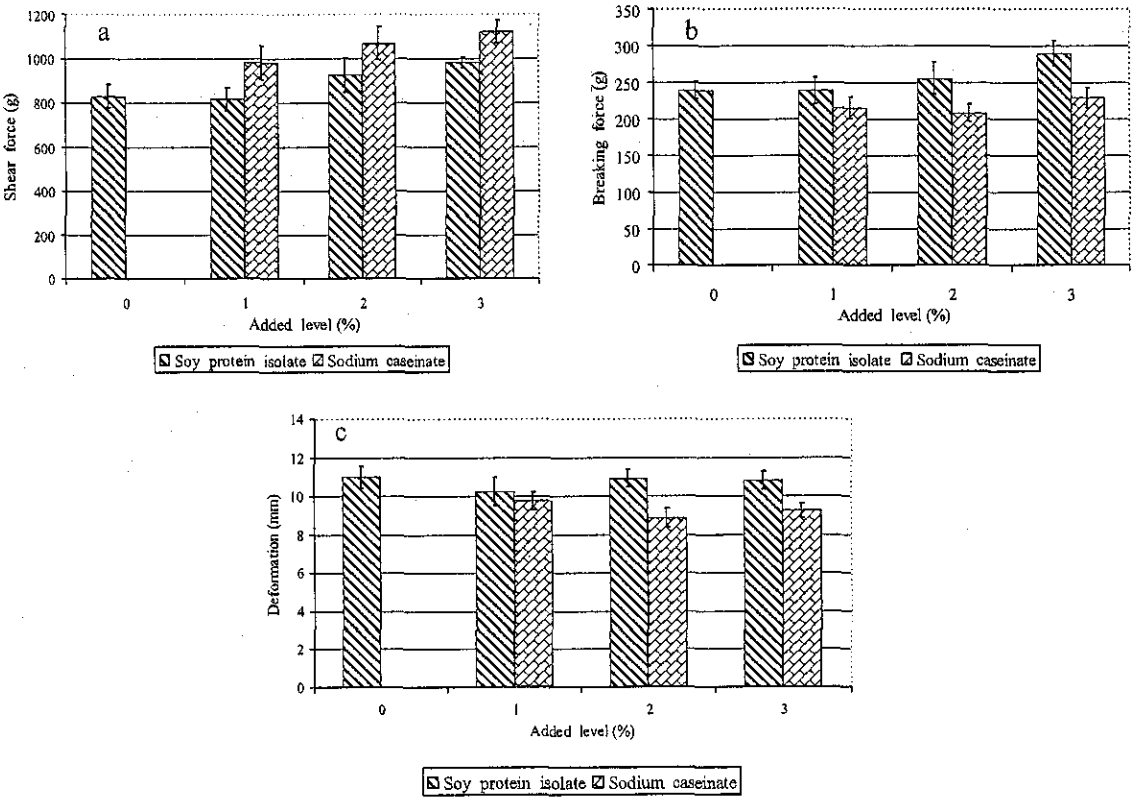
เมื่อพิจารณาผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธี Quantitative descriptive analysis (QDA) พบว่าน้ำมันมีผลต่อค่าความแข็ง (hardness) และการเกาะตัว (cohesiveness) ของไส้กรอกปลาน้ำจืด 4 ชนิดที่ศึกษา ($p<0.05$) (รูปที่ 37 a-b) โดยผู้ทดสอบพบว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมัน 15% มีความแข็งและการเกาะตัวมากกว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันในระดับ 20-30% (รูปที่ 37a,b) ทั้งนี้เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนมากกว่า จึงสามารถเกิดเจลที่มีโครงสร้างที่แข็งแรงกว่า การเพิ่มระดับน้ำมันไม่มีผลต่อความยืดหยุ่น (springiness) ($p>0.05$) (รูปที่ 37c) ซึ่งสอดคล้องกับค่าระยะทาง ณ จุดแตกหัก (deformation) (รูปที่ 35b) อาจกล่าวได้ว่าการเพิ่มน้ำมันมีผลทำให้ไส้กรอกปลามีความนิ่มมากขึ้น แต่ไม่มีผลต่อความยืดหยุ่น เมื่อพิจารณาความเลี่ยนมัน (oiliness) พบว่าการเติมน้ำมันในระดับ 30% ทำให้เกิดความเลี่ยนมันสูงกว่าตัวอย่างอื่น ($p<0.05$) (รูปที่ 37d) อย่างไรก็ตามค่าความเลี่ยนมันของไส้กรอกปลาที่เติมน้ำมัน 30% เฉลี่ยจากปลาทุกชนิดมีค่าเท่ากับ 3.4 จากคะแนนของ QDA ทั้งหมด 10 ซึ่งนับว่าเป็นค่าความเลี่ยนมันที่น้อย นอกจากนี้ระดับการเติมน้ำมันไม่มีผลต่อการยอมรับรวมของผู้ทดสอบ ($p>0.05$) (รูปที่ 37e)

หากใช้เกณฑ์การทดสอบทางประสาทสัมผัส การผลิตไส้กรอกปลานิล ปลานวลจันทร์ และปลายี่สกเทศสามารถเติมน้ำมันได้ในระดับ 15-30% แม้ว่าการเติมน้ำมันในระดับ 30% จะมีผลให้ค่าความแข็งและค่าการเกาะตัวลดลง แต่ความยืดหยุ่นของผลิตภัณฑ์และการยอมรับรวมของผู้ทดสอบไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่เติมน้ำมัน 15% ค่าความแข็งที่มากอาจไม่ใช่ลักษณะเนื้อสัมผัสของไส้กรอกที่ดี แต่อาจเป็นความยืดหยุ่นของผลิตภัณฑ์ที่ผู้ทดสอบให้ความสำคัญ สำหรับปลาดุกแอฟริกันนั้นไม่ควรเติมน้ำมันเกิน 20% การเติมน้ำมันในปริมาณสูงเกินไป ทำให้อิมัลชันเกิดการแยกชั้นไม่สามารถสับผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้ เนื่องจากปลาดุกแอฟริกันมีปริมาณไขมันสูงอยู่แล้ว จากการศึกษาพบว่ามีเพียง 2 ใน 3 ครั้ง ที่ประสบผลสำเร็จในการสับผสมไส้กรอกปลาดุกแอฟริกันที่ระดับการเติมน้ำมัน 25% ดังนั้นปริมาณไขมันของปลาดุกแอฟริกัน เป็นปัจจัยสำคัญที่อาจจะต้องควบคุมหากต้องการใช้เป็นวัตถุดิบในเชิงอุตสาหกรรม



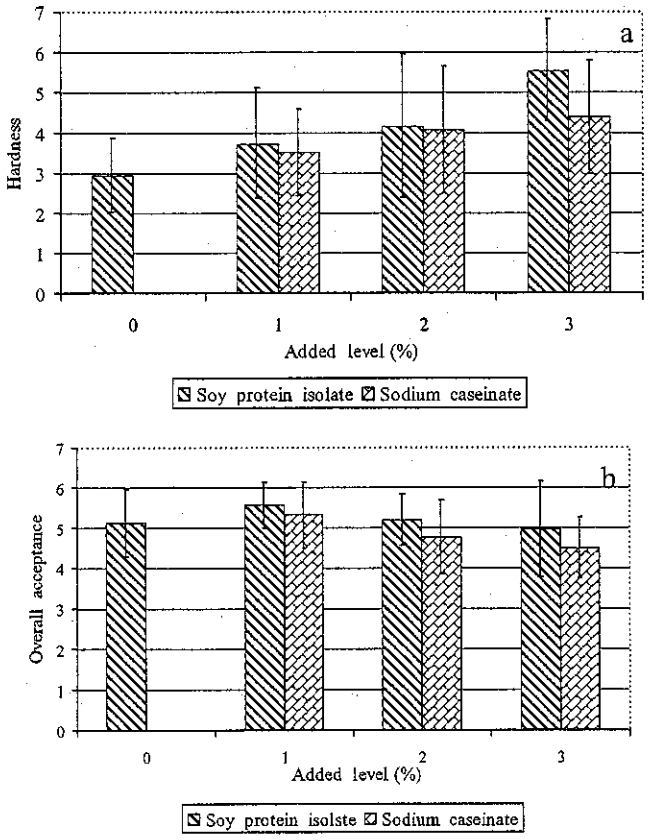
รูปที่ 37 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกปลาที่เติมน้ำมันในระดับต่างๆ ความแข็ง (Hardness) (a), ความเกาะตัว (Cohesiveness) (b); ความยืดหยุ่น (Springiness) (c); ความเลี่ยนมัน (Oiliness) (d); การยอมรับรวม (Overall acceptance) (e) ตัวย่อเหมือนดังรูปที่ 34

เมื่อศึกษาผลของ protein additive คือ soy protein isolate และ sodium caseinate ต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของไส้กรอกปลา โดยเลือกศึกษาในไส้กรอกปลานวลจันทร์ และคาดว่าผลที่ได้จากปลานวลจันทร์สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับปลาอื่นอีก 3 ชนิดได้ เนื่องจากลักษณะเนื้อสัมผัสของไส้กรอกที่ผลิตจากปลาทั้ง 4 ชนิดใกล้เคียงกัน (รูปที่ 34,35) ซึ่งพบว่าการเพิ่มปริมาณ protein additive มีผลให้ค่าแรงเฉือนและค่าแรง ณ จุดแตกหักเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) แต่ไม่มีผลต่อค่าระยะทาง ณ จุดแตกหัก (รูปที่ 38a,b) นอกจากนี้พบว่าการเติม sodium caseinate มีผลให้ไส้กรอกปลานวลจันทร์มีค่าแรงเฉือนสูงกว่า soy protein isolate ($p<0.05$) แต่การเติม soy protein isolate มีผลทำให้ค่าแรงและระยะทาง ณ จุดแตกหักของไส้กรอกปลานวลจันทร์สูงกว่าการเติม sodium caseinate ($p<0.05$) (รูปที่ 38a-c) ความแตกต่างดังกล่าวอาจเนื่องจากวิธีการวัดที่ต่างกัน จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าค่าความยืดหยุ่นและ ความเกาะตัวของไส้กรอกที่เติม soy protein isolate และ caseinate 3 ระดับไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) (ไม่ได้แสดงผลเนื่องจากไม่มีความแตกต่าง) แต่ค่าความแข็งเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ protein additive ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ การเติม protein additive ที่ระดับ 3% ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีค่าความแข็งสูงที่สุด ($p<0.05$) (รูปที่ 39)



รูปที่ 38 ผลของ soy protein isolate และ sodium caseinate ต่อค่าแรงเฉือน (a) ค่าแรง (b) และระยะทาง (c) ณ จุดแตกหักของไส้กรอกปลานวลจันทร์

ส่วนการเติม protein additive ที่ระดับ 1-2% มีผลให้ค่าความแข็งไม่ต่างกัน ($p>0.05$) และสูงกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติม protein additive ($p<0.05$) ชนิดของ protein additive (soy protein isolate และ sodium caseinate) ไม่มีผลต่อความแข็ง ความเกาะตัว และความยืดหยุ่นของผลิตภัณฑ์ ($p>0.05$) เมื่อพิจารณาการยอมรับรวมแล้วพบว่าการเติม protein additive ที่ระดับ 1%ได้รับการยอมรับสูงสุด ในขณะที่การเติมในระดับ 3% ได้รับการยอมรับต่ำสุด ($p<0.05$) ความแข็งที่เกิดจากการเพิ่มปริมาณ protein additive เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้การยอมรับลดลง อาจเกิดจากเนื้อสัมผัสที่แข็งกระด้าง ดังนั้นทั้ง sodium caseinate และ soy protein isolate เป็น protein additive ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไส้กรอกปลา โดยระดับการเติมที่เหมาะสมคือ 1% สำหรับในการศึกษานี้เลือกใช้ soy protein isolate สำหรับการศึกษาในขั้นต่อไป



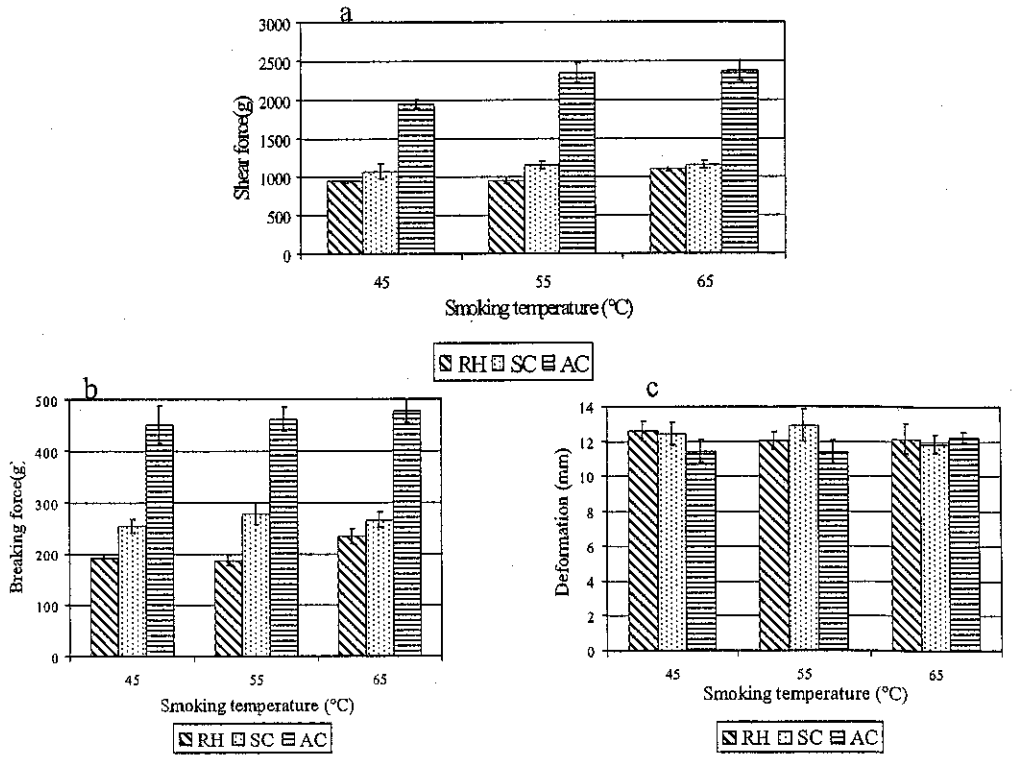
รูปที่ 39 ผลของ soy protein isolate และ sodium caseinate ต่อความแข็ง(a)และการยอมรับรวม(b)ของไส้กรอกปลานวลจันทร์จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส

เนื่องจากคุณภาพของลักษณะเนื้อสัมผัสของไส้กรอกปลาทั้ง 4 ชนิดใกล้เคียงกัน แสดงว่าปลาทั้ง 4 สายพันธุ์สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไส้กรอกปลาได้ เมื่อพิจารณาในด้านผลผลิตของเนื้อปลาและราคาจะพบว่าปลายี่สกเทศ ปลานวลจันทร์ และปลาดุกแอฟริกัน เป็นปลาที่มีศักยภาพมากกว่าปลานิลเนื่องจากมีราคาถูก คือประมาณ 15-18 บาท/กิโลกรัม (ราคาขายปลีก) ดังนั้นทางโครงการฯ จึงคัดเลือกปลา 3 ชนิดเพื่อนำไปศึกษาผลของอุณหภูมิในการ

รมควันโดยเลือกใช้ระดับน้ำมัน 25% ในการผลิตไส้กรอกปลานวลจันทร์และปลายี่สกเทศ และน้ำมัน 15% ในการผลิตไส้กรอกปลาดุกแอฟริกัน โดยเติม soy protein isolate 1% ในทุกสูตร ปริมาณน้ำมัน 25% เป็นระดับที่ผู้ประกอบการเลือกใช้มากที่สุด เนื่องจากเหตุผลในด้านต้นทุน และปริมาณผลผลิต ส่วนปลาดุกแอฟริกันซึ่งเนื้อปลามีไขมันประมาณ 30% (ตารางที่ 2) การเติมน้ำมันในระดับ 15% มีความเหมาะสมมากกว่าการเติมน้ำมัน 20% เนื่องจากเมื่อเติมน้ำมัน 20% จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์มีไขมันสูงเกินไป และอาจมีปัญหาอิมัลชันแตกตัวในขณะสับผสม

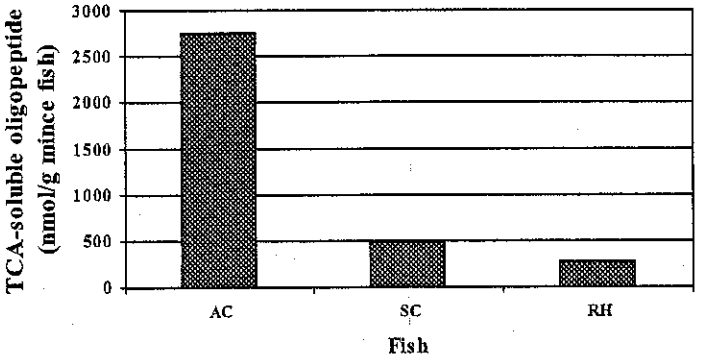
3.3 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการรมควัน

อุณหภูมิในการรมควันมีผลต่อค่าแรงเฉือน และแรง ณ จุดแตกหัก ($p<0.05$) แต่ไม่มีผลต่อระยะทาง ณ จุดแตกหัก ($p>0.05$) (รูปที่ 40a-c) อุณหภูมิรมควันที่ 65 องศาเซลเซียสมีผลทำให้ค่าแรงเฉือนของไส้กรอกปลามีค่าสูงสุด รองลงมาคือ 55 และ 45 องศาเซลเซียสตามลำดับ ($p<0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิในการรมควันที่ 65 และ 55 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ค่าแรง ณ จุดแตกหักสูงกว่าที่ 45 องศาเซลเซียส ($p<0.05$) ดังนั้นอุณหภูมิในการรมควันที่สามารถเพิ่มลักษณะเนื้อสัมผัสคือที่ 55-65 องศาเซลเซียส ไส้กรอกปลาดุกแอฟริกันมีค่าแรงเฉือนและแรง ณ จุดแตกหัก สูงกว่าไส้กรอกปลานวลจันทร์ และปลายี่สกเทศ ตามลำดับ ($p<0.05$) เนื่องจากไขมันของทุกตัวอย่างมีค่าใกล้เคียงกันคือประมาณ 26.5-32% ดังนั้นความแตกต่างในด้านเนื้อสัมผัสไม่ได้เกิดจากปริมาณไขมันที่ต่างกัน แต่อาจมีสาเหตุมาจากความสามารถในการเกิดเจล โปรตีนจากเนื้อปลาดุกมีแนวโน้มที่จะเกิดเจลในระบบอิมัลชันได้ดีกว่าปลานวลจันทร์และปลายี่สกเทศ



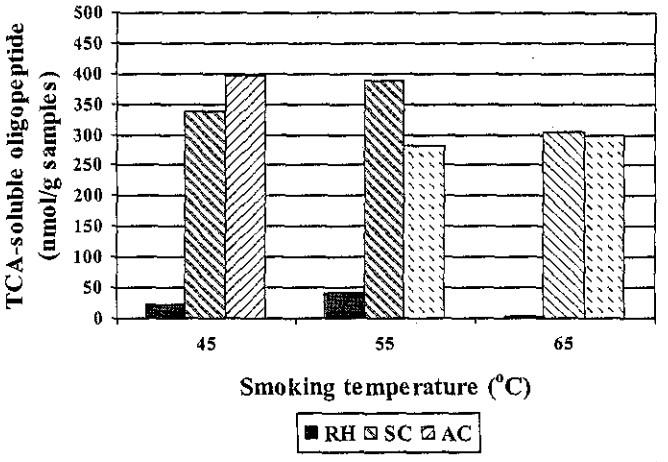
รูปที่ 40 ผลของอุณหภูมิรมควันต่อค่าแรงเฉือน (a) ค่าแรง (b) และระยะทาง (c) ณ จุดแตกหักของไส้กรอกปลายี่สกเทศ (RH) ปลานวลจันทร์ (SC) และปลาดุกแอฟริกัน (AC)

ผลของเนื้อสัมผัสข้างต้นเป็นที่น่าสนใจ เนื่องจากโดยปกติแล้วการบ่มเนื้อปลาเป็นเวลานาน (40 นาที) ที่อุณหภูมิสูง (55-65 องศาเซลเซียส) ไม่น่าเกิดผลดีต่อเนื้อสัมผัส เนื่องจากปัญหาโปรติเนสในกล้ามเนื้อปลา แม้ว่าทั้งปลานวลจันทร์และปลายี่สกเทศมีปัญหาโปรติเนสในกล้ามเนื้อค่อนข้างน้อยจากการศึกษาข้างต้น(รูปที่ 4) แต่ปลาดุกแอฟริกันจัดเป็นกลุ่มปลาที่มีโปรติเนส ค่อนข้างสูง (จิรวัฒน์ 2547) นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ autolytic activity ของปลาทั้ง 3 ชนิดมียืนยันว่าปลาดุก แอฟริกันมีปัญหาของโปรติเนสในกล้ามเนื้อสูงกว่าปลานวลจันทร์และปลายี่สกเทศ ดังรูปที่ 41

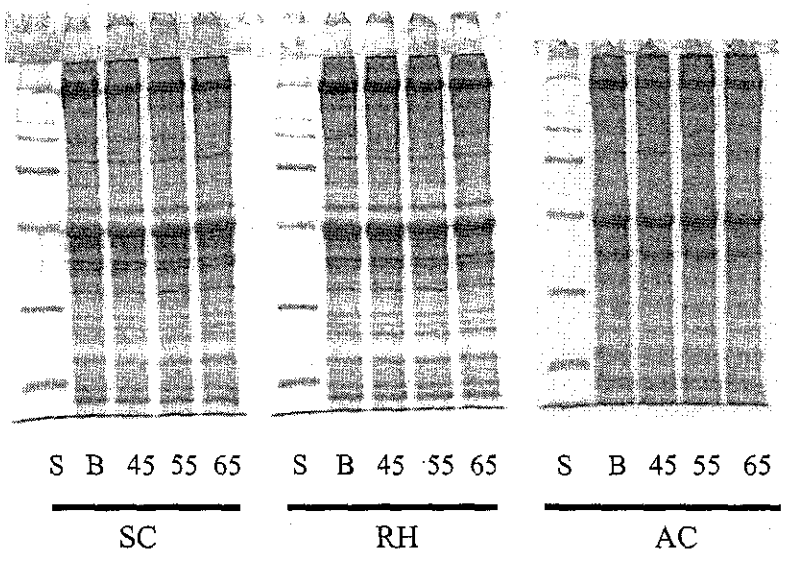


รูปที่ 41 Autolytic activity ของเนื้อปลาดุกแอฟริกัน (AC) ปลานวลจันทร์ (SC) และปลายี่สกเทศ (RH) โดยบ่มที่ 65 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณโอลิโกเปปไทด์ในผลิตภัณฑ์กลับพบว่า อุณหภูมิการรมควันที่สูง (55-65 องศาเซลเซียส) กลับส่งผลให้มีปริมาณโอลิโกเปปไทด์น้อยกว่าที่ 45 องศาเซลเซียส (รูปที่ 42) ซึ่งแสดงว่าการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาดุกแอฟริกันโดยโปรติเนสไม่ได้เพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการรมควันเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นที่น่าสนใจในเชิงวิชาการเป็นอย่างยิ่งว่าเพราะเหตุใดเนื้อปลาดุกแอฟริกัน ซึ่งเป็นปลาที่มีการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อโดยโปรติเนสในระดับที่สูง (รูปที่ 41) แต่เมื่อนำมาผลิตไส้กรอกโดยบ่มที่ 65 องศาเซลเซียส ซึ่งโปรติเนสเร่งกิจกรรมได้ดี กลับเกิดการเสื่อมสลายเพียงเล็กน้อยและยังมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดี เนื่องจากการย่อยสลายโปรตีนโดยโปรติเนสเป็นปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส การเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวในระบบอิมัลชัน สามารถเกิดที่บริเวณรอยต่อระหว่างผิว (interface) เท่านั้น ซึ่งอาจส่งผลให้โปรติเนสไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ดีเท่าที่ควร ประเด็นดังกล่าวเป็นสิ่งที่น่าสนใจและควรมีการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อให้เข้าใจถึงการเสื่อมสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อในระบบอิมัลชันโดยโปรติเนสได้ดีขึ้น และเมื่อพิจารณา SDS-PAGE ของตัวอย่างไม่พบการเสื่อมสลายของมัยโอซินสายหลักที่เด่นชัด ที่ทุกสภาวะการรมควันในปลาทั้ง 3 ชนิด แสดงว่าการเสื่อมสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อเกิดขึ้นน้อยมาก ซึ่งสอดคล้องกับผลของโอลิโกเปปไทด์ (รูปที่ 41) ดังนั้นสภาวะในการรมควันที่ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 40 นาทีเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดเนื้อสัมผัสที่ดี และไม่เกิดการเสื่อมสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อโดยโปรติเนส แม้ว่าการรมควันที่ 65 องศาเซลเซียสจะให้ผลในทำนองเดียวกัน แต่การใช้อุณหภูมิสูงเกินไปอาจทำให้เกิดการสูญเสียน้ำหลังการรมควัน (Smoking loss)



รูปที่ 42 ปริมาณโอลิโกเปปไทด์ของไส้กรอกปลายี่สกเทศ (RH) ปลานวลจันทร์ (SC) และปลาดุกแอฟริกัน (AC) รมควันที่อุณหภูมิต่างๆ



รูปที่ 43 SDS-PAGE ของไส้กรอกปลานวลจันทร์ (SC) ปลายี่สกเทศ (RH) และปลาดุกแอฟริกัน (AC) รมควันที่อุณหภูมิต่างๆ S=standard molecular weight, B=batter (ไม่ได้รับความร้อน)ม 45-65 อุณหภูมิในการรมควัน

การสูญเสียน้ำหนักหลังการรมควันและหลังการต้ม แสดงดังในตารางที่ 11 เนื่องจากตู้รมควันที่ใช้ไม่สามารถควบคุมความชื้นได้ ความร้อนในขณะรมควันจึงเป็นสาเหตุของการสูญเสียน้ำ ไส้กรอกที่ผลิตได้มีความเสถียรของอิมัลชันตลอดอายุการเก็บ ไม่เกิดการแตกตัวของน้ำมัน

ตารางที่ 11 การสูญเสียน้ำหนักหลังการรมควันและการต้มของไส้กรอกปลาชนิดต่างๆ

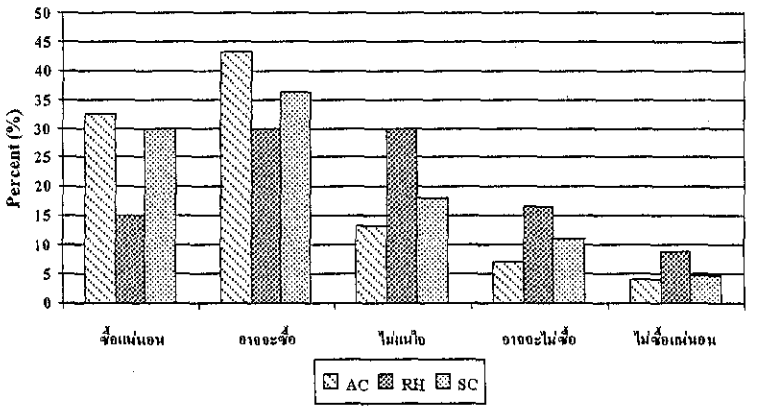
Fish	Weight loss (%)	
	Smoking	Cooking
African catfish	3.51 ± 1.45	4.77 ± 2.13
Rohu	6.31 ± 1.07	3.22 ± 1.82
Small scale mud carp	2.84 ± 2.35	3.35 ± 2.00

จากการทดสอบ consumer test โดยดำเนินการทดสอบที่ร้านค้าของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ซึ่งเป็นสถานที่ขายสินค้าอุปโภคบริโภค โดยเตรียมตัวอย่าง 2 ครั้ง (lot) และทำการทดสอบ 2 วัน ซึ่งแต่ละครั้งมีผู้ทดสอบประมาณ 65-70 คน ผู้ทดสอบที่ตอบแบบสอบถามทั้งหมดคิดรวมเป็น 127 คน จำนวนผู้ทดสอบคิดเป็นเพศชาย 33.1% และเพศหญิง 66.9% ผู้ทดสอบมีช่วงอายุ 18-23, 24-29, 30-35, 36-41, >42 ปี คิดเป็น 37, 16.5, 25.2, 14.2 และ 7.1% ตามลำดับ จากการทดสอบพบว่าผู้บริโภคมีความชอบต่อไส้กรอกทั้ง 3 ชนิดไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) (ตารางที่ 12) โดยเฉลี่ยแล้วอยู่ในเกณฑ์ "ชอบ" นอกจากนี้ผู้บริโภคประมาณ 70% และ 50% มีแนวโน้มที่จะซื้อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกจากปลาดุกแอฟริกันและปลานวลจันทร์ ตามลำดับ (รูปที่ 44) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าสูตรไส้กรอกปลาทั้ง 3 ชนิด ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคในเกณฑ์ดี และอาจมีศักยภาพซึ่งสามารถพัฒนาในเชิงพาณิชย์ได้

ตารางที่ 12 ผลการทดสอบความชอบของผู้บริโภค (consumer test) ต่อไส้กรอกปลาชนิดต่างๆ

	AC	RH	SC
ลักษณะทั่วไป	7.0±1.3	6.6±1.4	6.8±1.3
สี	6.7±1.4	6.4±1.4	6.7±1.3
กลิ่นรสทั่วไป	6.6±1.7	6.3±1.5	6.5±1.6
กลิ่นรสเครื่องเทศ	6.6±1.5	6.3±1.5	6.4±1.5
เนื้อสัมผัส	7.1±1.3	6.2±1.9	6.7±1.6
ความชอบโดยรวม	7.1±1.3	6.5±1.5	6.8±1.6

