ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัย

สัญญาเลขที่ R2560B011

สำนักหอสมุด

รายงานฉบับสมบูรณ์

ผลของการทดแทนโซเดียมคลอไรด์ในผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมักต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

คณะผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ กมลวรรณ โรจน์สุนทรกิตติ

รองศาสตราจารย์ ดร. ธีรพร กงบังเกิด

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิติพงศ์ จิตรีโภชน์

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร
วันลงทะเบียน 30 ... 2564
เลขทะเบียน
เรียกหนังสือ ว TP 245 .S7 ก1375 2562

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์

ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

มหาวิทยาลัยนเรศวร

ประกาศคุณูปการ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อมหาวิทยาลัยนเรศวรที่ให้ทุนสนับสนุนโครงการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2561 จนทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์และทรงคุณค่า

คุณค่าและคุณประโยชน์อันพึงจะมาจากงานวิจัยฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบและอุทิศแด่ผู้มีพระคุณทุก ๆ ท่าน ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า งานวิจัยฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้และเผยแพร่ความรู้แก่ผู้ประกอบการและผู้สนใจ

คณะผู้วิจัย

ชื่อเรื่อง	**ผลของการทดแทนโซเดียมคลอไรด์ในผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมักต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ**
ผู้วิจัย	**รองศาสตราจารย์ กมลวรรณ โรจน์สุนทรกิตติ** **รองศาสตราจารย์ ดร. ธีรพร กงบังเกิด และ** **ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิติพงศ์ จิตรีโภชน์**
คำสำคัญ	**การทดแทนโซเดียมคลอไรด์ กะปิ กระบวนการหมัก สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ**

บทคัดย่อ

ผลของการทดแทนโซเดียมคลอไรด์ต่อสมบัติทางเคมีกายภาพ และประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างการเก็บรักษา โดยมีการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ ค่า TBARS ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ค่าปริมาณน้ำอิสระที่จุลินทรีย์สามารถใช้ได้ (Aw) ค่าสี ปริมาณน้ำที่สูญเสีย และการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า ระหว่างกระบวนการหมักกะปิ ค่า Aw ในทุกตัวอย่างมีค่าที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) ตัวอย่างที่ทดแทนเกลือโซเดียมคลอไรด์มีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ต่ำกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้ทดแทน ($P\leq0.05$) การทดแทนโซเดียมคลอไรด์ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์และแคลเซียมคลอไรด์สามารถลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ในขณะที่ตัวอย่างที่ใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์มีค่า TBARS สูงกว่าตัวอย่างอื่น ๆ ($P\leq0.05$) เปอร์เซ็นต์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของค่า DPPH และ ABTS ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีความแตกต่างกันในทุกตัวอย่าง การทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์กะปิที่ทดแทนด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ที่ร้อยละ 25 และ 50 มีค่าการยอมรับสูงกว่าการใช้แคลเวียมคลอไรด์และไม่มีความแตกต่างจากตัวอย่างที่ไม่ได้ทดแทน

Title Effects of sodium replacement in fermented shrimp paste during fermentation process on antioxidant properties

Author Associate Professor, Kamonwan Rojsunthornkitti
Associate Professor, Teeraporn Kongbangkerd, Dr. and
Assistant Professor, Nitipong Jittrepotch. Ph.D.

Keywords

ABSTRACT

The effects of low sodium chloride substitutes on physico-chemical and sensory properties of Kapi, a fermented shrimp paste during fermentation period were investigated. Changes in sodium chloride content, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), antioxidant activities as determined by DPPH (1, 1-diphenyl-2-picryl hydrazine) and ABTS (2,2-axino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical, water activity (Aw), color values, weight loss content and sensory evaluation were monitored. During fermentation, the Aw was decreased in all samples ($P \leq 0.05$). The samples using sodium chloride substitute contented lower sodium chloride than control (100% NaCl) ($P \leq 0.05$). We found that a replacement by KCl and $CaCl_2$ decreased intensity of reactions to lipid oxidation, while 100% NaCl had a significantly higher TBARS value than other samples ($P \leq 0.05$). The percentage of inhibition DPPH and ABTS radical scavenging activity significant increased ($P \leq 0.05$) with increasing fermentation periods, but there was no significant difference between treatments. The result of sensory evaluation revealed that fermented shrimp paste with 25 and 50% KCl had the highest overall acceptance scores with the $CaCl_2$ replacement ($P \leq 0.05$), there was no significant difference from 100% NaCl.

สารบัญ

		หน้า
1	บทนำ	1
	วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
	ขอบเขตของโครงการวิจัย	4
2	เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
	กะปิ	5
	การใช้สารทดแทนโซเดียมคลอไรด์	23
	อนุมูลอิสระ	24
	สารแอนติออกซิแดนท์ในธรรมชาติ	25
	สารแอนติออกซิแดนท์สังเคราะห์	29
3	อุปกรณ์และวิธีการ	34
	วัตถุดิบและสารเคมี	34
	เครื่องมือ	35
4	วิธีการดำเนินงาน	36
	ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของโปแตสเซียมคลอไรด์และแคลเซียมคลอไรด์ทดแทนโซเดียมคลอไรด์สำหรับกระบวนการกะปิ	36
	ศึกษาผลของการใช้สารทดแทนดังกล่าวต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระระหว่างกระบวนการหมัก	37
5	ผลการทดลอง	38
	การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์กะปิ	38
	การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักที่สูญเสียไปของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก	39
	การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นและค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก	40
	การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก	42
	ผลของการใช้สารทดแทนดังกล่าวต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระระหว่างกระบวนการหมัก	42
6	บทสรุป	49
	สรุปผลการทดลอง	49
เอกสารอ้างอิง		50
ภาคผนวก		53

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์กะปิ.....	38
2	การวิเคราะห์ปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์กะปิ.....	39
3	การเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กะปิ.....	48

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1	การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักที่สูญเสียไปของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก.....	40
2	การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก.....	41
3	การเปลี่ยนแปลงค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ (water activity) ของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่ากระบวนการหมัก.....	41
4	การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก.....	42
5	การเปลี่ยนแปลงค่า DPPH ของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก.....	43
6	การเปลี่ยนแปลงค่า ABTS ของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก.....	43
7	การเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก.....	44
8	การเปลี่ยนแปลงค่าความแข็ง (Hardness) ของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก	45
9	การเปลี่ยนแปลงค่าการเกาะตัวกันของอาหาร (Adhesiveness) ของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก.....	46
10	การเปลี่ยนแปลงค่า L*, a*,b* และ chroma ของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก.....	47

ผลของการทดแทนโซเดียมคลอไรด์ในผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมักต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

Effects of sodium replacement in fermented shrimp paste during fermentation process on antioxidant properties

บทนำ

ในยุคของการแข่งขันที่กำลังประสบอยู่ในปัจจุบัน ชีวิตมีความรีบเร่งมากขึ้น จนไม่มีเวลาที่จะให้ความสำคัญกับเรื่องความสมดุลของอาหารที่รับประทาน รวมทั้งค่านิยมการรับประทานอาหารแบบตะวันตก ซึ่งประกอบด้วย เนื้อสัตว์ ไขมัน นม เนย เป็นส่วนใหญ่ ทำให้คนไทยมีโรค ซึ่งเกิดจากการรับประทานดีเกินไป เช่น เบาหวาน ความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ โรคอัมพาต ซึ่งโรคเหล่านี้ล้วนเกี่ยวกับความเสื่อมของหลอดเลือด ปัจจุบันคนไทยมีสถิติเป็นโรคความดันโลหิตสูงมาก และมากกว่าร้อยละ 90 ส่วนใหญ่ไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัด แต่ทางการแพทย์เชื่อว่าน่าจะเกิดจาก 2 ปัจจัยหลัก คือ กรรมพันธุ์ และสิ่งแวดล้อมในการดำรงชีวิตและการปฏิบัติตัวประจำวันของแต่ละคน ซึ่งรวมถึงอาหารที่คนไทยรับประทาน ในเรื่องอาหารนั้นต้องถือว่าอาหารไทยหลายชนิดมีส่วนผสมของเกลือปริมาณสูง และเกลือยังแฝงอยู่ในอาหารสำเร็จรูปหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นขนมถุง บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป อาหารกระป๋อง ผักดอง ซอสต่าง ๆ และนอกจากนั้นยังมีอาหารประเภทอื่น ๆ ที่มีเกลือโดยเฉพาะโซเดียมซึ่งเป็นสารองค์ประกอบของเกลืออยู่สูง ได้แก่ ผงชูรส เนย มาร์การีน เป็นต้น นอกจากนี้ ในอาหารธรรมชาติบางอย่างก็มีโซเดียมสูงโดยที่ยังไม่ต้องปรุงรส เช่น อาหารทะเล และเนื้อสัตว์ต่าง ๆ รวมทั้งอาหารบางประเภทที่ไม่มีรสเค็ม เช่น มายองเนส หรือ นั่นหมายความเวลาเลือกรับประทานจะต้องระมัดระวังในการปรุงรสเค็ม มิฉะนั้นอาจสุ่มเสี่ยงต่อโรคภัยที่เกิดจากการบริโภคโซเดียมสูงเกิน ถึงแม้ว่าร่างกายมนุษย์เราจะใช้โซเดียมเพื่อการควบคุมความเข้มข้นของของเหลวภายนอกเซลล์ ควบคุมการเต้นของหัวใจ เป็นต้น และใช้คลอไรด์ช่วยในการย่อยอาหาร แต่ร่างกายของคนเรากลับต้องการโซเดียมเพียงเล็กน้อยในแต่ละวัน ความเข้าใจที่รู้กันดี คือการรับประทานอาหารที่มีรสเค็มมาก ๆ จะทำให้เป็นโรคไต ความดันโลหิตสูง แต่ไม่ใช่เท่านั้น ยังมีอัมพฤกษ์ โรคหัวใจ อาการบวมและหัวใจวาย ริดสีดวง ไมเกรน และภาวะกระดูกบางอีกที่เป็นผลพวงตามมา ข้อมูลทางการแพทย์ยังพบอีกว่าการรับประทานเกลือให้น้อยลงจะส่งผลให้การทำงานของอินซูลินดีขึ้น

อาหารรสเค็ม โดยทั่วไปหมายถึงอาหารที่มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์มาก ซึ่งได้แก่ เกลือแกงที่ใช้ใส่อาหาร น้ำปลา ซีอิ๊ว ซอสปรุงรส ซอสหอยนางรม เต้าเจี้ยว และซอสรสเค็มอื่น ๆ นอกจากนี้ยังรวมถึงอาหารหมักดองเค็ม เช่น ปลาเค็ม ไข่เค็ม ไตปลา น้ำบูดู ปลาร้า ปลาเจ่า และ ผักดองเค็ม เป็นต้น จากการที่ประเทศไทยมีการใช้ประโยชน์จากสัตว์น้ำที่จับได้ทั้งการบริโภคสดและการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ จากสถิติสัตว์น้ำเค็มที่จับได้ในปี 2549 นำมาบริโภคสดร้อยละ 19.70 แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์แช่เย็น แช่แข็ง ร้อยละ 26.50 บรรจุกระป๋องร้อยละ 18.30 ทำเค็มร้อยละ 3.40 ตากแห้งร้อยละ 1.20 และทำน้ำปลาร้อยละ 3.20 รวมทั้งการใช้ประโยชน์จากสัตว์น้ำจืดส่วนใหญ่บริโภคสดร้อยละ 79.61 ทำเค็มร้อยละ 10.29 ทำปลาร้า ปลาเจ่า ร้อยละ 5.71 การแปรรูปโดยการ

นึ่งการย่างร้อยละ 3.65 ทำน้ำปลา ร้อยละ 0.60 (สถิติการประมง พ.ศ. 2549) ผลิตภัณฑ์ประมงเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทหนึ่งที่มีการใช้เกลือค่อนข้างมากในการแปรรูปผลิตภัณฑ์ ซึ่งอาจจะก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้

ดังนั้นเพื่อเป็นการลดความเสี่ยงจากโรคต่าง ๆ ดังกล่าว ถึงแม้ว่าประเทศไทยจะมีการรณรงค์ลดการใช้โซเดียมคลอไรด์ในขนมขบเคี้ยวเป็นหลัก แต่เนื่องจากในปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสนใจในเรื่องสุขภาพมากขึ้น ซึ่งสัตว์น้ำเป็นกลุ่มอาหารชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจและกล่าวถึงในด้านอาหารเพื่อสุขภาพ โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ประมง คณะผู้วิจัยจึงมีแนวความคิดที่จะศึกษาผลของการใช้สารทดแทนโซเดียมคลอไรด์ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ประมง โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์กะปิที่คนไทยนิยมบริโภค เนื่องจากมีรายงานว่าในกะปินอกจากจะมีคุณค่าทางด้านโภชนาการเรื่องโปรตีน ไขมันแล้วยังพบว่ามีสารกลุ่มต้านอนุมูลอิสระอยู่สูง โดยเฉพาะสารแอสตาแซนทีน เพื่อแนวทางในการพัฒนาและปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้เป็นที่ยอมรับและลดความเสี่ยงต่ออันตรายจากการรับประทานอาหารที่มีเกลือสูง อีกทั้งยังเป็นส่วนช่วยลดการสูญเสียค่าใช้จ่ายในด้านการรักษาสุขภาพของประชาชนคนไทยอีกด้วย

มหาวิทยาลัยนเรศวร

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาปริมาณสารทดแทนแคลเซียมคลอไรด์ ได้แก่ โปแตสเซียมคลอไรด์ และแคลเซียมคลอไรด์ ในการแทนที่โซเดียมคลอไรด์ในผลิตภัณฑ์กะปิ

2. ศึกษาผลของการใช้สารทดแทนดังกล่าวต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระระหว่างกระบวนการหมัก

มหาวิทยาลัยนเรศวร

ขอบเขตของโครงการวิจัย

วิเคราะห์และเปรียบเทียบสมบัติบางประการ ได้แก่ เคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์กะปิ โดยศึกษาหาปริมาณสารทดแทนโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสม ได้แก่ โปแตสเซียมคลอไรด์ และ แคลเซียมคลอไรด์ เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เกลือทั้ง 2 ชนิดทดแทนเกลือแคลเซียมคลอไรด์ โดยคำนึงถึงสมบัติด้านเคมี กายภาพ และการศึกษาผลของสารทดแทนต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระระหว่างกระวนการหมักของผลิตภัณฑ์

เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กะปิ หมายถึงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักเคยหรือฝุ้งกับเกลือในอัตราส่วนที่เหมาะสมทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำบดให้แหลกแล้วหมักต่ออีกระยะหนึ่งเพื่อให้ได้กลิ่นรสตามธรรมชาติของกะปิ (มอก. 1080 - 2535)

กะปิเคยโดยทั่วไปอาจแบ่งได้เป็น 2 แบบคือ

- กะปิแห้ง (dry kapi) มีความชื้นเพียงเล็กน้อยและมีลักษณะเนื้อค่อนข้างเหนียว
- กะปิเหลว (liquid kapi) มีความชื้นสูงลักษณะเนื้อเหลวเหมือนซอสมะเขือเทศ

กะปิชนิดนี้มักทำจากเคยสำลี (Lucifer) โดยสะเด็ดน้ำ15 นาที ผสมเคยต่อเกลืออัตราส่วน 2 - 3 ต่อ 1 สะเด็ดน้ำ 2 - 3 ชั่วโมงแล้วหมักใส่ถัง (อรุณี, 2534)

กะปิ เป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นเมืองที่นิยมบริโภคกันมากในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่นไทย พม่า มาเลเซีย อินโดนีเซีย และลาว เป็นต้น นิยมใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร ปรุงน้ำพริกปรุงแกงหรือเป็นเครื่องชูรสควบคู่ไปกับข้าว การเรียกชื่อในแต่ละประเทศจะแตกต่างกันออกไปขึ้นกับชนิดของสัตว์น้ำที่ใช้ทำกรรมวิธีการผลิตหรือภาษาพูดในแต่ละท้องถิ่นเป็นต้น ตัวอย่างการเรียกชื่อกะปิ เช่น พม่าเรียกกะปิฝุ้งว้า ngapi - seinsa เรียกกะปิปลาว้า nga - ngapi ทำจากปลา anchovy (*Engraulis commersonii*) กัมพูชาทำกะปิจากปลาหลายชนิดเช่นปลาสร้อย (*Cyprinoid* sp.) ปลาดุก (*Clarius* sp.) ปลาช่อน (*Ophicephalus striatus*) เรียกว่า pra - hoc ลาวใช้ ปลานวลจันทร์ (*Thynniethys* sp.) ปลาชิว (*Rasbora* sp.) และปลาช่อน (*Ophicephalus* sp.) เรียกว่า padec เวียดนามทำกะปิจากฝุ้ง *Penaeus semisulcatus, Spirontocaris gibberosa* และ*Alpheus macrochirus* เรียกว่า mam - tep มาเลเซียทำกะปิจากเคยในสกุล Acetes ได้แก่ *Acetes japonica Acetes sibogae, Acetes erythracus* และ*Acetes indicus* เรียกว่า blachan ฟิลิปปินส์ทำกะปิจากปลาไส้ตัน (*Stolephorus* sp.) ปลาหลังเขียว (*Sardinella* sp.) ปลาทูแขก (*Decapterus* sp.) เรียกว่า bagoong ถ้าทำจาก crustacea ใช้เคย (*Acetes* sp.) เรียกว่า bagoong alamang อินโดนีเซียทำกะปิฝุ้ง จากเคย (Mysidacea) และลูกฝุ้งกุลาดำ (Penaeid sp.) เรียกว่าtrassi - udang กะปิปลาทำจากปลา ขนาดเล็กเรียกว่าtrassi-ikan ญี่ปุ่นทำกะปิจากปลา skipjack เรียกว่า gyomiso (นงนุช, 2538)

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตกะปิ

1. สัตว์น้ำที่นำมาใช้ทำกะปิ

1. เคยเป็นสัตว์น้ำเค็มจำพวกแพลงก์ตอนมีรูปร่างลักษณะเช่นเดียวกับฝุ้งแต่ตัวเล็กกว่ามี ขนาดยาว 1 - 2 เซนติเมตรชอบหากินเป็นฝูงใกล้ชายฝั่งห่างจากฝั่งไม่เกิน 2 กิโลเมตรนับจากแนว ขอบน้ำเป็นสัตว์น้ำที่ชอบลอยตัวขึ้นมาบนผิวน้ำเหมือนกับฝูงปลาทู สามารถมองเห็นฝูงเคยได้แต่ไกลแต่บางขณะจะคลานไปตามหน้าดินเป็นฝูงๆ มองเห็นได้ชัดเจนจากเรือไม่มีที่อยู่อาศัยเป็นหลัก

แหล่งชนิดของเคยที่ทำกะปิแบ่งเป็น 3 ประเภท (อรุณี, 2534) คือ

ก) เคยหยาบเป็นเคยที่อยู่ในสกุล Acetes ตัวอย่างเช่นเคยใหญ่เคยโกร่งเคยฝูงเคยแม่ลูกลักษณะเด่นของเคยกลุ่มนี้คือหางจะมีจุดสีชมพูปนแดงชอบอยู่รวมกันเป็นฝูงพบชุกชุมตามชายหาดที่เป็นทรายกะปิจากเคยหยาบจะมีสีแดง

ข) เคยตาดำหรือเคยละเอียดอยู่ในสกุล *Mesopodapsis* มักพบในบริเวณน้ำกร่อยที่มีพื้นที่เป็นเลน เช่น ในจังหวัดจันทบุรี ชลบุรี สมุทรปราการ ฉะเชิงเทรา สมุทรสงคราม เพชรบุรี และสุราษฎร์ธานี กะปิจากเคยตาดำจะมีเนื้อมากรสดี และสีดำ

ค) เคยสำลี อยู่ในสกุล Lucifer มีขนาดเล็กมากพบตามชายทะเลที่มีพื้นที่เป็นทราย หรือโคลน เช่น ในจังหวัดฉะเชิงเทราและสมุทรสาครโดยทั่วไปไม่นิยมนำมาทำกะปิ เนื่องจากน้ำหนักน้อยและมีกลิ่นคล้ายปลาป่นเหม็นเขียว

2. ฎังฝอยน้ำจืดกะปิที่ทำจากฎังชนิดนี้มีรสกร่อยและสีขาวซีด

3. ฎังฝอยน้ำเค็มกะปิที่ได้มีสีขาวต้องใช้สีช่วยปรุงแต่งคุณภาพกะปิที่ได้เป็นกะปิชั้นรอง

4. ปลาพม่าทำกะปิจากปลาจำพวก anchovy (*Engraulis commersonii*) เรียกว่า ngapi - seinsa เขมรทำจากปลาสร้อย (*Cyprinoid* sp.) ปลาดุก (*Clarius* sp.) ปลาช่อน (*Ophicephalus striatus*) เรียกว่า pra - hoc ลาวทำจากปลานวลจันทร์ (*Thynniethys* sp.) ปลาชิว (*Rasbora* sp.) และปลาช่อน (*Ophicephalus* sp.) เรียกว่า padec ฟิลิปินส์ทำกะปิจากปลาไส้ตัน (*Stolephorus* sp.) ปลาหลังเขียว (*Sardinella* sp.) ปลาทูแขก (*Decapterus* sp.) เรียกว่า bagoong อินโดนีเซียทำกะปิจากปลาขนาดเล็กเรียกว่า trassi - ikan ญี่ปุ่นทำกะปิจากปลา skipjack เรียกว่า gyomiso (นงนุช, 2538)

2. เกลือ

เกลือเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการถนอมอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ในกระบวนการหมัก การตากแห้งและการรมควันเนื่องจากเกลือที่เติมลงไปจะช่วยป้องกันการเน่าเสียของอาหารได้ Prescott and Dunn (1959) พบว่าถ้าใช้เกลือในอาหารอย่างน้อยที่สุดร้อยละ 18 จะทำให้อาหารปลอดภัยจากการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (putrefactive cocci) และจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษอื่นๆ เนื่องจากเกลือไปช่วยลดค่า water activity (aw) ของอาหารซึ่งในการหมักกะปิต้องคำนึงถึงสัดส่วนของเกลือที่ใช้ เนื่องจากความเข้มข้นของเกลือสูงจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ให้ช้าลงการเกิดสารให้กลิ่นรสจะช้าลงด้วยดัง เช่นการทำ shiokara ในประเทศญี่ปุ่นพบว่าปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 10 จะทำให้มีปริมาณอะมิโนไนโตรเจน (amino nitrogen) เร็วกว่าการใช้ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ร้อยละ 20 และร้อยละ 30 แต่การใช้เกลือในปริมาณร้อยละ 10 พบว่าไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียจึงมักใช้ปริมาณเกลือร้อยละ 20 (Yokoseki, 1972; นฤมล, 2528)

เกลือที่นิยมนำมาใช้ในการถนอมอาหารคือเกลือแกงที่ได้จากการระเหยเอาน้ำออกจากน้ำทะเลจนแห้งและเป็นผลึกเป็น เกลือที่หาง่ายราคาถูกเกลือแกงที่ใช้ในประเทศไทยมีปริมาณโซเดียมคลอไรด์ประมาณร้อยละ 65 ความชื้นสูงประมาณร้อยละ11 (สันต์, 2498) นอกจากนั้นเป็นสารเจือปนอื่น ๆ เช่นแมกนีเซียมคลอไรด์แคลเซียมคลอไรด์และเกลือซัลเฟตของโซเดียมแมกนีเซียม และแคลเซียมซึ่งสารเจือปนเหล่านี้ถ้ามีปริมาณสูงจะทำให้การซึมซาบของเกลือเข้าไปในเนื้อปลาช้าลง (Saisithi, 1967) โดยเฉพาะปลาเนื้อหนาอาจทำให้เนื้อปลาข้างในเสียได้ นอกจากนี้สารเจือปนแคลเซียมและแมกนีเซียมคลอไรด์ที่มีในเกลือจะทำให้เกลือชื้นง่ายเพราะเป็นสารดูดความชื้นจากอากาศ (hygroscopic) การที่เกลือมีความชื้นมากจะทำให้ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ต่ำเมื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมปลาหมักจึงทำให้เกิดกลิ่นและรสที่ไม่พึงปรารถนาขนาดของเม็ดเกลือมีผลต่อการซึมซาบของเกลือกล่าวคือเกลือเม็ดใหญ่จะละลายได้ช้ากว่าเกลือเม็ดเล็กทำให้ดูดซึมเข้าในเนื้อเยื่อได้ช้า (Beatty and Fougere, 1957) แต่สำหรับการทำปลาหมักถ้าใช้เกลือเม็ดละเอียดเกินไปจะทำให้ได้ผลไม่ดีเนื่องจากเกลือจะไปละลายกับน้ำในกล้ามเนื้อ (muscle fluid) ของปลาทำให้ความชื้นของเนื้อเยื่อบริเวณผิวหมดไปเร็วจึงเกิดการรวมตัวของโปรตีนเป็นก้อน (coagulate) ที่บริเวณผิวจึงป้องกันไม่ให้เกลือซึมซาบเข้าไปถึงภายในได้ง่ายในทางตรงข้ามถ้าใช้เกลือเม็ดใหญ่เกินไปจะส่งผลให้การซึมซาบของเกลือช้าทำให้ปลาเสียได้ง่าย (มัทนา, 2538)

