บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

น้ำปลาเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ทางเคมีและกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นกับตัวปลา ซึ่งถูกควบคุมโดยเกลือความเข้มข้นสูงและสภาพที่มีออกซิเจนอยู่น้อย วัตถุดิบที่ใช้คือปลาและเกลือ ปกตินิยมใช้ปลาขนาดเล็กมากกว่าปลาขนาดใหญ่ ปลาทะเลที่นิยมนำมาทำน้ำปลาได้แก่ ปลาไส้ตัน (Stolephorus spp.) ปลากะตักขาว (Clupeoides lile) ปลาหลังเขียว (Sardinella spp.) ปลาทรายแดง (Nemipterus spp.) ปลาทู (Rastrelliger spp.) และปลาเบญจพรรณอื่น ๆ ปลาน้ำจืดที่นำมาทำน้ำปลาได้แก่ ปลาสร้อย (Cirrhinus spp.) น้ำปลาที่ทำจากปลาน้ำเค็มจะมีกลิ่นและรสดีกว่าน้ำปลาที่ทำจากปลาน้ำจืด (16,17) ส่วนเกลือที่ใช้มี 2 ชนิด คือ เกลือทะเล (sea salt) และเกลือสินเธาว์ (rock salt) ซึ่งมีส่วนประกอบหลักเป็นโซเดียมคลอไรด์ (18)

1. กระบวนการผลิตน้ำปลา

กระบวนการผลิตน้ำปลาทำโดยนำปลามาล้างเอาดินและสิ่งที่ปะปนอื่น ๆ ออก จากนั้นจึงผสมกับเกลือในอัตราส่วน ปลา 2 ส่วนและเกลือ 1 ส่วน หรือปลา 3 ส่วน และเกลือ 1 ส่วนโดยน้ำหนัก คลุกเคล้าให้ผสมกันจากนั้นนำไปเก็บหมักไว้ในถังซีเมนต์หรือถังไม้โดยใช้เสื่อไม้ไผ่วางทับบนปลาและวางทับอีกชั้นด้วยก้อนอิฐ เพื่อให้ปลาจมใต้ระดับน้ำเกลือที่ออกมาจากตัวปลาตลอดเวลา มิฉะนั้นถ้าปลาลอยพ้นน้ำเกลือขึ้นมาจะทำให้เกิดการเน่าเสีย โดยปกติน้ำเกลือจะท่วมปลาภายใน 1 สัปดาห์นับจากเริ่มหมัก ปล่อยให้หมักในที่ร่มหรือกลางแจ้งนาน 12-18 เดือน (4,16) ซึ่งวัตถุดิบ ระยะเวลาและวิธีในการผลิตน้ำปลาของประเทศต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 1 เมื่อครบกำหนดและผู้ชำนาญการของโรงงานเห็นว่าหมักได้ที่แล้วก็จะถ่ายของเหลวที่ได้ออกมาเรียกว่า หัวน้ำปลา ซึ่งจะนำไปตากแดดและขายเป็นน้ำปลาชั้นหนึ่ง หลังจากถ่ายเอาหัวน้ำปลาออกแล้วในถังหมักจะเหลือกากปลา ซึ่งมีเนื้อปลาที่ยังถูกย่อยสลายไม่หมดอยู่มาก ผู้ผลิตจึงมักเติมน้ำเกลืออิ่มตัวลงไปปริมาณเท่ากับหัวน้ำปลาที่ถ่ายออกมา และหมักต่อไปอีก 1-4 เดือน แล้วถ่ายของเหลวที่ได้ออกมาเป็นน้ำปลาชั้นรอง ทำเช่นนี้ต่อไปอีกหลายครั้งจนถึงขั้นต้องต้มกากปลากับน้ำเกลืออิ่มตัวและเติมสารปรุงแต่ง เช่น น้ำตาลเคี่ยวไหม้ น้ำบีเอ็กซ์ ซึ่งเหลือจากโรงงานผลิตผงชู-

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของวัตถุดิบ อัตราส่วนที่ใช้และระยะเวลาในการผลิตน้ำปลาของประเทศต่างๆ (11)

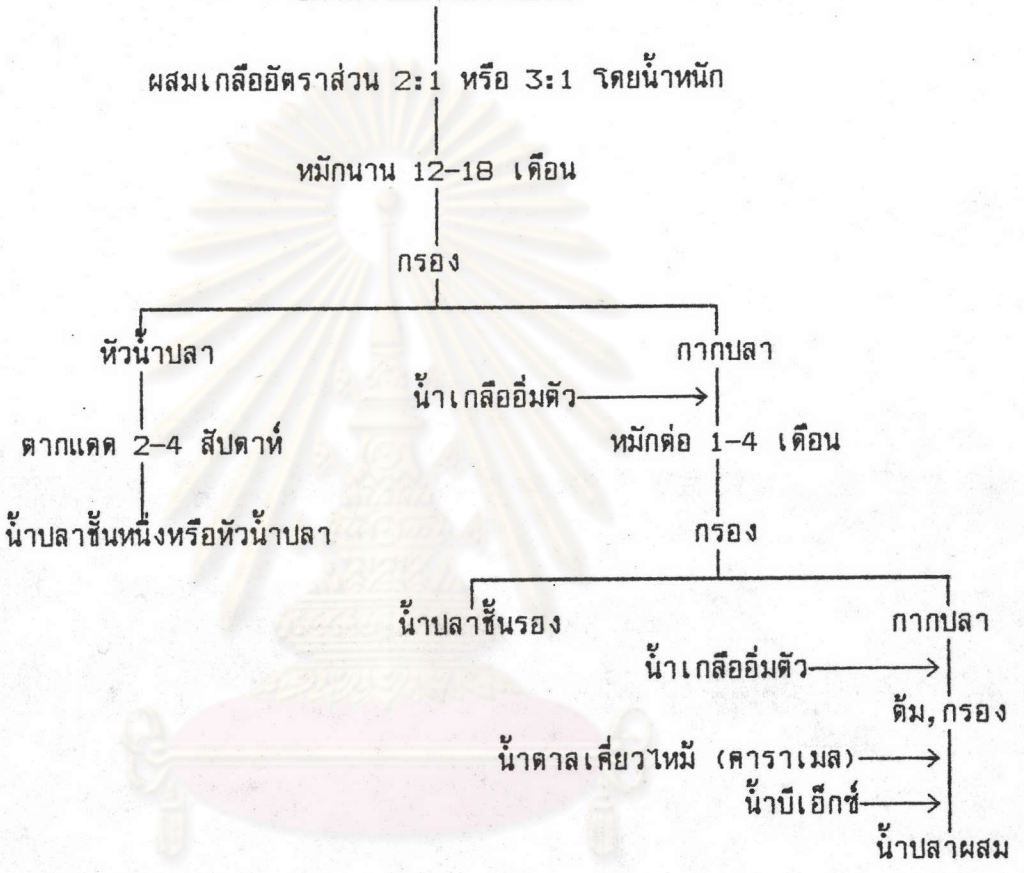
ประเทศ	ชื่อเรียก	วัตถุดิบที่ใช้	อัตราส่วนวัตถุดิบต่อเกลือและระยะเวลาของการหมัก
ญี่ปุ่น	โชชูรุ (shottsuru) โชหยุ (shoyu)	ปลาหลังเขียว ปลาตาแหงนและปลาหมึกกล้วย	5 ต่อ 1 (เติมข้าวมอลต์และโคจิ) นาน 6 เดือน
เกาหลี	-	กุ้ง	4 ต่อ 1 นาน 6 เดือน
เวียดนามและกัมพูชา	นอกมาม (nouc mam)	ปลาไส้ตัน ปลาทู ปลากะตัก ปลาทูแขก ปลาตะเพียนน้ำเค็ม	3 ต่อ 1 ถึง 3 ต่อ 2 นาน 3-12 เดือน
ไทย	น้ำปลา (nam-pla)	ปลาไส้ตัน ปลาทู ปลาหลังเขียว ปลากะตัก ปลาสร้อย	2 ต่อ 1 ถึง 3 ต่อ 1 นาน 12-18 เดือน
มาเลเซีย	บูดู (budu)	ปลาไส้ตัน	5 ต่อ 1 ถึง 3 ต่อ 1 (เติมน้ำตาลและมะขาม) นาน 3-12 เดือน
ฟิลิปปินส์	ปาดิส (patis)	ปลาไส้ตัน ปลาหลังเขียว ปลาทูแขก	4 ต่อ 1 ถึง 3 ต่อ 1 นาน 3-12 เดือน
อินโดนีเซีย	เคทแจปอิคาน (ketjab-ikan)	ปลาแป้นและปลาน้ำจืดบางชนิด	6 ต่อ 1 นาน 6 เดือน
อินเดียและปากีสถาน	โคลัมโบเคอร์ (colombo-cure)	ปลาทู ปลาหลังเขียว ปลาอื่นๆ	6 ต่อ 1 (ใช้ปลาเอาไส้ออกเติมมะขาม) นานมากกว่า 12 เดือน
อ่องกง	-	ปลากะตัก ปลาหลังเขียว ปลาหางแข็ง ปลาขี้ตังเป็ด	4 ต่อ 1 นาน 3-12 เดือน
ฝรั่งเศส	แอนโชวี (anchovy)	ปลากะตัก	2 ต่อ 1 (ใช้ปลาเอาไส้ออก) นาน 6-7 เดือน

