

ผลของสารสกัดเห็ดเข็มทองและเจลาตินต่อคุณภาพของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) แล่แช่เย็น

Effects of Mushroom Extract and Gelatin Coating on the Storage Quality of Refrigerated Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fillets

มุกดาภรณ์ เกียรติโอฬาร และ เปรมวดี เทพวงศ์*

Mookdaporn Kiettiolarn and Pramvadee Tepwong *

Received: 25 February 2021, Revised: 18 May 2021, Accepted: 22 June 2021

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดเห็ดเข็มทอง (*Flammulina velutipes*) ร่วมกับเจลาตินต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลานิลแล่ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ โดยนำตัวอย่างปลานิลแล่มาแช่ในสารสกัดเห็ดเข็มทอง (ME) สารละลายเจลาติน (Gel) และสารสกัดเห็ดเข็มทอง (ร้อยละ 10) ร่วมกับเจลาติน (ร้อยละ 2) (ME+Gel) ซึ่งเป็นสภาวะที่มีประสิทธิภาพในการจับอนุมูล DPPH และมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียสูงสุด จากนั้นนำตัวอย่างปลานิลแล่ไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 วัน ผลการศึกษา พบว่า ปลานิลแล่ที่แช่ใน ME+Gel มีการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นช้ากว่าปลานิลแล่ที่แช่ในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) ขณะเดียวกันยังช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นของค่า pH ค่า K-value ค่า TVB-N และค่า TBARS แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลแล่ชุดควบคุม นอกจากนี้ปลานิลแล่ที่แช่ใน ME+Gel ยังมีปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดต่ำกว่าปลานิลแล่ที่แช่ใน ME หรือ Gel เพียงอย่างเดียวและปลานิลแล่ชุดควบคุม รวมทั้งค่าคะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสยังแสดงให้เห็นว่า การใช้ ME+Gel สามารถรักษาคุณภาพของปลานิลแล่ระหว่างการเก็บรักษาได้โดยผู้ทดสอบให้การยอมรับถึงวันที่ 6-8 ของการเก็บรักษา ขณะที่ปลานิลแล่ชุดควบคุมผู้ทดสอบให้การยอมรับเพียง 4 วันของการเก็บรักษา ทั้งนี้ จากผลการศึกษาที่ได้แสดงให้เห็นว่า การใช้สารสกัดเห็ดเข็มทองร่วมกับเจลาตินอาจเป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลานิลแล่ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำได้

คำสำคัญ: ปลานิลแล่, สารสกัดเห็ดเข็มทอง, เจลาติน, อายุการเก็บรักษา

ABSTRACT

This study aimed to investigate the effect of mushroom (*Flammulina velutipes*) extract combined with gelatin coating on the quality changes of tilapia fillets during refrigerated storage. Tilapia samples were applied with mushroom extract (ME), gelatin (Gel), and 10% mushroom extract incorporated with 2% gelatin (ME+Gel) solution which was selected after antioxidant and antibacterial assay. They were then stored at 4 °C for 10 days. The results indicated the ME+Gel treated samples showed a reduction in the deterioration of weight loss compared to the control group. Besides, the increases of pH, K-value, total volatile basic nitrogen (TVB-N), and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were significantly delayed in the ME+Gel treated samples compared to the control group ($p<0.05$). The bacterial counts were also lower in the ME+Gel treated samples compared with those in the ME or Gel alone and control samples. The sensory characteristics proved the efficacy of ME+Gel coating by maintaining the overall quality of tilapia fillets during refrigerated storage. Moreover, the ME+Gel treated samples remain acceptable up to 6-8 days, whereas shelf life of control samples was not extended beyond 4 days. The obtained results demonstrating the potential of the combined application of mushroom extract and gelatin might be a promising method for maintaining the post-harvest quality of tilapia fillets during refrigerated storage.

Key words: Tilapia fillets, mushroom extract, gelatin, shelf life

บทนำ

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เป็นปลาที่เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว และเป็นที่ยอมรับโลก เนื่องจากเนื้อปลามีรสชาติดี มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และราคาไม่แพง (Plaipetch, 2016) โดยทั่วไปปลานิลมักมีการจำหน่ายในลักษณะของปลาสดทั้งตัว ขณะที่ในปัจจุบันพฤติกรรมของผู้บริโภคเปลี่ยนไปเน้นความสะดวกสบายและความรวดเร็วมากขึ้น ส่งผลให้ผู้บริโภคหันมาสนใจการซื้อปลานิลที่จำหน่ายในรูปแบบของปลาแล่หรือปลาเป็นชิ้นที่พร้อมสำหรับการปรุงและสามารถนำไปประกอบอาหารได้หลายชนิดมากขึ้น อย่างไรก็ตาม สัตว์น้ำเกิดการเน่าเสียได้ง่ายในระยะเวลา 2-4 วัน แม้จะเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ เนื่องจากสัตว์น้ำมี

องค์ประกอบของโปรตีนและความชื้นสูงซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการย่อยสลายตัวเอง การเจริญของแบคทีเรีย และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้สัตว์น้ำเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพอย่างรวดเร็วส่งผลให้อายุการเก็บรักษาสั้น (Racisi et al., 2015) ปัจจุบันการยืดอายุการเก็บรักษาสัตว์น้ำวิธีการหนึ่งที่มีความนิยม คือ การใช้สารสกัดหรือสารอนุพันธ์ที่ได้จากธรรมชาติ (Natural derived preservatives) เช่น สารสกัดจากโรสแมรี่ สารสกัดจากเปลือกทับทิม และสารสกัดจากเมล็ดองุ่น เป็นต้น เนื่องจากมีความปลอดภัยมากกว่าการใช้สารสังเคราะห์ รวมทั้งสารสกัดจากธรรมชาติยังมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและชะลอการเน่าเสียในสัตว์น้ำได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานการประยุกต์ใช้สารสกัดจากธรรมชาติร่วมกับสารเคลือบไฮโดรคอลลอยด์ในการเพิ่มประสิทธิภาพ

การยืดอายุการเก็บรักษาสัตว์น้ำที่อุณหภูมิต่ำให้นานมากขึ้น เนื่องจากสารเคลือบไฮโดรคอลลอยด์มีสมบัติในการต้านการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจน ป้องกันการสูญเสียน้ำหรือความชื้น (Vargas *et al.*, 2008) เช่น การใช้สารสกัดจากใบชาร่วมกับอัลจินเตในปลากระพงญี่ปุ่น (Nie *et al.*, 2018) และการใช้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นร่วมกับคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose, CMC) ในปลาเรนโบว์เทราต์ (Raeisi *et al.*, 2015) เป็นต้น

