

การกำจัดกลิ่นโคลน ในเนื้อปลาดุกบิกอู๋ โดยใช้สารละลายเถ้าจากใบกล้วยนางพญาที่  
ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน

Removal of Off-Odor in Hybrid Clarias Catfish (*Clarias macrocephalus* x *Clarias  
gariiepinus*) Flesh by Kluai Nang Phaya (*Musa* sp.) Leaves

นฤมล อัสวเกษตรณี<sup>1</sup>

Naruemon Usawakesmanee

Abstract

Removal of Off – Odor in Hybrid Clarias Catfish (*Clarias macrocephalus* x *Clarias gariiepinus*) flesh by Kluai Nang Phaya(*Musa* sp.) leaves ash 0% 5% 10% and 15%. It was found that the fish removal by rinsing with banana leaves ash 0% and 5% show the most overall liking ( $P<0.05$ ) but at 5% has flavor and texture higher than other levels. The lightness and bright with any levels was nonsignificantly. ( $P>0.05$ )

**Keywords :** Removal of Off-Odor, Hybrid Clarias Catfish, Kluai Nang Phaya

---

<sup>1</sup> โปรแกรมวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา  
อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000

Aquaculture Program, Faculty of Agricultural Technology, Songkhla Rajabhat University,  
Muang, Songkhla 90000 Thailand.

### บทคัดย่อ

ศึกษาการกำจัดกลิ่นโคลนในเนื้อปลาอุกบึกอุย ด้วยสารละลายน้ำเถ้าจากใบกล้วยนางพญา ที่ระดับความเข้มข้น 0 % 5 % 10 % และ 15 % จากนั้นนำชิ้นเนื้อปลาอุกบึกอุยมาทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยวิธี Consumer test/Acceptance test และศึกษาค่าสี และความสว่างของชิ้นเนื้อปลา พบว่า ปลาอุกบึกอุยที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายน้ำเถ้าจากใบกล้วยนางพญา ที่ระดับความเข้มข้น 0% และ 5 % มีค่าความชอบรวมที่ผู้บริโภคยอมรับได้ ( $P < 0.05$ ) แต่ที่ความเข้มข้น 5% มีแนวโน้มการยอมรับต่อกลิ่นรส และความหนาแน่น ค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับความเข้มข้นที่ระดับอื่น ๆ สำหรับการศึกษา ค่าสีและความสว่างของชิ้นเนื้อ พบว่า ปลาอุกบึกอุยที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายน้ำเถ้าจากใบกล้วยนางพญาทุกระดับความเข้มข้น ให้ผลการวัดค่าสีและความสว่างไม่แตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) ดังนั้นหากต้องการกำจัดกลิ่นโคลนในเนื้อปลาอุกบึกอุย โดยใช้สารละลายเถ้าจากใบกล้วยนางพญาแล้ว ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดคือ ที่ระดับ 5 %

**คำสำคัญ :** การกำจัดกลิ่นโคลน ปลาอุกบึกอุย กล้วยนางพญา

### บทนำ

ในปัจจุบัน การเลี้ยงปลาน้ำจืดเพื่อรับประทานเนื้อ มักนิยมเลี้ยงในบ่อดินและมีอัตราการเลี้ยงที่หนาแน่น จึงมักเกิดปัญหาเกี่ยวกับกลิ่นโคลนที่เกิดขึ้นจากการบริโภคเนื้อปลา สำหรับสาเหตุของการเกิดกลิ่นโคลนในเนื้อปลาโดยทั่วไปแล้วเกิดจากการสะสมของกลิ่นโคลนบริเวณก้นบ่อ เป็นปริมาณมาก ส่งผลให้คุณสมบัติของน้ำและสิ่งแวดล้อมที่เลี้ยงปลาเกิดกลิ่นโคลน และการใช้อาหารที่เลี้ยงปลาที่มืองค์ประกอบไม่เหมาะสมหรือมีคุณภาพต่ำ เช่น มีปริมาณไขมันในอาหารมากเกินไป นอกจากนี้ยังมีสาเหตุมาจากแพลงก์ตอนพืช จำพวก *Streptomyces* และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Anabena* sp. , *Oscillatoria* sp. , *Lyngbya* sp. , *Symploca* sp. , *Microcystis* sp. , และ *Phormidium* sp. ซึ่งสามารถสร้างสาร GSM (Geosmin GSM) และ 2 - เมทิลโซมอร์นินอล (2-Methylisoborneol MIB) และแบคทีเรียจำพวก *Streptomyces* sp., *Nocardia* sp. และ *Actinomadura* sp. สามารถสร้างสาร GSM และสาร MIB (Tabachek และ Yurkowski, 1976 ; Lovell และ Broce, 1985 ; ชะลอ ลิ้มสุวรรณ, 2536 ; Sivonen, 1982 ; Martin และคณะ, 1988 ; Silvey และคณะ, 1963 ; Van Der Ploeg และ Boyd, 1991 อ้างโดย วรพงษ์ นลินานนท์, 2545) สำหรับการเลี้ยงปลาในเชิงพาณิชย์ น้ำในบ่อปลาที่มีความอุดมสมบูรณ์จากอาหาร อาหารที่เหลือจะมีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสอยู่มาก ทำให้เกิดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีผลทำให้ออกซิเจนในบ่อต่ำ ปลาเกิดอาการเครียด และอาจส่งผลให้ปลาเกิดการตายได้ทั้งบ่อ น้ำเกิดเน่าเสีย ทำให้เนื้อปลาที่เลี้ยงด้วยสภาพน้ำเช่นนี้มีกลิ่นเหม็นแฉะและไม่พึงประสงค์สำหรับผู้บริโภคเช่นกัน เนื่องจากสารอินทรีย์เป็นตัวส่งเสริมให้เกิดการผลิตสาร GSM (บริษัทเครือเจริญโภคภัณฑ์, 2534 ) และเมื่อสภาพในบ่อเลี้ยงเกิดมี