Grakikoski (1971) พบว่าปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ในเกลือมีบทบาททำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอาหารหมักจุลินทรีย์ที่พบได้แก่ *Bacillus subtilis, B. megaterium, Micrococcus corynebacterium, Halobacterium sp.* และ*Serratia salinaria* Van and Legendre(1965) พบว่า *Sarcina litoralis* และ *Pseudomonas salinaria* เป็นตัวการทำให้อาหารหมักเน่าเสียมีกลิ่นไม่ดีโดยเฉพาะ *Pseudomonas* จะมีเอนไซม์ cystein desulhydrase ย่อยสลายโปรตีนให้สารอินโดลและไฮโดรเจนซัลไฟด์ Frazier (1984) พบว่าเกลือมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องจาก

1. ลด aw ของอาหารจนจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญดี
2. ยับยั้งการทำงานของ proteolytic enzyme ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์บางชนิด
3. ช่วยลดการละลายของออกซิเจนในเซลล์จุลินทรีย์
4. อนุมูลคลอไรด์ที่เกิดจากการแตกตัวของเกลือถ้ามีมากจะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้

กรรมวิธีการผลิตกะปิ

กรรมวิธีการผลิตกะปิ อาศัยหลักการเช่นเดียวกับการหมักน้ำปลาคืออาศัยจุลินทรีย์ที่เกี่ยว ข้องในการหมัก เช่น *Bacillus, Pediococcus, Lactobacillus, Micrococcus, Sarcina, Clostridium, Stapphylococcus* และเอนไซม์จากเนื้อปลาเป็นตัวการที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในกระบวนการหมักโดยใส่เกลือในปริมาณพอเหมาะเพื่อยับยั้งการเน่าเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ดังนั้น กระบวนการที่จำเป็นและสำคัญที่สุดคือการย่อยสลายโดย

เอนไซม์โดยเฉพาะการย่อยโปรตีนและไขมันซึ่งเป็นผลให้เกิดสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ (นฤมล, 2528)

วิธีการผลิตกะปิในประเทศไทยโดยทั่วไปประกอบด้วย 3 ขั้นตอนใหญ่ๆดังนี้

1. ผสมเกลือกับวัตถุดิบ เช่นเคยฝ้งฝอยหรือปลาในอัตราส่วนที่เหมาะสม
2. นำมาตากให้ได้ความชื้นที่ต้องการ (partial drying) และบดให้ละเอียด
3. อัดใส่ภาชนะให้แน่นระหว่างการหมักเพื่อให้เกิดการหมักหรือบ่ม (partial fermentation or ripening)

การผลิตกะปิในท้องที่ต่างๆ

กะปีสงขลา (ศุภวรรณ, 2539) นำกุ้งสดมาตากแห้งประมาณครึ่งวันจากนั้นนำมาซาวเกลือบดหมักเก็บไว้ 3 - 4 วันแล้วนำมาบดอีกครั้งทำซ้ำ 2 - 3 ครั้งแล้วหมักไว้ประมาณ 4 - 5 เดือน จึงนำออกจำหน่าย

กะปิพังงา (ด้าหนาน, 2543) นำฝ้งเคยมาคัดเลือกลูกปลาและเศษขยะออกนำไปตากแดดไว้ประมาณ 4 - 6 ชั่วโมงเพื่อให้ฝ้งเคยแห้งพอเหมาะโดยใช้อัตราส่วนฝ้งเคย 100 กิโลกรัมต่อเกลือ 30 กิโลกรัมจากนั้นนำเข้าเครื่องบดเสร็จแล้วนำมาหมักไว้ต่ออีก 2 - 3 วันเพื่อให้เปรี้ยวและมีกลิ่นหอมนำออกตากแดดประมาณ 4 - 6 ชั่วโมงจึงนำเข้าเครื่องบดอีกครั้งก็สามารถนำกะปิที่ได้มาบรรจุใสภาชนะเพื่อขายต่อไป

กะปิสมุทรสาคร (อุดม, 2543) นำเอาเคยมาคลุกเคล้ากับเกลือในอัตราส่วนเคย 50 กิโลกรัมต่อเกลือ 3 - 4 กิโลกรัมหมักทิ้งไว้ 1 คืนนำมาใส่ตะกร้าเพื่อให้น้ำตกลงมา 2 - 3 ชั่วโมงเรียกว่ากักน้ำจากนั้นนำมาเกลี่ยตากบนอวนไนลอนเพื่อป้องกันความสกปรกจากพื้นและรูตาอวนที่โปร่ง จะช่วยให้การถ่ายเทอากาศได้ดีทำให้เคยที่ผ่านการคลุกเคล้าเกลือและหมักแล้วแห้งเร็วขึ้นใช้เวลาตากนาน 6 ชั่วโมง ถ้าแดดจัดแต่ถ้าเป็นฤดูฝนเมื่อแดดหมดต้องรีบเก็บและอัดแน่นในภาชนะ เช่น กระป๋อง ไห ปี๊บและตุ่ม จัดการปิดฝาให้แนนด้วยผ้าพลาสติกพร้อมผูกมัดไม่ให้อากาศเข้าได้อย่างเด็ดขาดมิฉะนั้นกะปิจะเป็นสีเหลืองและมีกลิ่นอับ แต่ถ้าไม่มีปัญหาเรื่องแดดและฝนเมื่อเคยได้รับการตากแดดนานครบ 6 ชั่วโมงแล้วจะนำเก็บรวบรวมเพื่อไปทำการโม่ด้วยเครื่องไฟฟ้าให้ละเอียด กะปิที่ออกจากเครื่องโม่จะมีกลิ่นคาวและไม่หอมชวนรับประทานต้องนำไปอัดใส่เก็บไว้ในภาชนะ เช่น ตุ่มและหมักไว้โดยไม่ให้อากาศผ่านเข้าได้เลยทิ้งไว้ประมาณ 2 - 3 เดือนกะปิจะมีคุณภาพสูงมีกลิ่นหอมชวนรับประทาน

กะปิสมุทรปราการ (ไกรเลิศ, 2543) นำเคยมาใส่สวิงแกว่งล้างในน้ำเพื่อให้เศษผงสัตว์น้ำ และพืชน้ำบางชนิดที่ปะปนมาหลุดออกให้หมด นำขึ้นจากน้ำเทเคยใส่กะละมัง ใส่เกลือเม็ดลงไปคลุกเคล้าให้เข้ากันโดยใช้อัตราส่วนเคย 100 กิโลกรัมต่อเกลือเม็ด 10 กิโลกรัมหมักทิ้งไว้ 1 คืน นำออกตากแดดโดยใช้อวนสีฟ้ารองเกลี่ยเคยให้บางพอประมาณตากพอแห้งหมาดๆ ถ้าแดดจัดประมาณครึ่งวันนำเคยที่ตากแล้วเข้าเครื่องบดให้ละเอียด 2 รอบนำลงหมักในถังการหมักต้องอัดให้แน่นที่สุดโดยทยอยใส่เคยแล้วใช้ไม้กระทุ้งให้แน่นเป็นระยะๆ ไม่ที่ใช้จะต้อง

สะอาด ถ้าอัดเคยไม่แน่นพอกะปิที่หมักได้จะมีสีดำหรืออาจคืนตัวไม้แข็งมีน้ำขังในถังมากจนไม่เป็นกะปิ ต้องนำขึ้นมาตากและบดใหม่อีกรอบก่อนจะนำลงหมักอีกครั้ง

กะปิระยอง (เชื้อ, 2508) นำฝังหรือเคยที่มีอยู่คัดสิ่งที่ไม่ต้องการออกแล้วรีบเคล้ากับเกลือขยำให้ทั่วโดยใช้อัตราส่วนเคย 4 - 5 ส่วนต่อเกลือ 1 ส่วนแล้วนำไปเกรอะโดยใช้เข่งเกรอะไว้อย่างน้อย2 - 3 คืนเพื่อให้น้ำตกมากๆ เมื่อเกรอะได้ตามต้องการแล้วนำออกไปตากแดดโดยเกลี่ยเนื้อกะปิบนผืนเสื่อหรือตากให้ถูกแดดอย่างทั่วถึง จากนั้นนำกะปิที่ตากแล้วไปโขลกในครกไม้หรือครกปูนจนได้เนื้อกะปิที่ละเอียดเหนียว

กะปิชุมพร (ประทีป, 2498) นำเคยล้างน้ำให่สะอาดแล้วเคล้ากับเกลือเม็ดอัตราส่วนฝังเคย 3 ถังต่อเกลือเม็ด 1 ถัง (ต่องการรสไม่เค็มจัด) บางแห้งใช้อัตราส่วนกุ้งเคย 3 ส่วนต่อเกลือ 2 ส่วนเพื่อต้องการเพิ่มน้ำหนักแต่รสจะเค็มเมื่อเคล้าฝังเคยกับเกลือเข้ากันดี จึงตวงใส่เข้งตาถี่ทิ้งไว้ 1 คืนเพื่อให้สะเด็ดน้ำนำไปโขลกด้วยครกตำข้าวหรือเครื่องบดตากแดด 1 แดด จึงนำมาโขลกหรือบดให้ละเอียดอีกครั้งแล้วบรรจุลงในถังไม้หรือไหเอาไม้ขัดปากหรือที่เรียกวาเอาหินทับไว้ 3 เดือน เคยที่ได้จึงเอาออกจำหน่ายหรือขาย

กะปิตราด (สถิตย์, 2506) นำเคยที่ได้เทลงบนเสื่อลำแพนเกลี่ยให้บางๆ โดยใช้ไม้มีรูปร่างคล้ายคราดแต่ไม่มีฟันทุบเพื่อให้น้ำในตัวออกได้ง่ายเมื่อทุบเสร็จใช้เกลืออัตราส่วน 1 ต่อ 3 ของน้ำหนักตัวเคยผสมให้ทั่วแล้วใช้คราดเคล้าให้เข้ากันจนทั่วนำไปผึ่งไว้บนร้านซึ่งเตรียมไว้เพื่อให้น้ำเคยไหลออกให้หมดทิ้งไว้ 1 คืนรุ่งขึ้นเอาออกเกลี่ยบนเสื่อลำแพนเพื่อตากแดดการตากแดดถ้าแดดดีตากเพียงแดดเดียวถ้าแดดไม่ค่อยมีตาก 2 แดดจากนั้นนำเคยที่ผสมเกลือไปโขลกด้วยครกขนาดใหญ่เพื่อให้ละเอียด

กะปิกุ้งของฟิลิปปินส์ (Nieto, 1982) มีลักษณะค่อนข้างเหลวเก็บไว้ได้ไม่นาน วิธีทำ ใช้เคยหมักกับเกลือในอัตราส่วนเคย 6 ส่วนต่อเกลือ 1 ส่วนหมักไว้ประมาณ 1 - 2 สัปดาห์พบว่าอัตราส่วนเกลือที่ดีที่สุดคือ 5 ต่อ 1 และเคยที่จับได้ต้องทิ้งไว้ประมาณ 7 ชั่วโมงก่อนนำมาหมักกับเกลือจึงจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นหอมผลิตภัณฑ์นี้เก็บได้แค่ 1 สัปดาห์ที่อุณหภูมิห้อง

กะปิปลาของญี่ปุ่น (Tanikawa, 1971) เรียกว่า gyomiso ใช้ปลาร้อยละ 75 เติมแป้งสาลีร้อยละ10 เกลือร้อยละ15 เติมเชื้อรา *Aspergillus oryzae* หมักไว้ 2 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 25 - 30 องศาเซลเซียส เติมถุงใส่ไม้ซีด้าร์ของญี่ปุ่นเพื่อให้เกิดกลิ่นในวันที่ 5 pH จะค่อยๆลดลงจนเหลือ 4.5 นำมานึ่งฆ่าเชื้อความชื้นจะลดเหลือประมาณร้อยละ 40 นำมาบดเป็นเนื้อเดียวกัน

กะปิของกัมพูชา (Subbo Rao, 1967) ทำจากปลาหลายชนิด เช่นปลาสร้อย (*Cyprinoid* sp) ปลาดุก (Clarius sp.) ปลาช่อน (*Ophicephalus striatus*) โดยนำมาตัดหัวควักไส้ออกตัดเป็นชิ้นๆ ผสมกับน้ำเกลือใช้เกลือ 1 กิโลกรัมต่อปลา 7 - 10 กิโลกรัมทิ้งไว้ประมาณชั่วโมงครึ่งนำไปตากแดด 1 วันอัดใส่ภาชนะทิ้งไว้ 6 - 10 วันนำมาเติมเกลือลงไปอีกอัดใส่ตุ่มหรือไหกลางวันตากแดดกลางคืนปิดฝาน้ำที่ขึ้นมาตักออกใช้เป็นน้ำปลาหมักไว่ประมาณ 1 เดือนจนไม่มีน้ำออกมาแสดงว่าการหมักสิ้นสุดลงจากปลา 3 ส่วนจะได้ผลิตภัณฑ์ซึ่งเรียกว่า pra - hoc 1 ส่วน

กะปิ blachan ของมาเลเซีย (Yeoh and Merican, 1978) ใช้เคย 100 กิโลกรัมผสมกับเกลือ 6 - 10 กิโลกรัมนำออกตากแดด 5 - 6 ชั่วโมงบดให้เข้ากันอัดใส่ถังไม้ทิ้งไว้ 7 วันแล้วนำออกตากแดดบดอีกครั้งใส่ถังไม้ทิ้งไว้อีก ทำเช่นนี้จนได้ลักษณะเนื้อที่ต้องการ

กะปิของพม่าหรือ ngapi - seinsa(Maung et al., 1987) โดยนำกุ้งเคยมาตากแดด 3 -4 วัน แล้วนำไปบดให้เป็นเนื้อเดียวกันในระหว่างการผสมเกลือหรือช่วงการบดอาจมีการเติมน้ำอุ่นลงไปเพื่อให้การบดเป็นไปได้ดียิ่งขึ้น

Cha and Lee (1989) ได้ศึกษากระบวนการผลิตกะปิจากปลา anchovy กับเกลือปริมาณต่ำโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อนำเอาเอนไซม์โปรตีเนสจากแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ดังกล่าวได้ในปริมาณสูงมาใช้ในอุตสาหกรรมเพื่อช่วยเร่งกระบวนการหมัก พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากกะปิปลา คือ *Bacillus subtilis* และ *Bacillus licheniformis* (มัทนา, 2538)

Daengsubha (1970) ทดลองทำกะปิในห้องปฏิบัติการโดยใช้อัตราส่วนของเคยต่อเกลือเท่ากับ 4 ต่อ 1 5 ต่อ 1 6 ต่อ 1 และ7 ต่อ 1 ตามลำดับ พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมในการทำกะปิ คือ 5 ต่อ1 ส่วนอัตราส่วน 4 ต่อ1 ให้กะปิที่ดีต้องใช้ระยะเวลาการหมักนาน อัตราส่วน 6 ต่อ1 ให้กะปิคุณภาพต่ำเก็บไว้ได้ไม่นานและอัตราส่วน 7 ต่อ 1 นั้นจะทำให้กะปิเสีย

หลักการผลิตกะปิ ที่ดี

กรมประมงได้สรุปหลักการผลิตกะปิที่ดี ไว้ 10ประการดังนี้ (เริงฤดี และจิราวรรณ, 2524)

1. เคยสดที่ใช้ควรสะอาดและต้องเลือกสิ่งเจือปนอื่นๆออก
2. การเคล้าเกลือกับเคยควรเคล้าให้ทั่วกันและควรใช้เกลือเม็ด
3. เกลือที่ใส่ควรใส่ให้เพียงพอเพื่อไม่ให้เคยเน่าเสีย
4. เคยที่เคล้าเกลือแล้วควรจะเกรอะหรือทับน้ำในภาชนะที่อากาศถ่ายเทได้ดี
5. เคยที่กรองและบดแล้วควรมีการตากแดดก่อนการหมัก
6. การอัดกะปิเพื่อหมักควรจะอัดให้แน่นโดยพยายามอย่าให้มีช่องอากาศอยู่ในกะปิเพราะ จะทำให้กะปิมีกลิ่นไม่ดี
7. กะปิควรหมักในภาชนะดินเผา เช่น ไหหรือตุ่มและมีการป้องกันแมลงวันเข้าไปโดยขัดปากไหด้วยใบมะพร้าวและไม้ไผ่โดยมีผ้าขาวคลุมอีกทีหนึ่ง
8. กะปิที่ดีควรมีการหมักอย่างน้อย 3 เดือน
9. กะปิที่ดีไม่ข่ควรใส่สี
10. การบรรจุกะปิเพื่อจำหน่ายควรจะอัดกะปิในภาชนะบรรจุให้แน่นพยายามอย่าให้มีช่องว่างของอากาศอยู่เพราะจะทำให้กะปิเสียและราดพาราฟินข้างบนอีกชั้นหนึ่ง

คุณภาพของกะปิ

คุณลักษณะทั่วไปที่ต้องการของกะปิ (มอก. 1080 - 2535)

1. ลักษณะเนื้อต้องละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันเหนียวและไม่แห้งหรือแข็งจนเกินไป

2. ลักษณะกลิ่นต้องมีกลิ่นหอมตามธรรมชาติของกะปิ ไม่มีกลิ่นคาวปลากลิ่นฉุนของแอมโมเนียกลิ่นสาบหรือกลิ่นอับ

3. ลักษณะของรสต้องมีรสกลมกล่อมเค็มพอดี และไม่มีรสขม

4. ลักษณะสี ต้องมีสีตามธรรมชาติของกะปิ เช่น สีเทาอมชมพูสีเทาม่วงสีม่วงแดง สีน้ำตาลอมแดง

5. สิ่งปลอมปนต้องปราศจากสิ่งปลอมปน เช่นมันสำปะหลังหรือแป้งต่างๆ

6. สิ่งแปลกปลอมต้องปราศจากสิ่งแปลกปลอม เช่นกรวดทรายชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลของแมลงหนูและนก

กะปิ จะมีจุลินทรีย์ได้ไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนดดังต่อไปนี้ (มอก. 1080 - 2535)

1. จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 1×10^5 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

2. โคลิฟอร์ม (coliform) โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN) ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม

3. สแตฟิโลค็อกคัสออเรียส (*Staphylocccus aureus*) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม

4. ซาลโมเนลลา (*Salmonella*) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

5. คลอสทริเดียมเพอร์ฟริงเจนส์ (*Clostridium perfringens*) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.01 กรัม

6. ยีสต์และราต้องไม่เกิน 50 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

การศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์ในกะปิ

Amano (1962) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอาหารปลาหมักส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์ที่ติดมากับเกลือ Grakikoski (1971) พบว่าการเน่าเสียของโปรตีน ในอาหารปลาหมักเกลือเกิดจากแบคทีเรียที่มีในเกลือจากการตรวจหาปริมาณแบคทีเรียในเกลือ 3 ชนิด ซึ่งได้แก่เกลือทะเล (solar salt) เกลือสินเธาว์ (rock salt) และเกลือบริสุทธิ์ (purified salt) พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียโดยเฉลี่ย10 2 - 10 3 CFU/g (Bain et al., 1957) จุลินทรีย์ที่พบส่วนมากเป็น *Bacillus* sp. นอกนั้นเป็น Micrococcus sp. และ*Sarcina* sp. (มัทนา, 2538) Van and Legendre (1965) พบว่า*Sarcina litoralis* และ*Pseudomonas salinaria* เป นตัวการทำให้อาหารหมักเน่าเสียมีกลิ่นไม่ดี

Daengsubha (1970) ได้แยกแบคทีเรียจากกะปิที่เตรียมในห้องปฏิบัติการได้ 13 ชนิดส่วน มากเป็นแบคทีเรียชนิดกลม(cocci) มีอยู่เพียงชนิดเดียวเป็นชนิดแท่ง (rod) และมีจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) เป็นตัวการสำคัญในการหมักกะปิ

Merican (1977) ทำการวิเคราะห์กะปิมาเลเซีย 20 ตัวอย่างในระยะต่างๆของการหมักพบแบคทีเรียดังนี้คือ *Bacillus, Pediococcus, Lactobacillus, Micrococcus, Sarcina, Staphylococcus, Clostridium,*

Brevibacterium - like, Flavobacterium - like และ *corynefor* โดยจะพบ *lactic acid bacteria, Micrococcus* และ *Bacillus* เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่เจริญได้ดีในระยะแรกของการหมัก

Nieto (1980) พบว่าการใช้เกลือต่อเคย 1 ต่อ 6 และ 1 ต่อ 7 ให้รสชาติที่ดีแต่การใช้ อัตราส่วน 1 ต่อ 6 ที่ค่า aw 0.83 ก็ยังเสี่ยงต่อเชื้อ *S. aureus* coagulase positive ดังนั้นเพื่อไม่ให้เกิดปัญหาทางด้านสุขภาพอนามัยจึงควรใช้อัตราส่วนเกลือต่อเคย 1 ต่อ 4 หรือต่ำกว่านี้

เติมศักดิ์ (2523) วิเคราะห์กะปิที่เก็บจากตลาดและแหลงผลิตต่างๆ ของไทย 41 ตัวอย่างโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิดคือ Brain heart infusion agar (BHIA) เติมเกลือร้อยละ 10 และ Nutrient agar (NA) เติมเกลือร้อยละ10 และบ่มที่ 37 องศาเซลเซียสพบว่า BHIA agar เติมเกลือร้อยละ 10 จะให้ผลในการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกะปิได้ดีกว่าการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ NA agar เติมเกลือร้อยละ 10 เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถเจริญได้เร็วและมีขนาดโคโลนีใหญ่กว่า นอกจากนี้พบว่าปริมาณแบคทีเรียในตัวอย่างกะปิ มีความแตกต่างกันตามอายุการหมักและปริมาณ เกลือที่ใช้กะปิที่มีอายุการหมักน้อยจะมีปริมาณแบคทีเรียมากกว่าที่มีการหมักนานตัวอย่าง เช่น กะปิที่มีอายุการหมัก 2 - 3 วันจะมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด 10^{8} CFU/g ขณะที่กะปิที่มีอายุการ หมักมากกว่า 1 ปีจะมีปริมาณแบคทีเรีย 10^{3} CFU/g สำหรับเกลือ พบว่ากะปิที่มีปริมาณเกลือสูงจะ มีปริมาณแบคทีเรียต่ำกว่ากะปิที่มีปริมาณเกลือต่ำ

อรุณี(2534) ตรวจหาจุลินทรีย์ที่ก่อใหเกิดโรคอาหารเป็นพิษและจุลินทรีย์ทั่วไปในกะปิ 3 กลุ่มราคาได้แก่ ราคาถูกปานกลางและราคาแพง พบว่าจำนวนเชื้อราที่ตรวจพบจะแปรผันตามกลุ่ม ราคาของกะปิ กล่าวคือกะปิกลุ่มราคาถูกจะตรวจพบเชื้อรามากที่สุดมีค่าเฉลี่ย 2.6×10^{3} CFU/g คิดเป็นร้อยละ 75 ของตัวอย่างทั้งหมดในกลุ่มกะปิราคาปานกลางและราคาแพงพบเพียง 3.7×10 และ 5.0×10 CFU/g ตามลำดับ ซึ่งปริมาณที่ตรวจพบนั้นยังอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ สำหรับการตรวจจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในกะปิทั้ง 3 กลุ่มราคาพบว่าโดยเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันในกะปิ ทั้ง 3 กลุ่มราคาซึ่งจำนวนที่ตรวจพบค่าเฉลี่ย 1.3×10^{3} , 7.0×10^{3} และ 7.7×10^{3} CFU/g ใน กะปิกลุ่มราคาถูกปานกลางและแพงตามลำดับ

