ชนิดและสัดส่วนของสารฉะลายเกลือ ต่อคุณภาพของหมึกกล้วยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

TYPES AND RATIOS OF SALT SOLUTION ON THE QUALITY OF SQUID (*Loligo spp.*) AT LOW TEMPERATURE STORAGE

นิพพิชฌน์ อภิภูวสุขเจริญ

NIPPITCH APIPHUWASUKCHAROEN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

KMITL-2019-AI-M-053-337

ชนิดและสัดส่วนของสารละลายเกลือ
ต่อคุณภาพของหมึกกล้วยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

TYPES AND RATIOS OF SALT SOLUTION ON THE QUALITY OF SQUID (*Loligo spp.*) AT LOW TEMPERATURE STORAGE

นิพพิชฌน์ อภิภูวสุขเจริญ

NIPPITCH APIPHUWASUKCHAROEN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

KMITL-2019-AI-M-053-337

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TYPES AND RATIOS OF SALT SOLUTION ON THE QUALITY OF SQUID (*Loligo spp.*) AT LOW TEMPERATURE STORAGE

NIPPITCH APIPHUWASUKCHAROEN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULLFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2019

KMITL-2019-AI-M-053-337

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ชนิดและสัดส่วนของสารละลายเกลือต่อคุณภาพของหมึกกล้วยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ
นักศึกษา	นางสาวนิพพิชฌน์ อภิภูวสุขเจริญ
รหัสนักศึกษา	58608012
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหาร
พ.ศ.	2562
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. วริพัสย์ อารีกุล

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของชนิดและสัดส่วนของสารละลายเกลือต่อคุณภาพของหมึกกล้วย โดยวางแผนการทดลองแบบผสม (Mixture design) ชนิด Simplex Lattice กำหนดชนิดของเกลือเป็นปัจจัยที่ต้องการศึกษา ได้แก่ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบคาร์บอเนต ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0 ถึง 5 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นเวลา 120 นาที รวม 13 ทรีตเมนต์ จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 6 วัน เพื่อประเมินลักษณะปรากฏ วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด พีเอช ปริมาณไตรเมทิลเอมีน (Trimethyl amine, TMA) ปริมาณด่างที่ระเหยได้ (Total volatile based nitrogen, TVBN) และค่าแรงเฉือน พบว่า บางทรีตเมนต์ในการแช่หมึกให้ผลที่ดีต่อคุณภาพของหมึก เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ในการคำนวณอายุการเก็บรักษา จะนำข้อมูลของแต่ละทรีตเมนต์ไปวิเคราะห์ทางจลพล-ศาสตร์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพ และ ระยะเวลาการเก็บรักษา โดยพบว่า ทรีตเมนต์ส่วนใหญ่มีอันดับของปฏิกิริยาเป็น สมการอันดับศูนย์ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง 0.7655 ถึง 0.9995 เมื่อประเมินอายุการเก็บรักษาตามเกณฑ์คุณภาพทางเคมี และจุลินทรีย์ พบว่าตัวอย่างส่วนใหญ่มีอายุการเก็บประมาณ 5 วัน แต่อายุการเก็บรักษาของทรีตเมนต์ที่ 10,12 (โซเดียมคาร์บอเนต 5 เปอร์เซ็นต์) นั้นคำนวณได้ 9 วัน ตามเกณฑ์คุณภาพทางจุลินทรีย์

อย่างไรก็ตาม เมื่อนำข้อมูลไปสร้างสมการทำนายผลการใช้ในสารละลายเกลือผสมต่างๆ ต่อคุณภาพของหมึก พบว่า แผนภาพ Contour แสดงอิทธิพลอย่างชัดเจนของเกลือแต่ละชนิด ต่อตัวแปรที่ศึกษาได้ดี โดยเฉพาะ พีเอช รองลงมาได้แก่ TVBN และ TMA สำหรับการหาสัดส่วนของเกลือที่เหมาะสมในการแช่หมึกนั้นจะใช้ค่าที่วิเคราะห์ได้จากวันที่ 0 ทั้งนี้สารละลายที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการแช่หมึก ได้แก่ สารละลายผสมโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้นอย่างละ 1.67 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าความพึงพอใจ (Desirability) เท่ากับ 0.439 และเมื่อนำไปทดสอบความคลาดเคลื่อนสัมพันธ์ของสมการ พบว่า สมการทำนายค่าพีเอช มีความคลาดเคลื่อนน้อยที่สุด รองลงมาได้แก่ สมการทำนายค่า TMA

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าตัวอย่างที่นำไปทดสอบมีความชอบโดยรวมน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากลักษณะเนื้อสัมผัสที่นิ่มและมีกลิ่นรสหมึกที่มากเกินไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Types and ratios of salt solution on the quality of squid (*Loligo spp.*) at low temperature storage
Student	Nippitch Apiphuwasukcharoen
Student ID	58608012
Degree	Master of Science
Program	Food Science
Year	2019
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Varipat Areekul

Abstract

The purpose of this research was to study the effect of type and ratio of soaking salt solution by using simplex lattice mixture design on the quality of squids. The combination of 3 salts; sodium chloride, sodium carbonate and sodium bicarbonate with the total of thirteen treatments were designed at the concentration of 0-5% (w/v), prepared and soaked the sample for 120 min at 4 ^{o}C and then stored at the same temperature for 6 days. The appearance, pH, total microbial count, trimethyl amine (TMA), total volatile based nitrogen (TVBN) and shear force were determined. The result showed that some treatments for soaking the squid pronounced a better result compared with control ($p<0.05$).

In order to calculate the shelf-life, each sample was then tested for kinetic equation to determine the relationship between its quality and storage period. The data of total bacteria count, total volatile base (TVBN) and trimethylamine (TMA) were used to calculate k constant. It was found that most treatments were in zero order kinetics with the correlation coefficient (R^2) between 0.7655 – 0.9995. The shelf-life were calculated using the chemical and microbiological criteria.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The results showed that most estimated shelf-life of all treatments were 5 day storages but treatment No. 10,12 (5% Na_2CO_3) had estimated shelf-life of 9 days when using microbial criteria.

However, when using these data for creating the equation to predict the effect of salt solution mixture on the quality of squids. The contour plot clearly showed the influence of each salt on the studied variables especially, pH following by TVBN and TMA, respectively. For optimize the salt mixture solution, the criteria were closely set to the control sample at day 0. The optimized soaking solution for squid was 1.67% sodium chloride, sodium carbonate and sodium bicarbonate as the desirability of 0.439. When determining the relative error, the equation of pH prediction had lowest error following by equation for TMA prediction.

The sensory evaluation revealed that the tested sample had significantly lower overall liking score than control ($p<0.05$) which might be due to softer texture and stronger squid flavor.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจาก ผศ.ดร.วริพัสย์ อารีกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร. โสรยา เกิดพิบูลย์ และ ผศ.ดร. ภาวินี ดีแท้ ซึ่งให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์ ผู้เขียนกราบขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. วรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์ ที่ได้ให้เกียรติมาเป็นกรรมการในการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ พร้อมให้ความรู้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์ ผู้เขียนกราบขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ นางสาวเจนจิรา ศรีทองใหม่ เพื่อนร่วมห้องปฏิบัติการของผู้เขียนที่ช่วยเรียบเรียงและตรวจทานรูปเล่มวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณเพื่อนร่วมรุ่นวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ที่คอยช่วยเหลือ ให้กำลังใจ และเป็นแรงบันดาลใจอย่างดีในการทำงาน

ขอขอบคุณ นักวิทยาศาสตร์ และเจ้าหน้าที่ของคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ช่วยเหลือ แนะนำ และอำนวยความสะดวกในการทำวิทยานิพนธ์มาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัวของผู้เขียน ที่เป็นกำลังใจและเป็นผู้สนับสนุนทุนทรัพย์ในการศึกษามาโดยตลอด สุดท้ายนี้ ผู้เขียนหวังว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะเป็นประโยชน์กับผู้ที่สนใจทุกท่าน

นิพพิชฌน์ อภิภูวสุขเจริญ

ผู้เขียน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	IX
สารบัญภาพ	X
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	
2.1หมึก	3
2.2 ชนิดของหมึก	3
2.3 มูลค่าทางการตลาดของหมึก	6
2.4 การเสื่อมเสียคุณภาพของหมึกกล้วย	7
2.5 สารเคมีที่ใช้กันเสีย	14
2.6 การแช่เย็น	17
2.7 การออกแบบการทดลอง	19
2.8 หลักจลนศาสตร์กับการประเมินอายุการเก็บรักษาในผลิตภัณฑ์อาหาร	24
2.9 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค	25
2.10 การทดสอบความแม่นยำ	26
2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	27
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการทดลอง	29
3.1 วัตถุดิบและสารเคมี	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ 29
3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย 30
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์การทดลอง 36
4.1การเปลี่ยนแปลงทางลักษณะปรากฏ 36
4.2 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 40
4.3 การเปลี่ยนแปลงของพีเอช 43
4.4 ปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA) 45
4.5 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด 46
4.6 การเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัส 49
4.7 ผลของสารละลายเกลือผสมต่ออายุการเก็บรักษาของหมึก 51
4.8 การวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมด้วยโปรแกรมทางคณิตศาสตร์ 55
4.9 สัดส่วนของเกลือที่เหมาะสมในการแช่หมึก 60
4.10 การทดสอบยืนยันสมการทางคณิตศาสตร์ 64
4.11 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของสูตรที่เหมาะสม 66
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 70
5.1 สรุปผลการทดลอง 71
5.2 ข้อเสนอแนะ 71

บรรณานุกรม 72

ภาคผนวก 84
ก-1 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธีการ Pour plate 86
ก-2 การวิเคราะห์พีเอช 86
ก-3 การวิเคราะห์ปริมาณด่างที่ระเหยได้ (TVBN) และปริมาณไตรเมทิลเอมีน 87
ก-4 การวิเคราะห์ค่าแรงเฉือน 89
ข-1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 91

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก (ต่อ)

ข-2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA)..... 92
ข-3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณด่างที่ระเหยได้ (TVBN)..... 93
ข-4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าแรงเฉือน..... 94
ค-1 แบบสอบถามวิธีการให้คะแนนความชอบร่วมกับการวัดความพอดี..... 96
ค-2 ตารางสมมติฐานสองทาง..... 97

ประวัติผู้เขียน..... 98

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	หลักเกณฑ์การให้คะแนนการตรวจชั้นคุณภาพหมึกกล้วย, หมึกหอม และ หมึกกระดอง.....	13
2.2	กลุ่มของจุลินทรีย์จำแนกตามช่วงของอุณหภูมิที่สามารถเจริญได้	18
2.3	อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่เย็นของอาหารประเภทต่างๆ.....	18
2.4	มาตรฐานของค่า Desirability ที่สัมพันธ์กับระดับความพึงพอใจและคุณภาพของผลิตภัณฑ์.....	24
2.5	สมการของอันดับปฏิกิริยาต่างๆ ตามหลักจลนศาสตร์.....	25
3.1	ทรีตเมนต์ที่ใช้ทำการทดลอง.....	31
4.1	ลักษณะปรากฏของหมึกกล้วยระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 วัน.....	37
4.2	ผลของเกลือผสมต่อค่าพีเอชของตัวอย่างหมึกกล้วยที่แช่ในสารละลายที่สัดส่วนความเข้มข้นต่างๆ.....	43
4.3	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของจลนศาสตร์ในปฏิกิริยาอันดับต่างๆ.....	51
4.4	อายุการเก็บรักษาโดยประมาณของหมึกกล้วยที่แช่สารละลายเกลือที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	53
4.5	สมการทำนายที่ได้จากการวางแผนการทดลองแบบผสมโดยใช้ข้อมูลในวันที่ 3	62
4.6	สมการทำนายที่ได้จากการวางแผนการทดลองแบบผสมโดยใช้ข้อมูลในวันที่ 6	63
4.7	ระดับของตัวแปรที่ใช้หาสัดส่วนของเกลือที่เหมาะสมในการแช่หมึก.....	64
4.8	ผลการทดสอบยืนยันสมการทางคณิตศาสตร์.....	65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	หมึกกล้วย (*Loligo spp.*).....	4
2.2	หมึกกระดอง (*Sepia spp.*).....	5
2.3	หมึกสาย (*Octopoda spp.*).....	6
2.4	ภาพสิ่งทดลองสำหรับการออกแบบการทดลองแบบผสมชนิดซิมเพล็กซ์ แล็คทิส..	21
2.5	ภาพสิ่งทดลองสำหรับการออกแบบการทดลองแบบผสมชนิดซิมเพล็กซ์ เซ็นทรอยด์.....	21
2.6	ภาพสิ่งทดลองสำหรับการออกแบบการทดลองแบบผสมชนิดซิมเพล็กซ์ แอ็กเซียล.....	22
4.1	ลักษณะเซลล์สี (Chromatophore) และการเกิดสีชมพูของเนื้อหมึกระหว่างการเก็บรักษา เป็นเวลา 0 (ก) 1 (ข) 3 (ค) และ 6 (ง) วัน.....	38
4.2	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของตัวอย่างหมึกกล้วยที่แช่ในสารละลายเกลือที่สัดส่วนความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	41
4.3	ปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA) ของตัวอย่างหมึกกล้วยที่แช่ในสารละลายเกลือที่สัดส่วนความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส..	46
4.4	ปริมาณ TVBN ของตัวอย่างหมึกกล้วยที่แช่ในสารละลายเกลือที่สัดส่วนความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	48
4.5	ค่าแรงเฉือนของตัวอย่างหมึกกล้วยที่แช่ในสารละลายเกลือที่สัดส่วนความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	50
4.6	แผนภาพ Contour แสดงพีเอชในหมึกกล้วยที่แช่ด้วยโซเดียมคลอไรด์ (X_1) โซเดียมคาร์บอเนต (X_2) และ โซเดียมไบคาร์บอเนต (X_3) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 3 (ก) และ 6 วัน (ข).....	56
4.7	แผนภาพ Contour แสดงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในหมึกกล้วยที่แช่ด้วยโซเดียมคลอไรด์ (X_1) โซเดียมคาร์บอเนต (X_2) และ โซเดียมไบคาร์บอเนต (X_3) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 3 (ก) และ 6 วัน (ข).....	57
4.8	แผนภาพ Contour แสดงค่าแรงเฉือน (Shear force) ในหมึกกล้วยที่แช่ด้วยโซเดียมคลอไรด์ (X_1) โซเดียมคาร์บอเนต (X_2) และ โซเดียมไบคาร์บอเนต (X_3) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน.....	58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.9	แผนภาพ Contour แสดงปริมาณ TVBN ในหมึกกล้วยที่แช่ด้วยโซเดียมคลอไรด์ (X_1) โซเดียมคาร์บอเนต (X_2) และ โซเดียมไบคาร์บอเนต (X_3) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน (ก) และ 6 วัน (ข).....	59
4.10	แผนภาพ Contour แสดงปริมาณ TMA ในหมึกกล้วยที่แช่ด้วยโซเดียมคลอไรด์ (X_1) โซเดียมคาร์บอเนต (X_2) และ โซเดียมไบคาร์บอเนต (X_3) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน (ก) และ 6 วัน (ข).....	61
4.11	คะแนนความชอบในคุณลักษณะด้านต่างๆที่ทำการทดสอบ ได้แก่ สี กลิ่นรส หมึก เนื้อสัมผัส รสชาติ และความชอบรวม.....	67
4.12	ผลทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีวัดความพอดีของตัวอย่างควบคุม (ก) และตัวอย่างที่คัดเลือก (ข).....	68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

หมึกกล้วย (*Loligo spp.*) เป็นหมึกที่นิยมบริโภคมาก และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยอันดับรองลงมาจากกุ้ง (กองควบคุมการค้าสัตว์น้ำและปัจจัยการผลิต, 2560) เนื่องจากเป็นแหล่งโปรตีนที่มีรสชาติดี สามารถซื้อได้ทั่วไปในห้างสรรพสินค้า ร้านสะดวกซื้อ ไปจนถึงตลาดสด นอกจากนี้ ยังสามารถนำไปประกอบอาหารได้หลายชนิด หมึกกล้วยมีการส่งออกทั้งในรูปแบบแช่เย็น และแช่แข็ง คิดเป็น 59 เปอร์เซ็นต์ของทั้งหมดในช่วงเดือนมกราคม ถึง มีนาคม พ.ศ. 2561 (ฐิติมา, 2561) โดยมีตลาดใหญ่ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น และอิตาลี สำหรับหมึกกล้วยในรูปแบบแช่เย็น มีตลาดส่งออกที่สำคัญคือ ประเทศเกาหลีใต้ (กองควบคุมการค้าสัตว์น้ำและปัจจัยการผลิต, 2560)

สำหรับการค้าปลีกในตลาดสดทั่วไปนั้น นิยมนำหมึกกล้วยที่ผ่านการแช่แข็งทั้งก้อน หรือหมึกฟรีซ มาละลายน้ำแข็งออก แล้วแช่หมึกลงในน้ำผสมน้ำแข็งจำหน่ายปลีกให้กับผู้ซื้อรายย่อย เพื่อที่จะให้หมึกยังคงสภาพสดใหม่ ผู้ค้าบางรายอาจเติมสารเคมีที่ไม่ใช่วัตถุเจือปนอาหารในการแช่หมึก เช่น ยาแอสไพริน (Aspirin) แบบผง (สสอป., 2561) สารเคมีเหล่านั้นอาจเกิดการตกค้างและเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคที่มีอาการแพ้ยาต้านอักเสบชนิดไม่ใช่เสตียรอยด์ (NSAIDs) ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดจะใช้วัตถุเจือปนอาหารที่ปลอดภัย และเป็นสารเคมีที่ใช้ปรุงแต่งอาหารโดยทั่วไปมาใช้แทน ซึ่งได้เลือกเป็นเกลือ 3 ชนิดได้แก่ โซเดียมคลอไรด์, โซเดียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบคาร์บอเนต

เกลือโซเดียมคลอไรด์ (เกลือแกง) โซเดียมคาร์บอเนต (โซดาแอช) และโซเดียมไบคาร์บอเนต (เบคกิ้งโซดา) เป็นสารที่พบทั่วไปในครัวเรือน มีราคาถูก จัดเป็นวัตถุเจือปนในอาหารในกลุ่ม “Generally Recognized as Safe” หรือ GRAS (USFDA, มปป) ในประเทศสหรัฐอเมริกา สามารถเติมลงในอาหารได้อย่างปลอดภัย และไม่จำกัดปริมาณที่ใช้ แต่จะให้ใช้เท่าที่จำเป็นตามข้อกำหนดของ Codex (FAO, 2018) ซึ่งมีรายงานว่าเกลือ 3 ชนิดนี้ สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ เช่น การเติมโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นตั้งแต่ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Nutrient Broth (MNB) สามารถลดจำนวนของเชื้อ *E. coli* ลงได้ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของแรงดันออสโมติกทำให้เซลล์เสียสภาพและไม่สามารถเจริญได้ดี (Abdulkarim และคณะ, 2009) ส่วนโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 5% ทำให้เกิดโซนยับยั้ง (Inhibition zone) เส้นผ่านศูนย์กลาง 12-15 มิลลิเมตร กับเชื้อ *Klebsiella oxytoca, S. aureus* และ *Proteus mirablis* ที่เลี้ยงในอาหาร Nutrient agar (NA) (Degiam และคณะ, 2015) นอกจากนี้ โซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pseudomonas fluorescens และ *Enterococcus faecalis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agarได้ (Corral และคณะ, 1988) ดังนั้นการใช้เกลือทั้งสามร่วมกัน อาจมีประสิทธิภาพในการทำลายจำนวนจุลินทรีย์ เพื่อคงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาหมึก และอาหารทะเลชนิดอื่นๆ ในระหว่างการแช่เย็นได้ นอกจากนี้ ในกระบวนการผลิตด้วยวิธีการทางสถิตินั้น มีความสำคัญในงานด้านการปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์อีกด้วย เช่น การออกแบบการทดลองแบบส่วนผสม ชนิด Simplex lattice ในการพัฒนาสารดูดความชื้นเพื่อรักษาคุณภาพของเห็ดนางรม (Azevedo และคณะ, 2011) การใช้แผนการทดลองชนิดนี้ ทำให้เห็นความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ใช้ศึกษาต่อค่าตอบสนองได้ชัดเจนและไม่ซับซ้อน อีกทั้งยังมีขนาดของสิ่งทดลองที่ไม่มากเกินไป ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงนำการออกแบบการทดลองแบบส่วนผสมมาใช้ในการวิเคราะห์หาชนิดและสัดส่วนของสารละลายเกลือที่เหมาะสมในการแช่หมึกก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาผลของการแช่หมึกในสารละลายเกลือ 3 ชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ ระหว่างการเก็บรักษา และประเมินอายุการเก็บรักษาของหมึก

2) เพื่อวิเคราะห์หาสัดส่วนที่เหมาะสมของสารละลายเกลือเพื่อคงคุณภาพร่วมกับการแช่เย็น และทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ส่วนที่ 1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของหมึกกล้วยที่แช่ในสารละลายเกลือที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยการวิเคราะห์ลักษณะปรากฏ ลักษณะทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์

ส่วนที่ 2 ศึกษาผลของการแช่สารละลายเกลือผสมต่ออายุการเก็บรักษาของหมึกที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้หลักจลนศาสตร์ในการทำนายอายุการเก็บ

ส่วนที่ 3 สร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ความเข้มข้นของเกลือแต่ละชนิด ต่อค่าตอบสนองที่กำหนด แล้วนำสมการไปคำนวณหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการแช่หมึก

ส่วนที่ 4 ศึกษาผลทางประสาทสัมผัส 2 วิธีคือ 7 points Hedonic scale และวิธี Just about right เพื่อศึกษาความแตกต่างทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างควบคุมกับตัวอย่างที่วิเคราะห์สัดส่วนของเกลือด้วยสมการทางคณิตศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 หมึก (Cephalopods)

หมึก จัดรวมไว้ในไฟลัมมอลัสกา (Phylum Molluska) เป็นสัตว์ในกลุ่มเดียวกับหอย เนื่องจากมีเยื่อแมนเทิล (Mantle) ฟัน (Radula) และเหงือก (Gill) เหมือนหอย แต่หมึกจัดอยู่ในชั้นเซฟาโลโพด้า (Class Cephalopoda) ซึ่งมีรากศัพท์มาจาก Cephalo ซึ่งแปลว่าหัว และ Poda ที่แปลว่าเท้า ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของสัตว์ในกลุ่มนี้ ที่มีหัวและเท้าติดกัน แต่แตกต่างจากหอย คือ ส่วนหัวยื่นออกเป็นวงกลม และแยกออกเป็นหนวดนั้น ในสัตว์จำพวกหอยจะเป็นส่วนหน้าของเท้า (Foot) แต่ในหมึกจะปรับเปลี่ยนไปเป็นท่อน้ำ (Funnel) และรยางค์ หรือ หนวดจับอาหาร (Tentacle) อยู่ล้อมรอบปาก ซึ่งหนวดจะเชื่อมต่อกันโดยเนื้อเยื่อบางๆ นอกจากนี้ ยังมีวิวัฒนาการทางระบบประสาทที่ดีกว่าชั้นอื่นๆ ในไฟลัมเดียวกันด้วย

การกำหนดลักษณะหัวท้ายของหมึก กำหนดได้จากการเคลื่อนที่ของหมึก ทำให้ใช้ด้านหนวดและปาก เป็นด้านหน้า ส่วนด้านที่เป็นลำตัวเป็นด้านหลัง และกำหนดให้ส่วนบนที่มีสีเข้มกว่าเป็นด้านบน และด้านที่มีท่อน้ำและมีสีซีดกว่าเป็นท้อง ภายในลำตัวหมึก มีลักษณะคล้ายถุง ห่อหุ้มเหงือกและอวัยวะภายในไว้ มักจะมีลักษณะเป็นรูปไข่ ทรงกระบอกยาว หรือวงรี แตกต่างกันไปตามชนิดของหมึก (จรัสศรี และคณะ, 2550)

2.2 ชนิดของหมึก

การแบ่งประเภทตามอันดับ (Order) ของหมึก แบ่งออกเป็น 3 ประเภทดังนี้

2.2.1 หมึก (Squid)

เป็นหมึกที่มีรูปร่างยาวคล้ายตอร์ปิโด มีครีบด้านข้างค่อนไปด้านท้ายลำตัว ระยางค์รอบปากประกอบด้วยระยางค์สั้น คือ หนวด 4 คู่ มีปุ่มดูดบนหนวด 2 แถว บางชนิดอาจมีตะขอร่วมด้วย หมึกประเภทนี้ได้แก่ หมึกกล้วย (*Loligo spp.*) หมึกหอม (*Sepioteuthis spp.*) และหมึกกระดองบางชนิด (*Sepia spp.*)

2.2.1.1 หมึกกล้วย

หมึกกล้วย (*Loligo spp.*) มีชื่อสามัญว่า Splendid squid (ภาพที่ 2.1) ประกอบด้วยส่วนหัวและลำตัว ไม่มีเปลือกหุ้มภายนอก มีหนวด รอบปาก 4-5 คู่ บนหนวดแต่ละเส้นมีปุ่มดูดเรียงเป็นแถว ภายในปากมีเขี้ยว 2 อัน คือเขี้ยวบนและเขี้ยวล่าง มีลักษณะคล้ายปากนกแก้ว ภายในลำตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมึกมีโครงสร้างของแข็ง เรียกว่า กระดองหมึก มีลักษณะเป็นแผ่นใสคล้ายพลาสติก กระดองดังกล่าวประกอบด้วย สารประกอบจำพวกไคติน (chitin) ภายในลำตัวหมึกกล้วยมีท่อทางเดินอาหาร ระบบขับถ่าย และระบบสืบพันธุ์ ส่วนปลายสุดของท่อทางเดินอาหารมีถุงหมึก ซึ่งใช้สำหรับรบกวนหรือหลบหนีศัตรู (สุทธวัฒน์, 2554)

หมึกกล้วยเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลกอีกด้วย โดยหมึกกล้วยที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลก คือ หมึกโคลอสซัส หรือ หมึกมหึมา (Colossal squid, Antarctic giant cranch squid) เป็นหมึกที่อาศัยที่ระดับความลึก 2,000 เมตร และมีขนาดลำตัวยาวได้ถึง 14 เมตร (Animal planet, 2015)

ภาพที่ 2.1 หมึกกล้วย (*Loligo spp.*)

หมึกกล้วยเป็นแหล่งของโปรตีนที่ดี สำหรับองค์ประกอบโดยประมาณ (Proximate composition) ของหมึกกล้วย Remyakumari และคณะ (2018) รายงานว่า หมึกกล้วยอินเดียน (*U. duvauceli*) มีปริมาณความชื้น 80.47 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 17.5 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.52 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 1.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีกรดอะมิโนเท่ากับ 12.46 กรัมต่อ 100 กรัม เช่น กลูตามิก (Glutamic acid) แอสปาร์ติก (Aspartic acid) และลิวซีน (Leucine)

2.2.1.2 หมึกหอม

หมึกหอม (*Sepioteuthis spp.*) มีชื่อสามัญคือ Bigfin reef squid มีลักษณะลำตัวรูปทรงกระบอก ครีบทั้ง 2 ด้าน มีลักษณะกว้างและแบนยาวเกือบตลอดลำตัว หนวดรอบปาก มี 10 เส้น เป็นแขน 8 เส้น มีหนวดคู่ยาว 2 เส้น กระดองหมึกอยู่ภายในลำตัวหมึกมีลักษณะเป็นแผ่นแข็งใส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำตัวมีจุดสีน้ำตาลอมแดงกระจายทั่วไป (อัญชลีย์ และคณะ, 2556) หมึกหอมตัวกลมแบนกว้างอ้วนกว่าหมึกกล้วย ขนาดลำตัวยาวประมาณ 20-60 เซนติเมตร (จรัสศรี, 2550)

หมึกหอมมีอุปนิสัยที่ชอบอยู่ตามแนวปะการัง โขดหิน ในแนวน้ำตื้น มีระดับความลึกไม่เกิน 100 เมตร แพร่กระจายทั่วไปตั้งแต่บริเวณอินโดแปซิฟิก ทะเลแดง สำหรับในประเทศไทยมีการแพร่กระจายทางอ่าวไทยฝั่งตะวันออก และทะเลอันดามัน (เจิดจินดา, 2535)

2.2.2 หมึกกระดอง (Cuttlefish)

หมึกกระดอง (*Sepia spp.*) เป็นหมึกที่มีรูปร่างแบนกว่าง คล้ายถุง มีครีบด้านข้างยาวตลอดลำตัว มีระยางค์เหมือนหมึกกล้วย (ภาพที่ 2.2) มีหนวดสั้น 4 คู่ หนวดยาว 1 คู่ แต่ไม่มีตะของหมึกในอันดับนี้มีกระดองทำหน้าที่เป็นโครงค้ำจุนภายในลำตัว มีลักษณะเป็นแผ่นแข็งรูปใบหอก สีขาวขุ่นประกอบด้วยหินปูน หรือที่เรียกทั่วไปว่า ลิ้นทะเล มีนัยน์ตาขนาดใหญ่ ขนาดความยาวลำตัวประมาณ 20-50 เซนติเมตร (อัญชลีย์ และคณะ, 2556)

ภาพที่ 2.2 หมึกกระดอง

2.2.3 หมึกสาย (Octopus)

หมึกสาย (*Octopoda spp.*) มีลักษณะลำตัวคล้ายลูกโป่ง ไม่มีครีบข้าง รูปร่างผิดกับหมึกกลุ่มอื่นๆ (ภาพที่ 2.3) โดยมีหนวดยาว 8 เส้น เรียกว่า Octopod แต่ละเส้นมีความยาวใกล้เคียงกัน โคนหนวดมีผนังยึดติดกัน บนหนวดมีปุ่มดูดเรียงกันเป็นแถวใช้สำหรับดูดเกาะ หรือจับเหยื่อ มีตาสองข้างขนาดใหญ่ พื้นลำตัวและหนวดมีสีน้ำตาลอ่อนปนน้ำตาลแดง หรือสีเทาดำ บางครั้งพบเป็นสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหลือง ขนาดความยาวตลอดลำตัวและหนวดรวมกันประมาณ 30-35 เซนติเมตร (อัญชลีย์ และคณะ, 2556)

ภาพที่ 2.3 หมึกสาย

2.3 มูลค่าทางตลาดของหมึก

หมึกเป็นวัตถุดิบอาหารทะเลที่มีความต้องการทางตลาดสูง มีมูลค่าการนำเข้าในประเทศต่างๆ เช่น ประเทศญี่ปุ่น สเปน และอิตาลีเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยปริมาณนำเข้าหมึกของประเทศญี่ปุ่นในปี ค.ศ. 2015 เพิ่มขึ้น 5.4 เปอร์เซ็นต์ จากปีก่อนหน้านี้ โดยนำเข้าหมึกเพิ่มขึ้นอีก 500 ตัน จาก 9,200 ตันจากประเทศผู้ส่งออกรายใหญ่สำคัญ ได้แก่ ประเทศไทย มอร็อคโค และ เวียดนาม (FAO, 2016)

ในประเทศไทย หมึกกล้วยเป็นหมึกที่นิยมบริโภค เช่นเดียวกับ หมึกหอม และหมึกกระดอง กระทรวงพาณิชย์ แสดงราคาค้าปลีกของหมึกกล้วยไม่ลอกหนังเฉลี่ย 195 บาทต่อกิโลกรัม ในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2559 โดยมีราคาเพิ่มขึ้นจากในช่วงเดียวกันของปี 2558 ร้อยละ 4.4 (www.price.moc.go.th) ประเทศไทยมีการนำเข้าหมึกมูลค่ากว่า 5 พันล้านบาท โดยเป็นหมึกกล้วยถึงร้อยละ 95.1 ของปริมาณการนำเข้า คิดเป็นร้อยละ 85 ของมูลค่าการนำเข้าหมึกทั้งหมด โดยนำเข้าจากประเทศจีน เวียดนาม และ เปรู ตามลำดับ ในขณะเดียวกัน หมึกกล้วยก็เป็นหมึกที่มีการส่งออกมากที่สุดในรูปของหมึกแช่เย็นและแช่แข็ง โดยมีประเทศญี่ปุ่นเป็นตลาดที่ใหญ่ที่สุด รองลงมาคือ อิตาลี เกาหลีใต้ และอื่นๆ (อนันญา, 2559)

สำหรับลักษณะหมึกสดสำหรับจำหน่ายในประเทศไทย แบ่งเป็น 8 ประเภท (มกอช., 2548) ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1) หมึกทั้งตัว (Whole round) ได้แก่ หมึกที่มีอวัยวะครบตามธรรมชาติ

(2) หมึกลอกขาว (Whole cleaned) ได้แก่ หมึกทั้งตัวที่ลอกหนังเอาส่วน ตา ปาก และอวัยวะภายในออกทั้งหมด

(3) หมึกหลอด (Tube) ได้แก่ หมึกที่ลอกหนัง ชักไส้ เอาหัวและกระดอง หรือแผ่นไคตินออก โดยจะเอาปีกออกหรือไม่ก็ได้

(4) หมึกแผ่น (Fillet) ได้แก่ หมึกหลอด เอาปีกออกหรือไม่ก็ได้ ผ่าความยาวตลอดลำตัว

(5) หัวหมึก (Head) ได้แก่ ส่วนหัวที่มีหนวดของหมึกที่เอาตา ปาก และถุงหมึกออก

(6) ปีกหมึก (Wing) ได้แก่ อวัยวะส่วนนอก มีลักษณะเป็นแผ่น 2 ข้าง อยู่ติดกับด้านปลายแหลมของตัวหมึก

(7) หมึกสายเอาถุงหมึกออก (Octopus ink off) ได้แก่ หมึกสายที่เอาเฉพาะถุงหมึกออก

(8) หมึกสายชักไส้ (Octopus gutted) ได้แก่ หมึกสายที่เอาอวัยวะภายในออกทั้งหมด จะเอาปากหรือตาออกหรือไม่ก็ได้

2.4 การเสื่อมเสียคุณภาพของหมึกกล้วย

การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของสัตว์น้ำจะเริ่มขึ้นทันทีหลังจากที่สัตว์ตาย ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางลักษณะปรากฏ ไปจนถึงลักษณะอื่นๆ ที่มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค โดยกระบวนการการเปลี่ยนแปลงหลังจากสัตว์น้ำตายเกิดขึ้น ดังนี้

2.4.1 การย่อยสลายตัวเอง (Autolysis)

สัตว์น้ำที่มีชีวิตจะมีกิจกรรมทางชีวเคมีอยู่ตลอดเวลา เช่น กระบวนการเมตาบอลิซึม (Metabolism) การปรับสภาพความเข้มข้นของสารละลายในเนื้อเยื่อให้พอเหมาะกับน้ำทะเล (Osmoregulation) ซึ่งเป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบบางชนิด เช่น ยูเรีย และไกลซีน เป็นต้น แต่สัตว์น้ำที่ตายแล้ว กิจกรรมทางชีวเคมีที่เกิดจากเอนไซม์จะสามารถดำเนินกิจกรรมต่อไป แต่ไม่มีกลไกในการควบคุม และเกิดการเปลี่ยนแปลงดังต่อไปนี้ (บุษกร, 2552)

2.4.1.1 ระยะก่อนการเกร็งตัว (Pre-rigor mortis stage)