เครื่องหมาย - หมายถึง ไม่มีรายงานชื่อของผลผลิตดังกล่าว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รส เพื่อขายเป็นน้ำปลาผสม น้ำปลาที่ได้ก่อนการบรรจุขวดจำหน่ายต้องนำไปผ่านการกรองด้วยทราย กากปลาหรืออุปกรณ์อื่น ๆ เพื่อให้ได้น้ำปลาที่ใส น่ารับประทาน (6,11) สำหรับขั้นตอนการผลิตน้ำปลาดังแสดงในรูปที่ 1

<u>รูปที่ 1</u> แสดงขั้นตอนการผลิตน้ำปลาตามแบบธรรมชาติ



<u>องค์ประกอบต่าง ๆ ที่มีผลต่อคุณภาพของน้ำปลา</u> (4)

ก. <u>ชนิดของปลา</u> ควรใช้ปลาสด ปลาที่นิยมใช้ทำน้ำปลา เช่น ปลากะตัก (anchovie) ปลาไส้ตัน จะดีกว่าปลาทู ปลาหลังเขียวและปลาอื่น ๆ

ข. <u>อัตราส่วนปลาต่อเกลือ</u> เนื่องจากขนาดของปลาแต่ละชนิดไม่เท่ากัน ดังนั้นอัตราส่วนของปลาและเกลือจะต้องพอเหมาะ

ค. <u>กรรมวิธีการหมัก</u> ต้องคลุกเคล้าปลากับเกลือให้ผสมกันดี เพราะมิฉะนั้นส่วนที่ผสมไม่ดีจะเกิดการเน่าเสียได้และควรบรรจุให้เต็มถังหมัก พยายามหลีกเลี่ยงการเติมปลาใน

ระหว่างการหมัก เพราะอายุของการหมักแต่ละช่วงต้องอาศัยจุลินทรีย์แต่ละกลุ่ม เพื่อสร้างคุณสมบัติเฉพาะตัวให้แก่น้ำปลาแตกต่างกัน การเติมปลาลงไปจะทำให้ระบบนิเวศน์ต่าง ๆ ภายในถังหมักเกิดการเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งจะมีผลกระทบต่อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องทำให้น้ำปลาที่ได้มีคุณภาพไม่ดี เมื่อหมักปลาเรียบร้อยแล้วควรปิดฝาให้มิดชิดเพื่อมิให้แมลง หนูและสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ลงไปรบกวนและไม่ควรถ่ายเทหรือคลุกเคล้าระหว่างการหมัก

ง. ชนิดของเกลือที่ใช้หมัก ควรจะสะอาดบริสุทธิ์ เพราะสิ่งปนปลอม เช่น แมงกานีส ฟอสฟอรัส ฯลฯ จะมีผลทำให้เกลือซึมเข้าสู่ปลาได้น้อย จะทำให้สี กลิ่นและรสของน้ำปลาเปลี่ยนไป

2. วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักน้ำปลา

2.1 ปลา ส่วนประกอบและจุลชีววิทยาของปลา ปลาที่ใช้ทำน้ำปลาและปลาทั่วไปมีส่วนประกอบที่สำคัญ ๆ ใกล้เคียงกัน คือ โปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ วิตามินและน้ำ ซึ่งส่วนประกอบของปลาบางชนิดที่ใช้ทำน้ำปลาดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณส่วนประกอบทางเคมีของปลาบางชนิดที่ใช้ทำน้ำปลา (19)

ส่วนประกอบที่พบ (หน่วย)	ชนิดของปลา		
	ปลาไส้ตัน	ปลาทูสด	ปลาแป้น
โปรตีน (กรัม)	18.00	20.00	20.20
ไขมัน (กรัม)	0.30	6.70	4.30
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	0	0	–
น้ำ (กรัม)	80.50	72.00	74.40
กาก (กรัม)	0.10	–	0.10
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	218.00	170.00	4.00
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	211.00	60.00	175.00
เหล็ก (มิลลิกรัม)	1.70	11.90	2.00
วิตามินเอ (หน่วย)	139.00	138.00	195.00
วิตามินบี 1 (มิลลิกรัม)	0.02	0.03	0.12
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม)	0.04	0.62	0.05
ไนอะซีน (มิลลิกรัม)	0.60	9.20	3.00

เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีรายงานการตรวจหาสารดังกล่าว

<u>โปรตีน</u> เป็นสารประกอบไนโตรเจนชนิดหนึ่ง ซึ่งโปรตีนในปลาสามารถจำแนกตามลักษณะการละลายได้เป็น 4 ประเภท (20) คือ

1) โปรตีนที่ละลายได้ในน้ำหรือที่เรียกว่า มัยโอเจน (myogen) มีอยู่ประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนทั้งหมด ซึ่งประกอบด้วยน้ำย่อยชนิดต่าง ๆ เม็ดสีในเนื้อและไซโตโครม ซี

2) โปรตีนที่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายในสารละลายเกลือเจือจาง ซึ่งมีค่า ionic strength ประมาณ 0.15 เรียกว่า โกลบูลินเอ็กซ์ (globulin-x) โดยมีอยู่ประมาณ 8-22 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนทั้งหมด ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนในเลือดและน้ำย่อยบางชนิด

3) โปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือที่มีค่า ionic strength สูงกว่า 0.5 ได้แก่ โปรตีนกล้ามเนื้อ (myofibrillar protein) เช่น แอคติน (actin), มัยโอซิน (myosin), แอคติโนมัยโอซิน (actinomyosin) เป็นต้น พวกนี้มีอยู่ประมาณ 65-75 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนทั้งหมด

4) โปรตีนที่ไม่ละลายน้ำหรือสารละลายของเกลือแต่ละลายในกรดและด่างเข้มข้น เรียกว่า สโตรมอลโปรตีน (stromal protein) พวกนี้ได้แก่ โปรตีนในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เช่น คอลลาเจน (collagen), อีลาสติน (elastin), เรทิคูลิน (reticulin) พบอยู่ประมาณ 3-10 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนทั้งหมด นอกจากนี้ในเนื้อปลายังมีสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนอีก ได้แก่ กรดอะมิโนอิสระซึ่งในเนื้อปลามีสูงกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่น ๆ มีอยู่ประมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์ของกรดอะมิโนทั้งหมด (19) แอมโมเนียและสารที่ระเหยง่ายอื่น ๆ ไตรเมธิลเอมีนออกไซด์ (trimethylamine oxide) และสารพวกนิวคลีโอไทด์ สารประกอบเหล่านี้ทำให้ปลาชนิดต่าง ๆ มีรสชาดแตกต่างกันออกไป

<u>ไขมัน</u> ไขมันในปลามีคุณสมบัติที่ต่างจากไขมันของสัตว์อื่นคือ ในโมเลกุลประกอบด้วยกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมมากกว่า 18 อะตอม และโมเลกุลของกรดไขมันต่อกันเป็นสายโมเลกุลที่ยาวและมีกรดลิโนลีนิค (linolenic acid) ที่มีจำนวนคาร์บอนระหว่างพันธะคู่เท่ากับ 3 อะตอมในปริมาณมาก ไขมันในปลาแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ 1) ไขมันสะสม (depot-fat) เป็นไขมันที่ปลาเก็บไว้เป็นแหล่งของพลังงาน ส่วนมากพบใต้ผิวหนัง กล้ามเนื้อแดงและตับ ไขมันในกลุ่มนี้มีสภาพเป็นกลาง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ไลเปสแล้ว จะให้กรดไขมันซึ่งจะถูกนำไปสร้างพลังงานโดยกระบวนการออกซิเดชั่น 2) ไขมันไม่สะสม (non-depot fat) เป็นไขมันซึ่งเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) และช่วยในการทำงานของเซลล์ให้เป็นไปตามปกติ ไขมันนี้จะอยู่ในสภาพมีขั้ว (polar) ที่สำคัญได้แก่ ฟอสโฟลิปิด (20,21) ซึ่งปริมาณของไตรกลีเซอไรด์และฟอสโฟลิปิดในปลาบางชนิดดังแสดงในตารางที่ 3

