

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๓/๒๕๖๖



Technical Paper No. 3/2023

การพัฒนากระบวนการผลิตปูม้าดองด้วยเทคโนโลยีการถนอมอาหารด้วยความดันสูง
Development of Marinated Raw Blue Swimming Crabs
Pasteurized by High Pressure Processing

สุทธินี สีสั่งข์
พิสิฐ วงศ์สง่าศรี

Sutthinee Seesung
Pisit Wongsangasri

กองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

กรมประมง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Fisheries Industrial Technology
Research and Development Division
Department of Fisheries

Ministry of Agriculture and Cooperatives

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๓/๒๕๖๖



Technical Paper No. 3/2023

การพัฒนาระบวนการผลิตปูม้าดองด้วยเทคโนโลยีการถนอมอาหารด้วยความดันสูง
Development of Marinated Raw Blue Swimming Crabs
Pasteurized by High Pressure Processing

สุทธินี สีสั่งข์
พิสิฐ วงศ์สง่าศรี

Sutthinee Seesung
Pisit Wongsangasri

กองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

Fisheries Industrial Technology
Research and Development Division

กรมประมง

Department of Fisheries

๒๕๖๖

2023

รหัสทะเบียนวิจัย 64 1 0703 64080 01

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์	5
วิธีดำเนินการ	5
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล	8
สรุปผลการทดลอง	19
เอกสารอ้างอิง	20
ภาคผนวก	23

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ลักษณะของปฏิกิริยาที่ต้องการค่าจำนวน 10 ยี่ห่อ	9
2	ปริมาณเชื้อของปฏิกิริยา	10
3	ปริมาณเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> ที่ลดลง (Log CFU/g) ในปฏิกิริยาที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง ที่อุณหภูมิน้ำตัวกลาง 5 ± 2 °C	12
4	คะแนนความชอบเฉลี่ยของผู้ทดสอบที่มีต่อปฏิกิริยาที่ฆ่าเชื้อด้วยความดัน 300 MPa นาน 10 นาที ด้วยผู้ทดสอบจำนวน 50 คน	14
5	คุณค่าทางอาหารของปฏิกิริยาที่ฆ่าเชื้อด้วยความดัน 300 MPa นาน 10 นาที (ปฏิกิริยา HPP)	15

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ปริมาณเกลือที่ดูดซึมในเนื้อปูม้าดองที่เวลาต่าง ๆ	11
2	ลักษณะของเนื้อปูม้าดองที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง ที่ความดัน 250, 300 และ 350 MPa เวลา 5, 10 และ 20 นาที เปรียบเทียบกับปูม้าดองควบคุมที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง	13
3	ปริมาณเชื้อทั้งหมดของปูม้าดองที่ฆ่าเชื้อด้วยความดัน 300 MPa นาน 10 นาที (HPP) เปรียบเทียบกับปูม้าดองที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง (Control) ในระหว่างการเก็บรักษา 0-19 วัน ที่อุณหภูมิ 5 ± 2 °C	16
4	ฉลากโภชนาการที่แสดงในรูปแบบเต็มและแบบย่อของปูม้าดองที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง ที่ความดัน 300 MPa นาน 10 นาที	17
5	ฉลากและบรรจุภัณฑ์ต้นแบบของปูม้าดอง HPP	18

การพัฒนากระบวนการผลิตปูม้าดองด้วยเทคโนโลยีการถนอมอาหารด้วยความดันสูง

สุทธินี สีสั่งข์* และ พิสิฐ วงศ์สง่าศรี
กองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตปูม้าดองที่มีคุณภาพและความปลอดภัย โดยใช้การฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง (High Pressure Processing, HPP) ศึกษาคุณภาพของปูม้าสดและปูม้าดอง สภาวะที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ของปูม้าดองด้วย HPP วิเคราะห์คุณภาพ และความปลอดภัยของปูม้าดอง และศึกษาอายุการเก็บรักษา เมื่อสำรวจปูม้าดองทางการค้าจำนวน 10 ยี่ห้อ พบว่า มีค่าเกลืออยู่ในช่วงร้อยละ 1.58-4.28 และทุกตัวอย่างตรวจไม่พบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในขณะที่ปูม้าสดตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค และเมื่อนำมาดองด้วยน้ำดองที่มีค่าเกลือร้อยละ 4.09 ในอัตราส่วนปูม้า ต่อ น้ำดองที่ 1:4 (w/v) พบว่า ปูม้าดองมีค่าเกลือเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 30 นาทีแรก และมีแนวโน้มคงที่ ตั้งแต่ 30 นาที-8 ชั่วโมง (ค่าเกลือร้อยละ 1.46-2.06) เมื่อนำปูม้าดองมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อ ด้วยความดันสูง โดยแปรค่าความดันที่ 250, 300 และ 350 MPa เวลาในการฆ่าเชื้อ 5, 10 และ 20 นาที ที่ 5 ± 2 °C พบว่า สามารถลดเชื้อ *V. parahaemolyticus* เริ่มต้น 6.84 ± 0.09 Log CFU/g และมีปริมาณลดลง อยู่ในช่วง 1.56-5.35 Log CFU/g โดยสภาวะที่เหมาะสม คือ ที่ความดัน 300 MPa นาน 10 นาที สามารถลดเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้ 2.72 Log CFU/g ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่ทำให้เนื้อปูม้าดองหืน หลังจากนั้นนำปูม้าดอง ที่ฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง (ปูม้าดอง HPP) มาทดสอบความชอบด้วยผู้บริโภคนับจำนวน 50 คน ด้านลักษณะปรากฏ การแยกเนื้อจากเปลือก เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม พบว่า ได้คะแนนความชอบระดับชอบมากถึง ชอบมากที่สุดในทุกคุณลักษณะ เมื่อวิเคราะห์ความปลอดภัยต่อการบริโภคและคุณภาพของปูม้าดอง HPP พบว่า มีค่าเชื้อเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2563) เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีพลังงานต่ำ ปราศจากไขมัน และไขมันอิ่มตัว เป็นแหล่งของโปรตีนและแคลเซียม อายุการเก็บรักษาปูม้าดอง HPP ที่ 5 ± 2 °C นาน 15 วัน ซึ่งเก็บได้นานกว่าปูม้าดองที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง 6 วัน (นานขึ้นร้อยละ 40) และมีราคาต้นทุนของ ผลิตภัณฑ์ที่น้ำหนักสุทธิ 255 กรัม (ปูม้าดอง 1 กล่อง) ประมาณ 120 บาท

คำสำคัญ: ปูม้า, การดอง, การแปรรูปด้วยความดันสูง

Development of Marinated Raw Blue Swimming Crabs Pasteurized by High Pressure Processing

Sutthinee Seesung* and Pisit Wongsangasri

Fisheries Industrial Technology Research and Development Division, Department of Fisheries

Abstract

The objective of this study was to improve the quality and safety of marinated raw blue swimming crabs by using High Pressure Processing (HPP). The quality of fresh and marinated raw blue swimming crabs were investigated. Also, the impact of HPP on reducing *Vibrio parahaemolyticus* inoculated in the marinated crabs, microbiological and nutritional specifications of the products, and their shelf life were studied. Ten brands of commercial marinated raw blue swimming crabs were surveyed, in aspect of salinity ranging from 1.58% to 4.28%, and *V. parahaemolyticus* which was not detected. Pathogens were also not detected in fresh blue swimming crabs. The crabs were submerged under marinade at 4.09% salinity, and the ratio of the crabs to marinade was 1:4 (w/v). The salinity increased rapidly at the first 30 minutes and pretty constant between 1.46% and 2.06% from 30 minutes to 8 hours. The optimal conditions of HPP to inactivate inoculated *V. parahaemolyticus* in the HPP crabs were analyzed by varying HPP at 250, 300 and 350 MPa for 5, 10 and 20 minutes at 5 ± 2 °C. The initial count of *V. parahaemolyticus* was 6.84 ± 0.09 Log CFU/g. The HPP treatments resulted in a reduction of 1.56-5.35 Log CFU/g. The optimal treatment was found to be 300 MPa and 10 minutes, which reduced the count of *V. parahaemolyticus* by 2.72 Log CFU/g and the crab meat was still not opaque. The sensory evaluation the appearance, peeling of meat crab, texture, and overall acceptance of the HPP crabs was conducted by 50 panelists. All attributes were accepted at range of “like very much” to “like extremely”. The HPP crabs were found to be safe according to Notification of The Ministry of Public Health (2020). The products were low in calories, nonfat, and without unsaturated fat, as well as a good source of protein and calcium. The shelf life was 15 days at 5 ± 2 °C, which was longer than the non-HPP crabs by 6 days (40% increase). The capital cost of a box of HPP crabs (255g of net weight) was 120 baht.

Keywords: blue swimming crabs, marinated, High pressure processing, HPP

*Corresponding author: 50 Kaset-klang Chatuchak, Bangkok 10900 Tel: 0-2940-6130-45 ext. 4408

E-mail: sutthinees@fisheries.go.th, m_sutthinee@hotmail.com

คำนำ

ปูม้า (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1758) เป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ พบมากในเขตชายฝั่งทั้งบริเวณทะเลอ่าวไทยและทะเลอันดามัน ปริมาณการจับปูม้าในปี 2564 มีปริมาณ 36,245 ตัน คิดเป็นมูลค่า 6,763 ล้านบาท โดยนำมาบริโภคสดร้อยละ 87.47 ขายสด แช่เย็น หรือแช่เยือกแข็ง ร้อยละ 10.33 และผลิตเป็นปูกระป๋อง ร้อยละ 2.20 (กองนโยบายและยุทธศาสตร์พัฒนาการประมง กรมประมง, 2565) เนื่องจากการบริโภคปูม้าทั้งภายในประเทศและการส่งออกมีความนิยมเพิ่มมากขึ้น กรมประมงมีนโยบายฟื้นฟูทรัพยากรปูม้าและส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะเลี้ยงปูม้าเพิ่มมากขึ้น เช่น การจัดทำธนาคารปูม้า การศึกษาวิจัยการเพาะเลี้ยงปูม้า การเพาะพันธุ์ลูกปูม้าคืนสู่ธรรมชาติ ปูม้านิยมนำมาบริโภคในรูปแบบต่าง ๆ เช่น ปูนึ่ง ปูคอง ปูนึ่ง และเนื้อปูแกะ ในปัจจุบันมีผู้บริโภคบางกลุ่มที่นิยมบริโภคปูม้าสดที่ผ่านกระบวนการดองด้วยน้ำปลาหรือซีอิ๊ว เพื่อปรุงแต่งรสชาติให้อร่อย ปูม้าที่นิยมรับประทานมีขนาดตัวละประมาณ 200-400 กรัม กระบวนการทำปูม้าต้องเป็นการนำปูม้ามาล้างทำความสะอาด นำไปดองในน้ำดองที่มีส่วนผสมหลัก คือ น้ำปลา น้ำตาล และน้ำเกลือรักษาในตู้เย็นหรือแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 1 คืน แล้วนำมารับประทานพร้อมน้ำจิ้ม แต่การรับประทานปูม้าดิบอาจเสี่ยงต่อการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารได้ โดยส่วนใหญ่จะตรวจพบเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการท้องเสียและอาหารเป็นพิษ เช่น *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. และ *Staphylococcus aureus* จากงานวิจัยของ ศศิธร และคณะ (2559) ได้สำรวจเนื้อปูต้มแกะจำหน่ายในตลาด 10 ยี่ห้อ ในเขตกรุงเทพฯ ระหว่างพฤศจิกายน 2557-มิถุนายน 2558 พบการปนเปื้อนของ *V. parahaemolyticus*, *S. aureus* และ *Salmonella* spp. ซึ่งไม่เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ส่วนงานวิจัยของ Cho et al. (2016) ได้ศึกษาการมีชีวิตรอดของเชื้อที่ทำให้เกิดอาการเป็นพิษในปูคองในซอสถั่วเหลืองปรุงรส พบว่า การเก็บรักษาปูในอุณหภูมิ 5 °C นาน 28 วัน เชื้อทุกตัวยังคงมีชีวิตหลังจากการหมัก (*E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *S. aureus* และ *Listeria monocytogenes*) ยกเว้น *V. parahaemolyticus* และสถาบันอาหาร (2562) ได้สำรวจปูคองจากตลาดจำนวน 5 ยี่ห้อ ทุกยี่ห้อตรวจพบ *V. parahaemolyticus* และยังพบ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ในปูคองอีกด้วย

V. parahaemolyticus เป็นแบคทีเรียที่พบการแพร่ระบาดในผู้ที่บริโภคอาหารทะเล ส่งผลให้เกิดโรคกระเพาะอาหาร และลำไส้อักเสบชนิดเฉียบพลัน ลักษณะของแบคทีเรียนี้เป็นชนิดแกรมลบ รูปท่อนไม่สร้างสปอร์ มีแฟลกเจลลาเพียงเส้นเดียวอยู่ที่ขั้วเซลล์ข้างใดข้างหนึ่ง สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจนที่อุณหภูมิ 9.5-45 °C เจริญในที่ที่มีความเค็มได้ ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่เจริญได้ คือ ร้อยละ 1-8 แต่เชื้อจะตายเมื่อมีค่าเกลือมากกว่าร้อยละ 10 (นฤมล, 2557) สามารถอยู่ได้ที่อุณหภูมิต่ำ เช่น ในเนื้อปู (1-15 °C) นาน 30 วัน กุ้งปอกเปลือก (3-18 °C) นาน 6 วัน หอยนางรมแช่เยือกแข็งนาน 40-130 วัน เชื้อถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 15 นาที และค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตคือ 5-11 แต่เชื้อสามารถถูกทำลายได้ด้วยกรดมะนาว (Citric acid) ที่ pH 4.4 ในเวลาเพียง 30 นาที มักพบในน้ำทะเลและน้ำกร่อย บริเวณผิวดินและผิวของสัตว์ทะเล เช่น กุ้ง หอย ปู และปลา (อิสมีย์ และคณะ, 2560)

การใช้เทคโนโลยีที่ไม่ใช้ความร้อน (Non-Thermal process) ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ที่ต้องการบริโภคดิบหรือเสื่อมสภาพได้ง่ายเมื่อได้รับความร้อน เช่น น้ำผลไม้ กุ้งลอบสเตอร์

หอยนางรม ปู ปลา และซูริมิ วิธีหนึ่งที่ยิมนำมาใช้ในการฆ่าเชื้อทดแทนการใช้ความร้อน ได้แก่ วิธีการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูงหรือการถนอมอาหารด้วยความดันสูง (High Pressure Processing, HPP) ซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่ใช้ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย จุลินทรีย์ก่อโรค (Pathogen) และเอนไซม์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียได้ จัดได้ว่าเป็นวิธีพาสเจอร์ไรซ์แบบเย็น (Cold pasteurization) อีกวิธีหนึ่ง หลักการทำงานของ การฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง จะใช้ของเหลว เช่น น้ำ หรือ กลีเซอรอล เป็นตัวกลางในการส่งถ่ายพลังงานกลจากแรงดันสู่ชิ้นอาหารอย่างสม่ำเสมอเท่ากันทุกจุด จึงสามารถทำลายจุลินทรีย์ด้วยการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้โปรตีนและเอนไซม์เสียสภาพ การสังเคราะห์ดีเอ็นเอและสารพันธุกรรมอื่น ๆ ไม่สมบูรณ์ (Yoshioka and Yamamoto, 1998) ความดันที่ใช้ประมาณ 100-900 MPa ซึ่งสูงกว่าความดันบรรยากาศ (APEC, 2017) โดยใช้เวลาในการทำงานอยู่ในช่วง 2-30 นาที ที่อุณหภูมิห้องหรือต่ำกว่า เมื่อความดันเพิ่มขึ้นทุก ๆ 100 MPa อุณหภูมิของอาหารจะเพิ่มขึ้นประมาณ 3 °C และจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อความดันลดลงจนถึงความดันบรรยากาศปกติ ทำให้ตัวอย่างอาหารมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นเล็กน้อย จึงเป็นการรักษาคุณภาพของอาหารให้มี สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และคุณค่าทางอาหารที่คงเดิม (สุพรรณิ, 2546; วิริยา, 2553) มีผลการศึกษาการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูงเพื่อฆ่าเชื้อในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำหลายชนิด ดังเช่น López-caballero *et al.* (2000) ได้ศึกษาการใช้ความดัน 400 MPa ที่อุณหภูมิ 7 °C นาน 10 นาที เพื่อฆ่าเชื้อในหอยนางรม พบว่า สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ และสามารถเพิ่มอายุการเก็บรักษาหอยนางรมที่อุณหภูมิ 2 °C ได้นาน 28 วัน แต่หอยนางรมมีค่าแรงเฉือนสูงขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง Cook (2003) ศึกษาความดันที่ 300 MPa นาน 3 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* O3:K6 ในหอยนางรมได้มากกว่า 5 Log CFU/g Phuvasate and Su (2015) ศึกษาหอยนางรมในน้ำเกลือร้อยละ 2 ที่เติมเชื้อ *V. parahaemolyticus* เมื่อนำมาฆ่าเชื้อด้วย HPP ที่ความดัน 250 MPa ที่ 5 °C นาน 5 นาที สามารถลดเชื้อได้มากกว่า 7.4 Log CFU/g Mohamed *et al.* (2015) ได้ศึกษาการใช้ความดันที่ 345 MPa นาน 5 นาที ในกุ้งและปูทะเล พบว่า ทำให้เนื้อสัมผัสมีความแข็งมากขึ้น แต่เนื้อปูแกะออกจากกระดองได้ง่ายเมื่อเทียบกับการไม่ใช้แรงดัน Martínez *et al.* (2017) ศึกษาการใช้ความดันที่ 100 และ 300 MPa (10 °C นาน 5 นาที) ในปูทะเล ส่งผลให้ผลผลิตของการแกะเนื้อปูเพิ่มขึ้น และผู้ทดสอบให้การยอมรับเนื้อปูทะเลที่ผ่านความดัน 300 MPa มากที่สุด Teixeira *et al.* (2014) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อเนื้อปลากะพงแลในการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง ได้แก่ ความดัน เวลา และอัตราการให้ความดัน พบว่า การใช้ความดันที่ 250-400 MPa ในเวลา 0-30 นาที จะทำให้เนื้อปลาขาวขุ่นมากขึ้น ความสามารถในการดูดน้ำลดลง ค่า pH เพิ่มขึ้น และสามารถลดปริมาณเชื้อได้มากขึ้น ที่ 400 MPa นาน 30 นาที ปริมาณเชื้อลดลง 2 Log CFU/g ทำให้ปลากะพงมีอายุการเก็บเพิ่มขึ้น Ramirez-Suarez and Morrissey (2006) ศึกษาอายุการเก็บ ของเนื้อปลาทูน่าบดที่ใช้ความดันที่ระดับ 275 และ 310 MPa นาน 2, 4 และ 6 นาที พบว่า สามารถยืดอายุการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C ได้นานมากกว่า 22 วัน และ -20 °C ได้นานมากกว่า 93 วัน แต่การเพิ่มความดันจะส่งผลให้โปรตีนในกล้ามเนื้อปลาเกิดเจล จึงทำให้เนื้อปลามีค่าความแข็งเพิ่มขึ้น

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง (HPP) เพื่อนำมาใช้ในการแก้ปัญหาการบริโภคปูม้าดองแบบดิบที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ เพื่อให้ปูม้าดองมีความปลอดภัยต่อการบริโภค และรักษาคุณภาพทั้งทางด้านสี เนื้อสัมผัส และลักษณะปรากฏ ของปูม้าดองให้ใกล้เคียงกับของสดมากที่สุด อีกทั้งสามารถยืดอายุการเก็บรักษาปูม้าดองให้นานขึ้น

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตปุ๋ยม้าต้องด้วยกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูงเพื่อให้ปุ๋ยม้าต้องมีคุณภาพและความปลอดภัย
2. เพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาของปุ๋ยม้าต้องที่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง

วิธีดำเนินการ

1. วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ

1.1 วัตถุดิบ

1.1.1 ปุ๋ย เพศผู้ ขนาดประมาณ 10 ตัวต่อกิโลกรัม จากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสมุทรสาคร และตลาดยิ่งเจริญ กรุงเทพฯ นำปุ๋ยมาสตมาบรรจุในถังฉนวนที่มีน้ำแข็ง ขนส่งมายังกองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง

1.1.2 น้ำปลาแท้ ยี่ห้อตราชูตราช้าง

1.1.3 น้ำตาลมะพร้าว ยี่ห้อลิน

1.1.4 เชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

1.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.2.1 Plate Count Agar ยี่ห้อ Oxoid

1.2.2 Baird-Parker Agar Base ยี่ห้อ Oxoid

1.2.3 Lauryl Tryptose Broth ยี่ห้อ Oxoid

1.2.4 E.C. Broth ยี่ห้อ Oxoid

1.2.5 Eosin Methylene Blue Agar ยี่ห้อ Oxoid

1.2.6 Tetrathionate Broth Base ยี่ห้อ Oxoid

1.2.7 Selenite Cystine Broth ยี่ห้อ Oxoid

1.2.8 Modified Semi-solid Rappaport Vassiliadis ยี่ห้อ Oxoid

1.2.9 Brilliant Green Agar ยี่ห้อ Oxoid

1.2.10 Bismuth Sulphite Agar ยี่ห้อ Oxoid

1.2.11 Alkaline Peptone Water ยี่ห้อ Oxoid

1.2.12 Tryptone Soya Agar ยี่ห้อ Oxoid

1.2.13 Tryptone Soya Broth ยี่ห้อ Oxoid

1.3 วัสดุและเครื่องมือ

1.3.1 ถังพลาสติก ชนิดไนลอน/พอลิเอทิลีน หนา 150 ไมครอน ขนาดกว้างxยาว เท่ากับ 12.5x15 เซนติเมตร ขยายข้าง 5 เซนติเมตร

1.3.2 เครื่องฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง (HPP) ยี่ห้อ BaoTou KeFa High Pressure Technology รุ่น HPP600MPa5L

2. วิธีดำเนินงาน

2.1 การสำรวจคุณภาพปูม้าต้องทางการค้า

สำรวจปูม้าต้องทางการค้าจำนวน 10 ยี่ห้อ แบบแช่เย็น 5 ยี่ห้อและแบบแช่เยือกแข็ง 5 ยี่ห้อ นำมาวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ได้แก่ ลักษณะของปูม้าต้อง ค่าเกลือ ตามวิธี AOAC (2019) และปริมาณเชื้อ *V. Parahaemolyticus* ตามวิธี BAM (2004)

2.2 การศึกษาคุณภาพของปูม้าสดและวิธีการผลิตปูม้าต้อง

2.2.1 การศึกษาคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยาของปูม้าสด

นำปูม้าสดจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสมุทรสาคร มาวิเคราะห์ปริมาณ จุลินทรีย์ ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM, 2001a), *Escherichia coli* (BAM, 2020), *Salmonella* spp. (ISO 6579-1, 2017), *Staphylococcus aureus* (BAM, 2016), *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio cholerae* (BAM, 2004) เปรียบเทียบกับมาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2560) เรื่องเนื้อสดของสัตว์น้ำแช่เย็น หรือแช่เยือกแข็ง ทดลอง 3 ซ้ำ

2.2.2 การศึกษาการแพร่ของเกลือในน้ำต้องเข้าสู่เนื้อปูม้า

วิธีการเตรียมปูม้าต้อง นำปูม้าสดมาแกะกระดองและเหงือกปูออก ล้างทำความสะอาด และขัดด้วยแปรงขนาดเล็ก ทูบก้ามให้แตกเล็กน้อย นำโชดาที่แช่เย็นมาแช่ปูม้า นาน 1 นาที วางให้สะเด็ดน้ำ 1 นาที นำปูม้าที่ทำความสะอาดแล้วมาใส่ในถุงพลาสติก เติมน้ำต้องที่ส่วนผสมดัดแปลงจากสูตรทางการค้า ประกอบด้วยน้ำปลา:น้ำตาลมะพร้าว:น้ำ โดยน้ำหนัก เท่ากับ 1:1:4 สัดส่วนของปูม้าต่อน้ำต้อง เท่ากับ 1:4 (w/v) ศึกษาการแพร่ของเกลือในน้ำต้องที่มีต่อเนื้อปูม้า นาน 0-8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 5 ± 2 °C วิเคราะห์ค่าเกลือ ในเนื้อปูม้าที่เวลา 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6 และ 8 ชั่วโมง ทดลอง 3 ซ้ำ

2.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตปูม้าต้องด้วยกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูงเพื่อให้ปูม้าต้องมีคุณภาพและความปลอดภัย

2.3.1 ศึกษาผลของความดันที่มีต่อปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* และลักษณะทางกายภาพของปูม้าต้อง

ปูม้าต้องจากข้อ 2.2 นำมาเติมเชื้อ (Inoculation) *V. parahaemolyticus* ที่ถูกเตรียมเชื้อ ดังภาคผนวกที่ 1 แช่ปูม้าในน้ำต้องนาน 30 นาที ปูม้าจะมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 CFU/g ศึกษาสภาวะในการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง (HPP) โดยแปรสภาวะความดัน 3 ระดับ คือ 250, 300 และ 350 MPa เวลาในการฆ่าเชื้อ 3 ระดับ คือ 5, 10 และ 20 นาที แล้วนำมาศึกษาการลดลงของปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* และลักษณะทางกายภาพ เปรียบเทียบกับปูม้าต้องที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง (Control) ทดลอง 3 ซ้ำ เลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตปูม้าต้อง HPP ไปทดลองในขั้นตอนต่อไป

2.3.2 ศึกษาคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของปูม้า凍ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง

ทดสอบความชอบที่มีต่อปูม้า凍ที่ฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง (ปูม้า凍 HPP) จากข้อ 2.3.1 (ไม่มีการเติมเชื้อ *V. parahaemolyticus*) โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 50 คน ด้วยแบบทดสอบการประเมินทางประสาทสัมผัส (ภาคผนวกที่ 4) ให้คะแนนความชอบแบบ Hedonic scale 1-9 คะแนน (9 คะแนน คือ ชอบมากที่สุด และ 1 คะแนน คือ ไม่ชอบมากที่สุด) วิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยของความชอบทางด้านลักษณะปรากฏของเนื้อปู การแยกเนื้อปูจากเปลือก เนื้อสัมผัสของเนื้อปู และความชอบโดยรวม

2.4 การศึกษาคุณภาพและความปลอดภัยของปูม้า凍ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง

ปูม้า凍 HPP จากข้อ 2.3.2 นำมาตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2563) เรื่องอาหารทะเลที่บริโภคในลักษณะสดหรือดิบที่บรรจุในภาชนะบรรจุพร้อมจำหน่าย โดยวิเคราะห์เชื้อ *S. aureus* (BAM, 2016), *Bacillus cereus* (BAM, 2012), *Clostridium perfringens* (BAM, 2001b), *Salmonella* spp. (ISO 6579-1, 2017), *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* (BAM, 2004) ทดลอง 2 ซ้ำ และวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร ประกอบด้วย พลังงานทั้งหมด โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ใยอาหาร เถ้า ความชื้น วิตามินเอ วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 แคลเซียม เหล็ก น้ำตาล และโซเดียม วิเคราะห์โดยบริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด กรุงเทพมหานคร

2.5 การศึกษาอายุการเก็บรักษาปูม้า凍 HPP

ศึกษาอายุการเก็บรักษาของปูม้า凍 HPP จากข้อ 2.4 โดยนำปูม้า凍บรรจุในถุงพลาสติกจำนวน 2 ชั้น นำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 ± 2 °C นาน 19 วัน ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ทั้งหมดตามวิธี BAM (2001a) ในระหว่างการเก็บรักษาในวันที่ 0, 3, 5, 7, 9, 12, 15 และ 19 เปรียบเทียบกับปูม้า凍ที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง (Control) ทดลอง 2 ซ้ำ

2.6 การผลิตปูม้า凍 HPP ต้นแบบ พร้อมบรรจุภัณฑ์

ผลิตปูม้า凍ตามข้อ 2.5 วิเคราะห์คุณค่าทางอาหารและจัดทำฉลากโภชนาการของปูม้า凍 HPP รูปแบบเดิมและแบบย่อตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2541) เรื่อง ฉลากโภชนาการ วิเคราะห์โดยบริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด แล้วนำมาออกแบบฉลากและบรรจุภัณฑ์ต้นแบบของปูม้า凍 HPP ตามข้อกำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2557) เรื่อง การแสดงฉลากของอาหารในภาชนะบรรจุ

2.7 วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ โดยการจัดสิ่งทดลองแฟคทอเรียลแบบ 3×3 (3×3 Factorial in RCBD) ด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการทางสถิติแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

1. ผลการสำรวจคุณภาพปูม้าดองทางการค้า

จากการสำรวจปูม้าดองทางการค้าจำนวน 10 ยี่ห้อ ได้แก่ ปูม้าดองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นจำนวน 5 ยี่ห้อ และแช่เยือกแข็งจำนวน 5 ยี่ห้อ ลักษณะของปูม้าดอง ค่าเกลือ และปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* แสดงดังตารางที่ 1 พบว่า ปูม้าดองแบบแช่เย็นทั้ง 5 ยี่ห้อ มีเนื้อสัมผัสที่นุ่มและ เนื้อปูมีรสชาติเค็มมาก ค่าเกลืออยู่ในช่วงร้อยละ 2.31-4.28 ส่วนปูม้าดองแบบแช่เยือกแข็งทั้ง 5 ยี่ห้อ หลังจากละลายน้ำแช่ เนื้อปูมีลักษณะเหมือนวุ้น นุ่ม ยืดหยุ่น ไม่เค็ม มีความสดมากกว่า และรสชาติเค็มพอเหมาะ ค่าเกลืออยู่ในช่วงร้อยละ 1.58-3.16 ปูม้าดองทุกยี่ห้อตรวจไม่พบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ปูม้าดองที่เก็บรักษาทั้ง 2 แบบมีความแตกต่างกันที่ลักษณะเนื้อสัมผัสของปูม้าดอง ซึ่งปูม้าดองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นเนื้อสัมผัสจะนุ่มและกว่า อาจเกิดจากการย่อยสลายของจุลินทรีย์ปฏิกิริยาเคมี และเอนไซม์ภายในเนื้อปูม้า (Autolysis) ถึงแม้ว่าการเก็บรักษาแบบแช่เย็นสามารถทำให้จุลินทรีย์มีช่วงพักตัว (Lag phase) สั้นลง และอัตราการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (Log phase) ช้าลง เป็นเพียงการชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เท่านั้น นอกจากนี้ ค่าเกลือในผลิตภัณฑ์ไม่สูงมากพอที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ทำให้กระบวนการย่อยสลายทั้งจากจุลินทรีย์ เคมี และเอนไซม์ ยังคงสามารถเกิดขึ้นได้ในระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่งก่อนถึงมือผู้บริโภค ส่งผลให้เนื้อสัมผัสนุ่มและ (นฤมล, 2557; Cho *et al.*, 2016) ส่วนการแช่เยือกแข็ง เป็นการทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งขึ้นในอาหาร จึงช่วยลดค่า a_w และยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ หยุดการเปลี่ยนแปลงจากปฏิกิริยาเคมีและเอนไซม์ จึงทำให้รักษาคุณภาพของอาหารได้ยาวนานกว่า ถึงแม้ว่าการแช่เยือกแข็งปูม้าดองจากผู้ประกอบการส่วนมาก เป็นการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็งในตู้แช่เยือกแข็ง (-18 °C) ไม่ได้ผ่านระบบการแช่เยือกแข็งระดับอุตสาหกรรมที่มีอัตราการแช่เยือกแข็งที่รวดเร็ว ซึ่งการแช่เยือกแข็ง ในตู้เย็นเป็นการแช่เยือกแข็งแบบช้า ทำให้ผลึกน้ำแข็งมีขนาดใหญ่ คุณภาพเนื้อสัมผัสจะลดลง ถ้าเก็บรักษาเป็นเวลานาน (สุทธวัฒน์, 2554) แต่เนื่องจากปูม้าดองแช่เยือกแข็งนิยมผลิตและจำหน่ายในระยะเวลานั้น ๆ ทำให้ผลของขนาดผลึกน้ำแข็งไม่มีผลต่อเนื้อสัมผัสของปูม้าดองมากนัก เนื้อสัมผัสไม่เค็ม และคงคุณภาพความสด อย่างไรก็ตาม ข้อดีของการแช่เย็น คือ ประหยัดค่าใช้จ่ายในการเก็บรักษา และการขนส่ง ผู้บริโภคได้รับประทานอาหารที่สดใหม่ เนื้อสัมผัสดีกว่าหากมีการควบคุมอุณหภูมิที่ดี และไม่ต้องผ่านการละลายก่อนรับประทาน สูญเสียวิตามินและแร่ธาตุน้อย ทำให้สามารถรักษาคุณภาพของอาหารในระยะเวลานั้น ๆ ได้

ตารางที่ 1 ลักษณะของปูม้าตองทางการค้าจำนวน 10 ยี่ห้อ

ยี่ห้อ	รูปแบบ การขาย	ลักษณะ ภาชนะบรรจุ	ลักษณะปูม้าตอง	ค่าเกลือ (%wb)	การตรวจพบ <i>V. parahaemolyticus</i>
1	แช่เย็น			3.74	ไม่พบ
2	แช่เย็น			2.59	ไม่พบ
3	แช่เย็น			2.85	ไม่พบ
4	แช่เย็น			2.31	ไม่พบ
5	แช่เย็น			4.28	ไม่พบ
6	แช่เยือกแข็ง			1.58	ไม่พบ
7	แช่เยือกแข็ง			3.00	ไม่พบ
8	แช่เยือกแข็ง			1.73	ไม่พบ
9	แช่เยือกแข็ง			3.16	ไม่พบ
10	แช่เยือกแข็ง			2.27	ไม่พบ

2. ผลการศึกษาคุณภาพของปูม้าสดและวิธีการผลิตปูม้าดอง

2.1 คุณภาพทางด้านจุลชีววิทยาของปูม้าสด

นำปูม้าสดมาวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์แสดงดังตารางที่ 2 พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและเชื้อก่อโรคในปูม้าสดเป็นไปตามมาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2560) เรื่อง เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหารฉบับที่ 3 เรื่องอาหารดิบ (1.2 เนื้อสดของสัตว์น้ำแช่เย็นหรือแช่เยือกแข็ง เช่น กุ้ง ปลา ปู เป็นต้น) แสดงว่า ปูม้าสดมีความปลอดภัย สามารถนำมาบริโภคแบบสดซึ่งเหมาะสมต่อการนำมาเป็นวัตถุดิบในการทำผลิตภัณฑ์ปูม้าดอง

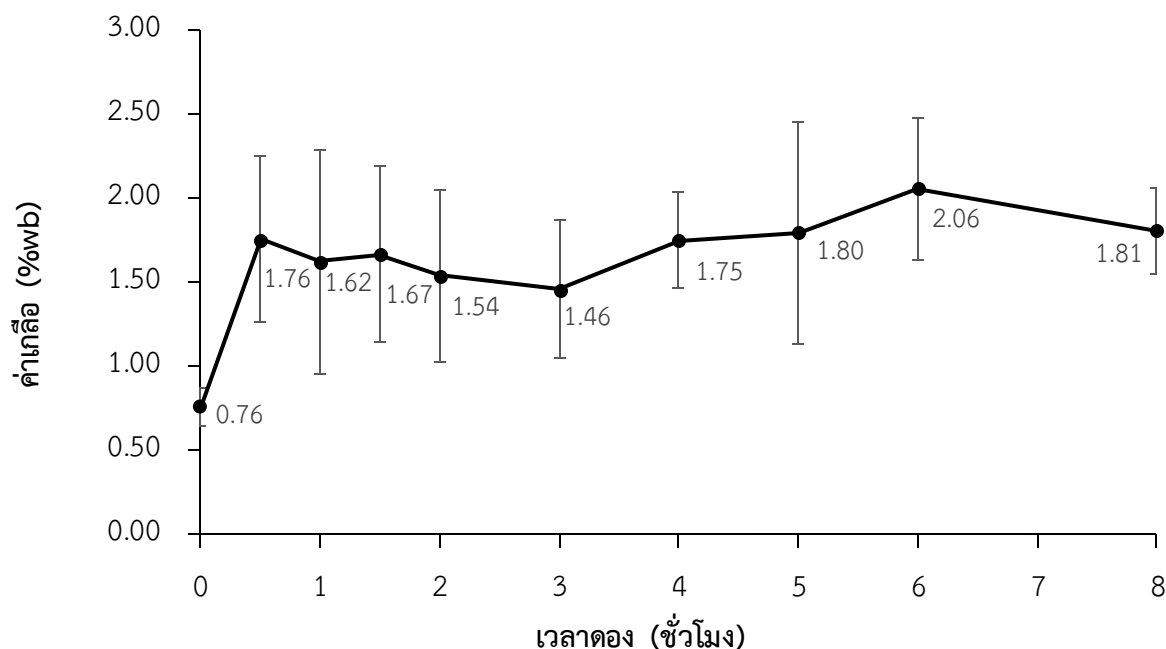
ตารางที่ 2 ปริมาณเชื้อของปูม้าสด

ชนิดเชื้อ	ผลการวิเคราะห์	มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*
จำนวนจุลินทรีย์ (CFU/g)	9.6×10^2	น้อยกว่า 1×10^6
<i>E. coli</i> (MPN/g)	<3	น้อยกว่า 10
<i>Salmonella</i> spp. (/25 g)	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>V. cholerae</i> (/25 g)	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>S. aureus</i> (CFU/g)	<10	น้อยกว่า 100
<i>V. parahaemolyticus</i> (/25 g)	ไม่พบ	-

*ที่มา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2560) อ้างอิงข้อ 1.2 เนื้อสดของสัตว์น้ำแช่เย็นหรือแช่เยือกแข็ง

2.2 การศึกษาการแพร่ของเกลือในน้ำดองเข้าสู่เนื้อปูม้า

น้ำดองดัดแปลงจากสูตรทางการค้า ที่มีส่วนผสมของน้ำปลา:น้ำตาลมะพร้าว:น้ำ เท่ากับ 1:1:4 นำมาวิเคราะห์ค่าเกลือ พบว่า น้ำดองมีค่าเกลือร้อยละ 4.09 ± 0.04 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าเกลือในเนื้อปูม้าระหว่างการดองของปูม้าต่อน้ำดอง เท่ากับ 1:4 (w/v) นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 5 ± 2 °C ตรวจสอบค่าเกลือในเนื้อของปูม้าที่เวลา 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6 และ 8 ชั่วโมง (ภาพที่ 1) พบว่า จากการดองปูม้าที่ 30 นาที เนื้อปูม้าดองดูดซึมเกลือจากน้ำดองอย่างรวดเร็ว ทำให้ค่าเกลือเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0.76 ± 0.12 เป็นร้อยละ 1.76 ± 0.49 เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาออสโมซิสของเกลือ เมื่อดองปูม้าจนถึง 8 ชั่วโมง ค่าเกลือในเนื้อปูม้ามีแนวโน้มคงที่ ซึ่งค่าเกลือไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ตั้งแต่ 30 นาที ถึง 8 ชั่วโมง เนื้อปูม้าสามารถดูดซึมค่าเกลืออยู่ในช่วงร้อยละ 1.46 ± 0.41 ถึง 2.06 ± 0.42 (ภาคผนวกที่ 2) อย่างไรก็ตาม ระดับความเข้มข้นของเกลือที่มากกว่าร้อยละ 10 จึงจะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (นฤมล, 2557) ดังนั้น ปูม้าดองที่มีปริมาณเกลือสูงสุดร้อยละ 2.06 ± 0.42 จึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ แต่เป็นการปรุงแต่งรสชาติของปูม้าดองให้อร่อยมากขึ้น Cho et al. (2016) ศึกษาการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ก่อโรคในปูดองในซอสถั่วเหลืองแบบเกาหลี พบว่า ปูดองที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C และ 22 °C นาน 28 วัน ตรวจพบแบคทีเรียก่อโรค โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *L. monocytogenes* และ *S. aureus* แสดงว่า น้ำดองไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้



ภาพที่ 1 ปริมาณเกลือที่ดูดซึมในเนื้อป๊อมาดองที่เวลาต่าง ๆ

3. ผลของการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตป๊อมาดองด้วยกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูงเพื่อให้ป๊อมาดองมีคุณภาพและความปลอดภัย

3.1 ผลของความดันที่มีต่อปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* และลักษณะทางกายภาพของป๊อมาดอง

จากการทดลองเบื้องต้นเพื่อกำหนดค่าความดันและเวลาในการฆ่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ไม่ทำให้ลักษณะทางกายภาพของป๊อมาดองเปลี่ยนแปลงนั้น ได้ทดลองผลิตป๊อมาดอง HPP ที่ความดัน 350-600 MPa เวลา 15 วินาที-30 นาที พบว่า ที่ความดันมากกว่า 350 MPa 30 นาที ทำให้เนื้อป๊อมาดองมีสีขาวขุ่นมีลักษณะเหมือนเนื้อปูสุก แต่เนื้อปูไม่มีลักษณะเป็นวุ้นใส เหมือนเนื้อปูดิบทั่วไป เนื้อเกาะกันแน่นขึ้นเล็กน้อย ทำให้แกะออกจากเปลือกปูได้ง่าย จึงกำหนดค่าความดันที่ใช้ในการทดลองให้น้อยกว่า 350 MPa นาน 30 นาที ดังนั้นจากการทดลองนี้จึงเลือกใช้ความดันที่ 250, 300 และ 350 MPa เพื่อใช้ศึกษาการฆ่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในป๊อมาดอง โดยนำป๊อมาดองมา Inoculation เชื้อ *V. parahaemolyticus* ให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6.84 ± 0.09 Log CFU/g และศึกษาสภาวะในการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง โดยใช้เครื่อง High Pressure Processing (HPP) ที่ระดับความดัน 250, 300 และ 350 MPa เวลา 5, 10 และ 20 นาที ควบคุมอุณหภูมิของน้ำตัวกลางในเครื่องที่ 5 ± 2 °C พิจารณาปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ลดลงของป๊อมาดองแต่ละสภาวะดังตารางที่ 3 พบว่าจากสภาวะที่ใช้ในการศึกษาสามารถลดปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้ในช่วง 1.56-5.35 Log CFU/g จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติ (ภาคผนวกที่ 3) ไม่มีอิทธิพลร่วมกันระหว่างความดันและเวลาในการฆ่าเชื้อ และไม่มีผลจาก Block ต่อการทดลอง ($p > 0.05$) จึงพิจารณาปัจจัยหลักของการทดลองแยกจากกัน ได้แก่ ความดันและเวลาในการฆ่าเชื้อ โดยความดันที่ใช้ในการฆ่าเชื้อทั้ง 3 สภาวะ ส่งผลให้ปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* ลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) การฆ่าเชื้อที่ความดัน 350 MPa สามารถลดปริมาณเชื้อได้มากที่สุด ในขณะที่ความดัน 250 MPa ลดปริมาณเชื้อได้น้อยที่สุด ส่วนเวลาในการฆ่าเชื้อ

ที่ 20 นาที่ สามารถลดปริมาณเชื้อได้มากที่สุด ในขณะที่การใช้เวลาในการฆ่าเชื้อที่ 5 และ 10 นาที่ มีปริมาณเชื้อลดลงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ 10 นาที่ มีแนวโน้มสามารถลดปริมาณเชื้อได้มากกว่า เนื่องจากความดันจะทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane) ของจุลินทรีย์ ทำให้สารพันธุกรรม เช่น DNA, Ribosome และกรดนิวคลีอิก ที่อยู่ภายในเซลล์รั่วออกมา อีกทั้งยังทำให้เอนไซม์ภายในเซลล์เสียสภาพ และเกิดการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์จึงหยุดการเจริญเติบโตและตายได้ โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมลบอย่างเช่น *V. parahaemolyticus* ที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของความดันมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Murchie *et al.*, 2005)

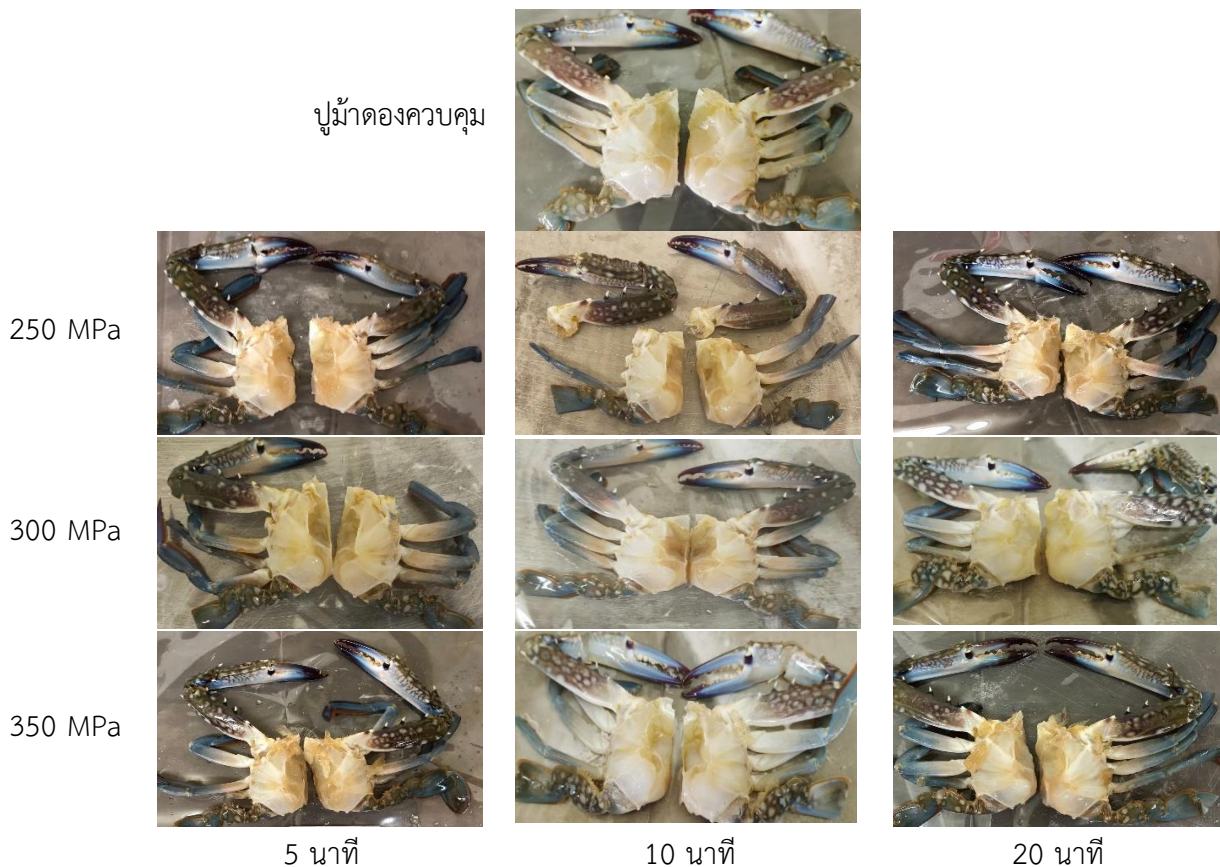
ตารางที่ 3 ปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ลดลง (Log CFU/g) ในปูม้าแดงที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูงที่อุณหภูมิน้ำตัวกลาง 5 ± 2 °C

ความดัน (MPa)	เวลาในการฆ่าเชื้อ (นาที่)			ค่าเฉลี่ย
	5	10	20	
250	1.56 $\pm$ 0.17	2.02 $\pm$ 0.32	2.58 $\pm$ 0.50	2.05 $\pm$ 0.54 ^C
300	2.51 $\pm$ 0.54	2.72 $\pm$ 0.50	3.66 $\pm$ 0.27	2.96 $\pm$ 0.66 ^B
350	3.33 $\pm$ 0.25	4.07 $\pm$ 0.25	5.35 $\pm$ 1.23	4.25 $\pm$ 1.09 ^A
ค่าเฉลี่ย	2.47 $\pm$ 0.83 ^b	2.94 $\pm$ 0.95 ^b	3.86 $\pm$ 1.39 ^a	

^{A-C} ตัวอักษรต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

^{a,b} ตัวอักษรต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

จากการศึกษาลักษณะของเนื้อปูม้าแดงหลังการฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง HPP (ภาพที่ 2) พบว่า ความดัน 350 MPa ในทุกช่วงเวลา เนื้อปูม้าแดงบางส่วนมีลักษณะเนื้อสีขาวขุ่น คล้ายกับเนื้อปูสุก เช่นเดียวกับการใช้ความดัน 300 MPa นาน 20 นาที่ ส่วนความดัน 250 MPa ในทุกช่วงเวลา และ 300 MPa นาน 5 และ 10 นาที่ ยังคงมีลักษณะของเนื้อปูม้าแดงใกล้เคียงกับปูม้าแดงควบคุมที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง Yoshioka and Yamamoto (1998) อธิบายว่า ความดันจะส่งผลให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีน เกิดการแตกตัวของเส้นใยไมโอซิน และส่งผลให้แอคตินเกาะตัวกันแน่นขึ้น จึงเป็นสาเหตุให้เนื้อปูเกิดความขุ่น โดยความดัน 100-300 MPa สังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงนี้ได้ยาก แต่เห็นได้อย่างชัดเจนมากเมื่อใช้ความดันสูงกว่า 500 MPa สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mohamed *et al.* (2015) อธิบายว่า ที่ความดัน 300 MPa ทำให้โปรตีนในกล้ามเนื้อของปู โดยเฉพาะโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ เกิดการคลายเกลียวโปรตีน และทำให้โปรตีนเสียสภาพ แต่ถ้าใช้ความดันสูงกว่า 300 MPa ส่งผลให้เกิดการเสียสภาพที่รุนแรง โปรตีนในกล้ามเนื้อเกิดการจัดเรียงตัวเป็นเจลที่ขุ่นที่มากขึ้นในการศึกษาครั้งนี้ เมื่อใช้ความดันที่ 350 MPa จึงเป็นสาเหตุให้เนื้อปูเกิดความขุ่น



ภาพที่ 2 ลักษณะของเนื้อปูม้าดองที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง ที่ความดัน 250, 300 และ 350 MPa เวลา 5, 10 และ 20 นาที เปรียบเทียบกับปูม้าดองควบคุมที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง

ถึงแม้ว่าการใช้ความดันที่ 350 MPa จะสามารถลดปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้มากที่สุด (3.33-5.35 Log CFU/g) แต่ขณะเดียวกันก็ส่งผลให้เนื้อของปูม้าดองมีสีขาวขุ่นมากที่สุด ดังนั้น จึงเลือกใช้ความดันที่ 300 MPa และเวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตปูม้าดอง HPP เนื่องจากเป็นสภาวะที่สามารถลดปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้มากที่สุด (2.72 Log CFU/g) ที่ไม่ทำให้เนื้อปูม้าดองเกิดสีขุ่น ซึ่งจากการสุ่มตัวอย่างที่วางจำหน่ายในกรุงเทพมหานคร ยะลา และปัตตานี พบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ไม่เกิน 4 Log CFU/g (สุรีย์ และคณะ, 2556; อิศมีย์ และคณะ, 2560) ดังนั้น การใช้สภาวะที่ 300 MPa นาน 10 นาที สามารถฆ่าเชื้อให้อยู่ในเกณฑ์กำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2563) ที่ระบุว่า ควรพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* น้อยกว่า 2 Log CFU/g ทั้งนี้ ผู้ผลิตควรให้ความสำคัญกับคุณภาพของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต ปูม้าควรมีความสด และมาจากแหล่งที่ถูกสุขลักษณะ เพื่อให้มั่นใจว่าการปนเปื้อนเชื้อก่อโรครอยู่ในระดับต่ำ

3.2 ผลของคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของปูม้าดองที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง

จากการนำปูม้าดองจากข้อ 3.1 ที่ฆ่าเชื้อด้วยความดัน 300 MPa นาน 10 นาที (ปูม้าดอง HPP) มาประเมินความชอบกับผู้ทดสอบจำนวน 50 คน เป็นเพศชาย 5 คน (ร้อยละ 10) และเพศหญิง 45 คน (ร้อยละ 90) ระดับอายุ 19-25 ปี 5 คน (ร้อยละ 10), 26-39 ปี 26 คน (ร้อยละ 52), 40-59 ปี 18 คน (ร้อยละ 36) และมากกว่า 60 ปี 1 คน (ร้อยละ 2) ระดับการศึกษา ต่ำกว่าปริญญาตรี 4 คน (ร้อยละ 8), ปริญญาตรี 32 คน (ร้อยละ 64) และสูงกว่าปริญญาตรี 14 คน (ร้อยละ 28) และผู้ทดสอบทุกคนบริโภคปูดอง โดยสอบถาม

ความชอบต่อปูม้าดอง HPP ทางด้านลักษณะปรากฏของเนื้อปู การแยกเนื้อปูจากเปลือก เนื้อสัมผัสของเนื้อปู และความชอบโดยรวม (ตารางที่ 4) พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบอยู่ในระดับชอบมากถึงชอบมากที่สุด (8.00-9.00 คะแนน) ในทุกคุณลักษณะ ผู้ทดสอบให้ข้อเสนอแนะว่า ปูม้าดองมีรสชาติดี ความเค็มและความหวานกำลังดี เนื้อปูม้ามีความสด เนื้อนุ่ม แต่ไม่ละ เนื้อสามารถแกะออกจากเปลือกได้ง่ายกว่าปกติ แสดงว่า ผู้ทดสอบมีความชอบและให้การยอมรับในผลิตภัณฑ์ปูม้าดอง HPP นี้ค่อนข้างสูงมาก

ตารางที่ 4 คะแนนความชอบเฉลี่ยของผู้ทดสอบที่มีต่อปูม้าดองที่ฆ่าเชื้อด้วยความดัน 300 MPa นาน 10 นาที ด้วยผู้ทดสอบจำนวน 50 คน

คุณลักษณะ	ความชอบ (คะแนน)
ลักษณะปรากฏของเนื้อปู	8.28±0.67
การแยกเนื้อปูจากเปลือก	8.32±0.68
เนื้อสัมผัสของเนื้อปู	8.20±0.83
ความชอบโดยรวม	8.30±0.68

4. ผลการศึกษาคุณภาพและความปลอดภัยของปูม้าดองที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง

ปูม้าดองที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูงที่ความดัน 300 MPa นาน 10 นาที หรือปูม้าดอง HPP นำมาวิเคราะห์คุณภาพทั้งทางด้านจุลินทรีย์และคุณค่าทางอาหาร เพื่อให้ทราบถึงคุณภาพและความปลอดภัยของปูม้าดอง HPP ได้ดังนี้

4.1 การทดสอบทางจุลชีววิทยา

ปริมาณจุลินทรีย์ของปูม้าดอง HPP ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2563) เรื่อง กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน หลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการในการตรวจวิเคราะห์ของอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ข้อ 34.8 อาหารทะเลที่บริโภคในลักษณะสดหรือดิบที่บรรจุในภาชนะบรรจุพร้อมจำหน่าย พบว่า ปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus*, *S. aureus*, *B. cereus* และ *C. perfringens* มีค่าน้อยกว่า 10 CFU/g และตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. และ *V. cholerae* ในตัวอย่าง 25 กรัม แสดงว่าปูม้าดอง HPP มีปริมาณจุลินทรีย์เป็นไปตามมาตรฐานกำหนด ดังนั้น ปูม้าดองที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูงจึงมีความปลอดภัยต่อการบริโภค

4.2 การทดสอบคุณค่าทางอาหาร

คุณค่าทางอาหารของปูม้าดอง HPP จากการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการกลาง (ตารางที่ 5) พบว่า ปูม้าดองมีค่าพลังงานต่ำ (81.71 กิโลแคลอรี) ซึ่งพลังงานส่วนใหญ่ได้รับจากโปรตีนร้อยละ 13.51 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 6.22 และมีแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกายที่สำคัญ ได้แก่ แคลเซียม 189.96 มิลลิกรัม ซึ่งมีหน้าที่ต่อการคงสภาพปกติของกระดูกและฟัน ทำให้กระดูกและฟันแข็งแรง และช่วยในการแข็งตัวของเลือด และเหล็ก 0.24 มิลลิกรัม ซึ่งมีหน้าที่ช่วยสร้างเม็ดเลือดแดง และฮีโมโกลบิน ช่วยขนส่งออกซิเจนในร่างกาย และช่วยในการทำหน้าที่ตามปกติของระบบภูมิคุ้มกัน (ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2562)

อย่างไรก็ตาม การบริโภคปูม้าดอง HPP มีโอกาสได้รับสารอาหารจากน้ำตาล 4.83 กรัม และโซเดียม 962.55 มิลลิกรัม

ตารางที่ 5 คุณค่าทางอาหารของปูม้าดองที่ฆ่าเชื้อด้วยความดัน 300 MPa นาน 10 นาที (ปูม้าดอง HPP)

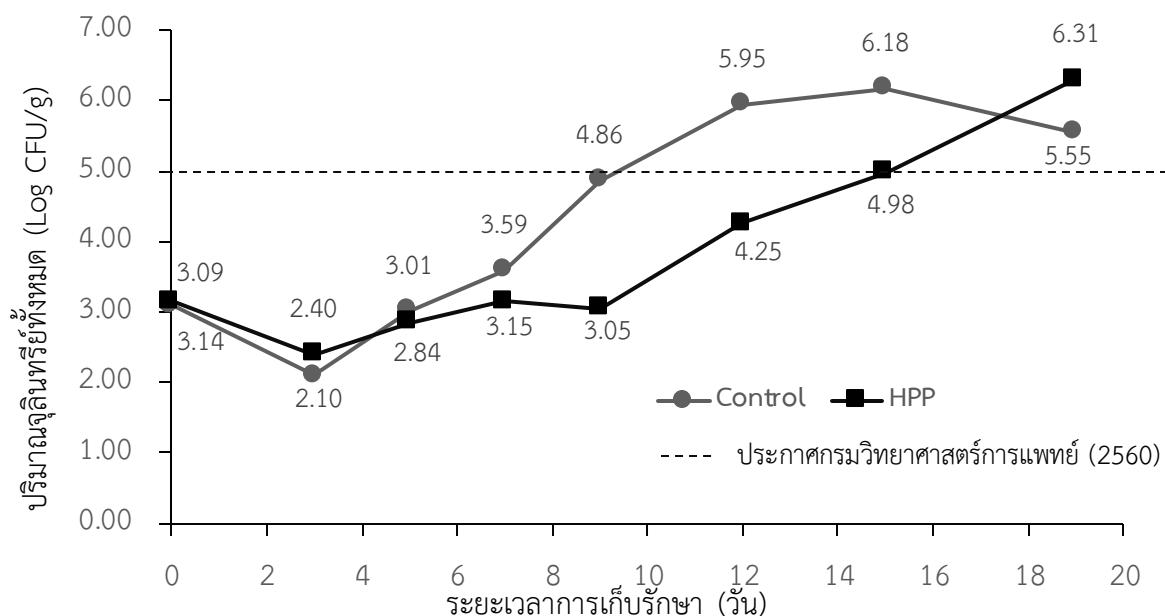
รายการทดสอบ	คุณค่าทางอาหาร (ต่อปูม้าดอง HPP 100 กรัม)
พลังงานทั้งหมด (กิโลแคลอรี)	81.71
โปรตีน (กรัม)	13.51
ไขมัน (กรัม)	0.31
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	6.22
ใยอาหาร (กรัม)	น้อยกว่า 0.10
เถ้า (กรัม)	3.32
ความชื้น (กรัม)	76.64
วิตามินเอ (ไมโครกรัม)	ไม่พบ
วิตามินบี 1 (มิลลิกรัม)	น้อยกว่า 0.030
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม)	น้อยกว่า 0.025
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	189.96
เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.24
น้ำตาล (กรัม)	4.83
โซเดียม (มิลลิกรัม)	962.55

หมายเหตุ ผลการทดสอบจากบริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด กรุงเทพมหานคร

5. ผลการศึกษาอายุการเก็บรักษาปูม้าดอง HPP

การศึกษาอายุการเก็บรักษาปูม้าดอง HPP ที่ฆ่าเชื้อด้วยความดัน 300 MPa นาน 10 นาที (HPP) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 ± 2 °C เปรียบเทียบกับปูม้าดองที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง (Control) เนื่องจากระหว่างการเก็บรักษาปูม้าดอง การเสื่อมเสียทางด้านจุลินทรีย์เกิดขึ้นเร็วที่สุด จึงเลือกวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Count, TVC) เพื่อนำมาเป็นตัวชี้วัดในการประเมินอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ปูม้าดอง ผลการทดลองดังภาพที่ 3 พบว่า ในวันแรกของการเก็บรักษา ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของปูม้าดอง HPP และปูม้าดอง Control มีค่าใกล้เคียงกัน เมื่อเก็บรักษาไว้ 3 วันปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของทั้ง 2 ตัวอย่างมีค่าลดลง จากนั้นปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา แต่ปูม้าดอง Control มีปริมาณเชื้อลดลงในวันที่ 19 ของการเก็บรักษา อาจเนื่องจากจุลินทรีย์เจริญเติบโตจนถึงระยะ Dead phase ซึ่งเป็นระยะที่จุลินทรีย์จะตายอย่างรวดเร็วเพราะขาดอาหารและมีสารพิษสะสมอยู่มาก ในขณะที่ปูม้าดอง HPP ยังมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตาม ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของปูม้าดอง Control มีค่าเพิ่มขึ้นในอัตราที่เร็วกว่าปูม้าดอง HPP แสดงว่า จุลินทรีย์เมื่อผ่าน

การฆ่าเชื้อด้วยความดันสูงแล้ว เซลล์ได้รับความเสียหายจากความดัน ทำให้อัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ลดลง ระยะการเจริญเติบโตช่วง Lag phase ยาวนานขึ้น เมื่อใช้เกณฑ์ชี้วัดจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2560) ระบุว่า อาหารทะเลที่บริโภคแบบดิบต้องมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่า 5 Log CFU/g พบว่า ปูม้าต้อง Control มีอายุการเก็บรักษาเพียง 9 วัน ส่วนปูม้าต้อง HPP มีอายุการเก็บรักษาได้ 15 วัน ซึ่งนานกว่าปูม้าต้อง Control 6 วัน คิดเป็นร้อยละ 40 Briones *et al.* (2010) ใช้ความดันที่ 500 MPa 8 นาที และ 550 MPa 3 และ 5 นาที ในการฆ่าเชื้อในหอยเป่าฮือ ทำให้เพิ่มอายุการเก็บรักษาที่ 4 °C จาก 30 วันเป็นมากกว่า 65 วัน Hurtado *et al.* (2000) สามารถยืดอายุการเก็บรักษาปลาแฮด (Hake) แบบสดจาก 14 วัน เป็น 43 วัน ด้วยการฆ่าเชื้อโดยใช้ความดัน 400 MPa นาน 5 นาที ฆ่าเชื้อ 3 cycles ที่อุณหภูมิน้ำตัวกลาง 7 °C แต่ส่งผลให้เนื้อของปลามีลักษณะคล้ายปลาสุก Ramirez-Suarez and Morrissey (2006) ยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อปลาทูน่าบด โดยใช้ความดัน 275 และ 310 MPa นาน 2, 4 และ 6 นาที ทำให้สามารถเก็บที่ 4 °C นานกว่า 22 วัน และเก็บที่ -20 °C นานกว่า 93 วัน



ภาพที่ 3 ปริมาณเชื้อทั้งหมดของปูม้าต้องที่ฆ่าเชื้อด้วยความดัน 300 MPa นาน 10 นาที (HPP) เปรียบเทียบกับปูม้าต้องที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง (Control) ในระหว่างการเก็บรักษา 0-19 วัน ที่อุณหภูมิ 5 ± 2 °C

6. การผลิตปูม้าต้อง HPP ต้นแบบ พร้อมบรรจุภัณฑ์

ปูม้าต้อง HPP ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ นำมาวิเคราะห์หลักโภชนาการ และออกแบบฉลากและบรรจุภัณฑ์ ดังนี้

6.1 การวิเคราะห์หลักโภชนาการ

ฉลากโภชนาการรูปแบบเต็มและรูปแบบย่อของปูม้าต้อง HPP จากการวิเคราะห์ของบริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด (ภาพที่ 4) พบว่า 1 หน่วยบริโภคของผลิตภัณฑ์ปูม้าต้อง HPP

มีปริมาณน้ำหนักเนื้อปูม้าดองที่บริโภคได้ 55 กรัม ซึ่งอ้างอิงมาจากบัญชีหมายเลข 2 แนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2541) ข้อ 3.7 กลุ่มอื่น ๆ ลำดับที่ 1 อาหารที่บรรจุกระป๋อง ขวดแก้วที่ปิดสนิทของอลูมิเนียมฟอยล์ Retort pouch ที่มีส่วนผสมของเนื้อสัตว์ ปลา หอย ในน้ำ น้ำมัน น้ำเกลือ (ไม่รวมของเหลว) ปริมาณหนึ่งหน่วยบริโภคอ้างอิง เท่ากับ 55 กรัม ปูม้าดอง HPP พลังงานทั้งหมด 40 กิโลแคลอรี ไม่พบไขมันทั้งหมดและไขมันอิ่มตัวมีคาร์โบไฮเดรต 3 กรัม ที่ได้รับจากน้ำตาล โปรตีน 7 กรัม (ร้อยละ 14 ของ Thai RDI) และแคลเซียม ร้อยละ 15 ของ Thai RDI จากประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2541) เรื่อง ฉลากโภชนาการ สามารถกล่าวอ้างได้ว่าผลิตภัณฑ์ปูม้าดอง HPP “มีพลังงานต่ำ” “ปราศจากไขมันและไขมันอิ่มตัว” “เป็นแหล่งของโปรตีนและแคลเซียม” นอกจากนี้ยังพบโคเลสเตอรอล 40 มิลลิกรัม และโซเดียม 530 มิลลิกรัม ซึ่งพิจารณาถึงปริมาณสารอาหารที่แนะนำให้บริโภคต่อวันสำหรับคนไทยอายุตั้งแต่ 6 ปีขึ้นไป (Thai RDI) ระบุว่า ควรได้รับโคเลสเตอรอลและโซเดียม น้อยกว่า 300 และ 2,000 มิลลิกรัม ตามลำดับ ดังนั้น ปูม้าดอง HPP ที่ได้จากการทดลองนี้มีปริมาณโคเลสเตอรอลและโซเดียมอยู่ในเกณฑ์กำหนด จึงปลอดภัยต่อการบริโภค

ข้อมูลโภชนาการ			
หนึ่งหน่วยบริโภค : 1 ถูง (55 กรัม น้ำหนักส่วนที่บริโภคได้)			
จำนวนหน่วยบริโภคต่อถูง : 1			
คุณค่าทางโภชนาการต่อหนึ่งหน่วยบริโภค			
พลังงานทั้งหมด 40 กิโลแคลอรี (พลังงานจากไขมัน 0 กิโลแคลอรี)			
ร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน *			
ไขมันทั้งหมด 0 ก.		0%	
ไขมันอิ่มตัว 0 ก.		0%	
โคเลสเตอรอล 40 มก.		13%	
โปรตีน 7 ก.			
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 3 ก.		1%	
ใยอาหาร 0 ก.		0%	
น้ำตาล 3 ก.			
โซเดียม 530 มก.		26%	
ร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน *			
วิตามินเอ 0%	วิตามินบี 1		0%
วิตามินบี 2 0%	แคลเซียม		15%
เหล็ก 0%			
* ร้อยละของปริมาณสารอาหารที่แนะนำให้บริโภคต่อวันสำหรับคนไทยอายุตั้งแต่ 6 ปีขึ้นไป (Thai RDI) โดยคิดจากความต้องการพลังงานวันละ 2,000 กิโลแคลอรี			
ความต้องการพลังงานของแต่ละบุคคลแตกต่างกัน ผู้ที่ต้องการพลังงานวันละ 2,000 กิโลแคลอรี ควรได้รับสารอาหารต่าง ๆ ดังนี้			
ไขมันทั้งหมด	น้อยกว่า	65	ก.
ไขมันอิ่มตัว	น้อยกว่า	20	ก.
โคเลสเตอรอล	น้อยกว่า	300	มก.
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด		300	ก.
ใยอาหาร		25	ก.
โซเดียม	น้อยกว่า	2,000	มก.
พลังงาน (กิโลแคลอรี) ต่อกรัม : ไขมัน = 9; โปรตีน = 4; คาร์โบไฮเดรต = 4			

ฉลากโภชนาการรูปแบบเต็ม

คุณค่าทางโภชนาการต่อ 1 ถูง

พลังงาน	น้ำตาล	ไขมัน	โซเดียม
40	3	0	530
กิโลแคลอรี	กรัม	กรัม	มิลลิกรัม
*2%	*5%	*0%	*26%

* คิดเป็นร้อยละของปริมาณสูงสุดที่บริโภคได้ต่อวัน

ฉลากโภชนาการรูปแบบย่อ

ภาพที่ 4 ฉลากโภชนาการที่แสดงในรูปแบบเต็มและแบบย่อของปูม้าดองที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูงที่ความดัน 300 MPa นาน 10 นาที

6.2 การออกแบบฉลากและบรรจุภัณฑ์

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบของปูม้าดอง HPP ที่มีขนาดบรรจุ 255 กรัม บรรจุปูม้า 1 ตัว (ขนาด 55 กรัม) พร้อมกับน้ำดอง 200 กรัม บรรจุในถุงพลาสติกชนิดไนลอน/พอลิเอทิลีน หนา 150 ไมครอน จำนวน 2 ชั้น แล้วบรรจุในกล่องพลาสติกปริมาตร 650 มิลลิลิตร พร้อมติดฉลาก และเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น ($5 \pm 2^{\circ}\text{C}$) มีลักษณะดังภาพที่ 5 พบว่า บนฉลากปูม้าดอง HPP ทั้ง 2 แบบ ประกอบด้วย ชื่ออาหาร ชื่อผู้ผลิต ปริมาณของอาหาร ส่วนประกอบที่สำคัญ วันเดือนปีที่ควรบริโภคก่อน คำเตือน และข้อแนะนำในการเก็บรักษา ซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2557) เรื่องการแสดงฉลากของอาหารในภาชนะบรรจุ นอกจากนี้ยังมีการแสดงฉลากโภชนาการแบบย่อ (Guideline Daily Amounts, GDA) ด้วย



ภาพที่ 5 ฉลากและบรรจุภัณฑ์ต้นแบบของปูม้าดอง HPP

ปูม้าดอง HPP เมื่อนำมาคำนวณต้นทุนในการผลิตต่อ 1 ชิ้น พบว่า มีราคาคำนวณต้นทุนประมาณ 120 บาท (ภาคผนวกที่ 5) ประกอบด้วยค่าวัตถุดิบ 35.79 บาท ค่าฉลากและบรรจุภัณฑ์ 12.68 บาท และค่าใช้เครื่อง HPP 71.43 บาท เมื่อเปรียบเทียบกับราคาปูม้าดองในตลาดที่มีขนาดใกล้เคียงกัน พบว่า มีราคาสูงกว่า เนื่องจากต้นทุนสูงสุดในการผลิตครั้งนี้ คือ ค่าใช้เครื่อง HPP ซึ่งเครื่องที่ใช้มีขนาดเล็ก มีปริมาตรบรรจุ 5 ลิตร ดังนั้น ถ้ามีการผลิตในปริมาณมากขึ้นและใช้เครื่องที่มีขนาดใหญ่ จะสามารถลดต้นทุนในส่วนนี้ลงได้

สรุปผลการทดลอง

1. ปุ๋มดองทางการค้าจำนวน 10 ยี่ห้อ ทั้งแบบแช่เย็นและแช่เยือกแข็ง มีความปลอดภัยต่อเชื้อ *V. parahaemolyticus* มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วงร้อยละ 1.58-4.28 ซึ่งแบบแช่เย็นมีเนื้อสัมผัสนุ่มและมากกว่าแบบแช่เยือกแข็ง
2. ปุ๋มสดมีปริมาณจุลินทรีย์เป็นไปตามมาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2560) มีความปลอดภัยต่อการบริโภค เมื่อนำมาผลิตปุ๋มดองที่มีส่วนผสมของปุ๋มต่อน้ำดองที่ 1:4 (w/v) ค่าเฉลี่ยในปุ๋มดองมีแนวโน้มคงที่หลังจากดองนาน 30 นาทีแรก โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วงร้อยละ 1.46-2.06
3. สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตปุ๋มดอง HPP คือ ความดัน 300 MPa นาน 10 นาที ส่งผลให้ปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* ลดลง 2.72 Log CFU/g เนื้อปุ๋มดองไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสีขาวขุ่นและผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบอยู่ในระดับชอบมากถึงชอบมากที่สุด (8.00-9.00 คะแนน) ในทุกคุณลักษณะ
4. ปุ๋มดอง HPP ที่ฆ่าเชื้อด้วยความดัน 300 MPa นาน 10 นาที มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2563) และมีคุณค่าทางอาหารจากโปรตีน คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม และเหล็ก จึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและปลอดภัยต่อการบริโภค
5. อายุการเก็บรักษาปุ๋มดอง HPP ที่ฆ่าเชื้อด้วยความดัน 300 MPa นาน 10 นาที (HPP) สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 ± 2 °C ได้นานประมาณ 15 วัน ซึ่งนานกว่าปุ๋มดองที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูง (Control) (เก็บได้ 9 วัน) ประมาณ 6 วัน หรือร้อยละ 40
6. ปุ๋มดอง HPP ต้นแบบ เมื่อตรวจวิเคราะห์ผลลากโภชนาการทั้งแบบเต็มและแบบย่อ สามารถกล่าวอ้างได้ว่าเป็นผลิตภัณฑ์ “มีพลังงานต่ำ” “ปราศจากไขมันและไขมันอิ่มตัว” “เป็นแหล่งของโปรตีนและแคลเซียม” และมีปริมาณโคเลสเตอรอลและโซเดียมอยู่ในเกณฑ์ที่สามารถบริโภคต่อวันสำหรับคนไทยอายุตั้งแต่ 6 ปีขึ้นไป (Thai RDI) และได้ออกแบบฉลากให้เป็นไปตามข้อกำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2557) ซึ่งต้นแบบปุ๋มดอง HPP มีต้นทุนประมาณ 120 บาทต่อ 1 กล่อง

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2560. ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่อง เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3. 11 มกราคม 2560.
- กองนโยบายและยุทธศาสตร์พัฒนาการประมง. 2565. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ.2564. กรมประมงกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 84 หน้า.
- นฤมล อิศวเกศมณี. 2557. การถนอมสัตว์น้ำแบบพื้นบ้าน. ครั้งที่พิมพ์ 1. โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์, กรุงเทพฯ. 234 หน้า.
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 182/2541) เรื่อง ฉลากโภชนาการ. ราชกิจจานุเบกษา. 2541. เล่มที่ 115. ตอนที่ 47 ง, หน้า 23-26.
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 367/2557) เรื่อง การแสดงฉลากอาหารในภาชนะบรรจุ. ราชกิจจานุเบกษา. 2557. เล่มที่ 131. ตอนพิเศษ 102 ง, หน้า 32-39.
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416/2563) เรื่อง กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน หลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการในการตรวจวิเคราะห์ของอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค. ราชกิจจานุเบกษา. 2563. เล่มที่ 137. ตอนพิเศษ 237 ง, หน้า 1-9.
- ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง การแสดงข้อความกล่าวอ้างหน้าที่ของสารอาหาร. ราชกิจจานุเบกษา. 2562. เล่มที่ 136. ตอนพิเศษ 146 ง, หน้า 51-52.
- วิริยา พรหมกอง. 2553. เอกสารประกอบการสอน วิชา หลักการแปรรูปอาหาร 2 (Principle of Food Processing II). คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 51 หน้า
- ศศิธร ฐิติเพชรกุล, กนกพรรณ สมยุรทรัพย์ และ ศรียรรณา หัตยานานนท์. 2559. การเฝ้าระวัง *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. ในเนื้อปูต้มแกะ. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 58 (2): 80-92.
- สถาบันอาหาร. 2562. เชื้อก่อโรคในปูไข่แดง. แหล่งที่มา: <https://www.thairath.co.th/lifestyle/food/1490386>. 8 กุมภาพันธ์ 2562.
- สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2554. เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 2. โอ.เอส. พริ้นติ้ง เฮ้าส์, กรุงเทพมหานคร. 364 หน้า.
- สุพรรณิ เทพอรุณรัตน์. 2546. เทคโนโลยีการผลิตอาหารด้วยความดันสูง (High Pressure Processing). วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ 51 (163): 21-25.

- สุรีย์ นานาสมบัติ, นวรัตน์ โพธิราช, ประทุม แสนมา, วรธนนท์ หาเพิ่มพูน และ สิทธิโชค ศิริศรชัย. 2556. การตรวจหาการปนเปื้อน *Vibrio parahaemolyticus* ในอาหารทะเลสดที่จำหน่ายในกรุงเทพและการศึกษาการต้านทานความร้อน. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ 16 (3): 175-184.
- อิสมีย์ ปูตะ, ซามีลา ดุมีแด, พูรกอนนี สาและ, ชูโบ๊ะตะ หะยิวาเงาะ, คอสิยาร์ สะลี, นุรฮัยนี หะยิโยชะ และ อับดุลลาห์ โตลาห์ ดาลี. 2560. การปนเปื้อนของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในอาหารทะเลสดที่วางจำหน่ายในเขตเทศบาลนครยะลาและอำเภอเมืองปัตตานี. ราชภัฏวิชาการ: 3-8.
- APEC-Asia Pacific Economic Cooperation. 2017. High Pressure Processing. National Science Technology and Innovation Policy Office. 17 pp.
- Briones, L. S., J. E. Reyes, G. E. Tabilo-Munizaga and M. O. Pérez-Won. 2010. Microbial Shelf-Life Extension of Chilled Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and Abalone (*Haliotis rufescens*) by High Hydrostatic Pressure Treatment. *Food Control* 21: 1530-1535.
- Cho, T. J., N. H. Kim, S. A. Kim, J. H. Song and M. S. Rhee Prof. 2016. Survival of foodborne pathogens (*Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* , *Listeria monocytogenes* and *Vibrio parahaemolyticus*) in raw ready-to-eat crab marinated in soy sauce. *Int. J. Food Microbiol.* 238: 50-55.
- Cook, D. W. 2003. Sensitivity of *Vibrio* Species in Phosphate-Buffered Saline and in Oysters to High-Pressure Processing. *J. Food Prot.* 66 (12): 2276-2282.
- BAM (FDA's Bacteriological Analytical Manual). 2001a. BAM Chapter 3: Aerobic Plate Count.
- BAM (FDA's Bacteriological Analytical Manual). 2001b. BAM Chapter 16: *Clostridium perfringens*.
- BAM (FDA's Bacteriological Analytical Manual). 2004. BAM Chapter 9: *Vibrio*.
- BAM (FDA's Bacteriological Analytical Manual). 2012. BAM Chapter 14: *Bacillus cereus*.
- BAM (FDA's Bacteriological Analytical Manual). 2016. BAM Chapter 12: *Staphylococcus aureus*.
- BAM (FDA's Bacteriological Analytical Manual). 2020. BAM Chapter 4A: Diarrheagenic *Escherichia coli*.
- Hurtado, J. L., P. Montero and A. J. Borderías. 2000. Extension of Shelf Life of Chilled Hake (*Merluccius capensis*) by High Pressure. *Food Sci Tech Int.* 6 (3): 243-249.
- ISO 6579-1:2017 (en) Microbiology of the Food Chain-Horizontal Method for the Detection,
- López-caballero, M. E., M. Pérez-mateos, P. Montero and A. J. Borderías. 2000. Oyster Preservation by High-Pressure Treatment. *J. Food Prot.* 63 (2): 196-201.

- Martínez, M. A., G. Velázquez, D. Cando, R. Núñez-Flores, A. J. Borderías and H. M. Moreno. 2017. Effects of High Pressure Processing on Protein Fractions of Blue Crab (*Callinectes sapidus*) Meat. *IFSET* 41: 323-329.
- Mohamed, W., J. Endan, Y. A. Yusof, R. Shamsudin and A. Ahmedov. 2015. Effect of High Processing on Sensory and Physical Attributes of Malaysian Shrimps and Mud Crabs. *ASRJETS* 14 (2): 91-96.
- Murchie, L. W., M. Cruz-Romero, J. P. Kerry, M. L. Linton, M. F. Patterson, M. Smiddy and A. L. Kelly. 2005. High Pressure Processing of Shellfish: A Review of Microbiological and Other Quality Aspects. *IFSET* 6: 257-270.
- Phuvasate, S. and Y. C. Su. 2015. Efficacy of Low-Temperature High Hydrostatic Pressure Processing in Inactivating *Vibrio parahaemolyticus* in Culture Suspension and Oyster Homogenate. *Int. J. Food Microbiol.* 196: 11-15.
- Ramírez-Suárez, J. C. and M. T. Morrissey. 2006. Effect of High Pressure Processing (HPP) on Shelf Life of Albacore Tuna (*Thunnus alalunga*) Minced Muscle. *IFSET* 7: 19–27.
- Teixeira, B., L. Fidalgo, R. Mendes, G. Costa, C. Cordeiro, A. Marques, J. A. Saraiva and M. L. Nunes. 2014. Effect of High Pressure Processing in the Quality of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Fillets: Pressurization Rate, Pressure Level and Holding Time. *IFSET* 22: 31-39.
- Yoshioka, K. and T. Yamamoto. 1998. Changes of Ultrastructure and the Physical Properties of Carp Muscle by High Pressurization. *Fish Sci.* 64 (1): 89-94.

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1 การเตรียมเชื้อ *V. parahaemolyticus* เพื่อใช้ในการ Inoculation ลงในน้ำดอง (ดัดแปลงวิธีของ สุริย์ (2556))

1. นำเชื้อ *V. parahaemolyticus* ATCC 17802 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 1 loop มาใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 °C นาน 24 ชั่วโมง
2. คูดเชื้อใน TSB จากข้อ 1 มา 30 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 2 หลอด
3. ปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ความเร็วรอบ 800g อุณหภูมิ 4 °C นาน 15 นาที
4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ส่วนใสทิ้ง แล้วเติมน้ำเกลือร้อยละ 2 ที่ฆ่าเชื้อแล้วหลอดละ 5 มิลลิลิตร เพื่อละลายตะกอนเชื้อที่เหลืออยู่ เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำสารละลายเชื้อทั้ง 2 หลอดเทรวมกัน ปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง (ล้างตะกอนเชื้อครั้งที่ 1)
5. เทสารละลายส่วนใสทิ้ง เติมน้ำเกลือร้อยละ 2 ปริมาณ 10 มิลลิลิตร เพื่อละลายตะกอนเชื้อ เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง (ล้างตะกอนเชื้อครั้งที่ 2)
6. เทสารละลายส่วนใสทิ้ง เติมน้ำเกลือร้อยละ 2 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร เพื่อละลายตะกอนเชื้อ เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายเชื้อ *V. parahaemolyticus* เริ่มต้น
7. นำสารละลายเชื้อ *V. parahaemolyticus* เริ่มต้นมาเจือจางด้วยน้ำเกลือร้อยละ 2 จนมีระดับความขุ่นเท่ากับ McFarland Standard No.3 (ปริมาณเชื้อประมาณ 10^8 CFU/g)
8. นำเชื้อจากข้อ 7 มาเจือจาง 10 เท่า ด้วยน้ำเกลือร้อยละ 2 จนมีปริมาณเชื้อประมาณ 10^7 CFU/g (สารละลายเชื้อ 10^8 CFU/g ต่อน้ำเกลือร้อยละ 2 เป็น 2:18 มิลลิลิตร)
9. นำเชื้อจากข้อ 8 มาใส่ลงในน้ำดองที่เตรียมไว้ จนมีปริมาณเชื้อประมาณ 10^6 CFU/g (สารละลายเชื้อ 10^7 CFU/g ต่อน้ำดอง เป็น 20:180 มิลลิลิตร)

ภาคผนวกที่ 2 การเปลี่ยนแปลงของค่าเกลือในปุ๋ยน้ำตองระหว่างการตองนาน 0-8 ชั่วโมง ที่ 5 ± 2 °C

เวลาในการตอง (ชั่วโมง)	ค่าเกลือ (ร้อยละ)
0	0.76 ± 0.12^b
0.5	1.76 ± 0.49^a
1	1.62 ± 0.67^a
1.5	1.67 ± 0.52^a
2	1.54 ± 0.51^{ab}
3	1.46 ± 0.41^{ab}
4	1.75 ± 0.29^a
5	1.80 ± 0.66^a
6	2.06 ± 0.42^a
8	1.81 ± 0.26^a
น้ำตองเริ่มต้น	4.09 ± 0.04

^{a,b} ตัวอักษรต่างกันในแต่ละแถว แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ภาคผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ลดลง (Log CFU/g) ในปูม้าแดง ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันสูงที่อุณหภูมิน้ำตัวกลาง 5 ± 2 °C

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Micro

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	33.415 ^a	10	3.342	14.293	.000
Intercept	257.737	1	257.737	1.102E3	.000
Pressure	21.904	2	10.952	46.845	.000
Time	9.020	2	4.510	19.290	.000
Block	1.493	2	.746	3.192	.068
Pressure * Time	.999	4	.250	1.068	.404
Error	3.741	16	.234		
Total	294.893	27			
Corrected Total	37.156	26			

a. R Squared = .899 (Adjusted R Squared = .836)

ภาคผนวกที่ 4 แบบทดสอบการประเมินทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสของปมำดอง ที่ฆ่าเชื้อด้วย HPP

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่.....

ส่วนที่ 1: ข้อมูลทั่วไป

เพศ: ☐ ชาย ☐ หญิงอายุ: ☐ ต่ำกว่า 19 ปี ☐ 19-25 ปี ☐ 26-39 ปี ☐ 40-59 ปี ☐ 60 ปี ขึ้นไประดับการศึกษา: ☐ ต่ำกว่าปริญญาตรี ☐ ปริญญาตรี ☐ สูงกว่าปริญญาตรี

ท่านบริโภคปมำดองหรือไม่

☐ ทาน ☐ ไม่ทาน เพราะ.....

ส่วนที่ 2 แบบทดสอบความชอบของผู้บริโภค

คำแนะนำ: กรุณาชิมตัวอย่างแล้วให้คะแนนความชอบตามสเกลความชอบ ดังนี้

9 = ชอบมากที่สุด 8 = ชอบมาก 7 = ชอบปานกลาง 6 = ชอบเล็กน้อย 5 = เฉยๆ

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 3 = ไม่ชอบปานกลาง 2 = ไม่ชอบมาก 1 = ไม่ชอบมากที่สุด

คุณลักษณะ	คะแนนความชอบ
ลักษณะปรากฏของเนื้อปู	
การแยกเนื้อปูจากเปลือก	
เนื้อสัมผัสของเนื้อปู	
ความชอบโดยรวม	

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

ขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ

ภาคผนวกที่ 5 ต้นทุนในการผลิตปุ๋ยม้าดอง HPP ต้นแบบ ต่อ 1 กล่อง

รายการ	ปริมาณที่ใช้ ต่อ 1 ตัวอย่าง	ราคาวัตถุดิบ (บาท/หน่วย)	ราคาต้นทุน (บาท)
ส่วนผสม			(35.89)
- ปุ๋ย	1 ตัว	316 บาท/10 ตัว	31.60
- น้ำปลา	33 กรัม	38 บาท/750 มล.	1.67
- น้ำตาลมะพร้าว	33 กรัม	47 บาท/1 กก.	1.55
- น้ำ	134 กรัม	12 บาท/1.5 ลิตร	1.07
ค่าใช้เครื่อง HPP		500 บาท/7 ถัง	71.43
บรรจุภัณฑ์			(12.68)
- ถังพลาสติกใส่ปุ๋ยม้าดอง	2 ใบ	200 บาท/100 ใบ	4.00
- กล่องพลาสติก	1 ใบ	80 บาท/25 ใบ	3.20
- สติกเกอร์	1 แผ่น	230 บาท/42 ดวง	5.48
รวม			120