ส่วนเหลือจากการตัดแต่งเห็ดเข็มทอง (mushroom trimming) เป็นเศษเหลือที่ได้จากการตัดแต่งก้านดอก ส่วนโคนและส่วนที่ไม่ได้ขนาดตามที่ตลาดต้องการในขั้นตอนการเตรียมหรือการจัดจำหน่ายจากโรงงานผลิตเห็ดเข็มทอง และในขั้นตอนก่อนการปรุงอาหารจากผู้ประกอบการกิจการร้านอาหารและครัวเรือน (Santhi *et al.*, 2016) ซึ่งจากการสอบถามผู้ประกอบการพบว่า มีปริมาณส่วนเหลือจากการตัดแต่งเห็ดเข็มทองประมาณวันละ 50-100 กิโลกรัม คิดเป็น 18.0-36.5 ตัน/ปี ซึ่งเศษเหลือเหล่านี้มีมูลค่าต่ำและยังไม่มีนำไปใช้ประโยชน์ จากการตรวจสอบเอกสารทางวิชาการพบว่า สารสกัดเห็ดเข็มทอง (mushroom extract, ME) มีสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และชะลอการเกิดจุดดำ เนื่องจากมีองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญหลายชนิด เช่น สารประกอบฟีนอลิก สารเอโกไธโธนิน (ergothioneine) และแซคคาไรด์ เป็นต้น (Dubost *et al.*, 2007; Bao *et al.*, 2008; 2010; Encarnacion *et al.*, 2011; 2012) รวมทั้งยังมีรายงานการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเห็ดเข็มทองในหนูทดลองพบว่าไม่พบความเป็นพิษและไม่มีการเสียชีวิตของหนูทดลองที่ได้รับสารสกัดเห็ดเข็มทอง (Lin *et al.*, 2016) แสดงให้เห็นว่า สารสกัดเห็ดเข็มทองมีความปลอดภัยสำหรับการบริโภค นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สารสกัดเห็ดเข็มทองทั้งจากส่วนที่บริโภคได้ ส่วนราก

และฐาน และส่วนเหลือจากการตัดแต่งสามารถชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในเนื้อปลาแซลมอน ชะลอการเปลี่ยนแปลงสีในเนื้อปลาข้างเหลืองบด และยับยั้งการเกิดจุดดำในปูและกุ้งระหว่างการเก็บรักษาได้ (Bao *et al.*, 2009; Encarnacion *et al.*, 2011; 2012; Pahila *et al.*, 2017)

เจลาตินเป็นสารไฮโดรคอลลอยด์ชนิดหนึ่ง ที่สกัดได้จากผิวหนัง กระดูก และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของสัตว์ (Wang *et al.*, 2019) มีสมบัติในการอุ้มน้ำ สามารถขึ้นรูปฟิล์มได้ดี มีความหนืดสูง และยังสามารถเกิดเจลได้ที่อุณหภูมิต่ำ (Ahmad *et al.*, 2017) อย่างไรก็ตาม เจลาตินไม่แสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและต้านจุลินทรีย์ (Wu *et al.*, 2018) มีรายงานการนำเจลาตินมาใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารเพื่อป้องกันการซึมผ่านของน้ำและออกซิเจนบริเวณผิวหนังของอาหาร ซึ่งสามารถลดการสูญเสีย น้ำ และชะลอการเจริญของแบคทีเรีย (Chen *et al.*, 2016) นอกจากนี้ยังมีการประยุกต์ใช้เจลาตินร่วมกับสารสกัดจากธรรมชาติหลายชนิดในการรักษาคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาของสัตว์น้ำ เช่น การใช้เจลาตินร่วมกับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในปลานิล (Zhao *et al.*, 2019) การใช้เจลาตินร่วมกับสารสกัดจากใบชาในปลากระพงเม็ดยอด (Feng *et al.*, 2017) การใช้เจลาตินร่วมกับสารสกัดจากชาเขียวและชาผู้เออร์ในปลาแซลมอน (Kulawik *et al.*, 2019) และการใช้เจลาตินร่วมกับน้ำมันอบเชยในปลาเรนโบว์เทราต์ (Andevari and Rezaei, 2011) เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานการประยุกต์ใช้สารสกัดเห็ดเข็มทองร่วมกับเจลาตินในการยืดอายุการเก็บรักษาปลานิลแล้วในสถานะแช่เย็น คณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาการใช้สารสกัดเห็ดเข็มทองซึ่งจะเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับวัสดุเหลือทิ้งจากเห็ดเข็มทองร่วมกับเจลาตินซึ่งเป็นสารเคลือบกลุ่มไฮโดรคอลลอยด์ในการชะลอการเสื่อมคุณภาพของปลานิลแช่เย็น

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้สารสกัดเห็ดเข็มทองร่วมกับเจลาตินต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และการยอมรับทางประสาทสัมผัสของปลานิลแล้ระหว่างการศึกษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 วัน

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดเห็ดเข็มทองและสารเคลือบเจลาติน

1.1 การเตรียมสารสกัดเห็ดเข็มทอง

นำส่วนเหลือเห็ดเข็มทอง (*Flammulina velutipes*) ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากผู้ประกอบกิจการร้านอาหารมาทำการคัดเลือกเฉพาะก้านดอกเห็ด ส่วนโคนไม่รวมส่วนรากและเห็ดเข็มทองขนาดเล็ก มาล้างทำความสะอาดและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนมีความชื้นสุดท้ายเท่ากับร้อยละ 10 (Santhi *et al.*, 2016) จากนั้นบดให้เป็นผงละเอียดแล้วนำมาสกัดด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 โดยคัดแปลงวิธีการจาก Tepwong *et al.* (2012) จากนั้นนำไปสกัดด้วยเครื่องหอโมจิไนซ์เป็นเวลา 5 นาที ที่ความเร็วรอบ 13,500 รอบต่อนาที และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง เป็นเวลา 30 นาที โดยใช้ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสที่ได้มาระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และนำสารสกัดเห็ดเข็มทองที่ได้ไปทำแห้งแบบเยือกแข็งและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส

1.2 การเตรียมเจลาติน

เตรียมเจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 2, 4 และ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยนำเจลาตินผงที่มีค่าความแข็งของเจล (bloom strength) อยู่ที่ 250 bloom (Food

grade) จากบริษัทเคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด มาละลายในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องกวนสารละลายจนเป็นเนื้อเดียวกัน จากการศึกษาสมบัติเบื้องต้นของสารละลายเจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 2, 4 และ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่าค่า pH อยู่ในช่วง 5.62-5.77 และมีความหนืดอยู่ในช่วง 20.4-150.0 mPa.s จากนั้นนำเจลาตินแต่ละความเข้มข้นไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที สังเกตลักษณะปรากฏและการแข็งตัวของเจลาตินในการคัดเลือกเบื้องต้นเพื่อจำลองรูปแบบการเก็บรักษาปลานิลแล้วตามที่มีการจำหน่ายในซูเปอร์มาร์เก็ต พบว่า เจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี และไม่มี ความข้นหนืด ขณะที่เจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 4 และ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) เกิดการแข็งตัวเป็นเจลใสและมีความข้นหนืด จึงคัดเลือกเจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) มาใช้ในการศึกษาครั้งนี้

2. การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดเห็ดเข็มทองร่วมกับเจลาติน

2.1 การเตรียมสารละลายผสมของสารสกัดเห็ดเข็มทองและเจลาติน

เตรียมสารสกัดเห็ดเข็มทองความเข้มข้นร้อยละ 2.5, 5 และ 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในสารละลายน้ำกลั่นที่มีส่วนผสมของเจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนสารละลายแล้วนำสารละลายผสมไปวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวัดอนุมูล DPPH และการต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion

2.2 ค่าการจับอนุมูล DPPH (2,2-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity)

วิเคราะห์ค่าการจับอนุมูล DPPH ของสารละลายผสมระหว่างสารสกัดเห็ดเข็มทองและเจลาตินตามวิธีของ Yen and Hsieh (1995) โดยนำ

สารละลายตัวอย่างผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ใน เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 85 (ปริมาตร/ปริมาตร) และบ่มเป็นเวลา 30 นาทีในที่มืดก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และคำนวณค่า DPPH radical scavenging activity (%)

2.3 สมบัติการต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion

วิเคราะห์สมบัติการต้านจุลินทรีย์ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้เลือกทดสอบเชื้อ *Staphylococcus aureus* เนื่องจากเชื้อ *S. aureus* เป็นแบคทีเรียก่อโรค (pathogenic bacteria) ที่มีความสำคัญในอาหารแช่เย็น โดยดัดแปลงวิธีจาก Alparslan *et al.* (2016) ทำโดยนำเชื้อ *S. aureus* มาเกลี่ย (Swab) ให้ทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy broth (TSB) ที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 จากนั้นเจาะหลุมด้วยที่เจาะจุกคอร์ก (cork borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แล้วนำสารละลายผสมระหว่างสารสกัดเห็ดเห็ดหอมและเจลาตินมาเติมปริมาตรหลุมละ 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนแข็งตัว แล้วนำไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง และตรวจสอบผลการทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ (vernier caliper) ในหน่วยมิลลิเมตร

3. การประยุกต์ใช้สารสกัดเห็ดเห็ดหอมร่วมกับเจลาตินต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลานิลแช่เย็น

3.1 การเตรียมตัวอย่างปลานิลแช่และชุดตัวอย่าง

นำตัวอย่างปลานิลขนาดประมาณ 900 กรัมต่อตัว โดยซื้อจากฟาร์มของเกษตรกร จังหวัดสมุทรสาคร ทำการบรรจุพลาสติกกับน้ำแข็งเป็นชั้นๆ ในกล่องโฟลิสไตรีน และขนส่งมายัง

ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภายในระยะเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำปลานิลมาแล่ ลอกหนังออกและตัดแต่งให้มีขนาดชิ้นละประมาณ 150 กรัม ล้างด้วยน้ำเย็นและสะเด็ดน้ำเป็นเวลา 3 นาที และแบ่งตัวอย่างปลานิลแช่เป็นชุดตัวอย่างต่างๆ ดังนี้ ปลานิลแช่แช่ในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) ปลานิลแช่แช่ในสารสกัดเห็ดเห็ดหอมความเข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ME) ปลานิลแช่แช่ในเจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) (Gel) และปลานิลแช่แช่ในสารสกัดเห็ดเห็ดหอมความเข้มข้นร้อยละ 10 ร่วมกับเจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ME+Gel) กำหนดให้อัตราส่วนปลานิลแช่ต่อสารละลายเท่ากับ 1:3 และควบคุมอุณหภูมิระหว่างการศึกษามาไม่เกิน 4 ± 1 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 10 นาที ทำการสะเด็ดน้ำเป็นเวลา 3 นาที และบรรจุปลานิลแช่แต่ละชุดตัวอย่างลงในภาชนะพลาสติกจำนวน 1 ชิ้นต่อชุด และห่อด้วยฟิล์มยืดห่ออาหาร ซึ่งเป็นการจำลองการบรรจุให้มีลักษณะเช่นเดียวกับการจำหน่ายในซูเปอร์มาร์เก็ต จากนั้นนำตัวอย่างปลานิลแช่ไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และสุ่มตัวอย่างปลานิลแช่ทุก 2 วัน มาตรวจสอบคุณภาพด้านต่างๆ เป็นระยะเวลา 10 วัน ดังนี้

3.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและทางเคมี

3.2.1 การสูญเสียน้ำหนัก (Weight loss)

นำตัวอย่างปลานิลแช่มาชั่งน้ำหนักก่อนนำไปแช่ในสารเคลือบแต่ละชุดตัวอย่างในข้อ 3.1 (W_1) และชั่งน้ำหนักปลานิลแช่ชิ้นเดิมหลังการแช่ในสารเคลือบ (W_2) และนำไปคำนวณค่าการสูญเสีย น้ำหนัก (Weight loss) ซึ่งดัดแปลงวิธีจาก Chong *et al.* (2015)

$$\text{Weight loss (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100$$

3.2.2 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

นำตัวอย่างปลานิลแล่ 10 กรัม ไปปั่นผสมกับน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ด้วยเครื่อง โฮโมจีไนซ์ และนำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่อง pH meter

3.2.3 ค่าความสด (K-value)

วิเคราะห์ค่าความสดโดยวิธี ion exchange chromatography ตามวิธีการของ Uchiyama (1978) ทำโดยนำตัวอย่างปลานิลแล่มาบดผสมกับกรดเปอร์คลอริก เพื่อสกัดสารประกอบในกลุ่มนิวคลีโอไทด์ ก่อนนำไปตกตะกอนแยกเอาส่วนของโปรตีน จากนั้นปรับ pH ให้มีค่าอยู่ในช่วง 6.5-6.8 ด้วย

สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์และนำส่วนใสที่สกัดได้มาปรับ pH ด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ จนมี pH เป็น 9.4 แล้วชะตัวอย่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.001 และ 0.01 นอร์มอล ตามลำดับ และนำมาวิเคราะห์ปริมาณของ adenosine triphosphate (ATP), adenosine diphosphate (ADP), adenosine monophosphate (AMP), inosine monophosphate (IMP), inosine (HxR) และ hypoxanthine (Hx) โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตรและคำนวณค่าดัชนีความสด ดังสมการ

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

3.2.4 สารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total volatile base nitrogen; TVB-N)

วิเคราะห์ปริมาณของ TVB-N ด้วยวิธี Conway's micro-diffusion method (Conway and Byrne, 1936) โดยนำปลานิลแล่มาสกัดด้วยสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 4 จากนั้นเติมตัวอย่างที่ได้จากการสกัด สารละลายกรดบอริกและสารละลายโพแทสเซียมคาร์บอเนตปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงใน Conway dish แล้วนำไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นไตเตรทด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ นำไปคำนวณ TVB-N และรายงานค่าเป็นมิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง (mg/100 g)

3.2.5 การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (Thiobarbituric acid reactive substances; TBARS)

วิเคราะห์ค่า TBARS ตามวิธีการของ Nirmal and Benjakul (2009) โดยนำปลานิลแล่มาทำปฏิกิริยา

กับ TBA reagent แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง เป็นเวลา 20 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร และรายงานค่า TBARS โดยคำนวณเทียบกับค่าที่ได้จากกราฟมาตรฐานของ malonaldehyde แสดงในหน่วย มิลลิกรัมของ malonaldehyde ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง (mg malonaldehyde/kg sample)

3.3 การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

3.3.1 ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total viable count)

ตรวจปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดตามวิธี Bacteriological Analytical Manual (BAM (Bacteriological Analytical Manual), 2001) ด้วยเทคนิค pour plate ทำโดยปั่นผสมเนื้อปลานิลแล่กับสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 จากนั้นนำไปเจือจางครั้งละ 10 เท่าจนได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม และปิ

เปิดตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงบนจานเพาะเชื้อ แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar ตั้งทิ้งไว้จนแข็ง แล้วนำไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.4 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของ ปลานิลแล้ใช้วิธี Quality Index Method (QIM) ตามวิธีของ Yu *et al.* (2017) โดยทำการประเมิน 6 คุณลักษณะ ได้แก่ เมื่อ ก สี เนื้อสัมผัส เลือด gaping และกลิ่นด้วยผู้ทดสอบจำนวน 12 คนที่ผ่านการฝึกฝนทำการประเมินตัวอย่างปลานิลแต่ละตามระยะเวลาการเก็บรักษาโดยการสังเกต การดมกลิ่น การสัมผัสตัวปลา พร้อมทั้งบรรยายลักษณะที่พบตามส่วนต่างๆ ซึ่งมีหลักการให้คะแนน 1-3 คะแนน โดยที่ระดับคะแนน 3 คะแนน หมายถึง ปลานิลแล้มีลักษณะสดมากที่สุด ระดับคะแนน 2 คะแนน หมายถึง ปลานิลแล้มีคุณภาพอยู่ในระดับที่สามารถนำไปบริโภคได้ เกิดการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และผู้ทดสอบยังให้การยอมรับ และระดับคะแนน 1 คะแนน หมายถึง ปลานิลแล้มีคุณภาพลดลงจนถึงในระดับที่ผู้ทดสอบไม่ให้การยอมรับ หลังจากนั้นคำนวณผลคะแนนโดยการนำผลรวมทั้งหมดของคุณลักษณะหารด้วยจำนวนคุณลักษณะทั้ง 6 คุณลักษณะและรายงานผลเป็นคะแนนความชอบ (Preference scores)

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS version 23

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ค่าการขจัดอนุมูล DPPH

ผลการวิเคราะห์ค่าการขจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัด ME ความเข้มข้นร้อยละ 2.5, 5 และ 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ร่วมกับเจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) (Figure. 1) พบว่า ค่าการขจัดอนุมูล DPPH มีค่าเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด ME โดยมีค่าการขจัดอนุมูล DPPH อยู่ในช่วงร้อยละ 62.2-80.6 ซึ่งสารสกัด ME ความเข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ร่วมกับเจลาตินมีค่าการขจัดอนุมูล DPPH สูงสุด ($p < 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Bao *et al.* (2010) ที่รายงานว่าค่าการขจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัด ME จากส่วนที่บริโภคได้มีค่าเพิ่มขึ้นตามปริมาณสารสกัด ME ที่เพิ่มขึ้น สันนิษฐานว่า เนื่องจากสารสกัด ME เป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลิกที่สามารถให้อนุมูลไฮโดรเจนในการทำปฏิกิริยากับสาร DPPH และสารเอโกโทโอนินที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระของไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) จึงทำให้ความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH เพิ่มขึ้น

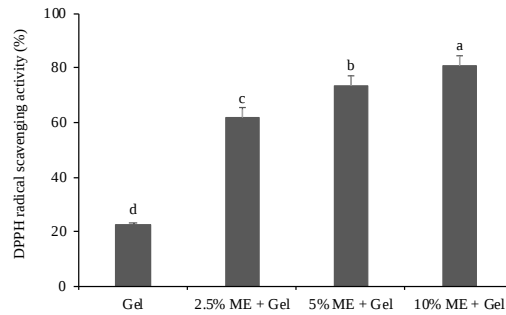


Figure 1 DPPH radical scavenging activity of mushroom extract and gelatin solutions. Letters show significant differences among the groups at $p < 0.05$. (Gel: Gelatin, ME: mushroom extract)

2. ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

ผลการตรวจสอบค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี Agar well diffusion method ของสารสกัด ME ความเข้มข้นร้อยละ 2.5, 5 และ 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ร่วมกับเจลาติน พบว่า สารสกัด ME ความเข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ร่วมกับเจลาตินเกิดบริเวณโซนยับยั้ง (inhibition zone) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 มิลลิเมตร ซึ่งมีความกว้างกว่าสารสกัด ME ความ

เข้มข้นร้อยละ 5 และ 2.5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ตามลำดับ (Table 1) แสดงให้เห็นว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัด ME เพิ่มขึ้นจะสร้างโซนยับยั้งที่มีขนาดใหญ่ขึ้น สันนิษฐานว่าเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเข้าไปทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ส่งผลให้ส่วนประกอบภายในเซลล์เสียหาย ทำให้ขัดขวางการทำงานของโปรตีนและการสังเคราะห์ DNA และ RNA (Shan *et al.*, 2007)

Table 1 Inhibition zone of *Staphylococcus aureus*

Treatment	Inhibition zone (mm)
Gel	ND
10% ME	9 ± 0.68 ^a
2.5% ME + Gel	9 ± 1.26 ^a
5% ME + Gel	10 ± 1.09 ^b
10% ME + Gel	12 ± 0.45 ^c

ND Not detected. Data were presented as mean values ± standard deviations. Different small letters indicate significant difference among means in the same line ($p < 0.05$). (Gel: Gelatin, ME: mushroom extract)

3. การประยุกต์ใช้สารสกัดเห็ดเข็มทองร่วมกับเจลาตินต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพปลานิลแช่เย็น

3.1 การสูญเสียน้ำหนัก

ผลการวิเคราะห์ค่าการสูญเสียน้ำหนักของปลานิลแช่ พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น

การสูญเสียน้ำหนักมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกชุดตัวอย่าง ($p < 0.05$) (Figure 2) โดยปลานิลแช่ชุดควบคุมมีค่าการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ขณะที่ปลานิลแช่ที่แช่ในเจลาตินหรือสารสกัด ME เพียงอย่างเดียวและปลานิลแช่ที่แช่ใน ME + Gel มีค่าการ

สูญเสียน้ำหนักน้อยกว่าทุกชุดตัวอย่าง ซึ่งการสูญเสีย น้ำหนักในสัตว์น้ำ เกิดจากจุลินทรีย์เข้าไปทำลายผนัง เซลล์ของกล้ามเนื้อปลา โดยการย่อยสลายไมโอซิน ทำให้ไมโอซินสูญเสียความสามารถในการจับกับน้ำ ก่อให้เกิดการสูญเสียของเหลวภายในเซลล์ (drip loss) สาเหตุที่ปลานิลแช่ที่แช่ใน ME + Gel มีค่าการ สูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้น ช้ากว่าทุกชุดตัวอย่าง ดังนั้นฐานว่า เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกในสาร

สกัด ME เข้าไปทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้ การเจริญของจุลินทรีย์ลดลง ส่งผลให้การสูญเสีย น้ำหนักเพิ่มขึ้นช้าลง (Khodanazary, 2019) ขณะที่ เจลาตินมีความสามารถในการป้องกันการซึมผ่าน ของน้ำ เนื่องจากมีกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำเป็น องค์ประกอบ (Wei *et al.*, 2019) ดังนั้น การใช้ ME + Gel จึงสามารถชะลอการสูญเสียน้ำหนักของปลานิลแช่ แช่เย็นได้ดีกว่าการใช้สารสกัด ME เพียงอย่างเดียว

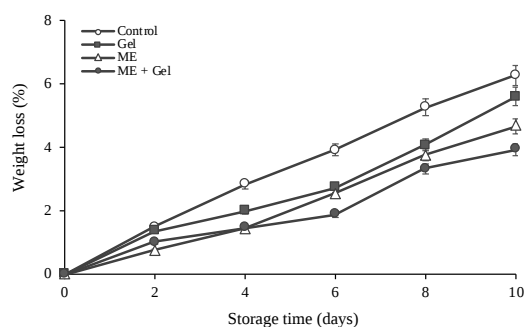


Figure 2 Weight loss (%) of tilapia fillets during refrigerated storage. (Gel: Gelatin, ME: mushroom extract)

3.2 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ผลการวิเคราะห์ค่า pH ของปลานิลแช่ พบว่า ค่า pH เริ่มต้นของปลานิลแช่มีค่าอยู่ในช่วง 6.40-6.44 เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ค่า pH ของทุก ตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) (Figure 3A) โดย ที่ปลานิลแช่ชุดควบคุมมีค่า pH เพิ่มขึ้นสูงสุด รองลงมาคือ ปลานิลแช่ที่แช่ในเจลาติน ปลานิลแช่ที่ แช่ในสารสกัด ME และปลานิลแช่ที่แช่ใน ME + Gel ตามลำดับ ซึ่งในช่วงแรกของการเก็บรักษาค่า pH มี ค่าลดลง เนื่องจากเกิดการสะสมของกรดแลคติกจาก กระบวนการไกลโคไลซิสของไกลโคเจน ขณะที่การ เพิ่มขึ้นของค่า pH ในภายหลัง อาจเกิดจากการ เพิ่มขึ้นของสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ (Nie *et al.*, 2018) ซึ่งปลานิลแช่ที่แช่ใน ME + Gel มีค่า pH เพิ่มขึ้นช้าที่สุด อาจเนื่องมาจากสารสกัด ME มีความสามารถในการชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ (Santhi and Tepwong, 2015) และการใช้เจลาตินยัง

สามารถป้องกันการซึมผ่านของน้ำและออกซิเจน ซึ่ง เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียในเนื้อปลา ดังนั้น ปลา นิลแช่ที่แช่ใน ME + Gel จึงมีการเพิ่มขึ้นของค่า pH ช้ากว่าชุดตัวอย่างอื่น

3.3 ค่าความสด (K-value)

ค่าความสดหรือค่า K-value เป็นดัชนีที่แสดงถึง การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ที่ เกิดขึ้นภายในตัวปลา ผลการวิเคราะห์ค่า K-value ของปลานิลแช่ระหว่างการเก็บรักษา (Figure 3B) พบว่า ในวันแรกของการศึกษาปลานิลแช่มีค่า K-value เริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 4.8 และมีค่าเพิ่มขึ้นตาม ระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น โดยปลานิลแช่ชุด ควบคุมมีค่า K-value สูงสุดเท่ากับร้อยละ 68.4 ใน วันที่ 10 ของการเก็บรักษา ซึ่งมีค่าสูงกว่าเกณฑ์ระดับ ความสดของปลาที่กำหนดให้มีค่าไม่เกินร้อยละ 60 (Ehira, 1976) ขณะที่ปลานิลแช่ที่แช่ในเจลาตินหรือ สารสกัด ME เพียงอย่างเดียวมีการเพิ่มขึ้นของค่า K-

value ใกล้เคียงกัน โดยมีอายุการเก็บรักษาประมาณ วันที่ 7-8 ส่วนปลานิลแช่ที่แช่ใน ME + Gel มีค่า K-value อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยมีค่า K-value เท่ากับร้อยละ 51.0 ในวันที่ 10 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าปลานิลแช่ทุกชุดตัวอย่าง สันนิษฐานว่า สารประกอบฟีนอลิกและสารเออโกไธโอนีนซึ่งเป็นองค์ประกอบในสารสกัด ME จะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ภายในตัวปลาและเอนไซม์จากจุลินทรีย์ โดยเข้าทำปฏิกิริยาเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเอนไซม์ทำให้ไม่สามารถย่อยสลายสารประกอบนิวคลีโอไทด์จาก IMP เป็น Hx ได้ (Khunsoongserm, 2003) ขณะที่การใช้เจลาตินจะช่วยป้องกันการซึมผ่านของน้ำและออกซิเจน ส่งผลให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ (Wei *et al.*, 2019) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhao *et al.* (2019) ที่รายงานว่า การใช้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นร่วมกับเจลาตินสามารถรักษาความสดของปลานิลแช่ได้ดีกว่าปลานิลแช่ที่ไม่ผ่านการเคลือบและปลานิลแช่ที่เคลือบด้วยสารสกัดจากเมล็ดองุ่นและเจลาตินเพียงอย่างเดียว

3.4 สารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N)

ผลการตรวจติดตามค่า TVB-N ของปลานิลแช่แช่เย็นระหว่างการเก็บรักษา (Figure 3C) พบว่าในวันแรกของการศึกษาปลานิลแช่มีค่า TVB-N เริ่มต้นเท่ากับ 5.6 mg N/100 g และมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่า TVB-N เกิดจากเอนไซม์ในตัวปลาหรือเอนไซม์จากแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสียโดยการย่อยสลาย Trimethylamine oxide (TMAO) ซึ่งสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงค่า pH โดยปลานิลแช่ชุดควบคุมมีค่า TVB-N เท่ากับ 35.2 mg N/100 g ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา ซึ่งมีค่าสูงกว่าเกณฑ์การยอมรับที่จะต้องมียค่า TVB-N ไม่เกิน 30

mg N/ 100 g (Cobb *et al.*, 1976) ขณะที่ปลานิลแช่ที่แช่ในเจลาตินหรือสารสกัด ME เพียงอย่างเดียวมีค่า TVB-N เท่ากับ 36.5 และ 30.3 mg N/ 100 g ตามลำดับ ในวันที่ 8 ส่วนปลานิลแช่ที่แช่ใน ME + Gel มีค่า TVB-N ต่ำกว่าทุกชุดตัวอย่างอื่นๆ โดยมีอายุการเก็บรักษาประมาณ 9 วัน อาจเนื่องจากสารสกัด ME มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนก่อให้เกิดสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ เช่น Trimethylamine (TMA) และแอมโมเนียม (Zhuang *et al.*, 2019) และเมื่อใช้ร่วมกับเจลาตินจึงสามารถชะลอการเกิด TVB-N ได้ดีกว่าการใช้สารสกัด ME เพียงอย่างเดียว

3.5 การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (TBARS)

ผลการวิเคราะห์ค่า TBARS ของปลานิลแช่แช่เย็นระหว่างการเก็บรักษา (Figure 3D) พบว่าค่า TBARS มีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างช้าๆ ตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นในทุกชุดตัวอย่าง ($p < 0.05$) โดยในวันที่ 10 ของการเก็บรักษาปลานิลแช่ทุกชุดตัวอย่างมีค่า TBARS อยู่ในช่วง 0.3 - 0.6 mg MDA/kg ซึ่งมีค่าอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของปลาสดที่ระบุไว้ให้มีค่า TBARS ไม่เกิน 1-2 mg MDA/kg (Khalafalla *et al.*, 2015) จากการศึกษาค่าการจับอนุมูล DPPH ของสารสกัด ME แสดงให้เห็นว่า สารสกัด ME มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งคาดว่า สารเออโกไธโอนีนจะไปยับยั้งการทำงานของ singlet oxygen ทำให้การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในสัตว์น้ำลดลง (Pahila *et al.*, 2017) ขณะที่เจลาตินช่วยควบคุมการซึมผ่านของออกซิเจน ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้น ปลานิลแช่ที่แช่ใน ME + Gel จึงมีค่า TBARS ต่ำกว่าการใช้สารสกัด ME หรือเจลาตินเพียงอย่างเดียว

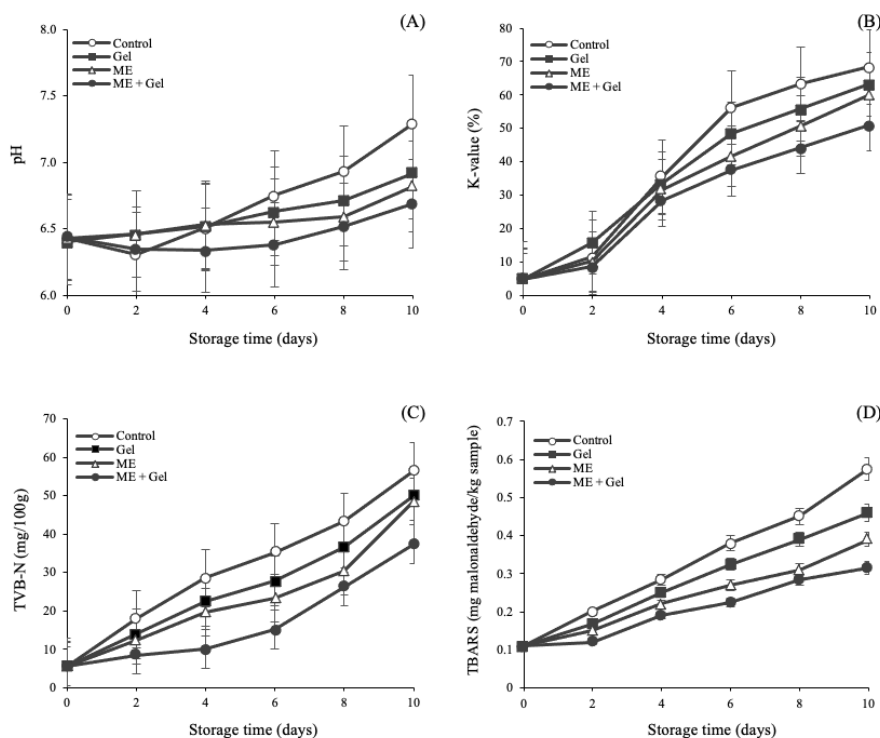


Figure 3 Changes in pH (A), K-values (B), TVB-N values (C), TBARS values (D) of tilapia fillets during refrigerated storage. (Gel: Gelatin, ME: mushroom extract)

3.6 ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (TVC)

ผลการวิเคราะห์ค่า TVC ของปลานิลแช่เย็นระหว่างการเก็บรักษา (Figure 4) พบว่า ปลานิลแช่เย็นมีค่า TVC เริ่มต้นเท่ากับ 4.1 log CFU/g และมีค่าเพิ่มขึ้นในทุกชุดตัวอย่างเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) และเมื่อพิจารณามาตรฐานที่ประกาศโดยกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ที่กำหนดให้ปลานิลสดมีค่า TVC ไม่เกิน 5 log CFU/g (National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards, 2013) พบว่า ปลานิลแช่เย็นชุดควบคุมมีค่า TVC เกินมาตรฐานในวันที่ 6 ของการเก็บรักษาซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.1 log CFU/g ขณะที่ปลานิลแช่ในเจลาตินและสารสกัด ME เพียงอย่างเดียวมีค่า TVC เท่ากับ 4.9 และ 4.8 log CFU/g ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่มาตรฐานกำหนด และมีค่าเกินมาตรฐานในวันที่ 8 ดังนั้นปลานิลแช่ในเจลาตินและสารสกัด ME เพียงอย่างเดียวสามารถยอมรับได้

ประมาณวันที่ 6-7 ของการเก็บรักษา ส่วนปลานิลแช่ที่แช่ใน ME + Gel มีค่า TVC เกินมาตรฐานกำหนดเท่ากับ 5.1 log CFU/g ในวันที่ 10 ของการเก็บรักษาซึ่งปลานิลแช่ที่แช่ใน ME + Gel มีค่า TVC ต่ำกว่าชุดตัวอย่างอื่นๆ อาจเนื่องมาจากสารสกัด ME มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Santhi and Tepwong, 2015) และเมื่อใช้ร่วมกับเจลาตินที่มีสมบัติในการควบคุมการซึมผ่านของออกซิเจน ซึ่งจะเข้าไปขัดขวางการถ่ายเทออกซิเจนของจุลินทรีย์ (Wei *et al.*, 2019) ส่งผลให้มีค่า TVC ต่ำกว่าชุดตัวอย่างที่แช่ในสารสกัด ME หรือเจลาตินเพียงอย่างเดียว สอดคล้องกับงานวิจัยของ Racisi *et al.*, 2015 ที่ศึกษาการใช้สารสกัดจากเมล็ดคองุ่นร่วมกับสารเคลือบ CMC ในปลาเรนโบว์เทราต์แช่เย็น พบว่า ปลาเรนโบว์เทราต์ที่แช่ในสารสกัดจากเมล็ดคองุ่นร่วมกับสารเคลือบ CMC มีค่าน้อยกว่าการแช่ในสารสกัดจากเมล็ดคองุ่นหรือสารเคลือบ CMC เพียงอย่างเดียว

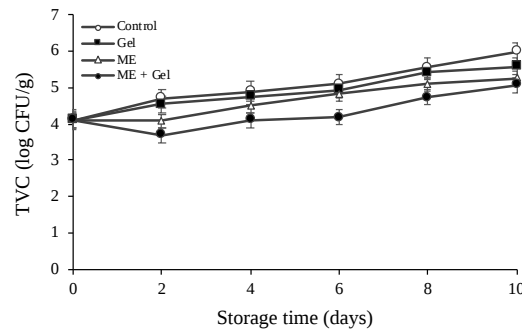


Figure 4 Changes in total viable count (TVC) of tilapia fillets during refrigerated storage.

(Gel: Gelatin, ME: mushroom extract)

3.7 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของปลานิลแช่แข็งด้วยวิธี QIM (Figure 5) พบว่าในวันแรกและวันที่ 2 ของการเก็บรักษาปลานิลแช่แข็งทุกชุดตัวอย่างมีคะแนนความชอบ (Preference scores) ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นมีคะแนนความชอบลดลงในปลานิลแช่แข็งทุกชุดตัวอย่าง โดยปลานิลแช่แข็งควบคุมผู้ทดสอบให้การยอมรับถึงวันที่ 4 ของการเก็บรักษา ซึ่งปลานิลแช่แข็งมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่นุ่ม เมื่อทำการกดการคืนตัวจะเกิดขึ้นได้ช้า มีกลิ่นคาวและกลิ่นไม่พึงประสงค์อย่างชัดเจน ขณะที่ปลานิลแช่ในเจลาตินและสารสกัด ME เพียงอย่างเดียวผู้ทดสอบให้การยอมรับถึงวันที่ 5-6 ของการเก็บรักษา โดยปลานิลแช่มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่นุ่ม เมื่อทำการกดการคืนตัวจะเกิดขึ้นได้ช้า เริ่มมีกลิ่นคาวและกลิ่นไม่พึง

ประสงค์ปานกลาง ส่วนปลานิลแช่ใน ME + Gel ผู้ทดสอบให้การยอมรับถึงประมาณวันที่ 6-8 ของการเก็บรักษา โดยปลานิลแช่มีลักษณะเนื้อสัมผัสค่อนข้างนุ่ม เมื่อทำการกดการคืนตัวจะเกิดขึ้นได้ช้า และมีกลิ่นคาว ซึ่งผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสจากผู้ทดสอบมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับค่าคุณภาพทางเคมีและจุลินทรีย์ของปลานิลแช่ใน ME + Gel และชุดตัวอย่างอื่นๆ โดยคะแนนความชอบที่ลดลง แสดงถึง การเสื่อมคุณภาพของปลานิลแช่ที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ค่า K-value ค่า TVB-N ค่า TBARS และค่า TVC ที่เพิ่มขึ้นในแต่ละชุดตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่า การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและจุลินทรีย์มีความสัมพันธ์กับคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของปลานิลแช่

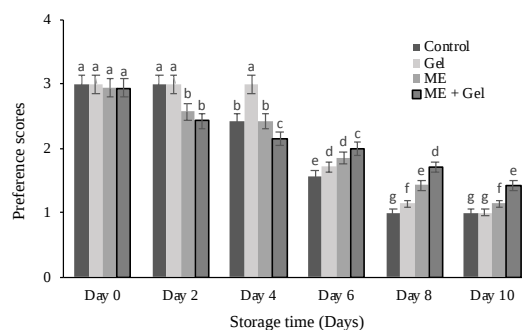


Figure 5 Changes in preference scores of tilapia fillets during refrigerated storage. Letters show significant differences among the groups at $p<0.05$. (Gel: Gelatin, ME: mushroom extract)

สรุป

การประยุกต์ใช้สารสกัดเห็ดเข็มทองความเข้มข้นร้อยละ 10 ร่วมกับเจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 2 แสดงให้เห็นถึงการเสริมฤทธิ์ร่วมกัน (synergistic effect) โดยสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และการยอมรับทางประสาทสัมผัสของปลานิลและระหว่างการศึกษาที่อุณหภูมิต่ำได้ถึงวันที่ 6-8 ของการเก็บรักษา ขณะที่ปลานิลแช่หุ้ดควบคุมมีอายุการเก็บรักษาเพียง 4 วัน ดังนั้น การใช้สารสกัดเห็ดเข็มทองซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรร่วมกับสารเคลือบไฮโดรคอลลอยด์มีแนวโน้มที่จะนำมาพัฒนาต่อยอดในการเป็นสารถนอมอาหารจากธรรมชาติที่ปลอดภัยสำหรับอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่สนับสนุนในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Ahmad, T., Ismail, A., Ahmad, S.A., Khalil, K.A., Kumar, Y., Adeyemi, K.D. and Sazili, A.Q. 2017. Recent advances on the role of process variables affecting gelatin yield and characteristics with special reference to enzymatic extraction: A review. **Food Hydrocolloids** 63: 85-96.
- Alparslan, Y., Yapici, H.H., Metin, C., Baygar, T., Gunlu, A. and Baygar, T. 2016. Quality assessment of shrimps preserved with orange leaf essential oil incorporated gelatin. **LWT-Food Science and Technology** 72: 457-466.
- Andevvari, G.T. and Rezaei, M. 2011. Effect of gelatin coating incorporated with cinnamon oil on the quality of fresh rainbow trout in cold storage. **International Journal of Food Science and Technology** 46: 2305-2311.
- BAM (Bacteriological Analytical Manual). 2001. **Chapter3: Aerobic Plate Count**. Laboratory Methods. Available Source: <http://www.cfsan.fda.gov>, October 6, 2020.
- Bao, H.N.D., Shinomiya, Y., Ikeda, H. and Ohshima, T. 2008. Antioxidative activity and antidiscoloration efficacy of ergothioneine in mushroom (*Flammulina velutipes*) extract added to beef and fish meats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 56: 10032-10040.
- Bao, H.N.D., Shinomiya, Y., Ikeda, H. and Ohshima, T. 2009. Preventing discoloration and lipid oxidation in dark muscle of yellowtail by feeding an extract prepared from mushroom (*Flammulina velutipes*) cultured medium. **Aquaculture** 295: 243-249.
- Bao, H.N.D., Osako, K. and Ohshima, T. 2010. Value-added use of mushroom ergothioneine as a color stabilizer in processed fish meats. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 90: 1634-1641.
- Chen, B.J., Zhou, Y.J., Wei, X.Y., Xie, H.J., Hider, R.C. and Zhou, T. 2016. Edible antimicrobial coating incorporating a polymeric iron chelator and its application in the preservation of surimi product. **Food and Bioprocess Technology** 9(6): 1031-1039.

- Chong, J.X., Lai, S. and Yang, H. 2015. Chitosan combined with calcium chloride impacts fresh-cut honeydew melon by stabilising nanostructures of sodium carbonate soluble pectin. **Food Control** 53: 195-205.
- Cobb, E.F., Vanderzant, C., Hanna, M.O. and Yeh, C.P.S. 1976. Effect of ice storage on microbiological and chemical changes in shrimp and melting ice in a model system. **Journal of Food Science** 41(1): 29-34.
- Conway, E.J. and Byrne, A. 1936. An absorption apparatus for the microdetermination of certain volatile substances I. The microdetermination of ammonia. **Journal of Biochemistry** 27: 419-429.
- Dubost, N.J., Oua, B. and Beelman, R.B. 2007. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. **Food Chemistry** 105: 727-735.
- Ehira, S. 1976. A biochemical study on the freshness of fish. **Bulletin of the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory** 88: 130-132.
- Encarnacion, B.A., Fagutao, F., Shozen, K., Hirono, I. and Ohshima, T. 2011. Biochemical intervention of ergothioneine-rich edible mushroom (*Flammulina velutipes*) extract inhibits melanosis in crab (*Chionoecetes japonicus*). **Food Chemistry** 127: 1594-1599.
- Encarnacion, B.A., Fagutao, F., Jintasataporn, O., Worawattanamatekul, W., Hirono, I. and Ohshima, T. 2012. Application of ergothioneine-rich extract from an edible mushroom *Flammulina velutipes* for melanosis prevention in shrimp, *Penaeus monodon* and *Litopenaeus vannamei*. **Food Research International** 45: 232-237.
- Feng, X., Ng, V.K., Krajnik, M.M. and Yang, H. 2017. Effects of fish gelatin and tea polyphenol coating on the spoilage and degradation of myofibril in fish fillet during cold storage. **Food and Bioprocess Technology** 10: 89-102.
- Khalafalla, F.A., Ali, F.H.M. and Hassan, A.R.H.A. 2015. Quality improvement and shelf-life extension of refrigerated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets using natural herbs. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences** 4(1): 33-40.
- Khodanazary, A. 2019. Quality characteristics of refrigerated mackerel *Scomberomorus commerson* using gelatin-polycaprolactone composite film incorporated with lysozyme and pomegranate peel extract. **International Journal of Food Properties** 22(1): 2057-2071.
- Khunsoongsern, N. 2003. Quality change of tilapia fillets stored under modified atmosphere. Master Thesis of Science in Food Technology, Suranaree University. (in Thai)
- Kulawik, P., Jamroz, E., Zajac, M., Guzik, P. and Tkaczewska, J. 2019. The effect of furcellaran-gelatin edible coatings with green and pu-erh tea extracts on the microbiological, physicochemical and sensory changes of

- salmon sushi stored at 4 °C. **Food Control** 100: 83-91.
- Lin, L., Cui, F., Zhang, J., Gao, X., Zhou, M., Xu, N., Zhao, H., Liu, M., Zhang, C. and Jia, L. 2016. Antioxidative and renoprotective effects of residue polysaccharides from *Flammulina velutipes*. **Carbohydrate Polymers** 146: 388-395.
- National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards. 2013. **Thai agricultural standard TAS 7001-2013: tilapia**. Notification of the Ministry of Agriculture and Cooperatives. Available Source: https://www.acfs.go.th/files/files/commodity-standard/20190609205206_257597.pdf, December 14, 2020. (in Thai)
- Nie, X., Wang, L., Wang, Q., Lei, J., Hong, W., Huang, B. and Zhang, C. 2018. Effect of a soium alginate coating infused with tea polyphenols on the quality of fresh Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicas*) Fillets. **Journal of Food Science** 83(6): 1695-1700.
- Nirmal, N.P. and Benjakul, S. 2009. Effect of ferulic acid on inhibition of polyphenoloxidase and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during iced storage. **Food Chemistry** 116: 323-331.
- Pahila, J., Kaneda, H., Nagasaka, R., Koyama, T. and Ohshima, T. 2017. Effects of ergothioneine-rich mushroom extracts on lipid oxidation and discoloration in salmon muscle stored at low temperatures. **Food Chemistry** 233: 273-281.
- Plaipetch, P. 2016. Nutritional management for culturing nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Thai Science and Technology Journal** 24(1): 12-39. (in Thai)
- Raeisi, M., Tajik, H., Aliakbarlu, J., Mirhosseini, S.H. and Hosseini, S.M.H. 2015. Effect of carboxymethyl cellulose-based coatings incorporated with *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and grape seed extract on the shelf life of rainbow trout fillets. **LWT-Food Science and Technology** 64: 898-904.
- Santhi, P. and Tepwong, P. 2015. Effect of black mushroom trimming extract on the melanosis formation and quality changes of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during iced storage, pp. 1192-1202. In **Proceedings of 53rd Kasetsart University Annual Conference**. Kasetsart University Research and Development Institute, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Santhi, P., Maneerote, J. and Tepwong, P. 2016. A study of the antioxidant activities and polyphenoloxidase inhibitory effects of several commercial mushroom trimming extracts and its application on inhibiting melanosis in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Naresuan University Journal: Science and Technology** 24(2): 207-217. (in Thai)
- Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J. and Corke, H. 2007. The in vitro antibacterial activity of dietary species and medicinal herb extracts. **International**

- Journal of Food Microbiology** 117: 112-119.
- Tepwong, P., Giri, A., Sasaki, F., Fukui, R. and Ohshima, T. 2012. Mycobial enhancement of ergothioneine by submerged cultivation of edible mushroom mycelia and its application as an antioxidative compound. **Food Chemistry** 131: 247-258.
- Uchiyama, K. 1978. **Analytical method for estimate freshness of fish**. Available Source: <http://www.seafdec.or.th/index.php/downloads/download/560-analyticalmethods-for-Estimating-freshness-of-fish>, February 1, 2020.
- Vargas, M., Pastor, C., Chiralt, A., McClements, D.J. and Martinez, C.G. 2008. Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 48(6): 496.
- Wang, Q., Cao, J., Yu, H., Zhang, J., Yuan, Y., Shen, X. and Li, C. 2019. The effects of EGCG on the mechanical, bioactivities, cross-linking and release properties of gelatin film. **Food Chemistry** 271: 204-210.
- Wei, P., Cao, J., Shen, X. and Li, C. 2019. The preservation effect and mechanism of gelatin on golden pompano (*Trachinotus blochii*) fillets during cold storage. **Food Science and Technology** 39(2): 626-631.
- Wu, J., Sun, X., Guo, X., Ji, M., Wang, J., Cheng, C., Cheng, L., Wen, C. and Zhang, Q. 2018. Physicochemical, antioxidant, in vitro release, and heat sealing properties of fish gelatin films incorporated with β -cyclodextrin/curcumin complexes for apple juice preservation. **Food and Bioprocess Technology** 11(2): 447-461.
- Yen, G.C. and Hsieh, P.P. 1995. Antioxidative activity and scavenging effects on active oxygen of xylose-lysine maillard reaction products. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 67(3): 415-420.
- Yu, D., Jiang, Q., Xu, Y. and Xia, W. 2017. The shelf life extension of refrigerated grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets by chitosan coating combined with glycerol monolaurate. **International Journal of Biological Macromolecules** 101: 448-454.
- Zhao, X., Wu, J., Chen, L. and Yang, H. 2019. Effect of vacuum impregnated fish gelatin and grape seed extract on metabolite profiles of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets during storage. **Food Chemistry** 293: 418-428.
- Zhuang, S., Li, Y., Jia, S., Hong, H., Liu, Y. and Luo, Y. 2019. Effects of pomegranate peel extract on quality and microbiota composition of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillets during chilled storage. **Food Microbiology** 82: 445-454.