กรดไขมัน (fatty acid) ที่พบในปลาจะแตกต่างกันออกไป มีทั้งกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) (22) แต่จะมีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวมากถึง 40 เปอร์เซ็นต์และเป็นพวกที่มีความไม่อิ่มตัวสูง กล่าวคือ มีปริมาณพันธะคู่มากถึง 6 พันธะใน 1 โมเลกุล ทำให้ไขมันจากปลาเสียและเหม็นหืนง่าย ลักษณะสำคัญอีกอย่างหนึ่งของกรดไขมันในปลาคือ ส่วนใหญ่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นเลขคู่ซึ่งมีมากถึง 97 เปอร์เซ็นต์ (20) ตัวอย่างของกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบของไตรกลีเซอไรด์และฟอสโฟลิปิดในปลาชนิดต่าง ๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4 และตารางที่ 5 ไขมันของปลาทะเลและปลาน้ำจืดมีความแตกต่างกันคือ ปลาทะเลมีกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็น 18,20 และ 22 มากกว่าปลาน้ำจืดซึ่งมีกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็น 20 และ 22 น้อย แต่จะมีกรดปาล์มมิติค (palmitic acid) มากกว่าปลาน้ำเค็ม ทั้งนี้อาจเป็นเพราะความแตกต่างของสภาพแวดล้อม อาหาร ฤดูกาล ในปลาที่มีไขมันมากจะมีเนื้อสีเข้มกว่าปลาที่มีไขมันน้อย (20) และน้ำปลาที่ทำจากปลาที่มีไขมันมาก มักจะมีกลิ่นและรสดีกว่าน้ำปลาที่ทำจากปลาทั่วไป (23)

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณฟอสโฟลิปิดและไตรกลีเซอไรด์ในปลาชนิดต่าง ๆ (21)

ชนิดของปลา	ปริมาณของไขมัน (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)	
	ฟอสโฟลิปิด	ไตรกลีเซอไรด์
ปลาเฮก (Merluccius capensis)	0.46	1.00
ปลากะรัง (Morone saxatilis)	0.67	1.36
ปลาตุ๊กแก (Mallotus villosus)	0.56	1.99
ปลาหลังเขียว (Sardinops ocellata)	0.91	3.90
ปลาตะลุมพุก (Brevortia tyrannus)	1.23	6.97
ปลาแฮริ่ง (Clupea harengus)	1.13	15.20
ปลาทู (Scomber scombrus)	0.84	22.70
ปลาจุ้ยจิน (Tracharus japanicus)	0.35	7.81
ปลาทูแขก (Decapterus pinnulatus)	0.36	6.27
ปลาทเราท (Salvelinus iridis)	0.63	4.68
ปลาไน (Cyprinus carpio)	1.10	6.20
เฉลี่ย	0.75	7.10

ตารางที่ 4 แสดงชนิดและปริมาณกรดไขมันของไตรกลีเซอไรด์ในปลาชนิดต่าง ๆ (21)

ชนิดของปลา	ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)						
	14:0	16:0	18:0	9*16:1	9*18:1	11*20:1	11*22:1
ปลาไส้ตัน (Engraulis ringens)	11.2	20.4	6.8	7.9	12.2	2.8	2.3
ปลาตะลุมพุก (Brevortia tyrannus)	8.1	25.5	4.3	8.4	17.9	1.8	-
ปลาจั๊ยจิ๋น (Trachurus japanicus)	4.7	21.4	7.7	8.6	22.4	0.5	1.0
ปลาทูแขก (Decapterus pinnulatus)	9.3	24.2	7.4	8.4	25.7	1.2	-
ปลาแอริ่ง (Clupea harengus)	5.6	12.5	1.1	13.6	15.5	13.7	19.4
ปลาตีกแก (Mallotus villosus)	8.0	9.4	1.1	16.1	8.2	17.4	15.6
ปลากะพง (Morone saxatilis)	2.9	18.0	3.2	9.5	31.2	4.1	-
ปลากะรังหัวโขน (Sebastus marinus)	6.4	14.3	1.8	7.0	21.5	10.8	9.3
ปลาคอด (Gadus morhua)	3.4	12.3	2.7	9.3	18.8	7.7	6.3
ปลาแซลมอน (Oncorhynchus kisutch)	3.2	10.3	3.5	10.7	21.2	3.4	0.5
ปลาไน (Cyprinus carpio)	2.5	20.1	3.6	9.0	32.0	7.8	2.3

A*B:C A = ตำแหน่งของคาร์บอนอะตอมที่มีพันธะคู่

B = จำนวนคาร์บอนอะตอมในโมเลกุล

C = จำนวนพันธะคู่ในโมเลกุล

เครื่องหมาย - หมายถึง ผลการวิเคราะห์ไม่พบกรดไขมันชนิดดังกล่าว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 แสดงชนิดและปริมาณกรดไขมันของฟอสโฟลิปิดในปลาชนิดต่าง ๆ (21)

ชนิดของปลา	ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)						
	14:0	16:0	18:0	9*16:1	9*18:1	11*20:1	11*22:1
ปลาไส้ตัน (Engraulis ringens)	4.5	25.2	5.7	7.0	15.0	2.6	2.0
ปลาตะลุมพุก (Brevortia tyrannus)	1.6	24.6	9.5	3.6	18.5	0.7	0.1
ปลาจุ้ยจิ๋น (Trachurus japanicus)	-	19.4	11.0	1.9	9.6	-	-
ปลาทูแขก (Decapterus pinnulatus)	-	18.1	12.4	1.5	9.6	-	-
ปลาแอริ่ง (Clupea harengus)	1.8	21.4	3.2	4.6	13.0	2.4	1.6
ปลาตีกแก (Mallotus villosus)	2.0	18.3	2.7	5.7	11.2	3.0	2.6
ปลากะพง (Morone saxatilis)	0.7	22.1	4.0	2.1	9.4	1.4	-
ปลากะรังหัวโขน (Sebastus marinus)	2.6	24.9	2.5	3.2	11.9	2.7	1.3
ปลาคอด (Gadus morhua)	1.1	20.8	4.0	3.6	12.7	1.9	0.2
ปลาแซลมอน (Oncorhynchus kisutch)	3.0	15.6	4.7	8.9	25.3	2.3	0.6
ปลาไน (Cyprinus carpio)	3.2	22.2	10.4	5.1	19.9	2.9	0.3

A*B:C A = ตำแหน่งของคาร์บอนอะตอมที่มีพันธะคู่

B = จำนวนคาร์บอนอะตอมในโมเลกุล

C = จำนวนพันธะคู่ในโมเลกุล

เครื่องหมาย - หมายถึง ผลการวิเคราะห์ไม่พบกรดไขมันชนิดดังกล่าว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แร่ธาตุ ที่พบในปลาได้แก่ โปตัสเซียม ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ โซเดียม แมกนีเซียม แคลเซียม เหล็ก ฯลฯ ส่วนวิตามินพบทั้งที่ละลายในไขมัน เช่น วิตามิน เอ วิตามิน ดี วิตามิน อี วิตามิน เค และที่ละลายได้ในน้ำ เช่น ไธอะมีน ไรโบฟลาวิน ไนอะซีน กรดโฟลิค ไบโอติน ฯลฯ (20)

จุลชีววิทยาของปลา จุลินทรีย์ที่พบในปลานั้นจะแตกต่างกันไปตามฤดูกาล สถานที่ ชนิดของปลา กรรมวิธีการจับ การเก็บรักษาและการขนส่ง จุลินทรีย์เหล่านี้จะพบตามผิวหนัง เหงือกและลำไส้ของปลา (16,24) จุลินทรีย์ที่พบส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่พบตามผิวหนังและเมือกบนตัวปลา เช่น Pseudomonas sp., Achromobacter sp., Micrococcus sp., Bacillus sp., Streptococcus sp., Flavobacterium sp., Sarcina sp., Corynebacterium sp., Serratia sp., Vibrio sp., Alcaligenes sp., Lactobacillus sp. ฯลฯ ส่วนพวกที่พบบริเวณลำไส้ของปลา เช่น Bacillus sp., Flavobacterium sp., Achromobacter sp., Vibrio sp., Pseudomonas sp., Clostridium sp., Escherichia sp. ฯลฯ (25,26,27) ปลาที่จับมาจากทะเลใหม่ ๆ จะมีจำนวนแบคทีเรียบริเวณเมือกบนตัวปลาประมาณ 10^2–10^7 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร ในลำไส้มีประมาณ 10^3–10^9 เซลล์ต่อกรัม และตรงบริเวณเหงือกมีประมาณ 10^3–10^9 เซลล์ต่อกรัม โดยพบว่า Escherichia sp., Serratia sp., Pseudomonas sp. และ Clostridium sp. จะมีบทบาทสำคัญที่ทำให้ปลาเกิดการเน่าเสีย เพราะแบคทีเรียเหล่านี้จะสามารถเจริญอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเนื้อปลามีสารอาหารและกรดอะมิโนสูง นอกจากนี้ยังสามารถใช้สารอาหารที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายตัวเองของปลา (autolysis) และสารอาหารที่เกิดจากการย่อยสลายโดยแบคทีเรีย เช่น เปปไทด์และกรดอะมิโน ซึ่งจะถูกเปลี่ยนไปเป็น เอมีน (amine) อินโดล (indole) และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (hydrogen sulfide) ต่อไป (26)