การตรวจหาจุลินทรีย์ชนิดที่ทำให้อาหารเป็นพิษในกะปิ 3 กลุ่มราคาข้างต้นตรวจไม่พบ *Salmonella* sp., *fecal coliform* และ *E. coli*, ในทุกตัวอย่างที่วิเคราะห์แต่จุลินทรีย์ที่พบมากที่สุด คือ *C. perfringens* โดยตรวจพบในกะปิกลุ่มราคาถูกมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 83.3 ของจำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์นอกจากนี้ ค่า aw และปริมาณเกลือยังอยู่ในช่วงที่จุลินทรีย์กลุ่มที่ทำให้อาหาร เป็นพิษไม่สามารถเจริญและสร้างสารพิษได้แต่ พบว่ามีบางตัวอย่างที่ตรวจพบจุลินทรีย์เหล่านี้ทั้งนี้ อาจมีสาเหตุมาจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดนั้น ๆ ค่อนข้างสูงหรือเก็บรักษากะปิมิดพอจึงส่ง ผลให้มีการปนเปื้อนจากภายนอกเพิ่มขึ้น (อรุณี, 2534)

คุณภาพมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของกะปิ

อาหารเป็นสาเหตุให้ผู้บริโภคเจ็บป่วยหากไม่มีการระมัดระวังด้านสุขลักษณะการผลิต ตลอดจนการเก็บรักษาการเจ็บป่วยของผู้บริโภคส่วนใหญ่เกิดจากจุลินทรีย์ในอาหารดังนั้นอาหาร ทั่วไปจึงมีการกำหนดคุณภาพมาตรฐานทางจุลชีววิทยาขึ้นเพื่อใช้เป็นเกณฑ์พิจารณาความปลอดภัย และกำหนดคุณภาพทางจุลินทรีย์ซึ่งความปลอดภัยของผู้บริโภคนั้นจะกำหนดชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและ/หรือจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีทางสุขลักษณะ (sanitary indices)

โรคเกิดจากการบริโภคอาหารแบ่งออกได้ 2 กลุ่มคือโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) และโรคติดเชื้อจากอาหาร (food infection) แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่สำคัญได้แก่ *Clostridium botulinum* และ*Staphylococcus aureus* coagulase positive สำหรับแบคทีเรียที่เป็น สาเหตุของโรคติดเชื้อจากอาหารได้แก่ *Salmonella, Shigella, Clostridium perfringens, Vibrio parahaemolyticus , Escherichia coli* และ *Bacillus* (Frazier and Westhoff, 1988)

1. จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

จำนวนของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบในสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์ (aerobic plate count) สามารถบ่งบอกถึงคุณภาพทางจุลชีววิทยาของแหล่งที่สัตว์น้ำอาศัยอยู่การจัดการรวมถึงสุขลักษณะของขั้น ตอนต่างๆในการผลิต เนื่องจากถ้าแหล่งน้ำมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ในปริมาณสูงก็จะทำให้สัตว์น้ำที่ อาศัยอยู่มีการปนเปื้อนในปริมาณสูงด้วยนอกจากนี้ภายหลังการจับถ้าไม่มีการล้างทำความสะอาด เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ในระหว่างการขนส่งและการเก็บรักษาบนเรือไม่มีการควบคุมสภาวะต่างๆ ให้เหมาะสม เช่นอุณหภูมิ ความสะอาดของคนงานภาชนะและอุปกรณ์ต่าง ๆ จะทำให้จุลินทรีย์ ดังกล่าวแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วเนื่องจากมีสารอาหารและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับ การเจริญส่งผลต่อคุณภาพด้านจุลชีววิทยาและความสดของสัตว์น้ำซึ่งมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นโปรตีนทำให้เกิดสารกลุ่มแอมโมเนียคโตนและอัลดีไฮด์ที่มีผลต่อค่าความสดของสัตว์น้ำดังนั้น การตรวจหาจำนวนทั้งหมดในสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์ จึงใช้เป็นดัชนีที่บอกถึงคุณภาพทางจุลชีววิทยา โดยรวมและคุณภาพทางด้านความสดของสัตว์น้ำได้อีกทางหนึ่ง

2. coliform bacteria

coliform bacteria เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae ลักษณะรูปร่างเป็น ท่อนติดสีแกรมลบไม่สร้างสปอร์เจริญได้ดีในที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนสามารถใช้น้ำตาล แล็กโทสแล้วให้กรดและก๊าซภายในเวลา 24 – 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 35 - 37 องศาเซลเซียสซึ่ง แบคทีเรียที่สำคัญในกลุ่มนี้ ได้แก่สกุล *Escherichia, Enterobacter, Citrobacter, Klebsiella* ส่วน fecal coliform เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม coliform ที่สามารถใช้น้ำตาลแล็กโทสให้กรดและก๊าซที่ อุณหภูมิประมาณ 44.5 - 45.5 องศาเซลเซียสได้แบคทีเรียกลุ่มนี้ได้แก่สกุล *Escherichia* และ *Klebsiella* บางชนิด

แบคทีเรียในกลุ่ม coliform มักเป็นตัวบ่งชี้สุขลักษณะในแหล่งน้ำอาหารรวมถึงกระบวน การผลิต เนื่องจากพบได้ในระบบทางเดินอาหารของสิ่งมีชีวิตและสามารถดำรงชีวิตอยู่ในสภาวะ แวดล้อมภายนอก เช่นดิน และแหล่งน้ำได้ดีถ้าพบในอาหารและน้ำแสดงถึงโอกาสของการปนเปื้อน จากสิ่งขับถ่ายของสิ่งมีชีวิตส่วน fecal coliform มักถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้โอกาสของการปนเปื้อนจาก สิ่งขับถ่ายของมนุษย์เนื่องจากพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่นทั่ว ๆ ไป แบคทีเรียที่สำคัญและถูกกำหนดให้เป็นตัวบ่งชี้อยู่เสมอๆ ได้แก่ *E. coli* ถ้าพบในอาหารหรือน้ำ แสดงให้เห็นถึงโอกาสการปนเปื้อนจากอุจจาระของมนุษย์โดยอาจเกิดจากการขาดการควบคุม ระบบสุขลักษณะที่ดีหรือกระบวนการผลิตที่ไม่ถูกตองการบงชี้ดังกล่าวนอกจากจะบอกถึงอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคจากแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ที่พบในระบบทางเดินอาหาร เช่น **Salmonella** spp. , *Shigella* spp. , *Vibrio* spp. เป็นต้น นอกจากนี้ *E. coli* บางสายพันธุ์ยังถูกจัดไว้ในกลุ่ม Enterovirulent *E. coli* ซึ่งก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารที่สำคัญอีกด้วย

3. *Staphylococcus aureus*

S. aureus เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Micrococcaceae มีรูปร่างกลมติดสี แกรมบวกขนาด เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 ไมโครเมตรเรียงตัวเป็นกลุ่มดูเหมือนพวงองุ่นอาจพบเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่และเป็นสายสั้นๆ ไม่เกิน 4 เซลล์อยู่ปะปนด้วยไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ส่วนใหญ่ไมมี แคปซูลให้ผลบวกทุกสายพันธุ์ในการทดสอบ coagulase ให้ผลลบในการทดสอบ oxidase และ ในภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะสลายน้ำตาลให้กรดเป็นพวก facultative anaerobe เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียลแต่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 8 - 48 องศาเซลเซียสและสามารถสร้างรงควัตถุได้ดีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสโคโลนีขนาดปานกลางลักษณะกลมขอบเรียบทึบผิว หน้าเป็นมันเมื่อเขี่ยดูจะมีลักษณะคล้ายเนยโคโลนีมีสีเหลืองทองเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อหลายๆครั้งอาจ พบเป็นสีครีมสีเกิดจากสารพวกแคโรทีนอยด์บางสายพันธุ์ทำให้มีการสลายตัวของเม็ดเลือดแดงบน Blood agar ในสภาวะที่มีออกซิเจนโคโลนีสีเหลืองชีดแต่ในภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะไม่มีการสลายตัวของเม็ดเลือดและจะให้โคโลนีไม่มีสี ไม่สามารถเจริญบน MacConkey agar เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อนี้มีสีย้อม crystal violet ผสมอยู่ด้วย

เนื่องจาก S. aureus เป็นเชื้อที่เจริญได้ง่ายจึงเจริญได้ดีแม้บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดธรรมดาจัดเป็นแบคทีเรียที่มีความทนทานมากในจำพวกแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์ สามารถทนต่อความแห้งแล้งได้ดีและมีชีวิตอยู่ในหนองหรือเสมหะแห้ง ๆ ที่ปนเปื้อนตามสิ่งแวดล้อมได้นานเป็นเดือนโดย ทั่วไปแบคทีเรียอื่น ๆ จะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเวลา 30 นาที แต่ *S. aureus* จะไม่ถูกทำลายที่อุณหภูมิและระยะเวลานี้ซึ่งพบว่าสามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสได้นาน 1 ชั่วโมงแต่จะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนาน 83 นาที และความทนทานต่อโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 20 หรือความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ60 (ศรีรัตน์, 2541)

การทำให้เกิดโรคจาก *S. aureus*

การที่ *S. aureus* สามารถทำให้เกิดโรคได้เกิดจากเชื้อนี้สร้างเอนไซม์และสารพิษได้หลาย ชนิดซึ่งออกฤทธิ์ได้แตกต่างกันบางสายพันธ์อาจสร้างสารพิษบางชนิดเท่านั้นสารที่สร้างขึ้นมา เหล่านี้จะช่วยให้แบคทีเรียสามารถต่อสู้กับกลไกต่าง ๆ ที่ร่างกายใช้ในการกำจัดจุลชีพทำให้เชื้อ สามารถแบ่งตัวเจริญและก่อให้เกิดพยาธิสภาพแก่ร่างกายของมนุษย์ได้ (ศรีรัตน์, 2541)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตสารพิษของ *S. aureus*

1. อุณหภูมิ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและการผลิตสารพิษenterotoxin ของ *S. aureus* ประมาณ 37 องศาเซลเซียสการผลิตสารพิษ enterotoxin ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสจะดีกว่าที่ 20 องศาเซลเซียสสำหรับอุณหภูมิ 20 - 45 องศาเซลเซียสจะมีการเจริญเร็วที่สุด (Simatos and Multon, 1985)

2. pH พบว่าสภาวะที่มีอากาศจุลินทรีย์สามารถเจริญดีที pH 4.8 ที่ aw 0.86 และสภาวะไม่มีอากาศจุลินทรีย์สามารถเจริญที่ pH 5.5 และ pH สูงสุดที่จุลินทรีย์สามารถเจริญได้มีค่าเท่ากับ 8.0 ที่ aw ต่ำสุด 0.90 (Frazier and Westhoff, 1988)

3. a_w น้ำเป็นสิ่งสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ สำหรับ *S. aureus* ในสภาวะที่มี อากาศจะสามารถเจริญได้ที่ a_w 0.86 - 0.99 และสภาวะที่ไม่มีอากาศจะมีการเพิ่มปริมาณเซลล์น้อย หรืออาจไม่มีการเพิ่มเลยถ้า a_w น้อยกว่า 0.90 และพบว่าสารพิษ enterotoxin B จะถูกยับยั้งการสร้างขึ้นมาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี aw น้อยกว่า 0.97 และa_w ต่ำสุดที่ทำให้เกิดการผลิตสารพิษ enterotoxin B ได้คือ 0.90 (Scott, 1953; Troller, 1979)

4. ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์การเพิ่มความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก (cured meat) จะมีผลต่อการผลิตสารพิษ enterotoxi มากกว่าการเจริญของ เซลล์ Troller (1979), Hojvat and Jackson (1969) พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณเกลือโซเดียม คลอไรด์ร้อยละ 4 และร้อยละ 8 ที่อุณหภูมิ 4 - 35 องศาเซลเซียสจะสามารถยับยั้งการผลิตสารพิษ enterotoxin B ได้และในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมเกลือร้อยละ 12 จะไม่มีผลต่อการผลิตสารพิษชนิดนี้ที่ทุกอุณหภูมิ (เติมศักดิ์, 2523)

5. ปริมาณเซลล์ของ *S. aureus* จำนวน10^6 CFU/g ในอาหารสามารถทำลายด้ที่ อุณหภูมิ 66 องศาเซลเซียสอย่างน้อยที่สุด 12 นาทีหรือที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 78 - 83 นาที (Troller and Christian, 1978)

สภาวะที่ทำให้อาหารเป็นพิษเนื่องจาก *S. aureus* (Troller and Christian, 1978)

1. เกิดการปนเปื้อนของ S. aureus ที่สามารถผลิตenterotoxin ได้ในระหว่าง กระบวนการผลิตอาหารโดยอาจมาจากมือ ผิว ผม เสื้อผ้าของคนทำอาหารที่เป็นโรคหรืออาจมาจากสัตว์ซึ่งมีโอกาสมาสัมผัสอาหารเอง

2. มีการปนเปื้อนของท็อกซิน (toxin) อย่างน้อยประมาณ 200 นาโนกรัม (ng) จึงจะทำให้เกิดโรค

3. เซลล์จะต้องอยู่รอดในอาหารและไม่ถูกยับยั้งการเจริญโดยกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ดีกว่าหรือถูกทำลายโดยการใช้ความร้อนหรือ pH ต่ำก่อนที่มันจะผลิตสารพิษขึ้น

4. อุณหภูมิจะต้องเหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์และจะต้องมีเวลานานพอที่จะผลิตสารพิษ

4. *Salmonalla*

Salmonella เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปท่อนไม่สร้างสปอร์มีขนาด 0.7 - 1.5 ไมโครเมตรยาว 2.0 - 5.0 ไมโครเมตรเจริญได้ในที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ไม่สร้างแคปซูลเคลื่อนที่ด้วยแฟลเจลลาที่ยาวและมีอยู่รอบเซลล์ (peritrichous flagella) ยกเว้น *Salmolla Pullorum, S.* Gallinarum และบางสายพันธุ์ที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ใน *S.* Enteritidis และ*S.* Paratyphi A สร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้เป็นจำนวนมากในอาหารเลี้ยงเชื้อTriple sugar iron agar (TSI agar) มีโคโลนีขนาดเสข้นผ่าศูนย์กลาง 2 - 4 มิลลิเมตรขอบเรียบผิวมันไม่มีสี และเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั่ว ๆไปโคโลนีมีลักษณะกว้างหนาสีเทาปนขาวค่อนข้างกลมลักษณะรูปโดมและเป็นเมือก ส่วนความโปร่งแสงและขนาดจะแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์อุณหภูมิที่เจริญได้ 37 - 40 องศาเซลเซียสแต่เจริญได้ดีที่สุดที่ 42 องศาเซลเซียสในช่วง pH 4.5 - 9.0 aw ที่เหมาะสมต่อการเจริญประมาณ0.93 - 0.99 ภายใต้อุณหภูมิและอาหารที่เหมาะสมค่า pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 6.5 - 7.5 จะแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์และอุณหภูมิที่ใช้บ่มเชื้อความทนทานของเชื้อ *Salmonella* ไม่ทนความร้อนถูกทำลายที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเวลานาน 1 ชั่วโมงหรือที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนาน 15 - 20 นาที หรือที่62 องศาเซลเซียสนาน 4 นาที Salmonella Senftenberg เป็นสายพันธุ์ที่ทนความร้อนได้ดีกว่า *Salmonella* ทั่วๆไปถึง10 - 20 เท่าโดยใช้ความร้อนถึง 62 องศาเซลเซียสนาน 1 ชั่วโมงการใช้ความเย็นหรืออุณหภูมิต่ำไม่สามารถทำลาย *Salmonella* เพียงแต่ยับยั้งการเจริญของเชื้อและจะหยุดการเจริญเมื่อค่า pH สูงกว่า9.0 หรือต่ำกว่า 4.0 ส่วนอุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียสหรือสูงกว่า 44 - 47 องศาเซลเซียสจะยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* บางชนิดได้นอกจากนี้ยังทนต่ออุณหภูมิต่ำได่ดี เช่นภาวะอุณหภูมิแช่แข็งเชื้อไม่สามารถเพิ่มจำนวนแต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิหรือนำอาหารมาไว้ที่อุณหภูมิห้องหลังจากเก็บในอุณหภูมิต่ำนานจะทำให้เชื้อเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ดังนั้นก่อนการแช่แข็งควรลวกอาหารก่อนจะทำให้ปลอดเชื้อมากที่สุดซึ่ง *Salmonella* สามารถทนต่อสารเคมีบางชนิด เช่น บริลเลียนกรีนโซเดียมเตตราไธโอเนตและโซเดียมดีออกซีคลอเรต ซึ่งสาร เหล่านี้ใช้ทำลายโคลิฟอร์มแบคทีเรียจึงสามารถจำแนก *Salmonella* จากอุจจาระได้และยังถูกทำลายได้ด้วยสารเคมีต่าง ๆ เช่นฟีนอลเมอคิวริกคลอไรด์และฟอร์มาลดีไฮด์ ส่วนคลอรีนและโพแทสเซียมเพอร์แมงกาเนตใช้ทำลายเชื้อได้แต่ต้องใช้เวลานาน พบว่ายาบางชนิดสามารถทำลาย *Salmonella* ได้ เช่นเจนตามัยซินโคลิสตินและกรดพาลิติชิดเป็นต้นแต่ *Salmonella* หลายซีโรวาร์ (serovars) ก็ทนต่อยาปฏิชวนะ เช่นซัลโฟนาไมดช์ สเตรปโตมัยซินคลอแรมเฟนิคอลเททราไซคลินและแอมพิซิลลิน (อรุณ, 2541)

การทำให้เกิดโรค

Salmonella เป็นเชื้อที่พบโดยทั่วไปในสัตว์ปีก สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมรวมทั้งมนุษย์สามารถก่อให้เกิดได้ในผู้ที่มีความต้านทานต่ำหรือได้รับเชื้อเข้าสู่ร่างกายเป็นจำนวนมาก สาเหตุทั่วไปของการติดเชื้อเกิดจากการรับประทานอาหารหรือน้ำที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปผู้ที่ได้เชื้ออาจมีอาการหรือไม่มีอาการของโรคปรากฏอาการของโรคที่เกิดจาก *Salmonella* จำแนก เป็น 3 แบบคือ

1. Enteric fevers ได้แก่โรคไข้ไทฟอยด์ พาราไทฟอยด์ เชื้อที่เป็นสาเหตุของไข้ไทฟอยด์ได้แก่ *S. Typhi* เชื้อนี้ต่างกับ *Salmonella* สายพันธุ์อื่นคือไม่ให้ก๊าซจากการย่อยน้ำตาลให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์น้อยมี วีไอแอนติเจนและมี เอชแอนติเจนเพียงเฟสเดียวเชื้อที่เป็นสาเหตุของไข้พาราไทฟอยด์ได้แก่ *S.* Paratyphi A, *S.* Paratyphi B, *S.* Paratyphi C โรคไข้ไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์เกิดเฉพาะในคนเท่านั้นสาเหตุในการติดเชื้อคือได้รับเชื้อปนเปื้อนเข้าไปในอาหารและน้ำดื่มเชื้อจะเข้าสู่กระเพาะอาหารลำไส้เล็กไปตามทางเดินอาหารต่อมน้ำเหลืองและเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิต ผู้ป่วยที่มีอาการเฉียบพลันสามารถตรวจพบเชื้อได้ในกระแสโลหิตเชื้อสามารถเข้าไปยังอวัยวะต่าง ๆ ได้รวมทั้งไตไขกระดูกลำไส้ถุงน้ำดี เชื้อขับออกจากอุจจาระและพบในปัสสาวะทำให้มีการอักเสบของ lymphoid tissue ต่าง ๆ บางครั้งทำให้เยื่อหุ้มกระดูกปอดมีอาการอักเสบได้ ระยะฟักตัวของโรคประมาณ 7 - 14 วันผู้ป่วยมีอาการไข้สูงปวดศีรษะปวดเมื่อยตามตัวเซื่องซึมเบื่ออาหารมีอาการท้องอืดหรือท้องผูกม้ามโต ต่อมาอาจมีอาการอุจจาระร่วงอาจมีเลือดปนกับ อุจจาระด้วยหากมีการทำลายเยื่อบุลำไส้เป็นจำนวนมากอาจทำให้เกิดลำไส้ทะลุได้

2. Septicemia เชื้อเข้าสู่กระแสโลหิตโดยตรงสามารถตรวจพบเชื้อในกระแส โลหิตโดยไม่มีอาการของโรคอุจจาระร่วงผู้ป่วยมีอาการไข้สูงเป็นระยะ ๆ ตับและม้ามโต น้ำหนักลด เซื่องซึมอาจทำให้เกิดอาการปอดบวมเยื่อหุ้มสมองอักเสบเยื่อบุลิ้นหัวใจอักเสบเชื้อที่เป็นสาเหตุ ได้แก่ *S.* Choleraesuis

3. Gastroenteritis เชื้อ *Salmonella* ส่วนมากทำให้เกิดอาการแบบที่ 3 นี้โดยเชื้อ ติดไปกับอาหารประเภทเนื้อสัตว์ ไข่ นมหรือสิ่งอื่น ๆ เมื่อผู้ป่วยรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปเชื้อจะแทรกเข้าไปอยู่ในเยื่อบุลำไส้ใหญ่และลำไส้เล็กส่วนกลางระยะฟักตัวของเชื้อประมาณ 8 - 24 ชั่วโมงผู้ป่วยจะมีอาการอักเสบปวดท้องคลื่นไส้อาเจียนท้องร่วงมีไข้เล็กน้อย

5. Clostridium perfringenes

Clostridium spp. เป็นแบคทีเรียในกลุ่มที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ (anaerobic bacteria) ซึ่งพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ดินน้ำ มูลสัตว์ นอกจากนี้ยังพบได้ในลำไส้ของคนและ สัตว์ โดยมีทั้งที่ทำให้เกิดโรคและไม่ทำให้เกิดโรค *Clostridium* spp. มีรูปร่างเป็นท่อนติดสี แกรม บวกสร้างเอนโดสปอร์ได้ตำแหน่งและรูปร่างของสปอร์จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของ *Clostridium* spp. เช่น *C.* perfringens มีสปอร์รูปไข่อยู่ค่อนไปทางปลายด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ ทำให้เกิดโรค gas gangrene ซึ่งทำให้แผลเกิดการบวมมีก๊าซอยู่ภายในแผลมีสีคล้ำและมีกลิ่นเหม็น แต่ถ้าเป็น *C.* perfringens ชนิด A จะทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารเนื่องจาก

enterotoxin ที่สร้างขึ้นโดยมีอาการปวดท้องอย่างรุนแรงอุจจาระร่วงอาจมีอาการคลื่นไส้และอาเจียนร่วมด้วย ส่วนใหญ่มักปรากฏอาการภายใน 8 - 24 ชั่วโมง ถ้าเป็น *C.* perfringens ชนิด C จะทำให้เกิด necrotizing jejunitis ผู้ป่วยจะมีอาการปวดท้องอย่างรุนแรงอุจจาระเป็นเลือดคลื่นไส้อาเจียนเกิดภาวะร่างกายขาดน้ำและช็อครวมถึงมีสารพิษในกระแสเลือดทำให้ผู้ป่วยมีอาการรุนแรงจนถึงตายได้ (พงษ์เทพ, 2540)

Clostridium spp. ที่มีบทบาทสำคัญในสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์ประมง ได้แก่ *C.* botulinum และ *C.* perfringens โดยจะพบแบคทีเรียชนิดนี้ในระบบทางเดินอาหารและสิ่งขับถ่ายจากสัตว์น้ำที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตและในส่วนผสมต่าง ๆ นอกจากนี้กระบวนการผลิตที่ไม่เหมาะสม เช่นการให้ความร้อนในการฆ่าเชื้อที่ไม่เพียงพอกระบวนการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะการเก็บรักษาที่ไม่ถูกต้องจะมีผลทำให้มี *Clostridium* spp. ปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์โดยเฉพาะในลักษณะของสปอร์ซึ่งจะสามารถเจริญและเพิ่มจำนวนมากขึ้นเมื่อสภาวะเหมาะสมเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของ *Clostridium* spp. และสารพิษที่เชื้อสร้างขึ้นเข้าไปภายในร่างกาย (มัทนา, 2538)

สภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญ

1. อุณหภูมิประมาณ 43 - 47 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิสูงสุดที่จุลินทรีย์ชนิดนี้ สามารถเจริญได้คือ 55 องศาเซลเซียสการเจริญจะถูกยับยั้งที่อุณหภูมิ 15 - 20 องศาเซลเซียส

2. pH จุลินทรีย์ชนิดนี้ไม่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มี pH น้อยกว่า 5.0 หรือpH สูงกว่า 9.0

3. *C.* perfringens จะถูกยับยั้งการเจริญในอาหารที่มีเกลือร้อยละ5 (aw 0.97)

4. *C.* perfringens เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มที่เจริญได้โดยใช้อากาศเพียงเล็กน้อย (microaerophile) ดังนั้นบริเวณผิวหน้าอาหารที่สัมผัสกับอากาศจึงตรวจไม่พบจุลินทรีย์ชนิดนี้

