

บทที่ 4

ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของน้ำมันมะพร้าวและกรดไขมันที่สกัดจากน้ำมันมะพร้าวที่มีต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหาร แบ่งการทดลองออกเป็น 5 ขั้นตอน คือ การสกัดน้ำมันมะพร้าวและกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าว การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันมะพร้าวและกรดไขมันที่สกัดจากน้ำมันมะพร้าวในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค การทดสอบประสิทธิภาพของกรดไขมันที่สกัดจากน้ำมันมะพร้าวในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในเนื้อปลาช่อนแช่แข็งทอดกึ่งสุก การทดสอบทางประสาทสัมผัส และการเอนแคปซูเลชันกรดไขมัน ได้ผลการทดลองดังนี้

1. การสกัดน้ำมันมะพร้าวและกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าว

1.1. การสกัดน้ำมันมะพร้าว โดยใช้เนื้อมะพร้าวที่ผ่านการบดนำมากั้นกะทิด้วยน้ำอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในอัตรา 1 ต่อ 1 จากนั้นนำน้ำกะทิที่ได้ทำการสกัดน้ำมันมะพร้าว 2 วิธี คือ การสกัดด้วยความร้อนและการสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ ซึ่งปริมาณร้อยละของผลผลิต (% Yield) ประมาณ 17.00 ± 1.32 % และ 15.66 ± 0.62 % ตามลำดับ ซึ่งผลการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำมันมะพร้าวและผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันมะพร้าว แสดงดังตารางที่ 4-1 และ 4-2 ตามลำดับ ซึ่งจากการวิเคราะห์คุณภาพของน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนมีค่าความหนืด, ความชื้นและสารที่ระเหยได้ที่ 105 องศาเซลเซียส, Peroxide Value, Acid Value และ Iodine Value มากกว่าน้ำมันมะพร้าวที่สกัดโดยวิธีทางชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในขณะที่ความหนาแน่นสัมพัทธ์, Saponification Number และ TBA Number ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน พบว่า องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันมะพร้าวทั้งสองชนิด โดยส่วนมากเป็นชนิดเดียวกัน โดยเป็นกรดไขมันอิ่มตัวที่มีคาร์บอนอะตอมตั้งแต่ 6 ถึง 18 อะตอม ได้แก่ Caproic Acid (C6), Caprylic Acid (C8), Capric Acid (C10), Lauric Acid (C12), Myristic Acid (C14), Palmitic Acid (C16) และ Stearic Acid (C18) มากกว่า 74 % ของกรดไขมันทั้งหมดเป็นกรดไขมันขนาดกลางและมีปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 4-1 ผลการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำมันมะพร้าว

สมบัติทางเคมีและกายภาพ	วิธีสกัดน้ำมันมะพร้าว	
	ความร้อน	ทางชีวภาพ
ความหนืด (Viscosity (cST))	52.54±0.82 ^a	50.94±0.50 ^b
ความหนาแน่นสัมพัทธ์ ^{ns} (Kg/L)	0.90± 0.01	0.91±0.00
ความชื้นและสารที่ระเหยได้ที่ 105 °C (%)	0.020±0.00 ^a	0.152±0.00 ^b
Peroxide Value (mEq/Kg.)	1.83±0.29 ^a	0.95±0.04 ^b
Acid Value (mg KOH/g oil)	1.03±0.08 ^a	0.38±0.00 ^b
Iodine Value (g Iodine/100 g Oil)	10.46±0.23 ^a	8.01±0.09 ^b
Saponification Number (mg KOH/g Oil) ^{ns}	255.76±0.74	259.96±2.36
TBA Number (mg malonaldehyde / kg sample) ^{ns}	0.029±0.003	0.022±0.002

หมายเหตุ *ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

a,b คือ อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4-2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันมะพร้าว

องค์ประกอบของกรดไขมัน (AOAC 2005)	ตัวอย่าง (g/100g)		
	HP	BIO	APCC Standard
Saturated Fat	92.68	93.87	-
Trans Fat	ND	ND	-
Unsaturated Fat	7.33	6.13	-
Monounsaturated Fat	6.20	5.36	-
Polyunsaturated Fat	1.13	0.77	-
Caproic Acid	0.40	0.37	0.40 - 0.60
Caprylic Acid	6.39	6.59	5.00 - 10.00
Capric Acid	5.32	5.64	4.50 - 8.00
Lauric Acid	49.20	50.01	43.00 - 53.00
Myristic Acid	19.18	19.26	16.00 - 21.00
Palmitic Acid	9.13	8.74	7.50 - 10.00
Stearic Acid	3.05	3.26	2.00 - 4.00
Oleic Acid	6.02	5.36	5.00 - 10.00
Linoleic Acid	1.13	0.77	1.00 - 2.50

หมายเหตุ *ND : Not Detected

APCC: Asian and Pacific Coconut Community.

HP : น้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน

BIO : น้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ

1.2. การเตรียมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าว คัดแปลงจากวิธีการของ ปิยะวรรณ กฤษเศรษฐสกุล (2548) โดยน้ำมันมะพร้าวจะทำปฏิกิริยา Saponification กับ NaOH ทำให้กรดไขมันแยกตัวออกจากโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ จากนั้นเติม HCl เพื่อให้ได้กรดไขมันอิสระ ซึ่งในการเตรียมกรดไขมันอิสระจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนและวิธีทางชีวภาพ ได้ปริมาณผลผลิต (% Yield) $81.37 \pm 1.01\%$ และ $80.68 \pm 0.41\%$ ตามลำดับ จากนั้นนำกรดไขมันอิสระที่เตรียมได้มาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน ซึ่งผลการทดลอง ดังตารางที่ 4-3 พบว่ากรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวทั้งสองชนิดมีปริมาณใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 4-3 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในกรดไขมันเตรียมจากน้ำมันมะพร้าว

องค์ประกอบของกรดไขมัน (AOAC 2005)	ตัวอย่าง (g/100g)	
	FHP	FBIO
Saturated Fat	92.47	92.64
Trans Fat	ND	ND
Unsaturated Fat	7.53	7.36
Monounsaturated Fat	6.19	6.21
Polyunsaturated Fat	1.34	1.15
Caproic Acid	0.18	0.48
Caprylic Acid	5.98	7.02
Capric Acid	5.86	5.50
Lauric Acid	48.29	47.47
Myristic Acid	19.38	19.45
Palmitic Acid	9.46	9.53
Stearic Acid	3.16	3.19
Oleic Acid	6.19	6.21
Linoleic Acid	1.34	1.15

หมายเหตุ *ND : Not Detected

FHP : กรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน

FBIO : กรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ

2. การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันมะพร้าวและกรดไขมันที่เตรียมจากน้ำมันมะพร้าวในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค

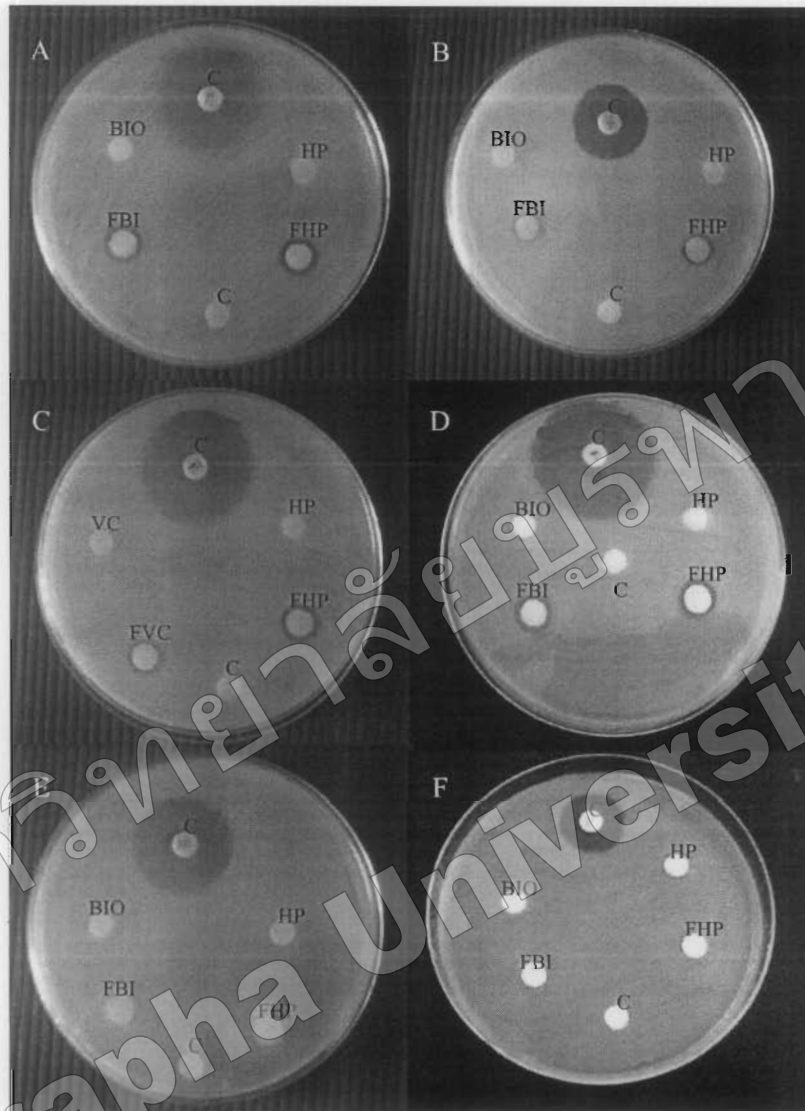
2.1. ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันมะพร้าว และกรดไขมันที่เตรียมจากน้ำมันมะพร้าว ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ด้วยวิธี disc diffusion

