

การยืดอายุการเก็บเต้าหู้นมสดโดยใช้ไคโตซาน Shelf-life Extension Tofu Milk Using Chitosan

ธงชัย พุ่มทองศิริ^{1*} กาญจนา ช้างสุวรรณ² คันธรัตน์ สาทอง² และณัฐธิดา สระภู²

¹อาจารย์ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพฯ 10520

²นักศึกษา สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพฯ 10520

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาอายุการเก็บและผลของความเข้มข้นของไคโตซานที่มีต่อเต้าหู้นมสด พบว่า เต้าหู้นมสดที่วางจำหน่ายในท้องตลาด มีอายุการเก็บ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียส เพื่อยืดอายุการเก็บเต้าหู้นมสดให้นานขึ้นด้วยสารละลายไคโตซาน โดยเติมสารละลายไคโตซานเข้มข้น 2% ลงในส่วนผสมเต้าหู้นมสดปรับให้ความเข้มข้นของไคโตซานในส่วนผสมเป็น 0 0.03 0.05 และ 0.07% พบว่า เมื่อเติมไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา โคลิฟอร์ม *S. aureus* และ *E. Coli* ได้ แต่ไม่มีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น รสชาติ และการยอมรับโดยรวมของเต้าหู้นมสด ความเข้มข้นที่เหมาะสมของไคโตซานในการยืดอายุเต้าหู้นมสด คือ 0.05% สามารถเก็บได้นานอย่างน้อย 14 วัน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียส จากนั้นศึกษาอายุการเก็บเต้าหู้นมสดโดยใช้สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 25 ± 1 และ 35 ± 1 องศาเซลเซียส โดยการคำนวณโดยใช้ปฏิกิริยาทางจลนพลศาสตร์ พบว่า คำนวณระยะเวลาการเก็บได้ 3.69 และ 2.75 วัน ตามลำดับ

Abstract

The objectives of this research were to determine shelf life of tofu milk and the effects of the concentrations of chitosan on shelf life of tofu milk. The result was found that the shelf life of tofu milk in the market was about 10 days when storage at $4\pm 1^{\circ}\text{C}$. To extend shelf life of tofu milk by using chitosan solution. The aqueous solution of 2% chitosan was added into tofu milk by adjusting the concentration of chitosan in the mixture to 0 0.03 0.05 and 0.07%. It was found that chitosan inhibited the growth of total plate count, yeast and mold, *coliform*, *S. aureus* and *E. Coli* but it wasn't affected on sensory of tofu milk. The suitable concentration of chitosan was 0.05% and it extended the shelf life of tofu milk storage at $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 14 days. In addition, the shelf life of tofu milk was investigated using accelerated conditions at 25 ± 1 and $35\pm 1^{\circ}\text{C}$. The calculations were carried out using the reaction kinetics. Calculated results showed that shelf life of tofu milk at 25 ± 1 and $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ were 3.69 and 2.75 days, respectively.

คำสำคัญ : เต้าหู้นมสด ไคโตซาน การยืดอายุการเก็บ

Keywords: Tofu Milk, Chitosan, Shelf Life Extension

* ผู้นิพนธ์ประสานงานไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ kptongch@kmitl.ac.th โทร. 086-568-5064

1. บทนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับอาหารมากขึ้น ทำให้เกิดกระแสความต้องการอาหารที่มีความปลอดภัยสูงขึ้น อาหารควรผ่านกระบวนการผลิตที่มีความปลอดภัย การใช้สารเคมีในการถนอมอาหารจึงถูกลดความสำคัญลงอย่างมาก โดยหันไปมุ่งเน้นการใช้สารสกัดจากธรรมชาติมาทดแทน มีการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติของสารสกัดจากธรรมชาติและคุณสมบัติของสารสกัดเหล่านี้ในด้านความเป็นไปได้ในการนำมาใช้ประโยชน์ ซึ่งสารบางตัวได้รับการยอมรับแล้วว่ามีความปลอดภัยสูงและไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค สารธรรมชาติตัวหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมาก คือ ไคโตซาน (Chitosan) ซึ่งจัดเป็นโพลีเมอร์และเป็นอนุพันธ์ของไคติน (Chitin) ที่สกัดได้จากเปลือกแข็งของสัตว์จำพวกกุ้ง ปู และกระดองปลาหมึกเป็นที่นิยมนำมาใช้ประโยชน์กับผลิตภัณฑ์อาหารอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะการนำไคโตซานและอนุพันธ์มาประยุกต์ใช้ในด้าน การยืดอายุการเก็บอาหาร เนื่องจากไคโตซานและอนุพันธ์ของไคโตซานมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น แบคทีเรีย ยีสต์และรา ไคโตซานจึงได้รับความสนใจอย่างมากในการนำมาใช้ประโยชน์เพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพและยืดระยะเวลาในการเก็บรักษาอาหารหลายชนิด เช่น อาหารทะเล เนื้อสัตว์ ผักและผลไม้ นม ขนมอบ และน้ำผลไม้ (No และคณะ, 2007) มีการศึกษาว่าไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในน้ำนมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียลดลงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยสภาวะที่เหมาะสมในการยืดอายุ การเก็บรักษาน้ำนม คือ ใช้ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ร่วมกับการเก็บรักษา

ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (Tsai และคณะ, 2000) อย่างไรก็ตาม ไคโตซานจะมีประสิทธิภาพมากเพียงไรขึ้นอยู่กับชนิด น้ำหนักโมเลกุล สภาพของอาหาร อุณหภูมิในการเก็บรักษา และชนิดของจุลินทรีย์ ดังนั้น จึงไม่สามารถใช้ไคโตซานเพียงอย่างเดียวในการถนอมอาหาร แต่จำเป็นต้องใช้ปัจจัยอื่นร่วมด้วย เช่น การใช้ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ หรืออาศัยหลักการ Hurdle เป็นต้น

เต้าหู้นมสด หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากนมวัวหรือเจลาตินอย่างใดอย่างหนึ่งหรือผสมกัน และน้ำตาลอาจเติมส่วนประกอบอื่นเพื่อปรุงแต่งกลิ่นรส เช่น กาแฟ วานิลลา ชาเขียว และอาจเติมส่วนประกอบอื่น เช่น ผัก ผลไม้ ธัญพืช บรรจุในภาชนะบรรจุที่สะอาด แห้ง ปิดสนิท และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมภายนอกได้ และควรเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2547) เต้าหู้นมสดมีอายุการเก็บค่อนข้างสั้น ในการยืดอายุการเก็บตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน อนุญาตให้สามารถใช้วัตถุกันเสีย โดยให้ใช้ตามชนิดและปริมาณที่กฎหมายกำหนด แต่การใช้วัตถุกันเสียนั้นไม่สามารถตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคได้ในด้านความปลอดภัย การศึกษาการยืดอายุการเก็บเต้าหู้นมสดให้นานขึ้นด้วยการใช้ไคโตซานซึ่งได้จากสารสกัดธรรมชาติเป็นสารกันเสียซึ่งมีรายงานในด้านความปลอดภัยจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาเต้าหู้นมสดที่จำหน่ายในท้องตลาด ผลของไคโตซานต่อการเก็บรักษาเต้าหู้นมสด และการศึกษาอายุการเก็บเต้าหู้นมสดด้วยสภาวะเร่ง