5. a_w ขีดจำกัดการเจริญของ *C.* perfringens อยู่ในช่วง 0.95 - 0.96 ที่ pH 5.5 - 7.0 เมื่อใช้กลูโคสเป็นตัวลดค่า a_w ในอาหาร (Troller, 1979)

การทำให้เกิดโรค

การได้รับเซลล์ที่มีชีวิตของ *C. perfringens* จำนวน 10^6 CFU/g จะทำให้เกิด อาการเจ็บป่วยได้ อาการจะเกิดภายใน 8 - 24 ชั่วโมง (โดยเฉลี่ย12 ชั่วโมง) นับตั้งแต่บริโภคเข้าไปลักษณะอาการ เช่นท้องเสียมีก๊าซในกระเพาะเป็นไข้ คลื่นไส้อาเจียนมีอาการปวดในช่องท้องแบบเฉียบพลัน (Frazier, 1984)

การป้องกันการเกิดอาหารเป็นพิษอันเนื่องจาก *C.* perfringens

1. บุคคลที่เกี่ยวข้องหรือสัมผัสกับอาหารจะต้องมีอนามัยส่วนบุคคลดี

2. สำหรับอาหารที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนจะต้องให้เย็นอย่างรวดเร็วและเพียงพอ

3. ควรมีการให้ความร้อนกับอาหารใหม่อีกครั้งโดยการหุงต้มก่อนนำมารับประทานเพื่อทำลายเซลล์และสปอร์ของ *C.* perfringens (Frazier, 1984)

6. ปริมาณยีสต์และรา

ยีสต์ (yeast) และรา (mold) เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีลักษณะเซลล์เป็นแบบ eucaryotic cell ที่อยู่เซลล์เดี่ยว ๆ หรือเป็นสายพบในธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมทั่วไป เช่นในดิน น้ำ อากาศ อาหาร รวมทั้งร่างกายมนุษย์และสัตว์ ยีสต์และราส่วนใหญ่เป็นพวก heterotrophs จึงไม่สามารถสังเคราะห์ สารอินทรีย์ขึ้นมาใช้เองได้ต้องอาศัยสารอินทรีย์จากสิ่งมีชีวิตอื่นเจริญได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจน (obligate aerobes) แต่มีบางชนิดที่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนซึ่งส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมัก (fermentation) ยีสต์และราสามารถเจริญในสภาวะที่มีค่าpH 2 - 9 แต่เจริญได้ดีในสภาวะที่เป็นกรด pH ประมาณ 3.5 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ ระหว่าง 10 - 35 องศาเซลเซียสสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีค่า a_w ต่ำถึง 0.85 แต่โดยทั่วไป ยีสต์มักต้องการปริมาณน้ำอิสระสำหรับการเจริญมากกว่ารา

ยีสต์และราเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้สัตว์น้ำเกิดโรครวมทั้งทำให้สัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์เกิด การเสื่อมคุณภาพถึงขั้นเน่าเสียการปนเปื้อนอาจเกิดได้หลายขั้นตอน เช่นแหล่งน้ำที่มีสัตว์น้ำอาศัย อุปกรณ์การจับภาชนะบรรจุวัตถุดิบที่ใช้เป็นส่วนประกอบและกระบวนการผลิตการเก็บรักษาที่ไม่ ถูกสุขลักษณะการพบยีสต์และราปนเปื้อนในสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์นอกจากทำให้เป็นที่น่ารังเกียจ เกิดการเสื่อมคุณภาพและเน่าเสียแล้วยังสามารถก่อให้เกิดโรคกับมนุษย์ได้โดยตรงโดยเฉพาะกลุ่ม ที่สร้างสารพิษ เช่น ราในสกุล *Aspergillus* สามารถสร้าง aflatoxin ที่ทนต่อความร้อนในระหว่างการแปรรูปและการปรุงได้ ถึงแม้จุลินทรีย์จะถูกทำลายไปแล้วก็ตามซึ่ง aflatoxin เป็นสารพิษที่มี ความรุนแรงสูงถ้าสะสมในร่างกายมาก ๆ จะทำให้เกิดมะเร็งในตับ นอกจากนี้ยีสต์และราบางชนิด ยังก่อให้เกิดอาการภูมิแพ้ (allergy) หรือเกิดการติดเชื้อที่รุนแรงได้

คุณภาพมาตรฐานทางเคมีของกะปิ

1. ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์

เกลือที่ใช้ในอาหารถือว่าเป็นสารที่ทำให้เกิดรสเค็มในอาหารและสามารถในการป้องกัน การบูดเสียของอาหารได้จึงใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมาเป็นเวลานานเนื่องจาก

1. เกลือเป็นตัวลด aw ของอาหารลงเนื่องจากเกลือละลายน้ำน้ำจะถูกแรงดึงตัวเกาะกันกับ เกลือเกิดเป นion hydration คุณสมบัติหรือความอิสระของน้ำจึงเปลี่ยนไป

2. ในสารละลายเกลือมีการ dehydration ของเซลล์เกิดขึ้นอันเนื่องจากosmotic pressure และเป็นเหตุให้เซลล์จุลินทรีย์เกิดการเสียน้ำอย่างแรง (plasmolysis) และหยุดการเจริญ

3. เกลือมีพิษต่อจุลินทรีย์โดยตรงFabian and Winslow (1929) แสดงให้เห็นว่าอนุมูลของ sodium, potassium, calcium, magnesium มีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์เมื่อมีมากเกินความต้องการ Frazier (1967) กล่าวว่า sodium chloride มีความเป็นพิษมากกว่า potassium chloride (KCl) และ เกลือsodium sulfate

(Na SO) มีความเป็นพิษมากกว่า sodium chloride ซึ่งอนุมูลของ chloride (Cl) ก็มีความเป็นพิษในตัวเอง (Desrosier, 1970)

4. น้ำเกลือช่วยลดการแพร่หรือการซึมของออกซิเจนจึงทำให้ออกซิเจนซึมเข้าไปในสาร ละลายได้น้อยลงจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนจะเจริญได้ยากขึ้น

5. เกลือเป็นตัวทำลายเอนไซม์บางชนิดเกลือที่มีความเข้มข้นสูงจะทำให้โปรตีนบางชนิดเกิดการเปลี่ยนแปลง (denature) เนื่องจากกระบวนการ salt - out จึงทำให้จุลินทรีย์หยุดการเจริญ

2. วัตถุเจือปนอาหาร (สี)

สีของอาหารถือว่าเป็นคุณลักษณะแรกๆที่มีผลต่อความรู้สึกของมนุษย์ซึ่งผู้บริโภคอาศัย เป็นเครื่องบอกคุณภาพเพื่อตัดสินใจซื้อนอกเหนือจากคุณลักษณะทางจุลชีววิทยาหรือความสะอาด แล้วลักษณะสี กลิ่นรสเนื้ออาหารและคุณค่าทางโภชนาการก็ใช้เป็นสิ่งตัดสินคุณภาพอาหารด้วย รสนิยมของประชาชนในเรื่องสีของอาหารได้รับอิทธิพลจากลักษณะทางภูมิศาสตร์ทางสังคมและ วัฒนธรรมสีช่วยให้เราจดจำอาหารนั้นๆ ได้ และในขณะเดียวกันก็เย้ายวนจิตใจให้เกิดความรู้สึก อยากรับประทานอาหารหรือทำให้เพลิดเพลินกับการรับประทานอาหารนั้นสีเป็นสิ่งแรกที่รู้สึกด้วย สายตาก่อนการรับรู้ถึงรสชาติและลักษณะเนื้ออาหารความรู้สึกตอบสนองเบื้องต้นของการยอมรับหรือปฏิเสธอาหารึจงขึ้นกับว่าอาหารนั้นดูเหมือนอะไรมากกว่าต้องการรู้ว่าอาหารนั้นมีรสชาติเป็น อย่างไรด้วยเหตุนี้การเติมสารสีลงในผลิตภัณฑ์อาหารจึงได้ปฏิบัติกันมาแต่สมัยโบราณ (อุดมและคณะ, 2524)

สี เป็นวัตถุเจือปนชนิดหนึ่งที่ไม่มีประโยชน์ต่อร่างกายแต่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการผลิต อาหารเพื่อแต่งสีอาหารที่ได้ผ่านขั้นตอนในการผลิตแล่วสีซีดจางจึงจำเป็นต้องเติมสีลงในอาหาร ปริมาณเล็กน้อยเพื่อให้อาหารนั้นมีสีสวยสดขึ้นคล้ายสีเดิมตามธรรมชาติ นอกจากนี้ยังช่วยตบแต่งสี วัตถุดิบที่นำมาผลิตอาหารซึ่งมีสีแตกต่างกันไปเล็กน้อยให้มีสีสวยงามสม่ำเสมอกัน

สีที่ใช้ผสมอาหารแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ

1. สีสังเคราะห์ มีจำหน่ายทั่วไปใน 2 ลักษณะคือสีชนิดผงและชนิดน้ำซึ่งได้ จากการสังเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์เป็นสีสดใสสวยงามติดทนนานทั้งสามารถกำหนดปริมาณการ ใช้ได้สะดวกและมีสีให้เลือกมากชนิดตามต้องการึจงนิยมใช้ผสมอาหารมากกว่าสีธรรมชาติ

2. สีธรรมชาติ ได้แก่สีที่ได้จากสัตว์พืชผักและผลไม้ต่าง ๆ เช่นสีแดงจากตัวครั่ง สีเขียวจากใบเตยสีเหลืองจากขมิ้น เป็นต้น

สิ่งปลอมปนและสิ่งแปลกปลอม(extraneous matter)

สิ่งปลอมปนคือสิ่งที่ผู้ผลิตตั้งใจเติมลงไปในผลิตภัณฑ์เพื่อจุดประสงคบางอย่างซึ่งเป็นการเอาเปรียบผู้บริโภค เช่น ลดต้นทุนการผลิตที่ผู้ผลิตบางรายได้เติมแป้งหรือมันปะหลังต้มซึ่งมีราคาถูกเพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณของกะปิ

สิ่งแปลกปลอมในอาหารในยุคโลกาภิวัฒน์เป็นระบบการค้าเสรี ไม่มีการกีดกันทางการค้า ทุกคนต้องพยายามแข่งขันกันในด้านคุณภาพแต่ในขณะเดียวกันผลิตภัณฑ์อาหารจากประเทศไทย จำนวนมากยังประสบ

ปัญหาถูกกักกันเนื่องจากผลิตภัณฑ์มีสิ่งแปลกปลอมจากแมลงหนูนกรวม ทั้งสิ่งอื่น ๆ ที่ไม่พึงประสงค์สินค้าที่ถูกกักกันเหลข่านี้อาจถูกส่งคืนประเทศผู้ผลิตหรือทำลายแล้วแต่ กรณี ซึ่งเป็นปัญหาที่ทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจที่ผู้ประกอบการสามารถป้องกันมิให้เกิดขึ้นได้ โดยการใช้สุขาภิบาลอาหารที่ดี หากผู้นำเข้าสามารถทำให้ถูกต้องตามระเบียบก็จะได้รับอนุญาตให้จำหน่ายในประเทศสหรัฐอเมริกา

สิ่งแปลกปลอมหมายถึงสิ่งที่แปลกแตกต่างไปจากที่ควรมีในผลิตภัณฑ์ปกติ ซึ่งอาจจะเกิดจากภาวะหรือวิธีปฏิบัติที่ไม่พึงประสงค์ในกระบวนการผลิตการเก็บและการจัดจำหน่ายผลิตภัณฑ์ รวมทั้งสิ่งสกปรกสิ่งที่เกิดจากการเสื่อมสลาย (เนื้อเยื่อที่เสื่อมสภาพเนื่องจากพยาธิหรือสิ่งที่ไม่ใช่พยาธิ) และสิ่งอื่น ๆ เช่นทราย แก้ว ดิน โลหะ ไม้ คราบไขมัน เป็นต้น (รมณี, 2538)

สิ่งแปลกปลอม(filth) AOAC(1984) หมายถึงสิ่งไม่พึงประสงค์ใดๆที่มาจากการปนเปื้อน ของสัตว์ลงในผลิตภัณฑ์ได้แก่ชิ้นส่วนของสัตว์แทะ เช่นหนู แมลงหรือนกหรือสิ่งที่ไม่พึงประสงค์อื่นๆ ที่เกิดจากการการปฏิบัติที่ไม่ถูกหลักสุขาภิบาลการปนเปื้อนด้วยสิ่งสกปรกอาจจะเกิดในช่วง ของกระบวนการผลิตการเก็บและการจัดจำหน่ายผลิตภัณฑ์โดยตรงโดยมาจากการปนเปื้อนด้วยชิ้น ส่วนหรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์หรือแมลงที่ไม่พึงประสงค์ลงไปในผลิตภัณฑ์ สัตว์หรือแมลงที่ไม่พึง ประสงค์เหล่านี้อาจเรียกรวมกันว่า “สัตว์รบกวน” (pest) สามารถจำแนกประเภท filth ตามวิธีการ แยกคุณลักษณะอื่น ๆ ได้ 3 ประเภทคือ

ก) Heavy filth หมายถึงสิ่งแปลกปลอมใด ๆ ที่มีน้ำหนักมากพอที่จะแยกออกมา จากผลิตภัณฑ์ได้โดยการทำให้ตกตะกอนซึ่งอาศัยความแตกต่างระหว่างความหนาแน่นของสิ่ง แปลกปลอมกับอนุภาคของอาหารและของเหลวที่ใช้ในการแยกอนุภาคตัวอย่าง เช่นตัวแมลงที่มีขนาดและน้ำหนักมากพอที่จะตกตะกอนได้ดินและทรายเป็นต้น

ข) Light filth หมายถึงวัสดุหรือชิ้นส่วนแปลกปลอมใด ๆ ก็ตามที่มีขนาดเล็กเบา มองไม่เห็นด้วยตาเปล่าและสามารถแขวนลอยได้ในน้ำมัน (oleophilic) ซึ่งแยกออกจากผลิตภัณฑ์ อาหารได้โดยอาศัยการลอยตัว

ค) Sieved filth หมายถึงสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดเฉพาะสามารถแยกออกจากอาหารได้โดยการร่อนและเลือกขนาดของตะแกรง (อรุณี, 2534)

อรุณี (2534) รายงานผลวิเคราะห์ปริมาณ light filth ในกะปิ โดยจำแนกตามกลุ่มราคาคือ กลุ่มกะปิราคาถูกปานกลางและราคาแพง พบว่ากะปิราคาถูกพบแมลงและมดปริมาณ 1 - 2 ตัวต่อ ตัวอย่างกะปิ 25 กรัมกะปิราคาปานกลางและราคาแพงพบแมลงและมดอยู่ประมาณ 1 ตัวต่อกะปิ 25 กรัมโดยกะปิราคาถูกจะมีสุขลักษณะการผลิตไมดีเท่ากะปิที่มีราคาแพงกว่า

ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อสุขภาพ

ร่างกายได้รับโซเดียมจากอาหารควบคู่กับคลอไรด์ในรูปโซเดียมคลอไรด์ ในวันหนึ่ง ๆ ร่างกายได้รับอาหารประจำวันค่อนข้างสูงเกินความต้องการของร่างกาย สำหรับ คนไทยที่อายุตั้งแต่ 6 ปีขึ้นไป กำหนดไว้ว่าไม่ควรเกิน

2,400 มิลลิกรัม หรือเทียบเป็นปริมาณเกลือก็เท่ากับ 6 กรัม แต่ความเป็นจริงของปริมาณโซเดียมที่คนไทยบริโภคกันตอนนี้กลับสูงถึง 4,500 มิลลิกรัมต่อวัน และยิ่งถ้าเป็นคนชอบทานรสเค็มก็จะสูงถึง 5,800 มิลลิกรัม โดยสภาวะที่ร่างกายขาดโซเดียมจึงไม่ค่อยพบในผู้ที่มีสุขภาพสมบูรณ์ในภาวะปกติ ถ้าร่างกายได้รับโซเดียมมากเกินไปอาจจะทำให้เกิดสภาวการณ์บวมน้ำ ทำเส้นเลือดในสมองโป่งพองเกิดเลือดออกในสมอง ได้มีการศึกษาทางระบาดวิทยาในประชากรหลายกลุ่ม พบว่า การกินอาหารที่มีโซเดียมมากเป็นประจำมีความสัมพันธ์กับการเกิดความดันโลหิต (Antonios and MacGregor, 1997) การที่ได้รับอาหารที่มีโซเดียมสูงไม่ก่อให้เกิดประโยชน์และการที่ได้รับอาหารที่มีโซเดียมต่ำไม่ก่อให้เกิดอันตราย แถมยังป้องกันการเกิดความดันโลหิตสูงในกลุ่มประชาการที่เสี่ยงต่อโรคนี้ด้วย ปัจจุบันพบปัญหาการควบคุมปริมาณการบริโภคโซเดียมสูงมากกว่าปัญหาด้านการขาดแคลนโซเดียมของร่างกาย เกลือโซเดียมคลอไรด์ที่บริโภคเข้าสู่ร่างกายมีการดูดซึมที่สำไส้เล็ก ทำให้เพิ่มปริมาณโซเดียมในเซลล์อย่างรวดเร็ว ภาวะที่เลือดมีปริมาณโซเดียมสูงผิดปกติเรียกว่า hypernatermia ทำให้ไตทำงานหนักในการกำจัดโซเดียมส่วนเกิน เพิ่มแรงดันออสโมติกในเลือดและทำให้หัวใจทำงานหนัก ปัจจุบันมีงานวิจัยค่อนข้างแน่นอนว่าปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่บริโภคในแต่ละวันมีผลต่อโรคความดันโลหิตสูง (Pearson and Wolzak, 1982) ซึ่งนำไปสู่โรคหัวใจล้มเหลวและโรคไตวายได้

ผลของเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ต่อสุขภาพ

โปแตสเซียมเป็นอิออนบวกที่สำคัญของน้ำในเซลล์ ช่วยควบคุมแรงดันออสโมติคภายในเซลล์ ช่วยรักษาสมดุลและความเป็นกรด-ด่างของน้ำ ช่วยในการหดตัวของกล้ามเนื้อและเป็นตัวกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์หลายตัว โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เกี่ยวกับ glycolysis และ oxidative phosphorylation โปแตสเซียมจากอาหารถูกดูดซึมจากลำไส้ได้มากกว่าร้อยละ 90 ส่วนใหญ่จะถูกขับถ่ายออกทางปัสสาวะและเหงื่อ (Guthrie, 1979) ในสภาวะปกติผู้ใหญ่ที่ร่างกายสมบูรณ์สามารถรักษาสมดุลโปแตสเซียมได้ ภาวการณ์ขาดโปแตสเซียมจึงมีน้อย นักวิจัยหลายท่านชื่อว่า การได้รับโปแตสเซียมอิออนช่วยลดความดันโลหิตและลดการเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจวายได้ (Antonios and MacGregor, 1997)

ภาวะการขาดโปแตสเซียม

ปริมาณโปแตสเซียมในร่างกายสามารถวัดได้จากการตรวจเลือด แต่ก็มีคนบางกลุ่มซึ่งมีน้อยมากที่ขาดโปแตสเซียมได้ ซึ่งต้องมีสาเหตุมาจากการสูญเสียจากสภาวะบางอย่าง เช่น การสูญเสียน้ำจากร่างกาย อาเจียนหรือท้องร่วง เป็นระยะเวลานาน หรือการใช้ยาบางชนิดเป็นประจำ เช่น ยาขับปัสสาวะ สเตียรอยด์ ยาระบาย ทำให้ระดับโปแตสเซียมในเลือดต่ำกว่ามาตรฐาน (Hypokalemia) โดยจะมีอาการอ่อนเพลีย การทำงานของกล้ามเนื้อเสื่อม กล้ามเนื้อไม่มีแรง นอกจากนี้ยังอาจมีสาเหตุมาจากโรคบางชนิดที่เกี่ยวกับต่อมหมวกไต การเพิ่ม

ปริมาณโปแตสเซียมคือเลือกกินอาหารที่มีโปแตสเซียมสูง และหากจำเป็นจริงๆ ด้วยสาเหตุของโรคภัยที่ทำให้ระดับโปแตสเซียมต่ำ

ภาวะการเป็นพิษจากการได้รับโปแตสเซียมมากเกินไป

ในทางตรงกันข้ามถ้าได้รับโปแตสเซียมมากเกินไปก็จะเกิดภาวะการเป็นพิษขึ้นได้ เช่น ในทารก หรือผู้ที่เป็นโรคหัวใจ ทำให้เกิดระคายเคืองกับระบบทางเดินอาหาร และโดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ที่มีสมรรถภาพของไตทำงานได้ไม่ดีจะมีผลทำให้เกิดโปแตสเซียมในเลือดสูง (Hyperkalemia) เพราะไม่สามารถขับออกจากร่างกายได้ ปริมาณโปแตสเซียมสูงในร่างกายจะทำให้การทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจผิดปกติ หากไม่ได้รับการรักษาอาจทำให้หัวใจหยุดเต้นได้ จึงต้องลดอาหารที่มีปริมาณโปแตสเซียมสูงลงและรักษาที่โรคต้นเหตุ

ผลของเกลือแคลเซียมคลอไรด์ต่อสุขภาพ

ร่างกายมีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบร้อยละ 1.5 -2.0 ของน้ำหนักร่างกาย ประมาณร้อยละ 90 อยู่ในกระดูกและฟันที่เหลืออยู่ในเนื้อเยื่ออ่อนและส่วนที่เป็นของเหลว ในส่วนของซีรัมมีแคลเซียม 9.0 – 11.0 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ประมาณร้อยละ 60 อยู่ในรูปที่ละลายได้และ ionize ส่วนที่เหลือจะยึดเกาะกับโปรตีน หน้าที่สำคัญของแคลเซียมคือ เป็นส่วนประกอบของกระดูกและฟัน ส่วนแคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) ในโลหิตมีหน้าที่สำคัญหลายอย่างได้แก่ ช่วยให้โลหิตแข็งตัว ทำให้โลหิตหยุดไหลเมื่อเกิดบาดแผล เป็นตัวเร่งเอนไซม์บางชนิด รักษาความเป็นกรด-ด่างของโลหิตให้คงที่ ช่วยลดระดับ Strontium 90 ซึ่งเป็นธาตุกัมมันตรังสีที่อาจสะสมในร่างกาย นอกจากนี้ยังช่วยในการทำงานของเนื้อเยื่อประสาทด้วย (ค้วน, 2534) ถ้าระดับของแคลเซียมลดลงจะทำให้เนื้อเยื่อประสาทถูกรบกวน ถ้าต่ำมาก ๆ จะทำให้เกิดการเกร็ง ชัก แต่ถ้าแคลเซียมมากกว่าระดับปกติทำให้ประสาทเกิดการเฉื่อยชา แคลเซียมในระดับพอเหมาะมีความสำคัญอย่างมากต่อการเต้นของชีพจรและการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ

การใช้สารทดแทนโซเดียมคลอไรด์

การที่รับประทานอาหารที่มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์สูงเป็นประจำมีความสัมพันธ์กับการเกิดความดันโลหิตสูง ซึ่งนำไปสู่โรคหัวใจล้มเหลวและโรคไตวายได้ จึงได้มีการนำเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ เช่น ค่าความถ่วงจำเพาะ จุดความชื้นวิกฤต เป็นวาเลนซีเดี่ยว สามารถละลายน้ำได้ดี ละลายได้เล็กน้อยในแอลกอฮอล์ และไม่สามารถละลายในแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (Lewis, 1989) มาทดแทนเกลือโซเดียมคลอไรด์ แต่เกลือโปแตสเซียมคลอไรด์เมื่อเติมในปริมาณมาก จะเกิดรสขม จึงทำให้สามารถทดแทนได้เพียงบางส่วนเท่านั้น นอกจากนี้ Frank and Mickelsen (1970) พบว่าการใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์และเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ผสมกัน สามารถลดระดับความขมของเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ได้

อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free radical) คือโมเลกุลที่ขาดอิเล็กตรอนไป 1 ตัว ทำให้ตัวของมันเองไม่เสถียร จึงทำให้เกิดการแย่งชิงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นๆไปตลอดเวลา จนเกิดเป็นปฏิกิริยาที่เรียกกันว่าปฏิกิริยาลูกโซ่ สำหรับผิวหนังของมนุษย์เมื่อถูกอนุมูลอิสระเข้ามาจับกับคอลลาเจนทำให้คอลลาเจนถูกทำลาย ส่งผลให้ผิวหนังของมนุษย์ขาดความแข็งแรง แก่ก่อนวัย ซึ่งอนุมูลอิสระสามารถพบได้รอบตัวเรา ได้แก่ แสงแดด ฝุ่นละออง ควันบุหรี่ ควันพิษ สารเคมี เป็นต้น และปัจจุบันมลพิษต่างๆมีเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมากส่งผลให้กับสุขภาพผิวพรรณหรือ อนุมูลอิสระ เป็นสารที่มีอะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว (singlet หรือ unpaired electron) เป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย จำนวนอิเล็กตรอนไร้คู่นี้อาจมีหนึ่งตัวหรือหลายตัวต่อหนึ่งอนุมูลอิสระก็ได้ ปรกติอะตอมหรือโมเลกุลที่เสถียรจะต้องมีจำนวนอิเล็กตรอนอยู่เป็นคู่ๆเสมอ หากมีอิเล็กตรอนขาดหรือเกินกว่าเดิมเพียงหนึ่งตัว อะตอมหรือโมเลกุลจะว่องไวต่อปฏิกิริยามาก ต้องหาทางจับหรือทำปฏิกิริยากับอะตอมของธาตุอื่นเสมอ ตัวอย่างอนุมูลอิสระ คือ Super oxide radical (O2), hydroxyl radical (°OH), peroxyl radical (°OOH) อนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้ทั้งภายในร่างกายและภายนอกร่างกาย เช่น เกิดที่ mitochondria, microsome, peroxisome หรือ เกิดจากสารเคมี รังสี ยาบางชนิด และความร้อน

กลไกการเกิดอนุมูลอิสระเป็นดังต่อไปนี้

1) การแตกของพันธะโควาเลนท์แบบโอโมไลซิส

$$A{:}B \longrightarrow A\bullet + B\bullet$$

2) การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัวให้แก่อะตอมที่เป็นกลาง (ทางไฟฟ้า)

$$A + e^- \longrightarrow A^-\bullet$$

3) การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัวจากอะตอมที่เป็นกลาง (ทางไฟฟ้า)

$$A \longrightarrow A^+\bullet + e^-$$

อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องในทางชีววิทยา สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (Reactive Oxygen Species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (Reactive Nitrogen Species, RNS) และกลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (Reactive Chlorine Species, RCS) (สุภามาศ อินทฤทธิ์, 2547)

สารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

เป็นสารที่สามารถยับยั้งออกซิเดชันในสิ่งมีชีวิต จะมีระบบป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระอยู่แล้ว ซึ่งประกอบได้ด้วยแอนติออกซิแดนท์มากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป บางตัวเป็นเอนไซม์ บางตัวเป็นสารประกอบ บางตัวเป็นสารที่ละลายในน้ำได้ บางตัวละลายได้ในไขมัน แอนติออกซิแดนท์เหล่านี้ทำหน้าที่ในการเป็นตัวป้องกันและกำจัดการก่อตัวของอนุมูลอิสระ นอกนั้นยังทำหน้าที่ซ่อมแซมส่วนที่ถูก

๖ TP
ว๕๘
S7
ก๓๗๕
๒๕๒

สารแอนติออกซิแดนท์ที่มีการนำมาใช้ในปัจจุบัน มีทั้งที่ได้มาจากธรรมชาติ (natural substance) และสารสังเคราะห์ (syntheric substance) (โอภา วัชระคุปต์, 2549)

สารแอนติออกซิแดนท์ในธรรมชาติ

สารธรรมชาติที่มีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ได้ จะเกี่ยวข้องกับความสามารถในการให้ไฮโดรเจนของหมู่ OH ในสารประกอบฟีนอล ความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของสาร (antioxidant activity, AOA) ขึ้นอยู่กับตำแหน่งและจำนวนของหมู่ OH รวมทั้งโครงสร้างอื่นๆของโมเลกุล สารแอนติออกซิแดนท์ในธรรมชาติที่สำคัญมีดังนี้ (สุภามาศ อินทฤทธิ์, 2547) (โอภา วัชระคุปต์, 2549)

1. สารกลุ่ม monophenol และ phenolic acid

สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอกและพบมากในพืช ผักผลไม้ ชาเขียว ชาดำ และไวน์แดง มีคุณสมบัติเป็นสารอินทรีย์ที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติกที่มีหมู่ไฮดรอกซีอย่างน้อยหนึ่งโมเลกุล ส่วนใหญ่จะพบว่าสารประกอบฟีนอลิกมักจะอยู่รวมกับน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ ฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระที่สำคัญคือ อนุมูลเปอร์ออกซิล มีกลไก 2 แบบ คือเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำ เมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีนอลิกจะหน่วงเหนี่ยวหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่เสถียร ดังนั้นจึงสามารถป้องกันการเกิดขั้นตอน propagation ได้ นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกยังทำหน้าที่เป็น chelating agent ดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล ประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกจะขึ้นอยู่กับตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิล ที่เกาะอยู่กับโครงสร้างหลัก นอกจากนั้นฟีนอลิกจะช่วยเสริมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับ α-Tocopherol ดังแสดงในสมการข้างล่าง(21) (โอภา วัชระคุปต์, 2549)

$$ArOH + R^{\circ} \longrightarrow ArO^{\circ} + RH$$

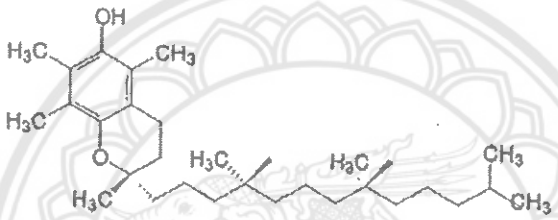
$$ArOH + LOO^{\circ} \longrightarrow Ar^{\circ} + LOOH$$

$$ArO^{\circ} + LH \longrightarrow ArOH + L$$

2. วิตามินอี (Tocopherol)

เป็นวิตามินที่ละลายในไขมัน มีลักษณะเป็นของเหลวหนืด ซึ่งปริมาณวิตามินอีในเลือดของคนปกติมีค่า 1.0 mg/90% ของวิตามินอีในเนื้อเยื่อซึ่งจะอยู่ในรูป Tocopherol สะสมในอวัยวะต่างๆ เช่น เซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์ทั่วๆไป คือ ตับ กล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อไขมัน และต่อมต่างๆ วิตามินอีมีประสิทธิภาพในการทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิแดนท์ได้ดีมาก จะป้องกันกระบวนการออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งเป็นส่วนประกอบของฟอสโฟลิปิดของผนังออร์แกนเนล เนื่องจากวิตามินอีละลายในไขมันได้ดีจะแทรกตัวอยู่ตามเมมเบรน โดยเมื่อเกิด Liquid Peroxidation จะมีการสร้าง Alkoxyl Radicals ขึ้น วิตามินอีจะเข้าจับกับสารดังกล่าวก่อนที่ Peroxyl Radicals และ Alkoxyl Radicals จะไปจับกับกับกรดไขมันอื่น ในช่วงของ Propagation อีกทั้ง

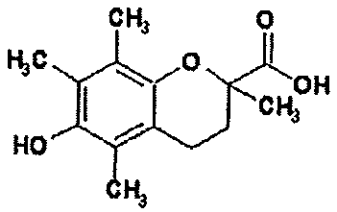
วิตามินอียังทำงานร่วมกับ Glutathione Peroxidase และธาตุ Selenium โดยในช่วงแรกๆ มีการตั้งชื่อวิตามินอีว่า วิตามินป้องกันการเป็นหมัน (antisterility vitamin) เนื่องจากพบว่าวิตามินอีเป็นสารที่จำเป็นสำหรับการสืบพันธุ์ในหนูตัวเมีย ถ้าขาดวิตามินอีจะทำให้ลูกอ่อนตายในครรภ์และแท้งลูก นอกจากนี้ยังพบว่ามีการเรียกวิตามินอีว่า โทโคฟีรอล (tocopherol) ในธรรมชาติมีวิตามินอีอยู่หลายชนิด ปัจจุบันแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ โทโคฟีรอล และโทโคไทรอินอล (tocotrienol) แต่ละกลุ่มยังแยกเป็นวิตามินย่อยๆ อีก 4 ชนิด คือ แอลฟา เบต้า แกมมา และเดลต้า ขึ้นอยู่กับจำนวนและตำแหน่งของหมู่เมธิลที่ติดกับวงแหวนโครเมน (chromanering) โทโคฟีรอลแตกต่างจาก โทโคไทรอินอลตรงที่โครงสร้างของโทโคฟีรอลมีแขนงข้างเป็น 4′, 8′, 12′-trimethyltridecyl เรียกว่า phytol หรือ phytyl side chain ส่วนโทโคไทรอินอลมีแขนงข้างที่มีพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 3′, 7′ และ 11′ เรียกว่า unsaturated side chain



รูป โครงสร้างวิตามินอี (Tocopherol)

3. โทรลอก (trolox)

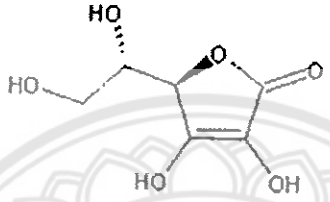
เป็นอนุพันธ์ของวิตามินอี ที่สามารถละลายได้ในน้ำ โดยมีการแทนที่ของส่วนที่ไม่ละลายน้ำด้วยหมู่คาร์บอกซิลิก (-COOH group) ที่เป็นส่วนที่ละลายน้ำได้ trolox เป็นแอนติออกซิแดนท์ที่กำจัดพวกเปอร์ออกซิลและอัลคอกซิล เรดิคัล จากนั้นจะเปลี่ยนรูปเป็น trolox radical โดยวิตามินซี เป็นตัวช่วยให้คืนรูปกลับมา (สุภามาศ อินทฤทธิ์, 2547) (โอภา วัชระคุปต์, 2549)



รูป โครงสร้างของโทรลอก (trolox)

4. วิตามินซี (Ascorbic acid)

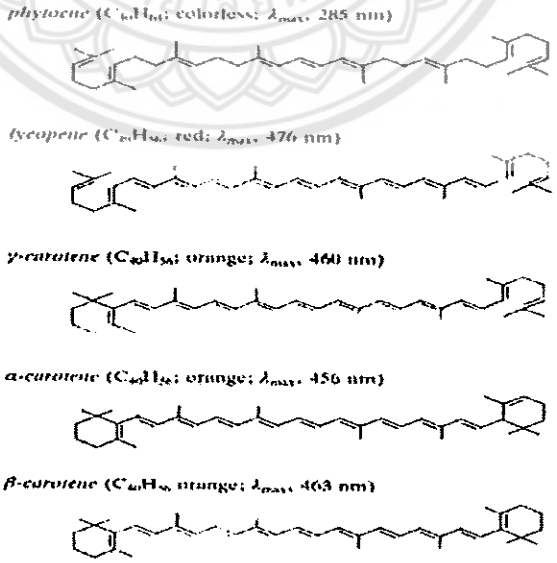
เป็นสาระสำคัญในปฏิกิริยาสายโซ่ของเอนไซม์ที่สำคัญ นอกจากนี้ยังเป็นตัวที่ทำให้วิตามินอี นั้นกลับคืนมาได้ใหม่อีกครั้ง ไวตามินซีเป็นตัวก่อให้เกิดและปกป้องคอลลาเจนเสริมสร้างหน้าที่ของระบบภูมิคุ้มกันให้ดีขึ้น เป็นตัวปรับน้ำตาลในเลือด ปกป้องดวงตาจากการทำลายของแสงอัลตราไวโอเลต ป้องกันการก่อตัวของคลอเรสเตอรอลในผนังเลือดแดง ป้องกันการแข็งตัวของเลือด ช่วยทำให้ปอดทำงานได้ดีขึ้น ช่วยให้มีการดูดซึมเหล็กได้ดีขึ้นที่ลำไส้เล็ก ป้องกันการเปลี่ยนรูปของสารไนไตรท์เป็นสารไนโตรซามีน ซึ่งเป็นสารก่อตัวมะเร็ง และเป็นตัวร่วมในการสร้างฮอร์โมนที่เป็นตัวลดระดับภาวะตึงเครียดและภาวะการอักเสบ (สุภามาศ อินทฤทธิ์, 2547) (โอภา วัชระคุปต์, 2549)



รูป โครงสร้างของวิตามินซี (Ascorbic acid)

5. สารกลุ่มคาร์โรทีนอยด์ (carotenoids)

เป็นสารที่มีกลุ่มพันธะคู่สลับกับพันธะเดี่ยวหรือระบบคอนจูเกต (conjugated system) ในโครงสร้าง เป็นสารที่สามารถยับยั้งการเกิดออกซิดชันของไขมันได้ดี โดยจับกับเปอร์ออกซิลเรดิคอลของกรดไขมัน ทำให้ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้อีก คาร์โรทีนอยด์มีทั้ง α-, β-, γ- และ δ- คาร์โรทีน ละลายในไขมัน เป็นตัวที่มี conjugated ¶-electron มากที่สุด (สุภามาศ อินทฤทธิ์, 2547) (โอภา วัชระคุปต์, 2549)



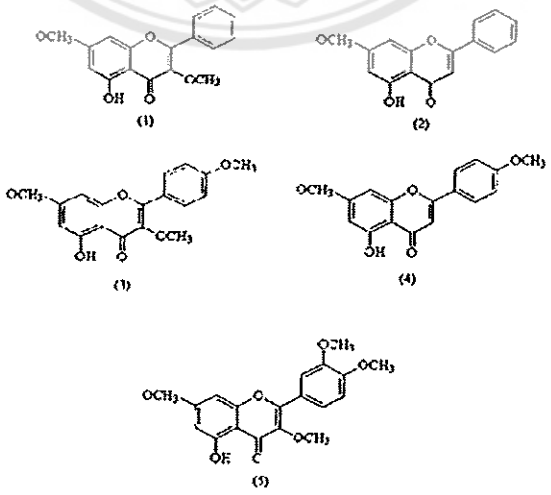
รูป โครงสร้างของกลุ่มคาร์โรทีนอยด์ (carotenoids)

6. สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

เป็นสารที่พบมากที่สุดในธรรมชาติ พบได้ในแทบทุกส่วนของพืช เช่น ราก ลำต้น ใบ ดอกและผล เป็นสารที่ให้สี (pigments) ฟลาโวนอยด์แบ่งออกตามโครงสร้างได้มากกว่า 10 กลุ่ม และในแต่ละกลุ่มยังแบ่งออกเป็นชนิดต่างๆได้อีก จากการศึกษาตั้งแต่ ค.ศ. 1962 ทำให้ทราบถึงบทบาทของฟลาโวนอยด์ในแง่ต่างๆของพืชและสิ่งแวดล้อมอันรวมถึงมนุษย์และสัตว์ ที่เห็นได้ชัด เช่น การล่อแมลงและนกให้มาช่วยขยายพันธุ์พืชด้วยการผสมเกสร ฟลาโวนอยด์ยังช่วยป้องกันพืชจากการรุกรานของราและแบคทีเรียได้อีกด้วย ในอดีตฟลาโวนอยด์ยังได้รับการนิยามว่ามีคุณค่าทางอาหารเรียกว่า ไวตามิน พี (permeability) แต่เมื่อไม่มีการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารนี้จึงเปลี่ยนมาใช้ชื่อว่า bio-flavonoid เชื่อกันว่าสารนี้มีฤทธิ์ต่อหลอดเลือดฝอย

ฟลาโวนอยด์ที่สำคัญทางเภสัชกรรมและการแพทย์แผนปัจจุบันในขณะนี้ ได้แก่ รูทิน (rutin) ช่วยเพิ่มความต้านทานของหลอดเลือดฝอย และสารสกัดจากใบแป๊ะก๊วยช่วยเพิ่มการไหลเวียนของโลหิตไปสมอง และช่วยทำลายอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดความเสื่อมของเนื้อเยื่อในร่างกายมนุษย์ ฟลาโวนอยด์ เป็นสารที่มีสมบัติในการยับยั้งในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ดีมากในอาหารประเภทไขมันและไขมันผสมน้ำ

ในพืชฟลาโวนอยด์เป็นสารอินทรีย์ประเภทโพลิฟีนอล (polyphenol) มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นไดฟีนิลโพรเพน เป็นกลุ่มของสารที่มีคาร์บอน 15 ตัว จัดเรียงตัวแบบ C6-C3-C6 ในระบบ 3 วง เรียก วง A วง B และวง C โดยที่วง A และวง B เป็นหมู่ฟีนิล และวง C เป็นแลคโทน (lactone ring) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของวง C ทำให้แยกฟลาโวนอยด์ ออกเป็นชนิดต่างๆ และการแทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิลที่วง A และวง B ตามตำแหน่งต่างๆ ทำให้เกิดอนุพันธ์ของฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆมากมาย (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ, 2543) (สุภามาศ อินทฤทธิ์, 2547) (โอภา วัชระคุปต์, 2549) (Javanmard J, Stushnoff C, Locke E and Vivanco JM, 2003) (Scartezzini P and Speroin E, 2000)



รูป โครงสร้างของกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

7. สารกลุ่มแทนนิน (tannins)

แทนนิน คือ กลุ่มของสารประกอบที่ได้มาจากส่วนต่างๆของพืช เช่น เปลือก ใบ ผล เปลือกผล ซึ่งมีคุณสมบัติละลายได้ดีในน้ำ สามารถรวมตัวกับโปรตีนในหนังสัตว์ ในปัจจุบันได้มีการนิยามว่า "แทนนิน" คือ สารประกอบฟีนอลิคที่ได้จากธรรมชาติที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 500 และ 3,000 ทั้งยังมีหมู่ฟีนอลิคไฮดรอกซี (phenolic hydroxyl) อิสระอยู่จำนวนหนึ่ง (1-2 ต่อ 100 หน่วย น้ำหนักโมเลกุล) ที่สามารถเกิดการเชื่อมโยงได้กับโปรตีนและสารไบโอโพลิเมอร์ (biopolymer) เช่น เซลลูโลส (cellulose) และเพคติน (pectin) ได้สารใหม่ที่มีคุณสมบัติคงตัว

ธรรมชาติของแทนนินนั้น พบว่ามีการกระจายตัวอยู่ในอาณาจักรของพืชเกือบทุกวงศ์และเกิดเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่เด่นมากในพืชใบเลี้ยงคู่จำนวนมากมาย แต่ในพืชชั้นต่ำ เช่น เชื้อรา สาหร่าย มอสส์ (moss) ลิฟเวอร์เวิร์ท (liverworts) ตลอดจนพวกหญ้าทั้งหลายพบว่ามีแทนนินเป็นองค์ประกอบอยู่น้อยมาก บทบาททางนิเวศวิทยาของแทนนิน ที่พบอยู่ในพืชยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด โดยทั่วไปแล้วพืชทั้งหลายมักจะมีแทนนินเป็นองค์ประกอบ

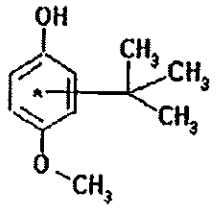
แทนนินเป็นสารประกอบเชิงซ้อนฟีนอลิค (complex phenolic compound) ที่ซับซ้อนเป็นส่วนมาก ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน มีรูปผลึกไม่แน่นอน (amorphous) และไม่สามารถตกผลึกได้ (uncrystallization) เป็นการยากที่จะสกัดออกมาได้อย่างบริสุทธิ์ ดังนั้นจึงไม่ค่อยเข้าใจในเรื่องของโครงสร้างแทนนิน เป็นสาเหตุที่ทำให้การแบ่งชนิดของแทนนินขึ้นอยู่กับส่วนประกอบโครงสร้างของโมเลกุลการแยกสลายด้วยน้ำ (hydrolysis) ด้วยความร้อน กรด ด่าง เอนไซม์ และเชื้อราต่างๆ ดังนั้นเราจึงสามารถแบ่งแทนนินออกเป็น 2 ประเภท คือ แทนนินที่สามารถไฮโดรไลซ์ได้ กับแทนนินที่เกิดการควบแน่น (condended tannin) หรือ catechin หรือ phlobatannin (สุภามาศ อินทฤทธิ์, 2547)

สารแอนติออกซิแดนท์สังเคราะห์

สารแอนติออกซิแดนท์ที่ได้จากการสังเคราะห์มีโครงสร้างได้หลายแบบ และยับยั้งการเกิดออกซิเดชันด้วยกลไกที่แตกต่างกัน (สุภามาศ อินทฤทธิ์, 2547) (โอภา วัชระคุปต์, 2549) สารแอนติออกซิแดนท์สังเคราะห์ชนิด proper antioxidants คือสารที่สมบัติเป็นตัวยับยั้งที่มีกลไกการป้องกันการเกิดออกซิเดชันด้วยตัวของมันเอง เป็นสารที่เติมลงไปเพื่อรับเอาอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นหลังจากสารอินทรีย์เสียไฮโดรเจนไปแล้ว เพื่อให้เกิดเป็นสารใหม่ที่เสถียรกว่าจึงสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ได้ ซึ่งมีด้วยกัน 4 ชนิด คือ

Butylated Hydroxyanisole (BHA)

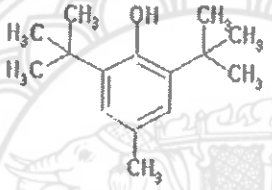
เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้กันมากชนิดหนึ่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทที่มีไขมันและน้ำมันเป็นส่วนประกอบ มีลักษณะเป็นของแข็งมันวาวสีขาวละลายได้ในไขมันแต่ไม่ละลายในน้ำ



รูป โครงสร้าง Butylated Hydroxyanisole

Butylated Hydroxytoluene (BHT)

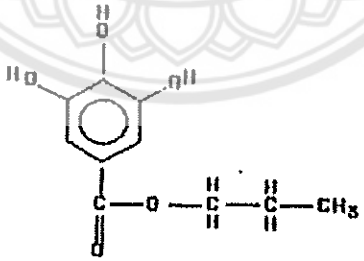
มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว เป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้กัน เช่นเดียวกับ BHA แต่มีประสิทธิภาพดีกว่าเล็กน้อย



รูป โครงสร้าง Butylated Hydroxytoluene

Propyl Gallate (PG)

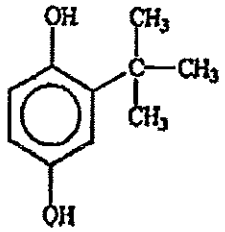
เป็นเอสเทอร์ของกรดแกลลิค มีลักษณะเป็นผงสีขาวละลายน้ำ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพดีมาก ช่วยป้องกันการเกิดเพอร์ออกไซด์ได้ดี



รูป โครงสร้าง Propyl Gallate

Tertiary Butylhydroquinone (TBHQ)

มีลักษณะเป็นผงสีขาวคล้ำ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารประเภททอด ช่วยป้องกันเรื่องการเปลี่ยนแปลงของสีและการเกิดออกซิเดชัน นอกจากนี้ยังละลายได้ดีในน้ำมันและไขมัน



รูป โครงสร้าง Tertiary Butylhydroquinone

นอกจากนี้สารแอนติออกซิแดนท์บางชนิด ต้องทำงานร่วมกับสารแอนติออกซิแดนท์ชนิดอื่นๆ จึงจะมีสมบัติในการป้องกันการเกิดออกซิเดชันได้ เช่น กรดซิทริก กรดทาร์ทาริก และกรดแอสคอร์บิก (สุภามาศ อินทฤทธิ์, 2547) (โอภา วัชระคุปต์, 2549)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1. วิธี DPPH

อนุมูล DPPH• เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัวให้สีม่วง โดยวัดความสามารถในการรีดิวซ์อนุมูล DPPH• จากสีม่วงเป็นไม่มีสี ด้วยเครื่องสเปกโตรสโคปีโดยการดูดกลืนแสงของสีที่ลดลงและความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร การรายงานจะรายงานผลเป็นค่าร้อยละของความสามารถในการดักจับอนุมูลดังสมการข้างล่าง

$$\text{Radical scavenging (\%)} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100$$

ข้อดีของวิธีนี้คือใช้ง่าย เครื่องมือไม่ยุ่งยาก นิยมใช้ในการทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดธรรมชาติ รวมทั้งเครื่องดื่มจากสมุนไพร(โอภา วัชระคุปต์, 2549) (Javanmard J, Stushnoff C, Locke E and Vivanco JM, 2003) (Scartezzini P and Speroin E, 2000) (Wu X, Gu L, Holden J, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Beecher G and Prior RL, 2004) (Gorinstein S, Huang D, Leontowicz M, Yamamnoto K and Soliva-Fortuny R, 2006) (Milardovi´C S, Ivekovic D and Grabari´C BS, 2006) (Chandrasekar D, Madhusdhana

K, Ramakrishna S and Diwan PV, 2006) (Tachakittirungrod S, Okonogi S and Chowwanapoonphon S, 2007)

