ผลของการเก็บรักษาและน้ำมันหอมระเหยต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของ
เนื้อขากบ *Hoplobatrachus rugulosus*

นางสาวอภิญญา จรัสโรจนกุล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2559
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF STORAGE AND ESSENTIAL OIL ON PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF FROG *Hoplobatrachus rugulosus* LEG MEAT

Miss Apinya Charasrosjanakul

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology
Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2016

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของการเก็บรักษาและน้ำมันหอมระเหยต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของเนื้อขากบ *Hoplobatrachus rugulosus*
โดย	นางสาวอภิญญา จรัสโรจนกุล
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา เลาหสงคราม

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.นินนาท ชินประหัษฐ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา เลาหสงคราม)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรภา คงเป็นสุข)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.พันธิพา จันทวัฒน์)

อภิญญา จรัสโรจนกุล : ผลของการเก็บรักษาและน้ำมันหอมระเหยต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของเนื้อขากบ *Hoplobatrachus rugulosus* (EFFECTS OF STORAGE AND ESSENTIAL OIL ON PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF FROG *Hoplobatrachus rugulosus* LEG MEAT) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร.สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. ดร.กัลยา เลาหสงคราม, 87 หน้า.

งานวิจัยนี้มีสองวัตถุประสงค์ โดยวัตถุประสงค์แรกเพื่อเปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์แช่แข็งด้วยวิธีไครโอจินิกและบรรจุในถุง EVAL™ ภายใต้ภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศ และเก็บรักษาแบบแช่แข็งที่ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติมีค่าความชื้นสูงกว่า แต่มีค่าโปรตีน ไขมัน เถ้าต่ำกว่าเนื้อขากบเลี้ยงเชิงพาณิชย์ และเมื่อเก็บรักษาแบบแช่แข็ง พบว่าเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติมีค่า pH ค่าสีแดง (a*) ค่า thiobarbituric acid (TBA) และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น แต่มีค่า L* and b* ต่ำกว่าเนื้อขากบเลี้ยงเชิงพาณิชย์ ($p \leq 0.05$) โดยภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลง และทุกตัวอย่างที่บรรจุทั้งสองภาวะสามารถเก็บรักษาได้นานอย่างน้อย 3 เดือน โดยที่ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานที่ 6 log cfu/g วัตถุประสงค์ที่สองเพื่อศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ระดับ 1000 mg/kg และ 2000 mg/kg ต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของเนื้อขากบบรรจุในถุง EVAL™ ภายใต้ภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 วัน พบว่า ตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยบรรจุแบบความดันบรรยากาศมีค่า pH ค่า a* ค่าการเปลี่ยนแปลงสี (ΔE) ค่า total volatile base (TVB) ค่า TBA และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น แต่มีค่า L* and b* ต่ำกว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบสุญญากาศในระหว่างการเก็บรักษา ($p \leq 0.05$) น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมมีประสิทธิภาพในการชะลอการเปลี่ยนแปลงได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี และการเติมน้ำมันหอมระเหยทั้งสองชนิดที่ 2000 mg/kg ให้ผลในการชะลอได้ดีกว่า 1000 mg/kg ดังนั้นตามเกณฑ์ด้านจุลินทรีย์ภายใต้ภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศ ตัวอย่างควบคุมสามารถเก็บได้ไม่เกิน 8 วัน ขณะที่ตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมสามารถเก็บได้ 16 วัน และจากโรสแมรีเก็บได้ 12 วัน ส่วนการบรรจุแบบสุญญากาศ ตัวอย่างควบคุมสามารถเก็บได้ 10 วัน และตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิดเก็บได้มากกว่า 16 วัน

ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร	ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....
ปีการศึกษา	2559	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

5772291123 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY
KEYWORDS: FROG / LEG MEAT / CHILLING / FREEZING / GARLIC OIL / ROSEMARY OIL / VACUUM PACKAGING

APINYA CHARASROSJANAKUL: EFFECTS OF STORAGE AND ESSENTIAL OIL ON PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF FROG *Hoplobatrachus rugulosus* LEG MEAT. ADVISOR: ASSOC. PROF.SAIWARUN CHAIWANICHSIRI, Ph.D., CO-ADVISOR: ASSOC. PROF.KALAYA LAOHASONGKRAM, Ph.D., 87 pp.

This research had two objectives. The first objective was to compare the physical, chemical, and microbiological properties of nature-raised (natural) and cultured frog leg meat, cryogenic frozen, packed in EVAL™ bags under atmospheric and vacuum conditions and stored at -18 °C for 3 months. The results show that the proximate composition of natural frog leg meat had higher moisture but lower contents of protein, crude fat and ash than those of cultured frog leg meat. During freezing storage, natural frog leg meat had higher pH, a*, thiobarbituric acid (TBA) and total aerobic plate count (TPC) but lower contents of L* and b* than those of cultured frog leg meat ($p \leq 0.05$). Packaging under vacuum condition could delay the changes and all frozen samples packed in both conditions could be stored at least 3 months. Second objective was to study the effects of essential oils of garlic and rosemary at 1000 mg/kg and 2000 mg/kg on the changes in physical, chemical and microbiological properties of frog leg meat packed in EVAL™ bags under atmospheric and vacuum conditions during storage at 4 °C for 16 days. It was found that samples added with essential oils under atmospheric had higher pH, a*, total color difference (ΔE), total volatile base (TVB), TBA and TPC but lower values of L* and b* than those packed under vacuum condition ($p \leq 0.05$). Garlic essential oil showed higher efficacy in retarding all changes in the samples than the rosemary essential oil with higher level of essential oil showed a better result. Based on microbiological criteria and under atmospheric packaging condition the shelf life of control samples 8 days while those with garlic and rosemary essential oil were 16 and 12 days, respectively. Under vacuum packaging condition, the shelf life of the control was 10 days while the others were more than 16 days.

Department:	Food Technology	Student's Signature	.....
Field of Study:	Food Technology	Advisor's Signature	.....
Academic Year:	2016	Co-Advisor's Signature	.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งและอย่างเต็มกำลังของ รองศาสจราจารย์ ดร.สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา เลาหสงคราม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่างๆ ในงานวิจัย และให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.นินนาท ชินประหัษฐ์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.พันธิพา จันทวัฒน์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรภา คงเป็นสุข ที่ร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งกรุณาให้คำแนะนำในการปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิเชฏฐ์ คนซื่อ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการให้ข้อมูลและจัดหากบนาที่ใช้ในการทำวิจัย

ขอบพระคุณบริษัท แอบบรา จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี และบริษัท Kuraray จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ถุงพลาสติก EVAL และให้คำแนะนำ ตลอดจนประสานงานและอำนวยความสะดวกระหว่างงานวิจัย

ขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ เพื่อน พี่ และน้อง ปริญญาโท ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือ และให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง

ท้ายสุดนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาที่สนับสนุน ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือทุกอย่างแก่ผู้วิจัยเสมมาจนสำเร็จการศึกษา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญ ..... ช
สารบัญรูป ..... ญ
สารบัญตาราง ..... ฏ
บทที่ 1 บทนำ 1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์ 2
2.1 กบนา 2
2.2 การเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์ 4
2.2.1 การเสื่อมเสียเนื่องจากสาเหตุทางกายภาพ 4
2.2.2 การเสื่อมเสียเนื่องจากสาเหตุทางเคมี 5
2.2.3 การเสื่อมเสียเนื่องจากสาเหตุทางจุลินทรีย์ 8
2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) 9
2.3.1 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ 9
2.3.1.1 สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ (Primary antioxidants) 9
2.3.1.2 สารจับออกซิเจน (Oxygen scavengers) 10
2.3.1.3 สารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ (Secondary antioxidants) 10
2.3.1.4 เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน 10
2.3.1.5 ตัวจับโลหะไอออน (Chelating agents หรือ Sequestrants) 10
2.4 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ 11
2.4.1 กระเทียม (Garlic) 12

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

2.4.2 โรสแมรี (rosemary) 15
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 16
3.1 วัตถุดิบ 16
3.1.1 กบนา (*Hoplobatrachus rugulosus*) 16
3.1.2 น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม (essential garlic oil) 16
3.1.3 ถุงพลาสติกชนิดเอทิลีนไวนิลแอลกอฮอล์ (ethylene vinyl alcohol : EVOH) 16
3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย 16
3.2.1 การเตรียมตัวอย่าง 16
3.2.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อขากบ 16
3.2.3 การศึกษาผลของสภาวะการบรรจุต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของเนื้อขากบ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส 17
3.2.4 การศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากธรรมชาติและสภาวะการบรรจุต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของเนื้อขากบ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 18
3.2.5 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ทางสถิติ 18
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 19
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อขากบ 19
4.2 ผลของสภาวะการบรรจุต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่แข็งด้วยวิธีไครโอจินิก โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส 20
4.2.1 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง (pH) 20
4.2.3 การเปลี่ยนแปลงค่า thiobarbituric acid (TBA) 26
4.2.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 28

Chulalongkorn University

หน้า

4.3 ผลของน้ำมันหอมระเหยจากธรรมชาติและสภาวะการบรรจุต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของเนื้อขากบในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 30
4.3.1 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง (pH) 30
4.3.2 การเปลี่ยนแปลงค่าสี 32
4.3.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Total volatile base (TVB) 37
4.3.4 การเปลี่ยนแปลงค่า thiobarbituric acid (TBA) 39
4.3.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TPC) 41
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 43
5.1 สรุปผลการทดลอง 43
5.2 ข้อเสนอแนะ 43
รายการอ้างอิง 44
ภาคผนวก 50
ภาคผนวก ก. การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ 51
ภาคผนวก ข. ข้อมูลวิเคราะห์ทางสถิติ 66
ภาคผนวก ค. ตารางผลการวิเคราะห์ข้อมูล 78
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 87

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 กลไกการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อ..... 5

รูปที่ 2.2 กลไกการเกิดสาร allicin 14

รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน 31

รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่า L* ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน 34

รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่า a* ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน 35

รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่า b* ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน 35

รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงค่า ΔE ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน 36

รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงค่า TVB ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน 38

รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงค่า TBA ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน 40

รูปที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงค่า TPC ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน 42

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ 19

ตารางที่ 4.2 ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในการเก็บรักษาแบบแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสและมีการบรรจุแตกต่างกัน 21

ตารางที่ 4.3 ค่าความสว่าง (L*) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในการเก็บรักษาแบบแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสและมีการบรรจุแตกต่างกัน..... 23

ตารางที่ 4.4 ค่าสีแดง (a*) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในการเก็บรักษาแบบแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสและมีการบรรจุแตกต่างกัน..... 24

ตารางที่ 4.5 ค่าสีเหลือง (b*) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในการเก็บรักษาแบบแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสและมีการบรรจุแตกต่างกัน..... 25

ตารางที่ 4.6 ค่า thiobarbituric acid (TBA) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในการเก็บรักษาแบบแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสและมีการบรรจุแตกต่างกัน..... 27

ตารางที่ 4.7 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในการเก็บรักษาแบบแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสและมีการบรรจุแตกต่างกัน 29

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

กบเป็นสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นที่นิยมบริโภคทั้งตลาดในและต่างประเทศ เช่น สเปน ฮ่องกง สิงคโปร์ ญี่ปุ่น เยอรมนี สหรัฐอเมริกา เป็นต้น แต่เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทำให้แหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติของกบลดลง ส่งผลให้ปริมาณกบตามธรรมชาติลดลงด้วย ทำให้มีผู้สนใจเลี้ยงกบในเชิงพาณิชย์เพิ่มมากขึ้น เป็นการลดปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบและสามารถจำหน่ายได้ราคาดี ได้ผลคุ้มค่าต่อการลงทุน ทั้งยังเป็นสินค้าส่งออกที่ช่วยลดการขาดดุลทางการค้าให้แก่ประเทศไทยอีกทางด้วย (กรมประมง, 2554) นอกจากกบจะมีความสำคัญต่อสภาวะแวดล้อมในการควบคุมและกำจัดแมลง มีประโยชน์ในการศึกษาค้นคว้าวิจัยทางชีววิทยาและทางการแพทย์แล้ว เนื้อกบยังเป็นอาหารโปรตีนที่มีรสดีมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ปัจจุบันจึงมีเกษตรกรเพาะเลี้ยงกบเชิงพาณิชย์เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้เนื้อกบซึ่งมีปริมาณไขมันสูงเกิดกลิ่นหืนในระหว่างกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษา และอาจมีผลต่อคุณภาพของเนื้อกบได้

การใช้สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติเติมลงในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันหรือน้ำมันเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ เป็นทางเลือกที่ดีวิธีหนึ่งในการรักษาคุณลักษณะ กลิ่นและรสชาติไว้ได้นานขึ้น โดยสารที่มีในเครื่องเทศหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ เช่น สารประกอบฟีนอลิกแอไมด์ (phenolic amides) ในพริกไทยดำ กรดโรสมารินิก (rosmarinic acid) ในโรสแมรี (rosemary) คาโนซอล (carnosol) ในเสจ (sage) อัลลิซิน (allicin) ในกระเทียม และสารอนุพันธ์ของกรดฟีนอลลิก (phenolic acid derivatives) ในออริกาโน (oregano) เป็นต้น (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและเคมีของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ การเปลี่ยนแปลงคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส และผลของน้ำมันสกัดจากธรรมชาติ (น้ำมันสกัดจากโรสแมรีและน้ำมันสกัดจากกระเทียม) และภาวะการบรรจุ (การบรรจุแบบความดันยรรยากาศและแบบสุญญากาศ) ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อขากบทั้งสองประเภทในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 กบนา

กบนา มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Chinese edible frog, East Asian bullfrog หรือ Taiwanese frog มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Hoplobatrachus rugulosus* เป็นสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำชนิดหนึ่งอยู่ในวงศ์กบนา (Ranidae) ลักษณะผิวด้านหลังมีสีน้ำตาลจุดดำ ผิวหนังขรุขระมีรอยย่น ที่ริมฝีปากมีแถบดำ ใต้คางมีจุดดำ หรือแถบลายดำ เมื่อโตเต็มที่มีน้ำหนัก 200–400 กรัม กบนาตัวเมีย มีขนาดโตกว่าตัวผู้ ตัวเมียที่พร้อมจะผสมพันธุ์ ท้องจะมีลักษณะอูม เคลื่อนไหวช้าและข้างลำตัวจะมีตุ่มเมื่อคลำดูมีลักษณะ สากมือ กบนาตัวผู้จะมีขนาดเล็กกว่าตัวเมีย มีน้ำหนักประมาณ 150–250 กรัม (กรมประมง, 2554)

เมื่อโตเต็มที่และพร้อมที่จะผสมพันธุ์จะมองเห็นถุงเสียง เป็นรอยย่นสีดำที่ใต้คาง ถุงเสียงเกิดจากการที่กบนาตัวผู้ส่งเสียงร้องเรียกตัวเมียในช่วงฤดูผสมพันธุ์ ตัวผู้ที่พร้อมจะผสมพันธุ์ในช่วงนี้ลำตัวจะมีสีเหลือง นิ้วเท้าด้านหน้าจะมีตุ่มที่ขยายใหญ่ขึ้น มองเห็นได้ชัดเจน ตุ่มนี้มีประโยชน์ในการใช้เกาะตัวเมียและตุ่มนี้จะหายไปในช่วงนอกฤดูผสมพันธุ์ โดยวงจรชีวิตของกบนั้นมีช่วงฤดูผสมพันธุ์อยู่ระหว่างเดือนมีนาคมไปจนถึงเดือนกันยายน ซึ่งจะสามารถเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์เมื่ออายุ 1 ปี วางไข่ครั้งละ 1,500–3,000 ฟองต่อครั้ง ระยะการฟักไข่กลายเป็นลูกอ๊อดใช้เวลา 24–36 ชั่วโมง ลูกอ๊อดพัฒนาไปเป็นลูกกบใช้เวลา 28–45 วัน โดยลูกอ๊อดมีลำตัวสีเขียวพบกระจายพันธุ์ในพื้นที่ชุ่มน้ำต่างๆ เช่น นาข้าวในภูมิภาคเอเชียตะวันออกและเอเชียอาคเนย์ สำหรับในประเทศไทยพบได้ทุกภาคและมีการเพาะขยายพันธุ์เป็นสัตว์เศรษฐกิจ

การเลี้ยงกบในปัจจุบันเป็นที่สนใจของเกษตรกรเป็นอย่างมาก ทั้งนี้เพราะกบเป็นสัตว์เลี้ยงง่าย ใช้เวลาน้อย ลงทุนน้อย ดูแลง่าย และราคาคุ้มค่ากับการลงทุน โดยเฉพาะตลาดต่างประเทศ และอีกสาเหตุที่มีผู้หันมาเลี้ยงกบมากขึ้น เพราะปริมาณกบที่มีอยู่ตามแหล่งธรรมชาติมีจำนวนลดน้อยลง เนื่องจากแหล่งที่อยู่อาศัยของกบถูกเปลี่ยนแปลงเป็นที่อยู่อาศัยของมนุษย์ รวมทั้งการสร้างโรงงานอุตสาหกรรม การใช้สารพิษกำจัดศัตรูพืช เป็นการตัดหนทางการแพร่พันธุ์ตามธรรมชาติของกบโดยสิ้นเชิง จึงมีการเพาะเลี้ยงกบเชิงพาณิชย์ขึ้นโดยการเลี้ยงกบในปัจจุบันมีหลากหลายวิธี เช่น การเลี้ยงกบในบ่อดิน ในคอก ในบ่อปูนซีเมนต์ เป็นต้น ส่วนอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงกบนั้น แบ่งออกเป็นอาหารสำเร็จรูปและอาหารจากธรรมชาติ อาหารสำเร็จรูปมักใช้อาหารเลี้ยงปลาดุก เริ่มต้นจากอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาดุกวัยอ่อนชนิดเม็ดเล็กสำหรับลูกกบ อาหารเลี้ยงปลาดุกวัยรุ่นสำหรับกบเล็ก และอาหาร

เลี้ยงปลาดุกใหญ่สำหรับกบเนื้อและพ่อแม่พันธุ์ ส่วนอาหารจากธรรมชาติ สามารถใช้เป็นอาหารเสริมโปรตีนและช่วยลดต้นทุนในการผลิต อาหารธรรมชาติเหล่านี้ประกอบด้วย ปลวก ไส้เดือน ไรแดง และแมลง เป็นต้น แต่การเพาะเลี้ยงนั้นต้องฝึกให้ลูกกบกินอาหารสำเร็จรูปด้วย เพราะหากไม่มีอาหารจากธรรมชาติ กบที่ไม่ผ่านการฝึกจะไม่กินอาหารสำเร็จรูป ซึ่งวิธีการเลี้ยงและอาหารที่ใช้เลี้ยงอาจจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของกบได้ (กรมประมง, 2554)

ในแง่คุณค่าทางโภชนาการของเนื้อกบ Ozogul, Ozogul, Olgunoglu and Boga (2008) วิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันและแร่ธาตุต่างๆ ของกบที่สามารถบริโภคได้ โดยเปรียบเทียบเนื้อบริเวณลำตัวและขา พบว่ากรดไขมันมีอยู่ทั้งเนื้อบริเวณลำตัวและขาในสัดส่วนที่สูงได้แก่ กรดไมริสติก (myristic acid, C14:0, 2.3%), กรดปาลมิติก (palmitic acid, C16:0, 23.23%), กรดสเตียริก (stearic acid, C18:0, 6.29%), กรดปาลมิโทเลอิก (palmitoleic acid, C16:1, 13.08%), กรดโอเลอิก (oleic acid, C18:1n-9, 16.71%) กรดลิโนเลอิก (linoleic acid, C18:2n-6, 6.71%) กรดแอลฟาลิโนเลอิก (α-linoleic acid, C18:3n-3, 3.37%) กรด cis-11,14,17-Eicosatrienoic (ETA, C20:3n-3, 4.71%) กรด cis-5,8,811,14,17-Eicosapentaenoic (EPA, C20:5n-3, 3.96%) กรด cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic (DHA, C22:6n-3, 2.77%) และกรดไขมันอื่นๆ (16.87%) ส่วน myristoleic acid (C14:1), cis-10-pentadecenoic acid (C15:1), erucic acid (C22:1n-9) และ cis-13,16-docosadienoic acid (C22:2) พบเฉพาะในเนื้อบริเวณลำตัวของกบเท่านั้น และพบว่าเนื้อกบมีปริมาณโพแทสเซียม (potassium) สูงที่สุด รองลงมาคือฟอสฟอรัส (phosphorus) และแคลเซียม (calcium) ซึ่งสอดคล้องกับ Tokur, Gurbuz and Ozyurt (2008) ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของเศษเนื้อกบที่เหลือจากอุตสาหกรรมแช่แข็งขากบ และพบว่าเศษเนื้อกบมีปริมาณโปรตีน ไขมันและเถ้าประมาณร้อยละ 68.6, 17.0 และ 13.2 โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ มีชนิดและปริมาณกรดอะมิโนใกล้เคียงกับปลา โดยมีปริมาณกรดกลูตามิก (glutamic acid) ไกลซีน (glycine) โพรลีน (proline) อาร์จีนีน (arginine) และเมทไทโอนีน (methionine) สูง จากการวิเคราะห์สัดส่วนของกรดไขมันพบว่ามีกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid : SFA) ประมาณร้อยละ 26.7 กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (total monounsaturated fatty acid : MUFA) ร้อยละ 42.5 ปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง (polyunsaturated fatty acid; PUFA) *n*-6 ร้อยละ 17.0 และ *n*-3 ร้อยละ 3.3 โดยกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักใน SFA, MUFA และ PUFA ของเนื้อกบได้แก่ กรดปาลมิติก (palmitic acid) ร้อยละ 19 กรดโอเลอิก (oleic acid) ร้อยละ 26 และกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) ร้อยละ 16.7 และมีปริมาณแร่ธาตุสูงโดยเฉพาะ สังกะสี โพแทสเซียม แมงกานีส และแมกนีเซียม และยังมีกรดโฟลิกและไทอามีนในระดับสูงด้วย นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของการแปรรูปเนื้อกบที่ผ่านการทอดและการต้มต่อคุณภาพของเนื้อกบ เพื่อประเมินอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ

ตู้เย็น (4°C) โดย Cakli, Kisla, Cadun, Dincer and Caglak (2009) พบว่าเนื้อกบสดมีค่าความชื้นร้อยละ 78.83 โปรตีนร้อยละ 18.83 ไขมันร้อยละ 1.04 และเถ้าร้อยละ 0.85 เนื้อกบทอดและเนื้อกบต้มมีค่า TBA เริ่มต้นเท่ากับ 1.34 ± 0.02 และ 1.54 ± 0.27 mg malonaldehyde/kg ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษา 9 วันค่า TBA เพิ่มขึ้นเป็น 10.60 ± 0.12 และ 8.16 ± 0.57 mg malonaldehyde/kg ซึ่งมีค่าเกินจากเกณฑ์อ้างอิงมาตรฐานของปลาแมคเคอเรล 8 mg malonaldehyde/kg ตาม Nishimoto, Suwetja and Miki (1985) สอดคล้องกับผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่พบว่าตัวอย่างทั้งสองเริ่มมีกลิ่นหืน

2.2 การเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์

การเสื่อมเสียของอาหาร (food spoilage) หมายถึง การที่อาหารมีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ โดยอาหารมีกลิ่นรส สี และลักษณะเนื้อสัมผัสเปลี่ยนไป อาจมีเมือกและแก๊สเกิดขึ้นด้วย (Gram et al., 2002) โดยสามารถแยกเป็น 3 สาเหตุหลักคือ

2.2.1 การเสื่อมเสียเนื่องจากสาเหตุทางกายภาพ

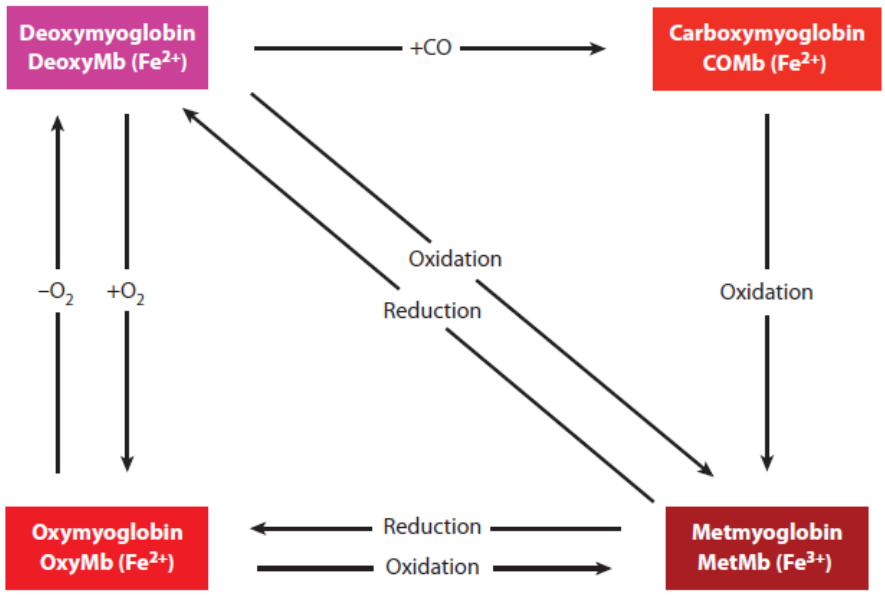
การเสื่อมเสียของอาหารเนื่องจากสาเหตุทางกายภาพนี้ ส่วนใหญ่ไม่เป็นอันตรายเพียงแต่อาหารจะเสื่อมคุณภาพ อาจมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของอาหาร และอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์และปฏิกิริยาเคมีต่อไป ซึ่งได้แก่ การเกิดรอยช้ำหรือขีดข่วนเนื่องจากการขนถ่ายวัตถุดิบ ซึ่งอาจเกิดจากการขนส่งไม่ถูกวิธีและไม่ระมัดระวังทำให้เกิดการฉีกขาดของเซลล์ที่ผิวของอาหาร และการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพจากกรรมวิธีที่ใช้ในการเตรียมอาหารก่อนแปรรูป เช่นการตัด การหั่น จะเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิว เป็นเหตุให้จุลินทรีย์เข้าไปเจริญหรือเกิดปฏิกิริยาเคมีได้ การเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสจากกรรมวิธีการแปรรูปอาหาร เช่นการแช่เยือกแข็งแบบช้า จะทำให้น้ำในอาหารเปลี่ยนเป็นผลึกน้ำแข็งอย่างช้าๆ และเพิ่มขนาดทำให้เซลล์เกิดการฉีกขาดได้ และการเกิดปรากฏการณ์ทางกายภาพต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษาอาหาร ได้แก่ การสูญเสียน้ำหรือความชื้น ทำให้อาหารมีความน่าบริโภคน้อยลง การเกิดผลึกในอาหาร และการแยกชั้นของอาหารประเภทอิมัลชัน เป็นต้น การป้องกันทำได้โดยระมัดระวังในการขนส่งและควบคุมกระบวนการผลิตอย่างถูกวิธี (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548)

กลิ่น รส และสี เป็นปัจจัยคุณภาพที่ผู้บริโภคสามารถสังเกตได้ด้วยตนเอง มีความสำคัญต่อการยอมรับคุณภาพ โดยสีและกลิ่นรสนั้นสามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการจัดระดับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Fagan, Gormley and Mhuircheartaigh, 2003)

2.2.2 การเสื่อมเสียเนื่องจากสาเหตุทางเคมี

การเสื่อมเสียเนื่องจากสาเหตุทางเคมีเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหาร โดยไม่เกี่ยวข้องกับการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถแบ่งได้ดังนี้

2.2.2.1 การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อสัตว์ เกิดจากสารสีหรือรงควัตถุ (pigment) ที่พบในกล้ามเนื้อสัตว์คือไมโอโกลบิน (myoglobin) ทำให้กล้ามเนื้อมีสีแดง โดยปริมาณไมโอโกลบินจะผันแปรตามชนิดของกล้ามเนื้อสัตว์ อายุ กิจกรรมของสัตว์ (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545) ในกล้ามเนื้อของสัตว์หลังจากตายใหม่ๆ จะมีสีแดงคล้ำ เช่นในเนื้อโคจะมีสีแดงออกม่วง (purplish-red) เมื่อทิ้งไว้สักครู่ออกซิเจนในอากาศรอบชิ้นเนื้อ จะทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบินเป็นออกซีไมโอโกลบิน (oxymyoglobin) ซึ่งทำให้กล้ามเนื้อมีสีแดงสด (bright red) และเมื่อออกซีไมโอโกลบินเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) จะถูกเปลี่ยนเป็นเฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) เรียกว่าเมทไมโอโกลบิน (metmyoglobin) ซึ่งจะทำให้กล้ามเนื้อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล โดยปฏิกิริยานี้สามารถเปลี่ยนกลับไปมาได้ หากไมโอโกลบินถูกความร้อนจะกลายเป็นเมทไมโอโกลบินที่เสียสภาพทางธรรมชาติ (denatured metmyoglobin) ที่มีสีน้ำตาลเข้มและไม่สามารถเปลี่ยนเป็นสารสีอื่นได้อีก (รูปที่ 2.1) ซึ่งทั้งไมโอโกลบินและเมทไมโอโกลบินมีผลต่อการตัดสินใจซื้อของผู้บริโภคมากที่สุด



รูปที่ 2.1 กลไกการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อ

ที่มา : Suman and Joseph (2012)

2.2.2.2 การเปลี่ยนแปลงที่ก่อให้เกิดการหืน (rancidity) ภายหลังที่สัตว์ตาย ไขมันที่เป็นองค์ประกอบของเมมเบรนและไขมันที่สะสมไว้ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยเกิดการไฮโดรไลซิสและการออกซิเดชัน การไฮโดรไลซิสของไขมันเกิดจากเอนไซม์ฟอสโฟไลเพส (phospholipase) และไลเพส (lipase) ย่อยสลายพันธะเอสเทอร์และปล่อยกรดไขมันอิสระ โดยเอนไซม์ฟอสโฟไลเพสมีบทบาทต่อการย่อยสลายฟอสโฟลิพิด (phospholipid) ในกล้ามเนื้อ จากการศึกษาการเก็บรักษาเนื้อปลาแอตแลนติกคอดแบบแช่แข็งที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส พบว่าผลึกน้ำแข็งมีผลให้มีการปลดปล่อยเอนไซม์ฟอสโฟไลเพสจากเมมเบรนของไมโครโซม (microsome) และไมโทคอนเดรีย (mitochondria) เพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดกรดไขมันอิสระและปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้นและปริมาณฟอสโฟลิพิดมีค่าลดลง (Chowla, MacKeigan, Gould and Ablett, 1988) Senthilvel, Srikar and Reddy (1992) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของไลเพสในปลาซาร์ดีน (sardine) และริบบอนฟิช (ribbonfish) โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน ไลเพสมีกิจกรรมลดลง นอกจากนี้ de Koning and Mol (1990) ยังพบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงกว่า -12 องศาเซลเซียส ฟอสโฟลิพิด (phospholipids) จะถูกไฮโดรไลซ์ได้เร็วกว่านิวทรัลลิพิด (neutral lipids) แต่หากเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า -12 องศาเซลเซียส นิวทรัลลิพิดจะถูกไฮโดรไลซ์ได้เร็วกว่าฟอสโฟลิพิด ดังนั้นถ้าเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงกว่า -12 องศาเซลเซียส ปลาที่มีไขมันต่ำจะมีสัดส่วนของกรดไขมันอิสระเทียบกับปริมาณไขมันทั้งหมดในตัวปลามากกว่าปลาที่มีไขมันสูง ทำให้ปลาที่ไม่ไขมันต่ำมีโอกาสหืนได้เร็วกว่าปลาที่มีไขมันสูง

การเกิดออกซิเดชันของไขมันเป็นอีกปัจจัยหลักที่มีผลต่อคุณภาพและการยอมรับของเนื้อสัตว์ (Zamora and Hidalgo, 2001) โดยการออกซิเดชันของไขมันนั้นจะเกิดทันทีหลังจากการฆ่า ระหว่างการแปรรูป การเก็บรักษาและการปรุงอาหาร ทำให้เกิดอนุมูลอิสระและเกิดการออกซิเดชันของเหล็กในไมโอโกลบิน ซึ่งมีผลต่อค่าสีในเนื้อ เกิดการสูญเสียน้ำ กลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ รวมถึงสารประกอบที่เป็นพิษในผลิตภัณฑ์ได้ (Richards, Modra and Li, 2002) ซึ่งกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันมี 3 ขั้นตอนดังนี้

1. ขั้นตอนเริ่มต้น (Initiation step)

เป็นขั้นตอนที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้มากกว่าหนึ่งกระบวนการ โดยเกิดจากการดึงไฮโดรเจนอะตอมออกจาก allylic methylene group (RH) ของโมเลกุลกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยมีแสง ความร้อน รังสี หรือโลหะไอออน เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้เป็นอนุมูลอิสระและอนุมูลไฮโดรเจน ปฏิกิริยาในขั้นตอนนี้อาจเกิดขึ้นโดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจน เพียงแค่มีตัวเร่งปฏิกิริยาเช่น แสง อุณหภูมิ และโลหะไอออน เป็นต้น ก็เพียงพอที่จะทำให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้ดังสมการ (2.1)

$$RH, ROOH \quad \rightarrow \quad R^{\circ}, ROO^{\circ} \qquad (2.1)$$

2. ขั้นตอนต่อเนื่อง (Propagation step)

เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลตัวอื่น ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจน ทำให้เกิดอนุมูลเพอร์ออกซี (peroxy radical, ROO°) ดังสมการ (2.2)

$$R^{\circ} + {}^{1}_{2}O_2 \rightarrow ROO^{\circ} \quad (2.2)$$

อนุมูลเพอร์ออกซี (ROO°) สามารถทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่อไปได้เป็นผลิตภัณฑ์คือสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (ROOH) และอนุมูลอิสระ (R°) โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นใหม่นี้จะเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องกับออกซิเจนต่อไป ดังสมการ (2.3)

$$ROO^{\circ} + RH \rightarrow ROOH + R^{\circ} \quad (2.3)$$

3. ขั้นตอนสิ้นสุด (Termination step)

ขั้นตอนสุดท้ายเป็นขั้นตอนที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเสถียรไม่ใช่เป็นอนุมูลอิสระ (non-radical products) โดยอนุมูลอิสระ 2 โมเลกุลของสารประกอบที่ไม่คงตัวรวมกันได้เป็นสารที่มีความคงตัว จึงเป็นการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ ดังสมการ (2.4) (2.5) และ (2.6)

$$R^{\circ} + R^{\circ} \rightarrow R - R \quad (2.4)$$

$$R^{\circ} + ROO^{\circ} \rightarrow ROOR \quad (2.5)$$

$$ROO^{\circ} + ROO^{\circ} \rightarrow ROOR + O_2 \quad (2.6)$$

ในเนื้อสัตว์เช่นเนื้อปลาและเนื้อไก่มีปริมาณของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง (PUFA) ทำให้สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่าย (Pacheco-Aguilar, Lugo-Sanchez and Robles-Burgueno, 2000) โดยการเกิดออกซิเดชันของไขมันสามารถเกิดในระยะหลังการเกร็งตัว (postmortem) ของกล้ามเนื้อระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เย็นในเนื้อ (Lynch, Faustman, Silbart, Rood and Furr, 2001) และปลาซาร์ดีน (Chaijan, Benjakul, Visessanguan and Faustman, 2006) เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีในปริมาณสูง จึงมีอัตราการเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Saeed and Howell (2002) ซึ่งได้ศึกษาผลของการเกิดออกซิเดชันของไขมันต่อโปรตีนในกล้ามเนื้อของปลาแอตแลนติกแมคเคอเรลในระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่แข็ง และสรุปว่าการเกิดออกซิเดชันของไขมันมีผลต่อโครงสร้างและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในปลาที่มีไขมันสูงแช่แข็ง

2.2.2.3 การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน

สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน มีบทบาทต่อคุณลักษณะของอาหาร เช่น กลิ่นรสในเนื้อสัตว์ รวมทั้งมีผลต่อการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพระหว่างการแปรรูปและเก็บรักษา องค์ประกอบส่วนใหญ่ ได้แก่ ด่างระเหย เช่น แอมโมเนีย และไทรเมทิลเอมีนออกไซด์ (trimethylamine oxide ; TMAO)

สารประกอบกัวนิดีน (guanidine) เช่น ฟอสฟาเจน (phosphagen) ครีเอทีน (creatine) และกรดอะมิโนอิสระ เช่น อาร์จินีน ไกลซีน และอะลานีน เป็นต้น โดยหลังจากการตายของสัตว์ จะเกิดการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) หลังระยะการเกร็งตัวเสร็จลิ้นแล้ว โดยเอนไซม์ที่อยู่ในเนื้อสัตว์และระบบทางเดินอาหาร การย่อยโปรตีน (proteolysis) เป็นกิจกรรมหลักของการย่อยสลายตัวเอง ซึ่งการย่อยโปรตีนทำให้เกิดกรดอะมิโน แต่การย่อยสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนจะได้สารประกอบเอมีน เช่น ไทรเมทิลเอมีน (trimethylamine; TMA) ทำให้เกิดกลิ่นคาวและกลิ่นเน่าเสีย TMA ถูกออกซิไดซ์ด้วยเอนไซม์ TMA mono-oxygenase เป็น TMAO ได้ ในการตรวจวิเคราะห์การเสื่อมเสียสามารถตรวจสอบได้จากปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (total volatile base; TVB) ประกอบด้วย TMA และแอมโมเนีย โดยทั่วไปปริมาณ TVB และ TMA เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นและการตัดหัวควักไส้ปลาก่อนการเก็บรักษาในน้ำแข็งสามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของ TVB และ TMA ได้ (Benjakul, Visessanguan and Tueksuban, 2003) ปริมาณ TVB และ TMA ใช้เป็นดัชนีบ่งบอกระดับการยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งปริมาณ TVB ในปลาที่เก็บรักษาต้องไม่เกิน 30 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ผู้บริโภคจึงจะยอมรับคุณภาพได้ (Boonsumrej, Chaiwanichsiri, Tantratian, Suzuki and Takai, 2007) การลดอุณหภูมิสามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ในตัวของสัตว์น้ำเอง ซึ่งเป็นสาเหตุของการเน่าเสีย แต่ยังมีจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในที่เย็น จึงต้องใช้วิธีอื่นร่วม เช่น การบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการชะลอการเน่าเสีย (Ababouch et al., 1996) โดย Masniyom, Benjakul and Visessanguan (2002) ศึกษาการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาปลากะพงแล่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าตัวอย่างที่มีการเพิ่มอัตราส่วนของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้เพิ่มขึ้น โดยค่า TVB และ TMA ต่ำกว่าตัวอย่างที่เก็บรักษาโดยบรรจุแบบบรรยากาศปกติ แต่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีผลให้มีค่าความสว่างเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเกิดจากการสูญเสียสภาพของโปรตีนฮีมและโปรตีนกล้ามเนื้อ นอกจากนี้การเกิดออกซิเดชันของไขมันเพิ่มขึ้นซึ่งอาจเกิดจากการปลดปล่อยโปรออกซิแดนท์ โดยเกิดจากการปลดปล่อยไอออนของเหล็กจากเฟอร์ริติน (ferritin) ซึ่งสามารถถูกกระตุ้นโดยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ออกจากเนื้อปลาภายใต้สภาวะที่เป็นกรด

2.2.3 การเสื่อมเสียเนื่องจากสาเหตุทางจุลินทรีย์

จุลินทรีย์มีบทบาทต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเนื้อสัตว์ ซึ่งเป็นสาเหตุของการเน่าเสีย ในช่วงการเกร็งตัว (rigor mortis) แบคทีเรียยังอยู่ในช่วง lag phase มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก จากนั้นจะเข้าสู่ช่วง log phase ซึ่งเป็นช่วงที่เกิดการเสื่อมเสียโดยในช่วงนี้จะพบ TMA และเบสชนิดอื่นๆ ส่วนในระยะ stationary phase มีปริมาณแบคทีเรียค่อนข้างคงที่ ถึงแม้ว่าปริมาณแบคทีเรียไม่ได้เพิ่มขึ้นแต่ระยะนี้จะมีกลิ่นเหม็นเน่า (putridity) (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548) ซึ่งในการ

เพิ่มปริมาณแบคทีเรีย ขึ้นอยู่กับระยะเวลาและปริมาณออกซิเจนระหว่างการเก็บรักษาด้วย โดย Dalgaard, Gram and Huss (1993) พบว่า *Shewanella putrefaciens*, *Lactobacillus* spp. และ *Pseudomonas* spp. เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในปลาคอดที่บรรจุแบบสุญญากาศและดัดแปลงบรรยากาศเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส นอกจากนี้การบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในระหว่างเก็บรักษาปลาเรนโบว์เทราท์แล่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสามารถชะลอการเจริญของแบคทีเรียกลุ่ม psychrotrophic และ mesophilic ได้ เนื่องจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้ lag phase และ generation time เพิ่มขึ้น (Phillips, 1996)

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านออกซิเดชันคือสารที่สามารถชะลอจุดเริ่มต้นหรือชะลอการเกิดออกซิเดชันหรือออโตออกซิเดชันได้ (autoxidation) สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นสารสังเคราะห์และสารจากธรรมชาติ ซึ่งปัจจุบันผู้บริโภคนิยมบริโภคอาหารที่เติมสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติมากกว่าสารสังเคราะห์ทั้งในแง่ความปลอดภัยของอาหารและสุขภาพ ซึ่งในผลไม้ ผัก และสมุนไพรที่มีสารโพลีฟีนอลเป็นองค์ประกอบสำคัญจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ตัวอย่างของสารดังกล่าวได้แก่ กรดคาเฟอิค (cafeic acid) ในกาแฟ เรสเวอราทรอล (resveratrol) ในไวน์แดง เคอร์คูมิน (curcumin) ในขมิ้น แคปไซซิน (capsaicin) ในพริก นอกจากสารโพลีฟีนอลแล้วยังมีสาร ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ที่พบในพืชต่างๆ มากกว่า 5,000 ชนิด ซึ่งแบ่งเป็นประเภทได้อย่างน้อย 10 กลุ่ม ในทางเคมี สารฟลาโวนอยด์ที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางได้แก่ เคอร์ซิติน (quercetin) และคาทีชิน (catechin) เป็นต้น โครงสร้างทางเคมีของเคอร์ซิตินและคาร์ทีชินมีหมู่ไฮดรอกซีอยู่ ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้สารทั้งสองมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุณยะรัตน์ and มาลีรักษ์ อัตต์สินทอง, 2549)

2.3.1 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งตามหน้าที่ได้ 5 ประเภท ดังนี้

2.3.1.1 สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ (Primary antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิที่ใช้ในอาหารส่วนใหญ่เป็นสารประกอบของฟีนอลิคชนิดสังเคราะห์ ได้แก่ propyl gallate (PG), butylated hydroxyanisol (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) และ tertiary butyl hydroquinone (TBHQ) นอกจากนี้ยังพบในธรรมชาติเช่น โทโคฟีรอล แคโรทีนอยด์ เป็นต้น (Schuler, 1990) สารเหล่านี้จะต้องมี

ประสิทธิภาพที่ความเข้มข้นที่ต่ำ แต่ถ้ามีการใช้ในปริมาณสูงก็จะทำหน้าที่เป็น prooxidants (Madhavi, Deshpande and Salunkhe, 1996)

2.3.1.2 สารจับออกซิเจน (Oxygen scavengers)

เป็นสารที่หยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ โดยเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจนจึงทำให้เกิดอนุมูลอิสระลดลง สารจับออกซิเจนนี้ทำหน้าที่เป็นสารเสริมฤทธิ์สารต้านออกซิเดชันคือช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชัน แต่ตัวสารจับออกซิเจนเองไม่มีความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันหรือมีน้อยได้แก่ กรดแอสคอร์บิก กรดอีริทอร์บิก และโซเดียมอีริทอร์เบท เป็นต้น (Pokorny, Yanishlieva and Gordon, 2001)

2.3.1.3 สารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ (Secondary antioxidants)

เป็นสารที่ใช้ชะลออัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน สารเหล่านี้จะทำหน้าที่จับโลหะไอออน จับออกซิเจน และดูดซับสารรังสีอัลตราไวโอเลต ซึ่งเป็นตัวเร่งของการเกิดปฏิกิริยา อีกทั้งยังทำหน้าที่สลายสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ไปเป็นสารที่เสถียรหรือคงตัว ที่ไม่ใช่อัลดีไฮด์หรือคีโตน ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นหืน สารเหล่านี้ได้แก่ dilaurylthiopropionate และ thiodipropionic acid เป็นต้น (Schuler, 1990) แต่สารเหล่านี้ทาง FDA ยังไม่อนุญาตให้ใช้ในทางอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์อาหาร (Madhavi et al., 1996)

2.3.1.4 เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน

เอนไซม์เหล่านี้ได้แก่ glucose oxidase, superoxide dismutase, catalase และ glutathione peroxidase โดยทำหน้าที่เป็นตัวกำจัดออกซิเจน เช่น เอนไซม์ glucose oxidase หรือกำจัดสารที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายเช่น เอนไซม์ superoxide dismutase (Choe and Min, 2009)

2.3.1.5 ตัวจับโลหะไอออน (Chelating agents หรือ Sequestrants)

โลหะไอออนของเหล็ก ทองแดง แมงกานีส โครเมียม นิคเกล และอลูมิเนียม จะเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (Akoh and Min, 1998) การเติมตัวจับโลหะไอออนลงไปจะช่วยเสริมฤทธิ์สารต้านออกซิเดชัน ตัวจับโลหะไอออนเช่น กรดซิตริก กรดอะมิโน กรดทาร์ทาริก เลซิติน และ ethylenediaminetetra-acetic acid (EDTA) เป็นต้น

ปัจจุบันได้มีผู้สนใจศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระแบบสังเคราะห์และแบบธรรมชาติ โดย Estevez, Ramirez, Ventanas and Cava (2007) ศึกษาเปรียบเทียบการเติมสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (butylated hydroxyl toluene; BHT) และ

ธรรมชาติจากเสจและโรสแมรีต่อการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันในตับบดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 90 วัน พบว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเสื่อมเสียจากการเกิดออกซิเดชันได้ดีกว่าสารสังเคราะห์ โดยให้ผลเช่นเดียวกับงานวิจัยของ McCarthy, Kerry, Kerry, Lynch and Buckley (2001) ซึ่งได้เติมสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติลงในเนื้อหมูก้อน และ Sebranek, Sewalt, Robbins and Houser (2005) ซึ่งศึกษาเปรียบเทียบการเติมสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติจากโรสแมรีที่ระดับ 1500 และ 2500 ppm กับ BHA และ BHT ในไส้กรอกหมูแช่แข็ง

2.4 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ

สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติสามารถพบได้ในพืช สัตว์ รวมทั้งจุลินทรีย์ เช่น ไกลซีน ไลซีน โพรลีน เอนไซม์ กรดแอสคอร์บิก แคโรทีนอยด์ รวมถึงสารกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นต้น อีกทั้งยังสามารถพบในระหว่างกระบวนการผลิตอาหาร (Madhavi et al., 1996) เช่น ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยา Maillard (ศิวาพร ศิวเวชช, 2546)

สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและพบได้มากในธรรมชาติเช่น พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิด ในธรรมชาตินับจากโมเลกุลอย่างง่ายเช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acid) ฟีนิลโปรพานอยด์ (phenylpropanoid) และฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ไปจนถึงโครงสร้างโพลิเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานีน และแทนนิน เป็นต้น แม้ว่าปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน แต่พบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยที่คนได้รับต่อวันจะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 20 มิลลิกรัม ถึง 1 กรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าปริมาณวิตามินอีที่ได้รับต่อวัน สารโพลีฟีนอลเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด รวมไปถึงการเป็นสารต้านการก่อมะเร็งและสามารถลดความดันโลหิตจากฤทธิ์ขยายหลอดเลือด เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (โอภา วัชระคุปต์ et al., 2549)

การใช้สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติในการชะลอการเกิดออกซิเดชันนั้นได้มีการศึกษาวิจัยประยุกต์ใช้หลากหลายชนิดโดย Tanabe, Yoshida and Tomita (2002) ศึกษาเปรียบเทียบสารต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรและเครื่องเทศที่ใช้ทำอาหาร 22 ชนิดได้แก่ ขิง (ginger) กานพลู (clove) อบเชย (cinnnamon) เบย์ (bay) เสจ (sage) โรสแมรี (rosemary) โหระพา (thyme) ซาโวรี (savory) ออริกาโน (oregano) กะเพรา (sweet basil) ผักชีฝรั่ง (parsley) เมล็ดผักชี (coriander) ทารากอน (tarragon) พริกไทยญี่ปุ่น (sansho) ออลสไปซ์ (allspice) เมล็ดยี่หร่า

(cumin) พริกไทยขาว (white peppercorn) พริกไทยดำ (black peppercorn) ลูกจันทน์เทศ (nutmeg) เทียนเยาวภานี (caraway) เทียนตากบ (dill seed) และเทียนข้าวเปลือก (fennel seed) โดยเติมสารสกัดจากสมุนไพรและเครื่องเทศลงในเนื้อหมูบดและวัดค่า TBA เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสารต้านอนุมูลอิสระ (มีค่า TBA = 1 mg malonaldehyde/kg) พบว่าหมูบดที่เติมสารสกัดจากสมุนไพรต่างๆ ปริมาณ 0.001 มิลลิลิตรต่อหมูบด 300 มิลลิกรัม มีค่า TBA อยู่ในช่วง 0.408-0.853 mg malonaldehyde/kg และสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ในระดับร้อยละ 60 และเมื่อเติมสารสกัดปริมาณ 0.002 มิลลิลิตรต่อหมูบด 300 มิลลิกรัม ตัวอย่างหมูบดมีค่า TBA อยู่ในช่วง 0.220-0.853 mg malonaldehyde/kg และสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันในระดับร้อยละ 78 และเมื่อเติมสารสกัดปริมาณ 0.005 มิลลิลิตรต่อหมูบด 300 มิลลิกรัม ตัวอย่างหมูบดมีค่า TBA อยู่ในช่วง 0.154-0.748 mg malonaldehyde/kg และสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในระดับร้อยละ 85 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นการเติมสารสกัดจากสมุนไพรและเครื่องเทศทั้ง 22 ชนิด สามารถลดการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ โดยเฉพาะพริกไทยญี่ปุ่น (sansho) และขิงให้ผลการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันในเนื้อหมูได้ดีที่สุด โดยสามารถยับยั้งได้ที่ระดับร้อยละ 85 และ 75 ตามลำดับในตัวอย่างหมูบดที่เติมสารสกัดปริมาณ 0.005 มิลลิลิตร