AC=ปลาดุกแอฟริกัน, RH=ปลาอีสเทศ, SC=ปลานวลจันทร์



รูปที่ 44 สัดส่วนของผู้ทดสอบต่อการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาทั้ง 3 ชนิด AC = ปลาดุกแอฟริกัน , RH = ปลายี่สกเทศ, SC = ปลานวลจันทร์

3.4 อายุการเก็บของไส้กรอกปลา

เนื่องจากไส้กรอกปลายี่สกเทศเป็นตัวอย่างที่ได้รับคะแนนจากจากการทดสอบโดยผู้บริโภค (consumer test) ต่ำกว่าไส้กรอกปลานวลจันทร์และปลาดุกแอฟริกัน ดังนั้นจึงเลือกศึกษาอายุการเก็บของไส้กรอกปลาดุกแอฟริกันและปลานวลจันทร์ โดยแปรระดับสภาวะการบรรจุคือ ปิดผนึกธรรมดา (Non vac) ปิดผนึกสุญญากาศ (Vac) และปรับแปรบรรยากาศโดยใช้สัดส่วนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไนโตรเจน 25% และ 75% ตามลำดับ (MAP 25:75) จากการทดลองเบื้องต้น (preliminary test) พบว่าการใช้สัดส่วนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไนโตรเจน 50% และ 50% ไม่มีความแตกต่างจากสภาวะ 25:75 จึงศึกษาเฉพาะในสภาวะ 25: 75 เท่านั้น

การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ของวัตถุดิบในระหว่างขั้นตอนการผลิตจนถึงผลิตภัณฑ์สุดท้าย แสดงดังตารางที่ 13 จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นของปลาดุกแอฟริกันมีค่าเฉลี่ยน้อยกว่าปลานวลจันทร์ประมาณ 1 log cycle ทั้งนี้อาจเนื่องจากปลาดุกแอฟริกันที่ใช้เป็นปลาสดที่นำมาจากบ่อเลี้ยง ในขณะที่ปลานวลจันทร์เป็นปลาที่บรรจุเพื่อการขายส่งและเก็บในน้ำแข็งประมาณ 1-2 วันหลังการจับ การล้างปลาช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ลงประมาณ 1 log cycle นอกจากนี้การรมควันที่ 55 องศาเซลเซียสนาน 40 นาทีและการให้ความร้อนที่ 85 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที สามารถช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ลงได้ อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ที่ให้ความร้อนแล้วมีปริมาณเชื้อประมาณ 10^2 cfu/g ในปลาทั้ง 2 ชนิด

ตารางที่ 13 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการผลิตไส้กรอกปลาดุกแอฟริกันและปลานวลจันทร์

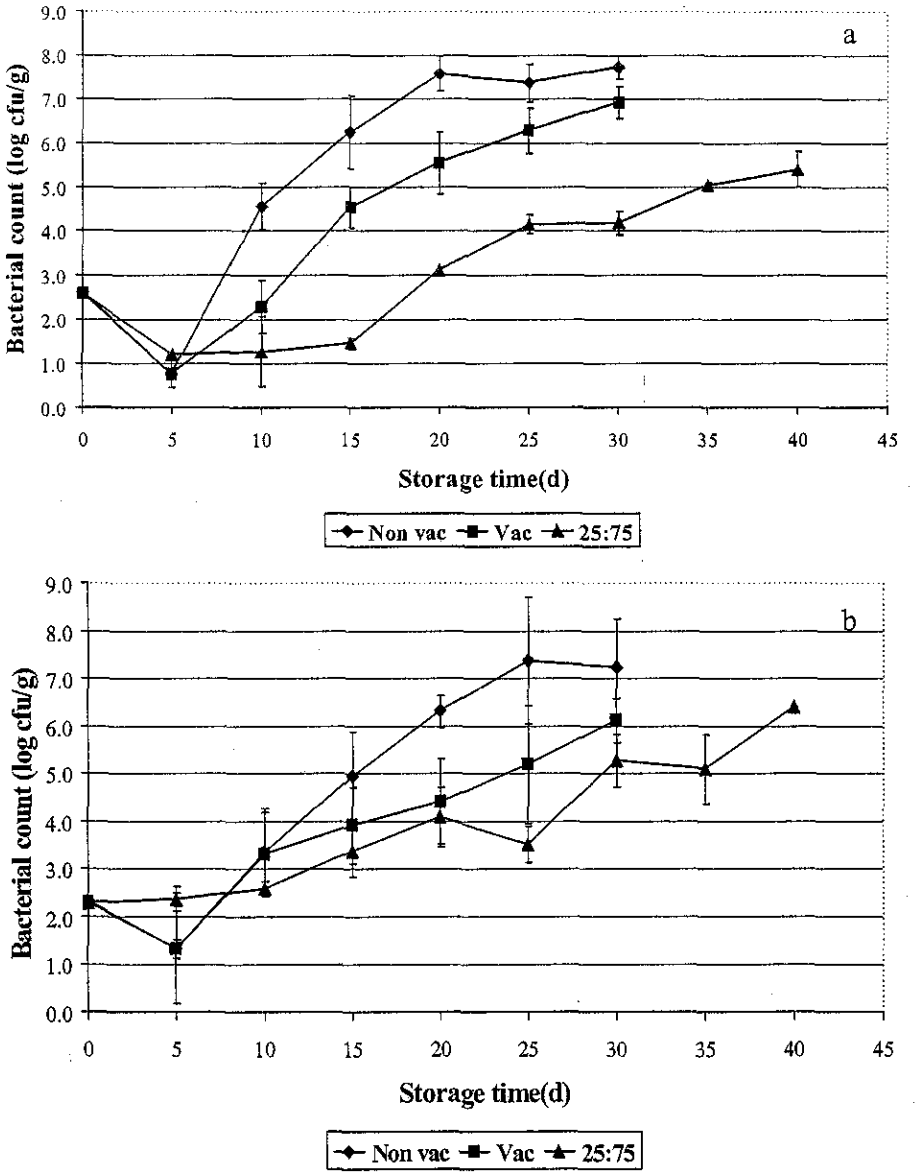
Sample	Bacterial count (cfu/g)*	
	African catfish	Small scale mud carp
Whole fish	6.8×10^4	5.3×10^5
Mince	5.8×10^3	1.9×10^4
Batter	2.1×10^3	1.3×10^3
Smoked products	9.5×10^2	1.0×10^3
Cooked products	2.2×10^2	4.1×10^2

*Means from 5 replications

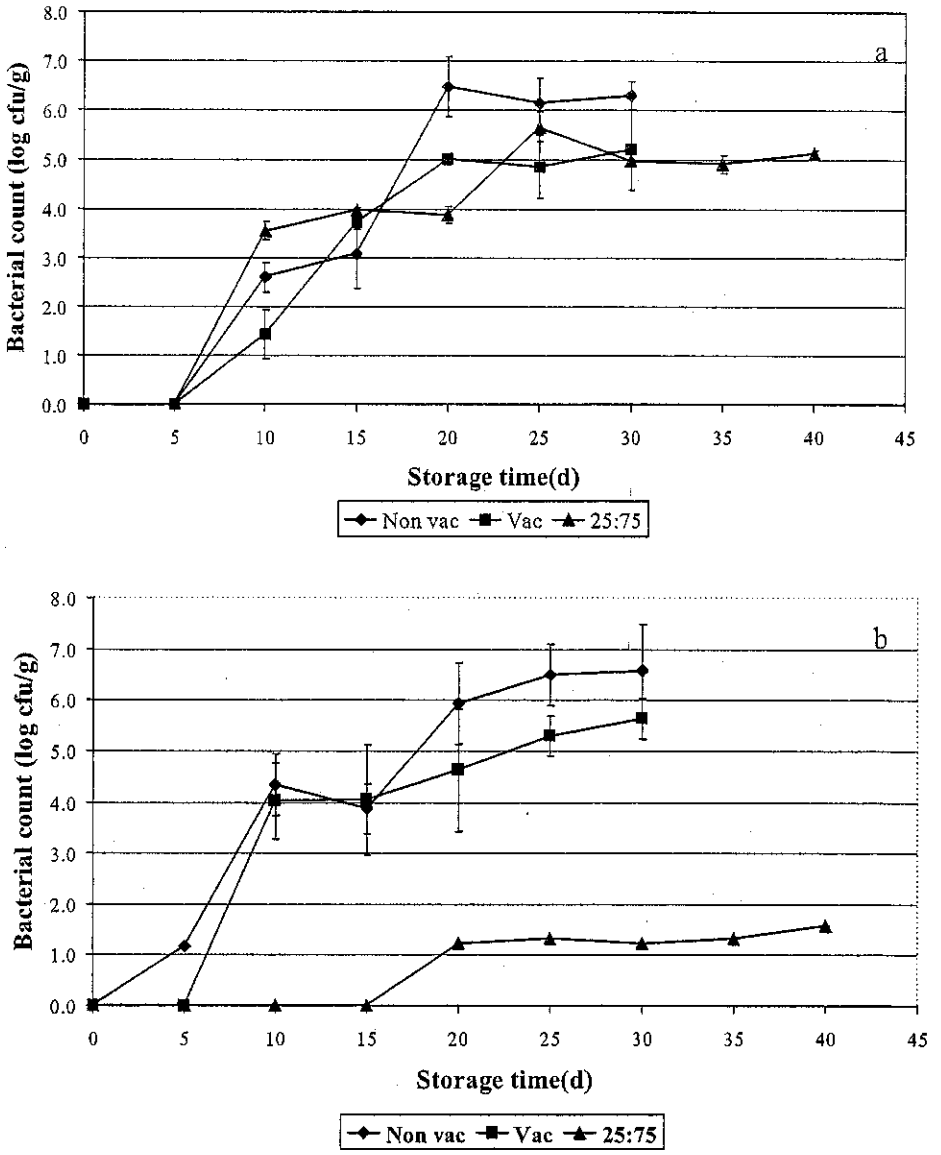
ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลานวลจันทร์ ที่บรรจุแบบ Non vac เกิดการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียกลุ่ม mesophlie ที่ใช้ออกซิเจนอย่างต่อเนื่องในระหว่างการเก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียส โดยในวันที่ 15 ประชากรแบคทีเรียมีจำนวนเกิน 1×10^6 cfu/g (รูปที่ 45a) ในขณะที่การบรรจุแบบ Vac มีจำนวนแบคทีเรียเกิน 1×10^6 cfu/g ในวันที่ 30 ส่วนการเก็บรักษาแบบ MAP สามารถชะลอจำนวนแบคทีเรียไปได้จนถึงวันที่ 40 (รูปที่ 45a) สำหรับผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาดุกแอฟริกัน พบว่าในสภาวะการบรรจุแบบ Non vac มีประชากรแบคมีเรียกลุ่ม mesophile ที่ใช้ออกซิเจนมีจำนวนสูงกว่าสภาพการเก็บรักษาแบบอื่น ในวันที่ 20 ประชากรแบคทีเรียมีจำนวนเกินมาตรฐาน (รูปที่ 45b) ส่วนที่สภาวะการบรรจุแบบ Vac มีจำนวนแบคทีเรียเกินมาตรฐานในวันที่ 30 การเก็บรักษาแบบ MAP สามารถชะลอจำนวนแบคทีเรียไปได้จนถึงวันที่ 40 เช่นเดียวกับในปลานวลจันทร์ เมื่อเปรียบเทียบการบรรจุแบบ Non vac จะเห็นได้ว่าอัตราการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียกลุ่ม mesophile เกิดขึ้นในตัวอย่างไส้กรอกปลานวลจันทร์เร็วกว่าในตัวอย่างไส้กรอกปลาดุกแอฟริกัน

จำนวนประชากรแบคทีเรียกลุ่ม psychrotrophs ที่สามารถเจริญได้ในสภาวะใช้ออกซิเจนในตัวอย่างไส้กรอกปลานวลจันทร์บรรจุแบบ Non vac เพิ่มขึ้นเกิน 1×10^6 cfu/g ในวันที่ 20 ในขณะที่ตัวอย่างที่บรรจุแบบ Vac และ MAP มีจำนวนประชากรแบคทีเรียกลุ่ม psychrotrophs ไม่เกิน 10^6 cfu/g ตลอดระยะเวลาการเก็บ 30-40 วัน (รูปที่ 46a) จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียกลุ่ม psychrotrophs ที่สามารถเจริญได้ในสภาวะใช้ออกซิเจนเป็นกลุ่มเด่นในระหว่างการเก็บรักษาไส้กรอกปลาที่อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส ผลดังกล่าวคล้ายคลึงกับลูกชิ้นปลา การบรรจุสุญญากาศและปรับแปรสภาพบรรยากาศสามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่ม psychrotrophs ในไส้กรอกปลานวลจันทร์ประมาณ 10-20 วัน แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกลุ่ม psychrotrophs ในไส้กรอกปลาดุกแอฟริกันคล้ายคลึงกับในไส้

กรอกปลานวลจันทร์ ยกเว้นการบรรจุใน Vac และ MAP สามารถลดการเจริญของ psychrotrophs ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (รูปที่ 46b) โดยจำนวนประชากรของ psychrotrophs ที่สามารถเจริญได้ในสภาวะใช้ออกซิเจนมีน้อย



