

ผลของสัดส่วนของคาร์บอนไดออกไซด์และไนโตรเจนต่ออายุการเก็บรักษาลูกชิ้น ปลานิลที่เก็บภายใต้สภาวะบรรยากาศดัดแปร

พัชรี มีชัย¹ และ พรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์²

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี บางมด ทุ่งครุ กรุงเทพฯ 10140

รับเมื่อ 22 มิถุนายน 2549 ตอรับเมื่อ 25 มิถุนายน 2550

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษาลูกชิ้นปลานิลโดยใช้เทคนิคการบรรจุภายใต้สภาวะบรรยากาศดัดแปร โดยบรรจุลูกชิ้นปลานิลในถุงไนลอน/พอลิเอทิลีน (nylon/PE) ซึ่งแปรค่าความเข้มข้นของก๊าซในบรรจุภัณฑ์เป็น 100%CO₂, 80%CO₂+20%N₂, 60%CO₂+40%N₂ และ 40%CO₂+60%N₂ เก็บที่อุณหภูมิ 4±2°ซ และนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา เคมี กายภาพ และประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ ผลการทดลองพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษามีผลต่อปริมาณจุลินทรีย์ pH Aw และค่าการสูญเสียน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05) โดยเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น ลูกชิ้นปลานิลจากทุกสภาวะมีปริมาณจุลินทรีย์ ค่าการสูญเสียน้ำ และค่าความแน่นเนื้อเพิ่มขึ้น ในขณะที่มีค่า pH และ Aw ลดลง สำหรับผลของสภาวะการบรรจุต่อคุณภาพของลูกชิ้นปลานิล พบว่าสภาวะก๊าซต่าง ๆ ในบรรจุภัณฑ์ที่มีผลต่อคุณภาพของลูกชิ้นปลานิลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05) โดยลูกชิ้นปลานิลที่เก็บในสภาวะ 100% CO₂ มีการเพิ่มของจุลินทรีย์และการลดลงของค่า pH น้อยที่สุด รองลงมาคือที่สภาวะ 80%CO₂+20%N₂, 60%CO₂+40%N₂ และ 40%CO₂+60%N₂ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า การเพิ่มปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้ลูกชิ้นปลานิลมีค่า Aw ลดลง ในขณะที่มีค่าการสูญเสียน้ำและค่าความแน่นเนื้อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05) สำหรับผลทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสพบว่าลูกชิ้นปลานิลที่เก็บรักษาที่สภาวะ 60%CO₂+ 40%N₂ ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบนานที่สุดคือเท่ากับ 12 วัน

คำสำคัญ : ลูกชิ้นปลานิล / อายุการเก็บรักษา / บรรยากาศดัดแปร

¹ นักศึกษาปริญญาโท ภาควิชาจุลชีววิทยา

² ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา

Effect of Carbon Dioxide and Nitrogen Ratios on Shelf-life of Fish Balls Packed under Modified Atmosphere Condition

Patcharee Meechai¹ and Punchira Vongsawasdi²

King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangmod, Toongkru, Bangkok 10140

Received 22 June 2006 ; accepted 25 June 2007

Abstract

The extension of shelf-life of fish balls by modified atmosphere packaging (MAP) was investigated by packing fish balls in nylon/PE bags with various gas concentrations (100%CO₂, 80%CO₂+ 20%N₂, 60%CO₂+ 40%N₂ and 40%CO₂+ 60%N₂). All samples were kept at 4±2°C and taken for determining microbiological, chemical, physical and sensory qualities during storage. The results showed that storage time had significant effects on total bacteria, pH, Aw, drip loss and firmness (p≤0.05). As storage time increased, total bacteria, drip loss and firmness of fish balls packed under all modified atmosphere conditions increased while pH and Aw of those fish balls decreased. The various packing conditions had significant effects on qualities of fish balls as well. Total bacteria number of the fish balls packed under 100%CO₂ was lower than that of any other modified atmosphere conditions. In addition, the decrease of pH of fish balls packed under 100%CO₂ was the lowest following by 80%CO₂+20%N₂, 60%CO₂+40%N₂ and 40%CO₂+60%N₂, respectively. The increment of CO₂ concentration resulted in significant decrease in Aw but increase in drip loss and firmness (p≤0.05). However, the results from sensory evaluation indicated that fish balls packed under 60%CO₂+ 40%N₂ obtained the highest score and were accepted by the panelists until 12 days of storage.

Keywords : Fish balls / Shelf life / Modified Atmosphere

¹ Graduate Student, Department of Microbiology.

² Assistance Professor, Department of Microbiology.

1. บทนำ

ลูกชิ้นปลาเป็นผลิตภัณฑ์ที่นิยมบริโภคกันแพร่หลายทั้งภายในและต่างประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศญี่ปุ่น จีน เกาหลีใต้ และไต้หวัน [1] อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์ชนิดนี้มีอายุการเก็บรักษาสั้น จีราวรรณ แยมประยูร และคณะ [2] พบว่าลูกชิ้นปลาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30°C (อุณหภูมิห้อง) จะเกิดการเน่าเสียภายใน 24 ชั่วโมง ในขณะที่ลูกชิ้นปลาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C มีอายุการเก็บรักษาได้เพียง 4 วัน สำหรับการเสื่อมเสียของลูกชิ้นปลา มีสาเหตุหลักมาจากจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ เช่น *Pseudomonas* spp. [3] ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถปนเปื้อนลงในผลิตภัณฑ์ได้ทั้งในขั้นตอนการผลิต การขนส่ง และการจัดจำหน่าย ดังนั้นการเก็บผลิตภัณฑ์โดยใช้อุณหภูมิต่ำเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอต่อการรักษาคุณภาพ ด้วยเหตุนี้จึงควรมีการใช้เทคนิคอื่นๆ เข้ามาร่วมด้วย จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าการบรรจุภายใต้บรรยากาศดัดแปรในภาชนะบรรจุเป็นเทคนิคที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในผลิตภัณฑ์หลายประเภท เช่น ผัก และผลไม้ [4] ผลิตภัณฑ์ขนมอบ [5] และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ [6, 7] โดยข้อดีของการใช้เทคนิคนี้คือสามารถชะลอการเสื่อมเสียที่เกิดจากจุลินทรีย์ได้ Erichsen และ Molin [8] ศึกษาการเก็บรักษาเนื้อวัวที่อุณหภูมิ 4°C พบว่าการใช้สภาพบรรยากาศที่มี 100%CO₂ และ 78%N₂+20%CO₂+2%O₂ สามารถเก็บรักษาเนื้อวัวได้ 51 และ 14 วัน ตามลำดับ เมื่อเทียบกับการเก็บรักษาที่สภาพบรรยากาศปกติ ซึ่งสามารถเก็บรักษาได้เพียง 7 วัน ส่วน Blickstas และ Molin [9] พบว่าการเก็บรักษาเนื้อหมูที่ 0°C ในสภาวะที่มี 100%CO₂ และสภาพบรรยากาศปกติ สามารถเก็บรักษาเนื้อหมูได้ 79 และ 15 วัน ตามลำดับ ในขณะที่การเก็บรักษาที่ 4°C โดยใช้ 100% CO₂ สามารถเก็บรักษาเนื้อหมูได้ 40 วัน และที่สภาพบรรยากาศปกติเก็บรักษาเนื้อหมูได้ 8 วัน จากงานวิจัยทั้งหมดข้างต้นจึงนำไปสู่แนวคิดว่า การดัดแปรบรรยากาศในภาชนะบรรจุ น่าจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาได้เช่นกัน