จุดอ่อนของวิธีนี้คืออนุมูล DPPH• มีความคงตัวดี ไม่ว่องไวเหมือนอนุมูลอิสระในร่างกาย และโครงสร้างของ DPPH• จะถูกบังด้วยวงเบนซีนถึง 3 หมู่ ทำให้สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีโครงสร้างเกะกะไม่สามารถเข้าไปขจัดอนุมูลอิสระได้ ทำให้บางครั้งสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้ หรือปฏิกิริยาอาจช้า (โอภา วัชระคุปต์, 2549)

2.วิธี Trolox

วิธีนี้เป็นการวัดความสามารถในการขจัดอนุมูล ABTS•+ ที่มีความคงตัว ABTS จะถูกออกซิไดซ์เป็น ABTS•+ เมื่อเติมสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลงไปสีจะลดลง ผลจะคำนวณออกมาในรูปของความสัมพันธ์กับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน Trolox จึงเรียกว่า Trolox Equivalent Antioxidant Capacity; TEAC ปัจจุบันการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนิยมทดสอบด้วยวิธี DPPH และวิธี TEAC ควบคู่กัน (Apak R, Güclü K, Demirata B, Özyürek M, Celik SE, Bektasoglu B, Berker KI and Özyürt D, 2007) (Re R, Pellegrini P, Proteggente A, Pannala A, Yang M and Rice-Evens C, 1999) (Ozgen M, Reese RN, Tulio JR AZ, Scheerens JC and Miller AR, 2006) (Collins PJ, Dobson ADW and Field JA,1998) (Alzoreky N and Nakahara K, 2001)

สมจินตนา (2539) ทดลองใช้เกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ทดแทนเกลือโซเดียมคลอไรด์ในไส้กรอกอิมัลชันไขมันต่ำ พบว่าตัวอย่างที่ใช้เกลือโปแตสเซียมคลอไรด์แทนที่เกลือเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 60 มีปริมาณการสูญเสียน้ำระหว่างการทำให้สุกไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม อย่างไรก็ตามคุณสมบัติในการสกัดโปรตีนที่แตกต่างกันของเกลือโซเดียมคลอไรด์และเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์อาจมีผลต่อความคงตัวของอิมัลชัน เนื่องจากคุณสมบัติในการสกัดโปรตีนมีส่วนเกี่ยวข้องกับความสามารถในการจับกับโมเลกุลของสารนั้น

Jim′enez Colmenero et al. (2005) ศึกษาผลของการใช้ transglutaminase ร่วมกับ เคซิเนตโปแตสเซียมคลอไรด์ และเยื่อใยจากข้าวสาลี เพื่อใช้เป็นสารทดแทนเกลือในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก พบว่า สารทดแทนเหล่านี้มีผลต่อคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ผลิตขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Lilic et al. (2008) ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้โปแตสเซียมคลอไรด์ทดแทนแคลเซียมคลอไรด์ในไส้กรอก โดยศึกษาลักษณะทางประสาทสัมผัสและทางโภชนาการ การศึกษาที่ระดับการทดแทนที่ร้อยละ 20 40 60 และ 80 พบว่า การทดแทนที่ระดับร้อยละ 20 และ 40 สามารถทดแทนได้โดยผู้ทดสอบให้การยอมรับ ส่วนการทดแทนที่ระดับร้อยละ 60 และ 80 ผู้ทดสอบไม่ให้การยอมรับ

Park et al. (2009) ศึกษาการทดแทนโซเดียมคลอไรด์โดยใช้โปแตสเซียมคลอไรด์ในผลิตภัณฑ์ปลาแมคแคอเรลเค็ม พบว่าสามารถทดแทนโซเดียมคลอไรด์ได้ร้อยละ 50 ในผลิตภัณฑ์ซึ่งมีผลกระทบต่อการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสเพียงเล็กน้อย

Faithong และ Benjakul (2014) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงการต้านอุมูลอิสระและคุณสมบัติทางเคมีกายภาพขของกะปิระหว่างกระบวนการหมัก พบว่า การวัดกิจกรรมการต้นอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP ในระหว่างกระบวนการหมักมีค่าเพิ่มขึ้น

อุปกรณ์

วัตถุดิบ

1. เคย จากจังหวัดสมุทรสาคร

สารเคมี

1. โปแตสเซียมคลอไรด์
2. แคลเซียมคลอไรด์
3. โซเดียมคลอไรด์
4. สารลายโซเดียมคลอไรด์ (NaOH)
5. โพแทสเซียมโครเมต (K2CrO4)
6. ซิลเวอร์ไนเตรท (AgNO)
7. กรดไฮโดรคลอริก (HCL)
8. Thiobabituric acid (TBA)
9. Trichloroacetic acid (TCA)
10. ปิโตรเลียมอีเทอร์ (PET)
11. Mixed catalyst
12. กรดซัลฟูริก (H2SO4)
13. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
14. กรดบอริก (H3BO3)
15. Mixed indicator
16. กรดซัลฟูริก (H2SO4)
17. 95% Ethanol
18. Methanol
19. โพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟต (K2S2O8)
20. 2,2-azinebis-(3-ethylbenzothaiazoline-6-sulphonic acid) ABTS

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Potato Dextrose Agar (PDA)
2. Baird Parker (BP) agar
3. Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar

4. Tryptose Sulfite Cycloserine agar containing Egg Yolk (TSC-EY) agar

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (water activity ; NOVASINA รุ่น AW-CENTER 200 S/N 9604001)
2. เครื่องวัดเนื้อสัมผัสอาหาร Texture analyzer
3. ตู้อบลมร้อน Hot air oven
4. เครื่องปั่นผสม Homogenizer
5. เครื่องปั่นเหวี่ยงอุณหภูมิต่ำ Refrigerated centrifuge
6. เครื่องวัดสี Hunder lab (DP 9000)
7. เครื่องมือวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl method
8. เครื่องมือวิเคราะห์ไขมันด้วยวิธี Soxhlet
9. เครื่องวัดความชื้นอัตโนมัติ (Moisture Analyzer ; SARTORIUS รุ่น MA 40 S/N 51101392)
10. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์
11. เครื่องวัด pH meter
12. เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตาแหน่ง
13. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง Spectrophotometer

วิธีดำเนินการวิจัย

ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของโปแตสเซียมคลอไรด์และแคลเซียมคลอไรด์ทดแทนโซเดียมคลอไรด์สำหรับกระบวนการกะปิ

การเตรียมตัวอย่าง (กุ้ง)

↓

ล้างทำความสะอาด

↓

ศึกษาองค์ประกอบของวัตถุดิบก่อนการผลิต (ความชื้น ปริมาณไขมัน)

↓

ตัวแปรที่ศึกษาคือ อัตราส่วนของเกลือชนิดต่าง ๆ

อัตราส่วนที่ศึกษา (100 : 0, 75 : 25, 50 : 50, 25 : 75 และ 0 : 100)

↓

คลุกเกลือชนิดต่าง ที่อัตราส่วนต่างๆ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

↓

แยกส่วนของเหลวออออก

↓

ส่วนของแข็งนำไปตากแดด 1-2 วัน

↓

บดให้ละเอียด

↓

อัดใส่ภาชนะที่มีฝาปิด

↓

นำไปวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทุกๆ 15 วัน จนกระทั่งได้กะปิ

- ไขมัน โปรตีน เถ้า เยื่อใย คาร์โบไฮเดรต (AOAC, 2000)
- Peroxide value (Buege and Augt, 1978)
- TBARS (Buege and Augt, 1978)
- Microbiological analyses (APHA, 2000)

- pH (pH meter)

- วัดค่าสี L* a* b* ด้วยเครื่องวัดสี Hunter LAB (DP 9000)

- weight loss (Nakao et al., 1991)

- expressible water contents (Nakao et al., 1991)

- Texture profile analysis

-ศึกษาฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี Scavenging activity of $ABTS^{+}$ radical cation, 1,1-diphenyl-2picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, Hydroxyl (OH) radical scavenging activity , Lipid peroxidation Metal chelating activity Reducing power และ Superoxide radical-scavenging

วิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลการทดสอบการยอมรับ โดยการนำข้อมูลที่ได้มาประเมินผลความแตกต่างด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และทดสอบความแตกต่างระหว่างตัวอย่างด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.00

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์กะปิที่ผลิตได้ พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ทุกตัวอย่างมีองค์ประกอบทางเคมี คือ โปรตีน ไขมัน ปริมาณความชื้น และ เถ้า ไม่แตกต่างกัน แสดงดังตาง 1

ตาราง 1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์กะปิ

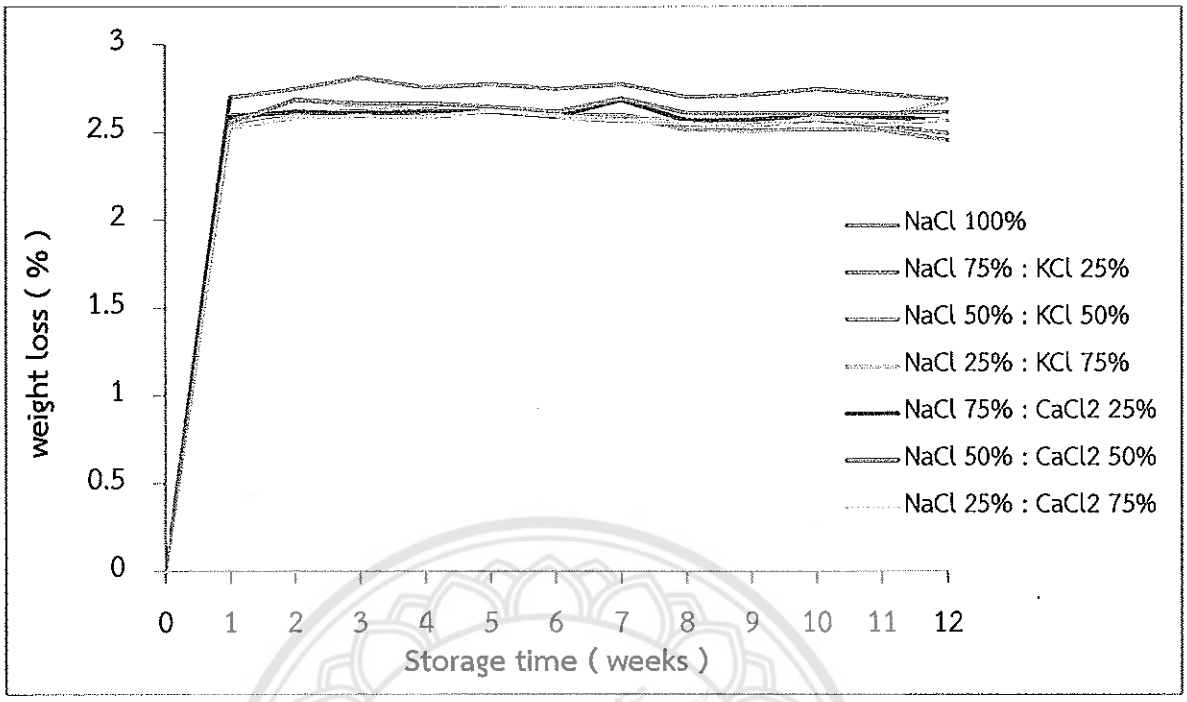
ตัวอย่าง / องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (%)						
	NaCl 100%	NaCl 75% : KCl 25%	NaCl 50% : KCl 50%	NaCl 25% : KCl 75%	NaCl 75% : CaCl2 25	NaCl 50% : CaCl2 50	NaCl 25% : CaCl2 75
โปรตีน	24.32	24.56	24.08	25.02	25.32	25.12	24.32
ไขมัน	4.11	4.15	4.51	4.09	4.90	5.00	4.11
ความชื้น	48.93	48.83	48.83	49.83	48.26	48.56	47.83
เถ้า	21.30	21.03	21.23	21.56	21.05	21.80	21.33

จากตาราง 1 พบว่า ในสัปดาห์ที่ 0 ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ตามที่มาตรฐาน มอก. 1080-2535 กำหนดไว้ แต่พบ Staphylococcus aureus ในสัปดาห์ที่ 12 ของทุกๆตัวอย่าง ซึ่งมาตรฐาน มอก. 1080-2535 กำหนดไว้ว่า Staphylococcus aureus ต้องไม่พบใน 0.1 g ซึ่งเกินกว่ามาตรฐานกำหนดไว้ เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนเชื้อจากผิวหนังโดยเฉพาะมือจากขั้นตอนการผลิตผลิตภัณฑ์กะปิ แต่ด้วยสัปดาห์ที่ 0 มีความเข้มข้นของเกลือที่สูงเกินไปจึงทาให้ไม่พบเชื้อ Staphylococcus aureus เจริญ และเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นทำให้ความเข้มข้นของเกลือลดลง ซึ่งเชื้อ Staphylococcus aureus เป็นเชื้อกลุ่ม Halophilic bacteria สามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง

ตาราง 2 การวิเคราะห์ปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์กะปิ

ตัวอย่าง	ยีสต์และรา (CFU/g)		*S. aureus* (CFU/g)		*Salmonella spp.* (CFU/g)		*C. perfringens* (CFU/g)	
	สัปดาห์ 0	สัปดาห์ 12	สัปดาห์ 0	สัปดาห์ 12	สัปดาห์ 0	สัปดาห์ 12	สัปดาห์ 0	สัปดาห์ 12
NaCl 100%	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	4.9×10^3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
NaCl 75% : KCl 25%	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	2×10^3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
NaCl 50% : KCl 50%	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	2.4×10^3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
NaCl 25% : KCl 75%	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	7×10^3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
NaCl 75% : CaCl2 25	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	4×10^3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
NaCl 50% : CaCl2 50	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	6×10^2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
NaCl 25% : CaCl2 75	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	7×10^3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ

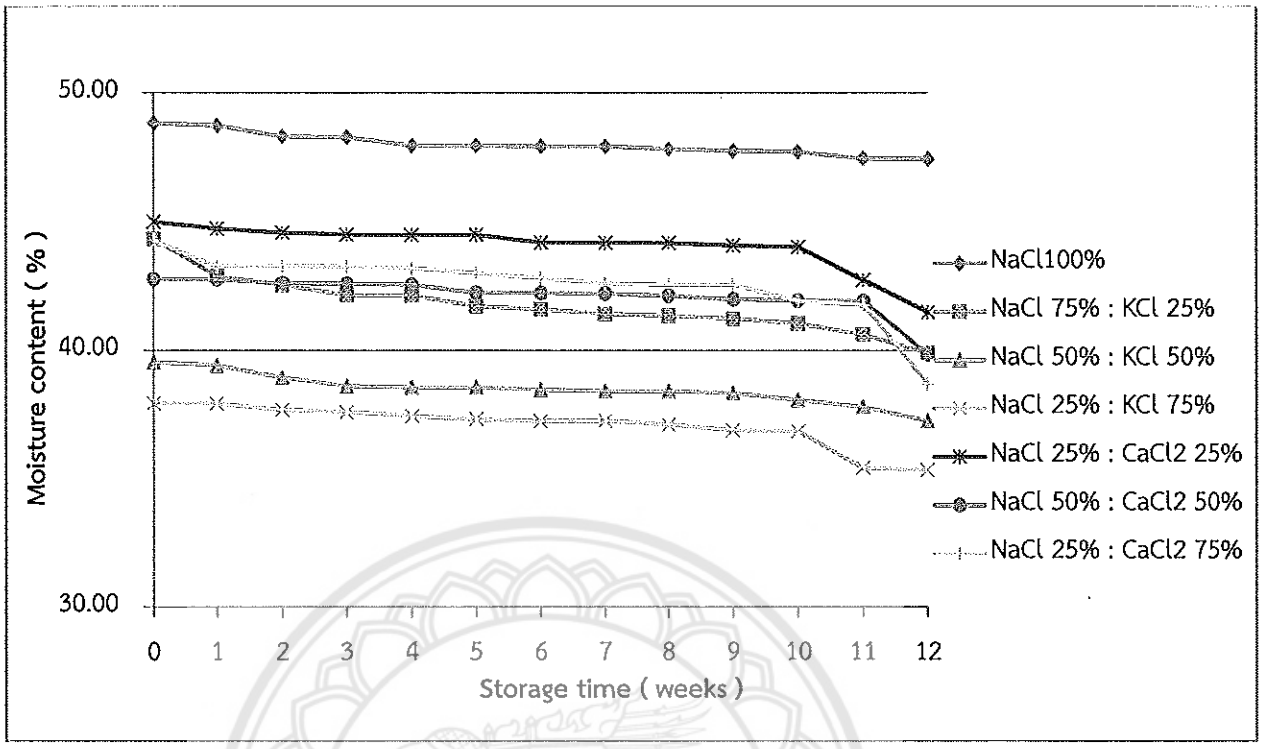
จากรูป 1 พบว่า สัปดาห์ที่ 0-12 ปริมาณน้ำหนักที่สูญเสียไปอยู่ในช่วงร้อยละ 2.45-2.81 เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำที่สูญเสียไปแต่ละตัวอย่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยโซเดียมคลอไรด์100% มีปริมาณน้ำหนักที่สูญเสียไปสูงสุด เนื่องจาก โซเดียมคลอไรด์มีแรงในการดึงน้ำออกจากผลิตภัณฑ์กะปิสูงกว่า แคลเซียมคลอไรซ์ และโพแทสเซียมคลอไรด์ ตามลำดับ แต่เนื่องจากผลิตภัณฑ์กะปิถูกบรรจุในภาชนะที่ปิดสนิท จึงทำให้น้ำที่ถูกดึงออกจากผลิตภัณฑ์กะปียังคงอยู่บนผิวหน้าของผลิตภัณฑ์กะปิ ส่งผลให้ไม่เกิดการสูญเสียน้ำหนัก ซึ่งน้ำหนักที่สูญเสียไปมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค คุณลักษณะของเนื้อสัมผัส



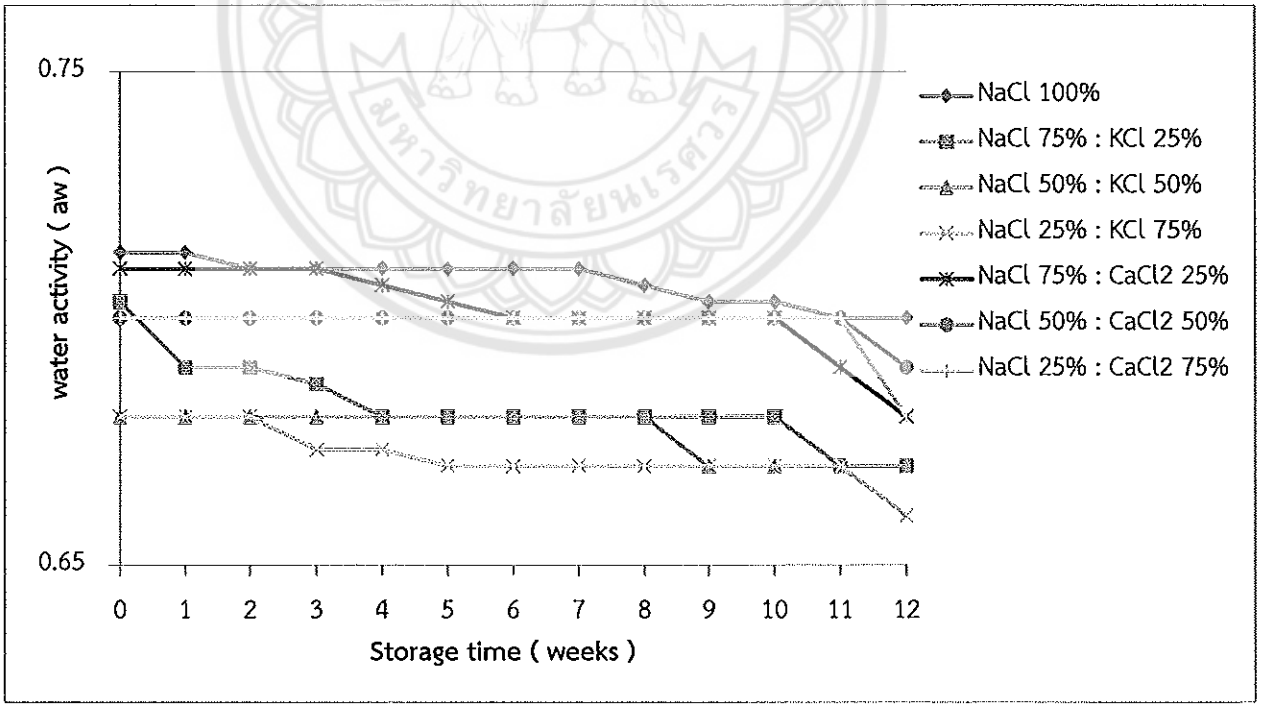
รูป 1. การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักที่สูญเสียไปของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก

จากรูป 2 พบว่า ปริมาณความชื้นแต่ละตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในสัปดาห์ที่ 0-12 ปริมาณความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 35.34-48.83% เมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น ปริมาณความชื้นลดลง เนื่องจากเกลือมีแรงในการดึงน้ำออกจากผลิตภัณฑ์กะปิ และภาชนะบรรจุผลิตภัณฑ์กะปิ ไม่ได้ปิดสนิทตลอดเวลา ทำให้เกิดการสูญเสียความชื้นได้ โดยโซเดียมคลอไรด์ 100% มีปริมาณความชื้นสูงที่สุด และสารทดแทนโพแทสเซียมคลอไรด์ 75% มีปริมาณความชื้นต่ำสุด เนื่องจาก โซเดียมคลอไรด์มีแรงในการดึงน้ำออกจากผลิตภัณฑ์กะปิสูงกว่า แคลเซียมคลอไรซ์ และโพแทสเซียมคลอไรด์ ตามลำดับ ส่งผลทำให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์กะปิมีลักษณะแข็งเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น

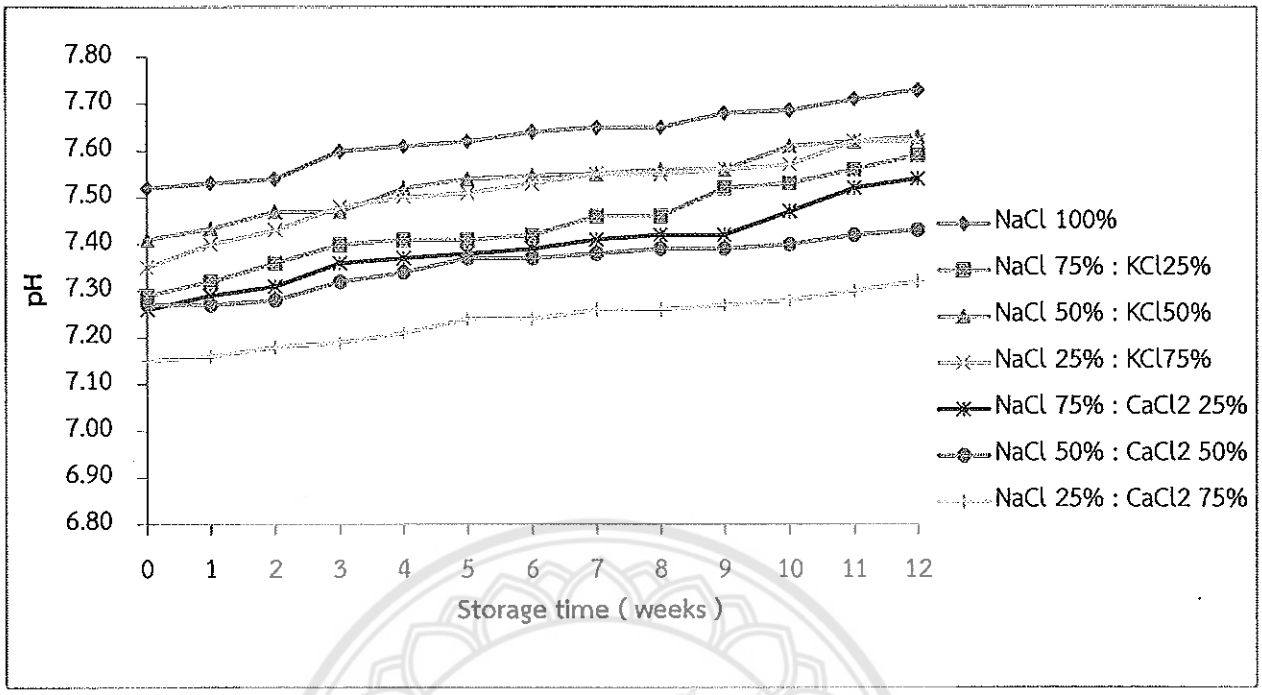
water activity คือ น้ำเป็นค่าที่แสดงระดับพลังงานของน้ำมีความสำคัญต่ออายุการเก็บรักษา การเสื่อมเสีย และความปลอดภัยของอาหาร (พิมพ์เพ็ญ, 2557) จากรูป 3 พบว่า ค่าแอคติวิตีของน้ำแต่ละตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) สัปดาห์ที่ 0-12 ค่าแอคติวิตีของน้ำอยู่ในช่วง 0.66-0.71 เมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น ค่าวอแอคติวิตีของน้ำลดลง เนื่องจากเกลือมีคุณสมบัติในการดึงน้ำออกจากผลิตภัณฑ์กะปิ โดยโซเดียมคลอไรด์ 100% มีค่าแอคติวิตีของน้ำสูงสุด และสารทดแทนโพแทสเซียมคลอไรด์ 75% มีค่าแอคติวิตีของน้ำต่ำสุด ซึ่งสอดคล้องกับค่าความชื้นที่ลดลง