2.2 เกลือ ส่วนประกอบและจุลชีววิทยาของเกลือ ทั้งเกลือทะเลและเกลือสินเธาว์มีชื่อเรียกทางเคมีเหมือนกัน คือ โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) แต่เกลือที่โรงงานอุตสาหกรรมน้ำปลาใช้กันมากคือ เกลือทะเล เพราะว่ามีจำนวนมาก หาได้ง่าย และมีความชื้นพอเหมาะ (5,18) เกลือทะเลที่ใช้ในประเทศไทยมีโซเดียมคลอไรด์อยู่ประมาณ 88.26±2.79 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในต่างประเทศพบว่ามีปริมาณโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 97 เปอร์เซ็นต์ สารชนิดอื่นที่เจือปนในเกลือทะเลได้แก่ แคลเซียมซัลเฟต ($CaSO_4$) 0.24 เปอร์เซ็นต์, แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) 0.3 เปอร์เซ็นต์, แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) 0.24 เปอร์เซ็นต์, แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) 0.17 เปอร์เซ็นต์, สารที่ไม่ละลายน้ำ 0.4 เปอร์เซ็นต์ และน้ำ 2.4 เปอร์เซ็นต์

(20,28) จากการศึกษาเกลือสินเธาว์ที่ผลิตจากแหล่งต่างๆในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (29) พบว่าประกอบด้วยโซเดียมคลอไรด์ 92.2-95.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่เหลือจะเป็นสารประกอบและแร่ธาตุชนิดอื่น ได้แก่ แมกนีเซียมไอออน (Mg^{++}), แคลเซียมไอออน (Ca^{++}), ซัลเฟตไอออน ($SO_4^{=}$), น้ำและสารที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งสิ่งเจือปนเหล่านี้จะทำให้เกลือซึมเข้าไปในเนื้อปลาช้าลง ทำให้เกิดการเน่าเสียและพวกโลหะหนักที่ปนในเกลือจะไปเร่งปฏิกริยาการเติมออกซิเจนของไขมันในปลา ทำให้เกิดกลิ่นและรสไม่ดีในน้ำปลา (4,20)

จุลชีววิทยาของเกลือ จากการศึกษาแบคทีเรียในเกลือทะเล พบว่าส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียชอบเค็ม (halophilic bacteria) เช่น Halobacterium sp., Halococcus sp., Bacillus sp., Serratia salinaria และยังพบพวก Micrococcus sp, Sarcina sp. อีกเล็กน้อย ส่วนในเกลือสินเธาว์พบว่าส่วนใหญ่เป็น Micrococcus sp., ส่วนที่เหลือเป็นกลุ่ม coryneforms, Bacillus sp. และพวกแบคทีเรียที่เจริญในสภาวะไร้ออกซิเจนที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็น (putrefactive anaerobic bacteria) (26,30) เกลือนอกจากใช้เป็นวัตถุดิบในการทำน้ำปลาแล้วยังใช้ในการถนอมอาหารชนิดอื่นๆอีก เช่น กะปิ ปลาร้า ปลาเจ่า ปลาหมัก ฯลฯ (31) โดยเกลือจะเป็นตัวควบคุมชนิดและปริมาณของแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ รวมถึงอาจมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (pathogenic bacteria) และที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหารนั้น ๆ ซึ่ง Frazier (26) ได้สรุปบทบาทของเกลือต่อแบคทีเรียไว้ดังนี้

1) ทำให้เกิดแรงดันออสโมซีส (osmotic pressure) ทำให้เซลล์แบคทีเรียตายหรือหยุดการเจริญเติบโตเนื่องจากเกิดพลาสโมไลซีส (plasmolysis)

2) ดึงความชื้นออกจากอาหารเป็นการควบคุมปริมาณ available water (Aw) ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างค่า Aw และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ดังแสดงในตารางที่ 6 โดยจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะเจริญได้ในสภาวะที่มีค่า Aw ได้มากน้อยต่างกันดังแสดงในตารางที่ 7

3) การแตกตัวของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ทำให้ได้โซเดียมไอออนและคลอไรด์ไอออน ซึ่งจะเป็นอันตรายต่อเซลล์แบคทีเรียที่ไวต่อไอออนชนิดนั้น ๆ โดยโซเดียมไอออนจะไปรวมตัวกับสารที่มี sulfhydryl group (-SH) ทำให้สารนั้นไม่สามารถ transfer acyl group

4) ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ภายในเซลล์แบคทีเรีย

5) ทำให้เซลล์แบคทีเรียไวต่อคาร์บอนไดออกไซด์

6) ลดการละลายของออกซิเจนในอาหาร ทำให้เกิดสภาพที่ค่อนข้างจะเป็นสภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobe) ซึ่งพบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ออกซิเจนจะ

ละลายในน้ำได้ประมาณ 6.1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ถ้ามีเกลือละลายอยู่ 25 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณการละลายของออกซิเจนจะเหลือเพียง 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (33)

ตารางที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Aw และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (32)

available water (Aw)	ปริมาณ NaCl (กรัมในน้ำ 100 มิลลิลิตร)
0.995	0.87
0.980	3.5 (น้ำทะเล)
0.960	7
0.900	16.2
0.850	23
0.800	30 (น้ำเกลืออิ่มตัว)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 แสดงชนิดของจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีค่า Aw ต่าง ๆ (32)

available water (Aw)	ชนิดของอาหาร	แบคทีเรีย	ยีสต์	รา
1.00	ผัก ผลไม้ เนื้อสัตว์	Caulobacter sp. Spirillum sp.		
0.95	ขนมปัง	รูปแท่ง แกรมบวก เกือบทั้งหมด	Basidiomycetous yeast	Basidiomycetes
0.90	แฮม	Lactobacillus sp. Bacillus sp.และพวกรูปกลม	Ascomycetous sp. yeasts	Fusarium sp. Mucor sp.
0.85	ไส้กรอก	Staphylococcus sp.	Saccharomyces rouxii(ในเกลือ) Debaryomyces sp. (ในเกลือ)	
0.80	เค้กผลไม้ สำเร็จรูป		S.bailii (ในน้ำตาล)	Penicillium sp.
0.75	ปลาหมัก เกลือ	Halobacterium sp. Halococcus sp.		Wallemia sp. Aspergillus sp. Chrysosporum sp.

3. น้ำปลา ส่วนประกอบและจุลชีววิทยาของน้ำปลา สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (34) ได้กำหนดมาตรฐานของน้ำปลาชั้นคุณภาพที่ 1 ดังนี้คือ น้ำปลาต้องใส ปราศจากตะกอนยกเว้นผลึกซึ่งเกิดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ กลิ่น รสและสีเมื่อตรวจสอบด้วยวิธีให้คะแนนโดยใช้ประสาทสัมผัส ต้องได้คะแนนรวมไม่น้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ของคะแนนเต็ม ความหนาแน่นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 27/27 องศาเซลเซียสไม่น้อยกว่า 1.20 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 5.0-6.0 โซเดียมคลอไรด์ไม่น้อยกว่า 230 กรัมต่อลิตร ไน-