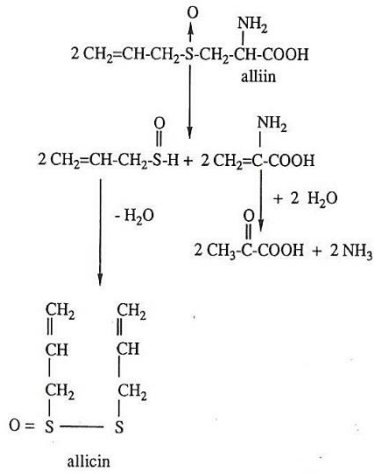
Quitral et al. (2009) ศึกษาการเติมสารสกัดจากออริกาโนและโรสแมรีในน้ำแข็งที่ใช้เก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีของปลาแจ็คแมคเคอเรล (Chilean jack mackerel) พบว่าการใช้น้ำแข็งที่เติมสารสกัดจากธรรมชาติทั้งสองมีผลทำให้ค่า peroxide (PV) และค่า thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) ต่ำกว่าการใช้น้ำแข็งทั่วไป ส่งผลให้สามารถชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันในระหว่างการเก็บรักษาได้ เช่นเดียวกับ Garcia-Soto, Sanjuas, Barros-Velazquez, Fuertes-Gamundi and Aubourg (2011) ที่ศึกษาการเติมกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และกรดแลคติกในน้ำก่อนที่จะนำไปทำน้ำแข็งเพื่อเก็บรักษาปลาเฮค (hake) ปลามีกริม (megrim) และปลาแองเกลอร์ (angler) และพบว่าการเติมกรดแอสคอร์บิก 800 ppm ในน้ำสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันและการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มอายุการเก็บรักษาในตัวอย่างปลาทุกชนิดได้

2.4.1 กระเทียม (Garlic)

กระเทียมมีถิ่นกำเนิดในทวีปยุโรปและตอนกลางของทวีปเอเชีย เนื่องจากเป็นพืชที่มีประโยชน์ จึงได้มีผู้นำพืชนี้ไปปลูกในหลายภูมิภาค เช่น ทวีปอเมริกาเหนือ เอเชียอาคเนย์ เป็นต้น พืช

นี้มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Allium sativum* Linn. วงศ์ Alliaceae ชื่ออังกฤษ Common garlic หรือ Allium กระเทียมเป็นพืชมีหัว (bulb) ที่มีอายุอยู่ได้หลายปี หัวประกอบด้วยกลีบ (cloves) หลายกลีบ แต่ละกลีบมีเยื่อบางสีขาวหรือขาวอมชมพูหุ้มอยู่ ใบยาวและแบน ดอกมีขนาดเล็กสีขาวรวมกันอยู่บนช่อดอก

ในกระเทียมสดมีสารอินทรีย์หลายชนิดได้แก่ alliin (S-allyl-l-cysteine sulfoxide), S-methyl-l-cysteine sulfoxide, allyl propyl disulfide, diallyl trisulfide เป็นสารหลัก มีเอนไซม์หลายชนิด เช่น alliinase, peroxidase และ myrosinase เป็นต้น และมีน้ำมันอยู่ประมาณร้อยละ 0.1 – 0.36 ทั้งนี้ยังมีกรดอะมิโน แร่ธาตุ วิตามินหลายชนิด เช่น วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 ไนอะซิน (niacin) เป็นต้น และสารประกอบพวกกำมะถันชนิดอื่นๆ อีกเป็นส่วนน้อย (นิจศิริ เรืองรังษี, 2542) นอกจากนี้ยังมีสารระเหยได้ชนิดอื่นๆ ที่พบมี citral, geraniol, linalool, α และ β-phellandrene เมื่อนำกระเทียมมาแปรรูป ส่วนที่นำมาใช้คือ หัวสดหรือหัวแห้ง และใบสด โดยน้ำมันกระเทียม (garlic oil) เตรียมได้จากการนำหัวกระเทียมสดบุบพอช้ำมากลั่นด้วยไอน้ำ กระเทียมผง (powdered garlic) เตรียมมาจากกระเทียมแห้งที่เอาน้ำออกแล้ว กระบวนการเหล่านี้ส่งผลให้เอนไซม์ alliinase ทำปฏิกิริยากับ alliin ทำให้เกิดเป็นสาร allicin ที่ทำให้กระเทียมมีกลิ่น (นิจศิริ เรืองรังษี, 2542) และเป็นสารสำคัญ โดย allicin สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ดี เนื่องจาก allicin ไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจหรือการเจริญของเซลล์เป็นผลให้จุลินทรีย์ถูกทำลาย โดยสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ succinic dehydrogenase และ triose phosphate dehydrogenase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนมากกว่าจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน นอกจากนี้หมู่ซัลฟินิก (sulphenic; –SO-S-) ในโครงสร้างของ allicin สามารถรวมกับกรดอะมิโนที่มีหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (sulfhydryl; SH) ได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ขัดขวางการเจริญและเพิ่มจำนวนของเซลล์จึงทำให้จุลินทรีย์ตายในที่สุด เนื่องจากหมู่ SH มีความสำคัญต่อเซลล์ เป็นตัวกระตุ้นที่เฉพาะเจาะจงในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ แต่ allicin เป็นสารที่ไม่เสถียร มีหมู่ sulphenic ซึ่งต่อกับอะตอมของกำมะถัน ทำให้อะตอมของออกซิเจนในหมู่ sulphenic ไม่คงตัวเป็นผลให้ allicin สารมารถดักจับอนุมูลไฮดรอกซิล จึงทำลายจุลินทรีย์ต่างๆ ได้เช่นเดียวกับ hydrogen peroxide (นิจศิริ เรืองรังษี, 2542)



รูปที่ 2.2 กลไกการเกิดสาร allicin

ที่มา : นิจศิริ เรืองรังษี (2542)

นอกจากนี้กระเทียมยังสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันได้เช่นกันโดย Sallam, Ishioroshi and Samejima (2004) ศึกษาผลของการต้านการเกิดออกซิเดชันและต้านจุลินทรีย์ของกระเทียม 3 แบบคือ แบบสด แบบผง และแบบน้ำมันในไส้กรอกไก่สดในระหว่างการเก็บที่ 3 องศาเซลเซียส พบว่าการเติมกระเทียมสามารถลดการเกิดออกซิเดชันได้เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เติม โดยกระเทียมสดมีประสิทธิภาพมากที่สุด และกระเทียมสดและกระเทียมผงสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดได้และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ถึง 21 วัน และ Park, Yoo, Shim and Chin (2008) ศึกษาการเติมโซเดียมแอสคอร์เบต (sodium ascorbate) กระเทียมผง และหัวหอมผง ในเนื้อหมูสันในและหมูสามชั้นในระหว่างการเก็บรักษาที่ 8 องศาเซลเซียส พบว่าการเติมกระเทียมผงและหัวหอมผงสามารถเพิ่มค่าสีแดงและสีเหลือง และลดปริมาณการเกิดกรดไขมันอิสระในทั้งสองตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เติม นอกจากนี้ตัวอย่างที่เติมกระเทียมผงและหัวหอมผงมีค่า TBARS ต่ำกว่าตัวอย่างที่เติมโซเดียมแอสคอร์เบตอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมดและ *Enterobacteriaceae* เทียบเท่าการเติมโซเดียมแอสคอร์เบตที่เป็นสารต้านอนุมูลสังเคราะห์ด้วย

2.4.2 โรสแมรี (rosemary)

โรสแมรี (Rosemary; *Rosmarinus officinalis*) เป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่ง เป็นพืชพื้นเมืองของแถบเมดิเตอร์เรเนียน จัดอยู่ในแฟมิลี่ Lamiaceae ใบมีรูปร่างคล้ายเข็ม ยาว 2-4 เซนติเมตร กว้าง 2-5 มิลลิเมตร มีกลิ่นหอม และเขียวอยู่ตลอดปี ด้านบนของใบมีสีเขียว ด้านท้องใบเป็นสีขาวและมีขนปกคลุม ดอกมีหลายสี เช่น สีขาว สีชมพู สีม่วง หรือสีฟ้า ใช้ปรุงอาหารทำให้มีกลิ่นหอม นิยมนำมาปรุงอาหารประเภทเนื้อแกะ ปลา ไก่ บาร์บีคิว ใช้หมักเนื้อสเต๊ก ทำซอส และแต่งกลิ่นซุป ยอดอ่อนของใบนำมาทำชาโรสแมรี่ได้ ใช้ดื่มบรรเทาอาการหนาวเย็น ปวดศีรษะ อาการจุกเสียด และเป็นไข้ ในการสกัดสารจากโรสแมรีจะใช้ส่วนของใบ และสารสกัดจากโรสแมรีมีความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร โดยสารต้านอนุมูลอิสระในโรสแมรีเป็นสารประกอบฟีนอลิกไดเทอร์ปีน (phenolic diterpenes) เช่น กรดคาโนซิค (carnosic acid) คาร์โนซอล (carnosol) โรสมานอล (rosmanol) โรสมาริควิโนน (rosmariquinone) และโรสมาริไดฟีนอล (rosmaridiphenol) ซึ่งสามารถทำลายการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระโดยการให้ไฮโดรเจน (Halliwell, Aeschbach, Loriger and Auruoma, 1995) ทั้งนี้ยังมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับประสิทธิภาพของสารสกัดจากโรสแมรีในการลดการเกิดออกซิเดชันในอาหารหลายชนิด Sebranek et al. (2005) พบว่าการเติมสารสกัดจากโรสแมรีปริมาณ 1500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในไส้กรอกหมูแช่แข็งมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ BHA/BHT ในการทำให้ค่า TBARS อยู่ในระดับต่ำ นอกจากนี้โรสแมรียังอาจใช้เป็นสารต้านจุลินทรีย์ จากงานวิจัยของ Fernandez-Lopez, Zhi, Aleson-Carbonell, Perez-Alvarez and Kuri (2005) ที่ศึกษาผลของการต้านการเกิดออกซิเดชันและต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากโรสแมรี กระเทียม ส้ม และมะนาวในลูกชิ้นสไตล์สวีเดนปรุงสุก (Swedish-style meatballs) และพบว่าสารสกัดจากโรสแมรีมีประสิทธิภาพในการลดความหืน โดยวิเคราะห์จากค่า TBA หลังจากการเก็บเป็นเวลา 12 วันที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส และยังสามารถชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติกและ *Listeria* ได้อีกด้วย

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 กบนา (*Hoplobatrachus rugulosus*) เลี้ยงตามธรรมชาติจากอำเภอบ้านนา จังหวัดนครนายก มีน้ำหนักประมาณ 200-250 กรัมต่อตัว และกบเลี้ยงเชิงพาณิชย์จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาหารที่ใช้เลี้ยงเป็นอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงปลาดุก มีน้ำหนักประมาณ 350-380 กรัมต่อตัว ใช้กบขนาดอายุประมาณ 8 เดือนถึง 1 ปี โดยวัตถุดิบทั้งสองชนิดได้มาในรูปแบบแช่แข็งทั้งตัว บรรจุในถุงซิปล็อคและใส่ลงในกล่องโฟม โดยเก็บรักษาที่ –18 องศาเซลเซียส เป็นเวลาสามวัน ก่อนส่งมาที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

3.1.2 น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม (essential garlic oil) และน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี (essential rosemary oil) เกรดอุตสาหกรรมอาหารจากบริษัท แอบบรา จำกัด

3.1.3 ถุงพลาสติกชนิดเอทิลีนไวนิลแอลกอฮอล์ (ethylene vinyl alcohol : EVOH) โดยมีชื่อทางการค้า EVAL^{TM} ขนาด 20x25 เซนติเมตร มีโครงสร้าง LDPE/Nylon/EVOH/LDPE (co-extruded film) หนา 80 ไมครอน ส่วน EVOH หนา 5 ไมครอน จากบริษัท Kuraray จำกัด ซึ่งมีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนเท่ากับ 2.88 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวันต่อความดันบรรยากาศที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำกบเลี้ยงตามธรรมชาติและกบเลี้ยงเชิงพาณิชย์มาละลายน้ำแข็งโดยทิ้งไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาล้างน้ำ ลอกหนัง ตัดเท้าออก และยืดให้ตรงแล้วตัดให้ขาดบริเวณใกล้เอวมากที่สุด นำขาและตัวกบไปล้างน้ำเพื่อเอาเลือดออกทันทีหลังจากการตัด รวมทั้งเอาอวัยวะภายในและผิวที่ยังเหลืออยู่บางส่วนออกให้หมด (Ozogul et al., 2008) วางไว้ให้สะเด็ดน้ำบนตะแกรงที่อุณหภูมิห้อง และแบ่งตัวอย่างเพื่อไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อขากบสด

3.2.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อขากบ

นำขากบที่ทำความสะอาดเบื้องต้นตามข้อ 3.2.1 มาแยกกระดูกออก สับเนื้อให้ละเอียด และนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยทำการวัดค่า 3 ซ้ำ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3.2.2.1 ปริมาณความชื้นตามวิธีของ AOAC (2000) section 985.14 (ภาคผนวก ก.1)

3.2.2.2 ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl ตามวิธีของ AOAC (2000) section 928.08 (ภาคผนวก ก.2)

3.2.2.3 ปริมาณไขมันด้วยวิธี Soxhlet ตามวิธีของ AOAC (2000) section 960.39 (ภาคผนวก ก.3)

3.2.2.4 ปริมาณเถ้าตามวิธีของ AOAC (2000) section 920.153 (ภาคผนวก ก.4)

3.2.3 การศึกษาผลของสภาวะการบรรจุต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของเนื้อขากบเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

นำขากบทั้งสองชนิดที่ผ่านการทำความสะอาดตามข้อ 3.2.1 มาแช่เยือกแข็งใน Cryogenic freezer (Cryo-Test Chamber Nitrogen Freezer) ซึ่งประกอบด้วยถังบรรจุไนโตรเจนเหลว Model XL-55 HP และ Cryo-Test chamber Model รุ่น CT-1818-12F โดยวางขากบครั้งละประมาณ 12 ขา เสียบเทอร์โมคัปเปิล Type-T ซึ่งต่อกับเครื่องบันทึกอุณหภูมิ เข้าไปยังจุดกึ่งกลางของขากบ 4 ขา เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของขากบขณะแช่เยือกแข็งจนอุณหภูมิภายในขากบลดลงถึง -18 องศาเซลเซียส บรรจุขากบแช่เยือกแข็งจำนวน 2 ขา ในถุงพลาสติก EVAL™ ปิดผนึกใน 2 สภาวะคือแบบความดันบรรยากาศและแบบสุญญากาศด้วยเครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศ (Multivac, รุ่น C200, Germany) เก็บในตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18±2 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างทุก 7 วันเป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยนำตัวอย่างไปแช่เย็นข้ามคืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อละลายน้ำแข็ง แล้ววัดสมบัติทางกายภาพและวิเคราะห์สมบัติเคมีและจุลินทรีย์ 3 ซ้ำดังนี้

3.2.3.1 ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) โดยใช้เครื่อง pH meter (ภาคผนวก ก.5)

3.2.3.2 ค่าสี โดยใช้เครื่อง Chroma Meter (Minolta รุ่น CR-400 series, Japan) ระบบ Hunter Color System (L, a, b) (ภาคผนวก ก.6)

3.2.3.3 ค่า Thiobarbituric acid (TBA) ตามวิธีของ Buege and Aust (1978) จากนั้นคำนวณค่า TBA (mg malonaldehyde/kg sample) โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์ extinction 1.56×10^5 M^{-1} (ภาคผนวก ก.8)

3.2.3.4 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ตามวิธีของ U.S. Food and Drug Administration (2009a) (ภาคผนวก ก.9)

3.2.3.5 ปริมาณ *Salmonella* ตามวิธีของ U.S. Food and Drug Administration (2009b) (ภาคผนวก ก.10)

3.2.4 การศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากธรรมชาติและสภาวะการบรรจุต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของเนื้อขากบ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

นำขากบทั้งสองชนิดที่ผ่านการทำความสะอาดตามข้อ 3.2.1 ซับน้ำให้แห้ง แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกเป็นตัวอย่างที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหย (control) กลุ่มที่สองเติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม ปริมาณ 1000 mg/kg กลุ่มที่สามเติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม ปริมาณ 2000 mg/kg กลุ่มที่สี่เติมน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี ปริมาณ 1000 mg/kg และกลุ่มที่ห้าเติมน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี ปริมาณ 2000 mg/kg โดยคลุกเคล้าในถุงพลาสติกเพื่อให้น้ำมันหอมระเหยกระจายสม่ำเสมอ จากนั้นแบ่งบรรจุในถุงพลาสติก EVAL™ ในปริมาณประมาณ 100 กรัมต่อถุง และปิดผนึกภายใต้สภาวะการบรรจุ 2 แบบคือแบบความดันบรรยากาศและแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 วัน สุ่มตัวอย่างทุก 2 วันเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยของแต่ละสภาวะการบรรจุ วัดและวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์เช่นเดียวกับข้อ 3.2.3.1 - 3.2.3.5 และวิเคราะห์ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (total volatile base; TVB) โดยวิธี Conway microdiffusion method ตามวิธีของ Hasegawa (1987) (ภาคผนวก ก.7)

3.2.5 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลแบบสุ่มตลอด (Factorial in CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ IBM SPSS Statistics 22.0 วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT)

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อขากบ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อขากบ (*Hoplobatrachus rugulosus*) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์

ชนิดของเนื้อขากบ	ปริมาณ (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก)			
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า
เลี้ยงตามธรรมชาติ	$80.023^{a} \pm 0.125$	$19.308^{b} \pm 0.064$	$0.029^{b} \pm 0.002$	$0.577^{b} \pm 0.057$
เลี้ยงเชิงพาณิชย์	$79.468^{b} \pm 0.119$	$21.895^{a} \pm 0.156$	$0.033^{a} \pm 0.003$	$0.773^{a} \pm 0.051$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

a, b ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.1 พบว่าเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติมีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้าน้อยกว่ากบเลี้ยงเชิงพาณิชย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่มีปริมาณความชื้นมากกว่ากบเลี้ยงเชิงพาณิชย์ ($p \leq 0.05$) ซึ่งมีค่าองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกับเนื้อกบ (*Rana esculanta*) ที่มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 22.12±1.19 ความชื้นร้อยละ 79.47±0.59 ไขมันร้อยละ 1.05±0.34 และเถ้าร้อยละ 1.83±0.16 (Baygar and Ozgur, 2010) นอกจากนี้ Ojewola and Udom (2005) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากเนื้อสัตว์ 10 ชนิดในประเทศไนจีเรีย พบว่าเนื้อกบและคางคกมีองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ใกล้เคียงกัน โดยปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของสัตว์น้ำที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิด ฤดูกาล เพศ แหล่งอาศัย และฤดูกาลวางไข่ เป็นต้น การที่เนื้อกบเลี้ยงเชิงพาณิชย์มีปริมาณโปรตีนและเถ้ามากกว่ากบเลี้ยงตามธรรมชาติ อาจมีเหตุเนื่องจากอาหารที่กบกินเข้าไปมีผล

ต่อองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน โดย อรรณพ อิ่มศิลป์, พิศมัย สมสืบ and มาลัย อิ่มศิลป์ (2553) ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารเลี้ยงกบนาที่ระดับร้อยละ 0 25 50 และ 75 ตามลำดับ และพบว่ากบนาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้กากถั่วเหลืองที่ระดับร้อยละ 75 มีค่าอัตราแลกเนื้อสูงกว่าตัวอย่าง ขณะที่ค่าน้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ย ประสิทธิภาพของโปรตีน และประสิทธิภาพของอาหารไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.2 ผลของสภาวะการบรรจุต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่แข็งด้วยวิธีไครโอจินิก โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

จากการวัดและวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของเนื้อขากบในระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่แข็งได้ผลดังนี้

4.2.1 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง (pH)

จากการวัดค่า pH ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ระหว่างการเก็บรักษาในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศ และสุญญากาศที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.2) และการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา (ตารางที่ ข.1) พบว่าชนิดของกบ การบรรจุ และระยะเวลาการเก็บ มีอิทธิพลต่อค่า pH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) โดยทั้งสามปัจจัยมีอิทธิพลร่วมมีผลต่อค่า pH อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$)

เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ค่า pH ของตัวอย่างกบทุกชนิดและทุกภาวะการเก็บรักษามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) และเมื่อพิจารณาผลของสภาวะการบรรจุ พบว่า 3 สัปดาห์แรกของตัวอย่างกบเลี้ยงตามธรรมชาติในสภาวะบรรจุทั้งสองแบบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และ 6 สัปดาห์แรกของตัวอย่างกบเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในสภาวะบรรจุทั้งสองแบบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศมีค่า pH สูงกว่าสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับ Bhobe and Pai (1986) ที่พบว่า pH ของกุ้ง (*Metapenaeus dobsoni*) บรรจุในถุงพลาสติกและผ่านการแช่เยือกแข็งโดยการจุ่มลงใน alcohol cooling bath และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส มีค่าลดลงในช่วง 3 สัปดาห์แรกและหลังจากนั้นค่า pH จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน เนื่องจากการแช่

แข็งมีผลให้จุลินทรีย์หยุดกิจกรรมต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษา แต่ปฏิกิริยาของเอนไซม์นั้นยังคงดำเนินไปอย่างช้าๆ เช่น โปรติโอไลติก (Zaritzky, 2000)

ตารางที่ 4.2 ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในการเก็บรักษาแบบแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสและมีการบรรจุแตกต่างกัน

สัปดาห์ที่	ค่า pH			
	ธรรมชาติ แบบสุญญากาศ	ธรรมชาติ ความดันบรรยากาศ	พาณิชย์ แบบสุญญากาศ	พาณิชย์ ความดันบรรยากาศ
0	$5.52^{a,H} \pm 0.01$	$5.51^{a,J} \pm 0.01$	$5.45^{b,J} \pm 0.01$	$5.45^{b,G} \pm 0.01$
1	$5.50^{a,FGH} \pm 0.01$	$5.51^{a,J} \pm 0.01$	$5.46^{b,J} \pm 0.01$	$5.46^{b,FG} \pm 0.01$
2	$5.51^{a,GH} \pm 0.01$	$5.52^{a,J} \pm 0.01$	$5.48^{b,H} \pm 0.01$	$5.47^{b,FG} \pm 0.01$
3	$5.52^{ab,FGH} \pm 0.01$	$5.55^{a,I} \pm 0.02$	$5.49^{b,GH} \pm 0.01$	$5.48^{b,F} \pm 0.01$
4	$5.51^{b,GH} \pm 0.01$	$5.57^{a,HI} \pm 0.01$	$5.50^{b,FG} \pm 0.00$	$5.52^{b,E} \pm 0.01$
5	$5.53^{b,FG} \pm 0.02$	$5.58^{a,GH} \pm 0.01$	$5.52^{b,EF} \pm 0.01$	$5.53^{b,E} \pm 0.01$
6	$5.54^{b,EF} \pm 0.01$	$5.60^{a,FG} \pm 0.01$	$5.53^{b,E} \pm 0.01$	$5.54^{b,E} \pm 0.01$
7	$5.55^{bc,DE} \pm 0.01$	$5.61^{a,EF} \pm 0.01$	$5.53^{c,E} \pm 0.02$	$5.57^{ab,D} \pm 0.01$
8	$5.57^{ab,D} \pm 0.01$	$5.63^{a,DE} \pm 0.01$	$5.56^{c,D} \pm 0.01$	$5.60^{ab,C} \pm 0.01$
9	$5.60^{b,C} \pm 0.01$	$5.66^{a,D} \pm 0.01$	$5.57^{c,D} \pm 0.01$	$5.63^{a,B} \pm 0.01$
10	$5.63^{b,B} \pm 0.01$	$5.69^{a,C} \pm 0.01$	$5.60^{c,C} \pm 0.01$	$5.67^{b,B} \pm 0.01$
11	$5.66^{c,B} \pm 0.01$	$5.77^{a,B} \pm 0.02$	$5.62^{c,B} \pm 0.01$	$5.67^{b,A} \pm 0.01$
12	$5.66^{bc,A} \pm 0.01$	$5.77^{a,A} \pm 0.02$	$5.64^{c,A} \pm 0.01$	$5.69^{b,A} \pm 0.01$

หมายเหตุ a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B,C,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.2.2 การเปลี่ยนแปลงค่าสี

จากการวัดค่าสีของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ระหว่างการเก็บรักษาในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.3 ถึง 4.5) และเมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา (ตารางที่ ข.2) พบว่าชนิดของกบ การบรรจุ และระยะเวลาการเก็บ มีอิทธิพลต่อค่าสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยทั้งสามปัจจัยมีอิทธิพลร่วมต่อค่าสีอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาค่าความสว่าง (L*) พบว่ามีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยค่า L * ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศมีค่า L* ต่ำกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับ Guzman, McMillin, Bidner, Dugas-Sims and Godber (1995) ที่พบว่าค่า L* ของเนื้อบดแผ่นมีค่าลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในระหว่างการละลายน้ำแข็ง ส่งผลให้น้ำไหลออกนอกเซลล์ ทำให้ปริมาณไมโอโกลบินที่ผิวหน้าตัวอย่างสูง จึงส่งผลให้ผิวหน้าของผลิตภัณฑ์มีสีคล้ำขึ้น เช่นเดียวกับการพบในเนื้ออกไก่ (Boulianne and King, 1998)

ส่วนค่าสีแดง (a*) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศ พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยค่า a* ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศมีการเปลี่ยนแปลงค่า a* มากกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ ทั้งนี้การบรรจุที่มีออกซิเจนในภาชนะบรรจุเป็นผลให้เนื้อกบมีสีแดงมากกว่า เนื่องจากเหล็กที่อยู่ภายในโครงสร้างของฮีม เป็นตัวกำหนดสีของไมโอโกลบิน โดยเนื้อที่ไม่มีการสัมผัสออกซิเจนหรือเนื้อที่อยู่ลึกลงไปจะอยู่ในรูปดีออกซีไมโอโกลบิน (deoxymyoglobin) ซึ่งมีสีม่วงแดง แต่บริเวณที่สัมผัสออกซิเจนหรือบริเวณผิวหน้าจะมีสีแดงสด เนื่องจากดีออกซีไมโอโกลบินจับกับออกซิเจนเกิดเป็นออกซีไมโอโกลบิน (oxymyoglobin) หรือการเกิดออกซีจิเนชัน (oxygenation) (Foegeding, Lanier and Hultin, 1996) และเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น เป็นผลให้ค่าสีแดงมีแนวโน้มสูงขึ้น และสูงที่สุดในตัวอย่างที่บรรจุแบบความดันบรรยากาศ ซึ่งอธิบายได้ว่าเวลาที่เพิ่มขึ้นเป็นผลให้ออกซิเจนซึมผ่านเนื้อเยื่อเข้าไปยังเส้นใยกล้ามเนื้อได้มากขึ้น ทำให้เกิดสีแดงทั้งด้านนอกและด้านในของชิ้นเนื้อ