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารทดสอบ 4 ชนิด ได้แก่ น้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน น้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ กรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน และโดยวิธีทางชีวภาพ ซึ่งแต่ละชนิดมีความเข้มข้น 50 %v/v ปริมาตร 20 ไมโครลิตร/ดิสก์ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด ให้ผลดังตารางที่ 4-4 ซึ่งพบว่าน้ำมันมะพร้าวไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทดสอบทุกชนิด แต่กรดไขมันสกัดจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนและโดยวิธีทางชีวภาพ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้บางชนิด ซึ่งได้แก่ *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus* และ *V. parahaemolyticus* โดยมีขนาด Inhibition Zone อยู่ระหว่าง 7 ถึง 10 มิลลิเมตร ซึ่งขนาดของ Inhibition Zone ของกรดไขมันสกัดจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนและโดยวิธีทางชีวภาพ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามพบว่ากรดไขมันสกัดจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนและโดยวิธีทางชีวภาพ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. Typhimurium* และ *E. coli* ได้ (ภาพที่ 4-1) นอกจากนี้ยังพบว่า ดิสก์ที่บรรจุ DMSO ปริมาตร 20 ไมโครลิตร/ดิสก์ ซึ่งเป็นตัวทำละลายไม่เกิด Inhibition Zone

ตารางที่ 4-4 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition Zone ของน้ำมันมะพร้าวและกรดไขมัน
เตรียมจากน้ำมันมะพร้าว ความเข้มข้น 50 %v/v ปริมาตร 20 ไมโครลิตร/ดิสก์ ต่อ
การเจริญของเชื้อทดสอบจำนวน 6 ชนิด

แบคทีเรีย	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone (มิลลิเมตร)($\pm$ SD)					
	FHP	FBIO	HP	BIO	DMSO	Tetracycline
<i>S. aureus</i>	10.00 $\pm$ 0.0	10.00 $\pm$ 0.0	NZ	NZ	NZ	26.73 $\pm$ 0.40
<i>S. Typhimurium</i>	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	25.00 $\pm$ 0.00
<i>E. coli</i>	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	20.10 $\pm$ 0.10
<i>B. subtilis</i>	7.00 $\pm$ 0.01	7.00 $\pm$ 0.01	NZ	NZ	NZ	20.01 $\pm$ 0.17
<i>B. cereus</i>	9.99 $\pm$ 0.17	10.01 $\pm$ 0.0	NZ	NZ	NZ	30.01 $\pm$ 0.38
<i>V. parahaemolyticus</i>	9.99 $\pm$ 0.01	9.99 $\pm$ 0.23	NZ	NZ	NZ	29.99 $\pm$ 0.17

หมายเหตุ FHP คือ กรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน
 FBIO คือ กรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ
 HP คือ น้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน
 BIO คือ น้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ
 DMSO คือ DMSO ปริมาตร 20 ไมโครลิตร/ดิสก์
 Tetracycline คือ Tetracycline ปริมาณ 30 ไมโครกรัม/ดิสก์
 NZ คือ ไม่เกิด Inhibition Zone



ภาพที่ 4-1 ลักษณะ Inhibition Zone ของกรดไขมัน (ความเข้มข้น 50 %v/v ปริมาตร 20

ไมโครลิตร/ดิสก์) ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* (A), *B. subtilis* (B), *B. cereus* (C), *V. parahaemolyticus* (D), *S. Typhimurium* (E) และ *E. coli* (F) ด้วยวิธี Disc Diffusion

โดยที่	C+	คือ Tetracycline 30 ไมโครกรัม/ดิสก์
	C-	คือ DMSO ปริมาตร 20 ไมโครลิตร/ดิสก์
	BIO	คือ น้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ
	HP	คือ น้ำมันมะพร้าวสกัดโดยความร้อน
	FBIQ	คือ กรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ
	FHP	คือ กรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยความร้อน

2.2. หาค่า MIC ของกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนและกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ ต่อจุลินทรีย์ทดสอบ โดยวิธี Agar Dilution

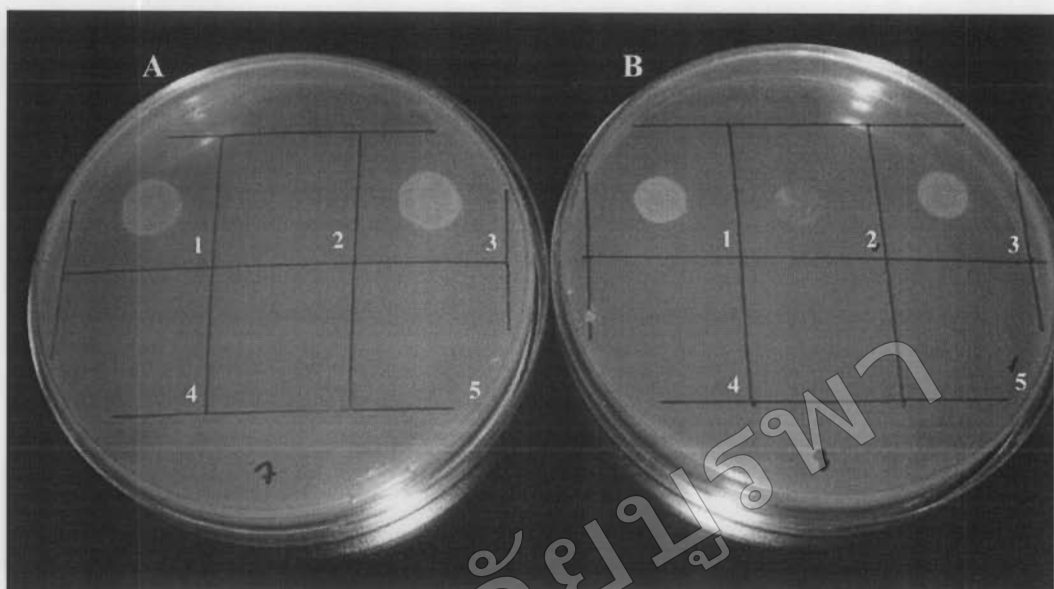
จากการทดลองนำกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนและโดยวิธีทางชีวภาพ มาหาความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ต่อแบคทีเรียจำนวน 6 ชนิด ให้ผลดังตารางที่ 4-5 ซึ่งพบว่าค่า MIC ของกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนต่อ *S. aureus*, *B. subtilis* และ *V. parahaemolyticus* เท่ากับ 0.039 %v/v ส่วนค่า MIC ต่อ *B. cereus* เท่ากับ 0.019 %v/v ส่วนกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพมีค่า MIC ต่อ *S. aureus* และ *V. parahaemolyticus* เท่ากับ 0.039 %v/v และต่อ *B. subtilis* และ *B. cereus* เท่ากับ 0.019 %v/v (ภาพที่ 4-2 ถึงภาพที่ 4-7) นอกจากนี้ยังพบว่าค่า MIC ของกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนและโดยวิธีทางชีวภาพต่อ *S. Typhimurium* และ *E. coli* มีค่ามากกว่า 3 %v/v ค่า MIC ของ Tetracycline ต่อ *S. aureus* ATCC 25923 น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อทดสอบทุกชนิดเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม DMSO (ชุดควบคุม) (ภาพที่ 4-6 ถึงภาพที่ 4-7) จะเห็นได้ว่ากรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนและวิธีทางชีวภาพมีค่า MIC ต่อเชื้อทดสอบส่วนใหญ่ไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4-5 ค่า MIC ของกรดไขมันเตรียมจากน้ำมันมะพร้าวต่อการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ

แบคทีเรีย	MIC (% (v/v))	
	FHP	FBIO
<i>S. aureus</i>	0.039	0.039
<i>S. Typhimurium</i>	>3	>3
<i>E. coli</i>	>3	>3
<i>B. subtilis</i>	0.039	0.019
<i>B. cereus</i>	0.019	0.019
<i>V. parahaemolyticus</i>	0.039	0.039