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บลูกชิ้นปลานิลด้วยเทคนิคการบรรจุภายใต้การดัดแปรบรรยากาศ โดยมุ่งหวังว่าผลงานวิจัยที่ได้จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม ทำให้ผู้

บริโภคได้ผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัย มีคุณภาพสม่ำเสมอ และยังคงคุณค่าทางโภชนาการ

2. วัตถุประสงค์และวิธีการทดลอง

2.1 ลักษณะวัตถุดิบและการเตรียมลูกชิ้นปลานิล

ปลานิล (*Oreochromis nilotica* หรือ *Nile tilapia*) สดขนาดน้ำหนักตัวเฉลี่ย 500 กรัม จากวังปลาบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร คัดเลือกความสดโดยพิจารณาปลาที่มีลักษณะตาใส กลีตไม่หลุด ลำตัวไม่แข็ง และไม่นิ่มจนเกินไป ไม่มีกลิ่นเน่าเสีย นำปลานิลสดมาล้างทำความสะอาด แล่ลอกหนังและหันเป็นชิ้นเล็กๆ ก่อนจะนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4±2°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำปลามาบดผสมกับเกล็ดแกงร่อยละ 1.5 ด้วยเครื่องบดสับเป็นเวลา 5 นาที เติมเกล็ดแกงอีกร้อยละ 1.5 และนำไปบด 5 นาที จากนั้นเติมน้ำตาลลงไปร้อยละ 4 และบดต่อเป็นเวลา 15 นาที โดยระหว่างนี้จะมีการเติมน้ำแข็งเพื่อปรับความชื้นเป็นร้อยละ 80 และควบคุมอุณหภูมิที่ใช้ในระหว่างการบดให้ต่ำกว่า 10°C นำมาขึ้นรูปเป็นลูกชิ้นปลาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 ซม. ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 40°C เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาทำให้สุกที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 20 นาที และทำให้เย็นในน้ำเย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10°C

2.2 การติดตามอายุการเก็บรักษาลูกชิ้นปลานิลโดยใช้เทคนิคการบรรจุภายใต้สภาพบรรยากาศดัดแปรในภาชนะบรรจุ

นำตัวอย่างลูกชิ้นปลานิลที่ได้จากข้อ 1 มาบรรจุในถุงไนลอน/พอลิเอทิลีน (Nylon/PE) ขนาด 9 x 14 นิ้ว ซึ่งมีค่าอัตราการซึมผ่านของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ออกซิเจนและไอน้ำ เท่ากับ 96.6 ซม.³/ม.²/24 ซม. ที่สภาวะ 23°C, 0% RH., 127.45 ซม.³/ม.²/24 ซม. ที่สภาวะ 23°C, 0% RH. และ 8.49 ก./ม.²/24 ซม. ที่สภาวะ 38°C, 90% RH. ตามลำดับ ทำการทดลองโดยแปรค่าความเข้มข้นของก๊าซที่ใช้ในการบรรจุเป็น 100%CO₂, 80%CO₂+20%N₂, 60%CO₂+40%N₂ และ 40%CO₂+60%N₂ นำตัวอย่างลูกชิ้นปลานิลทั้งหมดมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2°C และตรวจวิเคราะห์คุณภาพลูกชิ้นปลานิลตลอดอายุการเก็บรักษา โดยทำการทดลองสภาวะละ 2 ซ้ำ และ

เปรียบเทียบผลที่ได้กับตัวอย่างที่เก็บภายใต้บรรยากาศปกติ

2.3 การวิเคราะห์คุณภาพของลูกชิ้นปลา

2.3.1 ประเมินคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา โดยวิเคราะห์แบคทีเรียโคลิฟอร์ม, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens* และจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด [10]

2.3.2 วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี โดยวัดค่าความเป็นกรดต่างด้วย pH meter (Metrohm model 713, Switzerland) โดยนำลูกชิ้นปลา 5 กรัม มาบดกับน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แล้ว 45 มล. จนเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำมาวัดค่า pH

2.3.3 วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของก๊าซในบรรจุภัณฑ์ด้วยเครื่อง Gas analyzer (Servomex, England)

2.3.4 วิเคราะห์องค์ประกอบทางด้านกายภาพ โดยวัดค่า water activity (Aw) ด้วยเครื่องวัด Aw (NOVASINA model TH 500, Switzerland) วัดการสูญเสีย น้ำของลูกชิ้นปลา โดยการชั่งน้ำหนักเริ่มต้นและน้ำหนักสุดท้ายของลูกชิ้นปลา จากนั้นนำมาคำนวณค่าการสูญเสีย (%) ตามสมการที่ (1) วัดค่าสี โดยนำตัวอย่างลูกชิ้นปลามาวัดค่า L^* a^* และ b^* ด้วยเครื่องวัดสี (Ultrascan XE/IX7, USA) จากนั้นนำมาคำนวณค่าความขาว (whiteness) ตามสมการของ Avena-Bustillos et al., [11] (สมการที่ 2) และวัดค่าเนื้อสัมผัส ลูกชิ้นปลาด้วยเครื่อง Texture analyzer (Stable Micro Systems TA-XT2i, UK) โดยใช้ load cell ขนาด 5 กิโลกรัม ใช้หัววัด P36/R และตั้งค่าความเร็วของหัววัดขณะสัมผัสตัวอย่างไว้ที่ 1.0 มม./วินาที

$$\text{ค่าการสูญเสีย (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักตัวอย่างสุดท้าย}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \quad (1)$$

$$\text{ค่าความขาว} = 100 - ((100 - L^*)^2 + b^{*2} + a^{*2})^{0.5} \quad (2)$$

2.3.5 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้านการยอมรับรวม ทำโดยนำลูกชิ้นปลาแต่ละตัวอย่างมาลวกในน้ำร้อนเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำมาทดสอบการยอมรับโดยใช้ผู้ทดสอบที่รู้จักและบริโภคลูกชิ้นปลาเป็นประจำเป็นจำนวน 20 คน ผู้ทดสอบแต่ละคนจะได้รับตัวอย่างที่กำหนดรหัสตัวเลขทางสถิติแบบสุ่ม และจะให้คะแนนความชอบที่มีต่อตัวอย่าง โดยใช้ 5 point hedonic scale (5 = ชอบมากที่สุด, 1 = ชอบน้อยที่สุด)

2.4 การประเมินผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามวิธีของ Duncan's multiple range test [12]