016631

ไตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) ไม่น้อยกว่า 20 กรัมต่อลิตร อัตราส่วนของกรด-กลูตามิคต่อไนโตรเจนทั้งหมดเท่ากับ 0.4-0.6 ไนโตรเจนจากกรดอะมิโน (amino acid nitrogen) ไม่น้อยกว่า 10 กรัมต่อลิตร ไม่ใช้วัตถุกันเสียและวัตถุที่ให้ความหวานชนิดอื่นนอกจากน้ำตาล การแต่งสีของน้ำปลาให้ใช้น้ำตาลเคี่ยวไหม้เท่านั้น จากการศึกษาน้ำปลาที่ผลิตทั่วไปพบว่าน้ำปลามีโปรตีนระหว่าง 15-26 เปอร์เซ็นต์ (4) มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) อยู่ในช่วง 0.92-2.6 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าน้ำปลาคุณภาพดีที่ทำมาจากปลาไส้ตันจะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดประมาณ 2.5 เปอร์-เซ็นต์ (35) กรดอะมิโนจำเป็นที่พบในน้ำปลาได้แก่ ไลซีน ลูซีน ไอโซลูซีน ทริพโตเฟน ทรีโอนีน วาลีน เมธไทโอนีน เฟนนิลอลานีน อาร์จินีน และฮีสติดีน (4,5) นอกจากนี้ยังพบกรดอะมิโนอื่น ๆ อีก เช่น แอสพาร์ติก, กลัยซีนและกรดกลูตามิค ซึ่งเชื่อว่ากรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ มีส่วนเกี่ยวข้องกับรสของน้ำปลา (14,17) ได้มีการศึกษาปริมาณของกรด-อะมิโนในน้ำปลาที่ผลิตในประเทศแถบเอเชียไว้ดังแสดงในตารางที่ 8 ไขมันในน้ำปลาพบน้อย จึงไม่ค่อยมีความสำคัญด้านคุณค่าทางอาหารแต่จะมีความสำคัญในการเกิดกลิ่นของน้ำ-ปลา (36,37) วิตามินในน้ำปลามีหลายชนิดที่พบมากคือวิตามินบี โดยเฉพาะวิตามิน บี 12 ซึ่งในน้ำปลา 100 ลูกบาศก์เซนติเมตรจะมีวิตามินบี 12 ประมาณ 1-5 ไมโครกรัม (6,7) เกลือที่พบส่วนใหญ่อยู่ในรูปของโซเดียมคลอไรด์ซึ่งมีประมาณ 27-31 เปอร์เซ็นต์ (38) กรดอินทรีย์พบทั้งที่ระเหยได้และระเหยไม่ได้ เช่น กรดฟอร์มิค, กรดอะซีติค, กรด-โปรปิโอนิค, กรดแลคติค ฯลฯ (39) นอกจากนี้ส่วนประกอบทางเคมีอื่น ๆ ที่พบในน้ำปลาแต่มีปริมาณน้อยได้แก่ ฟอสฟอรัส (0.266-0.566 กรัมต่อลิตร) แคลเซียม (0.439-0.541 กรัมต่อลิตร) แมกนีเซียม (2.208-2.310 กรัมต่อลิตร) และสารอินทรีย์ของกำ-มะถัน (0.54-1.16 กรัมต่อลิตร) (40), เหล็ก (10-22 มิลลิกรัมต่อลิตร) (28)

จุลชีววิทยาของน้ำปลา จุลินทรีย์ที่พบในน้ำปลาอาจมาจากตัวปลา เกลือ เครื่องใช้และสถานที่ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรีย ในขณะที่ราและยีสต์พบได้น้อย (14,36) จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนของน้ำปลาที่หมักนาน 1 ปี โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเกลือ 0.5-20 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย $10-10^3$ เซลล์ในน้ำปลา 1 มิลลิลิตร (41) แบคทีเรียที่พบในน้ำปลาได้แก่ Pediococcus halophilus, Staphylococcus sp., Bacillus sp., Micrococcus sp., Halococcus sp., Halobacterium sp., Streptococcus sp., และกลุ่ม Coryneform (1,30)

น้ำปลาเกิดจากการที่เนื้อปลาและส่วนประกอบอื่นของปลาถูกเปลี่ยนสภาพเป็นสารที่มีโมเลกุลเล็กลงจากปฏิกริยาเคมีและกิจกรรมของจุลินทรีย์ ในการเกิดน้ำปลาภาย-

ตารางที่ 8 แสดงปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ ในน้ำปลาที่ผลิตในประเทศแถบเอเชีย (12)

กรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโนในน้ำปลาของประเทศแถบเอเชีย (มิลลิกรัมใน 1 มิลลิลิตร)				
	น้ำปลาไทย	น้ำปลามาเลเซีย	น้ำปลาฟิลิปปินส์	น้ำปลาเวียดนาม	น้ำปลาญี่ปุ่น
กรดกลตามิค	5.82	1.78	14.48	4.0	10.0
อะลานีน	2.82	1.52	6.74	4.2	7.5
กรดแอสปาร์ติค	2.76	1.10	6.59	2.4	4.8
ไลซีน	0.72	0.40	6.02	4.0	10.7
เวลีน	1.82	1.00	5.87	3.0	6.5
ลูซีน	2.02	1.64	5.72	4.0	8.4
ไกลซีน	1.10	0.44	5.61	2.4	3.3
ธรีโอนีน	1.61	0.70	4.90	2.0	3.0
โปรลีน	6.88	0.26	4.37	0.5	2.9
ไอโซลูซีน	1.82	0.98	4.01	4.0	5.2
เฟนิลอะลานีน	–	–	3.02	1.5	4.4
เซรีน	0.74	0.16	2.97	0.8	1.3
เมไธโอนีน	0.74	0.48	2.98	0.8	3.7
ฮีสติดีน	3.06	1.66	2.82	0.3	4.8
ซีสตีน	0.24	0.42	0.90	0.25	0.6
ไทโรซีน	0.14	0.32	0.53	0.8	1.0
อาร์จินีน	–	–	0.16	2.0	0.2

เครื่องหมาย - หมายถึง ผลการวิเคราะห์ไม่พบกรดอะมิโนชนิดดังกล่าว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ใต้สภาวะธรรมชาติมีการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญ 3 กระบวนการได้แก่ 1) การย่อยสลายโปรตีน 2) การเกิดสี 3) การเกิดกลิ่นและรส (14,42)

1. กระบวนการย่อยสลายโปรตีน เมื่อปลาตายจะเกิดการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) โดยเอนไซม์ในเนื้อปลา เช่น คาเทปซิน (cathepsin), เปปติเดส (peptidase), ทรานส์อะมิเนส (transaminase), ดีคาร์บอกไซเลส (decarboxylase), ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase), ออกซิเดส (oxidase) และเอนไซม์ในทางเดินอาหารของปลา เช่น เปปซิน (pepsin), ทริปซิน (trypsin) ซึ่งจะย่อยสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนได้แก่โปรตีนให้มีโมเลกุลเล็กลง (43) เมื่อมีการผสมปลากับเกลือและหมักในถังหมัก เกลือจะซึมเข้าสู่ตัวปลาทำให้น้ำจากตัวปลาซึ่งมีโปรตีนและสารประกอบอื่นที่เกิดจากการย่อยสลายตัวเองละลายอยู่ซึมออกสู่ภายนอกทำให้ได้ของเหลวที่จะกลายเป็นน้ำปลาต่อไป (20) นอกจากการย่อยสลายตัวเองของปลาแล้ว จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาจากแหล่งต่างๆที่เกี่ยวข้องก็มีส่วนช่วยย่อยสลายโปรตีนเช่นกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน (44) นอกจากนี้ความเข้มข้นของเกลือสูงจะช่วยจำกัดชนิดและปริมาณของกลุ่มจุลินทรีย์บางประเภท โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย กลุ่มที่ทำให้เกิดโรคและแบคทีเรียไม่ชอบเกลือ เนื่องจากปะปนมาจากแหล่งต่าง ๆ แบคทีเรียดังกล่าวจะตายลงอย่างรวดเร็วเหลือแต่พวกที่ทนเกลือหรือชอบเกลือซึ่งจะมีชีวิตรอดอยู่ได้ แบคทีเรียทนเค็มและชอบเค็มที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่แยกได้จากน้ำปลาได้แก่ Bacillus sp., Pseudomonas sp., Micrococcus sp., Staphylococcus sp., (36,45) Halococcus sp., (46) Halobacterium salinarium (47) กระบวนการย่อยสลายโปรตีนนี้จะเกิดมากในช่วง 2 เดือนแรกของการหมักน้ำปลา ซึ่งเป็นระยะที่สารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนที่ละลายอยู่ในของเหลวจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนที่มีโมเลกุลขนาดเล็กได้แก่ เปปไทด์และกรดอะมิโนบางชนิดจะถูกย่อยสลายต่อไปอีกจนได้ เอมีน คีโตแอซิด แอมโมเนีย และคาร์บอนไดออกไซด์ (48) สาโรจน์ ประเสริฐศิริวัฒน์ (46) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบไนโตรเจนในระหว่างการหมักน้ำปลาดังแสดงในตารางที่ 9 และพบว่าสารประกอบไนโตรเจนจะมีปริมาณตามมาตรฐานที่ต้องการประมาณวันที่ 46 ของการหมัก

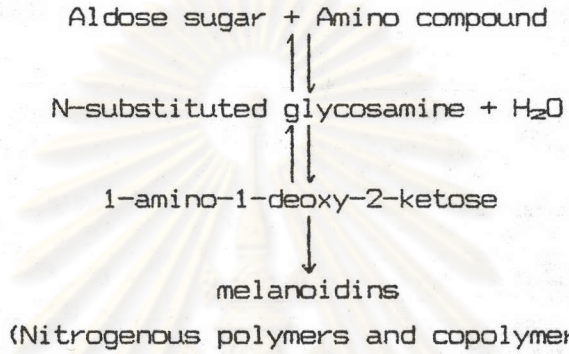
2. กระบวนการเกิดสี ในระหว่างที่ของเหลวซึมออกมาจากตัวปลาในกระบวนการย่อยสลายโปรตีนจะมีปฏิกริยาทางเคมีเกิดขึ้น ทำให้สีของของเหลวเปลี่ยนจากไม่มีสีหรือสีเหลืองอ่อนไปเป็นสีน้ำตาลไหม้ซึ่งเป็นสีของน้ำปลา การเกิดสีนี้ไม่ได้เกิดโดยกระบวนการทางชีวภาพ แต่เป็นการเกิดโดยปฏิกริยาทางเคมีเรียกว่า non-enzyme browning reaction ซึ่งอาจเกิดได้ 2 แบบ คือ โดย ปฏิกริยาเมลลารด์ (Maillard reaction)