เริ่มตั้งแต่สัตว์น้ำตายลง การขนส่งออกซิเจนหยุดชะงัก ส่งผลให้เนื้อเยื่อขาดออกซิเจน ซึ่งเนื้อเยื่อจะใช้พลังงานในรูป ATP (Adenosine triphosphate) โดยเกิดกระบวนการ ATP Hydrolysis (บุษกร, 2552) และสังเคราะห์ ATP จากครีเอทีนฟอสเฟต (Creatine phosphate) หรือจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาร์จีนีนฟอสเฟต (Arginine phosphate) ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งครีเอทีนฟอสเฟตจะพบได้ในปลากระดูกแข็ง ส่วนอาร์จีนีนจะพบได้ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เช่น หมึก (สุทธวัฒน์, 2554) กระบวนการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนของหมึก จะได้สารประกอบ ออกโตพีน (Octopine) เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย (Smits และคณะ, 2008) ปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารนี้ มีเอนไซม์ที่ชื่อว่า ออกโตพีนดีไฮโดรจีเนส (Octopine dehydrogenase, ODS) เป็นตัวกระตุ้นในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรดด่างที่ 6.5 ดังนั้นค่าความเป็นกรดด่างหลังตาย (Postmortem pH) ในกล้ามเนื้อหมึกซึ่งอยู่ในช่วงดังกล่าวจึงเป็นอีกตัวแปรหนึ่งในการส่งเสริมการสังเคราะห์สารตัวนี้ ออกโตพีนทำหน้าที่แทนกรดแลคติกในสัตว์จำพวกมอลลัส (Mollusk) มีการสะสมอยู่ในกล้ามเนื้อของสัตว์จำพวกดังกล่าวในขณะที่เกิดการหายใจโดยไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic metabolism) (Gäde และ Grieshaber, 1986) กระบวนการสังเคราะห์สารนี้สามารถสร้าง ATP ได้ใหม่ จากฟอสโฟอาร์จีนีน (Phosphoarginine) และ อะดีโนซีนไดฟอสเฟต (Adenosine Diphosphate, ADP) (Hiltz และคณะ 1974; Huss, 1995) ชื่อออกโตพีนนี้มาจาก หมึกสาย หรือ หมึกยักษ์ (*Octopus octopedia*) ซึ่งสามารถแยกสารนี้ได้จากสัตว์ประเภทนี้เมื่อปี ค.ศ. 1927 (Miyazawa, 1927) ออกโตพีนสามารถแยกได้จากเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง นอกจากหมึกแล้วยังพบได้ใน หอยกาบยักษ์ (*Pecten maximus*), หนอนทะเล (*Sipunculus nudus*) (Hockachka และคณะ, 1977)

ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนนี้ จะสามารถสังเคราะห์ ATP ได้เพียง 2 ATP จึงทำให้กล้ามเนื้อไม่สามารถรักษาระดับของ ATP ได้ และเมื่อระดับ ATP ภายในเซลล์จาก 7-10 ไมโครโมลาร์ต่อกรัม ลดลงเหลือ 1 ไมโครโมลาร์ต่อกรัม จะทำให้เกิดระยะการเกร็งตัว (Rigor mortis) นอกจากนี้การสร้าง ATP จากกลูโคสในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน จะเกิดกรดแลคติกที่ส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างของเนื้อเยื่อลดต่ำลงด้วย (สุทธวัฒน์, 2554)

ในระยะก่อนการเกร็งตัวนี้ นอกจากจะเกิดกระบวนการหายใจโดยไม่ใช้ออกซิเจนแล้ว ยังเกิดกระบวนการ Dephosphorylation ของ ATP ไปเป็น AMP (adenosine monophosphate) และกระบวนการ Deamination ไปเป็น IMP (inosine monophosphate) โดยมีขั้นตอนดังนี้ (สุทธวัฒน์, 2554)

(1) การเปลี่ยนแปลงจาก ATP ไปเป็น IMP ซึ่งการเปลี่ยนแปลงในขั้นตอนนี้ในปลาทะเล เกิดจากกระบวนการ Dephosphorylation และ Deamination ซึ่งจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 1-2 วัน

(2) การเปลี่ยนแปลง IMP ไปเป็นอิโนทีน (Inosine; HxR) โดยปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นช้าหรือเร็วขึ้นกับชนิดของสัตว์น้ำ แต่จะช้ากว่าปฏิกิริยาในช่วงแรก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(3) การเปลี่ยนแปลงอิโนทีน (Inosine) ไปเป็นไฮโปแซนทีน (hypoxanthine; Hx) อัตราเร็วของปฏิกิริยาขึ้นกับชนิดของสัตว์น้ำ

(4) การเปลี่ยนแปลงไฮโปแซนทีนไปเป็น แซนทีน (Xanthine) และกรดยูริก มีอัตราเร็วของปฏิกิริยาจะช้า และส่วนใหญ่เกิดปฏิกิริยาจากเอนไซม์จากแบคทีเรีย

2.4.1.2 ระยะการเกร็งตัว (Rigor mortis stage)

ในระยะเกร็งตัวนี้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงต่อกล้ามเนื้อ ซึ่งส่งผลต่อลักษณะปรากฏ กลิ่น เนื้อสัมผัสและรสชาติ โดยในช่วงระยะนี้ โปรตีนในกล้ามเนื้อ ได้แก่ แอคติน (Actin) และ ไมโอซิน (Myosin) ซึ่งตามปกติ จะเกิดการยึดจับและคลายตัว โดยอาศัยพลังงาน ATP แต่เมื่อระดับ ATP ลดต่ำลง ส่วนหัวของไมโอซินที่เป็นส่วนของฟิลาเมนท์เส้นหนา จะจับเชื่อมกับส่วนกลางของแอคตินที่เป็นฟิลาเมนท์เส้นบาง ทำให้เกิดโครงสร้างที่ยึดเกาะอย่างแข็งแรงของแอคโตไมโอซิน (Actomyosin) อีกทั้ง ภายหลังจากที่สัตว์น้ำตาย ปริมาณ ATP ที่ลดลง เนื่องจากการลดลงของครีเอทีนฟอสเฟต หรือ ไกลโคเจน จะทำให้หยุดการส่งออกของแคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) ส่งผลให้ปริมาณแคลเซียมอิออนในซาร์โคพลาสซึมเพิ่มขึ้น ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว การเกร็งตัวจะเกิดขึ้นเมื่อมีปริมาณ ATP น้อยกว่า 10^{-4} โมลาร์ และแคลเซียมอิออนมากกว่า 10^{-6} โมลาร์ (สุทธวัฒน์, 2554) การเกร็งตัวนี้ส่งผลให้กล้ามเนื้อสูญเสียความสามารถในการยืดตัว (Extensibility) ซึ่งความสามารถในการยืดตัวนี้สูงสุดในระยะก่อนการเกร็งตัว ดังนั้น การเกร็งตัวจะส่งผลต่อลักษณะสัมผัสของกล้ามเนื้อ อย่างไรก็ตาม เมื่อผ่านระยะเกร็งตัวนี้แล้ว จะเกิดการย่อยสลายของเอนไซม์ภายในกล้ามเนื้อ ทำให้กล้ามเนื้อคลายตัวลง แต่ความยืดหยุ่นของกล้ามเนื้อที่ผ่านระยะเกร็งตัวนี้จะมีความยืดหยุ่นน้อยกว่าเดิม (บุษกร, 2552)

สำหรับหมึกนั้น ความยืดหยุ่นของกล้ามเนื้อจะลดลงเมื่อผ่านช่วงการเกร็งตัวไป โดยจะนุ่มขึ้น และไม่แน่นเหมือนช่วงหลังจากที่ตายใหม่ๆ เมื่อเวลาผ่านไปเนื้อจะมีความเละมากขึ้น อย่างไรก็ตามในช่วงของการเกร็งตัวจะมีคุณสมบัติในการป้องกันการทำลายเนื้อเยื่อโดยจุลินทรีย์และเอนไซม์ต่างๆ (สุทธวัฒน์, 2554) สอดคล้องกับรายงานของ Kugino และคณะ (1997) ซึ่งพบกล้ามเนื้อของหมึกมีการเปลี่ยนแปลงไปหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลาเพียง 12 ชั่วโมง Kagawa และคณะ (2002) รายงานว่า ปฏิกิริยาการเกร็งตัวแตกต่างไปจากสัตว์น้ำอื่นๆ เช่น ปลา ระยะการเกร็งตัวของหมึกจะเริ่มต้นและสิ้นสุดลงภายในระยะ 24 ชั่วโมงหลังจากหมึกตาย นอกจากนี้ การเปลี่ยนแปลงของ ATP ในหมึกจะมีความแตกต่างจากปลาอีกด้วย เนื่องจากในหมึกจะมีการสะสมของ IMP (Inosine-5'-phosphate) ได้น้อยกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.3 ระยะหลังการเกร็งตัว (Post-rigor mortis)

เมื่อสิ้นสุดระยะการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ เอนไซม์ที่อยู่ในกล้ามเนื้อจะย่อยสลายทำให้กล้ามเนื้อจะค่อยๆอ่อนตัวลง (บุษกร, 2552) ซึ่งย่อยแอคโตไมโอซินที่จับกันอยู่ ทำให้กล้ามเนื้อคลายออก ซึ่งสภาวะที่เกิดขึ้นนี้ เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของจุลินทรีย์ (Singh และคณะ 2011)

การเกร็งตัวของสัตว์น้ำมีผลเสียต่อคุณภาพสัตว์น้ำ ทำให้สัตว์น้ำสูญเสียคุณภาพในการยืดตัว (Extensibility) และในสัตว์น้ำที่อุณหภูมิห้อง มีโอกาสที่จะเกิด Gapping ซึ่งจะเกิดขึ้นมากเมื่อเนื้อเยื่อเกี่ยวพันอ่อนตัว และหากสัตว์น้ำเกิดการเกร็งตัวที่อุณหภูมิที่ค่อนข้างสูง จะทำให้เกิดการสูญเสียน้ำสูง (Drip loss) มากขณะการทำละลาย (Thawing) และให้เนื้อที่เหนียวภายหลังการให้ความร้อน (สุทธวัฒน์, 2554)

2.4.2 การเปลี่ยนแปลงของหมึกระหว่างการเก็บรักษา

นอกจากนี้ยังมีการเปลี่ยนแปลงอื่นๆที่เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาหมึก เช่นการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบเอมีนที่ระเหยได้ในหมึก (Volatile amines), การเปลี่ยนแปลงของไขมัน , การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่าง, การเปลี่ยนแปลงสี และการเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัส เป็นต้น

2.4.2.1 การเปลี่ยนแปลงของเอมีนที่ระเหยได้

เอมีนที่ระเหยได้เป็นโมเลกุลเฉพาะที่บ่งบอกถึงกลิ่นรสที่เปลี่ยนไปของสัตว์น้ำ และเป็นเกณฑ์ในการประเมินคุณภาพของสัตว์น้ำร่วมกับการใช้เกณฑ์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

องค์ประกอบของเอมีนที่ระเหยได้ แบ่งได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ แอมโมเนีย (Ammonia), ไดเมทิลเอมีน (Dimethylamine, DMA) และ ไตรเมทิลเอมีน (Trimethylamine, TMA) ไดเมทิลเอมีนและไตรเมทิลเอมีนเป็นผลของการรีดิวซ์ ไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ (Trimethylamine oxide, TMAO) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลร่างกายของสัตว์น้ำ ด้วยเอนไซม์ไตรเมทิลเอมีนรีดักเทส (Trimethylamine reductase) ซึ่ง Monique (2005) ระบุความแตกต่างกันระหว่างเอมีน 2 ชนิดนี้ว่า ไดเมทิลเอมีนเกิดจากการสลายไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ด้วยเอนไซม์ไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ดีเมทิลเลส (Trimethylamine oxide demethylase, TMAO demethylase หรือ TMAOease) ดังสมการ (สุทธวัฒน์, 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$(CH_3)_3\ NO \longrightarrow (CH_3)_2\ NH + HCHO$

(trimethylamine oxide) (dimethylamine oxide) + formaldehyde

สำหรับไตรเมทิลเอมีน เป็นผลิตภัณฑ์ของการรีดิวซ์สารไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ด้วยจุลินทรีย์ จึงสามารถใช้ไตรเมทิลเอมีนเป็นดัชนีบ่งบอกการเน่าเสียซึ่งมีสาเหตุจากจุลินทรีย์ได้ (บุษกร, 2552) โดยจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียจะใช้ไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ในเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในการหายใจแบบไม่ใช้อากาศ ไตรเมทิลเอมีนเป็นผลิตภัณฑ์ที่จะให้กลิ่นคาวและพบในปริมาณที่แตกต่างกันไปตามชนิดของสัตว์น้ำ (สุทธวัฒน์, 2554)

แอมโมเนียเป็นสารประกอบเอมีนที่ระเหยได้อีกชนิดหนึ่งที่ตรวจพบในสัตว์น้ำ ปลาที่จับขึ้นมาได้ใหม่ มีปริมาณแอมโมเนียประมาณ 10 มิลลิกรัมต่อปลา 100 กรัม การเพิ่มปริมาณแอมโมเนียเกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ซึ่งสามารถย่อยโปรตีน เปบไทด์ และกรดอะมิโนได้ นอกจากนี้แอมโมเนียนั้นยังได้จากการสลายตัวตามธรรมชาติของ อะดิโนซีน โมโนฟอสเฟต (AMP) (Huss, 1995) แอมโมเนียสามารถใช้เป็นดัชนีชี้วัดที่สำคัญสำหรับการวัดคุณภาพหมึกได้ (LeBlanc และ Gill, 1984) โดย Paarups และคณะ (2002) รายงานถึงปริมาณแอมโมเนียที่เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาหมึกฮัมโบลต์ (*Todaropsis eblanae*)

2.4.2.2 การเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรดด่าง

การเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรดด่างในหมึกนั้น Benjakul และคณะ (2011) รายงานว่า ความเป็นกรดด่างของหมึกกล้วย (*L. formosana*) ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเพิ่มขึ้น และแปรผันตรงกับเวลาในการเก็บรักษา และเกี่ยวเนื่องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณเอมีนที่ระเหยได้ต่างๆ เช่น ไตรเมทิลเอมีน และปริมาณแอมโมเนีย ในระหว่างการเก็บรักษา

2.4.2.3 การเปลี่ยนแปลงสี

ลำตัวของหมึกที่มีชีวิต หรือที่เพิ่งจับได้สดๆ มีลักษณะโปร่งใส ไม่มีสี โดยที่ความโปร่งใสของเนื้อนั้นจะลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ประเทศญี่ปุ่นจึงใช้ค่าความโปร่งใสของเนื้อหมึกเป็นดัชนีในการวัดความสดของหมึก (Yoshioka และคณะ, 2003) อีกทั้งในวัฒนธรรมการบริโภคหมึกดิบแบบซาชิมิ ความโปร่งใสของตัวหมึกยิ่งส่งผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค (Kugino และคณะ, 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนแปลงสีที่ผิวหนังและกล้ามเนื้อของหมึก อาจใช้เป็นดัชนีเบื้องต้นในการวัดคุณภาพของหมึกได้ โดย Lapa-Guimarães และคณะ (2002) ได้รายงานการเปลี่ยนแปลงของค่าสีของหมึกกล้วย (*L. plei*) ที่เก็บรักษาด้วยการแช่น้ำแข็ง พบว่า การลดลงของค่าความสว่าง (Lightness) ในส่วนหนังหมึก แต่มีค่า a* และ b* เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ Benjakul และคณะ (2011) เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงค่าสีของหมึกกล้วย (*L. formosana*) เมื่อเพิ่มเวลาการเก็บรักษา โดยมีค่า a* และ b* เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2.3.2.4 การเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัส

ลักษณะทางประสาทสัมผัสนั้นเป็นอีกปัจจัยคุณภาพที่ส่งผลต่อการลดลงของการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสในผลิตภัณฑ์หมึก การประเมินค่าความสดของสัตว์น้ำโดยวิธีทางประสาทสัมผัส จะให้ผลดีเมื่อใช้ผู้ทดสอบที่มีประสบการณ์และความชำนาญ เพราะ ในการตรวจสอบจะต้องใช้วิธีชิมรส (Taste) การดมกลิ่น (Smell) การสัมผัส (Touch) และการมองเห็น (Sight) อย่างไรก็ตาม การใช้เกณฑ์ในการตัดสินอาจช่วยให้การพิจารณาเป็นไปอย่างแม่นยำมากขึ้น ดังนั้น ข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะภายนอกของสัตว์น้ำสดแต่ละชนิด จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการตรวจสอบทางประสาทสัมผัส เพื่อมาประเมินค่าความสดของสัตว์น้ำต่อไป (มัทนา, 2548)

สำหรับมาตรฐานของประเทศไทย ได้กำหนดเกณฑ์ในการประเมินคุณภาพเพื่อแบ่งชั้นคุณภาพของหมึกตามมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) ฉบับที่ 7005-2548 ว่าด้วยเรื่องชั้นคุณภาพของหมึก (ตารางที่ 2.2) มีรายละเอียดว่า

- คุณภาพชั้นหนึ่ง เป็นหมึกที่มีคุณภาพดี ต้องมีทุกคุณลักษณะเป็นไปตามหลักเกณฑ์การตรวจชั้นคุณภาพหมึก และมีคะแนนไม่ต่ำกว่าระดับ 3
- คุณภาพชั้นสอง เป็นหมึกที่มีคุณภาพที่ดี มีความสดเป็นรองจากชั้นหนึ่ง และมีทุกคุณลักษณะเป็นไปตามหลักเกณฑ์การตรวจคุณภาพหมึก และมีคะแนนไม่ต่ำกว่าระดับ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 หลักเกณฑ์การให้คะแนนการตรวจชั้นคุณภาพหมึกกล้วย, หมึกหอม และ หมึกกระดอง

คุณลักษณะ	คะแนน
(1) ผิวหนัง (กรณีหมึกไม่ลอกหนัง)	
- ตัวของหมึกกล้วยมีสีขาวค่อนข้างใสมีจุดสีเทา/ม่วง/ชมพู ประปราย	3
- ตัวมีสีขาว จุดสีแตกออกเป็นสีม่วงแดงเป็นกลุ่มๆ หนังแต่ละชั้นหลุดออกจากกันได้ง่าย	2
- ตัวมีสีชมพู หรือมีสีที่ผิดธรรมชาติ	1
(2) ลักษณะเนื้อ	
- เนื้อแน่น มีความยืดหยุ่นปานกลาง มีสีขาวจนถึงสีเหลืองอ่อนตามธรรมชาติ	3
- เนื้อไม่แน่น แต่ยังมีความยืดหยุ่นเล็กน้อยมีสีชมพูเรื่อๆ	2
- เนื้อนิ่ม มีการซึมของเม็ดสีเข้าในเนื้อ มีสีเหลือง ชมพู หรือสีส้มทั้งตัว	1
(3) กลิ่น	
- มีกลิ่นธรรมชาติของหมึกสดจางลงจนถึงไม่มีกลิ่น	3
- มีกลิ่นคาวเล็กน้อย แต่ไม่มีกลิ่นเน่าเสีย	2
- มีกลิ่นคาวจัด กลิ่นที่เกิดจากการเน่าเสีย หรือ กลิ่นผิดปกติอื่นๆ	1

2.4.3 การเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์

การเสื่อมเสียของสัตว์น้ำ โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์จะเริ่มภายหลังจากกระบวนการย่อยสลายด้วยตัวเองไประยะหนึ่ง เมื่อกลไกการป้องกันจุลินทรีย์ตามธรรมชาติของปลาสดเสื่อมสภาพลง จุลินทรีย์บริเวณผิวของสัตว์น้ำจะสามารถเจริญเติบโตได้ (Singh และคณะ 2011) จุลินทรีย์ที่พบในสัตว์น้ำและเป็นสาเหตุของการเน่าเสียนั้นจะแตกต่างกันไปตามแหล่งที่อยู่อาศัย เช่นในเขตน้ำอุ่นจะพบกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ สกุล *Acinetobacter Moraxella Pseudomonas Shewanella* และ *Flavobacterium* และกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก สกุล *Bacillus Micrococcus Clostridium* และ *Lactobacillus* (FAO, 1995) ซึ่งจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการเน่าเสียของหมึกเกี่ยวข้องกับการย่อยโปรตีน และการเกิดแอมโมเนียไตรเมทิลเอมีนสูง ส่งผลให้พีเอชเพิ่มขึ้น ได้แก่ กลุ่ม Enterococci (สุทธวัฒน์, 2554) จุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ไตรเมทิลเอมีนรีดักเทสจะรีดิวซ์ไตรเมทิลเอมีนออกไซด์เป็น ไตรเมทิลเอมีน ทำให้เกิดกลิ่นคาว (Fishy) ขึ้นในสัตว์น้ำ

Paarup และคณะ (2002) รายงานว่า จุลินทรีย์ที่ทำให้หมึกเน่าเสียได้แก่ จุลินทรีย์ในจีนัส *Pseudoalteromonas* spp. *Shewanella putrefaciens* และ *Pseudomonas spp.* ซึ่งตรวจพบว่าเพิ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนขึ้นระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง กิจกรรมของจุลินทรีย์นี้แสดงผลร่วมกับการย่อยสลายตัวเองของหมึก และเป็นดัชนีชี้วัดความสดของหมึกได้วิธีหนึ่ง สอดคล้องกับรายงานของ Vaz-Pires และ Barbosa (2004) ซึ่งได้ศึกษาในหมึกสาย (*Octopus vulgaris*) พบว่า จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ได้แก่ *S. putrefaciens* จุลินทรีย์ตัวนี้สามารถผลิตไตรเมทิลเอมีน ซึ่งเป็นสาเหตุของกลิ่นเน่าเสีย สัตว์น้ำที่เน่าเสียแล้วจึงตรวจพบไตรเมทิลเอมีนเสมอ (บุษกร, 2552) นอกจากนี้ยังพบ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Hydrogensulfide, H_2S) เมทิลเมอร์แคบแทน (Methyl mercaptan, CH_3SH) ไดเมทิลซัลไฟด์ ($(CH_3)_2S$) ไฮโปแซนทีน (Hypoxanthine, Hx) และกรด จากสารตั้งต้นได้แก่ ไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ อะมิโนซีสเตอีน (Cysteine), อะมิโนเมไทโอนีน (Methionine), อินโนซีนโมโนฟอสเฟต (IMP) และคาร์โบไฮเดรต ตามลำดับ สำหรับ *Pseudomanas spp.* ทำให้เกิดกลิ่นรสเน่าเสีย (Rotten), ซัลไฟดริล (Sulfhydryl) (Gram และ Huss, 1996)

ตามประกาศของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กำหนดให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total viable count) ต้องมีจำนวนไม่เกิน 10^6 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัมของเนื้อหมึก แต่ยอมให้มีจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ในระหว่าง 10^6 โคโลนี ถึง 10^7 ได้ไม่เกิน 3 จาก 5 ตัวอย่าง (มกอช., 2548)

2.5 สารเคมีที่ใช้กันเสีย (Chemical preservative)

ดังที่กล่าวไปข้างต้นว่า จุลินทรีย์ทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงที่ไม่พึงประสงค์ต่อคุณลักษณะของอาหาร เช่น ทำให้เกิดกลิ่นเน่าเหม็น, รสชาติเปลี่ยนไป, ทำให้สีเปลี่ยนไป หรือเกิดความเปลี่ยนแปลงต่อลักษณะทางกายภาพและจุลินทรีย์บางชนิดเป็นจุลินทรีย์ก่อโรค เป็นต้น (Lucera และคณะ 2012) ดังนั้นเพื่อป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร อุตสาหกรรมอาหารจึงนิยมใช้กรรมวิธีหลายอย่างในการผลิตเพื่อลดหรือทำลายจุลินทรีย์ เช่น การใช้ความร้อน การหมักเกลือ (Salting) การเติมกรด (Acidification) และการทำแห้ง (Drying) (Davidson และ Taylor, 2007; Farkas, 2007) รวมถึงการเติมสารเคมีที่เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (Food additive) เพื่อจุดประสงค์ในการยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์อีกด้วย

วัตถุเจือปนในอาหาร หมายถึง วัตถุที่ตามปกติไม่ได้ใช้เป็นอาหาร หรือ ส่วนประกอบที่สำคัญของอาหาร แต่ใช้เจือปนในอาหารเพื่อประโยชน์ทางเทคโนโลยีการผลิต, การแต่งสี, การปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร, การบรรจุ, การเก็บรักษา หรือการขนส่ง รวมถึงวัตถุที่ไม่ได้เจือปนในอาหาร แต่มีภาชนะบรรจุไว้เฉพาะใส่รวมกับอาหารเพื่อประโยชน์ดังกล่าวข้างต้นด้วย (ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 281, 2547) ซึ่งการใช้สารเคมีในการยืดอายุการเก็บรักษาเป็นหนึ่งในประเภทของวัตถุเจือปนอาหาร ซึ่งสามารถแบ่งตามหน้าที่ได้คือ วัตถุกันเสีย หรือ สารต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Anti-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

microbial agent), วัตถุกันหืน หรือ สารต้านการเกิดออกซิเดชัน (Anti-oxidation agent) และ สารยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล (Anti-browning agent) (Davidson และ Juneja, 1989)

สารกันเสีย (Chemical preservative) หรือ สารต้านเชื้อจุลินทรีย์ เป็นสารที่เติมลงไปในอาหารเพื่อป้องกันการเจริญหรือการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ในอาหาร ทั้งแบคทีเรีย, ยีสต์ และรา โดยมีทั้งสารที่ออกฤทธิ์เป็นตัวยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ หรือ เป็นสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์หรือป้องกันสารพิษที่สร้างจากจุลินทรีย์ (Msagati, 2012) โดยจะกล่าวถึงสารที่ใช้ในการทดลองนี้ทั้ง 3 ชนิด ดังต่อไปนี้

2.5.1 โซเดียมคลอไรด์

โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride) มี CAS number 7647-14-5 (JECFA, 1986) และมีสูตรทางเคมีคือ NaCl น้ำหนักโมเลกุล 58.44 กรัมต่อโมล่าร์ โครงสร้างเป็นผลึกแบบคิวบิก (Cubic) พบในรูปผงสีขาวละเอียด หรือมีลักษณะเป็นผลึกโปร่งใส รสเค็ม จุดเดือด 1,465 องศาเซลเซียส (ที่ 760 มิลลิเมตรปรอท) จุดหลอมเหลว 800.7 องศาเซลเซียส ละลายได้ดีในน้ำที่ 36 กรัมต่อ 100 กรัม (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส) และละลายได้น้อยมากในเอธานอล (Haynes, 2013)

สำหรับข้อมูลความเป็นพิษของการบริโภคเกลือ พบการรายงานเป็นค่า Oral LD_{50} โดยมีปริมาณที่ก่อให้เกิดพิษเฉียบพลัน (Acute toxicity) เท่ากับ 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในหนูแรท (Rat) และ 4,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในหนูเมาส์ (mouse) รวมถึง 12,357 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวในมนุษย์ (Stacy, 2004) ความเป็นพิษดังกล่าวจัดอยู่ใน WHO class III ที่แสดงถึงระดับความเป็นพิษที่ต่ำมาก (WHO, 2009) อย่างไรก็ตามการบริโภคเกลือความเข้มข้นสูงมากโดยตรงสามารถทำให้เกิดภาวะเกลือโซเดียมสูง (Hypernatremia) หรือ ภาวะที่ร่างกายขาดน้ำเมื่อเทียบกับปริมาณโซเดียม แต่โดยปกติแล้ว การบริโภคเกลือโดยทั่วไปที่ประมาณ 2 ถึง 10 กรัมต่อวัน จะไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย (Kolman, 2005)

เกลือยังส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ โดยสามารถทำให้จุลินทรีย์บางชนิดไม่สามารถเจริญได้ เนื่องจากเกลือจะส่งผลต่อกระบวนการออสโมซิสของเซลล์ เนื่องจากความเข้มข้นของตัวทำละลายในเซลล์จะสูงกว่าภายนอก ทำให้โมเลกุลของตัวทำละลายไหลออกจากเซลล์ หรือเรียกว่า เกิดกระบวนการ Exosmosis ทำให้เซลล์เกิดการหดตัว (Shrink) เนื่องจากปริมาตรภายในเซลล์ลดลง (เรืองลักขณา, 2537) การใช้เกลือในอาหารสามารถยับยั้งการเจริญและการเหลือรอดของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ ถึงแม้ว่าในปัจจุบันมีการพัฒนาวิทยาการในการเก็บรักษาและพัฒนาเทคนิคบรรจุภัณฑ์ รวมไปถึงพัฒนาระบบการขนส่งสินค้าให้รวดเร็วขึ้น ก็ยังมีการใช้เกลืออย่างแพร่หลายใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย จึงสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร เนื่องจากอาหารมีสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค และช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการบางตัว เช่น ในอาหารหมักและผลิตภัณฑ์อาหารอื่นๆ และในอุตสาหกรรมอาหารมีผลิตภัณฑ์อาหารมากมายที่เติมสารประกอบของเกลือเพื่อวัตถุประสงค์ในการเป็นสารกันเสีย (Henney และคณะ 2010)

2.5.2 โซเดียมคาร์บอเนต

โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) (CAS Number 497-19-8, INS Number 500 (i)) น้ำหนักโมเลกุล 106.0 กรัมต่อโมล่าร์ มีลักษณะเป็นผงหรือก้อนสีขาวเหลือบเทาหากมีความเข้มข้นที่ 99 เปอร์เซ็นต์ ดูดความชื้นจากอากาศได้ดี (Hygroscopic) ไม่มีกลิ่น ให้รสฝาด (O'Neil, 2006) มักพบอยู่ในรูปของโมโนไฮเดรท (Mono-hydrate) และ เดคาไฮเดรท (Decahydrate) สารชนิดนี้ละลายได้ดีในน้ำที่ 30.7 กรัมต่อลิตร (ที่ 25 องศาเซลเซียส) แต่ไม่ละลายในเอธานอลและอะซิโตน มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 851 องศาเซลเซียส (Haynes, 2010) โดยปกติแล้วโซเดียมคาร์บอเนตเกรดที่มีความบริสุทธิ์สูง ต้องมีร้อยละความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 98 เปอร์เซ็นต์ หากความบริสุทธิ์น้อยลงอาจมีการเจือปนของสารอื่นๆ เช่น น้ำ (< 1.5 เปอร์เซ็นต์) โซเดียมคลอไรด์ (< 0.5 เปอร์เซ็นต์) ซัลเฟต (< 0.1 เปอร์เซ็นต์) แคลเซียม (< 0.1 เปอร์เซ็นต์) แมกนีเซียม (< 0.1 เปอร์เซ็นต์) และเหล็ก (< 0.004 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้ความบริสุทธิ์ของโซเดียมคาร์บอเนตขึ้นอยู่กับวัตถุดิบตั้งต้น (Raw material) ในกลุ่มยุโรปได้กำหนดค่าความบริสุทธิ์ของโซเดียมคาร์บอเนตที่ใช้ในทางการแพทย์ต้องมีความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 99.5 เปอร์เซ็นต์ (Pharmacopée Européenne, 1996)โซเดียมคาร์บอเนตเป็นสารที่มีฤทธิ์เป็นด่าง (Alkaline substance) มีค่า Oral LD_{50} ในหนู (Rat) เท่ากับ 2,800 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว แต่โดยทั่วไปแล้วโซเดียมคาร์บอเนตถูกใช้เป็นวัตถุเจือปนในอาหารมาเป็นเวลานาน โดยใช้เป็นสารปรับความเป็นกรดด่าง (Acidity regulator), เป็นสารป้องกันการรวมตัวเป็นก้อน (Anti-caking agent) และใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารเช่น ขนมเพรทเซลบางชนิด, เส้นบะหมี่ และขนมขบเคี้ยว (Kujore, 2009) โซเดียมคาร์บอเนตถูกจัดให้อยู่ในจำพวก "GRAS" หรือ Generally recognized as safe (FDA, nd.) ซึ่งหมายถึงสารเคมีที่ผ่านการรับรองโดยองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกาว่า สามารถใช้เติมลงไปในอาหารได้อย่างปลอดภัย และส่วนใหญ่ไม่จำกัดปริมาณการใช้ แต่จะให้ใช้เท่าที่จำเป็น ตามข้อกำหนด GMP (FAO, 1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 โซเดียมไบคาร์บอเนต

โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium bicarbonate) (CAS Number 144-55-8, INS Number 500 (ii)) น้ำหนักโมเลกุล 105.99 กรัมต่อโมล่าร์ มีลักษณะเป็นผลึกละเอียดสีขาว ไม่มีกลิ่น มีรสฝาด สลายตัวที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีจุดหลอมเหลวที่ 856 องศาเซลเซียส โซเดียมคาร์บอเนตจัดเป็นเกลืออนินทรีย์ สามารถละลายได้ในน้ำที่ 96 กรัมต่อลิตร (ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส) ไม่ละลายในเอทานอล (Haynes, 2010) คุณภาพของโซเดียมคาร์บอเนตขึ้นอยู่กับขนาดอนุภาคที่มีช่วงอยู่ระหว่าง 15 ถึง 300 ไมโครเมตร (UNEP, 2002) สารประกอบนี้ต้องมีระดับความบริสุทธิ์ที่ร้อยละ 98 หากต่ำกว่านี้ จะมีสารอื่นๆ ปะปน เช่น โซเดียมคาร์บอเนต (< 1 เปอร์เซ็นต์), (น้ำ < 0.5 เปอร์เซ็นต์), คลอไรด์ (< 0.1 เปอร์เซ็นต์), ซัลเฟต (< 0.1 เปอร์เซ็นต์) และแคลเซียม (< 0.1เปอร์เซ็นต์) ในยุโรปความบริสุทธิ์ของโซเดียมไบคาร์บอเนต ที่ใช้ในทางการแพทย์ต้องมากกว่า99 เปอร์เซ็นต์ (Pharmacopée Européenne, 2001) นอกจากนี้ การสลายตัวที่อุณหภูมิมากกว่า 50 องศาเซลเซียสของโซเดียมไบคาร์บอเนตจะปลดปล่อย ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbon dioxide, CO_2) น้ำ และโซเดียมคาร์บอเนตออกมา

ด้วยสมบัติที่สามารถปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้โซเดียมคาร์บอเนตใช้เป็นสารที่ทำให้ขึ้นฟู (Leavening agent) ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ (Davidson และ Juneja, 1989) นอกจากนี้ยังถูกจัดให้อยู่ในจำพวก “GRAS” เช่นเดียวกับโซเดียมคาร์บอเนต (FDA, 1983) และไม่มีการรายงานถึงระดับที่ยอมรับได้ต่อวัน (Acceptable Daily Intake, ADI) ในมนุษย์ โซเดียมไบคาร์บอเนตเป็นส่วนประกอบของ Extracellular buffer ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง (Vertebrate) (UNEP, 2002) ค่า Oral LD_{50} ในหนูทดลองเท่ากับ 7,334 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว จัดอยู่ใน WHO class III หรือระดับความเป็นพิษที่ต่ำมาก (WHO, 2009) และจากรายงานของ Fukushima และคณะ (1989) ในการทดสอบความเป็นสารก่อมะเร็ง (Carcinogen) ในหนูทดลองตัวผู้ ด้วยการผสมโซเดียมไบคาร์บอเนต 0.64 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหาร เป็นเวลา 104 สัปดาห์ ผลการผ่าพิสูจน์ไม่พบเนื้องอกหรือก้อนเนื้อที่ผิดปกติในอวัยวะภายใน

2.6 การแช่เย็น (Chilling)

การแช่เย็น หมายถึง การเก็บรักษาอาหารสดไว้ในอุณหภูมิ 0 -10 องศาเซลเซียส เหมาะสำหรับการเก็บรักษาในระยะสั้น (กระทรวงสาธารณสุข, 2561) โดยตัวกลางในการให้ความเย็นอาจเป็น อากาศ น้ำ หรือสารให้ความเย็น เช่น น้ำแข็งผสมน้ำ หรือแม้กระทั่งแผ่นโลหะเย็นในเครื่องแลกเปลี่ยนความร้อน (Rosca และคณะ 2017) การแช่เย็นจัดเป็นวิธีถนอมอาหารที่นุ่มนวลที่สุด เพราะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อรสชาติ เนื้อสัมผัส และคุณค่าทางอาหารน้อยที่สุด นอกจากนี้ยังสามารถลดอัตราการเสื่อมเสียของอาหาร ได้อีกด้วย การแช่เย็นเป็นการลดอุณหภูมิให้ต่ำที่สุดที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ ทำให้สามารชะลอการเจริญและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์โดยเฉพาะจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดเทอร์โมไฟล์ (Thermophile) และ เมโซไฟล์ (Mesophile) ซึ่งมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญแสดงดังตารางที่ 2.2 นอกจากนี้ยังสามารถลดอัตราการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของเอนไซม์ และช่วยยับยั้งการหายใจของอาหารสด (กิตตยา และ โสบุญชัย, 2545)