แพลงก์ตอนที่ตายพร้อมกันอย่างรวดเร็ว ทำให้มีการใช้ออกซิเจนในน้ำ นอกจากนี้แพลงก์ตอนที่ตายก็เกิดการสลายตัวให้สาร GMS และ MIB ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้ทำให้เกิดโคลนในเนื้อปลา ผู้บริโภคไม่นิยมบริโภคเนื้อปลาที่มีกลิ่นเหล่านี้ สารประกอบ GMS และ MIB เป็นสารประกอบพวกแอลกอฮอล์ อิ่มตัวที่ระเหยได้ โครงสร้างประกอบด้วยหมู่เมทิลและหมู่ไฮดรอกซิล มีคุณสมบัติทั่วไปคือ ไม่ชอบน้ำสูง ละลายได้ดีในไขมัน เป็นสารแปลกปลอมสำหรับสิ่งมีชีวิต โดยกระจายตัวและสะสมในเนื้อเยื่อที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง เมื่อเกิดการสะสมในร่างกายสามารถกำจัดออกได้ยาก จึงทำให้เกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ อย่างไรก็ตามสารทั้งสองชนิดนี้ไม่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ และไม่เป็นพิษต่อเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิต สารประกอบ GMS มีกลิ่นคล้ายต้นกกหรือฟางเน่า สำหรับสารประกอบ MIB ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้กลิ่นคล้ายการบูร ซึ่งเมื่อนำมาเจือจางจะมีกลิ่นคล้ายโคลน (Izaguirre, et al., 1982 ; Johnsen, et al., 1996; Dionigi, et al., 1993 ; From และ Horlyck, 1984 อ้างโดย ทวีทรัพย์ ศรีนาค, 2542) การดูดซึมสารประกอบ GMS และ MIB เข้าสู่ตัวปลา เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วที่สุด โดยผ่านทางเหงือกในระหว่างการหายใจ รองลงมาคือ ผิวหนัง ลำไส้เล็ก และกระเพาะอาหาร ตามลำดับ โดยสารประกอบดังกล่าวเข้าไปจับกับไขมันในเลือด แล้วแพร่กระจายตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย (Martin, et al., 1990) การศึกษาอัตราการดูดซึมสาร GMS ที่เหงือก ผิวหนัง ลำไส้เล็ก และกระเพาะอาหารของปลาเรนโบว์เทราท์ (*Salmo gairdneri*) ขนาด 300 กรัม โดยนำตัวอย่างปลามาแช่ในสารละลาย GMS ที่สร้างขึ้นจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิด *Symploca muscorum* เพื่อศึกษาอัตราการดูดซึมที่เหงือกและผิวหนัง และเตรียมตัวอย่างปลาอีกชุดหนึ่งฉีดสารละลาย GMS เข้าไปทางช่องทวารเพื่อดูอัตราการดูดซึมที่ลำไส้เล็ก และฉีดเข้าไปในช่องท้องเพื่อดูอัตราการดูดซึมที่กระเพาะอาหาร ผลการทดสอบกลิ่นโคลนทางด้านประสาทสัมผัสที่ช่วงระยะเวลาต่าง ๆ พบว่า อัตราการดูดซึมสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นโคลนจะเกิดขึ้นสูงสุดที่เหงือก รองลงมาได้แก่ ผิวหนัง ลำไส้เล็ก และกระเพาะอาหาร ตามลำดับ และเมื่อปลากินอาหารเข้าไป กรดในกระเพาะอาหารสามารถเปลี่ยนโครงสร้างของสาร GMS ให้เป็นสารอาร์กอสมินที่ไม่มีกลิ่น แต่การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างดังกล่าวไม่สามารถเกิดขึ้นได้ในช่วงระยะเวลานั้น ดังนั้นจึงตรวจสอบสาร GMS ได้ในกระเพาะอาหาร แต่มีความเข้มข้นน้อยกว่าที่พบในลำไส้เล็ก (Form and Horlyck, 1984 อ้างโดย ทวีทรัพย์ ศรีนาค, 2542) ปลาที่มีปริมาณไขมันมาก สามารถสะสมสารประกอบกลิ่นโคลนได้มากกว่าปลาที่มีไขมันต่ำ โดยที่สะสมบริเวณเนื้อเยื่อที่มีไขมันสูง และปลาสามารถดูดซึมกลิ่นโคลนได้สูงสุดโดยผ่านทางเหงือกมากที่สุด นอกจากนี้ปัญหากลิ่นโคลนอาจเกิดขึ้นเนื่องจากปลากินสารประกอบกลิ่นโคลนเข้าไปโดยตรงหรือมีการปนเปื้อนกับสิ่งที่ปลากินหรือผ่านเข้าสู่ตัวปลาโดยการดูดซึมในส่วนของอวัยวะต่าง ๆ ปริมาณสารประกอบกลิ่นโคลนที่พบในเนื้อปลา ขึ้นอยู่กับอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงปลา ตามปกติการเลี้ยงปลาน้ำจืดนิยมใช้ปุ๋ยเพื่อสร้างอาหารธรรมชาติในบ่อ ได้แก่ ปุ๋ยมูลสัตว์ ปุ๋ยยูเรีย ซึ่งจากรายงานพบว่า ในบ่อเลี้ยงปลาที่ใช้อาหารสำเร็จรูปพร้อมกับการใช้ปุ๋ยคอกในบ่อเลี้ยงปลา พบว่าบ่อปลาที่ใช้ปุ๋ยยูเรีย มีผลทำให้ปริมาณสารกลิ่นโคลนในเนื้อสูงกว่าการใช้ปุ๋ยมูลสัตว์ ส่วนบ่อที่ให้อาหาร

