นิพนธ์ต้นฉบับ

ออกซิเดชันของไขมันในปลาป่นที่เก็บรักษาในสภาพที่แตกต่างกัน

ระพีพรรณ เลาหบรรจง[1] ชุติมา ตันติกิตติ[2] และ สุทธวัฒน์ เบญจกุล[3]

Abstract

Laohabanjong, R.[1], Tantikitti, C.[1] and Benjakul, S.[2]

Lipid oxidation of fish meal stored under different storage conditions

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2007, 29(2) : 501-514

Changes of chemical quality and physical properties of fish meal due to lipid oxidation under different storage conditions were studied using a 3-factor factorial design (2x2x4). Premium grade fish meal (72% protein) was divided into two portions, with and without ethoxyquin, each portion was then stored at either ambient temperature or 4°C for 0, 1.5, 3 and 4.5 months. The results showed no interaction between 3 factors (supplemented with or without ethoxyquin, at 27-32°C and 4° and storage time) on protein, lipid and ash of fish meal. Peroxide value (PV) and anisidine value (AnV) increased with storage time with the highest value in the non-ethoxyquin sample stored at ambient temperature for 4.5 months. An increase of TBARS was found in non-ethoxyquin fish meal stored at both ambient temperature and 4°C with the highest value in the sample stored at 4°C for 4.5 months. Storage conditions without ventilation/air circulation caused an accumulation of malonaldehyde in the fish meal storage at 4°C for a long period. FFA content was highest in the ethoxyquin treated fish meal stored at ambient temperature for 3 months. At 4.5 months, the non-ethoxyquin fish meal stored at ambient temperature showed higher FFA content than other samples. Levels

[1]Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources [2]Depatment of Food Technology, Faculty of Agro-Industry, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112 Thailand.

[1]นักศึกษาหลักสูตรวท.ม. สาขาวาริชศาสตร์ [2]Ph.D. (Aqautic Science), ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ [3]Ph.D. (Food Science and Technology), รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

Corresponding e-mail : chutima.t@psu.ac.th

รับต้นฉบับ 17 กุมภาพันธ์ 2549 รับลงพิมพ์ 2 สิงหาคม 2549

of TVN of samples stored at ambient temperature decreased with time but those stored at 4°C changed in an opposite direction, which could be explained by the similar phenomenon as the changes of TBARS value. Parameters tested by feed microscopic and simple chemical techniques did not show any difference among fish meal under studied conditions.

Key words : fish meal, lipid oxidation, storage condition, ethoxyquin

บทคัดย่อ

ระพีพรรณ เลาหบรรจง ชุติมา ตันติกิตติ และ สุทธวัฒน์ เบญจกุล

ออกซิเดชันของไขมันในปลาป่นที่เก็บรักษาในสภาพแตกต่างกัน

ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2550 29(2) : 501-514

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาป่นเกรดดีเยี่ยม (โปรตีน 72%) ทั้งด้านเคมี และสมบัติทางกายภาพ เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันระหว่างเก็บรักษาปลาป่นในสภาพที่แตกต่างกันด้วยแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (2x2x4) พบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารกันหืนอีทอกซิควิน (เติมและไม่เติม) อุณหภูมิที่เก็บรักษา (อุณหภูมิห้อง และ 4°C) และระยะเวลาการเก็บรักษาปลาป่น (0, 1.5, 3 และ 4.5 เดือน) ต่อปริมาณโปรตีน ไขมันรวม และเถ้า ส่วนค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) กับค่าอะนิซิดีน (AnV) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและเพิ่มสูงสุดในตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 4.5 เดือน ขณะที่ค่า TBARS เพิ่มขึ้นในตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนทั้งที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 4°C และมีค่าสูงที่สุดในตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิ 4°C นาน 4.5 เดือน ($p \leq 0.05$) เกิดจากการสะสมสารมาลอนอันดีไฮด์ในสภาวะที่ไม่มีอากาศถ่ายเท ส่วนปริมาณกรดไขมันอิสระ (FFA) มีระดับสูงสุดในตัวอย่างที่เติมสารกันหืนเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา3 เดือน แต่เมื่อเก็บไว้นาน 4.5 เดือน ตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้อง มีปริมาณ FFA สูงกว่าตัวอย่างอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) พบการเปลี่ยนแปลงสีปลาป่นเกิดขึ้นเล็กน้อยซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ และไม่พบการเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์ที่ตรวจสอบด้วยเทคนิคทางกล้องจุลทรรศน์และการเสื่อมสลายทางเคมี

ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญสำหรับการทำอาหารกุ้ง เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูงและมีความสมดุลของกรดอะมิโนทุกชนิดที่สัตว์น้ำต้องการทั้งทางด้านคุณภาพและปริมาณ นอกจากนี้ปลาป่นยังอุดมไปด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง (polyunsatturated fatty acid) จึงเป็นเหตุให้ปลาป่นมีความไวต่อการเกิดออกซิเดชันของไขมัน ส่งผลให้คุณภาพทางด้านโภชนาการของอาหารลดลง (Esterbauer *et al.*, 1991; Takiguchi, 1992) มีกลิ่นเหม็นหืน (Gunston, 1996) และอาจเกิดสารประกอบที่เป็นพิษ (Kinsella, 1987; Sanders, 1987) เป็นเหตุให้เกิดการเสื่อมสลายของเยื่อหุ้มเซลล์ เอนไซม์ วิตามินและโปรตีน (Ranken, 1994) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันมี 3 ระยะคือ 1) ระยะเหนี่ยวนำ (initiation) เป็นระยะที่ไฮโดรเจนอะตอมหลุดออกจากคาร์บอนอะตอม โดยมีอุณหภูมิ แสงและโลหะทรานซิชันเป็นตัวเร่งเกิดเป็นอนุมูลอิสระ (free radical) 2) ระยะการแพร่ขยาย (propagation) อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซีหรือสารเปอร์ออกไซด์ (peroxide) จากนั้นเปอร์ออกไซด์รวมตัวกับไฮโดรเจนจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวตัวต่อไป เกิดเป็นสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) และอนุมูลอิสระขึ้นอีกครั้ง ซึ่งจะเกิดเป็นปฏิกิริยาต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ ไฮโดรเปอร์ออกไซด์เป็นสารที่ไม่คงตัวโดยจะสลายตัวเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น คีโตน อัลดีไฮด์ ไฮโดรคาร์บอน กรดและแอลกอฮอล์ เป็นต้น ซึ่งสามารถระเหยออกไปได้และมีกลิ่นเหม็นหืน (Nakayama *et al.*, 1994; Jadhav *et al.*, 1996) 3) ระยะสิ้นสุด (termination) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระต่าง ๆ รวมตัวกันเป็นสารประกอบใหม่ที่คงตัว จึงเป็นระยะสิ้นสุดของปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชัน (Dugan, 1976) ปัจจัยที่มีผล

ต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ได้แก่ ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Allen and Hamilton, 1994) อุณหภูมิ (Fujita *et al.*, 1994; Allen and Hamilton, 1994) ผิวสัมผัสกับออกซิเจน (Rawls and Van Santen, 1970) แสง (Hansen and Skibsted, 2000) รังสี (Bandoniene *et al.*, 2001) และโลหะหนักทรานซิชัน เช่น Cu^{2+}, Fe^{2+} เป็นต้น (Miller, 1996) การเติมสารกันหืน หรือการเก็บรักษาปลาป่นให้ถูกต้อง สามารถชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันในปลาป่นได้ในระดับหนึ่ง การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเติมสารกันหืนต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในปลาป่นเกรดดีเยี่ยมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันในระยะเวลาต่างกัน โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมี สมบัติทางกายภาพ การทดสอบด้วยเทคนิคทางกล้องจุลทรรศน์ (feed microscopic technique) และการทดสอบทางเคมีอย่างง่าย

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

1. แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (2x2x4) มีชุดการทดลองทั้งหมด 16 ชุดการทดลอง ดังแสดงใน Figure 1

2. การเตรียมปลาป่นเพื่อการเก็บรักษา

ปลาป่นเกรดดีเยี่ยม (Premium grade; โปรตีน 72.21%) จาก บริษัทกระบี่อุตสาหกรรมปลาป่น จำกัด จังหวัดกระบี่ ซึ่งเป็นปลาป่นที่ผลิตใหม่ 1 วัน และไม่มีการเติมสารกันหืนปริมาณ 40 กก. แบ่งปลาป่นปริมาณ 4 กก. เป็นตัวอย่างชุดควบคุม (ที่ระยะเวลา 0 เดือน) ปลาป่นที่เหลือแบ่งออกเป็น 2 ส่วนๆ ละ 18 กก. ส่วนที่ 1 เติมสารกันหืนอีทอกซิควิน 200 มก./ปลาป่น 1 กก. ซึ่งเป็นสารกันหืนที่มีการอนุญาตให้ใช้ และเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการเก็บรักษาปลาป่นและน้ำมันปลา เนื่องจากเป็นสารกันหืนที่มีประสิทธิภาพสูงและมีราคาถูก ส่วนที่ 2 ไม่เติมสารกันหืน นำปลาป่นแต่ละส่วนบรรจุใส่ถุงที่เย็บจากกระสอบอาหารสัตว์ เพื่อให้มีสภาพเหมือนกับที่เก็บในสภาพจริง กระสอบละ 1.5 กก. จำนวน 24 กระสอบ จะได้ปลาป่นที่เติมสารกันหืนจำนวน 12 กระสอบ และไม่เติมสารกันหืนจำนวน 12 กระสอบ จากนั้นนำปลาป่นที่เติมสารกันหืน และไม่เติมสารกันหืนอย่างละ 6 กระสอบ บรรจุลงในกล่องโฟมนำไปเก็บในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4°C) ส่วนปลาป่นที่เหลือนำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง

3. การวิเคราะห์คุณภาพปลาป่น

3.1 การวิเคราะห์ทางเคมี

3.1.1 องค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า (AOAC, 1990) ที่ระยะเวลา 0 เดือน 1.5 เดือน 3 เดือน และ 4.5 เดือน

3.1.2 ปริมาณเกลือ (AOAC, 1990) ที่

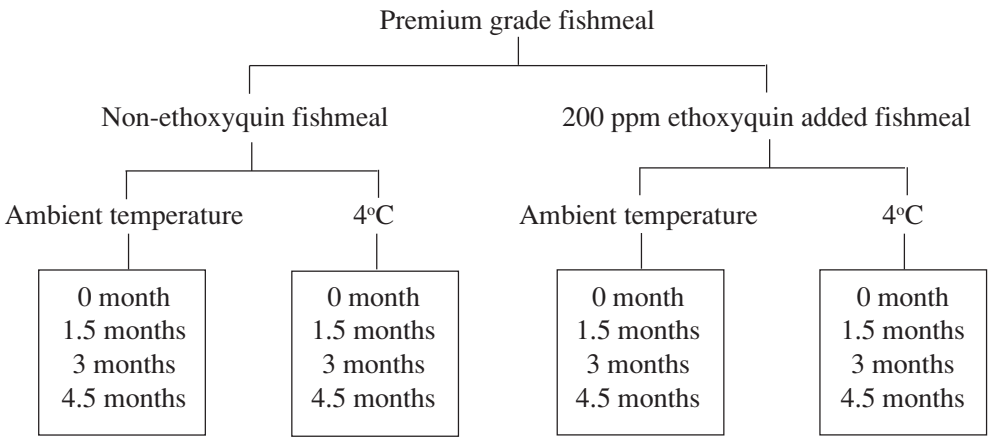

Figure 1. Experimental design for fish meal storage conditions.

ระยะเวลา 0 เดือน

3.1.3 คุณภาพทางเคมี ได้แก่ Total Volatile Base Nitrogen (TVB-N) โดยวิธี MgO Distillation Method (AOAC, 1990) Free Fatty Acid (Uchiyama, 1973) Peroxide Value (IUPAC, 1979) Thiobarbituric acid (IUPAC, 1979) และ Anisidine Value (IUPAC, 1979) ที่ระยะเวลา 0 เดือน 1.5 เดือน 3 เดือน และ 4.5 เดือน

3.2 สมบัติทางกายภาพ โดยวัดการเปลี่ยนแปลงสีของปลาป่นด้วยระบบ Hunter system (CIELAB 10° / D65) ที่ระยะเวลา 0 เดือน 1.5 เดือน 3 เดือน และ 4.5 เดือน

3.3 ตรวจสอบโดย Feed microscopic technique (เยาวมาลย์, 2546) ได้แก่ การปลอมปนขนไก่ไฮโดรไลซ์ (ที่ระยะเวลา 0 เดือน) ปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non protein nitrogen; NPN) (ที่ระยะเวลา 0 เดือน) และการเสื่อมสลาย (decomposition) ของปลาป่น (ที่ระยะเวลา 3 เดือน และ 4.5 เดือน)

3.4 หาปริมาณอีทอกซิควินที่เหลือในปลาป่น ที่ระยะเวลา 0 เดือน 1.5 เดือน 3 เดือน และ 4.5 เดือน โดย HPLC ตาม AOAC (1998)

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น) คุณภาพทางเคมี (PV, TBARS, FFA, AnV และ TVN) และสมบัติทางกายภาพ (L* a* b* และ ΔE*ab) มาหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (analysis of variance) แบบแฟคทอเรียล และเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test

ผลการศึกษา

1. การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

1.1 องค์ประกอบทางเคมี

โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้นของปลาป่นที่เก็บรักษาโดยการเติมและไม่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ $4^{o}C$ เป็นระยะเวลาแตกต่างกัน ดังแสดงใน Table 1 พบว่าโปรตีน ไขมัน และเถ้า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ขณะที่ความชื้นของปลาป่นที่เก็บที่อุณหภูมิห้องทั้งเติมและไม่เติมสารกันหืนเพิ่มขึ้นและเพิ่มสูงสุดในตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง นาน 3 เดือน เท่ากับ 12.63±0.03% ($p \leq 0.05$) ส่วนปลาป่นที่เก็บที่อุณหภูมิ $4^{o}C$ ทั้งเติมและไม่เติมสารกันหืนมีความชื้นสูงขึ้นใน 3 เดือน หลังจากนั้นความชื้นค่อนข้างคงที่

1.2 คุณภาพทางเคมี

ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) thiobarbituric acid (TBARS) ค่าอะนิซิดีน (AnV) กรดไขมันอิสระ (FFA) และปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ของปลาป่นที่เก็บโดยการเติมและไม่เติมสารกันหืนที่อุณหภูมิห้อง และ $4^{o}C$ ที่ระยะเวลาต่างกัน แสดงใน Table 2 สำหรับปริมาณเกลือในปลาป่นที่นำมาจากบริษัทกระบี่อุตสาหกรรมปลาป่น จำกัด อยู่ที่ 1.8±0.10%

PV ของปลาป่นที่ไม่เติมสารกันหืนทั้งที่เก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ $4^{o}C$ มีค่าสูงขึ้นตามระยะเวลาที่เก็บรักษา โดยเฉพาะในตัวอย่างที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องที่เวลา 4.5 เดือน มีค่าสูงสุดเท่ากับ 6.43±0.53 meq/kg oil ($p \leq 0.05$) ส่วนปลาป่นที่เติมสารกันหืนทั้งที่เก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ $4^{o}C$ มีค่า PV เพิ่มขึ้นเมื่อเก็บเป็นเวลา 1.5 เดือน หลังจากนั้นจะลดต่ำลง โดยตัวอย่างที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 เดือน มีค่า PV ลดลงต่ำสุดเท่ากับ 1.77±0.03 meq/kg oil ($p \leq 0.05$)

ระดับ TBARS ของปลาป่นทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืนและทั้งที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ $4^{o}C$ มีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เก็บรักษาโดยกลุ่มตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนมีระดับ TBARS สูงกว่าในกลุ่มตัวอย่างที่เติมสารกันหืน ปลาป่นที่ไม่เติมสารกันหืนเก็บที่ $4^{o}C$ ที่ 4.5 เดือน มีระดับ TBARS สูงที่สุดเท่ากับ 72.78±0.90 mgMAD/kg sample ($p \leq 0.05$) รองลงมาเป็นปลาป่นที่ไม่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 4.5 เดือน เท่ากับ 62.31±0.62 mgMAD/kg sample

ค่า AnV ของปลาป่นที่ไม่เติมสารกันหืนทั้งที่เก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ $4^{o}C$ มีค่าเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาเก็บรักษา โดยปลาป่นที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 4.5 เดือน มี AnV สูงที่สุดเท่ากับ 36.87±0.79 Unit ($p \leq 0.05$) ส่วนปลาป่นที่เติมสารกันหืนทั้งที่เก็บที่อุณหภูมิ

Table 1. Proximate composition (%) of fish meal stored under different conditions[1] (dry matter basis)

Fish meal	Temperature (°c)	Storage time (months)	Protein	Fat	Ash	Moisture[2]
Without ethoxyquin	27-32	0	72.21±0.92	11.66±0.09	18.97±0.40	2.75±0.13[a3]
		1.5	71.10±0.50	11.38±0.11	18.16±0.17	7.41±0.15[e]
		3	70.64±0.08	11.23±0.05	18.02±0.0	12.63±0.03[j]
		4.5	67.96±0.20	11.05±0.07	18.62±0.07	8.74±0.05[g]
	4	0	72.21±0.92	11.66±0.09	18.97±0.40	2.75±0.13[a]
		1.5	70.87±0.28	11.12±0.07	18.34±0.28	4.44±0.11[b]
		3	70.14±0.30	11.40±0.03	17.99±0.10	8.48±0.13[f]
		4.5	69.86±0.17	11.19±0.03	18.43±0.04	8.40±0.07[f]
With 200 ppm ethoxyquin	27-32	0	72.21±0.92	11.66±0.09	18.97±0.40	2.75±0.13[a]
		1.5	69.85±0.15	11.31±0.01	18.12±0.14	7.04±0.10[d]
		3	70.41±0.67	10.88±0.13	17.94±0.02	12.39±0.03[i]
		4.5	70.07±0.18	11.17±0.04	18.20±0.09	8.84±0.04[g]
	4	0	72.21±0.92	11.66±0.09	18.97±0.40	2.75±0.13[a]
		1.5	69.93±0.42	11.16±0.04	18.11±0.07	5.00±0.01[c]
		3	70.81±0.20	11.03±0.08	17.70±0.12	9.73±0.04[h]
		4.5	71.03±0.07	11.17±0.07	18.55±0.15	8.86±0.01[g]

[1] N = 6
[2] Means with different superscript within a column are significantly different ($p \leq 0.05$) except for protein, fat and ash which are not significantly different ($p \geq 0.05$)

Table 2. Peroxide value (PV), TBARS, Anisidine value (AnV), Free fatty acid content (FFA) and Total volatile base nitrogen content (TVB-N) in fish meal stored at different conditions[1]

Fish meal	Temperature (°c)	Storage time (months)	PV (meq/kg)[2]	TBARS (mgMAD/kg)	AnV (Unit)	FFA(%)	TVN (mgN/100g)
Without ethoxyquin	27-32	0	1.84±0.17[ab]	7.87±0.60[ab]	16.36±0.58[a]	5.65±0.19[a]	77.32±0.48[f 3]
		1.5	2.42±0.16[d]	19.60±0.38[f]	29.20±0.40[g]	15.60±0.04[e]	80.28±0.10[g]
		3	2.79±0.19[e]	25.67±0.30[i]	28.80±0.63[g]	17.46±0.25[f]	72.87±0.51[d]
		4.5	6.43±0.53[h]	62.31±0.62[k]	36.87±0.79[h]	26.20±0.22[h]	54.52±0.04[b]
	4	0	1.84±0.17[ab]	7.87±0.60[ab]	16.36±0.58[a]	5.65±0.19[a]	77.32±0.48[f]
		1.5	3.93±0.11[f]	15.02±0.90[d]	29.58±0.14[g]	12.55±0.08[c]	92.46±0.33[l]
		3	3.98±0.11[f]	23.70±0.10[h]	25.69±0.75[f]	15.24±0.34[e]	88.72±0.16[k]
		4.5	4.98±0.20[g]	72.78±0.90[l]	32.16±0.46[g]	13.40±0.08[d]	94.52±0.21[m]
With 200 ppm ethoxyquin	27-32	0	1.84±0.17[ab]	7.87±0.60[ab]	16.36±0.58[a]	5.65±0.19[a]	77.32±0.48[h]
		1.5	2.24±0.10[cd]	8.59±0.28[b]	25.69±0.32[f]	15.62±0.18[e]	76.21±0.87[e]
		3	1.77±0.03[a]	10.48±0.09[c]	25.67±0.26[f]	32.12±0.46[j]	68.19±0.17[c]
		4.5	2.15±0.03[bcd]	22.52±0.88[g]	20.55±0.20[c]	22.63±0.42[g]	44.50±0.16[a]
	4	0	1.84±0.17[ab]	7.87±0.60[ab]	16.36±0.58[a]	5.65±0.19[a]	77.32±0.48[f]
		1.5	3.67±0.93[f]	7.48±0.37[a]	21.78±0.71[d]	12.25±0.02[c]	81.53±0.31[h]
		3	2.07±0.08[abc]	16.37±0.42[e]	23.88±0.22[e]	27.58±0.27[i]	83.70±0.20[i]
		4.5	2.05±0.05[abc]	35.55±0.18[j]	17.85±0.47[b]	11.48±0.17[b]	84.81±0.26[j]

[1] N = 6
[2] Means with different superscript within a column are significantly different ($p \leq 0.05$)

ห้องและอุณหภูมิ 4°C มี AnV เพิ่มขึ้นตลอดในช่วง 3 เดือน และลดต่ำลงเมื่อเก็บไว้นาน 4.5 เดือน ปริมาณ FFA ของปลาป่นที่เติมสารกันหืนทั้งที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง และ 4°C เพิ่มขึ้นสูงสุดที่ระยะเวลา 3 เดือน แต่จะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเก็บไว้นาน 4.5 เดือน โดยตัวอย่างที่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 3 เดือน มีปริมาณ FFA สูงที่สุดเท่ากับ 32.12±0.46% ($p \leq 0.05$) รองลงมาเป็นตัวอย่างที่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิ 4°C นาน 3 เดือน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 27.58±0.27% ส่วนตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนและเก็บที่อุณหภูมิห้องมีปริมาณ FFA เพิ่มขึ้นตลอดการเก็บรักษา

ปริมาณ TVB-N มีค่าอยู่ในช่วง 44.50±0.16-94.52±0.21 mgN/100g sample โดยปลาป่นที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C ทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืนมีปริมาณ TVB-N เพิ่มขึ้นตลอดการเก็บรักษา โดยตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C นาน 4.5 เดือน มีปริมาณ TVB-N เพิ่มขึ้นสูงสุด เท่ากับ 94.52±0.21 mgN/100g sample (p?0.05) ขณะที่ตัวอย่างที่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิ 4°C ในระยะเวลาเดียวกันมีปริมาณ TVB-N เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืนมีปริมาณ TVB-N ค่อนข้างคงที่ในระยะเวลา 1.5 เดือน แล้วลดลงเมื่อเก็บนานขึ้น โดยตัวอย่างที่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 4.5 เดือน มีปริมาณ TVB-N ลดลงต่ำสุดเท่ากับ 44.50±0.16 mgN/100g sample ($p \leq 0.05$)

2. สมบัติทางกายภาพ

การเปลี่ยนแปลงสีของปลาป่นที่เก็บรักษาในสภาพต่างๆ กันเป็นระยะเวลานาน 4.5 เดือน ได้ผลดังแสดงใน Table 3

ค่า L* ของตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตามระยะเวลาที่เก็บรักษา โดยตัวอย่างที่เติมสารกันหืนและเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 4.5 เดือน มีค่า L* สูงที่สุดเท่ากับ 48.64±0.28 ($p \leq 0.05$) รองลงมาเป็นตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนที่เก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 4.5 เดือน (47.84±0.10) ขณะที่ตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C ทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืน มีค่า L* ค่อนข้างคงที่

ค่า a* ของตัวอย่างทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้องมีค่า a* เพิ่มขึ้นตลอดการเก็บรักษา โดยตัวอย่างที่มีค่า a* เพิ่มขึ้นสูงสุด คือ ตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้อง และตัวอย่างที่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4.5 เดือน มีค่าเท่ากับ 5.27±0.02 และ 5.27±0.01 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ขณะที่ตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C ทั้งเติมและไม่เติมสารกันหืนมีค่า a* ค่อนข้างคงที่

ค่า b* ของปลาป่นทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้องมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 3 เดือน มีค่า b* สูงสุดเท่ากับ 22.60±0.54 ($p \leq 0.05$) ขณะที่ตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C ทั้งเติมและไม่เติมสารกันหืน มีค่า b* ลดลง โดยตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนและเก็บที่อุณหภูมิ 4°C นาน 3 เดือน มีค่า b* ต่ำสุดเท่ากับ 19.74±0.04 ($p \leq 0.05$)

ค่า ΔE*ab ของปลาป่น ทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้อง มีค่าเพิ่มขึ้นโดยตัวอย่างที่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 4.5 เดือน มีค่า ΔE^*_{ab} สูงที่สุดเท่ากับ 3.05±0.16 ($p \leq 0.05$) รองลงมาเป็นตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 3 เดือน มีค่าเท่ากับ 2.63±0.41 ซึ่งไม่แตกต่างกับตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 4.5 เดือน (2.55±0.09) ขณะที่ตัวอย่างที่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิ 4°C นาน 1.5 เดือน มีค่า ΔE*ab น้อยที่สุดคือ 0.22±0.09 ($p \leq 0.05$)

3. ปริมาณอีทอกซิควิน

จากการเก็บรักษาปลาป่นโดยการเติมสารกันหืนอีทอกซิควินในปริมาณ 200 มก./ปลาป่น 1 กก. ที่อุณหภูมิห้องและ 4°C ในระยะเวลาต่างๆ กัน พบว่าอีทอกซิควินที่เติมในปลาป่นมีปริมาณลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา (R^2 = 0.9629 และ R^2 = 0.9996 ตามลำดับ) (Figure 2) โดยปลาป่นที่เก็บที่อุณหภูมิห้องมีปริมาณอีทอกซิควินลดลงในอัตราที่รวดเร็วกว่าในปลาป่นที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C โดยมีปริมาณเหลือเพียง 40.84% ขณะที่ตัวอย่างที่เก็บอุณหภูมิ 4°C มีปริมาณของอีทอกซิควินเหลือ 64.85% ของปริมาณอีทอกซิควินเริ่มต้น และตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 4.5 เดือน มีปริมาณอีทอกซิควินลดลงต่ำสุดเท่ากับ 81.60±0.39 ppm ($p \leq 0.05$) (Table 4)

4. การตรวจสอบทางด้าน Feed microscopic techniques

การปลอมปนขนไก่ไฮโดรไลซ์ พบว่าไม่มีการปลอม

Table 3. Color of fish meal stored at different conditions[1]

Fish meal	Temperature (°c)	Storage time (months)	L*	a*	b*	ΔE^*_{ab}
Without ethoxyquin	27-32	0	46.19±0.04[fg2]	4.69±0.07[ef]	20.06±0.21[de]	-
		1.5	46.65±0.05[ed]	5.01±0.02[c]	21.35±0.04[c]	1.5±0.05[c]
		3	47.48±0.05[b]	5.11±0.07[b]	22.60±0.54[a]	2.63±0.41[b]
		4.5	47.84±0.10[a]	5.27±0.02[a]	21.90±0.05[b]	2.55±0.09[b]
	4	0	46.19±0.04[fg]	4.69±0.07[ef]	20.06±0.21[de]	-
		1.5	46.59±0.17[edf]	4.61±0.04[f]	20.21±0.05[d]	0.54±0.12[f]
		3	46.15±0.04[g]	4.43±0.03[g]	19.74±0.04[e]	0.47±0.08[fg]
		4.5	47.17±0.20[bc]	4.67±0.03[ef]	19.93±0.04[de]	0.99±0.20[de]
With 200 ppm ethoxyquin	27-32	0	46.19±0.04[fg]	4.69±0.07[ef]	20.06±0.21[de]	-
		1.5	46.84±0.11[cd]	4.85±0.04[d]	21.14±0.12[c]	1.21±0.16[d]
		3	47.53±0.16[b]	4.94±0.07[c]	21.28±0.09[c]	1.74±0.16[c]
		4.5	48.64±0.28[a]	5.27±0.01[a]	21.80±0.05[b]	3.05±0.16[a]
	4	0	46.19±0.04[fg]	4.69±0.07[ef]	20.06±0.21[de]	-
		1.5	46.25±0.17[fg]	4.60±0.03[f]	20.05±0.03[de]	0.22±0.09[g]
		3	45.61±0.08[h]	4.39±0.02[g]	19.87±0.01[de]	0.73±0.03[ef]
		4.5	46.41±0.16[efg]	4.74±0.01[e]	19.91±0.10[de]	0.47±0.00[fg]

[1] N = 6
[2] Means with different superscript within a column are significantly different ($p \leq 0.05$)

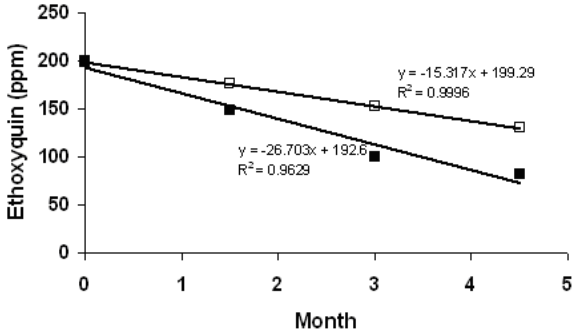

Figure 2. Regression of ethoxyquin concentrations in fish meal samples against storage time.
■ = Ethoxyquin treated fish meal stored at ambient temperature.
□ = Ethoxyquin treated fish meal stored at 4°C.

ปนขนไก่ไฮโดรไลซ์ (Figure 3)

ไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน พบว่าไม่มีไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนในปลาป่นที่ศึกษา ดังแสดงใน Figure 4

การเสื่อมสลายของปลาป่นที่เก็บรักษาทั้งโดยการเติมและไม่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้อง และ 4°C ที่ระยะเวลาต่าง ๆ พบว่าไม่เกิดการเสื่อมสลายในปลาป่นตลอดทั้ง 3 เดือน และ 4.5 เดือน ดังแสดงใน Figure 5

วิจารณ์ผล

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลาป่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 4°C โดยการเติมและไม่เติมสารกันหืนเป็นระยะเวลา 0, 1.5, 3 และ 4.5 เดือน ตามลำดับ โดยที่อุณหภูมิห้องมีค่าความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุดและสูงสุดอยู่ระหว่าง 60-84% พบว่าการเติมสารกันหืนอีทอก

Table 4. Concentrations1 of ethoxyquin in fish meal stored at different temperature and durations.

Temperature	Storage time (months)	ethoxyquin (ppm)[2]	Percent of Initial Concentration
27-32°c (Ambient)	0	199.54±0.26[a]	100
	1.5	148.60±0.40[d]	74.47
	3	99.50±0.99[f]	49.86
	4.5	81.60±0.39[g]	40.89
4°c	0	199.54±0.26[a]	100
	1.5	176.70±0.51[b]	88.55
	3	152.73±0.74[c]	76.54
	4.5	129.41±0.97[e]	64.85

[1] **N = 6**
[2] **Means within the column sharing the same superscript are not significantly different (p>0.05)**

ซิควิน อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษา ไม่มีอิทธิพลร่วมต่อปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้าของปลาป่น แต่การเติมสารกันหืนกับระยะเวลาในการเก็บรักษาและการเติมสารกันหืนกับอุณหภูมิที่เก็บรักษามีอิทธิพลร่วมต่อปริมาณโปรตีนและไขมัน ขณะที่ความชื้นในตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องโดยไม่เติมสารกันหืนนาน 3 เดือน มีค่าสูงสุด ($p \leq 0.05$) รองลงมาเป็นตัวอย่างที่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 3 เดือน เนื่องจากในช่วงระยะเวลาระหว่าง 1.5 เดือนถึง 3 เดือน มีฝนตกตลอดทั้ง 2 เดือน (เดือนกันยายนและเดือนตุลาคม 2547)

การเปลี่ยนแปลงค่า PV ในปลาป่นที่เก็บรักษาในสภาพต่าง ๆ กัน สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มอย่างชัดเจน คือ กลุ่มที่ไม่เติมสารกันหืนมีค่า PV เพิ่มขึ้นตลอดการเก็บรักษา ขณะที่กลุ่มตัวอย่างที่เติมสารกันหืนมีค่า PV เพิ่มขึ้นในช่วง 1.5 เดือนแรก หลังจากนั้นลดลงและคงที่เมื่อเก็บรักษานานขึ้น ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับค่า AnV แสดงว่าสารกันหืนอีทอกซิควินมีบทบาทในการลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Poulter and Disney, 1978; Mai and Kinsella, 1981; Younathan *et al.*, 1983) ถึงแม้ว่าจะไม่สามารถหยุดการเกิดปฏิกิริยาได้ก็ตาม สำหรับ PV ของตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนเพิ่มขึ้นในอัตราสูงในช่วง 1.5 เดือน และมีค่าค่อนข้างคงที่ในเดือนที่ 3 จากนั้นอัตราการเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะเวลา 4.5 เดือน เนื่องจาก PV เป็นค่าที่วัดปริมาณสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นสารตัวกลางของผลผลิตในกระบวนการออกซิเดชันที่ไม่มีความคงตัวและสามารถสลายตัวเป็นสารโมเลกุลต่ำที่ระเหยได้ง่าย ดังนั้นการลดลงของ PV ในตัวอย่างที่เติมสารกันหืนในช่วงเดือนที่ 3 มีสาเหตุจากการเปลี่ยนแปลงเป็นสารที่ระเหยได้ ส่งผลให้ค่า PV ของปลาป่นมีค่าเพิ่มขึ้นและลดลงได้ตลอดเวลา จากผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่า PV มีความแปรปรวนอยู่ระหว่าง 1.84-6.43 meq/kg fat โดยตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 4.5 เดือนมีค่า PV สูงที่สุด (6.43±0.53 meq/kg fat) ซึ่งยังคงเป็นค่าต่ำ เนื่องจากระดับของ PV ในอาหารกุ้งกุลาดำที่สามารถรับได้อยู่ในช่วง 20-40 meq/kg fat (Shetty *et al.*, 1991)

ส่วนระดับ TBARS เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยกลุ่มตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนมีระดับ TBARS เพิ่มขึ้นมากกว่าในกลุ่มตัวอย่างที่เติมสารกันหืน และตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C นาน 4.5 เดือนมีระดับสูงที่สุด เนื่องจาก MDA ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในปลาป่นทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน และน้ำตาลได้ดีในสภาพที่มีอุณหภูมิสูง (Gomez-Sanchez *et al.*, 1990) เป็นเหตุให้ปริมาณ MDA ในตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องลดลง (Melton, 1983) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Lubis และ Buckle (1990) พบว่าค่า TBARS ในปลาซาร์ดีนเค็มตากแห้งที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำ (5°C) เป็นระยะเวลานาน 24 สัปดาห์ มีค่า TBARS สูงกว่าในตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิสูง (20°C) Maleki (1974) กล่าวว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้น (62°C) มีผลให้ค่า TBARS ลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับอุณหภูมิห้อง นอกจากนี้ MDA ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาเป็นสารที่

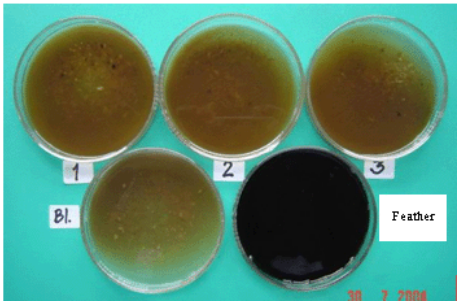

Figure 3. Results of hydrolyzed feather meal test of fish meal
Numbers represent replications; Bl = Blank;
Feather = Feather meal sample as a reference

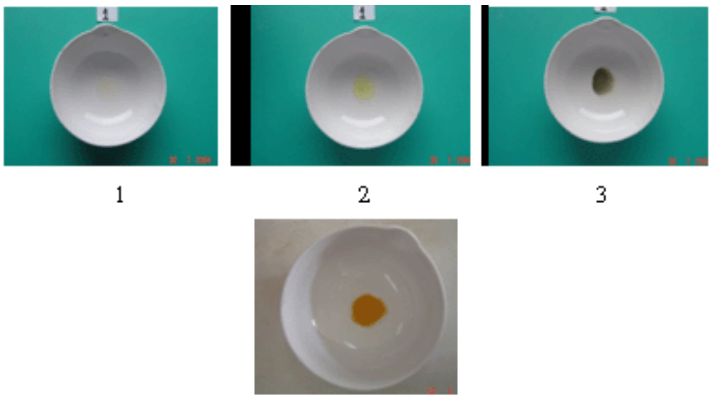

Figure 4. NPN test of fish meal
1 = Fish meal solution
2 = The color of fish meal solution be changes to slightly yellow suddenly after few drops test solution. (If there is NPN, the color of fish meal solution becomes redish-orange as shown in A)
3 = Change to black after 3-5 second drops

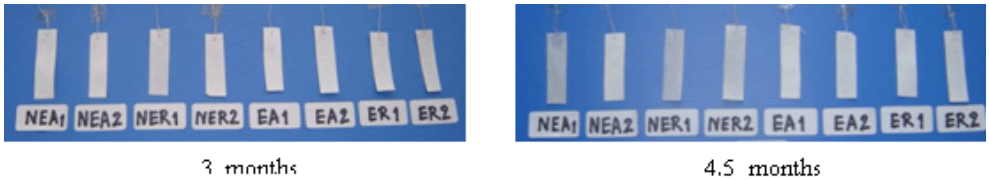

Figure 5. Decomposition test of fish meal samples (no discoloration of test paper).
NEA = Fish meal without ethoxyquin stored at ambient temperature
NER = Fish meal without antioxidant stored at 4°C
EA = Ethoxyquin treated fish meal stored at ambient temperature
ER = Ethoxyquin treated fish meal stored at 4°C
1, 2 = Replication
[Color figure can be viewed in the electronic version]

ระเหยได้ง่าย ดังนั้นการเก็บรักษาตัวอย่างในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิต่ำเป็นเหตุให้สารระเหยได้น้อยลง ประกอบกับตัวอย่างถูกเก็บไว้ในภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิด ทำให้ความสามารถในการระเหยเป็นไปได้น้อยมาก แต่ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันยังคงดำเนินต่อไปแม้อยู่ในที่มีอุณหภูมิต่ำก็ตาม (Allen and Hamilton, 1994) จึงเกิดการสะสมของ MDA ในปลาป่นได้มากขึ้น ขณะที่ตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องมีสภาพเป็นที่โล่งมีอากาศถ่ายเทตลอดเวลา ประกอบกับในสภาพที่มีอุณหภูมิที่สูงกว่าจึงเป็นปัจจัยเร่งให้การระเหยของ MDA เกิดได้ดีขึ้น ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับปริมาณ TVB-N โดยตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C มีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงกว่าที่อุณหภูมิห้องเช่นกัน และเนื่องจากกระบวนการในการผลิตปลาป่นต้องอาศัยความร้อนสูง ทำให้มีการปลดปล่อยสารโปรออกซิแดนท์ เช่น เหล็ก (Fe) ในฮีมออกมา (Erickson, 1998) อีกทั้งไขมันจากปลาประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวปริมาณสูงส่งผลให้เกิดการออกซิเดชันได้ง่ายขึ้น (Harris and Tall, 1994) Lundberg (1966) พบว่าในสภาพที่มีเหล็กและทองแดงผสมอยู่เป็นตัวเร่งให้เกิดกลิ่นและรสของการออกซิไดซ์ได้ดีเมื่ออยู่ในที่มีอุณหภูมิต่ำ สำหรับปริมาณ FFA ซึ่งเป็นกรดไขมันอิสระที่เกิดจากการย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ของไขมันไตรกลีเซอร์ไรด์ โดยจะเกิดได้ดีที่อุณหภูมิสูงและไม่มีความแตกต่างระหว่างกรดไขมันชนิดอิ่มตัวหรือชนิดไม่อิ่มตัว (Hardy *et al*., 1983) ซึ่งบางครั้งอาจใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงการเสื่อมคุณภาพของน้ำมัน เนื่องจากปริมาณ FFA ที่เพิ่มมากขึ้นนำไปสู่การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันเพิ่มขึ้น (Rosas-Romeo and Morton, 1977) แต่ Opstvedt (1985) รายงานว่าปริมาณ FFA ในอาหารสัตว์ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์แต่อย่างใด จากการทดลองพบว่าตัวอย่างที่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 3 เดือน มีปริมาณ FFA เพิ่มขึ้นสูงสุด ($p \leq 0.05$) ขณะที่ตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนทั้งที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 4°C มีปริมาณ FFA เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยในช่วง 3 เดือนแรก และเพิ่มมากขึ้นในตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องเมื่อเก็บนาน 4.5 เดือน แสดงให้เห็นว่าปริมาณ FFA จะเกิดได้มากขึ้นที่อุณหภูมิสูง ซึ่งเป็นผลจากเอนไซม์ไลเปส และเป็นตัวตั้งต้นในการเกิดออกซิเดชันต่อไป ดังนั้นในตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนจึงมีการสะสมมากกว่า

สำหรับปริมาณ TVB-N ซึ่งสามารถใช้ในการชี้วัดความเน่าเสีย (decomposition) ของวัตถุดิบ (Arason, 1994) พบว่าในตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C ทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืนมีปริมาณ TVB-N เพิ่มสูงขึ้นในปริมาณไม่มากนัก ขณะที่ตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืนมีปริมาณ TVB-N ลดลงตลอดการเก็บรักษา เนื่องจากปริมาณ TVB-N ที่เกิดขึ้นมีสาเหตุจากการย่อยสลายโปรตีนและกรดอะมิโนในกล้ามเนื้อปลาโดยจุลินทรีย์หรือการออโตไลซีส (autolysis) ของเนื้อปลาเองก่อนการแปรรูปเป็นปลาป่น อย่างไรก็ตามหลังจากแปรรูปเป็นปลาป่นแล้วจุลินทรีย์บางชนิดยังคงสามารถย่อยโปรตีนต่อไปได้แม้ว่าอัตราการย่อยจะต่ำกว่าก็ตาม ซึ่งผลผลิตที่ได้จะอยู่ในรูปของแอมโมเนีย สารประกอบเอมีน (trimethylamine และ dimethylamine) หรือไนโตรเจนทุกชนิดที่สามารถระเหยได้ ดังนั้นในตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องซึ่งเปิดโล่งและมีการถ่ายเทอากาศดีจึงเป็นเหตุให้สารประกอบของไนโตรเจนที่ระเหยได้ระเหยออกไปในอัตราที่มากกว่าอัตราที่เกิดขึ้น ส่งผลให้ปริมาณ TVB-N ลดลงจนต่ำสุดที่ระยะเวลา 4.5 เดือน ขณะที่ตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C แม้ว่าจะมีปริมาณ TVB-N เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย แต่อัตราการระเหยได้จะต่ำมาก ทำให้เกิดการสะสมของปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้อยู่ในตัวอย่างมากกว่าในตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องอย่างมีนัยสำคัญ และตัวอย่างที่มีปริมาณ TVB-N สูงที่สุด คือปลาป่นที่ไม่เติมสารกันหืนเก็บที่อุณหภูมิ 4°C นาน 4.5 เดือน มีค่าเท่ากับ 94.52±0.21 mgN/100 g sample ($p \leq 0.05$) ซึ่งเป็นค่าที่ค่อนข้างสูงแต่ยังอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ โดยอังคณา (2544) พบว่าปลาป่นเกรดดีเยี่ยมมีค่า TVB-N แปรปรวนอยู่ในช่วง 14-96 mgN/100 g sample นอกจากนี้สารกันหืนมีบทบาทในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ (พรพล, 2545) ดังนั้นการเติมสารกันหืนอีทอกซิควินลงในปลาป่นอาจมีผลต่อการชะลอการเสื่อมสลายของปลาป่นเนื่องจากจุลินทรีย์ ส่งผลให้ TVB-N มีปริมาณต่ำกว่าชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมสารกันหืน

จากผลการเปลี่ยนแปลงสีของปลาป่นที่เก็บรักษาในสภาพต่างกัน พบว่าค่า L* ของตัวอย่างที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา ขณะที่ตัวอย่างที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก การเพิ่มขึ้นของค่า L* บ่งบอกถึงความสว่างของปลาป่นซึ่งความสว่างที่เพิ่มขึ้น

อาจมีสาเหตุจากความชื้นที่เพิ่มขึ้นในปลาป่น ส่งผลให้ผิวหน้าของปลาป่นมีการสะท้อนแสงได้มากขึ้น จากผลการศึกษาแม้ว่า TBARS ของตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนมีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่เติมสารกันหืนแต่การเปลี่ยนแปลงค่า L*, a* และ b* ไม่แตกต่างกันมากนัก Maruf และคณะ (1990) พบว่าตัวอย่างปลาแมคเคอเรลดองเค็ม 0 และ 5% ตากแห้งที่เก็บที่อุณหภูมิ 30°C ซึ่งมีค่า TBARS ต่ำกว่า แต่กลับมีสีคล้ำกว่าในตัวอย่างดองเค็ม 15% ที่มีค่า TBARS สูงกว่า ดังนั้นการเกิดสีดำคล้ำของตัวอย่างอาจไม่ใช่ตัวบ่งชี้ที่ชัดเจนของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน Choi และคณะ (1983) พบว่าปฏิกิริยาเมลลาร์ดไม่มีบทบาทสำคัญในเนื้อปลาที่ทำให้แห้งแล้ว และ Ranken (1994) กล่าวว่าการเกิดสีคล้ำเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในเนื้อสัตว์ที่ผ่านการทำให้สุกแล้วไม่มีผลมากเมื่อเทียบกับเกิดสีคล้ำในเนื้อสัตว์ที่ยังไม่ผ่านการทำให้สุก เนื่องจากการออกซิเดชันของไมโอโกลบินเป็นเมทไมโอโกลบิน ขณะที่ Lubis และ Buckle (1990) รายงานว่าการเกิดสีเข้มในปลาซาร์ดีนดองเค็มตากแห้งเกิดเนื่องจากการเปลี่ยนสีของน้ำมันในช่วงการทำให้แห้งมากกว่าเกิดจาก non-enzymic browning (NEB)

สำหรับค่า a* และค่า b* ในตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืน มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตามระยะเวลาที่เก็บรักษา ขณะที่ตัวอย่างที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C มีค่า a* ค่อนข้างคงที่ และค่า b* ลดลง แสดงว่าตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องเปลี่ยนเป็นสีแดงและสีเหลืองมากกว่า ซึ่งอาจเกิดจากการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดในตัวอย่าง ส่วนค่าการเปลี่ยนแปลงสีทั้งหมด (ΔE^*_{ab}) ของตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืนมีค่าเพิ่มขึ้นสูงถึง 2.63 และ 3.05 ตามลำดับ แสดงว่าสีของตัวอย่างมีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมมาก แต่อย่างไรก็ตามค่า ΔE^*_{ab} ในทุกตัวอย่างยังคงอยู่ในช่วงที่รับได้ เพราะค่า ΔE^*_{ab} ของปลาป่นที่สามารถรับได้ไม่ควรเกิน 4-5 (Bragadottir *et al.*, 2004) ในขณะที่ตัวอย่างที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ 4°C ทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืนมีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมน้อยมาก คือมีค่าอยู่ระหว่าง 0.22-0.99 และพบว่าค่า ΔE^*_{ab} ที่น้อยกว่า 0.4 เป็นค่าที่มนุษย์ไม่สามารถแยกแยะความแตกต่างได้ (Parkers, 1994 อ้างโดย Bragadottir, 1998) อย่างไรก็ตามสำหรับตัวอย่างที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 4.5 เดือน มีค่า ΔE^*_{ab} ของตัวอย่างที่เติมสารกันหืน (0.47±0.00) น้อยกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืน (0.99±0.20) อย่างเด่นชัดทั้งนี้อาจเป็นผลจากการสะสมสารประกอบอัลดีไฮด์ที่อุณหภูมิต่ำในตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืนส่งผลให้ปฏิกิริยาเมลลาร์ดเกิดมากขึ้น

อีทอกซิควินเป็นสารกันหืนที่นิยมใช้ใส่ในปลาป่นมากที่สุดเนื่องจากมีประสิทธิภาพและราคาถูก แต่ในสหรัฐอเมริกาห้ามใช้เป็นสารกันหืนในอาหารคน และให้มีการตกค้างในเนื้อสัตว์และเนื้อปลาที่ได้รับอาหารที่เติมสารกันหืนได้ไม่เกิน 0.5 มก./กก. และสามารถเติมในอาหารสัตว์ได้ไม่เกิน 500 มก./กก. (Barlow, 1994) จากผลการทดลองพบว่าปริมาณสารกันหืนอีทอกซิควินในปลาป่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 4°C เป็นระยะเวลาต่างๆ กัน มีปริมาณลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยตัวอย่างที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องมีอัตราการลดลงมากกว่าในตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C และตัวอย่างที่มีปริมาณอีทอกซิควินลดลงต่ำสุด คือตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 4.5 เดือน เนื่องจากสารกันหืนจะทำหน้าที่ขัดขวางปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น โดยให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระก่อนที่อนุมูลอิสระจะจับกับกรดไขมันไม่อิ่มตัวตัวต่อไป ซึ่งจะส่งผลให้เกิดสารไฮโดรเพอร์ออกไซด์และได้สารที่ทำให้เกิดกลิ่นหืน (Allen and Hamilton,1994) ดังนั้นตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องซึ่งที่มีอัตราการเกิดออกซิเดชันสูงจึงมีการสลายตัวของสารกันหืนมากขึ้นตามไปด้วย สอดคล้องกับการทดลองของอังคณา และคณะ (2544) พบว่าสารกันหืนอีทอกซิควินในปลาป่นที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 23.55-33.59°C มีปริมาณลดลง 16.81%, 28.12% และ 42.82% เมื่อเก็บรักษาไว้นาน 1 เดือน, 2 เดือน และ 3 เดือน ตามลำดับ

จากผลการตรวจสอบทางเทคนิคทางด้านกล้องจุลทรรศน์ พบว่าปลาป่นที่นำมาใช้ในการทดลองครั้งนี้ไม่มีการปลอมปนของขนไก่ไฮโดรไลซ์ ไม่มีการปลอมปนของสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน และจากการตรวจสอบการเสื่อมสลาย ในปลาป่นที่เก็บรักษาในสภาพและระยะเวลาต่างๆ กัน ไม่พบการเสื่อมสลายของปลาป่นในทุกตัวอย่าง หรืออาจเกิดการเสื่อมสลายแต่มีเพียงปริมาณน้อยมากจึงไม่สามารถเห็นผลได้ชัดเจนจากวิธีการตรวจสอบทางเคมีอย่างง่าย อีกทั้งวิธีการนี้เป็นการตรวจสอบปริมาณสารประกอบซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการย่อยสลายโปรตีนและกรดอะมิโนในกล้ามเนื้อปลาป่นโดยเฉพาะกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์

เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ ซีสตีนและเมทไธโอนีน เท่านั้น ซึ่งจะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์บางชนิด โดยเฉพาะแบคทีเรีย *Salmonella* sp. (เยาวมาลย์, 2546) แสดงให้เห็นว่าปลาป่นที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ไม่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าว

สรุปผลการศึกษา

อีทอกซิควินมีผลในการชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในปลาป่น โดยปลาป่นที่ไม่เติมสารกันหืนจะมีค่า PV, AnV และ TBARS เพิ่มสูงขึ้น ตามระยะเวลาที่เก็บรักษา แสดงให้เห็นว่าการออกซิเดชันของไขมันในปลาป่นเกิดขึ้นมากกว่าในตัวอย่างที่ไม่เติมสารกันหืน โดยปริมาณอีทอกซิควินที่ใช้เป็นสารกันหืนในการศึกษาครั้งนี้ลดลงตามระยะเวลาที่เก็บรักษา โดยเฉพาะในตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิห้องลดลงมากกว่าที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C และไม่พบการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์ในการตรวจสอบทางเทคนิคทางด้านกล้องจุลทรรศน์ในตัวอย่างที่ศึกษา

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต ขอบพระคุณ คุณเกียรติศักดิ์ ตันฑสุกิจวณิช ผู้จัดการบริษัท กระบี่อุตสาหกรรมปลาป่น จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ปลาป่นเกรดดีเยี่ยมเพื่อการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

เยาวมาลย์ ค้าเจริญ. 2546. คู่มือปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ด้วยกล้องจุลทรรศน์. เรียบเรียงครั้งที่ 2 ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อังคณา หาญบรรจง ดวงสมร สินเจิมศิริ และกรสุรางค์ อัศวเย็นใจ. 2544. เปรียบเทียบคุณภาพของปลาป่นไทย. ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Allen, J.C. and Hamilton, R.J. 1994. Rancidity in Foods. 3rd ed. London: Blackie Academic and Professional.

Arason, S. 1994. Production of fish silage. **In** Fisheries Processing: Biotechnological Applications (ed. A.M. Martin) pp. 244-272. London: Chapman and Hall.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis 15th ed. The Association of Official Analyical Chemists. Washington, DC.

AOAC. 1998. Official Methods of Analysis. The Association of Official Analyical Chemists. Washington, DC.

Bandoniene, D., Gruzdiene, D. and Venskutonis, P.R. 2001. Antioxidant activity of sage extracts in rapeseed oil irradiated with UV-rays. Nahrung 45: 105-108.

Barlow, S.M. 1994. Is there a future for ethoxyquin and other synthetic antioxidants. Presented at the International Fishmeal and Oil Manufacturers Assosiation Annual Conference, Copenhagen, 29 Aug - 2 Sep 1994 : pp 51-55.

Bragadottir, M. 1998. Redfish Colour - Processing Improvements on Board Freezing Trawlers. Icelandic Fisheries Laboratories Report Summary, Icelandic Research Council. pp. 14

Bragadottir, M., Palmadottir, H. and Kristbergsson, K. 2004. Composition and chemical changes during storage of fish meal from capelin (*Mallotus villosus*). J. Agric. Food Chem. 52: 1572-1580.

Choi, S.I., Kim, B.S. and Han, B.H. 1983. Influence of relative air humidity on the color change of fish meat during drying. Bull. Korean Fish Soc. 16: 349-354.

Dugan, L. 1976. Food chemistry. **In** Principle of Food Science (ed. O.R. Fennema) pp.149-192. New York: Marcel Dekker.

Erickson, M.C. 1998. Lipid oxidation of muscle foods. **In** Food Lipid: Chemistry, Nutrition and Biotechnology (eds. C.C. Akoh and D.B. Min) pp. 297-332. New York: Marcel Dekker.

Esterbauer, H., Schaur, R.J. and Zollner, H. 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. Free Radic. Biol. Med. 11: 81-128.

Fujita, Y., Oshima, T. and Koizumi, C. 1994. Increase in the oxidative stability of sardine lipids through heat treatment. Fish. Sci. 60: 289-294.

Gomez-Sanchez, A., Hermosin, I. and Maya, I. 1990. Heterocycle formation from malondialdehyde and amino sugars. **In** The Maillard Reaction in Food Processing, Human Nutrition and Physio logy. (eds. P.A. Finot, H.U. Aeschbacher, R.F. Hurrel and R. Liardon) pp. 139-144. Birkhauser Verlag, Basel, Swizerland.

Gunstone, F.D. 1996. Fatty Acid and Lipid Chemistry. London: Chapman and Hall.

Hansen, E. and Skibsted, L.H. 2000. Light-induced oxidative changes in a model dairy spread, wavelength dependence of quantum yields. J. Agric. Food Chem. 48: 3090-3094.

Hardy, R.W., Mugrditchain, D.S. and Iwaoka, W.T. 1983. Storage stability of lipids in a dry salmonid diet. Aquaculture. 34: 239-246.

Harris, P. and Tall, J. 1994. Rancidity in fish. **In** Rancidity in Foods. (eds. J.C. Allen and R.J. Hamilton) pp. 256-272. 3rd ed. London: Blackie Academic and Professional

IUPAC. 1979. Standard Methods for the Analysis of Oil, Fat and Derivative. 6th ed. Part I, Paris: Pergamon Press.

Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkami, A.D. and Madhavl, D.L. 1996. Lipid oxidation in biological and food systems. **In** Food Antioxidants (eds. D.L. Madhavl and S.S. Despende) pp. 5-64. New York : Marcel-Decker.

Lubis, Z. and Buckle, K.A. 1990. Rancidity and lipid oxidation of dried-salted sardines. Int. J. Food Sci. Technol. 25: 295-303.

Lundberg, W.O. 1966. Autoxidation and Antioxidation. 2ed ed. New York: Interscience.

Mai, J. and Kinsella, J.E. 1981 Changes in the lipid components of minced carp (*Cyprinus carpio*) following cooking. J. Sci. Food Agri. 32: 293-299.

Maleki, M. 1974. Validity of the 2- thiobarbituric acid test for the quantitative determination of rancidity in fats and oils. Fette Seifen Anstrichmittel. 76: 181-183.

Maruf, F.W., Ledward, D.A., Neale, R.J. and Poulter, R.G. 1990. Chemical and nutritional quality of Indonesian dried-salted mackerel. Int. J. Food Sci. Technol. 25: 66-77.

Melton, S.L. 1983. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. Food Technol. 38: 105-111.

Miller, D.D. 1996. Mineral. **In** Food Chemistry (ed. O.R. Fenema) pp. 618-649. New York: Marcel-Decker.

Nakayama, O.M., Osawa, T., Mendoza, E.N.T., Laurena, A.C. and Kawakishi, S. 1994. Comparative study of antioxidative assays of plant materials. **In** Postharvest Biochemistry of Plant Food Materials in the Tropics. I. Uritani (eds. V.V. Garcia and E.M.T. Mendoza) pp. 241-251. Japan: Japan Sciencetific Societies Press.

Opstvedt, J. 1985. Fish lipids in animal nutrition. IAFMM Tech. Bull. 22: 1-27.

Poulter, R.G. and Disney, J.G. 1978. Preparation of Protein Concentrates from Waste Fish. Paper presented at IPFE/FAO Conference on Fish Utilization. Technology and Marketing, Manila, Philippines.

Ranken, M.D. 1994. Rancidity in meat. **In** Rancidity in Foods. (eds. J.C. Allen and R.J. Hamilton) pp. 191-201. 3rd ed. London: Blackie Academic and Professional.

Rawls, H.R. and Van Santen, P.J. 1970. A possible role for singlet oxidation in the initiation of fatty acid autoxidation. J. Am. Oil Chem. Soc. 47: 121-125.

Rosas-Romero, A.J. and Morton, I.D. 1977. Competitive oxidation of fatty acids: effects of the carbonyl group and saturated fatty acids. J. Food Sci. Agric. 28: 921-926.

Sanders, T.A.B. 1987. Toxicological considerations in oxidative rancidity of animal fats. Food Sci. and Technol. Today 1: 162-164.

Shetty, T.S., Setty, T.M.R. and Ravishankar, C.N. 1991. Quality changes in Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during storage in chilled seawater. Fish. Technol. 28: 51-54.

Takiguchi, A. 1992. Lipid oxidation and brown discoloration in niboshi during storage at ambient and low temperature. Jap. Soc. Sci. Fish 58: 489-494.

Uchiyama, H. and Kakuba, K. 1973. Analytical Methods for Estimating Freshness of Fish. SEAFDEC Training Dept. Text/ Reference Book Southeast Asian Fisheries Development Center.

Younathan, M.T., Juat, K.O. and Yusof, R.B. 1983. Control of heat induced oxidative rancidity in refrigerated shark and mackerel. J. Food Sci. 48: 176-178.