ตารางที่ 2.2 กลุ่มของจุลินทรีย์จำแนกตามช่วงของอุณหภูมิที่สามารถเจริญได้

กลุ่ม	ช่วงของอุณหภูมิที่สามารถเจริญได้ (องศาเซลเซียส)		
	อุณหภูมิขั้นต่ำ	อุณหภูมิที่เหมาะสม	อุณหภูมิสูงสุด
Thermophiles	35 ถึง 45	55 ถึง 75	60 ถึง 90
Mesophiles	5 ถึง 10	30 ถึง 45	35 ถึง 70
Psychrotropes	-5 ถึง 5	20 ถึง 30	30 ถึง 35
Psychrophiles	-5 ถึง 5	12 ถึง 15	15 ถึง 20

ที่มา: Fellows (2009)

อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ถึงแม้ว่าจุลินทรีย์จะสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิช่วงกว้างคือ -8 องศาเซลเซียส ไปจนถึง 90 องศาเซลเซียส แต่จุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถเจริญที่อุณหภูมิประมาณ 35 องศาเซลเซียส การใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อผลิตภัณฑ์ นอกจากจะช่วยชะลอการเสื่อมเสียแล้ว ยังช่วยรักษาคุณภาพที่ดีของผลิตภัณฑ์อาหารไว้ได้ (วิไล, 2536) ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับอาหารแต่ละประเภท แสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่เย็นของอาหารประเภทต่างๆ

ชนิดอาหาร	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (วัน)
เนื้อสัตว์สด เช่น หมู วัว แกะ แพะ		
-เนื้อเป็นชิ้น	ไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 5 วัน
-เนื้อบด	ไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 5 วัน
-เครื่องใน	ไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 2 วัน
เนื้อสัตว์ปีกสด		
-เนื้อสัตว์ปีกทั้งตัว	ไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 2 วัน
-เนื้อสัตว์ปีกเป็นชิ้น	ไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 2 วัน
-เครื่องใน	ไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 2 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 (ต่อ) อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่เย็นของอาหารประเภทต่างๆ

ชนิดอาหาร	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (วัน)
ปลาและอาหารทะเล		
-ปลาทั้งตัว	ไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 2 วัน
-ปลาเป็นชิ้น	ไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 2 วัน
-กุ้ง หอย ปู หมึก	ไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 2 วัน
ไข่		
-ไข่สดทั้งใบ	ไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 5 สัปดาห์
-ไข่แดง ไข่ขาวดิบ	ไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 3 สัปดาห์
ผัก		
-ผักกินใบ เช่น คะน้า ผักกาด	ไม่เกิน 7 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 5 วัน
-ผักกินหัว เช่น มัน ขิง ข่า แครอท หอม	ไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 10 วัน
-ผักที่มีผล เช่น มะเขือ ฟัก บวบ พริกสด	ไม่เกิน 20 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 10 วัน
ผลไม้		
-ผลไม้เปลือกหนา เช่น มะนาว ส้ม สับปะรด	ไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 2 สัปดาห์
-ผลไม้เปลือกบาง เช่น องุ่น ละมุด ฝรั่ง มะม่วง	ไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส	ไม่เกิน 5 วัน

ที่มา: กระทรวงสาธารณสุข (2561)

2.7 การออกแบบการทดลอง (Design of Experiment, DOE)

การออกแบบการทดลองเป็นการออกแบบเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีทุกๆ คุณลักษณะเป็นไปตามที่ต้องการมากที่สุด โดยการหาสัดส่วนที่เหมาะสมที่สุด (Optimization) ด้วยการสร้างสมการทางคณิตศาสตร์มาอธิบายความสัมพันธ์ของปัจจัย (Factor) ที่มีผลต่อผลตอบสนอง (Response) หรืออีกนัยหนึ่งก็คือ คุณภาพของผลิตภัณฑ์ นั้นเอง ทั้งนี้ สามารถวางแผนเพื่อศึกษาผลของหลายๆ ปัจจัย หรืออิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยในเวลาเดียวกันด้วย ซึ่งจะทำให้สามารถลดจำนวนสิ่งทดลอง หรือ ทรีตเมนต์ ลงให้น้อยกว่าการศึกษาที่ละปัจจัยได้ ซึ่งการออกแบบการทดลองจัดว่าเป็นวิธีการเก็บข้อมูลที่มีประสิทธิภาพ มีการปรับค่าของปัจจัย อย่างมีจุดมุ่งหมายเพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงของผลตอบสนอง ที่เกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการที่มีปัจจัย (X) ต่างๆ ที่ส่งผลต่อคุณลักษณะด้านคุณภาพ (Quality characteristic) ของผลิตภัณฑ์ หรือ ผลตอบสนอง (Y) จำเป็นต้องทดลองแบบเป็นระบบ เพื่อหาความสัมพันธ์เชิงสถิติของ Y และ X และใช้ความสัมพันธ์เชิงสถิติดังกล่าวในการปรับปรุงกระบวนการผลิตในขั้นถัดไป เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ หรือคุณลักษระตามที่ต้องการมากที่สุด

2.7.1 การออกแบบการทดลองแบบผสม (Mixture design)

การออกแบบการทดลองแบบผสม คือ การทดลองวิเคราะห์ค่าผลตอบสนอง (response) ที่เป็นฟังก์ชั่นเปอร์เซ็นต์ของส่วนประกอบ (Components) มีวัตถุประสงค์คือสำรวจผลตอบ เพื่อประมาณค่าพารามิเตอร์ของแต่ละส่วนประกอบ ที่จะทำให้ผลตอบมีค่ามากที่สุด หรือเป็นไปตามที่ผู้ทดลองต้องการ

การออกแบบการทดลองแบบผสม เป็นการออกแบบพื้นผิวตอบสนอง (Response surface) ประเภทหนึ่ง แต่มีข้อจำกัดคือ ระดับของปัจจัย (Factor) จะไม่เป็นอิสระต่อกัน โดยผลรวมของแต่ละปัจจัยจะต้องเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ หรือ 1 ส่วน (Myers และคณะ 2009) โดยประเภทของการออกแบบการทดลองแบบผสม โดยทั่วไปมีแบบแผนการวางแผนการทดลองย่อย 4 แบบ ได้แก่

2.7.1.1 ชนิดซิมเพล็กซ์ แล็คทิส (Scheffé simplex lattaice)

การออกแบบการทดลองแบบผสม ชนิดซิมเพล็กซ์ แล็คทิส โดยส่วนใหญ่แล้วจะอธิบายค่าตอบสนองที่ได้ด้วยสมการพหุนาม (Polynomial function) พิกัด (Coordinate) หรือองค์ประกอบ (Component) ซึ่งเป็นส่วนผสมต่างๆ ของการทดลอง (สุจินดา, 2548) สามารถคำนวณได้ดังนี้

$$X_i = 0, 1/m, 2/m, \ldots, 1$$

โดยที่ i = เป็นส่วนผสมที่ 1, 2, 3, … q

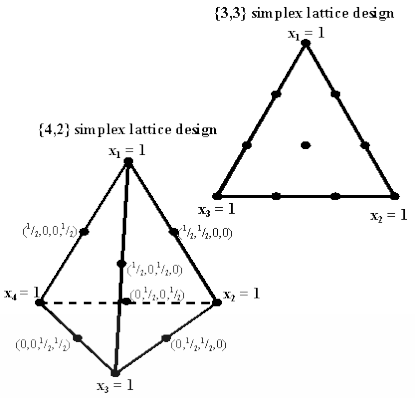
m = เป็นจำนวนระดับของส่วนผสมที่ใช้ศึกษา (ไม่นับ 0%) : 2,...

กรณีที่มี q = 3 หรือ มี 3 ส่วนผสม หาก m = 3 องค์ประกอบที่ได้เป็นส่วนประกอบของ X1 X2 และ X3 จะเป็น 0, 1/3, 2/3 และ 1 ตามลำดับ และสามารถคำนวณจำนวนจุดในการทดลองทั้งหมดจาก

$$M = (m+q-1)!/m!(q-1)!$$

$$= q(q+1)..(q+m-1)/(1)(2)\ldots m$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

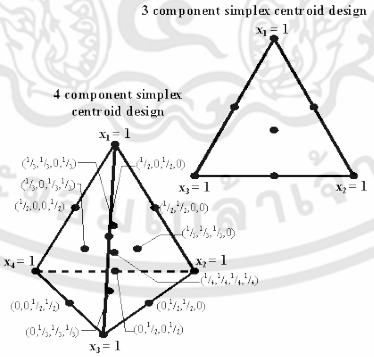


ภาพที่ 2.6 ภาพสิ่งทดลองสำหรับการออกแบบการทดลองแบบผสมชนิดซิมเพล็กซ์ แล็คทิส

ที่มา: Scheffé (1958)

2.7.1.2 ชนิดซิมเพล็กซ์ เซ็นทรอยด์ (Scheffé Simplex centroid)

เป็นการออกแบบแผนการทดลอง มีสิ่งทดลองเท่ากับ $2^q - 1$ แต่ละปัจจัยมีสัดส่วนที่เท่ากันทุกปัจจัย สิ่งทดลองประกอบด้วยจุดที่เป็นส่วนผสมเดี่ยว (Pure components) ต่างๆ หมายถึง สิ่งทดลองที่มีปัจจัยนั้น 100 เปอร์เซ็นต์ หรือเท่ากับ 1.0 และ 0.5, 0.5, 0, …, 0 เป็นส่วนผสมคู่ (Binary mixtures) และ 1/3, 1/3, 1/3, 0, …, 0 สำหรับส่วนผสม 3 ชนิด และ 1/q, 1/q, 0,…, 0 สำหรับส่วนผสมแบบคิวนารี่ (Q-nary mixture; centroid) และจุดกึ่งกลาง (1/q, 1/q, …, 1/q) แสดงดังภาพที่ 2.7 (สุจินดา, 2548)



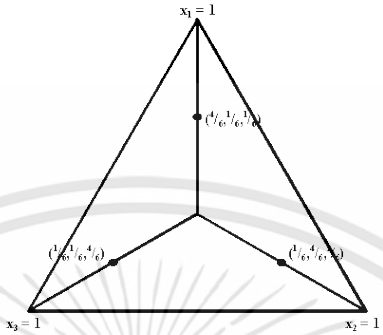
ภาพที่ 2.7 ภาพสิ่งทดลองสำหรับการออกแบบการทดลองแบบผสมชนิดซิมเพล็กซ์ เซ็นทรอยด์

ที่มา: Scheffé (1958)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.1.3 ชนิดซิมเพล็กซ์ แอ็กเซียล (Simplex axial) (สุจินดา, 2548)

การวางแผนการทดลองนี้ จะเน้นจุดที่เป็นส่วนประกอบต่างๆของทุกปัจจัย ดังรูปที่ 2.8 ซึ่งแสดงจุดกึ่งกลางของแต่ละส่วนย่อย



ภาพที่ 2.8 ภาพสิ่งทดลองสำหรับการออกแบบการทดลองแบบผสมชนิดซิมเพล็กซ์ แอ็กเซียล ที่มา: Cornell (1990)

2.7.1.4 ชนิด เอ็กซตรีม เวอร์ทิซ (Extreme Vertices) (สุจินดา, 2548)

เป็นแผนการทดลอง แบบที่มีข้อจำกัดเป็นสัดส่วน (Design with constraints on proportion) กล่าวคือ แผนการทดลองแบบนี้ ระดับในแต่ละปัจจัยไม่จำเป็นต้องเป็น 0- 100 เปอร์เซ็นต์ (McLean และ Anderson, 1966) โดยอาจเป็น 30 ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ (0.30 -0.40) หรือ 15 ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ (0.15-0.25) เป็นต้น

2.7.2 การศึกษาลักษณะความสัมพันธ์ในรูปแบบรีเกรสชั่น (Regression model) (สุจินดา, 2548)

การวิเคราะห์เพื่อประเมินความสัมพันธ์ในรูปแบบรีเกรสชันสำหรับการทดลองแบบส่วนผสม (mixture design) นั้น มักจะประเมินความสัมพันธ์ขององค์ประกอบ (Components) ของส่วนผมต่างๆ กับค่าตอบสนองในรูปแบบหรือแบบโมเดลต่างๆ ได้แก่ แบบเส้นตรง (Linear) แบบกำลังสอง (Quadratic model) แบบกำลังสามพิเศษ (Special cubic model) และ แบบกำลังสามแบบเต็ม (Full cubic model) โดยจะใช้องค์ประกอบของส่วนผสม จำนวน 3 องค์ประกอบซึ่งโมเดลต่างๆ จะมีรูปแบบดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) Linear model ประกอบด้วย Pure component เท่านั้น

$$Y = \sum \beta_i X_i$$

$$Y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3$$

2) Quadratic model ประกอบด้วย Pure และ Binary components

$$Y = \sum \beta_i X_{i+} \sum \beta_{ij} X_i X_j$$

$$Y = \text{Linear} + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$$

3) Special cubic model ประกอบด้วย Pure, binary และ Ternary components

$$Y = \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ij} X_i X_{j+} \sum \beta_{ijk} X_i X_j X_k$$

$$Y = \text{Quadratic} + \beta_{123} X_1 X_2 X_3$$

4) Full cubic model

$$Y = \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ij} X_i X_j + \sum \beta_{ij} X_i X_j (X_i - X_j) + \sum \beta_{ijk} X_i X_j X_k$$

$$Y = \text{Special cubic} + \beta_{12} X_1 X_2 (X_1 - X_2) + \beta_{13} X_1 X_3 (X_1 - X_3) + \beta_{23} X_2 X_3 (X_2 - X_3)$$

ในการสร้างสมการโมเดลจะทำหลังจากการวางแผนการทดลอง ซึ่งได้กำหนดรูปแบบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรหรือปัจจัยที่ทำการศึกษากับค่าสังเกตไว้แล้ว และนำสิ่งทดลองต่างๆ ที่ได้นั้น ไปทำการทดลองและทดสอบผลลัพธ์ที่ได้ จากนั้นจึงนำข้อมูลดังกล่าวมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ที่ได้ เมื่อได้สมการโมเดล สามารถนำไปคาดคะเนผลลัพธ์ ที่จะเกิดขึ้นจากส่วนผสมที่มีการผันแปรที่มีต่อค่าตอบสนองต่างๆต่อไป

2.7.3 การหาค่าที่เหมาะสม (Optimization) โดยใช้ Desirability function

Desirability เป็นค่าความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีหน่วย สามารถคำนวณแยกเป็นส่วนๆ หรือทีละค่าตอบสนอง (Response) โดยสามารถมีค่าได้ตั้งแต่ 0 ถึง 1 และสามารถคำนวณร่วมกันของแต่ละค่าตอบสนอง จะได้ฟังก์ชั่นใหม่เป็นค่า D ซึ่งมีค่า 0 ถึง 1 เช่นกัน ค่า Desirability function สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$D = \left[\prod_{i=1}^{n} d_i^{p_i} \right]^{1/n}$$

ค่ามาตรฐานของ Desirability ที่สัมพันธ์กับระดับความพึงพอใจ และคุณภาพของผลิตภัณฑ์ แสดงดังตารางที่ 2.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 มาตรฐานของค่า Desirability ที่สัมพันธ์กับระดับความพึงพอใจและคุณภาพของผลิตภัณฑ์

Standard estimates	Desires	Quality of product
1.00	Excellent	The ultimate in satisfaction or quality and improvement beyond this point have no appreciable value.
1.00-0.80	Very good	Acceptable and excellent. Represent unusual quality, or performance well beyond anything commercially available.
0.80-0.63	Good	Acceptable and good, represent an improvement over the best commercially quality.
0.63-0.37	Satisfactory	Acceptable but poor quality is acceptable to the specification limits, but improvement is desired.
0.37-0.20	Bad	Unacceptable. Materials of this quality would lead of failure of the project.
0.20-0.00	Very bad	Completely unacceptable.

ที่มา: Lazic (2004)

2.8 หลักจลนศาสตร์กับการประเมินอายุการเก็บรักษาในผลิตภัณฑ์อาหาร

2.8.1 ปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหาร

อายุการเก็บรักษาของอาหาร หมายถึง ระยะเวลาที่ยังทำให้อาหารสามารถบริโภคได้ (Doyle, 1995) เป็นระยะเวลาที่อาหารนั้นยังมีความปลอดภัย มีคุณภาพทางเคมี กายภาพ จุลินทรีย์ รวมไปถึงคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่ยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค มีคุณค่าทางโภชนาการครบถ้วน และเป็นไปตามมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ที่อาจมีกำหนดไว้ อายุการเก็บรักษาของอาหาร ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลัก 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยภายนอก และปัจจัยภายใน เช่น ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (Water activity, a_w) ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น เป็นต้น ส่วนปัจจัยภายนอก ได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา, สภาพแวดล้อมในการเก็บ, ความชื้นสัมพัทธ์ระหว่างการผลิตและการเก็บ เป็นต้น ซึ่งทั้งสองปัจจัยมีปฏิกิริยาต่อกัน สามารถยับยั้งและกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆในอาหารได้ (ปองพล, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.2 อันดับของปฏิกิริยา

การเปลี่ยนแปลงของอาหารที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการเก็บรักษา สามารถอธิบายได้โดยใช้หลักจลนศาสตร์ โดยเป็นการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในระหว่างช่วงระยะเวลาใดเวลาหนึ่ง การเกิดขึ้นของปฏิกิริยาที่สนใจในระหว่างการเก็บรักษา สามารถจัดอยู่ในรูปของอันดับปฏิกิริยา (Reaction order) ซึ่งโดยทั่วไปการเปลี่ยนแปลงพื้นฐานที่เกิดขึ้นในอาหารมักจะเป็นปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (Zero order) และอันดับหนึ่ง (First order) โดยสามารถสรุปได้ดังสมการในตารางที่ 2.5 (วิวัฒน์, 2553)

ตารางที่ 2.5 สมการของอันดับปฏิกิริยาต่างๆ ตามหลักจลนศาสตร์

อันดับของปฏิกิริยา	สมการสำหรับปฏิกิริยา
0	$A_0 - A_t = kt$
1	$ln\left[\frac{A_0}{A_t}\right] = kt$
n≠1	$\frac{1}{A_t^{n-1}} - \frac{1}{A_0^{n-1}} = (n-1)kt$

ที่มา: คงวุฒิ (2549)

2.9 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค (Consumer Acceptance test)

การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค มีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะประเมินปฏิกิริยาของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ หรือเป็นการประเมินศักยภาพของกลุ่มลูกค้าต่อผลิตภัณฑ์ ต่อแนวคิดของผลิตภัณฑ์หรือต่อลักษณะพิเศษของผลิตภัณฑ์ (Resurreccion, 1998) การทดสอบด้วยวิธีการประเมินทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluation) คือวิธีการทางวิทยาศาสตร์ที่เกิดจากการดำเนินการการวัด การวิเคราะห์และการแปลผลตอบสนองจากผลิตภัณฑ์ ที่เกิดจากการรับรู้ ทางประสาทสัมผัสทั้งห้า ได้แก่ การมองเห็น การได้กลิ่น การสัมผัส การรับรส และการได้ยิน (Stone และ Sidel, 1993)

การประเมินทางประสาทสัมผัส มีบทบาทสำคัญเพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการวัดคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ ตลอดจนนำมาใช้ในการประเมินเพื่อศึกษาการยอมรับที่มีต่อผลิตภัณฑ์ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ ผู้บริโภคจะให้ความสำคัญต่อคุณภาพ ดังนั้นการพิจารณาคุณลักษณะและระดับคุณภาพของผลิตภัณฑ์จึงมีความเกี่ยวข้องกับความชอบของผู้บริโภค และจำเป็นต้องประเมินว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์นั้นเป็นที่ต้องการหรือเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคหรือไม่ โดยมีการคิดค้นวิธีการที่ดี มีความเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ เพื่อหาความสัมพันธ์กับการยอมรับของผู้บริโภค โดยใช้ผู้บริโภคเป็นเครื่องมือในการวัดคุณภาพ คุณลักษณะหรือคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์นั้นๆ (ชมพูนุท, 2556)

2.9.1 การทดสอบความชอบ (Hedonic scale)

การทดสอบความชอบ (Hedonic scale) ในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเป็นวิธีหนึ่งในการทดสอบความชอบ หรือ Preference test โดยมีการกำหนดสเกลความชอบเป็นระดับต่างๆ อาจใช้ 5 สเกล 7 สเกล หรือ 9 สเกล โดยมีคำอธิบายสเกลให้ผู้ทดสอบเลือกแล้วตรงกับความรู้สึกกับตัวเองมากที่สุด นอกจากนี้ Hedonic test สามารถนำมาใช้ในการทดสอบความแตกต่างหรือ difference test โดยเปลี่ยนจากความชอบเป็นคุณลักษณะเฉพาะทางประสาทสัมผัสที่ต้องการทดสอบได้เช่นกัน (ชมพูนุท, 2556)

2.9.2 การทดสอบการยอมรับโดยการใช้สเกลวัดความพอดี (Just about right scale)

สเกลวัดความพอดี เป็นสเกลที่ใช้วัดความต้องการของผู้บริโภคที่มีต่อความเข้มของลักษณะทางประสาทสัมผัสที่สนใจของผลิตภัณฑ์ ซึ่งจัดเป็นวิธีการหนึ่งที่รวมการวัดความชอบและความเข้มของลักษณะที่สนใจเข้าด้วยกัน เพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับใช้ในการปรับปรุงหรือพัฒนาผลิตภัณฑ์ตามความต้องการของผู้บริโภคต่อไป สเกลวัดความพอดีอาจถูกแบ่งเป็น 3 5 7 หรือ 9 ระดับ (วิวัฒน์, 2556)

2.10 การทดสอบความแม่นยำ

การทดสอบความแม่นยำ จำเป็นต้องนำโมเดลที่มีความแม่นยำเข้ากันได้ (Model best fit) กับข้อมูลที่ใช้ในการสร้างแบบจำลอง (Model) นั้นสูงสุด เช่นค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ในการวิเคราะห์สมการถดถอย (Regression analysis) หลังจากนั้นแบบจำลองนี้จะถูกนำไปทดสอบกับกลุ่มข้อมูลอีกชุดหนึ่งที่ทราบเวลาจริง (Actual time) ผลจากการทำนายข้อมูลชุดใหม่ (Predicted time) จะถูกนำมาคำนวณค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (Relative error) โดยสามารถแสดงในรูปของเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ได้ (Relation error percentage) ซึ่งยิ่งมีค่าน้อย จะหมายถึงสมการนั้นๆมีค่าความแม่นยำสูง (สมชาย และคณะ, 2552; นวภัทรา และ ทวีพล, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Leblanc และคณะ (2000) รายงานผลของเกลือต่อการเจริญของเชื้อ *S. putrefaciens* ในปลาแซลมอนรมควัน พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของเกลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ MB medium โดยปริมาณความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) สามารถยืดระยะพัก (Lag phase) จาก 1 ไปเป็น 2 ชั่วโมงได้ และการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือในอาหาร MB medium สามารถยืดระยะพักได้อีก โดยมีระยะแบ่งตัว 48 ชั่วโมงที่ความเข้มข้นเกลือ 6 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับผลต่อเชื้อ *Escherichia coli* จากรายงานของ Abdulkarim และคณะ (2009) ซึ่งศึกษาความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Nutrient Broth (MNB) โดยมีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับ คือ 0.5, 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าหลังจากบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณเชื้อ *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเกลือเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป มีจำนวนลดลง

Degiam และคณะ. (2011) รายงานผลต่อจุลินทรีย์ของโซเดียมคาร์บอเนต ซึ่งทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค agar well diffusion พบว่า การใช้โซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ จะเกิดโซนการยับยั้ง (Inhibition zone) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 12-15 มิลลิเมตร โดยมีฤทธิ์กับ *Klebsiella oxytoca, Staphylococcus aureus* และ *Proteus mirablis*

Janes และคณะ (1999) รายงานว่าการใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 1 ในการลดจำนวนเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 ลงได้ 2.5 log ที่พีเอช 8.5

Corral และคณะ (1988) รายงานผลต่อจุลินทรีย์ของโซเดียมไบคาร์บอเนต พบว่า โซเดียมไบคาร์บอเนตสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ได้แก่ *Escherichia coli, Lactobacillus plantarum, Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) และ Mueller Hinton (MH) และ ที่ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* และ *Enterococcus faecelis*

Labaiden และคณะ (2013) รายงานว่าการใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตเข้มข้น 10 และ 100 มิลลิโมลาร์ ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* จากหอยนางรม (*Crassostrea belcheri*) พบว่าที่ความเข้มข้นทั้งสอง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อดังกล่าวได้ และได้รายงานความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในหอยนางรมไว้ที่ 63 มิลลิโมลาร์

Chantarasuwan และคณะ (2011) ได้ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์, โซเดียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบคาร์บอเนต ต่อผลผลิต และลักษณะปรากฏของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) หลังการปรุงสุก พบว่าการแช่กุ้งขาวแวนนาไมลงในสารละลาย โซเดียมคาร์บอเนต 2.5 เปอร์เซ็นต์ และ โซเดียมไบคาร์บอเนต 2.0 เปอร์เซ็นต์ ที่พีเอช 8.5 ให้น้ำหนักและผลผลิตหลังการให้ความร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากขึ้น สามารถใช้ทดแทนสารประกอบฟอสเฟตที่สามารถเพิ่มผลผลิตและลดการสูญเสียน้ำหนักโดยไม่ส่งผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส

Avezado และคณะ (2011) ทำการพัฒนาสารดูดความชื้นเพื่อรักษาคุณภาพของเห็ดนางรม โดยใช้การออกแบบการทดลองแบบส่วนผสม ชนิด Simplex lattice พบว่า การใช้แคลเซียม ออกไซด์, แคลเซียมคลอไรด์ และซอร์บิทอล ในอัตราส่วน 0.5, 0.26 และ 0.24 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ ทำให้ความสามารถในการดูดความชื้นสูงที่สุด และเหมาะสมในการนำไปใช้กับบรรจุภัณฑ์ของเห็ดนางรม

Tsironi และคณะ (2007) ซึ่งได้สร้างสมการทำนายอายุการเก็บรักษาและสมการทำนายการเปลี่ยนแปลงของสีในผลิตภัณฑ์กุ้งแช่แข็ง พบว่า การเปลี่ยนแปลงของค่า TVBN และ TMA มีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะของสมการอันดับหนึ่งและการเปลี่ยนแปลงของสี มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงเป็นสมการอันดับศูนย์ เมื่อนำค่า TVBN ซึ่งเป็นปัจจัยทางคุณภาพไปคำนวณหาอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -5 องศาเซลเซียส พบว่ามีอายุการเก็บรักษาประมาณ 45 วัน สำหรับปฏิกิริยาอันดับศูนย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

หมึกกล้วยแช่แข็ง	ห้องเย็นทันที, ประเทศไทย
Sodium chloride (NaCl)	อุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์, ประเทศไทย
Trichloroacetic acid (TCA)	Fisher, ประเทศสหรัฐอเมริกา
Plate count agar (PCA)	Becton, Dickinson and Company, ประเทศสหรัฐอเมริกา
Sodium carbonate (Na_2CO_3)	สุทธิพันธ์เคมี, ประเทศไทย
Sodium bicarbonate ($NaHCO_3$)	McGarrett, ประเทศไทย
Peptone	Merck, ประเทศเยอรมนี
Methyl red	Merck, ประเทศเยอรมนี
Bromocresol green	Merck, ประเทศเยอรมนี
Sodium hydroxide (NaOH)	Carlo erba, ประเทศอิตาลี
Sulfuric acid	Merck, ประเทศเยอรมนี
ไฮเตอร์ ขจัดคราบ ชนิดน้ำ	Kao commercial, ประเทศไทย

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

จานเพาะเชื้อพลาสติก	Kartell, ประเทศอิตาลี
กล่องพลาสติกแบบมีฝาปิด	Micronware, ประเทศไทย
เครื่องวัดพีเอช	Mettler Toledo, ประเทศสหรัฐอเมริกา
เครื่องวัดเนื้อสัมผัส รุ่น TA.XT plus	Stable Micro system, ประเทศอังกฤษ
ตู้บ่มชนิดควบคุมอุณหภูมิ ตู้เขี่ยเชื้อ ตะเกียงแอลกอฮอล์	Boss tech scientific instruments, ประเทศไทย
เครื่องวัดสีรุ่น Colorquest XE	Hunter Lab, ประเทศสหรัฐอเมริกา
เครื่องกลั่นโปรตีน	Büchi, ประเทศเยอรมนี
เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง	Mettler Toledo, ประเทศสหรัฐอเมริกา
เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	Mettler Toledo, ประเทศสหรัฐอเมริกา
ตู้บ่มเชื้อ	Mammert, ประเทศเยอรมนี
Auto pipette และทิป	Eppendorf, ประเทศเยอรมนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครบิวเรต ขนาด 25 มิลลิลิตร	Corning Inc., ประเทศสหรัฐอเมริกา
เครื่องแก้ว	Schott AG., ประเทศเยอรมนี
เครื่องกวนสารละลาย	IKA, ประเทศเยอรมนี
โฮโมจิไนเซอร์	IKA, ประเทศเยอรมนี
เครื่องหมุนเหวี่ยง	Hettich, ประเทศสหรัฐอเมริกา
เครื่อง Stomacher	Interscieence, ประเทศสหรัฐอเมริกา
เครื่องบดไฟฟ้า	Sande, ประเทศจีน

3.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.3.1 การศึกษาสัดส่วนของสารละลายเกลือผสมที่เหมาะสมในการแช่หมึกกล้วย

3.3.1.1 การเตรียมสารละลายเกลือผสม

การทดลองนี้ เป็นการวางแผนการทดลองแบบส่วนผสม ด้วยโปรแกรม Design expert 7.0.0 trial เลือกแผนการทดลองย่อยชนิด simplex lattice โดยกำหนดปัจจัย 3 ปัจจัย ได้แก่สัดส่วนของ โซเดียมคลอไรด์ (X_1), โซเดียมคาร์บอเนต (X_2) และโซเดียมไบคาร์บอเนต (X_3) ที่ระดับความเข้มข้น 0 ถึง 5 เปอร์เซ็นต์ โปรแกรมคำนวณได้ทรีตเมนต์ที่ใช้ทำการทดลองรวมทั้งสิ้น 10 ทรีตเมนต์ (ตารางที่ 3.1) และมีซ้ำของการทดลองที่ทรีตเมนต์ที่ 3, 7, 8 รวมเป็น 13 สิ่งทดลอง

เตรียมสารละลายให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ โดยละลายส่วนผสมด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิประมาณ 60-70 องศาเซลเซียส คนผสมจนเกลือที่ใช้ละลายจนหมด บรรจุลงถุงพลาสติก แล้วตั้งทิ้งไว้จนมีอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง ก่อนลดอุณหภูมิให้เหลือ 4 องศาเซลเซียส ด้วยตู้ควบคุมอุณหภูมิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ทรีตเมนต์ที่ใช้ทำการทดลอง

Treatment	NaCl (%)	Na_2CO_3 (%)	$NaHCO_3$ (%)
Control	0.00	0.00	0.00
1	0.83	3.33	0.83
2	0.83	0.83	3.33
3	5.00	0.00	0.00
4	1.67	1.67	1.67
5	2.50	0.00	2.50
6	3.33	0.83	0.83
7	0.00	0.00	5.00
8	0.00	0.00	5.00
9	5.00	0.00	0.00
10	0.00	5.00	0.00
11	2.50	2.50	0.00
12	0.00	5.00	0.00
13	0.00	2.50	2.50

3.3.2 การเตรียมตัวอย่างหมึกกล้วย

ละลายหมึกกล้วยแช่แข็งชนิดไม่ลอกหนัง ขนาด 20-30 ตัว/กิโลกรัม โดยการการเปิดน้ำไหลผ่าน ดึงหัว ควักไส้ออก ล้างให้สะอาดด้วยน้ำประปาที่อุณหภูมิห้อง แล้วแช่ในสารละลายคลอรีนเย็น ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ประมาณ 10 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม นาน 30 นาที (กรมอนามัย, มปป.) เพื่อลดปริมาณเชื้อเริ่มต้นให้อยู่ในระดับใกล้เคียงกัน แล้วจึงสะเด็ดน้ำคลอรีนออกให้ได้มากที่สุด แล้วล้างน้ำประปาซ้ำอีกครั้ง จากนั้นแช่หมึกลงในสารละลายเกลือทรีตเมนต์ต่างๆ และในน้ำสำหรับตัวอย่างควบคุมนาน 120 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ดัดแปลงจากวิธีของ Chantarasuwan และคณะ, 2011) โดยเติมน้ำให้ท่วมหมึกในอัตราส่วนหมึกกล้วยต่อสารละลาย 1:2 (โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก) เมื่อครบเวลาจึงเอาตะแกรงช้อนหมึกออก สะเด็ดน้ำ แล้วบรรจุลงกล่องพลาสติกประเภทโพลีโพรพิลีน นำเก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 วัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ดังข้อ 3.3.3 ในการทดลองนี้ ตัวอย่างควบคุมจะใช้น้ำ ที่เตรียมดังข้อ 3.3.1 แทนการแช่ในสารละลายเกลือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3 การประเมินคุณภาพทางลักษณะปรากฏ

สุ่มตัวอย่างหมึกที่เก็บไว้ที่ทรีตเมนต์ต่างๆ นำมาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ได้แก่ ผิวหนัง ลักษณะเนื้อ และกลิ่น โดยอ้างอิงตามเกณฑ์ในตารางที่ 2.1

3.3.4 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์

สุ่มตัวอย่างหมึกที่เก็บไว้ที่ทรีตเมนต์ต่างๆ โดยแบ่งหมึกเป็น 3 ส่วนเพื่อนำมาวิเคราะห์ทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ดังนี้

(1) ปริมาณด่างที่ระเหยได้ด้วยวิธีการกลั่น (Total volatile base nitrogen, TVB-N)(Malle และ Tao, 1987)

นำตัวอย่างหมึกมาบดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นชั่งตัวอย่างบดละเอียด 100 กรัมลงในบีกเกอร์ เติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 15 นาทีด้วยเครื่องกวนสารแบบแท่งแม่เหล็ก จากนั้นนำส่วนผสมไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ปิเปตส่วนใสปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดกลั่น (distillation tube) แล้วจึงเติม สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจน ตั้งสภาวะในการกลั่นดังนี้

H_2O	0	มิลลิลิตร
NaOH	0	มิลลิลิตร
Reaction	0	วินาที
Distillation	2.10	นาที
Steam	80%	
Suction time	20	วินาที

สารระเหยจะถูกควบแน่นลงในสารละลายกรดบอริก 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จนปริมาตรทั้งหมดเท่ากับ 40 มิลลิลิตร จากนั้นหยดอินดิเคเตอร์เมทิลเรดและโบรโมครีซอลกรีนลง 2-3 หยด

นำสารละลายที่ได้ไปไทเทรตด้วย สารละลายกรดซัลฟูริก เข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนกระทั่งสีของอินดิเคเตอร์ที่ใช้เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพู นำปริมาตรของกรดซัลฟูริก (n มิลลิลิตร) ไปคำนวณค่าปริมาณด่างที่ระเหยได้ (TVBN) ในหน่วยมิลลิกรัมไนโตรเจนต่อน้ำหนักตัวอย่าง 100 กรัมดังสมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TVBN = n x 16.8 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ 100 กรัมตัวอย่าง.....(1)

(2) ปริมาณไตรเมทิลเอมีนด้วยวิธีการกลั่น (Trimethylamine, TMA) (Malle และ Tao, 1987)

เตรียมตัวอย่างและนำไปวิเคราะห์เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณ TVBN ในข้อ (1) แต่ในขั้นตอนการกลั่นเติมสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ 35 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตรลงในตัวอย่างแทน จากนั้นกลั่นตัวอย่างลงในสารละลายกรดบอริค เติมอินดิเคเตอร์ จากนั้นนำไปไทเทรตด้วย กรดซัลฟูริกและ คำนวณ TMA เช่นเดียวกัน โดยใช้สมการ (1) เช่นเดียวกัน

(3) พีเอช (Xuan และคณะ, 2017)

บดตัวอย่างหมึกด้วยเครื่องบดไฟฟ้า นาน 30 วินาที จากนั้นชั่งตัวอย่างที่บดแล้ว หนัก 10.0 กรัม ลงในบีกเกอร์ แล้วเติมน้ำกลั่นที่กำจัดไอออน (deionized water) ปริมาณ 90 มิลลิลิตร จากนั้นปั่นผสมด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซ็นติฟิวส์ ที่ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทส่วนใสประมาณ 90 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ นำไปวัดพีเอช ด้วยเครื่องวัดพีเอช

(4) ค่าแรงเฉือน (Shear force) (Kangsanant และคณะ, 2006)

นำตัวอย่างหมึกมาซับน้ำออกจากผิวด้วยกระดาษอเนกประสงค์ แล้วใช้กรรไกรตัดชิ้นเนื้อบริเวณกลางลำตัว ให้มีขนาด 2x3 เซนติเมตร แล้วจึงนำไปวัดค่าแรงเฉือนด้วยวิธี Warner Bratzler shear โดยใช้ใบมีดชนิด Warner Braztler Blade ด้วยความเร็ว 2 มิลลิเมตรต่อวินาที วัดที่แรงกดจนตัวอย่างจนขาดออกจากกัน ค่าแรงเฉือนที่ได้แสดงในหน่วยนิวตัน

(5) จุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี pour plate

นำตัวอย่างหมึก 25 กรัม ใส่ในถุง Stomacher จากนั้นเติมสารละลายเปบโตนเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ปราศจากเชื้อ ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง นำไปตีป่นด้วยเครื่องตีป่นอาหารเป็นเวลา 1 นาที แล้วเจือจางตัวอย่างแบบ 10x dilution ด้วยสารละลายเปบโตนปราศจากเชื้อเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ จนถึงระดับความเข้มข้น 10^{-6}

จากนั้นปิเปตตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ด้วยวิธีการ Pour plate method นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตรวจนับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ รายงานผลเป็น log CFU/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.5 การประเมินอายุการเก็บ

นำข้อมูลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด, TVB-N และ TMA มาสร้างสมการความสัมพันธ์เพื่อหาอันดับของปฏิกิริยาตามหลักจลนศาสตร์ ด้วยการสร้างกราฟเส้นตรง โดยใช้โปรแกรม Excel version 2019 ด้วยการวิเคราะห์สมการความสัมพันธ์อันดับที่ 0 ถึงอันดับที่ 1 จากนั้นเลือกสมการที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) สูงที่สุด จากนั้นหาค่าคงที่ k จากค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเกิดปฏิกิริยาและระยะเวลาเก็บรักษาเพื่อคำนวณหาอายุการเก็บรักษาตามสูตรในตารางที่ 2.5

3.3.6 การวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมในการแช่หมึกกล้วย

3.3.4.1 การหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและชนิดของสารละลายเกลือที่มีต่อคุณลักษณะของหมึกกล้วยแช่เย็น

ทดสอบความเหมาะสมของสมการที่ใช้อธิบายค่าตอบสนอง (Y_i) ด้วยโปรแกรม Design expert 7.0.0 trial version โดยพิจารณาจากสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R square, R^2) ใช้หารูปแบบของสมการที่มีความสัมพันธ์กับ Y_i มากที่สุด แล้วสร้างแผนภาพ Contour เพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ของตัวแปรกับค่าตอบสนอง

3.3.6.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการแช่หมึกกล้วย

นำสมการที่ได้จากการวิเคราะห์ในข้อ 3.3.3 มาวิเคราะห์หาสัดส่วนที่เหมาะสม (Optimization) กำหนดค่าของคุณลักษณะ Y_i ที่ต้องการเช่น สูงสุด (Maximize) ต่ำสุด (Minimize) หรืออยู่ในช่วงที่กำหนด (In range) แล้วพิจารณาเลือกสัดส่วนที่เหมาะสมจากค่าความพึงพอใจ (Desirability) โดยอ้างอิงเกณฑ์ของ Lazic (2004)

จากนั้นคัดเลือกตัวอย่างที่ให้ผลที่มีค่าพึงพอใจสูงที่สุด จำนวน 1 ตัวอย่าง สำหรับใช้ในการทดสอบในข้อ 3.3.7

3.3.6.3 การทดสอบยืนยันสมการทางคณิตศาสตร์

นำสมการที่ได้จากการวิเคราะห์ในข้อ 3.3.3 มาทดสอบความคลาดเคลื่อน ด้วยการทดสอบในทรีตเมนต์ต่างๆ อีกหนึ่งซ้ำการทดลอง แล้วนำผลการวิเคราะห์มาคำนวณความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (Relative error) ดังสมการ (ดัดแปลงจาก นวภัทรา และ ทวีพล, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\%\text{Relative error (\%RE)} = \left|\frac{Xp}{Xt}\right| \times 100$$

โดย X_p คือ ค่าที่ได้จากการทำนาย

X_t คือ ค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์

3.3.7 การทดสอบประสาทสัมผัสของหมึกที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายเกลือผสม

นำหมึกกล้วยที่ละลายแล้ว มาเตรียมตัวอย่างดังข้อ 3.3.1 โดยแบ่งเป็นตัวอย่างควบคุม (แช่ในน้ำ) และตัวอย่างที่แช่ในสภาวะที่ได้คัดเลือกจากการวิเคราะห์สมการ นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างไปลวกในน้ำเดือดเป็นเวลา 3 นาที สะเด็ดน้ำ ตัดหมึกเป็นชิ้นขนาด 2x3 เซนติเมตร โดยเสิร์ฟทีละ 2 ตัวอย่างพร้อมกัน การทดสอบทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างจำนวน 2 ตัวอย่าง ใช้ผู้ทดสอบ 35 คน แบ่งเป็น 2 วิธี คือ

(1) วิธี 7 Points Hedonic scale โดยแบ่งคะแนนดังนี้

1 = ไม่ชอบมากที่สุด

2= ไม่ชอบมาก

3= ไม่ชอบเล็กน้อย=

4 = เฉยๆ บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ

5 = ชอบเล็กน้อย

6= ชอบปานกลาง

7 = ชอบมาก

(2) วิธีทดสอบความพอดี (Just about right) ทดสอบโดยการเลือกระดับคุณลักษณะต่างๆ 3 ระดับ ได้แก่ น้อยเกินไป พอดี และมากเกินไป

นำคะแนนความชอบมาวิเคราะห์ความแตกต่างด้วยวิธี T-Test ด้วยโปรแกรม SPSS Version 24 Trial และ Binomial test สำหรับการทดสอบความพอดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์การทดลอง

การศึกษาผลของสัดส่วนเกลือผสมในการแช่หมึกกล้วย ด้วยการวางแผนการทดลองแบบผสม (Mixture design) โดยแช่หมึกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์, โซเดียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบคาร์บอเนต ที่แตกต่างกัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที จากนั้นนำไปล้างน้ำอีกครั้ง ก่อนสะเด็ดน้ำให้ได้มากที่สุด แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิเดียวกันตามระยะเวลาที่กำหนด สุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางลักษณะปรากฏ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด พีเอช ปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA) ปริมาณด่างที่ระเหยได้ (TVBN) และ เนื้อสัมผัส รวมทั้งสิ้น 6 วัน ผลการวิเคราะห์เป็นดังนี้

4.1 การเปลี่ยนแปลงทางลักษณะปรากฏ

การเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพทางลักษณะปรากฏของหมึกกล้วย ใช้หลักเกณฑ์การให้คะแนนตามมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) ฉบับที่ 7005-2548 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.1 โดยใช้เครื่องหมายบวก (+) แทนตัวเลขเพื่อให้เข้าใจง่ายขึ้น ทั้งนี้ จำนวนเครื่องหมายบวกแสดงระดับความสดตามหลักเกณฑ์ดังกล่าว โดย +++ หมายถึง ความสดมาก ส่วน + แสดงความสดน้อย ผลการพิจารณาลักษณะผิวหนัง เนื้อ และ กลิ่น ของตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างทั้ง 13 ทรีตเมนต์ ระหว่างการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงดังตารางที่ 4.1

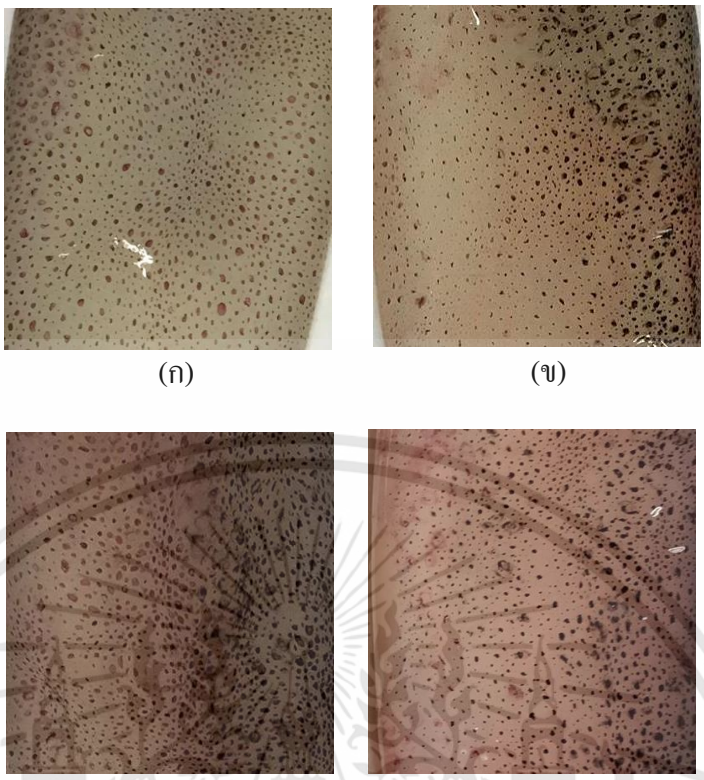
ในวันเริ่มต้นของการทดลอง คะแนนลักษณะปรากฏด้านผิวหนังของหมึกทุกทรีตเมนต์มีระดับคะแนน +++ ตามลักษณะที่กำหนดในมาตรฐาน มกอช.(2548) คือ ผิวหนังมีจุดสีม่วง หรือชมพูประปราย (ภาพที่ 4.1 ก) เนื่องจากหมึกที่ใช้ในการทดลอง เป็นหมึกชนิดไม่ลอกหนัง ดังนั้นลักษณะปรากฏของตัวอย่างควบคุมที่แช่ด้วยน้ำสะอาด และหมึกที่แช่ด้วยสารละลายเกลือชนิดต่างๆ จึงเห็นจุดสีดังกล่าวกระจายเป็นจุดเล็กๆ อย่างสม่ำเสมออยู่ทั่วที่ผิวหนังชั้นนอก (Epidermis) จุดสีเล็กๆที่เห็นนี้ เป็นส่วนของเซลล์สี (Chromatophore) ซึ่งภายในบรรจุเม็ดสีประเภท ออมโมโครม (Ommochrome) ซึ่งสามารถให้สีเหลือง, ส้ม และม่วงแดงได้ตามชนิดของออมโมโครม (Figon และ Casas, 2019)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ลักษณะปรากฏของหมึกกล้วยระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

ทรีตเมนต์	การเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏ											
	วันที่ 0			วันที่ 1			วันที่ 3			วันที่ 6		
	ผิวหนัง	ลักษณะเนื้อ	กลิ่น	ผิวหนัง	ลักษณะเนื้อ	กลิ่น	ผิวหนัง	ลักษณะเนื้อ	กลิ่น	ผิวหนัง	ลักษณะเนื้อ	กลิ่น
ควบคุม	+++	+++	+++	++*	+++	++*	++	++	++	+	+	+
1	+++	+++	+++	++*	+++	+++	++	++	++*	+	+	+
2	+++	+++	+++	++*	+++	++*	++	++	++	+	+	+
3	+++	+++	+++	++*	+++	++*	++	++	++	+	+	+
4	+++	+++	+++	++*	+++	++*	++	++	++	+	+	+
5	+++	++	+++	++*	+++	++*	++	++	++	+	+	+
6	+++	+++	+++	++*	+++	++*	++	++	++	+	+	+
7	+++	+++	+++	++*	+++	++*	++	++	++	+	+	+
8	+++	+++	+++	++*	+++	++*	++	++	++	+	+	+
9	+++	+++	+++	++*	+++	++	++	++	++	+	+	+
10	+++	+++	+++	++*	+++	+++	++	++	++*	+	++	++*
11	+++	+++	+++	++*	+++	++*	++	++	++	+	+	+
12	+++	+++	+++	++*	+++	+++	++	++	++*	+	++	++*
13	+++	+++	+++	++*	+++	++*	++	++	++	+	+	+

หมายเหตุ (+++) หมายถึง ระดับคุณภาพที่ดีมาก, (++*) หมายถึงระดับคุณภาพดี, (++) ระดับคุณภาพพอใช้ และ (+) หมายถึงระดับคุณภาพแย่



ภาพที่ 4.1 ลักษณะเซลล์สี (Chromatophore) และการเกิดสีชมพูของเนื้อหมึกระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 (ก) 1 (ข) 3 (ค) และ 6 (ง) วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ในวันที่ 1 ของการเก็บรักษาพบว่า เม็ดสีที่พบเป็นสีม่วง หรือชมพูกระจายอยู่ทั่วไปนั้น เริ่มมีขนาดใหญ่ขึ้น และผิวของหมึกเริ่มมีเปลี่ยนจากขาวใสเป็นสีชมพูอ่อนๆ สีของผิวหนังยังคงคล้ายคลึงกับวันเริ่มต้นการทดลอง และ เนื้อของหมึกยังไม่หลุดออกจากกันได้ง่าย จึงพิจารณาให้ได้คะแนน ++ (ตารางที่ 4.1) (ภาพที่ 4.2 ข) การเปลี่ยนแปลงของสีบนผิวหมึกนี้ เกิดจากการที่เอนไซม์โปรตีเอสถูกปลดปล่อยออกมาภายในเซลล์ ในขั้นตอนการย่อยสลายตัวเอง หรือ เอนไซม์ภายนอกจากจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการย่อยเซลล์ของหมึก รวมถึงเยื่อหุ้มเซลล์สีด้วย จนเกิดการฉีกขาดรงควัตถุจึงหลุดออกมาอยู่ที่ผิวหนังชั้นนอก สีของหมึกจึงมีสีชมพูเรื่อๆ (Sungsri-in และคณะ, 2010) เมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้น พบว่า ผิวหนังมีสีชมพูขึ้นเล็กน้อย แต่ผิวหนังชั้นนอกหลุดลอกออกจากตัวได้ค่อนข้างง่ายในทุกทรีตเมนต์ (ภาพที่ 4.1 ค) แสดงให้ให้เห็นผลจากการย่อยโดยเอนไซม์จากทั้ง 2 แหล่ง ที่ให้รงควัตถุกระจายอยู่ในผิวชั้นนอก รวมถึงทำให้ส่วนของผิวชั้นนอกนั้น หลุดลอกได้ง่ายขึ้น และในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 6) พบว่า ผิวหนังชั้นนอกของทรีตเมนต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทุกๆ ตัวอย่างเป็นสีชมพูอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่า เอนไซม์ยังคงมีกิจกรรมอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 4 องซาเซลเซียส (ภาพที่ 4.1 ง) คะแนนความสดด้านสีเพียง (+)

ลักษณะเนื้อหมึกในเริ่มต้นและวันที่ 1 ของการเก็บรักษา พบว่า ตัวอย่างหมึกทุกๆ ทรีตเมนต์ ได้คะแนนสูงสุด (+++) โดยเนื้อหมึกจะมีความยืดหยุ่น แน่น ไม่เหลวเละ ทั้งนี้กล้ามเนื้อของหมึกประกอบด้วยโปรตีน 2 ชนิดได้แก่ ไมโอไฟบริลลาโปรตีน (Myofibrilla protein) เช่น แอคติน และ ไมโอซิน เป็นองค์ประกอบของมัดกล้ามเนื้อในหมึก และทำให้กล้ามเนื้อยืดหยุ่นได้ ชนิดที่ 2 คือ สโตรมาโปรตีน (Stroma protein) ได้แก่ คอลลาเจนและ อิลาสติน เป็นส่วนของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีผลต่อความแน่นของเนื้อหมึก (สุทธวัฒน์, 2554 ; Morales และคณะ, 2000) เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 3 วัน พบว่า เนื้อหมึกในทุกๆ ทรีตเมนต์ จะนิ่มลง จึงทำให้คะแนนคุณภาพด้านนี้ลดลงเป็น ++ การเปลี่ยนแปลงของลักษณะเนื้อหมึกนั้นเกิดขึ้นจากการกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส ในกลุ่ม Hepatopancreas proteinases ซึ่งจะเกิดการย่อยสลายตัวเองขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังการจับ ของกลุ่มสัตว์น้ำมีเปลือก (Crustacean) เอนไซม์กลุ่มนี้ ได้แก่ Serine protease และถูกจัดเป็นเอนไซม์ที่มีสมบัติคล้ายทริปซิน (Trypsin-like) และคอลลาจีเนส (Collagenase) เอนไซม์ดังกล่าวพบตามธรรมชาติในหมึก (Shahidi และ Botta, 1994) นอกจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ภายในตัวหมึกแล้ว ยังพบการย่อยสลายของเอนไซม์โปรติเอสที่ปลดปล่อยจากจุลินทรีย์ ที่ผลให้โปรตีนทั้งไมโอไฟบริลลา และสโตรมาเสียสภาพ ทำให้เนื้อหมึกมีความยืดหยุ่นลดลง และเนื้อนิ่มลงเรื่อยๆ (Paarup และคณะ, 2002) อย่างไรก็ตาม พบว่า ทรีตเมนต์ส่วนใหญ่ ในวันสิ้นสุดการเก็บรักษานั้น มีลักษณะเนื้อนิ่ม จนจะเริ่มเละ ทำให้คะแนนลดลง เป็น + ยกเว้นทรีตเมนต์ที่แช่ด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 5 เปอร์เซ็นต์ หรือ ทรีตเมนต์ที่ 10 และ 12 (ซ้ำของทรีตเมนต์ที่ 10) ที่ได้ระดับคะแนนพอใช้ (++)

ในวันเริ่มต้นของการทดลอง ทรีตเมนต์ทั้งหมดมีกลิ่นธรรมชาติของหมึก และไม่พบกลิ่นคาว หรือกลิ่นเน่าเสีย จึงทำให้ได้คะแนนเต็ม (+++) (ตารางที่ 4.1) กลิ่นของหมึกสดหลังจากจับขึ้นมาไม่นานจะมีกลิ่นคล้ายน้ำทะเล หรือสาหร่ายทะเล ซึ่งพบว่าเป็นกลุ่มของสารประกอบโบรโมฟีนอล (Bromophenols) เช่น 2,6-dibromophenols และ 2,4,6-tribromophenol (Shahidi และ Botta, 1994) แต่ในระหว่างการเก็บรักษา กระบวนชีวเคมี จากเอนไซม์ในการย่อยสลายตัวเองภายหลังการตายของหมึก ประกอบกับการเจริญของจุลินทรีย์ ทำให้เกิดสารประกอบชนิดต่างๆ ส่งผลให้กลิ่นของหมึกเปลี่ยนแปลงไป เช่น สารประกอบไตรเมทิลเอมีน (TMA) จากเอนไซม์ที่สร้างจากจุลินทรีย์ และ สารประกอบไดเมทิลเอมีน (DMA) จากเอนไซม์ที่เกิดจากการย่อยสลายตัวเอง สารประกอบทั้งสองนี้ทำให้กลิ่นคาว (Fishy odor) (Shahidi และ Botta, 1994) ส่วนกลิ่นเน่าเสีย

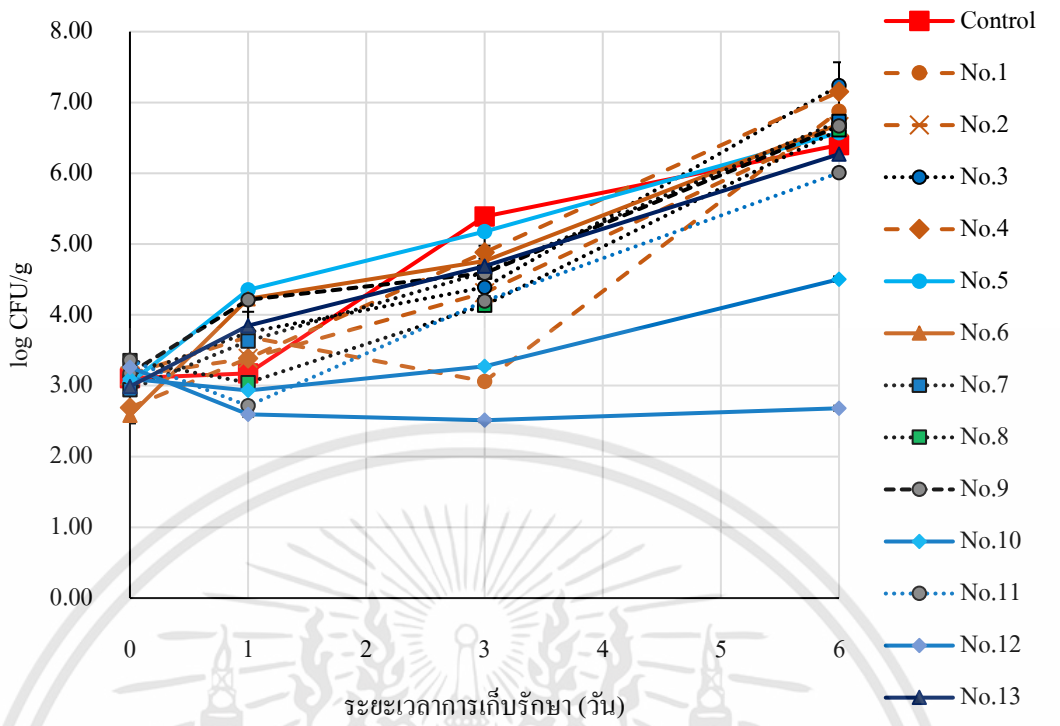
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่น ไฮโดรเจนซัลไฟต์ (H_2S) เอมีน สารประกอบอินโดล และเมอแคปแตน ก็สามารถเกิดกิจกรรมชีวเคมีจากกลไกการย่อยสลายตัวเอง หรือ เอนไซม์ ก็ได้ (วิไล, 2536) สอดคล้องกับผลการทดลองที่เกิดขึ้น โดยพบว่า แต่ในวันที่ 1 ของการเก็บรักษานั้น ทรีตเมนต์ส่วนใหญ่เริ่มมีกลิ่นคาวเกิดขึ้นเล็กน้อยแต่ยังไม่พบกลิ่นเน่าเสีย ระดับคะแนนจึงลดลงเป็น ++* ยกเว้นหมึก 3 ทรีตเมนต์ ได้แก่ 1 (0.83 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์ + 3.33 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคาร์บอเนต + 0.83 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไบคาร์บอเนต), 10 (5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคาร์บอเนต) และ 12 (5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคาร์บอเนต) ที่ยังไม่พบกลิ่นคาว จึงได้รับคะแนนสูงสุดเช่นเดิม แต่เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 3 วัน พบว่าทรีตเมนต์ส่วนใหญ่ มีกลิ่นคาวเพิ่มขึ้นกว่าเดิม แต่ยังไม่พบกลิ่นเน่าเสียในทรีตเมนต์ใดๆ จึงได้คะแนนลดลงเป็น ++ ส่วนทรีตเมนต์ที่ 1,10 และ 12 เกิดกลิ่นคาวขึ้นเล็กน้อยเท่านั้น จึงได้ระดับที่ ++* แต่เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 6วันนั้น พบว่าทรีตเมนต์ส่วนใหญ่พบกลิ่นเน่าเสีย เป็นกลิ่นคล้ายเนื้อเน่า (Rotten meat) ซึ่งมีสารประกอบพวกเอมีน ได้แก่ คาดาเวอรีน (Cadaverine) เป็นสาเหตุของกลิ่นดังกล่าว (Hussain และคณะ 2013) ทำให้คะแนนลดลงเหลือเพียง (+) ยกเว้นทรีตเมนต์ที่ 10 และ 12 (5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคาร์บอเนต) ซึ่งยังพบว่ามีกลิ่นคาวเพียงเล็กน้อย จึงคงคะแนนไว้ที่ระดับดี (++*)

4.2 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

ตัวอย่างควบคุม มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 3.11±0.04 เป็น 6.40±2.18 log CFU/g เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน (ภาพที่ 4.2) โดยเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่า การแช่เย็นไม่สามารถยับยั้งเจริญของแบคทีเรียได้ จึงทำให้หมึกเสื่อมเสีย ซึ่ง Lougovois และ Kyrana (2005) รายงานว่า แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในหมึกที่เก็บในอุณหภูมิแช่เย็นได้แก่ *Shewanella putrefaciens* และ *Photobacterium phosphoreum* แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียประเภทชอบความเย็น (Psychrophilic bacteria) สามารถเจริญในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ -5 จนถึง 20 องศาเซลเซียส (วิไล, 2536) การเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ สอดคล้องกับรายงานของ Park และ Ha (2014) ซึ่งได้เก็บรักษาหมึกหอม (*Sepioteuthis sepioidea*) ที่อุณหภูมิ 5 - 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ พบว่าอัตราการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ลดลง เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำลง นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ ทำให้ลักษณะปรากฏของหมึกเปลี่ยนแปลง ทั้ง ผิวหนัง ลักษณะเนื้อ และกลิ่น ดังที่กล่าวไปข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของตัวอย่างหมึกกล้วยที่แช่ในสารละลายเกลือที่สัดส่วนความเข้มข้นต่างๆแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ภายหลังการแช่ตัวอย่างด้วยสารละลายเกลือผสมที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 120 นาที พบว่า ตัวอย่างมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ระหว่าง 2.54±0.12 ถึง 3.36±0.01 log CFU/g ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่า การแช่หมึกในสารละลายเกลือผสมที่ความเข้มข้นต่างๆนั้น ไม่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ในระหว่างการแช่ได้ แต่สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในบางทรีตเมนต์ลงได้ เช่นในทรีตเมนต์ที่ 4, 7 และ 13 (ภาคผนวก ข) โดย Aubourg และคณะ (2007) รายงานการแช่กุ้งล็อบสเตอร์นอร์เวย์ (*Nephrops norvegicus*) ลงในสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์เข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ก่อนการแช่ลงในน้ำผสมน้ำแข็ง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นระหว่างกุ้งล็อบสเตอร์ที่แช่และไม่แช่สารละลายเมตาไบซัลไฟต์อยู่ในระดับที่แตกต่างกันเล็กน้อย เนื่องจากการแช่ไม่อาจทำลายจุลินทรีย์ที่มีอยู่ได้ทั้งหมดโดยสมบูรณ์ ยังมีโอกาสที่จุลินทรีย์จะสามารถเหลือรอดอยู่และเจริญต่อไปได้ การเจริญของจุลินทรีย์ในหมึกระหว่างการเก็บรักษา เกิดจากการสูญเสียกลไกป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ตามธรรมชาติของหมึก ซึ่งเป็นผลโดยตรงของปฏิกิริยาย่อยสลายตัวเอง นอกจากนี้ยังสัมพันธ์กับการเกิดขึ้นของแอลดีไฮด์, คีโตน และสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ ซึ่งเป็นสาเหตุของกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ และลักษณะทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสาทสัมผัสที่ด้อยคุณภาพลง (Wang และคณะ, 2017) สอดคล้องกันกับการตรวจพบกลิ่นเน่าเสียดังที่รายงานไปข้างต้น

เมื่อเก็บรักษาตัวอย่างที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายเกลือผสมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 6 วัน พบว่าตัวอย่างส่วนใหญ่ มีปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกันกับตัวอย่างควบคุม แสดงให้เห็นว่าการแช่ด้วยสารละลายเกลือผสมที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 120 นาที ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างหมึกที่แช่ด้วยโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์(ทรีตเมนต์ที่ 10 และ 12)นั้น พบว่าทรีตเมนต์ที่ 10 หมึกมีปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจาก 3.10±0.04 เป็น 4.50±0.04 log CFU/g อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนปริมาณจุลินทรีย์ในทรีตเมนต์ที่ 12 ซึ่งเป็นการแช่ในสารละลายเดียวกัน กลับมีปริมาณจุลินทรีย์ลดลงจาก 3.26±0.01 เป็น 2.68±0.04 log CFU/g ($p<0.05$) ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา ทั้งนี้ อาจเนื่องมากจาก โซเดียมคาร์บอเนต ซึ่งเป็นเกลือของกรดคาร์บอนิก (Carbonic acid) เมื่อละลายน้ำ จะให้กรดคาร์บอนิก 2 โมเลกุล กรดดังกล่าวมีคุณสมบัติเป็นกรดอ่อน (Weak acid) ไม่สามารถแตกตัวได้ทั้งหมด และบางส่วนจะอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัว (Undissociated form) เมื่อแช่หมึกลงในสารละลายเกลือดังกล่าว จะทำให้กรดนี้เกาะอยู่ที่ผิวนอกของหมึก และกรดในรูปไม่แตกตัวนี้สามารถแพร่ผ่านผนังเซลล์สู่จุลินทรีย์ได้ และเมื่ออยู่ภายในเซลล์ที่มีสภาพพีเอชเป็นกลาง จะสามารถแตกตัว (Dissociated form) ภายในเซลล์ ทำให้ค่าพีเอชในเซลล์ลดลง ส่งผลต่อเมตาบอลิซึมของเซลล์ ทำให้เซลล์สูญเสียเสถียรภาพ และตายลงในที่สุด (NCBI, 2018, Padan และคณะ, 2005) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้สามารถชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ในทรีตเมนต์ที่ 10 และทำให้จุลินทรีย์ในทรีตเมนต์ที่ 12 ลดลง

ตามทฤษฎีแล้ว โซเดียมคลอไรด์ สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ เนื่องจากทำให้เกิดการสูญเสียน้ำของเซลล์ เนื่องจากโซเดียมคลอไรด์ ทำให้สารละลายภายนอกเซลล์ สูงกว่าสารละลายภายในเซลล์ นอกจากนี้ โซเดียมคลอไรด์ยังแตกตัวให้ คลอไรด์ไอออน (Cl^-) ที่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ ลดการละลายตัวของออกซิเจน ทำให้เซลล์มีความไวต่อคาร์บอนไดออกไซด์มากขึ้น (วิไล, 2536) แต่กลับไม่สามารถยับยั้งหรือชะลอจุลินทรีย์ในหมึกกล้วยได้ อาจเป็นเพราะความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ซึมเข้าไปในเนื้อหมึก อาจไม่เพียงพอในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุในการเน่าเสียของหมึก เช่น *Shewanella putrefaciens* ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในสภาพที่มีเกลือเล็กน้อย (Halophilic bacteria) และเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ จึงอาจเป็นสาเหตุให้ยังมีจุลินทรีย์เหลือรอดและเพิ่มจำนวนขึ้นจนทำให้หมึกเน่าเสียได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การเปลี่ยนแปลงของพีเอช

ผลของการแช่หมึกด้วยสารละลายเกลือผสมก่อน การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงดังตารางที่ 4.2 ค่าพีเอชของตัวอย่างควบคุมมีค่า 6.81±0.25 และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 6.96±0.14 เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา และค่าพีเอชตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) สอดคล้องกับรายงานของ Abbas และคณะ (2008) ซึ่งรายงานค่าพีเอชในระหว่างเก็บรักษาปลากะพงด้วยน้ำแข็ง ว่าค่าพีเอชของปลากะพงมีแนวโน้มสูงขึ้น โดยมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจาก 6.39 เป็น 6.69 เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 22 วัน นอกจากนี้ Kyrana และคณะ (1997) กล่าวว่าการเพิ่มขึ้นของค่าพีเอช อาจเป็นผลมาจากการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยเช่นกัน

ตารางที่ 4.2 ผลของเกลือผสมต่อค่าพีเอชของตัวอย่างหมึกกล้วยที่แช่ในสารละลายเกลือที่สัดส่วนความเข้มข้นต่างๆ

ทรีตเมนต์	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 6
Control	$6.59\pm0.00^{M,c}$	$6.78\pm0.01^{L,b}$	$6.63\pm0.01^{L,c}$	$6.85\pm0.04^{M,a}$
1	$9.55\pm0.03^{C,d}$	$9.77\pm0.01^{C,b}$	$9.60\pm0.01^{B,c}$	$9.84\pm0.01^{C,a}$
2	$8.91\pm0.01^{G,c}$	$8.88\pm0.01^{G,c}$	$9.01\pm0.01^{D,b}$	$9.14\pm0.00^{G,a}$
3	$6.90\pm0.00^{L,c}$	$6.76\pm0.05^{L,b}$	$7.07\pm0.07^{J,a}$	$7.19\pm0.05^{K,a}$
4	$9.12\pm0.01^{E,c}$	$9.18\pm0.03^{F,b}$	$9.04\pm0.00^{D,d}$	$9.32\pm0.01^{F,a}$
5	$6.89\pm0.01^{L,d}$	$7.36\pm0.01^{J,b}$	$7.19\pm0.01^{I,c}$	$7.63\pm0.01^{J,a}$
6	$8.46\pm0.00^{J,c}$	$8.79\pm0.04^{H,a}$	$8.58\pm0.01^{F,b}$	$8.58\pm0.01^{I,b}$
7	$8.65\pm0.00^{I,d}$	$8.71\pm0.00^{I,c}$	$8.83\pm0.01^{I,b}$	$9.05\pm0.00^{H,a}$
8	$8.88\pm0.01^{H,b}$	$8.78\pm0.01^{H,c}$	$8.79\pm0.01^{H,c}$	$9.05\pm0.00^{H,a}$
9	$6.98\pm0.00^{K,b}$	$6.85\pm0.01^{K,d}$	$6.91\pm0.01^{K,c}$	$7.04\pm0.00^{L,a}$
10	$9.95\pm0.00^{B,d}$	$10.23\pm0.00^{A,a}$	$10.05\pm0.00^{A,b}$	$10.10\pm0.01^{B,b}$
11	$9.43\pm0.01^{D,d}$	$9.48\pm0.00^{E,c}$	$9.57\pm0.02^{B,b}$	$9.76\pm0.01^{D,a}$
12	$10.09\pm0.01^{A,b}$	$10.11\pm0.01^{B,b}$	$10.04\pm0.01^{A,c}$	$10.28\pm0.01^{A,a}$
13	$9.19\pm0.00^{E,d}$	$9.56\pm0.03^{D,b}$	$9.46\pm0.01^{C,c}$	$9.67\pm0.02^{E,a}$

หมายเหตุ: อักษรตัวพิมพ์เล็กที่กำกับแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างแถวดียวกัน

อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่กำกับแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างคอลัมน์เดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบค่าพีเอชของทุกทรีตเมนต์ภายหลังการแช่ด้วยสารละลายเกลือผสมที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 120 นาที กับตัวอย่างควบคุมพบว่า มีค่าพีเอช ระหว่าง 6.59±0.00 ถึง 10.09±0.01 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่า การแช่ด้วยสารละลายเกลือผสมที่ความเข้มข้นแตกต่างกันนาน 120 นาทีนั้น สารละลายเกลือผสมบางส่วนจะซึมผ่านเข้าไปในชิ้นอาหาร และทำให้บางทรีตเมนต์มีพีเอชที่เปลี่ยนไป นอกจากนี้ยังพบว่าทรีตเมนต์ใดแช่ด้วยสารละลายที่มีส่วนประกอบของ โซเดียมคาร์บอเนตตั้งแต่ 1.67 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป (ทรีตเมนต์ที่ 1, 4, 10, 11, 12 และ 13) ตัวอย่างหมึกจะมีค่าพีเอชสูงกว่าการใช้โซเดียมชนิดอื่นๆ เนื่องจาก เมื่อละลายน้ำ โซเดียมคาร์บอเนตมีสมบัติเป็นด่างแก่ ที่ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะมีพีเอช 11.6 ส่วนโซเดียมไบคาร์บอเนตเป็นด่างอ่อน มีค่าพีเอช 8.4 ที่สภาวะเดียวกัน ตัวอย่างที่แช่ด้วยสารละลายที่มีส่วนผสมของโซเดียมคาร์บอเนตจึงมีค่าความเป็นด่างสูงกว่า (INCHEM, n.d.) ในส่วนของการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชนั้น เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน พบว่า แนวโน้มของค่าพีเอชมีค่าเพิ่มขึ้นในทุกตัวอย่าง กิจกรรมการย่อยสลายของจุลินทรีย์ ซึ่งมีผลทำให้ค่าพีเอชเพิ่มขึ้นได้ (สุทธวัฒน์, 2554; Abaas และคณะ, 2008)

ตัวอย่างที่แช่ด้วย โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (ทรีตเมนต์ที่ 3, 9) มีค่าพีเอชใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุมมากที่สุด เนื่องจาก โซเดียมคลอไรด์เมื่อละลายน้ำ จะแตกตัวได้โซเดียมไอออน (Na^{2+}) และ คลอไรด์ไอออน (Cl^-) ซึ่งไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้ (วรวิทย์, 2558) จึงทำให้สารละลายดังกล่าวมีพีเอชที่ใกล้เคียงกับหมึกสดตามธรรมชาติมากที่สุด (pH ≈ 6.5) เมื่อแช่หมึกลงในสารละลายดังกล่าวทำให้ค่าพีเอชของทรีตเมนต์ทั้งสองไม่เปลี่ยนแปลงไปมากนัก นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชในตัวอย่างนี้ พบว่า เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับตัวอย่างควบคุม เนื่องจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงทั้งจากปัจจัยภายในและภายนอก และอาจเป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่อาจจะมีผลต่ออัตราการเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องจากพบว่าการแช่หมึกลงในโซเดียมคาร์บอเนต เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (ทรีตเมนต์ที่ 10, 12) ส่งผลให้มีค่าพีเอชมากที่สุด (9.95±0.00 และ 10.09±0.01 ตามลำดับ, ตารางที่ 4.2)

ค่าพีเอชที่มากของทรีตเมนต์ดังกล่าว อาจทำให้เวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์ของจุลินทรีย์ (Generation time) เพิ่มมากขึ้น เพราะแตกต่างจากระดับพีเอชที่เหมาะสมในการเจริญของจุลินทรีย์ทั่วไปที่พบในสัตว์น้ำ ทำให้ตัวอย่างหมึกที่แช่ด้วยสารละลายความเข้มข้นดังกล่าวใช้เวลาในการเพิ่มจำนวนมากกว่าตัวอย่างควบคุมทำให้การเจริญของจุลินทรีย์เกิดขึ้นช้ากว่า ดังรายงานของ Maurer และคณะ (2005) ซึ่งพบว่าหากใช้โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride, KCl) ในการเตรียมลิเธียมโบเรตบัฟเฟอร์ (Lithium borate, LB) แทนโซเดียมคลอไรด์ จะทำให้ค่าพีเอชในอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลี้ยงเชื้อ LBK ที่ใช้เลี้ยง *E. coli* เพิ่มขึ้นจาก 7.0 เป็น 8.7 ส่งผลให้เวลาในการแบ่งเซลล์เพิ่มจาก 18 เป็น 25 นาที

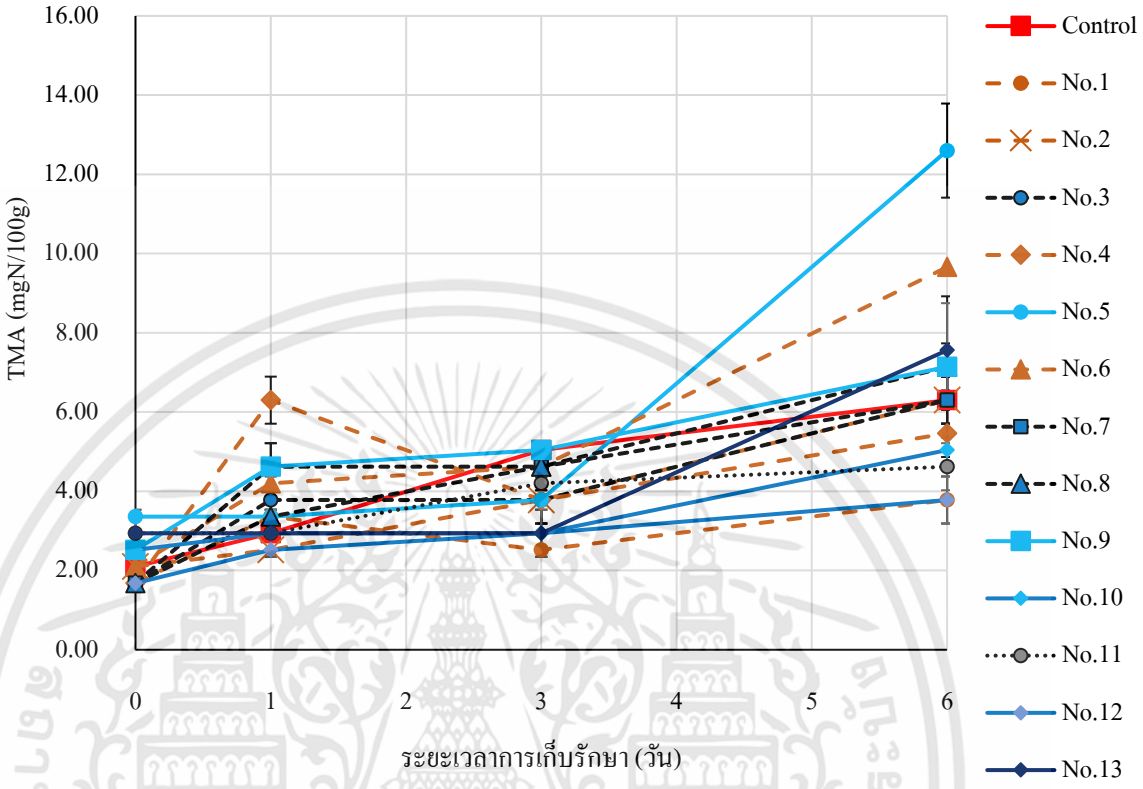
4.4 ปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA)

TMA เป็นเอมีนที่เกิดจากการเปลี่ยนไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ (Trimethyl amine oxide, TMAO) ด้วยเอนไซม์ไตรเมทิลรีดักเทสที่พบในจุลินทรีย์ และสาร TMA นี้ ใช้เป็นดัชนีชี้วัดที่สำคัญของการเสื่อมเสียโดยกิจกรรมจากจุลินทรีย์ *Shewanella putrefaciens* และ *Photobacterium phosphoreum* เนื่องจากจุลินทรีย์จะใช้ TMAO ในสัตว์และใช้น้ำเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในระหว่างกระบวนการหายใจโดยไม่ใช้อากาศ ทำให้เกิดเป็นสารประกอบ TMA (สุทธวัฒน์, 2554; Dalgaard, 1995) จากผลการทดลอง ในตัวอย่างควบคุมที่ผ่านการแช่น้ำ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิเดียวกัน เป็นเวลา 6 วัน พบว่า ปริมาณ TMA ของตัวอย่างควบคุม เพิ่มขึ้นจาก 2.10±0.59 เป็น 6.30±0.59 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม (ภาคผนวก ข) โดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p<0.05$) การเพิ่มขึ้นของปริมาณ TMA ในการแช่เย็นระหว่างการเก็บรักษานั้น สอดคล้องกับรายงานของ Lapa-Guimaraes และคณะ (2002) ซึ่งได้ทดลองเก็บรักษาหมึกกล้วย (*Loligo plei*) ด้วยน้ำแข็ง โดยแบ่งเป็นเก็บแบบสัมผัสกับน้ำแข็ง และไม่สัมผัสกับน้ำแข็ง พบว่าถึงแม้จะใช้อุณหภูมิต่ำกว่าการแช่เย็น แต่ปริมาณ TMA ก็สามารถเพิ่มขึ้นได้ในระหว่างการเก็บ และ ปริมาณ TMA เริ่มเพิ่มสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดหลังจากวันที่ 6 ของการเก็บรักษา และสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของการเจริญของจุลินทรีย์ และกลิ่นคาวที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์

ปริมาณ TMA ในตัวอย่าง ภายหลังการแช่ด้วยสารละลายเกลือผสมที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 120 นาที มีค่าระหว่าง 1.68±0.00 ถึง 3.36±0.00 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม มีความแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม (2.10±0.59 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงว่าการเจริญของจุลินทรีย์มีระดับแตกต่างกัน เมื่อนำตัวอย่างไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 วัน ปริมาณ TMA ในตัวอย่างที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายเกลือผสม (แสดงดังภาพที่ 4.3) พบว่า ตัวอย่างทุกตัว มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณ TMA เช่นเดียวกับตัวอย่างควบคุม แสดงให้เห็นว่า การแช่ด้วยสารละลายเกลือผสมที่ความเข้มข้นต่างๆ นั้น ไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่เปลี่ยน TMAO ได้เป็น TMA ได้ อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างที่แช่ด้วยสารละลาย 2 ทรีตเมนต์ ได้แก่ ทรีตเมนต์ที่ 1 และ 12 มีปริมาณ TMA เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย และมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TMA เพิ่มขึ้นจาก 1.68±0.00 เป็น 3.78±0.59 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม เท่ากันทั้งสองทรีตเมนต์ แสดงว่าอาจมีการเจริญของจุลินทรีย์ที่สามารถสร้าง TMA น้อยกว่า



ภาพที่ 4.3 ปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA) ของตัวอย่างหมึกกล้วยที่แช่ในสารละลายเกลือที่สัดส่วนความเข้มข้นต่างๆแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ปริมาณ TMA พบว่า การแช่สารละลายเกลือผสม ไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งจากภายในตัวหมึกและเอนไซม์จากจุลินทรีย์ได้ ยกเว้นทรีตเมนต์ที่ 1 และ 12 (0.83 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์+3.33 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคาร์บอเนต+0.83 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไบคาร์บอเนต และ 5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคาร์บอเนต) อาจเป็นเพราะโซเดียมคาร์บอเนต มีความเป็นด่างสูง สามารถชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ทำให้มีการสร้างสาร TMA ได้น้อยลงตามไปด้วย

4.5 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด

การเปลี่ยนแปลงของปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVBN) ของตัวอย่างที่ผ่านการแช่น้ำต้มสุก ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ตัวอย่างควบคุม) และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิเดียวกัน เป็นเวลา 6 วัน พบว่า ปริมาณ TVBN ของตัวอย่างควบคุม เพิ่มขึ้นจาก 7.98±0.59 เป็น 13.44±0.00 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

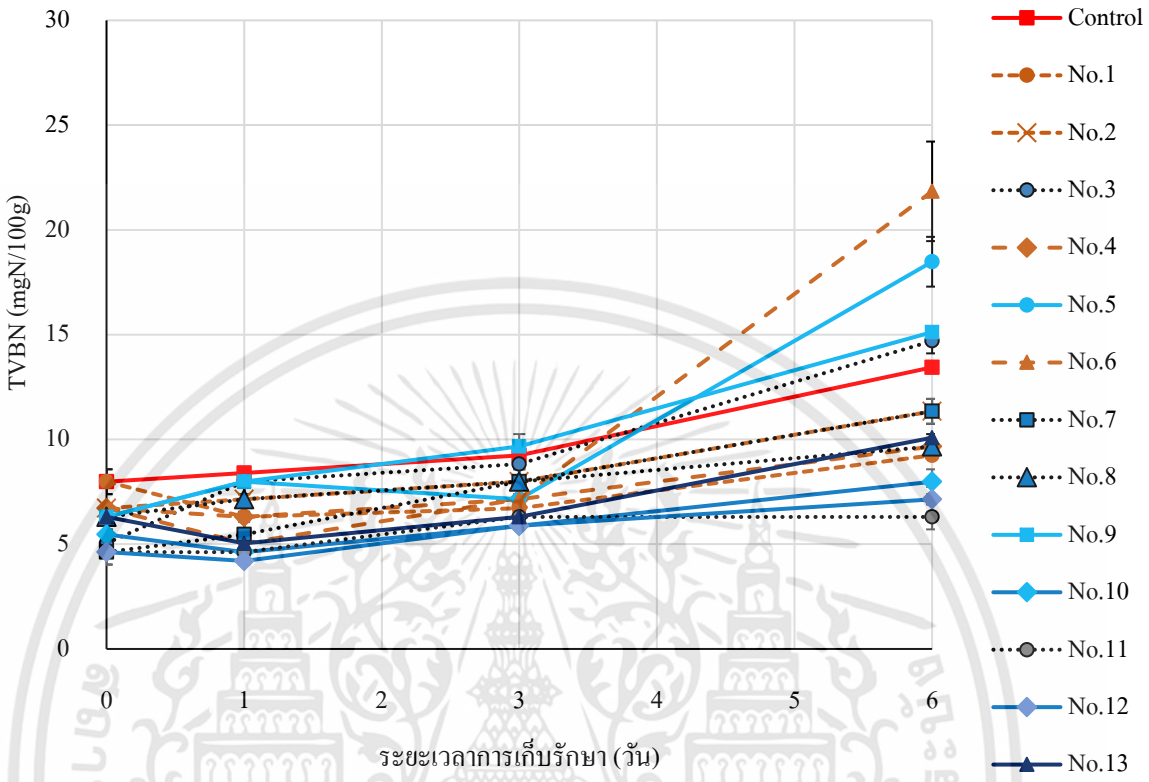
ไนโตรเจน/100 กรัม โดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่า การแช่น้ำ และการใช้อุณหภูมิต่ำในการเก็บรักษาไม่สามารถยับยั้งการเพิ่มปริมาณ TVBN ได้ ทั้งนี้ สารกลุ่ม TVBN เกิดจากการย่อยสลายตัวเอง (Autolysis) โดยเอนไซม์ในสัตว์ภายหลังการตาย และเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการเจริญของจุลินทรีย์ เป็นค่าโดยรวมของสารประกอบเอมีนที่ระเหยได้ 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ แอมโมเนีย ไดเมทิลเอมีน (DMA) และ ไตรเมทิลเอมีน (TMA) โดย TVBN จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา (สุทธวัฒน์, 2554) การเพิ่มของปริมาณ TVBN ในระหว่างการเก็บรักษาสอดคล้องกับรายงานของ Mani-maram และคณะ (2014) ซึ่งได้ทดลองแช่เย็นหมึกสาย ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณ TVBN ของหมึกสาย เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กันกับระยะเวลาการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และจากรายงานของ Yuan และคณะ (2017) ซึ่งเก็บรักษาหมึกบินสีแดง (*Ommastrephes bartrami*) ในน้ำแข็งเกล็ด (flake ice) เป็นเวลา 10 วัน พบว่าปริมาณ TVBN เพิ่มขึ้นจาก 12.46 เป็นประมาณ 30 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม ภายในเวลา 10 วัน

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณ TVBN ภายหลังการแช่ตัวอย่างด้วยสารละลายเกลือผสมที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 120 นาที พบว่า ปริมาณ TVBN มีค่าอยู่ระหว่าง 4.62±0.59 ถึง 7.98±0.59 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม (7.98±0.59 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงว่า ตัวอย่างในแต่ละทรีตเมนต์มีปริมาณ TVBN แตกต่างกันเล็กน้อย หรืออาจกล่าวได้ว่า มีระดับการเสื่อมเสียใกล้เคียงกัน ค่า TVBN ที่ได้มีค่าต่ำกว่ารายงานของ Karim และคณะ(2016) ที่พบว่า หมึกกล้วยอินเดียน (*Loligo duvauceli*) ที่ใช้ในการศึกษามีปริมาณ TVBN เริ่มต้นเท่ากับ 11.20±1.94 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม ทั้งนี้ปริมาณ TVBN นั้นอาจมีค่าแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด สายพันธุ์ และขนาดของหมึก (Malle และ Poumeyrol, 1989, Parkin และ Hultin, 1982)

เมื่อเก็บรักษาตัวอย่างที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายเกลือผสมต่างๆ ทั้ง 10 ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 วัน (ภาพที่ 4.4) พบว่า ตัวอย่างส่วนใหญ่ ยกเว้น ทรีตเมนต์ที่ 10, 11 และ 12 มีปริมาณ TVBN เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับตัวอย่างควบคุม แสดงให้เห็นว่า การแช่ด้วยสารละลายเกลือผสมที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 120 นาที ก่อนการแช่เย็น ไม่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาการย่อยสลายตัวเองของหมึกได้ ทำให้ปริมาณ TVBN เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา ทั้งนี้ยังพบด้วยว่า สารละลายเกลือผสม 2 ทรีตเมนต์ ได้แก่ ทรีตเมนต์ที่ 5 และ 6 ทั้ง 2 ตัวอย่างนี้มีปริมาณ TVBN มากกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทั้งนี้อาจเกิดจากโซเดียมคลอไรด์ ที่ซึมเข้าในเนื้อของหมึกในขั้นตอนการแช่ อาจทำให้โปรตีนคลายตัวได้บางส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเสียสภาพบางส่วนของโปรตีนนี้ ทำให้กระบวนการย่อยสลายของเอนไซม์เกิดขึ้นได้ง่ายเกิดเป็นสารประกอบจำพวกเอมีน เป็นผลทำให้ปริมาณ TVBN เพิ่มขึ้นได้ (สุเวทย์ และ จิรวัฒน์, 2543) เมื่อ



ภาพที่ 4.4 ปริมาณ TVBN ของตัวอย่างหมึกกล้วยที่แช่ในสารละลายเกลือที่สัดส่วนความเข้มข้นต่างๆแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้การแช่ด้วยสารละลายเกลือคาร์บอเนต ได้แก่ โซเดียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบคาร์บอเนตส่งผลให้โปรตีนอุ้มน้ำได้มากขึ้น ทำให้มัดกล้ามเนื้อนิ่มลง (Chantarasuwan และคณะ, 2011) ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อ ก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การย่อยสลายตัวเองและการย่อยสลายจุลินทรีย์เป็นไปได้ง่ายขึ้น (Sotelo และ Rehbein, 2000) ดังรายงานของ Szymczak และ Kolakowski (2015) ศึกษาปริมาณ TVBN ในปลาเฮอริ่งดอง พบว่า การแล่ชิ้นปลา (Fillet) ก่อนหมัก ทำให้ค่า TVBN สูงกว่าการใช้ปลาเฮอริ่งทั้งตัว เนื่องจากในระหว่างการแล่เกิดการทำลายกล้ามเนื้อบางส่วน และอาจเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายตัวเอง รวมถึงทำให้จุลินทรีย์สามารถเข้าไปเจริญได้ง่ายขึ้น จึงส่งผลโดยตรงต่อการเพิ่มปริมาณ TVBN

ในทางตรงกันข้าม ผลการทดลองนี้พบว่า ตัวอย่างหมึกที่ผ่านการแช่ด้วย โซเดียมคาร์บอเนต 5 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคาร์บอเนต (ทรีตเมนต์ที่ 10,12) และ 2.5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

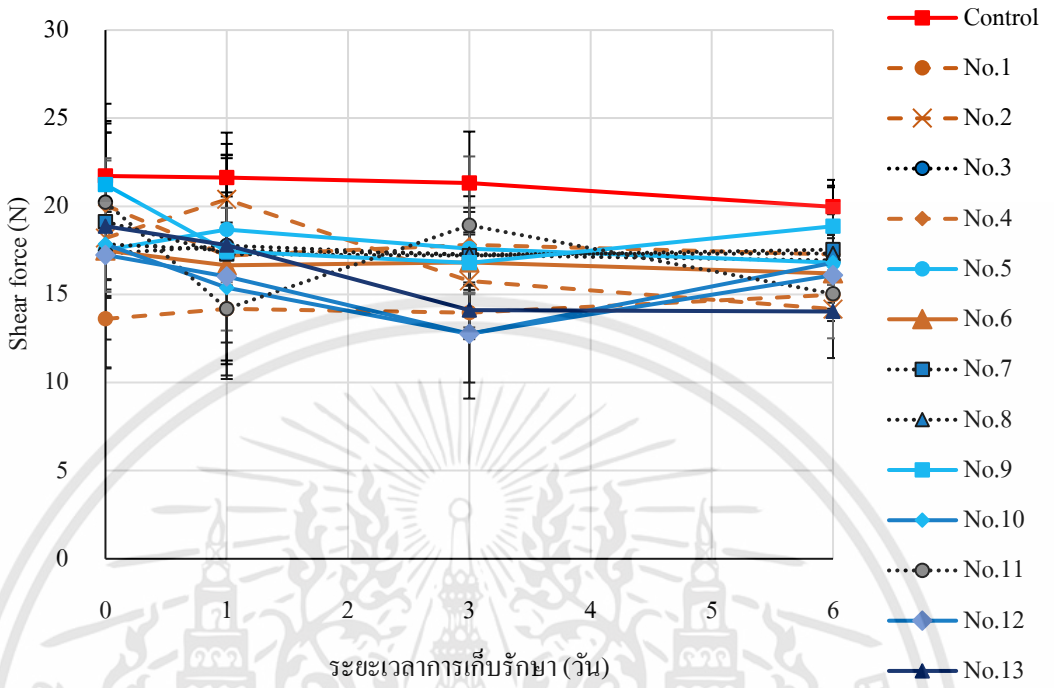
โซเดียมคลอไรด์ + โซเดียมคาร์บอเนต (ทรีตเมนต์ที่ 11) นั้น กลับมีปริมาณ TVBN เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีปริมาณ TVBN เพิ่มขึ้นจาก 5.46±0.59 เป็น 7.98±0.59 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม (ทรีตเมนต์ที่ 10) 4.62±0.59 เป็น 6.30±0.59 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม (ทรีตเมนต์ที่ 11) และ 4.62±0.59 เป็น 7.14±0.59 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม (ทรีตเมนต์ที่ 12) ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา ทั้งนี้ สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตมีพีเอชประมาณ 9.5 ถึง 10 เมื่อซึมผ่านผนังเซลล์ จะสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในสัตว์น้ำ ค่าพีเอชในช่วงที่สูงหรือต่ำมาก จะทำให้ความเสถียรของเอนไซม์ลดลง เพราะเป็นผลมาจากโครงสร้างของเอนไซม์เปลี่ยนไปโดยเฉพาะบริเวณตัวเร่ง หรืออาจมีประจุบนโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป จนไม่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยา (สุภัทรษร และ คณิต, 2559) ดังนั้น จึงส่งผลให้ปริมาณสารประกอบเอมีนที่ระเหยได้มีค่าลดลง (Paraskevoula และคณะ, 2012) และรายงานของ Mani-Maran (2014) ซึ่งใช้วัตถุเจือปนอาหารซึ่งมีส่วนผสมของโซเดียมคาร์บอเนต เติมลงในน้ำผสมน้ำแข็งที่ใช้แช่หมึกสายก่อนเก็บที่อุณหภูมิแช่เย็น พบว่าปริมาณ TVBN ในเนื้อหมึกมีค่าค่อนข้างคงที่ตลอดการเก็บรักษา ซึ่งอาจเป็นเพราะโซเดียมคาร์บอเนตมีส่วนช่วยในการชะลอปฏิกิริยาการย่อยสลายจากเอนไซม์ และการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญของการเพิ่มปริมาณ TVBN (Sotelo และ Rehbein, 2000)

4.6 การเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัส

การเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัมผัสของตัวอย่างควบคุม ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิเดียวกัน เป็นเวลา 6 วัน แสดงดังภาพที่ 4.5 พบว่า แรงเฉือนของตัวอย่างควบคุม มีแนวโน้มลดลงจาก 21.71±2.98 นิวตัน เป็น 19.97±1.11 นิวตัน (ภาพที่ 4.5) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\geq0.05$) แสดงให้เห็นว่าการแช่น้ำ และการใช้อุณหภูมิต่ำ อาจไม่มีผลต่อการยับยั้งการเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัมผัสของหมึกได้ แนวโน้มของค่าแรงเฉือนที่ลดลง อาจหมายถึงการเสียสภาพของโปรตีนกล้ามเนื้อ เนื่องจากการย่อยสลายตัวเองของเส้นใยโปรตีนกล้ามเนื้อด้วยเอนไซม์โปรตีเอส เช่น คาเทปซิน ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มักพบในสัตว์ทะเล และเป็นเอนไซม์ที่สร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์ (Ladrat และคณะ, 2003) รายงานของ Yuan และคณะ (2017) กล่าวว่าการย่อยสลาย เกิดขึ้นในส่วนของเส้นใยไมโอซินชนิดบาง (Myosin light chain) และ Schubring (2005) ซึ่งรายงานว่าการย่อยสลายสามารถเกิดขึ้นได้ที่โปรตีนแอคติน และแอคตินินได้บ้างเช่นกัน การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้ความแน่นเนื้อ (Firmness) และความยืดหยุ่น (Springiness) ลดลง สัตว์น้ำที่มีเนื้อนิ่มเละ (Mushy) จะบ่งบอกว่ามีการเสื่อมเสีย (Lougovois และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kyrana, 2005) สอดคล้องกับลักษณะปรากฏ ซึ่งพบว่า เนื้อหมึกมีลักษณะที่นิ่มลง ไม่ยืดหยุ่นเหมือนเดิม นอกจากนี้ ค่าพีเอชที่เป็นด่างสูง



ภาพที่ 4.5 แรงเฉือน (Shear force) ของตัวอย่างหมึกกล้วยที่แช่ในสารละลายเกลือที่สัดส่วนความเข้มข้นต่างๆแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เมื่อวิเคราะห์ค่าแรงเฉือนภายหลังการแช่ด้วยสารละลายเกลือผสมที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 120 นาที พบว่า ตัวอย่างส่วนใหญ่ มีค่าแรงเฉือนน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เนื่องจากตัวอย่างส่วนใหญ่แช่ด้วยสารละลายที่มีส่วนประกอบของ โซเดียมคาร์บอเนตและโซเดียมไบคาร์บอเนต ทำให้ความแรงของไอออน (Ionic strength) เพิ่มมากขึ้น การเพิ่มขึ้นของค่านี้ ส่งผลให้โปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อขยายตัวและรับน้ำเข้ามาภายในโครงสร้างได้มากขึ้น (Wu และ Smith, 1987) นอกจากนี้หากแช่เนื้อสัตว์ลงในสารละลายที่มีความเป็นด่างมาก จะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบางส่วน ทำให้เกิดการแยกตัวของพันธะเพปไทด์ ซึ่งทำให้ความแน่นเนื้อลดลงได้ (Chantarasuwan และคณะ, 2011) นอกจากนี้ยังทำให้โปรตีนสโตรมา เช่น คอลลาเจน สามารถละลายออกมาได้ง่ายขึ้น การสูญเสียโปรตีนสโตรมา ก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่ง ที่ทำให้ความแข็ง(Toughness) ของเนื้อหมึกลดลง และส่งผลโดยตรงต่อการลดลงของค่าแรงเฉือน (Shahidi และ Botta, 1995) สอดคล้องกับรายงานของ Moeller และคณะ (2010) ซึ่งพบว่าเมื่อเพิ่มพีเอชของสันในหมูจาก พีเอช 5.40 เป็น 6.40 ทำให้ค่าแรงเฉือนลดลงจาก 58.8 นิวตัน เป็น 14.7 นิวตัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 ผลของสารละลายเกลือผสมต่ออายุการเก็บรักษาของหมึก

เมื่อนำผลการทดลองทั้งทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ ไปวิเคราะห์ทางสถิติ เพื่อหาความแตกต่างระหว่างพารามิเตอร์แต่ละตัวกับระยะเวลาในการเก็บรักษาหมึกแช่เย็น พบว่า มีเพียง 3 พารามิเตอร์ได้แก่ TVBN, TMA และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TPC) เท่านั้นที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนพีเอช และความแน่นเนื้อนั้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\geq0.05$) ดังนั้น จึงนำค่าที่วิเคราะห์ได้จากพารามิเตอร์ที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ มาหาจลนศาสตร์หรือ อัตราการเปลี่ยนแปลงต่อหน่วยเวลา ด้วยการสร้างสมการด้วยโปรแกรม Excel ทั้งแบบปฏิกิริยาอันดับศูนย์ และอันดับหนึ่ง และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ของความสัมพันธ์ของค่าที่วิเคราะห์กับระยะเวลาในแต่ละทรีตเมนต์ของสารละลายเกลือที่ความเข้มข้นต่างๆ และตัวอย่างควบคุม โดยคัดเลือกเฉพาะสมการที่มี $R^2 \geq 0.75$ ขึ้นไปเท่านั้น (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของจลนศาสตร์ในปฏิกิริยาอันดับต่างๆ

ทรีตเมนต์	สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2)					
	TVBN		TMA		ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด	
	Zero	1st	Zero	1st	Zero	1st
ควบคุม	0.9267	0.9332	0.9127	0.8299	0.9267	0.8901
1	-	-	-	-	0.9637	-
2	0.9028	0.9237	0.9414	0.9246	0.9674	0.9903
3/9	0.9434	0.9148	0.7626	0.7655	0.9432	0.9524
4	0.8010	0.7909	-	-	0.9995	0.9844
5	0.7894	0.7923	0.7999	0.8267	0.9506	0.8871
6	0.7904	0.7953	0.9168	0.8564	0.9342	0.8560
7/8	0.8400	0.9014	0.8103	-	0.9104	0.8646
10/12	0.7685	0.9252	-	-	-	0.7608
11	-	-	-	-	0.8825	0.8542
13	-	-	-	-	0.9902	0.9624

หมายเหตุ เครื่องหมาย (/) เช่น 3/9 หมายถึง ทรีตเมนต์ที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือในการแช่หมึก และ จัดเป็นซ้ำทรีตเมนต์ ค่าสัมประสิทธิ์ที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยของสองทรีตเมนต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์พบว่า สมการความสัมพันธ์เกือบทั้งหมดเป็นปฏิกิริยาอันดับศูนย์ โดยมีค่า R^2 อยู่ระหว่าง 0.7655 – 0.9995 ตามลำดับ และพบบางทรีตเมนต์เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เช่น ทรีตเมนต์ที่ 10/12 มีค่า R^2 สูงถึง 0.9252 ทั้งนี้จะมีความสัมพันธ์ระหว่างผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นกับเวลาเป็นเส้นตรง (Linear) ส่วนปฏิกิริยาอันดับหนึ่งจะมีความสัมพันธ์ในรูปสมการเอ็กซ์โพเนนเชียล (Exponential) ซึ่งปฏิกิริยาอันดับศูนย์เป็นปฏิกิริยาที่มักพบในผลิตภัณฑ์อาหาร มีอัตราเร็วในการเกิดปฏิกิริยาคงที่ และมีการเปลี่ยนแปลงค่าคุณภาพตามระยะเวลาการเก็บรักษา และหากมีสมการที่คำนวณได้มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูงก็จะสามารถนำมาใช้คาดการณ์อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารได้ ทั้งนี้ จะต้องใช้เกณฑ์การยอมรับจากหน่วยงานที่เชื่อถือได้ หรือ เป็นที่ยอมรับกับอย่างแพร่หลายในการคำนวณอายุการเก็บรักษา (ปองพล, 2557)

สำหรับการทำนายอายุการเก็บรักษาของหมึกกล้วยที่แช่ในสารละลายดังกล่าวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้ใช้คุณภาพทั้งสามได้แก่ ปริมาณ TVBN, TMA และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในการคำนวณอายุการเก็บรักษาด้วยสมการจลนศาสตร์ (ตารางที่ 2.5) โดยกำหนดให้ TVBN ค่าสูงสุดเท่ากับ 35 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัมตัวอย่าง และ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 6 log CFU/กรัม โดยการอ้างอิงจากมาตรฐาน EC No.1022/2008 ของปลา และมาตรฐานหมึกสด ของ มกอช. (2548) ตามลำดับ ส่วนปริมาณ TMA นั้น ไม่มีในเกณฑ์ข้อกำหนดของประเทศใดๆ จึงอ้างอิงจากรายงานของ Karim และคณะ (2016) ที่มีค่า TMA 15 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัมตัวอย่าง ผลการคำนวณอายุการเก็บรักษาของหมึกกล้วยในแต่ละทรีตเมนต์แสดงในตารางที่ 4.5 โดยพบว่าการใช้เกณฑ์ปริมาณ TVBN และ TMA นี้ อาจไม่เหมาะสมในการประเมินอายุการเก็บรักษา เนื่องจากเกณฑ์ที่ใช้ไม่ใช่เกณฑ์ของผลิตภัณฑ์ชนิดนี้โดยตรง โดย Karim และคณะ(2016) ได้เสนอแนะให้เกณฑ์การยอมรับสำหรับค่า TVBN สำหรับหมึก อยู่ที่ไม่เกิน 20 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัมเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 อายุการเก็บรักษาโดยประมาณของหมึกกล้วยที่แช่สารละลายเกลือที่ความเข้มข้นต่างๆ

ทรีตเมนต์	K (อันดับของสมการ)			อายุการเก็บรักษาโดยประมาณ (วัน)		
	TVBN	TMA	ปริมาณจุลินทรีย์	TVBN	TMA	ปริมาณจุลินทรีย์
ควบคุม	0.0869 (1^{st})	0.7100 (Zero)	0.5983 (Zero)	17	18	5
1	-	-	0.5731 (Zero)	-	-	5
2	0.0869 (1^{st})	0.7100 (Zero)	0.1276 (1^{st})	19	18	5
3/9	1.4600 (Zero)	0.6750 (Zero)	0.1236 (1^{st})	20	19	5
4	0.5300 (Zero)	-	0.7459 (Zero)	53	38	4
5	0.1656 (1^{st})	0.2226 (1^{st})	0.5463 (Zero)	10	8	5
6	0.2179 (1^{st})	1.1700 (Zero)	0.6196 (Zero)	8	11	6
7/8	0.0890 (1^{st})	0.6750 (Zero)	0.6216 (Zero)	21	20	5
10/12	0.1084 (1^{st})	-	0.0671 (1^{st})	18	-	9
11	-	-	0.5073 (Zero)	-	-	5
13	-	-	0.5073 (Zero)	-	-	6

หมายเหตุ เครื่องหมาย (/) เช่น 3/9 หมายถึง ทรีตเมนต์ที่ใช้ความเข้มข้นของเกลือในการแช่หมึก และ จัดเป็นซ้ำทรีตเมนต์ ค่าสัมประสิทธิ์ที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยของสองทรีตเมนต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับปริมาณ TMA นั้น Vaz-Pires และคณะ (2008) เสนอว่าควรพิจารณาร่วมกันกับลักษณะปรากฏของกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ของหมึก เมื่อการทดลองกับการแช่หมึกกระดอง (*Sepia officinalis*) ในน้ำแข็งเป็นเวลา 13 วัน แม้ว่าปริมาณ TMA ที่เกิดขึ้นอยู่ระหว่าง 0.01 ถึง 10 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัม แต่คุณลักษณะทางกลิ่นไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคตั้งแต่วันที่ 8 ของการเก็บรักษา คล้ายคลึงกับผลการทดลองที่พบว่า กลิ่นคาวของหมึก (ข้อ 4.1) เริ่มไม่เป็นที่ยอมรับกตั้งแต่วันที่ 3 ของการเก็บรักษา และมีกลิ่นเน่าเสียในวันที่ 6 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อใช้ปริมาณจุลินทรีย์จำนวนไม่เกิน 6 log CFU ต่อกรัม ของเนื้อหมึกเป็นเกณฑ์ในการประเมินอายุการเก็บรักษา พบว่าให้ผลใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุด โดยมีจากการประเมินอายุการเก็บรักษาพบว่า ตัวอย่างควบคุมและทรีตเมนต์ส่วนใหญ่จะมีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ประมาณ 5-6 วัน สอดคล้องกับผลของลักษณะปรากฏที่วิเคราะห์ในข้างต้น เพราะนอกจากหมึกจะมีกลิ่นเหม็นเน่าประมาณวันที่ 6 ของการเก็บรักษาแล้วลักษณะของผิวหนัง และ เนื้อหมึกก็ยังมีคะแนนทางคุณภาพไม่ดี หรือมีค่าต่ำที่สุดอีกด้วย และเช่นเดียวกันกับผลของการวิเคราะห์ทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ (ข้อที่ 4.1-4.5) การใช้โซเดียมคาร์บอเนต 5 เปอร์เซ็นต์ (ทรีตเมนต์ที่ 10/12) สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของหมึกจาก 5 วัน เป็น 9 วันได้

อย่างไรก็ตาม อายุการเก็บรักษาของหมึกสด อาจเกี่ยวข้องกับปัจจัยอื่นๆ เช่น วิธีการปฏิบัติหลังการจับและการขนส่งสัตว์น้ำสด อุณหภูมิในการเก็บรักษา ตลอดจนเชื้อเริ่มต้นของสัตว์น้ำ ดังรายงานของ Koutsoumanis (2001) ซึ่งประเมินอายุการเก็บรักษาของปลาอีคุด (*Sparus aurata*) ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 0-15 องศาเซลเซียส พบว่า อายุการเก็บรักษาจะเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิในการเก็บลดลง อายุการเก็บประมาณ 5-6 วัน ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพิ่มขึ้นเป็น 6-10 วัน ที่ 0 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ในการทดลองเบื้องต้นยังพบว่า หากเชื้อเริ่มต้นมีปริมาณมาก อาจให้ผลการประเมินอายุการเก็บรักษาลดลง หรือ แตกต่างไปจากการทดลองนี้ได้เช่นเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

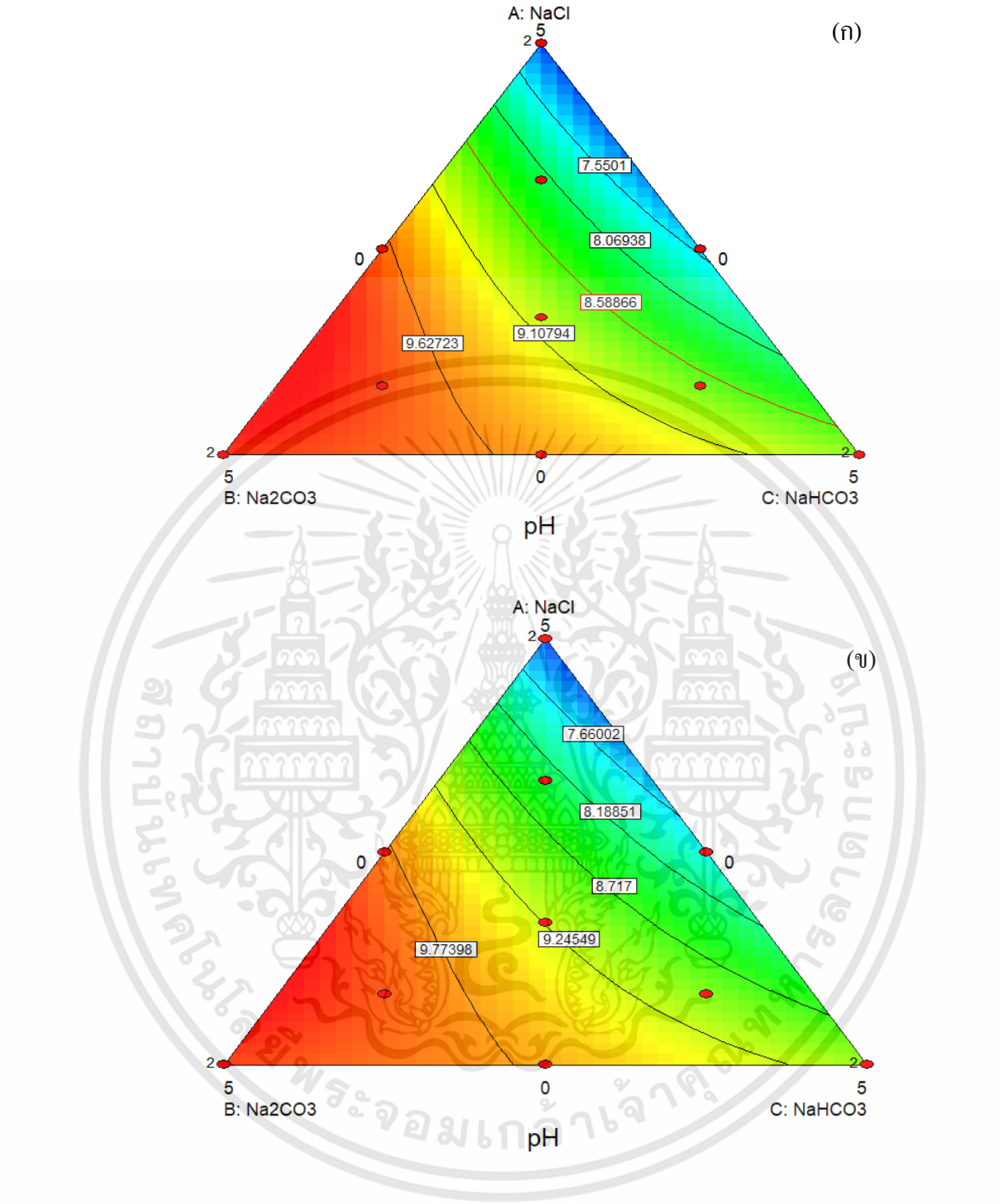
4.8 การวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมด้วยโปรแกรมทางคณิตศาสตร์

เมื่อนำข้อมูลคุณภาพของตัวอย่างทั้ง 13 ทรีตเมนต์ในวันที่ 3 และ 6 ของการเก็บรักษา (ภาคผนวก ค) มาคำนวณด้วยโปรแกรม Design expert เพื่อหาความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ศึกษากับตัวแปรตาม ผลการวิเคราะห์แสดงเป็นแผนภาพ Contour plot ซึ่งเป็นการตอบสนองของตัวแปรต่อปัจจัยที่ศึกษาจากน้อยไปหามาก ตามระดับของสีจากสีน้ำเงิน เขียว เหลือง และ แดง โดย สีน้ำเงินจะแสดงค่าการตอบสนองต่ำ ส่วนสีแดงจะแสดงค่าการตอบสนองมาก ทั้งนี้ การเพิ่มปัจจัยที่ศึกษาอาจทำให้ค่าตอบสนองมีค่ามากขึ้นหรือลดลงได้

อิทธิพลของเกลือทั้ง 3 ต่อการตอบสนองของค่าพีเอช ในหมึก พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคาร์บอเนต มีผลต่อค่าพีเอชในเนื้อหมึกมากที่สุด โดยให้ผลไปในทิศทางเดียวกันเมื่อเพิ่มระยะเวลาจาก 3 (ภาพที่ 4.6 ก) เป็น 6 วัน (ภาพที่ 4.5 ข) เนื่องจาก สารละลายเกลือดังกล่าวมีสมบัติเป็นด่าง เมื่อการแช่หมึกเป็นระยะเวลาหนึ่ง จะทำให้เกิดการซึมผ่านผนังเซลล์ ส่งผลให้ตัวอย่างมีค่าพีเอชสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ ที่ใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้นที่ต่ำกว่า

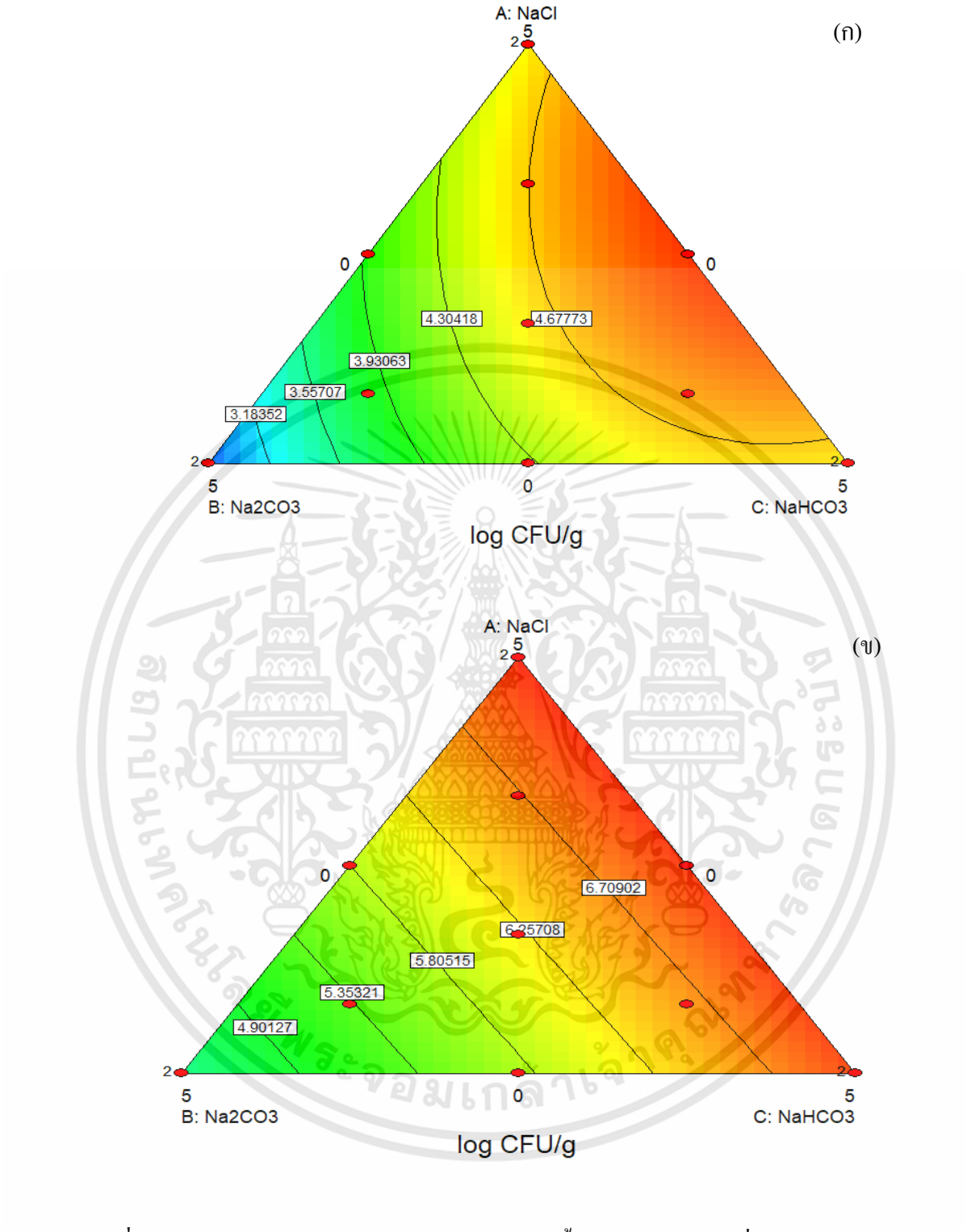
แผนภาพ Contour ที่แสดงปริมาณจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่เก็บไว้ 3 และ 6 วัน แสดงดังภาพที่ 4.7 ก และ ข ตามลำดับ จากภาพแสดงให้เห็นว่า การเพิ่มปริมาณโซเดียมคาร์บอเนตส่งผลในทางลบต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมากที่สุด ทั้งนี้ การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคาร์บอเนต มีผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงตาม ซึ่งอาจเป็นผลตั้งแต่ในขั้นตอนการแช่ เพราะ เมื่อละลายน้ำโซเดียมคาร์บอเนตจะแตกตัวมากขึ้น พีเอชจะเป็นด่าง อาจทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมในการเจริญ ในขณะเดียวกัน จะมีปริมาณกรดคาร์บอนิกในสารละลายเพิ่มขึ้น เมื่อซึมผ่านเข้าผนังเซลล์จะแตกตัวภายในเซลล์จุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ดังกล่าวตายลงในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 แผนภาพ Contour แสดงพีเอชในหมึกกล้วยที่แช่ด้วยโซเดียมคลอไรด์ (X_1) โซเดียมคาร์บอเนต (X_2) และ โซเดียมไบคาร์บอเนต (X_3) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน (ก) และ 6 วัน (ข)

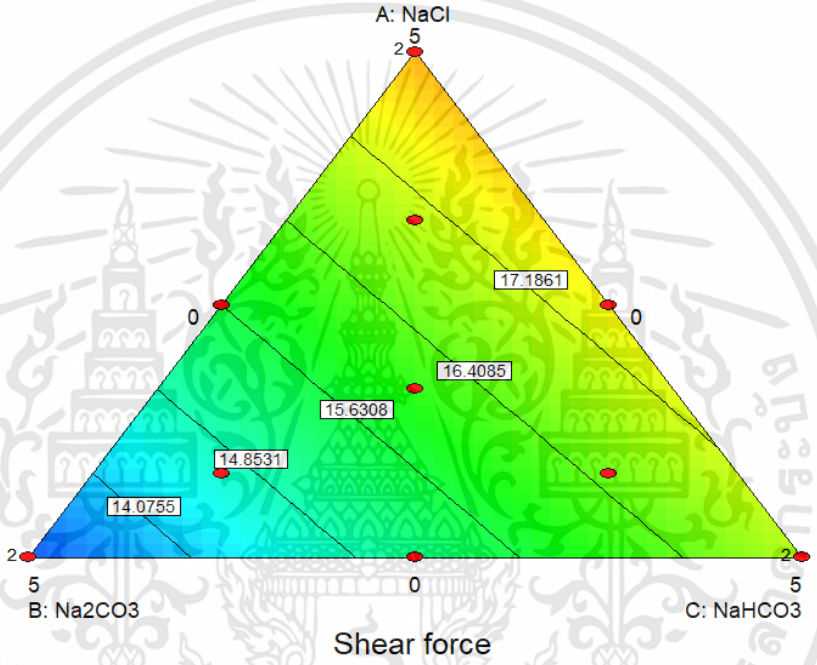
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.7 แผนภาพ Contour แสดงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของตัวอย่างที่แช่ด้วยโซเดียมคลอไรด์ (X_1) โซเดียมคาร์บอเนต (X_2) และ โซเดียมไบคาร์บอเนต (X_3) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน (ก) และ 6 วัน (ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

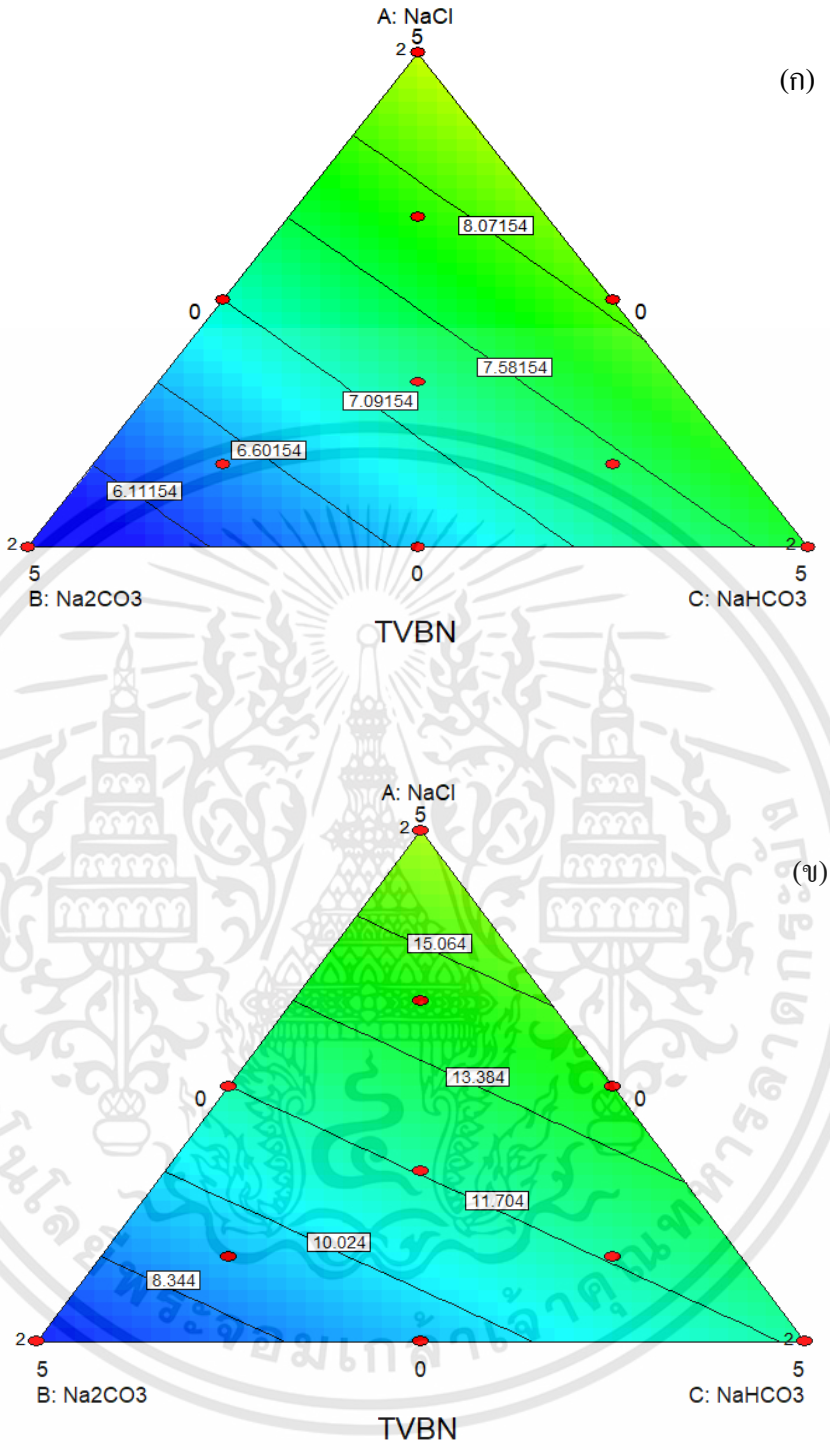
สำหรับค่าแรงเฉือนนั้น สามารถสร้างแผนภาพ Contour ได้เฉพาะวันที่ 3 ของการเก็บรักษา ทั้งนี้ เนื่องจากไม่สามารถสร้างสมการอธิบายอิทธิพลของเกลือ 3 ชนิดต่อค่าแรงเฉือนในวันที่ 6 ของการเก็บรักษาได้ แสดงว่า เนื้อหมึกนั้นเปลี่ยนสภาพ หรือ นิ่ม จากการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ทั้งจากเนื้อหมึกเอง หรือ จุลินทรีย์ จนมีค่าแรงเฉือนใกล้เคียงกัน แผนภาพ Contour แสดงค่าแรงเฉือนของหมึกในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา แสดงดังภาพที่ 4.8 โดยโซเดียมคาร์บอเนตและโซเดียมไบคาร์บอเนต จะมีผลต่อการลดลงของค่าแรงเฉือน



ภาพที่ 4.8 แผนภาพ Contour แสดงค่าแรงเฉือน (Shear force) ในหมึกกล้วยที่แช่ด้วยโซเดียมคลอไรด์ (X_1) โซเดียมคาร์บอเนต (X_2) และ โซเดียมไบคาร์บอเนต (X_3) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน

ปริมาณ TVBN แสดงอิทธิพลของเกลือทั้ง 3 ชนิด ดังภาพที่ 4.9 โดยการเพิ่มปริมาณโซเดียมคลอไรด์และ โซเดียมไบคาร์บอเนต ส่งผลให้ปริมาณ TVBN เพิ่มขึ้นมากกว่าการเพิ่มปริมาณโซเดียมคาร์บอเนต เนื่องจาก เกลือทั้ง 2 อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนในกล้ามเนื้อ ส่งผลให้เอนไซม์โปรตีเอทำงาน หรือ มีกิจกรรมดีขึ้น และเกิด สารประกอบจำพวก เอมีนที่ระเหยได้ต่างๆ ส่งผลให้ปริมาณ TVBN มีค่าสูงขึ้น และสูงกว่าการใช้โซเดียมคาร์บอเนตในการแช่หมึก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)

(ข)

(ข)

ภาพที่ 4.9 แผนภาพ Contour แสดงปริมาณ TVBN ในหมึกกล้วย ที่แช่ด้วยโซเดียมคลอไรด์ (X_1) โซเดียมคาร์บอเนต (X_2) และ โซเดียมไบคาร์บอเนต (X_3) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน (ก) และ 6 วัน (ข) วัน

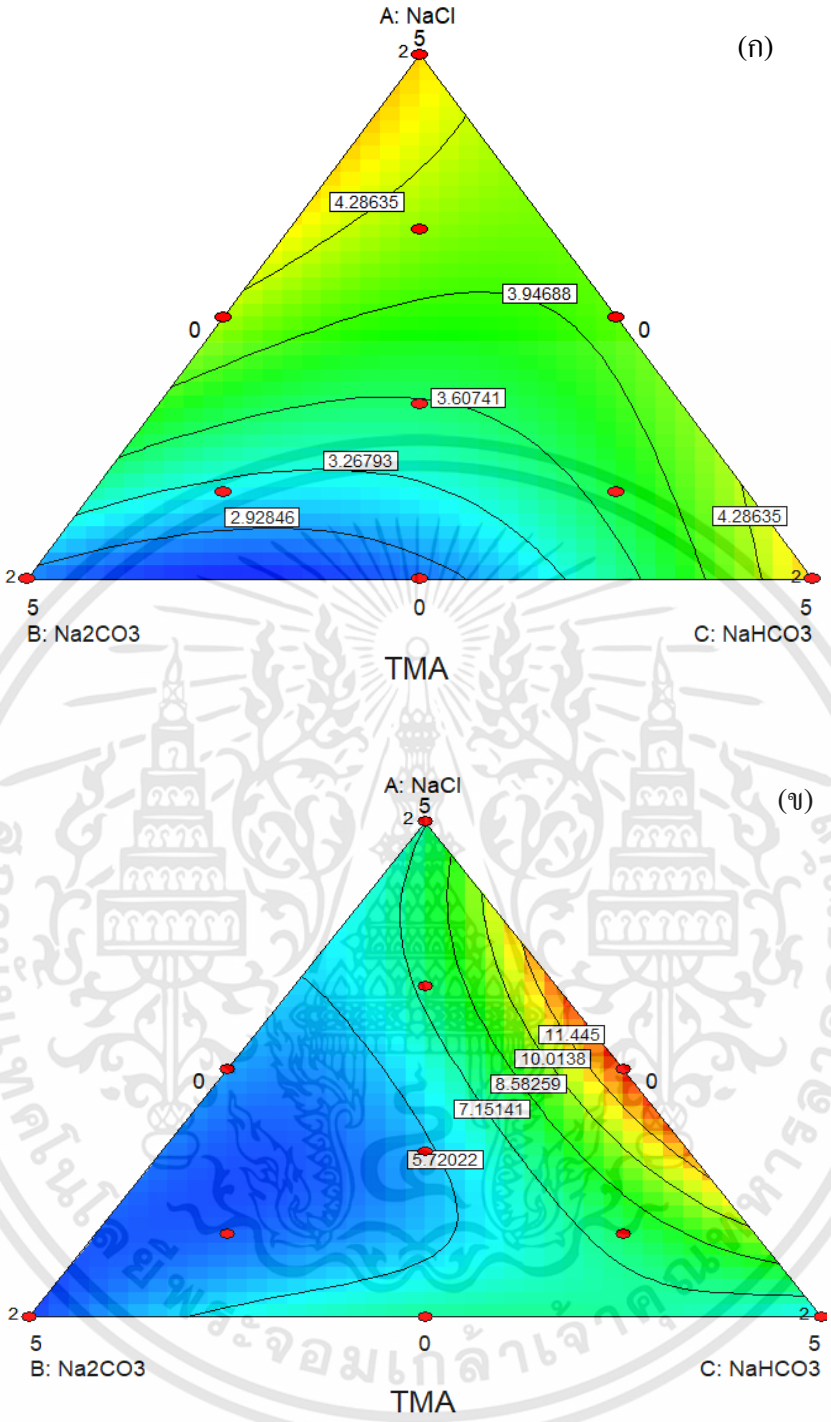
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาร่วมกับแผนภาพ Contour plot ที่แสดงค่าตอบสนองของ TMA ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของเอมีนที่ระเหยได้ ของตัวอย่างหมึกในวันที่ 3 และ 6 ของการเก็บรักษา ดังภาพที่ 4.10 ก และ 4.10 ข ตามลำดับ พบว่า เป็นเช่นเดียวกับแผนภาพของ TVBN ในวันที่ 3 (ภาพที่ 4.10 ก) โดยการเพิ่มโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมไบคาร์บอเนต จะมีผลทำให้ค่า TMA เพิ่มขึ้น แต่จะเห็นอย่างชัดเจนในวันที่ 6 (ภาพที่ 4.10 ข) เนื่องจาก ปริมาณ TMA เกิดจากการย่อยโปรตีนจากเอนไซม์โปรตีเอส ดังที่ได้อภิปรายมาแล้ว อีกทั้ง การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ จะมีผลทำให้โปรตีนคลายตัวได้มากขึ้น (สุเวทย์ และ จิรวัฒน์, 2543) นอกจากนี้ โซเดียมไบคาร์บอเนตยังมีสมบัติในการเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของเส้นใยโปรตีน (Török, 2015) ทำให้โปรตีนในกล้ามเนื้อหมึกอ่อนแอลงมากกว่าการใช้เกลือชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียว อีกทั้งยังส่งผลให้ ปฏิกิริยาการย่อยสลายของจุลินทรีย์เกิดขึ้นได้ง่ายอีกด้วย (Szymczak และ Kolakowski ,2015) จากเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้ค่า TMA เพิ่มขึ้น

4.9 สัดส่วนของเกลือที่เหมาะสมในการแช่หมึก

จากการวิเคราะห์ข้อมูลโดยโปรแกรมทางคณิตศาสตร์ เพื่อหาสมการในทำนายผลของสารละลายเกลือผสม ต่อคุณลักษณะของหมึกที่ผ่านการแช่ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ได้แสดงดังตารางที่ 4.5 พบว่า สมการของคุณลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแช่เกลือนั้นมีความแตกต่างกัน แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ (1) สมการเส้นตรง (Linear model) ได้แก่ TVBN (R^2 = 0.7297) และค่าแรงเฉือน (R^2 = 0.5173) (2) สมการกำลังสอง (Quadratic model) ได้แก่ พีเอช (R^2 = 0.9678), ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (R^2 = 0.7573) และ TMA (R^2 = 0.7861) ทั้งนี้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) จะแสดงถึงความเชื่อมั่น หรือระดับการยอมรับของสมการนั้นๆ โดยจะมีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 1 ยิ่งมีค่าเข้าใกล้ 1 จะหมายความว่าสมการนั้นสามารถทำนายค่าตอบสนองได้ดี (สุจินดา, 2548) และอีกส่วนประกอบที่สำคัญในสมการ คือ ค่าสัมประสิทธิ์ หมายถึงค่าคงตัวซึ่งเป็นตัวคูณของตัวแปรใดๆ ในที่นี้จะใช้คูณกับตัวแปร ซึ่งได้แก่ความเข้มข้นของเกลือทั้ง 3 ชนิด เพื่อให้ได้ค่าตอบสนอง สำหรับสมการที่จะนำไปทดสอบ Haaland (1989) และ Hu (1999) กล่าวว่าสมการที่นำไปทดสอบ มักจะมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ตั้งแต่ 0.75 ขึ้นไป จึงจะถือว่าสามารถอธิบายค่าตอบสนองได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.10 แผนภาพ Contour แสดงปริมาณ TMA ใยนหมึกกล้วย ที่แช่ด้วยโซเดียมคลอไรด์ (X_1) โซเดียมคาร์บอเนต (X_2) และ โซเดียมไบคาร์บอเนต (X_3) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน (ก) และ 6 วัน (ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 สมการที่ทำนายได้จากการวางแผนการทดลองแบบผสมโดยใช้ข้อมูลในวันที่ 3

ค่าตอบสนอง	สมการ	R^2
pH	$1.41\ X_1 + 2.00\ X_2 + 1.77\ X_3 + 0.19\ X_1 X_2 - 0.07\ X_1 X_3 + 0.02\ X_2 X_3$	0.9678
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด	$0.91\ X_1 + 0.56\ X_2 + 0.91\ X_3 + 0.05\ X_1 X_2 + 0.08\ X_1 X_3 + 0.09\ X_2 X_3$	0.7573
แรงเฉือน	$3.59\ X_1 + 2.66\ X_2 + 3.39\ X_3$	0.6176
TVBN	$1.71\ X_1 + 1.12\ X_2 + 1.54\ X_3$	0.7297
TMA	$0.90\ X_1 + 0.57\ X_2 + 0.93\ X_3 + 0.09\ X_1 X_2 - 0.08\ X_1 X_3 - 0.15\ X_2 X_3$	0.7861

หมายเหตุ: X_1: โซเดียมคลอไรด์ X_2: โซเดียมคาร์บอเนต X_3: โซเดียมไบคาร์บอเนต
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด: log CFU/g, แรงเฉือน: นิวตัน ,
TVBN: มิลลิกรัมไนโตรเจน/100กรัม, TMA: มิลลิกรัมไนโตรเจน/100กรัม

จากตารางที่ 4.5 เมื่อพิจารณาสมการเส้นตรงของการทำนายค่าแรงเฉือน พบว่าสัมประสิทธิ์ของเกลือทั้ง 3 ชนิด มีค่าอยู่ระหว่าง 2.66 ถึง 3.59 โดยค่าสัมประสิทธิ์ของโซเดียมคลอไรด์มีค่าสูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มโซเดียมคลอไรด์ (X_1) จะทำให้ค่าแรงเฉือนของหมึกเพิ่มขึ้นมากกว่าโซเดียมคาร์บอเนต (X_2) และโซเดียมไบคาร์บอเนต (X_3) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) มีค่า 0.6176 ซึ่งมีค่าค่อนข้างต่ำ ทั้งนี้การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส ยังอาจมีปัจจัยอื่นๆที่เกี่ยวข้อง ที่ทำให้เกิดข้อผิดพลาดโดยเฉพาะ ความหนาของชิ้นเนื้อหมึกที่แตกต่างกัน ปัจจัยที่กล่าวมานี้ อาจทำให้เกิดการเบี่ยงเบน และทำให้สมการทำนายมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ลดลงได้

สมการทำนายอื่นๆ ที่แสดงอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของเกลือในวันที่ 3 นั้นอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของเกลือ อาจเห็นผลไม่เด่นชัดเท่ากับการใช้เกลือชนิดเดียว เช่น สมการทำนายค่าพีเอช $= 1.41\ X_1 + 2.00\ X_2 + 1.77\ X_3 + 0.19\ X_1 X_2 - 0.07\ X_1 X_3 + 0.02\ X_2 X_3$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9678 ถึงแม้ว่าอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของเกลือจะให้ค่าเป็นบวก (+) ซึ่งหมายถึงการใช้เกลือสองชนิดร่วมกันก็มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าพีเอช แต่ยังไม่เทียบเท่ากับการใช้โซเดียมคาร์บอเนตเพียงอย่างเดียว ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์เท่ากับ 2 ซึ่งสูงที่สุด แสดงว่า การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคาร์บอเนต จะมีผลต่อค่าพีเอชมากที่สุดนั่นเอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการใช้ข้อมูลของการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 วัน มาใช้ในการสร้างสมการทำนายผลของสารละลายเกลือผสมต่อค่าตอบสนอง แสดงสมการไว้ในตารางที่ 4.6 โดยพบว่า สมการจะมีความแตกต่างกัน กับสมการจากข้อมูลการเก็บในวันที่ 3 จากสมการ พบว่าสมการที่ได้มี 3 ประเภท ได้แก่ (1) สมการเส้นตรง คือ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (R^2 = 0.6110) และ ปริมาณ TVBN (R^2 = 0.5072) (2) สมการกำลังสอง ได้แก่ พีเอช (R^2 = 0.9870) และสมการกำลังสามพิเศษ (Special cubic) (R^2 = 0.8616) จากตารางที่ 4.6 แสดงว่าชุดข้อมูลในวันที่ 6 สามารถใช้ในการทำนายค่าพีเอช และ TMA ได้ดีกว่าค่าอื่นๆ แต่ไม่สามารถสร้างสมการเพื่อทำนายค่าแรงเฉือนได้ (Model not significant) จึงไม่นำมาใช้ในการสร้างสมการทำนาย

ตารางที่ 4.6 สมการทำนายที่ได้จากการวางแผนการทดลองแบบผสมโดยใช้ข้อมูลในวันที่ 6

ค่าตอบสนอง	สมการ	R^2
pH	$1.43\ X_1 + 2.03\ X_2 + 1.81\ X_3 + 0.19\ X_1X_2 - 0.05\ X_1X_3 + 0.02\ X_2X_3$	0.9870
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด	$1.43\ X_1 + 0.89\ X_2 + 1.41\ X_3$	0.6110
TVBN	$3.35\ X_1 + 1.33\ X_2 + 2.37\ X_3$	0.5072
TMA	$1.42\ X_1 + 0.86\ X_2 + 1.21\ X_3 - 0.09\ X_1X_2 + 1.00\ X_1X_3 + 0.27\ X_2X_3 - 0.77\ X_1X_2X_3$	0.8616

หมายเหตุ: X_1: โซเดียมคลอไรด์ X_2: โซเดียมคาร์บอเนต X_3: โซเดียมไบคาร์บอเนต
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด: log CFU/g , TVBN : มิลลิกรัมไนโตรเจน/100กรัม
TMA: มิลลิกรัมไนโตรเจน/100กรัม

การวิเคราะห์หาสัดส่วนที่เหมาะสมของสารละลายเกลือผสมในการแช่หมึกก่อนการเก็บรักษานั้น จำเป็นต้องกำหนดเงื่อนไขของคุณลักษณะแต่ละคุณลักษณะ ก่อนจะใช้โปรแกรมทางคณิตศาสตร์ในการวิเคราะห์หาสัดส่วนของสารละลายเกลือที่ดีที่สุดที่จะทำให้ได้ค่าคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ทั้งนี้ได้กำหนดช่วงของคุณลักษณะต่างๆ ดังตารางที่ 4.7 จากนั้นวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมทางคณิตศาสตร์ จากข้อมูลในวันที่ 3 ได้สัดส่วนที่เหมาะสมคือ โซเดียมคลอไรด์ 1.74 เปอร์เซ็นต์+โซเดียมคาร์บอเนต 1.45 เปอร์เซ็นต์+โซเดียมไบคาร์บอเนต 1.82 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าการตัดสินใจเท่ากับ 0.424 แต่เมื่อใช้ข้อมูลในวันที่ 6 ในการคำนวณ ได้สัดส่วนที่เหมาะสมคล้ายคลึงกัน คือ โซเดียมคลอไรด์+โซเดียมคาร์บอเนต+โซเดียมไบคาร์บอเนต เข้มข้น 1.67 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าการตัดสินใจเท่ากับ 0.439 เมื่อพิจารณาค่าความพึงพอใจ ซึ่งเป็นค่ากำหนด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเป็นไปได้ของ Y_i โดย 0 เท่ากับ ค่าที่ไม่ต้องการมากที่สุด และ 1 สำหรับค่าที่ต้องการมากที่สุด (สันติ, 2552) นั้น ค่าความพึงพอใจที่ได้อยู่ในระดับที่ 4 (มีค่าระหว่าง 0.37-0.63) จึงจัดอยู่ในระดับพอใช้ (Satisfactory) ตามเกณฑ์ที่กำหนดโดย Lazic (2004) แล้วนำไปทดสอบความคลาดเคลื่อนของสมการทำนาย และการทดสอบทางประสาทสัมผัสเป็นอันดับถัดไป ตามลำดับ

ตารางที่ 4.7 ระดับของตัวแปรที่ใช้หาสัดส่วนของเกลือที่เหมาะสมในการแช่หมึก

ตัวแปร/คุณลักษณะ	ระดับปัจจัยที่กำหนด	ช่วงของปัจจัยที่กำหนด
โซเดียมคลอไรด์ (%)	Maximize	0-5
โซเดียมคาร์บอเนต (%)	Maximize	0-5
โซเดียมไบคาร์บอเนต (%)	Maximize	0-5
TVBN (mg N/100 g)	In-range	5-20
TMA (mg N/100 g)	In-range	3-15
pH	In-range	6.5 – 9.5
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/g)	In-range	2 – 5

4.10 การทดสอบยืนยันสมการทางคณิตศาสตร์

การทดสอบยืนยันสมการทางคณิตศาสตร์ ด้วยการเลือกเอาบางทรีตเมนต์ ได้แก่ ทรีตเมนต์ที่มีสัดส่วนของเกลือที่เหมาะสมตามสมการคณิตศาสตร์ ได้แก่ ทรีตเมนต์ที่ 4 (1.67 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์+โซเดียมคาร์บอเนต+โซเดียมไบคาร์บอเนต) ทรีตเมนต์ที่มีความใกล้เคียงกับทรีตเมนต์ควบคุมมากที่สุด ได้แก่ ทรีตเมนต์ที่ 9 (โซเดียมคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์) ทรีตเมนต์ที่สามารถประเมินอายุการเก็บรักษาได้สูงที่สุด ได้แก่ ทรีตเมนต์ที่ 10 (5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคาร์บอเนต) มาทดลองซ้ำ เพื่อพิสูจน์ว่าสมการที่คำนวณได้ สามารถทำนายค่าตอบสนองที่ต้องการศึกษา ได้แก่ พีเอช, ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด, TVBN, TMA ได้แม่นยำหรือไม่ โดยแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (Relative error, RE) โดยผลการทดสอบยืนยันสมการพบว่าสมการทำนายค่าพีเอช และ TMA มีเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนน้อยที่สุดเป็นอันดับหนึ่งและสอง (ตารางที่ 4.8)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบยืนยันสมการทางคณิตศาสตร์

การวิเคราะห์	ทรีตเมนต์	ค่าที่ได้จากการทำนาย	ค่าจริง	%RE
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/g)	4	6.21	2.60	139.06
	9	7.15	2.06	247.04
	10	4.45	1.30	242.04
พีเอช	4	9.25	9.35	1.05
	9	7.15	7.16	0.07
	10	10.15	10.33	1.69
TMA (mg N/100g)	4	5.53	5.88	5.90
	9	7.10	6.30	12.70
	10	4.30	4.62	6.93
TVBN (mg N/100g)	4	11.77	16.38	28.12
	9	16.75	13.86	20.85
	10	6.65	9.66	31.16

จากตารางที่ 4.8 พบว่าเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (%RE) ของค่าที่ทำนายได้ต่อค่าจริงจากการวิเคราะห์ค่าพีเอช มีค่าอยู่ระหว่าง 0.07 ถึง 1.69 เปอร์เซ็นต์ ค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์เป็นค่าบ่งชี้ถึงความแม่นยำในการประมาณเมื่อเทียบกับค่าจริง (พรทรัพย์, 2555) ซึ่งถ้าขนาดความคลาดเคลื่อนมีค่าน้อย แสดงว่ามีความถูกต้องสูง (Good accuracy) แต่อย่างไรก็ตาม ยังอาจพบความคลาดเคลื่อนได้บ้าง เพราะในทางปฏิบัติจริง ไม่มีการวิเคราะห์ใดที่จำกัดความคลาดเคลื่อนได้ทั้งหมด (วรวิทย์, 2559) การที่เปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ของค่าจริงและค่าที่ทำนายได้ของค่าพีเอชมีค่าต่ำที่สุด สาเหตุอาจเป็นเพราะสมการของค่าพีเอชเองที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ค่อนข้างสูง และเป็นสมการที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มากที่สุด ($R^2 = 0.9870$) หมายถึงสามารถอธิบายค่าตอบสนองได้ค่อนข้างดี เมื่อนำมาใช้ทดสอบจริง จึงสามารถทำให้ค่าจริงและค่าที่ทำนายมีความใกล้เคียงกัน สำหรับความแม่นยำของสมการทำนายค่า TMA จากตารางที่ 4.8 พบว่าเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ของค่าที่ทำนายได้ต่อค่าจริงจากการวิเคราะห์ค่า TMA มีค่าอยู่ระหว่าง 5.90 ถึง 12.70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่ามีความแม่นยำในการทำนายที่ต่ำกว่าสมการทำนายค่าพีเอช เนื่องจากสมการทำนายปริมาณ TMA มีสัมประสิทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สหสัมพันธ์ต่ำกว่าเล็กน้อย ($R^2 = 0.8616$) ซึ่งทำให้สมการที่ได้สามารถอธิบายค่าตอบสนองได้ดีพอใช้ แต่ก็ยังมีความคลาดเคลื่อนเกิดขึ้น

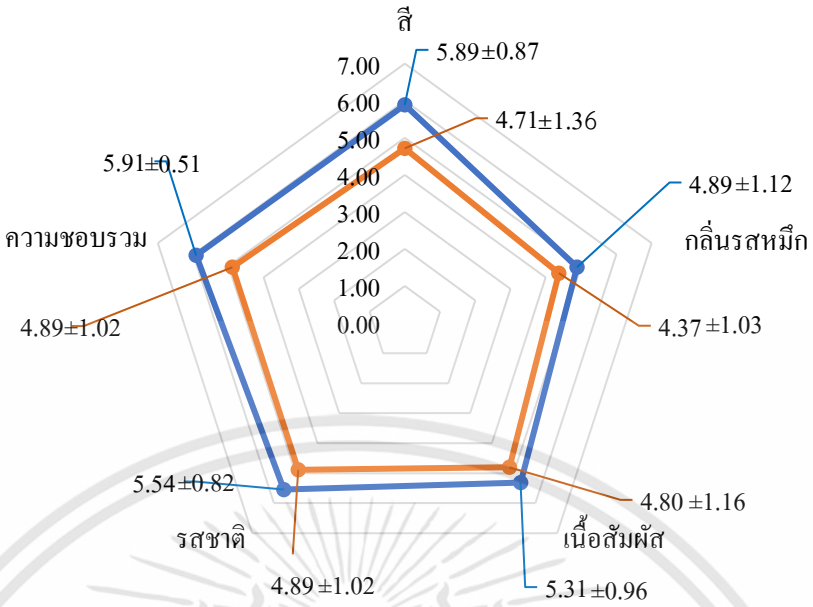
สำหรับทดสอบยืนยันสมการคณิตศาสตร์ของสมการทำนายปริมาณ TVBN และ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ค่อนข้างสูง และสูงมากสำหรับสมการทำนายปริมาณจุลินทรีย์ ทั้งนี้พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของสมการทั้งสองมีค่าเท่ากับ 0.5072 และ 0.6110 ตามลำดับ และอาจไม่เหมาะสมในการสร้างสมการทำนาย ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่เหมาะกับการนำไปสร้างสมการทำนายผล ควรมีค่าอยู่ประมาณ 0.75 (Haaland, 1989; Hu 1999)

นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นของหมึกกล้วยที่นำมาทดสอบเพื่อยืนยันสมการมีค่าต่ำกว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของหมึกกล้วยที่ใช้วิเคราะห์เพื่อสร้างสมการทำนาย จึงอาจทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนเพิ่มขึ้น การใช้สมการทำนายปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด อาจต้องใช้กับวัตถุดิบที่มีค่าปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นใกล้เคียงกับตัวอย่างที่นำมาสร้างสมการให้ได้มากที่สุด คือ ประมาณ 3 log CFU/กรัม

4.11 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของสูตรที่เหมาะสม

เมื่อเตรียมตัวอย่างจากสูตรที่คัดเลือกมาในข้อ 4.9 ด้วยการนำหมึกกล้วยมาแช่ด้วยสารละลายเกลือผสม โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมคาร์บอเนต และ โซเดียมไบคาร์บอเนตเข้มข้นอย่างละ 1.67 เปอร์เซ็นต์ และ มาทดสอบทางประสาทสัมผัสร่วมกับตัวอย่างควบคุม (แช่ด้วยน้ำเย็น) ด้วยวิธี 7 points Hedonic scale และการทดสอบความพอดี (Just about right) โดยกำหนดคุณลักษณะที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ สี ความชอบรวม กลิ่นรสหมึก เนื้อสัมผัส รสชาติ และความชอบรวม ผลการทดสอบแสดงดังภาพที่ 4.11 โดยพบว่า คะแนนความชอบของตัวอย่างควบคุม มีค่าอยู่ระหว่าง 4.89±1.21 ถึง 5.91±0.51 ซึ่งมากกว่าตัวอย่างหมึกที่แช่ในสารละลายเกลือในทุกคุณลักษณะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยตัวอย่างที่คัดเลือกมาจากสมการทางคณิตศาสตร์ มีคะแนนความชอบอยู่ระหว่าง 4.37±1.03 ถึง 4.89±1.02 คะแนน หรืออยู่ในระดับเฉยๆ บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



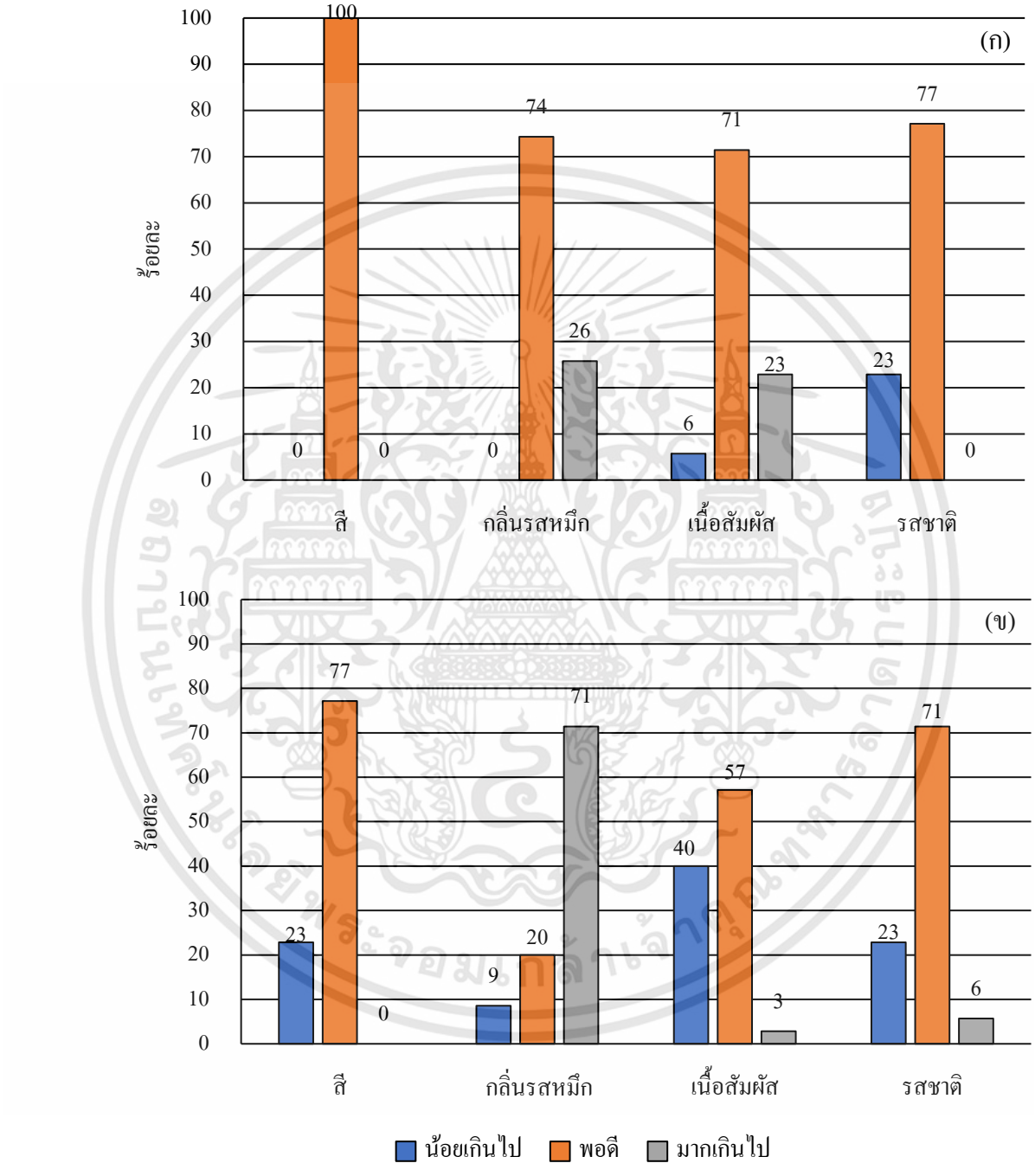
ภาพที่ 4.11 คะแนนความชอบในคุณลักษณะด้านต่างๆที่ทำการทดสอบ ได้แก่ สี กลิ่นรสหมึก เนื้อสัมผัส รสชาติ และความชอบรวม

หมายเหตุ: เส้นสีน้ำเงิน หมายถึง ตัวอย่างควบคุม
เส้นสีส้ม หมายถึง ตัวอย่างที่คัดเลือกมาจากสมการ

เมื่อพิจารณาในแต่ละคุณลักษณะพบว่า ลักษณะปรากฏ กลิ่นรสหมึก และเนื้อสัมผัส ที่แตกต่างกันกับตัวอย่างควบคุมอาจเป็นผลทำให้คะแนนความชอบของคุณลักษณะนั้นๆลดลง ส่งผลไปถึงความชอบรวม เนื่องจากหมึกแช่ในสารละลายที่เป็นด่าง ทำให้เนื้อสัมผัสนิ่มลง และทำให้เนื้อมีลักษณะโปร่งใสคล้ายเมือกมากขึ้น นอกจากนี้ ยังสังเกตได้ว่า ตัวอย่างที่แช่ในสารละลายเกลือมีลักษณะชิ้นอวบหนา ชุ่มน้ำมากกว่า จึงทำให้กลิ่นรสของหมึกมีมากเกินไป นอกจากนี้ในการเสิร์ฟตัวอย่างนั้น ให้รับประทานหมึกลวก โดยไม่ได้เสริฟซอส น้ำจิ้มหรือเครื่องเคียงเหมือนการบริโภคโดยทั่วไป ทั้งนี้เพื่อให้ได้รับรสชาติที่แท้จริงได้ดีขึ้น จึงอาจทำให้ผู้บริโภครู้สึกไม่คุ้นเคยกับรสชาติได้ สอดคล้องกับรายงานของ Chantarasuwan และคณะ (2011) ซึ่งพบว่าคะแนนความชอบด้านสีของกุ้งขาวแวนนาไมด์ที่แช่ในน้ำเกลือ (Brine) ผสมกับโซเดียมคาร์บอเนต 2.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าน้อยลง เนื่องจากเกิดลักษณะคล้ายเมือกที่บริเวณผิวของเนื้อกุ้ง ซึ่งเกิดจากโปรตีนเกิดการละลายมากเกินไปในสภาวะเป็นด่าง จากนั้นจึงพิจารณาร่วมกันกับการทดสอบความพอดี เพื่อศึกษาระดับความพอดีของคุณลักษณะที่ทำการศึกษา เพราะระดับความพอดีอาจส่งผลถึงการเพิ่ม หรือลดของความชอบรวมได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทดสอบการยอมรับด้วยสเกลวัดความพอดี (Just about right) ตามคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสได้แก่ สี กลิ่นรสหมึก เนื้อสัมผัส และรสชาติ แสดงดังภาพที่ 4.12



ภาพที่ 4.12 ผลทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีวัดความพอดีของตัวอย่างควบคุม (ก) และ ตัวอย่างที่คัดเลือก (ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับตัวอย่างควบคุมพบว่ามีระดับความพอดีเกิน 70 เปอร์เซ็นต์ในทุกๆคุณลักษณะ (ภาพที่ 4.12 ก) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่จะยอมรับว่าผลิตภัณฑ์นั้น (วิวัฒน์, 2556) แต่สำหรับสูตรที่ได้รับการคัดเลือกมีระดับความพอดี ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมในทุกๆ คุณลักษณะ โดยเฉพาะ ด้านเนื้อสัมผัส ที่มีระดับความพอดีเท่ากับ 57 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.12ข) เมื่อพิจารณาความแตกต่างของระดับน้อยเกินไปและมากเกินไป ด้วยสมมติฐาน 2 ทางที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความถี่ของระดับน้อยเกินไปอยู่ที่ 40 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าสูงกว่าค่าวิกฤตที่กำหนดไว้ 27 เปอร์เซ็นต์ (ภาคผนวก ค.) แสดงว่า หมึกสดที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายเกลือผสมนี้มีเนื้อสัมผัสไม่เป็นที่ยอมรับ เนื่องจาก เนื้อหมึกนิ่มเกินไป (Stone และ Sidel, 1993)

สำหรับกลิ่นรสหมึก (Flavor) ของตัวอย่างที่แช่ด้วยสารละลายเกลือนั้น ผู้ทดสอบมีความเห็นว่าตัวอย่างมีกลิ่นคล้ายหมึกดิบกว่าตัวอย่างควบคุม ทั้งนี้ ข้อสังเกตที่พบในข้างต้นอาจเป็นผลเนื่องจากความสามารถของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต และโซเดียมไบคาร์บอเนต ที่ลดการสูญเสียน้ำหนักหลังการให้ความร้อน (Cooking loss) ได้ดีกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้แช่สารละลายเกลือคาร์บอเนต (สุทธวัฒน์, 2555) ทำให้กลิ่นรสอาจยังคงอยู่ ไม่สูญเสียไปกับน้ำ ทั้งนี้ การแช่สารละลายที่เป็นด่างนั้นสามารถเพิ่มความสามารถในการละลายน้ำของโปรตีนกล้ามเนื้อ ด้วยการขัดขวางการรวมตัวของแอคตินและไมโอซินในกล้ามเนื้อ (Wu และ Smith, 1987) การที่ยังมีกลิ่นรสของหมึกอยู่มาก อาจเป็นสาเหตุให้คะแนนทางรสชาติและความชอบรวมลดลงได้เช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การแช่หมึกกล้วยในสารละลายเกลือผสม จำนวน 10 ทรีตเมนต์ (13 ตัวอย่างทดลอง) และตัวอย่างควบคุม ด้วยการวางแผนการทดลองแบบผสม ชนิด Simplex lattice และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 วันนั้น พบว่า การแช่ในสารละลายเกลือผสมมีผลต่อพีเอชของหมึกตั้งแต่วันเริ่มทดลอง นอกจากนี้ยังพบการเพิ่มขึ้นของปริมาณด่างที่ระเหยได้ (TVBN), ไตรเมทิลเอมีน (TMA) และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่แตกต่างกัน ส่วนความแน่นเนื้อนั้น พบทั้งเพิ่มและลดลงในระหว่างการเก็บรักษา แต่ตัวอย่างหมึกที่แช่ด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณ TVBN, TMA และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา แต่ตัวอย่างมีค่าพีเอชสูงกว่าทรีตเมนต์อื่นๆ

จากนั้นนำข้อมูลที่วิเคราะห์ได้ มาสร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณ TVBN, ปริมาณ TMA และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด กับเวลา พบว่าทรีตเมนต์ส่วนใหญ่มีอัตราการเพิ่มขึ้นเป็นสมการอันดับศูนย์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง 0.1244 - 0.9995 แล้วจึงนำไปคำนวณหาอายุการเก็บรักษา พบว่า ตัวอย่างส่วนใหญ่มีอายุการเก็บรักษาประมาณ 5 วัน แต่ตัวอย่างหมึกที่แช่ด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็น 9 วัน

เมื่อนำข้อมูลมาใช้ในการสร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ ชนิดของเกลือ (X_i) กับค่าตอบสนอง ได้แก่ คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ (Y_i) พบว่า สมการที่ได้ส่วนใหญ่เป็นสมการเส้นตรง มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง 0.5072 ถึง 0.9870 และสัดส่วนของเกลือที่เหมาะสมสำหรับการแช่หมึกตามคุณภาพที่ต้องการ คือ สารละลายที่มีส่วนประกอบของ โซเดียมคลอไรด์, โซเดียมคาร์บอเนต และโซเดียมคาร์บอเนต 1.67 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าความพึงพอใจอยู่ในระดับพอใช้ คือ 0.439 เมื่อพบว่า มีค่าเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 0.77 – 247.04 เปอร์เซ็นต์ สมการทำนายค่าพีเอช มีค่าตอบสนองสูงที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 0.07 ถึง 8.38 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสมการทำนายปริมาณจุลินทรีย์มีเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนสูงสุด เนื่องจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นและเวลาในการเจริญของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์ของตัวอย่างที่นำมาทดสอบซ้ำมีความแตกต่างกับตัวอย่างที่ใช้ทดสอบเพื่อสร้างสมการทำนายมาก

สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 7 points Hedonic scale และ Just about right พบว่า สัดส่วนของเกลือที่ได้รับการคัดเลือกมีคะแนนความชอบต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมในทุกๆ คุณลักษณะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมีระดับความพอดีในคุณลักษณะของกลิ่นรส หมึก และเนื้อสัมผัสอยู่ในระดับ มากเกินไป และ น้อยเกินไป ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

การแช่หมึกลงในสารละลายเกลือผสมบางทรีตเมนต์ร่วมกับการแช่เย็นนั้น อาจสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของหมึกได้ แต่ทั้งนี้ ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องในการยืดอายุการเก็บรักษา นับจากกระบวนการหลังการจับ ไม่ว่าจะเป็น สุขลักษณะของเรือประมง ท่าเรือ หรือ ชาวประมง รวมถึงกรรมวิธีการเก็บหมึก ซึ่งล้วนแล้วแต่ส่งผลถึงคุณภาพ หรือ ความสดของหมึกด้วย และหากหมึกที่นำมาใช้ไม่สด ก็อาจเกิดการย่อยสลายตัวเอง และ การเพิ่มของปริมาณจุลินทรีย์ ซึ่งคุณภาพของวัตถุดิบเริ่มต้นที่ไม่เท่ากันนี้ จะส่งผลทำให้ประสิทธิภาพของสารละลายเกลือผสมลดลง จึงทำให้อายุการเก็บรักษาลดลงได้ ก็อาจทำให้อายุการเก็บรักษาเปลี่ยนแปลงไปได้

สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 7 points Hedonic scale และ Just about right พบว่า สัดส่วนของเกลือที่ได้รับการคัดเลือกมีคะแนนความชอบต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมในทุกๆ คุณลักษณะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมีระดับความพอดีในคุณลักษณะของกลิ่นรส หมึก และเนื้อสัมผัสอยู่ในระดับ มากเกินไป และ น้อยเกินไป ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

การแช่หมึกลงในสารละลายเกลือผสมบางทรีตเมนต์ร่วมกับการแช่เย็นนั้น อาจสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของหมึกได้ แต่ทั้งนี้ ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องในการยืดอายุการเก็บรักษา นับจากกระบวนการหลังการจับ ไม่ว่าจะเป็น สุขลักษณะของเรือประมง ท่าเรือ หรือ ชาวประมง รวมถึงกรรมวิธีการเก็บหมึก ซึ่งล้วนแล้วแต่ส่งผลถึงคุณภาพ หรือ ความสดของหมึกด้วย และหากหมึกที่นำมาใช้ไม่สด ก็อาจเกิดการย่อยสลายตัวเอง และ การเพิ่มของปริมาณจุลินทรีย์ ซึ่งคุณภาพของวัตถุดิบเริ่มต้นที่ไม่เท่ากันนี้ จะส่งผลทำให้ประสิทธิภาพของสารละลายเกลือผสมลดลง จึงทำให้อายุการเก็บรักษาลดลงได้ ก็อาจทำให้อายุการเก็บรักษาเปลี่ยนแปลงไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมอนามัย. 2559. **ข่าวประชาสัมพันธ์ส่วนกลาง**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.anamai.moph.go.th/ewt_news.php?nid=9353. วันที่เข้าถึง: 6 มิ.ย. 2561

กระทรวงสาธารณสุข. 2547. **ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 281) พ.ศ.2547 เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร**.

กระทรวงสาธารณสุข. 2561. **ประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่อง หลักเกณฑ์ และวิธีการกำหนดอุณหภูมิในการเก็บรักษาอาหารสดในสถานที่จำหน่ายอาหาร.** 11-13.

กิตติยา สมยาภักดี และ โสบุญชัย กิตติเสรีบุตร. 2545. **อาหารแช่เย็น**. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์. คณะเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. มหารสารคาม.

กีรตินาฏ พูลเกษตร, อนุวัตร แจ้งชัด และ กมลวรรณ แจ้งชัด. 2553. **การประเมินอายุการเก็บรักษาของสารป้องกันการเกาะติดโดยใช้วิธีสภาวะเร่ง**. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48. 452-459.

กองควบคุมการค้าสัตว์น้ำและปัจจัยการผลิต. 2560. **การวิเคราะห์เส้นทางการส่งออกปลาหมึกสดแช่เย็นไปยังประเทศเกาหลีใต้**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: shorturl.at/jqxQU. วันที่เข้าถึง 17 พ.ย. 2561

คงวุฒิ นิรันตสุข. 2549. **การศึกษาการประเมินอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์มะม่วงทอดสุญญากาศ**. ปริญญานิพนธ์. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

จรัสศรี อ่ำงตัญญา, ศิรินทิพย์ สังข์จีน, วัชราภรณ์ ไตรพาณิชย์กุล, กาญจนา บุษบงค์ และ ปรียาพัฒ คงถาวร. **ตัวอย่างปลาหมึกในพิพิธภัณฑ์สัตว์และพืชทะเล สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง**. เอกสารเผยแพร่ กลุ่มพิพิธภัณฑ์และสถานแสดงพันธุ์สัตว์และพืชทะเล ลำดับที่ 5. สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง

จักรี ทองเรือง. 2550. **ผลของโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตและสารทดแทนโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตต่อเนื้อสัมผัสของปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็ง**. ปริญญานิพนธ์. มหาวิทยาลัยสงขลา นครินทร์. สงขลา.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจิดจินดา โชติยะปุตตะ, ทาคาชิ โอคุตานิ และ สมนึก ใช้เทียมวงศ์. 2535. **การศึกษาชนิดของปลาหมึกในประเทศไทย**. รายงานเสนอคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติตามโครงการความร่วมมือระหว่างประเทศ. JSPS-NRCT.

ชนิพรรณ บุตรยี่. 2536. **นิตยสารหมอชาวบ้าน คอลัมน์: รู้ก่อนกิน**. เล่มที่ 165. สำนักพิมพ์หมอชาวบ้าน. กรุงเทพฯ.

ชมพูนุท สีห์โสภณ. 2556. **การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส**. เอกสารประกอบการสอนวิชาการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

นวภัทรา หนูนาค และ ทวีพล ซื่อสัตย์. **การวัดและเครื่องมือวัด การประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร**. คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ

บุษกร อุตรภิชาติ. 2552. **จุลชีววิทยาทางอาหาร.** ศูนย์หนังสือมหาวิทยาลัยทักษิณ. สงขลา.

ปองพล สุริยะกันธร. 2557. **ผลกระทบของวิธีการอบแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของดอกคาโมมายล์และดอกเบญจมาศ (เก๊กฮวย)**. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาวิศวกรรมอาหาร. มหาวิทยาลัยแม่โจ้

มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2548. **ผลิตภัณฑ์ประมงของไทย**. ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เรืองลักขณา จามิกรณ์. 2537. **ชีวเคมีเบื้องต้น**. มหาวิทยาลัยรามคำแหง. กรุงเทพฯ.

วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ. 2558. **เคมีสำหรับวิศวกร**. เอกสารประกอบการสอนวิชาเคมีสำหรับวิศวกร. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร. กรุงเทพฯ.

วิวัฒน์ หวังเจริญ. 2553. **การศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์อาหาร**. อาหาร. 40(3): 199-204.

วิวัฒน์ หวังเจริญ. 2556. **การประเมินทางประสาทสัมผัสโดยใช้สเกลวัดความพอดี**. อาหาร. 43(2) 18-24.

วิไล สนธิเพิ่มพูน. 2536. **จุลชีววิทยาทางอาหาร**. เอกสารประกอบการสอนวิชาจุลชีววิทยาทางอาหาร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เรืองลักขณา จามิกรณ์. 2537. **ชีวเคมีเบื้องต้น**. มหาวิทยาลัยรามคำแหง. กรุงเทพฯ.

สมชาย ปราการเจริญ, อุดม จีนประดับ, มนต์ชัย เทียนทอง และ ราชันย์ บุญธิมา. 2552. **การประเมินค่าใช้จ่ายในการพัฒนาซอฟต์แวร์ประยุกต์เชิงโครงข่ายโดยวิธีแบบจำลองสมการโครงสร้าง**. วารสารวิจัย. 2(1): 41-47.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมศักดิ์ แก้วพลอย. 2557. **การพัฒนาสูตรที่เหมาะสมสำหรับลูกชิ้นเอ็นไก่ผสมผักพื้นบ้านโดยวิธีออกแบบการทดลอง**. การประชุมวิชาการ การพัฒนาชนบทที่ยั่งยืน ครั้งที่ 4 ประจำปี 2557. 357-363.

สุจินดา ศรีวัฒนะ. 2548. **แบบหุ่นจำลองและสูตรอาหารที่เหมาะสม**. อาหาร. 35(3): 168-176.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2554. **เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ**. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2555. **ผลของสารละลายด่างที่ไม่ใช่ฟอสเฟตต่อคุณภาพและสมบัติทางเคมีกายภาพของกล้ามเนื้อกุ้งขาว**. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.

สุภัทรษร ทับศรี และ คณิต วิชิตพันธุ์. 2559. **การศึกษาคุณสมบัติของไคติเนสและโปรติเอสที่ผลิตจากราที่มีศักยภาพในการทำลายเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู**. The National and International Graduate Research Conference. 381-391.

สุเวทย์ นิงสานนท์ และ จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล. 2543. **การเร่งกระบวนการแปรรูปน้ำปลา**. ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

สันติ พุ่มกระจ่าง. (2552). **การวิเคราะห์ทางสถิติสำหรับพื้นผิวตอบสนองคู่ของกระบวนการติดหัวอ่านฮาร์ดดิสก์ไดร์ฟ (ปริญญาวิศวกรรมศาสตร์มหาบัณฑิต).** กรุงเทพฯ. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.). 2548. **มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ปลาหมึก.**

สำนักส่งเสริมและสนับสนุนอาหารปลอดภัย (สสอป.). 2561. **สื่อสารความเสี่ยงอาหารปลอดภัยภายในประเทศ ฉบับที่ 35/2561**. สำนักปลัดกระทรวงสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข.

อนันญา พัชรโพธิวัฒน์. 2559. **รายงานของสินค้าหมึกและผลิตภัณฑ์ประจำเดือนสิงหาคม 2559**. กลุ่มเศรษฐกิจการประมง.

อัญชลีย์ ยะโกะ, ประพัตร์ แก้วมณี, ธรรมรัตน์ เลิศเกียรติรัชตะ, เกศแก้ว เทศอาเส็น และ ธรรมรงค์ อินทรสุวรรณ์. 2556. **ชีววิทยาการสืบพันธุ์ของหมึกหอม (*Sepioteuthis lessoniana* Lesson, 1830) ทางฝั่งทะเลอันดามันของประเทศไทย.** สภาบันวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยรทางประมงทะเล. กรมประมง.

Abbas, K. A., Mohamed, A., Jamilah, B. and Ebrahimiam, M. 2008. **A review on correlations between fish freshness and pH during cold storage**. American Journal of Biochemistry and Biotechnology. 4(4): 416-421.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abdulkarim, S. M., Fatimah, A. B. and Anderson, J. G. 2009. **Effect of salt concentrations on the growth of heat-stressed and unstressed *Escherichia coli***. Journal of Food, Agriculture and Environment. Vol 7(3&4): 51-54.

Animal planet. 2015. **Squid: "Rouge Nature with Dave Salmoni".**

Aubourg, S., Losada, V., Prado, M., Miranda, J. M. and Barros-Velazquez, J. 2007. **Improvement of the commercial quality of chilled Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) stored in slurry ice: Effects of a preliminary treatment with and antimelanosic agent on enzymatic browning**. Food Chemistry. 103(3): 741-748.

Azevedo, S., Cunha, L. M., Mahajan, P. V. and Fonseca, S. C. 2011. **Application of simplex lattice design for development of moisture absorber for oyster mushrooms**. Procedia Food Science. 1: 184-189.

Belay, Z. A., Celeb, O. J., Mahajan, P. V., Fröhling, A. and Opara, U. L. 2019. **A simplex lattice design to optimize active modified atmosphere for storing pomegranate (cv. Wonderful) arils: Part 1, determining optimum gas for physiological responses**. Biosystems Engineering. 178: 309-321.

Benjakul, S., Sungsri-in, R. and Kijroongrojana, K. 2011. **Pink discoloration and quality changes of squid (*Loligo formosana*) during iced storage**. LWT- Food Science and Technology. 44: 206-213.

Benjakul, S., V. Wonnop, A., Tanong, T., Munehiko and M. Nikoo. 2011. **ATPase activities and autolysis of kuruma prawn (Penaeus japonicus) muscle proteins**. International Aquatic Research. 3: 53-61.

Branen, A. L., Davidson, P. M. and Salminen, S. 1989. **Food Additives**. Marcel Dekker, INC. Newyork. USA. 736 pages.

CFR. 1999. **184.1742: Sodium carbonate**. p. 522.

Chantarasuwan, C., Benjakul, S. and Visessanguan, W. 2011. **Effects of sodium carbonate and sodium bicarbonate on yield and characteristics of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)**. Food Science and Technology International. 17(4): 403-414.

Chen, J., Cai, D., and Zhang, Y. 2016. **Rapid determination of lipid peroxidation using**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

a novel pyridoxamine-participating ferrous oxidation-sulfosalicylic acid spectrophotometric method. Food Chemistry. 211: 637-644.

Cornell, J. A. 1990. **Experiments with mixtures. Designs, models and analysis of mixture data**. John Wiley and Son, Inc, New York.

Corral, L.G., Post, L. S. and Montville, T. J. 1988. **Antimicrobial Activity of Sodium bicarbonate**. Journal of Food Science. 53(3): 981-982.

Dalgaard, P. 1995**. Modelling of microbial activity and prediction of shelf-life of packed fish**. International Journal of Food Microbiology. 26(3): 305-317.

Davidson, P. M. and Juneja, V. K. 1989. **Food Additive: Preservative**.

Davidson, P. M. and Taylor, M. T. 2007. **Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds, *In* Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers.** Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 713–734.

Degiam, Z. D., Al adhreen, H. A. and, Abbas, F. N. 2011. **Influence of some weak acids, weak bases and salts against some phothogenic microorganisms**. Thi-Qur Medical Journal (TQMJ). 5(2): 93-99.

Doyle, J. P. 1995. **Seafood Shelf Life as a Function of Temperature**. Alaska Sea Grant Marine Advisory Program. 2nd Printing.

FAO Globalfish. 2016. **Globalfish Monthly Trade Statistics**. Fisheries and Aquaculture Policy and economy division.

FAO. 1999. **Generally Recognized as Safe (GRAS)**. [online] Site from: https://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/gras/. Retrieved: 14 April 2017.

Farkas, J. 2007. **Physical methods of food preservation, in Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers.** Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 685–705.

Fellows. P. J. 2009. **Food processing technology: Principle and practice**. Elesevier science & Technology. Cambridge. UK.

Figon F. and Casas, J. 2019. **Ommochromes in invertebrates: biochemistry and cell biology**. 94: 156-183.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fukushima, S., Inoue, T., Uwagawa, S., Shibata M .A., and Ito N. 1989. **Co-carcinogenic Effects of NaHCO3 on o-phenylphenol-induced Rat Bladder Carcinogenesis**. Carcinogenesis. 10(9): 1635-1640.

Gäde, G. and Grieshaber, M. K. 1986. **Pyruvate reductases catalyze the formation of lactate and opines in anaerobic invertebrates**. Comparative Biochemistry and Physiology Prat B. 83(2):255–272.

Gram, L. and Huss, H. H. 1996. **Microbial spoilage of fish and fish products**. International Journal of Food Microbiology. 33(1): 121-137.

Haaland, P. D. 1989. **Experimental Design in Biotechnology.** Marcel Dekker, Inc. New York. 259.

Haynes, W. M. 2010-2011. **CRC Handbook of Chemistry and Physics**. Boca Raton, FL. CRC Press Inc. 91: 4-89.

Haynes, W.M. 2013-2014. **CRC Handbook of Chemistry and Physics**. 94th Edition. CRC Press LLC, Boca Raton: FL p. 4-89.

Henney, J. E., Taylor, C. L., and Boon, C. S. 2010. **Strategies to Reduce Sodium Intake in the United States**. National Academies Press. Washington (DC). US.

Hicks, T. D. 2016. **Seafood Safety and Quality: The Consumer's Role**. University of Delaware, Sea Grant College Program. USA.

Hicks, T. D. and Kramer, D. 2016. **Seafood Safety: What Consumers Need to Knows**. University of Delaware Sea Grant College Program and the National Seafood HACCP Alliance. [online] Site from: https://www.deseagrant.org/sites/default/files/product-docs/seafood_safety_brochure.pdf

Hiltz, D. F., Bishop, L. J., and Dyer, W. J. 1974**. Accelerated nucleotide degradation and glycolysis during warming to and subsequent storage at –5 ˚C of prerigor, quick-frozen adductor muscle of the sea scallop (*Placopecten magellanicus*)**. Journal of the Fisheries Research Board of Canada. 31: 1181–1187.

Hockachka, P., Hartline, P., Fields, J. 1977. **Octopine as an end product of anaerobic glycolysis in the chambered nautilus**. Science. 195 (4273): 72–74.

Hu, R. 1999. **Food Product design: A Computer-Aid Statistical Approach.** Technomic Publishing Co., Inc Landcaster, Pennsylvania. 255.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Huss, H. H. 1995. **Quality changes in fresh fish. FAO. fisheries technical paper**. 348. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations. Technological. Laboratory Ministry of Agriculture and Fisheries Denmark.

Hussain, A., Saraiva, L R, Ferrero, D. M., Ahuja, G., Krishna, V. S., Liberles, S. D. and Korsching, S. I. 2013. **High-affinity olfactory receptor for death-associated odor cadaverine**. Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America. 110(48): 19579 – 19584.

Janes, M. E., Nannapaneni, R., Howard, L. and Johnson, M. G. 1999**. Sodium chloride and sodium bicarbonate washing solution for removal of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 from the surfaces of chopped lettuce**. Presented at the 86th annual meeting of the International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians, Aug 1-4, Dearborn, MI.

Kangsanant, S., Vittayanont, M., and Tongraung, C. 2008. **Effect of NaCl on texture modification of cuttlefish mantle**. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 30: 11-17.

Karaman, S., Yilmaz, M. T. and Kayacier, A. 2011. **Simplex lattice mixture design approach on the rheological behavior of glucomannan based salep honey drink mixtures: An optimization study based on the sensory properties**. Food Hydrocolloids. 25(5): 1319-1326.

Karim, N. U., Sadzali, N. L. and Hassan, M. 2016. **Effects of squid ink as edible coating on squid spp. (*Loligo duvauceli*) spoilage during chilled storage**. International Food Research Journal. 23(5): 1895-1901.

Kolman, A. 2005. **Sodium chloride**. [online]. Site from: http://www.acutetox.eu/pdf _human_short/57-Sodium%20chloride%20revised.pdf. Retrieved: 14 April 2017.

Koutsoumanis, K. 2001. **Predictive modeling of the shelf life of fish under nonisothermal conditions**. Applied and Environmental Microbiology. 67(4): 1821-1829.

Kugino, M., Kugino, K., Tamura, T., and Asakura, T. 2009. **Relationship between Tissue Structural Collapse and Disappearance of Flesh Transparency during Postmortem Changes in Squid Mantles**. Journal of Food Science. 74: 495-501.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kujore, A. 2009. **Impurity testing of Sodium carbonate used in the food industry**. Food Engineering and Ingredients. 34-35.

Kyrana, V. R., Lougovois, V. P. and Valsamis, D. S. 1997. **Assessment of shelf-life of maricultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice**. International Journal of Food Science and Technology. 32: 339-347.

Labaiden, M., Kasai, H., Yoshimizu, M. and Direkbusrakom, S. 2013. **Elimination of *Escherichai coli* from Oysters using Sodium bicarbonate**. Walailak Journal Science and Technology. 10(6): 601-606

Ladrat, C. V., Verrez-Bagnis, J., Noël and J. Fleurence. 2003. **In vitro proteolysis of myofibrillar and sarcoplasmic proteins of white muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): Effects of cathepsins B, D and L**. Food Chemistry. 81: 517-525.

Lapa-Guimarães, J., Aparecida Azevedo da Silva, M., Eduardo de Felício, P. and Guzmán, E. C. 2002. **Sensory, Colour and Psychrotrophic Bacterial Analyses of Squids (*Loligo plei*) During Storage in Ice**. Lebensmittel.-Wissenschaft. und Technologie. 35: 21-29.

Lazic, Z. 2004. **Design of Experiments in Chemical Engineering.** WILEY-VCH V**.** 176.

Leblanc, L., Leroi, F., Hartke, A. and Auffray, Y. 2000. **Do stresses encountered during the smoked salmon process influence the survival of the spoiling bacterium *Shewanella putrefaciens*?**. Letters in Applied Microbiology. 30: 437-442.

Leblanc, R. J. and Gill, T. A., 1984. **Ammonia as an objective quality index in squid**. Canadian Institute of Food Science and Technology Journal. 17: 195-201.

Lougovois, V. P. and Kyrana, V. R. 2005. **Freshness quality and spoilage of chilled stored fish**. In: Food Policy, Control and Research. ISBN 1-59454-408-5.

Lucera, A., Cristina, C., Conte, A., and Del Nobile, M. A. 2012. **Food applications of natural antimicrobial**. Frontiers in Microbiology. 3(287): 1-13.

Malle, P. and Poumeyrol, M. 1989. **A new chemical for the quality control of Fish: Trimethyl amine/ Total volatile basic nitrogen (%)**. Journal of Food Protection. 52(6): 419-423.

Mailgaard, M., Civille, G. V. and Carr, B. T. 1999. **Sensory evaluation techniques.** 3rd edition. CRC press. Boca Raton. 387 p.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mani-Maram, U. 2014. **Selection of a suitable quality index for iced and frozen octopus**. Master's Thesis. Tamil Nadu Fisheries University.

McLean, R. A. and Anderson, V. L. 1966. **Extreme vertices design of mixture experiments**. Technometrics. 8(3): 447-454.

Moeller, SJ., Miller, PK., Edwards, KK., et al. 2010. **Consumer perceptions of pork eating quality as affected by pork quality attributes and end-point cooked temperature.** Meat Science 84(1): 14-22.

Morizawa Kiyoshi. 1927. **The extractive substances in Octopus octopodia**. Acta Scholae Medicinalis Universitatis Imperialis in Kioto. 9: 285–298.

Msagati, T. A. M. 2012. **The Chemistry of Food Additives and Preservatives**.

Maurer, L. M., Yohannes, E., Bondurant, S. S., Radmacher, M.and Slonczewski, J. L. 2005. **pH Regulated genes for flagellar motility, catabolism and oxidative stress in *Escherichia coli* K-12**. Journal of Bacteriology. 187(1): 304-319.

Morales, J., Montero, P. and Moral A. 2000. **Isolation and partial characterization of two types of muscle collagen in some cephalopods**. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2142-2148.

Myres, R. H., Montgomery, D. C. and Anderson-Cook, C. M. 2009. **Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiments**. 3rd edition. John Wiley and Son, Inc., New York.

NCBI, 2018. **Sodium carbonate**. [Online].Available: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/sodium_carbonate. Retrieved: 14 April 2017.

O'Neil, M. J. 2006. **The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals**. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., Inc. p. 1480

Paarups, T., Sanchez, J. A., Moral, A., Christensen, H. and Bisgaard, M. 2002. **Sensory, chemical and bacteriological changes during storage of iced squid (*Todaropsis eblanae*)**. Journal of Applied Microbiology. 92: 941-950.

Padan, E., Bibi, E., Ito, M. and Krulwich, T. A. 2005. **Alkaline pH Homeostasis in Bacteria: New Insights.** Biochimica et Biophysica Acta 1717(2):67-88.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Paraskevoula, T. A. and Katsanidis, E. 2012. **Effects of additives on the selected quality attributes and cooking yield of squid: Modelling and Optimization**. International Journal of Food Properties. 15(3): 579-589.

Park, S. Y. and Ha, S. D. 2014. **Effect of Temperature on the Growth Kinetics and Predictive Growth Model of *Aeromonas hydrophila* on Squid *(Sepioteuthis sepioidea).*** Food Science and Biotechnology. 23(1): 307-312.

Parkin, K. L. and Hultin, H. O. 1982. **Some factors influencing the production of dimethylamine and formaldehyde in minced and intact red hake muscle**. Journal of Food Processing and Preservation. 6: 73-97.

Pharmacopée Européenne. 1996. **Troisième edition**. 1501-1502.

Pharmacopée Européenne. 2001. **Troisième édition**. Addendum. 1415-1416.

Remyakumari, K. R., Ginson, J. Ajeeshkumar, K. K., Vishnu, K. V., Asha, K. K. and Suseela, M. 2018. **Biochemical profile and nutritional quality of Indian squid, *Uroteuthis duvauceli***. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies. 6(3): 187-192.

Resurreccion, A. V. A. 1998. **Consumer sensory testing for product development**. An ASPEN. Maryland.

Rosca, R., Tenu, I. and Caelescu, P. 2017. **Food chilling methods and CFD analysis of a refrigeration cabinet as a case study**. IntechOpen. 45-73.

Sarnoski, P. J., O'Keefe, S. F., Jahncke, M. L. and Mallikarjunan, P. 2010. **Analysis of crab meat volatiles as possible spoilage indicators for blue crab (*Callinectes sapidus*) meat by gas chromatography – mass spectrometry**. Food Chemistry. 122: 930-935.

Scheffé, H. 1958. **Experiments with mixtures**. Journal of the Royal Statistical Society: Series B. 20: 344-360.

Schubring, R. 2005. **Changes in texture, water holding capacity, colour and thermal stability of frozen cod (*Gadus morhua*) fillets: Effect of frozen storage temperature**. Deut. Labensmitt. Rundsch. 101: 484-493.

Shahidi, F. and Botta, J. R. 1994. **Seafoods: Chemistry, processing technology and quality**. Blackie academic & Professional. NZ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Smits, S. H. J., Mueller, A., Schmitt, L., Grieshaber, M. K. 2008. **A Structural Basis for Substrate Selectivity and Stereoselectivity in Octopine Dehydrogenase from *Pecten maximus***. Journal of Molecular Biology. 381(1): 200–11.

Sotelo, C. G. and Rehbein, H. 2000. **TMAO-degrading enzymes In: Seafood Enzymes: Utilization and Influence on postharvest seafood quality**. Haard, N. F., and Simpson, B. K. (Eds.). New York, NY: Maecel Dekker. Pp. 167-190.

Stacy, A. 2004. **Living by chemistry**. Key Curriculum Press.

Stone, H. and Sidel, J. L. 1993. **Sensory evaluation practices**. 2nd ed. Academic Press. New York.

Sungsriin, R. 2010. **Development of pink color of squid and the effect of chemical treatment on physio-chemical changes of squid during frozen storage.** Master's Thesis. Prince of Songkla University.

Szymczak, M and Kolakowski, E. 2015. **Total volatile basic nitrogen in meat and brine during marinating of herring**. Journal of Aquatic Food Product Technology. 25(3): 373-387.

Thanonkaew, A., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Decker, E. A. 2006. **Development of Yellow Pigmentation in Squid (*Loligo peali*) as a Result of Lipid Oxidation**. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54: 956-962.

Török, P., Chu, X. L., Paterson, C. and Aikens, T. 2015. **The Effect of Sodium Bicarbonate on the Water-holding of Pork Loin.** Imperial College London.

Tsironi, T., Dermesonlouoglou, E., Giannakourou, M., Taoukis, P. **Shelf life modelling of frozen shrimp at variable temperature conditions.** LWT- Food Science and Technology. 42: 664-671.

UNEP chemical. 2002. **Sodium bicarbonate**. OCED.

Vaz-Pires, P. and Barbosa, A. 2004. **Sensory, microbiological, physical and nutritional properties of iced whole common octopus *(Octopus vulgaris).*** LWT- Food Science and Technology. 37: 105-114.

Vaz-Pires, P., Seixas, P., Mota, M., Lapa-Guimaraes, L., Pickova, J., Lindo, A. and Silva, T. 2008. **Sensory, microbiology, physical and chemical properties of cuttlefish (*Sepia officinalis*) and broadtail shortfin squid (*Illex coindetii*) stored in ice.** LWT – Food Science and Technology. 41: 1655-1664.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wang, F., Fu, L., Bao, X. and Wang, Y. 2017. **The spoilage microorganisms in seafood with the existed quorum sensing phenomenon**. Journal of Food Microbiology. 1(1): 14-19.

World Health Organization. 2009. **The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification**. International Programme on Chemical Safety.

Wu, F. Y., and Smith, S. B. 1987. **Ionic strength and myofibrillar protein solubilization**. Journal of Animal Science. 65: 597-608.

Xaun, X. T., Fan, Y. F., Ling, J. G., Hu, Y. Q., Liu, D. H., Chen, S. G., Ye X. Q., and Ding, T. 2017. **Preservative of squid by slightly acidic electrolyzed water ice**. Food Control. 73: 1483-1489.

Yoshioka, T., Kinoshita, Y., Yoshino, H. and Park, S. 2003. **Change in translucency of squid mantle muscle upon storage**. Fisheries Sci. 69: 408-413.

Yuan, P., Deng, S., Hatab, S., Yuan, N. and Huo, J. 2017. **Comparative evaluation of the quality changes in squid (*Ommastrephes bartrami*) during flake and slurry ice storage**. Journal of Food and Agriculture. 29(5): 339-345.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก-1: วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธีการ Pour plate

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ตาชั่ง 2 ตำแหน่ง
2. ถุงตีป่น
3. เครื่องตีป่นอาหาร (stomacher)
4. จานเพาะเชื้อ

สารเคมี

1. สารละลายเปบโตนเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar

วิธีการตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

1. ชั่งตัวอย่างหมึก 25 กรัมลงในถุงตีป่น เติมสารละลายเปบโตนปริมาตร 225 มิลลิลิตร
2. นำไปตีป่นด้วยเครื่องตีป่นอาหาร เป็นเวลา 1 นาที
3. นำตัวอย่างมาเจือจางตามความเหมาะสม ด้วยวิธี 10 fold dilution
4. ปิเปตตัวอย่างลงบนจานเพาะเชื้อ เทตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อลงไป เขย่าจานเบาๆให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว นำไปบ่มที่อุณหูมิ 35 องศาเซลเซียส
5. นับจำนวนโคโลนีและบันทึกผล โดยจำนวนโคโลนีที่สามารถนำไปคำนวณได้มีค่าตั้งแต่ 30-300 โคโลนี

ภาคผนวก ก-2: การวิเคราะห์ปริมาณพีเอช (Xuan และคณะ 2017)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดพีเอช
2. เครื่องเซนตริฟิวส์
3. เครื่องโฮโมจิไนเซอร์
4. หลอดโฮโมจิไนเซอร์
5. บีกเกอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. เครื่องบดไฟฟ้า

วิธีเตรียมตัวอย่าง

1. นำหมึกมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้าเป็นเวลา 30 วินาที ชั่งตัวอย่างหมึกบดละเอียด 10 กรัม ลงในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร 90 มิลลิลิตร
2. นำไปโฮโมจิไนซ์ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที เทตัวอย่างที่โฮโมจิไนซ์แล้วลงในหลอดเซนตริฟิวส์
3. เซนตริฟิวส์ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที
4. เทส่วนใสใส่บีกเกอร์

วิธีวิเคราะห์ค่าพีเอช

ล้างหัววัดด้วยน้ำปราศจากไอออนก่อนซับด้วยกระดาษ คาลิเบรตเครื่องด้วยอิเล็กโตรไลท์ที่พีเอช 4.00 และ 7.00 ก่อนการใช้งาน จุ่มหัววัดลงในสารละลายตัวอย่างหมึก อ่านค่าที่วัดได้ ทำซ้ำ 2 ครั้ง แล้วบันทึกผล

ภาคผนวก ก-3: การวิเคราะห์ปริมาณด่างที่ระเหยได้ (TVBN) และปริมาณไตรเมทิลเอมีน (Malle และ Tao, 1987)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องกลั่นโปรตีน
2. บีกเกอร์
3. บิวเรต
4. ขวดรูปชมพู่
5. เครื่องบดไฟฟ้า
6. เครื่องกวนสารแบบแม่เหล็ก
7. กระดาษกรอง
8. ปั๊มสุญญากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมี

1. สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก เข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
3. สารละลายกรดบอริก เข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์
4. สารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 0.1 นอร์มอล
5. สารละลายเมธิลเรด เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์
6. สารละลายโบรโมครีซอลกรีน เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์

การเตรียมตัวอย่าง

1. บดตัวอย่างหมึกให้ละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า เป็นเวลา 30 วินาที ก่อนชั่งตัวอย่างหมึกบดละเอียดลงในบีกเกอร์ 100 กรัม แล้วเติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก เข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ กวน 30 นาที
2. กรองสารสกัดหมึกด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1
3. บรรจุส่วนใสลงในขวดสีทึบ นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

วิธีวิเคราะห์ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด

1. ปิเปตสารสกัดหมึกลงในหลอดกลั่นโปรตีน ปริมาตร 25 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตรลงในหลอดกลั่น
3. ทำการกลั่นตัวอย่างด้วยเครื่องกลั่นโปรตีน ตั้งเวลาในการกลั่น 2.10 นาที รับตัวอย่างที่กลั่นแล้วด้วยสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ที่เติมเมธิลเรดและโบรโมครีซอลกรีน 2-3 หยด
4. ไทเทรตด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนสารสกัดเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพู
5. คำนวณโดยใช้สมการที่ (1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีวิเคราะห์ปริมาณไตรเมทิลเอมีน

ปฏิบัติเช่นเดียวกันกับการวิเคราะห์ปริมาณด่างที่ระเหยได้ แต่เพิ่มการเติมสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์เข้มข้น 35 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 20 มิลลิลิตรลงไปก่อนเริ่มกระบวนการกลั่น

สมการคำนวณปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดและปริมาณไตรเมทิลเอมีน

TVBN/TMA = n x 16.8 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม

โดย n หมายถึงปริมาณกรดซัลฟิวริกที่ใช้ไทเทรต

ภาคผนวก ก-4: วิเคราะห์ค่าแรงเฉือน (Kangsanant และคณะ 2006)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดเนื้อสัมผัสรุ่น TA-XT plus
2. หัววัดใบมีด ชนิด Warner Braztler blade
3. กรรไกร

วิธีวิเคราะห์ค่าความแน่นเนื้อ

นำหมึกมาซับน้ำให้แห้ง ก่อนตัดตัวอย่างหมึกบริเวณกลางลำตัวให้มีขนาดประมาณ 2x3 เซนติเมตร จำนวน 10 ชิ้น โดยพยายามให้มีขนาดชิ้นเท่ากันให้มากที่สุด ตั้งค่าความเร็วในการตัดให้เท่ากับ 2 มิลลิเมตรต่อวินาที วัดที่แรงกดจนตัวอย่างถูกตัดขาดออกจากกัน บันทึกผลเป็นนิวตัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ผลวิเคราะห์สถิติของการทดสอบทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข-1: ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

ตารางที่ 1 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของทรีตเมนต์ต่างๆระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

สภาวะ	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu/g)			
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 6
Control	$3.11\pm0.04^{CDE,c}$	$3.17\pm0.17^{D,c}$	$5.39\pm0.03^{A,b}$	$6.40\pm0.03^{E,a}$
1	$3.16\pm0.01^{BCD,c}$	$3.69\pm0.06^{B,b}$	$3.06\pm0.03^{I,c}$	$6.87\pm0.02^{B,a}$
2	$3.14\pm0.08^{CD,d}$	$3.39\pm0.02^{C,c}$	$4.31\pm0.05^{F,b}$	$6.66\pm0.11^{CD,a}$
3	$3.13\pm0.05^{CD,d}$	$3.75\pm0.18^{B,c}$	$4.39\pm0.10^{F,b}$	$7.24\pm0.05^{A,a}$
4	$2.69\pm0.01^{F,d}$	$3.39\pm0.02^{C,c}$	$4.88\pm0.09^{C,b}$	$7.15\pm0.01^{A,a}$
5	$3.04\pm0.01^{DE,d}$	$4.35\pm0.01^{A,c}$	$5.18\pm0.01^{B,b}$	$6.57\pm0.04^{D,a}$
6	$2.58\pm0.10^{FG,d}$	$4.23\pm0.03^{A,c}$	$4.76\pm0.09^{DE,b}$	$6.69\pm0.07^{C,a}$
7	$2.54\pm0.12^{G,d2.}$	$4.22\pm0.01^{A,c}$	$5.07\pm0.01^{B,b}$	$6.85\pm0.06^{B,a}$
8	$3.35\pm0.01^{A,c}$	$3.04\pm0.00^{DE,d}$	$4.13\pm0.06^{G,b}$	$6.61\pm0.03^{CD,a}$
9	$3.18\pm0.03^{BC,d}$	$4.21\pm0.10^{A,c}$	$4.59\pm0.03^{E,b}$	$6.67\pm0.03^{CD,a}$
10	$3.10\pm0.04^{CDE,c}$	$2.93\pm0.01^{E,d}$	$3.27\pm0.03^{H,b}$	$4.50\pm0.04^{H,a}$
11	$3.36\pm0.01^{A,c}$	$2.71\pm0.13^{F,d}$	$4.19\pm0.08^{G,b}$	$6.01\pm0.06^{G,a}$
12	$3.26\pm0.01^{AB,a}$	$2.60\pm0.04^{F,bc}$	$2.51\pm0.03^{J,c}$	$2.68\pm0.04^{I,b}$
13	$2.99\pm0.02^{E,d}$	$3.85\pm0.00^{B,c}$	$4.69\pm0.00^{E,b}$	$6.27\pm0.00^{F,a}$

หมายเหตุ: อักษรตัวพิมพ์เล็กที่กำกับแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างแถวเดียวกัน

อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่กำกับแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างคอลัมน์เดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข-2: ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA)

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงของไตรเมทิลเอมีนของทรีตเมนต์ต่างๆระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

ทรีตเมนต์	TMA (mg N/100 g sample)			
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 6
Control	2.10±0.59^{BC,b}	2.94±0.59^{DE,b}	5.04±0.00^{A,a}	6.30±0.59^{CD,a}
1	1.68±0.00^{C,c}	3.36±0.00^{CDE,a}	2.52±0.00^{D,b}	3.78±0.59^{F,a}
2	2.10±0.59^{BC,c}	2.52±0.00^{E,bc}	3.78±0.59^{BC,b}	6.30±0.59^{CD,a}
3	1.68±0.00^{C,c}	3.78±0.59^{BCD,b}	3.78±0.59^{BC,b}	6.30±0.59^{CD,a}
4	1.68±0.00^{C,c}	6.30±0.59^{A,a}	3.78±0.59^{BC,b}	5.46±0.59^{DE,a}
5	3.36±0.00^{A,b}	3.36±0.00^{CDE,b}	3.78±0.59^{BC,b}	12.60±1.19^{A,a}
6	2.10±0.59^{BC,c}	4.20±0.00^{BC,b}	4.62±0.59^{AB,b}	9.66±0.59^{B,a}
7	1.68±0.00^{C,c}	4.62±0.59^{B,b}	4.62±0.59^{AB,b}	6.30±0.59^{CD,a}
8	1.68±0.00^{C,d}	3.36±0.00^{CDE,c}	4.62±0.59^{AB,b}	6.30±0.59^{CD,a}
9	2.52±0.00^{BC,d}	4.62±0.59^{B,c}	5.04±0.00^{A,b}	7.14±0.59^{C,a}
10	2.52±0.00^{BC,b}	2.94±0.59^{DE,b}	2.94±0.59^{CD,b}	5.04±0.00^{DEF,a}
11	2.94±0.59^{AB,b}	2.94±0.59^{DE,b}	4.20±0.00^{AB,ab}	4.62±0.59^{EF,a}
12	1.68±0.00^{C,c}	2.52±0.00^{E,bc}	2.94±0.59^{CD,ab}	3.78±0.59^{F,a}
13	2.94±0.59^{AB,b}	2.94±0.59^{DE,b}	2.94±0.59^{CD,b}	7.56±1.19^{C,a}

หมายเหตุ: อักษรตัวพิมพ์เล็กที่กำกับแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างแถวเดียวกัน

อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่กำกับแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างคอลัมน์เดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข-3: ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณด่างที่ระเหยได้ (TVBN)

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณด่างที่ระเหยได้ของทรีตเมนต์ต่างๆระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

ทรีตเมนต์	TVBN (mg N/100 g sample)			
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 6
Control	7.98±0.59^{A,c}	8.40±0.00^{A,c}	9.24±0.00^{A,b}	13.44±0.00^{C,a}
1	7.98±0.59^{A,b}	6.30±0.59^{CD,c}	6.72±0.00^{DE,c}	9.24±0.00^{EF,a}
2	6.72±0.00^{B,b}	7.14±0.59^{BC,b}	7.98±0.59^{BC,b}	11.34±0.59^{D,a}
3	5.04±0.00^{D,c}	7.98±0.59^{BC,b}	8.82±0.59^{AB,b}	14.70±0.59^{C,a}
4	6.72±0.00^{B,b}	6.30±0.59^{CD,b}	7.14±0.59^{CD,b}	9.66±0.59^{DEF,a}
5	6.30±0.59^{BC,b}	7.98±0.59^{AB,b}	7.14±0.59^{CD,b}	18.48±1.19^{B,a}
6	6.72±0.00^{B,b}	5.04±0.00^{EF,b}	7.14±0.59^{CD,b}	21.84±2.38^{A,a}
7	4.62±0.59^{D,d}	5.46±0.59^{DE,c}	7.98±0.59^{BC,b}	11.34±0.59^{D,a}
8	6.30±0.59^{BC,b}	7.14±0.59^{BC,b}	7.98±0.59^{BC,b}	9.66±0.59^{DEF,a}
9	6.30±0.59^{BC,d}	7.98±0.59^{AB,c}	9.66±0.59^{A,b}	15.12±0.00^{C,a}
10	5.46±0.59^{CD,b}	4.62±0.59^{EF,b}	5.88±0.00^{E,b}	7.98±0.59^{G,a}
11	4.62±0.59^{D,b}	4.62±0.59^{EF,b}	6.30±0.59^{DE,a}	6.30±0.59^{G,a}
12	4.62±0.59^{D,c}	4.20±0.00^{F,d}	5.88±0.00^{E,b}	7.14±0.59^{G,a}
13	6.30±0.59^{BC,b}	5.04±0.00^{EF,c}	6.30±0.59^{DE,b}	10.08±0.00^{DE,a}

หมายเหตุ: อักษรตัวพิมพ์เล็กที่กำกับแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างแถวเดียวกัน

อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่กำกับแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างคอลัมน์เดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข-4: ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าแรงเฉือน

ตารางที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของค่าแรงเฉือนของทรีตเมนต์ต่างๆระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

สภาวะ	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 6
Control	$21.72\pm2.99^{A,ns}$	$21.63\pm1.94^{A,ns}$	$21.32\pm2.93^{A,ns}$	$19.98\pm1.11^{A,ns}$
1	$13.61\pm1.83^{B,ns}$	$14.19\pm1.24^{C,ns}$	$13.96\pm1.76^{CD,ns}$	$14.98\pm0.25^{B,ns}$
2	$18.19\pm2.91^{AB,ab}$	$20.39\pm2.54^{AB,a}$	$15.76\pm3.31^{BCD,bc}$	$14.17\pm2.78^{B,c}$
3	$17.30\pm2.39^{AB,ns}$	$17.77\pm0.12^{ABC,ns}$	$17.23\pm3.34^{BC,ns}$	$16.93\pm0.09^{AB,ns}$
4	$20.06\pm3.35^{A,ns}$	$17.20\pm1.73^{ABC,ns}$	$17.82\pm2.57^{BC,ns}$	$17.28\pm2.64^{AB,ns}$
5	$17.53\pm1.72^{AB,ns}$	$18.68\pm3.17^{ABC,ns}$	$17.60\pm2.33^{BC,ns}$	$16.80\pm3.90^{AB,ns}$
6	$17.49\pm2.18^{AB,ns}$	$16.65\pm0.95^{ABC,ns}$	$16.82\pm1.92^{BCD,ns}$	$16.19\pm2.28^{AB,ns}$
7	$19.13\pm6.69^{A,ns}$	$17.29\pm6.25^{ABC,ns}$	$17.20\pm1.71^{BC,ns}$	$17.55\pm2.00^{AB,ns}$
8	$17.85\pm6.99^{AB,ns}$	$17.50\pm5.23^{ABC,ns}$	$17.28\pm1.60^{BC,ns}$	$17.33\pm3.84^{AB,ns}$
9	$21.23\pm2.96^{A,ns}$	$17.45\pm0.20^{ABC,ns}$	$16.79\pm2.89^{BCD,ns}$	$18.86\pm2.64^{A,ns}$
10	$17.85\pm1.98^{AB,a}$	$15.38\pm5.18^{BC,ab}$	$12.76\pm3.67^{D,b}$	$16.79\pm1.58^{AB,ab}$
11	$20.24\pm2.49^{A,a}$	$14.19\pm1.24^{C,b}$	$18.92\pm3.91^{B,a}$	$15.04\pm1.32^{B,b}$
12	$17.24\pm2.44^{AB,a}$	$16.02\pm4.77^{BC,ab}$	$12.77\pm2.77^{D,b}$	$16.09\pm2.40^{AB,ab}$
13	$18.87\pm3.73^{A,a}$	$17.80\pm2.11^{ABC,a}$	$14.11\pm0.98^{CD,b}$	$14.03\pm1.52^{B,b}$

หมายเหตุ: อักษรตัวพิมพ์เล็กที่กำกับแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างแถวเดียวกัน

อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่กำกับแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างคอลัมน์เดียวกัน

หน่วยเป็น นิวตัน (N)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค-1: แบบสอบถามวิธีการให้คะแนนความชอบร่วมกับการวัดความพอดี

ผลิตภัณฑ์: หมึกลวก วันที่ _____

ผู้ทดสอบ: _____

คำแนะนำ: กรุณาทดสอบตัวอย่าง ให้คะแนนความชอบตามที่ท่านรู้สึก ให้ตรงกับรหัสตัวอย่าง

สเกลความชอบ

1 = ไม่ชอบมากที่สุด
2 = ไม่ชอบมาก
3 = ไม่ชอบเล็กน้อย
4 = เฉยๆ บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ
5= ชอบเล็กน้อย
6 = ชอบปานกลาง
7 = ชอบมาก

และขีดเครื่องหมาย / ให้ตรงกับความรู้สึกที่ท่านมีต่อผลิตภัณฑ์ในเรื่องความพอดีของผลิตภัณฑ์

ตัวอย่าง 509

ปัจจัยคุณภาพ	คะแนนความชอบ	น้อยไป	พอดี	มากไป
สีโดยรวม				
กลิ่นรสหมึก				
เนื้อสัมผัส				
รสชาติ				
ความชอบรวม				

ตัวอย่าง 439

ปัจจัยคุณภาพ	คะแนนความชอบ	น้อยไป	พอดี	มากไป
สีโดยรวม				
กลิ่นรสหมึก				
เนื้อสัมผัส				
รสชาติ				
ความชอบรวม				

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม _____

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค-2: ตารางสมมติฐานสองทาง

Critical Number of Correct Responses in a Two-Sided Directional Difference Test (Entries are $x_{\alpha,n}$)

Entries are the minimum number of correct responses required for significance at the stated α-level (i.e., column) for the corresponding number of respondents, n (i.e., row). Reject the assumption of "no difference" if the number of correct responses is greater than or equal to the tabled value.

	α								α						
n	0.40	0.30	0.20	0.10	0.05	0.01	0.001	n	0.40	0.30	0.20	0.10	0.05	0.01	0.001
								31	19	19	20	21	22	24	25
2	—	—	—	—	—	—	—	32	19	20	21	22	23	24	26
3	3	3	—	—	—	—	—	33	20	20	21	22	23	25	27
4	4	4	4	—	—	—	—	34	20	21	22	23	24	25	27
5	4	5	5	5	—	—	—	35	21	22	22	23	24	26	28
6	5	5	6	6	6	—	—	36	22	22	23	24	25	27	29
7	6	6	6	7	7	—	—	40	24	24	25	26	27	29	31
8	6	6	7	7	8	8	—	44	26	26	27	28	29	31	34
9	7	7	7	8	8	9	—	48	28	29	29	31	32	34	36
10	7	8	8	9	9	10	—	52	30	31	32	33	34	36	39
11	8	8	9	9	10	11	11	56	32	33	34	35	36	39	41
12	8	9	9	10	10	11	12	60	34	35	36	37	39	41	44
13	9	9	10	10	11	12	13	64	36	37	38	40	41	43	46
14	10	10	10	11	12	13	14	68	38	39	40	42	43	46	48
15	10	11	11	12	12	13	14	72	41	41	42	44	45	48	51
16	11	11	12	12	13	14	15	76	43	44	45	46	48	50	53
17	11	12	12	13	13	15	16	80	45	46	47	48	50	52	56
18	12	12	13	13	14	15	17	84	47	48	49	51	52	55	58
19	12	13	13	14	15	16	17	88	49	50	51	53	54	57	60
20	13	13	14	15	15	17	18	92	51	52	53	55	56	59	63
21	13	14	14	15	16	17	19	96	53	54	55	57	59	62	65
22	14	14	15	16	17	18	19	100	55	56	57	59	61	64	67
23	15	15	16	16	17	19	20	104	57	58	60	61	63	66	70
24	15	16	16	17	18	19	21	108	59	60	62	64	65	68	72
25	16	16	17	18	18	20	21	112	61	62	64	66	67	71	74
26	16	17	17	18	19	20	22	116	64	65	66	68	70	73	77
27	17	17	18	19	20	21	23	122	67	68	69	71	73	76	80
28	17	18	18	19	20	22	23	128	70	71	72	74	76	80	83
29	18	18	19	20	21	22	24	134	73	74	75	78	79	83	87
30	18	19	20	20	21	23	25	140	76	77	79	81	83	86	90

Note: For values of n not in the table, compute $z = (k - 0.5n)/\sqrt{0.25n}$, where k is the number of correct responses. Compare the value of z to the $\alpha/2$-critical value of a standard normal variable, i.e., the values in the last row of Table T3 ($z_{\alpha/2} = t_{\alpha/2,\infty}$).

ที่มา: Meilgaard และคณะ (1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวนิพพิชฌน์ อภิภูวสุขเจริญ
วัน เดือน ปีเกิด	08 ธันวาคม 2535 ที่กรุงเทพมหานคร
ที่อยู่	เลขที่ 10 ซอย ร่มเกล้า 21/8 ถนน ร่มเกล้า แขวงคลองสามประเวศ เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520
ประวัติการศึกษา	มัธยมต้นและมัธยมปลายที่โรงเรียนมาเรียลัย กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) สาขาอุตสาหกรรมเกษตร จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้