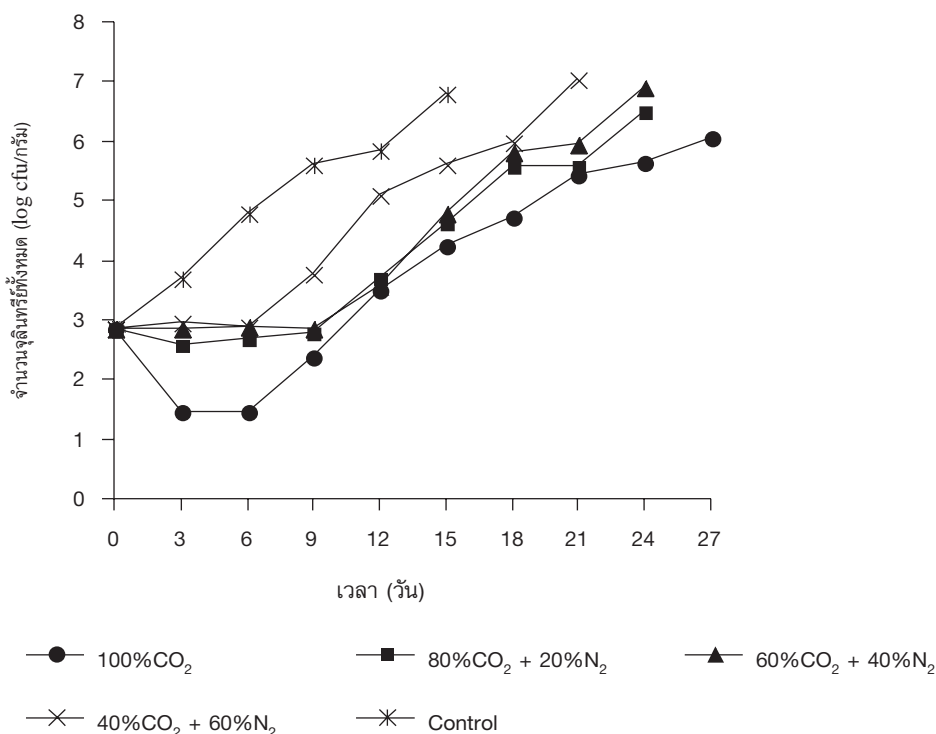
3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 ผลของบรรยากาศตัดแปรต่อจำนวนจุลินทรีย์ในลูกชิ้นปลา

จากรูปที่ 1 พบว่าเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น ลูกชิ้นปลาทุกตัวอย่างจะมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น โดยสภาวะบรรยากาศที่ใช้มีผลต่อระยะเวลาการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือในช่วง 15 วันแรกของการศึกษา ลูกชิ้นปลาที่เก็บรักษาภายใต้สภาวะบรรยากาศปกติจะมีจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ $6.82 \log \text{cfu/กรัม}$ โดยผลิตภัณฑ์จะมีกลิ่นคาวจัดและมีเมือกอยู่ที่ผิว ลักษณะข้างต้นบ่งชี้ว่าผลิตภัณฑ์สิ้นสุดอายุการเก็บรักษาแล้ว [13] ในขณะที่ลูกชิ้นปลาที่เก็บในสภาวะบรรยากาศตัดแปรยังคงมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำกว่า $6 \log \text{cfu/กรัม}$ กล่าวคือมีปริมาณจุลินทรีย์อยู่ในช่วง $4.25-5.62 \log \text{cfu/กรัม}$ (รูปที่ 1) และเมื่อเปรียบเทียบในแต่ละสภาวะที่ใช้ศึกษาพบว่า การเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรจุภัณฑ์จะทำให้ลูกชิ้นปลามีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น กล่าวคือลูกชิ้นปลาที่บรรจุในสภาวะบรรยากาศตัดแปรที่ $100\% \text{CO}_2$ มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำที่สุดระหว่างการเก็บรักษา และสามารถยืดอายุ

การเก็บรักษาได้นานถึง 24 วัน ส่วนสภาพบรรยากาศที่ประกอบด้วย 80%CO₂+20%N₂ และ 60%CO₂+40%N₂ สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน 21 วัน ในขณะที่ลูกชิ้นปลาชนิดที่บรรจุในสภาพบรรยากาศ 40%CO₂+60%N₂ สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นเวลาเพียง 18 วัน (รูปที่ 1) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ มีคุณสมบัติเป็น Bacteriostatic สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ [3, 14] และเนื่องจากที่อุณหภูมิ 4±2°ซ คาร์บอนไดออกไซด์สามารถละลายเข้าไปในลูกชิ้นปลาได้ดี [15] ทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์มีมากกว่าที่อุณหภูมิห้อง นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์มีผลต่อปริมาณจุลินทรีย์ในช่วงแรกของการเก็บรักษาด้วย โดยการใช้ 100%CO₂ จะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงในช่วง 6 วันแรก ในขณะที่ปริมาณจุลินทรีย์ในลูกชิ้นปลาชนิดที่เก็บในสภาวะ

80%CO₂+ 20%N₂ , 60%CO₂+40%N₂ และ 40%CO₂+ 60%N₂ มีปริมาณเกือบคงที่ในช่วง 9 วันแรก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Stammen และคณะ [16] ที่พบว่าคาร์บอนไดออกไซด์ช่วยชะลอระยะ lag phase ให้ยาวนานขึ้น สำหรับผลการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ พบว่าไม่พบการเจริญของ *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens* และ *Escherichia coli* ในผลิตภัณฑ์ทุกตัวอย่างทุกระยะเวลาการเก็บ อย่างไรก็ตาม สภาพบรรยากาศที่ใช้มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มในลูกชิ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05) กล่าวคือลูกชิ้นปลาชนิดที่บรรจุในสภาพบรรยากาศดัดแปร 100%CO₂ มีจำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์มต่ำที่สุดระหว่างการเก็บ โดยมีค่าเท่ากับ 6.65 MPN/กรัม ในขณะที่การเก็บที่สภาวะ 40%CO₂+60%N₂ มีปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มมากที่สุดคือเท่ากับ 10.70 MPN/กรัม เมื่อเก็บรักษาลูกชิ้นปลาเป็นเวลา 27 วัน

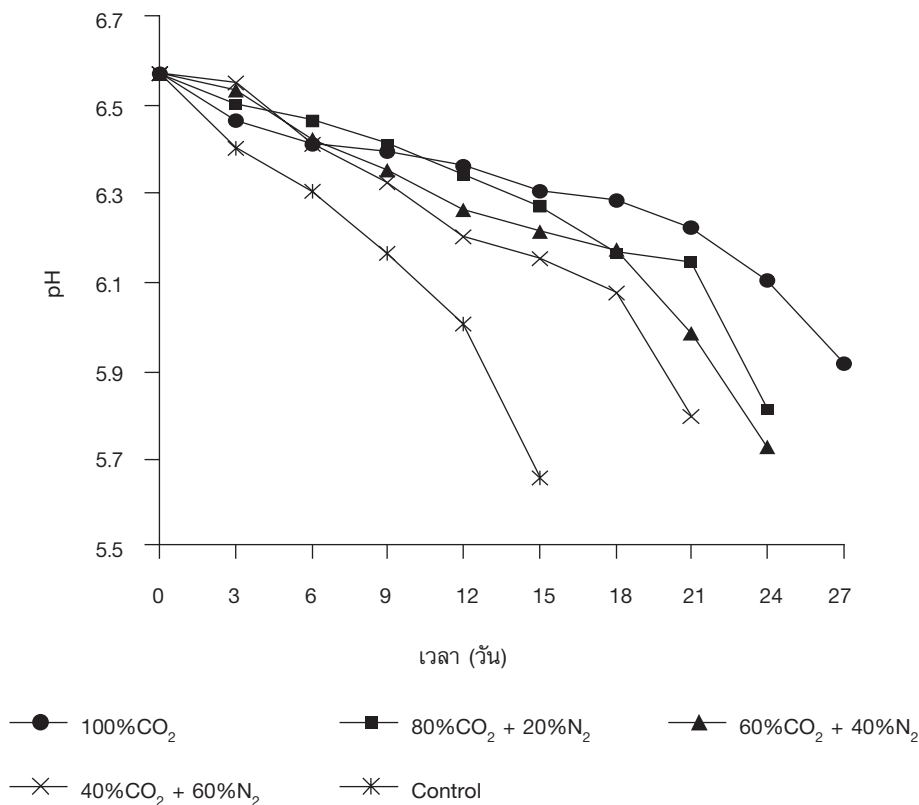


รูปที่ 1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของลูกชิ้นปลาชนิดที่บรรจุภายใต้สภาวะบรรยากาศดัดแปร และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2°ซ