หมายเหตุ FHP คือ กรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน

FBIO คือ กรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ

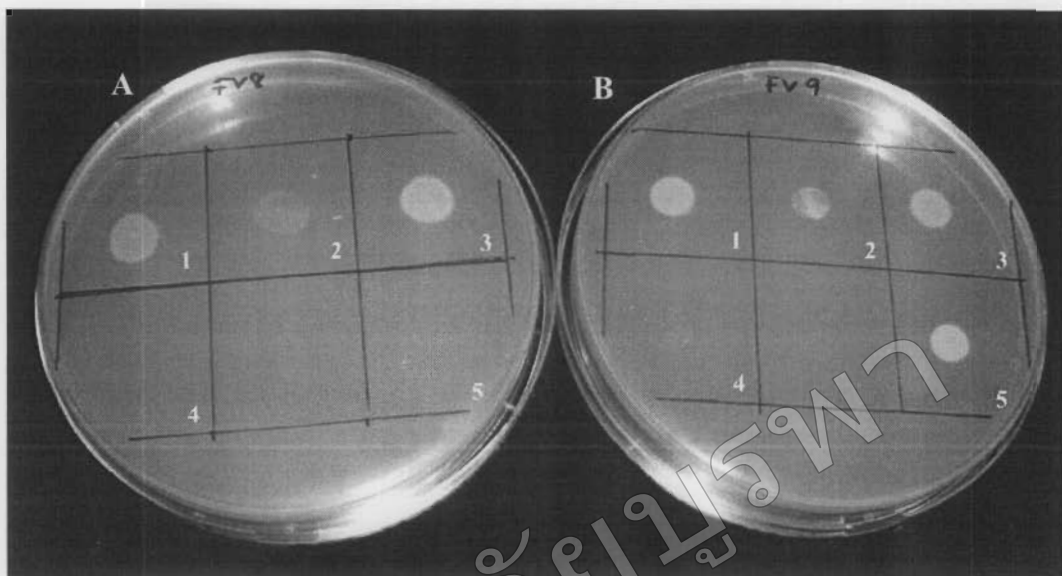


ภาพที่ 4-2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน
ความเข้มข้น 0.039 %v/v (A) และ 0.019 %v/v (B) ต่อเชื้อทดสอบด้วยวิธี Agar

Dilution

โดยที่

- | | | |
|---|-----|-----------------------|
| 1 | คือ | <i>E. coli</i> |
| 2 | คือ | <i>S. aureus</i> |
| 3 | คือ | <i>S. Typhimurium</i> |
| 4 | คือ | <i>B. cereus</i> |
| 5 | คือ | <i>B. subtilis</i> |

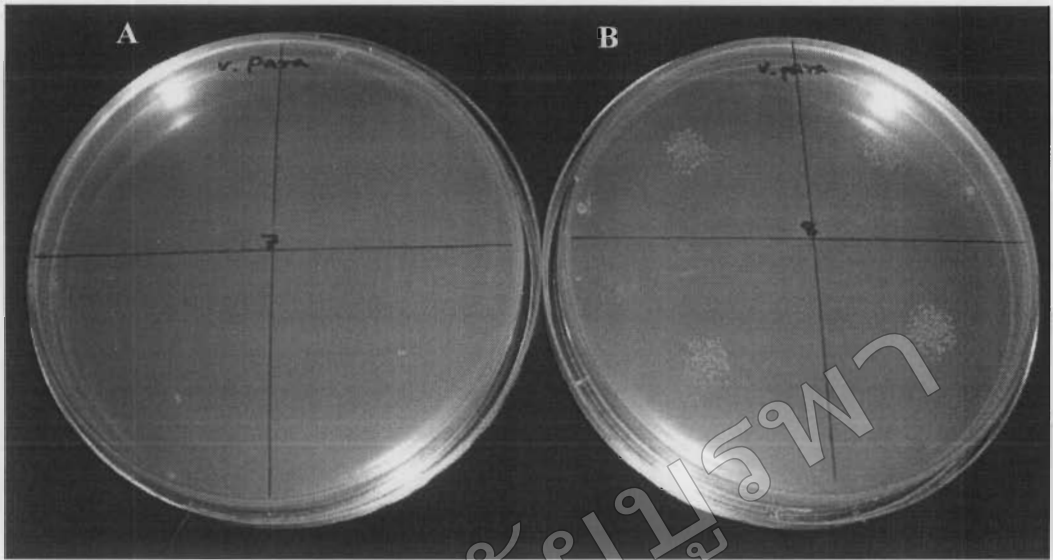


ภาพที่ 4-3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทาง

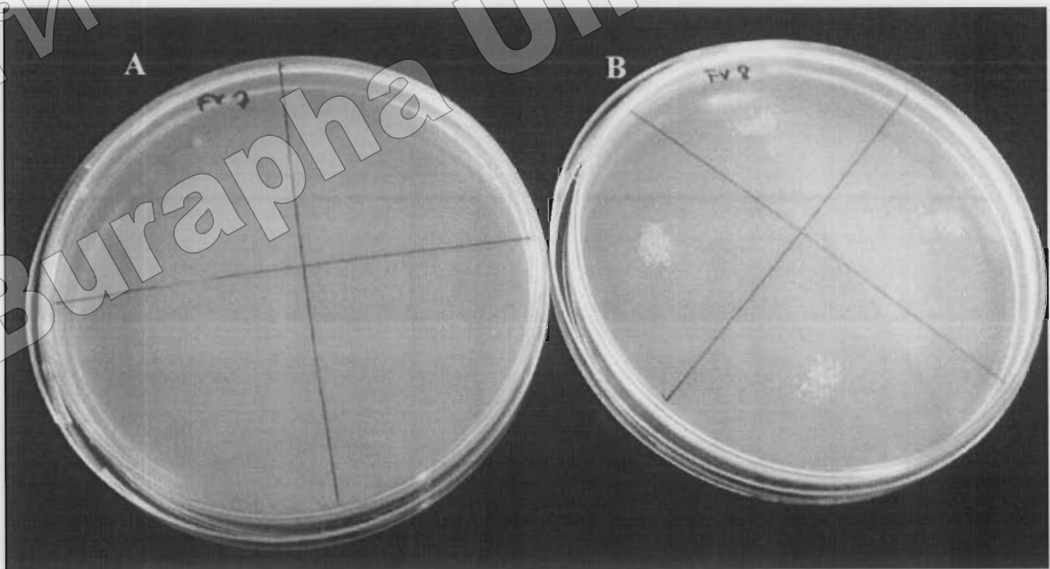
ชีวภาพ ความเข้มข้น 0.019 %v/v (A) และ 0.010 %v/v (B) ต่อเชื้อทดสอบด้วยวิธี

Agar Dilution

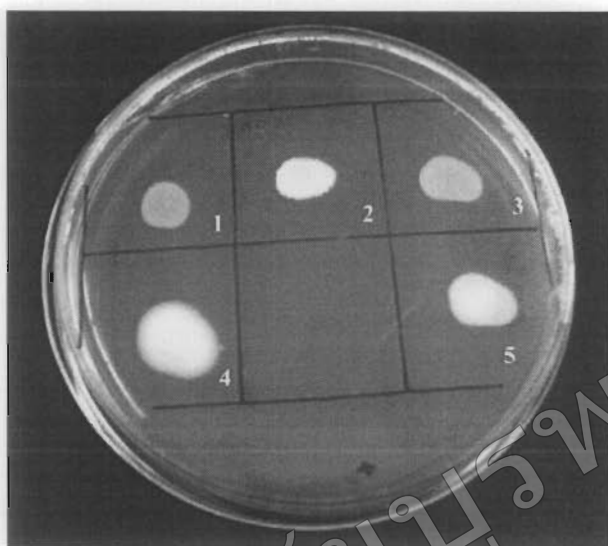
- | | | | |
|--------|---|-----|-----------------------|
| โดยที่ | 1 | คือ | <i>E. coli</i> |
| | 2 | คือ | <i>S. aureus</i> |
| | 3 | คือ | <i>S. Typhimurium</i> |
| | 4 | คือ | <i>B. cereus</i> |
| | 5 | คือ | <i>B. subtilis</i> |



ภาพที่ 4-4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน ความเข้มข้น 0.039 %v/v (A) และ 0.019 %v/v (B) ด้วยวิธี Agar Dilution ต่อ *V. parahaemolyticus*

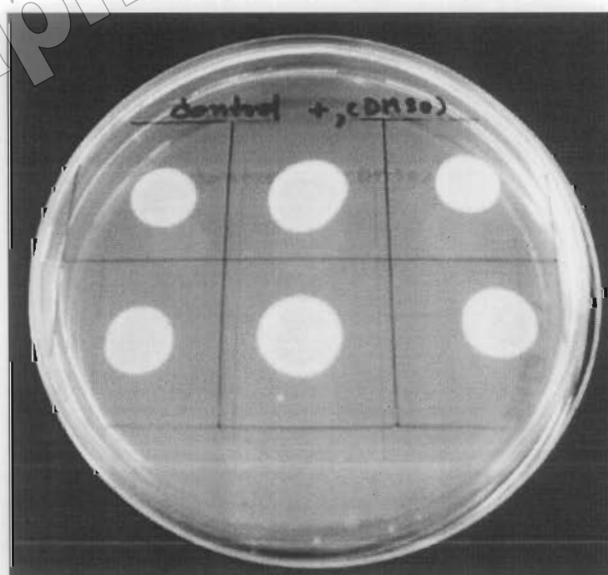


ภาพที่ 4-5 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพความเข้มข้น 0.039 %v/v (A) และ 0.019 %v/v (B) ด้วยวิธี Agar Dilution ต่อ *V. parahaemolyticus*



ภาพที่ 4-6 ผลของ DMSO ต่อการเจริญของเชืทดสอบด้วยวิธี Agar Dilution

- โดยที่
- | | | |
|---|-----|-----------------------|
| 1 | คือ | <i>E. coli</i> |
| 2 | คือ | <i>S. aureus</i> |
| 3 | คือ | <i>S. Typhimurium</i> |
| 4 | คือ | <i>B. cereus</i> |
| 5 | คือ | <i>B. subtilis</i> |



ภาพที่ 4-7 ผลของ DMSO ต่อการเจริญของ *V. parahaemolyticus* ด้วยวิธี Agar Dilution

3. การทดสอบประสิทธิภาพของกรดไขมันที่เตรียมจากน้ำมันมะพร้าวในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในเนื้อปลาซุบเป็งทอดกึ่งสุก

จากการทดสอบประสิทธิภาพของกรดไขมันที่เตรียมจากน้ำมันมะพร้าวในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่ใส่บนเนื้อปลาซุบเป็งทอดกึ่งสุก โดยทำการเติมแบคทีเรียทดสอบแต่ละชนิดลงไป แล้วจึงเติมกรดไขมันลงไป ในผลิตภัณฑ์เนื้อปลาซุบเป็งทอดกึ่งสุก ให้ความเข้มข้นสุดท้าย 0.39 %v/w (10 เท่าของค่า MIC) และ 0.78 % v/w (20 เท่าของค่า MIC) จากนั้นนำตัวอย่างไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 28 วัน และทำการตรวจนับเชื้อ ในวันที่ 0, 1, 2, 3, 4, 7, 14, 21 และ 28 ให้ผลดังตารางที่ 4-6 ถึง 4-9 และ ภาพที่ 4-18 ถึง 4-21 และพบว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียทดสอบและ ไม่มีการเติมกรดไขมันลงบนเนื้อปลาซุบเป็งทอดกึ่งสุก ตรวจไม่พบเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

เมื่อทำการตรวจนับ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์เนื้อปลาซุบเป็งทอดกึ่งสุกที่เติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนและวิธีทางชีวภาพ ที่ระดับความเข้มข้น 0.39 %v/w และ 0.78 %v/w ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 28 วัน (ตารางที่ 4-6 และ ภาพที่ 4-8) พบว่า ปริมาณของ *S. aureus* ในตัวอย่างที่ไม่เติมกรดไขมัน (ชุดควบคุม) และตัวอย่างที่เติมกรดไขมัน ที่ระยะเวลาเท่ากัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบ ชนิดและความเข้มข้นของกรดไขมัน พบว่าปริมาณ *S. aureus* ในตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

จากการตรวจนับ *B. subtilis* ในผลิตภัณฑ์เนื้อปลาซุบเป็งทอดกึ่งสุก (ตารางที่ 4-7 และ ภาพที่ 4-9) พบว่า ปริมาณของ *B. subtilis* ในตัวอย่างที่เติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนและวิธีทางชีวภาพ ที่ระดับความเข้มข้น 0.39 %v/w และ 0.78 %v/w มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับปริมาณของ *B. subtilis* ในชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บตลอด 28 วัน เมื่อพิจารณาถึงชนิดและความเข้มข้นของกรดไขมันพบว่า ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากันกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *B. subtilis* ได้มากกว่ากรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ และกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวชนิดเดียวกันที่ความเข้มข้น 0.78 %v/w จะสามารถลดปริมาณ *B. subtilis* ได้มากกว่ากรดไขมันที่มีความเข้มข้น 0.39 %v/w โดยปริมาณของ *B. subtilis* ในตัวอย่างที่เติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน 0.78 %v/w ต่ำกว่าตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ตลอดระยะเวลาที่เก็บ เมื่อครบระยะการเก็บ 28 วัน ลดปริมาณเชื้อลงประมาณ 2.5 log cfu/กรัม

เมื่อทำการตรวจนับ *B. cereus* ในผลิตภัณฑ์เนื้อปลาหุบแช่แข็งทอดถึงสุก ที่ระยะเวลาต่างๆ (ตารางที่ 4-8 และ ภาพที่ 4-10) พบว่าปริมาณ *B. cereus* ในตัวอย่างที่เติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนและวิธีทางชีวภาพ ที่ระดับความเข้มข้น 0.39 %v/w และ 0.78 %v/w มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับปริมาณ *B. cereus* ในตัวอย่างชุดควบคุม เมื่อพิจารณาชนิดและความเข้มข้นของกรดไขมันพบว่ากรดไขมันสกัดจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนและวิธีทางชีวภาพ ที่ระดับความเข้มข้นที่ 0.38 %v/w และ 0.78 %v/w โดยส่วนใหญ่ปริมาณของ *B. cereus* ในตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

จากการตรวจนับ *V. parahaemolyticus* ในผลิตภัณฑ์เนื้อปลาหุบแช่แข็งทอดถึงสุก ตลอดระยะเวลาการเก็บ 28 วัน (ตารางที่ 4-9 และ ภาพที่ 4-11) พบว่าปริมาณ *V. parahaemolyticus* ในผลิตภัณฑ์เนื้อปลาหุบแช่แข็งทอดถึงสุกที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนและโดยวิธีทางชีวภาพ ที่ระดับความเข้มข้น 0.39 %v/w และ 0.78 %v/w มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับปริมาณ *V. parahaemolyticus* ในชุดควบคุม เมื่อเปรียบเทียบชนิดและความเข้มข้นของกรดไขมัน ที่ระยะเวลาดังกล่าว พบว่ากรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนส่วนมากลดปริมาณ *V. parahaemolyticus* ได้มากกว่ากรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ และเมื่อความเข้มข้นของกรดไขมันสูงขึ้น ปริมาณ *V. parahaemolyticus* ในตัวอย่างจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเข้มข้นของกรดไขมันแต่ละชนิด 0.39 %v/w และ 0.78 %v/w ปริมาณของเชื้อจะลดลงเหลือน้อยกว่า 10 cfu/กรัม ในวันที่ 4 และ 3 ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมมีปริมาณ *V. parahaemolyticus* น้อยกว่า 10 cfu/กรัม ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลการทดสอบในขั้นตอนนี้พบว่า กรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนที่ระดับความเข้มข้น 0.78 %v/w มีแนวโน้มในการลดปริมาณแบคทีเรียทดสอบได้ดีที่สุด เนื่องจากสามารถลด *B. subtilis* และ *V. parahaemolyticus* ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งสามารถลดจำนวน *B. subtilis* ที่ระยะเวลาเก็บรักษาวันที่ 28 ได้ ประมาณ 2.5 log cfu/กรัม และลด *V. parahaemolyticus* ที่ระยะเวลาเก็บรักษาวันที่ 3 ได้ ประมาณ 3.3 log cfu/กรัม อย่างไรก็ตามกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน 0.78 %v/w สามารถลดปริมาณของ *S. aureus* และ *B. cereus* ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ และความเข้มข้น 0.39 %v/w ซึ่งลดปริมาณเชื้อจากชุดควบคุมได้ประมาณ 1 log cfu/กรัม และ 0.5 log cfu/กรัม ตามลำดับ ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าตัวอย่างที่เติมกรดไขมันจากน้ำมัน

มะพร้าวสกัดด้วยความร้อนสามารถลดเชื้อบางชนิดได้มากกว่ากรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพและ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดไขมันแต่ละชนิดพบว่าสามารถลดเชื้อบางชนิดได้ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองในหลอดทดลอง

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ตารางที่ 4-6 ปริมาณ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์ปลาซุบเป็งกึ่งสุก ที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าว

วัน	ปริมาณ <i>S. aureus</i> ในผลิตภัณฑ์ปลาซุบเป็งกึ่งสุก (log cfu/กรัม $\pm$ SD)				
	Control	FBIO	FBIO	FHP	FHP
		0.39 %w/v	0.78 %w/v	0.39 %w/v	0.78 %w/v
0 ^{ns}	5.38 $\pm$ 0.13 ^A	5.38 $\pm$ 0.13 ^A	5.38 $\pm$ 0.13 ^A	5.38 $\pm$ 0.13 ^A	5.38 $\pm$ 0.13 ^{A, B}
1	5.45 $\pm$ 0.15 ^{a, A}	4.32 $\pm$ 0.64 ^{b, B}	4.16 $\pm$ 0.69 ^{b, B}	4.15 $\pm$ 0.53 ^{b, B}	4.01 $\pm$ 0.55 ^{b, B}
2	5.41 $\pm$ 0.12 ^{a, A}	4.83 $\pm$ 0.48 ^{b, AB}	3.86 $\pm$ 0.87 ^{b, B}	4.19 $\pm$ 0.38 ^{b, B}	4.11 $\pm$ 0.71 ^{b, B}
3	5.42 $\pm$ 0.13 ^{a, A}	4.78 $\pm$ 0.13 ^{b, AB}	3.67 $\pm$ 0.6 ^{b, B}	3.97 $\pm$ 0.91 ^{b, B}	3.68 $\pm$ 0.75 ^{b, B}
4	5.45 $\pm$ 0.19 ^{a, A}	4.55 $\pm$ 0.09 ^{ab, B}	3.88 $\pm$ 0.77 ^{ab, B}	4.38 $\pm$ 0.48 ^{ab, B}	3.30 $\pm$ 0.65 ^{b, B}
7	5.23 $\pm$ 0.10 ^{a, AB}	4.33 $\pm$ 0.45 ^{b, B}	3.85 $\pm$ 0.73 ^{b, B}	4.20 $\pm$ 0.50 ^{b, B}	3.85 $\pm$ 0.35 ^{b, B}
14	5.27 $\pm$ 0.16 ^{a, AB}	4.64 $\pm$ 0.33 ^{ab, B}	4.19 $\pm$ 0.64 ^{b, B}	4.22 $\pm$ 0.41 ^{b, B}	4.03 $\pm$ 0.35 ^{b, B}
21	5.14 $\pm$ 0.24 ^{a, AB}	4.60 $\pm$ 0.12 ^{ab, B}	3.86 $\pm$ 0.55 ^{c, B}	4.50 $\pm$ 0.10 ^{bd, B}	3.97 $\pm$ 0.31 ^{de, B}
28	4.78 $\pm$ 0.72 ^{a, B}	4.54 $\pm$ 0.35 ^{ab, B}	4.10 $\pm$ 0.21 ^{ab, B}	4.15 $\pm$ 0.36 ^{ab, B}	3.80 $\pm$ 0.35 ^{b, B}

หมายเหตุ ผลการทดลองได้จากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

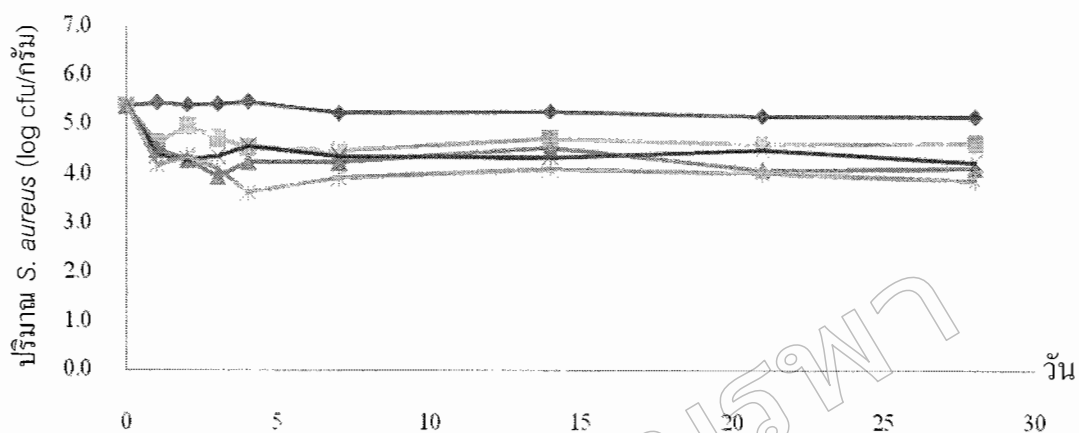
a, b, c,... คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในแนวนอน

A, B, C,... คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในแนวตั้ง

Control คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างไม่มีการเติมกรดไขมัน

FBIO คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน

FHP คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ



ภาพที่ 4-8 ปริมาณ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์ปลาซูปเปอร์แข็งสุก ที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าว

โดยที่



คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างไม่มีการเติมกรดไขมัน



คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนความเข้มข้น 0.39 %v/w



คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนความเข้มข้น 0.78 %v/w



คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพความเข้มข้น 0.39 %v/w



คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพความเข้มข้น 0.78 %v/w

ตารางที่ 4-7 ปริมาณ *B. subtilis* ในผลิตภัณฑ์ปลาซบแป็งกิ่งสุก ที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าว

วัน	ปริมาณ <i>B. subtilis</i> ในผลิตภัณฑ์ปลาซบแป็งกิ่งสุก (log cfu/กรัม $\pm$ SD)				
	Control	FBIO	FBIO	FHP	FHP
		0.39 %w/v	0.78 %w/v	0.39 %w/v	0.78 %w/v
0	6.62 $\pm$ 0.00 ^A	6.62 $\pm$ 0.00 ^A	6.62 $\pm$ 0.00 ^A	6.62 $\pm$ 0.00 ^A	6.62 $\pm$ 0.00 ^A
1	5.00 $\pm$ 0.00 ^{a, B}	3.18 $\pm$ 0.06 ^{b, B}	3.35 $\pm$ 0.18 ^{b, B}	2.79 $\pm$ 0.09 ^{c, B}	2.13 $\pm$ 0.06 ^{d, B}
2	4.41 $\pm$ 0.00 ^{a, C}	3.08 $\pm$ 0.11 ^{b, BC}	3.31 $\pm$ 0.09 ^{c, B}	2.84 $\pm$ 0.02 ^{d, B}	1.95 $\pm$ 0.10 ^{e, BC}
3	3.89 $\pm$ 0.00 ^{a, D}	3.24 $\pm$ 0.40 ^{b, B}	3.21 $\pm$ 0.40 ^{b, B}	2.92 $\pm$ 0.09 ^{b, B}	1.90 $\pm$ 0.30 ^{c, BC}
4	3.76 $\pm$ 0.00 ^{a, E}	2.84 $\pm$ 0.16 ^{b, CD}	2.63 $\pm$ 0.10 ^{b, CD}	2.70 $\pm$ 0.30 ^{b, B}	1.73 $\pm$ 0.26 ^{c, CD}
7	3.74 $\pm$ 0.00 ^{a, H}	2.82 $\pm$ 0.07 ^{b, yz}	2.49 $\pm$ 0.14 ^{c, DE}	2.68 $\pm$ 0.14 ^{bc, B}	1.46 $\pm$ 0.15 ^{d, DEF}
14	4.62 $\pm$ 0.00 ^{a, y}	3.18 $\pm$ 0.05 ^{b, x}	2.84 $\pm$ 0.13 ^{c, C}	2.34 $\pm$ 0.36 ^{d, C}	1.59 $\pm$ 0.11 ^{e, DE}
1	4.47 $\pm$ 0.00 ^{a, I}	2.83 $\pm$ 0.15 ^{b, yz}	2.21 $\pm$ 0.15 ^{c, H}	2.26 $\pm$ 0.06 ^{c, C}	1.20 $\pm$ 0.17 ^{d, DE}
28	3.89 $\pm$ 0.00 ^{a, J}	2.66 $\pm$ 0.18 ^{b, z}	2.32 $\pm$ 0.28 ^{c, z}	2.05 $\pm$ 0.08 ^{c, C}	1.36 $\pm$ 0.10 ^{d, F}

หมายเหตุ ผลการทดลองได้จากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

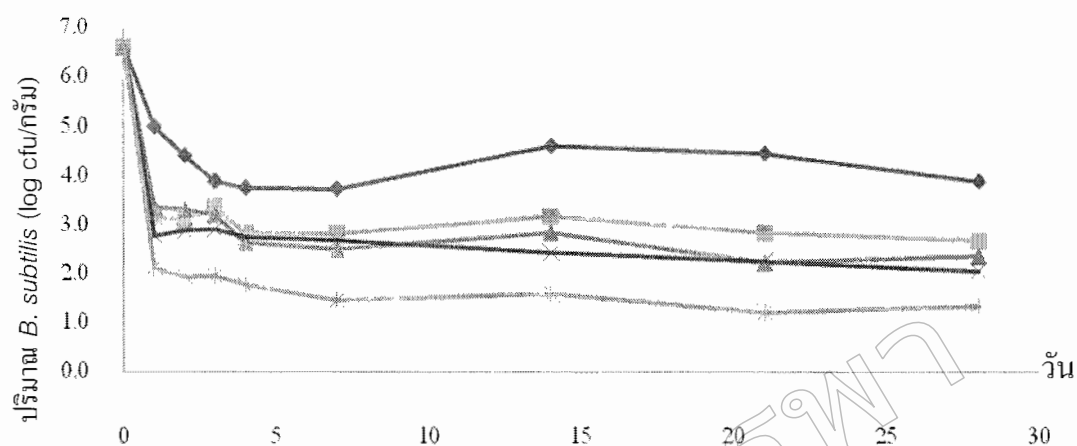
a, b, c,... คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในแนวนอน

A, B, C,... คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในแนวตั้ง

Control คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างไม่มีการเติมกรดไขมัน

FBIO คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน

FHP คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ



ภาพที่ 4-9 ปริมาณ *B. subtilis* ในผลิตภัณฑ์ปลาช่อนแปรรูปที่ผ่านการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าว

โดยที่

- ◆— คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างไม่มีการเติมกรดไขมัน
- คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนความเข้มข้น 0.39 %v/w
- - -△- - - คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนความเข้มข้น 0.78 %v/w
- - -□- - - คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพความเข้มข้น 0.39 %v/w
- - -×- - - คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพความเข้มข้น 0.78 %v/w

ตารางที่ 4-8 ปริมาณ *B. cereus* ในผลิตภัณฑ์ปลาซุบเป็งกึ่งสุก ที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าว

วัน	ปริมาณ <i>B. cereus</i> ในผลิตภัณฑ์ปลาซุบเป็งกึ่งสุก (log cfu/กรัม $\pm$ SD)				
	Control	FBIO	FBIO	FHP	FHP
		0.39 %w/v	0.78 %w/v	0.39 %w/v	0.78 %w/v
0	5.00 $\pm$ 0.00 ^A	5.00 $\pm$ 0.00 ^A	5.00 $\pm$ 0.00 ^A	5.00 $\pm$ 0.00 ^A	5.00 $\pm$ 0.00 ^A
1	4.43 $\pm$ 0.00 ^{a, B}	3.10 $\pm$ 0.05 ^{b, B}	3.31 $\pm$ 0.04 ^{c, BC}	3.56 $\pm$ 0.02 ^{d, B}	3.26 $\pm$ 0.14 ^{c, B}
2	4.08 $\pm$ 0.00 ^{a, C}	3.31 $\pm$ 0.14 ^{b, C}	3.27 $\pm$ 0.11 ^{b, BC}	3.24 $\pm$ 0.03 ^{b, CD}	3.26 $\pm$ 0.11 ^{b, B}
3	4.01 $\pm$ 0.00 ^{a, D}	3.19 $\pm$ 0.19 ^{b, BC}	3.37 $\pm$ 0.11 ^{b, zC}	3.22 $\pm$ 0.10 ^{b, CD}	3.20 $\pm$ 0.16 ^{b, B}
4	4.00 $\pm$ 0.00 ^{a, E}	3.23 $\pm$ 0.12 ^{b, BC}	3.35 $\pm$ 0.04 ^{c, BC}	3.30 $\pm$ 0.01 ^{bc, DE}	3.29 $\pm$ 0.03 ^{bc, B}
7	4.05 $\pm$ 0.00 ^{a, F}	3.28 $\pm$ 0.04 ^{b, BC}	3.29 $\pm$ 0.09 ^{b, BC}	3.38 $\pm$ 0.09 ^{b, E}	3.29 $\pm$ 0.07 ^{b, B}
14	4.04 $\pm$ 0.00 ^{a, G}	3.23 $\pm$ 0.03 ^{b, BC}	3.21 $\pm$ 0.16 ^{b, BC}	3.31 $\pm$ 0.07 ^{b, DE}	3.24 $\pm$ 0.18 ^{b, B}
21	3.79 $\pm$ 0.00 ^{a, H}	3.25 $\pm$ 0.06 ^{b, BC}	3.18 $\pm$ 0.10 ^{b, C}	3.19 $\pm$ 0.07 ^{b, C}	3.15 $\pm$ 0.12 ^{b, B}
28	3.72 $\pm$ 0.00 ^{a, I}	3.23 $\pm$ 0.08 ^{b, BC}	3.25 $\pm$ 0.12 ^{b, BC}	3.18 $\pm$ 0.08 ^{b, x}	3.28 $\pm$ 0.07 ^{b, B}

หมายเหตุ ผลการทดลองได้จากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

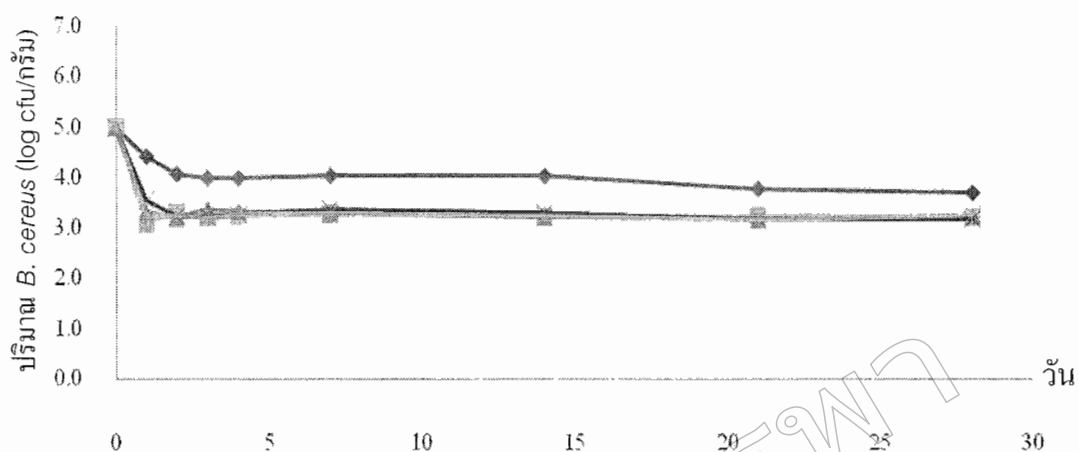
a, b, c,... คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในแนวนอน

A, B, C,... คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในแนวตั้ง

Control คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างไม่มีการเติมกรดไขมัน

FBIO คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน

FHP คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ



ภาพที่ 4-10 ปริมาณ *B. cereus* ในผลิตภัณฑ์ปลาหมึกแปงกิ่งสุก ที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าว

- โดยที่
- ◆— คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่าง ไม่มีการเติมกรดไขมัน
 - คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนความเข้มข้น 0.39 %v/w
 - ▲— คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนความเข้มข้น 0.78 %v/w
 - คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพความเข้มข้น 0.39 %v/w
 - คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพความเข้มข้น 0.78 %v/w

ตารางที่ 4-9 ปริมาณ *V. paraheamolyticus* ในผลิตภัณฑ์ปลาซุบแช่แข็งสุก ที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าว

วัน	ปริมาณ <i>V. paraheamolyticus</i> ในผลิตภัณฑ์ปลาซุบแช่แข็งสุก (log cfu/กรัม $\pm$ SD)				
	Control	FBIO	FBIO	FHP	FHP
		0.39 %w/v	0.78 %w/v	0.39 %w/v	0.78 %w/v
0	5.18 $\pm$ 0.00 ^A	5.18 $\pm$ 0.00 ^A	5.18 $\pm$ 0.00 ^A	5.18 $\pm$ 0.00 ^A	5.18 $\pm$ 0.00 ^A
1	4.34 $\pm$ 0.00 ^{a, B}	3.81 $\pm$ 0.21 ^{b, B}	2.92 $\pm$ 0.11 ^{c, B}	3.62 $\pm$ 0.11 ^{d, B}	2.61 $\pm$ 0.13 ^{e, B}
2	4.18 $\pm$ 0.00 ^{a, C}	3.18 $\pm$ 0.17 ^{b, C}	2.24 $\pm$ 0.28 ^{c, C}	3.42 $\pm$ 0.26 ^{b, C}	2.08 $\pm$ 0.20 ^{c, C}
3	3.30 $\pm$ 0.00 ^{a, D}	1.72 $\pm$ 0.12 ^{b, D}	<1	1.20 $\pm$ 0.17 ^{c, D}	<1
4	2.48 $\pm$ 0.00 ^E	<1	<1	<1	<1
7	<1	<1	<1	<1	<1
14	<1	<1	<1	<1	<1
21	<1	<1	<1	<1	<1
28	<1	<1	<1	<1	<1

หมายเหตุ ผลการทดลองได้จากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

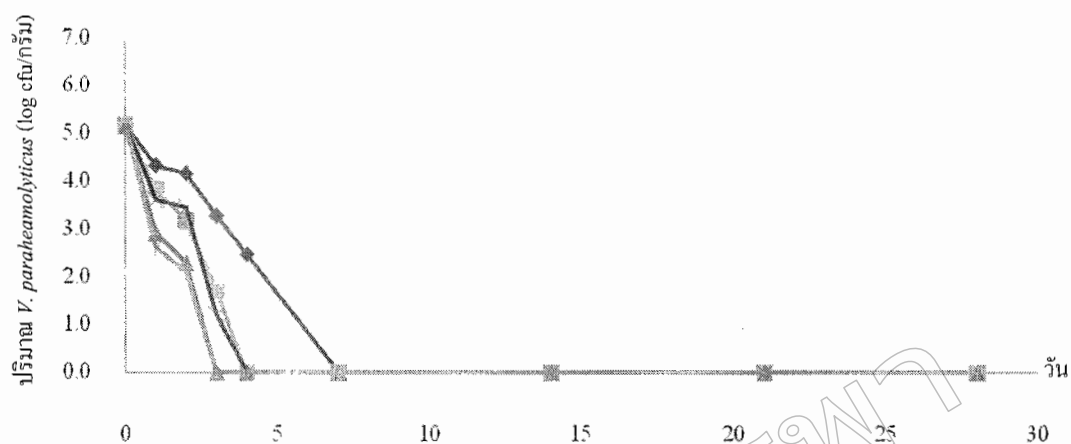
a, b, c,... คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในแนวนอน

A, B, C,... คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในแนวตั้ง

Control คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างไม่มีการเติมกรดไขมัน

FBIO คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน

FHP คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ



ภาพที่ 4-11 ปริมาณ *V. parahaemolyticus* ในผลิตภัณฑ์ปลาช่อนแป็งกึ่งสุก ที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าว

- โดยที่
- ◆— คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างไม่มีการเติมกรดไขมัน
 - คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนความเข้มข้น 0.39 %v/w
 - ▲— คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อนความเข้มข้น 0.78 %v/w
 - คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพความเข้มข้น 0.39 %v/w
 - ◇— คือ ปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยวิธีทางชีวภาพความเข้มข้น 0.78 %v/w

4. การทดสอบทางประสาทสัมผัส

เมื่อทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อปลาซุบเป้งทอดที่เติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน 0.78 %v/w เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์เนื้อปลาซุบเป้งทอดที่ไม่เติมกรดไขมัน (ซุดคววม) เพื่อหาความแตกต่างด้วยวิธี QDA (ไพโรจน์ วิริยาริ, 2545) โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 6 คน ทำการทดสอบคุณลักษณะด้านกลิ่นของอาหาร ได้แก่ กลิ่นเนื้อปลา กลิ่นน้ำมันปลา กลิ่นพริกไทย และ กลิ่นกรดไขมัน ของผลิตภัณฑ์เนื้อปลาซุบเป้งทอดที่เติมกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน ปริมาตร 0.78 % v/w โดยทดสอบที่ระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4, 7, 14, 21 และ 28 วัน พบว่า ผู้ทำการทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างของ กลิ่นเนื้อปลา กลิ่นน้ำมันปลา และกลิ่นพริกไทย ของผลิตภัณฑ์เนื้อปลาซุบเป้งทอดได้ แต่สามารถแยกความแตกต่างของกลิ่นกรดไขมันที่เติมลงไป ในผลิตภัณฑ์ปลาซุบเป้งทอดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ทุกครั้งที่ทำการทดสอบ ซึ่งความแรงของกลิ่นอยู่ในระดับ 7-10 ซึ่งถือว่าอยู่ในระดับแรงถึงแรงมาก และระดับความแรงของกลิ่นจะลดลงเล็กน้อยเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 4-10

จากการประเมินความชอบของผู้บริโภคด้วยวิธี 9 Point Hedonic Scale โดยใช้ผู้ทดสอบ 30 คน ทำการทดสอบคุณลักษณะด้านลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส สี และกลิ่นรสของอาหารและความชอบโดยรวมของอาหาร ที่ระยะเวลา 0 1 2 3 4 7 14 21 และ 28 วัน ผลการประเมินดังตารางที่ 4-11 พบว่า กลุ่มผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบในด้านลักษณะปรากฏ สี และลักษณะเนื้อสัมผัส ของตัวอย่างซุดคววมและตัวอย่างผลิตภัณฑ์ปลาซุบเป้งทอดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในทุกระยะการเก็บ ยกเว้นลักษณะเนื้อสัมผัสในระยะเวลาเก็บ 28 วัน พบว่า ซุดคววมมีคะแนนความชอบด้านกลิ่นโดยรวม รสชาติ และความชอบโดยรวม มากกว่าตัวอย่างผลิตภัณฑ์ปลาซุบเป้งทอดที่เติมกรดไขมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เมื่อทำการวิเคราะห์ค่าไทโอบาร์บิทริก (TBA number) ซึ่งเป็นค่าดัชนีบอกถึงการเกิดกลิ่นหืน (AOAC, 2000) โดยทำการทดสอบที่ระยะเวลา 0 1 2 3 4 7 14 21 และ 28 วันควบคู่กับการทดสอบทางประสาทสัมผัส ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4-12 พบว่า TBA Number ในผลิตภัณฑ์อยู่ในระดับที่ต่ำ และไม่มีความแตกต่างกับซุดคววมมากนัก

ตารางที่ 4-10 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส เพื่อหาความแตกต่างด้วยวิธี QDA

การทดสอบคุณลักษณะ	ระยะเวลาที่ทดสอบ (วัน)	หาค่ารวม (คะแนนระดับกลิ่น± SD)	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ (คะแนนระดับกลิ่น± SD)
กลิ่นเนื้อปลา	0 ^{ns}	1.24±0.05	1.25±0.04
	7 ^{ns}	1.24±0.12	1.23±0.13
	14 ^{ns}	1.21±0.12	1.20±0.12
	21 ^{ns}	1.48±0.63	1.46±0.61
	28 ^{ns}	1.45±0.52	1.42±0.48
กลิ่นน้ำมันปาล์ม	0 ^{ns}	1.31±0.22	1.31±0.2
	7 ^{ns}	1.37±0.49	1.38±0.38
	14 ^{ns}	1.55±0.40	1.55±0.50
	21 ^{ns}	1.18±0.39	1.20±0.35
	28	1.32±0.51	1.40±0.62
กลิ่นพริกไทย	0 ^{ns}	1.22±0.19	1.26±0.21
	7 ^{ns}	1.20±0.12	1.20±0.13
	14 ^{ns}	1.33±0.32	1.34±0.33
	21 ^{ns}	1.25±0.44	1.25±0.45
	28 ^{ns}	1.16±0.42	1.17±0.50
กลิ่นกรดไขมัน	0	0 ^a	8.63±1.13 ^b
	7	0 ^a	8.63±0.98 ^b
	14	0 ^a	8.52±0.65 ^b
	21	0 ^a	8.28±1.11 ^b
	28	0 ^a	8.17±0.42 ^b

หมายเหตุ ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในแนวนอน

a,b คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4-11 ผลประเมินความชอบของผู้บริโภคด้วยวิธี 9 Point Hedonic Scale

คุณลักษณะ	ระยะเวลาที่ทดสอบ (วัน)	ชุดควบคุม (คะแนนความชอบ± SD)	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ (คะแนนความชอบ± SD)
ลักษณะปรากฏ	0 ^{ns}	7.10±1.06	6.97±1.07
	7 ^{ns}	7.10±1.16	6.67±1.32
	14 ^{ns}	6.93±1.23	6.90±0.92
	21 ^{ns}	7.13±1.31	6.63±1.00
	28 ^{ns}	7.03±1.16	6.03±1.45
	0 ^{ns}	7.10±0.99	6.97±0.96
	7 ^{ns}	6.97±1.16	6.60±1.16
	14 ^{ns}	6.77±1.22	7.23±0.86
	21 ^{ns}	7.10±0.99	6.63±1.10
	28 ^{ns}	6.97±1.27	5.93±1.23
กลิ่นโดยรวม	0	6.97±1.13 ^a	5.40±1.79 ^b
	7	6.57±1.25 ^a	4.87±1.28 ^b
	14	6.97±1.10 ^a	5.40±1.61 ^b
	21	7.40±1.11 ^a	5.27±1.84 ^b
	28	6.73±1.11 ^a	4.80±1.58 ^b
รสชาติ	0	7.23±1.01 ^a	5.20±1.67 ^b
	7	7.17±0.99 ^a	5.70±1.47 ^b
	14	7.30±1.06 ^a	6.23±1.45 ^b

ตารางที่ 4-11 (ต่อ)

คุณลักษณะ	ระยะเวลาที่ทดสอบ (วัน)	ชุดควบคุม (คะแนนความชอบ± SD)	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ (คะแนนความชอบ± SD)
รสชาติ	21	7.27±1.31 ^a	5.47±2.06 ^b
	28	6.97±1.56 ^a	5.10±1.67 ^b
ลักษณะเนื้อสัมผัส	0 ^{ns}	7.10±1.06	6.97±1.07
	7 ^{ns}	7.00±1.23	6.53±1.28
	14 ^{ns}	6.70±1.34	6.40±1.28
	21 ^{ns}	7.07±1.34	6.40±1.48
	28	7.20±1.37 ^a	6.47±1.66 ^b
ความชอบโดยรวม	0	7.17±0.87 ^a	5.43±1.45 ^b
	7	7.17±1.02 ^a	5.60±1.40 ^b
	14	7.10±1.03 ^a	6.17±1.21 ^b
	21	7.23±1.023 ^a	5.60±1.38 ^b
	28	7.00±1.11 ^a	5.47±1.43 ^b

หมายเหตุ ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในแนวนอน

a,b คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4-12 ผลการวิเคราะห์ค่าไทโอบาร์บิทริค (TBA Number)

ระยะเวลาที่นำมาทำการ ทดสอบ (วัน)	TBA number	
	ตัวอย่างควบคุม (mg. malonal aldehyde /kg.)	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ (mg. malonal aldehyde /kg.)
0	0.035±0.006 ^a	0.075±0.011 ^b
7 ^{ns}	0.088±0.020	0.049±0.020
14 ^{ns}	0.033±0.021	0.050±0.008
21	0.025±0.002 ^a	0.042±0.007 ^b
28 ^{ns}	0.012±0.004	0.014±0.009

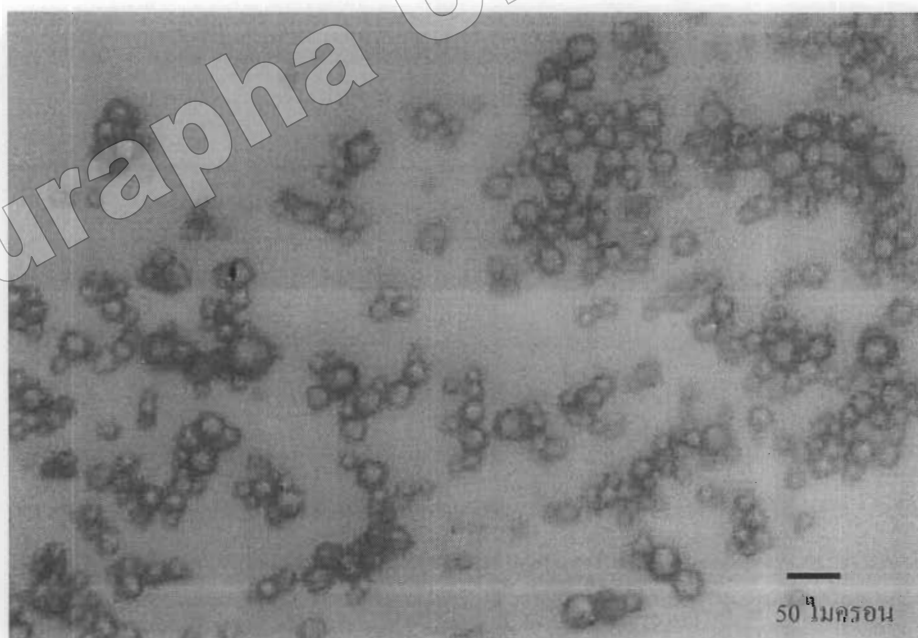
หมายเหตุ ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในแนวนอน
a,b คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมี
นัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

5. การเอนแคปซูเลชันกรดไขมัน

การแปรรูปกรดไขมัน โดยเอนแคปซูเลชัน (Fuchs et al., 2006) ซึ่งเป็นการทำให้เกิดอิมัลชันระหว่างสารยับยั้งจุลินทรีย์และสารเคลือบ โดยสารเคลือบที่ใช้ในการทดลองได้แก่ Lactose 5.88 % และ Sodium Caseinate 5.88 % ต่อปริมาณสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 5.88 % (จะได้สารเคลือบปริมาณต่อปริมาณสารยับยั้งจุลินทรีย์เท่ากับ 2:1) จากนั้นเติมน้ำ 82.36 % ผสมส่วนผสมทั้งหมดให้เป็นอิมัลชันด้วยเครื่อง Polytron (PT 3100, Kinematica) ระดับความเร็วที่ 1.5 เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง ได้สารละลายอิมัลชันดังภาพที่ 4-12 จากนั้นนำสารอิมัลชันมาทำแห้งด้วยเครื่อง Büchi 190 Mini Spray Dryer โดยใช้ความเร็วของป้อนที่ประมาณ 300 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ความเร็วลม 5 Bar อุณหภูมิ Inlet 135 ถึง 145 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ Outlet 83 ถึง 88 องศาเซลเซียส โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้มีค่าการกักเก็บสารยับยั้งจุลินทรีย์ (MEE) เท่ากับ 97.97 % โดยปริมาณกรดไขมันทั้งหมดคิดเป็น 19.794 % ของปริมาณผลิตภัณฑ์กรดไขมันแปรรูป และคิดเป็น 59% ของกรดไขมันตั้งต้นที่เข้าสู่กระบวนการ ได้ผลิตภัณฑ์ดังภาพที่ 4-13



ภาพที่ 4-12 สารละลายอิมัลชันจากสารผสม Lactose 5.88 % และ Sodium Caseinate 5.88 % ต่อกรดไขมัน 5.88 % และ น้ำ 82.36 % ผสมด้วยเครื่อง Polytron (PT 3100, Kinematica) ระดับความเร็วที่ 1500 rpm เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง ถ่ายภาพด้วย Light Microscope (Olympus BX60) ที่กำลังขยาย 20 เท่า

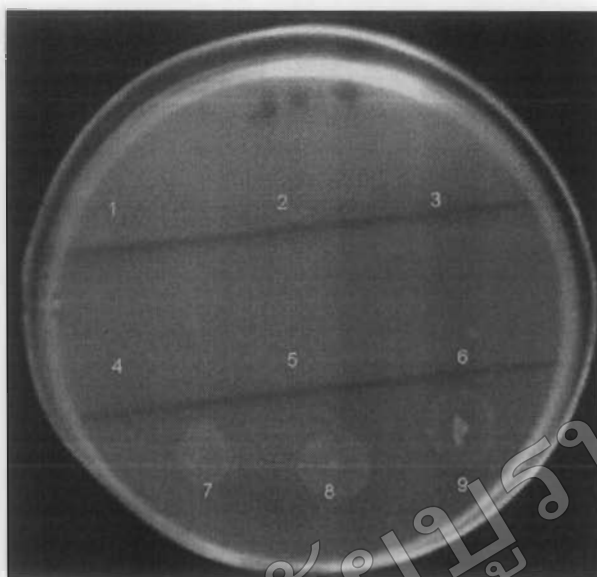


ภาพที่ 4-13 ผลิตภัณฑ์กรดไขมันแปรรูปโดยเอนแคปซูเลชัน ทำแห้งด้วย Büchi 190 mini Spray Dryer ถ่ายภาพด้วย Light microscope (Olympus BX60) ที่กำลังขยาย 40 เท่า

เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพของกรดไขมันที่ผ่านเอนแคปซูเลชัน ในการยับยั้ง จุลินทรีย์โดยการวิเคราะห์ MIC ด้วยวิธี Agar Dilution Method เพื่อทำการเปรียบเทียบกับผลการ ทดลองกับสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ผ่านเอนแคปซูเลชัน ในข้อ 2.2. ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4-13 ภาพที่ 4-14 และภาพที่ 4-15 พบว่าค่า MIC ที่สูงที่สุดของกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัด โดยความร้อนและกรดไขมันที่ผ่านการเอนแคปซูเลชัน มีค่าเท่ากันคือ 0.039 %v/v ดังนั้นจึง สามารถใช้กรดไขมันเอนแคปซูเลชันทดแทนกรดไขมันที่อยู่ในรูปของของเหลวในการยับยั้ง เชื้อแบคทีเรียได้ โดยมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน

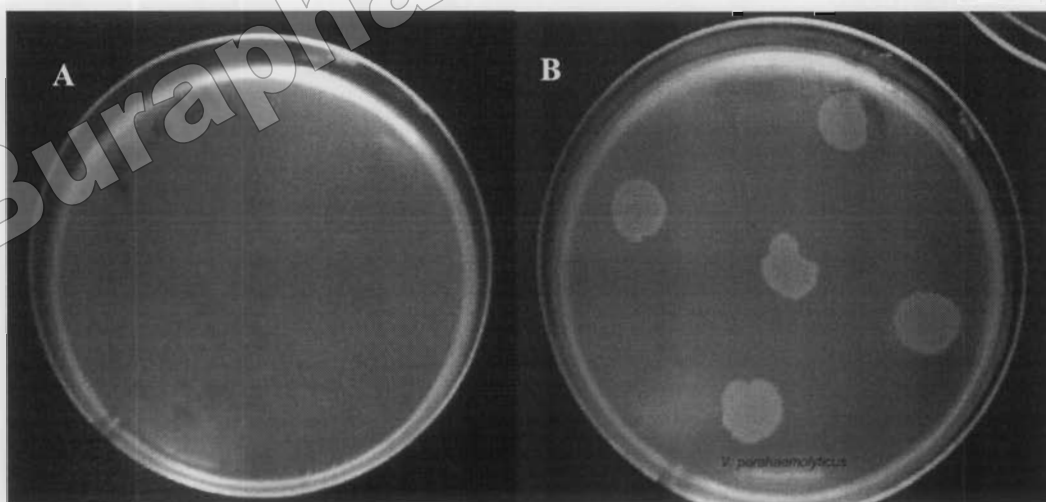
ตารางที่ 4-13 เปรียบเทียบค่า MIC ระหว่างกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยความร้อนและ กรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวเอนแคปซูเลชัน

แบคทีเรีย	MIC (% (v/v))	
	กรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าว สกัดโดยความร้อน	กรดไขมันแปรรูปโดย เอนแคปซูเลชัน
<i>S. aureus</i>	0.039	0.039
<i>B. subtilis</i>	0.039	0.039
<i>B. cereus</i>	0.019	0.019
<i>V. parahaemolyticus</i>	0.039	0.039



ภาพที่ 4-14 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของกรดไขมันแปรรูปความเข้มข้น 0.019 %v/v ต่อเชื้อ
ทดสอบด้วยวิธี Agar Dilution

โดยที่	1 ถึง 3	คือ <i>B. cereus</i>
	4 ถึง 6	คือ <i>B. subtilis</i>
	7 ถึง 9	คือ <i>S. aureus</i>



ภาพที่ 4-15 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดด้วยความร้อน
ผ่านการเอนแคปซูเลชันความเข้มข้น 0.039 %v/v (A) และ 0.019 %v/v (B) ต่อ
V. parahaemolyticus ด้วยวิธี Agar Dilution