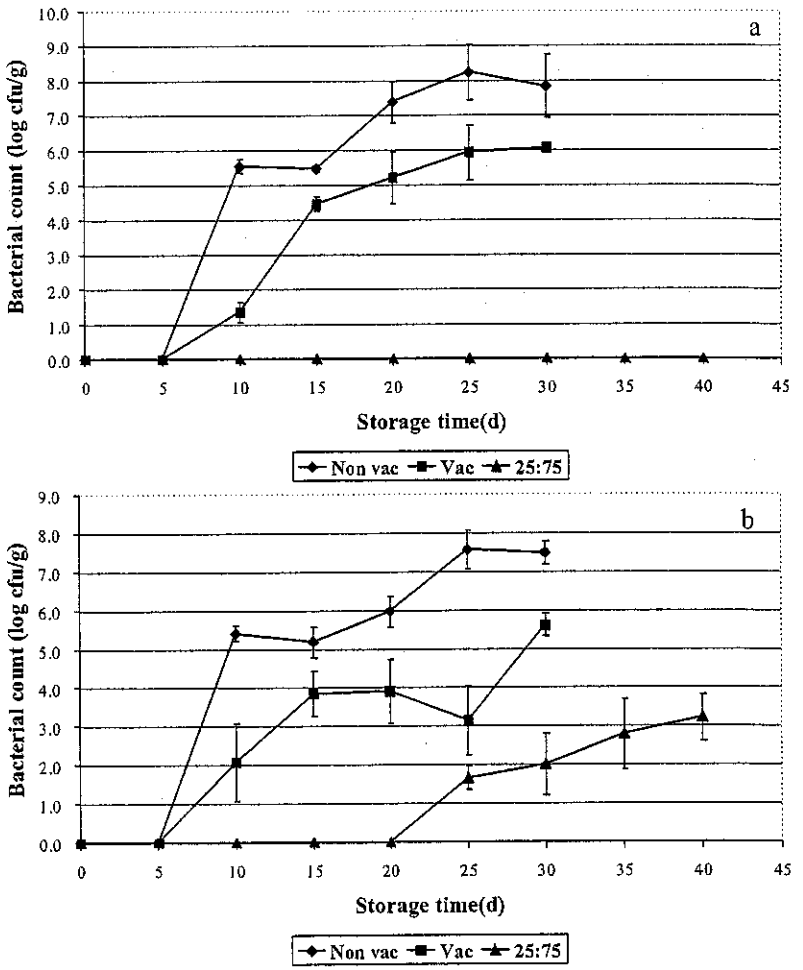
รูปที่ 45 การเปลี่ยนแปลงของ aerobic mesophiles ของไส้กรอกปลานวลจันทร์ (a) และปลาดุกแอฟริกัน (b) เก็บที่ 4 -7 องศาเซลเซียสในสภาวะการเก็บต่างๆ Non vac = ปิดผนึก, Vac = ปิดผนึกสุญญากาศ, 25:75 สัดส่วนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 25% ผสมกับไนโตรเจน 75%



รูปที่ 46 การเปลี่ยนแปลงของ aerobic psychrotrophs ของไส้กรอกปลานวลจันทร์ (a) และปลาดุกแอฟริกัน (b) เก็บที่ 4-7องศาเซลเซียสในสภาวะการเก็บต่างๆ ตัวย่อเหมือนดังรูปที่ 45

กว่า 1 x 10^6 cfu/g ในวันที่ 30 สำหรับตัวอย่างที่บรรจุแบบ Vac และไม่เกิน 10^2 cfu/g ในวันที่ 40 สำหรับตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP ชนิดและจำนวน microflora ในวัตถุดิบที่แตกต่างกันอาจเป็นสาเหตุให้อัตราการเพิ่มขึ้นของเชื้อเหล่านี้แตกต่างกัน

ประชากรแบคทีเรียกลุ่ม enterobacter เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วทั้งในไส้กรอกปลานวลจันทร์ (รูปที่ 47a) และไส้กรอกปลาดุกแอฟริกัน (รูปที่ 47b) การบรรจุแบบ Vac สามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มนี้ในไส้กรอกทั้ง 2 ชนิด การบรรจุแบบ MAP สามารถยับยั้งการเจริญของ *Enterobacteriaceae* ในไส้กรอกปลานวลจันทร์ ตลอดระยะการเก็บรักษา 40 วัน ส่วนในไส้กรอกปลาดุกแอฟริกันสามารถยับยั้งได้ 20 วัน



รูปที่ 47 การเปลี่ยนแปลงของ *Enterobacteriaceae* ของไส้กรอกปลานวลจันทร์ (a) และปลาดุกแอฟริกัน (b) เก็บที่ 4 - 7 องศาเซลเซียสในสภาวะการเก็บต่างๆ ตัวย่อเหมือนดังรูปที่ 45

ตัวอย่างไส้กรอกปลานวลจันทร์ที่บรรจุแบบ Non vac และ Vac มีค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.8 ส่วนตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP มีค่า pH เท่ากับ 6.2 ตัวอย่างไส้กรอกปลาดุกแอฟริกันมี pH เริ่มต้น 6.5 และ pH ลดลงเป็น 6.0 ในวันที่ 5 ของการเก็บแบบ MAP จากนั้น pH ของตัวอย่างไส้กรอกปลาทั้ง 2 ชนิดมีค่าค่อนข้างคงที่ในระหว่างการเก็บรักษา การลดลงของค่า pH ในตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP เกิดขึ้นจากกรดคาร์บอนิก ดังเช่นในตัวอย่างลูกชิ้น การเปลี่ยนแปลงค่า pH เล็กน้อยตลอดระยะเวลาการเก็บบ่งชี้ว่าแบคทีเรียที่ผลิตกรดเช่นแบคทีเรียแลคติคอาจไม่ใช่กลุ่มแบคทีเรียกลุ่มเด่นในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเน่าเสีย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบทางจุลินทรีย์ที่ตรวจไม่พบจุลินทรีย์ในกลุ่มแลคติค ผลดังกล่าวค่อนข้างแตกต่างจากลูกชิ้น กระบวนการรมควันทำให้อาหารได้สัมผัสควันซึ่งประกอบด้วยสารระเหยประเภท ฟีนอล กรด อัลดีไฮด์ และไฮโดรคาร์บอน ซึ่งมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Duffes, 1999) จึงทำให้จุลินทรีย์ที่สร้างกรดไม่สามารถเจริญได้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก

ในไส้กรอกปลานวลจันทร์ที่บรรจุแบบ Non vac และ Vac ผู้ทดสอบพบความเป็นเมือกของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในวันที่ 20 และ 25 ตามลำดับ (รูปที่ 48a) ส่วนตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP มีความเป็นเมือกน้อยกว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบ Non vac และ Vac ($p<0.05$) ความเป็นเมือกแตกต่างกันในระหว่างการเก็บที่ 20-40 วันเมื่อบรรจุแบบ MAP ไส้กรออกปลาดุกแอฟริกันบรรจุแบบ Non vac มีแนวโน้มเช่นเดียวกับไส้กรอกปลานวลจันทร์ (รูปที่ 48b) แต่ตัวอย่างที่บรรจุแบบ Vac และ MAP นั้นมีปริมาณเมือกไม่แตกต่างกันในช่วงระยะเวลาการเก็บ 40 วัน ($p>0.05$) จะเห็นได้ว่าโดยทั่วไปแล้วการบรรจุแบบ Vac และ MAP สามารถช่วยชะลอการเกิดเมือกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาได้

ระดับกลิ่นเปรี้ยวในตัวอย่างไส้กรอกปลานวลจันทร์และปลาดุกแอฟริกันบรรจุแบบ Non vac เพิ่มขึ้นในวันที่ 20 ($p<0.05$) (รูปที่ 49a,b) ส่วนในตัวอย่างที่บรรจุแบบ Vac มีค่าเพิ่มขึ้นในวันที่ 25 ($p<0.05$) เป็นที่น่าสังเกตว่าผู้ทดสอบพบการเพิ่มขึ้นของทั้งเมือกและกลิ่นเปรี้ยวในช่วงเวลาเดียวกัน ตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP มีระดับกลิ่นเปรี้ยวน้อยกว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบ Vac และ Non vac ในไส้กรอกปลาทั้ง 2 ชนิด ผู้ทดสอบพบว่าตัวอย่างที่บรรจุในสภาวะ MAP เป็นเวลา 20-40 วันมีกลิ่นเปรี้ยวมากกว่าที่บรรจุไว้ 0-15 วัน ($p<0.05$) กลิ่นเปรี้ยวของไส้กรอกปลาดุกบรรจุแบบ Vac ไม่แตกต่างกันตลอดช่วง 40 วันที่ศึกษา ($p>0.05$) (รูปที่ 49b) ซึ่งสอดคล้องกับความไม่แตกต่างของเมือก (รูปที่ 48b) นอกจากนี้ระดับกลิ่นเปรี้ยวเพิ่มสูงในตัวอย่างไส้กรอกปลาดุกแอฟริกันที่บรรจุแบบ MAP เป็นเวลา 40 วัน ($p<0.05$) (รูปที่ 49b) จะเห็นได้ว่าผู้ทดสอบพบเมือกและกลิ่นเปรี้ยวพร้อมกัน โดยภาพรวมการบรรจุแบบ Vac และ MAP สามารถชะลอการเกิดเมือกและกลิ่นเปรี้ยวในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลานวลจันทร์และปลาดุกแอฟริกันได้

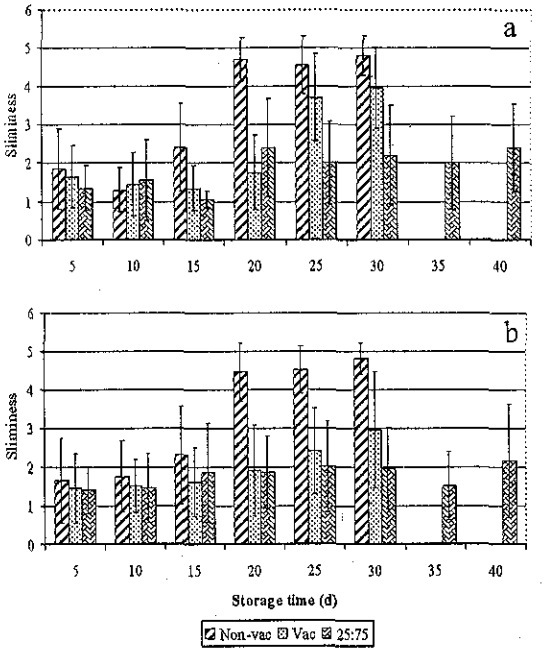
ผู้ทดสอบพบว่ากลิ่นเน่าเหม็นในตัวอย่างไส้กรอกปลานวลจันทร์และปลาดุกในวันที่ 20 สูงแตกต่างจาก 15 วันแรกของการเก็บในสภาวะ Non vac ($p<0.05$) (รูปที่ 50a-b) โดยมีจำนวนผู้ทดสอบยอมรับในผลิตภัณฑ์เพียง 50% ซึ่งอาจถือว่าผลิตภัณฑ์ไม่เป็นที่ยอมรับแล้ว ในตัวอย่างเดียวกันมีผู้ทดสอบเพียง 30% และ 10% เท่านั้นที่ยอมรับในระดับการเกิดเมือกและกลิ่นเปรี้ยว ตามลำดับ จากลักษณะปรากฏที่ทดสอบพบว่า ผู้บริโภคไม่ยอมรับไส้กรอกปลานวลจันทร์และปลาดุกบรรจุแบบ Non vac ในวันที่ 20 ดังนั้นอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจึงไม่เกิน 20 วัน สำหรับตัวอย่างไส้กรอกปลานวลจันทร์ที่บรรจุแบบ Vac นั้นมีระดับของกลิ่นเน่าในตัวอย่างที่เก็บไว้นาน 25-30 วันสูงกว่าที่เก็บไว้ 5-20 วัน ($p<0.05$) (รูปที่ 50a) โดยผลิตภัณฑ์ที่เก็บไว้ 25 วันยังคงอยู่ในเกณฑ์ "ยอมรับ" (80% ของผู้ทดสอบยอมรับ) ในตัวอย่างเดียวกันนี้ 70 และ 80% ของผู้ทดสอบยอมรับระดับการเกิดเมือกและกลิ่นเปรี้ยว แต่ผลิตภัณฑ์เกิดกลิ่นที่ไม่ยอมรับ (60% ของผู้ทดสอบ) ในวันที่ 30 ของการเก็บ การเปลี่ยนแปลงในไส้กรอกปลาดุก

เกิดขึ้นในทำนองเดียวกัน โดยผู้ทดสอบ 80% ไม่ยอมรับลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ในวันที่ 30 ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าตัวอย่างไส้กรอกปลานวลจันทร์และปลาดุกแอฟริกันบรรจุแบบ Vac มีอายุการเก็บไม่เกิน 30 วัน ตามเกณฑ์ลักษณะปรากฏ ระดับกลิ่นเน่าที่ผู้ทดสอบตรวจพบในตัวอย่างไส้กรอกปลานวลจันทร์บรรจุแบบ MAP ในวันที่ 10-40 ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) (รูปที่ 50a) และถือว่าอยู่ในระดับเล็กน้อย (คะแนนเฉลี่ย 1.3-1.6) ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ (70%) ยังคงยอมรับในผลิตภัณฑ์ที่เก็บไว้นานถึง 30 วัน ส่วนตัวอย่างซึ่งเก็บไว้ 40 วันนั้น แม้ 72% ของผู้ทดสอบจะยอมรับในด้านกลิ่น (ไม่มีกลิ่นเน่าเสีย) แต่ผลิตภัณฑ์มีการเยิ้มน้ำและเกิดเมือกและได้รับการยอมรับเพียง 33% เท่านั้น ส่วนตัวอย่างไส้กรอกปลาดุกแอฟริกัน มีระดับของกลิ่นเน่าเพิ่มขึ้นในวันที่ 40 ของการเก็บในสภาวะ MAP ($p<0.05$) ผู้ทดสอบทั้งหมดไม่ยอมรับในลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ ไส้กรอกปลานวลจันทร์และปลาดุกแอฟริกันที่บรรจุแบบ MAP ซึ่งมีส่วนผสมของคาร์บอนไดออกไซด์ 25% และไนโตรเจน 75% จึงมีอายุการเก็บไม่เกิน 40 วัน

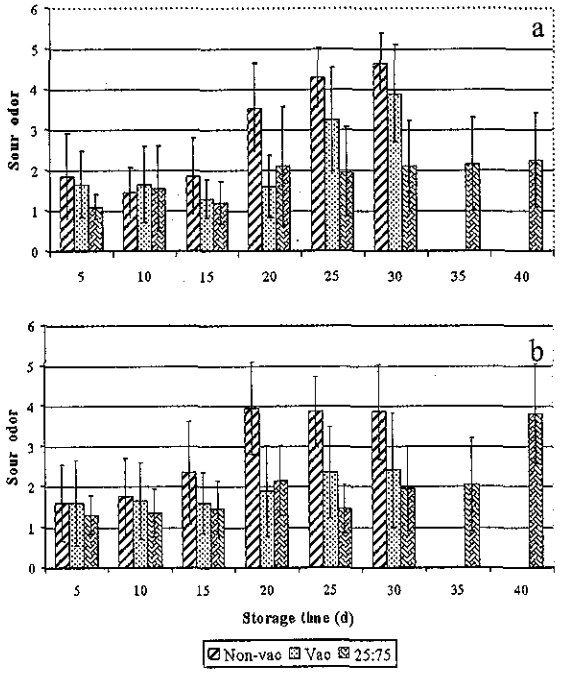
เมื่อใช้จำนวนแบคทีเรียในกลุ่ม mesophiles (10^6 cfu/g) เป็นเกณฑ์ในการกำหนดอายุของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลา จะได้ผลที่สอดคล้องกับการใช้เกณฑ์ลักษณะปรากฏ โดยเฉพาะในตัวอย่างที่บรรจุแบบ Non vac และ Vac โดยไส้กรอกที่บรรจุแบบ Non vac และ Vac มีอายุการเก็บไม่เกิน 20 และ 30 วัน ตามลำดับ ดังนั้นเกณฑ์ทางด้านจุลชีววิทยาโดยเฉพาะจำนวน mesophiles ที่ไม่เกิน 10^6 cfu/g ยังคงสามารถใช้เป็นเกณฑ์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาน้ำจืดที่บรรจุแบบ Non vac และ Vac ได้ ส่วนตัวอย่างที่บรรจุแบบ MAP นั้นแม้ว่าจะมีลักษณะปรากฏของการเน่าเสียแล้วแต่จำนวนแบคทีเรียในกลุ่ม mesophile และ psychrotrophs ยังคงน้อยกว่า 10^6 cfu/g ซึ่งแสดงว่า MAP สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกลุ่มดังกล่าวได้ แต่อาจมีจุลินทรีย์ซึ่งสามารถสร้างเมือก และสร้างกลิ่นไม่พึงประสงค์ยังคงสามารถเจริญได้ในสภาวะการบรรจุแบบ MAP ดังนั้นเกณฑ์ 10^6 cfu/g จึงไม่เหมาะสม และอาจต้องอาศัยการทดสอบทางลักษณะปรากฏควบคู่ไปด้วย