2. วิธีการทดลอง

2.1 ศึกษาอายุการเก็บรักษาเต้าหู้นมสด

เต้าหู้นมสดที่ใช้ในการทดลองนี้ ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานคุณเจี๊ยะเต้าหู้นมสด โดยนำตัวอย่างเต้าหู้นมสดเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส มาวิเคราะห์หาจุลินทรีย์ทุก ๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่วิเคราะห์ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช. 528/2547) ตามข้อ 1-3 ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ตามข้อ 4 และ 5 วิเคราะห์เพื่อติดตามด้านสุขลักษณะการผลิต และการวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราเพื่อติดตามการเสื่อมเสียเนื่องจากตัวอย่างใช้ผลไม้เชื่อมเติมน้ำของเต้าหู้นมสด

1. ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate count) (A.O.A.C, 1990)
2. สตาฟีโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) (A.O.A.C, 1990)
3. เอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*) (A.O.A.C, 1990)
4. โคลิฟอร์ม (*Coliform*) (A.O.A.C, 1990)
5. ปริมาณยีสต์และรา (Yeast and Mold) (A.O.A.C, 1990)

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยการเปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์ที่เปลี่ยนแปลงกับปริมาณจุลินทรีย์ตามมาตรฐาน เพื่อหาอายุการเก็บรักษาของเต้าหู้นมสด

2.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโคโคซานที่เหมาะสมในการยืดอายุการเก็บรักษาเต้าหู้นมสด

2.2.1 การทำเต้าหู้นมสด โดยมีสูตรเต้าหู้นมสด ดังนี้

ตารางที่ 1 ส่วนผสมของเต้าหู้นมสด

ส่วนผสม	ปริมาณ (%)
ครีมเทียมพร่องไขมัน	49.00
น้ำนม UHT	45.00
น้ำตาลทราย	5.00
ผงวุ้น	1.00

วิธีการทำเต้าหู้

1. นำครีมเทียมพร่องไขมัน และนม UHT ใส่ภาชนะรวมกัน เติมน้ำตาลทราย จากนั้นนำผงวุ้นมาละลายในน้ำ แล้วนำวุ้นที่ละลายแล้วผสมลงในน้ำนม คนส่วนผสมทั้งหมดจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปให้ความร้อน จนมีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2. นำส่วนผสมในข้อ 1 ตักใส่ถ้วยรอให้วุ้นแข็งตัว

วิธีการทำนมสด

1. ครีมเทียมพร่องไขมัน และนม UHT ใส่ภาชนะรวมกันเติมน้ำตาลทราย คนจนน้ำตาลทรายละลายนำไปให้ความร้อนจนสารละลายมีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2. ปลอ่ยให้มีอุณหภูมิลดลงประมาณ 70 องศาเซลเซียส แล้วนำไปเติมในเต้าหู้ที่แข็งตัวแล้ว

2.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโคโคซาน

เตรียมสารละลายโคโคซานเข้มข้น 2% โดยละลายโคโคซานในน้ำส้มสายชูเข้มข้น 1% ปรับ pH เป็น 6.3 จากนั้นนำสารละลายโคโคซานที่ได้มาเติมในส่วนผสมเต้าหู้นมสดตามข้อ 2.2.1

โดยปรับให้ส่วนผสมเต้าหู้นมสดมีความเข้มข้นของโคโคซานเป็น 0 0.03 0.05 และ 0.07% แล้วนำส่วนผสมไปให้ความร้อน

นำตัวอย่างเต้าหู้นมสดที่เตรียมได้ เก็บไว้ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 14 วัน ตรวจสอบคุณภาพทุก ๆ 2 วัน โดยตรวจสอบคุณภาพด้านจุลินทรีย์ตามข้อ 2.1 และด้านคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยนำตัวอย่างเต้าหู้นมสดที่เติมโคโคซานในปริมาณต่าง ๆ มาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ด้วยวิธี 7-point hedonic scale เพื่อประเมินความชอบของผู้บริโภค

วิเคราะห์ผลการทดลองด้านคุณภาพทางประสาทสัมผัส วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยแผนการทดลองแบบ RCBD และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple rang test เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายโคโคซานและวิธีการเติมที่เหมาะสมในการยัดอายุการเก็บรักษาเต้าหู้นมสด

ตารางที่ 2 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณยีสต์และรา *E. coli* Coliform และ *S. aureus* ในเต้าหู้นมสดเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

ระยะเวลาเก็บ (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/g)	ปริมาณยีสต์และรา (CFU/g)	<i>E. coli</i> (MPN/g)	Coliform (MPN/g)	<i>S. aureus</i> (CFU/g)
0	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	ND	3.6	ND
2	$<30 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	ND	7.4	ND
4	$<30 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	ND	21	ND
6	$<30 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	ND	150	ND
8	8.5×10^2	$<30 \times 10^1$	ND	210	ND
10	8.7×10^3	$<30 \times 10^1$	ND	210	ND
12	9.9×10^4	$<30 \times 10^1$	ND	1100	ND
14	11.3×10^4	520	ND	>1100	ND

หมายเหตุ ND = Not detect

2.3 ศึกษาอายุการเก็บเต้าหู้นมสดด้วยสภาวะเร่ง

นำเต้าหู้นมสดที่เติมสารละลายโคโคซานความเข้มข้นที่เหมาะสมจากข้อ 2.2.2 มาทำการเก็บในสภาวะเร่ง แล้วหาสมการที่เหมาะสมในการทำนายอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เต้าหู้นมสดที่เติมสารละลายโคโคซาน เพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาของเต้าหู้นมสดเมื่อเก็บในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 25 ± 1 และ 35 ± 1 องศาเซลเซียส

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

3.1 อายุการเก็บรักษาเต้าหู้นมสด

นำเต้าหู้นมสดมาประเมินอายุการเก็บโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส และเก็บข้อมูลเป็นปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) ปริมาณยีสต์และรา (Yeast and Mold) *E. coli*, Coliform และ *S. aureus* ดังตารางที่ 2

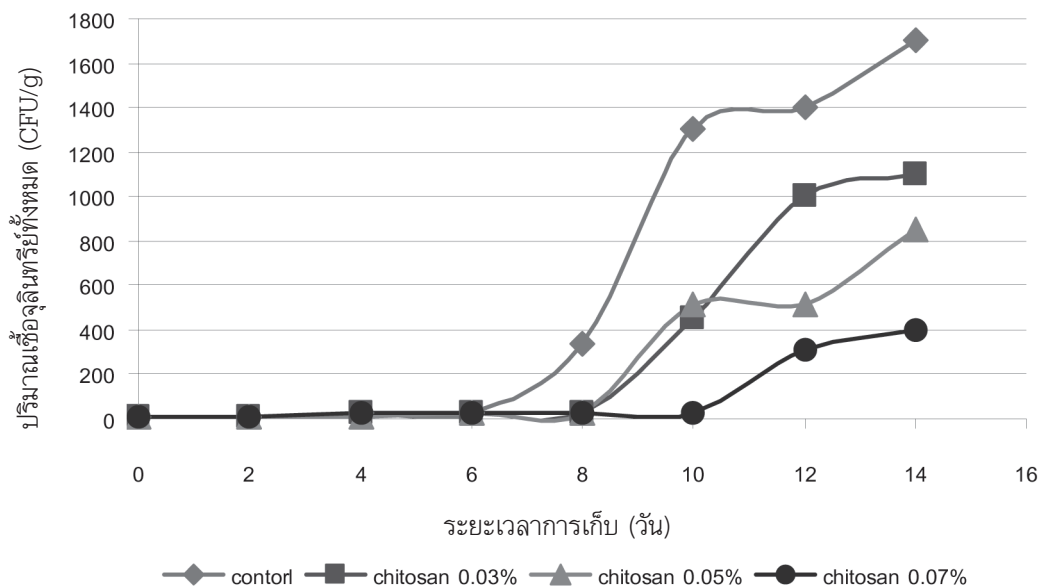
จากตารางที่ 2 พบว่า เต้าหู้นมสดมีการผลิตที่ถูกสุขลักษณะ ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณยีสต์และรา และ Coliform เพิ่มขึ้นตามอายุการเก็บ เมื่อเก็บไว้นาน 12 วัน ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 9.9×10^4 CFU/g ซึ่งมีค่าสูงกว่ามาตรฐานของจุลินทรีย์ที่กำหนดให้มีได้ในผลิตภัณฑ์คือ ต้องไม่เกิน 5×10^4 CFU/g ยีสต์และราในเต้าหู้นมสด จะมีการเจริญช้ากว่าจุลินทรีย์ทั้งหมด และไม่พบเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ในเต้าหู้นมสด ซึ่งเป็นไปตามที่มาตรฐานกำหนดในเต้าหู้นมสด (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2547) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเต้าหู้นมสดที่ผลิตและจำหน่ายในท้องตลาด มีอายุการเก็บ 10 วัน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส เพื่อยืดอายุการเก็บของเต้าหู้นมสดโดยไม่ใช้สาร

กันเสียจึงนำโคโตซานมาใช้ในการยืดอายุเต้าหู้นมสด

3.2 ผลของความเข้มข้นของสารละลายโคโตซานที่เหมาะสมในการยืดอายุการเก็บรักษาเต้าหู้นมสด

3.2.1 ผลของความเข้มข้นของสารละลายโคโตซานที่มีต่อจุลินทรีย์ในเต้าหู้นมสด

เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยเติมโคโตซานระหว่างที่ทำการต้มเต้าหู้ โดยผสมสารละลายโคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 0 0.03 0.05 และ 0.07% แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน นำตัวอย่างเต้าหู้นมสดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณยีสต์และรา *E. coli* Coliform และ *S. aureus* ได้ผลดังรูปที่ 1 และ 2 และตารางที่ 3



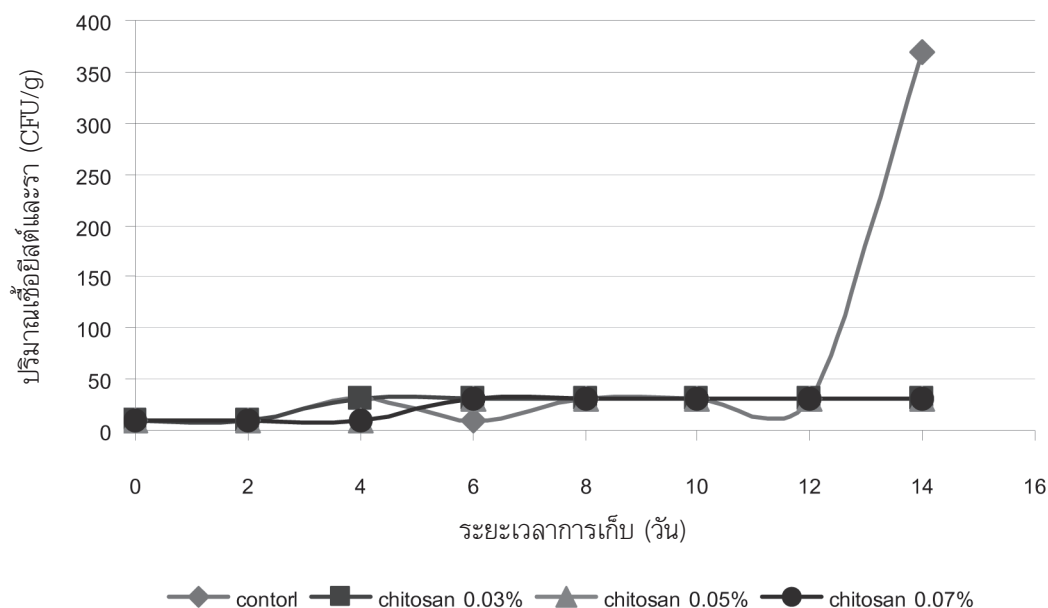
รูปที่ 1 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในเต้าหู้นมสดเมื่อเติมโคโตซานที่ความเข้มข้น 0 0.03 0.05 และ 0.07% และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

