

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดกลิ่นและฮิสตามีนในปลาร้า
Factors Affecting Odor and Histamine Formation in Pla Ra

อำนาจ ยอแสง¹ มยุรี จัยวัฒน์¹ และ นงนุช รักสกุลไทย¹

Abstract

Good quality Pla Ra should have palatable odor with low histamine content. The experiment on fermentation of Pla Ra from jewfish and gourami had been conducted. It was found that freshness of fish, salt and ground roasted rice contents, and fermenting temperature had no effect on finished product odor but fish species, and fermenting time had ($P \leq 0.05$). Pla Ra prepared from gourami had better odor than from jewfish. Fermentation time of Pla Ra with good odor should be longer than 18 weeks. Analysis of histamine content indicated that salt and roasted rice contents did not affect histamine content but species and freshness of fish and fermenting temperature did ($P \leq 0.05$). Pla Ra prepared from gourami had higher histamine content than those from jewfish. The highest histamine content was found in gourami Pla Ra with rice bran fermented for 22 weeks at 246.7 mg/Kg while histamine contents in jewfish Pla Ra with roasted rice and with rice bran were 55.4 and 46.5 mg/Kg, respectively. It was also found that Pla Ra fermented at 45 °C contained higher histamine than those fermented at 35 and 28 °C.

บทคัดย่อ

ปลาร้าที่ดีมีคุณภาพต้องมีกลิ่นหอมชวนรับประทานและมีปริมาณฮิสตามีนต่ำ การทดลองหมักปลาร้าปลาจวดและปลาร้าปลากระดี พบว่าปัจจัยที่เกี่ยวข้องได้แก่ ความสดของปลา ปริมาณเกลือ ปริมาณข้าวคั่ว และอุณหภูมิ ไม่มีผลต่อกลิ่นปลาร้า แต่ชนิดปลาและระยะเวลาในการหมักจะมีผลต่อการเกิดกลิ่น ($P \leq 0.05$) โดยปลาร้าปลากระดีมีกลิ่นหอมกว่าปลาร้าปลาจวด ปลาร้าที่มีกลิ่นหอมจะต้องมีอายุการหมัก 18 สัปดาห์ขึ้นไป การวิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีนพบว่า ปริมาณเกลือและปริมาณข้าวคั่วไม่มีผลต่อปริมาณฮิสตามีน แต่ชนิดปลา ความสดของปลา และอุณหภูมิของการหมักมีผลต่อปริมาณฮิสตามีน ($P \leq 0.05$) ปลาร้าปลากระดีมีปริมาณฮิสตามีนสูงกว่าปลาร้าปลาจวด โดยปลาร้าปลากระดีมีปริมาณฮิสตามีนสูงสุดหลังหมัก 22 สัปดาห์ ที่ระดับ 246.7 มก./กก. ในขณะที่ปลาร้าปลาจวดข้าวคั่ว และปลาร้าปลาจวดรำ พบฮิสตามีน 55.4 มก./กก. และ 46.5 มก./กก. ตามลำดับ การหมักปลาร้าที่ 45 °C จะทำให้เกิดฮิสตามีนสูงกว่าการหมักที่ 35 และ 28 °C

คำนำ

ปลาร้าเป็นผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำหมักดองที่เป็นที่รู้จักอย่างดีของคนไทย โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือสามารถนำมาเป็นส่วนประกอบในการปรุงอาหารได้หลายชนิด เช่น แก้วบอง น้ำพริกปลาร้า ส้มตำ แกงลาว น้ำยา ปลาร้าทรงเครื่อง ปลาร้าหลน ปลาร้าสับ ฯลฯ (จิราวรรณ และ อมรรัตน์, 2542) ปลาร้ามี 2 ชนิด คือปลาร้าข้าวคั่วและปลาร้ารำ ซึ่งจะมียีสและรสชาติแตกต่างกัน ปลาที่ใช้เป็นวัตถุดิบนิยมใช้ปลาน้ำจืดได้แก่ ปลากระดี ปลาช่อน ปลาชะโด ปลาสร้อย ส่วนปลาทะเลที่ใช้ผลิตปลาร้าได้แก่ ปลาจวด ปลาไส้กอ ปลาแป้น ปลากระบอก ปลานู และปลาแดง การผลิตปลาร้าส่วนใหญ่ผู้ผลิตจะไม่ให้ความสำคัญกับคุณภาพของวัตถุดิบและสุขลักษณะการผลิตมากนักทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้มีคุณภาพต่ำ ขาดกลิ่นรสที่ดี และอาจมีปริมาณฮิสตามีนสูงในระดับที่เป็นอันตรายกับผู้บริโภค ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดกลิ่นของปลาร้าปลาน้ำจืดและปลาร้าปลาทะเล ทั้งปลาร้าข้าวคั่วและปลาร้ารำและวิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีนในระหว่างการหมัก