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาทั้งสองชนิด เมื่อใช้สภาพปรับบรรยากาศในการบรรจุสามารถยืดอายุการเก็บรักษาและชะลอการเจริญของแบคทีเรียได้ดีกว่าสภาพการบรรจุอื่นๆ ปราณีศา และคณะ (2543) พบว่าผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาดุกอุยผสมซูริมิ เมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพปรับบรรยากาศโดยใช้ก๊าซไนโตรเจน 100 % เก็บรักษาที่ 4-6 องศาเซลเซียส จะมีจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่าตัวอย่างที่เก็บในสภาพปกติและสภาพสุญญากาศ และยังพบว่าปริมาณ Coliform และ *E.coli* มีจำนวนต่ำกว่า 300 cfu/g โดยผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในสภาพปรับแปรบรรยากาศสามารถเก็บได้ 35 วัน ในขณะที่การบรรจุแบบธรรมดาสามารถเก็บได้ 12 วัน Pexara et al. (2002) ศึกษาอายุการเก็บของ pork sausage และ เนื้อไก่งวงแล่ (turkey fillet) ในสภาวะปรับแปรบรรยากาศและพบว่า การปรับแปรบรรยากาศของสภาวะบรรจุไม่ได้ช่วยยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ทั้งสอง โดยเฉพาะเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่บรรจุภายใต้สุญญากาศ นอกจากนี้จุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่พบในผลิตภัณฑ์คือแบคทีเรียในกลุ่มแลคติค

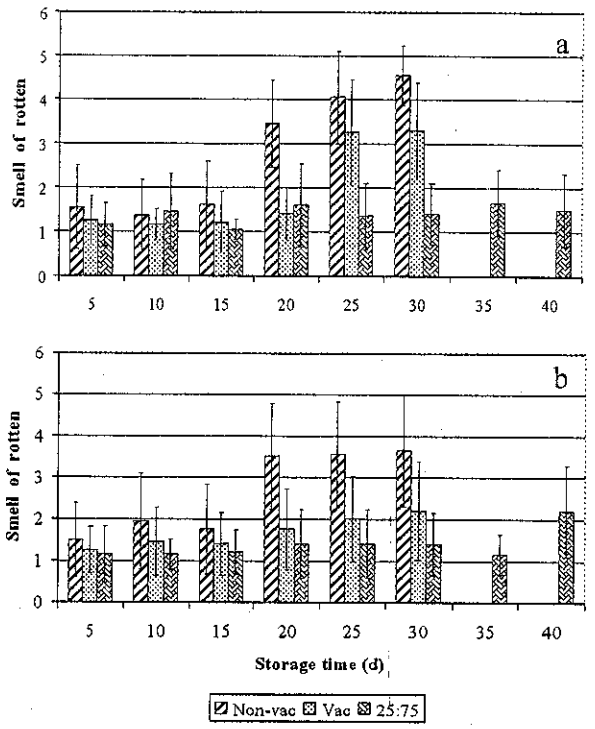
การซึมน้ำออกของไส้กรอก (drip loss) แสดงดังในรูปที่ 51 ข้อมูลที่ขาดหายไปนั้นเกิดจากตัวอย่างเกิดการเน่าเสียแล้ว ในวันที่ 5 ของการเก็บ ตัวอย่างไส้กรอกปลานวลจันทร์และปลาดุกแอฟริกันที่บรรจุแบบ MAP และ Vac มีปริมาณ drip loss มากกว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบ Non vac ($p<0.05$) (รูปที่ 51a,b) นอกจากนี้ยังพบการเพิ่มขึ้นของ drip loss ในไส้กรอกปลานวลจันทร์ที่บรรจุแบบ Vac (รูปที่ 51a) การบีบรัดผลิตภัณฑ์โดยบรรจุภัณฑ์อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการซึมน้ำออกเพิ่มขึ้น ส่วนการเปลี่ยนแปลงของสีเกิดขึ้นน้อยมากในระหว่างการเก็บและสภาวะการบรรจุไม่มีผลต่อสีของผลิตภัณฑ์($p>0.05$) (ไม่ได้แสดงผล)



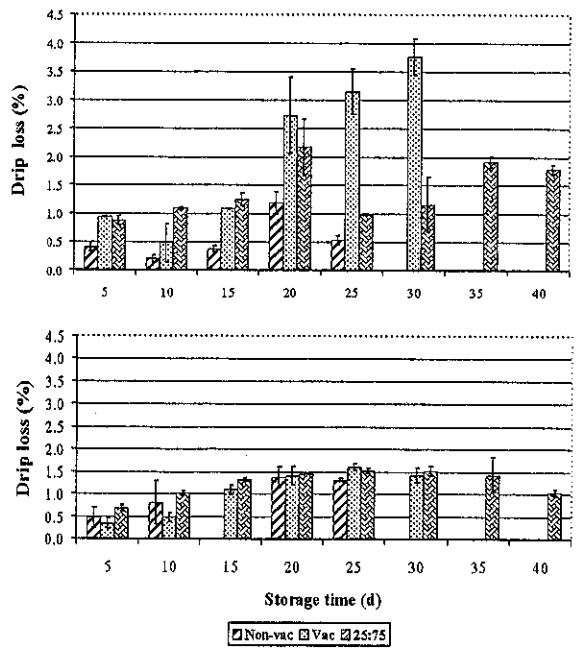
รูปที่ 48 การเกิดเมือกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลานวลจันทร์ (a) และปลาดุกแอฟริกัน (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการเก็บต่างๆ จากการทดสอบโดยผู้ทดสอบ ตัวย่อเหมือนดังรูปที่ 45



รูปที่ 49 การเกิดกลิ่นเปรี้ยวในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลานวลจันทร์ (a) และปลาดุกแอฟริกัน (b) เก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะการเก็บต่างๆ จากการทดสอบโดยผู้ทดสอบ ตัวย่อเหมือนดังรูปที่ 45



รูปที่ 50 การเกิดกลิ่นเน่าในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาปลานวลจันทร์ (a) และปลาดุกแอฟริกัน (b) เก็บที่ 4-7 องศา เซลเซียสในสภาวะการเก็บต่างๆ จากการทดสอบโดยผู้ทดสอบ ตัวย่อเหมือนดังรูปที่ 45



รูปที่ 51 การเปลี่ยนแปลงค่า drip loss ของไส้กรอกปลานวลจันทร์ (a) และปลาดุกแอฟริกัน (b) เก็บที่ 4-7 องศา เซลเซียสในสภาวะการเก็บต่างๆ ตัวย่อเหมือนดังรูปที่ 45

สรุปผลการทดลอง

ปลานิล ปลายี่สกเทศและปลานวลจันทร์เป็นปลาที่มีไขมันต่ำและมีความสามารถในการเกิดเจลที่ดี สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตลูกชิ้นปลาและไส้กรอกปลาได้ ส่วนปลาดุกแอฟริกันเป็นปลาที่มีไขมันสูงแต่มีคุณสมบัติในการเกิดเจลที่ดีเช่นกันจึงเหมาะที่จะใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตไส้กรอก หากพิจารณาในด้านผลผลิตต้นทุนของวัตถุดิบของเนื้อปลาจะพบว่าปลายี่สกเทศ ปลานวลจันทร์และปลาดุกแอฟริกันมีความเหมาะสมมากกว่าปลานิล

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเหนี่ยวนำให้เกิดเซทติ้งในเจลปลานิล ปลายี่สกเทศและปลานวลจันทร์คือที่ 55 องศาเซลเซียส สำหรับเจลที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร แป้งที่เหมาะสมในการผลิตลูกชิ้นคือแป้งมันสำปะหลังและวีทสตาร์ชในระดับ 3.6% การผลิตลูกชิ้นแช่แข็งควรใช้แป้งมันสำปะหลังที่ดัดแปรแบบ cross-linking/hydroxypropylation ในระดับ 5.4% การเก็บรักษาลูกชิ้นแช่เย็นที่ 4-7 องศาเซลเซียสในสภาวะปิดผนึกธรรมดา (มีอากาศภายในถุงบรรจุ) บรรจุในสภาวะสุญญากาศสามารถเก็บได้ไม่เกิน 6 วัน และตัวอย่างบรรจุแบบปรับแปรบรรยากาศ (Modified atmospheric packaging) ที่มีสัดส่วนของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไนโตรเจน 25%:75% และ 50%:50% สามารถเก็บได้ไม่เกิน 10 วัน การบรรจุแบบปรับแปรบรรยากาศสามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียได้เมื่อเปรียบเทียบกับการปิดผนึกธรรมดา และการบรรจุในสภาวะสุญญากาศ แต่ไม่สามารถชะลอการเกิดลักษณะปรากฏที่บ่งชี้ถึงการเน่าเสีย เช่นการเกิดเมือก การเกิดกลิ่นเปรี้ยวและการเกิดกลิ่นเน่าได้

การผลิตไส้กรอกโดยใช้เนื้อปลานิล ปลายี่สกเทศ และปลานวลจันทร์สามารถเติมน้ำมันในระดับ 15-30% หากใช้ปลาดุกแอฟริกันเป็นวัตถุดิบสามารถเติมน้ำมันได้ในระดับ 15-20% เนื่องจากปลาดุกชนิดนี้มีไขมันสูงอยู่แล้ว การเติมน้ำมันในระดับสูงส่งผลให้เกิดการแตกตัวของอิมัลชันในขณะสับผสม อุณหภูมิที่เหมาะสมในการรมควันไส้กรอกปลาทุกชนิดคือ 55 องศาเซลเซียส 40 นาที และไม่พบการเสื่อมสลายโปรตีนกล้ามเนื้อโดยโปรติเนส (proteolysis) เมื่อรมควันที่อุณหภูมิสูง (65 องศาเซลเซียส) ในปลายี่สกเทศ ปลานวลจันทร์ และปลาดุกแอฟริกัน ไส้กรอกมีอายุการเก็บที่นานกว่าลูกชิ้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากการรมควันสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ในระดับหนึ่ง ไส้กรอกปลานวลจันทร์และปลาดุกแอฟริกันบรรจุแบบปิดผนึกธรรมดาเก็บที่ 4-7 องศาเซลเซียสมีอายุการเก็บไม่เกิน 20 วัน และเมื่อบรรจุแบบสุญญากาศมีอายุการเก็บไม่เกิน 30 วัน ส่วนการเก็บในสภาพปรับแปรบรรยากาศในสภาวะที่มีสัดส่วนของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไนโตรเจน 25%:75% มีอายุการเก็บไม่เกิน 40 วัน การเก็บไส้กรอกในสภาพปรับแปรบรรยากาศสามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์เมื่อเปรียบเทียบกับการเก็บแบบธรรมดาและสุญญากาศ

การใช้ประโยชน์จากปลาน้ำจืดทั้ง 4 สายพันธุ์โดยการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทเจล เป็นการเพิ่มมูลค่าของปลาน้ำจืดอีกทางหนึ่ง วิธีการผลิตที่ดี (Good Manufacturing Practices) สำหรับกระบวนการผลิตลูกชิ้นและไส้กรอกจะมีประโยชน์ต่อสถานประกอบการขนาดกลางและขนาดเล็กที่ต้องการผลิตผลิตภัณฑ์เหล่านี้อย่างถูกสุขลักษณะ

ข้อเสนอแนะ

โปรตีนกล้ามเนื้อจากปลาน้ำจืด 4 ชนิดที่ศึกษามีคุณสมบัติในการเกิดเจลที่ดี แต่เมื่อนำมาผลิตลูกชิ้นจะมีข้อด้อยในด้านกลิ่นรสเมื่อเปรียบเทียบกับปลาทะเล ซึ่งเกิดจากกลิ่นโคลนและกลิ่นเฉพาะตัวของปลาแต่ละชนิดทำให้มีข้อจำกัดในการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการใส่เครื่องเทศ การศึกษาและจำแนกกลิ่นดังกล่าวจะทำให้เกิดองค์ความรู้ในเชิงวิทยาศาสตร์ ซึ่งนำไปสู่การลดปัญหาในด้านกลิ่น และการควบคุมกลิ่นของปลาน้ำจืดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ลูกชิ้นปลาที่ผลิตได้เมื่อเก็บแช่เย็น จะมีอายุการเก็บที่ค่อนข้างสั้น การยืดอายุการเก็บโดยไม่ใส่สารกันบูดเป็นประเด็นที่ควรศึกษา การใช้สารสกัดจากสมุนไพร สาร bacteriocins จากจุลินทรีย์บางชนิด ร่วมกับเทคโนโลยีการปรับแปรบรรยากาศ อาจเป็นแนวทางที่สามารถยืดอายุการเก็บของลูกชิ้นแช่เย็นโดยไม่ใช้สารกันบูดได้

แม้ว่าไส้กรอกปลาที่ผลิตได้จะมีอายุการเก็บที่ค่อนข้างยาว (30-40 วัน) ที่ 4-7 องศาเซลเซียส แต่อายุการเก็บของผลิตภัณฑ์จะลดลงเมื่ออุณหภูมิในการเก็บสูงขึ้น การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่มีอายุการเก็บนานขึ้นในสภาวะที่อุณหภูมิเปลี่ยนแปลง (fluctuation) โดยใช้สารธรรมชาติ อาจทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ใหม่และการใช้ประโยชน์จากปลาน้ำจืดมากขึ้น

ความเข้าใจเกี่ยวกับการทำงานของโปรติเนสในปลาดุกแอฟริกันในระบบที่เป็นอิมัลชัน จะเป็นประโยชน์ทั้งในเชิงวิชาการและความรู้ประยุกต์ ในเชิงวิชาการจะทำให้เกิดความเข้าใจเกี่ยวกับการทำงานของโปรติเนสที่อยู่ในระบบอิมัลชัน ซึ่งจะนำไปสู่การควบคุมหรือเร่งกิจกรรมดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารอ้างอิง

จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล. 2547. โปรตีเนสและทรานสกลูทามิเนสในปลาน้ำจืดเศรษฐกิจ. รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ปราณิศา เชื้อโพธิ์หัก, นงนุช รักสกุลไทย และ วันชัย วรวัฒนเมธีกุล. 2543. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาและอายุการเก็บรักษา. *อาหาร*. 30(4) : 261-273.

AOAC. 2000. Official methods of analysis of the association of official Analytical chemists. 17th ed. *AOAC*: Arlington.

Ashie, I.N.A.and Lanier, T.C. 2000. Transglutaminases in seafood processing. In *Seafood Enzymes Utilization and Influence on Postharvest Seafood Quality*, N.F. Haard and B.K. Simpson (Eds.), p. 147-166. Marcel Dekker, Inc., New York.

Borderias A.J., Jimenez-Colmenero F., and Tejade M. 1985. Viscosity and emulsifying ability of fish and chicken muscle protein. *J. Food Tech.* 1: 31-42.

Debevere, J. and Boskou, G. 1996. Effect of modified atmosphere packaging on the TVB/TMA-producing microflora of cod fillets. *Int. J. Food Microbiol.* 31: 221-229.

Duffes, F. 1999. Improving the control of *Listeria monocytogenes* in cold smoked salmon. *Trends Food Sci. Technol.* 10: 211-216.

Erickson, M.C., Gordon, D.T., and Anglemier, A.F. 1983. Proteolytic activity in the sarcoplasmic fluids of parasitized Pacific whiting (*Merluccius productus*) and unparasitized true cod (*Gadus marcocephalus*). *J. Food Sci.* 48: 1315-1319.

Farber, J.M. 1991. Microbiological aspects of modifed-atmosphere packaging technology-A Review. *J. Food Proct.* 54(1): 58-70.

Folch J., Less M., and Stanley S.G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.

Folk, J.E. 1980. Transglutaminase. Ann. Rev. Biochem. 49:517-531.

Folk, J.E. and Cole, P.W. 1966. Identification of a functional cysteine essential for the activity of guinea pig liver transglutaminase. *J. Bio. Chem.* 41: 3238-3240.

Gram, L. and Huss, H.H. 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. *Int. J. Food Miccrobiol.* 33: 121-137.

Gram, L., Trolle. G., and Huss, H.H. 1987. Detection of specific spoilage bacteria fron fish stored at low (0 °C) and high (20 °C) temperatures. *Int. J. Food Miccrobiol.* 4: 65-72.

Greene, D.H. and Babitt, J. 1990. Control of muscle softening and protease-parasite interactions in arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*). *J. Food Sci.* 55: 579-580.

Huidobro, A., Montero, P., and Borderias. A.J. 1998. Emulsufying properties of an ultrafiltered protein from minced fish wash water. *Food chem.* 61:339-343.

Kamath, G.G., Lanier, T.C., Foegeding, E.A., and Hamann, D.D. 1992. Nondisulfide covalent cross-linking of myosin heavy chain in "setting" of Alaska pollock and Atlantic croaker surimi. *Food Biochem.* 16: 151-172.

Kim, J.M. and Lee, C.M. 1987. Effect of starch on thextural properties of surimi gel. *J. Food Sci.* 52: 722-725.

Kishi, H., Nozawa, H., and Seki, N. 1991. Reactivity of muscle transglutaminase on carp myofibrils and myosin B. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 57:1203-1210.

Kocher, P.N., and Foegeding, E.A. 1993. Microcentrifuge-based method for measuring water-holding of protein gels. *J. Food Sci.* 58(5):1040-1046.

Kumazawa, Y., Sano, K., Seguro, K., Yasueda, H., Nio, N., and Motoki, M. 1997. Purification and characterization of transglutaminase from Japanese oyster (*Crassostrea gigas*). *J. Agric. Food Chem.* 45:604-610.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 227:680-685.

Lee, C.M., Wu, M.C., and Okada, M. 1992. Ingredient and formulation technology for surimi-based products. In *Surimi Technology*, T.C. Lanier and C.M. Lee (Eds.), p 273-302. Marcel Dekker Inc., New York.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.

Montero P. and Borderias A.J. 1991. Emulsifying capacity of collagenous material from the muscle and skin of hake (*Merluccius merluccius* L) and trout (*Salmo irideus* Gibb): effect of pH and NaCl concentration. *Food Chem.* 41:251-267.

Morrissey, M.T., Wu, J.W., Lin, D.D., and An, H. 1993. Effect of food grade protease inhibitors on autolysis and gel strength of surimi. *J. Food Sci.* 58: 1050-1054.

Nadon, C.A., Ismond, A.A.H., and Holley, R. 2001. Biogenic amines in vacuum-packaged and carbon dioxide-controlled atmosphere-packaged fresh pork stored at -1.5°C. *J. Food Prot.* 64(2): 220-227.

Nozawa, H., Mamegoshi S., and Seki N. 1997. Partial purification and characterization of six transglutamianse from ordinary muscles of various fishes and marine invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.* 118B(2):313-317.

Osatomi, K., Sasai, H., Cao, M., Hara, K., and Ishihara, T. 1997. Purification and characterization of myofibril-bound serine proteinase from carp Cyprinus carpio ordinary muscle. *Comp Biochem Physiol.* 116B: 183-190.

Özogul, F., Taylor, K.D.A., Quantick, P., and Özogul, Y. 2000. Chemical, microbiological and sensory evaluation of Atlantic herring (*Clupea harengus*) stored in ice, modified atmosphere and vacuum pack. *Food Chem.* 71:267-273.

Patashnik, M., Groninger, H.S., Barnett, H., Kudo, G., and Koury, B. 1982. Pacific whiting, *Merluccius productus*: I. Abnormal muscle texture caused by Myxosporidian-induced proteolysis. *Marine Fish Rev.* 44: 1-12.

Pearce K.N., and Kinsella J.E. 1978. Emulsifying properties of protein: Evaluation of turbidimetric technique. *J. Agric.Food Chem.* 26:716-723.

Pexara, E., Metaxopoulos, J., and Drosinos, E.H. 2002. Evaluation of shelf life of cured, cooked, sliced turkey fillets and cooked pork sausages-"piroski"-stored under vacuum and modified atmospheres at 4 and 10°C. *Meat Sci.* 62: 33-43.

Ritchter, E.R. and Banwart, G.J. 1983. Microbiological and sensory evaluation of fresh fish packaged in carbon dioxide for retail outlets in the Midwest. *J. Food Prot.* 46(3): 245-247.

Rutenberg, M. W., and Solarek, D. 1984. Starch derivatives:production and uses. In *Starch chemistry and technology*, (2nd ed). Whitler, R.L., BeMiller, J.N., and Paschall, E.F. (Eds.), p.311-388. Academic Press Inc., London.

SAS. 1996. Statistical Analysis System Software. Version 6.08. Cary: SAS Institute, Inc.

Wan, J., Kimura, I., Satake, M., and Seki, N. 1994. Effect of calcium ion concentration on the geling properties and transglutaminase activity of walleye pollock surimi paste. *Fish. Sci.* 60(1): 107-113.

Yang H., and Park, J.W. 1998. Effect of starch properties and thermal processing conditions on surimi–starch gels. *Lebensm.-Wiss. U. Technol.* 31: 344-353.

Yasueda, H., Kumazawa, Y., and Motoki, M. 1994. Purification and characterization of a tissue-type transglutaminase from red sea bream (*Pagrus major*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 58:2041-2045.

Yongsawatdigul, J., Park, J. W., Virulhakul, P., and Viratchakul, S. 2000. Proteolytic degradation of tropical tilapia. *J. Food Sci.* 65: 129-133.

Yongsawatdigul, J., and Piyadhammaviboon, P. 2004. Inhibition of autolytic activity of lizardfish surimi by proteinase inhibitors. *Food Chem.* 87: 447-455.

Yongswatdigul, J., Worratao, A., and Park, J. W. 2002. Effect of endogenous transglutaminase on threadfin bream surimi gelation. *J. Food Sci.* 67: 3258-3263.

www.fisheries.go.th. Yield of freshwater culture by species and type of culture, 2001.

ภาคผนวก

1. วิธีการผลิตที่ดีในการผลิต (Good Manufacturing Practices)
2. แบบทดสอบในการประเมินเนื้อสัมผัส

ภาคผนวกที่ 1

วิธีปฏิบัติที่ดีในการผลิต

ความสำคัญ

วิธีปฏิบัติที่ดีในการผลิต) Good Manufacturing Practices, GMP - จี.เอ็ม.พี (.เป็นวิธีปฏิบัติซึ่งผู้ผลิตอาหารต้องปฏิบัติตามเพื่อให้อาหารที่ผลิตมีความปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค ประกอบกับความจำเป็นที่จะต้องก้าวให้ทันการแข่งขันในตลาดการค้าเสรีและกระแสการค้าโลกเพื่อให้สอดคล้องตามแนวทางของหน่วยงานมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ เพื่อไม่ให้ขัดกับหลักสากลด้วย จึงเป็นแรงผลักดันที่ทำให้ประเทศไทยต้องปรับระบบการควบคุมดูแลอาหารให้สามารถตอบสนองความจำเป็นดังกล่าวได้ ดังนั้นสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาจึงต้องนำหลักเกณฑ์ จี.เอ็ม.พี .มาบังคับใช้ และได้เริ่มมีการบังคับใช้เป็นกฎหมาย โดยกำหนดไว้ในประกาศกระทรวงสาธารณสุข) ฉบับที่ (193 พ.ศ 2543.เรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือ เครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร ทั้งนี้มีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 24 กรกฎาคม 2544 เป็นต้นไป โดยผู้ผลิตรายใหม่ต้องปฏิบัติตามเกณฑ์ดังกล่าวทันที ส่วนผู้ผลิตรายเก่าได้รับการผ่อนผันอีก 2 ปี เพื่อให้มีเวลาในการปรับปรุงสถานที่ สำหรับผู้ฝ่าฝืนไม่ปฏิบัติตามจะต้องได้รับโทษตามกฎหมาย

ข้อกำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข) ฉบับที่ (193 พ.ศ2543.

ประกาศฯ) ฉบับที่ (193 พ.ศ 2543.ได้นำหัวใจสำคัญทั้ง 3 ประการ คือ

1) วิธีการผลิต
2) เครื่องมือ เครื่องใช้ในการผลิต และ
3) การเก็บรักษาอาหาร

เป็นแนวทางในการกำหนดเกณฑ์ เพื่อนำไปสู่การปฏิบัติ ซึ่งมีแนวทางปฏิบัติครอบคลุมทุกด้าน เมื่อผู้ผลิตนำไปประยุกต์และปฏิบัติให้เกิดความเหมาะสมกับการผลิตของตน จึงทำให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

สำหรับประกาศฯ ฉบับนี้เรียกสั้นๆ ว่า "จี.เอ็ม.พี .สุขลักษณะทั่วไป" ซึ่งมีเนื้อหาครอบคลุมปัจจัยต่างๆ คือ

1. สุขลักษณะของสถานที่ตั้งและอาคารผลิต
2. เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต
3. การควบคุมกระบวนการผลิต
4. การสุขาภิบาล
5. การบำรุงรักษาและการทำความสะอาด
6. บุคลากร

ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. สุขลักษณะของสถานที่ตั้งและอาคารผลิต

1.1ที่ตั้งและสิ่งแวดล้อม

จะต้องอยู่ในที่ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนได้ง่าย โดยสถานที่ตั้งตัวอาคารและบริเวณโดยรอบจะต้องสะอาด หลีกเลี่ยงสิ่งแวดล้อมที่มีโอกาสก่อให้เกิดการปนเปื้อนกับอาหาร เช่น แหล่งเพาะพันธุ์สัตว์ แมลง กองขยะ ตอกปศุสัตว์ บริเวณที่มีฝุ่นมาก บริเวณน้ำท่วมถึงหรือน้ำขังแฉะสกปรก และไม่ควรใกล้แหล่งมีพิษ หากหลีกเลี่ยงไม่ได้ ผู้ผลิตจะต้องมีมาตรการป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอกเข้าสู่บริเวณผลิตอย่างมีประสิทธิภาพ

1.2 อาคารผลิต

มีขนาดเหมาะสม มีการออกแบบและก่อสร้างในลักษณะที่ง่ายแก่การบำรุงสภาพ รักษาความสะอาด และสะดวกในการปฏิบัติงานโดย

1) *บริเวณผลิต*

(1) ต้องแยกบริเวณผลิตอาหารออกเป็นสัดส่วน ไม่ปะปนกับที่อยู่อาศัย หรือที่ผลิตยา เครื่องสำอาง และวัตถุมีพิษ

(2) จัดให้มีพื้นที่เพียงพอที่จะติดตั้งเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตให้เป็นไปตามลำดับขั้นตอนการผลิต และแยกพื้นที่ให้เป็นสัดส่วนเพื่อป้องกันการปนเปื้อนข้ามจากวัตถุดิบสู่ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

(3) ไม่มีสิ่งของที่ไม่ใช้แล้วหรือที่ไม่เกี่ยวข้องกับการผลิตอยู่ในบริเวณผลิต

(4) บริเวณเก็บวัตถุดิบ ภาชนะบรรจุ และสารเคมี ต้องเป็นสัดส่วนไม่ปะปนกัน มีชั้นหรือยกพื้นสูงเพื่อจัดวางอย่างเพียงพอ และไม่วางชิดผนัง

2) *พื้น ฝาผนัง และเพดาน*

ต้องทำด้วยวัสดุที่มีความแข็งแรง ทนทานไม่ชำรุด ผิวเรียบ ไม่ดูดซับน้ำ พื้นมีความลาดเอียงสู่ทางระบายน้ำ และมีการระบายน้ำได้ดี) *ทำมุม 1 ใน 40)*

3 (*ระบบระบายอากาศและแสงสว่าง*

ควรมีการระบายอากาศอย่างเพียงพอ เพื่อลดอันตรายที่อาจเกิดขึ้นเนื่องจากความชื้น หรือฝุ่นละอองจากการผลิต ควรจัดการให้มีแสงสว่างเพียงพอต่อการปฏิบัติงาน

จุดตรวจสอบ	*ควรมีความสว่าง 540 ลักซ์ หรือ 50 แรงเทียน*
ห้องปฏิบัติงาน	*ควรมีความสว่าง 220 ลักซ์ หรือ 20 แรงเทียน*
บริเวณอื่นๆ	*ควรมีความสว่าง 110 ลักซ์ หรือ 10 แรงเทียน*

การติดตั้งหลอดไฟต้องมีฝาครอบ เพื่อป้องกันไม่ให้เศษแก้วจากหลอดไฟตกลงสู่อาหารที่กำลังผลิตหรือขนส่ง

4) *การป้องกันสัตว์และแมลง*

สำหรับช่องเปิดเข้าสู่อาคาร เช่น หน้าต่างระบายอากาศ ควรมีการติดตั้งมุ้งลวดหรือตาข่าย) ที่สามารถถอดล้างทำความสะอาดได้ง่าย (และทางเข้าออกอาคารผลิตควรมีประตู หรือม่านพลาสติกที่ปิดสนิท ไม่มีช่องว่างที่ขอบประตูทั้งด้านบนและด้านล่าง เพื่อป้องกันสัตว์และแมลงเข้าสู่อาคารผลิต

.2เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต

2.1 เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่สัมผัสกับอาหาร

ทำจากวัสดุที่ไม่ทำปฏิกิริยากับอาหาร ไม่เป็นพิษ ไม่เป็นสนิม แข็งแรง ทนทาน มีผิวสัมผัสและรอยเชื่อมเรียบเพื่อง่ายในการทำความสะอาด ไม่คดกร่อน และไม่ควรทำด้วยไม้) เนื่องจากไม้จะเกิดการเปียกชื้นและเป็นแหล่งสะสมของเชื้อรา(

2.2 การออกแบบและการติดตั้ง

ต้องคำนึงถึงการป้องกันการปนเปื้อนและใช้งานได้สะดวก

1) อุปกรณ์ที่ใช้ในการให้ความร้อนควรสามารถเพิ่มหรือลดอุณหภูมิได้ตามต้องการ และมีประสิทธิภาพ รวมทั้งมีการติดตั้งอุปกรณ์ตรวจวัดอุณหภูมิที่มีความเที่ยงตรงด้วย
2) ไม่วางเครื่องจักรติดกับผนัง เพื่อให้ง่ายในการทำความสะอาดได้อย่างทั่วถึง และสะดวกต่อการตรวจสอบสภาพเครื่องจักร) *จัดวางห่างจากผนังและเพดานอย่างน้อย 1 เมตร และสูงจากพื้นอย่างน้อย 1 ฟุต*(
3) โต๊ะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตต้องมีความสูงที่เหมาะสม) *สูงอย่างน้อย 60 ซ.ม*(.