ตารางที่ 9 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเกลือ (NaCl) ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) และปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนบางชนิด ในช่วงระยะ 253 วัน ของกระบวนการหมักน้ำปลา (46)

วันที่เก็บตัวอย่าง	NaCl %	pH	ไนโตรเจนทั้งหมด กรัม/ลิตร	ฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน กรัม/ลิตร	แอมโมเนียคัลไนโตรเจน กรัม/ลิตร	ไนโตรเจนในรูปกรดอะมิโน กรัม/ลิตร
1	30.0	5.68	7.2939	2.8196	0.2477	2.5719
3	9.6	5.53	9.2068	3.6358	0.3303	3.3055
5	29.6	5.34	11.1472	4.8230	0.4128	4.4102
7	29.6	5.38	11.7665	6.0102	0.4542	5.5560
9	29.6	5.48	12.3856	6.6780	0.4679	6.2101
12	29.2	5.96	13.9684	7.1974	0.4679	6.7295
15	29.0	5.46	14.6565	8.0136	0.5092	7.5044
18	29.2	5.22	14.9376	8.1620	0.5390	7.6230
25	29.2	5.94	17.8906	10.2396	0.7156	9.5240
32	29.2	5.40	19.1292	11.8720	0.9358	10.9362
39	29.2	5.54	19.7485	11.8720	1.0734	10.7986
46	29.0	5.40	20.0925	12.4656	1.1010	11.3646
53	29.6	5.37	21.5375	12.9850	1.1235	11.8615
62	29.3	5.31	21.6063	13.6528	1.1835	12.4693
74	29.0	5.60	21.7400	14.0238	1.1560	12.8678
86	26.0	5.48	22.2944	14.2464	1.2937	12.9527
102	26.0	5.54	23.8083	14.0238	1.3212	12.7026
124	28.0	5.50	25.3221	16.3240	1.3212	15.0028
166	27.2	5.34	24.3588	15.5820	1.5276	14.0544
188	27.2	5.33	25.1844	17.2144	1.6101	15.6043
198	25.2	5.39	24.6340	16.7692	1.6377	15.1315
223	24.9	5.35	25.5561	17.7338	1.5964	16.1376
253	24.7	5.31	25.9414	18.4750	1.7065	16.7693

(50) เป็นปฏิกริยาระหว่างกรดอะมิโนกับสารประกอบของน้ำตาลหรืออนุพันธ์ของน้ำตาล ซึ่งมีขั้นตอนการเกิดของปฏิกริยาดังแสดงในรูปที่ 2 และปฏิกริยาระหว่างสารประกอบพวกโปรตีนหรือกรดอะมิโนกับไขมัน (39,49) ซึ่งปฏิกริยาชนิดหลังนี้อาจเกิดได้ 3 แบบคือ ปฏิกริยาการเติมออกซิเจนของไขมันไม่อิ่มตัว, ปฏิกริยาระหว่างกลุ่มคาร์บอนิลกับสารประกอบไนโตรเจนและปฏิกริยาออกซิโพลีเมอร์ไรเซชั่น (oxypolymerization) ของไขมัน (50)

รูปที่ 2 แสดงขั้นตอนการเกิดปฏิกริยาเมลลารด์ (51)



3. กระบวนการเกิดกลิ่นและรส ผู้บริโภคมักจะตัดสินคุณภาพของน้ำปลาโดยใช้กลิ่นและรสเป็นเกณฑ์ ซึ่ง Dougan และ Howard (52) ได้ศึกษากลิ่นของน้ำปลาที่ผลิตในประเทศไทยพบว่าสามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ 1) กลิ่นของสารประกอบพวกแอมโมเนีย (ammoniacal aroma) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกลิ่นของแอมโมเนียและไตรเมธิลเอมีน 2) กลิ่นคล้ายเนยแข็ง (cheesy aroma) ซึ่งเกิดจากกรดไขมันที่ระเหยได้ (volatile fatty acids) ที่พบมากได้แก่ กรดอะซิติคและกรดบิวไทริค 3) กลิ่นคล้ายเนื้อ (meaty aroma) ซึ่งพบว่าเกิดจากสารที่ระเหยได้หลายชนิดโดยมีคีโตนและคีโตแอซิดเป็นส่วนประกอบสำคัญ Sanceda และคณะ (53) ได้ศึกษาสารประกอบที่ระเหยได้ในน้ำปลาของฟิลิปปินส์โดยใช้โครมาโตกราฟี่แบบก๊าซ (gas chromatography) และเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (mass spectrometry) พบว่าได้สารประกอบถึง 66 ชนิด ได้แก่ กรดชนิดต่าง ๆ, แอลกอฮอล์, สารประกอบไนโตรเจน, เอสเทอร์, สารประกอบของซัลเฟอร์, ฟีนอล, สารประกอบคาร์บอนิล, สารประกอบอินทรีย์และสารอื่น ๆ McIver และคณะ (54) ได้ศึกษากลิ่นและรสของน้ำปลาไทยโดยใช้โครมาโตกราฟี่แบบก๊าซ (gas chromatography) และเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (mass spectrometry) พบว่าประกอบด้วยกรด 8 ชนิด แอลกอฮอล์ 10 ชนิด สารประกอบพวกเอมีน 6 ชนิด, สารประกอบไนโตรเจนอื่น ๆ 7 ชนิด, สารประกอบพวกแลคโตน 4 ชนิด, สารประกอบคาร์บอนิล

3 ชนิดและสารประกอบของซัลเฟอร์ 5 ชนิด Sanceda และคณะ (55) ได้ศึกษาเปรียบเทียบสารที่ระเหยได้ในน้ำปลาของไทย, เวียดนามและญี่ปุ่น พบว่ามีกรดเป็นส่วนประกอบสำคัญ กรดที่มีมากได้แก่ กรดอะซีติค กรดโปรปิโอนิค กรดไอโซบิวไทริค กรดบิวไทริคและกรดไอโซวาเลอริค ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของประเสริฐ สายสิทธิ์ (39) ซึ่งใช้โครมาโตกราฟีแบบกระดาษ (paper chromatography) ศึกษากลิ่นของน้ำปลาพบว่าประกอบด้วยกรดอินทรีย์ที่ระเหยได้ เช่น กรดฟอร์มิค กรดอะซีติค กรดโปรปิโอนิค กรดไอโซบิวไทริค และยังพบกรดที่ระเหยไม่ได้ เช่น กรดแลคติค นอกจากนี้ได้มีการศึกษากรดไขมันที่ระเหยได้ในน้ำปลาของประเทศไทยที่อายุการหมักต่าง ๆ กัน พบว่ามีปริมาณดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แสดงปริมาณของกรดไขมันที่ระเหยได้ในน้ำปลาไทยที่อายุการหมักต่าง ๆ กัน (12)

กรด	ปริมาณกรดที่พบในตัวอย่างน้ำปลาอายุต่างๆ (mg/ml)			
	6 เดือน	12 เดือน	15 เดือน	48 เดือน
อะซีติค	3.66	2.10	4.70	5.30
โปรปิโอนิค	0.33	0.11	0.33	0.47
ไอโซบิวไทริค	0.04	–	–	0.01
บิวไทริค	0.15	0.06	0.16	0.31
ไอโซวาเลอริค	0.46	0.30	0.03	0.06

เครื่องหมาย – หมายถึง ผลการวิเคราะห์ไม่พบกรดไขมันที่ระเหยได้ชนิดดังกล่าว

กรดไขมันที่ระเหยได้ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของกลิ่นในน้ำปลา พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงมาจากการแตกตัวของกรดอะมิโนหรือการย่อยสลายไขมัน (52,56) และจากการศึกษาที่พบว่าปลาที่มีไขมันมากจะให้น้ำปลาที่มีกลิ่นดีกว่าปลาที่มีไขมันน้อย (38) จึงอาจเป็นไปได้ว่าไขมันและกระบวนการย่อยสลายไขมันจะมีส่วนสำคัญต่อกระบวนการเกิดกลิ่นน้ำปลา จากการศึกษาของ Beddows และคณะ (15) ซึ่งทำการหมักน้ำปลาในสภาพปราศจากเชื้อพบว่าน้ำปลาที่ได้มีกลิ่นต่างไปจากน้ำปลาที่หมักตามธรรมชาติ จึงสันนิษฐานว่าจุลินทรีย์อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดกลิ่นของน้ำปลา จึงได้มีการศึกษาหาจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดกลิ่นของน้ำปลาไว้ดังนี้