3.2 ผลของการบรรจุภายใต้สภาพบรรยากาศ ตัดแปรต่อคุณภาพทางเคมีของลูกชิ้นปลานิล

จากรูปที่ 2 พบว่า pH ของลูกชิ้นปลานิลจากทุกสภาวะมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการเจริญของจุลินทรีย์ [17] โดยลูกชิ้นปลานิลที่เก็บรักษาในสภาวะ 100%CO₂ มีค่า pH ลดลงน้อยที่สุด รองลงมาคือลูกชิ้นที่เก็บในสภาวะ 80%CO₂+20%N₂, 60%CO₂+40%N₂ และ 40%CO₂+60%N₂ ตามลำดับ อย่างไรก็ตามลูกชิ้นปลานิลที่เก็บในสภาพบรรยากาศตัดแปรทั้งหมดมีการลดลงของ pH น้อยกว่าลูกชิ้นปลานิลที่เก็บรักษาในสภาพบรรยากาศปกติ (control) กล่าวคือลูกชิ้นปลานิลที่เก็บในสภาพบรรยากาศตัดแปรทั้งหมดมีค่า pH ลดลงต่ำกว่า 5.9 เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 21-27 วัน ในขณะที่ลูกชิ้นปลานิลที่เก็บรักษาในสภาพบรรยากาศปกติ

เก็บไว้ได้เป็นเวลา 12 วัน ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากจุลินทรีย์ต้องใช้ ออกซิเจนในการเจริญ [18] ดังนั้นสภาวะบรรยากาศปกติ ซึ่งเป็นสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนสูงที่สุด จึงมีปริมาณจุลินทรีย์สูงสุด โดยในจำนวนนี้จะมีจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Lactobacillus* spp. ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มักพบในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำอยู่ด้วย [19] โดยจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้มีการผลิตกรดแลคติกในระหว่างการเจริญ ดังนั้นจึงส่งผลให้ลูกชิ้นปลานิลที่เก็บรักษาในสภาพบรรยากาศปกติมีค่า pH ลดลงมากที่สุด ส่วนการที่ลูกชิ้นซึ่งบรรจุในสภาวะ 100%CO₂ มีค่า pH ลดลงน้อยที่สุดนั้น สามารถอธิบายได้ว่า CO₂ ที่ใช้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ [15] ดังนั้นการใช้ CO₂ ในปริมาณสูงจึงจะช่วยชะลอการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ส่งผลให้มีการลดลงของ pH ช้าลงด้วย

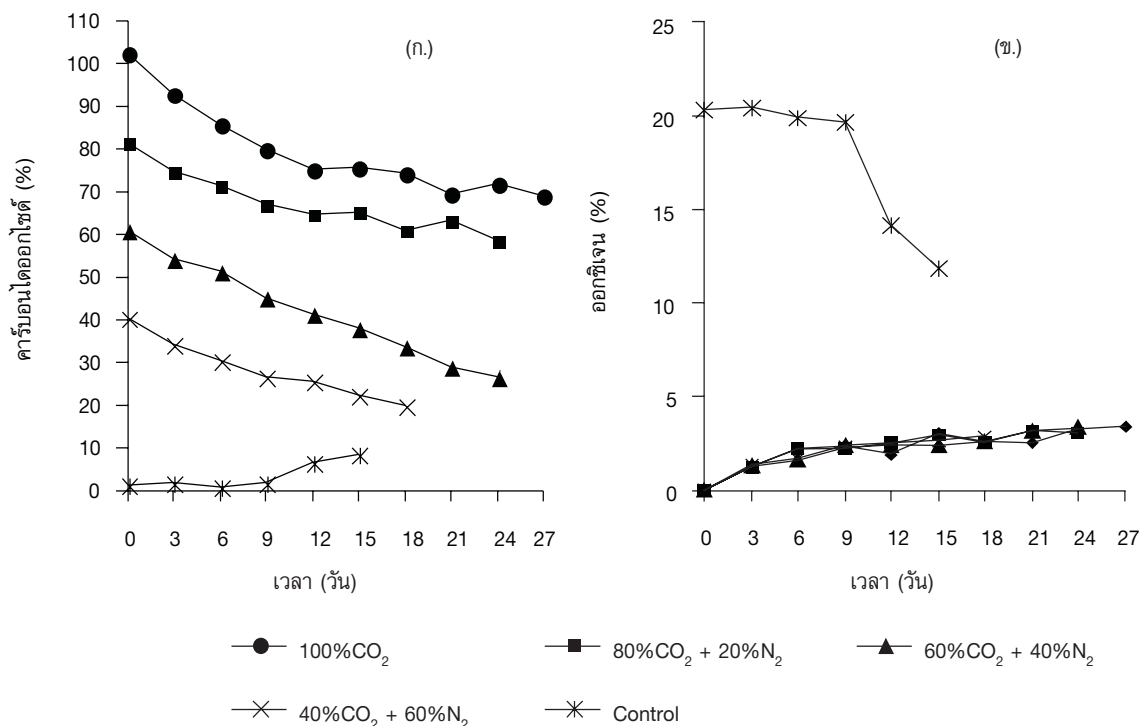


รูปที่ 2 ค่า pH ของลูกชิ้นปลานิลที่บรรจุภายใต้สภาวะบรรยากาศตัดแปรและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2°ซ

3.3 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของก๊าซในบรรจุภัณฑ์ที่บรรจุลูกชิ้นปลาในสภาวะบรรยากาศตัดแปรในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $4\pm 2^{\circ}\text{C}$

จากการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซในบรรจุภัณฑ์ พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น บรรจุภัณฑ์ในสภาวะบรรยากาศปกติมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นจาก 0.04% เป็น 8.70% (รูปที่ 3ก.) และมีออกซิเจนลดลงจาก 20.40% เป็น 11.80% (รูปที่ 3ข.) ซึ่งเป็นผลมาจากการเจริญของจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์มีการใช้ออกซิเจนและมีการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา ในขณะที่บรรจุภัณฑ์ที่บรรจุลูกชิ้นปลาในสภาวะบรรยากาศตัดแปรมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ลดลงแต่มีออกซิเจนเพิ่มขึ้น (รูปที่ 3) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจาก

Nylon/PE มีคุณสมบัติยอมให้ออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านเข้าออกได้ ดังนั้นถึงแม้ว่าจุลินทรีย์จะมีการใช้ออกซิเจนและปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา แต่เนื่องจากปริมาณออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ภายนอกบรรจุภัณฑ์มีความเข้มข้นมากกว่าและน้อยกว่าปริมาณออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ภายในบรรจุภัณฑ์ ตามลำดับ ประกอบกับลูกชิ้นปลาเป็นอาหารที่มีความชื้นสูง ซึ่งเป็นสภาวะที่เอื้อต่อการซึมผ่านของก๊าซในพอลิเมอร์ โดยความชื้นจะทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์และเพิ่มปริมาตรอิสระในพอลิเมอร์ [20] ส่งผลให้ก๊าซมีความสามารถในการซึมผ่านพอลิเมอร์ได้มากขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงทำให้มีการแพร่ของออกซิเจนเข้าสู่ภายในบรรจุภัณฑ์และมีการแพร่ของคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากบรรจุภัณฑ์