สำหรับค่าสีเหลือง (b*) พบว่ามีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยค่า b* ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศมีการเปลี่ยนแปลงมากกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ โดย Insausti et al. (1999) ได้สรุปไว้ว่าค่า b* มีบทบาทสำคัญในการประเมินคุณภาพของเนื้อ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่า b* เพียงเล็กน้อย อาจมีผลต่อการประเมินความ

คงตัวของสีในเนื้อวัว ซึ่งค่าสีเหลืองสอดคล้องในเชิงกลับกันกับค่าสีแดง โดยเมื่อค่าสีแดงเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าสีเหลืองลดลง

ตารางที่ 4.3 ค่าความสว่าง (L*) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในการเก็บรักษาแบบแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสและมีการบรรจุแตกต่างกัน

สัปดาห์ที่	ค่าความสว่าง (L*)			
	ธรรมชาติ แบบสุญญากาศ	ธรรมชาติ ความดันบรรยากาศ	พาณิชย์ แบบสุญญากาศ	พาณิชย์ ความดันบรรยากาศ
0	$59.84^{a,A} \pm 0.04$	$58.75^{c,A} \pm 0.01$	$59.54^{b,A} \pm 0.03$	$59.60^{b,A} \pm 0.01$
1	$59.44^{a,B} \pm 0.04$	$58.61^{c,B} \pm 0.03$	$59.33^{b,B} \pm 0.02$	$59.43^{a,B} \pm 0.03$
2	$59.28^{a,C} \pm 0.02$	$57.95^{c,C} \pm 0.02$	$59.21^{a,C} \pm 0.02$	$58.61^{b,C} \pm 0.04$
3	$58.75^{b,D} \pm 0.03$	$57.31^{d,D} \pm 0.04$	$58.96^{a,D} \pm 0.03$	$57.90^{c,D} \pm 0.03$
4	$58.32^{b,E} \pm 0.01$	$56.84^{d,E} \pm 0.02$	$58.87^{a,E} \pm 0.02$	$57.35^{c,E} \pm 0.01$
5	$58.11^{b,F} \pm 0.01$	$55.45^{d,F} \pm 0.03$	$58.65^{a,F} \pm 0.01$	$56.87^{c,F} \pm 0.04$
6	$57.84^{b,G} \pm 0.03$	$55.12^{d,G} \pm 0.03$	$58.44^{a,G} \pm 0.01$	$56.22^{c,G} \pm 0.03$
7	$57.65^{b,H} \pm 0.01$	$54.63^{d,H} \pm 0.03$	$57.74^{a,H} \pm 0.01$	$55.65^{c,H} \pm 0.01$
8	$57.33^{a,I} \pm 0.02$	$54.20^{c,I} \pm 0.04$	$57.15^{b,I} \pm 0.01$	$54.21^{c,I} \pm 0.03$
9	$57.21^{a,J} \pm 0.02$	$53.65^{c,J} \pm 0.03$	$56.85^{b,J} \pm 0.04$	$53.69^{c,J} \pm 0.03$
10	$56.87^{a,K} \pm 0.03$	$53.41^{c,K} \pm 0.01$	$56.56^{b,K} \pm 0.03$	$53.22^{d,K} \pm 0.03$
11	$55.70^{b,L} \pm 0.02$	$52.88^{d,L} \pm 0.01$	$55.89^{a,L} \pm 0.03$	$53.05^{c,L} \pm 0.03$
12	$55.34^{a,M} \pm 0.03$	$52.63^{c,M} \pm 0.02$	$55.48^{a,M} \pm 0.02$	$52.93^{b,M} \pm 0.09$

หมายเหตุ a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B,C,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.4 ค่าสีแดง (a*) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในการเก็บรักษาแบบแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสและมีการบรรจุแตกต่างกัน

สัปดาห์ที่	ค่าสีแดง (a*)			
	ธรรมชาติ แบบสุญญากาศ	ธรรมชาติ ความดันบรรยากาศ	พาณิชย์ แบบสุญญากาศ	พาณิชย์ ความดันบรรยากาศ
0	$1.66^{a,K} \pm 0.04$	$1.69^{a,K} \pm 0.02$	$1.49^{b,J} \pm 0.02$	$1.49^{b,M} \pm 0.01$
1	$1.72^{a,J} \pm 0.02$	$1.70^{a,JK} \pm 0.03$	$1.53^{b,J} \pm 0.01$	$1.54^{b,L} \pm 0.01$
2	$1.78^{a,I} \pm 0.02$	$1.74^{a,J} \pm 0.01$	$1.58^{c,I} \pm 0.01$	$1.67^{b,K} \pm 0.02$
3	$1.81^{a,I} \pm 0.02$	$1.84^{a,I} \pm 0.01$	$1.63^{c,I} \pm 0.02$	$1.72^{b,J} \pm 0.01$
4	$1.89^{a,H} \pm 0.03$	$1.94^{a,H} \pm 0.01$	$1.68^{c,H} \pm 0.01$	$1.82^{b,I} \pm 0.03$
5	$1.99^{b,G} \pm 0.03$	$2.07^{a,G} \pm 0.01$	$1.84^{c,G} \pm 0.01$	$1.98^{b,H} \pm 0.02$
6	$2.02^{b,FG} \pm 0.02$	$2.14^{a,F} \pm 0.02$	$1.96^{b,F} \pm 0.01$	$2.15^{a,G} \pm 0.03$
7	$2.06^{d,F} \pm 0.01$	$2.24^{b,E} \pm 0.02$	$2.15^{c,E} \pm 0.02$	$2.35^{a,F} \pm 0.03$
8	$2.16^{c,E} \pm 0.01$	$2.46^{a,D} \pm 0.02$	$2.25^{b,D} \pm 0.03$	$2.41^{a,E} \pm 0.01$
9	$2.32^{b,D} \pm 0.01$	$2.49^{a,D} \pm 0.01$	$2.28^{b,D} \pm 0.04$	$2.53^{a,D} \pm 0.01$
10	$2.39^{c,C} \pm 0.01$	$2.65^{b,C} \pm 0.02$	$2.37^{c,C} \pm 0.02$	$2.72^{a,C} \pm 0.02$
11	$2.47^{c,B} \pm 0.01$	$2.87^{b,B} \pm 0.03$	$2.42^{d,B} \pm 0.01$	$2.97^{a,B} \pm 0.01$
12	$2.77^{c,A} \pm 0.03$	$3.43^{a,A} \pm 0.02$	$2.70^{c,A} \pm 0.02$	$3.18^{b,A} \pm 0.02$

หมายเหตุ a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B,C,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.5 ค่าสีเหลือง (b*) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในการเก็บรักษาแบบแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสและมีการบรรจุแตกต่างกัน

สัปดาห์ที่	ค่าสีเหลือง (b*)			
	ธรรมชาติ แบบสุญญากาศ	ธรรมชาติ ความดันบรรยากาศ	พาณิชย์ แบบสุญญากาศ	พาณิชย์ ความดันบรรยากาศ
0	$17.64^{b,A} \pm 0.02$	$17.64^{b,A} \pm 0.02$	$19.91^{a,A} \pm 0.03$	$19.90^{a,A} \pm 0.03$
1	$17.59^{c,B} \pm 0.01$	$17.59^{c,A} \pm 0.01$	$19.86^{a,B} \pm 0.02$	$19.77^{b,B} \pm 0.02$
2	$17.49^{c,C} \pm 0.01$	$17.24^{d,B} \pm 0.03$	$19.72^{a,C} \pm 0.02$	$19.24^{b,C} \pm 0.01$
3	$17.43^{c,D} \pm 0.02$	$16.82^{d,C} \pm 0.02$	$19.65^{a,D} \pm 0.02$	$18.84^{b,D} \pm 0.03$
4	$17.27^{c,E} \pm 0.01$	$16.53^{d,D} \pm 0.01$	$19.33^{a,E} \pm 0.03$	$18.75^{b,E} \pm 0.01$
5	$17.13^{c,F} \pm 0.01$	$15.66^{d,E} \pm 0.04$	$18.77^{a,F} \pm 0.03$	$17.64^{b,F} \pm 0.03$
6	$16.94^{b,G} \pm 0.01$	$15.32^{c,F} \pm 0.03$	$18.55^{a,G} \pm 0.02$	$16.95^{b,G} \pm 0.03$
7	$16.89^{b,H} \pm 0.03$	$14.86^{d,G} \pm 0.01$	$18.13^{a,H} \pm 0.01$	$16.43^{c,H} \pm 0.03$
8	$16.53^{b,I} \pm 0.01$	$14.36^{d,H} \pm 0.01$	$17.71^{a,I} \pm 0.02$	$15.89^{c,I} \pm 0.04$
9	$16.30^{b,J} \pm 0.02$	$13.72^{d,I} \pm 0.03$	$17.55^{a,J} \pm 0.01$	$15.15^{c,J} \pm 0.04$
10	$16.23^{b,K} \pm 0.03$	$13.54^{d,J} \pm 0.03$	$17.23^{a,K} \pm 0.01$	$14.90^{c,K} \pm 0.06$
11	$16.05^{b,L} \pm 0.04$	$13.20^{d,K} \pm 0.03$	$16.90^{a,L} \pm 0.02$	$14.73^{c,L} \pm 0.03$
12	$15.88^{b,M} \pm 0.02$	$12.93^{d,L} \pm 0.08$	$16.75^{a,M} \pm 0.01$	$13.59^{c,M} \pm 0.05$

หมายเหตุ a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B,C,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.2.3 การเปลี่ยนแปลงค่า thiobarbituric acid (TBA)

จากการวิเคราะห์ค่า TBA ในตัวอย่างเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่บรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.6) และการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา (ตารางที่ ข.3) พบว่าชนิดของกบ การบรรจุ และระยะเวลาการเก็บ มีอิทธิพลต่อค่า TBA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยทั้งสามปัจจัยมีอิทธิพลร่วมต่อค่า TBA อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาจากระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่าค่า TBA มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเนื้อขากบทั้งสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศมีการเปลี่ยนแปลงค่า TBA มากกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ตัวอย่างที่บรรจุแบบปกติมีค่าใกล้ 8 mg malonaldehyde/kg sample แสดงว่าเริ่มมีการเสื่อมเสียแล้ว (Nishimoto et al., 1985) เนื่องจากการเก็บรักษาแบบแช่แข็งสามารถชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน แต่เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเอนไซม์กลุ่มไลโปไลติก (lipolytic enzyme) ได้แก่ ไลเพส (lipases) และ ฟอสโฟไลเพส (phospholipases) ยังสามารถเกิดกิจกรรมโดยไปย่อยสลายไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerol) เป็นกรดไขมันอิสระ ส่งผลให้เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและเกิดกลิ่นหืนได้ (Zaritzky, 2000)

เมื่อพิจารณาจากปัจจัยด้านการบรรจุและชนิดของกบ พบว่าตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 เนื้อขากบทั้งสองชนิดที่บรรจุแบบความดันบรรยากาศมีค่า TBA สูงกว่าเนื้อขากบที่บรรจุแบบสุญญากาศ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องมาจากเนื้อขากบที่บรรจุแบบความดันบรรยากาศมีการสัมผัสออกซิเจน ซึ่งเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันและกิจกรรมของเอนไซม์ ส่วนการเก็บแบบสุญญากาศเป็นการกำจัดออกซิเจนออกบางส่วน ทำให้สามารถชะลอกิจกรรมของจุลินทรีย์ได้ระดับหนึ่ง (Erickson, 1997)

ตารางที่ 4.6 ค่า thiobarbituric acid (TBA) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในการเก็บรักษาแบบแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสและมีการบรรจุแตกต่างกัน

สัปดาห์ที่	ค่า TBA (mg malonaldehyde/kg sample)			
	ธรรมชาติ แบบสุญญากาศ	ธรรมชาติ ความดันบรรยากาศ	พาณิชย์ แบบสุญญากาศ	พาณิชย์ ความดันบรรยากาศ
0	$2.28^{a,J} \pm 0.02$	$2.28^{a,K} \pm 0.01$	$2.10^{b,J} \pm 0.04$	$2.09^{b,L} \pm 0.02$
1	$2.25^{ab,J} \pm 0.02$	$2.29^{a,K} \pm 0.02$	$2.09^{c,J} \pm 0.01$	$2.22^{b,K} \pm 0.03$
2	$2.28^{b,J} \pm 0.01$	$2.34^{a,K} \pm 0.02$	$2.13^{b,J} \pm 0.01$	$2.28^{c,K} \pm 0.02$
3	$2.32^{c,J} \pm 0.02$	$2.57^{a,J} \pm 0.02$	$2.24^{d,I} \pm 0.01$	$2.41^{b,J} \pm 0.04$
4	$2.56^{b,I} \pm 0.04$	$2.77^{a,I} \pm 0.04$	$2.47^{c,H} \pm 0.01$	$2.53^{bc,I} \pm 0.02$
5	$2.86^{b,H} \pm 0.01$	$3.07^{a,H} \pm 0.06$	$2.52^{c,H} \pm 0.02$	$2.89^{b,H} \pm 0.04$
6	$3.03^{b,G} \pm 0.04$	$3.24^{a,G} \pm 0.02$	$2.94^{c,G} \pm 0.01$	$3.21^{a,G} \pm 0.04$
7	$3.63^{c,F} \pm 0.02$	$4.57^{a,F} \pm 0.02$	$3.23^{d,F} \pm 0.02$	$4.34^{b,F} \pm 0.03$
8	$4.73^{b,E} \pm 0.23$	$5.79^{a,E} \pm 0.04$	$4.35^{c,E} \pm 0.03$	$5.46^{a,E} \pm 0.03$
9	$5.74^{c,D} \pm 0.02$	$6.14^{a,D} \pm 0.02$	$5.17^{d,D} \pm 0.02$	$6.04^{b,D} \pm 0.06$
10	$6.37^{c,C} \pm 0.02$	$7.17^{a,C} \pm 0.02$	$6.50^{b,C} \pm 0.04$	$7.09^{a,C} \pm 0.05$
11	$6.94^{b,B} \pm 0.04$	$7.64^{a,B} \pm 0.03$	$6.80^{c,B} \pm 0.03$	$7.55^{a,B} \pm 0.06$
12	$7.27^{b,A} \pm 0.02$	$7.84^{a,A} \pm 0.03$	$7.14^{c,A} \pm 0.04$	$7.84^{a,A} \pm 0.04$

หมายเหตุ a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B,C,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.2.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

จากการประเมินการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อขากบทั้งสองชนิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4.7) และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา (ตารางที่ ข.4) พบว่าชนิดของกบ การบรรจุ และระยะเวลาการเก็บ มีอิทธิพลต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยทั้งสามปัจจัยมีอิทธิพลร่วมต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาจากระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยทั่วไปเนื้อขากบทั้งสองชนิดในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมากกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ และในช่วงแรกของการเก็บรักษาปริมาณจุลินทรีย์ลดลงและมีการเพิ่มขึ้นจนเท่ากับปริมาณเริ่มต้นในสัปดาห์ที่ 4 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกระบวนแช่เยือกแข็งมีผลให้จุลินทรีย์บางส่วนบาดเจ็บ ขาดอาหาร รวมไปถึงความเข้มข้นของสารละลายในเซลล์เพิ่มขึ้น (Zaritzky, 2000) และหลังสัปดาห์ที่ 4 ปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากการย่อยสลายตัวเองโดยเกิดจากเอนไซม์ในเนื้อสัตว์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโปรตีน ไขมัน การสูญเสียน้ำ ส่งผลให้จุลินทรีย์มีสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวน ซึ่งการเจริญของจุลินทรีย์นั้นสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงสีและการหืนในเนื้อสัตว์ที่เพิ่มขึ้น โดยในการบรรจุแบบความดันบรรยากาศปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีค่ามากกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ เนื่องจากการบรรจุแบบความดันบรรยากาศมีปริมาณออกซิเจนอยู่ในถุงมากกว่า ซึ่งเป็นปัจจัยในการเจริญของจุลินทรีย์ เช่นในพวก lactobacilli และ *Pseudomonas* spp. เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่าหลังการเก็บรักษาจนถึงสัปดาห์ที่ 12 เนื้อขากบทั้งสองชนิดมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกินค่ามาตรฐานความปลอดภัยต่อการบริโภคได้ที่ 6 log cfu/g (U.S. Food and Drug Administration, 2009a) ทั้งที่บรรจุแบบปกติและสุญญากาศ

ตารางที่ 4.7 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในการเก็บรักษาแบบแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสและมีการบรรจุแตกต่างกัน

สัปดาห์ที่	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu/g)			
	ธรรมชาติ แบบสุญญากาศ	ธรรมชาติ ความดันบรรยากาศ	พาณิชย์ แบบสุญญากาศ	พาณิชย์ ความดันบรรยากาศ
0	$4.57^{a,H} \pm 0.01$	$4.56^{a,IJ} \pm 0.02$	$4.23^{b,G} \pm 0.01$	$4.28^{b,H} \pm 0.09$
1	$4.53^{a,HI} \pm 0.01$	$4.54^{a,IJ} \pm 0.03$	$4.20^{b,G} \pm 0.02$	$4.19^{b,H} \pm 0.04$
2	$4.50^{a,I} \pm 0.02$	$4.51^{a,J} \pm 0.01$	$4.21^{b,G} \pm 0.01$	$4.23^{b,H} \pm 0.04$
3	$4.52^{a,HI} \pm 0.02$	$4.55^{a,IJ} \pm 0.02$	$4.24^{b,G} \pm 0.01$	$4.29^{b,H} \pm 0.04$
4	$4.54^{a,HI} \pm 0.03$	$4.59^{a,I} \pm 0.01$	$4.27^{b,G} \pm 0.01$	$4.31^{b,H} \pm 0.06$
5	$4.67^{b,G} \pm 0.03$	$4.83^{a,H} \pm 0.02$	$4.47^{c,F} \pm 0.03$	$4.55^{c,G} \pm 0.05$
6	$4.75^{b,F} \pm 0.01$	$4.95^{a,G} \pm 0.01$	$4.65^{c,E} \pm 0.03$	$4.72^{b,F} \pm 0.02$
7	$4.88^{b,E} \pm 0.03$	$5.05^{a,F} \pm 0.04$	$4.79^{b,D} \pm 0.04$	$4.83^{b,E} \pm 0.03$
8	$4.99^{b,D} \pm 0.04$	$5.18^{a,E} \pm 0.02$	$5.01^{b,C} \pm 0.07$	$5.00^{b,D} \pm 0.06$
9	$5.10^{b,C} \pm 0.06$	$5.26^{a,D} \pm 0.03$	$5.08^{b,C} \pm 0.04$	$5.10^{b,CD} \pm 0.05$
10	$5.26^{ab,B} \pm 0.02$	$5.35^{a,C} \pm 0.05$	$5.19^{b,B} \pm 0.06$	$5.17^{b,C} \pm 0.04$
11	$5.31^{b,B} \pm 0.02$	$5.49^{a,B} \pm 0.03$	$5.27^{b,B} \pm 0.05$	$5.28^{b,B} \pm 0.04$
12	$5.44^{b,A} \pm 0.03$	$5.62^{a,A} \pm 0.02$	$5.39^{b,A} \pm 0.05$	$5.40^{b,A} \pm 0.06$

หมายเหตุ a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B,C,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

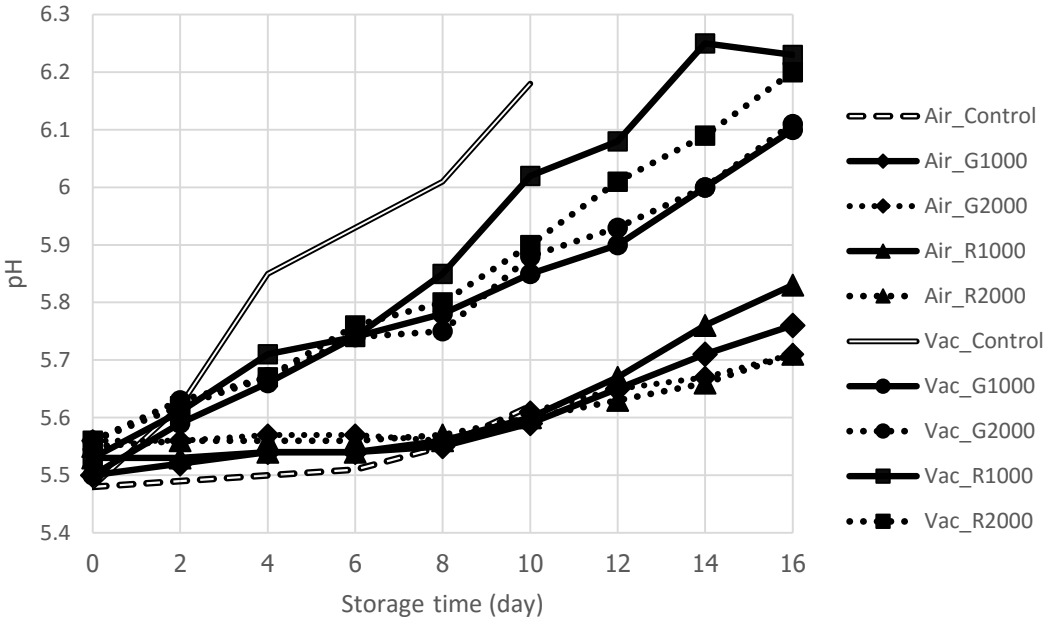
4.3 ผลของน้ำมันหอมระเหยจากธรรมชาติและสภาวะการบรรจุต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของเนื้อขากบในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4.3.1 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง (pH)

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อขากบทั้งสองชนิดมีค่าใกล้เคียงกัน จึงนำข้อมูลของกบทั้งสองชนิดมารวมกัน (ไม่คิดปัจจัยชนิดของกบ) จากการวัดค่า pH ของเนื้อขากบที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg บรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศ และเก็บที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 วัน (รูปที่ 4.1 และ ตารางที่ ค.1) และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา พบว่าการบรรจุ ชนิดของน้ำมันหอมระเหย และระยะเวลาการเก็บรักษา มีอิทธิพลต่อค่า pH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ระดับการเติมน้ำมันหอมระเหยไม่มีผล ($p > 0.05$) และเมื่อพิจารณาปัจจัยร่วมพบว่าทั้ง 4 ปัจจัยมีอิทธิพลร่วมต่อค่า pH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ข.5)

เมื่อพิจารณาตามภาวะการบรรจุ พบว่าเนื้อขากบที่บรรจุแบบความดันบรรยากาศมีค่า pH สูงกว่าเนื้อขากบที่บรรจุแบบสุญญากาศ และเมื่อพิจารณาชนิดของน้ำมัน พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมมีผลให้การเปลี่ยนแปลงค่า pH ต่ำกว่าน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาถึงระดับน้ำมันที่เติม พบว่าระดับน้ำมันมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า pH อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) สำหรับผลของสภาวะการบรรจุและชนิดของน้ำมัน พบว่าในการบรรจุแบบสุญญากาศ ตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมสามารถชะลอการเพิ่มค่า pH ได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี เนื่องจากการเติมสารต้านอนุมูลอิสระเป็นการให้ไฮโดรเจนอิออนหรืออิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระที่เกิดจากการออกซิเดชัน ทำให้เกิดสารประกอบที่เฉื่อยต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน และสารประกอบฟีนอลิกยังสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลเพอร์ออกซีได้ เช่นสารฟีนอลิก-เพอร์ออกซิล (phenolic-peroxyl) จนปฏิกิริยาสิ้นสุดลง (Gordon, 1990) การใช้สารต้านอนุมูลอิสระร่วมกับสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ เพื่อจำกัดปริมาณออกซิเจน และการเก็บรักษาแบบแช่เย็นทำให้ช่วยชะลอกิจกรรมของจุลินทรีย์ แต่ปฏิกิริยาต่างๆ ของเอนไซม์ยังคงดำเนินไปอย่างช้าๆ จึงอาจส่งผลให้เนื้อขากบเกิดการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ของกรดไขมันอิสระ และทำให้ค่า pH สูงขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาได้ นอกจากนี้การที่ค่า pH เพิ่มขึ้นอาจแสดงถึงการเจริญของจุลินทรีย์หรืออาจเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายของโปรตีน (Zaritzky, 2000) การที่น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมมีประสิทธิภาพในการชะลอการเสื่อมเสียได้มากกว่าน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี เนื่องจากสาร allicin ในกระเทียม ซึ่งมีหมู่ sulphenic ที่มีผลในการยับยั้งการหายใจและการเพิ่มจำนวนของเซลล์จุลินทรีย์ อาจเกิดขึ้นได้ตั้งแต่เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในเนื้อ และยังมีคุณสมบัติในการดักจับอนุมูลอิสระอีกด้วย จึงทำลายจุลินทรีย์ต่างๆ ได้เช่นเดียวกับ hydrogen peroxide (นิจศิริ เรืองรังษี, 2542)

เมื่อเทียบกับสารประกอบฟินอลิก เช่น โรสมานอลและคาร์โนซอลในโรสแมรี ที่เข้าทำปฏิกิริยาลูกโซ่กับอนุมูลอิสระโดยการให้ไฮโดรเจนหลังการเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายตัวเอง จึงอาจมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการออกซิเดชันของไขมันและโปรตีนได้ต่ำกว่าสาร allicin จากกระเทียม (Estevez and Cava, 2006)



รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน

4.3.2 การเปลี่ยนแปลงค่าสี

จากการวัดค่าสี (L*, a*, b*) ของเนื้อขากบที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg บรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศ และเก็บที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 วัน (รูปที่ 4.2 ถึง 4.4 และตารางที่ ค.2 ถึง ค.4) และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา พบว่าชนิดของการบรรจุ น้ำมันหอมระเหย ระดับการเติมและระยะเวลาการเก็บรักษา มีอิทธิพลต่อค่า a* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่วนชนิดของน้ำมันหอมระเหย ไม่มีอิทธิพลต่อค่า L* และระดับการเติม ไม่มีอิทธิพลต่อค่า b* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และทั้ง 4 ปัจจัย มีอิทธิพลร่วมต่อค่า L* a* และ b* ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ข.6)

เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่าค่าความสว่าง (L*) ของทุกตัวอย่างในทุกสภาวะการบรรจุมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยค่า L * ของเนื้อขากบในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศมีการเปลี่ยนแปลงค่า L* มากกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ เมื่อพิจารณาชนิดของน้ำมันหอมระเหยและสภาวะการบรรจุ พบว่าตัวอย่างที่ใช้น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมของทั้งสองสภาวะการบรรจุมีการเปลี่ยนแปลงค่า L* น้อยกว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรีและตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการเติมน้ำมันหอมระเหย ส่วนการเติมน้ำมันหอมระเหยที่ 2000 mg/kg ของตัวอย่างทั้งสองสภาวะการบรรจุมีการเปลี่ยนแปลงค่า L* น้อยกว่าการเติมน้ำมันหอมระเหยที่ 1000 mg/kg (ตารางที่ ค.2) เมื่อพิจารณาตามอายุการเก็บรักษา พบว่าในวันที่ 2 ของทุกตัวอย่างมีค่าความสว่างแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แม้ว่าการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของไมโอโกลบินไม่มีอิทธิพลต่อค่าความสว่าง (McKenna et al., 2005) แต่อาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีนในระหว่างการเก็บรักษาได้ (proteolysis) จากการออกซิไดซ์ในโครงสร้างของเนื้อสัตว์ทำให้เกิดการกระจายตัวของแสงได้ (MacDougall, 1982)

เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่าค่าสีแดง (a*) ของเนื้อขากบที่บรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศ พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่บรรจุแบบปกติมีการเปลี่ยนแปลงค่า a* มากกว่าตัวอย่างที่การบรรจุแบบสุญญากาศ และเมื่อพิจารณาชนิดของน้ำมันหอมระเหยและสภาวะการบรรจุ พบว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมของทั้งสองสภาวะการบรรจุมีการเปลี่ยนแปลงค่า a* น้อยกว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี ส่วนระดับของน้ำมันหอมระเหย พบว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหย 2000 mg/kg มีการเปลี่ยนแปลงค่า a* น้อยกว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหย 1000 mg/kg (ตารางที่ ค.3) เมื่อพิจารณาตามอายุการเก็บรักษา พบว่าค่าสีแดงในวันที่ 2 ของทั้งสองสภาวะการบรรจุแตกต่างจากตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหยอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงนั้นอาจเนื่องมาจากทั้งสารต้านอนุมูลอิสระจากกระเทียมและโรสแมรี สามารถ

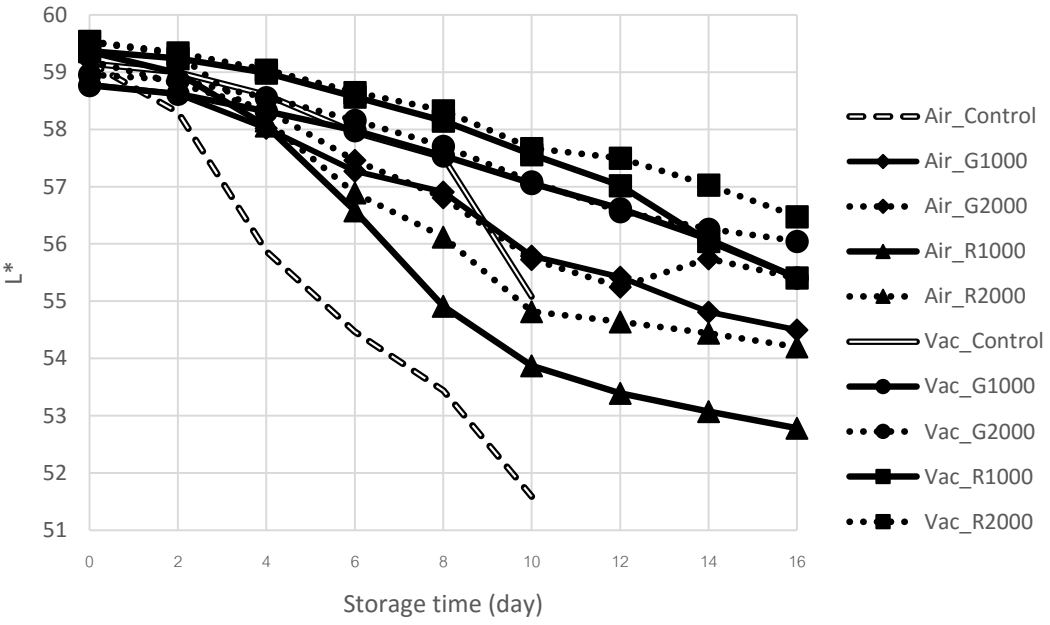
รักษาความคงตัวของสีนั้นและชะลอการออกซิเดชันของ MbO_2 ทั้งยังสามารถยับยั้งออกซิเดชันของไขมันด้วย (Faustman, Cassens, Schaefer, Buege and Scheller, 1989)

เมื่อวิเคราะห์ค่าสีเหลือง (b*) พบว่ามีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระหว่างการเก็บรักษา ($p \leq 0.05$) โดยเนื้อขากบที่บรรจุแบบความดันบรรยากาศมีการเปลี่ยนแปลงค่า b* มากกว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบสุญญากาศ เมื่อพิจารณาชนิดและปริมาณของน้ำมันหอมระเหยและสภาวะการบรรจุ พบว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและทั้งสองสภาวะการบรรจุมีการเปลี่ยนแปลงค่า b* น้อยกว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี โดยตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหย 2000 mg/kg มีการเปลี่ยนแปลงค่า b* น้อยกว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหย 1000 mg/kg (ตารางที่ ค.4) เมื่อพิจารณาตามอายุการเก็บรักษา พบว่าในวันที่ 2 ของตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยในทั้งสองสภาวะการบรรจุมีค่าสีเหลืองแตกต่างจากตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหยอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงค่าสี (ΔE) (รูปที่ 4.5 และตารางที่ ค.5) และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา พบว่าชนิดของการบรรจุ น้ำมันหอมระเหย ระดับการเติม ระยะเวลาการเก็บรักษา และปฏิสัมพันธ์ร่วมของทั้ง 4 ปัจจัย มีอิทธิพลต่อค่า ΔE อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ข.7) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่าค่า ΔE มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเนื้อขากบที่บรรจุแบบความดันบรรยากาศมีการเปลี่ยนแปลงค่า ΔE มากกว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบสุญญากาศ และเมื่อพิจารณาชนิดของน้ำมันหอมระเหยและสภาวะการบรรจุ พบว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมของทั้งสองสภาวะการบรรจุมีการเปลี่ยนแปลงค่า ΔE น้อยกว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี โดยตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหย 2000 mg/kg มีการเปลี่ยนแปลงค่า ΔE น้อยกว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหย 1000 mg/kg (ตารางที่ ค.5) เมื่อพิจารณาตามอายุการเก็บรักษาและสภาวะการบรรจุ พบว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยและบรรจุแบบความดันบรรยากาศมีค่า ΔE แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหยในวันที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยและบรรจุสุญญากาศมีความแตกต่างในวันที่ 4 ($p \leq 0.05$)

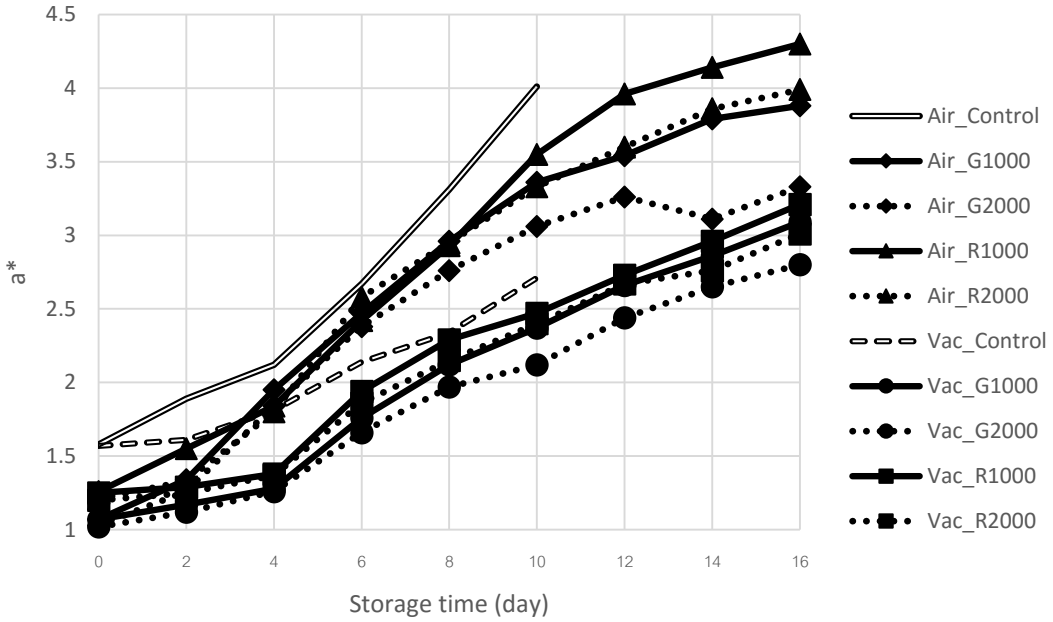
เมื่อพิจารณาจากปัจจัยของชนิดของน้ำมันหอมระเหยต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีของทุกตัวอย่าง พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงค่าสีได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี และตัวอย่างที่บรรจุแบบสุญญากาศมีการเปลี่ยนแปลงค่าสีต่ำกว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบความดันบรรยากาศ อาจเนื่องมาจากสารประกอบออร์กาโนซัลเฟอร์ (organosulfur compound) จากกระเทียม และสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) เป็นสารประกอบที่

สามารถชะลอการออกซิเดชันของไมโอโกลบินไปเป็นเมทไมโอโกลบินได้ โดย การสลายตัวของสีอาจมีผลเนื่องมาการเกิดออกซิเดชันของไขมันไปออกซิไดซ์รงควัตถุ (Han and Rhee, 2005)

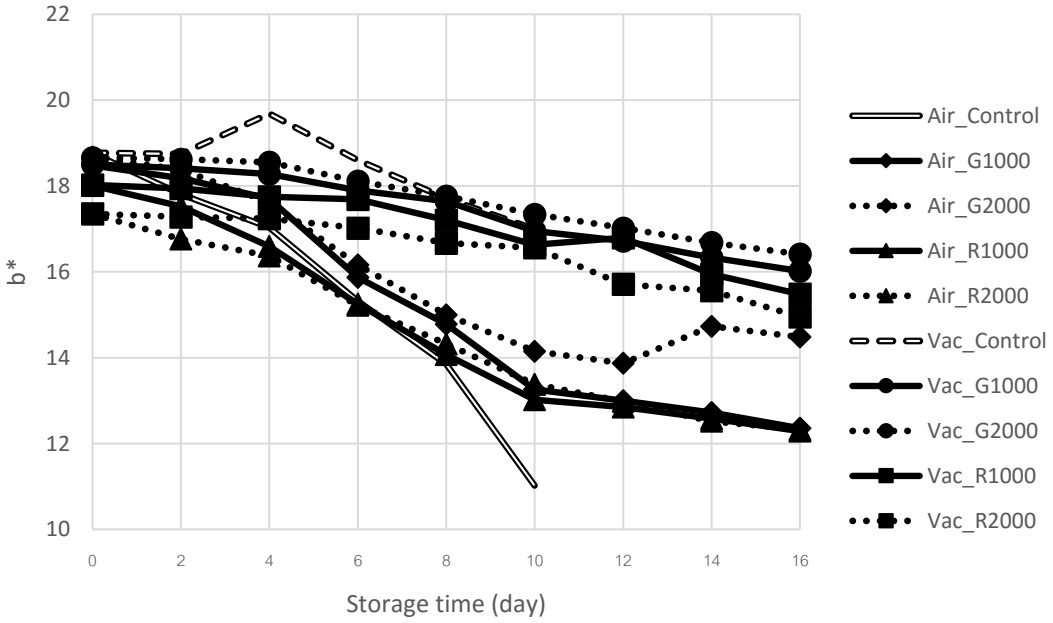


รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่า L* ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน

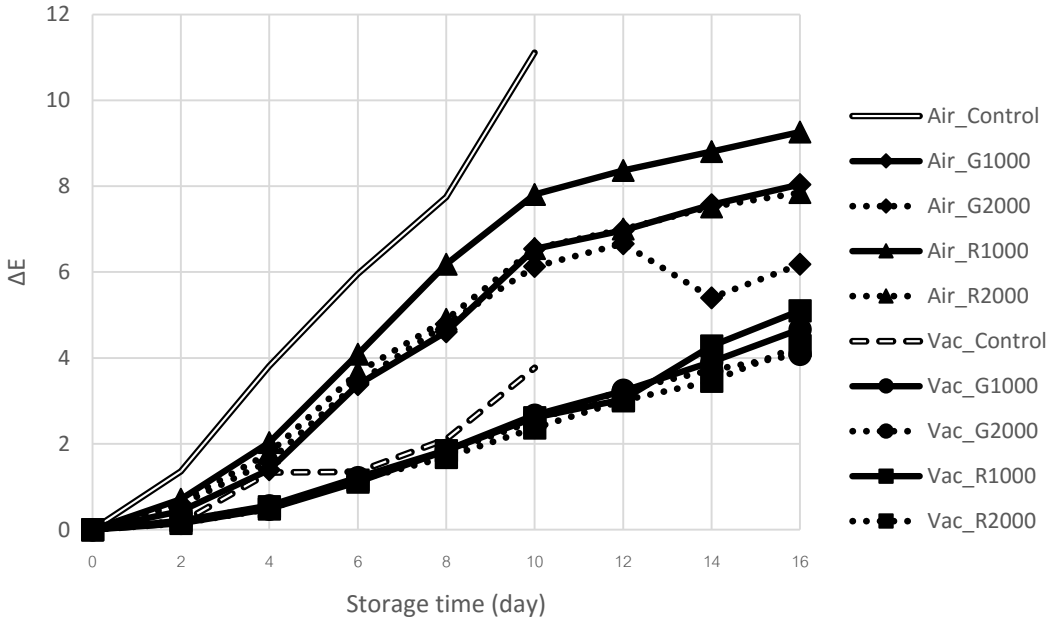
Chulalongkorn University



รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่า a* ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน



รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่า b* ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน



รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงค่า ΔE ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน

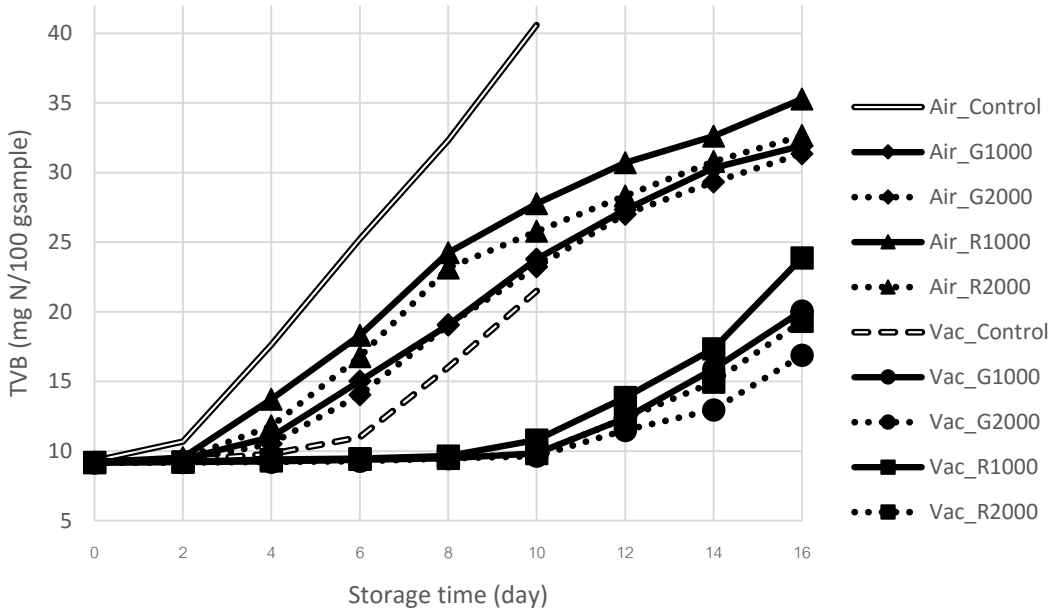
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.3.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Total volatile base (TVB)

จากการวัดค่า TVB ของเนื้อขากบที่เติมน้ำมันสกัดจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg บรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศ และเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน (รูปที่ 4.6 และตารางที่ ค.6) และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา (ตารางที่ ข.8) พบว่าชนิดของการบรรจุ ชนิดของน้ำมันหอมระเหย ระดับการเติมน้ำมัน ระยะเวลาการเก็บรักษา และปฏิสัมพันธ์ร่วมของทั้ง 4 ปัจจัย มีอิทธิพลต่อค่า TVB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อระยะการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่าค่า TVB มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตลอดอายุการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาตามภาวะการบรรจุ พบว่าเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่บรรจุแบบความดันบรรยากาศมีค่า TVB สูงกว่าเนื้อขากบที่บรรจุแบบสุญญากาศ และเมื่อพิจารณาชนิดของน้ำมัน พบว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมมีผลให้การเปลี่ยนแปลงค่า TVB ต่ำกว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี ($p \leq 0.05$) โดยตัวอย่างที่เติมระดับของน้ำมันหอมระเหย 2000 mg/kg สามารถชะลอการเพิ่มค่า TVB ได้มากกว่าตัวอย่างที่เติมระดับ 1000 mg/kg และเมื่อพิจารณาตามอายุการเก็บรักษาและสภาวะการบรรจุ พบว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยบรรจุแบบความดันบรรยากาศมีค่า TVB แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหยในวันที่ 2 ของการเก็บรักษา และในวันที่ 8 มีค่า TVB เกิน 30 mg N/100 กรัมตัวอย่าง แสดงว่าเกิดการเสื่อมเสียแล้ว ส่วนการบรรจุแบบสุญญากาศพบความแตกต่างจากตัวอย่างที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหยในวันที่ 4 และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 10 วัน ค่า TVB ยังไม่เกินค่ามาตรฐาน แต่เนื่องจากการวิเคราะห์ปริมาณ TVB สอดคล้องกับปริมาณจุลินทรีย์ ซึ่งในตัวอย่างที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหยของทั้งสองภาวะการบรรจุนั้นมีปริมาณจุลินทรีย์เกินค่ามาตรฐานที่ 6 log cfu/g แสดงว่าตัวอย่างนั้นเสื่อมเสียแล้ว

การที่น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรี สามารถลดการเปลี่ยนแปลงค่า TVB เนื่องจากการย่อยสลายของโปรตีน ซึ่งอาจเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีน หรือการย่อยสลายโปรตีนที่เกิดจากจุลินทรีย์ ถูกชะลอให้ช้าลง โดยสาร allicin ในกระเทียมมีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ทำให้มีลักษณะคล้ายกรดอะมิโน ซึ่งมีความว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระมากกว่ากรดอะมิโนและสารประกอบฟินอลิกจากโรสแมรี ส่งผลให้สามารถชะลอการเสื่อมเสียได้ (Lund, Heinonen, Baron and Estevez, 2011) โดยประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันของโปรตีนขึ้นอยู่กับโครงสร้างและความเข้มข้นของสารประกอบฟินอลิกที่ใช้ โดย Lund, Hviid and Skibsted (2007) ศึกษาการเติมสารสกัดจากโรสแมรีลงในเนื้อโคบด พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของโปรตีนได้ค่อนข้างต่ำ



รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงค่า TVB ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

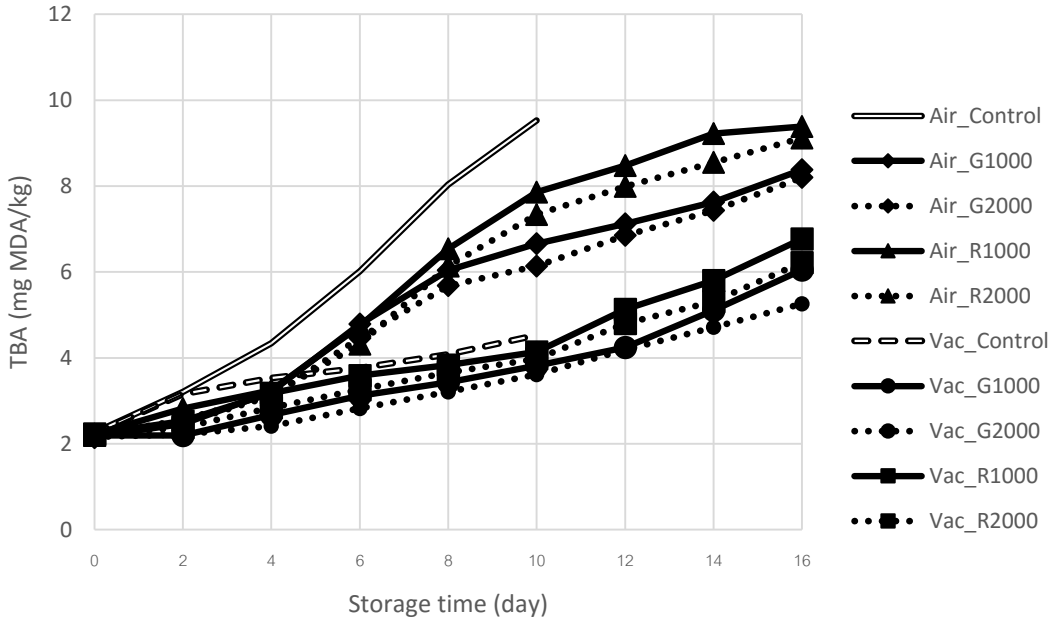
4.3.4 การเปลี่ยนแปลงค่า thiobarbituric acid (TBA)

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงค่า TBA ของเนื้อขากบที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg บรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศ และเก็บที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 วัน (รูปที่ 4.8 และตารางที่ ค.8) และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา (ตารางที่ ข.10) พบว่าชนิดของการบรรจุ ชนิดของน้ำมันหอมระเหย ระดับการเติมน้ำมันและระยะเวลาการเก็บรักษา และปฏิสัมพันธ์ร่วมของทั้ง 4 ปัจจัย มีอิทธิพลต่อค่า TBA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อระยะการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่าค่า TBA มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตลอดอายุการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาตามภาวะการบรรจุ พบว่าเนื้อขากบที่บรรจุแบบความดันบรรยากาศมีค่า TBA สูงกว่าเนื้อขากบที่บรรจุแบบสุญญากาศ และเมื่อพิจารณาชนิดของน้ำมัน พบว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมมีผลให้การเปลี่ยนแปลงค่า TBA ต่ำกว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี ($p \leq 0.05$) โดยตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยระดับ 2000 mg/kg มีผลต่อค่า TBA ได้มากกว่าตัวอย่างที่เติมระดับ 1000 mg/kg อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน ค่า TBA ของตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยของทุกสภาวะการบรรจุต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สำหรับผลของสภาวะการบรรจุ ชนิดและระดับของน้ำมัน พบว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบสุญญากาศและเติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมสามารถชะลอการเพิ่มค่า TBA ได้ดีกว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี เนื่องจากการเติมสารต้านอนุมูลอิสระเป็นการให้ไฮโดรเจนอะตอมหรืออิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระที่เกิดจากการออกซิเดชัน ทำให้เกิดอนุมูลอิสระที่เฉื่อยต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการเติมสารต้านอนุมูลอิสระมักเติมลงไปเพื่อป้องกันการเกิดผลิตภัณฑ์จากการออกซิเดชันขั้นทุติยภูมิ เช่น แอลดีไฮด์ ในปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันเป็นหลัก แต่อาจมีผลในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของโปรตีนร่วมด้วย ทั้งนี้การเติมน้ำมันหอมระเหยที่มีสารประกอบฟีนอลิกเป็นหลัก ต้องคำนึงถึงความเข้มข้นและลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่เติม เพราะหากเติมสารประกอบฟีนอลลิกที่มีความเข้มข้นสูงในระดับหนึ่งจะส่งผลให้เกิดการออกซิเดชันของโปรตีนแทน (Estevez and Cava, 2006) ในขณะที่สารจากกระเทียมยังไม่พบการรายงานในการส่งเสริมการเกิดออกซิเดชัน แต่หากใช้ในความเข้มข้นสูง อาจมีผลต่อสมบัติทางประสาทสัมผัสได้ ซึ่งการใช้สารต้านอนุมูลอิสระร่วมกับสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ เพื่อจำกัดปริมาณออกซิเจน (Erickson, 1997) สามารถต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมันและชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ มีประสิทธิภาพในการลดความหืน ทำให้ชะลอกิจกรรมของเอนไซม์ได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น (Fernandez-Lopez et

al., 2005) เมื่อเก็บรักษามากกว่า 8 วัน ตัวอย่างควบคุมที่บรรจุแบบความดันบรรยากาศมีค่าเกิน 8 mg malonaldehyde/kg sample แสดงว่าจะเริ่มมีการเสื่อมเสียแล้ว ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของค่า TVB ข้างต้น แต่ตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยมีค่าเกินมาตรฐานในวันที่ 12 ส่วนตัวอย่างที่บรรจุแบบสุญญากาศ พบว่าในวันที่ 16 ตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยยังมีค่าไม่เกิน 8 mg malonaldehyde/kg sample



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงค่า TBA ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน

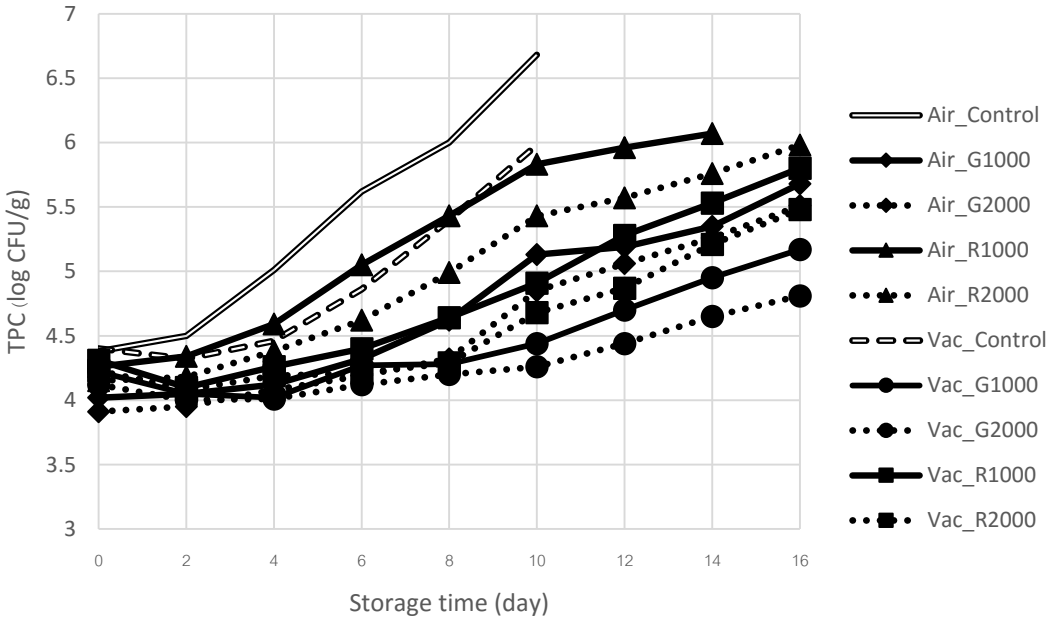
4.3.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TPC)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อขากบที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg บรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศ และเก็บที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 วัน (รูปที่ 4.8 และตารางที่ ค.8) และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา (ตารางที่ ข.10) พบว่าชนิดของกบ การบรรจุ ชนิดของน้ำมันหอมระเหย และระยะเวลาการเก็บรักษา มีอิทธิพลต่อปริมาณจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ระดับการเติมน้ำมัน ไม่มีอิทธิพลต่อปริมาณจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และเมื่อพิจารณาปัจจัยร่วมพบว่าทั้ง 4 ปัจจัยมีอิทธิพลร่วมต่อปริมาณจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ของเนื้อขากบที่บรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศ พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาตามภาวะการบรรจุ พบว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบความดันบรรยากาศมีปริมาณจุลินทรีย์สูงกว่าตัวอย่างที่บรรจุแบบสุญญากาศ และเมื่อพิจารณาชนิดของน้ำมัน พบว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมมีผลให้การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ต่ำกว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี ($p \leq 0.05$) โดยตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยระดับ 2000 mg/kg มีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้มากกว่าตัวอย่างที่เติมระดับ 1000 mg/kg อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงค่า TVB และ TBA ซึ่งในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยของทั้งสองสภาวะการบรรจุมีปริมาณจุลินทรีย์แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 8 วัน ตัวอย่างที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหย ในการบรรจุแบบความดันบรรยากาศ มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินกว่าค่ามาตรฐานความปลอดภัยต่อการบริโภคได้ที่ 6 log cfu/g (USFDA, 2009) ส่วนตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยสามารถเก็บได้ 14 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับการบรรจุแบบสุญญากาศ พบว่าตัวอย่างที่ไม่เติมน้ำมัน เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 10 วันจึงจะมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดใกล้มาตรฐานความปลอดภัย ส่วนตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยทั้งสองสามารถเก็บรักษาได้มากกว่า 16 วัน

สำหรับผลของสภาวะการบรรจุ ชนิดและระดับของน้ำมัน พบว่าในการบรรจุแบบสุญญากาศ น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมที่ 2000 mg/kg สามารถชะลอการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี อาจเนื่องจากสาร allicin ในน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ ได้มากกว่าสารประกอบฟีนอลิกในโรสแมรี โดยไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจหรือการเจริญของเซลล์เป็นผลให้จุลินทรีย์ถูกทำลาย และมีหมู่ SH ที่มีความสำคัญต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ ทำให้ขัดขวางการเจริญและเพิ่ม

จำนวนของเซลล์ นอกจากนี้การใช้สารต้านอนุมูลอิสระร่วมกับสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ เพื่อจำกัดปริมาณออกซิเจน ซึ่งเป็นปัจจัยในการเจริญของจุลินทรีย์ และการเก็บรักษาแบบแช่เย็นทำให้ช่วยชะลอกิจกรรมของจุลินทรีย์ได้ดีขึ้น



รูปที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงค่า TPC ของเนื้อขากบทั้งสองชนิดที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ 1000 และ 2000 mg/kg ในการบรรจุแตกต่างกัน

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ พบว่ามีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ในการศึกษาผลของการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง (-18 องศาเซลเซียส) ร่วมกับภาวะบรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศนั้น พบว่าภาวะบรรจุและระยะเวลาการเก็บรักษาส่งผลให้ค่า pH ค่าสีแดง (a*) TBA และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา แต่มีค่าความสว่าง (L*) และค่าสีเหลือง (b*) ลดลง โดยภาวะบรรจุแบบสุญญากาศ สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานกว่าการบรรจุแบบความดันบรรยากาศ ซึ่งสามารถเก็บรักษาได้อย่างน้อย 3 เดือน

จากการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ระดับ 1000 และ 2000 mg/kg ร่วมกับภาวะบรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศในระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เย็น (4 องศาเซลเซียส) พบว่าภาวะการบรรจุ ระยะเวลาการเก็บรักษา ชนิดและระดับของน้ำมัน มีอิทธิพลต่อค่า pH ค่าสี ค่า TVB ค่า TBA และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและบรรจุแบบความดันบรรยากาศสามารถเก็บรักษาได้ประมาณ 14 วัน ส่วนตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรีสามารถเก็บรักษาเป็นเวลา 10 วัน และในการบรรจุแบบสุญญากาศตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยทั้งสองชนิดและทั้งสองระดับสามารถเก็บรักษาได้ไม่น้อยกว่า 16 วัน และการเติมน้ำมันหอมระเหยระดับ 2000 mg/kg สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงได้มากกว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันหอมระเหยระดับ 1000 mg/kg

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาเติมน้ำมันหอมระเหยธรรมมชาติในการเก็บรักษาแบบแช่แข็ง และควรเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษาให้นานขึ้น

2. ควรมีการศึกษาการเติมน้ำมันหอมระเหยธรรมชาติชนิดอื่นๆ เพื่อสามารถประยุกต์และพัฒนาได้ต่อไป

รายการอ้างอิง

Ababouch, L. H., Souibri, L., Rhaliby, K., Ouahdi, O., Battal, M., and Busta, F. F. (1996). Quality changes in sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperature. *Food Microbiology,* 13(2), 123-132.

Akoh, C. C., and Min, D. B. (1998). *Food Lipids: Chemistry, nutrition, and biotechnology*. New York, USA.: Marcel Dekker, Inc.

AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis*. Washington, D.C., USA.: Association of Official Analytical Chemists.

Baygar, T., and Ozgur, N. (2010). Sensory and chemical changes in smoked frog (*Rana esculanta*) leg during cold storage (4°C±1). *Journal of Animal and Veterinary Advances,* 9(3), 588-593.

Benjakul, S., Visessanguan, W., and Tueksuban, J. (2003). Changes in physico-chemical properties and gel-forming ability of lizardfish (*Saurida tumbil*) during post-mortem storage in ice. *Food Chemistry,* 80(4), 535-544.

Bhobe, A. M., and Pai, J. S. (1986). Study of the properties of frozen shrimps. *Journal of Food Science and Technology,* 23, 143-147.

Boonsumrej, S., Chaiwanichsiri, S., Tantratian, S., Suzuki, T., and Takai, R. (2007). Effects of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing. *Journal of Food Engineering,* 80, 292-299.

Boulianne, M., and King, A. J. (1998). Meat color and biochemical characteristics of unacceptable dark-colored broiler chicken carcasses. *Journal of Food Science,* 63(5), 759-762.

Buege, J. A., and Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology,* 52, 302-310.

Cakli, S., Kisla, D., Cadun, A., Dincer, T., and Caglak, E. (2009). Determination of shelf life in fried and boiled frog meat stored in refrigerator in 3.2±1.08 °C. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 26(2), 115-119.

Chaijan, M., Benjakul, S., Visessanguan, W., and Faustman, C. (2006). Changes of lipids in sardine (*Sardinella gibbosa*) muscle during iced storage. *Food Chemistry,* 99(1), 83-91.

Choe, E., and Min, D. B. (2009). Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety,* 8, 345-358.

Chowla, P., MacKeigan, B., Gould, S. P., and Ablett, R. F. (1988). Influence of frozen storage on microsomal phospholipase activity in myotomal tissue of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal,* 21, 399-402.

Dalgaard, P., Gram, L., and Huss, H. H. (1993). Spoilage and shelf life of cod fillets packed in vacuum or modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology,* 19, 283-294.

de Koning, A. J., and Mol, T. H. (1990). Rates of free fatty acid formation from phospholipids and neutral lipids in frozen cape hake (*Merluccius* spp) mince at various temperatures. *Journal of Science of Food and Agriculture,* 50, 391-398.

Erickson, M. C. (1997). Lipid Oxidation: Flavor and nutritional quality deterioration in frozen foods. In M. C. Erickson and Y.-C. Hung (Eds.), *Quality in Frozen Food* (pp. 141-173). England: Springer.

Estevez, M., and Cava, R. (2006). Effectiveness of rosemary essential oil as an inhibitor of lipid and protein oxidation: contradictory effects in different types of frankfurters. *Meat Science,* 72, 348-355.

Estevez, M., Ramirez, R., Ventanas, S., and Cava, R. (2007). Sage and rosemary essential oils versus BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver pate. *LWT - Food Science and Technology,* 40(1), 58-65.

Fagan, J. D., Gormley, T. R., and Mhuircheartaigh, M. U. (2003). Effect of freeze-chilling, in comparison with fresh, chilling and freezing, on some quality parameters of raw whiting, mackerel and salmon portions. *LWT - Food Science and Technology,* 36(7), 647-655.

Faustman, C., Cassens, R., Schaefer, D., Buege, D., and Scheller, K. (1989). Vitamin E supplementation of Holstein steer diets improves sirloin steak color. *Journal of Food Science,* 54(2), 485-486.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Fernandez-Lopez, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Perez-Alvarez, J. A., and Kuri, V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: Application in beef meatballs. *Meat Science,* 69(3), 371-380.

Foegeding, E. A., Lanier, T. C., and Hultin, H. O. (1996). Characteristics of edible muscle tissues. In O. R. Fennema (Ed.), *Food Chemistry*. New York: Marcel Dekker, Inc.

Garcia-Soto, B., Sanjuas, M., Barros-Velazquez, J., Fuertes-Gamundi, J. R., and Aubourg, S. P. (2011). Preservative effect of an organic acid-icing system on chilled fish lipids. *European Journal of Lipid Science and Technology,* 113(4), 487-496.

Gordon, M. H. (1990). The machanism of antioxidant action in vitro. In B. J. F. Hudson (Ed.), *Food Antioxidants*. England: ELSEVIER.

Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J. B., Christensen, A. B., and Givskov, M. (2002). Food spoilage-interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology,* 78, 79-97.

Guzman, J. C., McMillin, K. W., Bidner, T. D., Dugas-Sims, S., and Godber, J. S. (1995). Texture, color and sensory characteristics of ground beef patties containing bovine blood proteins. *Journal of Food Science,* 60(4), 657-660.

Halliwell, B., Aeschbach, R., Loriger, J., and Auruoma, O. I. (1995). The characterization of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology,* 33(7), 601-617.

Han, J., and Rhee, K. S. (2005). Antioxidant properties of selected oriental non-culinary/nutraceutical herb extracts as evaluated in raw and cooked meat. *Meat Science,* 70, 25-33.

Hasegawa, H. (1987). *Laboratory manual on analytical methods and procedures for fish and fish products*. Southeast Asian Fisheries Development Center: Marine Fisheries Research Department.

Insausti, K., Beriain, M., Purroy, A., Alberti, P., Lizaso, L., and Hernandez, B. (1999). Colour stability of beef from different Spanish native cattle breeds stored under vacuum and modified atmosphere. *Meat Science,* 53(4), 241-249.

Lund, M. N., Heinonen, M., Baron, C. P., and Estevez, M. (2011). Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition and Food Research,* 55, 83-95.

Lund, M. N., Hviid, M. S., and Skibsted, L. H. (2007). The combined effect of antioxidants and modified atmosphere packaging on protein and lipid oxidation in beef patties during chill storage. *Meat Science,* 76, 226-233.

Lynch, M. P., Faustman, C., Silbart, L. K., Rood, D., and Furr, H. C. (2001). Detection of lipid-derived aldehydes and aldehyde: Protein adducts in vitro and in beef. *Journal of Food Science,* 66(8), 1093-1099.

MacDougall, D. B. (1982). Changes in the colour and opacity of meat. *Food Chemistry,* 9, 75-88.

Madhavi, D. L., Deshpande, S. S., and Salunkhe, D. K. (1996). *Food antioxidants: Technological, toxicological, health perspective*. New York, USA.: Marcel Dekker, Inc.

Masniyom, P., Benjakul, S., and Visessanguan, W. (2002). Shelf-life extension of refrigerated seabass slices under modified atmosphere packaging. *Journal of the Science of Food and Agriculture,* 82(8), 873-880.

McCarthy, T., Kerry, J., Kerry, J., Lynch, P., and Buckley, D. (2001). Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. *Meat Science,* 58(1), 45-52.

McKenna, D. R., Mies, P. D., Baird, B. E., Pfeiffer, K. D., Ellebracht, J. W., and Savell, J. W. (2005). Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. *Meat Science,* 70(4), 665-682.

Nishimoto, J. I., Suwetja, I. K., and Miki, H. (1985). Estimation of keeping freshness period and practical storage life of mackerel muscle during storage at low temperatures. *Memoirs of the Faculty of Fisheries, Kagoshima university,* 34(1), 89-96.

Ojewola, G., and Udom, S. (2005). Chemical evaluation of the nutrient composition of some unconventional animal protein sources. *International Journal of Poultry Science,* 4(10), 745-747.

Ozogul, F., Ozogul, Y., Olgunoglu, A. I., and Boga, E. K. (2008). Comparison of fatty acid, mineral and proximate composition of body and legs of edible frog (*Rana esculenta*). *International Journal of Food Sciences and Nutrition,* 59(7), 558-565.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sanchez, M. E., and Robles-Burgueno, M. R. (2000). Postmortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0 °C. *Journal of Food Science,* 65(1), 40-47.

Park, S., Yoo, S., Shim, J., and Chin, K. (2008). Physicochemical properties, and antioxidant and antimicrobial effects of garlic and onion powder in fresh pork belly and loin during refrigerated storage. *Journal of Food Science,* 73(8), C577-C584.

Phillips, C. A. (1996). Review: Modified atmosphere packaging and its effects on the microbiological quality and safety of produce. *International Journal of Food Science and Technology,* 31(6), 463-479.

Pokorny, J., Yanishlieva, N., and Gordon, M. H. (2001). *Antioxidants in food: Practical applications*. England: CRC Press.

Quitral, V., Donoso, M. L., Ortiz, J., Herrera, M. V., Araya, H., and Aubourg, S. P. (2009). Chemical changes during the chilled storage of Chilean jack mackerel (*Trachurus murphyi*): Effect of a plant-extract icing system. *LWT - Food Science and Technology,* 42(8), 1450-1454.

Richards, M. P., Modra, A. M., and Li, R. (2002). Role of deoxyhemoglobin in lipid oxidation of washed cod muscle mediated by trout, poultry and beef hemoglobins. *Meat Science,* 62(2), 157-163.

Saeed, S., and Howell, N. K. (2002). Effect of lipid oxidation and frozen storage on muscle proteins of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture,* 82(5), 579-586.

Sallam, K. I., Ishioroshi, M., and Samejima, K. (2004). Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. *LWT - Food Science and Technology,* 37(8), 849-855.

Schuler, P. (1990). Natural antioxidants exploited commercially. In B. J. F. Hudson (Ed.), *Food Antioxidants*. England: ELSEVIER.

Sebranek, J. G., Sewalt, V. J., Robbins, K. L., and Houser, T. A. (2005). Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science,* 69(2), 289-296.

Senthilvel, A., Srikar, L. N., and Reddy, G. V. S. (1992). Effect of frozen storage on protease and lipase activities of oil sardine and ribbon fish. *Journal of Food Science and Technology, 29*(392-394).

Suman, S. P., and Joseph, P. (2012). Myoglobin chemistry and meat color. *The Annual Review of Food Science and Technology,* 4, 79-99.

Tanabe, H., Yoshida, M., and Tomita, N. (2002). Comparison of the antioxidant activities of 22 commonly used culinary herbs and spices on the lipid oxidation of pork meat. *Animal Science Journal,* 73(5), 389-393.

Tokur, B., Gurbuz, R. D., and Ozyurt, G. (2008). Nutritional composition of frog (*Rana esculanta*) waste meal. *Bioresource Technology,* 99(5), 1332-1338.

U.S. Food and Drug Administration. (2009a). BAM: Aerobic Plate Count. *FDA's Bacteriological Analytical Manual*.

U.S. Food and Drug Administration. (2009b). BAM: Salmonella. *FDA's Bacteriological Analytical Manual*.

Zamora, R., and Hidalgo, F. J. (2001). Inhibition of proteolysis in oxidized lipid-damaged proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 49(12), 6006-6011.

Zaritzky, N. E. (2000). Factors affecting the stability of frozen foods. In C. J. Kenedy (Ed.), *Managing frozen foods* (pp. 111-135). Washington DC, USA.: CRC Press.

กรมประมง. (2554). การเลี้ยงกบเนื้อ. กรุงเทพมหานคร: ส่วนเศรษฐกิจประมง กรมประมง.

นิจศิริ เรืองรังษี. (2542). เครื่องเทศ (พิมพ์ครั้งที่ 3 ed.). กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นิธิยา รัตนาปนนท์. (2545). เคมีอาหาร (พิมพ์ครั้งที่ 1 ed.). กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์.

นิธิยา รัตนาปนนท์. (2548). วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน (พิมพ์ครั้งที่ 1 ed.). กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์.

ศิวาพร ศิวเวชช. (2546). วัตถุเจือปนอาหาร. นครปฐม: โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

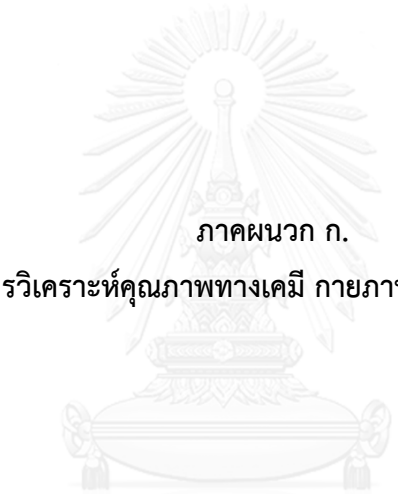
สุทธวัฒน์ เบญจกุล. (2548). เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ (พิมพ์ครั้งที่ 1 ed.). กรุงเทพหานคร: โอเดียนสโตร์.

อรรณพ อิ่มศิลป์, พิศมัย สมสืบ, and มาลัย อิ่มศิลป์. (2553). การใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอาหารกบนา. กรมประมง.

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุณยะรัตน์, and มาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. (2549). สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพมหานคร: พี.เอส.พริ้นท์.

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



ภาคผนวก ก.

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ก.1 ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000) section 985.14

อุปกรณ์

ตู้อบลมร้อน (Memmert, UNB400, Germany)

จานอลูมิเนียมหาความชื้น

โถดูดความชื้น

เครื่องชั่งไฟฟ้า (Mettler Toledo, MS304S, Switzerland)

วิธีการ

1. อบจานอลูมิเนียมในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมงแล้วนำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. กระทำเช่นข้อ 1 ซ้ำ จนได้ผลแตกต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัม

3. นำตัวอย่างมาสับให้ละเอียด และชั่งตัวอย่างประมาณ 2-5 กรัม ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนใส่ลงในจานอลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักแล้ว เกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วจานอย่างสม่ำเสมอ

4. นำไปอบในตู้อบสุญญากาศอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 5 ชั่วโมง นำจานใส่ตัวอย่างไปวางในโถดูดความชื้นจนตัวอย่างเย็นจึงชั่งน้ำหนัก แล้วอบอีกครั้งประมาณ 1 ชั่วโมงจนได้น้ำหนักคงที่ หรือน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันแตกต่างไม่เกิน 3 มิลลิกรัม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

$$\text{ปริมาณความชื้น } (\text{ร้อยละ}) = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ})}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \text{ x } 100$$

ก.2 ปริมาณโปรตีน (AOAC, 2000) section 928.08

อุปกรณ์

ชุดวิเคราะห์โปรตีน (Buchi, CH-9230, Switzerland)

สารเคมี

Sodium hydroxide (Carlo Erba, France) : เตรียมให้มีความเข้มข้นร้อยละ 50

Boric acid (Carlo Erba, France) : เตรียมให้มีความเข้มข้นร้อยละ 4

Hydrochloric acid ร้อยละ 37 (Fisher Scientific, England) : เตรียมให้มีความเข้มข้น 0.1 N

Selenium reagent mixture (Merck, Germany)

Sulfuric acid ร้อยละ 98 (Quality Reagent Chemical, New Zealand)

อินดิเคเตอร์ : สารละลายเมทิลเรด (Merck, Germany) และสารละลายโบรโมครีซอลกรีน (Carlo Erba, France) ในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 5

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อย

2. เติม Selenium reagent mixture ซึ่งเป็นคะตะลิสต์ (catalyst) ประมาณ 5 กรัม และกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 30 มิลลิลิตร นำไปย่อยบนเตาย่อย โดยค่อยๆ เพิ่มความร้อนในการย่อย ย่อยตัวอย่างจนส่วนผสมในหลอดย่อยกลายเป็นสีเขียว จากนั้นปิดเตาย่อย และทิ้งไว้ให้เย็นเป็นเวลานานประมาณ 30 นาที

3. เติมน้ำกลั่นลงไปในหลอดย่อยหลอดละ 30 มิลลิลิตร เพื่อละลายตะกอนที่เกิดขึ้น

4. เตรียมฟลาสก์ที่มีสารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 50 มิลลิลิตรที่ผสมอินดิเคเตอร์แล้ว 2-3 หยด สำหรับรับสารที่กลั่นได้ที่ปลาย condenser ของเครื่องกลั่น

5. นำหลอดตัวอย่างที่ผ่านการย่อยต่อเข้ากับเครื่องกลั่น จากนั้นค่อยๆ เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 50 หยุดการเติมเมื่อสารละลายในหลอดย่อยเปลี่ยนเป็นสีเทาดำ

6. ในระหว่างการกลั่นจะเกิดแอมโมเนียขึ้น ซึ่งจะถูกจับไว้ด้วยสารละลายกรดบอริกที่เตรียมจากข้อ 4. รองรับสิ่งที่กลั่นได้ซึ่งเป็นสารละลายสีเขียวจนได้ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

7. ล้างส่วนปลายของ condenser ด้วยน้ำกลั่นใส่ลงในฟลาสก์ที่รองรับสิ่งที่กลั่นได้

8. นำสารละลายในฟลาสก์ทั้งหมดมาไทเทรตกับกรดไฮโดรคลอริกที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนแล้ว (0.1 N) จนได้จุดยุติ (end point) เป็นสีชมพู

9. ทำตัวเทียบ (blank) โดยใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง และวิเคราะห์เช่นเดียวกัน

10. คำนวณหาปริมาณโปรตีน

$$\text{ปริมาณโปรตีนทั้งหมด } (\%) = \frac{(V_a - V_b) \text{ x N x } 1.4 \text{ x CF}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง } (\text{กรัม})}$$

เมื่อกำหนดให้

V_a = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง

V_b = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรต blank

N = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตหน่วยเป็น Normal (N)

CF = conversion factor สำหรับเปลี่ยนไนโตรเจนให้เป็นโปรตีน (ในการทดลองใช้ค่าเป็น 6.25)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ก.3 ปริมาณไขมัน (AOAC, 2000) section 960.39

อุปกรณ์

ตู้อบลมร้อน (Memmert, รุ่น 600, Germany)

Soxhlet apparatus (Gerhardt, รุ่น EV-16, Germany)

โถดูดความชื้น

สารเคมี

Petroleum ether (QReC, New Zealand)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างแล้วนำไปอบให้แห้งให้ได้น้ำหนักประมาณ 5 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1

2. ใส่ตัวอย่างในทิมเบิล (thimble) ซึ่งบรรจุในขวดสกัดที่แห้งสนิทและทราบน้ำหนักที่แน่นอน

3. เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ลงในขวดสกัด แล้วต่อเข้ากับชุดสกัดใช้เวลาในการสกัดไขมันนาน 6-8 ชั่วโมง

4. ระเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ออกจากไขมันที่สกัดได้

5. นำไขมันหรือน้ำมันที่ได้ในขวดสกัดไปอบที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส นานประมาณ 2 ชั่วโมง หรือจนได้น้ำหนักคงที่ แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น

6. ชั่งน้ำหนักของน้ำมันที่ได้จากการสกัด คำนวณหาปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)

$$\text{ปริมาณไขมัน } (\%\ \text{dry basis}) = \frac{\text{น้ำหนักของน้ำมันที่สกัดได้ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

7. คำนวณกลับเป็นร้อยละโดยน้ำหนักเปียก

$$\text{น้ำหนักของตัวอย่างสด} = \frac{\text{น้ำหนักของตัวอย่างแห้ง (กรัม)} \times 100}{100 - \text{ร้อยละความชื้นของตัวอย่าง}}$$

$$\text{ปริมาณไขมัน } (\%\ \text{wet basis}) = \frac{\text{น้ำหนักของน้ำมันที่สกัดได้ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างสด (กรัม)}}$$

ก.4 ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000) section 920.153

อุปกรณ์

เตาเผาเถ้า (Carbolite, รุ่น CWF 1200, England)

ครูซิเบิล (crucible)

Hot plate (E.G.O., รุ่น 18715, Germany)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนจำนวน 2 กรัม ใส่ในครูซิเบิลที่ผ่านการเผาและทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว

2. นำตัวอย่างไปเผาโดยใช้ hot plate ในตู้ดักควัน จนกระทั่งตัวอย่างไม่มีควัน

3. นำตัวอย่างไปเผาต่อในเตาเผาเถ้าที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งได้เถ้าสีขาว

4. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น

5. ชั่งน้ำหนักเถ้าที่ได้ คำนวณหาปริมาณเถ้า

$$\text{ปริมาณเถ้า } (\%) = \frac{\text{น้ำหนักเถ้าหลังเผา } (\text{กรัม}) \text{ x } 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง } (\text{กรัม})}$$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ก.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

อุปกรณ์

เครื่องปั่น (Waring, รุ่น 7011BU, USA.)

pH meter (Horiba, รุ่น F-21, Japan)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างที่ปั่นละเอียดแล้ว 5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์แล้วเติมน้ำกลั่นที่ต้มไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แล้ว 45 มิลลิลิตร (น้ำกลั่นที่ใช้ต้มให้เดือดและทิ้งไว้ให้เย็น)

2. ปั่นให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่น นำไปวัดความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัด pH

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ก.6 ค่าสี

อุปกรณ์

เครื่องวัดสี Chroma Meter (Minolta รุ่น CR-400 series, Japan)

วิธีการ

1. วางตัวอย่างเนื้อขากบที่สับละเอียดแล้วลงบน port ซึ่งมีขนาด 1.25 นิ้ว
2. ใช้ฝาครอบปิดตัวอย่าง เพื่อไม่ให้มีแสงรบกวนจากภายนอก
3. เริ่มวัดค่าสีโดยใช้ระบบสีของ Hunter Color System ค่าที่วัดได้จะเป็นค่า L* a* b*

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ก.7 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ (TVB) โดยวิธี Conway microdiffusion method (Hasegawa, 1987)

อุปกรณ์

จานคอนเวย์

เครื่องโฮโมจิไนส์ (Ystral, X10/25, Germany)

สารเคมี

Mixed indicator : ละลาย Bromocresol green (Carlo Erba, France) 0.01 กรัม และ Methyl red (Merck, Germany) 0.02 กรัมด้วย ethanol แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร

Inner ring solution : ละลาย Boric acid (Carlo Erba, France) 10 กรัมใน ethanol 200 มิลลิลิตร แล้วเติม mixed indicator (จากข้อ 1) 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนได้ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (Fisher Scientific, England) ความเข้มข้น 0.02 นอร์มอล

สารละลาย K_2CO_3 อิ่มตัว : ละลาย K_2CO_3 (QReC, New Zealand) 60 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรต้มนาน 10 นาที ทำให้เย็นแล้วกรองผ่านกระดาษกรอง

สารละลายกรดไตรคลอโรอะซีติก (Merck, Germany) เข้มข้นร้อยละ 4 : ละลายกรดไตรคลอโรอะซีติก (CCl_3COOH) 40 กรัม ในน้ำกลั่น 960 มิลลิลิตร

Grease

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างที่สับละเอียดแล้ว 2 กรัม เติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาณ 8 มิลลิลิตร โฮโมจิไนส์ให้ละเอียด ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที กรองด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 41 ปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร

2. ทา grease ที่ขอบฝาจานคอนเวย์

3. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรลงในวงกลมชั้นนอกของจานคอนเวย์

4. ปิเปต Inner ring solution 1 มิลลิลิตรลงในวงกลมชั้นในของจานคอนเวย์

5. ปิเปตสารละลาย K_2CO_3 อิ่มตัว 1 มิลลิลิตรใส่ลงในวงกลมชั้นนอก แต่ให้อยู่คนละด้านกับสารละลายตัวอย่างที่ใส่ในข้อ 3

6. เอียงหรือหมุนจานคอนเวย์เบาๆ ให้ K_2CO_3 ผสมกับสารละลายตัวอย่าง ระวังอย่าให้เกิดการผสมกับอินดิเคเตอร์ที่วงกลมชั้นในเป็นอันขาด

7. บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

8. เปิดฝาจานคอนเวย์แล้วไทเทรตสารละลายที่วงกลมชั้นในด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 N จนกระทั่งสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีชมพู บันทึกปริมาตรกรดไว้คำนวณ

9. ทำ blank โดยใช้สารละลายกรดไตรคลอโรอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 1 มิลลิลิตร แทนตัวอย่าง

10. คำนวณค่า TVB ตามสูตร

$$\text{TVB (mg N/100 g sample)} = \frac{(\text{N})(14)(\text{A}-\text{B})(\text{V})(100)}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

เมื่อกำหนดให้

N = Normality ของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรต

A = มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง

B = มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรต blank

V = ปริมาตรรวมของตัวอย่างและสารละลายกรดไตรคลอโรอะซีติกที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ก.8 ปริมาณกรดไทโอบาร์บิทูริก (Thiobarbituric acid : TBA) (Buege and Aust, 1978)

อุปกรณ์

หลอดทดลอง พร้อมฝาเกลียว

บีกเกอร์ขนาด 15 มิลลิลิตร

เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Thermo Fisher Scientific, Genesys 20, USA.)

อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, รุ่น WNB22, Germany)

เครื่องเหวี่ยงแยก (Thermo, รุ่น IEC Multi-RF, USA.)

สารเคมี

สารละลาย TBARS : ผสมกรดไทโอบาร์บิทูริก (thiobarbituric acid) (Merck, Germany) 0.375 กรัม, กรดไตรคลอโรอะซีติก (trichloroacetic acid) (Merck, Germany) 15 กรัม และกรดไฮโดรคลอริก (Fisher Scientific, England) เข้มข้น 0.25 N 0.875 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรจนได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างที่สับละเอียดแล้ว 1 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 15 มิลลิลิตร แล้วผสมกับสารละลาย TBARS 3 มิลลิลิตร โฮโมจิไนส์ให้ละเอียด

2. เทตัวอย่างลงในหลอดทดลอง แล้วนำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที จนได้สารละลายเกิดเป็นสีชมพู

3. ทำให้เย็นลงด้วยน้ำประปาไหลผ่านเป็นเวลา 2 นาที

4. นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3600 x g นาน 20 นาที

5. นำสารละลายส่วนใสที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 532 นาโนเมตร

6. คำนวณหาปริมาณ TBA ตามสูตร

หาปริมาณ TBA จากสูตรดังนี้

$$\text{TBA (mg MDA/kg muscle)} = \frac{\text{Abs} \times \text{M} \times \text{Va} \times \text{Ve} \times 1000}{\varepsilon \times \text{l} \times \text{m}}$$

โดยที่ MDA คือ มาโลนัลดีไฮด์ (malonaldehyde)

Abs คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร

M คือ มวลโมเลกุลของ MDA (72 กรัม)

Va คือ ปริมาตรของตัวอย่าง (2 มิลลิลิตร)

Ve คือ ปริมาตรของสารที่ใช้สกัด (มิลลิลิตร)

ε คือ สัมประสิทธิ์ ($1.56 \times 10^5\ M^{-1}$)

l คือ optical path (1 เซนติเมตร)

m คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ก 9 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยวิธี Total viable count แบบ pour plate (U.S. Food and Drug Administration, 2009a)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

Plate count agar (PCA) (Merck, Germany)

สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) (Merck, Germany)

อุปกรณ์

เครื่องตีป่นไฟฟ้า (Stomacher) (AES Laboratoire, รุ่น Mix 1, France)

ตู้บ่มเชื้อ (Heraeus, B5042, Germany)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างที่สับละเอียดแล้ว 10 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อโดยวิธี aseptic technique

2. เทสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาณ 90 มิลลิลิตร ลงในถุงตีป่นของเครื่อง stomacher ตีป่นที่ความเร็วรอบเป็นระยะเวลา 1 นาที ตัวอย่างอาหารจะมีระดับความเจือจาง 1:10

3. ปิเปตตัวอย่างอาหารเจือจาง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาณ 9 มิลลิลิตร ให้มีระดับความเจือจางที่ต้องการ (1:100, 1:1000)

4. ปิเปตตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตร จากแต่ละระดับความเจือจาง 3 ระดับ ระดับละ 3 ซ้ำ ลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

5. เททับด้วยอาหาร PCA ประมาณ 15 มิลลิลิตร

6. หมุนจานเพาะเชื้อเบาๆ แล้วตั้งทิ้งให้อาหารแข็งตัวประมาณ 15 นาที

7. บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสในลักษณะคว่ำจานเพาะเชื้อเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

8. ตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวณประมาณ 30-300 โคโลนี และรายงานผลเป็นจำนวน Colony Forming Unit (CFU) ต่อกรัมตัวอย่าง

ก.10 ปริมาณ *Salmonella* (U.S. Food and Drug Administration, 2009b)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

Lactose broth (LB) เข้มข้นร้อยละ 0.5 (Merck, Germany)

Selenite cysteine broth (SCB) (Merck, Germany)

Salmonella shigella agar (SSA) (Merck, Germany)

Bismuth sulfite agar (BSA) (Merck, Germany)

Xylose lysine desaxycholate (XLD) agar (Merck, Germany)

Triple sugar iron (TSI) agar (Merck, Germany)

Lysine iron agar (LIA) (Merck, Germany)

อุปกรณ์

เครื่องตีป่นไฟฟ้า (Stomacher) (AES Laboratoire, รุ่น Mix 1, France)

ตู้บ่มเชื้อ (Heraeus, B5042, Germany)

วิธีการ

Pre-enrichment

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ เติม Lactose broth เข้มข้นร้อยละ 0.5 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำของผสมมาเทใส่ในขวดที่ปลอดเชื้อ

2. นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

Selective enrichment

1. ปิเปตตัวอย่างอาหารมา 1 มิลลิลิตร จากขั้นตอนการ pre-enrichment ลงใน SCB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2. นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

การเพาะเชื้อใน selective agar

1. Streak เชื้อจากขั้นตอนการ selective enrichment มาเพาะบน SSA BSA และ XLD agar

2. นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง

3. ตรวจสอบลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้นดังนี้

SSA : โคโลนีของเชื้อ *Salmonella* sp. จะไม่มีสี หรือชมพูอ่อน บางโคโลนีมีสีดำตรงกลาง

BSA : โคโลนีของเชื้อ *Salmonella* sp. จะมีสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ บางครั้งอาจมีโคโลนีที่สะท้อนแสง อาหารรอบๆ โคโลนีมีสีน้ำตาล

XLD agar : โคโลนีของเชื้อ *Salmonella* sp. จะมีสีชมพู บางโคโลนีมีสีดำตรงกลาง

การจำแนกและทดสอบทางชีวเคมี

1. เลือกโคโลนีที่มีลักษณะของ *Salmonella* sp. จาก SSA BSA และ XLD agar ถ่ายลงใน TSI agar และ LIA โดย streak ลงบนผิวหน้าของอาหาร (slant) และ stab จนถึงก้นหลอดทดลอง (butt)

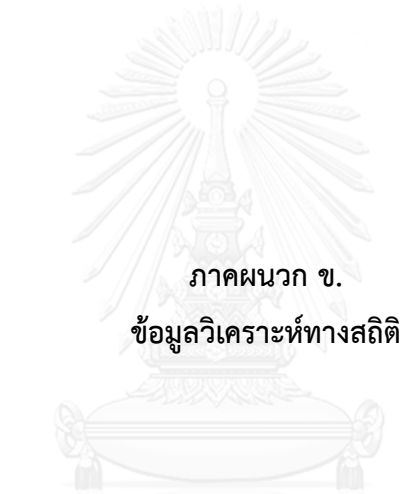
2. นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง

3. ตรวจสอบลักษณะเฉพาะของเชื้อ *Salmonella* sp. ดังนี้

TSI agar : จะมีสีแดงที่ slant และมีสีเหลืองที่ butt อาจมีการสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ โดยอาหารจะมีสีดำที่ butt

LIA : อาหารจะมีสีม่วงทั่วหลอด และหากมีการสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟต์ อาหารจะมีสีดำ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



ภาคผนวก ข.

ข้อมูลวิเคราะห์ทางสถิติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ข.

ข้อมูลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ ข.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ของเนื้อขากบระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่แข็งในการบรรจุแตกต่างกัน

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
frog	.037	1	.037	343.000	.000
pack	.036	1	.036	336.036	.000
week	.466	12	.039	360.394	.000
frog x pack	.004	1	.004	38.893	.000
frog x week	.003	12	.000	2.504	.011
pack x week	.019	12	.002	14.731	.000
frog x pack x week	.002	12	.000	1.924	.053
Error	.006	52	.000		
Total	.573	103			

ตารางที่ ข.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสี (L*, a*, b*) ของเนื้อขากบระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่แข็งในการบรรจุแตกต่างกัน

Source	Dependent Variable	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
	L	2.653	1	2.653	3352.273	.000
frog	a	.139	1	.139	326.697	.000
	b	71.364	1	71.364	93356.258	.000
	L	112.882	1	112.882	142645.474	.000
pack	a	.920	1	.920	2163.991	.000
	b	56.139	1	56.139	73440.102	.000
	L	317.404	12	26.450	33424.521	.000
week	a	19.086	12	1.591	3742.394	.000
	b	188.244	12	15.687	20521.394	.000
	L	1.534	1	1.534	1938.237	.000
frog x pack	a	.008	1	.008	18.326	.000
	b	.109	1	.109	142.854	.000
	L	3.125	12	.260	329.115	.000
frog x week	a	.237	12	.020	46.383	.000
	b	5.749	12	.479	626.699	.000
	L	26.452	12	2.204	2785.590	.000
pack x week	a	.732	12	.061	143.491	.000
	b	25.670	12	2.139	2798.361	.000
	L	.955	12	.080	100.580	.000
frog x pack x week	a	.057	12	.005	11.228	.000
	b	.464	12	.039	50.592	.000
	L	.041	52	.001		
Error	a	.022	52	.000		
	b	.040	52	.001		
	L	465.047	103			
Total	a	21.200	103			
	b	347.779	103			

ตารางที่ ข.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า TBA ของเนื้อขากบระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่แข็งในการบรรจุแตกต่างกัน

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
frog	.713	1	.713	370.475	.000
pack	5.297	1	5.297	2752.828	.000
week	407.470	12	33.956	17648.215	.000
frog x pack	.026	1	.026	13.278	.001
frog x week	.327	12	.027	14.167	.000
pack x week	3.271	12	.273	141.654	.000
frog x pack x week	.175	12	.015	7.580	.000
Error	.100	52	.002		
Total	417.378	103			

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ข.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TPC) ของเนื้อขากบระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่แข็งในการบรรจุแตกต่างกัน

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
frog	1.044	1	1.044	737.611	.000
pack	.119	1	.119	84.174	.000
week	15.724	12	1.310	925.794	.000
frog x pack	.045	1	.045	31.696	.000
frog x week	.190	12	.016	11.206	.000
pack x week	.046	12	.004	2.690	.007
frog x pack x week	.041	12	.003	2.406	.015
Error	.074	52	.001		
Total	17.283	103			

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ข.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ของเนื้อขากบที่เติมน้ำมันหอมระเหยระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เย็นในระดับของน้ำมันและการบรรจุแตกต่างกัน

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pack	4.546	1	4.546	482.352	.000
oil	.193	1	.193	20.504	.000
level	.002	1	.002	.202	.654
day	5.385	8	.673	71.423	.000
pack * oil	.141	1	.141	14.997	.000
pack * level	.005	1	.005	.513	.475
pack * day	1.460	8	.182	19.360	.000
oil * level	.094	1	.094	9.962	.002
oil * day	.251	8	.031	3.331	.001
level * day	.126	8	.016	1.675	.105
pack * oil * level	.036	1	.036	3.773	.053
pack * oil * day	.172	8	.022	2.282	.022
pack * level * day	.225	8	.028	2.990	.003
oil * level * day	.145	8	.018	1.929	.056
pack * oil * level * day	.084	8	.011	1.115	.354
Error	2.375	252	.009		
Total	10959.085	336			
Corrected Total	15.296	335			

ตารางที่ ข.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสี (L*, a*, b*) ของเนื้อขากบที่เติมน้ำมันหอมระเหยระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เย็นในระดับของน้ำมันและการบรรจุแตกต่างกัน

Source	Dependent Variable	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pack	L	125.847	1	125.847	252.852	.000
	a	29.533	1	29.533	1147.789	.000
	b	381.793	1	381.793	196.415	.000
oil	L	1.088	1	1.088	2.186	.141
	a	2.695	1	2.695	104.744	.000
	b	57.281	1	57.281	29.468	.000
level	L	12.095	1	12.095	24.301	.000
	a	1.892	1	1.892	73.513	.000
	b	.066	1	.066	.034	.854
day	L	809.380	8	101.172	203.276	.000
	a	208.420	8	26.052	1012.526	.000
	b	670.342	8	83.793	43.108	.000
pack * oil	L	29.581	1	29.581	59.434	.000
	a	.110	1	.110	4.262	.040
	b	.001	1	.001	.000	.982
pack * level	L	1.209	1	1.209	2.429	.120
	a	.111	1	.111	4.323	.039
	b	6.044	1	6.044	3.109	.079
pack * day	L	56.931	8	7.116	14.298	.000
	a	9.951	8	1.244	48.341	.000
	b	164.452	8	20.556	10.575	.000
oil * level	L	1.924	1	1.924	3.866	.050
	a	.128	1	.128	4.956	.027
	b	16.397	1	16.397	8.436	.004
oil * day	L	12.745	8	1.593	3.201	.002
	a	.746	8	.093	3.626	.001
	b	6.191	8	.774	.398	.921
level * day	L	6.143	8	.768	1.543	.143
	a	.968	8	.121	4.701	.000
	b	9.297	8	1.162	.598	.779
pack * oil * level	L	.539	1	.539	1.083	.299
	a	.016	1	.016	.618	.433
	b	.188	1	.188	.097	.756

ตารางที่ ข.6 (ต่อ) การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าสี (L*, a*, b*) ของเนื้อขากบที่เติมน้ำมันหอมระเหยระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เย็นในระดับของน้ำมันและการบรรจุแตกต่างกัน

Source	Dependent Variable	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pack * oil * day	L	10.054	8	1.257	2.525	.012
	a	.787	8	.098	3.821	.000
	b	1.637	8	.205	.105	.999
pack * level * day	L	.477	8	.060	.120	.998
	a	.256	8	.032	1.242	.275
	b	3.051	8	.381	.196	.991
oil * level * day	L	2.800	8	.350	.703	.689
	a	.124	8	.016	.603	.775
	b	3.032	8	.379	.195	.991
pack * oil * level * day	L	1.297	8	.162	.326	.956
	a	.162	8	.020	.787	.615
	b	5.441	8	.680	.350	.945
Error	L	125.423	252	.498		
	a	6.484	252	.026		
	b	489.838	252	1.944		
Total	L	1094004.154	336			
	a	2142.641	336			
	b	90280.192	336			
Corrected Total	L	1236.356	335			
	a	272.765	335			
	b	1866.918	335			

ตารางที่ ข.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า ΔE ของเนื้อขากบที่เติมน้ำมันหอมระเหยระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เย็นในระดับของน้ำมันและการบรรจุแตกต่างกัน

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pack	617.056	1	617.056	3589.067	.000
oil	9.310	1	9.310	54.149	.000
level	11.147	1	11.147	64.836	.000
day	1665.993	8	208.249	1211.268	.000
pack * oil	9.835	1	9.835	57.202	.000
pack * level	3.758	1	3.758	21.860	.000
pack * day	225.705	8	28.213	164.100	.000
oil * level	1.020	1	1.020	5.933	.016
oil * day	5.627	8	.703	4.091	.000
level * day	12.578	8	1.572	9.145	.000
pack * oil * level	.401	1	.401	2.330	.128
pack * oil * day	3.761	8	.470	2.734	.007
pack * level * day	3.024	8	.378	2.198	.028
oil * level * day	1.433	8	.179	1.042	.405
pack * oil * level * day	2.574	8	.322	1.872	.065
Error	43.326	252	.172		
Total	6159.659	336			
Corrected Total	2631.818	335			

ตารางที่ ข.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า TVB ของเนื้อขากบที่เติมน้ำมันหอมระเหยระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เย็นในระดับของน้ำมันและการบรรจุแตกต่างกัน

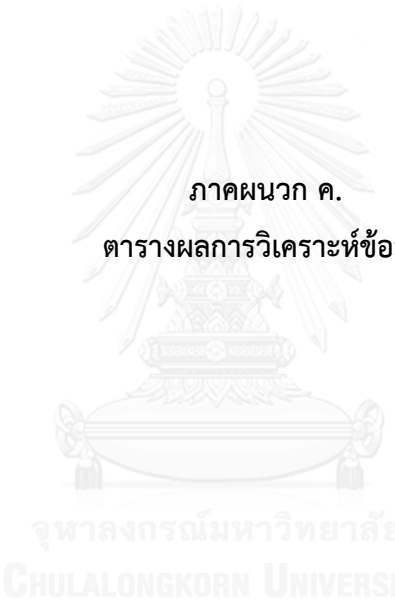
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pack	6541.845	1	6541.845	4084.975	.000
oil	157.117	1	157.117	98.110	.000
level	66.740	1	66.740	41.675	.000
day	12727.011	8	1590.876	993.403	.000
pack * oil	35.561	1	35.561	22.205	.000
pack * level	.011	1	.011	.007	.933
pack * day	3385.054	8	423.132	264.219	.000
oil * level	7.782	1	7.782	4.859	.028
oil * day	56.003	8	7.000	4.371	.000
level * day	54.175	8	6.772	4.229	.000
pack * oil * level	2.820	1	2.820	1.761	.186
pack * oil * day	47.991	8	5.999	3.746	.000
pack * level * day	20.436	8	2.555	1.595	.127
oil * level * day	6.303	8	.788	.492	.861
pack * oil * level * day	1.242	8	.155	.097	.999
Error	403.563	252	1.601		
Total	113612.574	336			
Corrected Total	24257.584	335			

ตารางที่ ข.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า TBA ของเนื้อขากบที่เติมน้ำมันหอมระเหยระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เย็นในระดับของน้ำมันและการบรรจุแตกต่างกัน

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pack	271.816	1	271.816	3848.720	.000
oil	20.689	1	20.689	292.935	.000
level	5.438	1	5.438	77.004	.000
day	1051.003	8	131.375	1860.181	.000
pack * oil	.334	1	.334	4.731	.031
pack * level	.007	1	.007	.096	.757
pack * day	153.989	8	19.249	272.546	.000
oil * level	.132	1	.132	1.872	.173
oil * day	9.358	8	1.170	16.563	.000
level * day	1.357	8	.170	2.402	.016
pack * oil * level	.040	1	.040	.565	.453
pack * oil * day	3.708	8	.464	6.563	.000
pack * level * day	.835	8	.104	1.478	.165
oil * level * day	.282	8	.035	.498	.857
pack * oil * level * day	.097	8	.012	.172	.994
Error	17.798	252	.071		
Total	8825.679	336			
Corrected Total	1558.696	335			

ตารางที่ ข.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่า TPC ของเนื้อขากบที่เติมน้ำมันหอมระเหยระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เย็นในระดับของน้ำมันและการบรรจุแตกต่างกัน

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pack	4.894	1	4.894	135.878	.000
oil	4.240	1	4.240	117.717	.000
level	.091	1	.091	2.522	.114
day	75.176	8	9.397	260.887	.000
pack * oil	.411	1	.411	11.422	.001
pack * level	1.770	1	1.770	49.128	.000
pack * day	18.702	8	2.338	64.903	.000
oil * level	1.065	1	1.065	29.573	.000
oil * day	15.143	8	1.893	52.550	.000
level * day	16.210	8	2.026	56.253	.000
pack * oil * level	1.606	1	1.606	44.581	.000
pack * oil * day	21.920	8	2.740	76.071	.000
pack * level * day	19.406	8	2.426	67.347	.000
oil * level * day	18.452	8	2.306	64.034	.000
pack * oil * level * day	17.139	8	2.142	59.479	.000
Error	9.077	252	.036		
Total	7663.790	336			
Corrected Total	238.213	335			



ภาคผนวก ค.
ตารางผลการวิเคราะห์ข้อมูล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ค.1 ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ที่มีการเติมน้ำมันสกัดจากกระเทียมและโรสแมรีที่ระดับ 1000 และ 2000 mg/kg ในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศเป็นเวลา 16 วัน

วันที่	pH ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบความดันบรรยากาศ					pH ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบสุญญากาศ				
	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000
0 ns	C 5.48 ± 0.03	C 5.50 ± 0.10	B 5.56 ± 0.08	D 5.53 ± 0.07	B 5.55 ± 0.07	F 5.48 ± 0.03	H 5.50 ± 0.13	F 5.56 ± 0.08	E 5.53 ± 0.07	G 5.56 ± 0.07
2	d,C 5.49 ± 0.04	c,C 5.52 ± 0.09	bc,B 5.56 ± 0.08	c,D 5.53 ± 0.07	bc,B 5.56 ± 0.07	a,E 5.62 ± 0.06	ab,G 5.59 ± 0.08	a,EF 5.63 ± 0.07	a,DE 5.61 ± 0.10	a,FG 5.62 ± 0.07
4	e,C 5.50 ± 0.04	d,C 5.54 ± 0.09	d,B 5.57 ± 0.07	d,D 5.54 ± 0.07	d,B 5.56 ± 0.06	a,D 5.85 ± 0.02	c,FG 5.66 ± 0.04	c,DE 5.67 ± 0.06	b,CD 5.71 ± 0.08	c,EF 5.67 ± 0.06
6	d,BC 5.51 ± 0.04	cd,C 5.54 ± 0.09	c,B 5.57 ± 0.08	cd,D 5.54 ± 0.08	c,B 5.56 ± 0.06	a,C 5.93 ± 0.06	b,EF 5.74 ± 0.02	b,D 5.74 ± 0.03	b,CD 5.74 ± 0.11	b,DE 5.76 ± 0.05
8	e,B 5.55 ± 0.03	e,C 5.55 ± 0.09	e,B 5.56 ± 0.08	e,D 5.56 ± 0.06	e,B 5.57 ± 0.07	a,B 6.01 ± 0.05	cd,DE 5.78 ± 0.02	d,D 5.75 ± 0.02	b,C 5.85 ± 0.08	c,D 5.80 ± 0.08
10	d,A 5.62 ± 0.02	d,BC 5.59 ± 0.10	d,AB 5.61 ± 0.08	d,CD 5.60 ± 0.08	d,B 5.60 ± 0.07	a,A 6.18 ± 0.04	c,CD 5.85 ± 0.01	c,C 5.88 ± 0.07	b,B 6.02 ± 0.16	c,C 5.90 ± 0.09
12	-	c,ABC 5.65 ± 0.09	c,AB 5.65 ± 0.08	c,BC 5.67 ± 0.07	c,AB 5.63 ± 0.06	-	b,C 5.90 ± 0.02	b,BC 5.93 ± 0.06	a,AB 6.08 ± 0.19	a,B 6.01 ± 0.05
14	-	de,AB 5.71 ± 0.11	e,AB 5.67 ± 0.07	d,AB 5.76 ± 0.06	e,AB 5.66 ± 0.06	-	c,B 6.00 ± 0.04	c,B 6.00 ± 0.06	a,A 6.25 ± 0.12	b,B 6.09 ± 0.06
16	-	d,A 5.76 ± 0.08	d,A 5.71 ± 0.08	c,A 5.83 ± 0.06	d,A 5.71 ± 0.07	-	b,A 6.10 ± 0.02	b,A 6.11 ± 0.05	a,A 6.23 ± 0.04	a,A 6.20 ± 0.04

หมายเหตุ a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B,C,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns ค่าเฉลี่ยที่ไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$)

ตารางที่ ค.2 ค่าความสว่าง (L*) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ระดับ 1000 และ 2000 mg/kg ในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศเป็นเวลา 16 วัน

วันที่	L* ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบความดันบรรยากาศ					L* ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบสุญญากาศ				
	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000
0	c,A 59.17 ± 0.48	d,A 58.78 ± 0.75	bc,A 59.20 ± 0.66	ab,A 59.36 ± 0.54	a,A 59.53 ± 0.48	c,A 59.15 ± 0.46	d,A 58.77 ± 0.76	d,A 58.96 ± 0.38	ab,A 59.37 ± 0.54	a,A 59.54 ± 0.47
2	d,B 58.30 ± 0.43	c,A 58.62 ± 0.76	bc,A 58.80 ± 0.40	b,A 58.98 ± 0.76	a,A 59.31 ± 0.50	b,AB 59.00 ± 0.38	c,A 58.62 ± 0.69	bc,A 58.86 ± 0.33	a,A 59.24 ± 0.59	a,A 59.34 ± 0.35
4	f,C 55.87 ± 0.50	e,AB 58.02 ± 0.70	cd,A 58.34 ± 0.47	e,B 58.06 ± 0.50	de,B 58.15 ± 0.23	b,ABC 58.60 ± 0.32	cd,AB 58.32 ± 0.65	bc,AB 58.56 ± 0.38	a,A 58.99 ± 0.53	a,AB 59.04 ± 0.19
6	e,D 54.47 ± 0.32	c,BC 57.27 ± 0.23	c,B 57.46 ± 0.18	d,C 56.58 ± 0.85	d,C 56.89 ± 0.84	b,BC 57.95 ± 0.34	b,AB 57.98 ± 0.72	b,BC 58.16 ± 0.38	a,AB 58.57 ± 0.50	a,BC 58.65 ± 0.24
8	g,E 53.44 ± 0.24	d,C 56.91 ± 0.02	d,B 56.81 ± 0.07	f,D 54.91 ± 0.90	e,D 56.12 ± 0.52	c,C 57.51 ± 0.35	c,AB 57.54 ± 0.47	bc,C 57.71 ± 0.08	ab,BC 58.15 ± 0.43	a,C 58.33 ± 0.47
10	d,F 51.59 ± 0.30	b,D 55.79 ± 0.64	b,C 55.73 ± 0.17	c,E 53.87 ± 0.02	bc,E 54.82 ± 0.04	b,D 55.08 ± 2.04	a,BC 57.06 ± 0.20	a,D 57.09 ± 0.24	a,CD 57.56 ± 0.34	a,D 57.67 ± 0.22
12	-	d,DE 55.42 ± 0.52	d,C 55.25 ± 0.03	f,EF 53.39 ± 0.18	e,E 54.64 ± 0.12	-	c,D 56.62 ± 0.36	c,E 56.57 ± 0.48	b,D 57.02 ± 0.30	a,DE 57.50 ± 0.24
14	-	c,EF 54.81 ± 0.51	b,C 55.74 ± 0.94	d,EF 53.07 ± 0.23	c,E 54.44 ± 0.06	-	b,CD 56.08 ± 0.19	b,E 56.26 ± 0.30	b,E 56.05 ± 0.70	a,E 57.03 ± 0.33
16	-	c,F 54.50 ± 0.53	b,C 55.40 ± 1.10	d,F 52.78 ± 0.17	c,E 54.20 ± 0.06	-	b,D 55.41 ± 0.08	ab,E 56.05 ± 0.33	b,E 55.41 ± 0.64	a,F 56.48 ± 0.47

หมายเหตุ a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B,C,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.3 ค่าสีแดง (a*) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ระดับ 1000 และ 2000 mg/kg ในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศเป็นเวลา 16 วัน

วันที่	a* ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบความดันบรรยากาศ					a* ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบสุญญากาศ				
	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000
0	a,E 1.58 ± 0.12	d,F 1.07 ± 0.09	d,E 1.03 ± 0.06	b,H 1.26 ± 0.01	bc,G 1.21 ± 0.05	a,E 1.57 ± 0.10	d,I 1.07 ± 0.10	d,H 1.02 ± 0.07	bc,H 1.25 ± 0.02	c,I 1.20 ± 0.05
2	a,D 1.89 ± 0.05	c,F 1.34 ± 0.14	cd,E 1.26 ± 0.03	b,G 1.55 ± 0.02	c,G 1.33 ± 0.05	b,E 1.61 ± 0.14	de,H 1.17 ± 0.02	e,H 1.12 ± 0.01	c,H 1.29 ± 0.11	cd,H 1.25 ± 0.02
4	a,D 2.12 ± 0.05	b,E 1.95 ± 0.10	c,D 1.84 ± 0.03	c,F 1.84 ± 0.13	c,F 1.80 ± 0.04	c,D 1.81 ± 0.20	de,G 1.28 ± 0.01	e,G 1.26 ± 0.01	d,G 1.38 ± 0.02	d,G 1.37 ± 0.03
6	a,C 2.67 ± 0.25	bc,D 2.47 ± 0.10	c,C 2.38 ± 0.05	c,E 2.42 ± 0.04	ab,E 2.58 ± 0.03	d,C 2.14 ± 0.09	fg,F 1.76 ± 0.01	g,F 1.66 ± 0.01	e,F 1.94 ± 0.02	ef,F 1.86 ± 0.01
8	a,B 3.31 ± 0.33	b,C 2.96 ± 0.38	b,B 2.76 ± 0.11	b,D 2.93 ± 0.05	b,D 2.95 ± 0.01	c,B 2.34 ± 0.03	de,E 2.12 ± 0.07	e,E 1.97 ± 0.01	cd,E 2.29 ± 0.01	cde,E 2.15 ± 0.03
10	a,A 4.01 ± 0.19	c,BC 3.36 ± 0.42	d,AB 3.06 ± 0.15	b,C 3.55 ± 0.32	c,C 3.33 ± 0.05	e,A 2.71 ± 0.16	f,D 2.37 ± 0.12	g,D 2.12 ± 0.05	f,D 2.47 ± 0.07	f,D 2.40 ± 0.02
12	-	b,AB 3.54 ± 0.46	c,A 3.26 ± 0.13	a,B 3.96 ± 0.21	b,B 3.60 ± 0.23	-	de,C 2.66 ± 0.03	e,C 2.44 ± 0.10	d,C 2.73 ± 0.01	de,C 2.67 ± 0.02
14	-	b,AB 3.79 ± 0.29	c,A 3.11 ± 0.42	a,AB 4.14 ± 0.24	b,A 3.86 ± 0.32	-	cde,B 2.86 ± 0.01	e,B 2.65 ± 0.10	cd,B 2.96 ± 0.03	de,B 2.76 ± 0.03
16	-	b,A 3.88 ± 0.28	c,A 3.33 ± 0.40	a,A 4.30 ± 0.25	b,A 3.99 ± 0.32	-	cde,A 3.09 ± 0.07	e,A 2.80 ± 0.24	cd,A 3.21 ± 0.05	de,A 3.01 ± 0.05

หมายเหตุ a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B,C,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.4 ค่าสีเหลือง (b*) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ระดับ 1000 และ 2000 mg/kg ในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศเป็นเวลา 16 วัน

วันที่	b* ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบความดันบรรยากาศ					b* ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบสุญญากาศ				
	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000
0	a,A 18.76 ± 1.30	b,A 18.48 ± 1.23	ab,A 18.67 ± 1.26	c,A 18.01 ± 0.93	d,A 17.35 ± 1.15	a,AB 18.77 ± 1.31	b,A 18.50 ± 1.20	ab,A 18.66 ± 1.26	c,A 18.02 ± 0.95	d,A 17.35 ± 1.15
2	ef,B 17.81 ± 1.65	cd,A 18.18 ± 1.21	bc,A 18.38 ± 1.31	fg,A 17.52 ± 0.81	h,A 16.76 ± 1.20	a,AB 18.74 ± 1.30	abc,A 18.41 ± 1.19	ab,A 18.62 ± 1.27	de,A 17.94 ± 0.95	g,A 17.28 ± 1.11
4	efg,AB 17.03 ± 2.06	cde,AB 17.70 ± 1.11	cde,AB 17.62 ± 1.39	fg,AB 16.59 ± 1.26	g,AB 16.37 ± 0.90	a,A 19.68 ± 0.21	bc,A 18.28 ± 1.04	b,A 18.55 ± 1.23	cd,A 17.75 ± 1.04	def,A 17.24 ± 1.09
6	e,BC 15.32 ± 1.86	d,BC 15.87 ± 1.76	d,ABC 16.16 ± 1.94	e,BC 15.25 ± 1.65	e,ABC 15.22 ± 1.50	a,AB 18.60 ± 1.29	b,AB 17.90 ± 1.09	ab,AB 18.11 ± 1.02	b,A 17.69 ± 1.07	c,A 17.02 ± 0.98
8	e,C 13.85 ± 1.02	cd,CD 14.78 ± 1.33	c,BC 15.00 ± 2.15	e,CD 14.07 ± 1.58	de,BCD 14.32 ± 1.73	a,BC 17.71 ± 0.96	a,ABC 17.64 ± 1.06	a,AB 17.76 ± 1.03	ab,AB 17.20 ± 1.32	b,AB 16.67 ± 0.92
10	e,D 11.02 ± 0.69	d,DE 13.26 ± 1.23	c,BC 14.15 ± 1.89	d,D 13.02 ± 1.57	d,CD 13.38 ± 1.78	ab,C 16.99 ± 0.88	ab,ABCD 16.95 ± 0.83	a,AB 17.34 ± 1.05	b,ABC 16.63 ± 1.21	b,AB 16.56 ± 0.82
12	-	cd,DE 13.00 ± 1.31	c,C 13.87 ± 1.95	d,D 12.85 ± 1.48	cd,CD 12.98 ± 1.60	-	a,BCD 16.72 ± 0.63	a,AB 17.02 ± 0.84	a,ABC 16.79 ± 0.99	b,AB 15.71 ± 1.24
14	-	c,DE 12.72 ± 1.27	b,BC 14.73 ± 3.24	c,D 12.58 ± 1.45	c,D 12.52 ± 1.51	-	a,CD 16.33 ± 0.65	a,B 16.68 ± 0.99	ab,BC 15.94 ± 0.89	ab,AB 15.56 ± 1.39
16	-	d,E 12.36 ± 1.27	c,BC 14.48 ± 3.11	d,D 12.29 ± 1.55	d,D 12.33 ± 1.40	-	ab,D 16.02 ± 0.85	a,B 16.41 ± 0.89	abc,C 15.48 ± 0.85	bc,B 14.95 ± 1.15

หมายเหตุ a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B,C,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.5 ค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ระดับ 1000 และ 2000 mg/kg ในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศเป็นเวลา 16 วัน

วันที่	ΔE ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบความดันบรรยากาศ					ΔE ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบสุญญากาศ				
	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000
0 ns	F 0.00 ± 0.00	F 0.00 ± 0.00	E 0.00 ± 0.00	H 0.00 ± 0.00	I 0.00 ± 0.00	D 0.00 ± 0.00	F 0.00 ± 0.00	H 0.00 ± 0.00	I 0.00 ± 0.00	H 0.00 ± 0.00
2	a,E 1.36 ± 0.17	c,F 0.44 ± 0.02	b,DE 0.59 ± 0.17	b,G 0.71 ± 0.02	b,H 0.65 ± 0.04	d,D 0.17 ± 0.07	d,F 0.21 ± 0.09	d,H 0.15 ± 0.07	d,H 0.16 ± 0.04	d,H 0.22 ± 0.13
4	a,D 3.81 ± 0.33	c,E 1.40 ± 0.08	bc,D 1.60 ± 0.03	b,F 2.03 ± 0.24	bc,G 1.79 ± 0.33	c,C 1.33 ± 0.72	d,EF 0.56 ± 0.20	d,G 0.48 ± 0.03	d,G 0.49 ± 0.05	d,G 0.54 ± 0.26
6	a,C 5.96 ± 0.12	c,D 3.38 ± 0.18	c,C 3.42 ± 0.21	b,E 4.09 ± 0.70	c,F 3.66 ± 0.45	d,C 1.35 ± 0.19	d,DE 1.22 ± 0.13	d,F 1.17 ± 0.15	d,F 1.11 ± 0.01	d,F 1.16 ± 0.25
8	a,B 7.75 ± 0.67	c,C 4.61 ± 0.12	c,B 4.79 ± 0.40	b,D 6.18 ± 0.68	c,E 4.90 ± 0.36	d,B 2.11 ± 0.29	d,D 1.85 ± 0.28	d,E 1.81 ± 0.36	d,E 1.84 ± 0.09	d,E 1.69 ± 0.10
10	a,A 11.11 ± 0.54	c,B 6.54 ± 0.52	c,A 6.13 ± 0.03	b,C 7.81 ± 0.11	c,D 6.55 ± 0.07	d,A 3.77 ± 1.28	e,C 2.67 ± 0.57	e,D 2.54 ± 0.22	e,D 2.61 ± 0.03	e,D 2.37 ± 0.32
12	-	b,B 6.97 ± 0.42	b,A 6.66 ± 0.14	a,B 8.37 ± 0.14	b,C 7.00 ± 0.09	-	c,C 3.23 ± 0.65	c,C 3.25 ± 0.20	c,C 3.04 ± 0.17	c,C 3.01 ± 0.12
14	-	b,A 7.57 ± 0.57	c,AB 5.74 ± 1.66	a,AB 8.81 ± 0.17	b,B 7.52 ± 0.04	-	d,B 3.91 ± 0.75	d,B 3.72 ± 0.27	d,B 4.28 ± 0.10	d,B 3.46 ± 0.01
16	-	b,A 8.04 ± 0.58	c,A 6.18 ± 1.66	a,A 9.26 ± 0.19	b,A 7.85 ± 0.02	-	de,A 4.67 ± 0.70	e,A 4.09 ± 0.37	d,A 5.10 ± 0.01	de,A 4.29 ± 0.04

หมายเหตุ a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B,C,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns ค่าเฉลี่ยที่ไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$)

ตารางที่ ค.6 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ระดับ 1000 และ 2000 mg/kg ในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศเป็นเวลา 16 วัน

วันที่	TVB ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบความดันบรรยากาศ					TVB ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบสุญญากาศ				
	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000
0 ns	E 9.30 ± 0.47	H 9.18 ± 0.04	H 9.17 ± 0.03	G 9.21 ± 0.04	H 9.18 ± 0.05	C 9.26 ± 1.00	D 9.16 ± 0.03	D 9.17 ± 0.05	E 9.19 ± 0.02	E 9.19 ± 0.07
2	a,E 10.68 ± 1.91	b,H 9.41 ± 0.07	b,H 9.31 ± 0.04	b,G 9.53 ± 0.11	b,H 9.45 ± 0.16	b,C 9.33 ± 0.90	b,D 9.21 ± 0.05	b,D 9.18 ± 0.05	b,E 9.23 ± 0.67	b,E 9.21 ± 0.04
4	a,D 17.62 ± 1.12	cd,G 11.01 ± 1.15	cde,G 10.53 ± 0.59	b,F 13.73 ± 0.95	c,G 11.80 ± 0.90	de,C 9.80 ± 2.43	ed,D 9.26 ± 0.04	e,D 9.22 ± 0.03	e,E 9.40 ± 0.09	e,E 9.31 ± 0.09
6	a,C 25.24 ± 5.21	cd,F 15.04 ± 1.15	d,F 14.03 ± 0.06	b,E 18.31 ± 1.05	bc,F 16.77 ± 0.62	e,C 10.99 ± 0.92	e,D 9.37 ± 0.06	e,D 9.28 ± 0.08	e,E 9.47 ± 0.11	e,E 9.43 ± 0.06
8	a,B 32.31 ± 3.20	c,E 19.06 ± 1.16	c,E 19.07 ± 0.15	b,D 24.24 ± 2.34	b,E 23.15 ± 1.90	d,B 16.03 ± 2.11	e,D 9.50 ± 0.10	e,D 9.47 ± 0.10	e,E 9.64 ± 0.14	e,E 9.50 ± 0.09
10	a,A 40.60 ± 2.98	d,D 23.78 ± 1.73	de,D 23.23 ± 0.07	b,C 27.77 ± 1.72	c,D 25.78 ± 1.68	e,A 21.51 ± 2.96	f,D 9.83 ± 0.14	f,D 9.64 ± 0.12	f,D 10.80 ± 0.49	f,D 9.83 ± 0.13
12	-	b,C 27.32 ± 1.12	b,C 27.01 ± 1.82	a,B 30.71 ± 2.89	b,C 28.32 ± 1.22	-	d,C 12.36 ± 1.09	d,C 11.49 ± 0.13	c,C 13.86 ± 0.62	d,C 12.35 ± 0.09
14	-	bc,B 30.33 ± 1.06	c,B 29.32 ± 1.15	a,AB 32.62 ± 2.73	b,B 30.79 ± 0.60	-	e,B 15.91 ± 0.55	f,B 12.97 ± 0.54	d,B 17.34 ± 0.09	e,B 14.95 ± 0.59
16	-	bc,A 31.92 ± 0.62	c,A 31.35 ± 1.12	a,A 35.28 ± 2.35	b,A 32.65 ± 0.51	-	e,A 20.07 ± 0.59	f,A 16.89 ± 0.63	d,A 23.89 ± 0.49	e,A 19.32 ± 0.20

หมายเหตุ a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B,C,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns ค่าเฉลี่ยที่ไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$)

ตารางที่ ค.7 ค่า thiobarbituric acid (TBA) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ระดับ 1000 และ 2000 mg/kg ในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศเป็นเวลา 16 วัน

วันที่	TBA ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบความดันบรรยากาศ					TBA ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบสุญญากาศ				
	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000
0	a,F 2.26 ± 0.11	ab,I 2.17 ± 0.14	b,I 2.14 ± 0.13	ab,H 2.22 ± 0.11	ab,H 2.19 ± 0.11	ab,F 2.23 ± 0.11	ab,H 2.19 ± 0.14	ab,G 2.16 ± 0.13	ab,G 2.23 ± 0.10	ab,G 2.20 ± 0.13
2	a,E 3.21 ± 0.30	cd,H 2.46 ± 0.09	c,H 2.49 ± 0.31	b,G 2.82 ± 0.51	c,H 2.56 ± 0.49	a,E 3.16 ± 0.23	e,H 2.19 ± 0.12	de,G 2.22 ± 0.14	c,G 2.53 ± 0.11	cde,G 2.38 ± 0.19
4	a,D 4.34 ± 0.59	c,G 3.21 ± 0.07	c,G 3.11 ± 0.04	c,F 3.24 ± 0.24	c,G 3.13 ± 0.16	b,D 3.53 ± 0.10	de,G 2.67 ± 0.25	e,G 2.41 ± 0.16	c,F 3.18 ± 0.37	d,F 2.84 ± 0.33
6	a,C 6.02 ± 0.43	b,F 4.79 ± 0.18	c,F 4.46 ± 0.15	b,E 4.74 ± 0.41	c,F 4.32 ± 0.20	d,C 3.76 ± 0.17	e,F 3.12 ± 0.12	f,F 2.82 ± 0.17	d,EF 3.59 ± 0.41	e,EF 3.26 ± 0.26
8	a,B 8.04 ± 0.72	c,E 6.04 ± 0.13	d,E 5.68 ± 0.33	b,D 6.54 ± 0.33	c,E 6.14 ± 0.12	e,B 4.08 ± 0.18	gh,E 3.43 ± 0.35	h,E 3.21 ± 0.24	ef,DE 3.83 ± 0.37	fg,DE 3.66 ± 0.43
10	a,A 9.53 ± 0.24	d,D 6.66 ± 0.26	e,D 6.14 ± 0.08	b,C 7.86 ± 0.12	c,D 7.34 ± 0.32	f,A 4.53 ± 0.06	hi,D 3.82 ± 0.26	i,D 3.61 ± 0.38	g,D 4.14 ± 0.09	gh,D 3.98 ± 0.28
12	-	c,C 7.12 ± 0.06	d,C 6.85 ± 0.18	a,B 8.48 ± 0.14	b,C 7.99 ± 0.26	-	g,C 4.24 ± 0.20	g,C 4.19 ± 0.05	e,C 5.13 ± 0.13	f,C 4.80 ± 0.32
14	-	c,B 7.63 ± 0.24	c,B 7.43 ± 0.20	a,A 9.22 ± 0.16	b,B 8.55 ± 0.34	-	e,B 5.11 ± 0.16	f,B 4.71 ± 0.14	d,B 5.80 ± 0.31	e,B 5.31 ± 0.14
16	-	b,A 8.38 ± 0.10	b,A 8.20 ± 0.14	a,A 9.39 ± 0.21	a,A 9.12 ± 0.21	-	d,A 6.05 ± 0.10	e,A 5.26 ± 0.30	c,A 6.77 ± 0.67	d,A 6.22 ± 0.45

หมายเหตุ a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B,C,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.8 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TPC) ของเนื้อขากบเลี้ยงตามธรรมชาติและเลี้ยงเชิงพาณิชย์ที่มีการเติมน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและโรสแมรีที่ระดับ 1000 และ 2000 mg/kg ในสภาวะการบรรจุแบบความดันบรรยากาศและสุญญากาศเป็นเวลา 16 วัน

วันที่	TPC ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบความดันบรรยากาศ					TPC ของกบทั้งสองชนิดบรรจุแบบสุญญากาศ				
	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000	ไม่เติม	กระเทียม 1000	กระเทียม 2000	โรสแมรี 1000	โรสแมรี 2000
0	a,E 4.38	ef,F 4.02	f,G 3.91	abc,F 4.26	cde,G 4.15	a,D 4.40	bcd,D 4.22	De,D 4.12	ab,DE 4.31	bcd,C 4.23
2	a,E 4.50	cd,F 4.05	d,G 3.95	ab,F 4.34	bc,FG 4.18	b,D 4.32	cd,D 4.05	cd,D 4.00	cd,E 4.10	cd,C 4.08
4	a,D 5.01	ef,F 4.12	ef,FG 4.08	b,E 4.59	bcd,F 4.38	bc,D 4.46	ef,D 4.02	f,D 4.01	cde,E 4.26	def,C 4.19
6	a,C 5.62	ef,E 4.32	fg,EF 4.19	b,D 5.05	d,E 4.62	c,C 4.86	efg,CD 4.27	g,D 4.12	e,DE 4.40	fg,C 4.21
8	a,B 6.00	d,D 4.62	e,E 4.32	b,C 5.43	c,D 4.99	b,B 5.40	e,CD 4.28	e,CD 4.20	d,CD 4.64	e,C 4.29
10	a,A 6.68	d,C 5.13	ef,D 4.85	b,B 5.83	c,C 5.43	b,A 5.98	g,CD 4.44	g,CD 4.26	e,C 4.91	f,B 4.68
12	-	c,C 5.19	cd,C 5.06	a,AB 5.96	b,BC 5.57	-	e,BC 4.70	f,BC 4.44	c,B 5.28	de,B 4.87
14	-	d,B 5.35	d,B 5.26	a,A 6.07	b,B 5.76	-	e,AB 4.95	f,AB 4.65	c,AB 5.53	d,A 5.21
16	-	b,A 5.68	c,A 5.51	-	a,A 5.98	-	d,A 5.17	e,A 4.81	b,A 5.80	c,A 5.48

หมายเหตุ a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B,C,... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวอภิญญา จรัสโรจนกุล เกิดวันที่ 27 กันยายน พ.ศ. 2528 ที่จังหวัดสมุทรปราการ สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จากมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต ในปี พ.ศ. 2551 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเมื่อ พ.ศ. 2557

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University