Kasemsarn (38) พบว่า Staphylococcus sp.ที่แยกได้จากน้ำปลาหมักนาน 9 เดือน เป็นตัวทำให้เกิดกลิ่นของน้ำปลาซึ่งแบคทีเรียนี้มักจะพบในช่วงท้ายของการหมัก ภายหลังจากที่โปรตีนส่วนใหญ่ถูกย่อยสลายแล้วแบคทีเรียกลุ่มนี้จึงจะใช้สารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่ได้จากการย่อยสลายนี้ได้

ประเสริฐ สายสิทธิ์ (39) ได้ศึกษาแบคทีเรียที่พบในน้ำปลาและสามารถทำให้เกิดกลิ่นน้ำปลาได้ พบว่าแบ่งได้ 3 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 สร้างกลิ่นหอมคล้ายถุหลาบ กลิ่นนี้จะสังเคราะห์ได้จากกระบวนการ Strecker degradation ของ aromatic amino acid แบคทีเรียนี้ลักษณะเป็นรูปแท่ง ติดสีแกรมบวกและเป็นพวกที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ (obligate anaerobic bacteria) และในอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อจะต้องมีเกลืออยู่ด้วยไม่น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 2 สร้างกลิ่นเหมือนกลิ่นเนื้อ กลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียที่มีรูปแท่งสั้นและมน ติดสีแกรมลบและไม่เคลื่อนที่

กลุ่มที่ 3 ให้กลิ่นของกรด ซึ่งใกล้เคียงกับกลิ่นของน้ำปลา พวกนี้จะมีรูปร่างกลมและอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม จากการศึกษาต่อมาพบว่าเป็น Pediococcus sp. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Lactobacillaceae

Martalich และ Schwartz (57) ศึกษาแบคทีเรียในน้ำปลาหมักนาน 6 เดือนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบ Streptococcus sp., Micrococcus sp., Staphylococcus sp., Bacillus sp., และกลุ่ม Corynebacterium ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้มีความสามารถในการสร้างกรดที่ระเหยได้

สายสมร ลิปตะศิริ (36) ศึกษาแบคทีเรียที่แยกได้จากน้ำปลาพบว่าเป็นแบคทีเรียทนเกลือได้แก่ Micrococcus sp., Staphylococcus sp., Bacillus sp., กลุ่ม Coryneform, Pseudomonas sp., Sarcina sp., Lactobacillus sp., Streptococcus sp., ซึ่ง 4 ชนิดแรกย่อยโปรตีนได้ดีพอๆกับการใช้กรดอะมิโนและคาดว่าเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดกลิ่นรสของน้ำปลา

Itoh และคณะ (58) ศึกษาแบคทีเรียที่ผลิตกรดในตัวอย่างน้ำปลาพบ

Pediococcus halophilus, Staphylococcus saprophyticus, Micrococcus varians, Paracoccus halodenitrificans และพบ Aerococcus haloviridans, Peptococcus anaerobius ซึ่งเป็นแบคทีเรียชอบเกลือที่ผลิตกรด-แลคติคได้ดีในสภาวะที่เป็นด่างและมีเกลือความเข้มข้นสูง

ยงยศ จุฑามาตยางกูร (59) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของ Pediococcus sp. ที่แยกได้จากน้ำปลาพบว่า Pediococcus halophilus เป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมักน้ำปลาโดยจะเป็นตัวให้กลิ่นและรสในน้ำปลา

Mittranond (60) ทดลองหมักน้ำปลาโดยใช้ ไพโรริคเอนไซม์ (pyloric enzyme) ได้ของเหลวใสสีน้ำตาลแต่ขาดกลิ่นรสที่ดีของน้ำปลา แต่ถ้าหมักร่วมกับแบคทีเรียชอบเกลือ โดยเฉพาะ Halobacterium sp. จะทำให้น้ำปลาที่ได้มีกลิ่นดีขึ้น

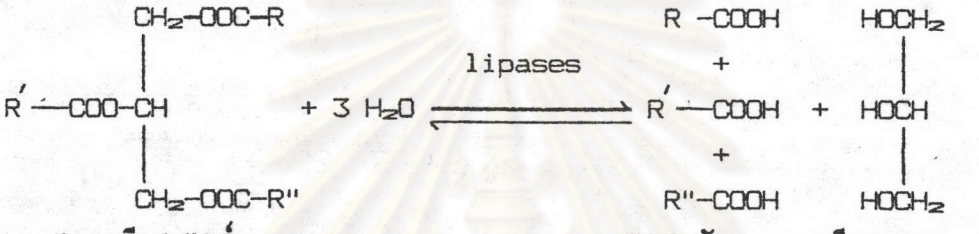
กฤษดา สมิตสิริ (16) ศึกษาแบคทีเรียชอบเกลือในการหมักน้ำปลาที่มีอายุการหมักต่างๆกันพบ Staphylococcus sp., Micrococcus sp., Bacillus sp., Halococcus sp., Halobacterium sp. และกลุ่ม Coryneform ซึ่งจากการศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียที่ได้พบว่า Halobacterium salinarium มีคุณสมบัติและความสามารถในการสร้างกลิ่นที่ดีของน้ำปลา

Beddows (11) ได้รวบรวมการศึกษาถึงจุลินทรีย์ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการหมักน้ำปลาพบว่า Clostridium sp. ที่แยกได้จากน้ำปลาของเวียดนาม ซึ่งเป็นแบคทีเรียทนเกลือ ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญระหว่าง 28-45 องศาเซลเซียส มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนและสร้างสารที่ระเหยได้ เป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดกลิ่นของน้ำปลาเวียดนาม ซึ่งการศึกษาจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักน้ำปลาภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนต่ำนั้นทำการศึกษากันไม่มากนัก และผลการศึกษาส่วนใหญ่จะพบว่า จุลินทรีย์ที่ได้สามารถเจริญได้ดีทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน (18,46) จุลินทรีย์พวกไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญที่พบในอาหารหมักเกลือได้แก่ Cl. perfringens และบางสายพันธุ์ของ Cl. botulinum (33,61)

ในกลุ่มแบคทีเรียที่คาดว่าทำให้เกิดกลิ่นของน้ำปลาเหล่านี้ พบว่าบางชนิดสามารถสร้างเอนไซม์ไลเปสซึ่งจะย่อยสลายไขมันให้กลายเป็นกรดไขมัน ซึ่งเชื่อว่าเป็นองค์ประกอบสำคัญในกลิ่นของน้ำปลา เช่น Staphylococcus sp., Achromobacter sp., (62) Micrococcus sp., Bacillus sp., Halococcus sp.,

Halobacterium sp.(16) ซึ่งไขมันที่พบมากในพืชและสัตว์ส่วนใหญ่คือกลีเซอไรด์ซึ่งเป็นเอสเทอร์ระหว่างกลีเซอรอลกับกรดไขมัน โดยจะพบในรูปของไตรกลีเซอไรด์มากที่สุด (22) กระบวนการที่จะทำให้ไขมันแตกตัวนั้นมีด้วยกันหลายวิธีเช่น ใช้สารพวกกรด ด่าง แต่ในสิ่งมีชีวิตพบว่าเกิดจากเอนไซม์ไลเปส (lipase) ซึ่งจะย่อยไขมันเช่น ไตรกลีเซอ-ไรด์ให้เป็นกลีเซอรอลและกรดไขมัน ดังแสดงในรูปที่ 3 กรดไขมันที่เกิดขึ้นจะมีทั้งที่ระเหยได้และระเหยไม่ได้รวมทั้งยังอาจถูกเปลี่ยนแปลงต่อไป โดยขบวนการเติมออกซิเจน (oxidation) ได้เป็นอัลดีไฮด์และคีโตน

รูปที่ 3 แสดงสมการของการย่อยสลายไขมันโดยเอนไซม์ไลเปส (63)



รสของน้ำปลา เป็นรสของสารต่างๆที่ละลายอยู่ในน้ำปลาได้แก่ รสเค็มของเกลือ รสของกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆและรสของกรดอะมิโนที่ได้มาจากการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลา กรดอะมิโนเหล่านี้มีรสเฉพาะของตัวเอง กรดอะมิโนที่พบในเกือบทุกระยะของการหมักคือ ไลซีน กลัยซีน ฮีสติดีน ลูซีน ไอโซลูซีน เฟนนิลอลานีน กรดแอสปาร์ติกและกรดกลูตามิค (39) ซึ่งพบว่ากรดอะมิโนจะลดน้อยลงเมื่อระยะเวลาของการหมักเพิ่มขึ้น ในระยะ 1-3 เดือนแรกจะมีกรดอะมิโน 20-22 ชนิด ในระยะ 1 ปีจะเหลือเพียง 13 ชนิดสันนิษฐานว่ากรดอะมิโนที่หายไปเนื่องจากถูกใช้เป็นอาหารของแบคทีเรียที่อยู่ในน้ำ-ปลานั่นเอง (17)