.3การควบคุมกระบวนการผลิต

3.1 วัตถุดิบ ส่วนผสมและภาชนะบรรจุ

1) คัดเลือกวัตถุดิบที่มีคุณภาพดี มีการล้างหรือทำความสะอาดตามความจำเป็น และเก็บรักษาภายใต้สภาวะที่ป้องกันการปนเปื้อนได้
2) ควรจัดเก็บอย่างเป็นระบบ เพื่อสามารถนำวัตถุดิบที่ได้รับก่อน ไปใช้ได้ตามลำดับก่อนหลัง
3) หากจำเป็นต้องเก็บวัตถุดิบที่เน่าเสียง่ายเป็นเวลานานเกิน 4 ชั่วโมง ควรเก็บไว้ในที่เย็นเพื่อป้องกันการเสื่อมเสีย) *เนื้อปลาระหว่างการแปรรูปควรรักษาอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 10 °ซ การเก็บรักษาโดยการแช่เย็นควรควบคุมอุณหภูมิต่ำกว่า 4 °ซ และการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งควรควบคุมอุณหภูมิต่ำกว่า -18 °ซ*(

3.2 น้ำ น้ำแข็ง และไอน้ำที่สัมผัสกับอาหาร

1) ต้องมีคุณภาพมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข และควรนำไปใช้ในสภาพที่ถูกสุขลักษณะ
2) หากมีการนำน้ำกลับมาใช้ซ้ำ ควรมีมาตรการควบคุมเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนเข้าสู่วัตถุดิบหรือผลิตภัณฑ์ เช่น มีการเปลี่ยนน้ำที่ใช้แช่หรือล้างวัตถุดิบตามความเหมาะสมหรือไม่เกิน 4 ชั่วโมง

3.3 การผลิต การเก็บรักษา การขนย้าย และขนส่งผลิตภัณฑ์อาหาร

1) ต้องดำเนินการภายใต้การควบคุมสภาวะที่ป้องกันเสื่อมสลายของอาหาร และภาชนะบรรจุอย่างเหมาะสม เช่น อุณหภูมิ ความชื้น เป็นต้น และต้องถูกสุขลักษณะเพื่อป้องกันการปนเปื้อน
2) หากมีการใช้สารเคมีเติมลงไปในอาหาร จะต้องควบคุมปริมาณสารเคมีไม่ให้เกินกว่าที่กฎหมายกำหนด

3.4 การควบคุมอุณหภูมิและเวลาในการผลิตอาหาร

เนื่องจากอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในอาหารทั้งที่ก่อให้เกิดโรคและทำให้อาหารเสื่อมเสีย ดังนั้น จึงต้องพิจารณาในทุกขั้นตอน โดยเฉพาะขั้นตอนการใช้ความร้อนในการฆ่าเชื้อ การทำให้เย็น การแปรรูปในกระบวนการผลิต และการเก็บรักษา ลูกชิ้นและไส้กรอกปลาต้องให้ความร้อนจนอุณหภูมิภายในสูงถึง 75°ซ เวลา 10 นาที และเมื่อเย็นแล้วเก็บในที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 °ซ

3.5 การบันทึกและรายงานผล

โดยเฉพาะในเรื่องผลการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ ชนิด และปริมาณการผลิตของผลิตภัณฑ์ รวมทั้ง วัน เดือน ปี ที่ผลิต โดยให้เก็บบันทึกและรายงานไว้อย่างน้อย 2 ปี เพื่อเป็นข้อมูลตรวจสอบย้อนกลับได้ในกรณีที่เกิดปัญหา

.4การสุขาภิบาล

เป็นเกณฑ์สำหรับสิ่งอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานทั้งหลาย เช่น น้ำใช้ ห้องน้ำห้องส้วม อ่างล้างมือ การป้องกันและกำจัดสัตว์และแมลง ระบบกำจัดขยะมูลฝอยและทางระบายน้ำทิ้ง ซึ่งสิ่งเหล่านี้จะช่วยเสริมให้สุขลักษณะของสถานที่ตั้งและอาคารการผลิต เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิต และการควบคุมกระบวนการผลิตให้มีความปลอดภัยมากยิ่งขึ้น

4.1 น้ำที่ใช้ภายในโรงงาน

ต้องเป็นน้ำสะอาด มีการปรับคุณภาพน้ำตามความจำเป็น น้ำที่ใช้ล้างพื้นโต๊ะ หรือเครื่องมือควรมีการฆ่าเชื้อโดยการเติมคลอรีน

4.2 อ่างล้างมือที่หน้าทางเข้าบริเวณผลิต

ต้องมีจำนวนเพียงพอ มีสบู่เหลวสำหรับล้างมือ และมีน้ำยาฆ่าเชื้อมือกรณีที่จำเป็น รวมทั้งมีอุปกรณ์ทำให้มือแห้งอย่างถูกสุขลักษณะ เช่น กระดาษ ที่เป่าลมร้อน และจัดให้มีอ่างล้างมือในบริเวณผลิตตามความเหมาะสม

4.3 ห้องน้ำ ห้องส้วม และอ่างล้างมือหน้าห้องส้วม

ต้องสะอาดถูกสุขลักษณะ มีการติดตั้งอ่างล้างมือและสบู่เหลว อุปกรณ์ทำให้มือแห้งต้องแยกจากบริเวณที่ผลิต หรือไม่เปิดสู่บริเวณโดยตรง และต้องมีจำนวนเพียงพอสำหรับผู้ปฏิบัติงาน

คนงานไม่เกิน 15 คน มีห้องส้วม 1 ห้อง ปัสสาวะชาย 1 ห้อง และ อ่างล้างมือ 1 ที่

คนงานไม่เกิน 40 คน มีห้องส้วม 2 ห้อง ปัสสาวะชาย 2 ห้อง และ อ่างล้างมือ 2 ที่

คนงานไม่เกิน 80 คน มีห้องส้วม 3 ห้อง ปัสสาวะชาย 3 ห้อง และ อ่างล้างมือ 3 ที่

4.4 การป้องกันและกำจัดสัตว์และแมลง

มีมาตรการป้องกันกำจัดหนู แมลง และสัตว์พาหะอื่นๆ เช่น การวางกับดักหรือกาวดักหนู แมลงสาบ เป็นต้น นอกจากนี้หากมีการใช้สารฆ่าแมลงในบริเวณผลิตจะต้องคำนึงถึงโอกาสเสี่ยงที่จะเกิดการปนเปื้อนในอาหารด้วย

4.5 ระบบกำจัดขยะมูลฝอย

จัดให้มีภาชนะรองรับขยะมูลฝอยที่มีฝาปิดในจำนวนที่เพียงพอและเหมาะสม และมีระบบกำจัดขยะออกจากสถานที่ผลิตที่ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนกลับเข้าสู่กระบวนการผลิต

4.6 ทางระบายน้ำทิ้ง

ต้องมีอุปกรณ์ดักเศษอาหารอย่างเหมาะสม เพื่อป้องกันการอุดตัน และการปนเปื้อนกลับเข้าสู่กระบวนการผลิตอาหาร หรือดักสัตว์พาหะที่อาจเข้าสู่บริเวณผลิต

5. การบำรุงรักษาและการทำความสะอาด

เกณฑ์ในข้อนี้จะช่วยให้การทำงานเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ และเสริมการป้องกันการปนเปื้อนอันตรายสู่อาหาร ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

5.1 ตัวอาคารสถานที่ผลิต

ต้องทำความสะอาดและรักษาให้อยู่ในสภาพที่สะอาด ถูกสุขลักษณะสม่ำเสมอ

5.2 เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ในการผลิต

1) ต้องทำความสะอาด ดูแล และเก็บรักษาให้อยู่ในภาพที่สะอาดทั้งก่อนและหลังการผลิต สำหรับชิ้นส่วนของเครื่องมือ เครื่องจักรต่างๆ ที่อาจเป็นแหล่งสะสมจุลินทรีย์ หรือก่อให้เกิดการปนเปื้อนในอาหาร หลังจากการทำความสะอาดที่เหมาะสมและเพียงพอแล้ว ควรมีการฆ่าเชื้อเครื่องมือ อุปกรณ์ที่สัมผัสอาหารก่อนการใช้งานด้วย
2) การลำเลียงเครื่องมือ เครื่องจักรและอุปกรณ์ที่ทำความสะอาดและฆ่าเชื้อแล้ว ควรทำในสภาพที่ป้องกันการปนเปื้อน

5.3 สารเคมีทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ

1) ผู้ผลิตต้องมีข้อมูลเกี่ยวกับวิธีการใช้สารเคมีทำความสะอาดหรือฆ่าเชื้อ เช่น ควรทราบความเข้มข้น อุณหภูมิที่ใช้และระยะเวลาเพื่อสามารถใช้สารเคมีดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ และปลอดภัย
2) การจัดเก็บสารเคมีควรเก็บแยกจากบริเวณที่เก็บอาหาร และมีป้ายระบุอย่างชัดเจนเพื่อป้องกันการนำไปใช้ผิดและการปนเปื้อนเข้าสู่อาหาร

สารเคมีในการทำความสะอาดสำหรับสายการผลิตลูกชิ้นและไส้กรอกปลา

1. *ด่าง) Alkaline) ใช้ทำความสะอาดคราบสกปรกจำพวกโปรตีนและไขมัน โดยมักจะให้ความร้อนในขณะทำความสะอาดด้วย ด่างที่นิยมใช้ คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ละลายได้ดี มีฤทธิ์กัดกร่อนมาก จึงต้องมีความระวังในการใช้*
2. *สารลดแรงตึงผิว (Surface active agent) ทำหน้าที่ลดแรงตึงผิวของสิ่งสกปรก ทำให้น้ำเข้าไปทำให้เปียก สิ่งสกปรกหลุดออกง่าย มักจะไม่กัดกร่อน ไม่ระคายเคืองผิวหนัง และล้างออกง่าย ได้แก่ สบู่ และ ผงซักล้าง*

สารฆ่าเชื้อที่เหมาะสมกับสายการผลิตลูกชิ้นและไส้กรอกปลา

1. *การใช้ความร้อนที่มีความชื้นในการปรับอุณหภูมิผิวให้สูงถึง70 °ซ เป็นอย่างน้อย เป็นวิธีการแบบธรรมดาวิธีหนึ่งสำหรับการฆ่าเชื้อโรคและเป็นวิธีที่ได้ผลที่สุด โดยใช้น้ำร้อนอุณหภูมิสูงกว่า 80 °ซ หรือไอน้ำร้อน*
2. *คลอรีน(Chlorine) และไฮโปคลอไรต์(Hypochlorites)มีราคาถูก เป็นที่นิยม สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้หลายชนิด ใช้ฆ่าเชื้อที่พื้นผิวอุปกรณ์หลังการทำความสะอาดแล้ว โดยใช้ความเข้มข้น 100-200 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร*
3. *สารประกอบควอเตอร์นารีแอมโมเนีย (Quaternary ammonium compounds)เป็นสารชะล้างอย่างดี มีประสิทธิภาพในการฆ่าจุลินทรีย์ได้ดีในสภาวะที่เป็นด่าง ไม่มีสี ไม่กัดกร่อนโลหะ ไม่เป็นพิษ มีราคาแพง ความเข้มข้นที่ใช้อยู่ในช่วง 150-200 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร เมื่อใช้แล้วต้องล้างให้สะอาดเพราะมีรสขม*
4. *สารประกอบแอโฟเทอริก(Amphoteric compounds)ประกอบด้วยสารที่มีปฏิกิริยาหลายชนิดร่วมกับผงซักล้างมีคุณสมบัติกำจัดแบคทีเรีย มีพิษน้อย ไม่กัดกร่อนโลหะ ไม่มีรสและกลิ่น ความกระด้างของน้ำไม่มีผลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าจุลินทรีย์ของสาร มีฟอง ราคาแพง*
5. *แอลกอฮอล์ (Alcohol) ใช้เอธิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70 ใช้ฆ่าเชื้อบนพื้นผิวที่มีความสกปรกน้อยและผ่านการล้างทำความสะอาดแล้ว รวมถึงมือพนักงาน*

.6บุคลากร

บุคลากรที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเป็นปัจจัยที่สำคัญอันจะทำให้การผลิตเป็นไปอย่างถูกต้องตามขั้นตอนและวิธีปฏิบัติงาน รวมทั้งสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากการปฏิบัติงานและตัวบุคลากรเอง เนื่องจากร่างกายเป็นแหล่งสะสมเชื้อโรคและสิ่งสกปรกต่างๆ ที่อาจปนเปื้อนสู่อาหารได้ การปฏิบัติงานอย่างไม่ถูกสุขลักษณะอาจเป็นสาเหตุของการปนเปื้อนของอันตรายทั้งทางด้านกายภาพ เคมี และ จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดความเจ็บป่วยต่อผู้บริโภคได้ ดังนั้นบุคลากรควรได้รับการดูแลรักษาสุขภาพและความสะอาดส่วนบุคคล รวมทั้งการฝึกอบรม เพื่อพัฒนาจิตสำนึกและความรู้ในการปฏิบัติงานอย่างถูกต้องและเหมาะสม

6.1 สุขภาพ

1) ผู้ปฏิบัติงานในบริเวณผลิตต้องมีสุขภาพดี ไม่เป็นโรคเรื้อน วัณโรคในระยะอันตราย ติดยาเสพติด พิษสุราเรื้อรัง เท้าช้าง และโรคผิวหนังที่น่ารังเกียจ
2) ผู้ที่มีอาการไอ และจาม เป็นไข้ ท้องเสียควรหลีกเลี่ยงจากการปฏิบัติงานในส่วนที่สัมผัสกับอาหาร
3) กรณีจำเป็นที่จะต้องให้พนักงานที่มีบาดแผล หรือได้รับบาดเจ็บปฏิบัติงานที่สัมผัสอาหาร จะต้องปิดหรือพันแผลและสวมถุงมือ เพื่อป้องกันมิให้เกิดการปนเปื้อนลงสู่อาหาร

6.2 สุขลักษณะ

ผู้ปฏิบัติงานที่สัมผัสกับอาหารควรมีการแต่งกายและพฤติกรรมที่เหมาะสม ดังนี้

1) สวมเสื้อ หรือชุดกันเปื้อนที่สะอาดและเหมาะสมต่อการปฏิบัติงาน เช่น ผู้ปฏิบัติงานบริเวณผลิตที่มีความเปียกชื้น ควรสวมผ้ากันปื้อนพลาสติกที่กันน้ำได้
2) มือและเล็บพนักงานถือว่าเป็นส่วนที่สัมผัสอาหารมากที่สุด ดังนั้น พนักงานควรไว้เล็บสั้น และไม่ทาเล็บ
3) การล้างมืออย่างถูกสุขลักษณะเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องปฏิบัติทุกครั้งก่อนและหลังการปฏิบัติงาน และภายหลังออกจากห้องน้ำ ห้องส้วม เพื่อลดการปนเปื้อนจากพนักงานสู่อาหาร
4) หากสวมถุงมือในการปฏิบัติงาน ถุงมือที่ใช้ควรอยู่ในสภาพที่สมบูรณ์ สะอาด และทำด้วยวัสดุที่ไม่มีสารละลายหลุดออกมาปนเปื้อนอาหาร และของเหลวซึมผ่านไม่ได้ กรณีไม่สวมถุงมือต้องมีมาตรการให้พนักงานล้างมือ เล็บ แขนให้สะอาด
5) ควรสวมผ้าปิดปากในขั้นตอนผลิตอาหารที่จำเป็นต้องมีการป้องกันการปนเปื้อนพิเศษ
6) สวมหมวกที่คลุมผมหรือตาข่ายคลุมผมที่ออกแบบให้สามารถป้องกันการหลุดร่วงของเส้นผมลงสู่อาหาร
7) ไม่สูบบุหรี่ ไม่บ้วนน้ำลาย น้ำมูกขณะปฏิบัติงาน
8) ไม่สวมเครื่องประดับต่างๆ ขณะปฏิบัติงาน ไม่นำสิ่งของส่วนตัว หรือสิ่งอื่นๆ เข้าไปในบริเวณผลิตอาหาร
9) ในขณะปฏิบัติงานควรงดเว้นนิสัยแกะ เกา เช่น การแกะสิว แคะขี้มูก เกาศีรษะ สลัดผม การไอหรือจามในบริเวณแปรรูปอาหาร หรือหากจำเป็นจะต้องล้างมือทุกครั้ง
10) ไม่รับประทานอาหาร หรือนำสิ่งอื่นใดเข้าปากขณะปฏิบัติงานอยู่ในบริเวณผลิตหรือกระทำอย่างอื่นที่จะก่อให้เกิดความสกปรก

6.3 การฝึกอบรม

1) ควรมีการทบทวนและตรวจสอบความรู้ของผู้ปฏิบัติงานเป็นระยะ
2) ควรจัดการอบรมพนักงานให้มีความรู้ ความเข้าใจในการปฏิบัติตนด้านสุขลักษณะทั่วไปและความรู้ในการผลิตอาหารตามความเหมาะสมและเพียงพอ ทั้งก่อนการรับเข้าทำงานและขณะปฏิบัติงาน เนื่องจากความรู้ความเข้าใจของบุคลากรที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยให้การผลิตเป็นไปอย่างถูกต้อง สามารถลดหรือขจัดความเสี่ยงในการปนเปื้อนอันตรายที่จะไปสู่อาหารได้
3) ควรปลูกฝังจิตสำนึกที่ดี เพื่อกระตุ้นให้เกิดความรู้สึกมีส่วนร่วมรับผิดชอบต่ออาหารที่ผลิต
4) ผู้ที่ไม่เกี่ยวข้องกับการปฏิบัติงานเมื่ออยู่ในบริเวณผลิตต้องปฏิบัติตามกฎข้อบังคับเช่นเดียวกับผู้ปฏิบัติงาน

สรุป

วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหารทั้ง 6 หัวข้อ มีความเชื่อมโยงสัมพันธ์กันตลอดทุกขั้นตอน หากผู้ผลิตอาหารสามารถทำความเข้าใจและนำแนวทางดังกล่าวไปประยุกต์ใช้จะช่วยลดโอกาสของการปนเปื้อนทั้งทางด้ายกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์อย่างมีประสิทธิภาพ และเป็นการสร้างหลักประกันที่มั่นใจได้ว่าผู้ผลิตสามารถผลิตอาหารที่คุณภาพมาตรฐาน

ภาคผนวกที่ 2

ตัวอย่างมาตรฐานที่ใช้ในการฝึกผู้ทดสอบ

Springiness	ใช้ Edam cheese และลูกอมเจลลาตินตรา YOYO อ้างอิงค่าต่ำสุดและสูงสุดตามลำดับ
Hardness	ใช้ cream cheese ของ Philadelphia และ carrot สด อ้างอิงค่าต่ำสุดและสูงสุดตามลำดับ
Cohesiveness	ใช้ขนมปังกรอบ (cracker) และลูกอมเจลลาตินตรา YOYOอ้างอิงค่าต่ำสุดและสูงสุดตามลำดับ
Juciness	ใช้ขนมปังกรอบ (cracker) และชมพู่อ้างอิงค่าต่ำสุดและสูงสุดตามลำดับ
Paste	ใช้ลูกชิ้นปลาอย่างดีและลูกชิ้นปลาราคาถูกซึ่งมีปริมาณแป้งสูงอ้างอิงค่าต่ำสุดและสูงสุดตามลำดับ
Particle size	ใช้ลูกชิ้นปลาอย่างดีและลูกชิ้นปลาราคาถูกซึ่งมีเนื้อหยาบอ้างอิงค่าต่ำสุดและสูงสุดตามลำดับ
Fishy	ใช้ปลานิลนึ่งสุก และสารละลาย trimethylamine เข้มข้น 300 ppm เพื่อดมกลิ่นคาวปลา
Earthy	ใช้ปลาสวายและปลาดุกนึ่งสุกเพื่อดมกลิ่นโคลน

ภาคผนวกที่ 3

ตัวอย่างแบบทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นปลา

Judge.....

Date.....

Code.....

Please evaluate texture and flavor of fish ball samples. Place a verticle line across the horizontal line at the point that best describes each property in the sample. Please clean your mouth with carrot and water provided after each sample. Thank you.

Texture

1. Springiness none ---------- springy

2. Hardness soft ---------- hard

3. Cohesiveness loose ---------- tight

4. Juiciness dry ---------- juicy

5. Paste none ---------- mealy

6. Particle size fine ---------- coarse

Flavor:

7. Fishy weak ---------- strong

8. Earthy weak ---------- strong

9. Overall dislike ---------- like

Acceptance extremely extremely

Comment:_____

_____

ภาคผนวกที่ 4

ตัวอย่างแบบทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัสของไส้กรอกปลา

Judge.....

Date.....

Code.....

Please evaluate texture and flavor of fish sausage samples. Place a vertical line across the horizontal line at the point that best describes each property in the sample. Please clean your mouth with carrot and water provided after each sample. Thank you.

Texture

1. Springiness none ---------- springy

2. Hardness soft ---------- hard

3. Cohesiveness loose ---------- tight

4. Juiciness dry ---------- juicy

5. Paste none ---------- mealy

6. Particle size fine ---------- coarse

7. Oiliness none ---------- oily

Flavor:

8.Beany weak ---------- strong

9. Fishy weak ---------- strong

10. Earthy weak ---------- strong

11. Overall dislike ---------- like

Acceptance extremely extremely

Comment:_____

_____

ภาคผนวกที่ 5 Judge.....

ตัวอย่างแบบสอบถามลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ (อายุการเก็บ) Date.....

ให้สังเกตลักษณะของตัวอย่างแล้ววงกลมล้อมรอบคะแนน

Code.....

1. เมือก

ไม่มีเมือก	1
มีเมือกน้อยมาก	2
มีเมือกเล็กน้อย	3
มีเมือกปานกลาง	4
มีเมือกมาก	5

จากลักษณะของผลิตภัณฑ์ท่านมีความเห็นอย่างไร

- ☐ ไม่ยอมรับ
- ☐ ไม่แน่ใจ
- ☐ ยอมรับได้

2. กลิ่นเปรี้ยว

ไม่มีเมือก	1
มีเมือกน้อยมาก	2
มีเมือกเล็กน้อย	3
มีเมือกปานกลาง	4
มีเมือกมาก	5

จากลักษณะของผลิตภัณฑ์ท่านมีความเห็นอย่างไร

- ☐ ไม่ยอมรับ
- ☐ ไม่แน่ใจ
- ☐ ยอมรับได้

3. กลิ่นเหม็นเน่า

ไม่มีเมือก	1
มีเมือกน้อยมาก	2
มีเมือกเล็กน้อย	3
มีเมือกปานกลาง	4
มีเมือกมาก	5

จากลักษณะของผลิตภัณฑ์ท่านมีความเห็นอย่างไร

- ☐ ไม่ยอมรับ
- ☐ ไม่แน่ใจ
- ☐ ยอมรับได้

ภาคผนวกที่ 6 (เปรียบเทียบกับตัวอย่างทางการค้า)

<u>ตัวอย่างแบบทดสอบสำหรับลักษณะทั่วไปของไส้กรอกปลา</u> Judge.....

Date.....

ให้เปรียบเทียบตัวอย่างกับ reference A

Code.....(ไม่ต้องชิมตัวอย่าง)

Color

1. เหลือง-น้ำตาล อ่อน ---------- เข้ม

Odor

2. กลิ่นควัน อ่อน ---------- แรง

3. กลิ่นเครื่องเทศ อ่อน ---------- แรง

Code.....(ไม่ต้องชิมตัวอย่าง)

Color

1. เหลือง-น้ำตาล อ่อน ---------- เข้ม

Odor

2. กลิ่นควัน อ่อน ---------- แรง

3. กลิ่นเครื่องเทศ อ่อน ---------- แรง

ภาคผนวกที่ 7

<u>แบบทดสอบความชอบ (การศึกษาลูกชิ้นแช่แข็ง)</u>

จงชิมตัวอย่างที่ให้เรียงลำดับจากซ้ายไปขวา แล้วให้คะแนน<u>ความชอบ</u>จากนิยามที่ให้กำกับไว้ข้างล่าง

คะแนน

7	ชอบมากที่สุด	(like extremely)
6	ชอบมาก	(like very much)
5	ชอบเล็กน้อย	(like slightly)
4	เฉยๆ	(neither like nor dislike)
3	ไม่ชอบเล็กน้อย	(dislike slightly)
2	ไม่ชอบมาก	(dislike very much)
1	ไม่ชอบมากที่สุด	(dislike extremely)

ตัวอย่าง

Code	**คะแนน**
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Judge.....

Date.....

ภาคผนวกที่ 8 แบบสอบถาม consumer test

โครงงานวิจัย "การพัฒนาสูตรและผลิตภัณฑ์ไส้กรอกจากปลาน้ำจืด"
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
(ข้อมูลและการตอบคำถามจะไม่มีผลใด ๆ ต่อตัวท่าน)

กรุณากรอกข้อมูลและตอบคำถาม

ข้อมูลทั่วไป

1. เพศ

☐ ชาย ☐ หญิง

2. อายุ

☐ ต่ำกว่า 18 ปี ☐ 18 – 23 ปี ☐ 24-29 ปี ☐ 30 – 35 ปี
☐ 36-41 ปี ☐ 42 ปีขึ้นไป

3. ระดับการศึกษา

☐ ปริญญาตรี ☐ ปริญญาโท ☐ ปริญญาเอก ☐ อื่นๆ.....(กรุณาระบุ)

อาชีพ

(นักศึกษา (บุคคลากร (อาจารย์ (อื่น ๆ.....(กรุณาระบุ)

รายได้

(ต่ำกว่า 5,000 บาท (5,001 – 10,000 บาท (10,001 – 15,000 บาท
(15,001 – 20,000 บาท (20,001 – 25,000 บาท (25,001 – 30,000 บาท
(มากกว่า 30,001 บาท

มีต่อแผ่นที่ 2

ข้อมูลเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์

ความชอบของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์

กรุณาประเมินความชอบของท่านที่มีต่อคุณลักษณะของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอก ทั้ง 3 ชนิด **ตามความเห็นของท่านโดยให้เป็นคะแนนตามเกณฑ์ที่กำหนดให้**

คะแนน	คำอธิบาย
9	ชอบมากที่สุด
8	ชอบมาก
7	ชอบปานกลาง
6	ชอบเล็กน้อย
5	เฉยๆ
4	ไม่ชอบเล็กน้อย
3	ไม่ชอบปานกลาง
2	ไม่ชอบมาก
1	ไม่ชอบมากที่สุด

รหัสตัวอย่าง	A	B	C
1. ลักษณะทั่วไป	_____	_____	_____
2. สี	_____	_____	_____
3. กลิ่นรส(ทั่วไป)	_____	_____	_____
4. กลิ่นรสเครื่องเทศ	_____	_____	_____
5. เนื้อสัมผัส	_____	_____	_____
6. ความชอบโดยรวม	_____	_____	_____

มีต่อแผ่นที่ 3

<u>ความพอใจที่จะซื้อผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 ชนิด</u>

กรุณาเขียนวงกลมล้อมรอบตัวเลข ตามความเห็นของท่าน (**แต่ละตัวอย่างตอบได้เพียง 1 ข้อเท่านั้น**)

ตัวอย่าง A

1. จะซื้อผลิตภัณฑ์แน่นอน
2. อาจจะซื้อผลิตภัณฑ์นี้
3. ไม่แน่ใจ
4. อาจจะไม่ซื้อ
5. ไม่ซื้อแน่นอน

ตัวอย่าง B

1. จะซื้อผลิตภัณฑ์แน่นอน
2. อาจจะซื้อผลิตภัณฑ์นี้
3. ไม่แน่ใจ
4. อาจจะไม่ซื้อ
5. ไม่ซื้อแน่นอน

ตัวอย่าง C

1. จะซื้อผลิตภัณฑ์แน่นอน
2. อาจจะซื้อผลิตภัณฑ์นี้
3. ไม่แน่ใจ
4. อาจจะไม่ซื้อ
5. ไม่ซื้อแน่นอน

ขอบพระคุณที่ให้ความร่วมมือ

ศูนย์บรรณสารและสื่อการศึกษา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี