คุณภาพทางจุลชีววิทยาและเคมีของหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) สุกเคลือบน้ำมันหอมระเหยไทม์ ภายใต้การบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ

Microbial and Chemical Quality of Cooked Green Mussel (*Perna viridis*) with Thyme Essential Oil Coating under Modified Atmosphere Packaging

ณัฐชยา บุญมา[1], สวามินี ธีระวุฒิ[1], *และปฏิยุทธ์ ขวัญอ่อน[2]

Natchaya Boonma[1], Savaminee Teerawut[1], *and Patiyut Kwan-on[2]

[1] *ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา*

[2] *สาขาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก*

Received : 12 June 2017

Accepted : 29 June 2017

Published online : 6 July 2017

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาและเคมีของหอยแมลงภู่สุกไม่เคลือบ (TCC) เคลือบน้ำมันหอมระเหยไทม์ (TTC) และเคลือบน้ำมันหอมระเหยไทม์ร่วมกับการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศที่แตกต่างกัน 5 สภาวะ ได้แก่ 5% CO_2 : 95% N_2 (TM1), 5% O_2 : 95% N_2 (TM2), 20% CO_2 : 80% N_2 (TM3), 10% CO_2 : 10% O_2 : 80% N_2 (TM4), 10% O_2 : 90% N_2 (TM5) และ 10% CO_2 : 5% O_2 : 85% N_2 (TM6) นาน 30 วัน ที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่า TTC มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และการเสื่อมคุณภาพทางเคมีน้อยกว่า TCC โดย TM3 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำที่สุด ($p\leq0.05$) และในทุกชุดการทดลองตรวจไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรค ส่วนคุณภาพทางเคมี (TVB-N, TMA-N, pH และความชื้น) และการสูญเสียน้ำหนัก มีค่าต่ำกว่าชุดการทดลองอื่น ($p\leq0.05$) (พิจารณาจากความปลอดภัยในการบริโภคอาหารทะเลปรุงสุกต้องมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดค่าไม่เกิน 6.0 log CFU/g) ทำให้ TM3 สามารถเก็บรักษาได้นานถึง 24 วัน ในขณะที่ TM6, TM4, TM1, TTC, TM2, TM5 และ TCC มีอายุการเก็บรักษา 18, 16, 14, 12, 10, 8 และ 4 วัน ตามลำดับ โดยยังคงมี TVB-N ไม่เกิน 25 mg/100 g และ TMA-N ไม่เกิน 10 -15 mg/100 g ตามอายุการเก็บรักษาดังกล่าว

คำสำคัญ : หอยแมลงภู่สุก การบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ น้ำมันหอมระเหยไทม์ คุณภาพทางจุลชีววิทยา คุณภาพทางเคมี

* **Corresponding author. E-mail :** sawamin@buu.ac.th

Abstract

This research was studied on the microbial and chemical qualities of cooked green mussel (TCC) with thyme essential oil coating (TTC), thyme essential oil coating and packed under different modified atmosphere packaging. As following; 5% CO_2 : 95% N_2 (TM1), 5% O_2 : 95% N_2 (TM2), 20% CO_2 : 80% N_2 (TM3), 10% CO_2 : 10% O_2 : 80% N_2 (TM4), 10% O_2 : 90% N_2 (TM5) and 10% CO_2 : 5% O_2 : 85% N_2 (TM6). All samples were stored at 4 ± 1 ^{O}C for 30 days. The results showed TTC had lower the total plate count and deterioration of chemical quality than TCC. TM3 (samples with thyme essential oil coating and packed under different modified atmosphere packaging) was the lowest total plate counts when was compared with other treatments ($p\leq0.05$). The pathogenic bacteria were not found for all samples throughout the storage periods. While the chemical quality (TVB-N, TMA-N, pH and moisture content) and weight loss of TM3 was lower than other treatments could be stored for up to 24 days. While the TM6, TM4, TM1, TTC, TM2, TM5 and TCC shelf life 18, 16, 14, 12, 10, 8 and 4 days respectively. (Consider the safety of consuming cooked seafood by total plate count less than 6.0 log CFU/ g) Also TVB-N and TMA-N value of all treatments were less than 25 and 10 -15 mg/100 g, respectively by their shelf life.

Keywords : cooked green mussel, modified atmosphere packaging, thyme essential oil, microbial quality, chemical quality

บทนำ

หอยแมลงภู่ (*Perna viridis* (Linnaeus, 1758)) เป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจของประเทศไทยที่มีปริมาณผลผลิตต่อปีนับตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 – 2557 สูงกว่าแสนตันต่อปี เฉพาะในปี 2557 สามารถสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรสูงถึง 864.5 ล้านบาท (Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2014) นอกจากประโยชน์ในเชิงเศรษฐกิจแล้วหอยแมลงภู่ยังมีคุณค่าทางโภชนาการอันได้แก่ โปรตีน โอเมก้า-3 แร่ธาตุ และวิตามินต่าง ๆ เป็นต้น (National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards, 2007) แต่เนื่องจากหอยแมลงภู่เป็นสัตว์น้ำที่มีการกินอาหารแบบ Filter feeding จึงปนเปื้อนโดยจุลินทรีย์จากแหล่งน้ำได้ง่ายทำให้เกิดการเน่าเสียที่รวดเร็วจากกระบวนการเสื่อมสภาพโดยเอนไซม์ที่มีอยู่ในสัตว์น้ำเอง จุลินทรีย์ และปฏิกิริยาออกซิเดชัน หากบริโภคหอยแมลงภู่ที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เช่น โคลิฟอร์มแบคทีเรีย *Vibrio parahaemolyticus* และ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น ซึ่งทำให้เกิดภาวะอาหารเป็นพิษได้ ในปัจจุบันได้มีการแปรรูปหอยแมลงภู่อย่างง่ายด้วยการนำไปต้มสุกเพื่อเป็นการลดปัญหาการเสื่อมคุณภาพและเพิ่มมูลค่า ซึ่งในหอยแมลงภู่ต้มสุกมีอายุการเก็บรักษา 4 วัน (Teerawut *et al*., 2016) เท่านั้น

มีงานวิจัยจำนวนหนึ่งนำสารถนอมอาหารจากธรรมชาติ เช่น น้ำมันหอมระเหยไทม์ที่มีสารกลุ่มฟีนอลิกช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Chutintrasri, 2011) มาใช้ในการยับยั้งการเสื่อมคุณภาพของสัตว์น้ำหลายชนิด เช่น เนื้อปลาเรนโบว์เทราท์ (*Oncorhynchus mykiss*) (Jonki *et al*., 2014) และเนื้อปลาลิ่น (*Hypophthalmichthys molitrix*) (Abdollahzadeh *et al*., 2014) รวมทั้งเนื้อหอยแมลงภู่สุก (Teerawut *et al*., 2016)

อย่างไรก็ตามหากมีการใช้น้ำมันหอมระเหยไทม์ในความเข้มข้นมากจนเกินไปจะทำให้มีกลิ่นที่รุนแรง และมีความเผ็ดเนื่องจากไทมอล (Mastromatteo *et al*., 2010) เพื่อเป็นการลดข้อจำกัดนี้จึงมีงานวิจัยหลายชิ้นนำไปใช้ร่วมกับการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ (Modified atmosphere packaging : MAP) ซึ่งเป็นการควบคุมสภาพอากาศภายในของบรรจุภัณฑ์ให้แตงต่างไปจากสภาพอากาศปกติ โดยควบคุมอัตราส่วนก๊าซภายในบรรจุภัณฑ์จะช่วยชะลอหรือป้องกันกระบวนการเสื่อมคุณภาพของสัตว์น้ำ ได้แก่ หอยกะพงเมดิเตอร์เรเนียน (*Mytilus galloprovincialis*) (Caglak *et al*., 2008) ปลากะพงขาว (*Dicentrarchus labrax*) (Kostaki *et al*., 2009) และกุ้ง (*Palaemon serratus*) (Mastromatteo *et al*., 2010) อย่างไรก็ตามยังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาการใช้น้ำมันหอมระเหยไทม์ร่วมกับการบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศในการยืดอายุการเก็บรักษาหอยแมลงภู่สุก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาถึงการชะลอการเสื่อมคุณภาพทางจุลชีววิทยาและเคมีของเนื้อหอยแมลงภู่สุกเคลือบน้ำมันหอมระเหยไทม์ที่บรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศที่มีอัตราส่วนก๊าซแตกต่างกัน

วิธีดำเนินการ

1. การเตรียมวัตถุดิบ : หอยแมลงภู่ที่ซื้อมาจากฟาร์มเลี้ยงหอยแมลงภู่ (วรลักษณ์ฟาร์ม) บริเวณตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี โดยเลือกหอยแมลงภู่ที่มีขนาดจำนวน 25 – 28 ตัว/ กิโลกรัม แล้วบรรจุใส่กล่องโฟมอัตราส่วนน้ำแข็ง 3 ส่วนต่อหอยแมลงภู่ 2 ส่วน ขนส่งมาที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ภายใน 30 นาที จากนั้นนำมาล้างเปลือกให้สะอาดด้วยน้ำประปาแล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ 5 นาที แกะเอาแต่เนื้อหอยแล้วเก็บรักษาเนื้อหอยแมลงภู่สุกในถุงพลาสติกแล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส โดยระยะเวลาในการเก็บเนื้อหอยก่อนบรรจุในถุงพลาสติกไม่เกิน 10 นาที เพื่อรอนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

2. การเตรียมสารละลายสำหรับเคลือบ

2.1 สารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5% : นำผงโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (S. Science. Ltd., Thailand) 5 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

2.2 สารละลายแคลเซียมอัลจิเนต 0.002% : นำผงแคลเซียมอัลจิเนต powder (S. Science. Ltd., Thailand) 0.02 กรัม แช่ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นาน 30 นาที ต้มบน Hotplate stirrer ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 20 นาที จนได้สารละลายใสเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

2.3 สารละลายน้ำมันหอมระเหยไทม์ 0.5% ในสารละลายแคลเซียมอัลจิเนต 0.002% : นำน้ำมันหอมระเหยไทม์ (S. Science. Ltd., Thailand) 5 มิลลิลิตร และ Tween 80 (S. Science. Ltd., Thailand) 1.25 มิลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Magnetic stirrer ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที จนได้สารละลายสีขาวขุ่นเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นปรับปริมาตรด้วยสารละลายแคลเซียมอัลจิเนต (ข้อ 2.2.2) จนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร (Boonma *et al*., 2016)

3. การเตรียมชุดการทดลอง : นำเนื้อหอยแมลงภู่สุก (ข้อ 2.1) มาแช่ในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 0.5% อัตราส่วนเนื้อหอย 500 กรัม ต่อสารละลาย 1,000 มิลลิลิตร นาน 10 นาที ทิ้งให้สะเด็ดน้ำนาน 1 นาที จากนั้นเคลือบด้วยสารละลายน้ำมันหอมระเหยไทม์ 0.5% ในสารละลายแคลเซียมอัลจิเนต 0.002% (ข้อ 2.2.3) อัตราส่วนเนื้อหอย 500 กรัม ต่อสารละลาย 1,000 มิลลิลิตร นาน 5 วินาที พักให้สะเด็ดน้ำ 1 นาที (Boonma *et al*., 2016) จากนั้นนำเนื้อหอยแมลงภู่สุกไปบรรจุในถุงพลาสติก Polyvinylidene Chloride Polyamide and Cast Polypropylene

(PVDC/ PA/ CPP) (17 - 20 ตัวต่อถุง) โดยเนื้อหอยแมลงภู่ต้มสุกเพียงอย่างเดียว (TCC) เคลือบด้วยสารละลายน้ำมันหอมระเหยไทม์ (TTC) และเคลือบด้วยสารละลายน้ำมันหอมระเหยไทม์ร่วมกับปรับสภาพบรรยากาศในถุงให้มีอัตราส่วนก๊าซแตกต่างกัน ได้แก่ 5% CO_2 : 95% N_2 (TM1), 5% O_2 : 95% N_2 (TM2), 20% CO_2 : 80% N_2 (TM3), 10% CO_2 : 10% O_2 : 80% N_2 (TM4), 10% O_2 : 90% N_2 (TM5), 10% CO_2 : 5% O_2 : 85% N_2 (TM6) แล้วเก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 4±1 องศา-เซลเซียส

4. การวิเคราะห์คุณภาพ

4.1 คุณภาพทางจุลชีววิทยา : ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (TPC) ตามวิธีของ (AOAC, 1995) และตรวจนับจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Escherichia coli*/ และโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ตามวิธีของ (AOAC, 1994) โดยวิเคราะห์ทุก 2 วัน 3 ซ้ำ เป็นเวลา 30 วัน ส่วนการวิเคราะห์ *Clostridium perfringens* และ *Vibrio parahaemolyticus* ใช้วิธีของ (APHA, 1992) *Salmonella* spp. *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* วิเคราะห์โดยวิธีของ (FDA, 2001) ซึ่งวิเคราะห์เฉพาะในวันที่ 0 ของการทดลอง จำนวน 3 ซ้ำ

4.2 คุณภาพทางเคมี : วิเคราะห์ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total volatile base nitrogen : TVB-N) และปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA-N) ใช้วิธีของ (Hasegawa, 1987) ส่วนค่าความเป็นกรดด่าง และปริมาณความชื้นโดยธี (AOAC, 1995) คุณภาพทางเคมีทุกค่าวิเคราะห์ทุก 2 วัน 3 ซ้ำ เป็นเวลา 30 วัน

4.3 การสูญเสียน้ำหนักประเมินจากน้ำหนักตัวอย่างในวันที่ 0 กับวันที่ต้องการวิเคราะห์ โดยมีการแยกเพศของหอย ทำการวิเคราะห์ทุก 2 วัน 3 ซ้ำ เป็นเวลา 30 วัน

5. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ : วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาและเคมี ส่วนการสูญเสียน้ำหนักวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดย Block คือ หอยแมลงภู่ เพื่อลดค่าความคลาดเคลื่อนของปัจจัยในหน่วยทดลองเนื่องจากเป็นการวัดจากน้ำหนักของหอยแมลงภู่แต่ละตัว ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple's Range Test โดยใช้โปรแกรมคำนวณทางสถิติในการประมวลผลเพื่อหาตัวแปรที่มีผลตอบสนองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลชีววิทยา

1.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count; TPC) และจุลินทรีย์ก่อโรค จากตารางที่ 1 พบว่าในวันที่ 0 ของการทดลองมี TPC ระหว่าง 2.60-3.95 log CFU/g และทุกชุดการทดลองมี TPC เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ($p \leq 0.05$) เนื่องจากการต้มสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้บางส่วนเท่านั้น จุลินทรีย์กลุ่ม aerobic bacteria และ anaerobic bacteria บางส่วนที่ยังมีชีวิตที่อยู่จะเริ่มปรับตัวให้เข้ากับสภาวะภายในบรรจุภัณฑ์ และเริ่มสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยส่วนต่าง ๆ ในเนื้อหอยแมลงภู่ให้เล็กลงเพื่อใช้ในการเจริญ ส่งผลให้มีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นจากเดิม สอดคล้องกับ Imran *et al*. (2013) พบว่ากุ้ง (*Litopenaeus vannamei*) แช่เย็นมี TPC เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามหอยแมลงภู่สุกในชุดการทดลอง TTC มีจำนวน TPC น้อยกว่าชุดการทดลอง TCC ($p \leq 0.05$) ประมาณ 2 log CFU/g เพราะสารกลุ่มฟีนอลิกในน้ำมันหอมระเหยไทม์สามารถแทรกผ่านผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้คุณสมบัติของการเป็นเยื่อ

เลือกผ่านเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (Chutintrasri, 2011) จึงสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Alçiçek (2011) พบว่าเนื้อปลาเรนโบว์เทราท์ (*O. mykiss*) รมควันเหลวจากน้ำมันหอมระเหยไทม์ เก็บรักษาด้วยการแช่เย็น มี TPC น้อยกว่าตัวอย่างควบคุม ทำให้เก็บรักษาได้นานถึง 150 วัน

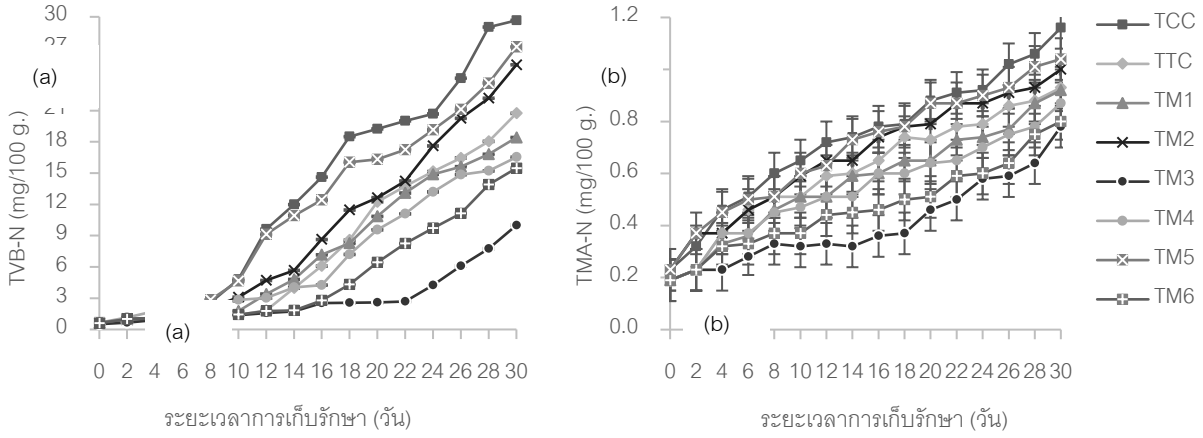
อีกทั้งชุดการทดลอง TM1 และ TM3 ที่ MAP โดยไม่มี O_2 และ TM2 ที่มี O_2 5% ทำให้การเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่ต้องการ O_2 (aerobic bacteria) ช้ากว่าชุดการทดลอง TM4, TM5 และ TM6 ที่มี O_2 5-10% สอดคล้องกับ Teerawut *et al*. (2014) พบว่าหอยนางรม (*Saccostrea cucullata*) สดแกะเปลือกที่ MAP 60% CO_2 : 20% N_2 : 20% O_2 มี TPC น้อยกว่าสภาพบรรยากาศปกติและมีอายุการเก็บรักษา 12 วัน ซึ่งชุดการทดลอง TM3 มี TPC น้อยกว่าชุดการทดลองอื่น ($p\leq0.05$) มีค่าไม่เกิน 6.0 log CFU/g ซึ่งเป็นค่ามาตรฐานความปลอดภัยในการบริโภคอาหารทะเล (Department of Medical Science, 2010) ในวันที่ 24 ของการเก็บรักษาส่วน TM6, TM4, TM1, TTC, TM2, TM5 และ TCC มี TPC ไม่เกินในวันที่ 18, 16, 14, 12, 10, 8 และ 4 ของการเก็บรักษา รวมทั้งตัวอย่างในทุกชุดการทดลองตรวจไม่พบ *E. coli* และโคลิฟอร์มแบคทีเรีย, *C. perfringens*, *V. parahaemolyticus*, *Salmonella* spp., *B. cereus* และ *S. aureus* ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา

2. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี

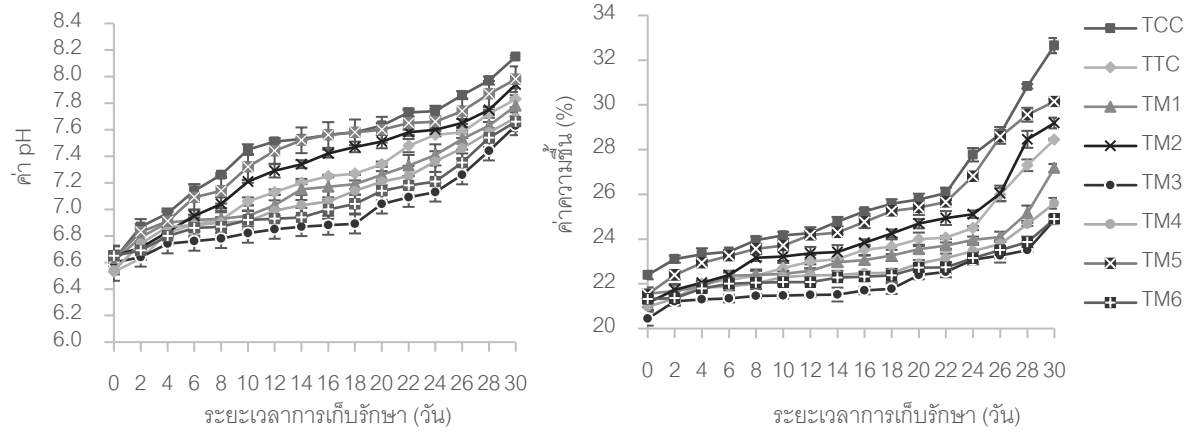
2.1 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) จากภาพที่ 1 (a) และปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA-N) จากภาพที่ 1 (b) พบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษามี TVB-N 0.51-0.65 mg/100 g. และ TMA-N 0.19-0.23 mg/100 g. เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น TVB-N และ TMA-N ทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p\leq0.05$) โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาชุดการทดลอง TCC มี TVB-N มากที่สุด 29.66 mg/100 g. รองลงมาได้แก่ TM5, TM2, TTC, TM1, TM4, TM6 และ TM3 มี TVB-N น้อยที่สุด 10 mg/100 g. เช่นเดียวกันในวันสุดท้ายของการทดลอง TCC มี TMA-N มากที่สุด 1.16 mg/100 g. และ TM3 มี TMA-N น้อยที่สุด 0.78 mg/100 g. เนื่องจากมีการเคลือบด้วยน้ำมันหอมระเหยไทม์ซึ่งทำให้จุลินทรีย์เกิดการเสื่อมสภาพจากการที่สารในกลุ่มฟีนอลิกเข้าไปทำลายเยื่อเลือกผ่านผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ และการ MAP ที่ 20% CO_2: 80% N_2 ซึ่งมีปริมาณ CO_2 สูงที่สุดและไม่มี O_2 จึงช่วยชะลอการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม aerobic bacteria ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบไนโตรเจน โดยเอนไซม์ยูรีเอส เปลี่ยนแอมโมเนียในเนื้อหอยแมลงภู่ให้เป็น TVB-N และจุลินทรีย์สร้างเอนไซม์ Trimrthylamine oxidase ส่งผลให้ TMAO เปลี่ยนเป็น TMA-N สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kykkidou *et al*. (2009) พบว่า ปลากระโทงดาบ (*Xiphias gladius*) สดเคลือบด้วยน้ำมันหอมระเหยไทม์ร่วมกับ MAP มี TVB-N และ TMA-N น้อยกว่าตัวอย่างควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามสัตว์น้ำที่ยังคงมีคุณภาพดีนั้นไม่ควรมี TVB-N มากกว่า 25 mg/100 g (Waiprib, 2008) และ TMA-N เกิน 10-15 mg/100 g (Teerawut *et al*., 2016) ซึ่ง TCC มีปริมาณ TVB-N เกิน 25 mg/100 g ในวันที่ 28 ส่วนชุดการทดลองอื่นมีปริมาณ TVB-N ไม่เกินค่ามาตรฐาน ในวันที่ 28 ของการเก็บรักษา และทุกชุดการทดลองมีปริมาณ TMA-N ไม่เกินค่ามาตรฐานตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 30 วัน

2.2 ค่า pH จากภาพที่ 2 (a) พบว่าในวันที่ 0 ของการทดลองมีค่า pH ระหว่าง 6.53-6.65 และทุกชุดการทดลองมีค่า pH เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ($p\leq0.05$) โดย TM3 มีค่า pH น้อยที่สุด 7.63 รองลงมาคือ TM6, TM4, TM1, TTC, TM2, TM5 และ TCC ตามลำดับ ซึ่งการที่ค่า pH เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากการที่สารกลุ่มฟีนอลิกของน้ำมันหอมระเหยไทม์เริ่มหมดไป และจุลินทรีย์ที่ทนต่อสภาวะบรรยากาศที่มีอัตราส่วนก๊าซแตกต่างจากบรรยากาศปกติ

ในบรรจุภัณฑ์ได้เริ่มเจริญได้ดีขึ้น สารประกอบไนโตรเจนต่าง ๆ เริ่มมีการสลายตัว ส่งผลให้มีค่า pH เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับ Chamanara *et al*. (2012) พบว่า เนื้อปลาเรนโบว์เทราท์ (*O. mykiss*) เคลือบด้วยน้ำมันหอมระเหยไทม์และไคโตซานมีค่า pH เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน และ TM3 มีการเก็บรักษาที่ดีที่สุดเพราะมีอัตราส่วนของ CO_2 สูงที่สุด N_2 น้อยที่สุด และไม่มี O_2 ช่วยชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ ส่งผลให้มีค่า pH น้อยที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mastromatteo *et al*. (2010) พบว่า กุ้ง (*Palaemon serratus*) เคลือบด้วยน้ำมันหอมะเหยไทม์และ MAP มี pH น้อยกว่าตัวอย่างควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา



ภาพที่ 1 ปริมาณ TVB-N (a) และ TMA-N (b) ของหอยแมลงภู่สุกไม่เคลือบ/ เคลือบด้วยน้ำมันหอมระเหยไทม์ภายใต้การบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศที่แตกต่างกัน



ภาพที่ 2 pH (a) และปริมาณความชื้น (b) ของหอยแมลงภู่สุกไม่เคลือบ/ เคลือบด้วยน้ำมันหอมระเหยไทม์ภายใต้การบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศที่แตกต่างกัน

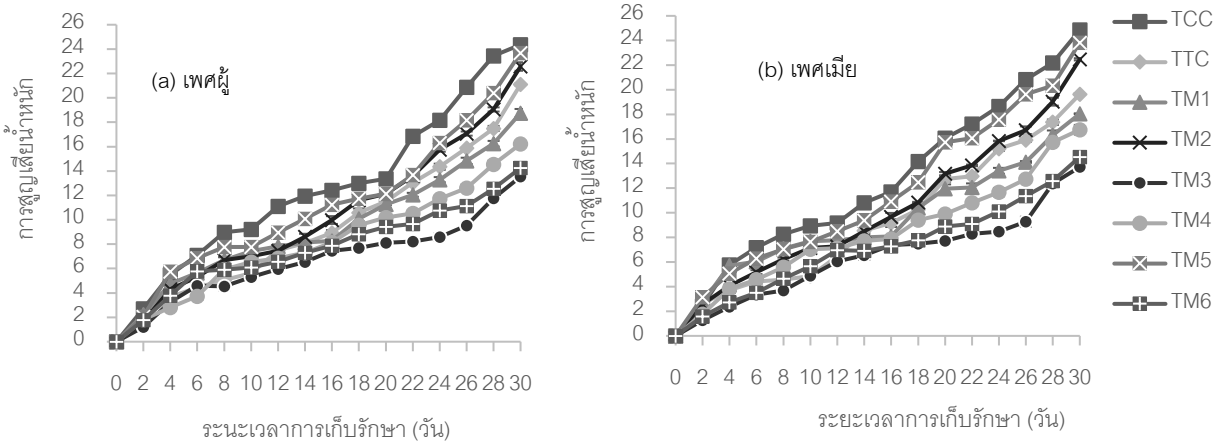
ตารางที่ 1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของหอยแมลงภู่สุกไม่เคลือบ/ เคลือบด้วยน้ำมันหอมระเหยไทม์ภายใต้การบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/g) ± SD							
	ชุดการทดลอง							
	TCC	TTC	TM1	TM2	TM3	TM4	TM5	TM6
0	$3.95_{a}^{E} \pm 0.05$	$2.85_{a}^{BC} \pm 0.06$	$2.77_{a}^{B} \pm 0.07$	$2.96_{a}^{C} \pm 0.02$	$2.6_{a}^{A} \pm 0.07$	$2.94_{a}^{C} \pm 0.03$	$3.18_{a}^{D} \pm 0.03$	$2.81_{a}^{B} \pm 0.03$
2	$4.53_{b}^{E} \pm 0.02$	$3.28_{b}^{B} \pm 0.02$	$2.98_{b}^{B} \pm 0.08$	$3.24_{b}^{D} \pm 0.01$	$2.84_{b}^{A} \pm 0.05$	$3.10_{b}^{C} \pm 0.04$	$3.27_{b}^{D} \pm 0.04$	$2.97_{b}^{B} \pm 0.01$
4	$4.92_{c}^{F} \pm 0.04$	$3.97_{c}^{D} \pm 0.01$	$3.32_{c}^{B} \pm 0.01$	$3.26_{b}^{A} \pm 0.01$	$3.25_{c}^{A} \pm 0.03$	$3.48_{c}^{C} \pm 0.04$	$4.21_{c}^{E} \pm 0.02$	$3.23_{c}^{A} \pm 0.02$
6	$6.06_{d}^{G} \pm 0.01$	$4.36_{d}^{E} \pm 0.01$	$3.64_{d}^{B} \pm 0.01$	$3.67_{c}^{C} \pm 0.01$	$3.46_{d}^{A} \pm 0.02$	$4.16_{d}^{D} \pm 0.01$	$4.89_{d}^{F} \pm 0.01$	$4.15_{d}^{D} \pm 0.01$
8	$7.08_{e}^{F} \pm 0.01$	$4.50_{e}^{C} \pm 0.02$	$4.39_{e}^{B} \pm 0.01$	$4.11_{d}^{A} \pm 0.01$	$4.10_{e}^{A} \pm 0.01$	$4.07_{e}^{A} \pm 0.01$	$5.22_{e}^{E} \pm 0.01$	$4.77_{e}^{F} \pm 0.04$
10	$7.57_{f}^{H} \pm 0.03$	$5.14_{f}^{E} \pm 0.01$	$4.76_{f}^{B} \pm 0.03$	$5.28_{e}^{F} \pm 0.01$	$4.14_{ef}^{A} \pm 0.01$	$4.97_{f}^{D} \pm 0.01$	$6.2_{f}^{G} \pm 0.02$	$4.83_{e}^{C} \pm 0.01$
12	$7.99_{g}^{F} \pm 0.03$	$5.96_{g}^{D} \pm 0.01$	$5.17_{g}^{C} \pm 0.01$	$6.00_{f}^{D} \pm 0.02$	$4.17_{fg}^{A} \pm 0.01$	$5.02_{fg}^{B} \pm 0.05$	$7.25_{g}^{E} \pm 0.01$	$5.13_{f}^{C} \pm 0.02$
14	$8.13_{h}^{H} \pm 0.02$	$6.16_{h}^{E} \pm 0.01$	$5.98_{h}^{D} \pm 0.02$	$6.85_{g}^{F} \pm 0.07$	$4.22_{g}^{A} \pm 0.01$	$5.7_{g}^{B} \pm 0.01$	$7.66_{h}^{G} \pm 0.04$	$5.23_{g}^{C} \pm 0.02$
16	$8.98_{i}^{H} \pm 0.01$	$7.00_{i}^{E} \pm 0.02$	$6.31_{i}^{D} \pm 0.03$	$7.16_{h}^{F} \pm 0.01$	$4.67_{h}^{A} \pm 0.05$	$5.89_{h}^{C} \pm 0.01$	$7.95_{i}^{G} \pm 0.02$	$5.26_{g}^{B} \pm 0.02$
18	$9.30_{j}^{H} \pm 0.01$	$7.08_{j}^{E} \pm 0.02$	$7.03_{j}^{D} \pm 0.01$	$8.18_{i}^{F} \pm 0.02$	$5.20_{i}^{A} \pm 0.03$	$6.21_{i}^{C} \pm 0.01$	$8.58_{j}^{G} \pm 0.02$	$5.95_{h}^{B} \pm 0.04$
20	$9.47_{k}^{H} \pm 0.05$	$7.67_{k}^{D} \pm 0.06$	$8.00_{k}^{E} \pm 0.04$	$8.30_{j}^{F} \pm 0.08$	$4.95_{j}^{A} \pm 0.02$	$6.84_{j}^{C} \pm 0.03$	$8.67_{k}^{G} \pm 0.06$	$6.14_{i}^{B} \pm 0.03$
22	$9.51_{k}^{H} \pm 0.03$	$8.26_{l}^{E} \pm 0.01$	$8.11_{l}^{D} \pm 0.03$	$8.61_{k}^{F} \pm 0.02$	$5.28_{j}^{A} \pm 0.02$	$7.14_{k}^{C} \pm 0.01$	$9.18_{l}^{G} \pm 0.01$	$6.2_{i}^{B} \pm 0.02$
24	$9.65_{l}^{F} \pm 0.03$	$8.28_{l}^{D} \pm 0.02$	$8.19_{m}^{D} \pm 0.01$	$8.83_{l}^{E} \pm 0.01$	$5.94_{k}^{A} \pm 0.02$	$7.35_{l}^{C} \pm 0.02$	$9.85_{m}^{G} \pm 0.06$	$6.67_{j}^{B} \pm 0.06$
26	$10.04_{m}^{H} \pm 0.02$	$8.78_{m}^{E} \pm 0.08$	$8.61_{n}^{D} \pm 0.02$	$9.03_{m}^{F} \pm 0.02$	$6.04_{l}^{A} \pm 0.03$	$7.79_{m}^{C} \pm 0.04$	$10.00_{n}^{G} \pm 0.02$	$7.27_{k}^{B} \pm 0.01$
28	$10.32_{n}^{H} \pm 0.01$	$9.12_{n}^{E} \pm 0.03$	$8.96_{o}^{D} \pm 0.01$	$9.47_{n}^{F} \pm 0.08$	$6.62_{m}^{A} \pm 0.08$	$8.23_{n}^{C} \pm 0.03$	$10.19_{o}^{G} \pm 0.01$	$8.04_{l}^{B} \pm 0.03$
30	$11.94^{H} \pm 0.03$	$9.98_{o}^{E} \pm 0.02$	$9.23_{p}^{D} \pm 0.01$	$10.36_{o}^{F} \pm 0.01$	$8.30_{n}^{A} \pm 0.02$	$8.96_{o}^{C} \pm 0.05$	$11.14_{p}^{G} \pm 0.03$	$8.45_{m}^{B} \pm 0.05$

a, b, c, …ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวคอลัมน์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A, B, C, …ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

2.3 ปริมาณความชื้น จากภาพที่ 2 (b) พบว่าในวันที่ 0 ของการทดลองมีปริมาณความชื้น 20.44-22.39% และค่าการสูญเสียน้ำหนักของหอยแมลงภู่เพศผู้ (a) และเพศเมีย (b) จากภาพที่ 3 พบว่า TCC การสูญเสียน้ำหนักมากที่สุด เมื่อเก็บรักษานานขึ้นทุกชุดการทดลองมีปริมาณความชื้นและการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p \leq 0.05$) โดย TM3 มีปริมาณความชื้นน้อยที่สุด ($p \leq 0.05$) ถัดมาคือ TM6, TM4, TM1, TTC, TM2, TM5 และ TCC มีค่ามากที่สุด เช่นเดียวกับการสูญเสียน้ำหนักที่ให้ผลการทดลองสอดคล้องกันกับปริมาณความชื้น เนื่องจากการเคลือบน้ำมันหอมระเหยไทม์ภายใต้การ MAP ที่ 20% CO_2: 80% N_2 ช่วยชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี จุลินทรีย์สร้างเอนไซม์ไปย่อยสลายโครงสร้างโปรตีนได้น้อย ส่งผลให้โปรตีนในเนื้อหอยแมลงภู่ยังคงสภาพการอุ้มน้ำเอาไว้ได้ สอดคล้องกับ Nobile *et al.* (2009) พบว่า เบอร์เกอร์ปลาทู (*Scomber japonicus*) และปลาเฮค (*Merluccius merluccius*) เคลือบน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด (ไทม์, สารสกัดจากมะนาวและสารสกัดจากเมล็ดส้มโอ) และ MAP มีปริมาณความชื้นน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมตลอดระยะเวลาการทดลอง



ภาพที่ 3 การสูญเสียน้ำหนักของหอยแมลงภู่สุกไม่เคลือบ/ เคลือบด้วยน้ำมันหอมระเหยไทม์ภายใต้การบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศที่แตกต่างกัน (เพศผู้ (a)และเพศเมีย (b))

สรุปผลการวิจัย

การนำเนื้อหอยแมลงภู่สุกเคลือบน้ำมันหอมระเหยไทม์มาบรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศ TM1, TM3, TM4 และ TM6 ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลชีววิทยา และเคมี ได้ดีกว่า TM2, TM5 และการเคลือบน้ำมันหอมระเหยไทม์เพียงอย่างเดียว โดยการปรับสภาพบรรยากาศในบรรจุภัณฑ์มีอัตราส่วนก๊าซที่เหมาะสมในการชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลชีววิทยา คุณภาพทางเคมีและการสูญเสียน้ำหนักของหอยแมลงภู่สุกเคลือบน้ำมันหอมระเหยไทม์ คือ TM3 ที่มีอัตราส่วนก๊าซ 20% CO_2: 80% N_2 สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 24 วัน (จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 6.0 log CFU/g) ขณะที่การเคลือบน้ำมันหอมระเหยไทม์เพียงอย่างเดียวเก็บได้นาน 12 วัน และหอยแมลงภู่สุกเก็บได้เพียง 4 วัน และในทุกชุดการทดลองตรวจไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรค *E. coli* และโคลิฟอร์มแบคทีเรีย, *C. perfringens*, *V. parahaemolyticus*, *Salmonella* spp., *B. cereus* และ *S. aureus* ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา

เอกสารอ้างอิง

AOAC. (1994). AOAC Official Method 991.14 Coliform and *Escherichia coli* count in foods. *J. AOAC*, *74*, 635.

AOAC. (1995). *Official Methods of analysis* (16 th ed.). Association of Official analytical chemist: Arlington Virginia.

APHA. (1992). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (3 rd ed.). American Public Health Association: Washington DC.

Abdollahzadeh, E., Rezaei, M. and Hosseini, H. (2014). Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: the role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food Control, 35*, 177 – 183.

Alçiçek, Z. (2011). The effects of thyme (*Thymus vulgaris L*.) oil concentration on liquid-smoked vacuum-packed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*, 1792) fillets during chilled storage. *Food Chemistry*, *128*, 683 – 688.

Boonma, N., Teerawut, S. and Kwan-on, P. (2016). *Extending shelf life of cooked green mussel with alginate-based thyme essential oil coating: Physical and sensorial quality.* Paper presented at the meeting of International Fisheries Symposium - IFS2016, October-November 2017, Vietnam, Can Tho University Publishing House.

Caglak, E., Cakli, S. and Kilnic, B. (2008). Microbiological, chemical and sensory assessment of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) stored under modified atmosphere packaging. *European Food Research and Technology, 226*, 1293-1299.

Chamanara, V., Shabanpour, B., Gorgin, S. and Khomeiri, M. (2012). An investigation on characteristics of rainbow trout coated using chitosan assisted with thyme essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules, 50*, 540-544.

Chutintrasri, B. (2011). *Food flavor technology.* (2nd ed.). Bangkok: Ramkhamhaeng University Press. (in Thai)

Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives. (2014). *Statics of marine shellfish culture survey 2014*. Fishery Statistics Analysis and Research Group Information Technology Center No. 2/2016. (in Thai)

Department of Medical Science. (2010). *The criteria of microbiological quality for food and food containers*. Retrieved January 15, 2016, from http://www.dmsc.moph.go.th/dmscnew/news_detail.php?cid=2&id=1646. (in Thai)

FDA. (2001). *Bacteriological analytical manual*. Retrieved January 13, 2015, from http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm.

Hasegawa, H. (1987). Laboratory manual on analytical stored at different temperatures. *J. methods and procedures for fish and fish Food Sci*. 55: 1201-1205, 1242; 1990. Marine fisheries research department, Southeast Asian Fisheries Development Center, Singapore.

Imran, A., Chawalit, J. and Somrote, K. (2013). Characterization of quality degradation during chilled shrimp (*Litopenaeus vannamei*) supply chain. *International Food Research Journal, 20*(4), 1833-1842.

Jouki, M., Yazdi, F.T., Mortazavi, S.A., Koocheki, A. and Khazaei, N. (2014). Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets. *International Journal of Food Microbiology, 174*, 88 – 97.

Kykkidou, S., Giatrakou, V., Papavergou, A., Kontominas, M.G. and Savvaidis, I.N. (2009). Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4 °C. *Food Chemistry*, *115*, 169-175.

Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I. N. and Kontominas, M. G. (2009). Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Food Microbiology, 26*, 475-482.

Mastromatteo, M., Danza, A., Conte, A., Muratore, G. and Nobile, M.A.D. (2010). Shelf life of ready to use peeled shrimps as affected by thymol essential oil and modified atmosphere packaging. *International Journal of Food Microbiology, 144*, 250-256.

National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards. (2007). *Green mussel*. Retrieved January 15, 2016, from http://www.acfs.go.th/standard/download/std_sea_mussel.pdf. (in Thai)

Nobile, M.A.D., Corbo, M.R., Sperenza, B., Sinigaglia, M., Conte, A. and Caroprese, M. (2009). Combined effect of MAP and active compounds on fresh blue fish burger. *International Journal Food Microbiology, 135,* 281-287.

Teerawut, S., Kwan-on. P. and Arjpong, R. (2016). Green tea and vitamin C treatment for retarding cooked green mussel quality: an evaluation of chemical and microbiological qualities. *Burapha Science Journal, 21*(2), 1-16. (in Thai)

Teerawut, S., Phimnaen, R. and Muangham, S. (2014). Effect of modified atmosphere packaging on the physical and microbiological properties of shucked fresh oyster. *KKU Science Journal, 42*(3), 551- 560. (in Thai)

Waiprib, Y. (2008). *Effects of packing process on quality, safety, and shelf-life of shucked oyster (Saccostrea cucullate) products sold in area of tumbol Ang-Sila, Chonburi.* Bangkok: National Research Council of Thailand. (in Thai)