จากที่กล่าวมาแล้วจะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรียมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักน้ำปลาและแบคทีเรียเหล่านี้จะต้องอยู่ในสภาวะที่มีเกลืออยู่มาก ซึ่งอาจจัดแบคทีเรียที่สามารถดำรงชีวิตในสภาวะที่มีเกลืออยู่ด้วยออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. แบคทีเรียทนเค็ม (halotolerant bacteria) ซึ่งสามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่ไม่มีเกลือหรือมีเกลืออยู่เกินกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใหญ่พบว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้

เป็นตัวการทำให้อาหารที่ผสมเกลือลงไปเกิดการเน่าเสีย แบคทีเรียในกลุ่มนี้เช่น Staphylococcus aureus, Cl. perfringens, Bacillus sp., Micrococcus sp., ในบางสายพันธุ์ของ Cl. botulinum และแบคทีเรียในกลุ่ม Corynebacteria (33,63)

2. แบคทีเรียชอบเค็ม (halophilic bacteria) ซึ่งสามารถเจริญได้เฉพาะในสภาวะที่มีเกลืออยู่ด้วยเท่านั้น Gibbons (33) ได้จำแนกแบคทีเรียในกลุ่มนี้ตามปริมาณเกลือที่ต้องการในการเจริญออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

2.1 moderate halophilic bacteria จะเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลืออยู่ 3-15 เปอร์เซ็นต์ เช่น Micrococcus halodenitrifican และบางสายพันธุ์ของแบคทีเรียในวงศ์ Bacillaceae, Micrococcaceae ซึ่งพบได้ในอาหารทะเลหมักเกลือทั่วไป

2.2 extreme halophilic bacteria จะเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลืออยู่ 15-30 เปอร์เซ็นต์ เช่น แบคทีเรียในสกุล Halococcus และ Halobacterium โดยแบคทีเรียพวกนี้จะมีสีแดงหรือชมพูและมีการเจริญช้ามากถึงแม้จะอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมก็ตามและพบมากในเกลือทะเล Buchanan และคณะ (64) พบว่าแบคทีเรียในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ (strictly aerobes) มีพวกที่เป็น facultative anaerobes อยู่น้อย เจริญได้ดีในอุณหภูมิ 30-50 องศาเซลเซียส คาตาเลสและออกซิเดสให้ผลบวกส่วนใหญ่ย่อยเจลลาตินได้ สำหรับโครงสร้างของเซลล์พบว่าผนังเซลล์ประกอบด้วย lipoprotein ที่มีคุณสมบัติเป็นกรดซึ่งในแบคทีเรียทั่วไปจะเป็นกรดมิวรามิคและกรดไดอะมิโนพิมิลิค เซลล์เมมเบรนประกอบด้วยไขมันประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นฟอสโฟลิปิดที่ไม่เกิดขบวนการซาโปนิฟิเคชันและไกลโคลิปิด ไขมันนี้มีส่วนเกี่ยวข้องกับความสามารถที่จะเจริญในสภาวะมีเกลือสูงได้ นอกจากนี้ Kushner (65) พบว่าแบคทีเรียชอบเค็มเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีเกลือสูงจะไม่ขับเกลือออกสู่ภายนอกเซลล์แต่จะปรับค่าความเข้มของไอโอนิค (ionic strength) ภายในเซลล์ให้เท่ากับภายนอกเซลล์โดยการสะสมของโซเดียมไอออน, โปตัสเซียมไอออน และคลอไรด์ไอออน ทำให้เซลล์ไม่เกิดพลาสโมไลซีส ซึ่งแบคทีเรียชอบเค็มแต่ละชนิดจะสะสมไอออนดังกล่าวในปริมาณไม่เท่ากัน และยังพบอีกว่าเอนไซม์บางชนิดในเซลล์จะไม่ทำงานถ้าอยู่ในสภาวะที่ไม่มีเกลืออยู่ด้วย และจะกลับมาทำงานได้อีกเมื่อเติมเกลือลงไป

<u>การพัฒนากระบวนการหมักน้ำปลาเพื่อลดระยะเวลาในการผลิต</u>

ได้มีผู้ศึกษาหาวิธีที่จะลดระยะเวลาในการหมักน้ำปลาให้สั้นลงด้วยหลายวิธีการ โดยส่วนใหญ่มุ่งจะลดระยะเวลาในขั้นตอนการย่อยสลายโปรตีนซึ่งวิธีการต่าง ๆ มีดังนี้

การหมักน้ำปลาโดยการลดปริมาณเกลือเพื่อไม่ให้ไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีนและใช้สารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เพื่อป้องกันการเน่าเสียที่มีสาเหตุจากจุลินทรีย์ (37)

การหมักน้ำปลาโดยใช้ถังหมัก (fermentor) ที่มีการกวนอยู่เสมอเพื่อเพิ่มโอกาสให้เอนไซม์ย่อยโปรตีน ย่อยเนื้อปลาได้มากขึ้น โดยใช้อุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส (66)

การเพิ่มอุณหภูมิในระหว่างการหมัก อุณหภูมิสูงมีส่วนช่วยให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนเป็นกรดอะมิโนมากขึ้น พบว่าการย่อยสลายโปรตีนให้เกิดเป็นน้ำปลาจะเกิดเร็วที่สุดที่อุณหภูมิ 49 องศาเซลเซียส รองลงมา คือ 37 องศาเซลเซียส แต่จะได้น้ำปลาที่มีกลิ่นรสดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (67)

การย่อยสลายเนื้อปลาด้วยกรด กรดนอกจากจะทำลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีนในปลาแล้ว สภาพความเป็นกรดยังช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากเนื้อปลาและเอนไซม์เปปซินจากทางเดินอาหารของปลา นอกจากนี้กรดยังช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิดด้วย กรดที่ใช้ได้แก่ กรดซัลฟูริค กรดไฮโดรคลอริค และกรดฟอร์มิค (12,68)

การย่อยสลายเนื้อปลาด้วยด่าง ให้ผลคล้ายการใช้กรดแต่จะไม่กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากปลาและให้ผลดีกว่ากรดคือ กรดอะมิโนจะถูกทำลายน้อยกว่าการใช้กรด (12,69)

การหมักน้ำปลาโดยใช้เอนไซม์ย่อยโปรตีนจากธรรมชาติได้แก่ ปาเปนจากยาง-มะละกอ, โบรมิเลนจากน้ำสับปะรด, ไพซินจากมะเดื่อและการเติมโคจิ ซึ่งเป็นแหล่งของเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น โปรติเอสลงในถังหมัก (11,70)

การหมักน้ำปลาโดยใช้เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่สังเคราะห์ขึ้น เช่น ไบโอเพรส (bioprase), โปรเนส (pronase) ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวจะย่อยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันได้ดี แต่พบว่าเกลือจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้และวิธีการนี้เสียค่าใช้จ่ายสูงกว่าวิธีอื่น ๆ (71,72)

การใช้จุลินทรีย์ทนเกลือที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน เช่น Pseudomonas sp., Bacillus sp. (45), Aspergillus sp., (12) และการใช้จุลินทรีย์เพื่อ

ช่วยสร้างกลิ่นและรส เช่น Bacillus sp. (73), แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติค (12)

การใช้เอนไซม์ย่อยโปรตีนร่วมกับจุลินทรีย์ โดยการใช้ไพโรริคเอนไซม์ (pyloric enzyme) ร่วมกับ Halobacterium sp. ซึ่งพบว่าทำให้ได้น้ำปลาคุณภาพดีและมีกลิ่นรสดีกว่าการใช้เอนไซม์อย่างเดียว (60)

ถึงแม้ว่าวิธีการต่าง ๆ ดังที่กล่าวมาพบว่าสามารถลดระยะเวลาในการหมักน้ำปลาลงได้และน้ำปลาที่ได้มีลักษณะคล้ายน้ำปลาที่ผลิตตามธรรมชาติ มีสารประกอบไนโตรเจนได้ตามมาตรฐานกำหนด แต่ยังขาดกลิ่นรสของน้ำปลาที่ดีต่อผู้บริโภค จึงทำให้การผลิตน้ำปลาในปัจจุบันจึงยังนิยมใช้วิธีการหมักตามธรรมชาติตามที่เคยทำมา ซึ่งต้องใช้ระยะเวลานาน จึงยังต้องมีการศึกษาเพื่อให้เกิดกลิ่นรสของน้ำปลาให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้นต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย