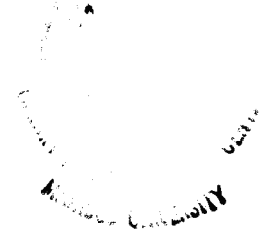


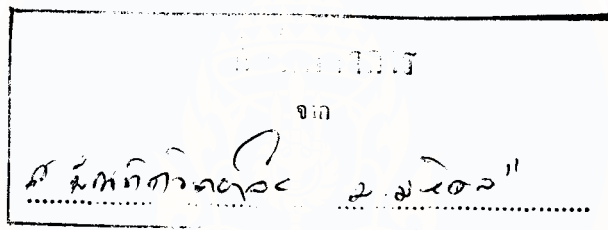
18 JUL 1995



# ROLES OF MICROORGANISM IN THE TRADITIONAL PROCESS OF FISH SAUCE FERMENTATION: FLAVOR AND AROMA

JEERAPUN WORAPONG

๒



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF  
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE  
(MICROBIOLOGY)

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1995

TH  
J447  
: 995



ตามท้องตลาดซึ่งผลิตจากโรงงานในจังหวัดชลบุรีและระยอง จำนวนของสารระเหยให้กลิ่นทั้งหมดเพียง 37 และ 27 ชนิด ตามลำดับ เนื่องจากข้อจำกัดของอุปกรณ์ที่ใช้ในการแยกสกัดและหาสารมาตรฐานที่จะนำมาทำเป็นตัวเปรียบเทียบได้เพียง 32 ชนิด ทำให้พิสูจน์พบว่าสารระเหยให้กลิ่นเป็นกรด 12 ชนิด คาร์บอนิล 2 ชนิด ไฮโดรคาร์บอน 4 ชนิด แอลกอฮอล์ 10 ชนิด ไนโตรเจน 2 ชนิด เอสเตอร์ 6 ชนิด ฟีนอล และไดออกเซน สารระเหยให้กลิ่นที่ถูกตรวจพบในเกือบทุกตัวอย่างน้ำปลา ได้แก่กรด butanoic กรด phenylacetic กรด propionic กรด isopentanoic กรด pentanoic กรด benzoic และ indole ดังนั้นสารเหล่านี้อาจเป็นสารระเหยให้กลิ่นที่สำคัญที่มีบทบาทมากในการทำให้เกิดกลิ่นที่ดีของน้ำปลาไทย สารระเหยให้กลิ่นที่สามารถตรวจพบเฉพาะในน้ำปลาไทยเท่านั้นคือ กรด pivalic การศึกษานี้พบผลยืนยันงานของ Sanceda และคณะ ด้วยที่ว่า กรด pivalic นั้นมีแต่ในน้ำปลาหมักของไทย Heptane benzalcohol และ phenol เป็นสารระเหยให้กลิ่นที่อาจมีบทบาทน้อยในการทำให้เกิดกลิ่นของน้ำปลาไทยถึงแม้ว่าจะตรวจพบในทุกตัวอย่างน้ำปลาเพราะว่าสารระเหยให้กลิ่น 3 ชนิดนี้เป็นสารที่มีจุดเดือดสูงและระเหยยาก เป็นที่น่าสังเกตว่า ethyl acetate สามารถตรวจพบในตัวอย่างน้ำปลาอายุ 4 เดือน และ 9 เดือนแต่ตรวจไม่พบได้ในน้ำปลาที่ขายตามท้องตลาด 2 ตัวอย่าง ในขณะที่ diethyl oxalate สามารถตรวจพบในตัวอย่างน้ำปลาอายุ 4 เดือน และน้ำปลาที่ขายตามท้องตลาดทั้ง 2 ตัวอย่าง นอกจากนี้ isopropanol และ ethanol สารระเหยให้กลิ่นที่มีจุดเดือดต่ำตรวจพบแต่ในตัวอย่างน้ำปลาอายุ 4 เดือนเท่านั้น การเก็บแช่เย็นตัวอย่างน้ำปลาอายุ 9 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 C เป็นเวลา 9 เดือน มีผลทำให้จำนวนของสารระเหยให้กลิ่นลดลงเหลือเพียง 40 ชนิดจาก 213 ชนิด สารระเหยให้กลิ่นที่หายไปคือ กรด acetic กรด propionic กรด isobutanoic กรด pivalic กรด n-heptanoic กรด n-octanoic ethyl acetate และ bis-(2-ethyl)hexyl phthalate ในขณะที่เดียวกันก็ตรวจพบสารระเหยชนิดใหม่ที่เกิดขึ้นคือ 2-methyl pentane นอกจากนี้ยังพบว่าจากการแยกสกัดสารระเหยให้กลิ่นตามวิธีที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ครั้งนี้สารระเหยให้กลิ่นที่มีจุดเดือดต่ำบางชนิดเช่น dodecane

(internal standard) เมื่อเติมลงในตัวอย่างที่สกัดแล้วในปริมาณความเข้มข้น  $2.67 \times 10^{-3} \%$  จะลดลงมากจนไม่สามารถตรวจวัดได้ด้วยเครื่อง Gas chromatography การกลั่นและแยกสารระเหยโดยวิธีดังในการทดลองนี้ไม่อาจดักเอาสารระเหยอุณหภูมิต่ำไว้ได้ทั้งหมด แต่จะแยกสารระเหยที่มีจุดเดือดสูงได้มากขึ้น





in the separating methods and the shortage of reference standard compounds, the identified compounds included only 12 acids, 2 carbonyl, 4 hydrocarbons, 10 alcohols, 2 nitrogen compounds, 6 esters, 1 phenol and dioxane. n-Butanoic acid, phenylacetic acid, propionic acid, isopentanoic acid, n-pentanoic acid, benzoic acid and indole were found in most samples which possibly contributed to the agreeable aroma in fish sauce whereas three high boiling point and less pleasant volatile constituents which included heptane, benzyl alcohol and phenol, also appeared in all specimens might have lesser influence in aroma. This study also confirmed the unique presence of pivalic acid in Thai fish sauce reported by Sanceda et al. in 1986. While ethyl acetate was present at four months and nine months of fermentation, its disappearance in both commercial specimens could be apparent rather than real owing to the method of extraction. Diethyl oxalate appeared sporadically in one four month sample and in a Rayong commercial sauce. Surprisingly, isopropanal and ethanol were found in one vat of four months specimen. The long term storage of specimen at 4 C for 9 months resulted in the loss of some low carbon volatile compounds such as acetic acid, propionic acid, isobutanoic acid, pivalic acid, n-heptanoic acid, n-octanoic acid, ethyl acetate and bis-(2-ethyl)hexyl phthalate from the 9 month-fermented fish sauce specimen where as a new volatile compound, 2-methyl pentane, appeared. The result also demonstrated that low boiling point volatile compound e.g. dodecane (internal standard) at concentration  $2.67 \times 10^{-3}$  % could not be recovered by the present method of distillation and extraction, since the added dodecane failed to reappear in the gas chromatograms. The present method of distillation at reduced pressure led to loss of certain low boiling point volatile compounds but will detect more volatile compound with relatively higher boiling points.