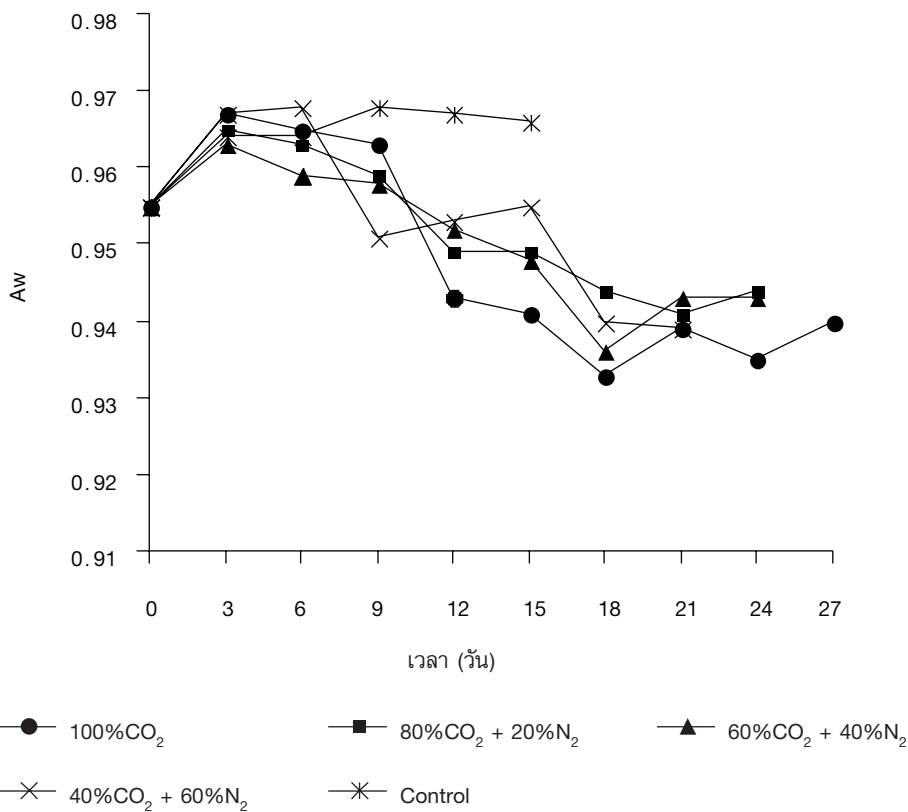


รูปที่ 3 ปริมาณร้อยละของคาร์บอนไดออกไซด์ (ก.) และออกซิเจน (ข.) ภายในบรรจุภัณฑ์ที่บรรจุลูกชิ้นปลาในสภาวะบรรยากาศตัดแปรและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $4\pm 2^{\circ}\text{C}$

3.4 ผลของบรรยากาศตัดแปรต่อคุณสมบัติทางกายภาพของลูกชิ้นปลาชนิดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ $4\pm 2^{\circ}\text{C}$

จากรูปที่ 4 พบว่าค่า Aw ของลูกชิ้นปลานิลที่บรรจุภายใต้สภาวะบรรยากาศตัดแปรมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น โดยลูกชิ้นปลาทุกตัวอย่างมีค่า Aw อยู่ระหว่าง 0.935-0.944 ภายหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 18 วัน ทั้งนี้เนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์ ที่อยู่ในบรรจุภัณฑ์ส่วนหนึ่งจะละลายน้ำและเกิดเป็นกรดคาร์บอนิก ซึ่งส่งผลให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติและสูญเสียคุณสมบัติในการจับน้ำ ดังนั้นจึงทำให้ค่า Aw ของลูกชิ้นที่

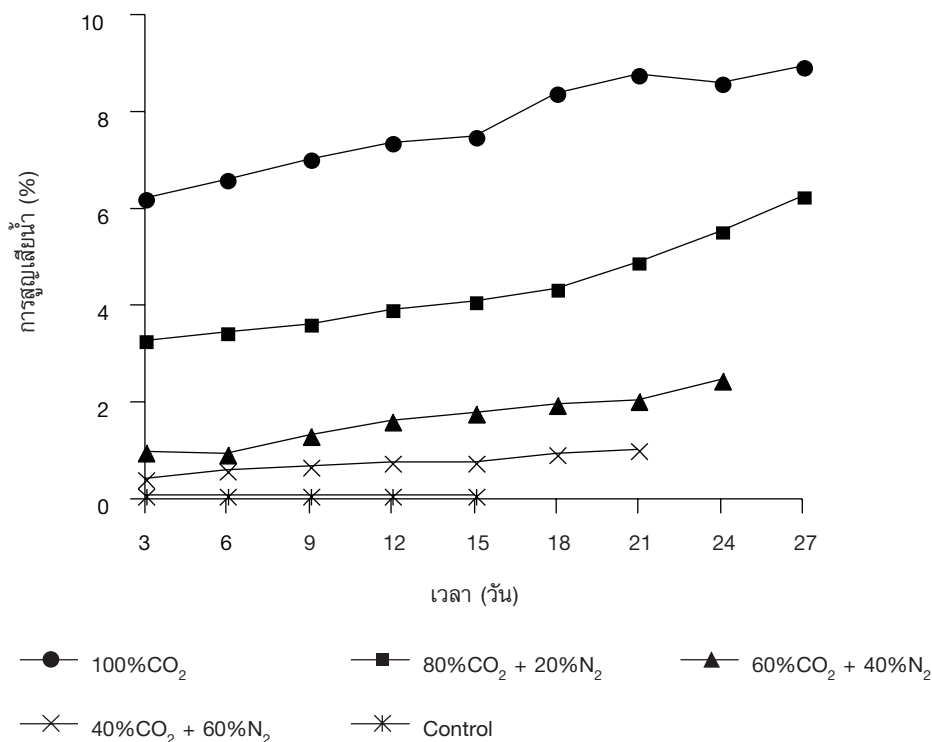
บรรจุภายใต้สภาวะบรรยากาศตัดแปรมีค่าลดลง สำหรับในส่วน of ลูกชิ้นปลานิลที่เก็บในสภาวะบรรยากาศปกติ นั้นพบว่าค่า Aw ค่อนข้างคงที่แม้ว่าจะมีค่า pH ลดลงเช่นกัน (รูปที่ 2) ที่เป็นเช่นนี้อธิบายได้ว่าการลดลงของ pH ในกรณีนี้เป็นผลจากการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งนอกจากจะผลิตกรดแล้วยังมีการสร้างเมือกด้วย ซึ่งเมือกที่เกิดจะอยู่ที่ผิวด้านนอกและห่อหุ้มลูกชิ้นปลานิลไว้ ดังนั้นถึงแม้ว่าลูกชิ้นปลานิลจะมีการสูญเสียคุณสมบัติในการจับน้ำ แต่น้ำเหล่านั้นยังคงถูกกักอยู่ในลูกชิ้นส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ยังคงมีค่า Aw สูง



รูปที่ 4 ค่า Aw ของลูกชิ้นปลานิลที่บรรจุภายใต้สภาวะบรรยากาศตัดแปรและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $4\pm 2^{\circ}\text{C}$

สำหรับการพิจารณาผลของสภาวะบรรยากาศที่ใช้ต่อการสูญเสียน้ำ (drip loss) ในผลิตภัณฑ์ พบว่าในช่วงเริ่มต้นของการเก็บรักษา ลูกชิ้นปลาที่เก็บรักษาที่สภาวะ 100%CO₂ มีการสูญเสียน้ำมากที่สุด รองลงมาคือที่สภาวะ 80%CO₂+20%N₂, 60%CO₂+40%N₂, 40%CO₂+60%N₂ และสภาวะบรรยากาศปกติ ตามลำดับ (รูปที่ 5 และตารางที่ 1) ที่เป็นเช่นนี้เพราะคาร์บอนไดออกไซด์มีความสามารถในการละลายน้ำ ดังนั้นจึงละลายลงไปในส่วนที่มีอยู่ในอาหาร และเกิดเป็นกรดคาร์บอนิกขึ้น ส่งผลทำให้โปรตีนในลูกชิ้นเสียสภาพธรรมชาติและเสียคุณสมบัติในการจับน้ำไป ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ Sorheim และคณะ [21] ที่พบว่า การเก็บรักษาเนื้อสะโพกหมูในสภาวะ 100%CO₂ จะมีการสูญเสียน้ำหนักมากที่สุดคือ 4.3% ในขณะที่การเก็บ

รักษาที่สภาวะ 50%CO₂+ 50%N₂ มีการสูญเสียน้ำหนักเพียง 3.8% สำหรับในส่วนของการสูญเสียน้ำของระยะเวลาการเก็บรักษานั้นพบว่า การสูญเสียน้ำของลูกชิ้นปลาที่มีสาเหตุหลักมาจากการเจริญของจุลินทรีย์ (รูปที่ 1) ซึ่งทำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนและส่งผลให้เสียความสามารถในการอุ้มน้ำไป อย่างไรก็ตาม จากรูปที่ 5 ยังพบว่า ลูกชิ้นปลาที่เก็บรักษาที่สภาวะ 40%CO₂+60%N₂ และสภาวะบรรยากาศปกติมีการสูญเสียน้ำน้อยกว่าลูกชิ้นปลาที่เก็บรักษาที่สภาวะ 100%CO₂, 80%CO₂+20%N₂ และ 60%CO₂+40%N₂ ทั้งที่มีปริมาณจุลินทรีย์สูงกว่า ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากจุลินทรีย์ดังกล่าวมีการสร้างเมือกขึ้นมาห่อหุ้มลูกชิ้นไว้ ทำให้ขัดขวางการแพร่ของน้ำจากภายในลูกชิ้นออกสู่ภายนอกเป็นผลให้วัดค่าการสูญเสียน้ำได้น้อย



รูปที่ 5 ค่าการสูญเสียน้ำของลูกชิ้นปลาที่บรรจุภายใต้สภาวะบรรยากาศดัดแปรและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2°ซ

ตารางที่ 1 อิทธิพลของสภาวะบรรยากาศตัดแปรต่อการสูญเสียของลูกชั้นปลานิลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ $4\pm 2^{\circ}\text{C}$

สภาวะ*	การสูญเสีย (%)**
Air (Control)	$0.075^e \pm 0.015$
100%CO ₂	$7.704^a \pm 1.01$
80%CO ₂ +20%N ₂	$4.364^b \pm 0.413$
60%CO ₂ +40%N ₂	$1.632^c \pm 0.522$
40%CO ₂ +60%N ₂	$0.746^d \pm 0.204$

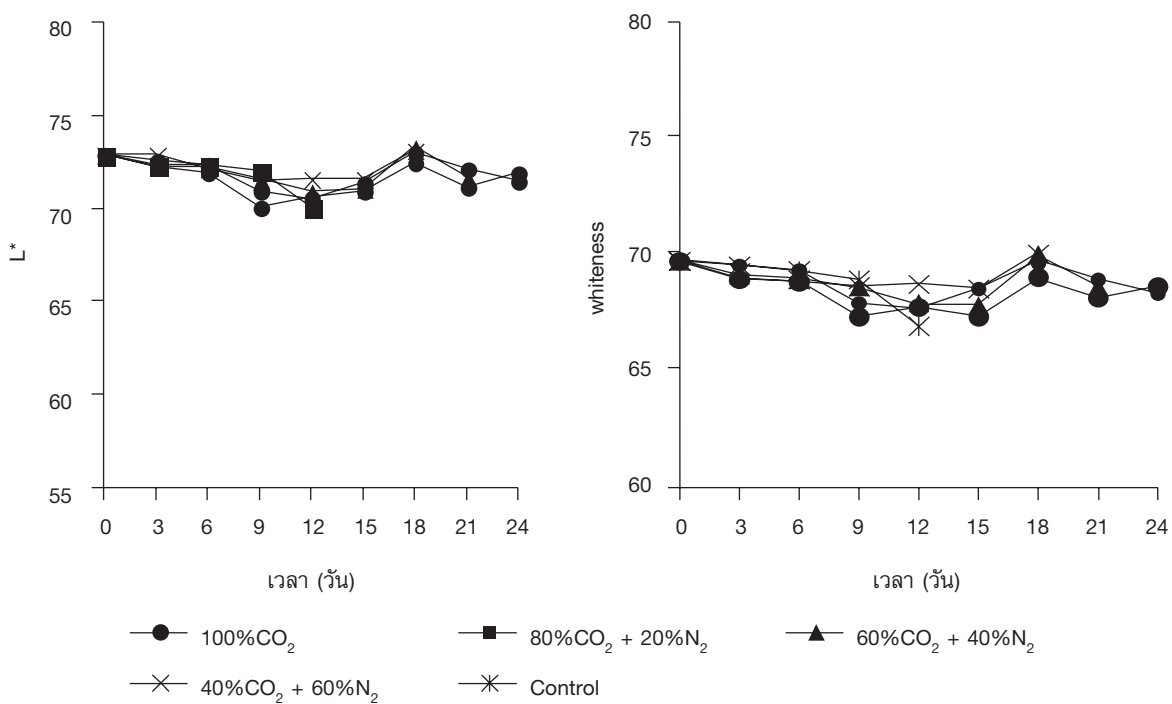
* วิเคราะห์ผลโดยใช้ค่าการสูญเสียของลูกชั้นปลานิลในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 12, 24, 21, 21 และ 18 วัน สำหรับลูกชั้นปลานิลที่เก็บในสภาวะ Air, 100%CO₂, 80%CO₂+20%N₂, 60%CO₂+40%N₂ และ 40%CO₂+60%N₂ ตามลำดับ (ช่วงระยะเวลาที่ใช้ในการคำนวณเป็นช่วงระยะเวลาที่ผลผลิตที่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 6 log CFU/กรัม)

** ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน (a, b,...) ในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

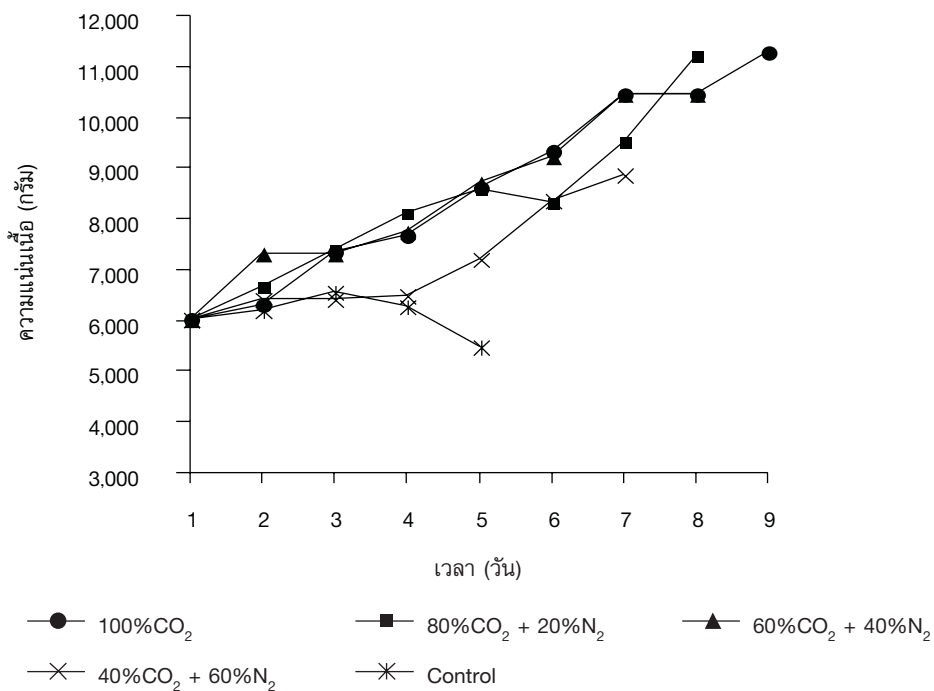
สำหรับคุณสมบัติทางด้านสีของลูกชั้นนั้นพบว่า ลูกชั้นปลานิลจากทุกสภาวะการเก็บมีค่า L* และ whiteness ใกล้เคียงกัน คืออยู่ในช่วง 70.08-73.32 และ 66.70-69.89 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษามีผลทำให้ค่า L* และ whiteness ของลูกชั้นปลานิลในสภาพบรรยากาศตัดแปรเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วงแคบ

กล่าวคือมีค่า L* อยู่ในช่วง 70.08-72.89, 70.49-72.89, 70.93-73.32 และ 71.47-73.12 และมีค่า whiteness อยู่ในช่วง 66.70-69.89, 67.42-69.58, 67.67-69.89 และ 68.32-69.80 ที่สภาวะ 100%CO₂, 80%CO₂+ 20%N₂, 60%CO₂+ 40%N₂ และ 40%CO₂+ 60%N₂ ตามลำดับ (รูปที่ 6)

เมื่อนำลูกชั้นปลานิลมาศึกษาคุณสมบัติทางด้านเนื้อสัมผัสพบว่าลูกชั้นปลานิลที่เก็บภายใต้สภาวะบรรยากาศตัดแปรมีความแน่นเนื้อหรือค่า firmness เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น (รูปที่ 7) โดยผลการศึกษาอิทธิพลของสภาวะบรรยากาศตัดแปรบ่งชี้ว่าการเพิ่มความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์จะส่งผลให้ลูกชั้นปลานิลมีความแน่นของเนื้อเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 2) ทั้งนี้เนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์มีผลทำให้โปรตีนในลูกชั้นปลานิลเสียสภาพธรรมชาติ ส่งผลให้ลูกชั้นมีการสูญเสียและเนื้อสัมผัสที่แน่นขึ้น ในส่วนของลูกชั้นปลานิลที่เก็บรักษาในสภาพบรรยากาศปกตินั้นพบว่ามีความแน่นเนื้อลดลงเมื่อเทียบกับค่าตอนเริ่มต้นซึ่งมีค่าเท่ากับ $6034.43+442.17$ กรัม ทั้งนี้เนื่องจากสภาวะนี้เป็นสภาวะที่เอื้อต่อการเจริญของจุลินทรีย์มากที่สุด จึงมีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างมากส่งผลให้มีการย่อยสลายผลิตภัณฑ์เพื่อใช้ในการเจริญมากขึ้นไปด้วย ดังนั้นผลิตภัณฑ์จึงมีความแน่นของเนื้อน้อยที่สุด



รูปที่ 6 ค่า L* value และค่า whiteness ของลูกชิ้นปลาเนื้ที่บรรจุภายใต้สภาวะบรรยากาศตัดแปร และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2°ซ



รูปที่ 7 ค่าความแน่นเนื้อของลูกชิ้นปลาเนื้ที่บรรจุภายใต้สภาวะบรรยากาศตัดแปรและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2°ซ

ตารางที่ 2 อิทธิพลของสภาวะบรรยากาศตัดแปรต่อความแน่นเนื้อของลูกชิ้นปลาชนิดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ $4\pm 2^{\circ}\text{C}$

สภาวะ*	ความแน่นเนื้อ (กรัม)**
Air (Control)	5429.57 ^c ±680.19
100%CO ₂	8715.35 ^a ±815.99
80%CO ₂ +20%N ₂	8543.39 ^a ±538.65
60%CO ₂ +40%N ₂	8042.81 ^a ±645.32
40%CO ₂ +60%N ₂	7284.47 ^b ±178.10

* วิเคราะห์ผลโดยใช้ค่าความแน่นเนื้อของลูกชิ้นปลาชนิดในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 12, 24, 21, 21 และ 18 วัน สำหรับลูกชิ้นปลาชนิดที่เก็บในสภาวะ Air, 100%CO₂, 80%CO₂+20%N₂, 60%CO₂+40%N₂ และ 40%CO₂+60%N₂ ตามลำดับ (ช่วงระยะเวลาที่ใช้ในการคำนวณเป็นช่วงระยะเวลาที่ผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 6 log CFU/กรัม)

** ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน (a, b,...) ในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

3.5 ผลการบรรจุภายใต้สภาพบรรยากาศตัดแปรต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส

จากตารางที่ 3 พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาลูกชิ้นปลาชนิดที่มีผลต่อคะแนนการยอมรับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$) อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบสภาวะการบรรจุที่ใช้พบว่าลูกชิ้นปลาชนิดที่เก็บรักษาที่สภาวะ 100%CO₂, 80%CO₂+20%N₂ และ 40%CO₂+60%N₂ ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบจนถึงวันที่ 6 ของการเก็บรักษา ในขณะที่ลูกชิ้นปลาชนิดที่เก็บรักษาที่สภาวะ 60%CO₂+40%N₂ ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบจนถึงวันที่

ตารางที่ 3 คะแนนการยอมรับของลูกชิ้นปลาชนิดที่บรรจุภายใต้สภาวะบรรยากาศตัดแปรและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $4\pm 2^{\circ}\text{C}$

สภาวะ	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)				
	0 ^{ns}	3 ^{ns}	6 ^{ns}	9	12
Air (control)	3.23 ^a ±0.83	3.29 ^a ±0.58	3.15 ^a ±0.80	³ 1.83 ^b ±0.57	-
100%CO ₂	3.23 ^a ±0.83	3.05 ^a ±0.82	3.15 ^a ±0.67	¹² 2.13 ^b ±0.56	-
80%CO ₂ +20%N ₂	3.23 ^b ±0.83	3.50 ^a ±0.51	3.00 ^b ±0.57	¹² 2.31 ^c ±0.64	-
60%CO ₂ +40%N ₂	3.23 _± 0.83	3.35 ^a ±0.86	3.38 ^a ±0.50	¹ 3.25 ^a ±0.86	3.06 ^a ±0.92
40%CO ₂ +60%N ₂	3.23 ^{ab} ±0.83	3.17 ^a ±0.88	3.36 ^a ±0.92	² 2.41 ^b ±0.79	-

* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน (a, b,...) ในแถวเดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน (1, 2,...) ในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

^{ns}ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกัน (a, b,...) ในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างไม่มีความนัยสำคัญทางสถิติ ($p> 0.05$)

12 ของการเก็บรักษา โดยลูกชิ้นปลาชนิดมีเนื้อสัมผัสอยู่ในช่วงเนื้อแน่นเล็กน้อยถึงแน่นปานกลาง สำหรับการที่ลูกชิ้นปลาชนิดที่เก็บที่สภาวะ 100%CO₂, 80%CO₂+20%N₂ และ 40%CO₂+60%N₂ ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบเพียง 6 วันนั้น อธิบายได้ว่าลูกชิ้นปลาชนิดที่เก็บที่สภาวะ 100%CO₂ และ 80%CO₂+20%N₂ มีเนื้อสัมผัสแข็งและไม่ฉ่ำน้ำ ทั้งนี้เนื่องจากลูกชิ้นปลาชนิดมีการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษา (รูปที่ 5) ส่วนลูกชิ้นปลาชนิดที่สภาวะ 40%CO₂+60%N₂ นั้นถึงแม้จะมีการสูญเสียน้ำน้อยกว่าในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษาแต่มีเนื้อสัมผัสค่อนข้างนุ่ม ซึ่งอาจเป็นผลจากการย่อยสลายของจุลินทรีย์ที่มีอยู่เป็นจำนวนมากกว่าที่สภาวะการเก็บรักษาอื่นๆ (รูปที่ 1) ดังนั้นจึงส่งผลให้ลูกชิ้นปลาชนิดที่เก็บในสภาวะที่กล่าวมาข้างต้นได้คะแนนการยอมรับต่ำ

จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสทำให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาลูกชิ้นปลาชนิด คือสภาวะ 60%CO₂+40%N₂ ซึ่งสภาวะดังกล่าวจะช่วยรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์เอาไว้ได้ 12 วัน (ตารางที่ 3) โดยลูกชิ้นปลาชนิดที่สภาวะนี้มีจำนวนมีจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 3.59 log cfu/กรัม (รูปที่ 1) มีค่า pH เท่ากับ 6.26 (รูปที่ 2) และมีค่าความแน่นเนื้อเท่ากับ 8,731.84 กรัม (รูปที่ 7)

4. สรุป

สัดส่วนของความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์และไนโตรเจนมีผลต่อคุณภาพและอายุการเก็บของลูกชิ้นปลาชนิด โดยสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาลูกชิ้นปลาชนิดคือสภาวะ 60%CO₂+40%N₂

5. เอกสารอ้างอิง

1. จักรี ทองเรือง, 2544, *ซูริมิ*, สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร, 325 หน้า.

2. จีราวรรณ แยมประยูร, พรณทิพย์ สุวรรณสาครกุล และปรทิพย์ เกียรติกังวานไกล, 2523, “ศึกษาเทคนิคการผลิตลูกชิ้นปลา”, *รายงานวิชาการและการทดลองประจำปี 2523*, กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง, กรุงเทพมหานคร, หน้า 50-68.

3. งามทิพย์ ภู่วโรดม, 2535, *ก๊าซกับการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร*, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร, 173 หน้า.

4. Jacxens, L., Devlighere, F., Facato, P., and Debevere, J., 1999, “Validation of a Systematic Approach to Design Equilibrium Modified Atmosphere Package for Fresh Cut Produce”, *Food Science Technology*, Vol. 32 pp. 425-432.

5. Ooraikul, B. and Stile M.E. 1991, *Modified Atmosphere Packaging of Food*, Ellis Horwood Limited, New York, 293 p.

6. Garcia de Fernando, G.D., Nychas, G.J.E., Peck, M.W. and Ordonez, J.A., 1995, “Growth/Survival of Psychrotrophic Pathogens on Meat Packaged under Modified Atmospheres,” *J. Food Microbiology*, Vol. 17, No. 6, pp. 221-231.

7. Luno, M., Beltran, J.A., and Roncalles, P., 1998, “Shelf-life Extension and Colour Stability of Beef Packaged in a Low O₂ Atmosphere Containing CO : Loin Steaks and Ground Meat”, *J. Meat Science*, Vol. 48, No. 1, pp. 75-84.

8. Erichen, I. and Molin, G., 1981, “Microbial Flora of Normal and High pH Beef Stroed at 4°C in Difference Gas Environments”, *J. Food Protection*, Vol. 44, No. 11, pp. 866-869.

9. Blickstas, E. and Molin, G., 1983, “Carbondioxide as a Controller of the Spoilage Flora of Pork, with Special Difference to Temperature and Sodium Chloride”, *J. Food Protection*, Vol. 46, No. 9, pp. 750-763.

10. AOAC, 1990, *Official Methods of Analysis*, 15th ed. The Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, 1,298 p.

11. Avena-Bustillos, R.J., Cisneros-Zevallos, L.A., Krochta, J.M., and Saltveit, M.E., 1993, *Transactions of the ASAE*, Vol. 36, No. 3, pp. 801-805.

12. Cochran, W.G. and Cox, G.M., 1985, *Experimental Design*, John Wiley and Sons, New York, 617 p.

13. Jay, J.M., 1996, *Modern Food Microbiology*, Chapman & Hall, 5thed, New York, 661 p.

14. Gill, C.O and Tan, K.H., 1980, “Effect of Carbondioxide on Growth of Meat Spoilage Bacteria”, *J. Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 39, No. 2, pp. 317-319.

15. Daniels, F.A., Rishamurthi, R.K., and Rizvi, S.H., 1985, “A Review of Effect of Carbondioxide on Microbial Growth and Food Quality”, *J. Food Protection*, Vol. 48, pp. 532-537.

16. Stammen, K., Gerdes, D., and Caporaso, F. 1990, “Modified Atmosphere Packaging of Seafood”, *J. Food Science and Nutrition*, Vol. 29, pp. 301-331.

17. Nattress, F.M. and Jeremiah, L.E., 2000, “Bacterial Mediated Off-Flavor in Retail-Ready Beef after storage in Control Atmosphere”, *J. Food Research International*, Vol. 33, No. 3, pp. 743-748.

18. McMuller, L. and Stile, M.E., 1989, “Storage Life of Selected Meat Sandwiches at 4 °C in Modified Atmospheres”, *J. Food Protection*, Vol. 52, No. 11, pp. 729 - 789.

19. Patsias, A., Chouliara, I., Badeka, A., Savvaidis, I.N., and Kontoninas, M.G., 2006. Shelf-life of a Chilled Precooked Chicken Product Stored in Air and under Modified Atmospheres: Microbiological, Chemical, Sensory Attributes”, *Food Microbiology*, Vol. 23, pp. 423-429.

20. Paz, H.M., Guillard, V., Reynes, M., and Gontrad, N., 2005, "Ethylene Permeability of Wheat Gluten Film as a Function of Temperature and Relative Humidity", *J. Membrane Science*, Vol. 256, p. 108.

21. Sorherim, O., Krof, D.H., Hunt, M.C., Karwoski, M.T., and Warren, K.E., 1996, "Effects of Modified Gas Atmosphere Packaging on Pork Loin Colour, Display Life and Drip Loss", *J. Meat Science*, Vol. 43, No. 2, pp. 203-212.