อิทธิพลของสารยับยั้งแบคทีเรียต่อลักษณะเชิงคุณภาพของกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) หักหัวแช่น้ำแข็ง

บทคัดย่อ: การทดลองนี้มีจุดประสงค์เพื่อทดสอบผลของสารยับยั้งแบคทีเรีย ได้แก่ sodium lactate, sodium acetate, และ sodium triphosphate ที่ความเข้มข้นเท่ากัน คือร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ต่อลักษณะเชิงคุณภาพและอายุการเก็บรักษากุ้งก้ามกรามหักหัวแช่น้ำแข็ง โดยจุ่มกุ้งในสารยับยั้งแบคทีเรียนาน 2 นาที ก่อนเก็บในน้ำแข็ง ทำการสุ่มในวันที่ 0, 4, 8, 12, 16, และ 20 เพื่อวัดลักษณะเชิงคุณภาพซึ่งประกอบด้วย ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ, ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง, สีผิวเนื้อ, ความแข็งของเนื้อกุ้ง, ความเป็นกรดด่าง, ด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด, และคะแนนทางประสาทสัมผัสของเนื้อกุ้งดิบ (ลักษณะปรากฏ, กลิ่น, เนื้อสัมผัสเมื่อใช้มือ, และการยอมรับรวม) พบว่า สารยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดไม่ส่งผลต่อสีผิวเนื้อ, ความเป็นกรดด่าง, ความแข็ง, กลิ่น, และเนื้อสัมผัสเมื่อใช้มือของเนื้อกุ้ง ส่วน sodium acetate ลดปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดได้ดีกว่าสารอื่น ในขณะที่ sodium acetate และ sodium triphosphate ลดปริมาณ แบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำได้ดี โดยมีค่าลดลง 1.77 และ 1.50 log cfu/g นอกจากนี้ยังลดปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลางได้เช่นกัน โดยมีค่าลด 0.93 และ 0.65 log cfu/g ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การลดปริมาณแบคทีเรียนี้อาจช่วยชะลอการเน่าเสียของกุ้ง ส่งผลให้กุ้งที่จุ่มใน sodium acetate และ sodium triphosphate มีคะแนนทางประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะปรากฏและการยอมรับรวมสูงกว่าชุดควบคุม การใช้สารทั้งสองให้ผลดีเท่าเทียมกันในการยืดอายุการเก็บรักษากุ้งก้ามกราม โดยทำให้อายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจาก 12 วันเป็นมากกว่า 20 วัน หรือเพิ่มขึ้นกว่าร้อยละ 60 (คำสำคัญ: สารยับยั้งแบคทีเรีย กุ้งก้ามกราม ลักษณะเชิงคุณภาพ)

บทนำ

กุ้งก้ามกรามหรือกุ้งแม่น้ำ (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) เป็นสัตว์น้ำที่มีการเลี้ยงเชิงพาณิชย์ทั่วโลก โดยประเทศไทยเป็นผู้ผลิตอันดับสี่ของโลกในปี 2544 รองจากจีน อินเดีย และเวียดนาม (New, 2005) ในปี 2547 ผลผลิตกุ้งก้ามกรามของไทยมีปริมาณมากกว่า 32,000 ตัน คิดเป็นมูลค่ามากกว่า 3,800 ล้านบาท (กรมประมง, 2551ก และ 2551ข) การเลี้ยงกุ้งก้ามกรามของประเทศไทยมีการขยายตัวอย่างต่อเนื่อง New (2005) ประเมินว่ามีอัตราการขยายตัวมากกว่าร้อยละ 19 ระหว่างปี 1999-2004 สาเหตุของการขยายตัวมาจากกุ้งในประเทศมีราคาสูงและมีการส่งออกเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังมีกฎหมายห้ามเลี้ยงกุ้งทะเลในพื้นที่น้ำจืดทำให้เกษตรกรสนใจเลี้ยงกุ้งก้ามกรามเพิ่มขึ้น (สุนทรีย์ และนฤมล, 2545) กุ้งก้ามกรามนิยมเลี้ยงบริเวณภาคกลางของไทย (กองบรรณาธิการ, 2547) แถบจังหวัดสุพรรณบุรี และราชบุรี ภาคที่มีการเลี้ยงอันดับสองได้แก่ภาคภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบมากที่จังหวัดกาฬสินธุ์ (สำนักงานประมงจังหวัดกาฬสินธุ์, 2550)

การจำหน่ายกุ้งก้ามกรามในประเทศไทยมีสองลักษณะ คือการจำหน่ายกุ้งมีชีวิตและกุ้งสด การจำหน่ายกุ้งมีชีวิตนิยมใช้ในร้านอาหารและร้านขายปลีกที่ตั้งอยู่บริเวณไม่ห่างจากแหล่งผลิต สำหรับการจำหน่ายกุ้งสดมักอยู่ในลักษณะกุ้งแช่น้ำแข็ง ในอัตราส่วนกุ้งก้ามกรามต่อน้ำแข็ง 1:2 (Cheng et al., 1990) กุ้งก้ามกรามทั้งตัวแช่น้ำแข็งมีอายุการเก็บรักษาสั้นเพียง 3-5 วัน (Food and Agriculture Organization, 2002) เป็นปัญหาสำคัญของการลำเลียงกุ้งแช่น้ำแข็งไปยังตลาดหรือแหล่งแปรรูป การหักหัวกุ้งเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยให้เก็บรักษากุ้งได้ยาวนานขึ้น เพราะในหัวกุ้งมีอวัยวะภายใน เช่น กระเพาะอาหารที่มีแบคทีเรียจำนวนมาก เป็นสาเหตุของการเน่าเสีย นอกจากนี้หัวกุ้งยังมีเอนไซม์จากกระเพาะอาหารและ hepatopancreas ที่สามารถย่อยสลายเนื้อกุ้งได้ มีหลายรายงานที่ศึกษาวิธีเก็บรักษากุ้งก้ามกรามด้วยวิธีหักหัวตามด้วยการแช่น้ำแข็ง เนื่องจากความเย็นจากน้ำแข็งสามารถชลอการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้กุ้งก้ามกรามเน่าเสียได้ (Angel et al., 1985; Leitao and Rios, 2000; Food and Agriculture Organization, 2002) นอกจากนี้การใช้ความเย็นร่วมกับสาร-ยับยั้งแบคทีเรีย (antibacterial agent) ก็สามารถยืดอายุกุ้งได้เช่นกัน สารยับยั้งแบคทีเรียที่ปลอดภัยและพบว่าสามารถยืดอายุผลิตภัณฑ์กุ้งและปลา ได้แก่ sodium acetate (William et al., 1995; Al-Dagal and Bazaraa, 1999; Zhuang et al., 1996), sodium lactate (Kim and Hearmsberger, 1994; Kim et al., 1995; Al-Dagal and Bazaraa, 1999) และอนุพันธ์ของกรดฟอสฟอริก (phosphoric acid derivatives) (Marshall and Jindal 1997; Kim and Marshall 2002) สาร sodium acetate และ sodium lactate เป็นสารปลอดภัยที่ได้รับการยอมรับจาก Codex Alimentarius ให้ใช้ในผลิตภัณฑ์ semi-preserved crustacean แต่ sodium acetate และ sodium lactate ที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร (food grade) ยังไม่มีจำหน่ายแพร่หลายในประเทศไทย จึงทำให้เกิดข้อจำกัดในการใช้สารดังกล่าว ส่วนสารอนุพันธ์ของกรดฟอสฟอริก เช่น sodium triphosphate นิยมใช้ในอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเลอย่างกว้างขวางจึงหาซื้อง่าย ผลของสารเหล่านี้ต่อลักษณะเชิง

คุณภาพของกุ้งก้ามกรามในประเทศไทยยังไม่มีผู้ทำการศึกษา ดังนั้นการทดลองนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาผลของสารยับยั้งแบคทีเรียชนิด sodium lactate, sodium acetate, และ sodium triphosphate ต่อลักษณะเชิงคุณภาพของกุ้งก้ามกรามหักหัวแช่น้ำแข็ง

วิธีการศึกษา

การเตรียมสารยับยั้งแบคทีเรีย

ละลายสารยับยั้งแบคทีเรีย 3 ชนิด ประกอบด้วย sodium lactate (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), sodium acetate (Rankem, New Delhi, India), และ sodium triphosphate (ฟู้ดอีคิว จำกัด, กรุงเทพ) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ในน้ำดื่ม (โคลาลิส จำกัด, ขอนแก่น) ส่วนกลุ่มควบคุม (control) ใช้น้ำดื่มชนิดเดียวกัน โดยไม่ผสมสารยับยั้งแบคทีเรียชนิดใด เตรียมสารละลายทุกชนิดที่ใช้ก่อนการทดลอง 2 ชั่วโมง และเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

การเตรียมกุ้งก้ามกราม

ซื้อกุ้งก้ามกรามคละเพศ (ถ้าเป็นกุ้งตัวเมียต้องไม่มีไข่ติดใต้ท้อง) ขนาด 30-40 ตัว/กิโลกรัม ครั้งละ 70 กิโลกรัม จากฟาร์มแห่งหนึ่งในตำบลบัวบาน อำเภอยางตลาด จังหวัดกาฬสินธุ์ ระหว่างเดือนมีนาคม-พฤษภาคม พ.ศ. 2549 ทำให้กุ้งตายโดยแช่ในน้ำเย็นจัดผสมน้ำแข็งอุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส (Food and Agriculture Organization, 2002) ต่อมาล้างกุ้งในน้ำดื่มผสมน้ำแข็งอัตราส่วน 2:1 โดยน้ำหนัก จากนั้นหักหัวกุ้งออก ล้างกุ้งที่หักหัวแล้วในน้ำผสมน้ำแข็งอีก 2 ครั้ง สะเด็ดน้ำ แบ่งกุ้งเป็น 4 ส่วน บรรจุแต่ละส่วนในถุงพลาสติก แช่ไว้ในน้ำแข็ง และดำเนินการทดลองให้แล้วเสร็จภายใน 2 ชั่วโมง

การทดลองใช้สารยับยั้งแบคทีเรีย

นำกุ้งแช่น้ำแข็ง 4 ส่วน ที่เตรียมไว้จากข้อ 2 มาจุ่มในสารละลาย 4 ชนิดในข้อ 1 นาน 2 นาที คนตลอดเวลา สะเด็ดกุ้งที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที และสุ่มแบ่งกุ้งที่ผ่านการจุ่มสารยับยั้งแบคทีเรียเป็น 6 ถุงๆ ละ 1 กิโลกรัม บรรจุในถุงพลาสติกขนาด 30x45 เซนติเมตรที่มีจำหน่ายในท้องตลาด โดยซ้อนถุง 3 ใบเพื่อป้องกันหางกุ้งแทงถุง และแผ่กุ้งให้กระจายทั่วถุง โดยมีความหนาของถุงกุ้งประมาณ 1-2 เซนติเมตร จากนั้นมัดปากถุงด้วยหนังยางเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอก เก็บถุงกุ้งในกระติกน้ำแข็ง ใช้อัตราส่วนของน้ำแข็งต่อน้ำหนักกุ้งเท่ากับ 1:2 โดยน้ำแข็งร้อยละ 50 จะถูกวางไว้ใต้ถุงกุ้งส่วนน้ำแข็งที่เหลืออีกร้อยละ 50 จะถูกวางไว้บนถุงกุ้ง น้ำที่เกิดจากการละลายของน้ำแข็งจะถูกปล่อยทิ้งและเติมน้ำแข็งใหม่ทุกวัน

การประเมินลักษณะเชิงคุณภาพของกุ้งก้ามกราม

ทำการสุ่มกุ้งก้ามกรามในวันที่ 0, 4, 8, 12, 16, และ 20 ของการเก็บรักษา เพื่อทำการวัดลักษณะเชิงคุณภาพ ในด้านต่างๆ ดังนี้

การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรีย

1.1.1 ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ (psychrotrophic bacteria) ตามวิธีของ American Public Health Association (2001) โดยชั่งกุ้งที่หั่นโดยใช้มีดฆ่าเชื้อแล้ว 25 กรัม ใส่ใน sterilized peptone water เข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ผสมโดยใช้เครื่อง stomacher 3500 Jumbo (Seward Laboratory Systems Inc, Bohemia, NY, USA) 60 วินาที นับจำนวนแบคทีเรียใน plate count agar (BBL, Sparks, MD, USA) โดยใช้เทคนิค pour plate บ่มเชื้อที่ 7±1 องศาเซลเซียส 10 วัน

1.1.2 ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic bacteria) ตามวิธีของ American Public Health Association (2001) ทำเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ แต่บ่มเชื้อที่ 30±1 องศาเซลเซียส 2 วัน

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. ความเป็นกรดด่างของเนื้อกุ้ง (pH) ใช้วิธีของ Chiou and Huang (2004) ผสมเนื้อกุ้งในน้ำกลั่นที่ผ่านการกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ออก โดยใช้ในอัตราส่วน 1: 10 โดยน้ำหนัก ปั่นเป็นเวลา 30 วินาที วัดค่าความเป็นกรดด่าง ด้วย Sartorius PP-150 pH meter (Sartorius Corp., Edgewood, NY, USA)

2.ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (total volatile base nitrogen: TVB-N) ใช้เทคนิค Conway micro-diffusion ของ Subramanian (2007) เตรียมสารสกัดกุ้ง โดยผสม 20%trichloroacetic acid (TCA) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร กับ 5%TCA ปริมาตร 80 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน ตามด้วยตัวอย่างกุ้งบดปริมาณ 20 กรัม แล้วจึงปั่นให้ละเอียด เสร็จแล้วกรองเศษกุ้งออกด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นบรรจุสารสกัดที่ได้ในลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วย 5%TCA

เตรียมสาร inner ring solution เริ่มจากเตรียม mixed indicator solution โดยละลาย bromocresol green ปริมาณ 0.01 กรัม และ methyl red ปริมาณ 0.02 กรัม ใน ethanol แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำ mixed indicator solution ทั้งหมดละลายใน ethanol 200 มิลลิลิตร แล้วเติม boric acid ปริมาณ 10 กรัม แล้วจึงปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นดูดสาร inner ring solution ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในวงชั้นในของจาน Conway แล้วจึงดูดสารสกัดกุ้งปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในวงชั้นนอกของจาน Conway จากนั้นเติมสาร saturated potassium carbonate ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในวงชั้นนอกของจาน Conway แล้วปิดฝาจาน Conway ทันที แล้วเก็บจาน Conway ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 38 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นไตรเตรท inner ring solution ด้วย hydrochloric acid เข้มข้น 0.01 N ในวงชั้นในของจาน Conway จนกระทั่งสีเขียวหายไป แล้วใช้ 5%TCA แทนสารสกัดกุ้งเป็น blank คำนวณปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดจากสูตร

ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (มิลลิกรัมไนโตรเจน/ 100 กรัม) = [14 x N x (VS-VB) x 25 x 100] / w

VS = ปริมาณ hydrochloric acid ที่ใช้ไตรเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

VB = ปริมาณ hydrochloric acid ที่ใช้ไตรเตรท blank (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของ hydrochloric acid (N)

w = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

การวิเคราะห์ทางกายภาพ

1. ความแข็งของเนื้อกุ้ง (hardness) ใช้เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส model TA-XT2 (SFigure Micro Systems , Surrey, UK) และใช้ใบมีดตัดแบบ single knife blade ความเร็วการเคลื่อนใบมีด 0.8 มิลลิเมตร/วินาที

2. สีผิวเนื้อกุ้ง ใช้เครื่องวัดสี HunterLab Labscan II 0/45 (Hunter Associates Laboratory, Inc.Reston, VA, USA) โดยแสดงค่าสีด้วย ค่า 'L' (Lightness), 'a' (+a= red, -a=green) และ 'b' (+b=yellow, -b= blue)

4.4 การประเมินทางประสาทสัมผัสในกุ้งดิบ ใช้ 9-point verbal hedonic scale ตาม Meilgaard et al. (1999) และ Cheng et al. (1990) ใช้ผู้ทดสอบ 12 คน ที่ผ่านการฝึกให้คุ้นเคยกับการเปลี่ยนแปลงสภาพของกุ้งก้ามกรามตั้งแต่กุ้งสดจนถึงกุ้งเน่า โดยมีกุ้งสดเป็นตัวอย่างเปรียบเทียบระหว่างการประเมินทุกครั้ง ทำการประเมินลักษณะปรากฏของเนื้อกุ้ง (appearance), กลิ่นเนื้อกุ้ง (odor), เนื้อสัมผัสของเนื้อกุ้งเมื่อใช้มือ (hand-fell texture), และการยอมรับรวม (overall acceptability) แบ่งคะแนนเป็น 9 ระดับ ได้แก่ 1= ไม่ชอบมากที่สุด (dislike extremely), 2 = ไม่ชอบมาก (dislike very much), 3 = ไม่ชอบปานกลาง (dislike moderately), 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย (dislike slightly), 5 = เฉยๆ (neither like or dislike), 6 = ชอบเล็กน้อย (like slightly), 7 = ชอบปานกลาง (like moderately), 8 = ชอบมาก (like very much), และ 9 = ชอบมากที่สุด (like extremely) ระดับคะแนน 5 ถือว่าเป็น border line ของการประเมิน (Cheng et al., 1990)

แผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล

แผนการทดลองแบบ split plot จัดทรีทเมนต์แบบ 4x6 factorial รวมทั้งหมด 24 ทรีทเมนต์ โดย main plot คือ สารยับยั้งแบคทีเรีย (control, sodium lactate, sodium acetate, และ sodium triphosphate) ส่วน sub-plot คือระยะเวลาในการเก็บ (0, 4, 8 ,12, 16, และ 20 วัน) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วนำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ลักษณะเชิงคุณภาพมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SAS version 9 ที่ความน่าจะเป็น 95 เปอร์เซ็นต์ การจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ยใช้วิธี least significant level (LSD) ตามคำแนะนำของ Milliken and Johnson (1997)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

สารยับยั้งแบคทีเรียและระยะเวลาในการเก็บรักษา พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน (interaction) ($P>0.05$) ในทุกค่าที่ทำการวิเคราะห์ แต่ชนิดของสารยับยั้งแบคทีเรียและระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อลักษณะเชิงคุณภาพของกุ้งก้ามกราม

ผลของสารยับยั้งแบคทีเรียต่อลักษณะเชิงคุณภาพของกุ้งก้ามกราม

1.1 ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ พบว่าสารยับยั้งแบคทีเรียส่งผลต่อแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดย sodium acetate และ sodium triphosphate สามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำได้ดีเท่าเทียมกัน (Figure 1) คือสามารถลดปริมาณแบคทีเรียต่ำลงกว่าชุดควบคุม 1.77 และ 1.50 log cfu/g ตามลำดับ ในขณะที่ sodium lactate สามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำได้เพียง 0.85 log cfu/g ประสิทธิภาพของ sodium acetate ในการยับยั้งแบคทีเรียในกุ้งก้ามกรามสอดคล้องกับ Al-Dagal and Bazaraa (1999) ซึ่งพบว่า sodium acetate เข้มข้นร้อยละ 10 สามารถลดการเจริญของแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำในกุ้ง *Penaeus* spp. ทั้งตัวแช่น้ำแข็ง โดยทำให้ lag phase และ generation time ของแบคทีเรียเพิ่มขึ้น ส่วนการทดลองของ Mu et al. (1997) พบว่าการใช้ sodium triphosphate เข้มข้นร้อยละ 10 ทำให้ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำในกุ้ง *Penaeus* spp. แช่เย็น ลดลงหลังวันที่ 3 ของการเก็บรักษา สำหรับการใช้ sodium acetate ความเข้มข้นเพียงร้อยละ 2 หรือ sodium lactate ความเข้มข้นร้อยละ 2-5 ไม่สามารถลดแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำในกุ้ง *Penaeus* spp. (Zhuang et al., 1996; Al-Dagal and Bazaraa, 1999)

ประสิทธิภาพของสาร sodium acetate และ sodium triphosphate ในการลดปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ ส่งผลให้สามารถชะลอการเน่าเสียและยืดอายุการเก็บรักษากุ้งก้ามกรามได้ เมื่อพิจารณาปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำที่ระดับ 7-8 log cfu/g ซึ่งแสดงว่ากุ้งเน่าเสีย (Al-Dagal and Bazaraa, 1999) ชุดควบคุมจะเน่าเสียในวันที่ 12 โดยมีแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำเท่ากับ 7.21 log cfu/g และในวันดังกล่าว คะแนนการยอมรับรวมทางประสาทสัมผัสอยู่ที่ 4.49 คะแนน ซึ่งต่ำกว่า border line ส่วนกุ้งที่จุ่มใน sodium acetate และ sodium phosphate มีปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ ในวันที่ 20 เท่ากับ 5.24 และ 5.32 log cfu/g ตามลำดับ และในวันเดียวกันนี้คะแนนการยอมรับรวมทางประสาทสัมผัสของกุ้งดังกล่าวเท่ากับ 8.12 และ 7.93 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่า border line แสดงว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองกุ้งก้ามกรามที่จุ่ม sodium acetate และ sodium phosphate ยังไม่เน่าเสีย ดังนั้นหากใช้ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำและคะแนนการยอมรับรวมเป็นเกณฑ์ การจุ่ม sodium acetate และ sodium phosphate ทำให้อายุการเก็บรักษากุ้งก้ามกรามจะขยายจาก 12 เป็นมากกว่า 20 วัน หรือขยายไปกว่าร้อยละ 60

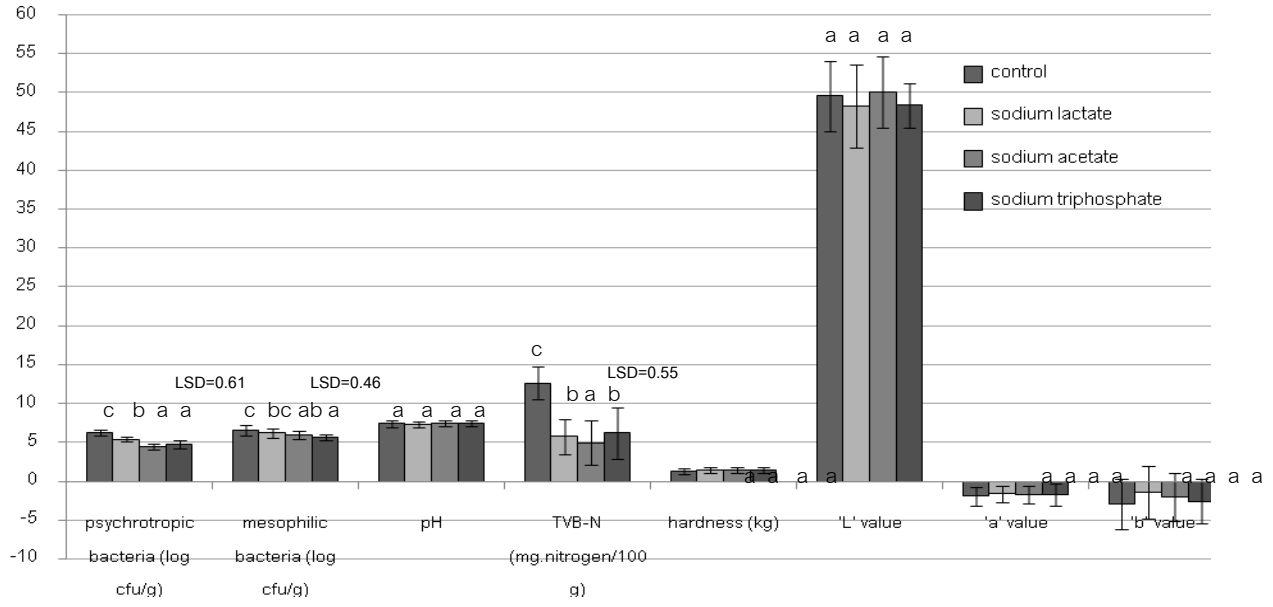

Figure 1 Quality characteristics of giant freshwater prawns as affected by antibacterial agents at 10% concentration. Within each quality characteristic, means antimicrobial agents not designated by same letter are significantly different according to LSD ($P<0.05$)

1.2 ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง พบว่าสารยับยั้งแบคทีเรีย ชนิด sodium acetate และ sodium triphosphate สามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลางได้ดีเท่าเทียมกัน (Figure 1) โดย sodium acetate และ sodium triphosphate สามารถลดแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง ลดลงกว่าชุดควบคุม 0.93 และ 0.65 log cfu/g ตามลำดับ สำหรับการใช้ sodium lactate พบว่าลดปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง ได้ต่ำกว่าชุดควบคุมเพียงเล็กน้อยแต่ไม่แสดงความแตกต่างทางสถิติ (Figure 1) ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลางอาจไม่สัมพันธ์กับการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำเท่าแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ จึงไม่มีรายงานระดับที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย (Huss, 1995) แต่มาตรฐานของกุ้งดิบแช่เยือกแข็ง/แช่เย็น (มอกช. 9007-2548) กำหนดให้มีปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง ได้ไม่เกิน 5.70 log cfu/g (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2548) เมื่อนำค่ามาตรฐานดังกล่าวมาเทียบกับปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลางของชุดควบคุม (6.00 log cfu/g), sodium lactate (5.94 log cfu/g), sodium acetate (5.88 log cfu/g), และ sodium triphosphate (5.02 log cfu/g) พบว่าทุกตัวอย่าง (ยกเว้นกุ้งที่จุ่มใน sodium triphosphate) มีปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลางเกินค่ามาตรฐานตั้งแต่วันที่ 0 แต่ในวันดังกล่าว พบว่าคะแนนทางประสาทสัมผัส (ลักษณะปรากฏ, กลิ่น, เนื้อสัมผัส, และการยอมรับรวม) มีค่าเกิน 8 คะแนน ซึ่งสูงกว่าค่า border line มาก ผลการทดลองที่ได้ยืนยันรายงานของ Huss (1995) ว่าปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลางอาจไม่สัมพันธ์กับการเน่าเสียของสัตว์น้ำ

1.3 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (total volatile base nitrogen: TVB-N) เป็นค่าที่สูงขึ้นเมื่อสัตว์น้ำเกิดการเน่าเสีย (Huss, 1995) การทดลองพบว่าสารยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด สามารถลดปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดในกุ้งก้ามกรามอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยสารยับยั้งแบคทีเรียที่ให้ผลดีที่สุดคือ sodium acetate ส่วนสารที่ให้ผลดีรองลงมาคือ sodium lactate หรือ sodium triphosphate ซึ่งสารสองชนิดนี้ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (Figure 1) รายงานของ Huss (1995) กล่าวว่าด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดในปลา (ยกเว้นในปลากลุ่ม gadoid) ส่วนมากจะมาจากกิจกรรมของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย ดังนั้นสารยับยั้งแบคทีเรียที่ให้ผลดีในการลดปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ เช่น sodium acetate (Figure 1) อาจให้ผลดีในการลดปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดเช่นกัน

1.4 การประเมินทางประสาทสัมผัส เป็นการวิเคราะห์ลักษณะปรากฏ, กลิ่น, เนื้อสัมผัสเมื่อใช้มือ, และการยอมรับรวมของเนื้อกุ้งพบว่าสารยับยั้งแบคทีเรียมีผลต่อลักษณะปรากฏและการยอมรับรวมของเนื้อกุ้งอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดย sodium acetate และ sodium triphosphate ได้คะแนนลักษณะปรากฏและการยอมรับรวมในระดับสูงไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่คะแนนสูงกว่าคะแนนของ sodium lactate และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) (Figure 2) ดังนั้น sodium acetate และ sodium triphospate สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัสของกุ้งก้ามกรามได้ การชะลอการเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัสนี้อาจมาจากความสามารถในการลดปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเน่าเสียของกุ้ง การทดลองสอดคล้องกับ Al-Dagal and Bazaraa (1999) ที่พบว่าเนื้อกุ้ง *Penaeus* spp. ที่จุ่มใน sodium acetate เข้มข้นร้อยละ 10 เป็นเวลา 2 นาที มีคะแนนลักษณะปรากฏสูงกว่าชุดควบคุมในวันที่ 10 ของการเก็บรักษา การศึกษาลักษณะเชิงคุณภาพอื่นๆ ของกุ้งก้ามกราม เช่น ความเป็นกรดด่าง, ความแข็ง, ค่าสีผิวเนื้อ (ค่า 'L', 'a', และ 'b'), กลิ่น, และเนื้อสัมผัสเมื่อใช้มือของเนื้อกุ้ง (Figure 1 and 2) พบว่าการจุ่มกุ้งในสารยับยั้งแบคทีเรียชนิดต่างๆ ให้ค่าเหล่านี้ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$)

