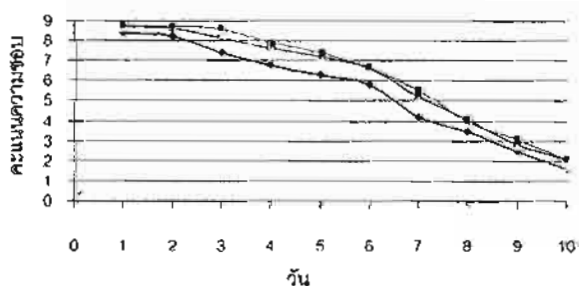


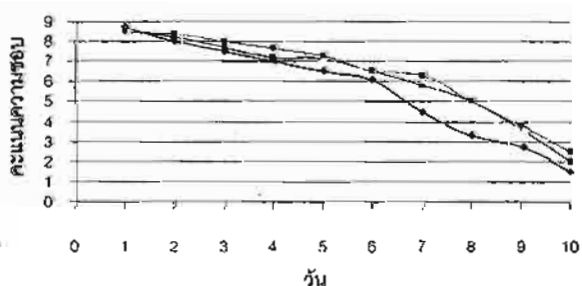
การทดสอบความชอบของปูน้ำจืดด้านสี (ภาพที่ 53) และรสชาติ (ภาพที่ 54) พบว่า การแช่ปูน้ำจืดในสารละลาย EDTA 40 mM และการแช่ปูน้ำจืดในสารละลายผสม ที่ความเข้มข้นของโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 15 mM, 25 mM มีคะแนนความชอบต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แต่มีคะแนนความชอบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) กับตัวอย่างควบคุม โดยผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบสี และรสชาติของปูที่แช่ในสารละลายทั้ง 3 ชนิดใกล้เคียงกัน และมีคะแนนความชอบสูงกว่าตัวอย่างควบคุมตลอดช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา และคะแนนความชอบสีและความชอบรสชาติจะลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น โดยในวันแรกของการเก็บรักษา ทุกตัวอย่างมีคะแนนใกล้เคียงกัน คือ ชอบมาก (คะแนนความชอบ = 8) และปูน้ำจืดที่แช่ในสารละลายทั้ง 3 ชนิด เริ่มมีคะแนนอยู่ในช่วงเฉย ๆ ถึงไม่ชอบเล็กน้อย (คะแนนความชอบ = 5-4) วันที่ 8 ขณะที่ตัวอย่างควบคุม เริ่มมีคะแนนอยู่ในช่วงดังกล่าวในวันที่ 7

การทดสอบความชอบของปูน้ำจืดด้านเนื้อสัมผัส พบว่า การแช่ปูน้ำจืดในสารละลาย EDTA 40 mM และการแช่ปูน้ำจืดในสารละลายผสม ที่ความเข้มข้นของโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 15 mM, 25 mM มีคะแนนความชอบต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แต่มีคะแนนความชอบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) กับตัวอย่างควบคุม โดยผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบเนื้อสัมผัสของปูที่แช่ในสารละลายทั้ง 3 ชนิดใกล้เคียงกัน และมีคะแนนความชอบสูงกว่าตัวอย่างควบคุมตลอดช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา และคะแนนความชอบจะลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น โดยในวันแรกของการเก็บรักษาทุกตัวอย่างมีคะแนนใกล้เคียงกัน คือ ชอบมาก (คะแนนความชอบ = 8) และปูน้ำจืดที่แช่ในสารละลายทั้ง 3 ชนิด เริ่มมีคะแนนอยู่ในช่วงเฉย ๆ (คะแนนความชอบ = 5) วันที่ 8 ขณะที่ตัวอย่างควบคุม เริ่มมีคะแนนอยู่ในช่วงดังกล่าวตั้งแต่วันที่ 6 (ภาพที่ 55)



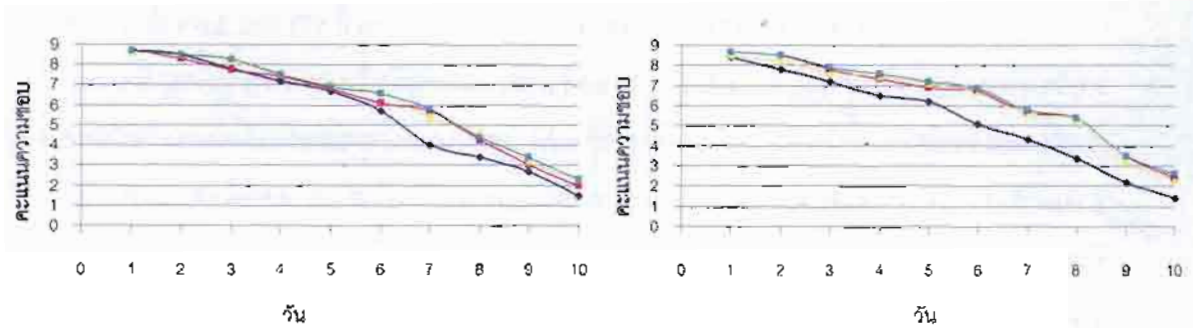
ภาพที่ 52 คะแนนความชอบลักษณะปรากฏของปูน้ำจืดที่แช่ในสารละลายผสมที่มีความเข้มข้นของโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ต่างกัน

—◆— น้ำเย็น —■— 15 mM  
—■— 25 mM —■— 40 mM EDTA



ภาพที่ 53 คะแนนความชอบสีเนื้อปูน้ำจืดที่แช่ในสารละลายผสมที่มีความเข้มข้นของโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ต่างกัน

—◆— น้ำเย็น —■— 15 mM  
—■— 25 mM —■— 40 mM EDTA



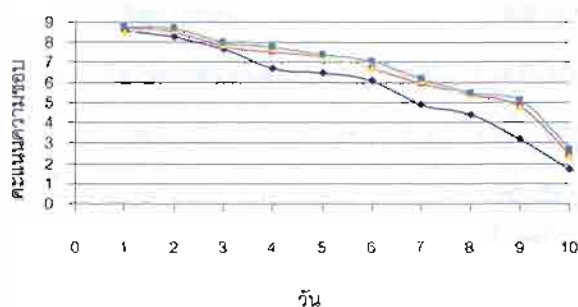
ภาพที่ 54 คะแนนความชอบรสชาติปฐุณึ่ง  
ที่แชในสารละลายผสมที่ความเข้มข้น  
ของโซเดียมเมตาไบซัลไฟด์ ต่างกัน  
—●— น้ำเย็น —■— 15 mM  
—▲— 25 mM —■— 40 mM EDTA

ภาพที่ 55 คะแนนความชอบเนื้อสัมผัสปฐุณึ่ง  
ที่แชในสารละลายผสมที่ความเข้มข้น  
ของโซเดียมเมตาไบซัลไฟด์ ต่างกัน  
—●— น้ำเย็น —■— 15 mM  
—▲— 25 mM —■— 40 mM EDTA

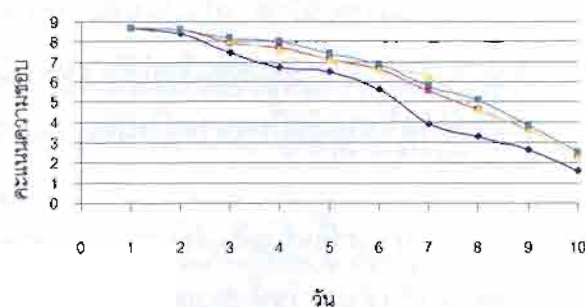
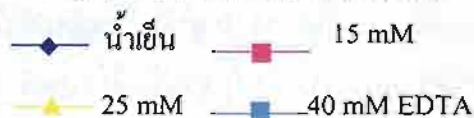
การทดสอบความชอบของปฐุณึ่งด้านกลิ่นของเนื้อ (ภาพที่ 56) พบว่า การทดสอบความชอบของปฐุณึ่งด้านกลิ่น พบว่า การแชปฐุณึ่งในสารละลาย EDTA 40 mM และการแชปฐุณึ่งในสารละลายผสม ที่ความเข้มข้นของโซเดียมเมตาไบซัลไฟด์ 15 mM, 25 mM มีคะแนนความชอบต่างกันอย่างไม่นัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แต่มีคะแนนความชอบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) กับตัวอย่างควบคุม โดยผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบกลิ่นของปฐุณึ่งที่แชในสารละลายทั้ง 3 ชนิดใกล้เคียงกัน และมีคะแนนความชอบสูงกว่าตัวอย่างควบคุมตลอดช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา และคะแนนความชอบจะลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น โดยในวันแรกของการเก็บรักษาทุกตัวอย่างมีคะแนนใกล้เคียงกัน คือ ชอบมาก (คะแนนความชอบ = 8) และปฐุณึ่งที่แชในสารละลายทั้ง 3 ชนิด เริ่มมีคะแนนอยู่ในช่วงเลข ๆ (คะแนนความชอบ = 5) วันที่ 9 ขณะที่ตัวอย่างควบคุม เริ่มมีคะแนนอยู่ในช่วงดังกล่าวตั้งแต่วันที่ 7 (ภาพที่ 88) แม้ว่าในวันเดียวกันนี้ คะแนนความชอบด้านกลิ่นของปฐุณึ่งสดจะได้คะแนนความชอบอยู่ในช่วงไม่ชอบปานกลางถึงไม่ชอบมาก (คะแนนความชอบ = 3-2) ก็ตาม

การทดสอบความชอบของปฐุณึ่งด้านความชอบรวม (ภาพที่ 57) พบว่า การแชปฐุณึ่งในสารละลาย EDTA 40 mM และการแชปฐุณึ่งในสารละลายผสม ที่ความเข้มข้นของโซเดียมเมตาไบซัลไฟด์ 15 mM, 25 mM มีคะแนนความชอบต่างกันอย่างไม่นัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แต่มีคะแนนความชอบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) กับตัวอย่างควบคุม โดยผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบปฐุณึ่งที่แชในสารละลายทั้ง 3 ชนิดใกล้เคียงกัน และมีคะแนนความชอบสูงกว่าตัวอย่างควบคุมตลอดช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา และคะแนนความชอบจะลดลง

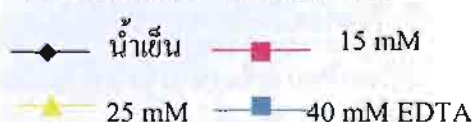
ตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น โดยในวันแรกของการเก็บรักษา ทุกตัวอย่างมีคะแนนใกล้เคียงกัน คือ ชอบมาก (คะแนนความชอบ = 8) และปุ๋ยมิที่แช่ในสารละลายทั้ง 3 ชนิด เริ่มมีคะแนนอยู่ในช่วงเฉย ๆ ถึงไม่ชอบเล็กน้อย (คะแนนความชอบ = 5-4) ในวันที่ 8 ซึ่งในวันเดียวกันพบว่า ตัวอย่างควบคุมมีคะแนนความชอบรวมอยู่ในช่วงไม่ชอบเล็กน้อย (คะแนนความชอบ = 3)



ภาพที่ 56 คะแนนความชอบกลิ่นปุ๋ยมิหนึ่ง  
ที่แช่ในสารละลายผสมที่ความเข้มข้น  
ของโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ต่างกัน



ภาพที่ 57 คะแนนความชอบรวมของปุ๋ยมิหนึ่ง  
ที่แช่ในสารละลายผสมที่ความเข้มข้น  
ของโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ต่างกัน



เมื่อพิจารณา ค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  ซึ่งมีค่าลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานั้น พบว่า มีความสัมพันธ์กับคะแนนความชอบด้านสีของปุ๋ยมิสด โดยมีค่า correlation coefficient ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.9250, 0.8999 และ 0.7864 ตามลำดับ เช่นเดียวกับความสัมพันธ์ในปุ๋ยมิสุก มีค่า  $r^2$  เท่ากับ 0.7566, 0.8049 และ 0.8363 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม การแช่ปุ๋ยมิในสารละลาย EDTA และ สารละลายผสมระหว่าง EDTA และ โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ให้ค่าสีไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการเลือกใช้สารละลาย EDTA เพียงชนิดเดียวจึงสะดวกในทางปฏิบัติมากกว่าการใช้สารละลายผสม

เมื่อพิจารณาอายุการเก็บรักษาจากคะแนนความชอบของปุ๋ยมิสด ซึ่งเป็นสิ่งที่ผู้บริโภครู้จักพิจารณาในการเลือกซื้อปุ๋ยมิที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด พบว่า อายุการเก็บรักษาของปุ๋ยมิที่แช่ในสารละลาย 40 mM EDTA และปุ๋ยมิที่แช่ในสารละลายผสมระหว่าง EDTA 40 mM กับ โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ซึ่งมีความเข้มข้นของโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์แตกต่างกัน ได้แก่ 15 mM และ 25 mM นั้น จะเห็นได้ว่า ต่างก็สามารถเก็บรักษาได้นาน 8 วันเท่ากัน ขณะที่ตัวอย่างควบคุมสามารถเก็บรักษาได้ 6 วัน ซึ่งการเลือกใช้สารเพียงชนิดเดียวจะลดความยุ่งยากในการเตรียม อีกทั้ง

ยังประหยัดค่าใช้จ่ายมากกว่า ดังนั้น การแช่ปู๋นึ่งในสารละลาย EDTA 40 mM จึงให้ผลดีที่สุด ทั้งในด้านอายุการเก็บรักษาและการนำไปปฏิบัติจริง

### สรุปผลการศึกษา

1. เอนไซม์โปรติเอสในปู๋นึ่งที่มีบทบาทสูงที่สุดคือ metallo-protease โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ คือ อุณหภูมิ 65 °ซ และ pH เท่ากับ 6 และ EDTA มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์โปรติเอสมากที่สุด
2. สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส คือ อุณหภูมิ 40 °ซ และ pH เท่ากับ 8 และโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ให้ผลในการยับยั้งเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสสูงที่สุด
3. วิธีการที่จะชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านความแน่นเนื้อ และการเปลี่ยนแปลงสีในปู๋นึ่งได้ทางหนึ่ง คือ การแช่ปู๋นึ่งในสารละลาย EDTA 40 mM เป็นเวลา 10 นาที ก่อนที่จะนำไปเก็บรักษาในน้ำแข็ง (น้ำแข็ง 3 กิโลกรัม/ปู๋นึ่ง 1 กิโลกรัม) จะสามารถเก็บรักษาปู๋นึ่งได้นาน 8 วัน ในขณะที่ปู๋นึ่งที่แช่ในน้ำเย็น นาน 10 นาที เก็บรักษาได้นาน 6 วัน

### ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากค่าลักษณะเนื้อสัมผัสของปู๋นึ่งที่วัดโดยวิธี TPA (Texture Profile Analysis) ไม่มีค่าเฉลี่ยที่มีแนวโน้มที่แน่นอน รวมทั้งไม่มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการเก็บรักษา ดังนั้น ควรใช้วิธีการอื่น หรือค่าอื่น เพื่อให้สามารถนำมาเป็นข้อมูลในการบอกถึงความสดของปู๋นึ่งได้
2. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของการใช้สารเคมีร่วมกับการปรับสภาวะในการเก็บรักษา รวมถึงบรรจุภัณฑ์ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาปู๋นึ่งสดให้นานยิ่งขึ้น

## เอกสารอ้างอิง

- บรรจง เทียนส่งรัมย์. 2545. ปูน้ำทะเล เทคโนโลยีที่น่าจับตามอง. *เทคโนโลยีชาวบ้าน* 14 (284): 102-103.
- ปราณี อานปรื่อง. 2547. *เอนไซม์ทางอาหาร*. พิมพ์ครั้งที่ 4. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีระนอง. น.ป.ป. เอกสารเผยแพร่การเลี้ยงปูน้ำ. งานประชุมวิชาการของสมาชิกรังการเกษตรในอนาคตแห่งประเทศไทย (อกท.) ภาคใต้ ครั้งที่ 22. กองวิทยาลัยเกษตรกรรม กรมอาชีวศึกษา.
- An, H., T.A. Seymour, J.W. Wu and M.T. Morrissey. 1994. Assay systems and characterization of Pacific whiting (*Merluccius productus*) protease. *J. Food Sci.* 59: 277-281.
- AOAC. 1995. **Official Methods of Analysis**. 16<sup>th</sup> ed. The Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.
- Asghar, A. and A.R. Bhatti. 1987. Endogenous proteolytic enzymes in skeletal muscle: their significance in muscle physiology and during postmortem aging events in carcasses. *Adv. Food. Res.* 31: 343-451.
- Barrett, A.J. 2001. Proteolytic Enzymes: Nomenclature and Classification. pp.1-21. In R. Beynon, J.S. Bond, eds. **Proteolytic Enzymes** 2<sup>nd</sup> ed. Oxford University Press, New York.
- Barrett, A.J. and H. Kirschke. 1981. Cathepsin B, cathepsin H and cathepsin L. **Methods Enzymol.** 80(41): 535-561.
- Benjakul, S., W. Visessanguan and M. Tanaka. 2005. Properties of phenoloxidase isolated from the cephalothorax of kuruma prawn (*Penaeus japonicus*). *J. Food Biochemistry* 29(5): 470-485.
- Birk, Y. 1976. Trypsin and chymotrypsin inhibitors from soybean. **Methods Enzymol.** 45: 707.
- Brown, J.H., J.F. Wichkins and M.H. Maclean. 1991. The influence of water hardness on growth and carapace mineralization of juvenile freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii* de Man. *Aquaculture* 95: 329-345.
- Cardenas, W. and J.R. Dankert. 2000. Cresolase, catecholase and laccase activities in haemocytes of the red swamp crayfish. *Fish Shellfish Immunol.* 10: 33-46.

- Ceccaldi, H.J. 1997. Anatomy and physiology of digestive system. **Advances in World Aquaculture** 6: 261-291.
- Chen, J.S., C.I. Wei, R.S. Rolle, W.S. Otwell, M.O. Balaban and M.R. Marshall. 1991a. Inhibitory effect of kojic acid on some plant and crustacean polyphenol oxidase. **J. Agric. Food Chem.** 39:1396-1401.
- Chen, J.S., R.S. Rolle, M.R. Marshall and C.I. Wei. 1991b. Comparison of phenoloxidase activity from Florida spiny lobster and Western Australian lobster. **J. Food Sci.** 56: 154-160.
- Chiou, T.K. and J.P. Huang. 2004. Biochemical changes in the abdominal muscle of mud crab *Scylla serrata* during storage. **J. Fish. Sci.** 70: 167-173.
- Christopher, A.T., E.B. Louis and G.B. Karen. 2006. The effects of hypoxia and pH on phenoloxidase activity in the Atlantic blue crab (*Callinectes sapidus*). **Comp. Biochem. Phys. Part A: Molecular & Integrative Physiology.** 144(2): 218-223.
- Conway, E.J. and A. Byrne. 1936. An absorption apparatus for the micro-determination of certain volatile substances. I. The micro determination of ammonia. **Biochem. J.** 27: 419-429.
- Davidson, M.P. and K.V. Juneja. 1990. Antimicrobial Agents, pp. 102-105, 494, 634-681. In L.A. Branen and M.P. Davidson, eds. **Food Additives**. Marcel Dekker, New York.
- Diaz-Tenorio, L.M., F.L. Garcia-Carreno and M.A. Navarrete del Toro. 2006. Characterization and comparison of digestive proteinases of the Cortez swimming crab, *Callinectes bellicosus*, and the arched swimming crab, *Callinectes arcuatus*. **Invertebrate Biology** 125:125-135.
- Fan, T.J. and X. F. Wang. 2002. Purification and partial biochemical characterization of phenoloxidase from *Penaeus chinensis*. **Acta Biochim. Biophys. Sin.** 34: 589-594.
- FAO. 1981. **The prevention of losses in cured fish**. FAO Fisheries Technical Paper. 219 p.
- Ferrer, O.J., W.S. Otwell and M.R. Marshall. 1989. Effect of bisulfite on lobster shell phenoloxidase. **J. Food Sci.** 54:478-480.
- Ferrar, P.H. and R.L. Walker. 1999. Microorganisms as potential sources of novel diphenol oxidase inhibitors. **J. Food Biochem.** 23: 1-15.

- Galgani, F. and F. Nagayama. 1988. Digestive proteolysis and digestive proteinases in deep sea crabs *Geryon affinis* and *Chionoecetes japonicus*. **Nippon Suisan Gakkaishi**. 54:593-598.
- Garcia-Carreno, F.L. 1992. The digestive protease of langostilla (*Pleuroncodes planipes*, Decapoda): their partial characterization and the effect of feed on their composition. **Comp. Biochem. Physiol.** 103B: 575-578.
- Garcia-Carreno, F.L., M.P. Hernandez-Cartes and N.F. Haard. 1994. Enzymes with Peptidase and Proteinase Activity from Digestive System of Fresh Water and Marine Decapods. **J. Agric. Food Chem.** 42: 1442-1456.
- Gollas-Galván, T., J. Hernández-López and F. Vargas-Albores. 1999. Prophenoloxidase from brown shrimp (*Penaeus californiensis*) hemocytes. **Comp. Biochem. Physiol.** 122B: 77-82.
- Hanada, K., M. Tamai, M. Yamigishi, S. Ohmura, J. Sawada and I. Tanaka. 1978. Isolation and characterization of E-64 a new thiol protease inhibitor. **Agric. Biol. Chem.** 42: 523-528.
- Heimann, W. 1980. **Fundamentals of Food Chemistry**. Ellis Horwood, England: 137, 254-301.
- Ishida, M., N. Sugiyama, M. Sato and F. Nagayama. 1995. Two kinds of neutral serine proteinases in salted muscle of anchovy, *Engraulis japonica*. **Biosci. Biotech. Biochem.** 59: 1107-1112.
- Jayasankar, V. and T. Subramoniam. 1997. Proteolytic activity in the seminal plasma of the mud crab, *Scylla serrata* (Forsk.). **Comp. Biochem. Physiol.** 116B: 347-352.
- Lerner, A.B. 1953. Metabolism of phenylalanine and tyrosine. **Adv. Enzymol.** 14: 73-128.
- Liu, G., L. Yang, F. Tingjun, R. Cong, Z. Tang, W. Sun, X. Meng and L. Zhu. 2006. Purification and characterization of phenoloxidase from crab *Charybdis japonica*. **Fish & Shellfish Immunology**. 20: 47-57.
- Markakis, P and R.J. Embs. 1966. Effect of sulfite and ascorbic on mushroom phenol oxidase. **J. Food Sci.** 31: 807-811.
- Marshall, M. R., J. Kim and C. Wei. 2000. Polyphenoloxidase. pp. 271-307. In N.F. Haard and B.K. Simpson, eds. **Seafood Enzyme**. Marcel Dekker, Inc., New York.
- McEvily, R. Iyengar and S. Otwell. 1991. Sulfite alternative prevents shrimp melanosis. **Food Technol.** 45(9): 80-86.

- Montero, P., A. Avalos and M. Perez-Mateos. 2001. Characterization of polyphenol oxidase of prawns (*Penaeus japonicus*). Alternatives to inhibition: additives and high-pressure treatment. **Food Chem.** 75: 317-324.
- North, M.J. 1989. Prevention of Unwanted Proteolysis. pp. 105-124. In R.J. Beynon and J.S. Bond, eds. **Proteolytic Enzymes: A Practical Approach**. IRL Press, England.
- Otwell, W.S., R. Iyengar and A.J. McEvily. 1992. Inhibition of shrimp melanosis by 4-hexsylresorcinol. **J. Aqua. Food Prod. Technol.** 1:53-65.
- Pavasovic, M., N.A. Richardson, A.J. Anderson, D. Mann and P.B. Mather. 2004. Effect of pH, temperature and diet on digestive enzyme profiles in the mud crab. **Aquaculture** 242 (1-4): 645-645.
- Roy, P., B. Colas and P. Durand. 1996. Purification, kinetical and molecular characterizations of serine collagenolytic protease from greenshore crab (*Carcinus maenas*) digestive gland. **Comp. Biochem. Physiol.** 115B(1): 87-95.
- Saborowski, R., G. Sahling, M.A. Navarette del Toro, I. Walter and F.L. Garcia-Carreno. 2004. Stability and effects of organic solvents on endopeptidases from the gastric fluid of the marine crab *Cancer pagurus*. **J. Molecular Catalysis: Enzymatic** 30: 109-118.
- Schechter, I. and A. Beger. 1967. On the size of the active site in proteinases. **Biochem. Biophys. Res. Com.** 27: 157-162.
- Sikorski, Z., A. Kolakowska and J. Burt. 1990. Post harvest Biochemical and Microbiol Change. pp. 55-75. In A.E. Sikorski, ed. **Seafood: Resource, Nutritional Composition and Preservation**. CRC Press, Florida.
- Simpson, B.K., M.R. Marshall and W.S. Otwell. 1987. Phenoloxidase from shrimp (*Penaeus setiferus*): Purification and some properties. **J. Agric. Food Chem.** 35:918-921.
- Taylor, S.L. and R.K. Bush. 1986. Sulfites as food ingredients. **Food Technol.** 40:47
- Teschke, M. and R. Saborowski. 2005. Cysteine proteinases substitute for serine proteinases in the midgut glands of *Crangon crangon* and *Crangon allmani* (Decapoda: Caridea). **J. Experimental Marine Biology and Ecology.** 316(2): 213-229.
- Tsuchiya, Y., T. Takahashi, Y. Sakurai, A. Iwamatsu and K. Takahashi. 1994. Purification and characterization of novel membrane-bound arginine specific serine protease from porcine intestinal mucosa. **J. Biol. Chem.** 269: 32985-32991.

- Umezawa, H. 1976. Structures and activities of protease inhibitors of microbial origin. **Methods Enzymol.** 45: 678-695.
- Whitaker, J.R. 1994. **Principles of Enzymology for the Food Sciences.** 2<sup>nd</sup> ed. Marcel Dekker, New York. 625 pp.
- Zawistowski, J., C.G. Biliaderis and M.A.N. Eskin. 1991. Polyphenoloxidase. pp. 217-252. *In* D.S. Robinson and M.A.N. Eskin, eds. **Oxidative Enzymes in Foods.** Elsevier Science Publishers, London.

กิจกรรมที่ 3 ศึกษาองค์ประกอบสารให้กลิ่น และกลิ่นรสในปูน้ำม  
(*Scylla serrata*)

ผู้วิจัย      ดร. จุฑา มุกดาสนิท

### สารบัญภาพ

| ภาพที่ |                                                                                     | หน้า |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1      | รูปแบบการทดสอบการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบเลือกสองออกจากห้า เพื่อหาค่า Odor Threshold | 3-19 |
| 2      | Comparison of chemical classes and peak areas from SDE, DSE and P&T isolation.      | 3-27 |
| 3      | Comparison of peak areas and boiling point from SDE, DSE and P&T isolation.         | 3-28 |
| 4      | Flavor profiles of mud crab and soft crab compared using QDA method.                | 3-41 |
| 5      | Taste profiles of mud crab and soft crab compared using QDA method.                 | 3-43 |

### สารบัญภาพผนวก

| ภาพผนวกที่ |                                                                                                   | หน้า |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ข1         | โครมาโตแกรมของสารระเหยในปูทะเล วิธีการสกัดแบบ SDE โดยใช้ HP-5 column (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4) | ข1   |
| ข2         | โครมาโตแกรมของสารระเหยในปูทะเล วิธีการสกัดแบบ DSE โดยใช้ HP-5 column (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4) | ข2   |
| ข3         | โครมาโตแกรมของสารระเหยในปูทะเล วิธีการสกัดแบบ P&T โดยใช้ HP-5 column (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4) | ข3   |
| ข4         | โครมาโตแกรมของสารระเหยในปูม้า วิธีการสกัดแบบ SDE โดยใช้ HP-5 column (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 5)  | ข4   |
| ข5         | โครมาโตแกรมของสารระเหยในปูม้า วิธีการสกัดแบบ P&T โดยใช้ FFAP column (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6)  | ข5   |
| ข6         | โครมาโตแกรมของสารระเหยในปูม้า วิธีการสกัดแบบ P&T โดยใช้ HP-5 column (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6)  | ข6   |

### สารบัญภาพผนวก (ต่อ)

| ภาพผนวกที่ |                                         | หน้า |
|------------|-----------------------------------------|------|
| ค1         | โครมาโตแกรมของ Free amino acid ในปูทะเล | 3-80 |
| ค2         | โครมาโตแกรมของ Free amino acid ในปูน้ำม | 3-81 |

### สารบัญตาราง

| ตารางที่ |                                                                                                    | หน้า |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1        | ไตรเมทิลลามีนออกไซด์ (TMAO) ในกล้ามเนื้อสัตว์ทะเลมีเปลือก                                          | 3-8  |
| 2        | ความยาวคลื่น ค่า Correlation coefficient และ ค่า linear range ของไอออนแต่ละชนิด                    | 3-15 |
| 3        | Flavor descriptions of Crab and flavor references for QDA analysis.                                | 3-18 |
| 4        | Peak area of volatile components identified in mud crab by SDE, DSE and P&T.                       | 3-26 |
| 5        | Comparison of volatile components identified in mud crab and soft crab from SDE.                   | 3-30 |
| 6        | Comparison of volatile components identified in mud crab and soft crab by purge and trap analysis. | 3-35 |
| 7        | Odor unit of positive identified volatile compounds in mud crab.                                   | 3-39 |
| 8        | Odor unit of positive identified volatile compounds in soft crab.                                  | 3-40 |
| 9        | การแยกความแตกต่างระหว่างปูทะเล และปูน้ำม โดยวิธี Triangle.                                         | 3-41 |
| 10       | Free amino acid level in mud crab and soft crab.                                                   | 3-42 |
| 11       | Inorganic constituents in the muscle of steamed mud crab and soft crab.                            | 3-44 |
| 12       | คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของปูน้ำมทั้งตัว                                                 | 3-46 |
| 13       | คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเนื้อปูน้ำม                                                   | 3-46 |
| 14       | คะแนนความเข้มของคุณลักษณะด้านกลิ่นของปูน้ำม จากการประเมินทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา                 | 3-48 |

## สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางที่ |                                                                                                       | หน้า |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 15       | คะแนนความเข้มของกลิ่นลักษณะด้านกลิ่นรส และรสชาติของปูนิ่มจากการประเมิน ทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา      | 3-48 |
| 16       | Volatile components identified in soft crab from SDE during storage at 4 °C.                          | 3-49 |
| 17       | การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณค่าที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ของปูนิ่มระหว่างการเก็บรักษา | 3-52 |
| 18       | Nucleotide degradations of soft shell crab stored at 4 °C.                                            | 3-53 |
| 19       | Change of nucleotide ratios of soft shell crab during stored at 4 °C                                  | 3-54 |
| 20       | Quantity changes of free amino acid in soft crab during stored at 4 °C.                               | 3-56 |

## สารบัญตารางผนวก

| ตารางผนวกที่ |                                                                                                                                        | หน้า |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ง1           | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของความแตกต่างกันของพื้นที่ได้ฟุ้งของสารระเหยในปูทะเลที่สกัดโดยวิธี SDE, DSE และ P&T. | 3-83 |
| ง2           | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของความแตกต่างกันของสารระเหยระหว่าง ปูนิ่มและปูทะเลที่สกัดโดยวิธี SDE                 | 3-85 |
| ง3           | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของความแตกต่างกันของสารระเหยระหว่าง ปูนิ่มและปูทะเลที่สกัดโดยวิธี P&T                 | 3-86 |
| ง4           | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของกรดอะมิโนอิสระระหว่าง ปูนิ่มและปูทะเล                                              | 3-87 |
| ง5           | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของเกลืออนินทรีย์ระหว่าง ปูนิ่มและปูทะเล                                              | 3-88 |

## สารบัญตารางผนวก (ต่อ)

| ตารางผนวกที่ |                                                                                                                                        | หน้า |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ง6           | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของ<br>สารระเหย ของปูนึ่งที่เก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ โดยวิธี SDE                     | 3-89 |
| ง7           | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของพื้นที่<br>ใต้พีคของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ของปูนึ่งที่เก็บรักษาที่<br>ระยะเวลาต่างๆ | 3-91 |
| ง8           | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของ<br>อัตราส่วนของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ของปูนึ่งที่เก็บรักษาที่<br>ระยะเวลาต่างๆ     | 3-92 |
| ง9           | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของ ค่า<br>TVB-N และค่า pH ของปูนึ่งที่เก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ                      | 3-93 |
| ง10          | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของ<br>กรดอะมิโนอิสระในปูนึ่งที่เก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ                             | 3-93 |
| ง11          | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของ<br>ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้าน Flavor profiles                                  | 3-94 |
| ง12          | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของ<br>ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้าน Taste profiles                                   | 3-96 |
| ง13          | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของ<br>ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสต่อเนื้อปูนึ่งดิบที่ระยะเวลาเก็บ<br>รักษาต่างๆ        | 3-97 |
| ง14          | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของ<br>ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสต่อเนื้อปูนึ่งสุกที่ระยะเวลาเก็บ<br>รักษาต่างๆ        | 3-98 |
| ง15          | ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของ<br>ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสต่อเนื้อปูนึ่งสุกที่ระยะเวลาเก็บ<br>รักษาต่างๆ        | 3-99 |

### บทคัดย่อ

การศึกษาการสกัดสารระเหยจากเนื้อปูทะเลโดยวิธี SDE, DSE และ P&T ผลการทดลองปรากฏว่า SDE และ P&T เป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์หากลิ่นในปูทะเล เพราะมีประสิทธิภาพในการสกัดสารระเหยครอบคลุมทุกช่วงอุณหภูมิของจุดเดือด และประเภทของสารระเหย อีกทั้งประหยัดการเตรียมตัวอย่าง และวิธีการสกัดไม่ซับซ้อน ผลการวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของสารระเหยในปูทะเลและปูน้ำจืดโดยวิธี SDE และวิธี P&T พบว่า 3-methylbutanal, 2-acetylthiazole และ 2,3-butanedione เป็นสารสำคัญที่อาจจะมีส่วนในการสร้างกลิ่นหอมหวานและกลิ่นปูในเนื้อปูทะเล และปูน้ำจืด ในขณะที่ยังพบ 2-methylbutanal และ 1-octen-3-ol น่าจะมีส่วนที่ทำให้มีกลิ่นหอมหวานในปูทะเลด้วย แต่ styrene และ benzeneacetaldehyde เป็นสารอีกกลุ่มหนึ่งที่มีแนวโน้มว่าจะให้กลิ่นหอมหวานในปูน้ำจืด จากการตรวจปริมาณ Free Amino Acid พบว่า Glu, Arg, Gly และ Ala นั้นเป็น FAA ที่สำคัญโดยอาจมีส่วนสร้างรสอร่อยและรสหวานในปูทะเล ในขณะที่ Arg, Ala และ Gly เป็น FAA ที่สำคัญโดยมีแนวโน้มว่าจะเป็น เป็น FAA ที่สร้างรสหวานในปูน้ำจืด จากผลการวิเคราะห์ปริมาณของ  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  และ  $\text{Cl}^-$  พบว่ามีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.01$ ) ระหว่างปูน้ำจืดและปูทะเล โดยไอออน 4 ชนิดนี้อาจมีส่วนที่ก่อให้เกิดรสเค็มในปูทั้ง 2 ประเภท สารที่สร้างรสเค็มสูงสุดในเนื้อปูน้ำจืดอาจจะเป็น  $\text{CaCl}_2$  ในขณะที่สารให้ความเค็มสูงสุดของเนื้อปูทะเลอาจเป็น  $\text{NaCl}$  จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า กลิ่นทะเล และรสเค็ม เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความแตกต่างของกลิ่นรสระหว่างปูน้ำจืดและปูทะเล ( $p < 0.05$ ) โดยค่าความเค็มของเนื้อปูน้ำจืดสูงกว่าปูทะเล อาจอธิบายได้จากปริมาณ  $\text{Cl}^-$  ในเนื้อปูน้ำจืดที่มีมากกว่าในเนื้อปูทะเลอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.01$ ) ส่วน Odor threshold ของปูทะเลต่ำกว่าปูน้ำจืดประมาณ 12 เท่า หมายความว่าปูทะเลนั้นมีกลิ่นที่แรงกว่าปูน้ำจืด ซึ่งก็สอดคล้องกับผลรวมค่า U ในปูทะเลนั้นมีค่าสูงกว่าปูน้ำจืด ดังนั้นปูน้ำจืดอาจจะเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้ที่ไม่ชอบกลิ่นที่รุนแรงของปูทะเล

ผลการทดลองของการเปลี่ยนแปลงกลิ่นรสในปูน้ำจืดที่บรรจุในถุงพลาสติกแบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่ 4 °C พบว่าผู้ทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสจะไม่ยอมรับคุณภาพของปูน้ำจืดเมื่อเก็บรักษาไปแล้ว 5 วัน โดยที่ความแรงของกลิ่นไม่พึงประสงค์ รสขม และรสเปรี้ยวจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ในทางตรงกันข้าม รสหวาน รสอร่อย และกลิ่นรสโดยรวมของปูน้ำจืดจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ระหว่างการเก็บรักษา การเพิ่มขึ้นของกลิ่นไม่พึงประสงค์ และ รสขม อาจเกิดขึ้นจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณ TVB-N และ Hx ส่วนการลดลงของ รสหวาน รสอร่อย อาจมีสาเหตุมาจากการลดลงของ FAA เช่น Gly, Ala และ Glu

ดัชนีทางเคมี และชีวเคมีที่เหมาะสมสำหรับใช้วัดความสดของปูน้ำจืดที่บรรจุในถุงพลาสติก

### Abstract

Study on volatile extraction from meat of mud crab by SDE, DSE and P&T method, the result showed that SDE and P&T were the suitable method for extract volatiles from mud crab. Because of SDE and P&T showed high efficiency of extraction of various boiling point and volatiles, moreover, they were cheap and non-sophisticated extraction methods. As the results of quality and quantity volatiles of steamed mud crab and soft shell mud crab, 3-methylbutanal, 2-acetylthiazole and 2,3-butanedione were the important compounds that might contribute sweet and crab aroma in the both crabs. 2-Methylbutanal and 1-octen-3-ol might possess sweet aroma in mud crab. Styrene and benzeneacetaldehyde might express sweet aroma in the steamed soft shell crab. From the determination of Free Amino Acid amounts, Glu, Arg, Gly and Ala might contribute sweet and umami taste in mud crab while Arg, Ala and Gly might possess sweet taste in soft shell mud crab. It was found that the quantities of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Cl}^-$  were significant difference ( $p < 0.01$ ) between soft shell and mud crab. All these ions might concern salty taste in both crabs.  $\text{CaCl}_2$  might be the major component contributed salty taste in soft shell crab while NaCl should be the main component expressed salty taste in mud crab. Sensory results showed that sea aroma and salty taste caused of the different flavors between soft shell and mud crab ( $p < 0.05$ ). Soft shell crab had salty taste higher than mud crab. It could be explained that  $\text{Cl}^-$  in soft shell crab was significantly higher than mud crab ( $p < 0.01$ ). Odor threshold of mud crab was lower than soft shell crab around 12 times so that mud crab contributed its aroma stronger than soft shell crab. The odor threshold results were consistent with summation of Uo value of mud crab which was higher than that of soft shell crab. Therefore, soft shell mud crab is a choice for person who do not like strong aroma of mud crab.

As the result of changes of flavor in soft shell mud crab packed in vacuum plastic bag and kept at 4 °C, sensory panels did not accept the crab quality which stored for 5 days. The intensities of off-flavor, bitter and sour taste were significantly increased ( $p < 0.05$ ) during storage. On the other hands, the intensities of crab flavor, sweet and umami taste were declined during storage. The increase of off-flavor and bitter taste may involve with the development of TVB-N and Hx. In contrast, the decrease of sweet and umami taste may cause of the declining FAA such as Gly, Ala and Glu

Chemical and biochemical indicators for food safety and quality of mud crab

### กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ให้งบประมาณสนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ รศ.ดร. นงนุช รักสกุลไทย และผศ. นยุรี จัยวัฒน์ ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่กรุณาให้คำแนะนำต่างๆ และความอนุเคราะห์เอกสารวิชาการในการทดลองวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ รศ.ดร. สิริ ชัยเสรี และนิสิต คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวก และความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์กลิ่น และกลิ่นรสในอาหาร เช่น เครื่อง GCMS, P&T และ High vacuum distillation

ขอขอบคุณ ดร. สุมิตรา บุญบำรุง สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวก และความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือ และอุปกรณ์ เช่น เครื่อง GC-FID และ HPLC

ขอขอบคุณ อาจารย์อัมรินทร์ ฟ้าปัญญา โปรรแกรมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสถาบันราชภัฏสวนดุสิต ที่ช่วยแนะนำ และประสานงานในการจัดซื้อ และจัดส่งปูนีม

ขอขอบคุณ ผู้บริหาร เจ้าหน้าที่ และนิสิต ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง ที่ให้ความร่วมมือ ช่วยเหลือ และให้ความอนุเคราะห์ในการทำวิจัยจนเสร็จสมบูรณ์

ดร. จุฬา มุกดาสนิท

ผู้วิจัย

## คำนำ

### ปูนิ่ม

ปูนิ่ม หมายถึง ปูที่ลอกคราบเสร็จสิ้นไม่นาน ซึ่งกระดองของปูยังไม่มีความแข็ง กระดองใหม่นิ่ม เหลวขุ่น ถิ่น ชั้นเคลือบผิว ชั้นเมือสและชั้นเยื่อต่างๆ จะติดเป็นชั้นเดียวกัน ในช่วงนี้ปูยังไม่สามารถกินอาหารและป้องกันตัวเองได้ ปูก่อนลอกคราบจะเป็นระยะที่มีความสมบูรณ์เต็มที่ ก่อนที่ปูจะลอกคราบ 2-3 วัน ปูจะไม่กินอาหาร อาหารที่มีอยู่ในกระเพาะระหว่างนั้นจะถูกย่อยไปใช้ในกระบวนการลอกคราบ กระเพาะอาหารจะว่าง ลำไส้จะสะอาดไม่มีกากอาหารหรือสิ่งปฏิกูลเหลืออยู่ กระดองและร่างกายต่างๆ เช่น ขาว่ายน้ำ และก้ามจะนิ่มสามารถบริโภคได้ทั้งตัว มีคุณค่าทางอาหารสูง มีปริมาณแคลเซียมสูง เป็นช่วงที่ปูมีปริมาณคอเลสเตอรอลน้อยที่สุด (บรรจง และ บุญรัตน์, 2545)

กลิ่น (Aroma) หมายถึง สมบัติสารหนึ่ง หรือ หลายสารซึ่งทำให้เกิดความรู้สึกต่อมนุษย์ และสัตว์ชั้นสูงที่มีกระดูกสันหลัง โดยการหายใจเข้าไปทางจมูกหรือทางโพรงจมูก ซึ่งก่อให้เกิดความรู้สึกแก่ประสาทรับความรู้สึกเรื่องกลิ่นของร่างกาย (อำนาจ, 2544)

รส (taste) หมายถึง ความรู้สึกที่ได้รับจากปากและลิ้น โดยมีตัวรับรสที่ลิ้นเป็นตัวสำคัญที่จะบอกให้ทราบถึงรสชาติที่ผู้บริโภคได้รับ โดยทำงานเชื่อมต่อกับระบบประสาท ในปัจจุบันได้มีการแบ่งรสออกเป็น 5 รสด้วยกันคือ รสหวาน รสเปรี้ยว รสเค็ม รสขม และรสอูมามิ ซึ่งรสต่างๆ เหล่านี้เกิดขึ้นจากสารประกอบที่มีอยู่ในอาหาร ได้แก่ กรดนิวคลีโอไทด์ กรดอะมิโน เปปไทด์ กรดอินทรีย์ น้ำตาล อีออนของสารอนินทรีย์ และพวก organic base เช่น creatine, creatinine, bataines เป็นต้น โดยสารประกอบดังกล่าวจะให้รสชาติที่แตกต่างกันไป และรสชาติที่เกิดจากกรดอะมิโนอิสระ จะมีความเข้มข้นมากกว่ารสชาติที่เกิดจากพวกเปปไทด์ (รวีพิมพ์ และ ประพันธ์ , 2537; Kimizuka, *et al.*, 1963)

กลิ่นรส (Flavor) หมายถึง ความรู้สึกทางประสาทสัมผัส ซึ่งประกอบไปด้วยกลิ่นและรส เป็นส่วนใหญ่และมีความรู้สึกเกี่ยวกับอุณหภูมิร้อนและเย็นและความรู้สึกภายในปาก กลิ่นรสอาจเป็นสารเคมีชนิดเดียวหรือ เกิดจากการผสมของสารเคมีหลายอย่าง ทั้งที่อยู่ในธรรมชาติ และเกิดจากการสังเคราะห์ (จินตนา, 2535)

กลิ่น และกลิ่นรสมีส่วนสำคัญที่ทำให้ปูนิ่มเป็นที่นิยมบริโภคอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน จากการตรวจสอบเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวกับปูนิ่มนั้นยังไม่พบว่ามีการศึกษาเกี่ยวกับกลิ่นรสของปูนิ่ม และการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นรสระหว่างการเก็บรักษา ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษากลิ่นรสของปูนิ่ม โดยศึกษาผลที่ได้จากการวิจัยนี้จะช่วยในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ปูนิ่มให้มีคุณภาพ

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาองค์ประกอบสารให้กลิ่น และกลิ่นรสในปูน้ำมุ้งที่ที่ลอกคราบเทียบกับปูทะเล
2. ศึกษาองค์ประกอบของกรดอะมิโนอิสระในปูน้ำมุ้งเปรียบเทียบกับปูทะเล
3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกลิ่นในปูน้ำมุ้ง (*Scylla serrata*) ระหว่างการเก็บรักษา
4. ศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัส เช่นรสชาติ และกลิ่นเพื่อหาความแตกต่างระหว่างปูน้ำมุ้งเปรียบเทียบกับปูทะเล

### ตรวจเอกสาร

#### กลิ่นรสในสัตว์ทะเลมีเปลือก

Shahidi (1998) ได้แบ่งองค์ประกอบของกลิ่นรสที่สำคัญในสัตว์ทะเลมีเปลือกได้ดังนี้ คือ

1. องค์ประกอบที่ระเหยได้ในสัตว์ทะเลมีเปลือก ได้แก่ แอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์ คีโตน ฟูแรน องค์ประกอบที่มีไนโตรเจน องค์ประกอบที่มีกำมะถัน ไฮโดรคาร์บอน ฟีนอล และ เอสเทอร์

1.1 Alcohols อาจถูกสร้างโดยการสลายตัวของ secondary hydrocarbon ในกรดไขมัน Tanchotikul and Hsieh, 1989) การกระทำของ lipoxygenase ต่อกรดไขมัน (Suzuki *et al.*, 1990) และปฏิกิริยา oxidative decomposition ของกรดไขมัน ตัวอย่างแอลกอฮอล์ที่พบในสัตว์ทะเลมีเปลือก ได้แก่ dodecanol ให้กลิ่นเหมือนดอกไม้

1.2 Aldehydes โดยทั่วไปแอลดีไฮด์ มีค่า odor threshold น้อยกว่า odor threshold ของ แอลกอฮอล์ (Hsieh and Kinsella, 1989) ดังนั้น แอลดีไฮด์ในปริมาณน้อยก็มีความสำคัญมากในการ หักกลิ่นรสหลายชนิด

1.3 Ketones คีโตน อาจถูกผลิตโดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการสลายตัวด้วยความร้อน(thermal degradation) ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Cha *et al.*, 1992) การแตกสลายของ รอคะมิโน (Chung and Cadwallader, 1994) การออกซิเดชันของจุลินทรีย์ (Pan and Kuo, 1994) กลิ่นที่แรงในกลุ่มของคีโตน คือ 2,3-butanedione, 3,5-octadien-2-one, 1-octen-3-one และ 1,3-pentanedione ผลผลิตจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด 2,3-butanedione เป็นสารระเหยที่บ่งลักษณะพิเศษ ในอาหารที่ผ่านกระบวนการหุงต้ม (Hodge, 1967) ซึ่งตรวจพบในสารระเหยของ กุ้งต้ม, กุ้ง, กุ้งต้ม, กุ้งต้ม และ ปูต้ม (Chang and Peterson, 1977)

1.4 Furan and other oxygen-containing cyclic compounds สามารถพบ องค์ประกอบของกลิ่นรสในการต้ม และพาสเจอไรซ์ ในปู, ผงกุ้ง, หมึกแห้งย่าง, กุ้งต้ม และปูต้ม

1.5 Pyrazines and other nitrogen-containing compounds ไพราซีนอาจสร้างมาจาก ปฏิกิริยาเมลลาร์ด และปฏิกิริยา pyrolysis ผ่านกระบวนการ strecker degradation ในอาหารที่ผ่าน การให้ความร้อน ตัว precursor เพื่อสร้างสารประกอบไพราซีนสามารถถูกสร้างโดยปฏิกิริยา โปรติโอไลซิส ระหว่างการให้ความร้อนโดยผ่าน โปรติโอไลติกเอนไซม์ ก่อนการให้ความร้อน Maga, 1982) ไพราซีนมีปริมาณสูงและมี flavor threshold ต่ำ ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่ระเหยได้ที่ สำคัญที่พบทั่วไปในอาหารที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนหลายๆชนิด เพราะไพราซีนให้ลักษณะ กลิ่นรสของถั่ว (nutty) กลิ่นย่าง (roasted) และกลิ่นปิ้ง ในผลิตภัณฑ์ (Maga, 1982)

องค์ประกอบที่มีกำมะถันสายโซ่ตรงสองชนิด คือ ไดเมทิลไดซัลไฟด์ และไดเมทิลโครซัลไฟด์ ซึ่งพบในกลุ่มครัสตาเซียที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน เช่น เนื้อปู หอยนางรม กุ้ง และกุ้ง ซึ่งสารดังกล่าวมีผลต่อกลิ่นโดยทั่วไปเพราะว่าสารทั้งสองชนิดมีค่าขีดจำกัดของกลิ่นต่ำ (Buttery *et al.*, 1976)

**1.7 Hydrocarbons** สารประกอบแอลเคนหลากหลายชนิด ( $C_8-C_{19}$ ) พบในองค์ประกอบที่ระเหยได้ในสัตว์ทะเลมีเปลือก ดังเช่น n-decane และ n-undecane พบในองค์ประกอบที่ระเหยได้ในปูดำและปูผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ และกึ่งต้ม (Vejaphan *et al.*, 1988) สารประกอบ 2,4,10,14-tetramethylpentadecane ให้กลิ่นเหม็นเขียว และ กลิ่นหอมหวาน จากกระบวนการผลิตเศษเหลือจากกุ้ง

**1.8 Phenols** กลิ่นที่เกี่ยวข้องกับฟีนอล คือ กลิ่นเหมือนไม้ กลิ่นควัน และกลิ่นไหม้ องค์ประกอบของฟีนอลต่างๆ ไปเกิดขึ้นระหว่าง 2 กระบวนการ คือ decarboxylation ของ phenolic carboxylic acid และ thermal degradation ของดิกินี

**1.9 Esters** พบในสารระเหยของเศษเหลือของ crayfish ต้ม (Tanchotikul and Hsieh, 1989) และเศษเหลือกุ้งต้ม (Mandeville *et al.*, 1992) เชื่อว่าเอสเทอร์เป็นผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันของกรดคาร์บอกซิลิก และแอลกอฮอล์ (Peterson and Chang, 1982) โดยสร้างจากปฏิกิริยาการหมัก หรือการเผาผลาญไขมัน สารระเหยเอสเทอร์พบในอาหารสด อาหารย่าง และอาหารหมัก โดยทั่วไปเอสเทอร์ให้กลิ่นผลไม้ที่หอมหวานในอาหาร

## 2. องค์ประกอบที่ไม่ระเหยในสัตว์ทะเลมีเปลือก

### 2.1 สารประกอบที่ประกอบด้วยไนโตรเจน

ก. กรดอะมิโนอิสระ ปริมาณของกรดอะมิโนทั้งหมดในปู, หอย, กุ้งสูงกว่าในปลา

ข. เปปไทด์ อาหารทะเลประกอบด้วยไดเปปไทด์ เช่น carnosine, anserine และ balenine แต่พบปริมาณน้อยในกล้ามเนื้อของสัตว์กลุ่มครัสตาเซีย และมอลลัส

ค. นิวคลีโอไทด์และสารเกี่ยวข้อง นิวคลีโอไทด์เป็นสิ่งที่สำคัญในการผลิตรสชาติที่ทำให้เกิดความพึงพอใจ คือ รสอูมามิ รสอูมามิ หมายถึง ลักษณะของรสที่ดึงออกมาโดยกลูตาเมต และเกี่ยวข้องกับโมโนโซเดียมกลูตาเมต (MSG) และเกลือโคโซเดียมของ 5'-นิวคลีโอไทด์ด้วย เช่น ไอโนซีนโมโนฟอสเฟต (IMP) กัวโนซีนโมโนฟอสเฟต (GMP) และ อะดีโนซีนโมโนฟอสเฟต (AMP)

ง. Quaternary Ammonium Salts ไตรเมทิลลามีนออกไซด์ (TMAO) และ Betaines

**ตารางที่ 1 ไตรเมทิลลามีนออกไซด์ (TMAO) ในกล้ามเนื้อสัตว์ทะเลมีเปลือก**

| Species        | TMAO (mg/100 g) |
|----------------|-----------------|
| Crustaceans    |                 |
| Blue crab      | 65              |
| Horseshoe crab | 140             |
| Prawn          | 213             |
| Mollusks       |                 |
| Octopus        | 134             |
| Squid          | 217-1045        |
| Scallop        | 52              |

ที่มา : Konosu and Yamaguchi (1982)

## 2.2 ส่วนประกอบที่ปราศจากไนโตรเจน

ก. กรดอินทรีย์ เช่น กรดอะซิติก กรดโพรปิโอนิก กรดออกซาลิก กรดซัคซินิก กรดไพรูวิก และ กรดแลคติก พบในสัตว์กลุ่มครัสเตเชีย

ข. น้ำตาล ปริมาณน้ำตาลอิสระในสัตว์น้ำ และ กล้ามเนื้อสัตว์ทะเลมีเปลือกมีปริมาณน้อย ดังนั้นน้ำตาลอิสระอาจไม่ใช่สารที่ให้กลิ่นรสได้

ค. เกลืออนินทรีย์ Sidwell *et al.* (1977) รายงานว่าเกลือแร่ที่พบในสัตว์น้ำ มากกว่า 160 ชนิด เป็นเกลืออนินทรีย์ และเกลืออนินทรีย์ที่ให้กลิ่นรส ได้แก่ โซเดียมไอออน และ โพแทสเซียมไอออน ที่เป็นไอออนบวก ส่วนไอออนลบ จะมีพวกคลอไรด์ไอออนและฟอสเฟตไอออน (Hayashi *et al.*, 1981)

## กระบวนการเกิดสารให้กลิ่นรสในสัตว์ทะเลมีเปลือก

### 1. ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction)

ในช่วงต้นของการให้ความร้อนจะเริ่มเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดเกิดเป็นสารให้กลิ่น และสารจืดจางของสารให้กลิ่นหลายชนิด ในปี 1999, Tressl and Rewicki ได้อธิบายโดยอาศัยรายละเอียดของปฏิกิริยาว่า ขั้นตอนของปฏิกิริยาเมลลาร์ดสามารถแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนคือ

ขั้นตอนที่ 1 (glycation) เป็นขั้นตอนแรกสุดที่คาร์บอนิลของน้ำตาลทำปฏิกิริยากับ

กลูโคส ส่วนการจัดเรียงตัวแบบ Heyn rearrangement จะได้ 1-aldose-2-amino-2-deoxyaldose จาก น้ำตาลคีโตนที่เป็นคีโตส (ketose)

ในขั้นต้นของปฏิกิริยามลาร์ดนี่จะยังไม่เกิดสีน้ำตาล หรือ เกิดสารให้กลิ่นในระบบ ของอาหาร แต่จะทำให้คุณค่าทางโภชนาการของอาหารลดลงไปเนื่องจากการสูญเสียน้ำตาลและ กรดอะมิโน สารมัธยันต์ (intermediate) ที่เกิดขึ้นทั้งจากผลผลิตของ Amadori rearrangement และผลผลิตของ Heyn rearrangement ไม่คงตัวจะเกิดการสลายตัวและสูญเสียไปโดยการเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับค่าพีเอช อุณหภูมิ ระยะเวลาการให้ความร้อนและปริมาณน้ำที่มีอยู่ขณะเกิด ปฏิกิริยา

**ขั้นตอนที่สอง (Advanced stage)** เป็นการสลายตัวของผลิตภัณฑ์จาก Amadori และ Heyn rearrangement โดยเกิดการสลายตัว 2 แบบซึ่งแบบแรกจะให้ deoxyosones (deoxyglucosones) 2 ชนิด และแบบที่สองคือ Strecker degradation การสลายตัวแบบแรกจะเริ่มจาก enolization ของ Amadori compound และเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องได้เป็น 1-deoxyosones (1-deoxyglucosones) ถ้าเกิด ในสภาวะที่มีค่าพีเอชสูงหรือ 3-deoxyosones (3-deoxyglucosones) ถ้าเกิดปฏิกิริยาในสภาวะที่มีค่า พีเอชต่ำ ทั้ง 1-deoxyosone และ 3-deoxyosone จะเกิด retroaldolization ได้ dicarbonyls ซึ่งเป็น สารมัธยันต์ที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง

ส่วนการสลายตัวแบบที่ 2 คือ Strecker degradation นั้น เป็นปฏิกิริยาระหว่าง dicarbonyls กับกรดอะมิโนเกิดเป็นทั้ง 1-deoxyosone และ 3-deoxyosone จะเกิด retroaldolization ได้ dicarbonyls ซึ่งเป็นสารมัธยันต์ที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งคืออัลดีไฮด์และ  $\alpha$ -amino ketones ซึ่งอาจเกิด การรวมตัวกันต่อไปเกิดเป็นสารให้กลิ่นรส เช่น ไพริดีน ไพราซีนและ imidazoles และในระหว่าง ปฏิกิริยา Strecker degradation ของกรดอะมิโนจะเกิดก๊าซ  $\text{CO}_2$  นอกจากนี้ deoxyosones เอง สามารถเกิดปฏิกิริยา Strecker degradation ได้เช่นกัน (Ames, 1992)

**ขั้นตอนที่ 3 (final stages)** เป็นขั้นตอนการเกิดโพลีเมอร์ (polymerization) ระหว่าง furfurals, furanones และ dicarbonyls กับเอมีน กรดอะมิโน ไฮโดรเจนซัลไฟด์ อัลดีไฮด์ thiols และ acetaldehydes เกิดเป็นสารให้กลิ่นโดยเฉพาะสารที่มีโครงสร้าง heterocyclics ได้แก่ ไพโรล, ไพริดีน, ไพราซีน, ฟูแรน, ไทโอฟิน, ออกซาโซล, ไทอะโซล, imidazole และ furanthiol ซึ่งสาร ระเหบบดงกล่าวหากเกิดปฏิกิริยาอย่างต่อเนื่องจะได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นสารสีน้ำตาลคือเมลานอยดิน (melanoidin)

## 2. ปฏิกิริยาไพโรไลซิส (pyrolysis)

เป็นปฏิกิริยาที่สารอินทรีย์เกิดการสลายตัวไปสู่องค์ประกอบที่มีขนาดเล็กลงในสภาวะ

อยู่ในช่วง 220°C ขึ้นไป ในทางปฏิบัติเป็นไปได้ยากที่จะไม่มีออกซิเจนในบรรยากาศเพราะจะมีออกซิเจนปรากฏขึ้นบ้างในแต่ละขั้นตอนของไพโรไลซิส (Janssen, 1997)

### อุปกรณ์และวิธีการ

#### วัตถุดิบ

1. ปูทะเล (*Scylla serrata*) และปูม้า (*Scylla serrata*) ที่ใช้ในการทดลองในหัวข้อที่ 1 และ 2 ซื้อมาจากฟาร์มเพาะเลี้ยงนางหงส์ฟาร์ม อำเภอเมือง จังหวัดระนอง
2. ปูม้า (*Scylla serrata*) ซื้อมาจากฟาร์มเพาะเลี้ยงปูม้า ที่ใช้ในการทดลองในหัวข้อที่ 3 อำเภอเมือง จังหวัดตราด

#### สารเคมี

1. ไดเอทิลอีเทอร์ ของ J.T. Baker, Phillipsburg, NJ, USA
2. Anhydrous sodium sulfate ของ Merck, Darmstadt, Germany
3. สารมาตรฐาน 2-methyl-3-heptanone ของ Aldrich Chemical, Milwaukee, USA
4. ชุดหากรดอะมิโนสำเร็จรูป (Water AccQ Fluor Reagent Kit, USA)
5. กรดไฮโดรคลอริก
6. กรดไตรคลอโรอะซิติก
7. สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์
8. กรดเปอร์คลอริก
9. ก๊าซไนโตรเจน
10. ไนโตรเจนเหลว
11. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต และ ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต
12. สารมาตรฐานนิวคลีโอไทด์ (ATP, ADP, AMP, IMP, HxR, Hx)
13. เติตตระบิวทิลแอมโมเนียม ไฮโดรเจนซัลเฟต

#### เครื่องมือ

1. เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง (LIBROR EB-3200D)
2. ตู้อบ (Hot air oven , Memmert Model UM 400)
3. เครื่องปั่น (Glen Creston 10000 RPM, Glen Creston)

6. เครื่อง Mass Selective Detector Model Hewlett-Packard HP 5973 series
7. เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (WATERS Model Water 432)
8. เครื่องวัดความเป็นกรดเบส (pH meter) ยี่ห้อ Metrohm Model 744 pH meter
9. เครื่องปั่นผสม
10. เครื่องหล่อเย็น (Cooling ace-Eyela) CA-101
11. เครื่องบดแวริง เบลนเดอร์ ยี่ห้อ Sharp
12. เครื่องให้ความร้อน
13. เครื่องหมุนเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง ยี่ห้อ Hermle Model BHG ZK 365
14. นาฬิกาจับเวลา
15. ห้องเย็น 4 องศาเซลเซียส
16. ห้องแช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส
17. แผ่นอลูมิเนียมฟอยล์
18. แผ่นพาราฟิล์ม
19. เครื่องแก้วทดลอง
20. อุปกรณ์ชุดทดสอบทางประสาทสัมผัส

### การเตรียมตัวอย่าง

นำปูนึ่งและปูทะเลห่อด้วยแผ่นอลูมิเนียม นึ่งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่องอบไอน้ำ (Sure chef combi-steamer MSC, Germany) วดอุณหภูมิใจกลางตัวปูเท่ากับ 80 องศาเซลเซียส วิธีตาม Cadwallader *et.al.* (1995) เมื่อนึ่งเสร็จแล้ว นำมาทำให้เย็นอย่างรวดเร็วในอ่างน้ำแข็ง หลังจากนั้นนำมาแกะเอาเฉพาะส่วนเนื้อ บรรจุในถุงสุญญากาศแล้วนำไปเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส

### 1. ศึกษาวิธีการสกัดสารระเหยที่เหมาะสมสำหรับสกัดกลิ่น (Aroma) จากปูทะเล (Mud crab)

#### **1.1 การสกัดสารระเหยด้วยวิธี Simultaneous Distillation Extraction (SDE)**

ดัดแปลงจากวิธีของ Chung and Cadwallader (1993) โดยบดเนื้อปูให้ละเอียดจำนวน 500

๒. ๑. ๑. ๑ ๒ ๓ ๔ ๕ ๖ ๗ ๘ ๙ ๑๐ ๑๑

Extraction (SDE) ด้วยไดเอทิลอีเทอร์ 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำส่วนไดเอทิลอีเทอร์ มาเติม anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  เพื่อขจัดความชื้นแล้วระเหยด้วยก๊าซไนโตรเจน ให้เหลือปริมาตรประมาณ 200 ไมโครลิตร แล้วฉีดเข้าเครื่อง GC (Model 6890, Hewlett Packard) ซึ่งจะต่อกับ mass selective detector (MSD, HP 5973, Hewlett Packard) ผ่านแคปิลลารีคอลัมน์ HP-5 ขนาด 60 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร และ แคปิลลารีคอลัมน์ FFAP (J&W; 60 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร) อุณหภูมิที่ใช้ในการแยกสารเริ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และเพิ่มด้วยอัตรา 3 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 200 องศาเซลเซียส และค้างไว้ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 20 นาที ใช้ก๊าซฮีเลียม ความบริสุทธิ์ 99.999% เป็นก๊าซตัวนำ โดยอัตราการไหล 1.1 มิลลิเมตรต่อนาที แหล่งกำเนิดของไอออนของ MS (Mass Selective Detector) เป็นอิเล็กตรอนอิมแพคต์ (Electron-Impact Ionisation, EI) ค่าพลังงานไอออนไนเซชัน 70 อิเล็กตรอนโวลต์ scan range 30-300 m/z ที่ความเร็ว 2.74 scan/sec เวลาของ solvent delay 5 นาที

## 1.2 การสกัดสารระเหยด้วยวิธี Purge and Trap Concentrator (P&T)

ในการสกัดสารระเหยให้กลั่น ส่วนของ GC (Model 6890, Hewlett Packard) จะต่อกับ mass selective detector (MSD, HP 5973, Hewlett Packard) ในการวิเคราะห์นำตัวอย่างเนื้อปูดจำนวน 3 กรัม บรรจุลงในหลอดสำหรับ purge เดิมสารมาตรฐาน (Internal standard) 2-methyl-3-heptanone 0.03 ไมโครกรัม ลงไปจากนั้น ทำการ purge ด้วยก๊าซฮีเลียม 40 มิลลิลิตรต่อนาทีที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที สารระเหยถูกจับด้วย Tenax TA และไล่สารที่ระเหยได้ออกจาก Tenax TA ด้วยก๊าซฮีเลียม ที่อุณหภูมิ 195 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที สารระเหยกลั่นตัวโดยเครื่อง cryofocusing ที่อุณหภูมิ -100 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะฉีดเข้า แคปิลลารีคอลัมน์ HP-5 ขนาด 60 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร อุณหภูมิที่ใช้ในการแยกสารเริ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และเพิ่มด้วยอัตรา 3 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 200 องศาเซลเซียส และค้างไว้ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 15 นาที ใช้ก๊าซฮีเลียม ความบริสุทธิ์ 99.999% เป็นก๊าซตัวนำ โดยอัตราการไหล 1.1 มิลลิเมตรต่อนาที แหล่งกำเนิดของไอออนของ MS เป็นอิเล็กตรอนอิมแพคต์ (Electron-Impact Ionisation, EI) ค่าพลังงานไอออนไนเซชัน 70 อิเล็กตรอนโวลต์ scan range 30-300 m/z ที่ความเร็ว 2.74 scan/sec เวลาของ solvent delay 5 นาที

## 1.3 การสกัดระเหยได้โดยวิธี Direct Solvent Extraction (DSE)

เติม ไดเอทิลอีเทอร์ จำนวน 150 มิลลิลิตร เขย่าและคนให้เข้ากัน จากนั้นใส่สารมาตรฐาน (Internal standard) 2-methyl-3-hepanone จำนวน 75 ไมโครกรัม แล้วเก็บข้ามคืน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดเอาเฉพาะส่วนใสด้านบน และทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง โดยลดเวลาการสกัดเหลือ 1 ชั่วโมง รวมสารละลายทั้งหมด หลังจากนั้นลดปริมาตรสารสกัดด้วยก๊าซไนโตรเจนให้เหลือ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วเก็บสารสกัดทั้งหมดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสข้ามคืน เพื่อทำการ สกัดต่อ ทำการสกัดโดยใช้เครื่องสกัดความดันต่ำ ( $10^{-5}$  Torr, Edwards ประกอบด้วย Diffstak<sup>®</sup> MK2 Diffusion Pump, AV10K Air Admittance Valve, Active Inverted Magnetron Gauge, BRV MK IV Backing/Roughing Valve และ Active Pirani Gauge, Great Britain) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ลดปริมาตรสารสกัดที่ได้ด้วยก๊าซไนโตรเจนให้เหลือ 20 มิลลิลิตร เติม anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  เก็บข้ามคืนที่ -20 หลังจากนั้นหาค่าประกอบสารหอมระเหยที่ให้กลิ่นด้วยเครื่อง GC (Model 6890, Hewlett Packard) ซึ่งต่อกับ mass selective detector (MSD, HP 5973, Hewlett Packard) ผ่าน แคปิลลารีคอลัมน์ HP-5 ขนาด 60 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร อุณหภูมิที่ใช้ในการ แยกสารเริ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเพิ่มด้วยอัตรา 3 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 200 องศาเซลเซียส และค้างไว้ที่อุณหภูมิเป็นเวลา 20 นาที ใช้ก๊าซฮีเลียม ความบริสุทธิ์ 99.999% เป็น ก๊าซตัวนำ โดยอัตราการไหล 1.1 มิลลิลิตรต่อนาที แหล่งกำเนิดของไอออนของ MS เป็นอิเล็กตรอน อิมแพคต์ (Electron-Impact Ionisation, EI) ค่าพลังงานไอออนไนเซชัน 70 อิเล็กตรอน โวลต์ scan range 30-300 m/z ค่าความเร็วการ scan 2.74 เวลาของ solvent delay 5 นาที

## 2. เปรียบเทียบกลิ่น และกลิ่นรสของปูนีและพุทะเล

### 2.1 การเปรียบเทียบปริมาณของสารให้กลิ่นระหว่างปูนีและพุทะเลโดยใช้ Gas

#### Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS)

การบ่งบอกชนิดของสารระเหยที่วิเคราะห์ได้โดยเปรียบเทียบ mass spectral data ที่ได้ของ สารระเหยแต่ละชนิดกับ HP-Wiley 275 library และจากการเปรียบเทียบค่า retention index (RI) (Van den Dool and Kratz, 1963) ที่ได้จากการนำสารมาตรฐาน n-alkanes (C5-C30) มาวิเคราะห์ ภายใต้สภาวะเดียวกับตัวอย่าง พื้นที่ใต้พีคจะคำนวณโดย Chemstation Software version 2.0 (Hewlett Packard) ปริมาณของสารระเหยแต่ละชนิดคำนวณจากการเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของ สารดังกล่าวกับพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานที่ทราบปริมาณที่แน่นอน การคำนวณปริมาณของสาร ระเหยคัดแปลงมาจากวิธีของ Spadone *et al.* (1990)

การคำนวณ Odor Unit (U<sub>o</sub>) คัดแปลงมาจากวิธีของ Rothe and Thomas (1963) และ Guadagni *et al.* (1966)

$$U_o = \frac{\text{ความเข้มข้นของสารระเหยในน้ำ (ppm)}}{\text{Odor threshold(ppm)}}$$

Odor threshold คือ ปริมาณความเข้มข้นของสารระเหยที่น้อยที่สุดที่ผู้ทดสอบสามารถได้กลิ่น

## 2.2 การเปรียบเทียบปริมาณองค์ประกอบที่ให้กลิ่นระหว่างปูนิ่ม (soft crab) และปูทะเล (mud crab)

### 2.2.1 การวิเคราะห์หา Free Amino Acid (FFA , คัดแปลงตาม Cohen and Michaud, 1993)

ปริมาณกรดอะมิโน วิเคราะห์ด้วยชุดวิเคราะห์กรดอะมิโนของ Water AccQ-Tag Amino Acid Analysis System (1993) เริ่มต้น โดยบดเนื้อปูจำนวน 5 กรัมให้ละเอียด ใส่ลงใน 10% trichloroacetic acid (TCA) จำนวน 200 มิลลิลิตร นำไปทำให้เข้ากันด้วยเครื่อง homogenizer หลังจากนั้นนำไป centrifuged (4 องศาเซลเซียส) 10,000 g เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูดส่วนใสใส่หลอดทดลอง ดูดตัวอย่างใส่ปิเปตทิป ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ใส่สารมาตรฐานปริมาตร 20 ไมโครลิตร ปั่นด้วยเครื่อง vortex หลังจากนั้นใส่สาร AccQ Borate Buffer จำนวน 60 ไมโครลิตร ปั่นด้วยเครื่อง vortex แล้วจึงใส่ AccQ Fluor reagent ปริมาตร 20 ไมโครลิตร แล้วปั่นด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 1 นาที แล้วพักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นดูดใส่ autosampler vial แล้วอุ่นตัวอย่างที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนอิสระด้วยเครื่อง HPLC (WATERS Model Water 432)

### 2.2.3 วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณเกลืออนินทรีย์

ตัวอย่างเนื้อปูปริมาณ 0.5 กรัม ถูกย่อยด้วยกรดไนตริกเข้มข้น ปริมาตร 4 มิลลิลิตร และสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วจึงย่อยต่อด้วยเครื่อง Microwave Digestion (Perkin Elmer power 700 watt, 1000°C) เป็นเวลา 15 นาที

ICP (Perkin Elmer รุ่น Optima 2000 DV) เทียบกับสารละลายมาตรฐาน  $\text{Ca}^+$  (Fisher, USA),  $\text{Na}^+$  (Fisher, USA) และ  $\text{K}^+$  (BDH, USA) ดังตารางที่ 2

**ตารางที่ 2** ความยาวคลื่น ค่า Correlation coefficient และ ค่า linear range ของไอออนแต่ละชนิด

| Mineral       | Wavelength (nm) | Correlation coefficient | Linear range (mg l <sup>-1</sup> ) |
|---------------|-----------------|-------------------------|------------------------------------|
| $\text{Na}^+$ | 589.592         | 0.999975                | 0-100                              |
| $\text{K}^+$  | 766.490         | 0.999994                | 0-100                              |
| $\text{Ca}^+$ | 317.933         | 0.99956                 | 10-60                              |

วิธีวิเคราะห์คลอไรด์ไอออน (ดัดแปลงจาก FAO, 1981)

เตรียมตัวอย่างประมาณ 2 กรัม กับน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร บดตัวอย่างให้ละเอียดด้วย Homogenizer เป็นเวลา 2 นาทีหลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง แล้วจึงปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร คูณสารละลายตัวอย่าง 25 มิลลิลิตร เติมอินดิเคเตอร์ ( $\text{K}_2\text{CrO}_4$ ) 0.5 มิลลิลิตร แล้วนำมาไตเตรทด้วย  $\text{AgNO}_3$  เข้มข้น 0.1 N หลังจากนั้น นำปริมาณของ 0.1 N  $\text{AgNO}_3$  ที่ไตเตรทได้มาคำนวณหาปริมาณคลอไรด์ไอออนทั้งหมดในตัวอย่าง

### 3. การศึกษาหาความแตกต่างของกลิ่นและกลิ่นรสระหว่างปูนิมและปูทะเลโดยการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

คัดเลือกและฝึกฝนผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Zook and Wessman (1977) และ Meilgaard *et al.* (1999) โดยคัดเลือกจากผู้ทดสอบ (นิสิตปริญญาโท และเอก ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง) 20 คน ตามเกณฑ์ต่างๆ ดังนี้ เลือกเพื่อทำการฝึกฝน

- คุณสมบัติทั่วไป คือ สนใจและสามารถเข้าร่วมการฝึกฝนและทดสอบ มีสุขภาพดี มีความเข้าใจในการอธิบายคุณลักษณะด้านกลิ่น และกลิ่นรส และเข้าใจเรื่องการใช้สเกล

#### การฝึกฝนผู้ทดสอบ

โดยเริ่มจากรสหลัก 5 รส คือ รสหวาน รสเปรี้ยว รสเค็ม รสขม และ รสอโรย โดยใช้สารละลายมาตรฐาน เพื่อควาผู้ทดสอบสามารถจำแนกแยกรสชาติของสารได้หรือไม่ โดยเริ่มจากการแยกชนิดของรสชาติ ดังนี้

รสหวาน ใช้สารละลายซูโครส ความเข้มข้น 4% w/v

รสเปรี้ยว ใช้สารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น 0.07% w/v

รสเค็ม ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.2% w/v

รสขม ใช้สารละลายคาเฟอีน ความเข้มข้น 0.007% w/v

รสอโรย ใช้สารละลายโมโนโซเดียมกลูตาเมต ความเข้มข้น 0.07% w/v

หลังจากนั้นเมื่อผู้ทดสอบสามารถแยกรสชาติได้แล้ว ทำการฝึกฝนต่อโดยการแยกลำดับความเข้มข้นของสารละลาย เริ่มจากให้ผู้ทดสอบชิมสารละลายแล้วเรียงลำดับความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ ผ่านลำดับตัวเลข โดยหมายเลข 1 แทน ความเข้มข้นที่อ่อนที่สุด จนถึงหมายเลข 3 ความเข้มข้นที่เข้มข้นที่สุด และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแยกตามชนิดรสชาติ ดังนี้

รสหวาน

ใช้สารละลายซูโครส ความเข้มข้น 4% w/v

ใช้สารละลายซูโครส ความเข้มข้น 2% w/v

ใช้สารละลายซูโครส ความเข้มข้น 1% w/v

รสเปรี้ยว

ใช้สารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น 0.14% w/v

ใช้สารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น 0.07% w/v

ใช้สารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น 0.035% w/v

รสเค็ม

ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.4% w/v

ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.2% w/v

ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1% w/v

รสขม

ใช้สารละลายคาเฟอีน ความเข้มข้น 0.014% w/v

ใช้สารละลายคาเฟอีน ความเข้มข้น 0.007% w/v

### รสอร่อย

ใช้สารละลายโมโนโซเดียมกลูตาเมต ความเข้มข้น 0.14% w/v

ใช้สารละลายโมโนโซเดียมกลูตาเมต ความเข้มข้น 0.07% w/v

ใช้สารละลายโมโนโซเดียมกลูตาเมต ความเข้มข้น 0.035% w/v

### ฝึกฝนผู้ทดสอบที่ผ่านการคัดเลือกตามเกณฑ์ข้างต้น โดย

- ทำความเข้าใจถึงวิธีการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา สเกล และการรับกลิ่นและรสของมนุษย์

- ทดลองดมตัวอย่างกลิ่นรสต่างๆที่ใช้ในอาหาร รวมถึงกลิ่นรสของปุนี้ม และปูทะเล

- ทดสอบกลิ่นปุนี้ม และปูทะเล เพื่อกำหนดคุณลักษณะต่างๆ ด้านกลิ่น แล้วพัฒนาคำศัพท์ร่วมกัน โดยดัดแปลงวิธีจากวิธีของ Drake and Civille (2002)

- คัดเลือกและกำหนดตัวอย่างที่ใช้อ้างอิงความเข้มของคุณลักษณะต่างๆ

- ทดลองประเมินตัวอย่างปุนี้ม และปูทะเล เพื่อให้เกิดความชำนาญ

หลังจากผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนแล้ว (11 คน) เริ่มทำการทดสอบเพื่อหาความแตกต่างโดยการทดสอบใช้วิธีการแยกความแตกต่างแบบสามเหลี่ยม (Triangle) ดัดแปลงตามวิธีของ Chung *et al.* (1995) โดยนำตัวอย่างเนื้อปูสดคัปปริมาณ 200 กรัม สับผสมกับ odor free water ปริมาตร 350 มิลลิลิตร กรองด้วยผ้าขาวบาง และหลังจากนั้นนำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 3500 rpm เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำให้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนทั้งหมด 11 คน คมกลิ่นและชิมสารสกัดปุนี้ม และปูทะเล ดังกล่าว ภายใต้แสงไฟสีแดง เพื่อขจัดความแตกต่างของตัวอย่างสกัด

การทดสอบแบบพรรณนา Quantitative Descriptive Analysis (QDA) นำเนื้อปูทะเลและเนื้อปุนี้ม ที่ผ่านการนึ่งจนอุณหภูมิใจกลางมีอุณหภูมิ 80°C นำเนื้อปูปริมาณ 20 กรัม ใส่ลงในถ้วยชิม ปิดฝาด้วยแผ่นกระดาษอลูมิเนียมฟอยล์ โดยให้ผู้ทดสอบชายและหญิง ที่ผ่านการคัดเลือก และฝึกฝนตามวิธีการข้างต้น 11 คน ชิมตัวอย่าง ประเมินตามคุณลักษณะต่างๆ ดังตารางที่ 3 หลังจากนั้น ให้ผู้ทดสอบบอกลักษณะของตัวอย่างที่ได้ในเรื่องความเข้มข้นของกลิ่นและกลิ่นรสในแต่ละตัวอย่างผ่านสเกลเส้นตรง (line scale) ขนาดความยาว 15 เซนติเมตร

**ตารางที่ 3** Flavor descriptions of Crab and flavor references for QDA analysis

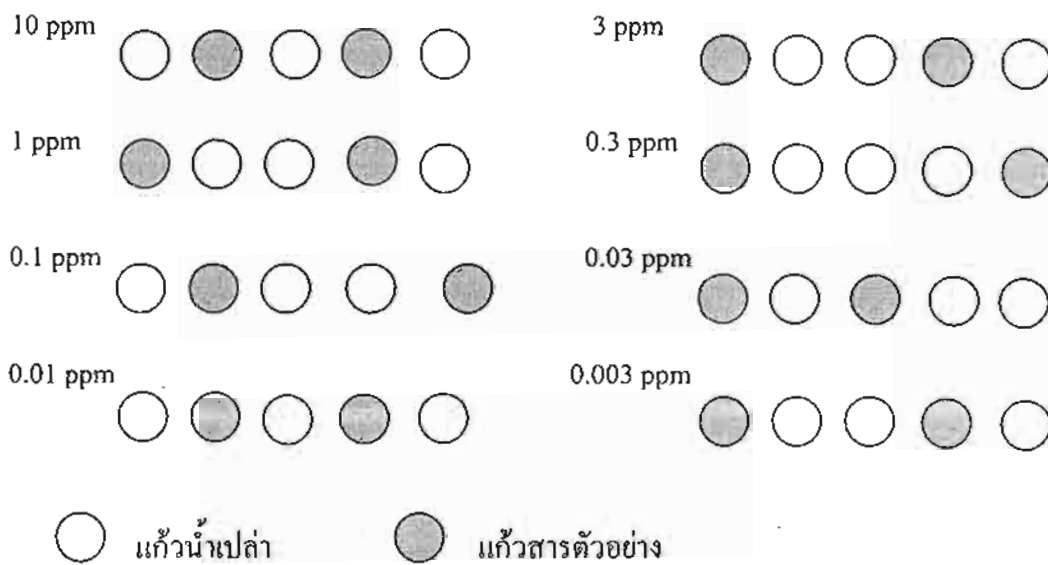
| คุณลักษณะ          |                                                                      | ตัวอย่างอ้างอิง                                            |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| คำศัพท์            | ความหมาย                                                             |                                                            |
| กลิ่นหอมหวาน       | กลิ่นของอาหารทะเลสดมากเมื่อผ่านการนึ่งหรือได้รับความร้อน             | เนื้อปูนิ่งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที    |
| กลิ่นโคลน          | กลิ่นของโคลนที่อยู่ในเนื้อปู                                         | ใช้โคลนจากบ่อเลี้ยงปู 0.03% w/v                            |
| กลิ่นปู            | กลิ่นของเนื้อปู                                                      | ใช้เนื้อปูนิ่งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที |
| กลิ่นทะเล          | กลิ่นของอาหารทะเล ที่มีกลิ่นสาบห่วย และกลิ่นเค็มคล้ายกลิ่นของน้ำทะเล | น้ำทะเลจากแหล่งเลี้ยง ปริมาตร 15 มิลลิลิตร                 |
| กลิ่นรสโดยรวมของปู | กลิ่นรสของปู เมื่อรับประทานแล้วรับรู้ว่าเป็นเนื้อปู                  | ใช้สารละลายเนื้อปูสกัดกับน้ำ ความเข้มข้น 75% w/v           |
| รสหวาน             | รสหวาน                                                               | สารละลายซูโครส ความเข้มข้น 4% w/v                          |
| รสเปรี้ยว          | รสเปรี้ยว                                                            | สารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น 0.07% w/v                    |
| รสเค็ม             | รสเค็ม                                                               | สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.2% w/v                |
| รสขม               | รสขม                                                                 | สารละลายคาเฟอีน ความเข้มข้น 0.014% w/v                     |
| รสอโรย             | รสอโรย                                                               | สารละลายโมโนโซเดียมกลูตาเมต ความเข้มข้น 0.07% w/v          |

#### วิธีการหาค่า Odor threshold

ดัดแปลงมาจากวิธีของ Tamura *et al.* 1993 และ Tamura *et al.* 2001 นำเนื้อปูทะเล และปูนิม ปริมาณ 100 กรัม สัมผัสกับ odor free water (น้ำกลั่นที่ผ่านการขจัดกลิ่น) 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 15 นาที แล้วจึงนำมารอง หลังจากนั้นจึงนำสารละลายที่กรองได้ไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 3500 rpm นาน 15 นาที

นำสารละลายที่ได้ลดความเข้มข้น ที่ละ 10 เท่า โดยใช้ odor free water เป็นทำตัวละลาย โดยความเข้มข้นแบ่งเป็น 2 ชุดความเข้มข้น คือ ชุดที่ 1 มีความเข้มข้นดังต่อไปนี้ 10, 1, 0.1 และ 0.01 ppm และ ชุดที่ 2 มีความเข้มข้นดังต่อไปนี้ 3, 0.3, 0.03 และ 0.003 ppm ใส่ลงในถ้วยแก้ว

กลิ่น ภายใต้แสงสีแดงเพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชันสีของตัวอย่าง แล้วเลือกถ้วยแก้วที่บรรจุสารละลายของปุ๋ยออกจากถ้วยแก้วที่บรรจุแต่ odor free water โดยใช้การทดสอบแบบเลือกสองออกจากห้า (two out of five) ดังรูปที่ 1 โดยให้ผู้ทดสอบทำการทดสอบจากความเข้มข้นสูงไปต่ำ จนกระทั่งผู้ทดสอบไม่สามารถเลือกถ้วยแก้วที่บรรจุสารละลายของปุ๋ยได้ถูกต้องจึงหยุด ความเข้มข้นต่ำสุดที่ผู้ทดสอบสามารถตอบได้ถูกแต่ละคนต้องเปลี่ยนให้อยู่ในรูป logarithm ( $\log_{10}$ ) แล้วค่อยนำมาหาค่าเฉลี่ยของผู้ทดสอบทั้งหมด จากนั้นเปลี่ยนค่าเฉลี่ยที่ได้ให้อยู่ในรูปเลขฐาน 10 (Anti-logarithm) ค่าสุดท้ายที่ได้คือ Odor threshold



**รูปที่ 1** รูปแบบการทดสอบการทดสอบทางประสาทสัมผัส แบบเลือกสองออกจากห้า เพื่อหาค่า Odor threshold

#### 4. การศึกษาผลของระดับของ pH, Volatile Basic Nitrogen (TVB-N) และความสดที่มีผลต่อการเสื่อมเสียของปูนิม

##### 4.1 การเตรียมตัวอย่าง

4.1.1 เตรียมน้ำสะอาดที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการล้างปูนิม

4.1.2 แช่ปูนิมในน้ำเย็น 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เมื่อครบเวลานำขึ้นมา สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 5 นาที บรรจุใส่ถุง vacuum bag เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างทุกวัน จนถึงสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา

#### 4.2 การทดสอบทางด้านเคมี

##### 4.2.1 การวัดค่า pH (Chiou *et al.*, 2004)

นำเนื้อส่วนท้องปริมาณ 5 กรัมผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำมาวัดค่าความเป็นกรด – เบสด้วยเครื่อง pH meter ที่อุณหภูมิห้อง ทำซ้ำ

##### 4.2.2 ตรวจวัดการเสื่อมเสีย Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N)

ตัวอย่างปริมาณ 1 กรัม ผสมกับสารละลายไตรคลอริกแอซิดเข้มข้น 7% ในปริมาตร 2 มิลลิตร นำสารละลายตัวอย่างที่ได้ใส่ใน microdiffusion dish โดยใน dish จะประกอบไปด้วยสาร 2 ชนิด คือ  $H_3BO_3$  และ mix indicator ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงนำมาไตตรด้วย HCl เข้มข้น 0.02 นอร์มัล จนสารละลายตัวอย่างกลับมามีสีชมพูตามเดิม คำนวณค่า TVB-N (Cobb *et al.*, 1973)

##### 4.2.3 การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ Adenosine triphosphate และอนุพันธ์ (Hwang *et al.*, 2000)

ตัวอย่าง 5 กรัม นำไปปั่นผสม 30 มิลลิตร ของ 6% กรดเปอร์คลอริก เป็นเวลา 2 นาที เหยี่ยงที่ 1600g นาน 20 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง นำส่วนละลายที่ได้มารวมกัน ปรับ pH ให้เป็น 6.5 ด้วย KOH แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วกรองใส่โพแทสเซียมเปอร์คลอเรต ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิตร ด้วย neutralized PCA (pH 6.5) เก็บที่ -20 องศาเซลเซียส ระหว่างรอการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC คอลัมน์ที่ใช้ คือ SUPELCOSIL LC-18-1 ขนาด 15 เซนติเมตร x 4.6 มิลลิเมตร x 3 ไมโครเมตร mobile phase ที่ใช้มี 2 ชนิด คือ mobile phase ชนิด A ( 0.1 M  $KH_2PO_4$  + 4 mM tetrabutylammonium hydrogen sulfate, pH 6) และ Mobile phase ชนิด B ( A : Methanol (70:30), pH 7.2) อัตราการไหล คือ 1.0 มิลลิตรต่อนาที โดยวัดที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

#### 5. ศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของปูนิ่มที่เปลี่ยนไประหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

##### การฝึกฝนผู้ทดสอบ

ทำการแปลค่าความเจ็บป่วยของสารละลายกลับไปยังกระดาษเริ่มจากให้ผู้ทดสอบ

**กลิ่นไม้พื้งประสงค์**

|           |                          |             |      |     |
|-----------|--------------------------|-------------|------|-----|
| หมายเลข 5 | ใช้สารละลายไตรเมทิลเอมีน | ความเข้มข้น | 2000 | ppm |
| หมายเลข 4 | ใช้สารละลายไตรเมทิลเอมีน | ความเข้มข้น | 200  | ppm |
| หมายเลข 3 | ใช้สารละลายไตรเมทิลเอมีน | ความเข้มข้น | 20   | ppm |
| หมายเลข 2 | ใช้สารละลายไตรเมทิลเอมีน | ความเข้มข้น | 2    | ppm |
| หมายเลข 1 | ใช้น้ำปราศจากกลิ่น       |             |      |     |

**กลิ่นหอมหวาน**

|           |                              |             |      |     |
|-----------|------------------------------|-------------|------|-----|
| หมายเลข 5 | ใช้สารละลาย 2-acetylthiazole | ความเข้มข้น | 2000 | ppm |
| หมายเลข 4 | ใช้สารละลาย 2-acetylthiazole | ความเข้มข้น | 200  | ppm |
| หมายเลข 3 | ใช้สารละลาย 2-acetylthiazole | ความเข้มข้น | 20   | ppm |
| หมายเลข 2 | ใช้สารละลาย 2-acetylthiazole | ความเข้มข้น | 2    | ppm |
| หมายเลข 1 | ใช้น้ำปราศจากกลิ่น           |             |      |     |

**กลิ่นโคลน**

|           |                    |             |      |     |
|-----------|--------------------|-------------|------|-----|
| หมายเลข 5 | ใช้สารละลายโคลน    | ความเข้มข้น | 2000 | ppm |
| หมายเลข 4 | ใช้สารละลายโคลน    | ความเข้มข้น | 200  | ppm |
| หมายเลข 3 | ใช้สารละลายโคลน    | ความเข้มข้น | 20   | ppm |
| หมายเลข 2 | ใช้สารละลายโคลน    | ความเข้มข้น | 2    | ppm |
| หมายเลข 1 | ใช้น้ำปราศจากกลิ่น |             |      |     |

**กลิ่นปุยดิบ**

|           |                        |             |     |     |
|-----------|------------------------|-------------|-----|-----|
| หมายเลข 5 | ใช้ปุยดิบปริมาณ 5 กรัม |             |     |     |
| หมายเลข 4 | ใช้สารละลายปุยดิบ      | ความเข้มข้น | 200 | ppm |
| หมายเลข 3 | ใช้สารละลายปุยดิบ      | ความเข้มข้น | 20  | ppm |
| หมายเลข 2 | ใช้สารละลายปุยดิบ      | ความเข้มข้น | 2   | ppm |
| หมายเลข 1 | ใช้น้ำปราศจากกลิ่น     |             |     |     |

**กลิ่นปุยสุก**

|           |                        |             |     |     |
|-----------|------------------------|-------------|-----|-----|
| หมายเลข 5 | ใช้ปุยสุกปริมาณ 5 กรัม |             |     |     |
| หมายเลข 4 | ใช้สารละลายปุยสุก      | ความเข้มข้น | 200 | ppm |
| หมายเลข 3 | ใช้สารละลายปุยสุก      | ความเข้มข้น | 20  | ppm |
| หมายเลข 2 | ใช้สารละลายปุยสุก      | ความเข้มข้น | 2   | ppm |
| หมายเลข 1 | ใช้น้ำปราศจากกลิ่น     |             |     |     |

**กลี้นทะเล**

|           |                                                     |     |     |
|-----------|-----------------------------------------------------|-----|-----|
| หมายเลข 5 | ใช้สารละลายสำหรับ <i>Solieria</i> sp. ปริมาณ 5 กรัม |     |     |
| หมายเลข 4 | ใช้สารละลายสำหรับ <i>Solieria</i> sp. ความเข้มข้น   | 200 | ppm |
| หมายเลข 3 | ใช้สารละลายสำหรับ <i>Solieria</i> sp. ความเข้มข้น   | 20  | ppm |
| หมายเลข 2 | ใช้สารละลายสำหรับ <i>Solieria</i> sp. ความเข้มข้น   | 2   | ppm |
| หมายเลข 1 | ใช้น้ำปราศจากกลี้น                                  |     |     |

**กลี้นรสโดยรวมของปู**

|           |                                  |     |     |
|-----------|----------------------------------|-----|-----|
| หมายเลข 5 | ใช้ปูนิ่มสุกปริมาณ 5 กรัม        |     |     |
| หมายเลข 4 | ใช้สารละลายปูนิ่มสุก ความเข้มข้น | 200 | ppm |
| หมายเลข 3 | ใช้สารละลายปูนิ่มสุก ความเข้มข้น | 20  | ppm |
| หมายเลข 2 | ใช้สารละลายปูนิ่มสุก ความเข้มข้น | 2   | ppm |
| หมายเลข 1 | ใช้น้ำปราศจากกลี้น               |     |     |

**รสหวาน**

|           |                               |        |
|-----------|-------------------------------|--------|
| หมายเลข 5 | ใช้สารละลายซูโครส ความเข้มข้น | 4% w/v |
| หมายเลข 4 | ใช้สารละลายซูโครส ความเข้มข้น | 3% w/v |
| หมายเลข 3 | ใช้สารละลายซูโครส ความเข้มข้น | 2% w/v |
| หมายเลข 2 | ใช้สารละลายซูโครส ความเข้มข้น | 1% w/v |
| หมายเลข 1 | ใช้น้ำปราศจากกลี้น            |        |

**รสเปรี้ยว**

|           |                                  |             |
|-----------|----------------------------------|-------------|
| หมายเลข 5 | ใช้สารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น | 0.28% w/v   |
| หมายเลข 4 | ใช้สารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น | 0.14% w/v   |
| หมายเลข 3 | ใช้สารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น | 0.007% w/v  |
| หมายเลข 2 | ใช้สารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น | 0.0035% w/v |
| หมายเลข 1 | ใช้น้ำปราศจากกลี้น               |             |

**รสเค็ม**

|           |                                       |          |
|-----------|---------------------------------------|----------|
| หมายเลข 5 | ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น | 0.4% w/v |
| หมายเลข 4 | ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น | 0.3% w/v |
| หมายเลข 3 | ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น | 0.2% w/v |
| หมายเลข 2 | ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น | 0.1% w/v |
| หมายเลข 1 | ใช้น้ำปราศจากกลี้น                    |          |

**รสนม**

|           |                    |             |             |
|-----------|--------------------|-------------|-------------|
| หมายเลข 5 | ใช้สารละลายคาเฟอีน | ความเข้มข้น | 0.028% w/v  |
| หมายเลข 4 | ใช้สารละลายคาเฟอีน | ความเข้มข้น | 0.014% w/v  |
| หมายเลข 3 | ใช้สารละลายคาเฟอีน | ความเข้มข้น | 0.007% w/v  |
| หมายเลข 2 | ใช้สารละลายคาเฟอีน | ความเข้มข้น | 0.0035% w/v |
| หมายเลข 1 | ใช้น้ำปราศจากกลิ่น |             |             |

**รสอโรย**

|           |                                |             |            |
|-----------|--------------------------------|-------------|------------|
| หมายเลข 5 | ใช้สารละลายโมโนโซเดียมกลูตาเมต | ความเข้มข้น | 0.28% w/v  |
| หมายเลข 4 | ใช้สารละลายโมโนโซเดียมกลูตาเมต | ความเข้มข้น | 0.14% w/v  |
| หมายเลข 3 | ใช้สารละลายโมโนโซเดียมกลูตาเมต | ความเข้มข้น | 0.07% w/v  |
| หมายเลข 2 | ใช้สารละลายโมโนโซเดียมกลูตาเมต | ความเข้มข้น | 0.035% w/v |
| หมายเลข 1 | ใช้น้ำปราศจากกลิ่น             |             |            |

**ฝึกฝนผู้ทดสอบโดย**

- ทำความเข้าใจถึงวิธีการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาแบบสเกล และการรับกลิ่นและรสของมนุษย์

การทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา Quantitative Descriptive Analysis (QDA) นำเนื้อปูนึ่ง ที่ผ่านการนึ่งจนอุณหภูมิใจกลางมีอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นำเนื้อปูปริมาณ 20 กรัมใส่ลงในถ้วยแก้วสำหรับทดสอบทางประสาทสัมผัส ปิดฝาด้วยแผ่นกระดาษออลูมิเนียมฟอยล์ โดยให้ผู้ทดสอบชายและหญิง ที่ผ่านการฝึกฝนตามวิธีการข้างต้น 8 คน ชิมตัวอย่าง ประเมินตามคุณลักษณะต่างๆ ดังตารางที่ 3 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยให้พักประมาณ 15 นาทีในการทดสอบแต่ละซ้ำ หลังจากนั้น ให้ผู้ทดสอบบอกลักษณะของตัวอย่างที่ได้ในเรื่องความเข้มข้นของกลิ่นและกลิ่นรสในแต่ละตัวอย่างผ่านสเกลคะแนน (point scale)

ประเมินคุณภาพด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบรวมของปูนึ่งทั้งแบบดิบและแบบสุก วางแผนการทดลองแบบ RCBD โดยให้วันที่ทำการเก็บรักษาเป็นปัจจัยและผู้ทดสอบเป็นบล็อก ระบบการให้คะแนนแบบ scoring test มีระดับคะแนน 1-7 (Goulas *et al.*, 2005) โดยคะแนน 7 มีความหมายว่าชอบรับมากที่สุด แต่คะแนนต่ำกว่า 4 มีความหมายว่าไม่ชอบรับตัวอย่างนั้น (คือมีคะแนนลดลงมากกว่า 50%)

**6.วิธีการวิเคราะห์ทางสถิติ**

ความแปรปรวน (Analysis of Variance) เปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ Duncan's multiple range test (DMRT) การวางแผนการทดลองเพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารระเหย สารให้กลิ่นรส ในปูทะเลและปูม้า (กลิ่น, กรดอะมิโนอิสระ, โอลิโกเปปไทด์, และเกลืออนินทรีย์) เปรียบเทียบความแตกต่างของตัวอย่างโดยใช้วิธี Student t-test และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส วางแผนการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ Duncan's multiple range test (DMRT)

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### 1. ศึกษาวิธีการสกัดสารระเหยที่เหมาะสมสำหรับสกัดกลิ่น (Aroma) จากปูทะเล (Mud crab)

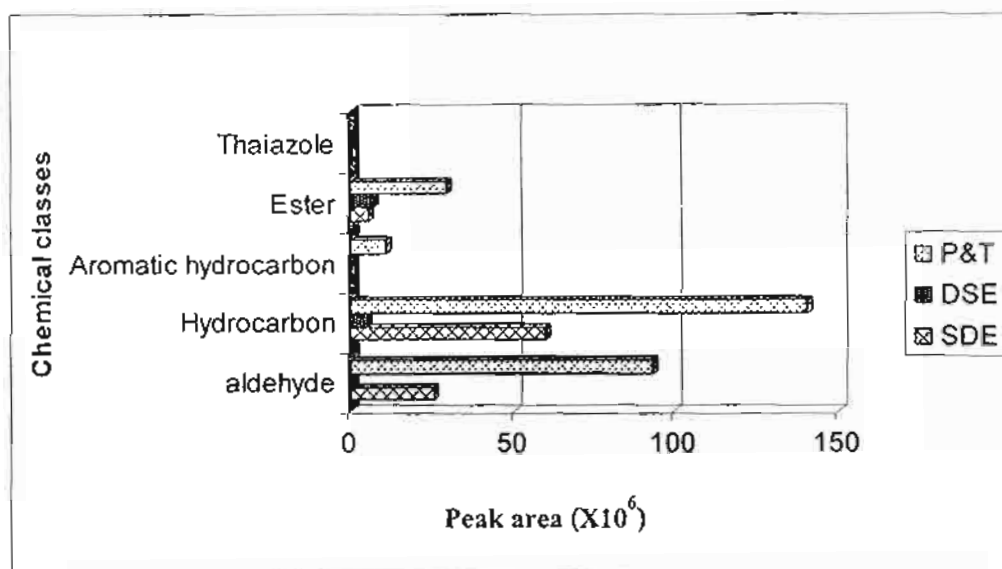
ตารางที่ 4 แสดงพื้นที่ที่ได้พิกจากเครื่อง GCMS ของสารระเหยที่สามารถพิสูจน์ได้ ซึ่งเป็นสารระเหยสกัดจากปูทะเลโดยใช้วิธีการสกัดที่แตกต่างกันคือ P&T, SDE และ DSE พบองค์ประกอบของสารระเหยในปูทะเลประมาณ 40 สาร สามารถพิสูจน์ได้ 19 ชนิด ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 5 ประเภท ได้แก่ สารประกอบของ 1) thiazole พบ 1 ชนิด (2-acethylthiazole), 2) สารประกอบ hydrocarbon พบ 7 ชนิด (undecane, dodecane และอื่นๆ), 3) aromatic hydrocarbon พบ 2 ชนิด (ethyl benzene และ xylene), 4) สารประกอบ ester พบ 1 ชนิด (ethyl acetate) และ 5) สารประกอบ aldehyde 8 ชนิด (hexanal, benzaldehyde และอื่นๆ) จำนวนสารระเหยที่พบในสารสกัดจากวิธี SDE มีจำนวนมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากวิธี P&T และ DSE ตามลำดับ โดย ethyl acetate นั้นสามารถพบได้ในทุกวิธีการสกัด ขณะที่ 3-methylbutanal, hexanal และ heptanal สามารถพบได้ในสารสกัดจาก SDE และ P&T แต่ไม่พบในสารสกัดจากวิธี DSE ในทางตรงกันข้าม 2-methyl hexane และ heptane สามารถพบได้ในสารสกัดจากวิธี DSE เท่านั้น เมื่อพิจารณาจากผลรวมทั้งหมดของพื้นที่ที่ได้พิกของสารสกัดที่ได้จากวิธีสกัดทั้ง 3 วิธี นั้นพบว่าวิธี P&T นั้นมีค่าผลรวมสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) รองลงมาคือวิธี SDE และ DSE เมื่อพิจารณาจากปริมาณสารระเหยที่พบแบ่งตามประเภท (chemical classes) ดังแสดงใน รูปที่ 2 พบว่า วิธีการสกัดด้วย P&T สามารถสกัดสารระเหยได้ดีเกือบทุกประเภทเช่น ester (ethyl acetate), aromatic hydrocarbon (ethyl benzene และ xylene), hydrocarbon (undecane) และ aldehyde (hexanal, heptanal และ octanal) ส่วนวิธี SDE สามารถสกัดสารระเหยประเภท hydrocarbon และ aldehyde ได้ดีรองลงมาจากวิธี P&T ในทางตรงกันข้ามประสิทธิภาพการสกัดสารระเหยประเภท ester นั้นวิธี DSE สามารถสกัดได้ดีกว่าวิธี SDE เล็กน้อยแต่ยังไม่เทียบเท่ากับวิธี P&T

**Table 4** Peak area of volatile components identified in mud crab by SDE, DSE and P&T.

| Peak No. | Compound                              | RI <sup>AA</sup>  |                   | b.p.<br>(°C) <sup>BB</sup> | Peak area (10 <sup>6</sup> ) |                          |                              |
|----------|---------------------------------------|-------------------|-------------------|----------------------------|------------------------------|--------------------------|------------------------------|
|          |                                       | Exp. <sup>1</sup> | Ref. <sup>2</sup> |                            | SDE                          | DSE                      | P&T                          |
|          | Ethylacetate*                         | 806               | 807 <sup>A</sup>  | 77                         | 5.18±0.18 <sup>b</sup>       | 6.60±1.03 <sup>b</sup>   | 29.02±2.73 <sup>a</sup>      |
|          | 3-methylbutanal*                      | 649               | 650 <sup>C</sup>  | 90                         | 4.15±0.21                    | nd                       | 28.64±2.77                   |
|          | 2-methylhexane                        | 651               | ND                | 90                         | nd                           | 1.06±0.17                | nd                           |
|          | 2-acetylthiazole                      | 1021              | 1020 <sup>E</sup> | 91                         | 0.47±0.10                    | nd                       | nd                           |
|          | Heptane                               | 700               | 700 <sup>B</sup>  | 99                         | nd                           | 1.67±0.43                | nd                           |
|          | Hexanal*                              | 801               | 800 <sup>A</sup>  | 130                        | 0.37±0.04                    | nd                       | 33.64±5.63                   |
|          | Ethylbenzene                          | 860               | 856 <sup>D</sup>  | 136                        | nd                           | nd                       | 4.36±0.32                    |
|          | Xylene                                | 890               | 888 <sup>B</sup>  | 138                        | nd                           | nd                       | 6.17±1.00                    |
|          | Heptanal*                             | 903               | 902 <sup>A</sup>  | 153                        | 0.97±0.04                    | nd                       | 12.39±1.04                   |
|          | Octanal                               | 1004              | 999 <sup>A</sup>  | 171                        | nd                           | nd                       | 18.74±1.79                   |
|          | Benzaldehyde                          | 957               | 961 <sup>A</sup>  | 179                        | 2.08±0.40                    | nd                       | nd                           |
|          | Benzeneacetaldehyde                   | 1046              | 1043 <sup>A</sup> | 195                        | 0.74±0.11                    | nd                       | nd                           |
|          | Nonanal                               | 1105              | 1102 <sup>A</sup> | 195                        | 2.33±0.41                    | nd                       | nd                           |
|          | Undecane*                             | 1100              | 1100 <sup>A</sup> | 196                        | nd                           | 2.15±0.19                | 137.61±102.53                |
|          | Dodecane                              | 1200              | 1200 <sup>A</sup> | 216                        | nd                           | nd                       | 3.06±0.13                    |
|          | Pentadecane                           | 1500              | 1500 <sup>A</sup> | 270                        | 19.54±2.02                   | nd                       | nd                           |
|          | Heptadecane                           | 1700              | 1700 <sup>A</sup> | 302                        | 4.41±0.31                    | nd                       | nd                           |
|          | 2,6,10,14-tetramethyl-<br>pentadecane | 1705              | ND                | 296                        | 36.03±7.27                   | nd                       | nd                           |
|          | Hexadecanal                           | 1816              | 1813 <sup>D</sup> | ND                         | 14.39±3.06                   | nd                       | nd                           |
|          | Total peak area of<br>each methods*   |                   |                   |                            | 208.44±34.13 <sup>b</sup>    | 178.08±3.17 <sup>b</sup> | 6864.21±1101.75 <sup>a</sup> |

<sup>nd</sup> - Not detectable; <sup>ND</sup> - No data; <sup>AA</sup> Calculated on a HP-5 capillary column; <sup>1</sup> - RI calculated from experiment method;

<sup>2</sup> - RI from references; \* - significantly different ( $p < 0.05$ ); <sup>BB</sup> - Sigma-Aldrich Co Reproduction. (2005)



รูปที่ 2 Comparison of chemical classes and peak areas from SDE, DSE and P&T isolation.

เมื่อพิจารณาจากจุดเดือดของสารระเหยที่สกัดได้สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่มคือ 1) very light volatiles (50-100 องศาเซลเซียส), 2) light volatiles (101-150 องศาเซลเซียส), 3) volatiles (151-200 องศาเซลเซียส) และ 4) semi-volatiles (>201 องศาเซลเซียส) โดยรูปที่ 3 แสดงพื้นที่ใต้พีคของสารระเหยจำแนกตามจุดเดือดซึ่งจะพบว่าวิธี P&T นั้นสามารถสกัดสารในกลุ่ม very light volatiles และ light volatiles ได้สูงสุดเมื่อเทียบกับวิธีอื่นๆ ในขณะที่วิธี SDE สามารถสกัดสารในกลุ่ม semi-volatiles และ volatiles ได้สูงสุดเมื่อเทียบกับอีก 2 วิธีที่เหลือ สาเหตุที่วิธี P&T สามารถสกัดสารจำพวก light volatiles ได้ดีเนื่องมาจากสารระเหยของตัวอย่างจะถูกพัดและชะจากตัวอย่างด้วยก๊าซเฉื่อยมาเก็บรวบรวมไว้ที่ porous polymer trapping โดยควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่างขณะทำการสกัดไม่ให้สูงมากนัก (40-50 องศาเซลเซียส) และภายในระยะเวลาที่กำหนดก่อนที่สารระเหยที่รวบรวมไว้จะถูกวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS ดังนั้น วิธี P&T จึงสามารถสกัดสารจำพวก very light volatiles และ light volatiles ได้ดี (Wampler, 2002) ส่วนวิธี SDE นั้นประสิทธิภาพของการสกัดขึ้นอยู่กับจุดเดือดและความสามารถในการละลายของสารระเหยกับตัวทำละลาย (Parliament, 1997) ในกระบวนการสกัดโดยวิธี SDE นั้นจะมีการใช้ความร้อนสูงเข้ามาเกี่ยวข้อง ดังนั้นสารระเหยที่มีจุดเดือดสูงจึงสามารถถูกสกัดออกจากตัวอย่างได้ดีเมื่อใช้วิธีนี้ สำหรับประสิทธิภาพในการสกัดสารระเหยด้วยวิธี DSE นั้นขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของสารระเหยกับตัวทำละลาย (Parliament, 1997) ดังนั้น วิธีนี้น่าจะให้ผลดีกับการสกัดสารระเหยประเภท light volatiles และ volatiles แต่จากผลการทดลองในรูปที่ 2 แสดงให้เห็นวิธี DSE มีประสิทธิภาพในการสกัดสารระเหยจากปูทะเลได้ค่อนข้างต่ำอันอาจจะมีสาเหตุเนื่องมาจากเกิด



ขั้นตอนการสกัดจำเป็นต้องใช้อุณหภูมิสูง ซึ่งอาจก่อให้เกิด artifact ได้ (Parliament, 1997) แต่ถึงอย่างไรก็ดีสารสกัดจากปูทะเลที่ได้จากวิธี SDE ก็ให้กลิ่นของปูทะเลโดยผู้ทดสอบพึงพอใจต่อลักษณะกลิ่นของสารสกัดที่ได้ อีกทั้งมีงานวิจัยเป็นจำนวนมากที่ใช้ SDE ในการสกัดสารระเหยเพื่อศึกษาลักษณะของกลิ่นในตัวอย่าง (Stashenko, *et al.* 2004; Chung *et al.*, 2001; Park *et al.*, 2000; Chung and Cadwallader, 1993)

จากข้อดีข้อเสียของวิธีสกัดต่างๆดังกล่าวไปแล้วในเบื้องต้น ดังนั้นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารให้กลิ่นในปูทะเลคือวิธี P&T และ SDE เพราะมีประสิทธิภาพในการสกัดสารระเหยครอบคลุมทุกช่วงอุณหภูมิของจุดเดือด ประหยัด การเตรียมตัวอย่างและวิธีการสกัดไม่ซับซ้อน

## 2. การเปรียบเทียบปริมาณขององค์ประกอบสารที่ให้กลิ่นรสของปูนึ่งและปูทะเล

### 2.1 การเปรียบเทียบปริมาณของสารให้กลิ่นระหว่างปูนึ่งและปูทะเลโดยใช้ GCMS ปริมาณสารระเหยของปูนึ่งและปูทะเลจากวิธี SDE

จากผลการทดลองพบว่าการสกัดสารระเหยจากปูทะเลและปูนึ่งด้วยวิธี SDE ได้สารระเหยประมาณ 40 ชนิด โดยสามารถพิสูจน์ได้ 20 ชนิด แบ่งเป็น 9 กลุ่ม ตามตารางที่ 5 ประกอบด้วย แอลดีไฮด์ 8 ชนิด (hexanal, nonanal, tetradecanal เป็นต้น) แอลกอฮอล์ 1 ชนิด (benzylalcohol) ฟีนอล 2 ชนิด (phenol และ 2,6-bis(1,1-dimethylethyl) phenol) ไฮโดรคาร์บอน 2 ชนิด (pentadecane และ 2,6,10,14-tetramethylpentadecane) aromatic hydrocarbon 1 ชนิด (styrene) คีโตน 3 ชนิด (2,3-butanedione, 2,3-pentanedione และ 4-methyl-3-penten-2-one) เอสเทอร์ 1 ชนิด (ethyl acetate) Acid 1 ชนิด (acetic acid) และ Thiazole 1 ชนิด (2-acetylthiazole) ซึ่งสารเหล่านี้มีรายงานว่าพบในปูสกุล *Charybdis feriatus* (Chung, 1999) และยังมีรายงานว่าพบสารระเหยที่เป็นองค์ประกอบในปูทะเล และปูนึ่ง เป็นสารสำคัญโดยให้ลักษณะของกลิ่นที่จำเพาะของเนื้อปู blue crab และ Spiny lobster ซึ่งเป็นสัตว์ในกลุ่ม Crustaceans (Lee *et al.*, 2001) จากตารางที่ 5 สารระเหยประเภทแอลดีไฮด์ เป็นกลุ่มของสารระเหยที่พบเป็นจำนวนมากที่สุดโดยพบถึง 8 ชนิด ตรวจพบ hexanal (0.004-0.022 ppm), benzaldehyde (0.009-0.011 ppm) และ 3-methylbutanal (0.006-0.021 ppm) ในปูทั้งสองประเภท จากการพิจารณาสารระเหยบางชนิดที่ตรวจพบในปูทะเลแต่ไม่พบในปูนึ่งนั้นจะมีขนาดโมเลกุลที่เล็ก (จุดเดือดต่ำ) เช่น 2-methyl butanal และ nonanal ในทางตรงกันข้ามสารระเหยแอลดีไฮด์บางชนิดที่ตรวจพบได้เฉพาะในปูนึ่งนั้นจะมีขนาดโมเลกุลที่ใหญ่ (จุดเดือดสูง) เช่น octadecanal เมื่อพิจารณาสารประกอบ alkanal ที่พบในการทดลองนี้อาจเกิดจากปฏิกิริยา Maillard และ ปฏิกิริยา Strecker degradation เป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาการแตกสลาย (degradation)

§ Comparison of volatile components identified in mud crab and soft crab from SDE.

| Compound           | Odor description                        | Threshold<br>(ppm)  | RI   |      |                           | Concentration (ppm)       |                  | Identify<br>method       |
|--------------------|-----------------------------------------|---------------------|------|------|---------------------------|---------------------------|------------------|--------------------------|
|                    |                                         |                     | HP-5 | FFAP |                           | Mud crab                  | Soft crab        |                          |
| <u>aldehyde</u>    |                                         |                     |      |      |                           |                           |                  |                          |
| -methylbutanal     | malty, dark chocolate <sup>h</sup>      | 0.003 <sup>a</sup>  |      | 912  |                           | 0.010±0.002 <sup>ab</sup> | nd <sup>ab</sup> | RI <sup>m</sup> , MS     |
| -methylbutanal     | malty, dark chocolate <sup>h</sup>      | 0.0002 <sup>a</sup> | 652  | 927  | 0.021±0.006 <sup>aa</sup> | 0.006±0.002 <sup>aa</sup> |                  | RI <sup>h</sup> , MS     |
| exanal             | grass, tallow, fat, rancid <sup>i</sup> | 0.064 <sup>c</sup>  | 801  | 1077 | 0.022±0.027 <sup>ab</sup> | 0.004±0.001 <sup>ab</sup> |                  | RI <sup>i</sup> , MS     |
| enzaldehyde        | almond, burnt sugar <sup>i</sup>        | 0.35 <sup>a</sup>   | 960  | 1518 | 0.011±0.007 <sup>ab</sup> | 0.009±0.003 <sup>ab</sup> |                  | RI <sup>i</sup> , MS, AU |
| enzeneacetaldehyde | rosy odor <sup>k</sup>                  | 0.004 <sup>a</sup>  | 1042 | 1631 | nd <sup>aa</sup>          | 0.009±0.003 <sup>aa</sup> |                  | RI <sup>i</sup> , MS     |
| onanal             | tallow, fruity <sup>i</sup>             | 0.1 <sup>c</sup>    | 1105 | 1410 | 0.005±0.003 <sup>ab</sup> | nd <sup>ab</sup>          |                  | RI <sup>i</sup> , MS, AU |
| tridecanal         | fruity-citrusy odor <sup>j</sup>        | 0.067 <sup>c</sup>  | 1613 | 2128 | 0.062±0.077 <sup>ab</sup> | nd <sup>ab</sup>          |                  | RI <sup>i</sup> , MS     |
| tridecanal         |                                         |                     |      | 2470 | nd <sup>ab</sup>          | 1.375±0.243 <sup>ab</sup> |                  | MS                       |
| <u>alcohol</u>     |                                         |                     |      |      |                           |                           |                  |                          |
| enzylalcohol       | burning, faint aromatic <sup>c</sup>    | 100 <sup>c</sup>    |      | 1682 | 0.015±0.005 <sup>ab</sup> | nd <sup>ab</sup>          |                  | MS                       |

5 (b) Comparison of volatile components identified in mud crab and soft crab from SDE.

| Compound                         | Odor description           | Threshold<br>(ppm)  | RI   |      |  | Concentration (ppm)       |                           | Identify<br>method       |
|----------------------------------|----------------------------|---------------------|------|------|--|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
|                                  |                            |                     | HP-5 | FFAP |  | Mud crab                  | Soft crab                 |                          |
| phenol                           | phenol-like <sup>i</sup>   | 5.5 <sup>o</sup>    |      | 2008 |  | 0.002±0.002 <sup>ab</sup> | nd <sup>ab</sup>          | MS                       |
| 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenol |                            |                     | 1623 |      |  | 0.193±0.024 <sup>aa</sup> | 0.130±0.027 <sup>aa</sup> | MS                       |
| <u>Hydrocarbon</u>               |                            |                     |      |      |  |                           |                           |                          |
| pentadecane                      | alkane                     |                     | 1500 | 1500 |  | 0.042±0.004 <sup>aa</sup> | nd <sup>aa</sup>          | RJ <sup>i</sup> , MS, AU |
| 2,6,10,14-tetramethylpentadecane | floral, woody <sup>a</sup> |                     | 1903 | 1672 |  | 0.142±0.014 <sup>ab</sup> | nd <sup>ab</sup>          | MS                       |
| <u>Aromatic hydrocarbon</u>      |                            |                     |      |      |  |                           |                           |                          |
| styrene                          | sweet smell <sup>i</sup>   | 0.0036 <sup>d</sup> | 884  |      |  | nd <sup>aa</sup>          | 0.014±0.016 <sup>aa</sup> | RJ <sup>i</sup> , MS     |
| <u>ketone</u>                    |                            |                     |      |      |  |                           |                           |                          |
| ,3-butanedione                   | buttery <sup>j</sup>       | 0.003 <sup>a</sup>  |      | 981  |  | 0.024±0.011 <sup>ab</sup> | 0.036±0.005 <sup>ab</sup> | RJ <sup>m</sup> , MS, AU |
| ,3-pentanedione                  | cream, butter <sup>j</sup> | 0.021 <sup>a</sup>  | 700  | 1060 |  | nd <sup>ab</sup>          | 0.018±0.003 <sup>ab</sup> | RJ <sup>i</sup> , MS     |
| -methyl-3-penten-2-one           |                            |                     |      | 1129 |  | 0.008±0.001 <sup>ab</sup> | nd <sup>ab</sup>          | MS                       |

Table 1. Comparison of volatile components identified in mud crab and soft crab from SDE.

| Compound      | Odor description                 | Threshold (ppm)   | RI   |      | Concentration (ppm)       |                           | Identify method          |
|---------------|----------------------------------|-------------------|------|------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
|               |                                  |                   | HP-5 | FFAP | Mud crab                  | Soft crab                 |                          |
| ethyl acetate | fruity, brandy-like <sup>j</sup> | 5.9 <sup>b</sup>  | 806  | 888  | 0.091±0.023 <sup>ab</sup> | 0.103±0.024 <sup>ab</sup> | RI <sup>i</sup> , MS, AU |
| acetic acid   | sour <sup>i</sup>                | 100 <sup>f</sup>  | 600  | 1445 | 0.009±0.001 <sup>ab</sup> | 0.014±0.003 <sup>ab</sup> | RI <sup>i</sup> , MS, AU |
| thiazole      | popcorn, chocolate <sup>p</sup>  | 0.01 <sup>g</sup> | 1020 | 1640 | 0.020±0.009 <sup>ab</sup> | 0.113±0.035 <sup>ab</sup> | RI <sup>i</sup> , MS     |

Table; <sup>RI</sup> - Retention Index; <sup>MS</sup> - Mass spectra; <sup>AU</sup> - Authentic Compound; <sup>aa</sup> - calculated from HP-5 column; <sup>ab</sup> - calculated from FFAP capillary column; <sup>y</sup> different (P < 0.05); <sup>1</sup> - Adams (1995); <sup>2</sup> - Buttery and Ling (1995); <sup>3</sup> - Piggott and Findlay (1984); <sup>4</sup> - Tamura *et al.* (1993); <sup>5</sup> - Anonymous (2003); <sup>6</sup> - Losen and Pol (1992); <sup>7</sup> - Buttery *et al.* (1994); <sup>8</sup> - Lee *et al.* (2001); <sup>9</sup> - Acree and Heinrich (2003); (1969); <sup>10</sup> - Chung (2000); <sup>11</sup> - Anonymous (2004); <sup>12</sup> - Rychlik *et al.* (1998); <sup>13</sup> - Tanchotikul and Hsieh (1989); <sup>14</sup> - Chatonnet *et al.* (1992); <sup>15</sup> - Baek and Cadwallader (1996)

nonanal ซึ่ง Strecker degradation เป็นปฏิกิริยาในการสร้างกลิ่นที่สำคัญในอาหารทะเลสด (Shahidi, 1998) โดย 2-methylbutanal และ 3-methylbutanal นั้นเป็น Strecker aldehyde ซึ่งสร้างมาจากกรดอะมิโนชนิด leucine (Macleod, 1998)

จากผลการทดลองพบกลุ่มของสารประกอบไฮโดรคาร์บอน ซึ่งตรวจพบในปู blue crab (Chung and Cadwallader, 1993) ซึ่งโดยปกติแล้วสารประกอบกลุ่มดังกล่าวไม่มีผลต่อกลิ่นโดยรวมในอาหารทะเล แต่พบว่าสารประกอบกลุ่ม branched alkane (2,6,10,14-tetramethylpentadecane) มีรายงานพบในผลิตภัณฑ์พิเศษเหลือจากกุ้ง (Tanchotikul and Hsieh, 1989) และจากผลการทดลองสามารถพบสารระเหยชนิดนี้ปริมาณ 0.142 ppm ในปูทะเล แต่ไม่พบในปูน้ำจืด

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารระเหยประเภทแอลกอฮอล์บางชนิดที่พบเฉพาะในปูทะเลแต่ไม่พบในปูน้ำจืด เช่น benzyl alcohol (0.015 ppm) และ phenol (0.002 ppm) เป็นสารระเหยที่อาจเกิดจากการสลายตัวจาก secondary hydroperoxides ของกรดไขมัน (Tanchotikul and Hsieh, 1989) สารประกอบกลุ่มแอลกอฮอล์ไม่ค่อยมีความสำคัญมากนัก เนื่องจากสารประกอบกลุ่มแอลกอฮอล์เป็นสารที่มีค่า odor threshold ค่อนข้างสูง โดยมีค่าเท่ากับ 10 ppm สำหรับ benzyl alcohol (Buttery *et al.*, 1988) และ 5.5 ppm สำหรับ phenol (Chatonnet *et al.* 1992) จึงไม่ใช่สารระเหยที่สร้างกลิ่นของผลิตภัณฑ์นั้นๆ เพราะว่าปริมาณของ benzyl alcohol และ phenol ที่พบนั้นมีค่าต่ำกว่า odor threshold หรือหากจะแสดง/สร้างกลิ่นออกมาก็ต้องมีความเข้มข้นสูงกว่า odor threshold ของสารชนิดนั้น (Heath and Reineccius, 1986)

สารระเหยกลุ่มคีโตนที่พบในการศึกษาครั้งนี้ อาจเกิดจากปฏิกิริยาการสลายตัวหรือปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยความร้อน (thermal oxidation) ของ polyunsaturated fatty acids หรืออาจเกิดจากการสลายตัวจากกรดอะมิโน (Chung and Cadwallader, 1994) สารที่พบในปูทะเล และปูน้ำจืด คือ 2,3-butanedione พบปริมาณที่ใกล้เคียงกัน คือ 0.024 และ 0.036 ppm ตามลำดับ อีกทั้งยังตรวจพบ 4-methyl-3-penten-2-one ในปูทะเล และ 2,3-pentanedione ในปูน้ำจืด ซึ่งสารประกอบดังกล่าวเป็นสารระเหยที่ให้กลิ่นในอาหารทะเลสด โดยเป็นผลมาจากปฏิกิริยา maillard reaction ซึ่งเคยมีผู้รายงานว่าพบสารประกอบดังกล่าวใน กุ้งสด และ ปูสด (Chung and Cadwallader, 1994)

ethyl acetate เป็นสารระเหยที่ตรวจพบได้ทั้งตัวอย่างปูทะเล (0.091 ppm) และปูน้ำจืด (0.103 ppm) ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นหอมหวาน เป็นสารประกอบที่เกิดจากปฏิกิริยา esterification ระหว่างสารประกอบกลุ่ม carboxylic และกลุ่มแอลกอฮอล์ ซึ่งอาจถูกสร้างมาจากปฏิกิริยา fermentation หรือ ปฏิกิริยา lipid metabolism (Peterson and Chang, 1982) เมื่อพิจารณาปริมาณของสารระเหยดังกล่าว อาจไม่ส่งผลกับการให้กลิ่น เนื่องจากค่า odor threshold ของสารระเหยนี้มีค่าสูง (5.9 ppm; Buttery, 1981) จึงไม่น่าที่จะมีผลต่อกลิ่นในปูทั้งสองชนิด

สารประกอบ 2-acethylthiazole เป็นสารประกอบให้กลิ่นคล้าย popcorn ซึ่งมีรายงานว่าพบใน Spiny lobster และ Tiger prawn (Pan *et.al.*, 1997) ซึ่งสารประกอบนี้สร้างจากปฏิกิริยา thermal degradation ของกรดอะมิโน cysteine หรือ cystine หรือ อาจเกิดจากการทำปฏิกิริยากันระหว่างกรดอะมิโนที่มีส่วนประกอบของกำมะถัน กับ กลุ่มสารประกอบ carbonyl compound ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าปูนี้มีปริมาณของสารนี้ (0.113 ppm) มากกว่า ปูทะเล (0.02 ppm) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

Acetic acid เป็นสารประกอบที่ให้กลิ่นเปรี้ยว เป็นกรดชนิดเดียวเท่านั้นที่พบทั้งปูทะเล (0.009 ppm) และปูนิ่ม (0.014 ppm) สารประกอบนี้ไม่มีผลต่อกลิ่นในปูทะเล และปูนิ่ม เนื่องจากพบในปริมาณที่น้อยกว่า threshold ของสารชนิดนี้เอง โดยค่า Odor threshold เท่ากับ 100 ppm (Manning and Robinson, 1973) ซึ่งถือว่าสูงมาก

#### ปริมาณสารระเหยจากปูทะเลและปูนิ่มโดยวิธี Purge and Trap Analysis (P&T)

ผลการทดลองจากการสกัดสารระเหยด้วยวิธี P&T โดยสามารถพิสูจน์ได้ 21 ชนิด แบ่งเป็น 8 กลุ่ม ตามตารางที่ 6 ประกอบด้วย แอลดีไฮด์ 3 ชนิด (pentanal, hexanal และ nonanal), , ไฮโดรคาร์บอน 5 ชนิด (hexane, heptane, octane, undecane และ dodecane), aromatic hydrocarbon 3 ชนิด (ethylbenzene, xylene และ styrene), แอลกอฮอล์ 2 ชนิด (1-penten-3-ol และ 1-octen-3-ol), คีโตน 3 ชนิด (2-pentanone, cyclohexanone และ 6-methyl-5-hepten-2-one), เอสเทอร์ 2 ชนิด (methyl acetate และ ethyl acetate), acid 1 ชนิด (acetic acid), terpene 1 ชนิด (limonene) และ สารประกอบที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ 1 ชนิด (dimethyldisulfide)

xylene และ styrene เป็นสารประกอบในกลุ่ม aromatic hydrocarbon ซึ่งพบว่า styrene เป็นสารประกอบให้กลิ่นหอมหวาน (Buttery, 1993) สารดังกล่าวมีปริมาณในปูนิ่มมากกว่าปูทะเลอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) คือ 0.0091 และ 0.0007 ppm ตามลำดับ

1-penten-3-ol และ 1-octen-3-ol อาจเป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาการแตกสลาย ของ lenoleic acid hydroperoxides (Josephson *et al.*, 1983) ซึ่งมีการรายงานว่าเป็นสารประกอบกลุ่มแอลกอฮอล์ที่ระเหยได้และเป็นกลุ่มหลักที่ตรวจพบได้ใน หอยนางรม, กุ้ง, กุ้ง และปูทะเล (Tanchotikul and Hsieh, 1991) จากการทดลองพบ 1-penten-3-ol ในปูนิ่ม (0.0048 ppm) และ 1-octen-3-ol (0.0044 ppm) ในปูทะเล ซึ่ง 1-octen-3-ol น่าจะมีส่วนที่ทำให้เกิดกลิ่นหอมหวานในปูทะเล เนื่องจากมีค่า Odor threshold ที่ต่ำมาก (0.001 ppm; Buttery and Ling, 1995)

6 Comparison of volatile components identified in mud crab and soft crab by purge and trap analysis

| Compound    | Odor description                        | Odor threshold     |      | RI   |                             | Concentration (ppm)         |  | Identify                 |
|-------------|-----------------------------------------|--------------------|------|------|-----------------------------|-----------------------------|--|--------------------------|
|             |                                         | (ppm)              | HP-5 | FFAP | Mud crab                    | Soft crab                   |  |                          |
| Aldehyde    |                                         |                    |      |      |                             |                             |  |                          |
| pentanal    | woody, fruity almond, malt <sup>o</sup> | 0.012 <sup>a</sup> | 706  |      | 0.0084±0.0036 <sup>aa</sup> | nd                          |  | RI <sup>1</sup> , MS     |
| hexanal*    | grass, tallow, fat, rancid <sup>i</sup> | 0.064 <sup>c</sup> | 801  | 1077 | 0.0161±0.0070 <sup>aa</sup> | 0.0011±0.0009 <sup>aa</sup> |  | RI <sup>1</sup> , MS     |
| nonanal     | tallow, fruity <sup>i</sup>             | 0.1 <sup>c</sup>   | 1105 | 1410 | 0.0011±0.0003 <sup>ab</sup> | 0.0012±0.0006 <sup>ab</sup> |  | RI <sup>1</sup> , MS, AU |
| Hydrocarbon |                                         |                    |      |      |                             |                             |  |                          |
| hexane      | alkane <sup>i</sup>                     | 10 <sup>c</sup>    | 600  | 600  | nd                          | 0.0158±0.0014 <sup>aa</sup> |  | RI <sup>1</sup> , MS, AU |
| heptane     | alkane <sup>i</sup>                     | 50 <sup>c</sup>    | 700  | 700  | 0.0005±0.0001 <sup>ab</sup> | 0.0002±0.0002 <sup>ab</sup> |  | RI <sup>1</sup> , MS, AU |
| octane      | alkane <sup>i</sup>                     | 10 <sup>c</sup>    | 800  | 800  | 0.0008±0.0003 <sup>ab</sup> | 0.0005±0.0004 <sup>ab</sup> |  | RI <sup>1</sup> , MS, AU |
| undecane*   | alkane <sup>i</sup>                     | 10 <sup>c</sup>    | 1100 | 1100 | 0.0065±0.0010 <sup>ab</sup> | 0.0021±0.0006 <sup>ab</sup> |  | RI <sup>1</sup> , MS, AU |
| dodecane    | alkane <sup>i</sup>                     | 10 <sup>c</sup>    | 1200 | 1200 | 0.0041±0.0036 <sup>ab</sup> | 0.0020±0.0019 <sup>ab</sup> |  | RI <sup>1</sup> , MS, AU |

(48) Comparison of volatile components identified in mud crab and soft crab by purge and trap analysis

| Compound               | Odor description                                  | Odor threshold<br>(ppm) | RI   |      | Concentration (ppm)         |                             | Identify             |
|------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------|------|------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------|
|                        |                                                   |                         | HP-5 | FFAP | Mud crab                    | Soft crab                   |                      |
| Aromatic Hydrocarbon   |                                                   |                         |      |      |                             |                             |                      |
| ethylbenzene           |                                                   | 0.1 <sup>e</sup>        | 854  | 1113 | 0.0033±0.0010 <sup>ab</sup> | 0.0014±0.0006 <sup>ab</sup> | MS                   |
| geraniol*              | geranium <sup>i</sup>                             | 1 <sup>e</sup>          | 863  | 1164 | 0.0025±0.0003 <sup>ab</sup> | 0.0016±0.0007 <sup>ab</sup> | RI <sup>i</sup> , MS |
| geranyl acetate*       | sweet smell <sup>i</sup>                          | 0.0036 <sup>d</sup>     | 884  | 1324 | 0.0007±0.0005 <sup>ab</sup> | 0.0091±0.0006 <sup>ab</sup> | RI <sup>i</sup> , MS |
| Alcohol                |                                                   |                         |      |      |                             |                             |                      |
| penten-3-ol            | fruity <sup>m</sup>                               | 0.4 <sup>a</sup>        | 680  |      | nd                          | 0.0048±0.0023 <sup>aa</sup> | MS                   |
| octen-3-ol             | mushroom, fruity <sup>s</sup>                     | 0.001 <sup>a</sup>      | 979  |      | 0.0044±0.0017 <sup>aa</sup> | nd                          | RI <sup>i</sup> , MS |
| Ketone                 |                                                   |                         |      |      |                             |                             |                      |
| pentanone              | ether, fruity <sup>i</sup>                        | 1.6 <sup>f</sup>        |      | 978  | 0.0017±0.0004 <sup>ab</sup> | nd                          | MS                   |
| 2-hexanone*            | minty-camphoraceous,<br>solvent like <sup>j</sup> | 0.28 <sup>f</sup>       | 888  |      | 0.0070±0.0001 <sup>aa</sup> | 0.0020±0.0001 <sup>aa</sup> | MS                   |
| 2-ethyl-5-hepten-2-one |                                                   | 1 <sup>e</sup>          |      | 1389 | 0.0004±0.0001 <sup>ab</sup> | 0.0003±0.0002 <sup>ab</sup> | MS                   |



สารประกอบในกลุ่มคีโตน อาจเป็นผลผลิตจากปฏิกิริยา oxidation ของไขมัน (Mottram, 1991) สารระเหยกลุ่มนี้ที่พบในปุ๋ยมะเขีประคบด้วย 2-pentanone, cyclohexanone, 6-methyl-5-hepten-2-one โดยพบในปริมาณระหว่าง 0.0004- 0.007 ppm ในขณะที่ไม่พบ 2-pentanone ในปุ๋ยมะเขี แต่ cyclohexanone และ 6-methyl-5-hepten-2-one ซึ่งมีปริมาณ 0.002 และ 0.0003 ppm ตามลำดับสารประกอบกลุ่มนี้เป็นสารที่เป็นกลิ่นพื้นฐานของกลิ่นเนื้อในอาหาร (Hodge, 1967) แต่จากการทดลองสารระเหยกลุ่มนี้อาจไม่มีผลต่อการสร้างกลิ่นในปุ๋ยมะเขี และปุ๋ยมะเขีเนื่องจากมีปริมาณน้อยกว่า odor threshold ของสารเหล่านี้เอง โดย odor threshold ของสารกลุ่มคีโตนกลุ่มนี้ได้แสดงไว้ในตารางที่ 6

สารระเหยกลุ่ม ester ประกอบด้วย methyl acetate และ ethyl acetate เป็นสารที่ให้กลิ่นหอมหวาน และ กลิ่นคล้ายผลไม้ (Burdock, 1995) ซึ่งพบในปุ๋ยมะเขี และปุ๋ยมะเขี โดยปริมาณของ methyl acetate ที่ตรวจวัดได้นั้นมีประมาณ 0.0009-0.0016 ppm ในขณะที่ ethyl acetate พบมีปริมาณอยู่ระหว่าง 0.0017-0.0023 ppm ซึ่งสารระเหยทั้ง 2 ชนิดนี้อาจไม่ส่งผลต่อกลิ่นในปุ๋ยมะเขี และปุ๋ยมะเขี เนื่องจากสารระเหยทั้งสองชนิดมีค่า odor threshold (1.5 และ 5.9 ppm) สูงกว่าปริมาณของสารทั้ง 2 ที่พบในปุ๋ยมะเขี และปุ๋ยมะเขี

#### ค่า Odor unit (U<sub>o</sub>) ขององค์ประกอบสารระเหยในปุ๋ยมะเขีและปุ๋ยมะเขี

จากข้อมูลของ odor threshold ที่แสดงในตารางที่ 5 และ 6 สารที่มีระดับ Odor threshold ในระดับต่ำ คือมีค่าอยู่ระหว่าง 0.0002-0.004 ppm คือ 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, 2,3-butanedione, benzeneacetaldehyde, styrene และ 1-octen-3-ol โดย 3-methylbutanal และ 2-methylbutanal ให้ลักษณะกลิ่นที่คล้าย มอลต์ และ ช็อคโกแลต, ส่วน 2,3-butanedione ให้ลักษณะกลิ่นที่คล้ายเนย, styrene นั้นให้ลักษณะกลิ่นหอมหวาน, benzeneacetaldehyde ให้ลักษณะกลิ่นแบบกุหลาบ, ในขณะที่ 1-octen-3-ol ให้ลักษณะกลิ่นที่คล้ายผลไม้ ส่วนสารระเหยที่มีระดับ odor threshold สูงขึ้นมา คือประมาณ 0.01 ppm เช่น 2-acetylthiazole โดยสารระเหยชนิดนี้ให้ลักษณะกลิ่นคล้ายข้าวโพดคั่ว สารระเหยที่มี Odor threshold ต่ำเหล่านี้ คาดว่าจะเป็นสารระเหยที่ทำให้เกิดกลิ่นในปุ๋ยมะเขีและปุ๋ยมะเขี

จากทฤษฎีของ odor unit (U<sub>o</sub>) สารระเหยชนิดใดที่มีค่า U<sub>o</sub> มากกว่า 1 สารระเหยชนิดนั้นจะสามารถส่งกลิ่นออกมาจนผู้ทดสอบสามารถรับรู้ถึงกลิ่นของสารระเหยชนิดนั้นได้ จากข้อมูลในตารางที่ 7 และ 8 พบว่า 3-methylbutanal, 2-acetylthiazole และ 2,3-butanedione เป็นสารที่สำคัญที่อาจจะสร้างกลิ่น (มอลต์, ช็อคโกแลต, ข้าวโพดคั่ว และ เนย) ซึ่งพบในปุ๋ยมะเขีและปุ๋ยมะเขี โดยที่

กุ้ง American lobster (Lee *et al.*, 2001) ส่วนสารระเหยที่ให้กลิ่นในปูน้ำจืดและปูทะเลแรงรองลงมาในการทดลองนี้คือ 2,3-butanedione โดยมีค่า  $U_o$  เท่ากับ 12 และ 8 ตามลำดับ มีรายงานว่า สารระเหยคีโตนชนิดนี้เป็นสารสำคัญที่สร้างกลิ่นในเนื้อปู blue crab และเนื้อ Spiny lobster (Chung *et al.*, 1995 และ Cadwallader, *et al.*, 1995) ในขณะเดียวกัน 2-acethylthiazole สามารถพบในปูทั้ง 2 ประเภทนี้โดยที่มีค่า  $U_o$  อยู่ระหว่าง 2-11 มีรายงานว่าสารระเหยชนิดนี้เป็นสารสำคัญที่สร้างกลิ่นในเนื้อกุ้ง American lobster และ Spiny lobster (Lee *et al.*, 2001 และ Cadwallader *et al.*, 1995) อย่างไรก็ตามมีองค์ประกอบของสารระเหยที่ให้กลิ่นซึ่งพบได้เฉพาะในเนื้อปูทะเลหนึ่งสปีชีส์แต่ไม่พบในเนื้อปูน้ำจืดสปีชีส์คือ 2-methyl butanal และ 1-octen-3-ol โดยสารทั้ง 2 ชนิดนี้มีค่า  $U_o$  ประมาณ 3.0-4.4 ซึ่งจะให้กลิ่นคล้าย ช็อคโกแลต และผลไม้ ในทางตรงกันข้ามก็มีสารระเหยที่ให้กลิ่นซึ่งพบได้เฉพาะในเนื้อปูน้ำจืดสปีชีส์แต่ไม่พบในเนื้อปูทะเลหนึ่งสปีชีส์คือ styrene และ benzeneacetaldehyde โดยสารทั้ง 2 ชนิดนี้มีค่า  $U_o$  ประมาณ 2.0-4.0 ซึ่งสารเหล่านี้จะให้กลิ่นหอมคล้ายผลไม้ และดอกไม้ การที่องค์ประกอบของสารระเหยที่ให้กลิ่นในปูทะเลและปูน้ำจืดมีค่า  $U_o$  ที่แตกต่างกัน และชนิดไม่เหมือนกันอาจส่งผลให้ลักษณะของกลิ่นที่จำเพาะของปูทั้ง 2 ประเภทนี้แตกต่างกัน

**ตารางที่ 7** Odor unit of positive identified volatiles in mud crab.

| Compound          | Odor description                   | $U_o$              |
|-------------------|------------------------------------|--------------------|
| 3-methylbutanal   | malty, dark chocolate <sup>a</sup> | 105 <sup>aa</sup>  |
| 2,3-butanedione   | buttery <sup>b</sup>               | 8 <sup>aa</sup>    |
| 1-octen-3-ol      | fruity, mushroom <sup>c</sup>      | 4.4 <sup>bb</sup>  |
| 2-methylbutanal   | malty, dark chocolate <sup>a</sup> | 3.33 <sup>aa</sup> |
| 2-acethylthiazole | popcorn <sup>b</sup>               | 2 <sup>aa</sup>    |
| Total $U_o$ value |                                    | 122.73             |

<sup>aa</sup>-คำนวณจากวิธีการสกัดแบบ SDE; <sup>bb</sup>-คำนวณจากวิธีการสกัดแบบ P&T

<sup>a</sup>-Lee *et al.* (2001); <sup>b</sup>- Arctander (1969); <sup>c</sup>- Leffingwell (2002)

**ตารางที่ 8** Odor unit of positive identified volatile compounds in soft crab.

| Compound                   | Odor description                   | U <sub>o</sub>     |
|----------------------------|------------------------------------|--------------------|
| 3-methylbutanal            | malty, dark chocolate <sup>a</sup> | 30 <sup>aa</sup>   |
| 2,3-butanedione            | buttery <sup>b</sup>               | 12 <sup>aa</sup>   |
| 2-acethylthiazole          | popcorn <sup>b</sup>               | 11.3 <sup>aa</sup> |
| styrene                    | sweet, grassy <sup>c</sup>         | 3.89 <sup>aa</sup> |
| benzeneacetaldehyde        | rosy odor <sup>d</sup>             | 2.25 <sup>aa</sup> |
| Total U <sub>o</sub> value |                                    | 59.44              |

<sup>a</sup>-คำนวณจากวิธีการสกัดแบบ SDE

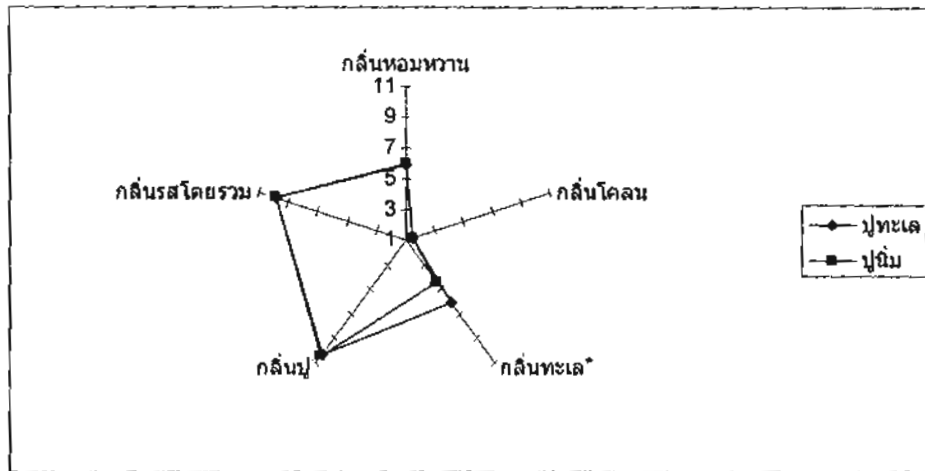
-Lee *et al.* (2001); <sup>b</sup> - Arctander (1969) ; <sup>c</sup> - Anonymous (2004); <sup>d</sup> - Chung *et al.* (2000)

#### การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ triangle difference test แสดงในตารางที่ 9 พบว่าผู้ทดสอบสามารถแยกความแตกต่าง ( $p < 0.01$ ) ของสารสกัดระหว่างปูทะเลและปูนิมได้ เมื่อทำการทดสอบเชิงพรรณนา (QDA) ผู้ทดสอบสามารถรับรู้กลิ่นต่างๆ ในปูได้ดังนี้คือ กลิ่นหอมหวาน, กลิ่นปู, กลิ่นโคลน, กลิ่นทะเล และ กลิ่นรสโดยรวมของปู ซึ่งผลของการทดสอบได้แสดงใน รูปที่ 4 ค่าเฉลี่ยของกลิ่นรสโดยรวมและกลิ่นปูมีค่าความเข้มข้นสูงสุด รองลงมาคือ ค่าเฉลี่ยของกลิ่นทะเล และ กลิ่นหอมหวาน และที่น้อยที่สุดจนแทบไม่สามารถได้กลิ่นเลยคือกลิ่นโคลน เมื่อประมวลผลการทดลองด้วยวิธีทางสถิติพบว่ากลิ่นทะเลมีความแตกต่างกันระหว่างปูทะเล และปูนิมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยที่ปูทะเลมีค่าความเข้มข้นของกลิ่นทะเลสูงกว่าปูนิม ส่วนกลิ่นและกลิ่นรสอื่นๆ ไม่มี ความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อพิจารณาจากค่า U<sub>o</sub> และ Odor description ในตารางที่ 7 และ 8 จะพบว่าองค์ประกอบของสารระเหยที่มีค่า U<sub>o</sub> > 1 นั้นส่วนใหญ่จะมีกลิ่นที่หอมหวาน เช่น 3-methylbutanal, 2,3-butanedione, 2-methylbutanal, styrene และ benzeneacetaldehyde การเหล่านี้อาจจะมีส่วนสร้างกลิ่นหอมหวานในปูทะเลและปูนิม ในขณะที่สารอื่น เช่น 2-acethylthiazole และ 1-octen-3-ol อาจจะมีส่วนช่วยให้เกิดกลิ่นปูและกลิ่นรสโดยรวมของปูทะเล และปูนิม

ตารางที่ 9 การแยกความแตกต่างระหว่างปูทะเล และปูนิ่ม โดยวิธี Triangle.

| ชนิดตัวอย่าง              | จำนวนผู้<br>ทดสอบทั้งหมด | จำนวนผู้สามารถแยก<br>ความแตกต่างได้ | จำนวนน้อยที่สุดที่ยอมรับว่า<br>แตกต่าง | ระดับนัยสำคัญ |
|---------------------------|--------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------|---------------|
| สารละลายสกัด<br>จากปูทะเล | 11                       | 9                                   | 8                                      | $p < 0.01$    |



รูปที่ 4 Flavor profiles of mud crab and soft crab compared using QDA method.

\* - significantly different ( $p < 0.05$ )

## 2.2 การเปรียบเทียบปริมาณของสารที่ให้รสชาติของปูนิ่มและปูทะเล

### ปริมาณ Free Amino Acid (FAA) ในเนื้อปูทะเลและปูนิ่มต้มสุก

จากการทดลองของ Hayashi *et al.* (1981) ได้แสดงให้เห็นว่า alanine (Ala), glutamic acid (Glu), glycine (Gly) และ arginine (Arg) เป็น amino acid ที่สำคัญสำหรับการสร้างรสชาติของปู snow crab ต้ม โดยที่ amino acid เหล่านี้จะให้รสหวานและรสอร่อย (umami) (Kato *et al.*, 1989) amino acid ทั้ง 4 ชนิดนี้ (Ala, Glu, Gly และ Arg) ถูกวัดอยู่ในรูปของ free amino acid (FAA) เพราะรสชาติที่เกิดจาก FAA จะมีความเข้มข้นมากกว่ารสชาติที่เกิดจากพวก peptide (รวีพิมพ์ และ ประพันธ์, 2537; Kimizuka, *et al.*, 1963) อีกทั้ง Chiou และ Huang (2003) รายงานว่า FAA เช่น Ala, Glu, Gly และ Arg อาจเป็นสารสำคัญที่สร้างรสชาติของปูทะเล (*Scylla serrata*) จากตารางที่ 10 ปริมาณ Total FAA ในปูทะเล และปูนิ่มแตกต่างกันมีนัยสำคัญ ( $p < 0.01$ ) โดยปริมาณ Total FFA ในปูทะเลและปูนิ่มเท่ากับ 3130.73 และ 2190.99 mg/100g ตามลำดับ มีรายงานว่าปริมาณ FAA ในเนื้อปูทะเลอยู่ระหว่าง 2134-3023 mg/100g ซึ่งขึ้นกับฤดูกาลและเพศ (Chien *et al.*, 2011)

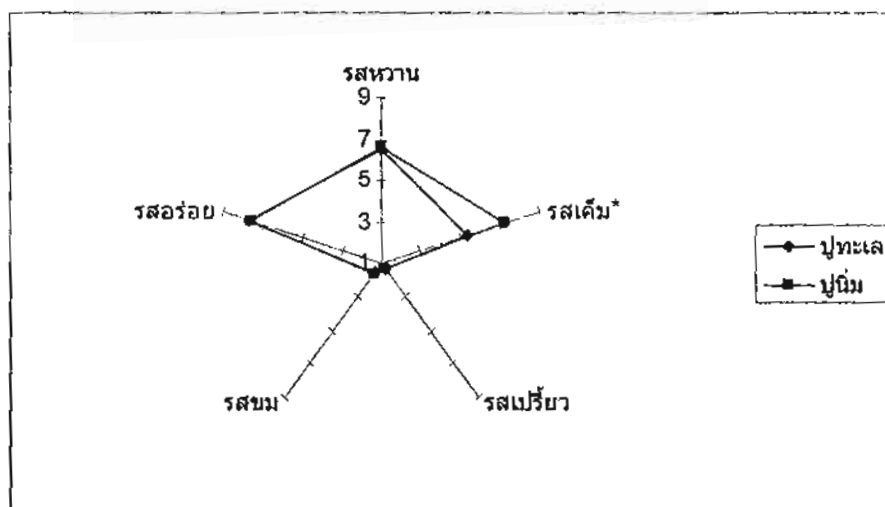
Alaska crab โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 1950-3252 mg/100g (Konosu *et al.*, 1978) ข้อมูลในตารางที่ 10 แสดงถึงปริมาณ Ala, Glu, Gly และ Arg ในปูทะเลมีประมาณ 66% เมื่อเทียบกับ Total FAA ในขณะที่ปริมาณ FAA ทั้ง 4 ชนิดนี้คิดเป็น 55% จาก Total FAA ในปูนึ่ง เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ Ala, Glu, Gly และ Arg แต่ละชนิดที่ประกอบอยู่ในเนื้อปูทะเลและปูนึ่งพบว่า FFA ทั้ง 4 ชนิดนี้มีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในปูทะเลจะมีปริมาณ Glu, Gly และ Arg มากกว่าปูนึ่ง ( $p < 0.01$ ) ในขณะที่ปริมาณ Ala ที่พบในปูนึ่งมีปริมาณมากกว่าปูทะเล ( $p < 0.05$ ) โดยปูทะเลมี Gly ในปริมาณสูงสุด (1004 mg/100g) รองลงมาคือ Arg (714 mg/100g) และ ที่น้อยที่สุดคือ Glu (61 mg/100g) ตรงกันข้ามกับปูนึ่งที่ประกอบด้วย Arg ในปริมาณสูงสุด 437 mg/100g รองลงมาคือ Gly (391 mg/100g) และ Ala (316 mg/100g) ตามลำดับ

หลักการของ Taste Active Value (TAV) คือถ้าองค์ประกอบเคมีชนิดใดมีค่า TAV เกิน 1 แสดงว่าผู้ทดสอบควรจะสามารถรับรู้ถึงรสชาติขององค์ประกอบเคมีชนิดนั้น (Warmke *et al.*, 1996; Schlichtherle-Cerny and Grosch, 1998) เมื่อพิจารณาค่า TAV ในปูทะเลพบว่า Arg ให้ค่า TAV สูงที่สุด (14.28) รองลงมาคือ Gly (7.73), Ala (4.83) และ Glu (2.03) ตามลำดับ สำหรับปูนึ่งกลับให้ผลที่คล้ายกันคือ Arg มีค่า TAV สูงที่สุดคือมีค่าเท่ากับ 9.47 รองลงมาคือ Ala (5.28), Gly (3.01) และ Glu (0.9) สรุปได้ว่า Glu, Arg, Gly และ Ala นั้นเป็น FAA ที่สำคัญโดยอาจมีส่วนสร้างรสอร่อยและรสหวานในปูทะเล ในขณะที่ Arg, Ala และ Gly เป็น FAA ที่สำคัญโดยอาจมีส่วนสร้างรสหวานในปูนึ่ง

**ตารางที่ 10** Free amino acid level in mud crab and soft crab.

| Amino acids                    | Free Amino Acid<br>(mg/100g) |           | Free Amino Acid (ppm) |           | Threshold value<br>(ppm) and taste of free<br>amino acids in water <sup>1</sup> |       | Taste Active Value <sup>2</sup> |           |
|--------------------------------|------------------------------|-----------|-----------------------|-----------|---------------------------------------------------------------------------------|-------|---------------------------------|-----------|
|                                | Mud crab                     | Soft crab | Mud crab              | Soft crab |                                                                                 |       | Mud crab                        | Soft Crab |
| Glu**                          | 61.07                        | 27.64     | 610.74                | 276.38    | 300                                                                             | Umami | 2.03                            | 0.9       |
| Gly**                          | 1004.65                      | 391.81    | 10046.47              | 3918.09   | 1300                                                                            | Sweet | 7.73                            | 3.01      |
| Arg**                          | 714.04                       | 473.64    | 7140.39               | 4736.42   | 500                                                                             | Sweet | 14.28                           | 9.47      |
| Ala*                           | 289.55                       | 316.98    | 2895.54               | 3169.83   | 600                                                                             | Sweet | 4.83                            | 5.28      |
| Total Free                     | 3130.73                      | 2190.99   | 31307.26              | 21909.92  |                                                                                 |       |                                 |           |
| Amino Acid**<br>(16 compounds) |                              |           |                       |           |                                                                                 |       |                                 |           |

- modified from Kato *et al.* 1989 and Kim and Lee (2003); <sup>2</sup>-calculated from concentration of an amino acid divided by its threshold.; \*-significantly different ( $p < 0.05$ ); \*\*-significantly different ( $p < 0.01$ )



**รูปที่ 5** Taste profiles of mud crab and soft crab compared using QDA method.

\* - significantly different ( $p < 0.05$ )

ผลการทดสอบแบบพรรณนา (QDA) ผู้ทดสอบสามารถรับรู้รสต่างๆในปูได้ดังนี้คือ รสหวาน, รสอโรย, รสขม, รสเค็ม และ รสเปรี้ยว ซึ่งผลของการทดสอบแสดงใน รูปที่ 5 ค่าเฉลี่ยของ รสอโรยและรสหวานมีค่าความเข้มข้นสูง รองลงมาคือ รสเค็ม ส่วนที่น้อยที่สุดจนแทบไม่สามารถได้ รสเลยคือรสขมและรสเปรี้ยว ถึงแม้ว่าปริมาณ Glu, Arg, Gly และ Ala ซึ่งเป็น taste active compounds จะมีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญแต่ผลของการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสในส่วน of รสหวานและรสอโรยในปูนิ่มเทียบกับปูทะเลนั้น ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 5) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าปริมาณ taste active compounds ในครั้งนี้วัดอยู่ในรูป FAA เท่านั้น แท้ที่จริงแล้วยังมีองค์ประกอบทางเคมีอีกหลายรูปแบบ เช่น peptide และ nucleotide ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับ การสร้างรสหวาน และรสอโรย ตลอดจนการรับรสชาติของปู ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาในระดับเชิง ลึกมากขึ้นในส่วน of ข้อมูลที่ขาดอยู่เพื่อที่จะเข้าใจถึงองค์ประกอบที่สำคัญที่มีส่วนสร้างรสชาติใน ปูทะเลและปูนิ่ม

### ปริมาณเกลืออนินทรีย์ในเนื้อปูทะเลและปูน้ำจืด

จากปริมาณ inorganic ion ใน ตารางที่ 11 แสดงปริมาณของ  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  และ  $\text{Cl}^-$  จากการคำนวณทางสถิติพบว่าปริมาณของ inorganic ion ทุกชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.01$ ) ในเนื้อปูทะเลมีปริมาณ  $\text{Na}^+$  (0.443 g/100g) สูงที่สุด รองลงมาคือ  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$  และ  $\text{Ca}^{2+}$  ตามลำดับ ในขณะที่เนื้อของปูน้ำจืดมีปริมาณ  $\text{Cl}^-$  (0.515 g/100g) สูงที่สุด รองลงมาคือ  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ , และ  $\text{K}^+$  ตามลำดับ เมื่อพิจารณาปริมาณเกลือ  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$  และ  $\text{CaCl}_2$  ที่อาจจะประกอบอยู่ในเนื้อปูน้ำจืดและปูทะเลนั้น มีค่าสูงกว่า taste threshold ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  และ  $\text{Cl}^-$  มีส่วนในการสร้างรสเค็มในเนื้อปูทะเลและปูน้ำจืด จากรูปที่ 5 ค่าความเค็มของเนื้อปูน้ำจืดสูงกว่าปูทะเล อาจจะอธิบายได้จากปริมาณ  $\text{Cl}^-$  (ปริมาณเกลือ) ในเนื้อปูน้ำจืดที่มีมากกว่าในเนื้อปูทะเลอย่างมีนัยสำคัญ และสารที่สร้างรสเค็มสูงสุดในเนื้อปูน้ำจืดอาจจะเป็น  $\text{CaCl}_2$  ในขณะที่สารให้ความเค็มสูงสุดของเนื้อปูทะเลอาจเป็น  $\text{NaCl}$

**ตารางที่ 11** Inorganic constituents in the muscle of steamed mud crab and soft crab.

| Analysis method    | Type | Concentration |                         | Taste threshold value in water (ppm) <sup>1</sup> |
|--------------------|------|---------------|-------------------------|---------------------------------------------------|
|                    |      | (g/100g)      | ppm (x10 <sup>3</sup> ) |                                                   |
| ICP Analysis       |      |               |                         |                                                   |
| Sodium ion**       | MC   | 0.443         | 4.43                    | 0.45 - 1.4 x 10 <sup>3</sup> (NaCl)               |
|                    | SC   | 0.249         | 2.49                    |                                                   |
| Potassium ion**    | MC   | 0.274         | 2.74                    | 1.3 x 10 <sup>3</sup> (KCl)                       |
|                    | SC   | 0.207         | 2.07                    |                                                   |
| Calcium ion**      | MC   | 0.162         | 1.62                    | 0.85 - 1.1 x 10 <sup>3</sup> (CaCl <sub>2</sub> ) |
|                    | SC   | 0.355         | 3.55                    |                                                   |
| Titration Analysis |      |               |                         |                                                   |
| Chloride ion**     | MC   | 0.348         | 3.48                    |                                                   |
|                    | SC   | 0.515         | 5.15                    |                                                   |

<sup>MC</sup> - Mud Crab; <sup>SC</sup> - Soft Crab; <sup>1</sup> modified from Kim and Lee (2003).;

\*\* - significantly different ( $p < 0.01$ )

### 3. การเปลี่ยนแปลงกลิ่นรสในปูนิ้ม (*Scylla serrata*) ระหว่างการเก็บรักษา

#### 3.1 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ hedonic ของปูนิ้มทั้งตัวที่บรรจุภายในถุง vacuum pack และเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส ได้แสดงไว้ในตารางที่ 12 โดยพิจารณาว่าระดับคะแนนในลักษณะทดสอบใดมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่า 4 จะถือว่าตัวอย่างนั้นไม่เป็นที่ยอมรับ จะพบได้ว่าเนวโน้มของทุกลักษณะทดสอบของปูนิ้ม เช่น ลักษณะปรากฏ, สี, กลิ่น, ลักษณะเนื้อ และความชอบรวม ในช่วงเริ่มต้นของการเก็บรักษานั้นจะมีค่าคะแนนความชอบสูง จากนั้นคะแนนความชอบจะลดระดับลงตามอายุการเก็บรักษา จากการทดลองพบว่าระดับคะแนนของปูนิ้มทั้งตัวที่เก็บรักษาเป็นเวลา 1 วันนั้น ไม่เปลี่ยนแปลงแบบมีนัยสำคัญ โดยกระดองมีสีตามธรรมชาติตามสายพันธุ์และสภาพแวดล้อม สีสดใส (สีเขียวอมเทา/สีเขียวอมน้ำตาลหรือส้ม) กระดองนึ้ม ผิวกระดองตึง เรียบลื่น เนื้อสัมผัสแน่น ยึดหยุ่น กระดองติดแน่นกับลำตัว แต่หลังจากมีการเก็บรักษานานขึ้น (>1 วัน) ระดับคะแนนความชอบในทุกลักษณะทดสอบค่อยๆ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 5 วันพบว่าคะแนนของกลิ่น, เนื้อสัมผัส และความชอบรวมเป็น 2.87, 2.73 และ 2.20 ตามลำดับ โดยมีคะแนนต่ำกว่า 4 ซึ่งถือว่าปูนิ้มตัวอย่างนี้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ ตัวอย่างมีกลิ่นไม่สดชัดเจนและเนื้อสัมผัสนุ่ม ในขณะที่ลักษณะปรากฏ และสีมีระดับคะแนนสูงกว่า 4 ซึ่งยังเป็นระดับที่ยอมรับของผู้ทดสอบ ดังนั้นจากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ hedonic ของปูนิ้มทั้งตัว ลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ควรใช้พิจารณาการยอมรับคุณภาพของปูนิ้มทั้งตัวคือ กลิ่น, เนื้อสัมผัส และความชอบรวม

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ hedonic ของเนื้อปูนิ้มที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส ได้แสดงไว้ในตารางที่ 13 โดยคะแนนของลักษณะทดสอบมีแนวโน้มคล้ายกับผลการทดสอบที่ได้จากตารางที่ 12 คือ ในช่วงเริ่มต้นของการเก็บรักษานั้นจะมีค่าคะแนนความชอบสูง จากนั้นคะแนนความชอบจะลดระดับลงตามอายุการเก็บรักษา จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 5 วันคะแนนของลักษณะปรากฏ, สี, กลิ่น, เนื้อสัมผัส, รสชาติ และความชอบรวม มีคะแนนต่ำกว่า 4 ซึ่งถือว่าเนื้อปูนิ้มตัวอย่างนี้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ เป็นที่น่าสังเกตว่าเมื่อนำเนื้อปูนิ้มดิบ (เก็บรักษาเป็นเวลา 5 วัน) ไปทำให้สุกพบว่าคะแนนของกลิ่น, เนื้อสัมผัส และความชอบรวม เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) อาจเป็นเพราะความร้อนทำให้เกิดการสลายสารให้กลิ่นรสที่ออกมา

**ตารางที่ 12** คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของปูนิ่มทั้งตัว

| วันที่ | ค่าเฉลี่ยของระดับคะแนนของผู้ทดสอบ |                   |                   |                   |                   |
|--------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|        | ลักษณะปรากฏ                       | สี                | กลิ่น             | เนื้อสัมผัส       | ความชอบรวม        |
| 0      | 7.00 <sup>c</sup>                 | 7.00 <sup>d</sup> | 6.93 <sup>c</sup> | 6.93 <sup>c</sup> | 6.93 <sup>c</sup> |
| 1      | 6.96 <sup>c</sup>                 | 6.93 <sup>d</sup> | 6.93 <sup>c</sup> | 6.89 <sup>c</sup> | 6.93 <sup>c</sup> |
| 2      | 5.93 <sup>b</sup>                 | 6.00 <sup>b</sup> | 5.20 <sup>b</sup> | 5.40 <sup>b</sup> | 5.93 <sup>c</sup> |
| 3      | 5.67 <sup>d</sup>                 | 5.73 <sup>c</sup> | 5.20 <sup>b</sup> | 5.47 <sup>b</sup> | 5.52 <sup>d</sup> |
| 4      | 5.80 <sup>c</sup>                 | 5.67 <sup>b</sup> | 5.00 <sup>b</sup> | 5.27 <sup>b</sup> | 5.20 <sup>b</sup> |
| 5      | 4.60 <sup>a</sup>                 | 4.80 <sup>a</sup> | 2.87 <sup>a</sup> | 2.73 <sup>a</sup> | 2.20 <sup>a</sup> |

<sup>a,b,c...</sup> ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

**ตารางที่ 13** คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเนื้อปูนิ่ม

| วันที่ | ค่าเฉลี่ยของระดับคะแนนของผู้ทดสอบ |                   |                   |                   |                   |                   |                   |                   |        |                   |                   |                   |
|--------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------|-------------------|-------------------|-------------------|
|        | ลักษณะปรากฏ                       |                   | สี                |                   | กลิ่น             |                   | เนื้อสัมผัส       |                   | รสชาติ |                   | ความชอบรวม        |                   |
|        | ดิบ                               | สุก               | ดิบ               | สุก               | ดิบ               | สุก               | ดิบ               | สุก               | ดิบ    | สุก               | ดิบ               | สุก               |
| 0      | 6.76 <sup>c</sup>                 | 6.67 <sup>D</sup> | 6.62 <sup>d</sup> | 6.80 <sup>D</sup> | 6.51 <sup>c</sup> | 6.60 <sup>B</sup> | 6.73 <sup>f</sup> | 6.84 <sup>E</sup> | -      | 6.84 <sup>E</sup> | 6.73 <sup>f</sup> | 6.82 <sup>E</sup> |
| 1      | 6.49 <sup>d</sup>                 | 6.62 <sup>D</sup> | 6.49 <sup>d</sup> | 6.62 <sup>D</sup> | 6.40 <sup>c</sup> | 6.58 <sup>E</sup> | 6.49 <sup>c</sup> | 6.64 <sup>D</sup> | -      | 6.42 <sup>E</sup> | 6.49 <sup>c</sup> | 6.62 <sup>E</sup> |
| 2      | 6.00 <sup>c</sup>                 | 6.22 <sup>C</sup> | 5.98 <sup>c</sup> | 6.04 <sup>C</sup> | 5.78 <sup>d</sup> | 6.04 <sup>D</sup> | 5.89 <sup>d</sup> | 6.20 <sup>D</sup> | -      | 6.36 <sup>D</sup> | 5.98 <sup>d</sup> | 6.22 <sup>D</sup> |
| 3      | 5.89 <sup>c</sup>                 | 5.98 <sup>C</sup> | 5.87 <sup>c</sup> | 5.93 <sup>C</sup> | 5.33 <sup>c</sup> | 5.53 <sup>C</sup> | 5.56 <sup>c</sup> | 5.67 <sup>C</sup> | -      | 5.69 <sup>C</sup> | 5.69 <sup>c</sup> | 5.69 <sup>C</sup> |
| 4      | 5.00 <sup>b</sup>                 | 5.67 <sup>B</sup> | 4.87 <sup>b</sup> | 5.07 <sup>B</sup> | 4.56 <sup>b</sup> | 4.51 <sup>B</sup> | 4.67 <sup>b</sup> | 4.42 <sup>B</sup> | -      | 4.82 <sup>B</sup> | 4.67 <sup>b</sup> | 4.98 <sup>B</sup> |
| 5      | 2.11 <sup>a</sup>                 | 2.76 <sup>A</sup> | 2.40 <sup>a</sup> | 2.49 <sup>A</sup> | 1.09 <sup>a</sup> | 2.20 <sup>A</sup> | 1.47 <sup>a</sup> | 2.11 <sup>A</sup> | -      | 2.40 <sup>A</sup> | 1.33 <sup>a</sup> | 2.36 <sup>A</sup> |

<sup>a,b,c, A,B,C...</sup> ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

คะแนนความเข้มของกลิ่นลักษณะด้านกลิ่นของเนื้อปูนึ่งดิบ จากการประเมินทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาได้แสดงไว้ในตารางที่ 14 จากผลการทดลองผู้ทดสอบไม่สามารถพบกลิ่นหอมหวานในเนื้อปูนึ่งดิบที่มีความสดมาก ๆ ที่ระยะเวลา 0-1 วันของการเก็บรักษา จากนั้นกลิ่นหอมหวานจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา และถึงจุดสูงสุดเมื่อผ่านการเก็บรักษาไปแล้ว 4 วัน (2.50 คะแนน) จากนั้นความเข้มของกลิ่นหอมหวานจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด ( $p < 0.05$ ) จนถึงจุดต่ำสุด (1.00 คะแนน) ในวันที่ 5 ซึ่งเป็นระยะที่ผู้ทดสอบไม่ยอมรับคุณภาพของเนื้อปูนึ่งแล้ว ในขณะที่กลิ่นโคลนในเนื้อปูนึ่งดิบจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยระหว่างการเก็บรักษาโดยที่กลิ่นโคลนมีความแรงของกลิ่นน้อยมากจนแทบจะไม่สามารถรับรู้ได้ ส่วนกลิ่นปูในเนื้อปูนึ่งดิบก็จะค่อยๆ เพิ่มขึ้นและลดลงระหว่างการเก็บรักษา เป็นที่น่าสังเกตว่าความเข้มของกลิ่นปูในเนื้อปูนึ่งสุกจะมีความเข้มมากกว่าเนื้อปูนึ่งดิบอาจเป็นไปได้ว่าการให้ความร้อนในการแปรรูปมีผลในการสร้างสารให้กลิ่นปู ในขณะที่กลิ่นไม่พึงประสงค์ของเนื้อปูนึ่งดิบจะเพิ่มความเข้มของกลิ่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ในวันที่ 3 และ 4 ของการเก็บรักษา และเพิ่มขึ้นอย่างมากในวันที่ 5 ซึ่งเป็นระยะที่ผู้ทดสอบไม่ยอมรับคุณภาพของเนื้อปูนึ่ง ส่วนกลิ่นไม่พึงประสงค์ในเนื้อปูนึ่งสุกจะเพิ่มอย่างมีนัยสำคัญเฉพาะในวันที่ 5 ของการเก็บรักษาโดยเพิ่มความเข้มของกลิ่นเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับความเข้มของกลิ่นไม่พึงประสงค์ที่ตรวจวัดได้ในเนื้อปูนึ่งดิบ ในขณะที่ความเข้มของกลิ่นหอมหวานในเนื้อปูนึ่งสุก, กลิ่นปูในเนื้อปูนึ่งสุก, กลิ่นทะเลในเนื้อปูนึ่งดิบ และสุก มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นหรือลดลงไม่แน่นอนในช่วงการเก็บรักษา ส่วนกลิ่นโคลนในเนื้อปูนึ่งสุกพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดการเก็บรักษา

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการประเมินการเปลี่ยนแปลงความเข้มของกลิ่นไม่พึงประสงค์ในเนื้อปูนึ่งดิบเป็นดัชนีตรวจวัดทางประสาทสัมผัสที่เหมาะสมในการประเมินคุณภาพของปูนึ่งระหว่างการเก็บรักษา

คะแนนความเข้มของกลิ่นลักษณะด้านกลิ่นรส และรสชาติของปูนึ่ง จากการประเมินทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาแสดงในตารางที่ 15 รสเปรี้ยวและรสขมในช่วงเริ่มต้นของการเก็บรักษาพบว่ามีค่าความเข้มของรสเหล่านี้ค่อนข้างน้อยจนแทบไม่สามารถรับรู้ได้ แต่เมื่อถึงวันที่ 5 ของการเก็บรักษาผู้ทดสอบสามารถวัดระดับรสเปรี้ยว และรสขมในความเข้มที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ในทางตรงกันข้ามรสอูมามิ (umami) ตรวจวัดได้ที่ระดับความเข้มข้นสูงเกือบจะทุกระยะการเก็บรักษา ยกเว้นเมื่อถึงวันที่ 5 ของการเก็บรักษา รับรู้ความเข้มของรสอูมามิได้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ในขณะที่ความเข้มของรสหวาน, รสเค็ม และกลิ่นรสโดยรวมของปูนึ่ง มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นหรือลดลงไม่แน่นอนในช่วงการเก็บรักษา

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการประเมินการเปลี่ยนแปลงความเข้มของรสเปรี้ยว, รสขม และรส

**ตารางที่ 14** คะแนนความเข้มของคุณลักษณะด้านกลิ่นของปูนิ้ม จากการประเมินทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา

| วันที่ | ค่าเฉลี่ยของระดับคะแนนของผู้ทดสอบ |                   |                    |      |                   |                    |                    |                     |                    |                   |
|--------|-----------------------------------|-------------------|--------------------|------|-------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-------------------|
|        | กลิ่นหอมหวาน                      |                   | กลิ่นโคลน          |      | กลิ่นปู           |                    | กลิ่นทะเล          |                     | กลิ่นไม่พึงประสงค์ |                   |
|        | ดิบ                               | สุก               | ดิบ                | สุก  | ดิบ               | สุก                | ดิบ                | สุก                 | ดิบ                | สุก               |
| 0      | 1.00 <sup>a</sup>                 | 2.88 <sup>B</sup> | 1.00 <sup>a</sup>  | 1.17 | 1.67 <sup>a</sup> | 4.92 <sup>B</sup>  | 1.54 <sup>a</sup>  | 2.04 <sup>BC</sup>  | 1.04 <sup>ab</sup> | 1.08 <sup>A</sup> |
| 1      | 1.00 <sup>a</sup>                 | 2.88 <sup>B</sup> | 1.00 <sup>a</sup>  | 1.00 | 2.88 <sup>b</sup> | 4.79 <sup>B</sup>  | 1.75 <sup>ab</sup> | 1.83 <sup>AB</sup>  | 1.00 <sup>a</sup>  | 1.08 <sup>A</sup> |
| 2      | 1.71 <sup>b</sup>                 | 2.92 <sup>B</sup> | 1.08 <sup>ab</sup> | 1.17 | 4.13 <sup>d</sup> | 4.42 <sup>C</sup>  | 2.00 <sup>bc</sup> | 2.13 <sup>C</sup>   | 1.04 <sup>ab</sup> | 1.25 <sup>A</sup> |
| 3      | 1.54 <sup>b</sup>                 | 2.29 <sup>A</sup> | 1.50 <sup>c</sup>  | 1.25 | 4.17 <sup>d</sup> | 4.75 <sup>AB</sup> | 1.79 <sup>ab</sup> | 1.92 <sup>ABC</sup> | 1.33 <sup>c</sup>  | 1.25 <sup>A</sup> |
| 4      | 2.50 <sup>c</sup>                 | 3.04 <sup>B</sup> | 1.25 <sup>b</sup>  | 1.17 | 3.54 <sup>c</sup> | 4.58 <sup>AB</sup> | 2.21 <sup>c</sup>  | 1.75 <sup>A</sup>   | 1.29 <sup>bc</sup> | 1.13 <sup>A</sup> |
| 5      | 1.00 <sup>a</sup>                 | 2.29 <sup>A</sup> | 1.13 <sup>ab</sup> | 1.25 | 2.79 <sup>b</sup> | 4.42 <sup>A</sup>  | 1.50 <sup>a</sup>  | 1.96 <sup>ABC</sup> | 2.71 <sup>d</sup>  | 1.58 <sup>b</sup> |

a,b,c, A, B, C... ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

**ตารางที่ 15** คะแนนความเข้มของคุณลักษณะด้านกลิ่นรส และรสชาติของปูนิ้ม จากการประเมินทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา

| วันที่ | ค่าเฉลี่ยของระดับคะแนนของผู้ทดสอบ |                    |                   |                    |                   |                   |
|--------|-----------------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
|        | กลิ่นรสโดยรวมของปู                | รสหวาน             | รสเปรี้ยว         | รสเค็ม             | รสขม              | รสอโรย            |
| 0      | 4.88 <sup>CD</sup>                | 3.96 <sup>C</sup>  | 1.00 <sup>A</sup> | 2.54 <sup>A</sup>  | 1.13 <sup>A</sup> | 4.42 <sup>B</sup> |
| 1      | 5.00 <sup>D</sup>                 | 3.42 <sup>B</sup>  | 1.04 <sup>A</sup> | 3.21 <sup>BC</sup> | 1.04 <sup>A</sup> | 4.46 <sup>B</sup> |
| 2      | 4.75 <sup>CD</sup>                | 3.92 <sup>C</sup>  | 1.17 <sup>A</sup> | 2.71 <sup>AB</sup> | 1.04 <sup>A</sup> | 4.29 <sup>B</sup> |
| 3      | 4.67 <sup>BC</sup>                | 3.46 <sup>B</sup>  | 1.13 <sup>A</sup> | 3.50 <sup>C</sup>  | 1.13 <sup>A</sup> | 4.17 <sup>B</sup> |
| 4      | 4.46 <sup>B</sup>                 | 3.67 <sup>BC</sup> | 1.13 <sup>A</sup> | 3.21 <sup>BC</sup> | 1.08 <sup>A</sup> | 4.21 <sup>B</sup> |
| 5      | 3.04 <sup>A</sup>                 | 2.38 <sup>A</sup>  | 1.54 <sup>B</sup> | 2.58 <sup>A</sup>  | 1.75 <sup>B</sup> | 2.92 <sup>A</sup> |

a,b,c, A, B, C... ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

### 3.2 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกลิ่นในปูนิม (*Scylla serrata*) ระหว่างการเก็บรักษา

16 Volatile components identified in soft crab from SDE during storage at 4 °C

| compound     | RI   |        | concentration (ppm) |                     |                     |                     |                     | Identify             |                      |
|--------------|------|--------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|----------------------|
|              | HP-5 | DB-WAX | 0 day               | 1 day               | 2 day               | 3 day               | 4 day               |                      | 5 day                |
| butanal      | 652  | 907    | 0.0324              | 0.0337              | 0.0501              | 0.0345              | 0.0512              | 0.0490               | MS, AU               |
|              | 654  | 911    | 0.0139              | 0.0111              | 0.0189              | 0.0096              | 0.0194              | 0.0134               | MS, AU               |
|              | 1043 | 1642   | 0.0291              | 0.0556              | 0.0841              | 0.0475              | 0.0879              | 0.2924               | RI <sup>a</sup> , MS |
|              | 1105 |        | nd                  | 0.0024 <sup>b</sup> | nd                  | nd                  | nd                  | nd                   | MS, AU               |
| al*          | 1610 |        | nd                  | nd                  | 0.0499 <sup>b</sup> | 0.0131 <sup>a</sup> | nd                  | nd                   | RI <sup>a</sup> , MS |
| -buten-1-ol* | 724  |        | nd                  | nd                  | 0.0023 <sup>b</sup> | 0.0020 <sup>b</sup> | nd                  | nd                   | MS                   |
| ohexane*     | 714  |        | nd                  | nd                  | nd                  | nd                  | nd                  | 0.0045 <sup>b</sup>  | MS                   |
| ce*          | 1700 |        | nd                  | 0.0070 <sup>b</sup> | 0.0163 <sup>c</sup> | nd                  | 0.0101 <sup>b</sup> | 0.0053 <sup>ab</sup> | MS, AU               |

3 (ต่อ) Volatile components identified in soft crab from SDE during storage at 4 °C

| compound  | RI   |        | concentration (ppm) |                      |                      |                       |                      | Identify             |                      |
|-----------|------|--------|---------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|           | HP-5 | DB-WAX | 0 day               | 1 day                | 2 day                | 3 day                 | 4 day                |                      | 5 day                |
| anone     | 696  | 1051   | 0.0258              | 0.0280               | 0.0240               | 0.0715                | 0.0195               | 0.0107               | RI <sup>a</sup> , MS |
|           | 705  |        | 0.0227 <sup>b</sup> | 0.0155 <sup>a</sup>  | 0.0207 <sup>b</sup>  | 0.0185 <sup>ab</sup>  | 0.0152 <sup>a</sup>  | 0.0215 <sup>b</sup>  | MS                   |
|           | 1555 |        | nd                  | 0.0304 <sup>bc</sup> | 0.0523 <sup>c</sup>  | 0.0341 <sup>bc</sup>  | 0.0383 <sup>bc</sup> | 0.0233 <sup>ab</sup> | MS                   |
|           | 888  |        | nd                  | 0.0051 <sup>bc</sup> | 0.0074 <sup>cd</sup> | 0.0054 <sup>bcd</sup> | 0.0089 <sup>d</sup>  | 0.0033 <sup>ab</sup> | MS                   |
| drocarbon | 807  | 903    | 0.0269              | 0.0247               | 0.1001               | 0.0399                | 0.0432               | 0.0769               | RI <sup>a</sup> ,MS  |
|           | 854  | 1108   | 0.0036              | 0.0045               | 0.0060               | 0.0036                | 0.0063               | 0.0072               | MS                   |
|           | 884  |        | 0.0239              | 0.0286               | 0.0366               | 0.0207                | 0.0268               | 0.0333               | RI <sup>b</sup> ,MS  |
|           | 625  |        | nd                  | nd                   | nd                   | nd                    | nd                   | 0.0016 <sup>b</sup>  | MS                   |
| le        | 1020 | 1693   | 0.0542              | 0.0571               | 0.0908               | 0.0576                | 0.0467               | 0.0499               | MS, AU               |

Index; <sup>MS</sup> – Mass Spectrum; <sup>AU</sup> – Authentic Compound; <sup>nd</sup> – Not detectable; \*, - significantly different ( $p < 0.05$ );

ที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแต่ละตัวมีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ); <sup>a</sup> - Adam (1995); <sup>b</sup> - Acree and Heinrich (2003)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารระเหยที่เป็นองค์ประกอบของปูนี้ระหว่างการเก็บรักษา ได้แสดงในตารางที่ 16 โดยแบ่งตามชนิดของ functional group ได้ดังนี้ 1. Aldehyde (5 ชนิด), 2. Alcohol (1 ชนิด), 3. Alkane (2 ชนิด), 4. Ketone (4 ชนิด), 5. Ester (1 ชนิด), 6. Aromatic hydrocarbon (2 ชนิด), 7. อื่นๆ (2 ชนิด) จากผลการทดลองพบว่า nonanal, tetradecanal, 3-methyl-3-buten-1-ol, 3-hydroxy-2-butanone, decanone และ cyclohexanone นั้นมีปริมาณเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) แต่แนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงนั้นไม่สามารถสรุปได้เพราะมีปริมาณทั้งเพิ่มขึ้น และลดลงในช่วงการเก็บรักษา ในขณะที่ methylcyclohexane และ tetrahydrofuran นั้นมีการตรวจพบเฉพาะตัวอย่างที่มีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 5 วัน ซึ่งจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสตัวอย่างที่เก็บรักษาเป็นเวลา 5 วันนั้นจะไม่ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบในด้านกลิ่นรสและความสด

มีรายงานว่า tetrahydrofuran มีส่วนเกี่ยวข้องกับกลิ่นไม่พึงประสงค์ (off-flavor) ในน้ำแอปเปิ้ลที่ผ่านการฉายรังสี (Zegota, 1991) และมีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ tetrahydrofuran ในปลา sea bream ที่แช่ในน้ำแข็ง พบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ tetrahydrofuran แต่ไม่มีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงที่แน่นอนในระหว่างการเก็บรักษา (Alasalvar *et al.*, 2005) ส่วนการเพิ่มขึ้นของ tetrahydrofuran ในปูนี้มาอาจเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนและน้ำตาลผ่านกระบวนการ Maillard and Strecker degradation (Ames, 1992; Alasalvar *et al.*, 2005)

### 3.3 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี และชีวเคมีของกลิ่นในปูน้ำจืด (*Scylla serrata*) ระหว่างการเก็บรักษา

ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณค่าที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ของปูน้ำจืดระหว่างการเก็บรักษาแสดงในตารางที่ 17 จากการทดลองพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างมีแนวโน้มค่อยๆ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) พบว่าในปูน้ำจืดสดมากมี ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.78 ในขณะที่ปูน้ำจืดที่ผู้ทดสอบไม่ยอมรับมี ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.15 ซึ่งการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างนี้ สอดคล้องกับการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่พบว่าค่าความเปรี้ยวของปูเพิ่มสูงขึ้นระหว่างการเก็บรักษา จากผลการทดลองการลดลงของค่า pH สามารถใช้เป็นดัชนีในการวัดความสดของปูน้ำจืดระหว่างการเก็บรักษาได้โดยระยะเริ่มต้นของการเน่าเสียปูน้ำจืดจะมีค่า pH ประมาณ 6.15

การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในปูน้ำจืดอาจเกิดจากระบวนการไกลโคไลซิส ภายหลังสัตว์น้ำตาย ออกซิเจนในเนื้อเยื่อต่างๆ ลดลง ไกลโคเจนซึ่งเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สะสมไว้จะผ่านกระบวนการไกลโคไลซิสในสถานะที่ไม่มีออกซิเจน เกิดเป็นกรดแลคติก (สุทธวัฒน์ 2548; นงลักษณ์ 2531) ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของปูน้ำจืดระหว่างการเก็บรักษามีค่าลดลง

ปริมาณ TVB-N นั้นค่อนข้างจะคงที่ในช่วงต้นของการเก็บรักษาซึ่งพบโดยประมาณ 8.56 mg/100g sample จากนั้นปริมาณของ TVB-N ก็เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เป็น 19.23 mg/100g sample และเมื่อนำตัวอย่างที่มีค่า TVB-N สูงนี้ไปทดสอบทางประสาทสัมผัส ผู้ทดสอบไม่ที่ยอมรับในคุณภาพของปูน้ำจืด จากผลการทดลองการเพิ่มขึ้นของค่า TVB-N สามารถใช้เป็นดัชนีในการวัดความสดของปูน้ำจืดระหว่างการเก็บรักษาได้โดยระยะเริ่มต้นของการเน่าเสียปูน้ำจืดจะมีค่า TVB-N ประมาณ 19.23 mg/100g sample

**ตารางที่ 17** การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณค่าที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ของปูน้ำจืดระหว่างการเก็บรักษา

| วันที่เก็บรักษา | TVB-N                |                     |
|-----------------|----------------------|---------------------|
|                 | (mg/100g sample)     | pH                  |
| 0 day           | 8.569 <sup>a</sup>   | 6.780 <sup>e</sup>  |
| 1 day           | 8.972 <sup>a</sup>   | 6.540 <sup>d</sup>  |
| 2 day           | 10.911 <sup>ab</sup> | 6.473 <sup>c</sup>  |
| 3 day           | 13.249 <sup>bc</sup> | 6.437 <sup>bc</sup> |
| 4 day           | 14.953 <sup>c</sup>  | 6.383 <sup>b</sup>  |

โดยมีรายงานว่า TVB-N ที่ระดับ 59.0 mg/100g เป็นระดับที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับเนื้อปูทะเล (Chio and Huang, 2004) ส่วน Goulas *et al.* (2005) ได้รายงานว่าหอยแมลงภู่ (mussel) ที่บรรจุในภาชนะสุญญากาศจะไม่รับจากผู้ทดสอบเมื่อมีค่า TVB-N ที่ระดับ 29.4-29.8 mg/100g

ค่า TVB-N นั้นประกอบด้วย ค่า TMA และ แอมโมเนียที่เป็นผลิตภัณฑ์จากการทำงานของเอนไซม์ในสัตว์น้ำ หรือเอนไซม์จากจุลินทรีย์ (สุทธวัฒน์, 2548) TMA นั้นจะให้กลิ่นคล้ายกลิ่นไม่พึงประสงค์ และกลิ่นคาว (ไม่สด) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่า TVB-N ในปูนี้มาจากการเพิ่มจำนวนของเอนไซม์ในปูนี้ระหว่างการเก็บรักษาในดังแสดงในตารางที่ 14

**ตารางที่ 18** Nucleotide degradation of soft shell crab stored at 4 °C

| Day of storage | Nucleotides (μmoles/g) |                    |      |       |                    |                    |
|----------------|------------------------|--------------------|------|-------|--------------------|--------------------|
|                | Hx                     | HxR                | IMP  | AMP   | ADP                | ATP                |
| 0 day          | 2.40 <sup>a</sup>      | 1.75 <sup>ab</sup> | 1.7  | 17.67 | 14.91 <sup>b</sup> | 11.16 <sup>b</sup> |
| 1 day          | 2.01 <sup>a</sup>      | 0.88 <sup>a</sup>  | 1.95 | 11.08 | 6.29 <sup>a</sup>  | 2.06 <sup>a</sup>  |
| 2 day          | 4.79 <sup>bc</sup>     | 1.42 <sup>ab</sup> | 2.96 | 18.34 | 5.21 <sup>a</sup>  | 1.09 <sup>a</sup>  |
| 3 day          | 3.63 <sup>ab</sup>     | 3.14 <sup>b</sup>  | 3.41 | 16.41 | 3.25 <sup>a</sup>  | 0.91 <sup>a</sup>  |
| 4 day          | 5.56 <sup>bc</sup>     | 5.26 <sup>c</sup>  | 5.77 | 16.32 | 3.38 <sup>a</sup>  | 0.85 <sup>a</sup>  |
| 5 day          | 6.15 <sup>c</sup>      | 5.95 <sup>c</sup>  | 4.54 | 18.38 | 3.96 <sup>a</sup>  | 0.82 <sup>a</sup>  |

<sup>a,b,c...</sup> ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

การเปลี่ยนแปลงของ ATP (Adenosine triphosphate), ADP, AMP, IMP (Inosine monophosphate), HxR (inosine) และ Hx (hypoxanthine) ของเนื้อปูนี้ โดยเก็บรักษาไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส ได้แสดงไว้ในตารางที่ 18 พบว่า ATP และ ADP มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ในทางตรงกันข้าม Ino และ Hx มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ( $p < 0.05$ ) ส่วน AMP และ IMP นั้นไม่พบว่าการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ATP และ ADP ในเนื้อปูนี้จะลดลงอย่างมากในช่วงวันแรกของการเก็บรักษาจากระดับประมาณ 11-14 μmoles/g เป็น 2-6 μmoles/g แล้วก็จะคงที่ในปริมาณระดับต่ำตลอดการเก็บรักษา ในขณะที่ HxR และ Hx ค่อยๆเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญจากระดับประมาณ 2 μmoles/g ไปสู่ระดับ 6 μmoles/g มีรายงานว่า การวัดปริมาณ Hx ในปลาสามารถใช้เป็นดัชนีวัดความสดในปลาชนิดอื่นได้ (Goulas *et al.*, 2005) ใน

ee, 1997) จากผลการทดลองในปูนี้ HxR และ Hx ก็สามารถใช้เป็นดัชนีวัดความสดของปูนี้ ระหว่างการเก็บรักษา การเพิ่มขึ้นของ HxR และ Hx ในปูนี้สามารถอธิบายได้จากสลายตัวของ ATP และ ADP ซึ่งอาจเกิดจากปฏิกิริยา dephosphorylation และ deamination (สุทธวัฒน์, 2548)

Hx มีรสขม (สุทธวัฒน์, 2548) ดังนั้นการเพิ่มปริมาณอย่างมีนัยสำคัญของ Hx อาจมีผลต่อการเพิ่มความเข้มของรสขมในปูนี้ระหว่างการเก็บรักษา

การใช้อัตราส่วน (ratio) ปริมาณความเข้มข้นของ ATP และผลิตภัณฑ์เพื่อเป็นดัชนีวัดความสดในสัตว์น้ำนั้นสามารถคำนวณได้หลายวิธี (สุทธวัฒน์, 2548; Alasalvar *et al.*, 2001) ดังต่อไปนี้

$$i\text{-value}(\%) = (Hx + HxR) \times 100 / (ATP + ADP + AMP + IMP + Hx + HxR)$$

$$Ki\text{-value}(\%) = (Hx + HxR) \times 100 / (IMP + Hx + HxR)$$

$$I\text{-value} = (Hx) / (IMP + Hx + HxR)$$

$$R\text{-value} = (Hx + HxR) / (AMP + IMP + HxR)$$

$$P\text{-value} = (Hx + HxR) / (AMP + IMP + HxR + Hx)$$

เมื่อนำปริมาณ ATP และผลิตภัณฑ์ที่แสดงในตารางที่ 18 มาคำนวณหาอัตราส่วนเป็นค่า K, Ki, H, G และ P ดังตารางที่ 19

**ตารางที่ 19** Change of nucleotide ratios of soft shell crab during stored at 4

| Day of storage | Nucleotides ratios  |        |                     |       |                    |
|----------------|---------------------|--------|---------------------|-------|--------------------|
|                | K*                  | Ki     | G*                  | H     | P*                 |
| 0 day          | 8.586 <sup>a</sup>  | 71.301 | 0.196 <sup>a</sup>  | 0.413 | 0.182 <sup>a</sup> |
| 1 day          | 12.505 <sup>a</sup> | 59.561 | 0.207 <sup>ab</sup> | 0.416 | 0.183 <sup>a</sup> |
| 2 day          | 18.825 <sup>b</sup> | 68.164 | 0.258 <sup>ab</sup> | 0.538 | 0.227 <sup>a</sup> |
| 3 day          | 22.194 <sup>b</sup> | 67.613 | 0.297 <sup>b</sup>  | 0.362 | 0.255 <sup>a</sup> |
| 4 day          | 28.966 <sup>c</sup> | 66.459 | 0.405 <sup>c</sup>  | 0.342 | 0.326 <sup>b</sup> |
| 5 day          | 30.361 <sup>c</sup> | 72.607 | 0.405 <sup>c</sup>  | 0.369 | 0.344 <sup>b</sup> |

<sup>a,b,c</sup> ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

จากการทดลองพบว่าค่า K, G และ H มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ในระหว่างการเก็บรักษา โดยค่าที่เพิ่มขึ้นจะสอดคล้องกับระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา ในขณะที่ค่า Ki และ H ไม่พบว่าการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญในการทดลองนี้ จากผลการทดลองค่า K, G และ H เหมาะสมที่จะใช้เป็นดัชนีวัดความสดในปูนิม

ผลของการเปลี่ยนแปลงปริมาณ free amino acid ในปูนิมระหว่างการเก็บรักษาได้แสดงไว้ในตารางที่ 20 โดยแสดงเฉพาะ free amino acid ที่มีความสำคัญต่อรสชาติในปูนิม โดยพบว่าเมื่อเริ่มต้นการทดลอง Gly มีปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือ Ala, Arg และ Glu ตามลำดับ แต่เมื่อถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 5) ปริมาณของ Arg กลับมีมากกว่า Ala โดยระหว่างการเก็บรักษา Glu, Gly และ Ala มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ในทางตรงกันข้ามมีเพียง Arg เท่านั้นที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อพิจารณา Taste Value นั้น free amino acid ทั้ง 4 ชนิดนี้มีความสำคัญในการก่อให้เกิดรสหวาน และรสอร่อยในปูนิมเนื่องจากมีค่า Taste value  $> 1$  โดยที่ Arg มีค่าสูงสุดในวันแรกของการเก็บรักษา รองลงมาคือ Ala, Gly และ Glu ตามลำดับ แต่ในระหว่างการเก็บรักษานั้น Ala และ Gly ซึ่งเป็น free amino acid ที่ให้รสหวานมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดย Ala และ Gly มีค่า Taste value ในตัวอย่างสดเท่ากับ 5.5 และ 4.2 ตามลำดับ จากนั้นจะมีค่าลดลงเป็น 4.8 และ 3.6 ในตัวอย่างที่เก็บรักษาเป็นเวลา 5 วัน โดยค่า Taste value ที่ลดลงนั้นสอดคล้องกับผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่แสดงในตารางที่ 15 โดยพบว่ารสหวานในปูนิมลดลงอย่างมีนัยสำคัญระหว่างการเก็บรักษาเช่นกัน ส่วน Glu ซึ่งเป็น free amino acid ที่ให้รสอร่อย มีค่า Taste value ในตอนเริ่มต้นเท่ากับ 3.7 จากนั้นก็ลดลงเหลือ 2.0 ในตัวอย่างที่เก็บรักษาเป็นเวลา 5 วัน โดยค่า Taste value ที่ลดลงนั้นสอดคล้องกับผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยพบว่ารสอร่อยในปูนิมก็ลดลงระหว่างการเก็บรักษา ดังนั้นจึงสามารถอธิบายได้ว่าการลดลงของปริมาณ free amino acid เช่น Glu, Ala และ Gly มีส่วนที่ทำให้รสหวาน และรสอร่อยในปูนิมลดลงระหว่างการเก็บรักษา

20 Quantity changes of free amino acid in soft shell crab during stored at 4 °C

| Days | concentration (ppm)  |                       |                       |                      |                      |                      | Threshold value (ppm)                               |       |     |     |     |     | Taste Value <sup>2</sup> |     |   |   |   |   |
|------|----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------------------------------------|-------|-----|-----|-----|-----|--------------------------|-----|---|---|---|---|
|      | Day                  |                       |                       |                      |                      |                      | and taste of free amino acids in water <sup>1</sup> |       |     |     |     |     | Day                      |     |   |   |   |   |
|      | 0                    | 1                     | 2                     | 3                    | 4                    | 5                    | 0                                                   | 1     | 2   | 3   | 4   | 5   | 0                        | 1   | 2 | 3 | 4 | 5 |
|      | 1112.47 <sup>c</sup> | 1001.94 <sup>bc</sup> | 890.58 <sup>b</sup>   | 689.07 <sup>a</sup>  | 719.16 <sup>a</sup>  | 609.30 <sup>a</sup>  | 300                                                 | Umami | 3.7 | 3.3 | 3.0 | 2.3 | 2.4                      | 2.0 |   |   |   |   |
|      | 5500.54 <sup>c</sup> | 5416.69 <sup>c</sup>  | 4045.34 <sup>a</sup>  | 5080.27 <sup>c</sup> | 3966.12 <sup>a</sup> | 4647.08 <sup>b</sup> | 1300                                                | Sweet | 4.2 | 4.2 | 3.1 | 3.9 | 3.1                      | 3.6 |   |   |   |   |
|      | 3086.39 <sup>c</sup> | 3060.27 <sup>c</sup>  | 3243.63 <sup>c</sup>  | 3748.51 <sup>b</sup> | 4538.23 <sup>a</sup> | 4284.52 <sup>a</sup> | 500                                                 | Sweet | 6.2 | 6.1 | 6.5 | 7.5 | 9.1                      | 8.6 |   |   |   |   |
|      | 3298.78 <sup>a</sup> | 3086.31 <sup>ab</sup> | 3033.45 <sup>ab</sup> | 2877.32 <sup>b</sup> | 2900.15 <sup>b</sup> | 2876.22 <sup>b</sup> | 600                                                 | Sweet | 5.5 | 5.1 | 5.1 | 4.8 | 4.8                      | 4.8 |   |   |   |   |

Values with different superscripts in the same row are significantly different ( $p < 0.05$ )

<sup>1</sup> Umami, Sweet, Bitter, Sour, Salty, and Astringent; <sup>2</sup> -calculated from concentration of an amino acid divided by its threshold.

### สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการสกัดสารระเหยจากเนื้อปูทะเลโดยวิธี SDE, DSE และ P&T ผลการทดลองปรากฏว่า SDE และ P&T เป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์หากลิ่นในปูทะเล เพราะมีประสิทธิภาพในการสกัดสารระเหยครอบคลุมทุกช่วงอุณหภูมิของจุดเดือด และประเภทของสารระเหย อีกทั้งประหยัดการเตรียมตัวอย่าง และวิธีการสกัดไม่ซับซ้อน ผลการวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของสารระเหยในปูทะเลและปูม้าโดยวิธี SDE และวิธี P&T พบว่า 3-methylbutanal, 2-acethylthiazole และ 2,3-butanedione เป็นสารสำคัญที่อาจจะมีส่วนในการสร้างกลิ่นหอมหวานและกลิ่นปูในเนื้อปูทะเล และปูม้าหนึ่งสัปดาห์ ในขณะที่ 2-methylbutanal และ 1-octen-3-ol น่าจะมีส่วนที่ทำให้มีกลิ่นหอมหวานในปูทะเลด้วย แต่ styrene และ benzeneacetaldehyde เป็นสารอีกกลุ่มหนึ่งที่มีแนวโน้มว่าจะให้กลิ่นหอมหวานในปูม้าจากการตรวจปริมาณ Free Amino Acid พบว่า Glu, Arg, Gly และ Ala นั้นเป็น FAA ที่สำคัญโดยอาจมีส่วนสร้างรสอร่อยและรสหวานในปูทะเล ในขณะที่ Arg, Ala และ Gly เป็น FAA ที่สำคัญโดยมีแนวโน้มว่าน่าจะเป็น เป็น FAA ที่สร้างรสหวานในปูม้า จากผลการวิเคราะห์ปริมาณของ  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  และ  $\text{Cl}^-$  พบว่ามีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.01$ ) ระหว่างปูม้าและปูทะเล โดยไอออน 4 ชนิดนี้อาจมีส่วนที่ก่อให้เกิดรสเค็มในปูทั้ง 2 ประเภท สารที่สร้างรสเค็มสูงสุดในเนื้อปูม้าอาจจะเป็น  $\text{CaCl}_2$  ในขณะที่สารให้ความเค็มสูงสุดของเนื้อปูทะเลอาจเป็น NaCl จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า กลิ่นทะเล และรสเค็ม เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความแตกต่างของกลิ่นรสระหว่างปูม้าและปูทะเล ( $p < 0.05$ ) โดยค่าความเค็มของเนื้อปูม้าสูงกว่าปูทะเล อาจจะอธิบายได้จากปริมาณ  $\text{Cl}^-$  ในเนื้อปูม้าที่มีมากกว่าในเนื้อปูทะเลอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.01$ ) ส่วน Odor thresholdของปูทะเลต่ำกว่าปูม้าประมาณ 12 เท่า นั้นหมายความว่าปูทะเลนั้นมีกลิ่นที่แรงกว่าปูม้า ซึ่งก็สอดคล้องกับผลรวมค่า U ในปูทะเลนั้นมีค่าสูงกว่าในปูม้าม ดังนั้นปูม้าอาจจะเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้ที่ไม่ชอบกลิ่นที่รุนแรงของปูทะเล

ผลการทดลองของการเปลี่ยนแปลงกลิ่นรสในปูม้าที่บรรจุในถุงพลาสติกแบบสุญญากาศ และเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส พบว่าผู้ทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสจะไม่ยอมรับคุณภาพของปูม้าเมื่อเก็บรักษาไปแล้ว 5 วัน โดยที่ความแรงของกลิ่นไม่พึงประสงค์ รสขม และรสเปรี้ยวจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ในทางตรงกันข้าม รสหวาน รสอร่อย และกลิ่นรสโดยรวมของปูม้าจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ระหว่างการเก็บรักษา การเพิ่มขึ้นของกลิ่นไม่พึงประสงค์ และ รสขม อาจเกิดขึ้นจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณ TVB-N และ Hx ส่วนการลดลงของ รสหวาน รสอร่อย อาจมีสาเหตุมาจากการลดลงของ FAA เช่น Gly, Ala และ Glu

ดัชนีทางเคมี และชีวเคมีที่เหมาะสมสำหรับใช้วัดความสดของปูม้าที่บรรจุในถุงพลาสติก

## ข้อเสนอแนะ

1. สามารถนำความรู้เกี่ยวกับสารให้กลืน และกลืนรสในปูทะเล และปูนิ่มไปเป็นพื้นฐานประยุกต์ในด้านการแปรรูป และการเพาะเลี้ยง โดยต้องถนอมให้สารที่ให้กลืน และกลืนรสที่ดีในปูทะเล และปูนิ่มคงเหลืออยู่มากที่สุดเพื่อจะรักษากลิ่นรสที่ดีของผลิตภัณฑ์
2. การติดตามเปลี่ยนแปลงทางเคมี ชีวเคมี ร่วมกับการตรวจสอบทางประสาทสัมผัส เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงด้านกลิ่นรสของปูนิ่มที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส ทำให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบของสารให้กลืนรสในปูนิ่ม ดังนั้นเราสามารถประยุกต์นำความรู้นี้ไปใช้ประโยชน์โดยเราต้องชะลอการเปลี่ยนแปลงหรือลดลงขององค์ประกอบของสารให้กลืนรสที่ดีในปูนิ่ม ในทางตรงกันข้ามสารที่ให้กลืนรสไม่ดีในปูนิ่มเราต้องยับยั้งหรือชะลอให้เกิดสารเหล่านั้นซ้ำที่สุดเพื่อรักษาคุณภาพด้านกลิ่นรสของปูนิ่ม และยืดอายุการเก็บรักษา
3. การศึกษาดัชนีความสดในปูนิ่มโดยวัดการเปลี่ยนแปลงด้านการสลายตัวของ nucleotide นั้นน่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสมทั้งในปูนิ่มดิบ และปูนิ่มแปรรูป โดยเฉพาะการวัดปริมาณ hypoxanthine (Hx) เนื่องจากการแปรรูปด้วยความร้อน หรือการแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิน้อยกว่า -10 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่อ Hx (สุทธวัฒน์, 2548) ซึ่งควรจะศึกษาเพิ่มเติมต่อไป อีกทั้ง Hx น่าจะมีส่วนก่อให้เกิดรสขมในปูนิ่มระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส ดังนั้นการวัดปริมาณ Hx สามารถใช้เป็นดัชนีการเปลี่ยนแปลงรสชาติได้เช่นกัน

### เอกสารอ้างอิง

- จินตนา อุปคิสสกุล. 2535. กลิ่นรสและการประเมินค่า. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะ  
อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 338 หน้า.
- รวีพิมพ์ ฉวีสุข และ ประพันธ์ ปิ่นศิริโรคม. 2537. การศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากน้ำต้ม  
กุ้งเพื่อเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส. รายงานผลการวิจัยต่อสำนักงานคณะกรรมการวิจัย  
แห่งชาติ. 5-7.
- บรรจง เทียนสงรัสมิ์ และบุญรัตน์ ประทุมชาติ. 2545. ปู่ทะเล: ชีววิทยา การอนุรักษ์ทรัพยากร และ  
การเพาะเลี้ยงในเชิงพาณิชย์แบบยั่งยืน. เอกสารการเผยแพร่เครือข่ายวิจัยและพัฒนา  
อุตสาหกรรมพืชและสัตว์น้ำ. สกว. ชุดที่3. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 264 หน้า.
- นงลักษณ์ สุทธิวิช. 2531. คุณภาพสัตว์น้ำ. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ  
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 262 หน้า.
- สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2548. เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์โอเคียนสโตร์ กรุงเทพฯ. 336 หน้า.
- อำนาจ ขอบแสง. 2544. อีستามีนและกลิ่นในระหว่างกระบวนการหมักปลาข้าวคั่ว. วิทยานิพนธ์  
ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 149 หน้า
- Acree, T. E. and A. Heinrich. 2003. Gas chromatography - olfactometry (GCO) of natural  
products. **Flavornet and human Odor space**. Available Source:  
<http://www.flavornet.org/flavornet.html>, June 27, 2005.
- Adams, R.P. 1995. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/  
Mass Spectroscopy**. Baylor University. Plant Biotechnology Center. Carol Stream.  
Illinois. U.S.A.
- Alexander, H.C., W.M. McCarty, E.A. Bartlette and A.N. Syverud. 1982. Aqueous Odor and taste

- Alasalvar, C., Taylor, K.D.A., Öksüz, T., Garthwaite, Alexis, M.N. and Grigorakis, K. 2005. Freshness assessment of cultured sea bream (*Sparus aurata*) by chemical, physical and sensory methods. **Food Chem.**, 72: 33-40.
- Alasalvar, C., Taylor, K.D.A. and Shahidi, F. 2005. Comparison of Volatiles of Cultured and Wild Sea Bream (*Sparus aurata*) during Storage in Ice by Dynamic Headspace Analysis/Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **J. Agric. Food Chem.**, 53: 2616-2622.
- Ames, J.M. 1992. The Maillard reaction. In G. J. F. Hudson, ed. **Biochemistry of Food Proteins**. Elsevier Applied Science, London. pp. 98-154.
- Anonymous. 2004. Styrene. **Chemical Backgrounder**. Available Source: <http://www.nsc.org/library/chemical/styrene.htm>, August 4, 2005.
- Anonymous. 2004a. 1-penten-3-ol. **Aromatic & Flavor Chemical Database**. Available Source: <http://www.ramman.net/data/rw1027961.html>, August 4, 2005.
- Arctander, S. 1969. **Perfume and flavor chemicals**. Rutgers University. The State University of New Jersey. University extension division Newark. NJ. U.S.A.
- Avsar YK, Karagul-Yuceer Y, Drake MA, Singh TK, Yoon Y. and KR Cadwallader. 2004. Characterization of nutty flavor in cheddar cheese. **J. Dairy Sci.** 87(7):1999-2010.
- BACIS (Boelens Aroma Chemical Information Service). 1999. **ESO Database of Essential Oils**.
- Baek, H.H. and K.R. Cadwallader. 1996. Volatile compounds in flavor concentrates produced from crayfish-processing by products with and without protease treatment. **J. Agric. Food Chem.**, 44: 3262-3267.

- Buettner, A. and P. Schieberle. 1999. Characterization of the most odor-active volatiles in fresh, hand-squeezed juice of grapefruit (*Citrus paradisi* Macfayden). **J. Agri. Food Chem.** 47: 5189-5193.
- Burns, B.G. and Kee, P.J. 1985. Liquid chromatographic determination of Hx in fish tissue. **J. Ass. Office. Anal.**, 68, 444-447.
- Buttery, R.G. 1981. Vegetable and fruit flavors, pp. 175 – 216. *In* R. Teranishi, R.A. Flath and H. Sigisawa, eds. **Flavor research: recent advances**. Marcel Dekker, Inc. New York.
- \_\_\_\_\_. 1993. Quantitative and sensory aspects of flavor of tomato and other vegetables and fruits, pp. 259-286. *In* T.E. Acree and R. Teranishi, eds. **Flavor Science; Sensible Principles and Techniques**. American Chemical Society, Washington D.C.
- Buttery, R.G., D.G. Guadagni, L.C. Ling, R.M. Seifert and W. Lipton. 1976. Additional volatile components of cabbage, broccoli and cauliflower. **J. Agri. Food Chem.** 24: 829-832.
- \_\_\_\_\_, R.M. Seifert, J.G. Turnbaugh, D.G. Guadagni and L.C. Ling. 1981. Odor threshold of thiamin odor compound 1-methylbicyclo[3.3.0]-2,4-dithia-8-oxaoctane. **Agric. Food Chem.** 29: 183-185.
- \_\_\_\_\_, J. G. Turnbaugh and L.C. Ling. 1988. Contribution of volatiles to rice aroma. **J. Agric. Food Chem.** 36: 1006-1009.
- \_\_\_\_\_, D.J. Stern and L.C. Ling. 1994. Studies on flavor volatiles of some sweet corn products, **J. Agric. Food Chem.** 42, 791-795.
- \_\_\_\_\_, G.R. Takeoka and L.C. Ling. 1995. Furanol : odor threshold and importance to tomato aroma, **J. Agric. Food Chem.** 43, 1638-1640.
- \_\_\_\_\_ and L.C. Ling. 1995. Volatile flavor components of corn tortillas and related products.

- Cha, Y.J., H.H. Baek and T.C-Y. Hsieh. 1992. Volatile components in flavor concentrates from crayfish processing waste. **J. Sci. Food Agric.** 58: 239-248.
- Cadwallader, K.R.Q. Tan, F. Chen and S.P. Meyers. 1995. Evaluation of the aroma of cooked spiny lobster tail meat by aroma extraction dilution analysis. **J. Agric. Food Chem.** 43: 2432-2437.
- Chang, S.S. and R.J. Peterson. 1977. Recent developments in the flavor of meat. **J. Food sci.** 42: 298-305.
- Chatonnet, P., D. Dubourdie and J.N. Boidron. 1992. Incidence des conditions de fermentation et d'élevage des vins blancs secs en barriques sur leur composition en substances cédées par le bois de chêne. **Sci. Aliments.** 12: 665-685.
- Chiou, T.K. and J.P. Huang. 2003. Chemical constituents in the abdominal muscle of cultured mud crab *Scylla serrata* in relation to seasonal variation and maturation. **Fishery Sci.**, 69: 597-604.
- Chung, H.Y. and K.R. Cadwallader. 1993. Volatile components in blue crab (*Callinectes sapidus*) meat and processing by-product. **J. Food Sci.** 58(6): 1203-1211.
- \_\_\_\_\_. 1994. Aroma extract dilution analysis of blue crab claw meat volatiles. **J. Agric. Food Chem.** 42(12): 1203-1211.
- Chung, H.Y., F. Chen and K.R. Cadwallader. 1995. Cooked blue crab claw meat aroma compared with lump meat. **J. Food Sci.** 60(2), 289-291, 299.
- \_\_\_\_\_. 1999. Volatile components in crabmeats of *Charybdis feriatus*. **J. Agric. Food**

- \_\_\_\_\_. 2000. Volatile flavor components in red fermented soybean (*Glycine max*) curds. **J. Agric. Food Chem.** 48: 1803-1809.
- \_\_\_\_\_, I.K.S. Yung and J.S. Kim. 2001. Comparison of volatile components in dried scallops (*Chlamys farreri* and *Pattinopecten yessoensis*) prepared by boiling and steaming methods. **J. Agric. Food Chem.** 49(1): 192-202.
- Cohen, S.A. and D.P. Michaud. 1993. Synthesis of a Fluorescent derivatizing reagent, 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate, and its application for the analysis of hydrolysate amino acids via high-performance liquid chromatography. **Analytical Biochemistry** 211: 279-287.
- Drake, M.A. and G.V. Civille. 2002. Flavor lexicons. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 2: 33-40.
- Fuke, S. 1994. Taste-active components of seafoods with special reference to umami substances. *In* F. Shahidi and J.R. Botta, eds. **Seafood: Chemistry, Processing, Technology and Quality**. Blackie Academic and Professional, Glasgow: 115-139.
- FAO. 1981. Soils Bulletin 38/1. **Soil and Plant Testing Analysis**. FAO, Rome, 230.
- Goulas, A.E., Chouliara, I., Nessi, E., Kontominas, M.G. and Savvaidis, I.N. 2005. Microbiological, biochemical and sensory assessment of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) stored under modified atmosphere packing. **J. Appl. Micro.** 98: 752-760.
- Guadagni, D.G., R.G. Buttery and J. Harris. 1966. Odor intensities of hop oil components. **J. Sci Food Agric.** 17: 142-144.
- Hansen, M., R.G. Buttery, D.J. Stern, M.I. Cantwell and L.C. Ling. 1992. Broccoli storage under low-oxygen atmosphere: identification of higher boiling volatiles. **J. Agri. Food Chem.**

- Hayashi, T., K. Yamaguchi and S. Konosu 1981. Sensory analysis of taste-active components in the extract of boiled snow crab meat. **J. Food Sci.** 46: 479-483.
- Heath, H.B. and G. Reineccius. 1986. Flavor and its study, pp.71-111. *In* H.B.Heath and G. Reineccius, eds. **Flavour Chemistry and Technology**. AVI Publishing Co., Westport, CT.
- Hodge, J.E. 1967. Origin of Flavour in foods. Nonenzymic browning reaction, pp. 465-491. *In* Schultz, H.A, Day and Libbey, L.M. eds. **Chemistry and Physiology of Flavour**. AVI Publishing Co., Westport, CT,
- Hsieh, R.J. and J.E. Kinsella. 1989. Lipxygenase generation of specific volatile flavor carbonyl compounds in fish tissue. **J. Agri. Food Chem.** 37: 280-286.
- Hwang, D.F., T.Y. Chen, C.Y. Shiau and S.S. Jeng. 2000. Seasonal variations of free amino acids and nucleotide-related compounds in the muscle of cultured Taiwanese puffer *Takifugu rubripes*. *Fisheries Science*. 66: 1123-1129.
- Janssen, M.M.T. 1997. Pyrolysis product occurring in food, pp. 90-92. *In* J. de Vries. ed. **Food Safety and Toxicity**. CRC Press, Boca Raton, New York.
- Josephson, D.B., R.C. Lindasay and D.A. Stuiber.1983. Identification of compounds characterizing the aroma of fresh white fish (*Coregonus clupeaformus*). **J. Agric. Food Chem.** 31: 326-330.
- 
- \_\_\_\_\_ 1985. Volatile compounds characterizing the aroma of fresh Atlantic and Pacific oysters. **J. Food Sci.** 50: 5-9.
- Kato, H., Rhue, M. R., & Nishimura, T. 1989. Role of free amino acids and peptides in food taste,

- Kim, S.H. and K.A. Lee, 2003. Evaluation of taste compounds in water-soluble extracts of a doenjan (soybean paste). **Food Chem.**, 83: 339-342.
- Kimizuka, A., K. Sakurai and J. Kirimura, 1963. Presented at the meeting of Agricultural Chemical Society of Japan, October.
- Konosu, S., K. Yamaguchi and T. Hayashi, 1978. Studies on flavor compounds in boiled crabs: I. Amino acids and related compounds in the extracts. **Nippon Suisan Kakkaishi**. 44: 505-510.
- \_\_\_\_\_. 1982. The flavour component in fish and shellfish, pp. 367-403. In R.E. Martin, G.J. Flick, C.E. Hebard and D.K. Ward, eds. **Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products**. AVI Publishing Co., Westport, CT.
- Larsen, M and L. Poll. 1992. Odour thresholds of some important aroma compounds in strawberries, **Z. Lebensm. Unters. Forsch.** 195: 120-123.
- Lee, G.H., O. Suriyaphan and K.R. Cadwallader, 2001. Aroma components of cooked tail meat American lobster (*Homarus americanus*). **J. Agric. Food Chem.** 49: 4324-4332.
- Leffingwell, J. C. 2002 Acyclics (Alcohols, Esters, Acids, Aldehydes). **Chirality & Odour Perception.**, Available Source: <http://leffingwell.com/chirality/acyclics.htm>, August 4, 2005.
- Maga, J.A. 1982. Pyrazines in food. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 17: 355-400.
- Manning, D.J. and H.M. Robinson. 1973. The analysis of volatile substances associated with Cheddar cheese aroma. **J. Dairy res.** 40: 63-75.
- Mandeville, S., V. Yaylayan and B. Simpson 1992. GC/MS analysis of flavor-active compounds

- Marbot, R. and V. Fuentes. 2003. Characterization of Volatiles in Bullock's Heart (*Annona reticulata* L.) Fruit Cultivars from Cuba. **J. Agric. Food Chem.** 51: 3836-3839.
- Meilgaard, M., G.V. Civille and B.T. Carr. 1999. **Sensory Evaluation Techniques**. 3<sup>rd</sup> ed. CRC Press LLC, New York.
- Mottram, D.S. 1991. Meat, pp. 107-177. *In* H. Maarse, ed. **Volatile Compounds in Foods and Beverages**. New York.
- Pan, B.S. and J.M. Kou. 1994 Flavour of shellfish and kamaboko flavourants, pp. 85-114. *In* F. Shahidi and J.R. Botta, eds. **Seafoods: Chemistry, Processing, Technology and Quality**. Blackie Academic and Professional, New York,
- \_\_\_\_\_, J.R. Tsai, L.M. Chen, C.M. Wu. 1997. Lipxygenase and sulfur-containing amino acids in seafood flavor formation, pp 64-67. *In* **Flavor and Lipid Chemistry of Seafoods**. F. Shahidi and K.R. Cadwallader, eds. ACS Symposium Series 674, American Chemical Society. Washington. DC.
- Park, E.R., Lee, H.J. and Kim, K.S. 2000. Volatile flavor components in Bogyojosaeng and Suhong cultivars of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.). **J. Food Science and Nutrition** 5(3): 119-125.
- Parliament, T. H. 1997. Solvent extraction and distillation techniques, pp. 1-26. *In* R. Marsili, eds. **Techniques for analyzing food aroma**. Marcel Decker Inc., NY.
- Peterson, R.J. and S.S. Chang. 1982. Identification of volatile flavor compounds of fresh, frozen beef stew and a comparison of these with those of canned beef stew. **J. Food Sci.** 47: 1444-1448.
- Piggott, J.R. and A.J.F Findlay. 1984. Detection threshold of ester mixtures, pp. 189-197. *In* L.

- Rothe, M. and B. Thomas. 1963. Aromastoffe. Des Brotes: Versuch einer Auswertung chemischer Geschmacksanalysen mit Hilfe des Schwellenwertes. **Z. Lebensm. Unters. Forsch.** 199: 302-310.
- Rychlik, M., P. Schieberle and W. Grosch. 1998. **Compilation of odor qualities and retention indices of key food odorants**. Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie and Institut Lebensmittelchemie der Technischen Universität München.
- Schnabel, K.-O., H.-D. Belitz and C. Vonnemann. 1988. Untersuchungen zur Struktur-Aktivitäts-Beziehung 1. Mitteilung; Wahrnehmungsschwellenwerte und Geruchsqualitäten von gesättigten aliphatischen und alicyclischen Verbindungen mit Sauerstoff-Funktion, **Z. Lebensm. Unters. Forsch.** 187: 215-223.
- Schlichtherle-Cerny, H. and Amado, R. 2002. Analysis of taste-active compounds in an enzymatic hydrolysate of dimethylated wheat gluten. **J. Agri. Food Chem.** 50(6): 1515-1522.
- Schlichtherle-Cerny, H. and W. Grosch, 1998. Evaluation of taste compounds of stew beef juice. **Z. Lebensm. Unters. Forsch.** A. 207: 369-376.
- Shahidi, F., 1998. **Flavor of Meat, Meat Product and Seafood**. Thomson Science, Great Britain.
- Sidwell, V.D., D.H. Buzzell, P.R. Foncannon and A.L. Smit. 1977. Comparison of edible portion of raw (fresh or frozen) crustaceans, finfish, mollusks. II. Macroelements: sodium, potassium, chlorine, calcium, phosphorus and magnesium. **Marine Fish Res.**: 1-11.
- Sigma-Aldrich Co Reproduction. 2005. **ADVANCED PRODUCTS SEARCH**. Available Source: [http://www.sigmaaldrich.com/Area\\_of\\_Interest/Asia\\_Pacific\\_Rim/Singapore.html](http://www.sigmaaldrich.com/Area_of_Interest/Asia_Pacific_Rim/Singapore.html), July 7, 2005.

- Spadone, J.C., G. Takeoka. and R. Liardon. 1990. Analytical investigation of ratio off flavor in green coffee. **J. Agric. Food Chem.** 38(1): 226-233.
- Stashenko, E.E., B.E. Jaramillo. and J.R. Martínez. 2004. Analysis of volatile secondary metabolites from Columbian *Xylopia aromatica* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography. **J. Chromatog. A.** 1025(1): 105-113.
- Stephan, A. and H. Steinhart. 1999. Identification of Character Impact Odorants of Different Soybean Lecithins. **J. Agric. Food Chem.** 47:2854-2859.
- Suzuki, J., N. Ichimura and T. Eton. 1990 Volatile components of boiled scallop. **Food Rev. Int.** 6: 537-552.
- Tamura, H., R-H. Yang and H. Sugisawa, 1993. Aroma profile of peel oils of acid citrus, pp. 121 – 136. *In* R. Teranishi and H. Sugisawa, eds. **Bioactive volatile compounds from plants**, American Chemical Society, ACS Symp. Ser. 525.
- \_\_\_\_\_, S. Boonbumrung, T. Yoshizawa and W. Varanyanond. 2001. The volatile constituents in the peel and pulp of a green Thai mango, Khieo Sawoei cultiva (*Mangifera indica* L.) **Food Sci. Technol. Res.** 7: 72-77.
- Tanchotikul, U. and T. C.-Y. Hsieh, 1989. Volatile flavor components in crayfish waste. **J. Food Sci.** 54: 1515-1520.
- \_\_\_\_\_. 1991. Analysis of volatile flavor components in steamed rangia clam by dynamic headspace sampling and simultaneous distillation and extraction. **J. Food Sci.** 56(2): 327-331.
- Tressl, R. and D. Rewicki. 1999. Heated generated flavors and precursors, pp. 305-326. *In* R. Teranishi, E.L. Wick and I. Hornstein, eds. **Flavor Chemistry Thirty Years of Progress**.

- Van den Dool, H. and Kratz, P.D. 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas liquid partition chromatography. **J. Chromatogr.** 11: 463-471.
- Vejaphan, W., T.C.Y. Hsieh and S.S. Williams. 1988. Volatile flavor components from boiled crayfish (*Procambarus clarkia*) tail meat. **J. Food Sci.**, 53: 1666-1670.
- Wampler, T.P. 2002. Analysis of food volatiles using headspace gas chromatographic techniques, pp. 25-54. *In* R. Marsili, eds. **Flavor Fragrance and Odor Analysis**. Marcel Dekker, Inc., NY. pp 25-54.
- Warmke, R., Belitz, H.D. and Grosch, W. 1996. Evaluation of taste compounds of Swiss cheese (Emmentaler.) **Z. Lebensm. Unters. Forsch. A.** 203: 230-235.
- Water AccQ-Tag Amino Acid Analysis System. 1993. **Operator's manual**, Manual number 154-02TP REV 0 June, USA.
- Zegota, H. Evaluation of the sensory properties of irradiated apple juice concentrate. 1991. **Z. Lebensm. Unters. Forsch.**, 192: 7-10.
- Zhang, H.Z. and Lee, T.C. 1997. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of volatile flavour compounds in mackerel for assessment of fish quality, pp. 55-63. *In* F. Shahidi and K.R. Cadwallader, eds. **Flavour and lipid chemistry of seafoods**, ACS Symposium Series 674. Washington DC: American Chemical Society.
- Zoeteman, B.C.J., A.J.A. Kraayeveld and G.J. Piet .1971. Oil pollution and drinking water Odor. **H<sub>2</sub>O.** 4: 367-371.
- Zook, K. and C. Wessman. 1977. The selection and use of judges for descriptive panels. **Food Technol.** 11: 56-61.

**ภาคผนวก ก**

**การคำนวณสารระเหยจากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS**

ภาคผนวก ก1. การคำนวณ Retention Index (RI)

$$RI = 100N + 100n \frac{t_{Ra} - t_{RN}}{t_{R(N+n)} - t_{RN}}$$

- เมื่อ
- N = จำนวนคาร์บอนอะตอมของอัลเคนที่มีคาร์บอนน้อยกว่า
  - n = ความแตกต่างของจำนวนคาร์บอนอะตอมของสารอัลเคน 2 สารที่อยู่ระหว่างสารประกอบที่ต้องการค่า RI
  - $t_{Ra}$  = retention time ของสารที่ต้องการหาค่า RI
  - $t_{RN}$  = retention time ของอัลเคนที่มีคาร์บอนน้อยกว่า
  - $t_{R(N+n)}$  = retention time ของอัลเคนที่มีคาร์บอนมากกว่า

ภาคผนวก ก2. การคำนวณปริมาณสารประกอบที่ระเหยได้

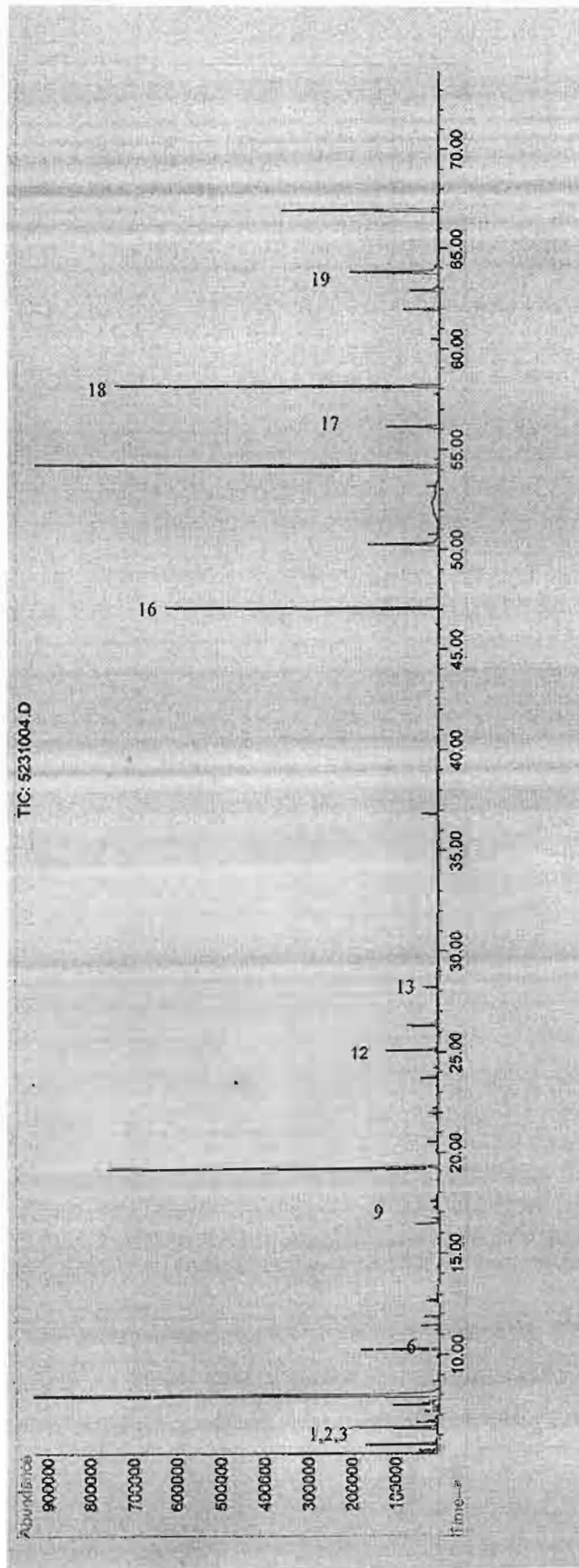
1. ใช้ 2-methyl-3-heptanone เป็น internal standard โดยละลาย IS ใน diethyl ether ก่อนนำไปใส่ในตัวอย่าง
  - 2.1.1 วิธีการสกัดแบบ SDE ใส่ IS ปริมาณ 75 ไมโครกรัม
  - 2.1.2 วิธีการสกัดแบบ DSE ใส่ IS ปริมาณ 75 ไมโครกรัม
  - 2.1.3 วิธีการสกัดแบบ P&T ใส่ IS ปริมาณ 0.03 ไมโครกรัม
2. ฉีดสารมาตรฐาน 1 ไมโครลิตร ลงใน GC-MS ที่สภาวะเดียวกับการวิเคราะห์สารระเหย การคำนวณความเข้มข้นของสารระเหยที่ต้องการทราบได้จากสมการดังต่อไปนี้

$$X = (AC)/S$$

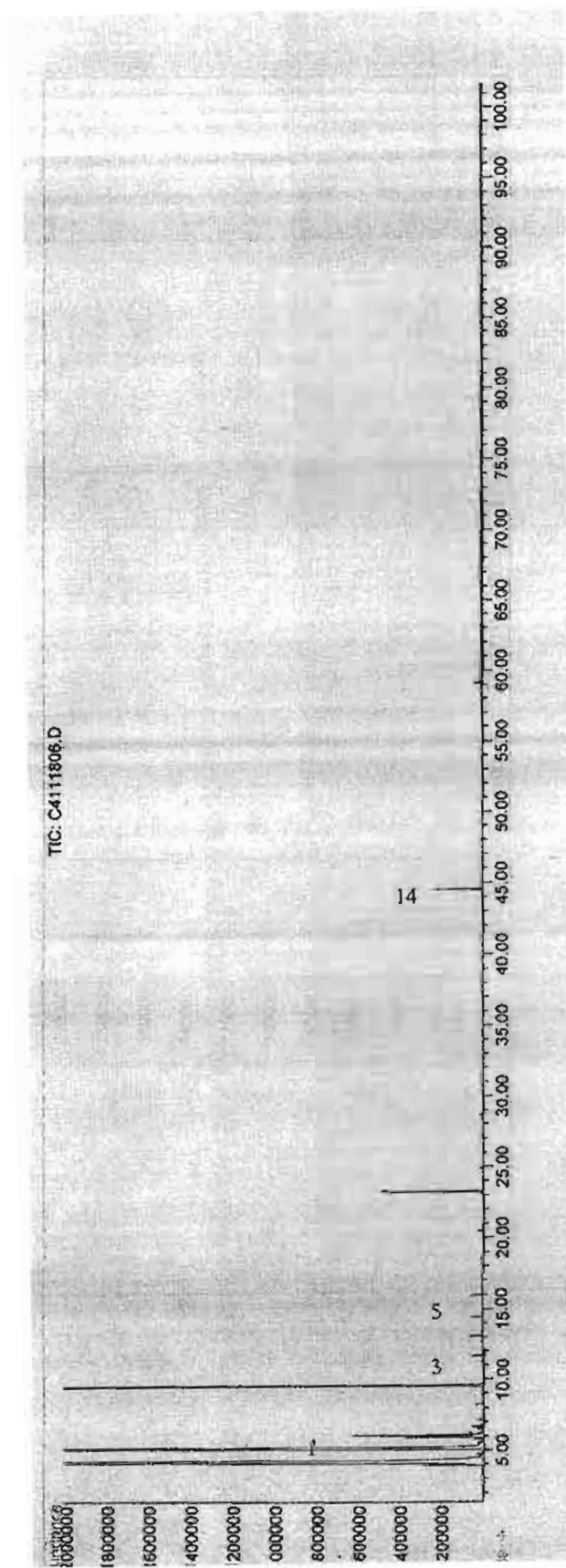
- เมื่อ
- X = ความเข้มข้นของสารระเหยที่ต้องการ ( $\mu\text{g/g}$ )
  - A = integrated area ของสารระเหยที่ต้องการทราบปริมาณ (counts/g(sample))
  - S = integrated peak area ของ internal standard (counts)

**ภาคผนวก ข**

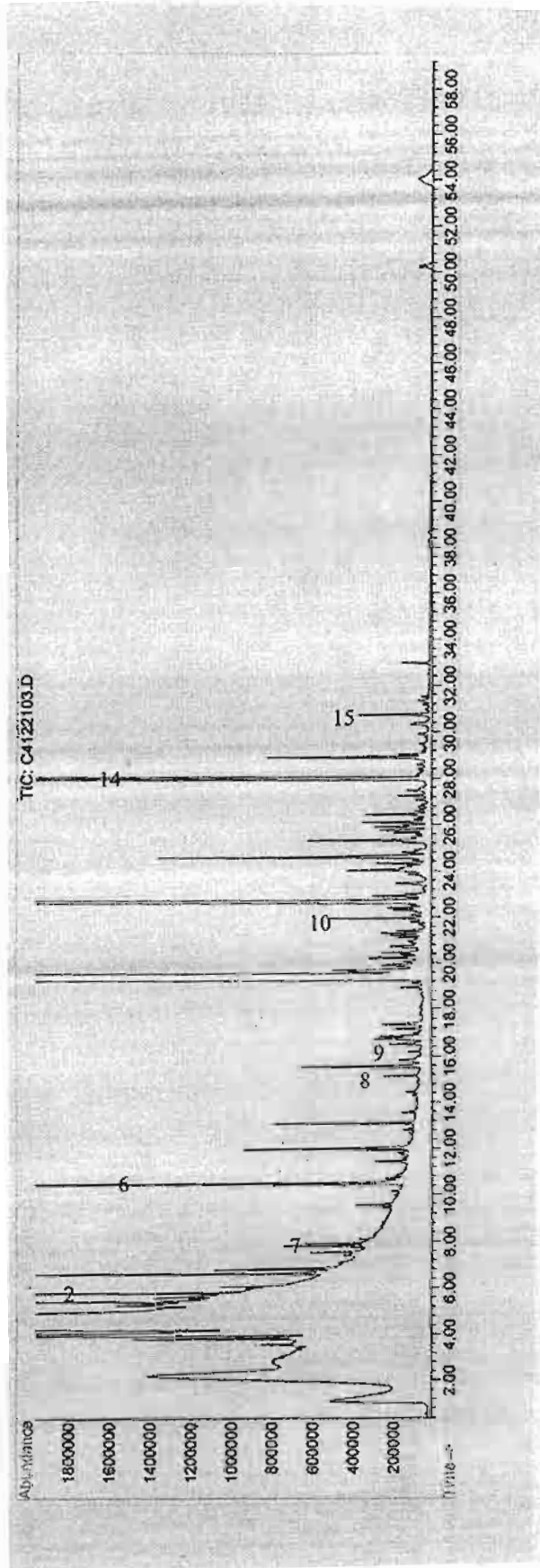
**โครมาโตแกรมของสารระเหยในปูทะเล และปูม้า**



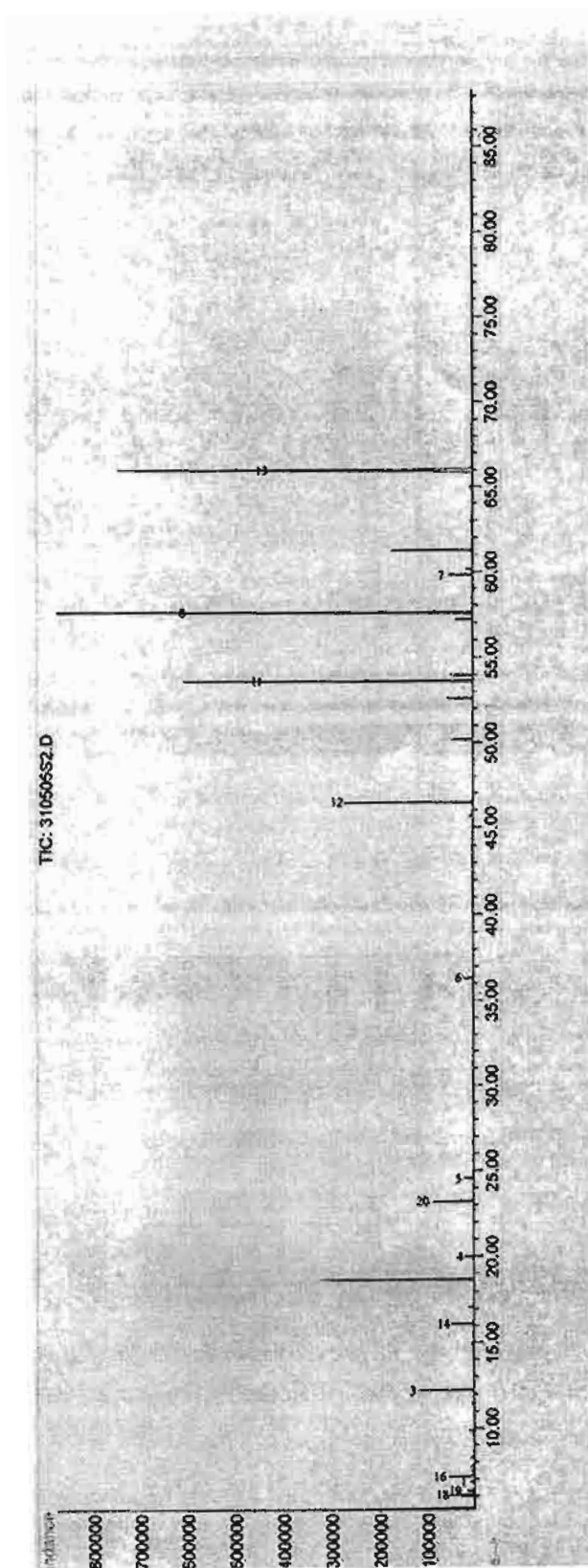
โครมาโตแกรมของสารระเหยในปูทะเล วิเคราะห์ด้วยวิธีสกัดแบบ SDE โดยใช้ HP-5 column (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4)



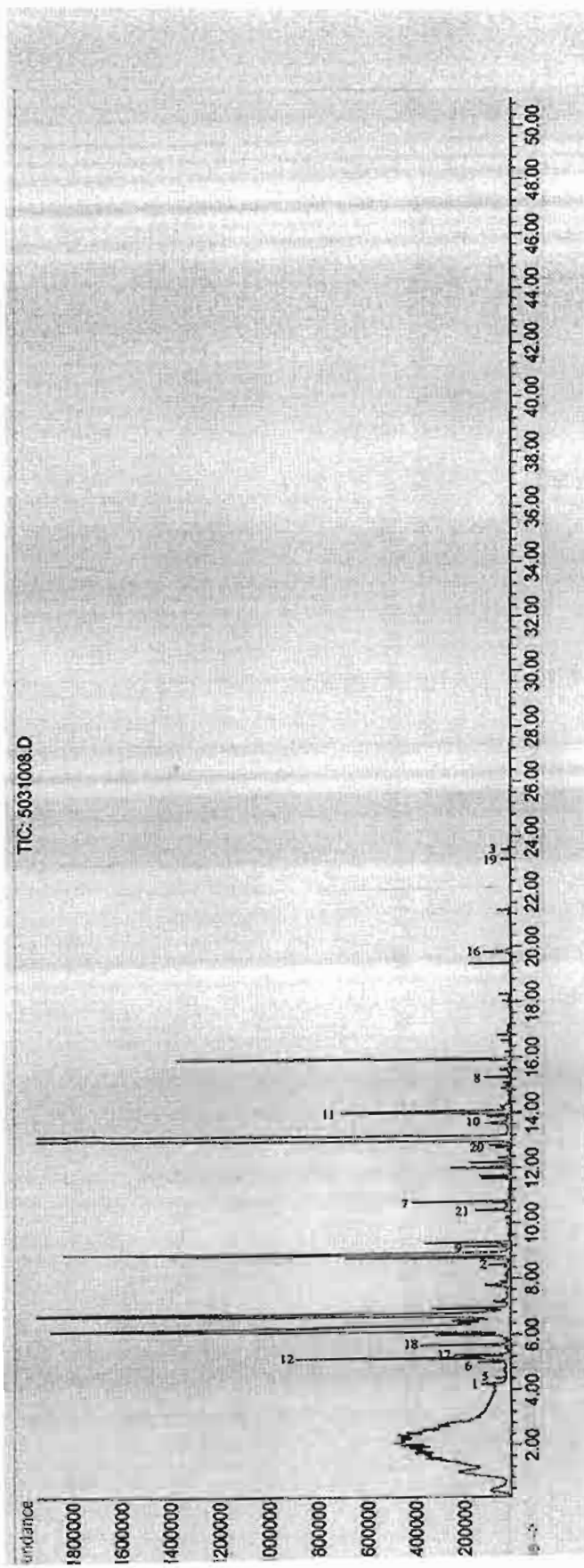
รามาโตแกรมของสารระเหยในปุ๋ยมะเล วิธีการสกัดแบบ DSE โดยใช้ HP-5 column (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4)



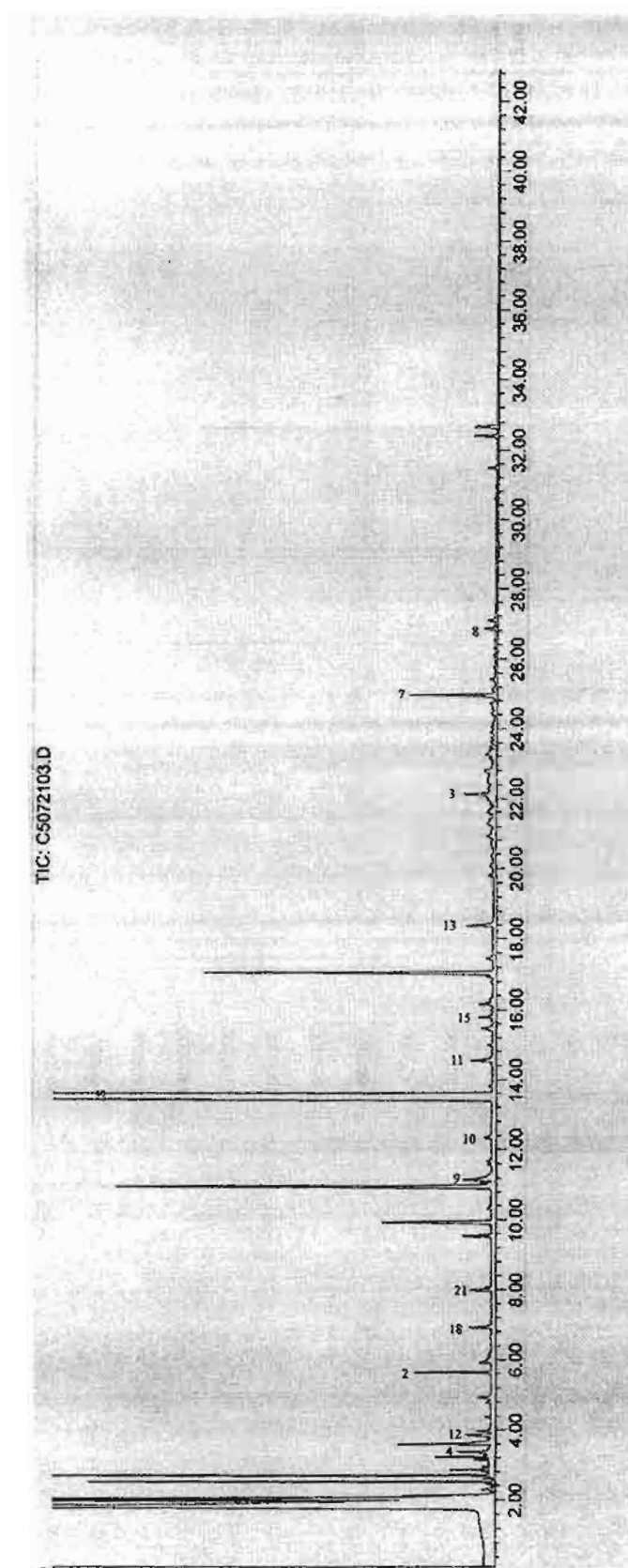
क्रमविनिर्देशनของสารระเหยในปุ๋ยทะเล วิธีการสกัดแบบ P&T โดยใช้ HP-5 column (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4)



เราไดแกวมของสารระเหยในปุนั้น ใชวิธีการสกัดแบบ SDE โดยใช HP-5 column (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 5)



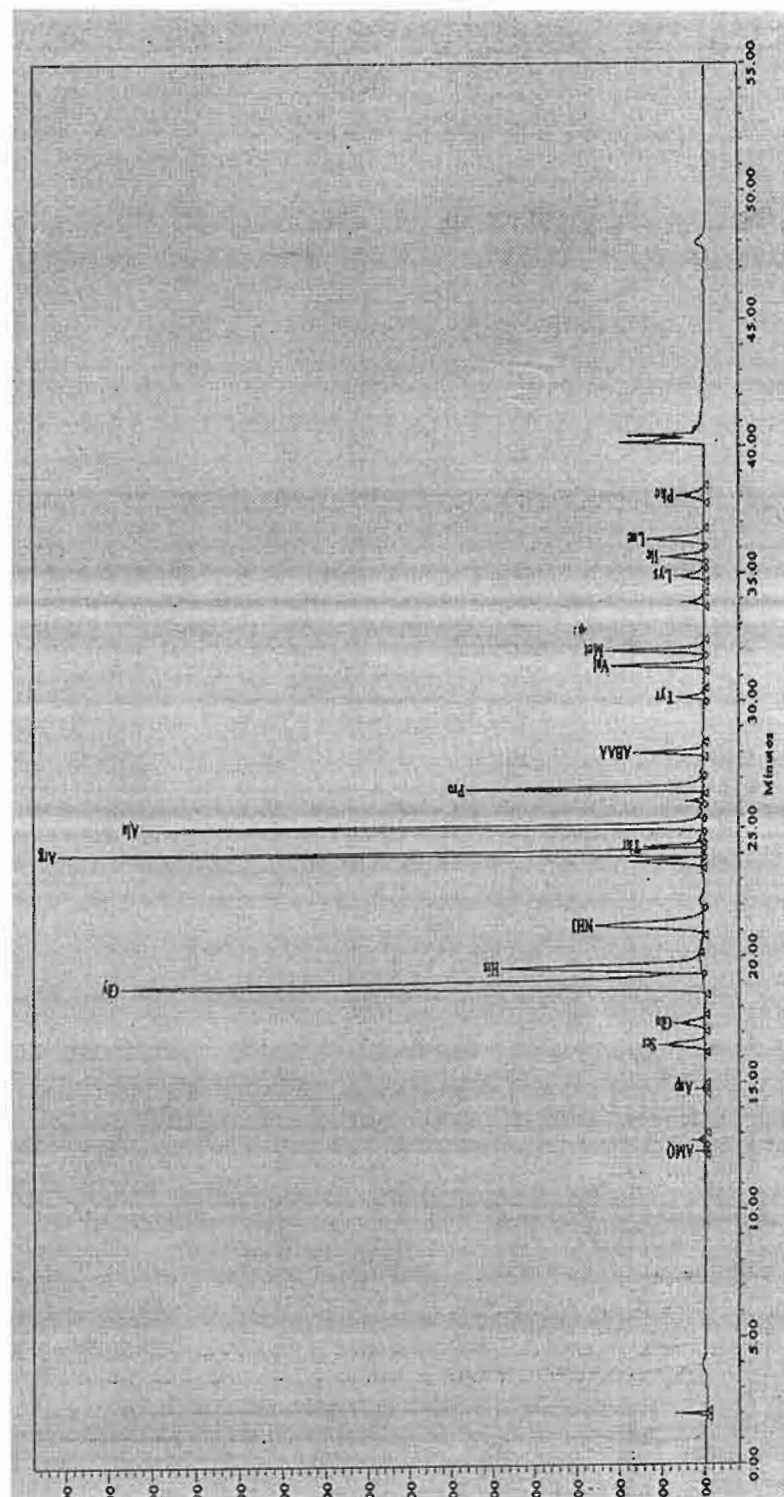
ครมาโตแกรมของสารระเหยในปูเนื้ม วิธีการสกัดแบบ P&T โดยใช้ FFAP column (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6)



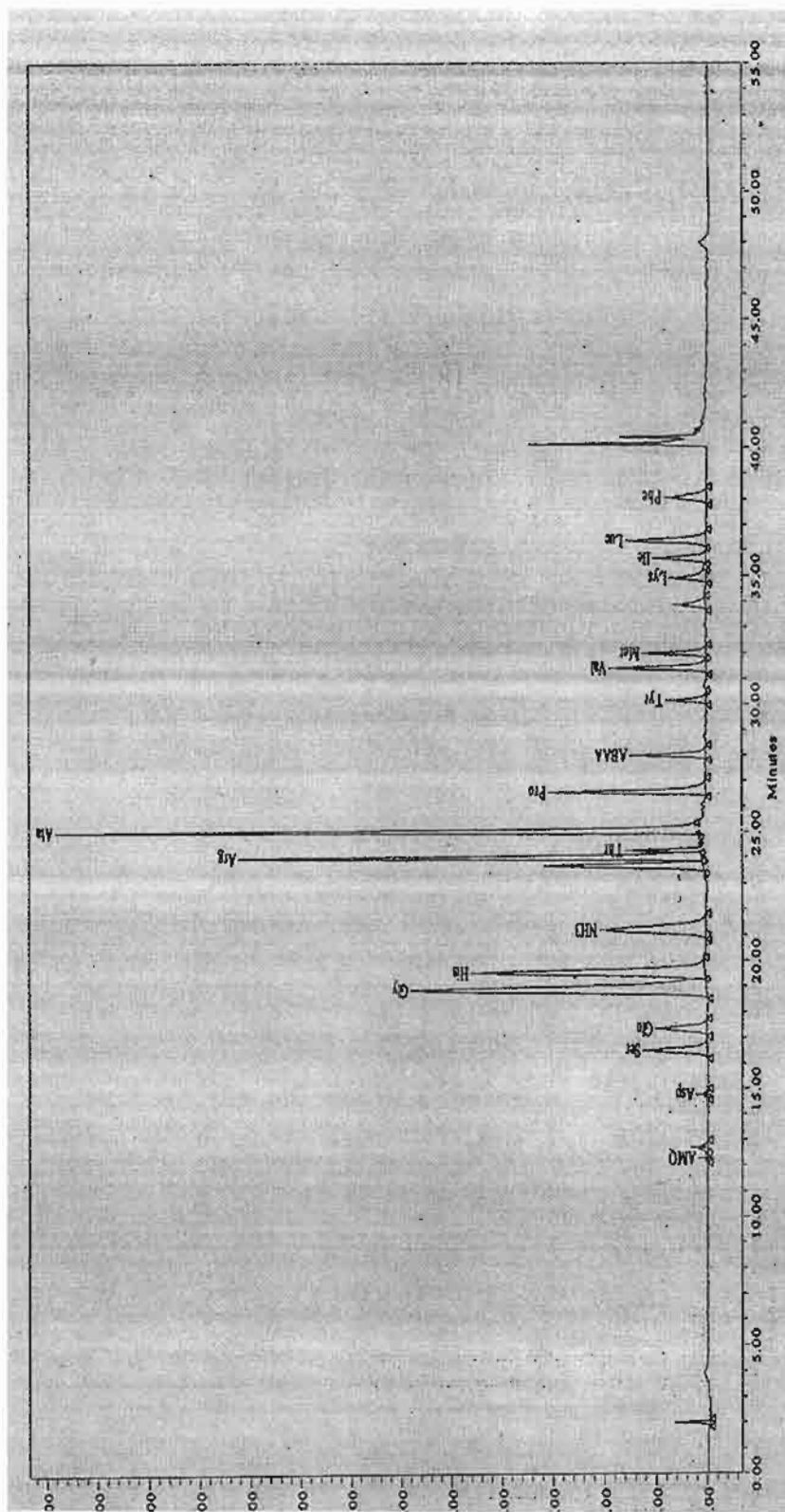
เมทาไดแกรมของสารระเหยในน้ำมัน วิธีการสกัดแบบ P&T โดยใช้ HP-5 column (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6)

**ภาคผนวก ค**

**โครมาโตแกรมของ free amino acid ในปูทะเล และปูม้า**



รูปที่ 1 โครมาโตแกรมของ Free amino acid ในน้ำทะเล



กที่ ๓2 โครมาโตแกรมของ Free amino acid ในปัสสาวะ

**ภาคผนวก ง**  
**การคำนวณผลทางสถิติ**

ตารางที่ ๖1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของความแตกต่างกันของพื้นที่ได้พืชของสารระเหยในปุ๋ยมะพร้าวที่สกัดโดยวิธี SDE, DSE และ P&T.

|                 | df | Sum of Squares      | Mean Square         | F-value | p-value |
|-----------------|----|---------------------|---------------------|---------|---------|
| Ethylacetate    |    |                     |                     |         |         |
| Between Groups  | 2  | 1074175873489180.00 | 537087936744588.00  | 188.55  | 0.00    |
| Within Groups   | 6  | 17091465901311.30   | 2848577650218.56    |         |         |
| Total           | 8  | 1091267339390490.00 |                     |         |         |
| 3-methylbutanal |    |                     |                     |         |         |
| Between Groups  | 2  | 1437280243014570.00 | 718640121507287.00  | 278.23  | 0.00    |
| Within Groups   | 6  | 15497136463490.70   | 2582856077248.44    |         |         |
| Total           | 8  | 1452777379478060.00 |                     |         |         |
| Hexanal         |    |                     |                     |         |         |
| Between Groups  | 2  | 2239222484990990.00 | 1119611242495500.00 | 106.04  | 0.00    |
| Within Groups   | 6  | 63351997029977.30   | 10558666171662.90   |         |         |
| Total           | 8  | 2302574482020970.00 |                     |         |         |
| Heptanal        |    |                     |                     |         |         |
| Between Groups  | 2  | 414226514889800     | 207113257444900     | 66.25   | 0.00    |
| Within Groups   | 6  | 18756889645794      | 3126148274299       |         |         |
| Total           | 8  | 432983404535594     |                     |         |         |
| Nonanal         |    |                     |                     |         |         |
| Between Groups  | 2  | 10831952401250      | 5415976200625       | 98.18   | 0.00    |
| Within Groups   | 6  | 330995717138        | 55165952856         |         |         |
| Total           | 8  | 11162948118388      |                     |         |         |

ตารางที่ ๑1 (ต่อ) ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของความแตกต่างกัน  
ของพื้นที่ใต้พีคของสารระเหยในปุ๋ยมะพร้าวที่สกัดโดยวิธี SDE, DSE และ P&T.

|                 | df | Sum of Squares       | Mean Square          | F-value | p-value |
|-----------------|----|----------------------|----------------------|---------|---------|
| Undecane        |    |                      |                      |         |         |
| Between Groups  | 2  | 9259620042134        | 4629810021067        | 370.1   | 0.00    |
| Within Groups   | 6  | 75056828683          | 12509471447          |         |         |
| Total           | 8  | 9334676870817        |                      |         |         |
| Total peak area |    |                      |                      |         |         |
| Between Groups  | 2  | 89004663330399200000 | 44502331665199600000 | 109.88  | 0.00    |
| Within Groups   | 6  | 2430063685163210000  | 405010614193868000   |         |         |
| Total           | 8  | 91434727015562400000 |                      |         |         |

**ตารางที่ ๖2** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของความแตกต่างกันของ  
สารระเหยระหว่าง ปูนี้มและปุ๋ยทะเลที่สกัด โดยวิธี SDE

| Component                        |                             | df | Mean<br>Difference | Std. Error<br>Difference | t     | Sig. (2-<br>tailed) |
|----------------------------------|-----------------------------|----|--------------------|--------------------------|-------|---------------------|
| 3-METHYLBUTANAL                  | Equal variances assumed     | 4  | 0.0150             | 0.0148                   | 1.01  | 0.37                |
|                                  | Equal variances not assumed | 3  | 0.0150             | 0.0148                   | 1.01  | 0.39                |
| HEXANAL                          | Equal variances assumed     | 4  | 0.0177             | 0.0159                   | 1.11  | 0.33                |
|                                  | Equal variances not assumed | 2  | 0.0177             | 0.0159                   | 1.11  | 0.38                |
| BENZALDEHYDE                     | Equal variances assumed     | 4  | 0.0017             | 0.0046                   | 0.36  | 0.74                |
|                                  | Equal variances not assumed | 3  | 0.0017             | 0.0046                   | 0.36  | 0.74                |
| 2,6-BIS(1,1-DIMETHYLETHYL)PHENOL | Equal variances assumed     | 4  | 0.0630             | 0.0269                   | 2.34  | 0.08                |
|                                  | Equal variances not assumed | 4  | 0.0630             | 0.0269                   | 2.34  | 0.08                |
| 2,3-BUTANEDIONE                  | Equal variances assumed     | 4  | -0.0113            | 0.0067                   | -1.69 | 0.17                |
|                                  | Equal variances not assumed | 3  | -0.0113            | 0.0067                   | -1.69 | 0.20                |
| 2,3-PENTANEDIONE                 | Equal variances assumed     | 4  | -0.018             | 0.002                    | -9    | 0.00                |
|                                  | Equal variances not assumed | 2  | -0.018             | 0.002                    | -9    | 0.01                |
| ETHYLACETATE                     | Equal variances assumed     | 4  | -0.0123            | 0.0190                   | -0.65 | 0.55                |
|                                  | Equal variances not assumed | 4  | -0.0123            | 0.0190                   | -0.65 | 0.55                |
| ACETIC ACID                      | Equal variances assumed     | 4  | -0.0047            | 0.0018                   | -2.65 | 0.06                |
|                                  | Equal variances not assumed | 2  | -0.0047            | 0.0018                   | -2.65 | 0.11                |
| 2-ACETHYLTHIAZOLE                | Equal variances assumed     | 4  | -0.0930            | 0.0210                   | -4.43 | 0.01                |
|                                  | Equal variances not assumed | 2  | -0.0930            | 0.0210                   | -4.43 | 0.04                |

**ตารางที่ 3** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของความแตกต่างกันของ  
สารระหว่าง ปูนี้มและปุ๋ยมะเกลือที่สกัดโดยวิธี P&T

| Component     |                             | df | Mean<br>Difference | Std. Error<br>Difference | t     | Sig. (2-<br>tailed) |
|---------------|-----------------------------|----|--------------------|--------------------------|-------|---------------------|
| HEXANAL       | Equal variances assumed     | 4  | 0.0150             | 0.0038                   | 3.88  | 0.02                |
|               | Equal variances not assumed | 2  | 0.0150             | 0.0038                   | 3.88  | 0.05                |
| NONANAL       | Equal variances assumed     | 4  | 0.0000             | 0.0002                   | -0.23 | 0.83                |
|               | Equal variances not assumed | 4  | 0.0000             | 0.0002                   | -0.23 | 0.83                |
| HEPTANE       | Equal variances assumed     | 4  | 0.0003             | 0.0001                   | 1.95  | 0.12                |
|               | Equal variances not assumed | 3  | 0.0003             | 0.0001                   | 1.95  | 0.16                |
| OCTANE        | Equal variances assumed     | 4  | 0.0003             | 0.0003                   | 0.95  | 0.40                |
|               | Equal variances not assumed | 4  | 0.0003             | 0.0003                   | 0.95  | 0.40                |
| UNDECANE      | Equal variances assumed     | 4  | 0.0044             | 0.0006                   | 7.42  | 0.00                |
|               | Equal variances not assumed | 2  | 0.0044             | 0.0006                   | 7.42  | 0.02                |
| DODECANE      | Equal variances assumed     | 4  | 0.0022             | 0.0023                   | 0.94  | 0.40                |
|               | Equal variances not assumed | 3  | 0.0022             | 0.0023                   | 0.94  | 0.42                |
| ETHYLBENZENE  | Equal variances assumed     | 4  | -0.0011            | 0.0007                   | -1.53 | 0.20                |
|               | Equal variances not assumed | 2  | -0.0011            | 0.0007                   | -1.53 | 0.26                |
| XYLENE        | Equal variances assumed     | 4  | 0.0009             | 0.0002                   | 4.33  | 0.01                |
|               | Equal variances not assumed | 4  | 0.0009             | 0.0002                   | 4.33  | 0.01                |
| STYRENE       | Equal variances assumed     | 4  | -0.0084            | 0.0017                   | -5.01 | 0.01                |
|               | Equal variances not assumed | 2  | -0.0084            | 0.0017                   | -5.01 | 0.03                |
| CYCLOHEXANONE | Equal variances assumed     | 4  | 0.0050             | 0.0001                   | 49.25 | 0.00                |
|               | Equal variances not assumed | 3  | 0.0050             | 0.0001                   | 49.25 | 0.00                |
| 6-METHYL-5-   | Equal variances assumed     | 4  | 0.0001             | 0.0001                   | 0.77  | 0.49                |
| HEPTEN-2-ONE  | Equal variances not assumed | 4  | 0.0001             | 0.0001                   | 0.77  | 0.49                |
| METHYLACETATE | Equal variances assumed     | 4  | 0.0007             | 0.0004                   | 1.62  | 0.18                |
|               | Equal variances not assumed | 2  | 0.0007             | 0.0004                   | 1.62  | 0.24                |

**ตารางที่ 33 (ต่อ) ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของความแตกต่างกัน**  
**ของสารระเหย ระหว่าง ปูนี้มและปุ๋ยมะพร้าว โดยวิธี P&T**

| Component      |                             | df | Mean Difference | Std. Error Difference | t    | Sig. (2-tailed) |
|----------------|-----------------------------|----|-----------------|-----------------------|------|-----------------|
| ETHYLACETATE   | Equal variances assumed     | 4  | 0.0006          | 0.0008                | 0.75 | 0.50            |
|                | Equal variances not assumed | 4  | 0.0006          | 0.0008                | 0.75 | 0.50            |
| ACETIC ACID    | Equal variances assumed     | 4  | 0.0002          | 0.0002                | 1.30 | 0.26            |
|                | Equal variances not assumed | 3  | 0.0002          | 0.0002                | 1.30 | 0.29            |
| DIMETDISULFIDE | Equal variances assumed     | 4  | 0.0015          | 0.0005                | 3.27 | 0.03            |
|                | Equal variances not assumed | 4  | 0.0015          | 0.0005                | 3.27 | 0.04            |

**ตารางที่ 34 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของกรดอะมิโนอิสระ**  
**ระหว่าง ปูนี้มและปุ๋ยมะพร้าว**

| Amino Acids |                             | df | Mean Difference | Std. Error Difference | t     | Sig. (2-tailed) |
|-------------|-----------------------------|----|-----------------|-----------------------|-------|-----------------|
| Glu         | Equal variances assumed     | 4  | 33.44           | 4.22                  | 7.92  | 0.00            |
|             | Equal variances not assumed | 3  | 33.44           | 4.22                  | 7.92  | 0.00            |
| Gly         | Equal variances assumed     | 4  | 612.84          | 28.58                 | 21.45 | 0.00            |
|             | Equal variances not assumed | 2  | 612.84          | 28.58                 | 21.45 | 0.00            |
| Ala         | Equal variances assumed     | 4  | -27.43          | 9.61                  | -2.85 | 0.047           |
|             | Equal variances not assumed | 4  | -27.43          | 9.61                  | -2.85 | 0.047           |
| Arg         | Equal variances assumed     | 4  | 240.40          | 26.93                 | 8.93  | 0.00            |
|             | Equal variances not assumed | 2  | 240.40          | 26.93                 | 8.93  | 0.01            |
| TOTAL       | Equal variances assumed     | 4  | 939.74          | 100.95                | 9.31  | 0.00            |
|             | Equal variances not assumed | 2  | 939.74          | 100.95                | 9.31  | 0.01            |

**ตารางที่ 5** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของเกลืออนินทรีย์ระหว่าง  
ปูนี้มและปุ๋ยมะเกลือ

| Inorganic salts |                             | df | Mean<br>Difference | Std. Error<br>Difference | t      | Sig. (2-<br>tailed) |
|-----------------|-----------------------------|----|--------------------|--------------------------|--------|---------------------|
| Na <sup>+</sup> | Equal variances assumed     | 4  | 0.19               | 0.01                     | 23.47  | 0.00                |
|                 | Equal variances not assumed | 3  | 0.19               | 0.01                     | 23.47  | 0.00                |
| K <sup>+</sup>  | Equal variances assumed     | 4  | 0.07               | 0.00                     | 14.45  | 0.00                |
|                 | Equal variances not assumed | 4  | 0.07               | 0.00                     | 14.45  | 0.00                |
| Ca <sup>+</sup> | Equal variances assumed     | 4  | -0.19              | 0.01                     | -15.84 | 0.00                |
|                 | Equal variances not assumed | 2  | -0.19              | 0.01                     | -15.84 | 0.00                |
| Cl <sup>-</sup> | Equal variances assumed     | 4  | -0.17              | 0.01                     | -29.83 | 0.00                |
|                 | Equal variances not assumed | 2  | -0.17              | 0.01                     | -29.83 | 0.00                |

**ตารางที่ 36** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของสารระเหย ของปูนี้มที่ เก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ โดยวิธี SDE

|                             | df | Sum of Squares | Mean Square | F      | Sig.  |
|-----------------------------|----|----------------|-------------|--------|-------|
| <b>ETHYL ACETATE</b>        |    |                |             |        |       |
| Between Groups              | 5  | 0.014          | 0.003       | 0.759  | 0.596 |
| Within Groups               | 12 | 0.043          | 0.004       |        |       |
| Total                       | 17 | 0.057          |             |        |       |
| <b>TETRAHYDROFURAN</b>      |    |                |             |        |       |
| Between Groups              | 5  | 0.000          | 0.000       | 4.946  | 0.011 |
| Within Groups               | 12 | 0.000          | 0.000       |        |       |
| Total                       | 17 | 0.000          |             |        |       |
| <b>3-PENTANEDIONE</b>       |    |                |             |        |       |
| Between Groups              | 5  | 0.007          | 0.001       | 0.777  | 0.585 |
| Within Groups               | 12 | 0.021          | 0.002       |        |       |
| Total                       | 17 | 0.028          |             |        |       |
| <b>4-HYDROXY-2-BUTANONE</b> |    |                |             |        |       |
| Between Groups              | 5  | 0.000          | 0.000       | 4.049  | 0.022 |
| Within Groups               | 12 | 0.000          | 0.000       |        |       |
| Total                       | 17 | 0.000          |             |        |       |
| <b>METHYL CYCLOHEXANE</b>   |    |                |             |        |       |
| Between Groups              | 5  | 0.000          | 0.000       | 18.881 | 0.000 |
| Within Groups               | 12 | 0.000          | 0.000       |        |       |
| Total                       | 17 | 0.000          |             |        |       |
| <b>METHYL BENZENE</b>       |    |                |             |        |       |
| Between Groups              | 5  | 0.000          | 0.000       | 1.980  | 0.154 |
| Within Groups               | 12 | 0.000          | 0.000       |        |       |
| Total                       | 17 | 0.000          |             |        |       |
| <b>TYRENE</b>               |    |                |             |        |       |
| Between Groups              | 5  | 0.001          | 0.000       | 1.003  | 0.457 |
| Within Groups               | 12 | 0.001          | 0.000       |        |       |

ตารางที่ 6 (ต่อ) ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของความแตกต่างกัน  
ของสารระเหย ของปูนีที่เก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ โดยวิธี SDE

|                             | df | Sum of Squares | Mean Square | F     | Sig.  |
|-----------------------------|----|----------------|-------------|-------|-------|
| <b>3-PENTANONE</b>          |    |                |             |       |       |
| Between Groups              | 5  | 0.005          | 0.001       | 4.704 | 0.013 |
| Within Groups               | 12 | 0.002          | 0.000       |       |       |
| Total                       | 17 | 0.007          |             |       |       |
| <b>4-CYCLOHEXANONE</b>      |    |                |             |       |       |
| Between Groups              | 5  | 0.000          | 0.000       | 7.945 | 0.002 |
| Within Groups               | 12 | 0.000          | 0.000       |       |       |
| Total                       | 17 | 0.000          |             |       |       |
| <b>5-ACETHYLTHIAZOLE</b>    |    |                |             |       |       |
| Between Groups              | 5  | 0.004          | 0.001       | 1.609 | 0.231 |
| Within Groups               | 12 | 0.006          | 0.000       |       |       |
| Total                       | 17 | 0.010          |             |       |       |
| <b>6-PHENYLACETALDEHYDE</b> |    |                |             |       |       |
| Between Groups              | 5  | 0.141          | 0.028       | 1.387 | 0.296 |
| Within Groups               | 12 | 0.245          | 0.020       |       |       |
| Total                       | 17 | 0.386          |             |       |       |
| <b>2-METHYL-BUTANAL</b>     |    |                |             |       |       |
| Between Groups              | 5  | 31276.004      | 6255.201    | 2.731 | 0.071 |
| Within Groups               | 12 | 27482.695      | 2290.225    |       |       |
| Total                       | 17 | 58758.699      |             |       |       |
| <b>3-METHYL-BUTANAL</b>     |    |                |             |       |       |
| Between Groups              | 5  | 26.727         | 5.345       | 2.302 | 0.110 |
| Within Groups               | 12 | 27.863         | 2.322       |       |       |
| Total                       | 17 | 54.590         |             |       |       |

**ตารางที่ ๗** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของพื้นที่ได้พืชของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ของปฏิกิริยาที่เก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ

|                                  | df | Sum of Squares | Mean Square   | F      | Sig.  |
|----------------------------------|----|----------------|---------------|--------|-------|
| <b>HYPOXATHINE</b>               |    |                |               |        |       |
| Between Groups                   | 5  | 119031102.804  | 23806220.561  | 5.214  | 0.009 |
| Within Groups                    | 12 | 54794232.833   | 4566186.069   |        |       |
| Total                            | 17 | 173825335.637  |               |        |       |
| <b>INOSINE-5'-MONOPHOSPHATE</b>  |    |                |               |        |       |
| Between Groups                   | 5  | 100825107.376  | 20165021.475  | 1.458  | 0.274 |
| Within Groups                    | 12 | 165999487.529  | 13833290.627  |        |       |
| Total                            | 17 | 266824594.905  |               |        |       |
| <b>INOSINE</b>                   |    |                |               |        |       |
| Between Groups                   | 5  | 185789282.356  | 37157856.471  | 15.558 | 0.000 |
| Within Groups                    | 12 | 28659314.531   | 2388276.211   |        |       |
| Total                            | 17 | 214448596.887  |               |        |       |
| <b>ADENOSINE-5'MONOPHOSPHATE</b> |    |                |               |        |       |
| Between Groups                   | 5  | 313306335.021  | 62661267.004  | 0.749  | 0.602 |
| Within Groups                    | 12 | 1003910020.831 | 83659168.403  |        |       |
| Total                            | 17 | 1317216355.853 |               |        |       |
| <b>ADENOSINE-5'-DIPHOSPHATE</b>  |    |                |               |        |       |
| Between Groups                   | 5  | 820730046.401  | 164146009.280 | 15.487 | 0.000 |
| Within Groups                    | 12 | 127184639.660  | 10598719.972  |        |       |
| Total                            | 17 | 947914686.061  |               |        |       |
| <b>ADENOSINE-5'-TRIPHOSPHATE</b> |    |                |               |        |       |
| Between Groups                   | 5  | 705217862.191  | 141043572.438 | 9.825  | 0.001 |
| Within Groups                    | 12 | 172267881.309  | 14355656.776  |        |       |
| Total                            | 17 | 877485743.500  |               |        |       |

**ตารางที่ ๘** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราส่วนของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ของปฏิกิริยาที่เก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ

|                 | df | Sum of Squares | Mean Square | F      | Sig.  |
|-----------------|----|----------------|-------------|--------|-------|
| <b>K-Value</b>  |    |                |             |        |       |
| Between Groups  | 5  | 1140.201       | 228.040     | 18.693 | 0.000 |
| Within Groups   | 12 | 146.394        | 12.200      |        |       |
| Total           | 17 | 1286.595       |             |        |       |
| <b>KI-Value</b> |    |                |             |        |       |
| Between Groups  | 5  | 315.022        | 63.004      | 0.287  | 0.911 |
| Within Groups   | 12 | 2632.813       | 219.401     |        |       |
| Total           | 17 | 2947.835       |             |        |       |
| <b>G-Value</b>  |    |                |             |        |       |
| Between Groups  | 5  | 0.129          | 0.026       | 10.343 | .001  |
| Within Groups   | 12 | 0.030          | 0.002       |        |       |
| Total           | 17 | 0.159          |             |        |       |
| <b>H-Value</b>  |    |                |             |        |       |
| Between Groups  | 5  | 0.075          | 0.015       | 0.960  | 0.479 |
| Within Groups   | 12 | 0.188          | 0.016       |        |       |
| Total           | 17 | 0.263          |             |        |       |
| <b>P-Value</b>  |    |                |             |        |       |
| Between Groups  | 5  | 0.073          | 0.015       | 9.504  | 0.001 |
| Within Groups   | 12 | 0.018          | 0.002       |        |       |
| Total           | 17 | 0.091          |             |        |       |

**ตารางที่ ๙๙** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของ ค่าTVB-N และค่า pH ของปูน้ำจืดที่เก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ

|                | df | Sum of Squares | Mean Square | F       | Sig.  |
|----------------|----|----------------|-------------|---------|-------|
| TVB-N          |    |                |             |         |       |
| Between Groups | 5  | 246.847        | 49.369      | 16.908  | 0.000 |
| Within Groups  | 12 | 35.039         | 2.920       |         |       |
| Total          | 17 | 281.885        |             |         |       |
| pH             |    |                |             |         |       |
| Between Groups | 5  | 0.634          | 0.127       | 135.963 | 0.000 |
| Within Groups  | 12 | 0.011          | 0.001       |         |       |
| Total          | 17 | 0.646          |             |         |       |

**ตารางที่ ๑๐๐** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของกรดอะมิโนอิสระในปูน้ำจืดที่เก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ

|                | df | Sum of Squares | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----|----------------|-------------|--------|------|
| GLUTAMINE      |    |                |             |        |      |
| Between Groups | 5  | 5807.398       | 1161.480    | 25.761 | .000 |
| Within Groups  | 12 | 541.032        | 45.086      |        |      |
| Total          | 17 | 6348.430       |             |        |      |
| GLYCINE        |    |                |             |        |      |
| Between Groups | 5  | 67032.516      | 13406.503   | 25.064 | .000 |
| Within Groups  | 12 | 6418.619       | 534.885     |        |      |
| Total          | 17 | 73451.135      |             |        |      |
| ALANINE        |    |                |             |        |      |
| Between Groups | 5  | 60936.449      | 12187.290   | 31.626 | .000 |
| Within Groups  | 12 | 4624.282       | 385.357     |        |      |
| Total          | 17 | 65560.731      |             |        |      |
| ARGININE       |    |                |             |        |      |
| Between Groups | 5  | 4119.320       | 823.864     | 4.014  | .023 |

**ตารางที่ ๑1** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้าน Flavor profiles (ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4)

| ลักษณะที่ทดสอบ | SOV      | df | SS      | MS    | F      |
|----------------|----------|----|---------|-------|--------|
| กลิ่นหอมหวาน   | ชนิดปู   | 1  | 0.07    | 0.07  | 0.09   |
|                | ผู้ทดสอบ | 10 | 8.60    | 0.86  | 1.19   |
|                | Error    | 32 | 23.11   | 0.72  |        |
|                | Total    | 44 | 1597.83 |       |        |
| กลิ่นโคลน      | ชนิดปู   | 1  | 0.00    | 0.00  | 0.01   |
|                | ผู้ทดสอบ | 10 | 1.79    | 0.18  | 1.32   |
|                | Error    | 32 | 4.33    | 0.14  |        |
|                | Total    | 44 | 99.22   |       |        |
| กลิ่นทะเล      | ชนิดปู   | 1  | 32.82   | 32.82 | 17.73* |
|                | ผู้ทดสอบ | 10 | 33.81   | 3.38  | 1.83   |
|                | Error    | 32 | 59.25   | 1.85  |        |
|                | Total    | 44 | 1347.04 |       |        |

\* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 11 (ต่อ)

| ลักษณะที่ทดสอบ | SOV      | df | SS      | MS   | F    |
|----------------|----------|----|---------|------|------|
| กลิ่นปู        | ชนิดปู   | 1  | 0.15    | 0.15 | 0.07 |
|                | ผู้ทดสอบ | 10 | 18.93   | 1.89 | 0.82 |
|                | Error    | 32 | 74.04   | 2.31 |      |
|                | Total    | 44 | 4810.66 |      |      |
| กลิ่นรสโดยรวม  | ชนิดปู   | 1  | 0.13    | 0.13 | 0.37 |
|                | ผู้ทดสอบ | 10 | 6.02    | 0.60 | 1.69 |
|                | Error    | 32 | 11.39   | 0.36 |      |
|                | Total    | 44 | 4397.56 |      |      |

\* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ )

**ตารางที่ 12** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส Taste profiles (ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 5)

| ลักษณะที่ทดสอบ | SOV      | df | SS      | MS    | F      |
|----------------|----------|----|---------|-------|--------|
| รสหวาน         | ชนิดปู   | 1  | 0.02    | 0.02  | 0.01   |
|                | ผู้ทดสอบ | 10 | 10.01   | 1.00  | 0.63   |
|                | Error    | 32 | 50.85   | 1.59  |        |
|                | Total    | 44 | 1959.08 |       |        |
| รสเปรี้ยว      | ชนิดปู   | 1  | 0.00    | 0.00  | 0.02   |
|                | ผู้ทดสอบ | 10 | 0.48    | 0.05  | 0.57   |
|                | Error    | 32 | 2.69    | 0.08  |        |
|                | Total    | 44 | 84.17   |       |        |
| รสเค็ม         | ชนิดปู   | 1  | 34.75   | 34.75 | 33.06* |
|                | ผู้ทดสอบ | 10 | 22.36   | 2.24  | 2.13   |
|                | Error    | 32 | 33.63   | 1.05  |        |
|                | Total    | 44 | 1349.05 |       |        |
| รสขม           | ชนิดปู   | 1  | 0.11    | 0.11  | 0.23   |
|                | ผู้ทดสอบ | 10 | 3.82    | 0.38  | 0.81   |
|                | Error    | 32 | 15.13   | 0.47  |        |
|                | Total    | 44 | 132.34  |       |        |
| รสอโรย         | ชนิดปู   | 1  | 0.08    | 0.08  | 0.18   |
|                | ผู้ทดสอบ | 10 | 9.75    | 0.98  | 2.11   |
|                | Error    | 32 | 14.79   | 0.46  |        |
|                | Total    | 44 | 2622.61 |       |        |

\* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของผลการทดสอบทาง  
ประสาทสัมผัสต่อเนื้อปูชนิดที่ระยะเวลาเก็บรักษาต่างๆ (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 14)

| Source                    | df  | Sum of Squares | Mean Square | F      | Sig. |
|---------------------------|-----|----------------|-------------|--------|------|
| <b>กลิ่นหอมหวาน</b>       |     |                |             |        |      |
| DAY                       | 5   | 42.833         | 8.567       | 76.227 | .000 |
| PANEL (as block)          | 7   | 4.194          | .599        | 5.332  | .000 |
| Error                     | 131 | 14.722         | .112        |        |      |
| Total                     | 144 | 368.000        |             |        |      |
| <b>กลิ่นโคลน</b>          |     |                |             |        |      |
| DAY                       | 5   | 4.368          | .874        | 7.400  | .000 |
| PANEL(as block)           | 7   | 1.493          | .213        | 1.807  | .091 |
| Error                     | 131 | 15.465         | .118        |        |      |
| Total                     | 144 | 215.000        |             |        |      |
| <b>กลิ่นปู</b>            |     |                |             |        |      |
| DAY                       | 5   | 108.722        | 21.744      | 34.951 | .000 |
| PANEL(as block)           | 7   | 48.333         | 6.905       | 11.098 | .000 |
| Error                     | 131 | 81.500         | .622        |        |      |
| Total                     | 144 | 1708.000       |             |        |      |
| <b>กลิ่นทะเล</b>          |     |                |             |        |      |
| DAY                       | 5   | 8.785          | 1.757       | 6.085  | .000 |
| PANEL(as block)           | 7   | 10.549         | 1.507       | 5.219  | .000 |
| Error                     | 131 | 37.826         | .289        |        |      |
| Total                     | 144 | 523.000        |             |        |      |
| <b>กลิ่นไม่พึงประสงค์</b> |     |                |             |        |      |
| DAY                       | 5   | 51.472         | 10.294      | 55.484 | .000 |
| PANEL(as block)           | 7   | 2.861          | .409        | 2.203  | .038 |
| Error                     | 131 | 24.306         | .186        |        |      |
| Total                     | 144 | 362.000        |             |        |      |

**ตารางที่ 14** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของผลการทดสอบทาง  
ประสาทสัมผัสต่อเนื้อปูที่มีสุกที่ระยะเวลาเก็บรักษาต่างๆ (ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 14)

| Source              | df  | Sum of Squares | Mean Square | F      | Sig. |
|---------------------|-----|----------------|-------------|--------|------|
| <b>กลิ่นหอมหวาน</b> |     |                |             |        |      |
| AY                  | 5   | 13.368         | 2.674       | 7.065  | .000 |
| ANEL (as block)     | 7   | 10.382         | 1.483       | 3.919  | .001 |
| Error               | 131 | 49.576         | .378        |        |      |
| Total               | 144 | 1135.000       |             |        |      |
| <b>กลิ่นโคลน</b>    |     |                |             |        |      |
| AY                  | 5   | 1.000          | .200        | 1.615  | .160 |
| ANEL (as block)     | 7   | 2.778          | .397        | 3.205  | .004 |
| Error               | 131 | 16.222         | .124        |        |      |
| Total               | 144 | 216.000        |             |        |      |
| <b>กลิ่นปู</b>      |     |                |             |        |      |
| AY                  | 5   | 5.146          | 1.029       | 3.323  | .007 |
| ANEL (as block)     | 7   | 7.215          | 1.031       | 3.328  | .003 |
| Error               | 131 | 40.576         | .310        |        |      |
| Total               | 144 | 3161.000       |             |        |      |
| <b>กลิ่นทะเล</b>    |     |                |             |        |      |
| AY                  | 5   | 2.229          | .446        | 2.690  | .024 |
| ANEL (as block)     | 7   | 22.493         | 3.213       | 19.385 | .000 |
| Error               | 131 | 21.715         | .166        |        |      |
| Total               | 144 | 587.000        |             |        |      |
| <b>กลิ่นไม่พึง</b>  |     |                |             |        |      |
| <b>ระส่ำ</b>        |     |                |             |        |      |
| AY                  | 5   | 4.312          | .862        | 4.968  | .000 |
| ANEL (as block)     | 7   | 2.382          | .340        | 1.960  | .065 |
| Error               | 131 | 22.743         | .174        |        |      |
| Total               | 144 | 297.000        |             |        |      |

**ตารางที่ 15** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากการวิเคราะห์ทางสถิติของผลการทดสอบทาง  
ประสาทสัมผัสต่อเนื่องที่ระดับความเชื่อมั่นสูงที่ระยะเวลาเก็บรักษาดังๆ (ผลการทดลองแสดงในตารางที่15)

| Source               | df  | Sum of Squares | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------------|-----|----------------|-------------|--------|------|
| <b>กลิ่นรสโดยรวม</b> |     |                |             |        |      |
| DAY                  | 5   | 62.451         | 12.490      | 57.202 | .000 |
| PANEL (as block)     | 7   | 8.771          | 1.253       | 5.738  | .000 |
| Error                | 131 | 28.604         | .218        |        |      |
| Total                | 144 | 2971.000       |             |        |      |
| <b>รสหวาน</b>        |     |                |             |        |      |
| DAY                  | 5   | 40.285         | 8.057       | 24.113 | .000 |
| PANEL(as block)      | 7   | 17.771         | 2.539       | 7.598  | .000 |
| Error                | 131 | 43.771         | .334        |        |      |
| Total                | 144 | 1831.000       |             |        |      |
| <b>รสเปรี้ยว</b>     |     |                |             |        |      |
| DAY                  | 5   | 4.500          | .900        | 7.293  | .000 |
| PANEL(as block)      | 7   | 3.333          | .476        | 3.859  | .001 |
| Error                | 131 | 16.167         | .123        |        |      |
| Total                | 144 | 220.000        |             |        |      |
| <b>รสเค็ม</b>        |     |                |             |        |      |
| DAY                  | 5   | 19.083         | 3.817       | 4.696  | .001 |
| PANEL(as block)      | 7   | 14.194         | 2.028       | 2.495  | .019 |
| Error                | 131 | 106.472        | .813        |        |      |
| Total                | 144 | 1400.000       |             |        |      |
| <b>รสขม</b>          |     |                |             |        |      |
| DAY                  | 5   | 9.056          | 1.811       | 19.500 | .000 |
| PANEL(as block)      | 7   | 1.333          | .190        | 2.051  | .053 |
| Error                | 131 | 12.167         | 9.288E-02   |        |      |
| Total                | 144 | 228.000        |             |        |      |

ตารางที่ 15 (ต่อ)

| Source          | df  | Sum of Squares | Mean Square | F      | Sig. |
|-----------------|-----|----------------|-------------|--------|------|
| Source          |     |                |             |        |      |
| AY              | 5   | 40.285         | 8.057       | 26.173 | .000 |
| ANEL (as block) | 7   | 27.549         | 3.936       | 12.784 | .000 |
| Error           | 131 | 40.326         | .308        |        |      |
| Total           | 144 | 2501.000       |             |        |      |

กิจกรรมที่ 4 ศึกษากระบวนการการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์  
และยืดอายุการเก็บรักษาในสภาวะปรับบรรยากาศ

ผู้วิจัย      ผศ. ดร. วันชัย วรวัฒนเมธีกุล

## สารบัญภาพ

| ภาพที่ |                                                                                                                                                                                                           | หน้า |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1      | ลักษณะปุ๋ยมะเล                                                                                                                                                                                            | 4-9  |
| 2      | ความแตกต่างระหว่างปุ๋ยมะเลพศุและพศเมียบ โดยอาศัยลักษณะที่แตกต่างบริเวณส่วนท้อง                                                                                                                            | 4-13 |
| 3      | ขั้นตอนการผสมพันธุ์                                                                                                                                                                                       | 4-14 |
| 4      | วงจรชีวิตและวิวัฒนาการของปุ๋ยมะเล                                                                                                                                                                         | 4-16 |
| 5      | การลอกคราบของปู                                                                                                                                                                                           | 4-18 |
| 6      | ลักษณะปูภายหลังการลอกคราบ                                                                                                                                                                                 | 4-18 |
| 7      | การเลี้ยงปูในลักษณะการเลี้ยงในตะกร้าพลาสติก                                                                                                                                                               | 4-24 |
| 8      | ขั้นตอนการจัดการฟาร์มปูในลักษณะตะกร้าพลาสติกและการบรรจุหีบห่อ                                                                                                                                             | 4-26 |
| 9      | ผลของการใช้ไอโซนต่อแบคทีเรีย                                                                                                                                                                              | 4-30 |
| 10     | ลักษณะการเก็บรักษาปูในสภาวะการบรรจุแบบบรรยากาศปกติ สภาวะดัดแปลงบรรยากาศด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 60 และก๊าซไนโตรเจนร้อยละ 40 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 80 และก๊าซไนโตรเจนร้อยละ 20 และสภาวะสุญญากาศ | 4-46 |
| 11     | ลักษณะปรากฏของการแช่ปูเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยการแช่น้ำเย็น นาน 10, 15 และ 20 นาที เก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ 3 วัน                                                       | 4-50 |
| 12     | ลักษณะปรากฏของปูที่แช่ในสารละลายกรดแอสติคอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วันที่ 0, 1, 3 และ 5 วัน                                                                          | 4-51 |
| 13     | ลักษณะปรากฏของการเกิดสีแดงบริเวณก้าม ท้อง และจับปิ้งจากการแช่ปูในสารละลายกรดแอสติค อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วันที่ 0, 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน                          | 4-55 |
| 14     | ลักษณะปรากฏของการเกิดสีแดงบริเวณก้าม ท้อง และจับปิ้งจากการแช่ปูในสารละลายกรดแอสคอร์บิก อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วันที่ 0, 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน                      | 4-59 |

## สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่ |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | หน้า |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 15     | ลักษณะปรากฏของปุ๋ยมัที่แช่ในน้ำไอโซนอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วันที่ 0, 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน                                                                                                                                                                                  | 4-62 |
| 16     | การเปลี่ยนแปลงปริมาณก๊าซออกซิเจนในการเก็บรักษาปุ๋ยมั ใน สภาวะการบรรจุแบบบรรยากาศปกติ และสภาวะปรับบรรยากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส                                                                                                                                                                   | 4-75 |
| 17     | การเปลี่ยนแปลงปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเก็บรักษาปุ๋ยมั ในสภาวะการบรรจุแบบบรรยากาศปกติ และสภาวะปรับ บรรยากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส                                                                                                                                                           | 4-75 |
| 18     | การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ในการเก็บรักษาปุ๋ยมั ภายหลังการแช่ปุ๋ยมัในน้ำไอโซนความเข้มข้น 1.0 พีพีเอ็ม อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ปุ๋ยมั ในสภาวะการบรรจุอากาศปกติ และสภาวะปรับบรรยากาศด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 80 และก๊าซไนโตรเจนร้อยละ 20 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส         | 4-76 |
| 19     | การเปลี่ยนแปลงปริมาณอัตราการสูญเสียน้ำ (Drip loss) ในการเก็บ รักษาปุ๋ยมัภายหลังการแช่ปุ๋ยมัในน้ำไอโซนความเข้มข้น 1.0 พีพีเอ็ม อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ในสภาวะการบรรจุ อากาศปกติ และสภาวะปรับบรรยากาศด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 80 และก๊าซไนโตรเจนร้อยละ 20 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส | 4-78 |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่ |                                                                                                                                                         | หน้า |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1        | การส่งออกปูประเภทต่างๆของไทยระหว่างปี 2542-2546                                                                                                         | 4-5  |
| 2        | ปริมาณและมูลค่าการส่งออกปูมีชีวิต สด แช่เย็น แช่แข็ง ไปยังประเทศต่างๆ ระหว่าง ปี 2542-2546                                                              | 4-6  |
| 3        | ขนาดของปูดำหรือปูแดงที่เริ่มเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์                                                                                                       | 4-11 |
| 4        | ลักษณะความสัมพันธ์ระหว่างกระดองและน้ำหนัก                                                                                                               | 4-12 |
| 5        | ระยะเวลาในการลอกคราบและอัตราการเจริญเติบโตของปูทะเล                                                                                                     | 4-22 |
| 6        | การเปรียบเทียบอุณหภูมิกับครึ่งชีวิตของโอโซนในรูปแก๊สโอโซน                                                                                               | 4-29 |
| 7        | การเปรียบเทียบ oxidizing potential ระหว่างโอโซนกับสารเคมีชนิดอื่นๆ                                                                                      | 4-29 |
| 8        | การเปรียบเทียบอุณหภูมิกับครึ่งชีวิตของโอโซนในรูปน้ำโอโซนสภาพความเป็นกรด- เบสเท่ากับ 7                                                                   | 4-29 |
| 9        | ระดับปัจจัยสำหรับล้างวัตถุดิบโดยกรดแอสคอร์บิก                                                                                                           | 4-44 |
| 10       | ระดับปัจจัยสำหรับล้างวัตถุดิบโดยกรดแอสซิดิก                                                                                                             | 4-44 |
| 11       | ระดับปัจจัยสำหรับล้างวัตถุดิบโดยกรดแล็กติก                                                                                                              | 4-44 |
| 12       | ระดับปัจจัยสำหรับล้างวัตถุดิบโดยน้ำโอโซน                                                                                                                | 4-45 |
| 13       | ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดจากการแช่ปูนึ่งในน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับการแช่ในสารละลายกรดแอสซิดิก เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส         | 4-53 |
| 14       | ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดจากการแช่ปูนึ่งในน้ำเย็น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับการแช่ในสารละลายกรดแล็กติก เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส | 4-56 |
| 15       | ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดจากการแช่ปูนึ่งในน้ำเย็น เปรียบเทียบกับการแช่ในสารละลายกรดแอสคอร์บิก เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส                         | 4-60 |
| 16       | ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด จากการแช่ปูนึ่งในน้ำเย็น เปรียบเทียบกับการแช่ในน้ำโอโซน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส                                     | 4-63 |

## สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางที่ |                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | หน้า |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 17       | ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดจากการเก็บรักษาในสภาวะบรรยากาศปกติ สภาวะปรับบรรยากาศแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 60 และแก๊สไนโตรเจนร้อยละ 40 แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 80 และแก๊สไนโตรเจนร้อยละ 20 และสภาวะสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส                                                     | 4-66 |
| 18       | ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด จากการเปรียบเทียบการแช่ ปูนี้ม ด้วยน้ำไอโซนความเข้มข้น 1.0 พีพีเอ็ม นาน 20 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบสภาวะการบรรจุแบบอากาศปกติ สภาวะปรับบรรยากาศ และ สภาวะสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส                | 4-69 |
| 19       | ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณแบคทีเรียแล็กติก จากการเปรียบเทียบการ แช่ปูนี้มด้วยน้ำไอโซน ความเข้มข้น 1.0 พีพีเอ็ม นาน 20 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบสภาวะการบรรจุแบบอากาศปกติ สภาวะปรับบรรยากาศ และ สภาวะสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส                 | 4-71 |
| 20       | ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของแบคทีเรียชนิดที่เจริญได้ในสภาพไม่มีอากาศ จากการเปรียบเทียบการแช่ปูนี้มด้วยน้ำไอโซน ความเข้มข้น 1.0 พีพีเอ็ม นาน 20 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบสภาวะการบรรจุแบบอากาศปกติ สภาวะปรับบรรยากาศ และสภาวะสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส | 4-72 |
| 21       | ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณแบคทีเรียไซโครโทรฟัส จากการเปรียบเทียบการแช่ปูนี้มด้วยน้ำไอโซน ความเข้มข้น 1.0 พีพีเอ็ม นาน 20 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบสภาวะการบรรจุแบบอากาศปกติ สภาวะปรับบรรยากาศ และ สภาวะสุญญากาศ เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส                      | 4-73 |

### บทคัดย่อ

การศึกษาคุณภาพและการยืดอายุการเก็บรักษาปฐุมน้ำแบ่งการทดลองเป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนที่หนึ่งศึกษาการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยการแช่ด้วยน้ำเย็น กรดแอซิดิกเข้มข้นร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3 กรดแล็กติกเข้มข้นร้อยละ 1.0, 1.5 และ 2.0 กรดแอสคอร์บิกเข้มข้นร้อยละ 0.5, 0.75 และ 1.0 และน้ำไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.5, 0.75 และ 1.0 พีพีเอ็ม นาน 10, 15 และ 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส บรรจุถุงพลาสติกชนิด polyethylene (PE)/ Polyvinylidene chloride (PVDC)/ Polyethylene Polymer/ Nylon แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสพบว่า การแช่ปฐุมน้ำด้วยน้ำไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.0 พีพีเอ็ม นาน 20 นาที สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ดีที่สุดคือ นาน 9 วัน ขั้นตอนที่สอง ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปฐุมน้ำซึ่งเก็บรักษาภายใต้สภาวะปรับบรรยากาศ โดยศึกษาผลของอัตราส่วนของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$ ) ต่อไนโตรเจน ( $\text{N}_2$ ) 60: 40 และ 80: 20 และสภาวะสุญญากาศเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาโดยบรรจุในถุงพลาสติกชนิด polyethylene (PE)/ polyvinylidene chloride (PVDC)/ polyethylene polymer/ nylon เปรียบเทียบกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในสภาวะบรรยากาศปกติ ผลการทดลองพบว่า การเก็บรักษาปฐุมน้ำที่ 80% $\text{CO}_2$ : 20% $\text{N}_2$  และภายใต้สภาวะสุญญากาศ สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน 7 วัน ขณะที่การเก็บรักษาในสภาวะบรรยากาศปกติ และ 60% $\text{CO}_2$ : 40% $\text{N}_2$  เก็บได้เพียง 3 และ 4 วัน ตามลำดับ การทดลองในขั้นสุดท้ายแช่ปฐุมน้ำด้วยน้ำไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.0 พีพีเอ็ม นาน 20 นาที ก่อนบรรจุในถุงพลาสติก เปรียบเทียบการเก็บรักษาจากการใช้ 80% $\text{CO}_2$ : 20% $\text{N}_2$  สภาวะสุญญากาศ และสภาวะบรรยากาศปกติ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ ปริมาณก๊าซในภาชนะบรรจุ การสูญเสียน้ำหนัก ค่าความเป็นกรด-เบส และการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และสภาวะสุญญากาศ และการแช่ด้วยน้ำไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีผลต่ออายุการเก็บรักษาปฐุมน้ำ โดยที่สภาวะ 80% $\text{CO}_2$ : 20% $\text{N}_2$  และสภาวะภายใต้สุญญากาศสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ดีที่สุด โดยสามารถเก็บรักษาได้นาน 11 วัน โดยพิจารณาจากเกณฑ์คุณภาพทางจุลินทรีย์ ภายนอก เติม ในขณะที่ตัวอย่างที่เก็บรักษาภายใต้บรรยากาศปกติ เก็บได้เพียง 8 วัน

### Abstract

This research project aim to study the method for prolong shelf life of soft shell crab (*Scylla serrata* Forskal) under experimental conditions at 4 °C. The study was divided into 3 parts. The first part was studied the microorganism count of soft shell crab washed by cold water, acetic acid 0.1, 0.2 and 0.3% , lactic acid 1.0, 1.5 and 2.0%, ascorbic acid 0.5, 0.75 and 1.0% and ozone water 0.5, 0.75 and 1.0 ppm for 10, 15 and 20 min at 4 °C. The results indicated that the soft shell crab were prepared by washing with ozone water 1.0 ppm for 20 min could be kept for 9 days. The second part was the study on quality change of soft shell crab stored under modified atmosphere packaging (MAP) at different ratio of carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) and nitrogen (N<sub>2</sub>), vacuum and air. The soft shell crab were placed in polyethylene (PE)/ polyvinylidene chloride (PVDC)/ polyethylene polymer/ nylon bag and compared the shelf life at 60%CO<sub>2</sub>: 40%N<sub>2</sub> and 80%CO<sub>2</sub>: 20%N<sub>2</sub> at 4 °C. The results showed that 80%CO<sub>2</sub>: 20%N<sub>2</sub> and vacuum were the most suitable conditions giving shelf life of 7 days, while under air condition and 60%CO<sub>2</sub>: 40%N<sub>2</sub> were 3 and 4 days, respectively. For the third part, soft shell crab were soaked with 1.0 ppm ozone water for 20 min prior to packing in a bag and compared the shelf life, which increased by applying the ratio of CO<sub>2</sub>: N<sub>2</sub> as follows; 80%CO<sub>2</sub>: 20%N<sub>2</sub>, under vacuum and normal air at 4 °C. Microbial count, gas concentration, % weight loss and pH evaluation were monitored. The results of this research showed that the shelf life of soft shell crab was lengthened whilst increasing the percentage of combined soaking with ozone water refer the criteria of microbial count, physical and chemical evaluation. At 80%CO<sub>2</sub>: 20%N<sub>2</sub> and under vacuum were the most suitable condition giving shelf life of 11 days (P>0.05), while normal air condition is 8 days.

### กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่ให้งบประมาณในการวิจัยครั้งนี้  
 ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.นงนุช รักสกุลไทย ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัย  
 เกษตรศาสตร์ ที่กรุณาให้ข้อคิด คำแนะนำอันมีค่า ขอขอบคุณคุณสุดาพร ยอดพินิจ ที่อนุเคราะห์  
 นำบางส่วนเพื่อใช้ในการทดลองเบื้องต้น บริษัททริปปิซ่า จำกัด ที่อนุเคราะห์เครื่องไอโซนและ  
 ภาษีออกซิเจนในระยะแรกของการวิจัย คุณกิจจา สุขเนตร คุณเอกรัฐ ชุมทอง คุณทวิวิศม์ เชาวลิต  
 คุณอัยการ ดันพิพัฒน์กุล คุณนพมาศ ศิริทองอาจ คุณเมทินี อ้นบุญมี คุณพรทิพย์ สุขกำเนิด ที่  
 ช่วยเหลือตลอดการวิจัย คุณต่อพงศ์ บุญธรรม ที่ช่วยในเรื่องการเรียบเรียงเอกสาร นักศึกษา  
 โปรแกรมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต นิสิตปริญญาตรี โท  
 และเอก ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง ที่ช่วยเหลือในการวิจัยครั้งนี้จนเสร็จสมบูรณ์

วันชัย วรวัฒนเมธีกุล

ณัฐพล ฟ้าบุญไธ

ผู้วิจัย

**การศึกษากระบวนการดูแลรักษาคุณภาพปูนึ่งหลังการเก็บเกี่ยว  
โดยศึกษาการใช้กรดแอสซิดิก กรดแล็กติก กรดแอสคอร์บิก และโอโซน  
ในขั้นตอนการล้างเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน**

**คำนำ**

ปูทะเลจัดเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากมีราคาที่สูงจากสถิติการส่งออกปูในรูปแบบต่างๆ (ตารางที่ 1 และ 2) พบว่าระหว่างปี 2542 -2546 ประเทศไทยทำการส่งออกปูแช่เย็นจนแข็ง มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ปูชนิดอื่นๆ โดยส่งไปยังประเทศญี่ปุ่นมากที่สุด รองลงมาได้แก่ สหรัฐอเมริกา และได้หวัน ตามลำดับ ในปัจจุบันได้มีความพยายามที่จะนำเอาเทคโนโลยีและเทคนิคต่างๆ มาทดลองค้นคว้าและวิจัยเพื่อให้ได้ปูทะเลที่มีลักษณะกระดองนึ่ง หรือที่เรียกว่า “ปูนึ่ง” สามารถบริโภคได้ทั้งตัว มีสภาพสด สะอาด และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง อีกทั้งเป็นการเพิ่มมูลค่าของสัตว์น้ำดังกล่าว เนื่องจากมีราคาสูงกว่าเนื้อปู และกำลังได้รับความนิยมในการบริโภคทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ โดยเฉพาะในประเทศญี่ปุ่น ได้หวัน สหรัฐอเมริกา เกาหลี และจีน เป็นต้น (ศศิณูช, 2545)

ขั้นตอนการล้างเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการแปรรูปสัตว์น้ำ ตั้งแต่ขั้นตอนการจับเพื่อล้างสิ่งสกปรกและลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ติดมา เมื่อถึงโรงงานจะต้องล้างที่จุลินทรีย์ติดอีกครึ่งหนึ่ง โดยทั่วไปนอกจากจะใช้น้ำที่มีอุณหภูมิต่ำแล้วยังมีการเติมสารเคมีที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียในน้ำ โดยนิยมใช้สารประกอบคลอรีนมากที่สุด แต่การใช้สารประกอบคลอรีนอาจประสบปัญหาเนื่องจากน้ำที่ใช้มีสารแขวนลอยหรือสารประกอบอินทรีย์ ทำให้คลอรีนเสียคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อ ในขณะที่เขวกันคลอรีนมีคุณสมบัติในการกัดกร่อน ระคายเคืองผิว และอาจเป็นสารก่อมะเร็ง ดังนั้นแนวทางอย่างหนึ่งที่จะชะลอการเจริญของจุลินทรีย์และลดการเปลี่ยนแปลงด้านคุณภาพ จึงเป็นสิ่งสูงใจที่จะหาวิธีการในการปรับปรุงคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษา โดยการเปรียบเทียบการล้างโดยการใช้โอโซน กรดแอสซิดิก และกรดแอสคอร์บิกในการแช่วัตถุดิบเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ นอกจากนี้การบรรจุในสภาวะปรับบรรยากาศจัดเป็นปัจจัยร่วมที่สำคัญอีกด้านหนึ่งที่สามารถยืดอายุการเก็บรักษาให้นานยิ่งขึ้น ซึ่งเทคโนโลยีดังกล่าวสามารถนำมาใช้ในสินค้าผลิตภัณฑ์ประมงได้ ดังนั้นการศึกษาการเก็บรักษาปูนึ่ง โดยการเปรียบเทียบการล้างร่วมกับการบรรจุในสภาวะปรับบรรยากาศ โดยศึกษาผลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไนโตรเจนและสภาวะสุญญากาศต่อการยืดอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ยังคงความสด และปลอดภัยต่อผู้บริโภคจึงเป็นแรงจูงใจในการศึกษาครั้งนี้

ตารางที่ 1 การส่งออกประเภทต่างๆของประเทศไทยปี 2542-2546

| รหัส               | 2542       |               |            | 2543          |            |               | 2544       |               |          | 2545          |        |        | 2546   |        |        |
|--------------------|------------|---------------|------------|---------------|------------|---------------|------------|---------------|----------|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|
|                    | ปริมาณ     | มูลค่า        | ปริมาณ     | ปริมาณ        | มูลค่า     | ปริมาณ        | ปริมาณ     | มูลค่า        | ปริมาณ   | มูลค่า        | ปริมาณ | มูลค่า | ปริมาณ | มูลค่า | มูลค่า |
| 0306.140-001       | 2,861,806  | 634030650     | 3393796    | 1186352846    | 2076659    | 1011277577    | 1725260    | 794531485     | 2117167  | 786956925     |        |        |        |        |        |
| 0306.240-104       | 4,872280   | 352429442     | 3520334    | 530034072     | 1964689    | 517155824     | 993605     | 87658643      | 2005000  | 170984231     |        |        |        |        |        |
| 0306.240-205       | -          | -             | -          | -             | -          | -             | -          | -             | 20581    | 3446643       |        |        |        |        |        |
| 0306.240-306       | 6062       | 1009824       | 68448      | 44667278      | 58371      | 43647789      | 150704     | 128312952     | 79257    | 29552250      |        |        |        |        |        |
| 1605.100-001       | 15230640   | 4920653482    | 7548420    | 2227075106    | 408        | 180406        | -          | -             | -        | -             |        |        |        |        |        |
| 1605.100-110       | -          | -             | 7273256    | 2207988248    | 4936431    | 1403573935    | 4338473    | 1126013545    | 5255227  | 1307800167    |        |        |        |        |        |
| 1605.100-120       | -          | -             | 1626526    | 943785264     | 2166974    | 1571458264    | 3124412    | 2199489435    | 2650119  | 1738973758    |        |        |        |        |        |
| 1605.100-200       | -          | -             | 1311066    | 730824462     | 1394268    | 801863942     | 1375969    | 689684629     | 1113063  | 578795218     |        |        |        |        |        |
| รวมมูลค่าสินค้าออก | 22,970,788 | 5,908,123,398 | 24,741,846 | 7,870,727,276 | 12,597,800 | 5,349,157,737 | 11,708,423 | 5,025,690,689 | 13240414 | 4,616,509,192 |        |        |        |        |        |

หมายเหตุ : ปริมาณ (กิโลกรัม), มูลค่า (บาท)

: รายละเอียดรหัส

- 0306.140-001 ปูเชี่ยนเลนเงิง
- 0306.240-140 ปูมิชวิค สดหรือแช่เย็น
- 0306.240-205 ปูแห้ง ใสเกลือหรือแช่น้ำเกลือ
- 0306.240-306 ปูนิ่งหรือต้ม
- 1605.100-001 ปูปรุงแต่งหรือทำไว้ให้เสีย
- 1605.100-110 ปูที่ปรุงแต่งหรือทำไว้ไม่ให้เสีย บรรจุภาชนะอัดลม ที่สามารถเก็บ ณ อุณหภูมิห้องได้เป็นระยะเวลาไม่ต่ำกว่า 6 เดือน
- 1605.100-120 ปูที่ปรุงแต่งหรือทำไว้ไม่ให้เสีย บรรจุภาชนะอัดลม ที่ต้องเก็บ ณ อุณหภูมิที่ต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส
- 1605.100-200 ปูที่ปรุงแต่งหรือทำไว้ไม่ให้เสีย ไม่บรรจุภาชนะอัดลม

ที่มา : กลุ่มวิเคราะห์การค้าสินค้าประมงระหว่างประเทศ (2547)

ตารางที่ 2 ปริมาณและมูลค่าการส่งออกมีชีวิต สด แช่แข็ง แล่แข็ง ไปยังประเทศต่างๆ ระหว่างปี 2542-2546

| ประเทศ        | 2542    |             |         | 2543    |             |         | 2544    |             |         | 2545        |         |             | 2546    |             |        |
|---------------|---------|-------------|---------|---------|-------------|---------|---------|-------------|---------|-------------|---------|-------------|---------|-------------|--------|
|               | ปริมาณ  | มูลค่า      | ปริมาณ  | ปริมาณ  | มูลค่า      | ปริมาณ  | ปริมาณ  | มูลค่า      | ปริมาณ  | มูลค่า      | ปริมาณ  | มูลค่า      | ปริมาณ  | มูลค่า      | มูลค่า |
| ญี่ปุ่น       | 581,289 | 230,714,882 | 816,554 | 816,554 | 455,482,813 | 936,178 | 936,178 | 550,673,010 | 451,421 | 241,224,483 | 527,114 | 264,570,296 | 527,114 | 264,570,296 |        |
| สหรัฐอเมริกา  | 95,868  | 40,697,300  | 141,270 | 141,270 | 73,122,398  | 549,264 | 549,264 | 359,106,616 | 829,616 | 481,925,224 | 790,974 | 389,030,561 | 790,974 | 389,030,561 |        |
| เบลเยียม      | -       | -           | -       | -       | -           | 36,000  | 36,000  | 24,926,661  | 15,118  | 12,089,404  | -       | -           | -       | -           |        |
| ไต้หวัน       | 622,637 | 2,860,626   | 382,981 | 382,981 | 19,433,410  | 378,652 | 378,652 | 23,325,058  | 247,412 | 16,432,032  | 376,221 | 353,913,32  | 376,221 | 353,913,32  |        |
| สิงคโปร์      | 27,689  | 7,888,220   | 24,216  | 24,216  | 4,766,285   | 65,463  | 65,463  | 20,096,055  | 41,511  | 5,391,102   | 44,851  | 570,1838    | 44,851  | 570,1838    |        |
| เกาหลีใต้     | 29,921  | 2,787,681   | 257,703 | 257,703 | 25,292,395  | 15,863  | 15,863  | 2,127,797   | 11,714  | 1,385,340   | 171,764 | 179,4904    | 171,764 | 179,4904    |        |
| จีน           | 48,500  | 2,327,888   | 18,464  | 18,464  | 555,885     | 962     | 962     | 318,522     | 10,607  | 1,174,697   | 160     | 18173       | 160     | 18173       |        |
| สเปน          | -       | -           | -       | -       | -           | 504     | 504     | 264,677     | 2,576   | 1,339,751   | 1791    | 914895      | 1791    | 914895      |        |
| นอร์เวย์      | -       | -           | -       | -       | -           | 408     | 408     | 108,832     | -       | -           | -       | -           | -       | -           |        |
| เวียดนาม      | -       | -           | -       | -       | -           | 2000    | 2000    | 44,071      | -       | -           | 270     | 42911       | 270     | 42911       |        |
| ฮ่องกง        | 9,193   | 2,049,249   | 20,671  | 20,671  | 5,010,557   | 42,607  | 42,607  | 12,694,631  | 55,001  | 140,634,95  | 64248   | 15144892    | 64248   | 15144892    |        |
| ไต้หวัน       | 12,480  | 1,280,849   | 3,240   | 3,240   | 380,861     | 7,828   | 7,828   | 1,028,035   | 158     | 18801       | -       | -           | -       | -           |        |
| แคนาดา        | 2,070   | 493,168     | 17,810  | 17,810  | 4,395,920   | 29,550  | 29,550  | 9,880,273   | 44,300  | 129,819,35  | 34000   | 10417594    | 34000   | 10417594    |        |
| มาเลเซีย      | 996     | 118,302     | -       | -       | -           | -       | -       | -           | 388     | 51698       | -       | -           | -       | -           |        |
| ออสเตรเลีย    | 245     | 50,010      | 250     | 250     | 155,649     | 978     | 978     | 497,103     | 3,654   | 95,5422     | 15053   | 4036311     | 15053   | 4036311     |        |
| อิตาลี        | -       | -           | -       | -       | -           | -       | -       | 2,127,797   | 2,500   | 72,9916     | 1000    | 180041      | 1000    | 180041      |        |
| อาหรับเอมิเรต | -       | -           | -       | -       | -           | -       | -       | -           | 90      | 79725       | -       | -           | -       | -           |        |
| เกาหลีเหนือ   | -       | -           | 6,222   | 6,222   | 750,821     | -       | -       | -           | -       | -           | 2040    | 500202      | 2040    | 500202      |        |
| อังกฤษ        | -       | -           | 33      | 33      | 2,076,171   | 4,649   | 4,649   | 2,221,939   | 4,927   | 265,6906    | 5100    | 3107416     | 5100    | 3107416     |        |
| เยอรมัน       | -       | -           | 2,80    | 2,80    | 175,2921    | 5,696   | 5,696   | 3,954,224   | 4,267   | 2031554     | 2564    | 1269301     | 2564    | 1269301     |        |
| ฝรั่งเศส      | 15      | 1,350       | 2       | 2       | 175         | 8       | 8       | 502         | -       | -           | 79595   | 54698337    | 79595   | 54698337    |        |

ตารางที่ 2 (ต่อ) ปริมาณและมูลค่าการส่งออกภูมิชีวิต สด แช่เย็น แช่แข็ง ไปยังประเทศต่างๆ ระหว่าง ปี 2542-2546

| ประเทศ             | 2542      |             | 2543      |             | 2544      |               | 2545      |             | 2546      |             |
|--------------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|---------------|-----------|-------------|-----------|-------------|
|                    | ปริมาณ    | มูลค่า      | ปริมาณ    | มูลค่า      | ปริมาณ    | มูลค่า        | ปริมาณ    | มูลค่า      | ปริมาณ    | มูลค่า      |
| โปแลนด์            | -         | -           | 2         | 162         | -         | -             | -         | -           | -         | -           |
| ลาว                | -         | -           | -         | -           | 47        | 9,400         | -         | -           | -         | -           |
| โปรตุเกส           | -         | -           | -         | -           | 2         | 171           | -         | -           | -         | -           |
| ออสเตรเลีย         | -         | -           | -         | -           | -         | -             | -         | -           | 1         | 317         |
| บาเรน              | -         | -           | -         | -           | -         | -             | -         | -           | 70        | 16,473      |
| เนเธอร์แลนด์       | -         | -           | -         | -           | -         | -             | -         | -           | 346       | 120,918     |
| ฟิลิปปินส์         | -         | -           | -         | -           | -         | -             | -         | -           | 5         | 213         |
| รวมมูลค่าสินค้าออก | 1,430,903 | 317,015,325 | 1,696,898 | 593,176,423 | 2,076,659 | 1,011,277,577 | 1,725,260 | 794,531,485 | 2,117,167 | 786,956,925 |

หมายเหตุ : ปริมาณ (กิโลกรัม), มูลค่า (บาท)

ที่มา : กลุ่มวิเคราะห์การค้าสินค้าประมงระหว่างประเทศ (2547)

### วัตถุประสงค์

1. ศึกษากระบวนการดูแลรักษาคุณภาพปฐุ่่นหลังการเก็บเกี่ยวโดยศึกษาการใช้กรดแอซิดิก กรดแล็กติก กรดแอสคอร์บิกและ โอโซนในการแช่เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน
2. ศึกษาสภาวะการบรรจุที่เหมาะสม โดยเปรียบเทียบการบรรจุในสภาวะบรรยากาศปกติ สภาวะปรับบรรยากาศ (modified atmosphere packaging, MAP) และสภาวะสุญญากาศ เพื่อบีคอายุ การเก็บรักษาปฐุ่่น
3. ศึกษาผลกระทบของสารละลายและสภาวะการบรรจุที่คัดเลือกได้ในการยืดอายุการ เก็บรักษาปฐุ่่น

## การตรวจเอกสาร

### ปูทะเล

#### 1. ชีววิทยาปูทะเล

ปูทะเลเป็นทรัพยากรทางทะเลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศและจังหวัดแถบชายทะเล เนื่องจากปูทะเลมีรสชาติดี นิยมบริโภคทั้งชาวไทยและต่างประเทศ มีคุณค่าทางโภชนาการสูง จัดเป็นสัตว์น้ำที่อยู่ในกลุ่มครัสเตเชีย (crustacea) เช่นเดียวกับกุ้งและกั้ง มีการเจริญและเติบโตโดยการลอกคราบ เป็นสัตว์ที่มีกระดองแข็ง ภายหลังจากการลอกคราบจะมีขนาดใหญ่กว่าเดิม มีการลอกคราบได้ทั้งปีและตลอดชีวิต ช่วงระยะเวลาในการลอกคราบขึ้นกับอายุและขนาดของปูทะเล



#### ภาพที่ 1 ลักษณะปูทะเล

ที่มา : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (ม.ป.ป.)

ในปัจจุบันปูทะเลที่จับได้ตามธรรมชาติทางฝั่งอ่าวไทยและอันดามันมีปริมาณลดลง และขนาดของปูที่จับได้โดยเฉลี่ยมีขนาดเล็กลง แสดงให้เห็นว่าทรัพยากรปูทะเลมีความอุดมสมบูรณ์ลดลง ปูทะเลที่พบโดยส่วนใหญ่เป็นปูทะเลในสกุล *Scylla* พบทั่วโลกและเป็นที่ยอมรับ ปัจจุบันพบประมาณ 5 สายพันธุ์ คือ *S. serrata* Forskal *S. tranquebaricus* Fabricus *S. oceanica* Dana *S. paramamosian* Estampador และ *S. olivacea* Herbst ในขณะที่การจำแนกชนิดของปูทะเลของไทย

มีอยู่ประมาณ 3-4 สายพันธุ์ ชูชาติ และ บุรณ์ (2522) ได้จำแนกปูทะเลที่พบในน่านน้ำไทยออกเป็นสามกลุ่ม คือ ปูดำ ปูเขียว และปูขาว โดยใช้ความแตกต่างจากลักษณะภายนอก

สุรินทร์ (2520) แบ่งปูทะเลของไทยออกเป็นสามกลุ่มคือ ปูดำ หรือปูแดง (*S. serrata*) ปูเขียว หรือปูทองโหลง (*S. serrata oceanica*) ปูขาวหรือปูทองกลาง (*S. serrata pelagica*) ในขณะที่การใช้ลักษณะสัณฐานภายนอกของปูทะเล โดยวิเคราะห์ตามหลักเกณฑ์ของ Estampador and Dulogio พบว่า ปูทะเลในน่านน้ำทะเลไทย มีสามสายพันธุ์คือ ปูดำหรือปูแดง (*S. serrata* Forskal) ปูขาวหรือปูทองกลาง (*S. oceanica* Dana) และปูเขียวหรือปูทองโหลงหรือปูลาย (*S. tranquebaricus* Fabricius) (สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, ม.ป.ป.)

ปูทะเลมีถิ่นที่อยู่อาศัยแตกต่างกันไปตามชนิด และขนาด เช่น ปูดำชอบอาศัยอยู่ในรู ปูขาว และปูเขียว ชอบหมกตัวอาศัยอยู่ในทราย หรือในโคลนตมตามทะเล ชายฝั่งที่มีหญ้าทะเล ในป่าแสม โกงกางและในแหล่งน้ำกร่อย นอกจากนี้สามารถพบปูทะเลตามป่าชายเลนและปากแม่น้ำที่มีน้ำทะเลท่วมถึง บริเวณชายฝั่งทะเลทั้งบริเวณอ่าวไทยและอันดามัน โดยอ่าวไทยฝั่งตะวันออก ได้แก่ จังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด ส่วนอ่าวไทยตอนใน ได้แก่ สมุทรปราการ สมุทรสงคราม และอ่าวไทยฝั่งตะวันตก มีหูกชุมที่จังหวัดชุมพร ประจวบคีรีขันธ์ นครศรีธรรมราช สงขลา ตรัง ส่วนฝั่งอันดามันมีหูกชุมที่จังหวัดระนอง กระบี่ สตูล (ชลธิ์, 2539)

ปูทะเล มีร่างกายแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนหัว (head) อก (thorax) และท้อง (abdomen) ส่วนหัวและอกจะติดรวมกันเรียกว่า cephalothorax มีกระดอง (carapace) หุ้มอยู่ตอนบน กระดองมีรูปร่างรี เป็นรูปไข่ ด้านข้างกระดองเป็นรอยหยักคล้ายฟันเลื่อย เป็นหนามแหลม และบริเวณเข้าตา มีหนามแหลมอีก 4 หนาม ปูทะเลมีตาด้านหน้า 1 คู่ ซึ่งเป็นตาประกอบ ก้านตายาว สามารถชูและพับอยู่ในเข้าตาได้ มีขา 5 คู่ ขาคู่แรกอยู่ด้านหน้าสุด มีขนาดใหญ่เรียกว่า “ก้าม” (chela) ปลายสุดของขาเดินคู่ที่ 2-4 มีลักษณะปลายแหลม เรียกว่า “ขาเดิน” (walking leg) ส่วนขาคู่ที่ 5 เรียกว่า “ขาพาย” (paddle) มีหน้าที่ช่วยในการว่ายน้ำ เมื่อโตเต็มวัย ปูเพศผู้จะมีก้ามใหญ่ จับปั้งเรียว แคบ ตัวเมียมีก้ามเล็ก จับปั้งกว้างเป็นรูปครึ่งวงกลมจนเต็มหน้าอก ปลายมนกลม ใช้สำหรับการอุ้มไข่หลังการผสมพันธุ์ (มาโนช และบุญส่ง, 2512)

เมื่อเปิดกระดองปู พบว่าภายในกระดองมีเยื่อบางๆ ครอบคลุมทั้งด้านซ้ายและด้านขวา ทำหน้าที่เก็บความชื้น ในเพศเมียพบว่าเมื่อสืบพันธุ์ บริเวณดังกล่าวจะเป็นที่เก็บไข่ (egg mass) ที่สร้างขึ้นที่ลำตัว ภายในมีเหงือก (gill) อยู่สองข้างลำตัว มีลักษณะคล้ายขนนก ทำหน้าที่ช่วยการหายใจ นอกจากนี้ยังพบระบบต่างๆ ได้แก่ ระบบทางเดินอาหาร ระบบประสาท ระบบหมุนเวียนโลหิต

ระบบขับถ่าย และระบบสืบพันธุ์ ในเลือดปูมีสาร heamocyanin ซึ่งมีทองแดงเป็นองค์ประกอบ เมื่อสัมผัสกับออกซิเจนจะทำให้เลือดมีสีน้ำเงินอ่อนๆ (Green, 1961)

## 2. ความสัมพันธ์ระหว่างกระดองและน้ำหนัก

ความสัมพันธ์ระหว่างกระดองและน้ำหนัก พบว่าปูที่มีอายุเท่ากัน ปูเพศผู้จะมีน้ำหนักมากกว่าปูเพศเมีย โดยอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักกับความกว้างของกระดอง สามารถนำไปใช้เป็นตัวบ่งชี้ขนาดของปูในวัยเจริญพันธุ์ได้ เนื่องจากก้ามซึ่งเป็นลักษณะเด่นของปูเพศผู้มีการพัฒนาให้มีขนาดใหญ่กว่าปูเพศเมีย เช่น ปูขนาด 9-10 เซนติเมตร ปูเพศผู้จะมีน้ำหนักประมาณ 150-320 กรัม ในขณะที่ปูเพศเมียจะมีน้ำหนักประมาณ 135-235 กรัม (บรรจง และบุญรัตน์, 2545) ขนาดของปูที่เริ่มเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์จะแตกต่างกันไปตามชนิดของปู และวิธีในการประเมิน (ตารางที่ 3 และ 4) โดยทั่วไปขนาดของปูดำที่เริ่มเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ครั้งแรกจะมีขนาดกระดองกว้างระหว่าง 8.8-11.5 เซนติเมตร

### ตารางที่ 3 ขนาดของปูดำหรือปูแดงที่เริ่มเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์

| วิธีที่ใช้กำหนดขนาดของปูที่เริ่มเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์                    | ความกว้างของกระดอง<br>(เซนติเมตร)              |
|--------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 1. ลักษณะของจับปิ้งปูเพศเมีย                                             | 9.4-13.4                                       |
| 2. ความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของจับปิ้งกับความกว้างของกระดอง                | 9.0-9.9                                        |
| 3. ความกว้างของจับปิ้งปล้องที่ 5 กับความกว้างระหว่างฐานของขาเดินคู่ที่ 5 | 8.9-11.0                                       |
| 4. การพัฒนารังไข่                                                        | 8.4-11.5 <sup>1</sup><br>8.2-12.6 <sup>2</sup> |
| 5. ความสัมพันธ์ระหว่างกระดองและน้ำหนัก                                   | 9.0-11.0                                       |
| ค่าเฉลี่ย                                                                | 8.8-11.5                                       |

ที่มา : <sup>1</sup> ชลธิ (2533); <sup>2</sup> ชาญยุทธ (2539)