รูป 2. การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก



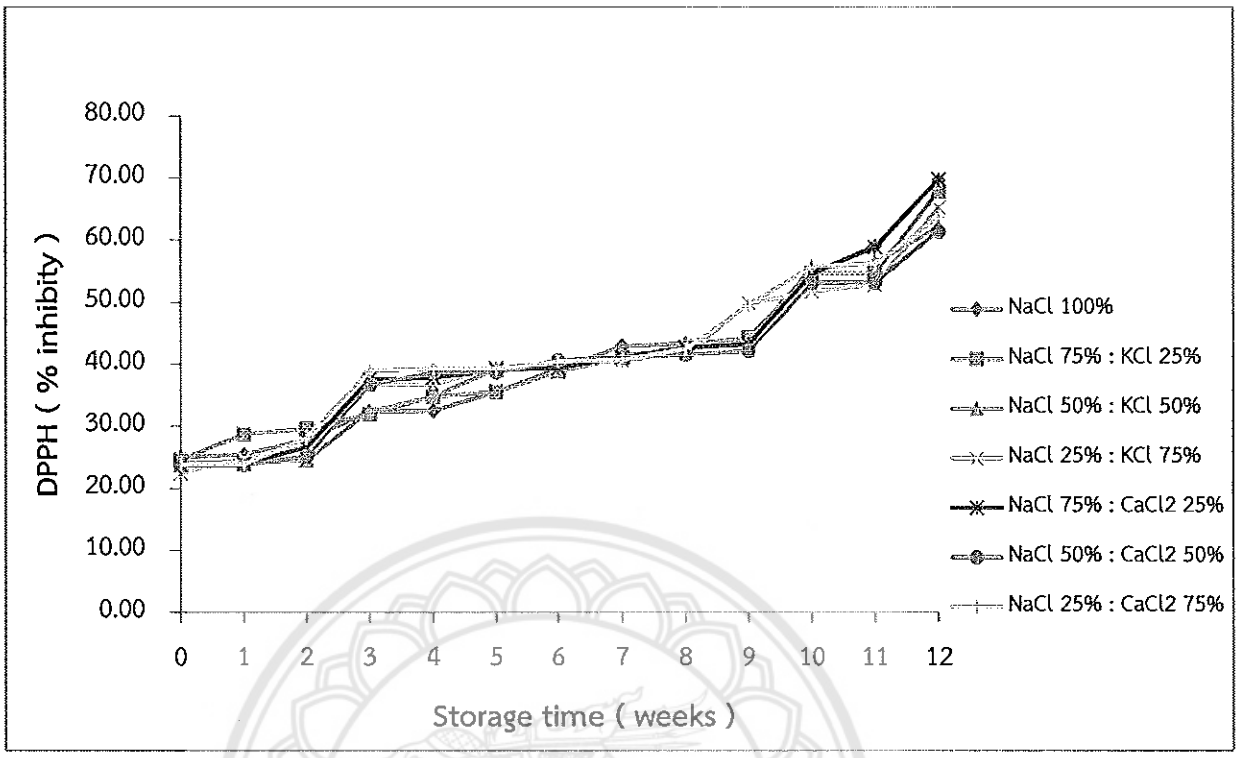
รูป 3. การเปลี่ยนแปลงค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ (water activity) ของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่ากระบวนการหมัก



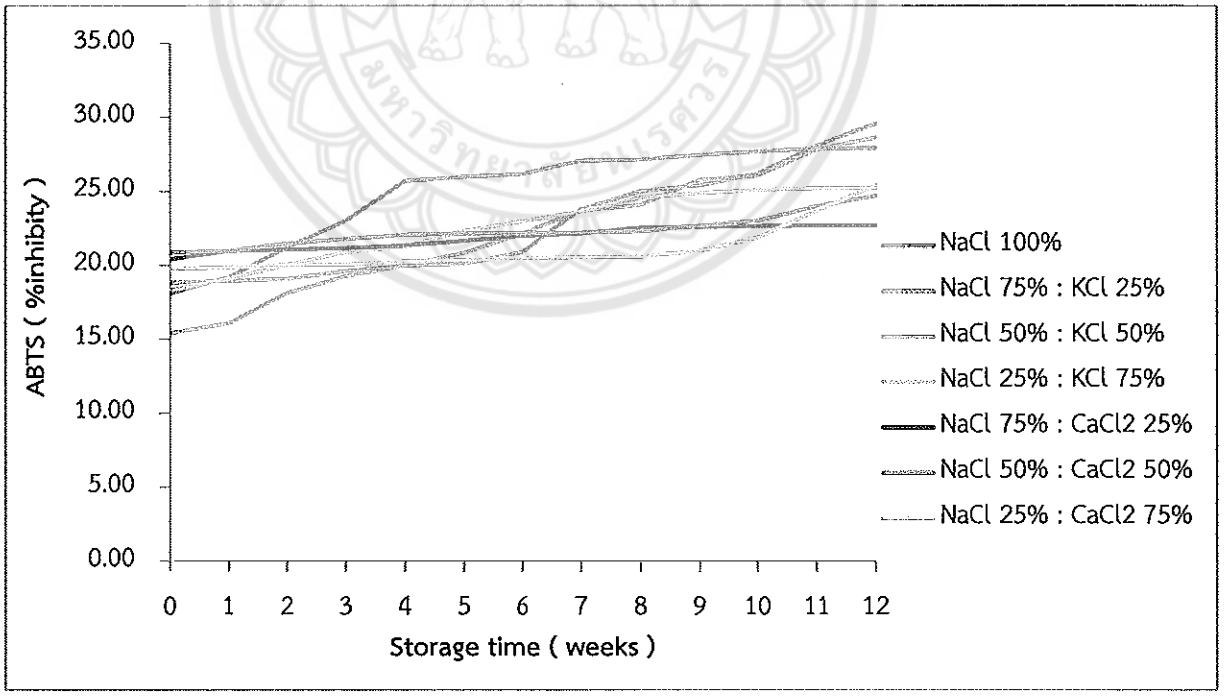
รูป 4. การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก

ค่าความเป็นกรด-ด่าง สามารถใช้เป็นตัวบ่งบอกถึงการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำได้ จากรูป 4 พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 7.15-7.73 และแต่ละตัวอย่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยโซเดียมคลอไรด์ 100% มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงสุด และแคลเซียมคลอไรด์ 75 % มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุด เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์กะปิจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเกิดการย่อยสลายโปรตีนในเคยให้มีโมเลกุลเล็กลงได้เป็นกรดอะมิโน ซึ่งกรดอะมิโนมีคุณสมบัติเป็นเบส จึงทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น

DPPH เป็นสารวัดสมบัติความสามารถในการเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระของสารอื่น จากรูป 5 พบว่า ค่าDPPH ของแต่ละตัวอย่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และอยู่ในช่วง 22.47-69.60 %inhibity เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ค่า DPPH เพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการย่อยสลายโปรตีนในเคยเพิ่มขึ้น และแอสตาแซนธินในตัวเคย โดย สารDPPH จะแตกตัวเป็น DPP กับ H จากนั้นกรดอะมิโนจะไปจับ DPP กลายเป็น DPPH ถ้ามีกรดอะมิโนมาก ทำให้ DPP ถูกจับมากขึ้น ส่งผลให้ค่า DPPH เพิ่มขึ้น

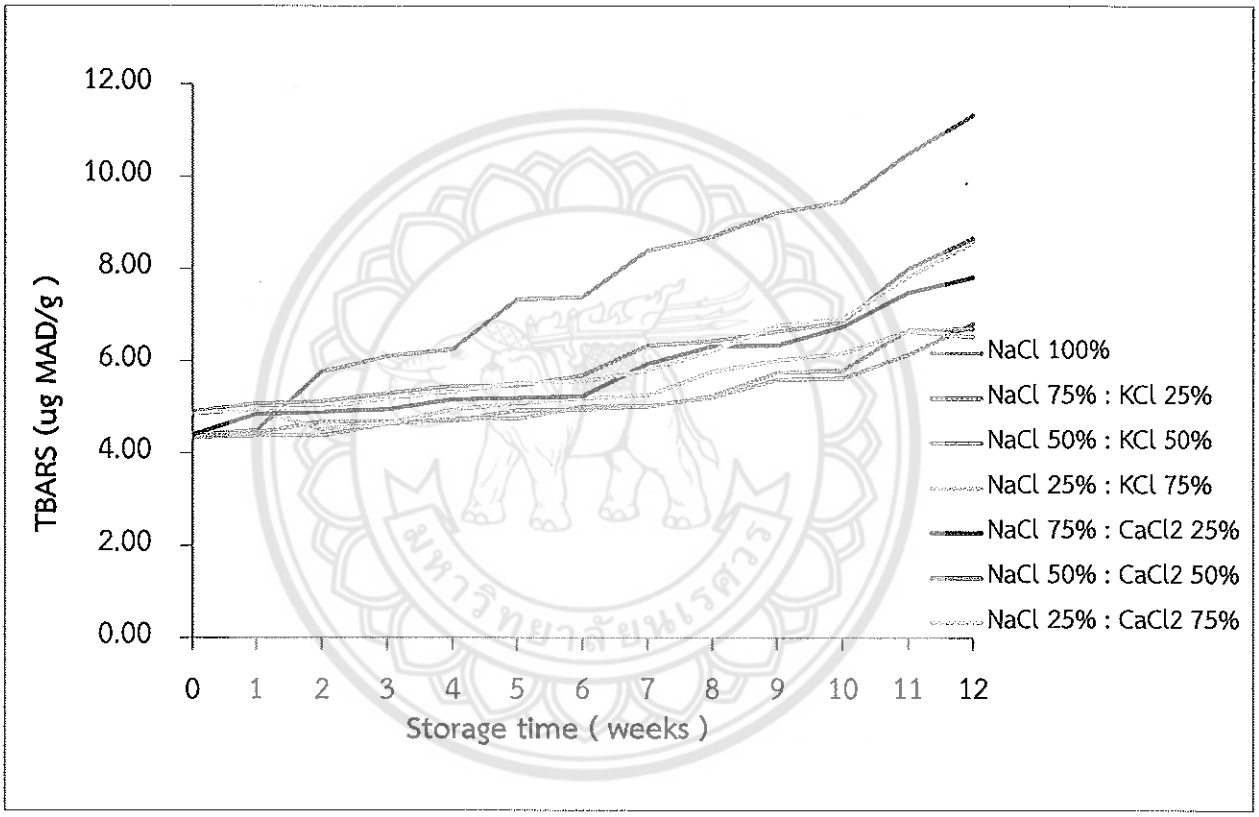


รูป 5. การเปลี่ยนแปลงค่า DPPH ของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก



รูป 6. การเปลี่ยนแปลงค่า ABTS ของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก

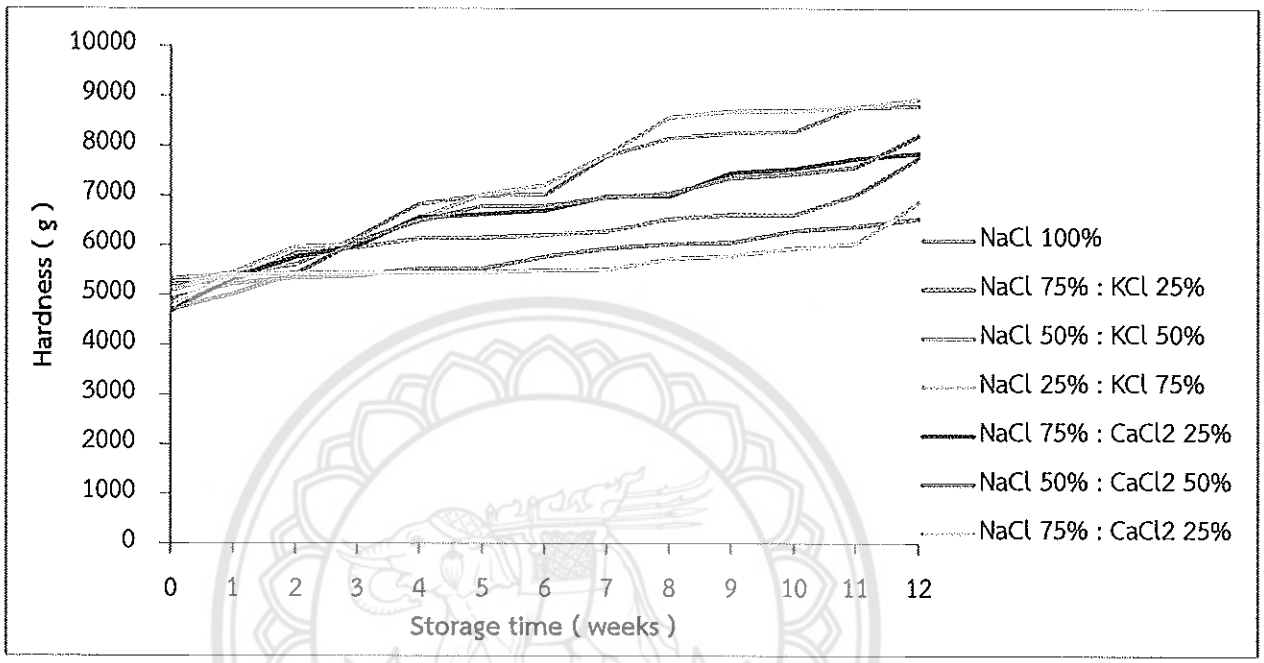
ABTS เป็นการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการขจัดอนุมูลอิสระABTS จากรูป 6 พบว่า ค่า ABTS ของแต่ละตัวอย่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และอยู่ในช่วง 18.08-29.55 % inhibity เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ค่าABTS เพิ่มขึ้น เนื่องจากการย่อยสลายโปรตีนในเคยได้เป็นกรดอะมิโนเพิ่มขึ้น และแอสตาแซนธินในตัวเคย โดย ABTS จะถูกออกซิเดชันโดยอนุมูลเปอร์ออกซีของกรดอะมิโน แล้วเกิดเป็นอนุมูลที่มีประจุบวก ($ABTS^{\bullet+}$)



รูป 7. การเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก

TBARS วัดปริมาณมาโลนาลแอลดีไฮด์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิ สามารถเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงระดับความหืนจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้ จากรูป 7 พบว่า ค่า TBARS ของแต่ละตัวอย่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ซึ่งอยู่ในช่วง 4.39-11.31 g MAD/kg และเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ค่า TBARS เพิ่มขึ้น โดย NaCl 100 มีค่า TBARS สูงที่สุด เนื่องจากโซเดียมคลอไรด์มีคุณสมบัติเป็นโปรออกซิแด้น (นิติพงศ์, 2555) จึงไป

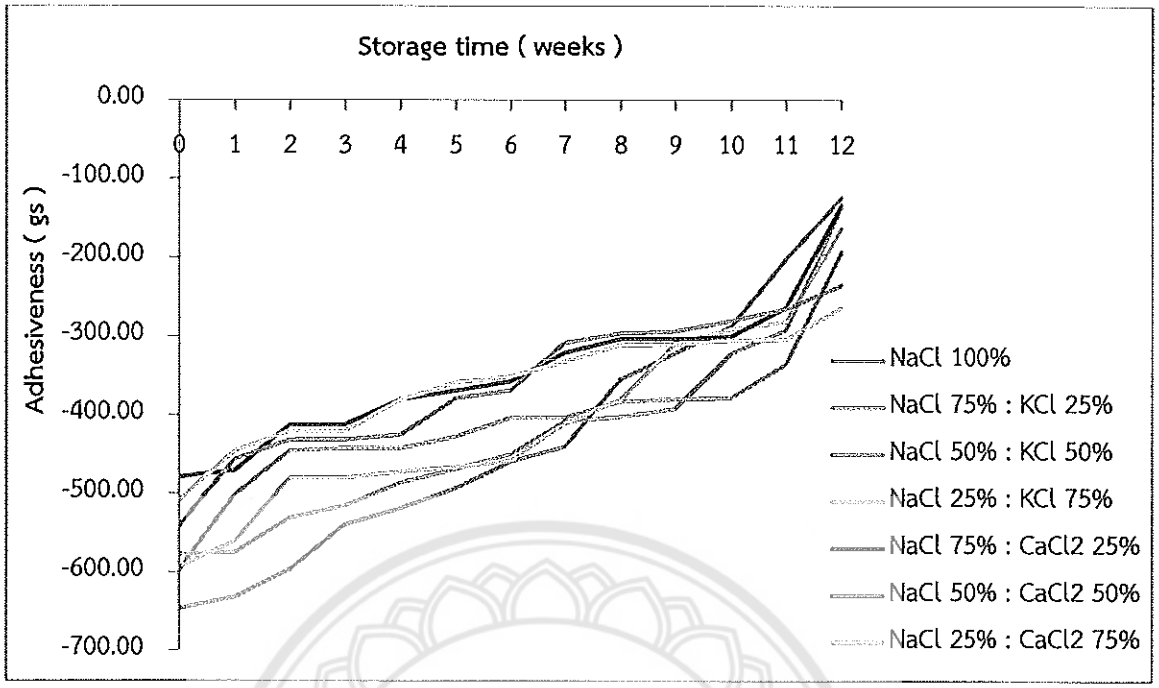
กระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นสูงมากยิ่งขึ้น ส่งผลทำให้สีของผลิตภัณฑ์กะปิคล้ำขึ้น สอดคล้องกับค่า Chroma ที่มีค่ามากขึ้น



รูป 8. การเปลี่ยนแปลงค่าความแข็ง (Hardness) ของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก

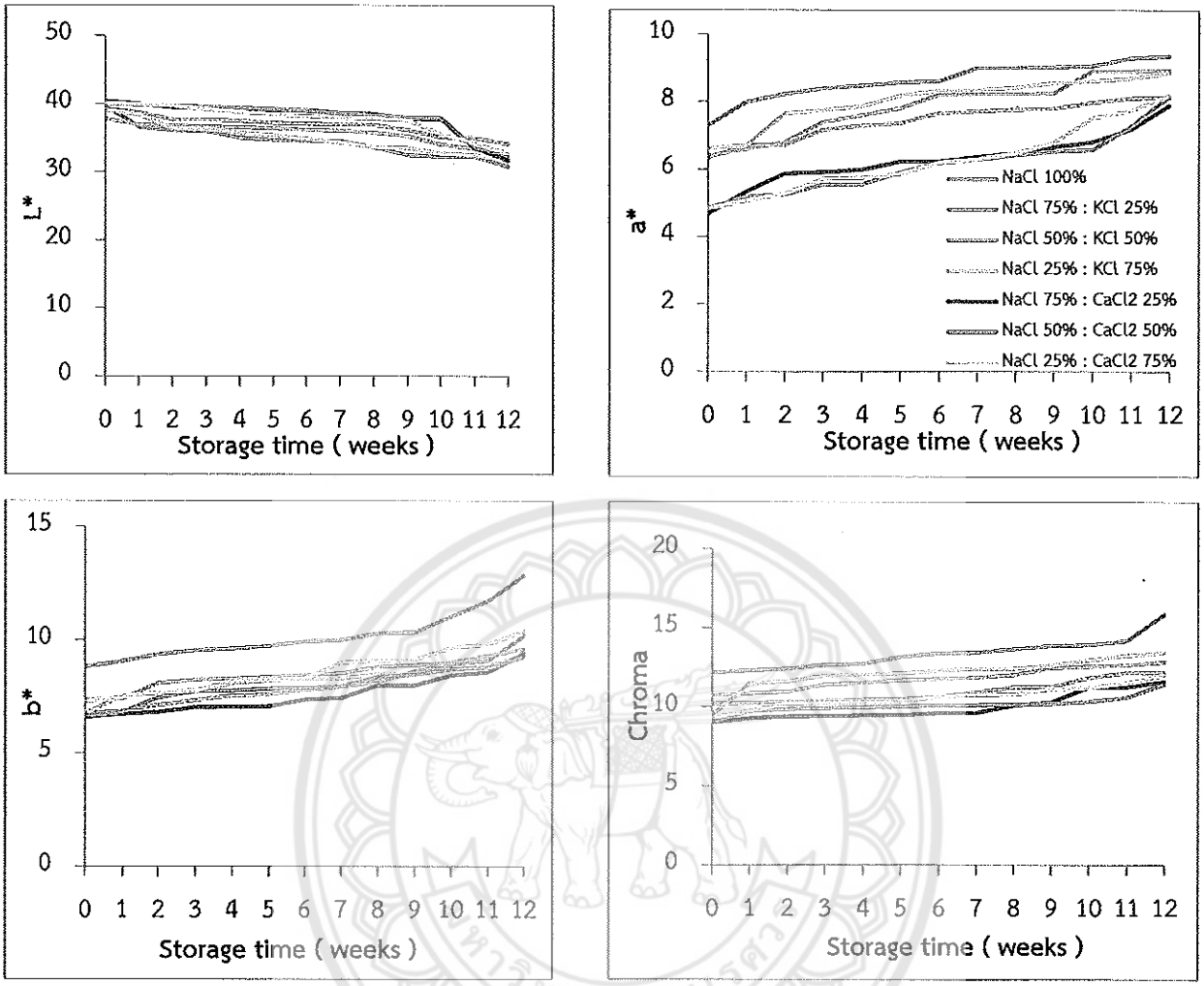
จากรูป 8 พบว่า ค่าความแข็งของแต่ละตัวอย่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) อยู่ในช่วง 4671.33-8919.66 g เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นมีค่าความแข็งเพิ่มขึ้น โดยสารทดแทนโพแทสเซียมคลอไรด์ 75% มีค่าความแข็งสูงที่สุด และ โซเดียมคลอไรด์ 100% มีค่าความแข็งต่ำที่สุด เนื่องจากโซเดียมคลอไรด์ 100% มีแรงในการดึงน้ำออกจากผลิตภัณฑ์กะปิสูงกว่า สารทดแทนกลุ่มโพแทสเซียมคลอไรด์ จึงทำให้ผลิตภัณฑ์กะปิที่ทดแทนโซเดียมคลอไรด์ด้วยสารทดแทนโพแทสเซียมคลอไรด์ 75% มีลักษณะเนื้อสัมผัสแข็งที่สุด

จากรูป 9 พบว่า ค่าความแข็งของแต่ละตัวอย่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) อยู่ในช่วง (-479.13) ถึง (-123.84) เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ค่าการเกาะตัวกันของอาหารเพิ่มขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์กะปิมีความเหนียวมากขึ้น เกาะตัวกันมากขึ้น



รูป 9. การเปลี่ยนแปลงค่าการเกาะตัวกันของอาหาร (Adhesiveness) ของ**ผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก**

L * คือค่าความสว่าง a * คือค่าสีแดง b * คือค่าสีเหลือง และ Chroma คือ **ค่าความอิ่มตัวหรือความเข้มของสี จากรูป**10 พบว่า ค่า L * a * b * และ Chroma ของแต่ละตัวอย่าง**มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤**0.05) เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ค่า L* จะลดลง ค่า a * **b * และ** Chroma **จะเพิ่มขึ้น โดยโซเดียมคลอ**ไรด์ 100% มี L* ต่ำที่สุด **ทำให้มีสีที่คล้ำขึ้น** และมีค่า a * **b * และ** Chroma **สูงที่สุด ทำให้มีสีแดงและสี**เหลืองที่เข้มขึ้น เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน **ทำให้ผลิตภัณฑ์กะปิสีคล้ำหรือเข้มขึ้น ซึ่งค่า** Chroma ที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับ ค่า TBARS ที่เพิ่มขึ้น



รูป 10. การเปลี่ยนแปลงค่า L*, a*,b* และ chroma ของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างกระบวนการหมัก