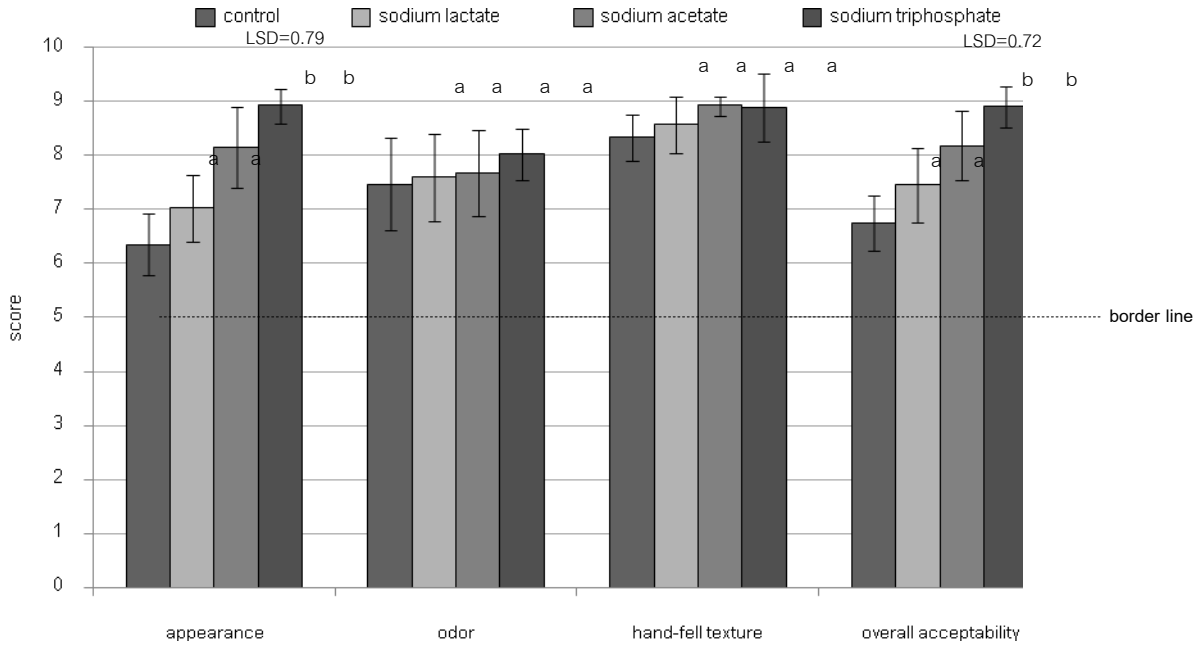

Figure 2 Sensorial scores of raw giant freshwater prawns as affected by antibacterial agents at 10% concentration. Within each quality characteristic, means antimicrobial agents not designated by same letter are significantly different according to LSD (P<0.05)

ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อลักษณะเชิงคุณภาพของกุ้งก้ามกราม

2.1 ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ พบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาส่งผลต่อปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) โดยปริมาณแบคทีเรียเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา จากปริมาณเริ่มต้นเท่ากับ 4.5 cfu/g เป็น 6.4 log cfu/g ในวันสุดท้ายของการทดลอง (Figure 3) ปริมาณแบคทีเรียเริ่มต้นที่พบนี้สูงกว่ารายงานของ Lalitha and Surendran (2004) ซึ่งพบปริมาณ แบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำในกุ้งก้ามกรามหักหัวเพียง 3.25 log cfu/g การเพิ่มของปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำตามระยะเวลาในการเก็บรักษานี้เป็นปรากฏการณ์ที่พบทั่วไปในอาหารแช่เย็นหรือแช่น้ำแข็ง เนื่องจากการแช่เย็นหรือแช่น้ำแข็งสามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียได้เท่านั้น แต่ไม่สามารถหยุดการเจริญของแบคทีเรียได้อย่างสมบูรณ์ (Jay, 2000)

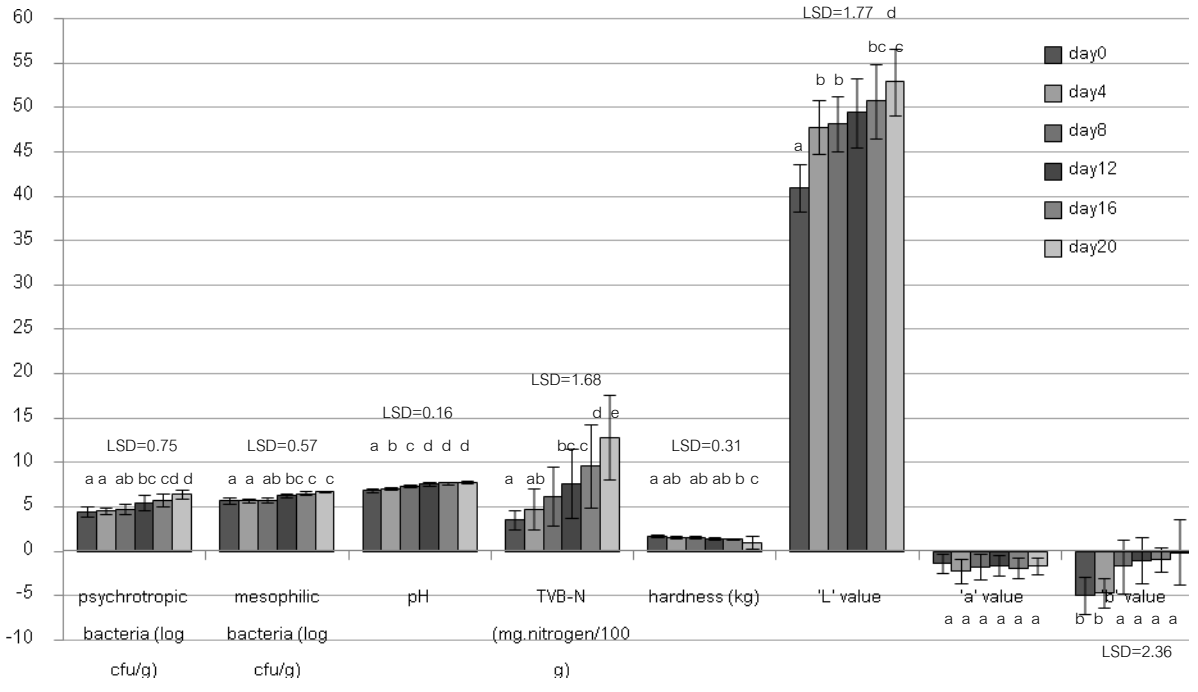

Figure 3 Quality of giant freshwater prawns as affected by storage time. Within each quality characteristic,

means storage times not designated by same letter are significantly different according to LSD (P<0.05)

2.2 ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง พบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาส่งผลต่อปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปาน-กลางอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลางเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา โดยเพิ่มจากปริมาณเริ่มต้นที่ 5.71 log cfu/g เป็น 6.73 log cfu/g ในวันที่ 20 (Figure 3) ปริมาณเริ่มต้นของแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลางที่ได้จากการทดลองสูงกว่ารายงานของ Lalitha and Surendran (2004) ที่พบว่าแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง ในกุ้งก้ามกรามหักหัวมีเพียง 4.92 log cfu/g

2.3 ความเป็นกรดด่างของเนื้อกุ้ง พบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาส่งผลต่อความเป็นกรดด่างอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) โดยความเป็นกรดด่างเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา (Figure 3) ความเป็นกรดด่างในเนื้อกุ้งเริ่มต้นที่ 6.86 และเพิ่มเป็น 7.76 ในวันที่ 20 สอดคล้องกับรายงานของ Cheng et al. (1990), Shamshad et al. (1990), Goncalves et al. (2003), และ Zeng et al. (2005) การเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรดด่างในเนื้อปลาเกิดจากการสะสมของแอมโมเนียและด่างระเหยได้ (volatile bases) ชนิดต่างๆ ซึ่งผลิตโดยแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย (Huss, 1995) ปรากฏการณ์นี้อาจเกิดในกุ้งและทำให้ความเป็นกรดด่างเพิ่มขึ้นเช่นกัน

2.4 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (total volatile base nitrogen: TVB-N) พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ตามระยะเวลาในการเก็บรักษา โดยปริมาณด่างที่ระเหยได้เพิ่มขึ้นช้าๆ ในช่วง 4 วันแรก และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากวันที่ 12 (Figure 3) ผลการทดลองสอดคล้องกับ Leitao and Rios (2000) ซึ่งพบว่าปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดในกุ้งก้ามกรามเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา สำหรับกุ้งชนิดอื่นๆ พบว่าด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษาเช่นกัน (Fatima et al., 1988; Cheng et al., 1990; Shamshad et al., 1990; Yamagata and Low, 1995)

2.5 ความแข็งของเนื้อกุ้ง พบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาส่งผลต่อความแข็งของเนื้อกุ้งอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) (Figure 3) โดยค่าความแข็งของเนื้อกุ้งลดลงตามระยะเวลาของการเก็บรักษา (Figure 3) ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ Nip and Moy (1981), Angel et al. (1985), Xiong et al. (2002), และ Ando et al. (2004) ที่พบว่าค่าความแข็ง (hardness) หรือแรงเฉือน (shear) ของเนื้อกุ้งลดลงตามระยะเวลาในการเก็บรักษา ในกรณีกุ้งมีหัว การเสื่อมสภาพของเนื้ออาจเกิดจากการทำงานของเอนไซม์พวก collagenases ที่มาจาก hepatopancreas เป็นหลัก สำหรับกุ้งหักหัว การเสื่อมสภาพเกิดขึ้นได้เช่นกัน เนื่องจากกล้ามเนื้อกุ้งมีเอนไซม์ calpain และ cathepsin (Xiong et al., 2002)

2.6 สีผิวเนื้อกุ้ง แสดงโดยค่า 'L', 'a' และ 'b' พบว่าค่า 'L' เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ตามระยะเวลาในการเก็บรักษา (Figure 3) หมายความว่ากุ้งมีสีซีดลงเมื่อเก็บรักษานานขึ้น สอดคล้องกับคำอธิบายของ Bal'a et al. (2000) ที่กล่าวว่าการเก็บรักษาเนื้อปลาดุก channel ที่ยาวนานทำให้เกิดการสลายตัวของรงควัตถุ (pigment) ทำให้ค่า 'L'เพิ่มขึ้น สำหรับค่า 'b' พบว่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ตามระยะเวลาในการเก็บรักษา (Figure 3) ส่วนค่า 'a' ไม่ผันแปรตามระยะเวลาในการเก็บรักษา (P>0.05) (Figure 3) ค่าสีกุ้งที่ผู้วิจัยแต่ละกลุ่มวัดได้มีความแตกต่างกัน เช่น การทดลองของ Lopes-Caballero (2007) พบว่าค่า 'a' และ 'b' ของกุ้ง *Parapenaeus longirostris* ไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอด 16 วันของการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส ส่วน Ando et al. (2004) รายงานว่าไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่า 'L' บริเวณหางกุ้ง Kuruma ที่เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ส่วนค่า 'a' เพิ่มขึ้นในวันที่ 2 ของการเก็บรักษา แต่ในวันเดียวกันค่า 'b' ลดลง

2.7 การประเมินทางประสาทสัมผัส พบว่าคะแนนลักษณะปรากฏ, กลิ่น, เนื้อสัมผัสโดยใช้มือ, และการยอมรับรวมของเนื้อกุ้งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น (Figure 4) การเปลี่ยนแปลงของเนื้อกุ้งตามระยะเวลาการเก็บรักษาอาจทำให้สีกุ้งเปลี่ยนแปลงและมีลักษณะปรากฏไม่ดี จึงส่งผลให้คะแนนของลักษณะปรากฏมีค่าต่ำลง ส่วนการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียระหว่างการเก็บรักษาอาจมีส่วนทำให้คะแนนกลิ่นลดลง Gram and Huss (1996) กล่าวว่าแบคทีเรียสามารถสร้างสารมีกลิ่นเหม็น เช่น trimetylamine, hydrogen sulfide, methyl mercaptan (CH_3SH), methylsulfide ($(CH_3)_2S$), ammonia, และสารระเหยอื่นๆ ทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำลดลง ส่วนคะแนนเนื้อสัมผัสที่มีค่าลดลง อาจเป็นผลจากการย่อยสลายของกล้ามเนื้อกุ้ง โดยเอนไซม์ย่อยโปรตีน (protease) ที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อกุ้งโดยธรรมชาติ เช่น calpain และ cathepsin (Xiong et al., 2002) นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ผลิตโดยแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย (Venugopal, 1990) อาจมีส่วนทำให้กล้ามเนื้อกุ้งอ่อนลงจนสามารถตรวจสอบทางประสาทสัมผัสได้ ผลการทดลองที่

ได้สอดคล้องกับรายงานของ Shamshad et al. (1990) และ Fatima et al. (1988) ซึ่งทดลองในกุ้ง *Penaeus merguiensis* พบว่าคะแนนการยอมรับรวมลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น

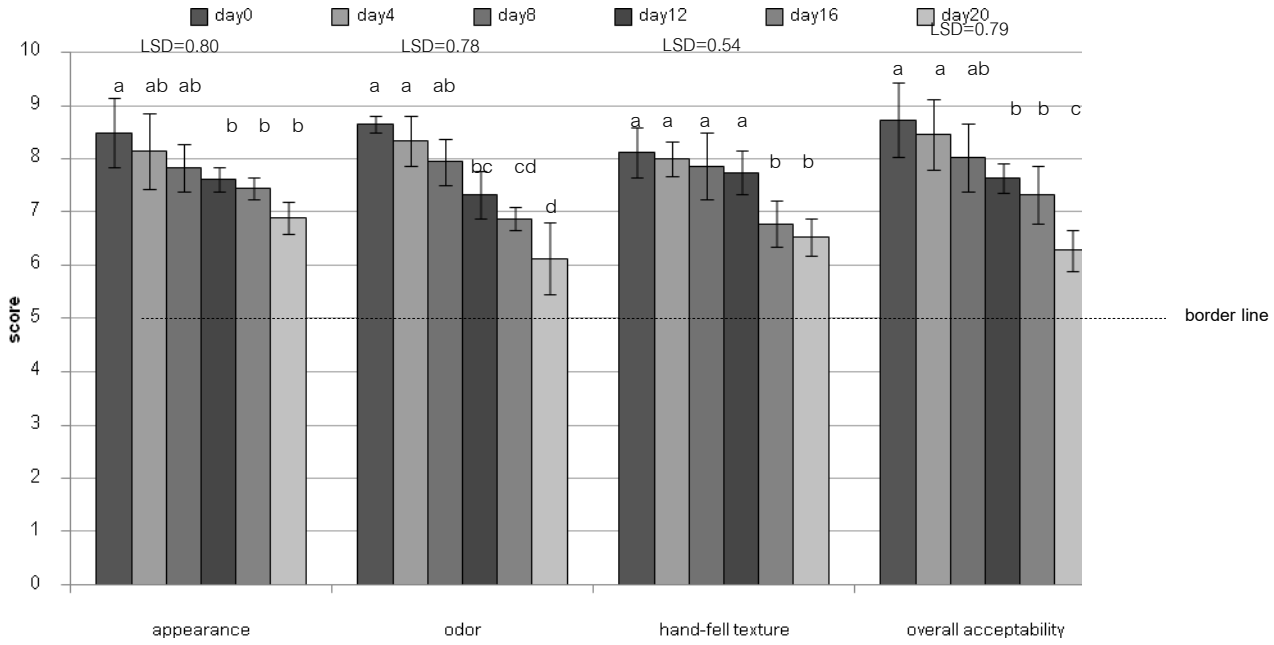

Figure 4 Sensorial scores of raw giant freshwater prawns as affected by storage time. Within each quality characteristic, means storage times not designated by same letter are significantly different
according to LSD ($P<0.05$)

สรุป

sodium acetate หรือ sodium triphosphate เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของแบคทีเรียและชะลอการเปลี่ยนแปลงลักษณะเชิงคุณภาพของกุ้งก้ามกราม เมื่อใช้ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำและค่าการยอมรับรวมทางประสาทสัมผัสเป็นเกณฑ์ สารทั้งสองสามารถยืดอายุกุ้งก้ามกรามจาก 12 วัน เป็นมากกว่า 20 วัน หรือเพิ่มขึ้นกว่าร้อยละ 60