จากรูปที่ 1 เมื่อผสมสารละลายโคโตซาน ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.03 0.05 และ 0.07% ลงในเต้าหู้นมสด แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส นาน 14 วัน ทำการวิเคราะห์ปริมาณ เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในเต้าหู้นมสดทุก 2 วัน พบว่า เต้าหู้นมสดที่ไม่ผสมสารละลายโคโตซานมี ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น และการเจริญ ของจุลินทรีย์ทั้งหมดในเต้าหู้นมสดแปรตามความ เข้มข้นของสารละลายโคโตซานที่ใช้ โดยเมื่อความ เข้มข้นของโคโตซานในเต้าหู้นมสดมากขึ้นปริมาณ จุลินทรีย์ทั้งหมดจะน้อยกว่าในเต้าหู้นมสดที่มี โคโตซานเข้มข้นต่ำกว่าและเมื่อพิจารณาเปรียบ เทียบระหว่างการเติมและไม่เติมสารละลาย โคโตซาน จะเห็นว่าเต้าหู้นมสดที่เติมสารละลาย โคโตซาน มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำกว่าเต้าหู้ นมสดที่ไม่เติมโคโตซาน แสดงว่าการเติมโคโตซาน ทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งปริมาณ จุลินทรีย์ทั้งหมดได้

ผลของความเข้มข้นของโคโตซานที่มีต่อ ปริมาณยีสต์และรา แสดงดังรูปที่ 2 พบว่า เต้าหู้ นมสด ที่ไม่มีการเติมโคโตซานจะมีปริมาณเชื้อยีสต์ และราเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บที่นานขึ้น แต่เต้าหู้นมสดที่เติมโคโตซานทั้ง 3 ความเข้มข้น คือ 0.03 0.05 0.07% มีความสามารถในการ ยับยั้งยีสต์และราได้ และมีผลในการยับยั้งเชื้อที่ ได้ไม่แตกต่างกัน

ผลของความเข้มข้นของโคโตซานที่มีต่อ ปริมาณ *E. coli* Coliform และ *S. aureus* เต้าหู้ นมสด เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 14 วัน แสดงดังตารางที่ 3 พบว่า เต้าหู้ นมสดที่ไม่เติมโคโตซานมีปริมาณ Coliform เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บที่นานขึ้น แต่เต้าหู้ นมสดที่เติมโคโตซานในระดับความเข้มข้น 0.03 0.05 และ 0.07% มีปริมาณ Coliform น้อยกว่า 3 MPN/g และในตัวอย่างเต้าหู้นมสดทั้งที่เติม และไม่เติมโคโตซาน จะไม่พบเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli*

จากผลการทดลองเมื่อใช้โคโตซานเข้มข้น 0.03 0.05 และ 0.07% มีประสิทธิภาพในการ ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับ Chung และคณะ (2003) รายงานว่าที่ความเข้มข้นของ โคโตซาน 200 ppm มีผลในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ และยังสามารถยับยั้ง เชื้อจุลินทรีย์อื่นได้อีกด้วย กลไกการยับยั้งเชื้อ จุลินทรีย์ของโคโตซานอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลง การซึมผ่านของเซลล์จุลินทรีย์ เนื่องจากปฏิสัมพันธ์ ระหว่าง polycationic ของโคโตซานกับ electronegative charges ของผนังเซลล์ จุลินทรีย์ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้มีผลทำให้เกิดการ รั่วไหลขององค์ประกอบของโปรตีน และอิเล็ก- โตรไลต์ ภายในเซลล์ออกมาข้างนอกเซลล์ทำให้ เชื้อจุลินทรีย์ตายได้ (Papineau และคณะ, 1991; Sudarshan และคณะ, 1992; Fang และคณะ, 1994; Chen และคณะ, 1998)



รูปที่ 2 ปริมาณเชื้อยีสต์และราในเต้าหู้นมสดเมื่อเติมโคไโตซานที่ความเข้มข้น 0 0.03 0.05 และ 0.07% เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

ตารางที่ 3 ปริมาณ *E. coli* Coliform และ *S. aureus* ในตัวอย่างเต้าหู้นมสดด้วยสารละลายโคไโตซานที่ระดับความเข้มข้น 0 0.03 0.05 และ 0.07% เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

ระยะเวลาเก็บ (วัน)	<i>E. coli</i> (MPN/g)				Coliform (MPN/g)				<i>S. aureus</i> (CFU/g)			
	ความเข้มข้นโคไโตซาน (%)											
	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	0.03	0.0	0.0
	0	3	5	7	0	3	5	7			5	7
0	ND	ND	ND	ND	<3	<3	<3	<3	ND	ND	ND	ND
2	ND	ND	ND	ND	<3	<3	<3	<3	ND	ND	ND	ND
4	ND	ND	ND	ND	3.6	<3	<3	<3	ND	ND	ND	ND
6	ND	ND	ND	ND	23	<3	<3	<3	ND	ND	ND	ND
8	ND	ND	ND	ND	75	<3	<3	<3	ND	ND	ND	ND
10	ND	ND	ND	ND	150	<3	<3	<3	ND	ND	ND	ND
12	ND	ND	ND	ND	210	<3	<3	<3	ND	ND	ND	ND
14	ND	ND	ND	ND	1100	<3	<3	<3	ND	ND	ND	ND

หมายเหตุ ND = Not detect

3.2.2 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเต้าหู้นมสดเมื่อเติมโคโคซานความเข้มข้น 0 0.03 0.05 และ 0.07% เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 14 วัน

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างเต้าหู้นมสดที่เติมโคโคซานเข้มข้น 0 0.03 0.05 และ 0.07% เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาเต้าหู้นมสดให้มีระยะเวลาการเก็บที่นานขึ้น โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และทำการทดสอบทุก 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน ได้ผลดังตารางที่ 4 พบว่า

ด้านสี เต้าหู้นมสดเมื่อเติมสารละลายโคโคซานมีสีขาวนวลในทุกความเข้มข้นไม่แตกต่างกัน เมื่อเริ่มเก็บในวันที่ 0 และเมื่อระยะเก็บที่นานขึ้นไม่ทำให้เต้าหู้นมสดที่เติมโคโคซานมีความชอบด้านสีแตกต่างกัน ในทุกความเข้มข้น

ด้านกลิ่น เต้าหู้นมสดเมื่อเติมโคโคซานความเข้มข้น 0 0.03 0.05 และ 0.07% ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความชอบด้านกลิ่นที่ได้ในแต่ละวันตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 14 ไม่มีความแตกต่างกัน อาจเป็นเพราะการให้ความร้อนทำให้กลิ่นของสารละลายโคโคซานลดลง จนผู้ทดสอบไม่รู้สึกรถึงความแตกต่าง

ด้านรสชาติ เต้าหู้นมสดเมื่อทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความชอบด้านรสชาติในวันที่ 0 มีรสชาติไม่แตกต่างกันในทุก ๆ ความเข้มข้นที่ใช้ และเมื่อเก็บนานขึ้นก็มีผลทำให้รสชาติของเต้าหู้นมสดเปลี่ยนไปน้อยมาก แสดงให้เห็นว่าปริมาณโคโคซานที่ใช้ไม่มีผลต่อรสชาติของเต้าหู้นมสดมากนัก

ด้านการยอมรับโดยรวม จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสในทุก ๆ วันตั้งแต่วันที่ 0 ถึง 14 ที่ความเข้มข้น 0 0.03 0.05 และ 0.07% มีการยอมรับที่แตกต่าง โดยคะแนนการยอมรับของเต้าหู้นมสดจะมีคะแนนการยอมรับที่ใส่โคโคซานที่ 0.03 และ 0.05% มากกว่าความเข้มข้น 0.07% เนื่องจากระยะเวลาการเก็บส่งผลให้คุณลักษณะภายนอกของเต้าหู้นมสดและลักษณะโดยรวมที่เปลี่ยนไปตามระยะเวลา คือ ส่วนที่เป็นน้ำนมมีความหนืดเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่นานขึ้น และจะเห็นว่าเต้าหู้นมสดที่ไม่ได้เติมโคโคซานมีการยอมรับน้อยที่สุดเมื่อเก็บนาน 14 วัน และการยอมรับโดยรวมมีความแตกต่างกันเมื่อเก็บนานขึ้นเกิดจากการทดสอบทางประสาทสัมผัส ด้านสี กลิ่น และรสชาติ ที่เกิดความแตกต่างอาจส่งผลต่อคะแนนการยอมรับโดยรวมด้วยเช่นกัน การยอมรับโดยรวมของเต้าหู้นมสดเมื่อเติมโคโคซานในปริมาณ 0.05% มีระดับคะแนนใกล้เคียงกับ 0.07% แสดงให้เห็นว่าสามารถเติมสารละลายโคโคซานลงในเต้าหู้นมสดได้ทั้งที่ความเข้มข้น 0.05 และ 0.07%

จากการศึกษาจะเห็นว่า การเติมสารละลายโคโคซานในเต้าหู้นมสดไม่ทำให้เต้าหู้นมสดที่ได้มีคุณลักษณะเปลี่ยนไปจากคุณลักษณะที่ดี โดยคุณลักษณะเต้าหู้นมสดที่ดีควรมีเนื้อสัมผัสของเนื้อนุ่มและเนียน สีส้มเป็นธรรมชาติ กลิ่นและรสควรเป็นกลิ่นรสตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้ ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2547)

เมื่อพิจารณาผลของสารละลายไคโตซานที่มีต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และผลด้านประสิทธิภาพสัมผัสของเต้าหู้นมสด พบว่า เมื่อใช้ไคโตซานเข้มข้น 0.05 และ 0.07% มีการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่า 0.03% และการเปลี่ยนแปลงด้านประสิทธิภาพสัมผัสของเต้าหู้นมสดเมื่อใช้ไคโตซานความเข้มข้น 0.05 และ 0.07% ไม่ต่างกัน สามารถสรุปได้ว่าความเข้มข้นของไคโตซานที่เหมาะสม คือ 0.05% เนื่องจากการใช้สารในปริมาณที่น้อยกว่าเป็นการประหยัด และสามารถลดต้นทุนได้ทางหนึ่ง จึงใช้ไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.05% เต็มเต้าหู้นมสดในการหาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ด้วยสภาวะเร่ง

3.3 ผลการประเมินอายุการเก็บเต้าหู้นมสดในสภาวะเร่งโดยใช้ปฏิกิริยาทางจลนพลศาสตร์

นำเต้าหู้นมสดที่เติมไคโตซาน 0.05% มาประเมินอายุการเก็บของเต้าหู้นมสดในสภาวะเร่งโดยเก็บไว้ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 251 องศาเซลเซียส แล้วเก็บข้อมูลเป็นปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) ซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดที่แสดงถึงคุณภาพการเสื่อมเสียทางด้านจุลินทรีย์ โดยเก็บข้อมูลทุก ๆ 6 ชั่วโมง ได้ผลดังตารางที่ 5 และ 6 ตามลำดับ

เมื่อนำข้อมูลมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดกับเวลาเพื่อหาอันดับของปฏิกิริยา ผลการวิเคราะห์ข้อมูลจากการสร้างกราฟความสัมพันธ์ พบว่า การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์กับระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เนื่องจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln$ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดกับเวลาการเก็บรักษา (t) มีลักษณะเป็นเส้นตรงที่มีค่า R^2 สูงที่สุด (รูปที่ 3) จึงเลือกใช้ปฏิกิริยา