ตาราง 3 การเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กะปิ

ลักษณะ	NaCl 100%	NaCl 75% : KCl 25%	NaCl 50% : KCl 50%	NaCl 25% : KCl 75%	NaCl 75% : CaCl2 25%	NaCl 50% : CaCl2 50%	NaCl 25% : CaCl2 75%
สี	$6.93^{ab} \pm 0.59$	$7.10^{ab} \pm 1.16$	$7.33^{a} \pm 0.98$	$7.00^{ab} \pm 1.46$	$6.53^{ab} \pm 1.41$	$6.40^{b} \pm 1.29$	$6.67^{ab} \pm 1.11$
กลิ่น	$7.00^{a} \pm 0.76$	$7.10^{a} \pm 1.16$	$7.10^{a} \pm 1.03$	$6.33^{ab} \pm 1.40$	$5.87^{b} \pm 1.68$	$6.13^{b} \pm 1.73$	$5.60^{b} \pm 1.50$
รสเค็ม	$7.00^{a} \pm 0.38$	$6.87^{a} \pm 0.92$	$6.60^{ab} \pm 0.74$	$5.87^{bc} \pm 0.99$	$5.67^{c} \pm 1.76$	$5.40^{c} \pm 1.84$	$5.30^{c} \pm 1.87$
รสขม	$6.93^{a} \pm 0.46$	$6.87^{a} \pm 0.64$	$6.80^{a} \pm 0.56$	$5.60^{b} \pm 0.91$	$5.73^{b} \pm 1.58$	$5.20^{b} \pm 1.90$	$5.20^{b} \pm 1.78$
ความชอบโดยรวม	$6.87^{ab} \pm 0.52$	$7.13^{a} \pm 0.92$	$6.93^{ab} \pm 0.80$	$6.20^{bc} \pm 1.15$	$6.53^{abc} \pm 1.55$	$5.93^{c} \pm 1.44$	$6.00^{c} \pm 1.46$

หมายเหตุ ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยวิธี Duncan's

จากตาราง 3 พบว่า ผลิตภัณฑ์กะปิแต่ละตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ซึ่งสารทดแทนโซเดียมคลอไรด์ด้วยโพแทสเซียม 25% และ 50 % มีคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กะปิใกล้เคียงโซเดียมคลอไรด์ 100% ที่สุด และมีคะแนนความชอบดีที่สุด โดยมีความชอบโดยรวมอยู่ในช่วง ชอบปานกลางถึงชอบมาก

สรุปผลการทดลอง

ผลของการทดแทนโซเดียมคลอไรด์ต่อสมบัติทางเคมีกายภาพ และประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กะปิระหว่างการเก็บรักษา โดยมีการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ ค่า TBARS ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ค่าปริมาณน้ำอิสระที่จุลินทรีย์สามารถใช้ได้ (Aw) ค่าสี ปริมาณน้ำที่สูญเสีย และการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า ระหว่างกระบวนการหมักกะปิ ค่า Aw ในทุกตัวอย่างมีค่าที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ตัวอย่างที่ทดแทนเกลือโซเดียมคลอไรด์มีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ต่ำกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้ทดแทน ($P \leq 0.05$) การทดแทนโซเดียมคลอไรด์ด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์และแคลเซียมคลอไรด์สามารถลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ในขณะที่ตัวอย่างที่ใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์มีค่า TBARS สูงกว่าตัวอย่างอื่น ๆ ($P \leq 0.05$) เปอร์เซ็นต์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของค่า DPPH และ ABTS ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างกันในทุกตัวอย่าง การทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์กะปิที่ทดแทนด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ที่ร้อยละ 25 และ 50 มีค่าการยอมรับสูงกว่าการใช้แคลเว็ยมคลอไรด์และไม่มีความแตกต่างจากตัวอย่างที่ไม่ได้ทดแทน

เอกสารอ้างอิง

กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง. 2549. การแปรรูปผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำและการควบคุมคุณภาพ โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์แห่งประเทศไทยจำกัด กรุงเทพฯ. 56 หน้า

ค้วน ขาวหนู. 2534. โภชนศาสตร์ ฉบับปรับปรุงใหม่ โรงพิมพ์ทิพย์วิสุทธิ์ กรุงเทพฯ. 516 หน้า

นงนุช รักสกุลไทย .2538. กรรมวิธีการแปรรูปสัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 2. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประเสริฐ สายสิทธิ์. 2524. ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมสัตว์น้ำ. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก. 2532. กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร. โรงพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2538. ผลิตภัณฑ์ประมงไทย. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

สมจินตนา สุมิตสวรรค์. 2539. ผลของเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ กากสับปะรดและรำข้าวสาลีต่อคุณภาพของไส้กรอกอิมัลชันที่ลดปริมาณไขมัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุภามาศ อินทฤทธิ์. สารแอนติออกซิแดนท์. วิทยาศาสตร์. 2547; 58(3): 156-63.

โอภา วัชระคุปต์, บรรณาธิการ. สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพ; พี. เอส. พริ้นท์; 2549.

Amano, K. 1962. The influence of fermentation ob the nutritive value of fish with special reference to fermented fish products of Southeast Asia, pp. 180-200. *In* : Fish nutrition. E. Heen and R. Kruezer (eds). Fishing News (Books) Ltd., London.

Antonios, T.F.T. and G.A. MacGregor. 1997. Scientific basis for reducing the salt (sodium) content in food products, pp. 84-100. *In* A.M. Pearson and T.R. Dutson (eds.) Production and processing of healthy meat, poultry and fish products. ChaPMAN & Hall, London.

AOAC 2000. Official Methods of Analysis. 15th ed., A.O.A.C. Inc., Washington, D.C. 1141 p.

AOCS. 1994. Official Method and Recommended Practices. American Oil Chemists' Society. Champaign.

APHA. 2000. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3ed., American Public Health Association, Washinton, D.C. 1219 p.

Bligh E.G. and Dyer W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification, *Can. J. Biochem. Phys.* 37: 911-917.

Borgstorm, G. 1971. Principle of Food Science. Food Technology. 3 rd. The Machillan Com., New York.

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

310.

Castell C.H., Maclean J. and Moore B. 1965. Rancidity in lean fish muscle 4: Effect of sodium chloride and other salts. *J. Fish Res. Board Can.* 22(4). 929-944.

Chandrasekar D, Madhusdhana K, Ramakrishna S, Diwan PV. Determination of DPPH free radical scavenging activity by reverse-phase HPLC: A sensitive screening method for polyherbal formulations. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2006; 40: 460-4.

Desrosier, N.W. 1970. The Technology of Food Preservation. 3 rd ed. The AVI Publishing Co. Inc. p. 239-267.

Faithong, N and Benjakul, S.2014. Changes in antioxidant activities and physicochemical properties of Kapi, a fermented shrimp paste, during fermentation. J Food Sci Technol. 51 (10) :2463-71.

Frank, R.L. and o. Mickelsen. 1970. US. Patent 3, 514, 296, pp. 187-191. *In* N.D. Pintauro (ed.) Nutrition Technology of Processed Food. No Yes Data Corporation, London.

Gallart-Jornet. L., J.M. Barat., T. Rustad., U. Erikson., I. Escriche. And P. Fito. 2007. Inflience of brine concentration on Atlantic salmon fillet salting. *J. Food Engineering* 80: 267-675.

Gerhard, F. (2006). Meat Products Handbook. Woodhead Publishing Limited, England.

Gorinstein S, Huang D, Leontowicz M, Yamamnoto K, Soliva-Fortuny R, et al. Acta Chromatographica. 2006; 17: 108-24.

Guthrie, H.A. 1979. Introductory Nutrition. C.V. Mosby Company, United Stated of America. 693 p. Javanmard J, Stushnoff C, Locke E, Vivanco JM. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions. Food Chemistry. 2003; 83: 547-50.

Jim′enez Comenero, F., Ayo, M.J. and Carballo, J. 2005. Physicochemical properties of low sodium frankfurter with added walnut: effect of tranglutaminase combined with caseinate, KCl and dietary fibre as salt replacers. *Meat Science* 69: 781-788.

Kramlich, W.E., Pearson, A.M., and Touber, F.W. 1973. Processed Meat. The AVI Publishing Co. Inc.

Lewis, R.J. 1989. Food Additive Handbook. Van Nostrand Reinhold, New York. 592 p.

Lilic, S., Matekalo-Sverak, V. and Borovic, B. 2008. Possibility of replacement of sodium chloride by potassium chloride in cooked sausages- sensory characteristics and health aspects. *Biotec. Ani. Hus.* 24: 133 – 138.

Milardovi′C S, Ivekovic D, Grabari′C BS. A novel amperometric method for antioxidant activity

determination using DPPH free radical. Bioelectrochemistry. 2006; 68: 175-80.

Nakao et al., Y. Nakao, A. Konno, T. Taguchi, T. Tawada, H. Kasai and J. Toda. 1991. Curdlan: properties and application to foods. *Journal of Food Science* **56**: 769–772.

Park, J.N. Hwang, K.T., Kim, S.B. and Kim S.Z. 2009. Partial replacement of NaCl by KCl in salted mackerel (*Scomber japonicus*) fillet products: effect on sensory acceptance and lipid oxidation. *Int. Food Sci.* 44: 1572-1578.

Pearson, A.M. and A.M. Wolzak. 1982. Salts-its use in animal products a human health dilemma. *J. Anim. Sci.* 54: 1263-1278.

Scartezzini P, Speroin E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. Journal of Ethnopharmacology. 2000; 71: 23-43.

Sinskey, A.J. 1980. Mode of action and effective application. *In* R.H. Tillury (ed.). Development on food preservative. Applied Science Publisher Ltd., London.

Subasinghe S. 1992. Retail packaging of fish and fishery products. Infofish Technical Handbook 5: 32 p.

Tachakittirungrod S, Okonogi S, Chowwanapoonphon S. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. Food Chemistry. 2007; 103: 381-8.

Wu X, Gu L, Holden J, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Beecher G, Prior RL. Development of database for total antioxidant capacity in food: a preliminary study. Journal of Food Composition and Analysis. 2004; 17: 407-22.

Zaitsev, V., Kitzevetter I, Lagonos L., Makarova J., Minder L. and Podsvalov V. 1969. Fish Curing and Processing. (Translated from the Russian by A. De Merindol) MIR Publishers, Moscow.

ภาคผนวก ก
วิธีการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ (Physical analysis)

1. วิธีการวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH)

ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าความเป็นกรดด่าง ด้วยเครื่อง pH meter บันทึกค่า ทาการวัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำเพื่อหาค่าเฉลี่ย

2. การวิเคราะห์ค่า water activity (Aw)

ทำการ calibrate เครื่องวัดค่า Aw จากนั้นนำตัวอย่างประมาณ 2 กรัมใส่ในภาชนะสาหรับวัดค่า Aw และนำภาชนะที่ใส่ตัวอย่างไปวางลงในหลุมวัดค่า ปิดฝาเครื่อง และกดปุ่มที่มีสัญญารูปสามเหลี่ยม รอจนเครื่องทำงานเสร็จจะมีเสียงเตือน บันทึกค่าที่ได้

3. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

นำถาดอะลูมิเนียมฟลอยด์สำหรับใส่ตัวอย่างวางบนเครื่องวัดความชื้น จากนั้นกดปุ่ม tare เพื่อ set น้ำหนักให้เป็น 0 กรัม จากนั้นใส่ตัวอย่างลงบนถาดเพื่อชั่งให้ได้ 1 กรัม และปิดฝาเครื่องวัดความชื้น รอจนเครื่องวัดความชื้นทำงานเสร็จ จะปรากฏคาว่า END บนหน้าปัดเครื่อง ทำการบันทึกค่าความชื้นที่ได้

4. การวิเคราะห์ค่าสี

กดเปิดเครื่องเพื่อ warm up เครื่อง จากนั้นกดปุ่ม CAL.เพื่อทำการstandardize เครื่องโดยการวางแผ่นมาตรฐานสีดำลงบนที่วาง แล้วกด read key จากนั้นนำแผ่นสีดำออกและวางแผ่นสีขาว กด read key จาก read mode กด setup key เพื่อเข้าสู่ setup mode จากนั้นกดปุ่มลูกศรไปทางซ้ายหรือขวาเพื่อเลือกตัวเลข 0-99 และกดลูกศรลงเข้าสู่ mode name เพื่อตั้งชื่อ กดลูกศรทางขวาเพื่อเลือกค่า L เป็นครั้งแรกที่ต้องการทดสอบ และกดปุ่ม read key เพื่อ accept ค่า L จากนั้นกดปุ่มลูกศรไปยัง display mode เลือกปุ่ม difference แล้วกดลูกศรเพื่อเลือกค่า color scale : L*a*b* จากนั้นกดลูกศรมายัง standard mode และกดลูกศรทางซ้ายหรือขวาเพื่อเลือก physical กดลูกศรลงเพื่อเลือก 1st target value วางถ้วยวัดสีที่ใส่ตัวอย่างลงบนที่วาง แล้วกด read key อ่านค่าสีที่ได้และกด clear key เพื่อที่จะทำการวัดตัวอย่างต่อไป

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

1. การวิเคราะห์ความชื้น (ตามวิธี AOAC 1990)

วัสดุอุปกรณ์

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

วิธีวิเคราะห์

1. อบถ้วยอะลูมิเนียมในตู้อบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 105±5 องศาเซลเซียส เวลา 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ลงในโถดูดความชื้น จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วจึงชั่ง น้ำหนัก
2. กระทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1-3 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนัก นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105±5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง
4. นำออกจากตู้อบใส่โถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่าง จากนั้นนำกลับไปเข้าตู้อบและกระทาซ้ำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ % ความชื้น ด้วยสมการ

$$\% \text{ ความชื้น} = \frac{a-b}{w} \times 100$$

เมื่อ a = น้ำหนักของอาหารก่อนอบแห้ง

B = น้ำหนักของอาหารหลังอบแห้ง

w = น้ำหนักของอาหารตัวอย่าง

2. การวิเคราะห์โปรตีน (ตามวิธี AOAC 1990)

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก (sulfuric acid) เข้มข้น 93-98%

2. สารเร่งรวม (catalyst mixture): เตรียมโดยชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulfate) 7 กรัม กับโพแตสเซียม (potassium sulfate) 100 กรัม ผสมให้เข้ากัน

3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 45% (sodium hydroxide): เตรียมโดยละลาย 450 กรัมของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ชนิดเกล็ดลงในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

4. สารละลายกรดเกลือ (hydrochloric acid) 0.1 นอร์มอล : เตรียมโดยละลายกรดเกลือ 9 มิลลิตร ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

5. กรดบอริค (boric acid) 4 % : เตรียมโดยต้มน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ให้ร้อนแล้วใส่ผงกรดบอริคลงไป 4 กรัม ต้มจนละลายหมด ทิ้งไว้จนสารละลายเย็นลงแล้วจึงเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

6. อินดิเคเตอร์รวม (mixed indicator) : เตรียมโดยละลายเมทธิลเรด เรด (methyl red) 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95 % ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร และละลายเมทธิลีนบลู (methylene blue) 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95 % ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนาสารละลายเมทธิลเรต 2 ส่วน ผสมกับสารละลายเมทธิลีนบลู 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน

7. เมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์ (methyl orange indicator) : เตรียมโดยละลายเมทิลออเรนจ์ 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

8. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) 0.1 นอร์มอล : เตรียมโดยอบโซเดียมคาร์บอเนตที่อุณหภูมิ 260 –270 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ชั่งสารมา 1.325 กรัม เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

1.ชั่งตัวอย่าง 2-5 กรัม (ควรมีโปรตีนประมาณ 5 กรัม) ใส่ลงใน Kjeldalh flask เติม Mixed catalyst: CuSO4 0.1 กรัม, NaSO4 2 กรัม และ conc.H2SO4 25 กรัม

<u>การย่อย (Digestion)</u>

2.ย่อยบน heating mantle โดยให้ความร้อนอ่อนๆ จนกระทั่งหมดฟอง แล้วค่อยเพิ่มความร้อนอุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสารละลายใส ทิ้งไว้ให้เย็น

<u>การกลั่น (Distillation)</u>

3. เติมน้ำกลั่นลงในหลอดย่อย 10-15 ml นำหลอดย่อยมาต่อเข้ากับเครื่องกลั่น

4. เติม 40% NaOH 40-50 ml

5. นำ receiving flask ที่มี 4% boric acid อยู่ 20-25 ml และเติม indicator เรียบร้อยแล้วมา รองรับสารละลายที่กลั่นได้

6. กลั่นจนได้สารละลายประมาณ 25 ml

7. ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วย 0.1 N HCl จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสี เขียวเป็นสีม่วงอมชมพู

8. ทำ blank ตามข้อ 1-7 โดยไม่ต้องใส่ตัวอย่าง

9. คำนวณหาปริมาณโปรตีนจากสูตร

การคำนวณ

การวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธีนี้ ควรทำตัวอย่างไว้ตรวจสอบ เรียกว่า Blank (โดยใส่สารเคมี และขั้นตอนการวิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่าง)

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{A-B)\times N\times 1.4\times F}{Wt}$$

A คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับ blank (มิลลิลิตร)

Wt คือ น้ำหนักของตัวอย่าง

N คือ ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (N)

F คือ ค่าแฟคเตอร์

3.การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ด้วย soxhlet (AOAC,1990)

วัสดุอุปกรณ์

1. Soxhlet apparatus
2. หลอดใส่ตัวอย่าง
3. สำลี
4. ตู้อบไฟฟ้า
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า
6. โถดูดความชื้น

สารเคมี

ปิโตรเลียมอีเทอร์หรือเฮกเซน

วิธีวิเคราะห์

1. ใส่ขวดกลมสำหรับการหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้า ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก 3-5 กรัม ห่อให้มิดชิดใส่ลงในหลอด สำหรับใส่ตัวอย่าง
3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงใน Soxhlet เติมสารตัวทาละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ลงในขวดหาไขมัน ประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตา
4. ประกอบอุปกรณ์ชุดกลั่นไขมัน พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่นและเปิดสวิทช์ ให้ความร้อน
5. ปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที
6. เมื่อครบ 6 ชั่วโมงแล้ว นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจาก Soxhlet ทิ้งให้ตัวทำละลายไหลจาก Soxhlet ลงในขวดก้นกลมจนหมด
7. ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ
8. นำขวดหาไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสจนแห้ง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
9. ชั่งน้ำหนัก แล้วอบซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้ง ติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
10. คำนวณหาปริมาณไขมันจากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{W1 \times 100}{W2}$$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักขวดตัวอย่างก่อนอบ

W_2 คือ น้ำหนักขวดตัวอย่างหลังอบ

4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 1990)

วัสดุอุปกรณ์

1. Crucible
2. Muffle furnace (เตาเผา)
3. Hot plate
4. โถดูดความชื้น
5. เครื่องชั่ง

วิธีวิเคราะห์

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง นำออกจากเตาเผา เก็บไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนัก บันทึกผล

2. กระทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 1 จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ (ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งไม่ เกิน 1-3 มิลลิกรัม) หาค่าเฉลี่ย บันทึกผล (W1)

3. ชั่งตัวอย่าง อย่างละเอียดประมาณ 2 กรัม (S) ลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบ เผาบนเตาไฟฟ้า จนหมดควัน

4. นำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีเทาอ่อน หรือสีขาวสม่ำเสมอ นำออกจากเตาเผา เก็บในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนัก บันทึกผล

5. ทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 4 จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ (ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม) หาค่าเฉลี่ย บันทึกผล (W2)

6. คำนวณหาปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\text{ร้อยละของปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{(W2-W1)}{S} \times 100$$

5. การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (AOAC, 1990)

วิธีการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างที่สกัดเอาไขมันออกแล้วมาหาปริมาณเส้นใย โดยนำตัวอย่างใส่ลงใน บีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.1275 โมลาร์ จำนวน 200 มิลลิลิตร แล้วต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที ตลอดเวลาที่ต้มจะต้องรักษาปริมาตรให้คงที่โดยการเติมด้วยน้ำกลั่น

3. กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 54 หรือ 531 โดยใช้ suction ล้างด้วยน้ำร้อนหลายๆ ครั้ง จนหมดกรด แล้วเทกากกลับใส่ในบีกเกอร์ใบเดิม

4. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.313 โมลาร์ จำนวน 200มิลลิลิตร แล้วต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที รักษาปริมาตรให้คงที่โดยการเติมด้วยน้ำกลั่น

5. กรองผ่านกระดาษกรอง โดยใช้ suction ล้างด้วยน้ำร้อนหลายๆ ครั้งจนหมดด่าง แล้วเทกากกลับใส่ในบีกเกอร์ใบเดิม

6. ล้างกากด้วยสารละลายไฮโดรคลอริก 1 % แล้วล้างตามด้วยน้ำร้อนจนหมดกรด

7. นำกากล้างด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 95% 2 ครั้ง 15-20 มิลลิลิตร

8. นำกากใส่ลงกระดาษกรอง Whatman ชนิดปราศจากเถ้าเบอร์ 41 ซึ่งผ่านการอบแห้งที่ 80 องศาเซลเซียส และชั่งจนทราบน้ำหนักที่แน่นอน

9. นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสนาน 1 ชั่วโมงหรือจนน้ำหนักคงที่

10. จากนั้นนำกากไปเผาให้เป็นเถ้าในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนเป็นเถ้าสีขาว ปล่อยให้เย็นใน desiccater ชั่งหาน้ำหนักเถ้าที่ได้

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เส้นใยจากสูตร

น้ำหนักเส้นใย = น้ำหนักแห้งของกาก –น้ำหนักเถ้า

$$\text{ปริมาณเส้นใย} = \frac{\text{น้ำหนักเส้นใย} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างอาหาร}}$$

6. การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (AOAC, 1990)

โดยวิธีการคำนวณจากสูตรเมื่อทราบว่า % ความชื้น% โปรตีน% ไขมัน% เถ้า และ%เส้นใย นำค่าดังกล่าวนี้มาคำนวณตามสูตร

เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรต = 100 - (% ความชื้น+ %โปรตีน + % ไขมัน+ % เถ้า+ %เส้นใย)

7. วิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาของ thiobarbituric acid (TBARS)

ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ใส่หลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลาย TBARS 25 มิลลิลิตร ที่เตรียมจาก (TBA 2.25 กรัม,TCA 90 กรัม และ HCL 5.475 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 600 มิลลิลิตร) และทำการ homoginised จากนั้นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95-100 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ทำให้เย็นด้วยการผ่านน้ำ จากนั้นนำไป centrifuge และกรองด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 1 นำเอาส่วนที่ใสไปทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer

การคำนวณหาค่า TBARS

$$\text{TBARS} = 8.7 \times D/\text{น้ำหนักตัวอย่าง}$$

*หมายเหตุ D คือค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 nm

8. วิเคราะห์ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS

เตรียมสารละลาย ABTS โดยชั่ง ABTS 0.0952 กรัมละลายในน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร และเตรียมสารละลาย Potassium persulfate โดยชั่ง Potassium persulfate 0.0176 กรัมละลายในน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร จากนั้นผสมสารละลายทั้ง 2 ในขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและมืด 12 ชั่วโมง นำสารละลายผสมที่ได้ 1 มิลลิลิตร ผสมเข้ากับ Methanol 50 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสง 734 nm ให้ได้ค่าอยู่ในช่วง1.1 ± 0.02 จากนั้นนำสารละลายตัวอย่าง 150 µl ผสมสารละลาย ABTS 2850 µl เก็บในที่มืด 2 ชั่วโมง ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง 734 nm

การคำนวณหา % inhibition = $(A_{734\ control} - A_{734\ sample}) \times 100 / A_{734\ control}$

*หมายเหตุ Blank คือ น้ำกลั่น

9. ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH

เตรียมสารละลาย DPPH โดยชั่ง DPPH 0.0197 กรัม ผสม 95% Ethanol 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH 0.3 มิลลิลิตรและ Ethanol 3 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้องและมืด 1 ชั่วโมง 40 นาที จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสง 517 nm

การคำนวณหา % DPPH = $[(A_0-A_1))/A_0] \times 100$

*หมายเหตุ Blank คือ น้ำกลั่น

10. วิธีการหาปริมาณ weight loss (Nakao et al. (1991)

วางภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่างลงบนเครื่องชั่งและกดปุ่ม tare เพื่อ set ให้น้ำหนักเป็น 0 ตักตัวอย่าง 35 กรัมใส่ภาชนะ บันทึกค่าที่ได้ ปิดฝาภาชนะและเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องและมืด ทำการชั่งตัวอย่างเดิมทุกๆ สัปดาห์ ชั่งตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

ภาคผนวก ค
แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านความชอบ
โดยการทดสอบวิธี 9 – point hedonic scale

คำชี้แจง : ลิ้มรสตัวอย่างจากทางซ้ายไปขวา โดยเลือกคะแนนความชอบใส่ลงในตารางด้านล่าง

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

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์

คุณลักษณะ	143	769	931	522	247	375	483
สี							
กลิ่นรส							
รสเค็ม							
รสขม							
ความชอบโดยรวม							

ข้อเสนอแนะ

.....

.....