อุปกรณ์และวิธีการ

วัตถุดิบ

- ปลาจวด *Otolithes* spp
- ปลากระดี *Trichogaster trichopterus*
- ข้าวคั่วและรำคั่ว
- เกลือ

¹ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีการ

ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดกลิ่นปลา ร้า และปริมาณฮิสตามีน

1. ความสดของปลา ใช้ปลาจวดที่มีความสดต่างกันเป็นวัตถุดิบ โดยแบ่งความสดเป็น 3 ระดับคือ

- ปลาสดมาก ใช้ปลาในระยะ pre-rigor mortis (ตรวจความสดโดยประสาทสัมผัส)
- ปลาสดปานกลาง ใช้ปลาในระยะ rigor mortis (ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง)
- ปลาสดน้อย ใช้ปลาในระยะ post-rigor mortis (ทิ้งไว้ 36 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง)

2. ปริมาณเกลือ ใช้ปลาจวดที่มีความสดตามข้อ 1. เป็นวัตถุดิบผลิตปลา ร้าโดยนำปลามาซอดเกลือ ตัดครีบ ตัดหัว ควักไส้ แล้วล้างน้ำให้สะอาดทิ้งไว้จนสะเด็ดน้ำ นำมาหมักกับเกลือเม็ดแปรปริมาณเกลือ 3 ระดับคือร้อยละ 30, 40 และ 50 ของน้ำหนักปลา หมักไว้ 12 – 14 ชั่วโมง แล้วอัดใส่โหลหมักต่ออีก 1 เดือน จึงนำมาผสมข้าวคั่ว หรือรำ ในอัตราส่วนร้อยละ 25 ของน้ำหนักปลาผสมเกลือ หมักต่อในโหลจนครบกำหนด ที่อุณหภูมิห้อง

3. ปริมาณข้าวคั่ว

ผลิตปลา ร้าตามวิธีการในข้อ 2. ใช้ปลาจวดเป็นวัตถุดิบ โดยใช้ปริมาณเกลือร้อยละ 30 ของน้ำหนักปลา แปรปริมาณข้าวคั่ว 3 ระดับ คือร้อยละ 15, 25 และ 35 ของน้ำหนักปลาผสมเกลือ

4. อุณหภูมิ

ผลิตปลา ร้าตามวิธีการในข้อ 2 ใช้ปลาจวดเป็นวัตถุดิบ โดยใช้ปริมาณเกลือร้อยละ 30 ของน้ำหนักปลา แปรปริมาณข้าวคั่ว 3 ระดับคือร้อยละ 15, 25 และ 35 ของน้ำหนักปลาผสมเกลือ หมักโดยแปรอุณหภูมิ 3 ระดับคือ 28, 35 และ 45 °ซ.

5. ชนิดปลาและชนิดคาร์โบไฮเดรต

ผลิตปลา ร้าโดยใช้ปลากระตี่ และปลาจวดเป็นวัตถุดิบ ใช้อัตราส่วนปลาต่อเกลือ 7 ต่อ 3 หมักนาน 4 สัปดาห์ นำมาเติมข้าวคั่วหรือรำข้าวปริมาณร้อยละ 25 ของน้ำหนักปลาผสมเกลือ

สุ่มตัวอย่างที่หมักตามสภาวะต่างๆ ตาม ข้อ 1-5 ทุกๆ 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 22 สัปดาห์ เพื่อทดสอบคุณภาพด้านประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบที่คุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์ปลา ร้าจำนวน 6 คน ให้คะแนนลักษณะปรากฏ สี และกลิ่นตาม hedonic scale 1-5 คะแนน 5 คือคะแนนคุณลักษณะที่ดีที่สุด และคะแนนรองลงมาคือลักษณะรองลงมาตามลำดับ และการทดลองข้อที่ 5 สุ่มตัวอย่างทุกๆ 2 สัปดาห์ เพื่อวิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีนตามวิธีการของ Hardy and Smith (1976) สุ่มตัวอย่างทุกๆ 4 สัปดาห์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ซึ่งเป็นดัชนีสุขภาพได้แก่ *E. coli* และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้แก่ *Salmonella*, *Vibrio cholerae* และ *Clostridium perfringens* (AOAC, 1984)

วางแผนการทดลองแบบ Split Plot in RCBD วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างโดย Duncan 's New Multiple Range Test ซึ่งวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SAS Version 6.3

ผลและวิจารณ์

1. ผลของความสดของปลาและปริมาณเกลือ

คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของปลา ร้าแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งพบว่าระยะเวลาการหมักมีผลต่อการเกิดกลิ่นปลา ร้า ($P \leq 0.05$) เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้นคะแนนประสาทสัมผัสด้านกลิ่นจะสูงขึ้น แต่ความสดของปลาและปริมาณเกลือมีผลต่อคะแนนการยอมรับด้านกลิ่นอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P \geq 0.05$) เนื่องจากปริมาณเกลือทุกระดับที่ใช้ในการหมักมีปริมาณสูงทำให้สามารถควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียได้ และถึงแม้ว่าจะใช้ปลาสดน้อยเป็นวัตถุดิบคุณภาพของปลาที่ใช้อาศัยอยู่ในเกณฑ์การยอมรับและมีคุณภาพใกล้เคียงกับปลาที่ใช่เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรม

Table 1 Sensory evaluation scores for odor of Pla Ra prepared from jewfish with different freshness and salt contents.

Freshness/Salt content (%)	Fermenting Time (weeks)									
	6	8	10	12	14	16	18	20	22	
Very Fresh/30	3.00	3.00	3.08	3.50	3.42	3.33	3.25	3.33	3.50	
40	2.83	2.92	3.58	3.50	3.42	3.17	2.75	3.33	3.17	
50	2.83	2.58	3.75	3.17	3.50	3.17	3.17	3.17	3.33	
Moderately fresh/30	3.33	3.00	3.33	3.00	3.50	3.33	3.33	3.25	3.50	
40	3.00	2.25	3.00	3.42	3.33	3.33	3.08	3.33	3.58	
50	3.17	3.25	3.08	2.92	3.83	3.50	2.42	3.42	3.33	
Slightly fresh/30	2.83	3.33	3.00	3.17	3.75	3.00	2.83	3.25	2.83	
40	2.83	2.67	3.17	3.58	3.00	3.25	2.91	3.17	3.25	
50	2.67	3.00	2.91	3.50	3.00	3.50	3.17	2.83	3.00	

2. ผลของปริมาณข้าวคั่วและอุณหภูมิการหมัก

การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นพบว่า ระยะเวลาการหมักมีผลต่อกลิ่นของปลาร้า ($P \leq 0.05$) แต่ปริมาณข้าวคั่วและอุณหภูมิไม่มีผล ($P \geq 0.05$) การวิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงในตารางที่ 2 อย่างไรก็ตามพบว่าการหมักปลาร้าที่ 45°C โดยใช้ข้าวคั่วร้อยละ 25 มีผลทำให้ปริมาณฮิสตามีนเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 22 สัปดาห์ มีค่า 57.0 ± 0.8 มก./กก. สูงกว่าเมื่อหมักที่ 28°C หรือ 35°C ซึ่งมีค่า 31.8 ± 0.3 และ 34.4 ± 0.5 มก./กก. ตามลำดับ

Table 2 Analysis of variance of sensory evaluation score for odor of Pla Ra prepared with different contents of ground roasted rice at different temperatures.

SOV	Df	SS	MS	F
Fermenting time	8	11.51	1.44	3.00*
Roasted rice content (A)	2	1.12	0.56	1.26 ^{ns}
Error (A)	16	7.12	0.44	0.93
Temperature (B)	2	0.79	0.40	0.83 ^{ns}
A x B	4	0.78	0.20	0.41 ^{ns}
Error (B)	453	217.34	0.48	

^{ns} Non significantly different ($P \geq 0.05$)

* Significantly different ($P \leq 0.05$)

3. ชนิดปลาและชนิดคาร์โบไฮเดรต

ปลาจวดที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีความสดปานกลาง ตัวปลามีความสมบูรณ์ เกล็ดสีเงินติดแน่น ตาไม่ใส เหงือกปลาสีซีดเล็กน้อย ขนาดลำตัวยาวประมาณ 2-6 นิ้ว ส่วนปลากระดี่ที่ใช้มีความสดมาก ตัวปลามีความสมบูรณ์ เกล็ดสีเงินปนดำมันวาวติดแน่น ตาใส เหงือกปลาสีแดงสด ขนาดลำตัวยาว 2-3 นิ้ว

สำหรับกลิ่นปลาร้าพบว่า ระยะเวลาการหมักและชนิดปลาที่มีผลต่อกลิ่นปลาร้าข้าวคั่วโดยจะเริ่มมีกลิ่นหอมหลังจากหมักได้ 18 สัปดาห์ ผู้ทดสอบให้ความเห็นว่าปลาร้าปลากระดี่ข้าวคั่วมีกลิ่นหอมกว่าปลาร้าปลาจวดข้าวคั่ว แต่ในปลาร้าพบว่า ระยะเวลาการหมักและชนิดปลาไม่มีผลต่อกลิ่น เนื่องจากกลิ่นร่ำคั่วจะกลบกลิ่นปลาร้าทำให้ผู้ทดสอบไม่สามารถแยกกลิ่นได้อย่างชัดเจน

ผลการตรวจสอบด้านจุลชีววิทยา โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการทดสอบทางชีวเคมี พบว่าในปลาร้าทั้ง 4 ตัวอย่าง ตรวจพบแบคทีเรียหลายชนิด ได้แก่ *Staphylococcus*, *Micrococcus* และ *Bacillus* สอดคล้องกับรายงานผลการศึกษาด้านจุลชีววิทยาของปลาร้าโดยแพรวพรรณ (2522) ซึ่งตรวจพบ *Pediococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus* และ *Bacillus* ส่วนอุดมและอารี (2515) รายงานว่าในปลาร้าที่หมักได้ 1 สัปดาห์พบ *Micrococcus* และ *Bacillus* และหลังจากหมัก 11 สัปดาห์พบ *Proteus* และ *Bacillus*

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีนระหว่างการหมักปลาร้าแสดงในตารางที่ 3

Table 3 Histamine contents during fermentation of Pla Ra (mg/Kg).

Fermenting time (weeks)	Jewfish with roasted rice	Gourami with roasted rice	Jewfish with rice bran	Gourami with rice bran
6	2.43±0.51 ^{Di}	117.87±0.81 ^{Bi}	15.4±1.00 ^{Ci}	125.23±0.41 ^{Ai}
8	5.60±0.26 ^{Dh}	125.67±1.53 ^{Bh}	14.1±0.20 ^{Cgh}	128.80±0.26 ^{Ah}
10	10.10±0.85 ^{Cg}	130.33±1.53 ^{Ag}	15.63±0.40 ^{Bgh}	129.00±1.00 ^{Ag}
12	15.00±0.88 ^{Cf}	140.37±0.78 ^{Bf}	17.67±0.57 ^{Cf}	147.00±1.00 ^{Af}
14	18.00±1.00 ^{Dc}	147.33±2.52 ^{Bc}	21.67±1.52 ^{Cc}	176.00±1.52 ^{Ac}
16	20.67±0.57 ^{Dd}	153.00±1.00 ^{Bc}	24.5±0.50 ^{Cd}	195.33±0.58 ^{Ad}
18	28.77±0.40 ^{Dc}	165.67±0.58 ^{Bc}	33.67±4.50 ^{Cc}	228.33±1.15 ^{Ac}
20	40.43±0.51 ^{Cb}	202.67±2.10 ^{Bb}	42.43±0.51 ^{Cb}	241.00±1.00 ^{Ab}
22	55.40±0.29 ^{Ca}	211.00±1.00 ^{Ba}	46.5±0.50 ^{Da}	246.67±1.53 ^{Aa}

Average values in the same row with different letters (A-D) are significantly different ($P \leq 0.05$)

Average values in the same column with different letters (a-i) are significantly different ($P \leq 0.05$)

ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดพบว่ามีอยู่ในช่วง 1.8×10^4 – 1.1×10^7 CFU/g แต่ไม่พบ *E. coli*, *Salmonella*, *Vibrio cholerae* และ *Clostridium perfringens* ตลอดการหมักทุกตัวอย่าง

สรุป

1. ปลาข้าวคั่วมีกลิ่นหอมกว่าปลาร้า ปลาปลาร้าจากปลากระดี่จะมีกลิ่นหอมกว่าปลาร้าจากปลาจวด
2. แบคทีเรียที่พบมากในระหว่างกระบวนการหมัก ได้แก่ *Staphylococcus*, *Micrococcus* และ *Bacillus*
3. ความสดของปลา ปริมาณเกลือ ปริมาณข้าวคั่ว และ อุณหภูมิการหมักไม่มีผลต่อกลิ่นของปลาร้า
4. ชนิดของปลาและระยะเวลาการหมักมีผลต่อกลิ่นและปริมาณฮิสตามีนที่เกิดขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- แพรวพรรณ ห้อยทองแดง. 2522. การศึกษาจุลชีววิทยาของอาหารหมักพื้นเมือง : ปลาร้า. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- จิราวรรณ เข้มประยูร และ อมรรัตน์ สุขใจ. 2542. ปลาร้าสำเร็จรูปพร้อมปรุงชนิดผง-ก้อน. วารสารการประมง. 52(4): 356-361.
- อุดม สุนทรวิภาต และ อารี วานิช. 2515. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของปลาร้าระหว่างการหมักดอง. รายงานผลการทดลองแผนกอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 199 หน้า.
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, Virginia. 1298 p.
- Hardy, R. and J. G. M. Smith. 1976. The storage of mackerel (*Scomber scombrus*). Development of histamine and rancidity. J. Sci. Food Agric. 27: 595-599.