อันดับหนึ่งในการคำนวณ ดังนี้

จากสมการปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

$$-\ln (Ca/Ca_0) = kt$$

$$\text{แทนค่าจะได้ } -\ln (1700/5) = -1.5781(t)$$

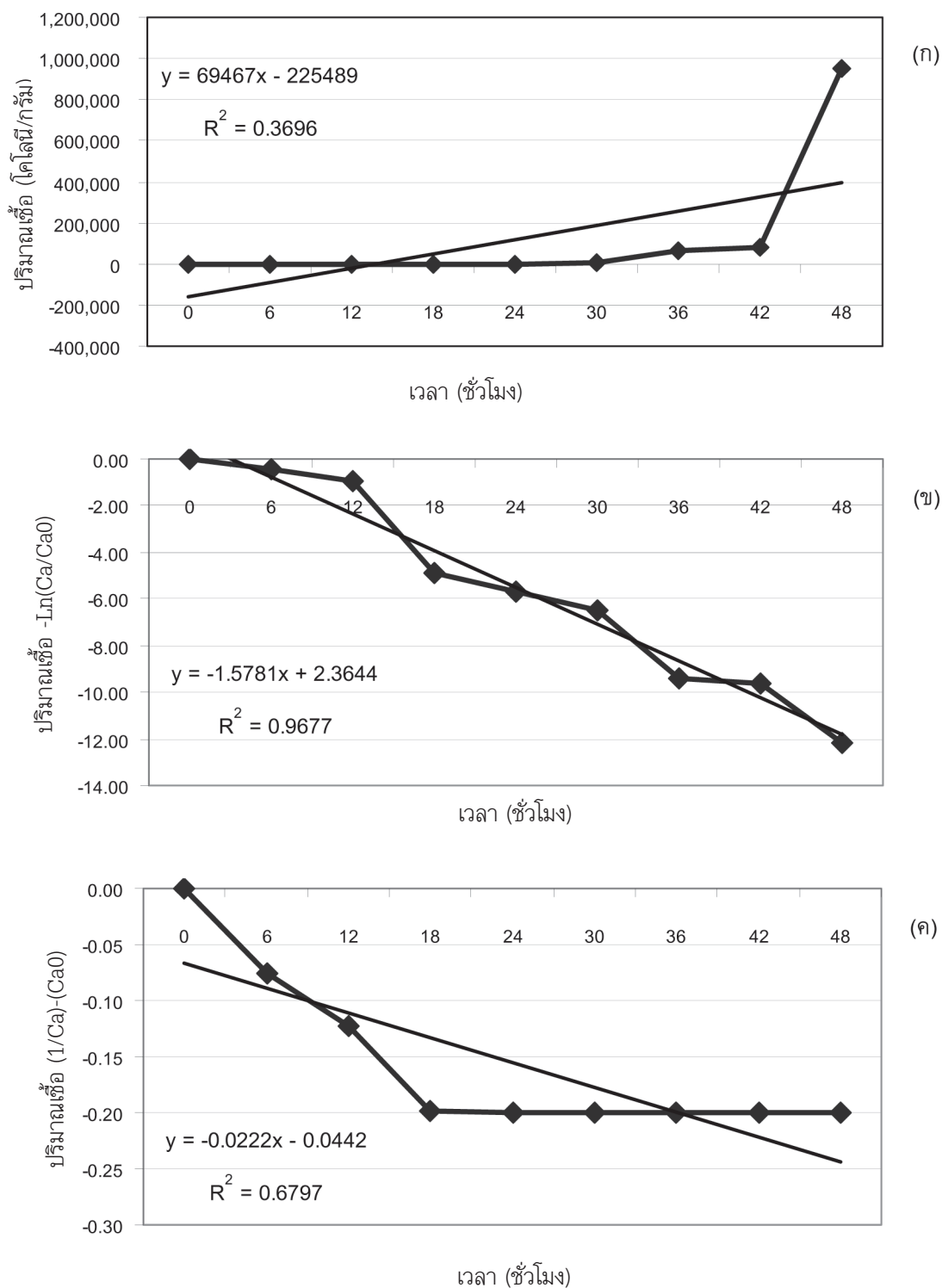
$$-\ln (1700/5)/-1.5781 = t$$

$$3.69 = t$$

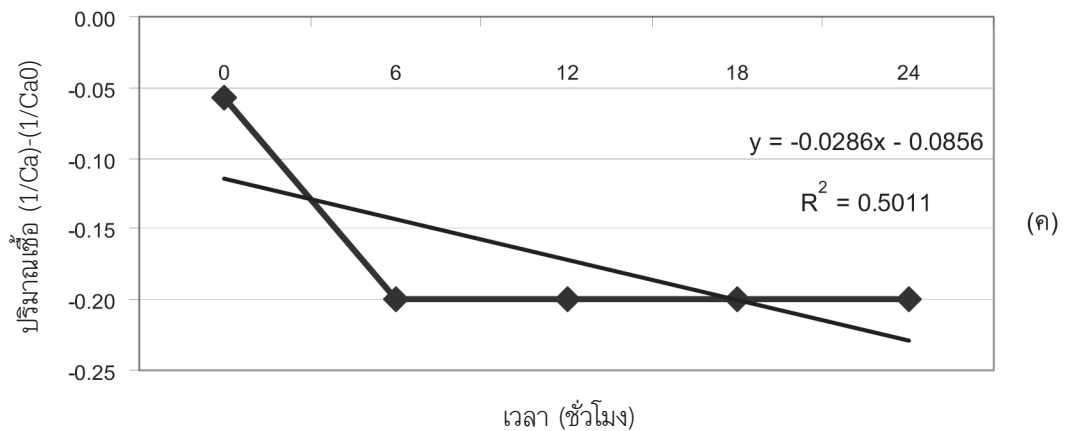
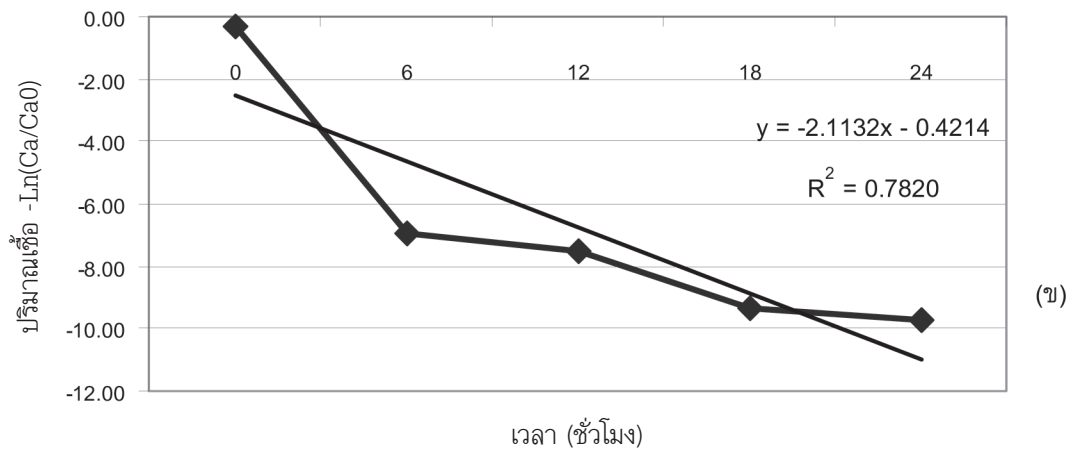
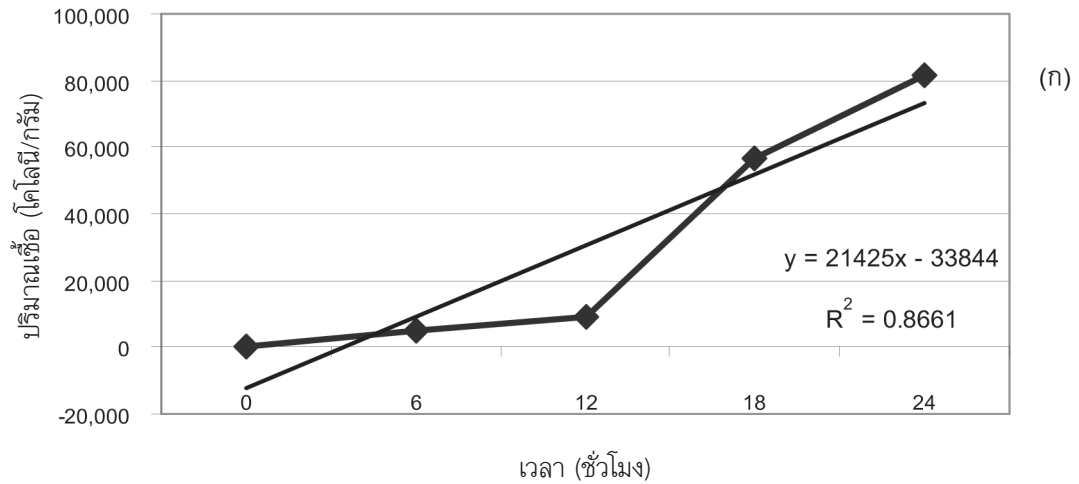
จากการคำนวณหาระยะเวลาการเก็บเต้าหู้นมสดที่อุณหภูมิ 251 องศาเซลเซียส สามารถเก็บได้นาน 3.69 วัน

โดยค่า Ca และ Ca_0 ได้มาจากปริมาณจุลินทรีย์ในวันที่เต้าหู้นมสดหมดอายุจากการเก็บในสภาวะการเก็บปกติ และปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ในสภาวะเร่ง ตามลำดับ จากการคำนวณใช้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียจากการเก็บในสภาวะจริง คือ 1.7×10^3 CFU/g และปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในสภาวะเร่ง คือ 5 CFU/g

จากกราฟปฏิกิริยาอันดับศูนย์ที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4) จะเห็นได้ว่ามีลักษณะเป็นเส้นเชิงตรงที่มีค่า R^2 สูงกว่าปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่งและสองซึ่งไม่เป็นในลักษณะเดียวกันกับที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส เนื่องจากการเจริญของจุลินทรีย์อยู่ในช่วงแลคเฟสค่อนข้างสั้น โดยสังเกตจากเต้าหู้นมสดเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียสเสื่อมเสียเร็วกว่าเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจเกิดได้จากจุลินทรีย์กลุ่ม Mesophiles หรือ Thermophile เจริญขึ้นมาแทนจุลินทรีย์กลุ่ม Psychrophile (วรารุณี, 2538) ในเต้าหู้นมสด อาจเป็นไปได้ว่าจุลินทรีย์กลุ่ม Mesophiles หรือ Thermophile ได้รับการกระตุ้นจากอุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การ



รูปที่ 3 แสดงปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (ก) ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (ข) และปฏิกิริยาอันดับสอง (ค) เมื่อเก็บเต้าหู้นมสด ผสมโคโคซานที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4 แสดงปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (ก) ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (ข) และปฏิกิริยาอันดับสอง (ค) เมื่อเก็บเต้าหู้นมสด ผสมโคโคซานที่อุณหภูมิ 351 องศาเซลเซียส

เจริญ คือ ที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส ทำให้เชื้อสามารถเจริญขึ้นอย่างรวดเร็ว กราฟจึงเป็นเส้นตรง และเนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมแก่การเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีชี้วัดการเสื่อมเสียของเต้าหู้นมสดที่สภาวะแรง ซึ่งจะทำให้เกิดเสื่อมเสียด้วยจุลินทรีย์กลุ่มอื่นแทน ดังนั้น จึงเลือกใช้ปฏิกิริยาอันดับหนึ่งซึ่งกราฟมีลักษณะที่สอดคล้องกับผลการทดลองและค่า R^2 ที่ได้จากกราฟมีค่าไม่แตกต่างกับปฏิกิริยาอันดับศูนย์มากนัก เมื่อคำนวณหาระยะเวลาการเก็บในสภาวะแรงที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส ได้ผล ดังนี้

จากสมการปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

$$-\ln(Ca/Ca_0) = kt$$

แทนค่าจะได้ $-\ln(1700/5) = -2.1132 (t)$

$$-\ln(1700/5)/-2.1132 = t$$

$$2.75 = t$$

จากการคำนวณจะเห็นได้ว่า เมื่อเก็บเต้าหู้นมสดที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส สามารถเก็บได้นาน 2.75 วัน

จากผลการทดลองเมื่อหาอายุการเก็บในสภาวะแรงจะเห็นว่าการเสื่อมเสียของเต้าหู้นมสดมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนเต้าหู้นมสดซึ่งจะเสื่อมเสียเมื่อมีปริมาณจุลินทรีย์มากกว่า 5.0×10^4 cfu/g แสดงให้เห็นว่าการเสื่อมเสียที่เกิดขึ้นเกิดจากสาเหตุอื่น เช่น ทางกายภาพ หรือจุลินทรีย์กลุ่มอื่นที่ทำให้เน่าเสีย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าดัชนีบ่งชี้การเสื่อมเสียของเต้าหู้นมสดที่ใช้ในการทดลองนี้ไม่ใช่ดัชนีที่เหมาะสมที่สุด

4. สรุป

เต้าหู้นมสดทั่วไปเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ

4 ± 1 องศาเซลเซียส นำมาตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ พบว่า สามารถเก็บรักษาได้เป็นเวลา 10 วัน การเติมโคโคโตซานในที่ระดับความเข้มข้น 0.05% หรือเทียบเท่ากับ 500 ppm สามารถยืดอายุการเก็บเต้าหู้นมสดได้นานขึ้น สามารถเก็บได้อย่างน้อย 14 วัน โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดยีสต์และรา ไม่เกินมาตรฐาน และไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงด้านรสชาติ ลักษณะปรากฏ และเนื้อสัมผัสของเต้าหู้นมสด การประเมินอายุการเก็บรักษาในสภาวะแรงโดยใช้ปฏิกิริยาทางจลนพลศาสตร์นำเต้าหู้นมสดที่เติมโคโคโตซาน 0.05% มาประเมินอายุการเก็บของเต้าหู้นมสดในสภาวะแรง โดยเก็บไว้ในตู้ป่นที่อุณหภูมิ 25 ± 1 และ 35 ± 1 องศาเซลเซียสจะพบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจะพบว่าเป็นเวลา 3.69 วัน และที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เก็บได้เป็นเวลา 2.75 วัน ซึ่งระยะเวลาการเก็บที่คำนวณได้จะมีอายุการเก็บเท่ากับ 14 วันในสภาวะการเก็บปกติ

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณศุภวดี กะทิพรมราช ที่สนับสนุนตัวอย่างเต้าหู้นมสด และวัตถุดิบในการวิจัยนี้

6. เอกสารอ้างอิง

วรารุณี ครูส่ง. 2538. **จุลชีววิทยาในกระบวนการ**

แปรรูปอาหาร. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

2547. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนเต้าหู้นมสด: มผช. 528/2547.** กรุงเทพฯ.

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างเต้าหู้นมสดด้วยสารละลายไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 0 0.03 0.05 และ 0.07% เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

ระยะเวลาเก็บ (วัน)	คะแนนทดสอบทางประสาทสัมผัส	ความเข้มข้นของไคโตซาน (%)			
		0	0.03	0.05	0.07
0	สี ^{ns}	4.73±0.80	5.13±1.19	4.90±1.00	4.80±0.86
	กลิ่น ^{ns}	4.40±0.91	4.20±0.86	4.50±1.34	4.47±0.74
	รสชาติ ^{ns}	4.20±1.37	4.53±1.12	4.71±1.38	4.47±0.83
	การยอมรับโดยรวม	4.33±1.17 ^a	5.50±1.12 ^a	4.60±1.02 ^b	4.67±1.05 ^a
2	สี ^{ns}	4.80±1.08	5.20±0.86	4.71±1.07	4.93±0.80
	กลิ่น ^{ns}	5.27±1.22	4.87±1.35	4.71±1.20	4.80±1.08
	รสชาติ ^{ns}	5.27±0.96	4.53±1.19	4.86±1.45	4.53±0.91
	การยอมรับโดยรวม ^{ns}	5.13±0.92	4.33±1.45	4.71±1.20	4.67±1.04
4	สี	5.00±0.65 ^a	5.67±0.82 ^b	4.93±1.14 ^a	5.20±0.68 ^{ab}
	กลิ่น ^{ns}	4.87±0.91	5.00±1.07	4.60±0.84	4.67±0.97
	รสชาติ	5.00±1.07 ^a	5.93±0.96 ^b	4.86±1.51 ^a	4.93±0.70 ^a
	การยอมรับโดยรวม	5.00±1.07 ^{ab}	5.67±0.90 ^b	4.78±0.97 ^a	4.80±0.77 ^a
6	สี ^{ns}	4.87±1.06	5.40±0.91	4.78±1.05	5.07±0.80
	กลิ่น ^{ns}	5.27±1.12	4.73±1.33	4.78±1.22	4.67±1.05
	รสชาติ ^{ns}	5.20±1.08	4.67±1.34	4.93±1.54	4.40±0.83
	การยอมรับโดยรวม ^{ns}	5.07±1.03	4.47±1.60	4.93±1.33	4.53±0.99
8	สี	5.00±0.65 ^a	5.67±0.82 ^b	4.93±1.14 ^a	5.20±0.68 ^{ab}
	กลิ่น ^{ns}	4.87±0.91	5.00±1.07	4.64±0.84	4.67±0.97
	รสชาติ	5.00±1.07 ^a	5.93±0.96 ^b	4.86±1.51 ^a	4.93±0.70 ^a
	การยอมรับโดยรวม	5.00±1.07 ^{ab}	5.67±0.90 ^b	4.78±0.97 ^a	4.80±0.77 ^a
10	สี ^{ns}	4.73±0.80	5.13±1.19	4.93±0.99	4.80±0.86
	กลิ่น ^{ns}	4.50±1.34	4.20±0.86	4.40±0.91	4.47±0.74
	รสชาติ ^{ns}	4.20±1.37	4.53±1.12	4.71±1.38	4.47±0.83
	การยอมรับโดยรวม	4.33±1.17 ^a	4.60±1.12 ^a	5.50±1.02 ^b	4.67±1.05 ^a
12	สี ^{ns}	4.87±1.06	5.40±0.91	4.78±1.05	5.07±0.80
	กลิ่น ^{ns}	5.27±1.12	4.73±1.33	4.78±1.22	4.67±1.04
	รสชาติ ^{ns}	5.20±1.08	4.67±1.34	4.92±1.54	4.40±0.83
	การยอมรับโดยรวม ^{ns}	5.07±1.03	4.47±1.60	4.92±1.33	4.53±0.99
14	สี ^{ns}	4.20±1.37	4.53±1.12	4.71±1.38	4.47±0.83
	กลิ่น ^{ns}	5.27±1.22	4.73±1.33	4.78±1.12	4.67±1.05
	รสชาติ ^{ns}	5.20±1.08	4.67±1.34	4.93±1.54	4.40±0.83
	การยอมรับโดยรวม	4.67±1.05 ^a	5.07±1.20 ^{ab}	5.14±1.23 ^{ab}	5.60±0.99 ^b

หมายเหตุ 1) ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$)

2) ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p > 0.05$)

ตารางที่ 5 การคำนวณปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในเต้าหู้นมสดในสภาวะเร่งที่ 25 ± 1 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	Ca	$-\ln (Ca/Ca_0)$	$(1/Ca)-(Ca_0)$
0	5	0	0
6	8	-0.47	-0.08
12	13	-0.95	-0.12
18	680	-4.91	-0.19
24	1440	-5.66	-0.19
30	3400	-6.52	-0.19
36	60300	-9.39	-0.19
42	78250	-9.65	-0.19
48	952500	-12.15	-0.20

ตารางที่ 6 การคำนวณปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในเต้าหู้นมสดในสภาวะเร่งที่ 35 ± 1 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	Ca	$-\ln (Ca/Ca_0)$	$(1/Ca)-(Ca_0)$
0	7	-0.33	-0.06
6	5080	-6.92	-0.19
12	9170	-7.51	-0.19
18	56440	-9.33	-0.19
24	81450	-9.69	-0.19

AOAC, 1990. Official Methods of Analysis, 15th Edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.

Chen, C.S., Liau, W.Y., Tsai, G.J. 1998. Antibacterial effects of N-sulfonated and N-sulfo benzoyl chitosan and application to oyster preservation. **J. Food Prot.** 61: 1124-1128.

Chung, Y.-C., Wang, H.-L., Chen, Y.-M., Li, S.-L. 2003. Effect of abiotic factors on the antibacterial activity of chitosan against waterborne pathogens. **Bioresour. Technol.** 88: 179-184.

Fang, S.W., Li, C.F., Shih, D.Y.C. 1994. Antifungal activity of chitosan and its preservative effect on low-sugar candied kumquat. **J. Food Prot.** 57: 136-140.

No, H.K., Meyers, S.P., Prinyawiwatkul, W.

and Xu, Z. 2007. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods : a review. **J. Food Sci.** 72: R87-R100.

Papineau, A.M., Hoover, D.G., Knorr, D., Farkas, D.F. 1991. Antimicrobial effect of water-soluble chitosans with high hydrostatic pressure. **Food Biotechnol.** 5: 45-57.

Sudarshan, N.R., Hoover, D.G., Knorr, D., 1992. Antibacterial action of chitosan. **Food Biotechnol.** 6: 257-272.

Tsai, G. J., Wu, Z. Y. and Su, W. H. 2000. Antibacterial activity of a chitooligosaccharide mixture prepared by cellulose digestion of shrimp chitosan and its application to milk preservation. **J. Food Prot.** 63: 747-752.