สำเร็จรูปอย่างเดียว พบว่ามีผลทำให้เกิดสารกลีโคลินในเนื้อปลาต่ำ สำหรับปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดกลีโคลินในเนื้อปลา มีดังนี้คือ ปริมาณอาหาร อาจเกิดจากการที่ให้อาหารมากเกินไป ทำให้อาหารเน่าเสียตกอยู่ก้นบ่อซึ่งจะทำให้ปลาคูดซึมน้ำเข้าไปในตัวปลาได้ และอาจทำให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว เพราะสาหร่ายพวกนี้จะทำให้เกิดกลิ่นสาบ ในการให้อาหารที่มีจำพวกไขมันหรือสารละลายในไขมันก็อาจเกิดกลีโคลินได้ ปริมาณแร่ธาตุ แหล่งน้ำที่มีปริมาณของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมาก หรือเติบโตอย่างรวดเร็ว อาจเกิดจากมีปุ๋ย และแร่ธาตุในปริมาณสูง ความเค็ม ความเค็มของน้ำอาจมีความเค็มต่ำ ระหว่าง 2-7 พีพีที ทำให้

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสามารถเจริญเติบโตได้ดี (วสันต์ ศรีวิวัฒน์ และ ชูพันธ์ วิวัฒน์ชัย เศรษฐ์, ม.ป.ป. และ ชลอ ลิ้มสุวรรณ, 2535) ดังนั้นแนวทางที่ป้องกันไม่ให้เกิดกลีโคลินที่ดี คือต้องมีวิธีการจัดการฟาร์มที่ดี เช่น การควบคุมปริมาณการให้อาหารที่เหมาะสม ไม่ให้อาหารตกค้างในบ่อ เพราะอาหารที่ตกค้างในบ่อจะกลายเป็นอาหารของสาหร่ายที่ทำให้เกิดกลิ่น หรือการควบคุมปริมาณออกซิเจนในน้ำ ให้เพียงพอกับปริมาณปลาหรือสัตว์น้ำที่เลี้ยง ก็จะเป็นแนวทางหนึ่งในการลดปัญหาในการเกิดกลีโคลินในสัตว์น้ำได้ แต่อย่างไรก็ตามหากปลาหรือสัตว์น้ำเกิดกลีโคลินในเนื้อแล้ว ก็สามารถกำจัดออกได้ยาก เนื่องจากสารประกอบMIB และสารGMS ยังทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี จึงยากที่จะใช้สารเคมีกำจัดให้หมดไป การใช้สารเคมีในการทำลายสาหร่ายเพื่อควบคุมสารMIBและGMSในน้ำก็ทำได้ยาก เพราะเมื่อสาหร่ายตายลง ส่งผลให้เกิดสภาวะออกซิเจนในน้ำต่ำ และยังมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์อยู่สูง เช่น สารประกอบไนโตรเจน ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของสาหร่าย และยังเป็นสาเหตุให้ปลาเครียดและตายได้

ทวีทรัพย์ ศรีนาค (2542) ได้ศึกษาการตรวจวิเคราะห์กลีโคลินในปลานิลที่เลี้ยงในบ่อดินธรรมชาติ พบว่าสามารถตรวจพบสารGMSได้ในเนื้อปลาจากบ่อที่เลี้ยงที่มีสาหร่าย *Oscillatoria* sp. ปริมาณสูงตลอดช่วงในการเก็บตัวอย่าง และยังพบว่าปริมาณสาหร่าย *Oscillatoria* sp. ในน้ำมีความสัมพันธ์กับการเกิดกลีโคลินในเนื้อปลา โดยมีคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลา ประกอบด้วยพีเอชอยู่ในช่วง 6.4-8.1 ค่าความเป็นด่าง 37-72 พีพีเอ็ม ค่าความกระด้าง 40-89 พีพีเอ็ม อุณหภูมิ 27.5-29.5 องศาเซลเซียส และมีปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ 1.4-5.6 พีพีเอ็ม จึงทำการคัดเลือกปลาจากบ่อเลี้ยงที่มีปัญหาเพื่อนำมาศึกษาผลของการพักปลาในน้ำสะอาดเป็นเวลา 36, 72 และ 120 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง  $34 \pm 2$  องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ  $24 \pm 2$  องศาเซลเซียส ในระดับความเค็ม 0, 3, 5 และ 10 พีพีที โดยตรวจปริมาณสารGMSในเนื้อปลาและศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคพบว่าการพักปลาที่อุณหภูมิห้องในน้ำที่ระดับความเค็ม 10 พีพีที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง สามารถลดปริมาณสารGMSในเนื้อปลาลงได้ต่ำกว่าการพักปลาในระดับความเค็มอื่น ( $P < 0.05$ ) เมื่อประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลีโคลินในเนื้อปลาพบว่าอยู่ในระดับเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค สำหรับการทดลองที่อุณหภูมิ  $34 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่าการพักปลาเป็นเวลา 36 ชั่วโมง ในน้ำที่ระดับความเค็ม 3 พีพีทีขึ้นไปสามารถลดปริมาณสาร GMS ลงได้และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค อีกทั้งยังพบว่าการพักปลา

เป็นระยะเวลา นานกว่า 36 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อคะแนนทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น โคลนในเนื้อปลา ขณะที่การศึกษาที่อุณหภูมิต่ำ  $24 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่าการพักปลาที่ระดับความเค็ม 5 พีพีที ขึ้นไป เป็นเวลา 72 ชั่วโมง มีผลให้ปริมาณสาร GMS ในเนื้อปลาลดต่ำลงและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค การศึกษาการประยุกต์ใช้เนื้อปลาที่ผ่านการกำจัดกลิ่นโคลนในการผลิตลูกชิ้นปลาผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าลูกชิ้นปลาที่ผลิตจากเนื้อปลาซึ่งผ่านการกำจัดกลิ่นและแยกเนื้อดำออกได้รับคะแนนการยอมรับสูงสุด ซึ่งแตกต่างจากชุดการทดลองที่ไม่ผ่านการกำจัดกลิ่นโคลน และไม่แยกเนื้อดำออก สอดคล้องกับการทดสอบทางกายภาพของลูกชิ้นปลาที่ผ่านการกำจัดกลิ่นโคลนมีความสว่างของสีเพิ่มขึ้นมากกว่าลูกชิ้นปลาที่ไม่ผ่านการกำจัดกลิ่นโคลน ส่วนค่าความแข็งแรงของเจล ไม่แตกต่างทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

ชวลิต ลิมสุวรรณ (2535) ได้ศึกษาวิธีการแก้ปัญหากุ้งที่มีกลิ่นโคลนโดยปัญหานี้ได้เป็นปัญหาสำหรับธุรกิจการเลี้ยงกุ้งกุลาดำของไทย ในช่วงปลายปี 2534 กุ้งกุลาดำที่ส่งไปจากประเทศไทย ประสบปัญหากลิ่นเหม็น โคลนทางประเทศผู้รับซื้อไม่พอใจ และไม่สามารถที่จะยอมรับกลิ่นเหม็นโคลนในกุ้งกุลาดำถึงกับชะลอการสั่งซื้อกุ้งจากเมืองไทย และหันไปซื้อกุ้งกุลาดำจากประเทศที่ไม่มีกลิ่นเหม็นโคลนจากประเทศผู้ผลิตกุ้งอื่น ๆ แทน เช่น อินโดนีเซีย เป็นต้น ซึ่งเป็นเรื่องของผู้ผลิตกุ้งกุลาดำไทยจำเป็นต้องหาทางป้องกัน และแก้ไขอย่างเร่งด่วนก่อนที่ตลาดกุ้งกุลาดำไทยที่มีการผลิตเพิ่มขึ้นทุกๆ ปี ก่อนอื่นต้องเข้าใจเสียก่อนว่ากลิ่นโคลนที่กล่าวมาแล้วนั้นคืออะไรเกิดขึ้นได้อย่างไรจึงจะหาหนทางป้องกันและแก้ไขได้ทำไมเริ่มมีกลิ่นโคลนทั้งๆ ที่เราเลี้ยงกุ้งกุลาดำมาหลายปีโดยวิธีการเดียวกันมาตลอดในแหล่งกุ้งเดิมซึ่งอาจจะมีเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมและนิเวศวิทยาบ้าง ปัญหากลิ่นโคลนในสภาพเป็นจริงแล้วเคยมีมาบ้างเมื่อ 2-3 ปี ก่อน แต่ไม่มาก และรุนแรงเท่ากับปี 2534 เนื่องจากในช่วงฤดูฝนปี 2533 ความเค็มของน้ำต่ำมากเป็นเวลานาน คือระหว่างประมาณ 6 พีพีที ถึงเกือบศูนย์ ในสภาวะที่มีความเค็มของน้ำต่ำลงนานๆ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงชนิดของแพลงก์ตอนพืชเกิดขึ้นในบ่อเลี้ยงกุ้งซึ่งจะเห็นได้ว่ามีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue green algae) เพิ่มขึ้นทั้งชนิดและจำนวน โดยเฉพาะสกุลออสซิลลาทอเรีย (Oscillatoria) และไมโครซิสติส (Microcystis) จะพบมากในช่วงที่น้ำมีความเค็มต่ำ ความแตกต่างของสาหร่ายหรือแพลงก์ตอนพืชทั้งสองชนิดนี้สังเกตได้ไม่ยากคือ ออสซิลลาทอเรียที่เกิดขึ้นในบ่อจะมีสีเขียวแกมน้ำเงินอาจจะเกิดขึ้นตามพื้นบ่อ ชานบ่อ ในขณะที่คล้ำยี่แดดบางชนิดก็มีกลิ่นเหม็นโคลน บางชนิดไม่มีกลิ่นเหม็น ส่วนไมโครซิสติสจะมีกลิ่นคาวแต่ไม่เหม็นเหมือนกับพวกออสซิลลาทอเรีย ดังนั้นในบ่อที่มีสาหร่ายชนิดนี้มากแต่ไม่มีออสซิลลาทอเรียมากก็จะไม่มีกลิ่นโคลน แต่ผู้เลี้ยงอาจจะตกใจเพราะสาหร่ายจะเกิดขึ้นมากและมองเห็นได้ไม่ชัดไม่เหมือนกับออสซิลลาทอเรีย ที่ผู้เลี้ยงอาจไม่สังเกตความแตกต่างได้นอกจากกลิ่นเหม็น สำหรับแนวทางในการป้องกันสำหรับผู้เลี้ยงในบางพื้นที่ที่น้ำมีความเค็มต่ำ เพื่อลดปัญหากลิ่นเหม็นที่กล่าวมาแล้วนั้นคือ ถ้ามีสาหร่ายชนิดที่มีกลิ่นเหม็นสาบโคลนในบ่อมากควรจะถ่ายน้ำเพื่อลดความเหม็นของกลิ่น (ถ้าถ่ายน้ำมีคุณภาพดี) การกักน้ำเอาไว้วันๆ ในขณะที่มีสาหร่ายชนิดนี้มากๆ

จะยิ่งเพิ่มให้กลิ่นเหม็นมากขึ้น และควรเพิ่มความเค็มของน้ำในบ่อให้สูงขึ้นเรื่อยๆ จนในที่สุดสาหร่ายพวกนี้จะลดลง และไม่มีผลต่อการผลิตสารที่เกิดกลิ่นเหม็นได้ แต่ควรระมัดระวังในเรื่องของการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ต้องเพิ่มความเค็มอย่างช้าๆ เพราะถ้าเปลี่ยนน้ำมากๆ ในเวลาอันสั้นสาหร่ายพวกนี้จะตายพร้อมกันทั้งบ่อ จะทำให้กลิ่นที่ออกมาเหม็นมาก นอกจากนี้ถ้าเป็นฟาร์มขนาดใหญ่ มีบ่อพักน้ำ ควรจะเพิ่มปริมาณแพลงก์ตอนในบ่อให้มีหลายชนิด เพื่อลดปริมาณของออสซิลลาทอเรียชนิดที่ผลิตสารGSMซึ่งมีกลิ่นเหม็นจากศึกษาในฟาร์มที่ใช้ระบบปิดน้ำหมุนเวียนมีความเค็มต่ำระหว่าง 2-7 พีพีที ตลอดระยะเวลาของการเลี้ยงใน 3 เดือนสุดท้ายก่อนจับกุ้ง ปรากฏว่าไม่มีสาหร่ายพวกนี้มากพอที่จะผลิตกลิ่นเหม็นได้ แต่ฟาร์มที่เลี้ยงแบบปกติ และความเค็มของน้ำลดลงเรื่อยๆ จนในที่สุดความเค็มจะต่ำมากนานๆ โอกาสจะมีกลิ่นเหม็น โคลนมีมากควรใช้น้ำที่บางส่วนของบ่อที่ไม่มีตะกอนมากนักจากหลายๆ บ่อสูบกลับมาใส่บ่อพักน้ำเพื่อทำให้มีสาหร่ายหรือแพลงก์ตอนหลายๆชนิดเกิดขึ้น จะช่วยลดปัญหา กลิ่นนี้ได้ จึงได้มีการคิดค้นวิธีที่จะกำจัดกลิ่นโคลนจากเนื้อปลา แต่วิธีที่นิยมและใช้กันอย่างแพร่หลายมากที่สุดเพียงวิธีเดียว คือ กักขังปลาที่จะนำมาบริโภคในบ่อที่มีน้ำสะอาดไหลผ่านเป็นเวลา 2-4 วัน ก่อนการบริโภค นอกจากนี้ยังมีวิธีอื่น ๆ เช่น วรพงษ์ นลินานนท์, 2545 ได้ทดลองกำจัดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในเนื้อปลานิล โดยใช้สารละลาย 4 ชนิด คือ กรดอะซิติก เถ้าจากใบกล้วยน้ำว้า แคลเซียมไฮดรอกไซด์ และเกลือแกง เพื่อแช่ล้างชิ้นเนื้อปลานิลที่ผ่านการชำรุดกลิ่นโคลนด้วยสาร GSM ที่สภาวะเดียวกัน พบว่า สารละลายทุกชนิดสามารถลดกลิ่นโคลนในเนื้อปลาลงได้ โดยเฉพาะการแช่ล้างด้วยสารละลายเถ้าจากใบกล้วยน้ำว้าและสารละลายเกลือแกง ที่ระดับความเข้มข้น 5% เป็นเวลา 5 นาที สามารถลดสาร GSM ลงได้ประมาณ 90 % โดยผู้ทดสอบไม่สามารถรับกลิ่นโคลนได้ แต่อย่างไรก็ตาม การทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การแช่ล้างชิ้นเนื้อปลานิลด้วยสารละลายทุกชนิดมีผลทำให้เนื้อสัมผัส และค่าสีแตกต่างจากชิ้นเนื้อที่ไม่ผ่านการแช่ล้างด้วยสารละลายอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) โดยพบว่า ชิ้นเนื้อที่แช่ล้างด้วยสารละลายเถ้าจากใบกล้วยน้ำว้าและเกลือแกง มีลักษณะที่แข็งขึ้น ส่วนชิ้นเนื้อที่แช่ล้างด้วยสารละลายกรดอะซิติก และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ มีลักษณะที่นุ่มลงสำหรับค่าสี พบว่า สารละลายทุกชนิดมีผลทำให้ชิ้นเนื้อมีค่าความสว่างเพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่าสีแดงและค่าสีเหลืองกลับลดลง จากงานทดลองดังกล่าว จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะใช้วัสดุจากธรรมชาติ และไม่เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค ในการลดกลิ่นโคลนในเนื้อปลา และส่งผลให้การลดกลิ่นโคลนในเนื้อปลารวดเร็วและมีประสิทธิภาพมากขึ้น ดังนั้นการใช้เถ้าจากใบกล้วย ซึ่งเป็นวัสดุจากธรรมชาติ ที่มีอยู่ในท้องถิ่น โดยเฉพาะกล้วยนางพญา (*Musa* (ABB group) "Kluai Nang Phaya") ซึ่งเป็นกล้วยที่พบในพื้นที่จังหวัดสงขลา และมีลำต้น และใบที่มีขนาดใหญ่และคาดว่าน่าจะจะใช้เถ้าจากใบกล้วยนางพญาเพื่อใช้ลดกลิ่นโคลนในเนื้อปลาได้เช่นกัน งานทดลองในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นของน้ำเถ้าจากใบกล้วยนางพญาระดับที่เหมาะสมในการลดกลิ่นโคลนในเนื้อปลาคุณก็อยู่ ได้อย่างมีประสิทธิภาพและศึกษาความเข้มข้นของน้ำเถ้าจากใบกล้วยนางพญาระดับที่เหมาะสมในการทำให้ชิ้นเนื้อมีความสว่างเพิ่มขึ้น

## วิธีการทดลอง

1.เตรียมสารละลายได้จากใบกล้วยนางพญา โดยใช้ใบกล้วยนางพญาสด ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ อบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปเผาไล่ควัน แล้วเผาในเตาเผา ที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง (AOAC, 1999) จากนั้น นำเอาที่ได้ละลายในน้ำกลั่น ในสัดส่วน 5% 10% และ 15% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แล้วกรองเอาเฉพาะส่วนใส ด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

2.เตรียมชิ้นเนื้อปลาคุกกี้ น้ำหนัก 30 กรัมต่อชิ้น จำนวน 15 ชิ้น

3.นำตัวอย่างชิ้นเนื้อปลาคุกกี้ บรรจุในขวดแก้ว ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายได้จากใบกล้วยที่ระดับความเข้มข้น 5% 10% และ 15% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ประมาณ 150 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเข้าเครื่อง Shaker ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที

4.นำเนื้อปลาที่ผ่านการแช่ล้างในสารละลายได้จากใบกล้วยนางพญา มาทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Consumer test / Acceptance test

5.ศึกษาค่าสีและความสว่างของชิ้นเนื้อปลาคุกกี้ ที่ผ่านการแช่ล้างในสารละลายได้จากใบกล้วยนางพญา ที่ระดับความเข้มข้น 5% 10% และ 15% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยการตัดชิ้นเนื้อให้มีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร แช่ชิ้นเนื้อปลาคุกกี้ เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาวัดค่าสีและความสว่างโดยใช้เครื่องวิเคราะห์ค่าสี โดยวัดเป็นค่า L ความสว่าง a ค่าสีแดง และ b ค่าสีเหลือง

6.การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ เพื่อเปรียบเทียบข้อมูลที่เกิดขึ้นจากความแตกต่างของระดับความเข้มข้นของได้จากใบกล้วยนางพญา วิเคราะห์โดยวิธีวาเรียนซ์ (Analysis of Variance) และการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของการตอบสนองโดยวิธี Duncan's new Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้คอมพิวเตอร์โปรแกรม SPSS version 11.5

## ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

จากการกำจัดกลิ่น โคลนในเนื้อปลาคุกกี้ โดยใช้สารละลายได้จากใบกล้วยนางพญาที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับคือ 0% 5% 10% และ 15% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นนำชิ้นเนื้อปลาคุกกี้มาทำการประเมินคุณภาพทางกายภาพและประสาทสัมผัสด้วยวิธี Consumer test / Acceptance test และวัดค่าสีของชิ้นเนื้อปลา ได้ผลดังนี้

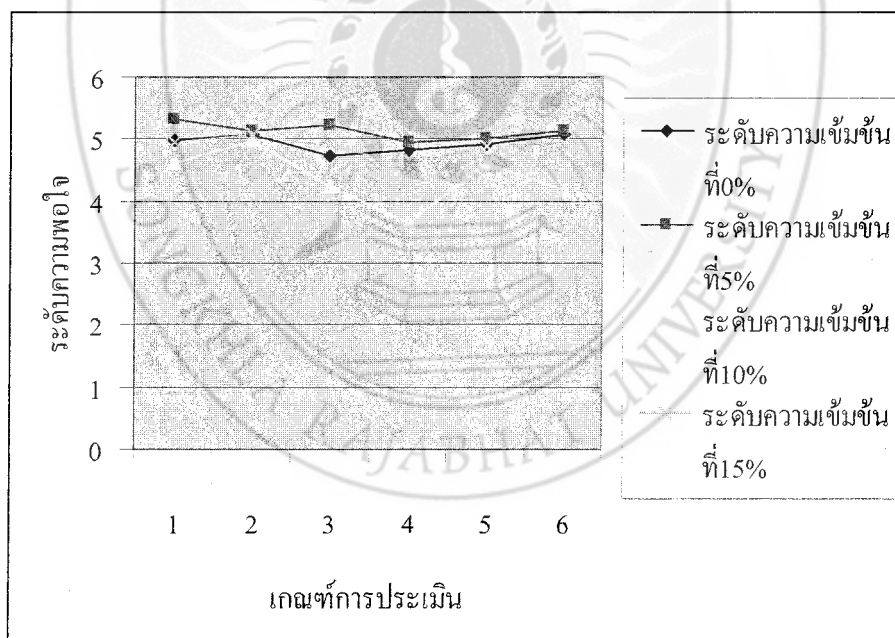
### ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

จากการประเมินคุณภาพทางกายภาพและประสาทสัมผัสของชิ้นเนื้อปลาคุกกี้ที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายได้จากใบกล้วยนางพญาที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยผู้ทดสอบ เป็นเพศชาย 56% เพศหญิง 44% อายุเฉลี่ย 18 ปี - 23 ปี มีการศึกษาสูงสุดระดับ มัธยมปลาย รายได้เฉลี่ยต่อเดือน 3,500-5,000 บาท และมีอาชีพ นักศึกษา พบว่า ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดสอบ เป็นดังนี้

ตารางที่ 1 ระดับความเข้มข้นของสารละลายได้จากใบกล้วยนางพญาที่มีต่อ ความพอใจ ความพอใจต่อสี ความพอใจต่อกลิ่น ความพอใจต่อรสชาติ ความพอใจต่อความหนาแน่น และความพอใจต่อความชอบรวม ต่อปลาอุกบึกก้อยนี้

ระดับความเข้มข้นของสารละลายได้จากใบกล้วยนางพญา	ความพอใจ	ความพอใจต่อสี	ความพอใจต่อกลิ่น	ความพอใจต่อรสชาติ	ความพอใจต่อความหนาแน่น	ความพอใจต่อความชอบรวม
0%	4.97 <sup>b</sup> ±1.00	5.07 <sup>a</sup> ±0.93	4.69 <sup>b</sup> ±1.04	4.83 <sup>b</sup> ± 1.02	4.93 <sup>ab</sup> ±1.17	5.01 <sup>b</sup> ±1.01
5%	5.30 <sup>b</sup> ±0.98	5.22 <sup>a</sup> ±1.11	5.22 <sup>c</sup> ± 1.11	4.93 <sup>b</sup> ±1.17	5.02 <sup>b</sup> ±1.04	5.14 <sup>b</sup> ±1.12
10%	4.57 <sup>a</sup> ±1.51	4.99 <sup>a</sup> ±1.32	4.24 <sup>a</sup> ±1.35	3.66 <sup>a</sup> ±1.55	4.62 <sup>a</sup> ±1.42	4.17 <sup>a</sup> ±1.72
15%	4.96 <sup>b</sup> ±1.31	5.17 <sup>a</sup> ±1.21	4.88 <sup>bc</sup> ±1.47	4.61 <sup>b</sup> ±1.49	4.88 <sup>ab</sup> ±1.29	4.96 <sup>a</sup> ±1.30

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)



ภาพที่ 1 เปรียบเทียบความพึงพอใจแต่ละระดับความเข้มข้น



- หมายเหตุ : เกณฑ์ประเมินที่ 1 คือ ความพอใจต่อปลา  
 เกณฑ์ประเมินที่ 2 คือ ความพอใจต่อสี  
 เกณฑ์ประเมินที่ 3 คือ ความพอใจต่อกลิ่น  
 เกณฑ์ประเมินที่ 4 คือ ความพอใจต่อรสชาติ  
 เกณฑ์ประเมินที่ 5 คือ ความพอใจต่อความหนาแน่น  
 เกณฑ์ประเมินที่ 6 คือ ความพอใจต่อความชอบรวม

จากการที่ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า ความพอใจต่อปลาทุกบึกอูยหนึ่งนั้น ทุกระดับความเข้มข้นของสารละลายน้ำจากใบกล้วยนางพญา ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) และมีค่าเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกันทุกระดับความเข้มข้น และเมื่อนำข้อมูลจากการประเมิน มาเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของแต่ละปัจจัยให้ผลดังนี้

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบผลเฉลี่ยของการวัดผลจากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส	ผลเฉลี่ยของการทดสอบ
ความพอใจต่อปลา	4.95 <sup>cd</sup> ±1.24
ความพอใจต่อสี	4.11 <sup>d</sup> ±1.15
ความพอใจต่อกลิ่น	4.76 <sup>b</sup> ±1.30
ความพอใจต่อรสชาติ	4.56 <sup>a</sup> ±1.41
ความพอใจต่อความหนาแน่น	4.86 <sup>bc</sup> ±1.24
ความพอใจต่อความชอบรวม	4.82 <sup>bc</sup> ±1.37

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ )

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า สารละลายความเข้มข้นที่ผู้บริโภคมอบรับอยู่ในระดับความเข้มข้นที่ 5% รองลงมา 0% 15% และระดับความเข้มข้นที่ 10% ผู้บริโภคไม่ยอมรับเมื่อพิจารณาแล้วระดับความเข้มข้นที่ผู้บริโภคมอบรับคือ ระดับความเข้มข้นที่ 5% เพราะสารละลายน้ำจากใบกล้วยนางพญาเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นมากจะทำให้มีกลิ่นติดกับชิ้นเนื้อปลาทุกบึกอูย จึงไม่เป็นที่นิยมบริโภค

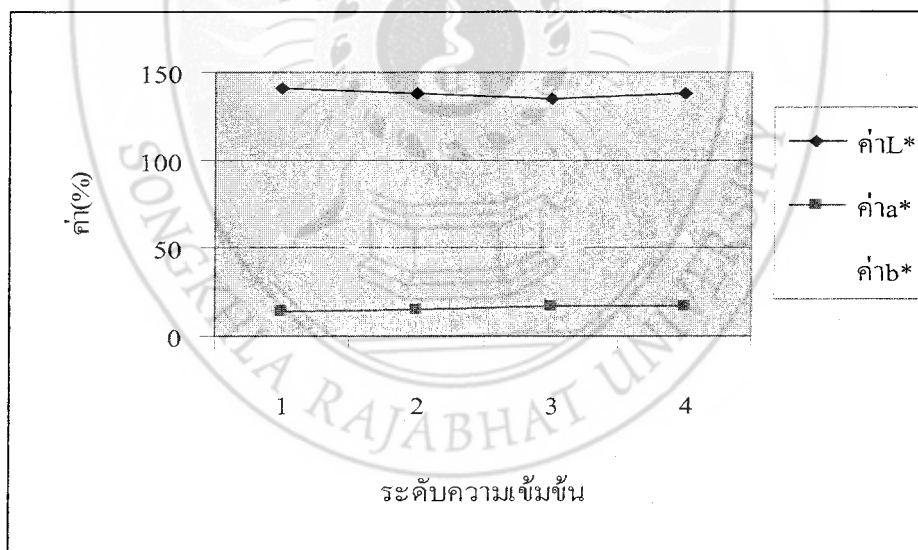
### ผลการวัดค่าสีของชิ้นเนื้อปลา

จากการวัดค่าสีปรากฏว่าสารละลายน้ำเถ้าจากใบกล้วยนางพญาในระดับความเข้มข้นที่ 0% 5% 10% และ 15% ไม่แตกต่างกัน ( $P>0.05$ )

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบผลเฉลี่ยของการวัดค่าสีในเนื้อปลาคูบักก้อย

ระดับความเข้มข้นของ สารละลายเถ้าจากใบ กล้วยนางพญา	ค่า L*	ค่า a*	ค่า b*
0%	47.02 <sup>a</sup> ± 0.53	4.63 <sup>a</sup> ± 1.36	18.71 <sup>a</sup> ± 6.40
5%	46.01 <sup>a</sup> ± 1.32	5.03 <sup>a</sup> ± 1.43	14.99 <sup>a</sup> ± 0.40
10%	44.92 <sup>a</sup> ± 0.72	5.68 <sup>a</sup> ± 0.26	16.31 <sup>a</sup> ± 1.13
15%	46.01 <sup>a</sup> ± 2.17	5.78 <sup>a</sup> ± 1.99	18.71 <sup>a</sup> ± 2.76

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ )



ภาพที่ 2 เปรียบเทียบค่าสีในแต่ละระดับความเข้มข้น

หมายเหตุ ระดับความเข้มข้นที่ 1 คือ สารละลายน้ำเถ้าที่ระดับความเข้มข้น 0%  
 ระดับความเข้มข้นที่ 2 คือ สารละลายน้ำเถ้าที่ระดับความเข้มข้น 5%  
 ระดับความเข้มข้นที่ 3 คือ สารละลายน้ำเถ้าที่ระดับความเข้มข้น 10%  
 ระดับความเข้มข้นที่ 4 คือ สารละลายน้ำเถ้าที่ระดับความเข้มข้น 15%

จากการวัดค่าสว่าง โดยนำชิ้นเนื้อปลาคุกกี้ไปแช่ในสารละลายน้ำจากใบกล้วยนางพญา แล้ววัดค่าสีของชิ้นเนื้อปลา ผลปรากฏว่าในระดับความเข้มข้นที่ 0% มีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) มากที่สุด และรองลงมาในระดับความเข้มข้นที่ 5% 15% และ 10% คือ  $47.02 \pm 0.53$   $46.01 \pm 1.32$   $44.92 \pm 0.72$   $46.01 \pm 2.17$  และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างพบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ที่ระดับความเข้มข้น 15% มีค่า  $a^*$  มากที่สุด รองลงมาคือ 10% 5% และ 0% คือ  $4.63 \pm 1.36$   $5.03 \pm 1.43$   $5.68 \pm 0.26$   $5.78 \pm 1.99$  และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างพบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) และที่ระดับความเข้มข้นที่ 0% และ 15% มีค่า  $b^*$  เท่ากัน รองลงมาคือ 10% และ 5% คือ  $18.71 \pm 6.40$   $14.99 \pm 0.40$   $16.31 \pm 1.13$   $18.71 \pm 2.76$  และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างพบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) โดยรวมแล้วในการวัดค่าสีนั้นผลปรากฏว่า ค่า  $L^*$  ค่า  $a^*$  และ ค่า  $b^*$  โดยใช้สารละลายน้ำจากใบกล้วยนางพญา เกณฑ์ในแต่ละระดับความเข้มข้นผลปรากฏว่ามีค่าใกล้เคียงกันทุกระดับความเข้มข้น

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของปลาคุกกี้หนึ่ง ที่ผ่านการแช่สารละลายน้ำจากใบกล้วยนางพญาในระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่า ความพอใจต่อปลาในระดับความเข้มข้นที่ 5% มีการยอมรับมากที่สุดอาจเกิดจากกลิ่นของเนื้อปลามีน้อยกว่าระดับความเข้มข้นอื่น ๆ และมีสีของเนื้อที่น่านรับประทานกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ วรพงษ์ นลินานนท์, 2545 พบว่า สารละลายน้ำจากใบกล้วยน้ำว้าและสารละลายเกลือแกงที่ระดับความเข้มข้น 5% เป็นเวลา 5 นาที สามารถลดสาร GSM ลงได้ประมาณ 90% โดยผู้ทดสอบไม่สามารถรับกลิ่นโคลนได้ แต่ถ้าในระดับความเข้มข้นที่ 10% ที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับเพราะอาจจะมีกลิ่นของน้ำจากใบกล้วยนางพญาปะปนอยู่หรืออาจเกิดจากภาพรวมทั้งหมดก็อยู่ที่ความยอมรับแต่ละบุคคลว่าชอบแบบไหน แต่คะแนนที่ได้รับนั้นมีค่าใกล้เคียงกัน อาจเกิดจากการที่มีการแช่ชิ้นเนื้อปลาในเวลาเท่ากันเลยทำให้คะแนนอยู่ในระดับใกล้เคียง ส่วนในการวัดค่าสีแต่ละค่านั้นไม่แตกต่างกันในแต่ละระดับความเข้มข้นสาเหตุอาจเกิดจากระดับความเข้มข้นของน้ำจากใบกล้วยนางพญาไม่มีผลต่อค่าสีเนื้อปลาคุกกี้ จึงทำให้การวัดค่าสีนั้นออกมาไม่แตกต่างกัน ( $P>0.05$ )

### บทสรุป

การประเมินคุณภาพทางกายภาพและประสาทสัมผัสด้านความพอใจต่อปลา ความพอใจต่อสี ความพอใจต่อกลิ่น ความพอใจต่อรสชาติ ความพอใจต่อความหนาแน่นและ ความพอใจต่อความชอบรวม ด้วยวิธีการกำจัดกลิ่นโคลนในเนื้อปลาด้วยสารละลายน้ำจากใบกล้วยนางพญา 4 ระดับคือ 0% 5% 10% และ 15% ปรากฏว่าปลาคุกกี้ที่แช่ด้วยสารละลายน้ำจากใบกล้วยนางพญาที่ระดับความเข้มข้นที่ 5% เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากที่สุด รองลงมา คือสารละลายน้ำจากใบกล้วยนางพญาที่ระดับความเข้มข้นที่ 0% 15% และ 10% ส่วนการวัดค่าสีสรุปได้ว่าสารละลายน้ำจากใบกล้วยนางพญาในระดับความเข้มข้นที่ 0% 5% 10% และ 15% ไม่แตกต่างกัน ( $P>0.05$ ) ดังนั้นหาก

ต้องการกำจัดกลิ่นโคลนในเนื้อปลาอุกบักอู๋โดยใช้สารละลายน้ำเต้าจากใบกล้วยนางพญาแล้ว ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดคือ 5%

#### เอกสารอ้างอิง

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2535. ปัญหากุ้งมีกลิ่นโคลน. ว.ข่าวโรคสัตว์น้ำ. 2: 8-9 หน้า.

ทวีทรัพย์ ศรีนาค. 2542. การกำจัดกลิ่นโคลนในปลานิล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์การประมง. 3 หน้า.

บริษัท เจริญโภคภัณฑ์. 2534. กลิ่นโคลนในกุ้งกุลาดำ. ว.การประมง. 36:29-30 หน้า.

วรพงษ์ นลินานนท์. 2545. การกำจัดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในเนื้อปลานิล. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วสันต์ ศรีวิวัฒนะ และยุพินท์ วิวัฒน์ชัยเศรษฐ์. มปป. การกำจัดกลิ่นโคลน. การเพาะเลี้ยง ปลากดเหลือง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรมประมง. 24 หน้า.

AOAC. 1999. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16<sup>th</sup> edn. US. (Method 925.10).

Martin, J.F., Plakas, M.S., Holley, H.J. Kitzman, J.V. and Guarino, A.M. 1990. **Pharmacokinetics and tissue disposition of the off-flavor compound 2-methylisoborneol in the channel catfish (*Ictalurus punctatus*)**. Can.J.Fish. Aquat. Sci. 47 : 544-547.