รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การยืดอายุการเก็บหอยหลอดด้วยเทคนิค Sous Vide และ การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารกึ่งแห้ง

Shelf Life Extension of Razor Clam (*Solen* spp.) with Sous Vide Technique and Development as Intermediate Moisture Food Product

นางสาววิชมณี ยืนยงพุทธกาล	หัวหน้าโครงการวิจัย
นางสาวนิสานารถ กระแสร์ชล	ผู้ร่วมวิจัย
นางพรนภา น้อยพันธ์	ผู้ร่วมวิจัย

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๕๘
มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 2558A10802357
สัญญาเลขที่ 90/2558

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การยืดอายุการเก็บหอยหลอดด้วยเทคนิค Sous Vide และ การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารกึ่งแห้ง

Shelf Life Extension of Razor Clam (*Solen* spp.) with Sous Vide Technique and Development as Intermediate Moisture Food Product

นางสาววิชมณี ยืนยงพุทธกาล หัวหน้าโครงการวิจัย
นางสาวนิสานารถ กระแสร์ชล ผู้ร่วมวิจัย
นางพรนภา น้อยพันธ์ ผู้ร่วมวิจัย

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

สิงหาคม 2559

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 90/2558 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัย นางสาวกนกวรรณ แดงทองดี และนางสาวพลอยไพลิน ทองจันทึก ขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการทำงานวิจัย รวมถึงขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ และนิสิตภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร รวมถึงผู้เกี่ยวข้องทุกท่านที่มีส่วนให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้

สิงหาคม 2559

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้แบ่งเป็น 2 ตอน ตอนที่ 1 การพัฒนากรรมวิธีการยืดอายุการเก็บหอยหลอดด้วยเทคนิค sous vide เป็นการประยุกต์วิธีการบรรจุอาหารในสภาวะสุญญากาศและการพาสเจอร์ไรซ์เพื่อฆ่าเชื้อแล้วเก็บอาหารที่อุณหภูมิแช่เย็น จากการศึกษาผลของการเตรียมขั้นต้นด้วยการแช่และไม่แช่หอยหลอดในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับการแช่หอยหลอดในสารละลายกรด (น้ำมะนาว และน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด กรดซิตริกและกรดอะซิติก) ก่อนการแปรรูปด้วยวิธี sous vide ต่อคุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น ผลการทดลอง พบว่า การเตรียมขั้นต้นมีผลต่อค่าสี ค่าpH ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณ TVB-N ค่า TBARS และคะแนนความสดจากการประเมินทางประสาทสัมผัส ($p \leq 0.05$) โดยสิ่งทดลองที่เหมาะสมคือ การเตรียมขั้นต้นโดยการไม่แช่สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับการแช่น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด นอกจากนี้ศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาการพาสเจอร์ไรซ์ต่อคุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น ผลการทดลอง พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่าง 2 ปัจจัย มีผลต่อค่าสี ค่าpH ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณ TVB-N ค่า TBARS และคะแนนความสดจากการประเมินทางประสาทสัมผัส ($p \leq 0.05$) สภาวะที่เหมาะสมคือ การพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 3 นาที โดยตัวอย่างที่เหมาะสมนี้ ยังมีความปลอดภัยสำหรับการบริโภคเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3 สัปดาห์

ตอนที่ 2 การพัฒนากรรมวิธีการผลิตหอยหลอดกึ่งแห้ง โดยศึกษาการถ่ายเทมวลสารและค่า aw ของหอยหลอดระหว่างการแช่ในสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์ 5% และน้ำตาลซูโครส 30% พบว่า การถ่ายเทมวลสารได้แก่ ปริมาณน้ำที่สูญเสีย ปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้น และปริมาณน้ำหนักที่ลดลงของหอยหลอดมีแนวโน้มมากขึ้นเมื่อเวลาในการแช่เพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่เมื่อแช่เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากการศึกษาผลของการใช้สารควบคุมความชื้น ได้แก่ กลีเซอรอลและซอร์บิทอลความเข้มข้น 10% 20% และ 30% ร่วมด้วย พบว่า สามารถเพิ่มค่าการถ่ายเทมวลสาร และลดค่า aw ได้มากขึ้น โดยการใช้กลีเซอรอลความเข้มข้น 20% มีความเหมาะสมมากที่สุด ทำให้ได้หอยหลอดกึ่งแห้งที่มีค่า aw เท่ากับ 0.723 ทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะนุ่มขึ้น โดยมีความแข็ง เท่ากับ 1.01 กิโลกรัม นอกจากนี้ยังได้รับคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด ($p<0.05$) ผลการตรวจสอบคุณภาพระหว่างการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้องพบว่า หอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้มีความปลอดภัยสำหรับการบริโภค ได้รับความชอบโดยรวมอยู่ในช่วง 7.01-7.44

Abstract

This research is divided in two parts; the first part was shelf life extension of razor clam (*Solen* spp.) with sous vide technique. Sous vide is the application of vacuum packaging and pasteurization procedures and requires cold storage condition. The effect of pre-treatment with and without NaCl soaking combined with acid pre-treatment (lemon juice, pineapple cider vinegar, citric acid and acetic acid) on the quality of sous vide packed razor clam during cold storage were investigated. The result showed that pre-treatments affected on color value, pH, total acidity content, TVB-N content, TBARS value and freshness sensory evaluation ($p \leq 0.05$). The optimum treatment was pineapple cider vinegar pre-treatment without NaCl soaking. The effect of temperature and time of pasteurization condition on the quality of sous vide packed razor clam during cold storage were studied. Interaction of both factors significantly affected on color value, pH, total acidity content, TVB-N content, TBARS value and freshness sensory evaluation ($p \leq 0.05$). The optimum condition was pasteurized at 80°C for 3 min. The optimum treated sous vide sample was considered safe for consumed at least stored for 3 weeks.

The second part was process development of intermediate moisture product from Razor clam. Mass transfer and water activity of Razor clam during immersion in the mixture solution of NaCl 5% and sucrose 30% were studied. It was found those mass transfers which were water loss, solid gain and weight reduction were increased with soaking time and constant over time up to 6 hours. The concentration of humectants using glycerol and sorbitol were carried out at 10% 20% and 30%. It could increase mass transfer and more reduced a_w. The most appropriate solution was adding glycerol at 20%. The developed intermediate moisture Razor clam had a_w as 0.723 and resulted more soften texture contained hardness value at 1.01 kg. Moreover, it received the highest overall liking scores ($p<0.05$). Results of monitoring quality during stored for 4 weeks at room temperature showed that the developed intermediate moisture Razor clam product was safe to consume and gained overall liking score in ranged 7.01-7.44.

สารบัญ

บทที่		หน้า
	กิตติกรรมประกาศ	ก
	บทคัดย่อ	ข
	Abstract	ค
	สารบัญ	ง
	สารบัญตาราง	ฉ
	สารบัญภาพ	ฎ
1	บทนำ	1
2	การตรวจเอกสาร	4
	หอยหลอด	4
	การยืดอายุการเก็บอาหารวิธี sous vide	5
	การยืดอายุการเก็บอาหารด้วยการพาสเจอร์ไรซ์	9
	การยืดอายุการเก็บอาหารด้วยสารเคมี	9
	การยืดอายุการเก็บอาหารด้วยการใช้กรด	12
	การยืดอายุการเก็บอาหารด้วยการใช้เกลือ	14
	อาหารกึ่งแห้ง	14
	การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและจุลินทรีย์ของอาหารกึ่งแห้ง	16
	สารควบคุมความชื้น	17
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	20
3	วิธีดำเนินการทดลอง	26
	วัตถุดิบและสารเคมี	26
	อุปกรณ์และเครื่องมือ	26
	วิธีการดำเนินการทดลอง	27
4	ผลการทดลองและวิจารณ์	37
5	สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	125
	บรรณานุกรม	127
	ภาคผนวก	135

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพ..... 136

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส..... 144

ภาคผนวก ค การวิเคราะห์คุณภาพจุลินทรีย์..... 146

ภาคผนวก ง การเตรียมกรดซิตริกและอะซิติก..... 150

ประวัตินักวิจัย 151

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2-1	อายุการเก็บของอาหารชนิดต่างๆที่ใช้กระบวนการถนอมอาหารแบบ sous vide	7
3-1	รายละเอียดสิ่งทดลองที่ใช้ในการศึกษาผลของวิธีการเตรียมขั้นต้นก่อนการแปรรูปวิธี sous vide.....	28
3-2	สิ่งทดลองที่ได้จากการแปรอุณหภูมิและเวลาการพาสเจอร์ไรซ์หอยหลอดในการแปรรูปวิธีsous vide.....	31
4-1	ค่าสี L* ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	41
4-2	ค่าสี a* ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	42
4-3	ค่าสี b* ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	43
4-4	ค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นของสารละลายกรดที่ใช้ในโครงงานวิจัย....	44
4-5	ค่า pH ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	47
4-6	ปริมาณกรดทั้งหมดของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	48
4-7	ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	52
4-8	ปริมาณไตรเมททิลเอมีน (TMA-N) ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	54
4-9	ค่า TBARS ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรที่รูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาอุณหภูมิ 4±1 °C.....	57
4-10	คะแนนความสดด้านลักษณะปรากฏของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	62

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4-11	คะแนนความสดด้านสีของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	63
4-12	คะแนนความสดด้านกลิ่นของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	64
4-13	คะแนนความสดด้านรสชาติของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	65
4-14	คะแนนความสดด้านความชอบโดยรวมของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	66
4-15	ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	69
4-16	ปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	72
4-17	สรุปผลการเปรียบเทียบคุณภาพของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษากับเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล.....	73
4-18	ค่าสี L* ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	78
4-19	ค่าสี a* ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	79
4-20	ค่าสี b* ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	80
4-21	ค่า pH ของหอยหลอดที่ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C.....	82

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4-22	ปริมาณกรดทั้งหมดของหอยหลอดผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C	83
4-23	ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C	85
4-24	ปริมาณไตรเมททิลเอมีน (TMA-N) ของหอยหลอดผ่านการพาสการเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1°C	87
4-25	ค่า TBARS ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C	89
4-26	คะแนนความสดด้านลักษณะปรากฏของหอยหลอดผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C	93
4-27	คะแนนความสดด้านสีของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C	94
4-28	คะแนนความสดด้านรสกลิ่นของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 4±1 °C	95
4-29	คะแนนความสดด้านรสชาติของหอยหลอดที่ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C	96
4-30	คะแนนความสดด้านความชอบโดยรวมของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C	97
4-31	ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria ของหอยหลอดผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C	100
4-32	ปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria ของหอยหลอดผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C	101
4-33	สรุปผลการเปรียบเทียบคุณภาพของหอยหลอดผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษากับเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล	104

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4-34	ค่า a_w ของหอยหลอดที่แช่สารในสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครสที่เวลาต่างๆ	106
4-35	ปริมาณความชื้นของหอยหลอดหลังการแช่สารในสารละลายที่มีการเติมกลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ	108
4-36	ค่า a_w ของหอยหลอดหลังการแช่สารในสารละลายที่มีการเติมกลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ	109
4-37	ปริมาณน้ำที่สูญเสีย (WL) ของหอยหลอดหลังการแช่สารในสารละลายที่มีการเติมกลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ	110
4-38	ปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้น (SG) ของหอยหลอดหลังการแช่สารในสารละลายที่มีการเติมกลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ	111
4-39	ปริมาณน้ำหนักที่ลดลง (WR) ของหอยหลอดหลังการแช่สารในสารละลายที่มีการเติมกลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ	111
4-40	ค่า a_w ของหอยหลอดกึ่งแห้งเมื่อมีการใช้กลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ	113
4-41	ค่าสี L* ของหอยหลอดกึ่งแห้งเมื่อมีการใช้กลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้น ระดับต่างๆ	114
4-42	ค่าสี a* ของหอยหลอดกึ่งแห้งเมื่อมีการใช้กลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้น ระดับต่างๆ	114
4-43	ค่าสี b* ของหอยหลอดกึ่งแห้งเมื่อมีการใช้กลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้น ระดับต่างๆ	115
4-44	ค่าความแข็ง (Hardness) ของหอยหลอดกึ่งแห้งเมื่อมีการใช้กลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ	116
4-45	คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของหอยหลอดกึ่งแห้งเมื่อมีการใช้กลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ	117
4-46	ปริมาณความชื้น ค่า a_w และค่าความแข็งของหอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้ระหว่างการเก็บรักษา	120

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4-47	ค่าสี L* a* และ b* ของหอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้ระหว่างการเก็บรักษา.....	121
4-48	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราของหอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้ระหว่างการเก็บรักษา.....	121

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2-1	ลักษณะของหอยหลอดทั้งเปลือก.....	4
2-2	กระบวนการผลิตแบบ sous vide สำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และจุดวิกฤติ (Critical Control Point, CCP).....	8
3-1	ลักษณะของหอยหลอดที่ใช้ในโครงงานวิจัย.....	31
4-1	ลักษณะของหอยหลอดหลังผ่านการเตรียมขั้นต้นด้วยวิธีการต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี ได้แก่ sous vide สิ่งทดลองที่ 1 ถึง สิ่งทดลองที่ 10 (ก) ถึง (ญ).....	40
4-2	ลักษณะของหอยหลอดหลังการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ได้แก่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที (ก) 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที (ข) 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 นาที (ค) และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที (ง).....	77
4-3	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการถ่ายเทมวลสารของหอยหลอดกับเวลาแช่ในสารละลายผสมเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครส.....	105
4-4	ลักษณะของหอยหลอดหลังการแช่ในสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครสร่วมกับการใช้กลีเซอรอลความเข้มข้น 20% (ก) และร่วมกับการใช้ซอร์บิทอล 30% (ข) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง.....	118
4-5	ลักษณะของหอยหลอดกึ่งแห้งที่มีการใช้กลีเซอรอลความเข้มข้น 20% (ก) และร่วมกับการใช้ซอร์บิทอล 30% (ก).....	119
4-6	ลักษณะของหอยหลอดกึ่งแห้งก่อนทอด เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 0 สัปดาห์ (ก) 1 สัปดาห์ (ข) 2 สัปดาห์ (ค) 3 สัปดาห์ (ง) และ 4 สัปดาห์ (จ).....	122
4-7	ลักษณะของหอยหลอดกึ่งแห้ง (หลังทอด) เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 0 สัปดาห์ (ก) 1 สัปดาห์ (ข) 2 สัปดาห์ (ค) 3 สัปดาห์ (ง) และ 4 สัปดาห์ (จ).....	123
4-8	คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของหอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้ระหว่างการเก็บรักษา.....	124

บทที่ 1
บทนำ

ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

หอยหลอด (Razor clam) จัดเป็นหอยชนิดสองฝาชนิดหนึ่ง มีเปลือกเป็นรูปทรงกระบอกมีสีเหลืองอ่อนอมเขียว หรือสีขาวอมเหลือง ส่วนหัวจะนิ่มยืดเข้าออกได้ตรงส่วนปลาย ส่วนหางจะเหนียว ขนาดตัวยาวประมาณ 2-3 นิ้ว หอยหลอดจัดเป็นสัตว์เศรษฐกิจสำคัญอย่างหนึ่งของประเทศ จากการรวบรวมข้อมูลของกรมประมงพบว่า ปริมาณการจับหอยหลอดทั่วประเทศสามารถสร้างรายได้ เมื่อคิดเป็นจำนวนเงินแล้วมีมูลค่านับพันล้านบาทต่อปี หอยหลอดเป็นที่นิยมบริโภคเนื่องจากมีรสชาติ รูปร่างและเนื้อสัมผัสที่เป็นเอกลักษณ์ โดยหากเปรียบเทียบกับหอยชนิดอื่นแล้วจัดว่าเป็นหอยที่มีราคาสูงกว่า หน่วยงานท้องถิ่นของแหล่งหอยหลอด รวมถึงหน่วยงานของรัฐที่เกี่ยวข้องช่วยส่งเสริมการเพาะเลี้ยงและให้ความรู้การเก็บเกี่ยวหอยหลอดให้ถูกวิธีและมีประสิทธิภาพ ทำให้มีแนวโน้มสามารถมีหอยหลอดสำหรับการจำหน่ายในตลาดเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามหอยหลอดมีอายุการเก็บสั้น ส่วนใหญ่นิยมนำมาทำอาหารเพื่อบริโภคทันที โดยการนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์ยังมีไม่มากนัก จึงควรมีการเตรียมการหาแนวทางใช้เทคโนโลยีการยืดอายุการเก็บหอยหลอดให้สามารถนำมาทำอาหารเพื่อบริโภคได้นานขึ้นโดยยังมีคุณภาพดี และนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ มีอายุการเก็บนานและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และจากยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศตามแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ยุทธศาสตร์หนึ่งให้ความสำคัญกับการสร้างความมั่นคงด้านอาหาร รวมถึงยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติที่ให้ความสำคัญกับการสร้างมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ประมง คณะผู้วิจัยเห็นว่าควรใช้ความรู้ทางวิทยาศาสตร์การอาหารโดยเลือกใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสมในการแก้ปัญหาด้านอายุการเก็บหอยหลอดและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากหอยหลอด ซึ่งจะมีประโยชน์ที่จะนำผลวิจัยไปถ่ายทอดเทคโนโลยีให้กับชุมชนโดยตรง หรือหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับงานส่งเสริมการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารในชุมชน การส่งเสริมการประมง เพื่อเป็นแนวทางการพัฒนาผลิตภัณฑ์ในชุมชนต่อไปได้ ซึ่งอาจสามารถได้เป็นแนวทางในการนำไปผลิตในระดับอุตสาหกรรมเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ที่เป็นเอกลักษณ์ของประเทศไทยซึ่งเป็นโอกาสหนึ่งที่จะสร้างผลิตภัณฑ์เพื่อจำหน่ายในประเทศประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน (Asean Economic Community:AEC) คณะผู้วิจัยมีแนวความคิดยืดอายุการเก็บหอยหลอดด้วยเทคนิค Sous vide และพัฒนากรรมวิธีการผลิตหอยหลอดกึ่งแห้ง

เทคนิค Sous vide เป็นกระบวนการใช้ความร้อนต่ำ (65-95 องศาเซลเซียส) เพื่อฆ่าเชื้ออาหารที่บรรจุในสภาวะสุญญากาศ แล้วเก็บที่อุณหภูมิแช่เย็น จุดประสงค์ของกระบวนการถนอมแบบ

Sous vide คือ ยืดอายุวัตถุดิบ ได้นานขึ้น และช่วยปรับปรุงคุณภาพทางประสาทสัมผัส เหมาะสำหรับการเตรียมวัตถุดิบสำหรับการขายปลีก มีโอกาสเติบโตสูงโดยเฉพาะในธุรกิจอาหารพร้อมบริโภค (ready to eat) เพราะได้ผ่านการเตรียมมาระดับหนึ่งแล้วทำให้ใช้เวลาน้อยในการปรุงเพื่อบริโภค ซึ่งสอดคล้องกับชีวิตประจำวันของคนในสังคมปัจจุบัน อย่างไรก็ตามวัตถุดิบแต่ละชนิดจะมีความจำเพาะกับสภาวะการแปรรูปที่เหมาะสม ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องและมีความสำคัญกับการใช้เทคนิค Sous vide ในด้านการเตรียมวัตถุดิบขั้นต้นด้วยการแช่ในสารละลายและสภาวะการพาสเจอร์ไรซ์ ส่วนผลิตภัณฑ์ประเภทกึ่งแห้งที่ยังคงมีลักษณะคล้ายของสดมากกว่าของแห้ง มีลักษณะปรากฏดี เนื้อสัมผัสไม่แข็ง และมีการเสริมสารสมุนไพร โดยผลิตภัณฑ์สามารถเก็บรักษาได้นาน อาหารกึ่งแห้ง (Intermediate Moisture Food) ซึ่งเป็นอาหารที่แห้งเพียงบางส่วนและมีความเข้มข้นของของแข็งที่ละลายได้ในปริมาณที่เหมาะสมเพียงพอที่จะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย รา และยีสต์ อาหารกึ่งแห้งมีลักษณะคล้ายของสดมากกว่าอาหารแห้ง และสามารถเก็บไว้ได้นานโดยไม่จำเป็นต้องเก็บไว้ในตู้เย็น ซึ่งวิธีการถนอมอาหารกึ่งแห้งนั้นจะอาศัยหลักการลดปริมาณน้ำที่มีประโยชน์สำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารหรือค่าwater activity ให้อยู่ในช่วง 0.6-0.9 โดยใช้สารควบคุมความชื้น (Humectant) เพื่อลดค่า water activity ของอาหารให้ต่ำลง สารควบคุมความชื้นที่นิยมใช้ได้แก่ น้ำตาล เกลือ และสารประเภทโพลีออล พวกกลีเซอรอล และซอร์บิทอล ทั้งนี้มีรายงานว่าการเติมกลีเซอรอลสามารถช่วยลดค่า a_w ลดความเสี่ยงจากการเจริญของจุลินทรีย์ ป้องกันการเปลี่ยนแปลงสี กลิ่นรส และรสชาติระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัสที่อ่อนนุ่มไม่แข็งกระด้าง (ศิวาพร ศิวเวชช, 2535; Leistner et al., 1981) ในงานวิจัยนี้มีการใช้กลีเซอรอลและซอร์บิทอลร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครสเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายเทมวลสาร ลดค่า a_w และปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสด้วย

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงจัดเป็นงานวิจัยที่แก้ปัญหาด้านอายุการเก็บรักษาของวัตถุดิบหอยหลอดและสามารถเปิดโอกาสสร้างผลิตภัณฑ์ใหม่ มีการใช้วัตถุดิบหอยหลอดที่มีศักยภาพมากด้านคุณภาพและการผลิต เป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบ นอกจากนี้เป็นการผลิตผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ไม่ยุ่งยาก ใช้กรรมวิธีการผลิตเดิมของผู้ประกอบการ จึงมีโอกาสเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์ในอนาคต ข้อมูลที่ได้รับจากการวิจัยสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนหนึ่งในการเผยแพร่ความรู้ในศูนย์ความเป็นเลิศเฉพาะทางศาสตร์ทะเลของมหาวิทยาลัยในอนาคต ซึ่งเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อสังคมภาคตะวันออก และเป็นองค์ความรู้ที่สามารถขยายไปยังพื้นที่อื่นๆ ที่เกี่ยวข้องได้ จึงมีส่วนในการชี้นำการพัฒนาของประเทศต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

1) เพื่อพัฒนากรรมวิธีการยืดอายุการเก็บหอยหลอดด้วยเทคนิค Sous vide

2) เพื่อพัฒนากรรมวิธีการผลิตหอยหลอดกึ่งแห้ง

ขอบเขตของงานวิจัย

โครงการวิจัยนี้มีขอบเขตโครงการวิจัยแบ่งเป็น 2 ตอน คือ ตอนที่ 1 คือการพัฒนากรรมวิธีการยืดอายุการเก็บหอยหลอดด้วยเทคนิค Sous vide โดยดำเนินการศึกษาผลของวิธีการเตรียมขั้นต้นด้วยการแช่ในสารละลายก่อนการใช้เทคนิค Sous vide ต่อคุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา และการศึกษาผลของสภาวะการพาสเจอร์ไรซ์ด้านอุณหภูมิและเวลาการพาสเจอร์ไรซ์ต่อคุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษาและตอนที่ 2 คือ การพัฒนากรรมวิธีการผลิตหอยหลอดกึ่งแห้ง โดยประยุกต์ใช้กรรมวิธีการแช่หอยหลอดในสารละลายเข้มข้นหรือเรียกว่าการดึงน้ำออกแบบออสโมซิสร่วมกับการอบแห้งโดยใช้ความร้อน โดยดำเนินการศึกษาการถ่ายเทมวลสารและค่า a_w ของหอยระหว่างการแช่ในสารละลายความเข้มข้นสูง และศึกษาผลของการใช้สารควบคุมความชื้นได้แก่ กลีเซอรอลและซอร์บิทอลร่วมกับสารละลายเกลือต่อคุณภาพของหอยหลอดหลังการแช่สารละลายและผลิตภัณฑ์กึ่งแห้ง และตรวจสอบคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์หอยหลอดกึ่งแห้งที่ผลิตได้

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

2.1 หอยหลอด

หอยหลอด (Rozer clam) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Solen regularis* หอยหลอดประกอบด้วยเปลือกที่ห่อหุ้มลำตัว เป็นรูปทรงกระบอกสีขาวอมเหลือง หรือสีเหลืองอ่อน ลักษณะเหมือนหลอดกาแฟ ส่วนปลายของเปลือกทั้งสองด้านมีช่องเปิดด้านหนึ่งเป็นเท้า และอีกด้านหนึ่งเป็นท่อน้ำ สำหรับกรองอาหารยื่นออกมา ดังภาพที่ 2-1

ภาพที่ 2-1 ลักษณะของหอยหลอดทั้งเปลือก

หอยหลอดชอบฝังตัวอยู่ในดิน อยู่ลึกจากผิวดินประมาณ 1 - 2 นิ้ว โดยจะขุดเป็นท่อขนาดเท่าลำตัวและวางตัวอยู่ในท่อในแนวตั้งหรือเอียงประมาณ 30 องศาเซลเซียส โดยตัวหอยจะเคลื่อนที่ขึ้นลง อยู่ในท่อหรือรูนี้ ปกติหอยจะขึ้นมาอยู่บนผิวหน้าของดิน โดยยื่นลำตัวเหนือผิวดิน ประมาณ 1/3 ของลำตัวหอยหรืออาจจะอยู่บริเวณผิวดิน และเปิดช่องเพื่อกรองอาหาร และน้ำผ่านเข้าไปในตัว สำหรับประเทศไทย แหล่งผลิตหอยหลอดตามธรรมชาติที่ใหญ่ที่สุดอยู่ที่ดอนหอยหลอด จังหวัดสมุทรสงคราม โดยมีที่ดอนอยู่ประมาณ 20,000 ไร่เศษ ซึ่งเป็นจุดที่มีหอยหลอดอาศัยอยู่เป็นจำนวนมาก การเก็บหอยหลอดทำได้ โดยการนำปูนขาวไปหยอดลงไปในช่องหรือรูของหอยหลอด เมื่อหอยได้รับสิ่งแปลกปลอมซึ่งระคายเคืองและเป็นพิษ จะพ่นน้ำและพุ่งตัวออกจากรู ทำให้สามารถจับได้ง่าย เนื่องจากในปัจจุบันมีการนิยมบริโภคหอยหลอดกันมากขึ้นและการเก็บหอยหลอดเป็นกิจกรรมที่นักท่องเที่ยวนิยม จึงมีการส่งเสริมให้มีการเพาะขยายพันธุ์หอยหลอด จากหน่วยราชการหลายหน่วย

โดยเฉพาะสถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จ.สมุทรสงคราม โดยส่งเสริมให้มีการเพาะขยายพันธุ์หอยหลอดเพื่อนำไปปล่อยในแหล่งน้ำธรรมชาติเป็นไปอย่างต่อเนื่องและมีการเลี้ยงเชิงพาณิชย์มากขึ้น ปัจจุบันนี้การเพาะเลี้ยงหอยหลอดประสบความสำเร็จมากจึงทำให้ปริมาณการผลิตหอยหลอดเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (กรมประมง, 2557)

เนื่องจากมีความต้องการของผู้บริโภคหอยเป็นอาหารเพิ่มมากขึ้นกว่าในอดีตและการเปิดการค้าเสรีมากขึ้นจึงมีแนวโน้มให้การตลาดกว้างขึ้น ดังนั้นจึงได้มีการทำฟาร์มเลี้ยงหอยซึ่งเป็นที่นิยมบริโภคมากขึ้น แม้ว่าการทำฟาร์มเลี้ยงหอยในทะเลไทยปัจจุบัน จะทำเป็นอุตสาหกรรมได้ไม่ใหญ่มาก แต่ก็มีความคาดหวังได้ว่าในอนาคตการทำฟาร์มเพาะเลี้ยงหอยชนิดต่างๆในทะเลไทยจะเป็นอุตสาหกรรมใหญ่เทียบเท่าอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงหอยในต่างประเทศได้ เนื่องจากมีศักยภาพด้านการพัฒนาพันธุ์และวิธีการเลี้ยงที่ได้รับการสนับสนุนจากหน่วยงานราชการอย่างต่อเนื่อง (วันทนา อยู่สุข, 2552)

หอยหลอดจัดเป็นอาหารทะเลที่มีคุณค่าทางโภชนาการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญ มีปริมาณสูงถึงร้อยละ 8-25 และส่วนใหญ่เป็นโปรตีนที่ย่อยง่าย ทั้งยังมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายครบถ้วน ไขมันที่เป็นองค์ประกอบของหอยหลอดส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว เช่น Eicosapentaenoic acid (EPA) และ Docosahexaenoic acid (DHA) ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้จะช่วยลดปริมาณไขมันในเส้นเลือดและเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของสมอง นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งวิตามิน เช่น วิตามิน เอ ดี อี เค และเป็นแหล่งแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกายได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส และไอโอดีน ซึ่งจะช่วยสร้างเสริมกระดูกและฟัน และช่วยป้องกันการเกิดโรคคอพอก ดังนั้นหอยหลอดจึงเป็นอาหารที่เหมาะสมกับทุกเพศทุกวัยโดยเฉพาะผู้สูงอายุ ผู้ป่วยเป็นโรคเส้นเลือดหัวใจอุดตัน โรคเบาหวาน หอยหลอดมีลักษณะเป็นเอกลักษณ์ มีรสชาติและเนื้อสัมผัสเฉพาะตัว ทำให้หอยหลอดและผลิตภัณฑ์หอยหลอดแปรรูปเป็นอาหารที่นิยมและเป็นที่รู้จักทั่วไป เช่น หอยหลอดเสียบไม้ย่าง หอยหลอดผัดฉ่า หรือหอยหลอด 3 รส การแปรรูปหอยหลอดโดยส่วนใหญ่มีวัตถุประสงค์คล้ายกันคือ เพื่อเพิ่มรสชาติและรูปแบบการบริโภคที่หลากหลายออกไป สามารถเก็บรักษาคุณภาพอาหารไว้ได้นานขึ้น (จันธิรา แก้วสีทอง, 2545) จากการสำรวจราคาจำหน่ายหอยหลอดสดเมื่อเดือนเมษายน ปี 2557 พบว่าราคากิโลกรัมละประมาณ 80 บาท โดยยังคงเป็นที่นิยมสำหรับการบริโภคทั้งรูปแบบสดและผ่านการแปรรูป

2.2 การยืดอายุการเก็บอาหารวิธี sous vide

การยืดอายุการเก็บอาหารด้วยการถนอมอาหารแบบ sous vide เป็นกระบวนการใช้ความร้อนต่ำในช่วง 65-95 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นความร้อนระดับการพาสเจอร์ไรซ์ เพื่อฆ่าเชื้ออาหารที่บรรจุในสภาวะสุญญากาศ แล้วควรเก็บอาหารในสภาวะแช่เย็น อุณหภูมิสภาวะที่แนะนำให้ใช้เพื่อฆ่าเชื้อในอาหารเพื่อให้แน่ใจว่าปลอดภัยจากเชื้อ *Clostridium botulinum* คือ อุณหภูมิ 90 องศา

เซลเซียส 10 นาที แต่ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร (Armstrong, 2000) จุดประสงค์ของกระบวนการถนอมอาหารแบบ sous vide คือ ยืดอายุวัตถุดิบและปรับปรุงคุณภาพทางประสาทสัมผัส ในอดีตกระบวนการถนอมอาหารแบบ sous vide ทำกันง่ายๆ ในครัวเรือน ปัจจุบันทำกันในระดับอุตสาหกรรม ทำให้มีมาตรฐานความปลอดภัยมากขึ้น เพิ่มความสะดวกในการบริโภค กลายเป็นกระบวนการถนอมอาหารที่ทำให้อาหารมีคุณภาพสูง โดยมีโอกาสเติบโตสูงโดยเฉพาะในธุรกิจอาหารพร้อมบริโภค (Ready to eat) เพราะได้ผ่านการเตรียมมาระดับหนึ่งแล้วทำให้ใช้เวลาน้อยในการปรุงเพื่อบริโภค ซึ่งสอดคล้องกับชีวิตประจำวันของคนในสังคมปัจจุบัน กระบวนการถนอมอาหารแบบ sous vide เป็นกระบวนการผลิตที่ถูกออกแบบมาอย่างรัดกุมตามระบบ HACCP สำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีกระบวนการผลิตแบบ sous vide ซึ่งระบุจุดวิกฤติ แสดงรายละเอียด ดังภาพที่ 2-2

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับอายุการเก็บของอาหารที่ใช้กระบวนการถนอมอาหารแบบ sous vide ได้แก่ วัตถุดิบ สูตร และส่วนผสม การบรรจุและการปิดผนึก ความร้อนที่ใช้ฆ่าเชื้อ การทำให้เย็น การเก็บและการขนส่ง และ การอุ่นให้ความร้อนก่อนบริโภค (Armstrong, 2000)

(1) วัตถุดิบ เกี่ยวข้องกับจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น หากวัตถุดิบมีจำนวนจุลินทรีย์ปนเปื้อนมากอาจทำให้เสี่ยงต่ออันตราย เช่นพิษของเชื้อรา *Cl. Botulinum* มากกว่าวัตถุดิบที่มีจำนวนจุลินทรีย์ปนเปื้อนน้อย เนื่องจากความร้อนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อเป็นความร้อนในระดับต่ำ คือที่อุณหภูมิ 65 - 95 องศาเซลเซียส จึงต้องควบคุมจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นให้เกิดการปนเปื้อนน้อยที่สุด

(2) สูตรและส่วนผสม องค์ประกอบของอาหารได้แก่ ค่าพีเอช ความชื้น เกลือ น้ำตาล เปลี่ยนแปลงไปตามส่วนประกอบที่ใช้ มีผลต่อความร้อนที่ใช้ฆ่าเชื้อ และอายุการเก็บ การพิจารณาเลือกใช้ส่วนผสม พิจารณาจากคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสตามที่ต้องการ

(3) การบรรจุและการปิดผนึก ระดับของสุญญากาศที่ใช้ จะเป็นดัชนีชี้วัดอายุการเก็บ ถ้ามีระดับของสุญญากาศน้อย อายุการเก็บสั้น รอยตะเข็บต้องปิดสนิทและสมบูรณ์ การบรรจุขณะร้อนทำให้เกิดหยดน้ำ ซึ่งจะจำกัดความเป็นสุญญากาศภายในภาชนะบรรจุ

(4) ความร้อนที่ใช้ฆ่าเชื้อ ต้องเพียงพอที่จะลดจำนวนจุลินทรีย์ ตัวอย่างเช่นกรณี *Cl. Botulinum* ควรลดปริมาณลง 6 log cycle อายุการเก็บของอาหารที่ใช้กระบวนการถนอมอาหารแบบ sous vide ขึ้นกับความร้อนที่ใช้ และ คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ต้องการเป็นสำคัญ เช่น อาหารจำพวกเนื้อสัตว์มีอายุการเก็บ 21 - 40 วัน ปลามีอายุการเก็บ 7 วัน ผักมีอายุการเก็บ 7 - 20 วัน ที่อุณหภูมิ 0 - 3 องศาเซลเซียส แสดงดังตารางที่ 2-1 อุณหภูมิและเวลาที่แนะนำให้ใช้ เพื่อยืดอายุการเก็บสำหรับอาหารที่ใช้กระบวนการถนอมอาหารแบบ sous vide โดยทั่วไปมีดังนี้ หากใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 10 นาที จะสามารถเก็บอาหารได้นานไม่ต่ำกว่า 10 วัน และที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 10 นาที จะเก็บอาหารได้นานไม่ต่ำกว่า 42 วัน โดยเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 3 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อายุการเก็บของอาหารยังขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของอาหารเช่น ผัก ผลไม้

เนื้อสัตว์ สัตว์ปีก อาหารทะเล น้ำนม และถั่ว มีส่วนประกอบ ทางเคมี เช่น ความชื้น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ และวิตามิน ในปริมาณที่แตกต่างกันส่งผลให้มีค่า pH, water activity ที่แตกต่างกัน ทำให้อาหารแต่ละประเภทมีอายุการเก็บต่างกัน

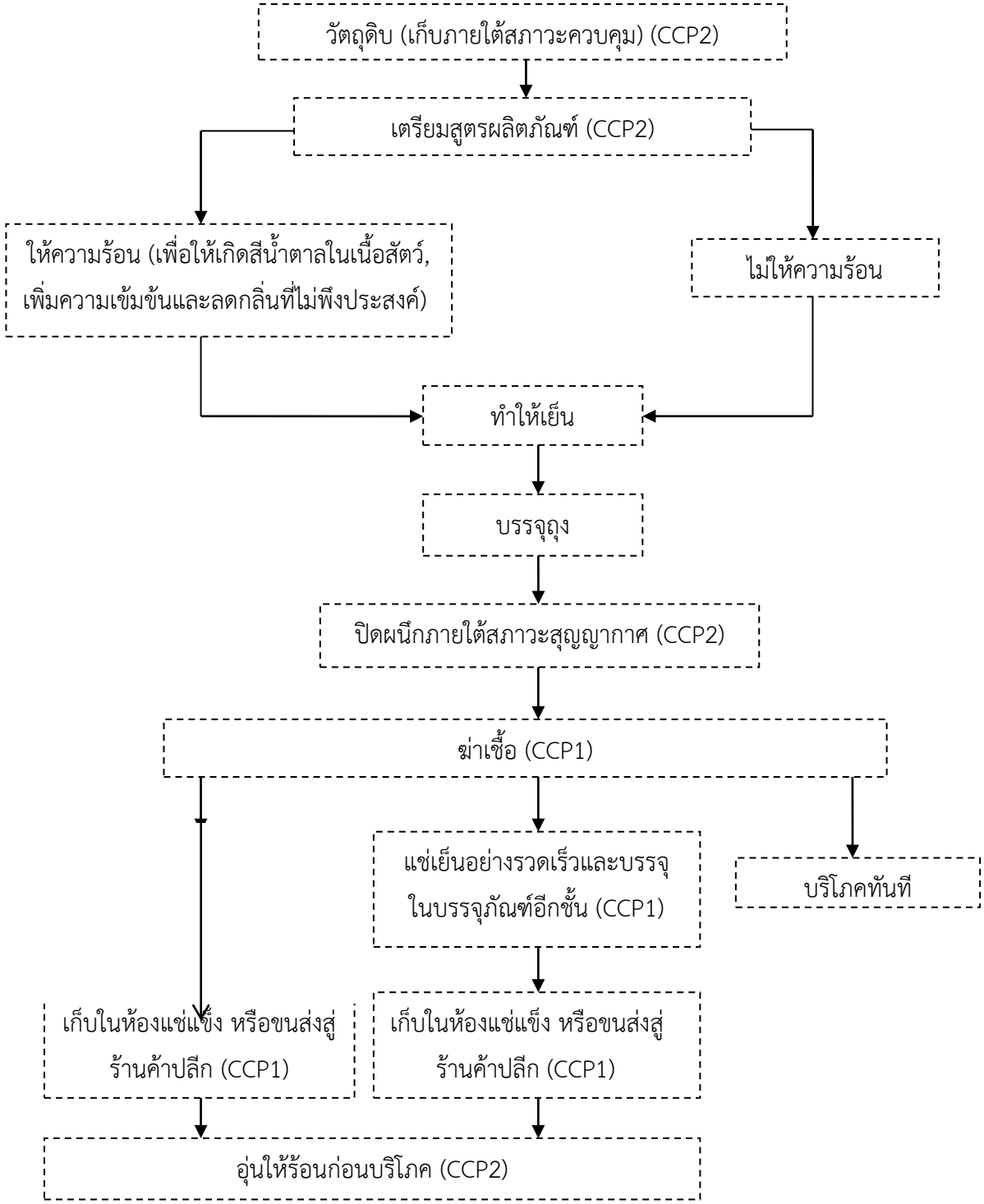
(5) การทำให้เย็น จะใช้เวลามากหรือน้อยขึ้นอยู่กับขนาดบรรจุ และกรรมวิธีการทำให้เย็น ควรทำให้เย็นถึง 0 - 3 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 30 นาที

(6) การเก็บและการขนส่ง ควรทำที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์และการสร้างสารพิษ ตัวอย่าง เช่น กรณีการป้องกันการเจริญและการสร้างสารพิษของเชื้อ *Cl. botulinum* ควรเก็บและขนส่งที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส

(7) การอุ่นให้ความร้อนก่อนบริโภค (Reheating) หลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ควรอุ่นให้ความร้อนภายในเวลา 30 นาที และให้ความร้อนถึงใจกลางภาชนะบรรจุที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 2 นาที และบริโภคภายใน 15 นาที

ตารางที่ 2-1 อายุการเก็บของอาหารชนิดต่างๆที่ใช้กระบวนการถนอมอาหารแบบ sous vide

ชนิดอาหาร	อายุการเก็บ (วัน) ที่ 0 - 3 °C
Bolognese meat sauce products	40
Meat based products	21 – 40
Poultry products	6 – 40
Roast beef	23
Vegetable products	7 – 12
Green bean puree	8
Fish products	7



ภาพที่ 2-2 กระบวนการผลิตแบบ sous vide สำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และจุดวิกฤต (Critical Control Point, CCP)

หมายเหตุ CCP1 หมายถึงมีระดับอันตรายสูงและมีความเสี่ยง มากกว่า CCP2

2.3 การยืดอายุการเก็บอาหารด้วยการพาสเจอร์ไรซ์ (สถาบันอาหาร, 2547)

การพาสเจอร์ไรซ์ (Pasteurization) เป็นการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส โดยมีวัตถุประสงค์ดังนี้

(1) เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเสื่อมเสียส่วนใหญ่ในอาหาร จุลินทรีย์ที่ที่ถูกทำลายจะเป็นพวกเซลล์จุลินทรีย์เท่านั้นโดยจุลินทรีย์ที่หลงเหลือจะอยู่ในสภาพที่อ่อนแอลง

(2) เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เช่น เชื้อไทฟอยด์ อหิวาต์ คอตีบ วัณโรค ท้องร่วง เป็นต้น

(3) เพื่อทำลายเอนไซม์ที่ไม่ต้องการ เช่น เอนไซม์ไลเปส และเอนไซม์โปรติเอส เป็นต้น

(4) เป็นกรรมวิธีการแปรรูปที่ใช้ร่วมกับกรรมวิธีอื่นๆ เช่น การใช้อุณหภูมิต่ำในการเก็บรักษา การใช้สารเคมี เช่น เบนโซเอต และซอร์เบท การใช้น้ำตาลหรือเกลือ หรือกรดในปริมาณสูง

(5) เพื่อลดหรือจำกัดปริมาณจุลินทรีย์ในวัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการผลิต

ข้อดีของการพาสเจอร์ไรซ์ คือ ช่วยรักษาคุณภาพและคุณค่าของอาหาร เนื่องจากคุณภาพและคุณค่าของอาหารอาจเสื่อมเสียได้ง่ายด้วยความร้อนสูง เช่น การลดลงของกลิ่นรส วิตามินซีในน้ำส้ม การตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนม หรือไข่ขาวจะเกิดการแข็งตัวเมื่อถูกความร้อนที่อุณหภูมิสูง เป็นต้น โดยปัจจัยที่มีผลต่ออุณหภูมิและเวลาในการพาสเจอร์ไรซ์ มีดังนี้

(1) ความต้านทานความร้อน (Heat resistance) ของจุลินทรีย์

(2) ลักษณะของอาหาร สามารถทนความร้อนได้มากหรือน้อยเพียงใด

(3) เชื้อจุลินทรีย์ที่เริ่มต้นปนเปื้อนในอาหาร

สำหรับระดับของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการพาสเจอร์ไรซ์ สามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ ได้แก่

(1) Low Temperature Long Time (LTLT) เป็นการใช้ความร้อนอุณหภูมิไม่สูง แต่ใช้เวลาในการให้ความร้อนนาน เช่น ที่อุณหภูมิ 60 - 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ซึ่งอาจทำให้อาหารเสียคุณค่าทางโภชนาการ

(2) High Temperature Short Time (HTST) เป็นการใช้ความร้อนอุณหภูมิสูงแต่ใช้เวลาในการให้ความร้อนสั้น เช่น ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 15 - 16 วินาที วิธีนี้จะยังคงรักษาคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไว้ได้ดีกว่าการพาสเจอร์ไรซ์แบบแรก

2.4 การยืดอายุการเก็บอาหารด้วยสารเคมี

การถนอมรักษาอาหารเป็นการยืดอายุการเก็บอาหารสดให้นานขึ้นซึ่งได้มีการพัฒนาปรับปรุงวิธีการหรือเทคโนโลยีที่ก้าวหน้าไปมาก เช่น การใช้ความร้อน ความเย็น แต่การใช้สารเคมีนับว่าจำเป็นและนิยมใช้อยู่ เพราะมีอาหารหลายชนิดที่ใช้วิธีดังกล่าวไม่เหมาะสม บางครั้งอาจให้ผลดีในแง่การถนอมรักษา แต่คุณลักษณะในการบริโภคบางประการไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคจึงจำเป็นต้อง

ใช้สารเคมีบางชนิดเข้าร่วมกับวิธีการแบบอื่นๆ หรือใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว สิ่งสำคัญในการใช้สารเคมี คือ ความปลอดภัย ต้องใช้ในปริมาณที่ถูกต้องตามกฎหมายอนุญาต รวมถึงกรณีเป็นสินค้าส่งออกควรศึกษากฎระเบียบของประเทศที่จะส่งสินค้าไปจำหน่ายว่าอนุญาตให้ใช้หรือไม่ โดยทั่วไปวัตถุประสงค์ที่สำคัญในการใช้สารเคมีเป็นวัตถุเจือปนอาหารสำหรับการถนอมอาหาร (ชมภู่ ยิ้มโต, 2550) สามารถสรุปได้ดังนี้

(1) รักษาคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารจนถึงเวลาบริโภคได้ด้วยความปลอดภัย โดยอาหารไม่เกิดการเน่าเสีย ซึ่งจะทำให้อาหารยังคงมีคุณภาพเหมือนเดิม และไม่ก็ให้เกิดโทษต่อผู้บริโภคเมื่อนำไปบริโภค

(2) ช่วยในกระบวนการผลิตอาหาร ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์หลากหลาย เพิ่มขอบข่ายในการเลือกอาหารสำหรับบริโภค รวมทั้งขยายขอบข่ายการตลาด

(3) ทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณลักษณะที่ดีเฉพาะตัวเป็นที่ยอมรับและเชิญชวนให้น่าบริโภค

(4) อำนวยความสะดวกหลายประการ ด้านการปรุงแต่ง แบ่งบรรจุ การเก็บรักษา การซื้อขายและการขนส่งจนถึงการบริโภค

(5) รักษาคุณค่ารวมทั้งส่งเสริมคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์อาหารได้

(6) ส่งผลทางด้านเศรษฐกิจ เช่น การลดต้นทุนการผลิต ความแตกต่างของราคาขายผลิตภัณฑ์อาหารที่หลากหลาย

กลไกลของสารเคมีในการยืดอายุการเก็บอาหาร โดยทั่วไปสารเคมีสามารถช่วยทำให้อาหารเก็บรักษาไว้ได้นาน เนื่องจากมีกลไก ดังนี้

(1) การทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ การทำให้ผนังเซลล์ฉีกขาด ทำให้อาหารไม่สามารถแทรกซึมผ่านผนังเซลล์จุลินทรีย์ได้ เป็นสาเหตุให้จุลินทรีย์ขาดอาหารและตายได้

(2) การขัดขวางประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ทำให้จุลินทรีย์หยุดชะงักการเจริญหรือตายได้

(3) การทำปฏิกิริยากับสารที่มีความสำคัญต่อระบบพันธุกรรม เช่น DNA, RNA ทำให้กระบวนการแบ่งเซลล์จุลินทรีย์หยุดชะงักหรือผิดปกติ เป็นสาเหตุให้ลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารได้

(4) การยับยั้งและป้องกันการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารระหว่างการเก็บรักษา เช่น การเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศ ทำให้อาหารมีกลิ่นและสีไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เป็นต้น

(5) การป้องกันและยับยั้งการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของอาหารระหว่างการเก็บรักษา เช่น การสูญเสียความชื้นทำให้อาหารแห้ง หรือการดูดความชื้นจากบรรยากาศทำให้อาหารสูญเสียความกรอบ เหนียว เป็นต้น

สารเคมีที่ใส่ลงในอาหารโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อถนอมอาหารนั้น ถือเป็นวัตถุเจือปนอาหาร (Food Additive) โดยสารเคมีที่สำคัญและที่ใช้เป็นหลักในการถนอมอาหารมาตั้งแต่โบราณนั้น ได้แก่ เกลือ น้ำตาล และน้ำส้มสายชู ซึ่งมนุษย์ใช้เป็นส่วนประกอบอาหารเพื่อปรับปรุงรสชาติ ถ้าใช้ในปริมาณที่เหมาะสมก็จะช่วยชะลอการเน่าเสียและใช้ถนอมอาหารได้ จะช่วยยืดเวลา หรือป้องกันการเปลี่ยนแปลงที่จะเกิดขึ้นในอาหาร อันเป็นผลเนื่องมาจากจุลินทรีย์ เอนไซม์หรือปฏิกิริยาทางเคมี การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ โดยทั่วไปวัตถุเจือปนอาหารแบ่งได้เป็น 6 ชนิด คือ สารถนอมอาหาร (Preservatives) สารช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ (Nutritional additives) สารแต่งกลิ่นรส (Flavoring agents) สารแต่งสีอาหาร (Coloring agents) สารช่วยปรับเนื้อสัมผัสของอาหาร (Texturizing agents) และวัตถุเจือปนอาหารประเภทอื่นๆ (Miscellaneous additives) เมื่อแบ่งประเภทของสารเคมีหรือวัตถุเจือปนอาหารที่ใช้ในการถนอมอาหารตามการควบคุมการเปลี่ยนแปลงหรือการเสื่อมเสียของอาหารแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ

(1) วัตถุเจือปนที่ใช้ป้องกันการสูญเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ สารเคมีประเภทนี้ จะมีสมบัติในการป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในอาหาร จึงทำให้อาหารสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานโดยไม่เสื่อมเสีย

(2) วัตถุเจือปนอาหารที่ใช้ป้องกันการเสื่อมเสียเนื่องจากปฏิกิริยาเคมี สารประเภทนี้จะช่วยในการยับยั้ง หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ที่จะเกิดขึ้นในอาหาร และเป็นสาเหตุทำให้อาหารเกิดการเสื่อมเสียได้ ดังนั้นเมื่อใส่สารประเภทนี้ลงไป อาหารก็จะไม่เสื่อมเสียโดยปฏิกิริยาเคมี สามารถเก็บรักษาอาหารไว้ได้นานโดยไม่เสื่อมเสีย

(3) วัตถุเจือปนอาหารที่ใช้ป้องกันการเสื่อมเสีย เนื่องจากสาเหตุทางกายภาพ สารเคมีประเภทนี้เป็นสารที่ช่วยทำให้สมบัติทางกายภาพของอาหารไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงไปไม่มากนักในระหว่างการถนอมอาหาร และในบางครั้งยังช่วยส่งเสริมสมบัติทางกายภาพของอาหารให้ดีขึ้นด้วย ดังนั้นเมื่อใส่สารประเภทนี้ลงไปในอาหารก็จะทำให้อาหารไม่เกิดการเสื่อมเสียในสมบัติทางกายภาพ

โดยสมบัติที่ดีของสารเคมีที่ใช้ในการถนอมอาหาร มีดังนี้

(1) จะต้องไม่เป็นพิษภัยแก่ผู้บริโภค

(2) มีประสิทธิภาพในการรักษาถนอมอาหาร

(3) จะต้องไม่กลบเกลื่อนความไม่ดีของอาหารหรือก่อให้เกิดสี กลิ่น และรสที่ไม่พึงประสงค์

(4) จะต้องไม่หมดประสิทธิภาพ เมื่ออาหารหรือสารต่างๆ ในอาหารโดนความร้อน

(5) ควรมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ

(6) จะต้องไม่ทำให้เกิดจุลินทรีย์สายพันธุ์ใหม่ที่มีความต้านทานสูงขึ้น

2.5 การยืดอายุการเก็บอาหารด้วยการใช้กรด

ความเป็นกรด - ด่าง (pH) มีความสำคัญต่อกระบวนการถนอมอาหารและแปรรูปอาหารหลายชนิด การเติมกรดเพื่อช่วยปรับระดับความเป็นกรด - ด่างของอาหาร จะทำให้สามารถลดระดับความร้อนที่ต้องใช้ในการแปรรูปอาหาร เช่น อาหารกระป๋องที่ปรับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่ำกว่า 4.5 จะช่วยลดปริมาณความร้อนที่ต้องใช้เพื่อทำลายจุลินทรีย์ การงอกของสปอร์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียได้ กรดที่ใช้ในการถนอมอาหารมีทั้งกรดจากการสังเคราะห์ ซึ่งมีความบริสุทธิ์สูง และกรดอินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติ ซึ่งกรดอินทรีย์หลายชนิดที่นำมาใช้ในการถนอมอาหารมาเป็นเวลานานมาแล้ว เช่น การใช้น้ำมะนาว น้ำมะขาม น้ำส้มสายชู ซึ่งล้วนแต่มีกรดเป็นองค์ประกอบ แต่อาจมีกรดเป็นส่วนประกอบอยู่มากกว่า 1 ชนิด วัตถุประสงค์ของการใช้กรดและเกลือของกรด มีดังนี้

(1) ปรับปรุงหรือป้องกันการเปลี่ยนสี กลิ่น รสหรือทำให้เกิดสี กลิ่น รส คงตัว ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีรสสดใสซาบซ่า (Sharp & Tang) เช่น ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มอัดลม

(2) ป้องกันการตกผลึกของน้ำตาลในผลิตภัณฑ์อาหาร

(3) ช่วยเสริมฤทธิ์วัตถุกันหืน เช่น อาหารที่มีกรดแอสคอร์บิก หรือวิตามินซี ซึ่งนอกจากจะเป็นสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการแล้ว ยังมีสมบัติเสริมฤทธิ์วัตถุกันหืนของอาหารที่มีน้ำมันหรือน้ำมันด้วย

(4) ป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสียหรือเป็นพิษ

(5) ทำหน้าที่เป็นสารจับโลหะ (Sequestering agent) โดยทำปฏิกิริยากับโลหะที่ปนเปื้อนมากับอาหารตามธรรมชาติ เกิดสารประกอบเชิงซ้อนทำให้อาหารมีความคงตัว

(6) ควบคุมความเป็นกรด - ด่าง ในผลิตภัณฑ์อาหารให้เหมาะสม

(7) เพิ่มความเป็นกรด ทำให้อาหารมีความเป็นกรด - ด่าง ต่ำลง จะช่วยลดระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร โดยเฉพาะในกรณีที่จะต้องใช้อุณหภูมิต่ำในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหาร

(8) ช่วยยับยั้งการงอกของสปอร์ สภาวะที่มีกรดอยู่ในปริมาณสูงพอ สปอร์ที่ปนเปื้อนมาในอาหารจะไม่สามารถงอกได้

(9) ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล กรดจะช่วยยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่จะเกิดขึ้นทำให้การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลถูกยับยั้ง

(10) ช่วยปรับปรุงกลิ่นรสของอาหาร

(11) ช่วยเพิ่มสารอาหาร หรือช่วยทำให้สารอาหารมีความคงตัว

2.5.1 กรดซิตริก (ศิวาพร ศิวเวช, 2546)

กรดซิตริก (Citric acid) เป็นกรดอินทรีย์ที่ใช้มากในอุตสาหกรรมที่ช่วยเพิ่มรสเปรี้ยวให้กับอาหาร กรดซิตริกเป็นกรดอ่อนใช้ประโยชน์เพื่อการถนอมอาหารโดยมีบทบาทสำคัญ ในการเพิ่มรสชาติให้กับอาหารให้มีรสเปรี้ยว และมีกลิ่นหอมชวนรับประทาน ได้รับการยอมรับโดยทั่วไปว่ามีความปลอดภัยในการบริโภค สามารถเติมลงไปในอาหารโดยไม่เกิดอันตราย และสามารถย่อยสลายได้ง่ายและไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม เป็นวัตถุเจือปนอาหารที่ใช้อย่างกว้างขวางในอาหารและเครื่องดื่ม มีสูตรโมเลกุลคือ $C_6H_{10}O_8$

กรดซิตริกพบได้ตามธรรมชาติโดยทั่วไปในผักและผลไม้ที่มีรสรสเปรี้ยว โดยเฉพาะพืชตระกูลมะนาว สัปปะรด และส้ม ซึ่งมีสัดส่วนกรดซิตริกเป็นองค์ประกอบสูง กรดซิตริก สำหรับโครงการวิจัยนี้มีการใช้น้ำมะนาวด้วยซึ่งจัดเป็นแหล่งของกรดซิตริกตามธรรมชาติที่ใช้ในการถนอมอาหารได้น้ำมะนาวได้จากการคั้นผลมะนาวสด โดยมะนาวมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Citrus aurantifolia (Christm.) Swingle* เป็นไม้ผลชนิดหนึ่ง ผลมีรสเปรี้ยวจัด จัดอยู่ในสกุลส้ม (Citrus) โดยทั่วไปน้ำมะนาวมีกรดซิตริกเป็นส่วนประกอบร้อยละ 7 - 9 มะนาวดิบมีผลสีเขียว เมื่อสุกจัดจะเป็นสีเหลืองเปลือกบาง ภายในมีเนื้อแบ่งกลีบๆ ชุ่มน้ำมาก นับเป็นผลไม้ที่มีคุณค่า นิยมใช้เป็นเครื่องปรุงรส นอกจากนี้ยังถือว่ามีคุณค่าทางโภชนาการและทางการแพทย์

2.5.2 กรดอะซิติก (ศิวาพร ศิวเวชช, 2546)

กรดอะซิติก (Acetic acid) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่ากรดน้ำส้ม เป็นกรดอินทรีย์ประเภทกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) ที่มีอยู่ในน้ำส้มสายชู คือให้รสเปรี้ยวและกลิ่นฉุนกรดอะซิติกแข็งตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่า 16.7 องศาเซลเซียสมีลักษณะเป็นผลึกใส กรดชนิดนี้มีฤทธิ์กัดกร่อน ไอของกรดสามารถทำให้ตาและจมูกระคายเคือง แต่อย่างไรก็ตามกรดอะซิติกจัดเป็นกรดอ่อนหากละลายน้ำ ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร กรดอะซิติก นิยมใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหารเพื่อควบคุมความเป็นกรด มีสูตรโมเลกุลคือ CH_3COOH

นอกจากนี้ในน้ำส้มสายชูหมัก ซึ่งเป็นของเหลวที่ได้จากกระบวนการหมัก ก็มีองค์ประกอบหลักคือกรดอะซิติกเช่นกัน มีกลิ่นหอมปนกลิ่นเฉพาะของกรดอะซิติก น้ำส้มสายชูทั่วไปมีความเข้มข้นของกรดตั้งแต่ 4% ถึง 8% น้ำส้มสายชูหมักโดยธรรมชาติยังมีกรดชนิดอื่นๆ ในปริมาณเล็กน้อย เช่น Tartaric acid และ Citric acid น้ำส้มสายชูหมักโดยส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้มาจากการหมักธัญพืช ผลไม้ หรือแอลกอฮอล์ โดยจุลินทรีย์ตามธรรมชาติหรือโดยการเติมจุลินทรีย์ที่เหมาะสมลงไปทำการหมัก จากนั้นจุลินทรีย์จะไปเปลี่ยนน้ำตาลในธัญพืชหรือผลไม้ให้เป็นแอลกอฮอล์แล้วจึงเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติกซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ มีคุณสมบัติที่ให้รสเปรี้ยว และเป็นกรดที่เหมาะสมในการรักษาคุณภาพอาหารยิ่งกว่ากรดชนิดอื่นๆ เพราะไม่มีพิษต่อร่างกาย โดยมีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่าร้อยละ 4 น้ำส้มสายชูที่ได้จะมีสีเหลืองอ่อนไปจนถึงสีน้ำตาล มีกลิ่นหอมปนกลิ่นเฉพาะของกรดน้ำส้ม ซึ่งน้ำส้มชนิดนี้ไม่ค่อยมีจำหน่ายในท้องตลาดเนื่องจากกรรมวิธีในการผลิตไม่สะดวกและเก็บไว้ได้ไม่นานสำหรับในงานวิจัยนี้มีการใช้น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด

2.6 การยืดอายุการเก็บอาหารด้วยการใช้เกลือ (วิชุดา สังข์แก้ว, 2554)

เกลือที่ใช้ในการยืดอายุการเก็บอาหารโดยการถนอมอาหารมักใช้อยู่ในรูปเกลือแกงหรือเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) โดยเฉพาะในการแปรรูปเนื้อสัตว์ เดิมมนุษย์ใช้เกลือเพื่อเป็นตัวป้องกันการเน่าเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ของเนื้อสัตว์เมื่อหมักในสภาพห้องธรรมดา ดังนั้น การใช้เกลือในการหมักเนื้อจึงใช้ที่ความเข้มข้นสูง ในปัจจุบันความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีต่างๆ เข้ามามีบทบาทต่อการถนอมรักษาเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ ทำให้สามารถเก็บรักษาไว้ได้ที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นปริมาณการใช้เพื่อให้รสชาติดีขึ้น การใช้เกลือในการถนอมอาหารควรใช้เกลือที่สะอาดและผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว ในกรณีการแปรรูปเพื่อศึกษาหากมีโลหะหนัก เช่น ทองแดง ปนอยู่ในเกลือที่ใช้หมักเนื้อจะมีผลเร่งปฏิกิริยาการหืนของไขมัน นอกจากนี้เกลือที่เติมไอโอดีนไม่เหมาะที่จะใช้ในการหมักเนื้อซึ่งใช้ร่วมกับไนเตรท เนื่องจากไอโอดีนจะเป็นตัวยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ช่วยเร่งการเปลี่ยนสารไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ได้ เป็นผลให้มีสารไนเตรทตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์มาก ในการแปรรูปเนื้อสัตว์หรือถนอมเนื้อสัตว์ การยืดอายุการเก็บอาหารโดยการใช้เกลือสามารถทำได้โดยการแช่อาหารในน้ำเกลือหรือการเติมเกลือลงในอาหารโดยตรง โดยบทบาทของเกลือที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ดังนี้

(1) มีผลต่อการลดน้ำในผลิตภัณฑ์และทำให้แรงดันออสโมติก (Osmotic pressure) ของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป ค่า water activity ลดลง จึงมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และป้องกันการเน่าเสีย

(2) เพิ่มรสเค็ม และกลิ่นรสให้กับผลิตภัณฑ์

(3) สกัดโปรตีนที่ละลายได้ในเกลือ

(4) มีประสิทธิภาพร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ *Clostridium botulinum*

(5) ที่ความเข้มข้นสูงจะทำหน้าที่เป็นสารกันเสียโดยจะทำให้บริเวณผิวหน้าของอาหารแห้ง

2.7 อาหารกึ่งแห้ง

อาหารโดยทั่วไปประกอบด้วยความชื้นประมาณร้อยละ 20-50 โดยน้ำหนัก และมีค่า a_w อยู่ระหว่าง 0.95-1.0 เช่น เนื้อสด ปลาสด กุ้ง ปู ผักและผลไม้ เป็นต้น อาหารดังกล่าวมีปริมาณน้ำที่สูง และมีตัวทำละลายไม่เพียงพอต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ถ้าหากตัวถูกละลายเพิ่มขึ้นถึงจุดที่ทำให้ค่า a_w อยู่ในระดับที่จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ก็จะทำให้อาหารสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น ทำให้การเสื่อมเสียลดลง นอกจากนี้อาหารกึ่งแห้ง (Intermediate moisture food) ยังสามารถบริโภคได้โดยไม่ต้องนำไปคืนตัว (ชมพู่ ยิ้มโต, 2550; ไพโรจน์ วิริยจารี, 2539) สำหรับประเภทของอาหารกึ่งแห้ง มีดังนี้

(1) อาหารกึ่งแห้งแบบดั้งเดิม (Traditional types of intermediate moisture foods) เป็นอาหารแปรรูปที่มีการผลิตมานานแล้ว โดยการนำอาหารมาทำแห้งด้วยการผึ่งแดดให้ความชื้นลดลง ทำให้สามารถเก็บรักษาอาหารไว้ได้นานขึ้น ต่อมาได้มีการนำตัวถูกละลายมาใช้เพื่อลดปริมาณ

น้ำลง ตัวถูกละลายที่มักใช้กันก็คือ เกลือ และน้ำตาล เมื่อทำให้อาหารมีปริมาณน้ำลดลง เชื้อจุลินทรีย์ก็ไม่สามารถจะใช้น้ำได้ ทำให้การเก็บรักษาอาหารยาวนานขึ้น

(2) อาหารกึ่งแห้งแบบที่มีการพัฒนาใหม่ (Modern types of intermediate moisture foods) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ต่อมาได้มีการพัฒนาอาหารกึ่งแห้งให้ได้อาหารที่มีกลิ่น รสชาติ และลักษณะเนื้อสัมผัสที่แปลกใหม่ โดยอาศัยหลักการดังต่อไปนี้คือ

-การลดปริมาณความชื้นให้ต่ำ หรือลดปริมาณน้ำที่เป็นประโยชน์ให้ต่ำลง โดยการใช้สารดูดความชื้นช่วย

-การเติมสารยับยั้งเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียที่มีต่ออาหาร

-การเติมสารเคมีบางประเภทลงไปเพื่อปรับปรุงความคงทน และคุณสมบัติทางด้านกลิ่นรสชาติของอาหาร

เพื่อเป็นแนวทางในการวิจัยและพัฒนารูปแบบของเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารกึ่งแห้งนั้น มีปัจจัยต่างๆ ที่ต้องนำมาประกอบการพิจารณาดังนี้

-การพยายามลดค่า a_w โดยการเติมสารที่เป็นตัวถูกละลาย

-พยายามพัฒนาสูตรการผลิต โดยการหาสารดูดความชื้นชนิดใหม่ๆ และเหมาะสมมาทำการผลิตอาหารกึ่งแห้ง โดยต้องคำนึงถึงตำหนิในเรื่อง กลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์รวมทั้งต้องมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคด้วย

-การนำสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ให้เหมาะสมและต้องคำนึงถึงความปลอดภัยต่อผู้บริโภครวมถึงคำนึงถึงประสิทธิภาพของการใช้สารดังกล่าวในผลิตภัณฑ์ทำการพัฒนาด้วย

-การพัฒนากระบวนการผลิตอาหารกึ่งแห้ง วิธีการหนึ่งที่ประสบผลสำเร็จคือการใช้สารดูดความชื้นซึมผ่านเข้าไปในโครงสร้างของอาหาร

-ความคงทนในการเก็บรักษาอาหารกึ่งแห้ง

จากการตรวจเอกสารพบว่ามีผู้ให้คำอธิบายถึงค่าความชื้นและค่า a_w ของอาหารกึ่งแห้งไว้ดังนี้ อาหารกึ่งแห้งเป็นอาหารที่ผ่านกระบวนการลดความชื้นเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.6 - 0.9 (ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, 2528; Leistner et al., 1981) แต่ในทางการค้าอาหารกึ่งแห้งมักจะควบคุมให้มีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.7 - 0.85 (Brockmann, 1969) ส่วนปริมาณความชื้นในอาหารกึ่งแห้งนั้นได้มีรายงานปริมาณความชื้นที่เหมาะสมแตกต่างกันไปกล่าวคือ 15 – 30% (Desrosier, 1970) 15 – 40% (Smith and Norvell, 1975) 20 – 40% (Leibetseder, 1980) 15 – 50% (Edney, 1982) และ 25 – 35% (Sylvester, 1984) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด

ไพโรจน์ วิริยจารี (2539) กล่าวว่า อาหารกึ่งแห้งเป็นอาหารที่มีค่า a_w อยู่ในระดับปานกลาง คือช่วง 0.65-0.85 มีความชื้นประมาณร้อยละ 15-30 ซึ่งเป็นระดับที่เชื้อจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ แต่อาจจะมีปัญหาเกี่ยวกับเชื้อรา และยีสต์ที่อาจจะเจริญเติบโตได้ สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีส่วนใหญ่ที่อาจจะเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ในระหว่างการเก็บรักษาคือ การเกิดออกซิเดชั่นของน้ำมันและไขมัน รวมถึงการเกิดสีน้ำตาลเนื่องมาจากปฏิกิริยาที่ไม่ใช่เอนไซม์ ดังนั้นวัตถุประสงค์หลักในการผลิตอาหารกึ่งแห้ง ก็เพื่อต้องการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้ยาวนานมากที่สุดเท่าที่สามารถกระทำได้ โดยเน้นในด้านการคงทนต่อเชื้อจุลินทรีย์ การ

คงทนต่อการเปลี่ยนแปลงทางด้านสี การเกิดออกซิเดชั่นของน้ำมันและไขมัน และการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ

2.8 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและจุลินทรีย์ของอาหารกึ่งแห้ง

อาหารประเภทกึ่งแห้ง มีความชื้นต่ำแม้ว่าจะเป็นการลดความเสื่อมเสียอันเนื่องมาจากเชื้อจุลินทรีย์แต่ก็จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงบางอย่างในอาหาร โดยการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและจุลินทรีย์ของอาหารกึ่งแห้งนั้นมีความสัมพันธ์กับค่า a_w ในอาหาร โดยค่า a_w ที่ระดับต่างๆ จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงและการเสื่อมเสีย (Labuza, 1970) รายละเอียดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและจุลินทรีย์มีดังนี้

(1) การเปลี่ยนแปลงของอาหารกึ่งแห้งเนื่องมาจากการเกิดออกซิเดชั่นของน้ำมันและไขมัน

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของน้ำมันและไขมันมักเกิดโดยทฤษฎี Free radical mechanism ปฏิกิริยาดังกล่าวเกิดได้ช้าถ้าหากปริมาณน้ำลดลง น้ำสามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นโดยการเป็นตัวเพิ่มการเคลื่อนตัวของ Reactants และนำพา Catalyst อีกทั้งน้ำยังเป็นตัวที่ทำให้เกิดการพองบวมของเซลล์ของของแข็งในอาหารทำให้มีพื้นที่ผิวที่ Catalyst จะสัมผัสได้มากขึ้น ก็ก่อให้เกิดการออกซิเดชั่นในที่สุด โดยทั่วไปจะเกิดการออกซิเดชั่นเพิ่ม เมื่อค่าน้ำที่เป็นประโยชน์เพิ่มขึ้น

(2) การเปลี่ยนแปลงของอาหารกึ่งแห้งเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลโดยไม่ใช้เอนไซม์

การเปลี่ยนแปลงแบบนี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของกลุ่มพวก Aldehydic หรือ Ketonic material กับพวก Amino compounds ซึ่งก่อให้เกิดสารประกอบที่มีโมเลกุลใหญ่ที่ให้สีได้ การเกิดสีน้ำตาลของอาหารกึ่งแห้งภายหลังจากการเก็บรักษาไว้นานๆ เกิดเนื่องมาจากปฏิกิริยาของ Reducing sugar ที่มีในอาหารทำปฏิกิริยากับ Amino acids ให้สารสีน้ำตาลอ่อนจนเป็นสีดำในที่สุด ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นไหม้ของน้ำตาลและรสชาติไม่เป็นที่ยอมรับ ทำให้โปรตีนสูญเสียความสามารถในการละลายซึ่งมีผลต่อลักษณะการคืนตัวของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังทำให้สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์อีกด้วย

การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลนี้ขึ้นกับปัจจัยต่างๆ คือ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และค่า a_w หากอุณหภูมิสูงขึ้นอัตราการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น 10 องศาเซลเซียส อัตราการเปลี่ยนแปลงจะเพิ่มขึ้นจากเดิม 3-4 เท่า ทั้งนี้ขึ้นกับค่า a_w ถ้าหากค่า a_w เพิ่มขึ้นจะทำให้อุณหภูมิลดลง และส่งผลต่อการเกิดสีน้ำตาลน้อยลง สำหรับความเป็นกรด-ด่างนั้นหากเพิ่มขึ้นจะทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นด้วย ปฏิกิริยาจะช้าลงหากมีความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่า 5-6 ปฏิกิริยานี้อาจเป็นประโยชน์ต่อผลิตภัณฑ์บางชนิดคือ ทำให้เกิดกลิ่น รสชาติ และสีของผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการ เช่น ชา กาแฟคั่ว ทอฟฟี่

การป้องกันปฏิกิริยานี้ยุ่งยากกว่าการป้องกันปฏิกิริยาการหืนในน้ำมันและไขมัน การป้องกันและควบคุมการเกิดสีน้ำตาลนี้มักกระทำร่วมกับการใช้สารซัลไฟต์เพื่อยับยั้งกาเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ หรืออาจใช้อุณหภูมิต่ำในการผลิตและเก็บรักษา เพราะอุณหภูมิต่ำจะลดการรวมตัวของ Reducing sugar กับ Amino acid นอกจากนี้ควรหาทางลดความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนน้ำตาลเป็นสารอื่นๆ หรือลดปริมาณน้ำตาลที่มีในผลิตภัณฑ์ รวมทั้งการปรับระดับความชื้นของผลิตภัณฑ์

(3) การเปลี่ยนแปลงของอาหารกึ่งแห้งเนื่องมาจากแบคทีเรีย

การเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยปกติจะไม่มีปัญหากับอาหารกึ่งแห้งเพราะมีแบคทีเรียเพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถเจริญได้ที่ค่าน้ำอิสระต่ำกว่า 0.90 เช่น *Staphylococcus aureus* ซึ่งสามารถเจริญได้ที่ค่า a_w 0.86 นอกจากนี้อาจมีแบคทีเรียบางชนิดทนเกลือ ซึ่งสามารถเจริญได้ที่ค่า a_w 0.75 ฉะนั้นวิธีการควบคุมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ดีที่สุดก็คือ การปรับค่า a_w ให้ต่ำกว่าค่าที่เชื้อแบคทีเรียสามรถเจริญได้ หรือให้ความร้อนเพียงพอที่สามารถทำลายเชื้อดังกล่าว หรือการใช้การบรรจุร่วมกับการใช้ความร้อน

(4) การเปลี่ยนแปลงของอาหารกึ่งแห้งเนื่องมาจากเชื้อยีสต์

การเจริญของเชื้อยีสต์ มีลักษณะคล้ายกับการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ทั้งนี้เพราะว่าการเจริญของยีสต์จะชะงักที่ค่า a_w ประมาณ 0.88 แต่บางครั้งก็พบยีสต์ที่สามารถเจริญได้ที่ค่า a_w ต่ำถึง 0.60 การควบคุมการเจริญของยีสต์ จึงทำเช่นเดียวกับการควบคุมการเจริญของเชื้อแบคทีเรียนอก จากนี้ยังอาจมีการเติมสารเคมีบางชนิดก็ได้

(5) การเปลี่ยนแปลงของอาหารกึ่งแห้งเนื่องมาจากเชื้อรา

การเสื่อมเสียของอาหารกึ่งแห้งส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อรา ทั้งนี้เพราะว่าเชื้อราหลายชนิดสามารถเจริญได้ดีในช่วงค่า a_w 0.80-0.84 (ชมพู่ ยิ้มโต, 2550) โดยเฉพาะพวกเชื้อราที่สามารถเจริญที่ความชื้นต่ำซึ่งสามารถเจริญได้ที่ค่า a_w 0.65 สำหรับวิธีการควบคุมนั้นมักจะเติมสารกันชื้นในอาหารหรือในภาชนะบรรจุ รวมทั้งการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในการเก็บรักษา

2.9 สารควบคุมความชื้น

สารควบคุมความชื้นหรือสารดูดความชื้น (Humectant) คือ สารที่ทำหน้าที่ดูดความชื้นในอาหารใช้ในผลิตภัณฑ์ที่ต้องการรักษาปริมาณความชื้นไว้ในระดับที่ต้องการ (ธัญวรัตม์ พิมุขมนัสกิจ, บุศรินทร์ แพทย์วิบูลย์ และประไพพรรณ พูลสมบัติ, 2546) สารดูดความชื้นได้ถูกนำมาใช้ในการพัฒนาการผลิตอาหารกึ่งแห้ง เพื่อให้มีปริมาณน้ำที่เป็นประโยชน์ให้เหมาะสมและเป็นที่ยอมรับ โดยเกลือหรือน้ำตาลเป็นตัวอย่างที่สำคัญในการนำมาใช้เพื่อผลิตอาหารกึ่งแห้งเพื่อช่วยลดปริมาณน้ำในอาหารให้เหมาะสม และมีลักษณะของอาหารเป็นแบบอาหารกึ่งแห้งคือ มีความอ่อนนุ่ม ไม่แข็งกระด้างมากนัก หรือแห้งจนเกินไป อีกทั้งยังเป็นตัวช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้อีกด้วย (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2539) สารดูดความชื้นที่นิยมใช้กันทั่วไป ได้แก่ น้ำตาล กลูโคสไซรัป กลีเซอรอล ซอร์บิทอล โพพีลีน ไกลคอล เป็นต้น (ศิวาพร ศิวเวชช, 2535) โดยในงานวิจัยนี้เลือกใช้สารดูดความชื้น 2 ชนิดได้แก่ เกลือ และกลีเซอรอล

(1) เกลือ

เกลือสามารถลดความชื้นของอาหารทำให้สมบัติของน้ำในอาหารเปลี่ยนไป จุลินทรีย์ใช้น้ำในการเจริญเติบโตยากขึ้นและยังช่วยเพิ่มความดันออสโมซิส ทำให้เซลล์ของจุลินทรีย์เกิด พลาสโมไลซิส และหยุดการเจริญเติบโต นอกจากนี้เกลือยังช่วยลดการแทรกซึมของออกซิเจน ทำให้จุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนเจริญได้ยาก และทำลายเอนไซม์บางชนิดทำให้โปรตีนภายในเซลล์จุลินทรีย์สลายตัว จึงไม่สามารถเจริญเติบโตได้ (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2539)

จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ พบว่า เกลือที่ความเข้มข้นต่ำจะมีผลทางกระตุ้นจุลินทรีย์ในขณะที่ความเข้มข้นสูง เกลือจะยั้บยั้งจุลินทรีย์ ช่วงความเข้มข้นดังกล่าวจะแตกต่างกันสำหรับ

จุลินทรีย์แต่ละชนิด เช่นเชื้อ *Pseudomonas sp*. ไม่สามารเจริญได้ที่น้ำเกลือเข้มข้นน้อยกว่าร้อยละ 5 ในขณะที่ *Micrococcus sp.* จะยังสามารถเจริญได้ (ไพบูลย์ ธรรมวัตน์วาสิก, 2532 อ้างอิงจาก Ingram and Kitchell, 1967) เกลือเป็นสารทำลายแบคทีเรีย และยังแนะนำให้ใช้อัตราส่วนของเกลือต่อความชื้น หรือความเข้มข้นของน้ำเกลือในผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นเครื่องวัดการยั้บยั้งการเจริญของจุลิทรีย์ของเกลือที่ดีที่สุด (ไพบูลย์ ธรรมวัตน์วาสิก, 2532 อ้างอิงจาก Jensen, 1954) เกลือเป็นสารพื้นฐานในส่วนผสมที่ใช้หมักเนื้อ เกลือจะไปทำให้เกิดการดึงน้ำออก ทำให้ความดันออสโมซิสเปลี่ยน ซึ่งสามารถยั้บยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และจำกัดจำนวนแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียด้วย (ไพบูลย์ ธรรมวัตน์วาสิก, 2532 อ้างอิงจาก Kramlich et al, 1973)

การใชเกลือในการผลิตผลิตภัณฑ์ด้วยการหมักแบบเกลือนั้นความบริสุทธิ์ของเกลือมีผลต่อการทำผลิตภัณฑ์ หากเกลือมีความบริสุทธิ์ต่ำ จะเกิดผลกับผลิตภัณฑ์ ดังนี้ การซึมซาบของเกลือเข้าไปในเนื้อปลาช้า ทำให้เกิดการเน่าเสียของปลา ทำให้เกิดกระบวนการเติมก๊าซออกซิเจนในไขมันเนื่องจากมีโลหะหนักปนอยู่ด้วยและทำให้ลักษณะของเนื้อปลา กลิ่นรสของปลาเค็มเสียไป (ประเสริฐ สายสินธิ์, 2541)

การซึมซาบของเกลือเข้าไปในเนื้อปลาจะเกิดขึ้นทันที เมื่อเนื้อปลาสัมผัสกับเกลือในขณะเดียวกัน น้ำในเนื้อปลาจะซึมซาบออกมารอบๆชิ้นปลา ทำให้บริเวณรอบชิ้นปลามีความเข้มข้นน้อยกว่าน้ำเกลือ โดยการทำปฏิกิริยาของเกลือแบ่งได้เป็น 3 ระยะดังนี้

ระยะที่หนึ่ง ความดันออสโมซิสของเกลือสูงกว่าในเนื้อปลามาก ทำให้เกลือซึมซาบเข้าไปในเนื้อปลาอย่างรวดเร็ว ขณะเดียวกันทำให้น้ำไหลออกจากเนื้อปลาด้วยความเร็วที่สูงกว่าปรากฏการณ์แลกเปลี่ยนอันนี้ ทำให้ปลาที่ปริมาณเกลือเพิ่มมากขึ้นและมีน้ำน้อยลง ผลลัพธ์คือน้ำหนักของปลาจะลดน้อยลงไป ในระยะนี้ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีเกิดขึ้นมากนัก และส่วนของเนื้อปลาที่อยู่ข้างในเกลือก็ยังซึมซาบเข้าไปไม่ถึงเต็มที่

ระยะที่สอง เป็นระยะที่อัตราการซึมซาบของน้ำเกลือจะมีค่าเท่าๆ กับอัตราที่น้ำไหลออกจากชิ้นปลา ดังนั้นระยะนี้จึงไม่มีการสูญเสียน้ำหนักของปลา ความเข้มข้นของเนื้อปลาในชั้นนอก จะมีค่าเท่ากับความเข้มข้นของน้ำเกลือ ดังนั้นการแลกเปลี่ยนเกลือกับน้ำจะไม่เกิดขึ้น แต่จะมีการถ่ายเทปริมาณของเกลือจากชั้นนอกเข้าไปสู่ชั้นในของเนื้อปลาต่อเมื่อปริมาณของเกลือในชั้นนอกของเนื้อปลาลดลง จึงจะเกิดการซึมซาบของเกลือเข้าไปในเนื้อปลาอีก

ระยะที่สาม เป็นระยะที่ปลากลับมีน้ำหนักเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากปริมาณของเกลือที่เข้าไปในเนื้อปลาจนทำให้ทุกส่วนในชิ้นปลามีปริมาณของเกลือเท่ากัน และเท่ากับปริมาณของเกลือในน้ำเกลือ ปลาจะหดตัวทำให้มีลักษณะทึบและมีความเค็มจัด (ประเสริฐ สายสินธิ์, 2541 อ้างอิงจาก Voskersensky, 1965)

(2) กลีเซอรอล

กลีเซอรอลเป็นสารประกอบที่มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น มีความหวานประมาณ 0.6-0.7 เท่าของน้ำตาลซูโครส จัดเป็นสารจำพวกน้ำตาลแอลกอฮอล์หรือโพลิออล ซึ่งอนุพันธ์ของแซคคาไรด์ซึ่งหมู่ของคีโตนหรืออัลดีไฮด์ถูกแทนที่โดยหมู่ไฮดรอกซิล มีคุณสมบัติทนต่อความร้อนและสารเคมีได้ดีจึงไม่สลายตัวได้ง่าย ดูดซับและเก็บความชื้นได้ดี ละลายน้ำได้ดี มีรสหวานน้อยกว่าน้ำตาล โพลิออลเป็นวัตถุเจือปนอาหารที่ได้รับความนิยมใช้ในอาหารเป็นอย่างมาก

เนื่องจากมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีคุณภาพดีขึ้น คุณสมบัติที่สำคัญของกลีเซอรอลนั้น ได้แก่ ความสามารถในการดูดความชื้นความสามารถในการป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ โดยการลดค่า a_w ของผลิตภัณฑ์อาหาร การให้ความหนืด ความสามารถในการเป็นตัวทำละลายที่ดี นอกจากนี้กลีเซอรอลจัดเป็นสารที่ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ดังนั้นจึงนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาอย่างแพร่หลาย เช่น การใช้กลีเซอรอล ในผลิตภัณฑ์ขนมอบเพื่อช่วยในการกักเก็บความชื้นมีผลให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัสนุ่มและชุ่มชื้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (ศิวาพร ศิวเวชช, 2529)

(3) ซอร์บิทอล

ซอร์บิทอล เป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) ที่มีสมบัติเป็นสารให้ความหวาน (sweetener) ใช้เป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาลได้ และสามารถทำหน้าที่เป็นสารคงความชื้นให้กับผลิตภัณฑ์ได้ด้วย ซอร์บิทอลมีชื่อเรียกเป็นอย่างอื่นคือ Glucitol , D-glucitol, D-Sorbitol, Sorbite หรือ Hydrogenated Starch Hydrolysate (HSH) วัตถุดิบที่ใช้เพื่อการผลิตซอร์บิทอล คือ ผลิตผลทางการเกษตรที่มีสตร์ช (Starch) เป็นส่วนประกอบ เช่น พืชหัว ได้แก่ มันสำปะหลัง มันฝรั่ง และเมล็ดธัญพืช ได้แก่ ข้าวโพด ข้าว ข้าวสาลี โดยกระบวนการผลิตซอร์บิทอลเริ่มต้นจากการย่อยโมเลกุลของสตาร์ช ให้เป็นโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคส เรียกว่า starch hydrolysis ได้สารตั้งต้น คือ น้ำเชื่อม กลูโคส glucose syrup แล้วจึงทำปฏิกริยาไฮโดรเจเนชั่น (hydrogenation) ด้วยการเติมไฮโดรเจน ให้กับโมเลกุลของน้ำตาล กลูโคส (glucose) มีนิเกิล เป็นคะตะลิส (catalyste) คุณสมบัติเด่น ของซอร์บิทอลคือ มีรสชาติหวาน และเมื่อละลายจะให้ความรู้สึก เย็น ซ่า (cooling effect) เนื่องจากระหว่างพลังงานจะดูดพลังงานความร้อนเพื่อใช้เป็นความร้อนแฝงของการละลาย ให้พลังงาน 2.6 แคลอรี่ต่อกรัม (เทียบกับน้ำตาลทรายซึ่งให้ 4 แคลอรี่ต่อกรัม) ร่างกายจะย่อยและดูดซึมช้ากว่าน้ำตาล จึงไม่ทำให้ระดับน้ำตาลในลือดสูง เป็นยาระบายอ่อนๆ (laxative effet) เนื่องจากดูดซึมได้ช้า และตกค้างมาเป็นอาหารของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ ทนต่อกรดและความร้อน ได้ดีดีกว่าน้ำตาลทราย และเกิดปฏิกริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (non enzymatic browning reaction) ได้ยากกว่า เป็นสารที่แบคทีเรีย ไม่สามารถย่อยสลายให้เกิดสภาวะกรดในช่องปากได้ จึงไม่ทำให้ฟันผุ

สำหรับการใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมักใช้เป็นสารแทนน้ำตาล (sugar substitute)ในผลิตภัณฑ์ อาหารสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก (diet food) อาหารให้พลังงานต่ำ (low-calorie) หรือไม่มีน้ำตาล(sugar-free) และใช้ในอาหารสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน ในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ เช่น เบเกอรี่ (bakery) แยม (jam) หมากฝรั่ง ลูกกวาด ลูกอม และผสมเครื่องดื่ม (beverage) รักษาความชื้น (humectant) ในผลิตภัณฑ์ ป้องกันการตกผลึกของน้ำตาล ในการผลิตช็อกโกแลต ลูกกวาด ลูกอม ป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็ง(cryoprotectant) โดยไปทำให้จุดเยือกแข็ง (freezing point) ของอาหารลดลง น้ำในอาหารอยู่ในรูปของเหลวที่อุณหภูมิต่ำมาก จึงไม่เกิดผลึกน้ำแข็งที่ไปทำลายเซลเนื้อเยื่อ ใช้ใน อาหารแช่แข็งเช่น ซูริมิ (surimi) ไอศกรีม (ice cream)

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการรวบรวมเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการยืดอายุการเก็บอาหารประเภทเนื้อสัตว์และอาหารทะเล ด้วยเทคนิค Sous Vide มีรายละเอียดดังนี้

Cosansu et al. (2013) ได้ศึกษาผลของน้ำมะนาว กรดซิตริก ที่มีคุณภาพต่อปลาไวทิงที่บรรจุด้วยวิธี sous vide แบ่งปลาไวทิงออกเป็น 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.2% โดยกลุ่มที่ 1 คือ การบรรจุปลาไวทิงในสภาวะสุญญากาศผ่านการพาสเจอร์ไรส์ และเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 °C (SV) และกลุ่มที่ 2 คือปลาไวทิงที่แช่ในน้ำเลมอน 30 นาที บรรจุในสภาวะสุญญากาศ ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ และเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 °C (LSV) อายุการเก็บของตัวอย่าง SV จะพิจารณาตั้งแต่วันที่ 35 โดยนับจำนวนแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (6.79 ± 0.07 logcfu/g) และจำนวนแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนที่ชอบอุณหภูมิต่ำ (7.28 ± 0.04 log cfu/g) และค่า TBARS (9.04 ± 0.03 mg MDA/kg) ซึ่งเกินกว่าที่จำกัด และไม่ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส (3.9 ± 0.2) ส่วนตัวอย่าง LSV ไม่ได้รับการยอมรับที่การเก็บตั้งแต่วันที่ 56 (2.9 ± 1.3) อย่างไรก็ตามคะแนนจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสยังได้คะแนนดีกว่าตัวอย่าง SV แต่ที่อายุการเก็บวันที่ 42 ค่า TVB–N (32.46 ± 8.69 mg/100 g) และ ค่า TMA-N (14.24 ±4.17 mg/100 g) ของตัวอย่าง LSV เกินกว่าที่กำหนดแต่จำนวนแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (6.23 ± 0.10 log cfu/g) และจำนวนแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนที่ชอบอุณหภูมิต่ำ (6.01 ± 0.11 log cfu/g) ยังเป็นที่ยอมรับได้ จนกระทั่งถึงอายุการเก็บวันที่ 56 และ 63 ตามลำดับปลาไวทิงที่บรรจุด้วยวิธี sous vide ร่วมกับน้ำเลมอนนั้น มีผลทำให้แบคทีเรียลดลง ช่วยขยายอายุการเก็บให้เพิ่มขึ้นอีกอย่างน้อย 7 วัน และมีความเป็นที่พอใจมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปลาไวทิงที่บรรจุด้วยวิธี sous vide เพียงอย่างเดียว

Vaudagna et al. (2008) ได้ศึกษาผลของการใช้สารละลายน้ำเกลือฉีดเข้าเนื้อโคทั้งก้อน น้ำเกลือประกอบด้วยโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.10, 0.25, 0.40 และ 0.50 โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.20, 0.70, 1.20, และ 1.40 ร่วมกับการแปรรูปด้วยวิธี sous vide โดยใช้อุณหภูมิ 5 ระดับคือ 55, 58, 65, 72 และ 75 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่าชุดการทดลองที่ใช้โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.25 ร่วมกับการใช้โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.20 และใช้อุณหภูมิการแปรรูปด้วยวิธี sous vide ระหว่าง 60-65 องศาเซลเซียส ช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักหลังการให้ความร้อนได้ดีที่สุด

Szerman et al. (2008) ได้ศึกษาผลการใช้อุณหภูมิ 3 ระดับในการแปรรูปด้วยเทคนิค sous vide คือใช้ความร้อนร่วมกับการบรรจุในสภาวะสุญญากาศ โดยใช้อุณหภูมิและระยะเวลาแตกต่างกันดังนี้ อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 9 นาที อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 2 นาที และ อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 26 วินาที ร่วมกับการใช้โปรตีนเวย์ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0-3.5 ของน้ำหนักเนื้อ และโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0-0.25 ของน้ำหนักเนื้อโดยฉีดสารละลายเข้ากล้ามเนื้อร่วมกับการนวดเนื้อก่อนและหลังฉีด พบว่าที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 ร่วมกับโปรตีนเวย์ร้อยละ 3.5 และใช้สภาวะ sous vide เท่ากับ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส มีการสูญเสียน้ำหนักหลังการให้ความร้อนร้อยละ 8.9 12 และ 21 ตามลำดับ โดยเนื้อโคที่มีการใช้อุณหภูมิในการ sous vide 70 องศาเซลเซียส ร่วมกับการใช้โปรตีน

เวย์ร้อยละ 2.6 และโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.9 เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดให้คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านความชุ่มน้ำและความนุ่มของเนื้อมากกว่าตัวอย่างอื่น

Pedro et al. (2008) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษาเนื้อสุกรส่วนสันนอกที่ผ่านการแปรรูปด้วยวิธี sous vide เตรียมตัวอย่างโดยตัดเนื้อสุกรส่วนสันนอกเป็นชิ้นขนาด 10x10x5 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 500 กรัม เติมเกลือร้อยละ 0.5 ของน้ำหนักเนื้อทาด้วยน้ำมันมะกอกนำไปอบที่อุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที บรรจุชิ้นเนื้อสุกรในถุงเพาช์ (Pouch) ชนิดโพลีเอไมด์/โพลีโพรพิลีน ภายใต้สภาวะสุญญากาศนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้เย็นทันที นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส และประเมินการเน่าเสียโดยคุณภาพทางจุลินทรีย์ที่ระยะเวลา 0, 5 และ 10 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเก็บรักษาเนื้อสุกรเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียได้แก่ Psychrotrophs Anaerobic psychrotrophs และ Enterobacteriaceae พบในปริมาณน้อยมาก (1 cfu/g) หรือไม่พบ

Fandos et al. (2005) ได้ศึกษาอายุการเก็บรักษาโดยประเมินคุณภาพความปลอดภัยทางด้านจุลินทรีย์ และคุณภาพทางประสาทสัมผัสของปลาแซลมอน ที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยเทคนิค sous vide เตรียมตัวอย่างโดยแล่ปลาแซลมอนเป็นชิ้นขนาด 100 กรัม เติมน้ำมันมะกอก 15 กรัม และเกลือ 0.2 กรัม บรรจุในถุงเพาช์ (Pouch) ชนิดโพลีเอทธิลีน/โพลีเอไมด์ ปิดผนึกด้วยความร้อนภายใต้สภาวะสุญญากาศ ให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างกัน คือ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที, อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที และ อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 และ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 45 วัน ผลการศึกษาพบว่า ทุกชุดการทดลองไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Clostridium perfringen และ Listeria monocytogenes* โดยชุดการทดลองที่ใช้อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ให้ผลการทดลองทางด้านจุลินทรีย์ที่ดีที่สุด เนื่องจากพบอัตราการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม Mesophile และ Psychrotrophs ต่ำกว่าชุดการทดลองอื่น นอกจากนี้เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส ไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์ทั้งที่ต้องการ (Aerobic bacteria) และไม่ต้องการอากาศ (Anaerobic bacteria) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 45 วัน แต่อย่างไรก็ตามที่สภาวะดังกล่าว ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสจะมีคะแนนการยอมรับน้อยกว่าชุดการทดลองที่ใช้อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส อาจเนื่องจากการใช้ความร้อนระดับสูง และระยะเวลานาน มีผลทำให้เกิดโปรตีนเกิดเสียสภาพธรรมชาติ เกิดการตกตะกอนในระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส โดยเฉพาะโปรตีนของเนื้อปลา เมื่อใช้ความร้อนสูงทำให้เนื้อสัมผัสแข็งและแห้ง ทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

Jang and Lee (2005) ได้ศึกษาการพัฒนาของผลิตภัณฑ์เนื้อโคปรุงรสของประเทศเกาหลี เปรียบเทียบวิธีการผลิตแบบดั้งเดิมกับการใช้เทคนิค sous vide และทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิที่ต่างกัน 3 ระดับคือ 3, 10 และ 20 องศาเซลเซียส การผลิตแบบดั้งเดิมคือ บรรจุเนื้อโคปรุงรสในภาชนะพลาสติกและนำไปแช่เย็น ส่วนการใช้เทคนิค sous vide คือ บรรจุในถุงเพาช์ (Pouch) ชนิดไนลอน/โพลีเอทธิลีน/ไนลอน/โพลีเอทธิลีน/ไนลอน/โพลีเอทธิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ จากนั้นเติมส่วนผสมต่างๆ ลงไป ปิดผนึกภายใต้สภาวะสุญญากาศ ให้ความร้อนโดยใช้อ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่

อุณหภูมิ 97 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 11 นาที (วัดอุณหภูมิจากใจกลางชิ้นเนื้อ) ผลการศึกษาพบว่าเนื้อโคปรุงรสที่ใช้เทคนิค sous vide เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 และ 10 องศาเซลเซียส ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มที่ต้องการอากาศ (Aerobic bacteria) และไม่ต้องการอากาศ (Anaerobic bacteria) อย่างน้อยเป็นเวลา 42 และ 24 วัน ตามลำดับ ส่วนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส พบการเจริญของจุลินทรีย์หลังจากวันที่ 12 ของการเก็บรักษา ในขณะที่กรรมวิธีการผลิตแบบดั้งเดิม เนื้อโคปรุงรสที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส พบจุลินทรีย์ตั้งแต่วันแรกของการเก็บรักษา ส่วนที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส พบการเจริญของแบคทีเรียที่ต้องการ (Aerobic bacteria) และไม่ต้องการอากาศ (Anaerobic bacteria) หลังจากวันที่ 8 และวันที่ 10 ของการเก็บรักษา สำหรับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อโคปรุงรส พบว่าการผลิตด้วยวิธีดั้งเดิมสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 และ 10 องศาเซลเซียส ได้เพียง 7 วัน และ 3 วัน ตามลำดับ ส่วนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส สังเกตเห็นการเน่าเสียได้อย่างชัดเจน เนื่องจากเกิดเมือกที่บริเวณผิวหน้าของผลิตภัณฑ์ก่อนวันที่ 3 ของการเก็บรักษา ในขณะที่การใช้เทคนิค sous vide ไม่มีผลต่อคุณภาพทางด้านประสามสัมผัสของผลิตภัณฑ์เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันทั้ง 3 ระดับ ซึ่งสามารถเก็บรักษาได้ประมาณ 12 วัน

Hilda (2000) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิการเก็บรักษาและอุณหภูมิที่ใช้การแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ ได้แก่ เนื้อสันนอกย่าง สเต็กเนื้อสันนอก เนื้อลูกวัว ขาแกะ โดยใช้เทคนิค sous vide ต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์และคุณภาพทางประสาทสัมผัส ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 และ 8 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส พบการเจริญของจุลินทรีย์น้อย โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ประมาณ 4-5 สัปดาห์ และได้รับการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเนื่องจากอุณหภูมิต่ำสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาทางชีวเคมีและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาของทุกๆผลิตภัณฑ์ไม่พบการเจริญของ *Listeria monocytogenes, Salmonella, Clostridium perfringen, Bacillus cereus* และ Enterobaeteriaceae สอดคล้องกับคณะกรรมการความปลอดภัยทางด้านจุลินทรีย์ของสหรัฐอเมริกา (Food Safety and Inspection Service) แนะนำว่าผลิตภัณฑ์กลุ่ม Cook-chill มีอายุการเก็บรักษาประมาณ 10-42 วัน ที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส

จากการรวบรวมเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารกึ่งแห้งจากเนื้อสัตว์และอาหารทะเล มีรายละเอียดดังนี้

Dymsza and Silverman (1979) ศึกษาถึงการผลิตเนื้อปลากึ่งแห้งด้วยการแช่เนื้อปลาในสารละลายที่ประกอบด้วยกลีเซอรอลร้อยละ 40 โซเดียมอะซีเตตร้อยละ 10 โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 7 น้ำร้อยละ 43 โดยให้ความร้อนแก่สารละลายควบคู่กันไปด้วยเป็นเวลา 20 นาที ผลการทดลองพบว่า ผลิตภัณฑ์เนื้อปลากึ่งแห้งที่ได้มีค่า a_w เท่ากับ 0.82 ซึ่งมีค่าต่ำเพียงพอที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียส่วนใหญ่ได้ นอกจากนี้หลังจากเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 87 วัน พบว่าผลิตภัณฑ์มีความคงตัวต่อการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ ดี อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสชาติไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเท่าที่ควร จึงทดลองนำผลิตภัณฑ์มาผ่านกระบวนการกำจัดตัวถูกละลาย

บางส่วนออกไปโดยการต้มตัวอย่างเนื้อปลากึ่งแห้งในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์มากขึ้นและคะแนนการยอมรับจะสูงขึ้นอีกเมื่อนำตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนการกำจัดตัวถูกละลายดังกล่าวมาปรุงรสเพิ่มด้วยซ๊อสหรือนำไปชุบแป้งทอดก่อนการบริโภค

Paseua et al. (1994) ได้ศึกษาการลดค่า a_w ร่วมกับการพาสเจอร์ไรซ์ปลาแมคเคอเรล โดยแช่ปลาแมคเคอเรลในสารละลายที่มีองค์ประกอบดังนี้ น้ำ 380 กรัม โซเดียมคลอไรด์ 70 กรัม โพแทสเซียมซอร์เบท 7 กรัม และใช้สารฮิวแมคแตนท์คือ กลีเซอรอล 540 กรัม ในอัตราส่วนปลาต่อสารละลาย 0.59 : 1 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 2$\pm$1 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 10 15 20 และ 30 ชั่วโมง ร่วมกับการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 15 20 30 และ 40 นาที พบว่าผลิตภัณฑ์ที่แช่สารฮิวแมคแตนท์เป็นระยะเวลา 20 ชั่วโมง ร่วมกับการพาสเจอร์ไรซ์ 20 นาทีเป็นที่ยอมรับมากที่สุด โดยปลาแมคเคอเรลที่ได้นั้นมีค่า a_w เท่ากับ 0.89 มีรสชาติหวานปานกลาง เนื้อสัมผัสฉ่ำน้ำและมีคะแนนความชอบโดยรวมมากที่สุด

H. Lilabati & W. Vishwanath (1995) ศึกษาองค์ทางเคมีประกอบและคุณค่าทางของปลาสดและปลาแช่แข็ง พบว่าปลาสดมีปริมาณโปรตีน non protein nitrogen และpH สูงกว่าปลาแช่แข็ง และมีปริมาณความชื้น total volatile basic peroxide value free fatty acid และ TBA ต่ำกว่าปลาแช่แข็งจึงกล่าวได้ว่าปลาสดมีศักยภาพเหมาะสมกับการนำมาแปรรูปเป็นอาหารมากกว่าปลาแช่แข็ง อย่างไรก็ตามปลาแช่แข็งสามารถเก็บรักษาได้นานมากกว่า

Otoniel Corz and Nelson Bracho (2006) ศึกษาการสมดุลมวลสารของน้ำและเกลือในปลาซาร์ดีนที่แช่ในสารละลายเกลือ ที่ความเข้มข้น 0.15-0.27 gNaCl/g ที่อุณหภูมิ 32-38 องศาเซลเซียส กำหนดอัตราส่วนปลา: สารละลายเกลือ คือ 20: 1 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) พบว่าสมดุลมวลสารของน้ำเท่ากับร้อยละ 9.4-46.9 และสมดุลมวลสารของเกลือเท่ากับร้อยละ 3.5-44.1

Shi et.al (2008) ได้ศึกษาการผลิตปลาแมคเคอเรลกึ่งแห้ง โดยใช้เครื่อง Heat pump dehumidifier ร่วมกับการแช่ปลาในสารละลาย โดยนำปลาตัดแบ่งครึ่งตัว ให้มีขนาดยาวประมาณ 10 เซนติเมตร แช่ในสารละลายผสมที่มีเกลือร้อยละ 20 น้ำตาลร้อยละ 15 น้ำคั้นจากขิงร้อยละ 1 ไวน์ร้อยละ 2 และโซเดียมกลูตาเมตร้อยละ 0.1 ในอัตราส่วนปลา : สารละลายเกลือ เท่ากับ 1 : 3 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าการอบปลาด้วยเครื่อง Heat pump dehumidifier โดยใช้ความเร็วลม 3 เมตรต่อวินาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ปลาแมคเคอเรลกึ่งแห้งที่มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับ

วิชมณี ยืนยงพุทธกาล กุลิสรา ปรีดาสุทธิจิตต์ และ นันทพร อุดม (2554) ศึกษาการผลิตปลาดุกเทศกึ่งแห้งโดยการดึงน้ำออกแบบออสโมซิสร่วมกับการอบแห้งโดยใช้ความร้อน เตรียมเนื้อปลา โดยตัดแต่งเอาส่วนครีบ ก้าง และหนังออก ใช้เฉพาะส่วนเนื้อ หั่นเป็นชิ้นขนาดประมาณ 5x5x0.5 เซนติเมตร โดยมีน้ำหนักชิ้นละประมาณ 30-35 กรัม ศึกษาการถ่ายเทมวลสารและค่า a_w ของชิ้นปลาดุกเทศระหว่างการแช่ในสารละลายเกลือความเข้มข้นร้อยละ 40 พบว่า ค่าการถ่ายเทมวลสาร ได้แก่ ปริมาณน้ำที่สูญเสีย ปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักที่ลดลง และปริมาณเกลือที่เพิ่มขึ้น ของชิ้นเนื้อปลาดุกเทศมีแนวโน้มมากขึ้นเมื่อเวลาในการแช่เพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 4 ชั่วโมง จากการศึกษาผลของการเติมกลีเซอรอลร่วมกับสารละลายเกลือ พบว่า การเติมกลีเซลอรอลสามารถเพิ่มค่าการถ่ายเทมวลสาร และลดค่า a_w ในชิ้นปลาได้มากขึ้น โดยพบว่าการใช้กลีเซ

อรอลร้อยละ 30 ทำให้ค่าการถ่ายเทมวลสารไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับที่ระดับร้อยละ 40 และ 50 ($p<0.05$) โดยทำให้ผลิตภัณฑ์กึ่งแห้งมีลักษณะนุ่มขึ้น ได้รับคะแนนความชอบโดยรวมมากกว่าการไม่ใช้กลีเซอรอล ผลการตรวจสอบคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาได้พบว่า มีความปลอดภัยสำหรับการบริโภคได้เมื่อเก็บไว้นานภายใน 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง

จิตรา วราอัศวปติ (2540) ศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาริ้วกึ่งแห้ง โดยศึกษาสูตรน้ำปรุงและกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ปลาริ้วกึ่งแห้งที่เหมาะสม พบว่า สูตรน้ำปรุงของผลิตภัณฑ์ปลาริ้วกึ่งแห้ง ประกอบด้วย เกลือแกง น้ำตาลทราย กลีเซอรอล พริกไทย ผงเฮียเลี่ยว และซีอิ๊วขาวร้อยละ 6.25 22.32 33.32 1.34 0.45 และ 47.32 ตามลำดับ สัดส่วนดังกล่าวใช้เคล้ากับเนื้อปลาจำนวน 1 กิโลกรัม ใช้ระยะเวลาในการหมัก 4 ชั่วโมง นำมาอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 3 ชั่วโมงทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค มีค่าความสว่างและความเป็นสีแดง ปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น ค่าความเป็นสีเหลือง ค่าพลังงาน ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ค่าa_w ปริมาณความชื้น ปริมาณไขมัน ปริมาณเกลือและปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงจากสูตรดั้งเดิม

พิมพ์สิริ จันทองโชติ, กุลพัฒน์ พัฒนกิจ และ สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกร (2549) ศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อย่อยปลาแซลมอนโดยการใช้พืชสมุนไพรและเครื่องเทศ โดยแปรการใช้สมุนไพรและเครื่องเทศเป็นการใช้กระเทียมร้อยละ 3 และการใช้กระเทียมร้อยละ 3 ผสมกับใบมะกรูดแห้งร้อยละ 0.2 เติมลงไปในเนื้อย่อยปลาแซลมอนก่อนเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อย่อยปลาแซลมอนได้นานกว่า 10 วัน ในขณะที่ชุดควบคุมไม่มีการเติมสมุนไพรและเครื่องเทศมีอายุการเก็บรักษาประมาณ 6-9 วัน (ปริมาณจุลินทรีย์สูงสุด 10^7 CFU/g) และพบว่าผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบด้านสีกลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความชอบรวมของทอดมันเนื้อย่อยปลาแซลมอนที่มีการเติมกระเทียมสดร้อยละ 3 ผสมกับใบมะกรูดแห้งร้อยละ 0.2 มากที่สุด นอกจากนี้การบรรจุโดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในช่วงร้อยละ 40-60 ช่วยควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อย่อยปลาแซลมอนที่เติมกระเทียมและใบมะกรูดที่อัตราส่วนดังกล่าวได้ดีกว่า การบรรจุแบบอากาศปกติ (ชุดควบคุม)

สุรัตน์ ธารไชย, สลิล นิลพงษ์ และยงยุทธ เฉลิมชาติ (2550) ศึกษาการลดความชื้นในปลาชะโดขนาด 1x1x1 เซนติเมตร และ 2x2x2 เซนติเมตรโดยใช้สารละลายเกลือเป็นสารละลายออสโมติกที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.2 0.3 0.4 kgNaCl/kgSolution แช่ปลาที่อุณหภูมิ 30 และ50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง พบว่า อุณหภูมิมีผลต่อการสูญเสียน้ำในปลา ความเข้มข้นของสารละลายออสโมติกมีผลต่อการลดความชื้นในปลาโดยเมื่อความเข้มข้นของสารละลายออสโมติกเพิ่มขึ้น ความสูญเสียความชื้นในปลาจะมากขึ้น และปลาที่มีขนาดตัวอย่าง 1x1x1 เซนติเมตร สูญเสียความชื้นได้เร็วกว่าปลาที่มีขนาด 2x2x2 เซนติเมตร

ประมุข ภระกูลสุขสถิตย์, ปัจฉิมาภรณ์ อุดมคุณ, บัณฑิต อินณวงศ์และวรรณวิบูลย์ กาญจนกุลชร (2550) ศึกษาผลของการรมก๊าซโอโซนต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และจุลินทรีย์ (เชื้อ *Staphylococcus sp.*, *Bacillus sp.,* และLactic acid bacteria) ของเนื้อปลานิลแดดเดียว โดยเนื้อปลานิลจะถูกนำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมารมด้วยก๊าซโอโซนที่ความเข้มข้น 3 ระดับคือ 1 3 และ 5 ppm นาน 30 นาที หมุนเวียนกระบวนการข้างต้นจนกระทั่งค่า a_w ได้ 0.85 ผลการทดลองพบว่าการใช้ก๊าซโอโซนที่ความเข้มข้น 5

ppm สามารถช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา และค่า TVB-N ในเนื้อปลาได้ดีที่สุด ในขณะเดียวกันการอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จะส่งผลให้ค่าความสว่าง ค่าความเป็นสีเหลือง ค่าhue ค่า chroma ค่าดัชนีความขาว และค่า TBA ของเนื้อปลาเพิ่มขึ้น

ปัทมกร พรหมจรรย์ (2545) ศึกษาการลดค่าวอเตอร์แอกติวิตีในผลิตภัณฑ์ปลาข้างเหลืองกึ่งแห้งโดยศึกษาเวลาที่เหมาะสมสำหรับการหมักเครื่องปรุงรสของปลาข้างเหลืองกึ่งแห้งและศึกษาชนิดของฮิวแมคแตนท์ชนิดต่างๆ ได้แก่ กลีเซอรอล ซอร์บิทอล แลคทิทอล และกลูโคสไซรัป ที่ความเข้มข้น 50% ของเครื่องปรุงรส พบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการหมักส่งผลให้ปริมาณความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตีของปลาข้างเหลืองหลังการหมักมีค่าลดลง ($p<0.05$) ชนิดของฮิวแมคแตนท์ชนิดต่างๆ มีผลให้ความแข็ง แรงเฉือนและค่าสีของปลาข้างเหลืองกึ่งแห้งลดลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม ($p<0.05$) ผลิตภัณฑ์ที่เติมกลีเซอรอลได้รับคะแนนความชอบรวมสูงที่สุด ในขณะที่ตัวอย่างที่เติมกลูโคสไซรัปได้รับคะแนนความชอบรวมน้อยที่สุด จากการศึกษาซอร์ปชันไอโซเทอร์มแบบดูดความชื้นของตัวอย่างที่เติมกลีเซอรอลและตัวแย่างที่เติมแลคทิทอลร้อยละ 50 พบว่า ปริมาณความชื้นสมดุลของตัวอย่างที่เติมกลีเซอรอลมีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่เติมแลคทิทอล

ธีศิษฎ์ อภัยนิพัฒน์ (2548) ศึกษาผลของชนิดและปริมาณของสารดูดความชื้นต่อค่า a_w และคุณภาพการเก็บรักษาหอยแมลงภู่ปรุงรสกึ่งแห้งโดยสารดูดความชื้นที่ศึกษา คือ กลีเซอรอล ซอร์บิทอล และกลีเซอรอลผสมซอร์บิทอล (อัตราส่วน 1:1) ทดแทนปริมาณของน้ำตาลที่ระดับร้อยละ 25 โดยน้ำหนักส่วนผสม ในการผลิตพบว่าการใช้กลีเซอรอลผสมซอร์บิทอลมีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดค่า a_w ทำให้ใช้เวลาในการอบแห้งน้อยที่สุด ($p<0.05$) โดยมีสี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมเป็นที่ยอมรับมากที่สุด ($p<0.05$) และสามารถเก็บผลิตภัณฑ์ได้นานกว่า 9 วัน โดยปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ไม่เกินมาตรฐาน เนื่องจากกลีเซอรอลและซอร์บิทอลเป็นสารฮิวแมคแตนท์ชนิดโพลิออล ซึ่งสามารถจับกับน้ำในอาหารได้ดีเพราะมีหมู่ไฮดรอกซิล (OH) มากในโมเลกุลต่างกับน้ำตาลที่มีหมู่คาร์บอกซิล (COOH) ในโมเลกุล จึงดูดความชื้นได้ดีกว่าน้ำตาลทรายทำให้น้ำในอาหารอยู่ในรูป Bound water ส่งผลให้ปริมาณน้ำอิสระ a_w ลดลง จุลินทรีย์จึงนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยลง

บทที่ 3
วิธีดำเนินการทดลอง

วัตถุดิบและสารเคมี

(1) หอยหลอดสด จากตำบลบางจะเกร็ง อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสงคราม

(2) มะนาว พันธุ์แป้นรำไพ จากตลาดหนองมน อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี

(3) น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด ตรา Diamond ประเทศไทย

(4) โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride) บริษัท LAB SCAN ประเทศไอซ์แลนด์

(5) กรดซิตริก (Citric acid) บริษัท LAB SCAN ประเทศไอร์แลนด์

(6) กรดอะซิติก (Acetic acid) บริษัท LAB SCAN ประเทศไอร์แลนด์

(7) กลีเซอรอล (Glycerol) บริษัท VWR International ประเทศอังกฤษ

(8) ซอร์บิทอล (Sorbitol) บริษัท Univar Australia Pty ประเทศออสเตรเลีย

อุปกรณ์และเครื่องมือ

(1) เครื่องคั้นน้ำมะนาว ABC electric รุ่น 224.009 ประเทศเยอรมนี

(2) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ Hetofrig รุ่น CB60VS ประเทศเยอรมนี

(3) เครื่องบรรจุสุญญากาศ Ultra vac รุ่น UV-420T ประเทศเยอรมนี

(4) ตู้อบลมร้อน Mermert รุ่น ULE500 ประเทศเยอรมนี

(5) เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง Sartorius รุ่น BA 610 ประเทศเยอรมนี

(6) เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง Sartorius รุ่น BA 211S ประเทศเยอรมนี

(7) เครื่องวัดสี Hunter lab รุ่น Mini Scan XP Plus ประเทศสหรัฐอเมริกา

(8) เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture analyzer) Stable Micro Systems รุ่น TA-XT2 ปรเทศอังกฤษ

(9) เครื่องวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอคติวิตี (a_w) Novasina รุ่น AWC ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

(10) ถุงพลาสติกชนิด Nylon/LDPE ขนาด 13 x 18 เซนติเมตร

(11) อุปกรณ์สำหรับทดสอบทางประสาทสัมผัส

(12) อุปกรณ์เครื่องแก้ว

(13) อุปกรณ์งานครัว

วิธีดำเนินการทดลอง

ตอนที่ 3.1 การพัฒนากรรมวิธีการยืดอายุการเก็บหอยหลอดด้วยเทคนิค Sous vide

3.1.1 การศึกษาผลของการเตรียมขั้นต้นด้วยการแช่ในสารละลายก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ต่อคุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา

การแช่อาหารในสารละลายในระยะเวลาหนึ่งก่อนการแปรรูปวิธี sous vide จัดเป็นการเตรียมขั้นต้นวิธีหนึ่งที่สามารถเสริมประสิทธิภาพการยืดอายุการเก็บอาหารได้ โดยช่วยชะลอการเจริญเติบโตหรือทำลายจุลินทรีย์ จึงช่วยลดโอกาสการเน่าเสียของอาหารได้อีกทางหนึ่ง สารละลายที่นิยมใช้ คือ สารละลายโซเดียมคลอไรด์ และสารละลายกรด (Cosansu et al., 2013; Jang et al., 2006)

ขั้นตอนนี้จึงต้องการศึกษาผลของการเตรียมขั้นต้นด้วยการแช่ในสารละลายในชนิดต่างๆ ก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ต่อคุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา ในสภาวะแช่เย็น โดยแปรวิธีการแช่หอยหลอดในสารละลาย 8 สิ่งทดลอง ซึ่งแปรการแช่และไม่แช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ และแปรชนิดของสารละลายกรดจากการสังเคราะห์ (กรดซิตริก และกรดอะซิติก) และกรดจากวัตถุดิบธรรมชาติ (น้ำมะนาว และน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด) เปรียบเทียบกับหอยหลอดที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide และหอยหลอดที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide รวมมีสิ่งทดลองทั้งหมด 10 สิ่งทดลอง รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 3-1

การเตรียมตัวอย่างหอยหลอด

รับหอยหลอดสดทั้งเปลือก โดยบรรจุในกล่องโฟมซึ่งมีน้ำแข็งแช่อยู่ตลอดการขนส่งและนำส่งมายังห้องปฏิบัติการให้เร็วที่สุด (ภายใน 3 ชั่วโมง) ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำจำนวน 2 ครั้ง แกะเปลือกออกแล้วคัดเลือกเฉพาะที่มีขนาดใกล้เคียงกัน โดยควบคุมเลือกขนาดตัวหอยที่แกะเปลือกแล้วให้มีความยาวประมาณ 7-9 เซนติเมตร และน้ำหนักประมาณ 5 กรัม และแช่ในสารละลายคลอรีนความเข้มข้น 0.005% เป็นเวลา 2 นาที แล้วนำมาวางบนตะแกรงเพื่อสะเด็ดน้ำ (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2551) และเพื่อเป็นการยืนยันว่าตัวอย่างหอยหลอดสดที่นำมาใช้ในงานวิจัยมีความปลอดภัยสำหรับการบริโภคในเบื้องต้น จึงได้สุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจหาปริมาณพยาธิตัวกลม *(Trichinella spiralis)* ผลการวิเคราะห์ พบว่าตรวจไม่พบพยาธิ (ใบรายงานผลการทดสอบแสดงในภาคผนวก) โดยลักษณะของหอยหลอดที่ใช้ในงานวิจัยแสดงดังภาพที่ 3-1

ตารางที่ 3-1 รายละเอียดสิ่งทดลองที่ใช้ในการศึกษาผลของวิธีการเตรียมขั้นต้นก่อนการแปรรูปวิธี sous vide

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	รายละเอียด
1	แช่	น้ำมะนาว	แช่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1% (w/v) 10 นาที แล้วแช่ต่อในน้ำมะนาว 30 นาที
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	แช่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1% (w/v) 10 นาที แล้วแช่ต่อในน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด 30 นาที
3		สารละลายกรดซิตริก	แช่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1% (w/v) 10 นาที แล้วแช่ต่อในสารละลายกรดซิตริก 30 นาที
4		สารละลายกรดอะซิติก	แช่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1% (w/v) 10 นาที แล้วแช่ต่อในสารละลายกรดอะซิติก 30 นาที
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว	ไม่ต้องแช่สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ แช่ในน้ำมะนาว 30 นาที เพียงอย่างเดียว
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	ไม่ต้องแช่สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ แช่ในน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด 30 นาที เพียงอย่างเดียว
7		สารละลายกรดซิตริก	ไม่ต้องแช่สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ แช่ในสารละลายกรดซิตริก 30 นาที เพียงอย่างเดียว
8		สารละลายกรดอะซิติก	ไม่ต้องแช่สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ แช่ในสารละลายกรดอะซิติก 30 นาที เพียงอย่างเดียว
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide		
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide		

ภาพที่ 3-1 ลักษณะของหอยหลอดที่ใช้ในงานวิจัย

การเตรียมขั้นต้นโดยการแช่หอยหลอดในสารละลาย

(1) การแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์

นำตัวอย่างหอยหลอดที่เตรียมไว้มาแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1% (w/v) เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาวางบนตะแกรงเพื่อสะเด็ดน้ำ (ดัดแปลงจาก Cosansu et al., 2013)

(2) การแช่ในสารละลายกรด

(2.1) การเตรียมน้ำมะนาวและน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด

ควบคุมคุณภาพของน้ำมะนาวให้สม่ำเสมอกันทั้งการทดลอง โดยนำมะนาวมาคั้นน้ำโดยใช้เครื่องคั้นน้ำมะนาว กรอง และแยกเมล็ดออก แล้วนำน้ำมะนาวเก็บรักษาโดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เมื่อจะนำมาใช้งานให้นำมาทำละลายโดยวางไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกว่าจะละลายหมด (วีระชัย แก่นทรัพย์, 2544) สำหรับน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดเลือกใช้จากแหล่งเดียวกันตลอดการทดลอง สุ่มตัวอย่างน้ำมะนาวและน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด มาวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 2002) และค่า pH

(2.2) การเตรียมสารละลายกรดซิตริกและสารละลายกรดอะซิติก

ควบคุมปริมาณกรดทั้งหมดและค่า pH ของสารละลายกรดซิตริกและสารละลายกรดอะซิติกให้มีค่าใกล้เคียงกับน้ำมะนาวและน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด ตามลำดับ โดยให้มีปริมาณกรดทั้งหมดมีความแตกต่างกันได้ในช่วง ±0.1% และค่า pH มีความแตกต่างกันได้ในช่วง ±0.2 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มอล เป็นตัวปรับ

(2.3) นำตัวอย่างหอยหลอดที่ผ่านหรือไม่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ มาแช่ในสารละลายกรดตามชนิดที่กำหนด เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาวางบนตะแกรงเพื่อสะเด็ดน้ำ (ดัดแปลงจาก Cosansu et al., 2013)

การแปรรูปวิธี sous vide และการเก็บรักษา

นำหอยหลอดที่ผ่านหรือไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นตามวิธีที่กำหนดปริมาณ 100 กรัม มาบรรจุในถุงพลาสติกชนิด Nylon/LDPE ขนาด 13 x 18 เซนติเมตร โดยบรรจุแบบสุญญากาศ ปิดผนึกสนิท แล้วนำไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที โดยใช้อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) เมื่อครบเวลานำไปแช่เย็นในน้ำผสมแข็งอุณหภูมิ 2±1 องศาเซลเซียส ทันที เป็นเวลา 5 นาที แล้วเก็บตัวอย่างไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ (ดัดแปลงจาก Cosansu et al., 2013)

การวิเคราะห์คุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา

สุ่มตัวอย่างหอยหลอดที่เก็บรักษาเป็นเวลา 0 1 2 และ 3 สัปดาห์ วิเคราะห์คุณภาพของหอยหลอดที่เก็บรักษา ดังนี้

(1) การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพ

(1.1) ค่าสี L* a* และ b* โดยใช้เครื่องวัดสี

(1.2) ค่า pH โดยใช้เครื่องวัด pH

(1.3) ปริมาณกรดทั้งหมด ตามวิธีของ AOAC (2002)

(1.4) ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ตามวิธีของ Cosansu et al. (2013)

(1.5) ปริมาณไตรเมททิลเอมีน (TMA-N) ตามวิธีของ Cosansu et al. (2013)

(1.6) ค่า TBARS ตามวิธีของ Buege and Aust (1978)

(2) การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินความสด (Freshness) ของตัวอย่างหอยหลอด ด้านลักษณะปรากฏ สี และกลิ่น รวมถึงการทดสอบชิมตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนอีกครั้ง (Reheat) ด้านรสชาติ และความชอบโดยรวม เตรียมตัวอย่างสำหรับทดสอบชิมโดยการลวกหอยหลอดในน้ำอุณหภูมิ 98±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ใช้วิธีการให้คะแนนการยอมรับจาก 0-10 คะแนน โดยคะแนน 0 หมายถึง ตัวอย่างเน่าเสียแล้ว 5 หมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ และ 10 หมายถึง ตัวอย่างสดมากที่สุด ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 6 คน (ดัดแปลงจาก Huss, 1988) โดยแบ่งชิมตัวอย่างครั้งละ 5 ตัวอย่าง

(3) การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

(3.1) ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria โดยวิธีนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป (ดัดแปลงจาก BAM, 2001; Cosansu et al., 2013)

(3.2) ปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria โดยวิธีนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป (ดัดแปลงจาก BAM, 2001; Cosansu et al., 2013)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ผลทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan’s new multiple range test ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

เกณฑ์ในการคัดเลือก

พิจารณาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา โดยเปรียบเทียบกับเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล (Cosansu et al., 2013) ตามเกณฑ์ดังนี้คือ

(1) ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ต้องไม่เกิน 30 มิลลิกรัมต่อ 100กรัม (Sikorski et al., 1990)

(2) ปริมาณไตรเมททิลเอมีน (TMA-N) ต้องไม่เกิน 10 มิลลิกรัมต่อ 100กรัม (Sikorski et al., 1990)

(3) ค่า TBARS ต้องไม่เกิน 12.5 มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์ (MDA) ต่อกิโลกรัม (Schormuller, 1968)

(4) ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria ต้องไม่เกิน 6 log CFU/กรัม (ICMSF, 1986)

(5) ปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria ต้องไม่เกินกว่า 6 log CFU/กรัม (ICMSF, 1986)

เลือกสิ่งทดลองที่เหมาะสมที่สุด คือสิ่งทดลองที่ผ่านเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภคตลอดการเก็บรักษาและคุณภาพทางประสาทสัมผัส ระหว่างการเก็บรักษามีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้อยและสามารถเก็บรักษาได้นานที่สุด โดยพิจารณาร่วมกับคุณภาพด้านอื่นๆที่วัดได้

3.1.2 การศึกษาผลของสภาวะการพาสเจอร์ไรซ์ต่อคุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา

การพาสเจอร์ไรซ์เป็นขั้นตอนที่สำคัญขั้นตอนหนึ่งในการถนอมอาหารแบบ sous vide เป็นการให้ความร้อนในช่วง 65-95 องศาเซลเซียส เพื่อฆ่าเชื้ออาหารที่บรรจุในสภาวะสุญญากาศ (Armstrong, 2000) การให้ความร้อนที่เพียงพอกับการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และทำลายเชื้อจุลินทรีย์ มีผลต่อการยืดอายุการเก็บได้นานขึ้น แต่การให้ความร้อนกับอาหารในสภาวะที่รุนแรงเกินไปอาจมีผลต่อการลดลักษณะคุณภาพที่คล้ายของสด ซึ่งอาจไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคได้ (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529) การให้ความร้อนในการพาสเจอร์ไรซ์ในระดับที่เหมาะสมกับชนิดของอาหารจึงเป็นสิ่งที่ควรปฏิบัติ

ขั้นตอนนี้จึงต้องการศึกษาผลของสภาวะการพาสเจอร์ไรซ์ต่อคุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา แปรปัจจัยที่ศึกษาเป็น 2 ปัจจัย ปัจจัยละ 2 ระดับ จัดสิ่งทดลองแบบ Factorial 2x2 ได้ 4 สิ่งทดลอง (แสดงดังตารางที่ 3-2) โดยมีรายละเอียดดังนี้

ปัจจัยที่ 1 อุณหภูมิการพาสเจอร์ไรซ์ ได้แก่ 70 และ 80 องศาเซลเซียส

ปัจจัยที่ 2 เวลาการพาสเจอร์ไรซ์ ได้แก่ 3 และ 5 นาที

ตารางที่ 3-2 สิ่งทดลองที่ได้จากการแปรอุณหภูมิและเวลาการพาสเจอร์ไรซ์หอยหลอดในการแปรรูปวิธีsous vide

สิ่งทดลอง	อุณหภูมิการพาสเจอร์ไรซ์ (°C)	เวลาการพาสเจอร์ไรซ์ (นาที)
1	70	3
2	70	5
3	80	3
4	80	5

การแปรรูปวิธี sous vide และการเก็บรักษา

ดำเนินการเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ และเตรียมขั้นต้นตามวิธีที่เลือกได้จากข้อ 3.1.1 นำหอยหลอดปริมาณ 100 กรัม มาบรรจุในถุงพลาสติกชนิด Nylon/ Low Density Polyethylene (LDPE) ขนาด 13 x 18 เซนติเมตร โดยบรรจุแบบสุญญากาศ ปิดผนึกสนิท แล้วนำไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิและเวลาการพาสเจอร์ไรซ์ตามกำหนด โดยใช้อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) เมื่อครบเวลานำไปแช่เย็นในน้ำผสมน้ำแข็งอุณหภูมิ 2±1 องศาเซลเซียส ทันที เป็นเวลา 5 นาที แล้วเก็บตัวอย่างไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (ดัดแปลงจาก Cosansu et al., 2013)

การวิเคราะห์คุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา

ดำเนินการเหมือนข้อ 3.1.1 โดยสุ่มตัวอย่างหอยหลอดที่เก็บรักษาเป็นเวลา 0 1 2 และ 3 สัปดาห์ วิเคราะห์คุณภาพของหอยหลอดที่เก็บรักษา ดังนี้

(1) การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพ

(1.1) ค่าสี L* a* และ b* โดยใช้เครื่องวัดสี

(1.2) ค่า pH โดยใช้เครื่องวัด pH

(1.3) ปริมาณกรดทั้งหมด ตามวิธีของ AOAC (2002)

(1.4) ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ตามวิธีของ Cosansu et al. (2013)

(1.5) ปริมาณไตรเมททิลเอมีน (TMA-N) ตามวิธีของ Cosansu et al. (2013)

(1.6) ค่า TBARS ตามวิธีของ Buege and Aust (1978)

(2) การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินความสด (Freshness) ของตัวอย่างหอยหลอด ด้านลักษณะปรากฏ สี และกลิ่น รวมถึงการทดสอบชิมตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนอีกครั้ง (Reheat) ด้านรสชาติ และความชอบโดยรวม เตรียมตัวอย่างสำหรับทดสอบชิมโดยการต้มหอยหลอดในน้ำอุณหภูมิ 98±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ใช้วิธีการให้คะแนนการยอมรับจาก 0-10 คะแนน โดยคะแนน 0 หมายถึง ตัวอย่างเน่าเสียแล้ว 5 หมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ และ 10 หมายถึง ตัวอย่างสดมากที่สุด ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 6 คน (ดัดแปลงจาก Huss, 1988) โดยแบ่งชิมตัวอย่าง ครั้งละ 5 ตัวอย่าง

(3) การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

(3.1) ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria โดยวิธีนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป (ดัดแปลงจาก BAM, 2001; Cosansu et al., 2013)

(3.2) ปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria โดยวิธีนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป (ดัดแปลงจาก BAM, 2001; Cosansu et al., 2013)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) โดยการวางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD วิเคราะห์ผลทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple rang test ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

เกณฑ์ในการคัดเลือก

พิจารณาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา โดยเปรียบเทียบกับเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล (Cosansu et al., 2013) ตามเกณฑ์ดังนี้คือ

(1) ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ต้องไม่เกิน 30 มิลลิกรัมต่อ 100กรัม (Sikorski et al., 1990)

(2) ปริมาณไตรเมททิลเอมีน (TMA-N) ต้องไม่เกิน 10 มิลลิกรัมต่อ 100กรัม (Sikorski et al., 1990)

(3) ค่า TBARS ต้องไม่เกิน 12.5 มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์ (MDA) ต่อกิโลกรัม (Schormuller, 1968)

(4) ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria ต้องไม่เกิน 6 log CFU/กรัม (ICMSF, 1986)

(5) ปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria ต้องไม่เกินกว่า 6 log CFU/กรัม (ICMSF, 1986)

เลือกสิ่งทดลองที่เหมาะสมที่สุด คือสิ่งทดลองที่ผ่านเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภคตลอดการเก็บรักษาและคุณภาพทางประสาทสัมผัส ระหว่างการเก็บรักษามีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้อยและสามารถเก็บรักษาได้นานที่สุด โดยพิจารณาร่วมกับคุณภาพด้านอื่นๆ ที่วัดได้

ตอนที่ 3.2 การพัฒนากรรมวิธีการผลิตหอยหลอดกึ่งแห้ง

3.2.1 การศึกษาการถ่ายเทมวลสารและค่า a_w ของหอยระหว่างการแช่ในสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครส

ในการทดลองนี้ต้องการติดตามผลของการถ่ายเทมวลสารและค่า a_w เพื่อพิจารณาแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงมวลสาร และใช้เป็นข้อมูลช่วยตัดสินใจสำหรับการวางแผนการทดลองในการหาเวลาในการแช่ที่เหมาะสมต่อไป

(1) การแช่ในสารละลายเกลือ

เตรียมตัวอย่างหอยหลอดเหมือนกับตอนที่ 3.1 และเตรียมสารละลายผสมโดยใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 5% (w/w) ผสมกับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30% (w/w) นำหอยหลอดมาแช่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ 8 ชั่วโมง กำหนดอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักหอยหลอดต่อสารละลายที่ใช้แช่เท่ากับ 1:5 (w/w) และดำเนินการแช่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 ±2 องศา

เซลเซียส โดยแช่หอยหลอดครั้งละ 250 กรัม เมื่อครบกำหนดเวลา นำชิ้นหอยออกมาจากสารละลาย ปล่อยให้สะเด็ดน้ำบนตะแกรง

(2) การวิเคราะห์ค่าการถ่ายเทมวลสารและค่า a_w

ทุก 2 ชั่วโมง นำชิ้นหอยมาล้างน้ำเพื่อกำจัดสารละลายส่วนเกินออกและวางซับบนกระดาษเป็นเวลา 5 นาที นำไปหาค่า a_w โดยใช้เครื่องวัดค่า a_w วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 1990) วิเคราะห์ปริมาณเกลือโดยวิธีของ Mohr (AOAC,1990) วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธีของ Lane and Eynon (AOAC,1990) และคำนวณค่าการถ่ายเทมวลสาร ได้แก่

(1) ปริมาณน้ำที่สูญเสีย (Water Loss; WL) คำนวณตามสมการที่ 1

$$WL\ (\%) = \frac{(W_0\ M_0 - W_t\ M_t) \times 100}{W_0} \quad (1)$$

(2) ปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้น (Solid Gain; SG) คำนวณตามสมการที่ 2

$$SG\ (\%) = \frac{[W_t\ (1-M_t) - W_0\ (1-M_0)] \times 100}{W_0} \quad (2)$$

(3) ปริมาณน้ำหนักที่ลดลง (Weight Reducing; WR) คำนวณตามสมการที่ 3

$$WR\ (\%) = \frac{(W_0 - W_t) \times 100}{W_0} \quad (3)$$

เมื่อ W_0 และ W_t คือ น้ำหนักตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้นและหลังการออสโมซิส (กรัม) ตามลำดับ

M_0 และ M_t คือ ปริมาณความชื้นเฉลี่ยของตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้นและหลังการออสโมซิส (กรัมน้ำต่อกรัมตัวอย่าง) ตามลำดับ

3.2.2 การศึกษาผลของการเติมสารควบคุมความชื้นต่อคุณภาพของหอยหลอดกึ่งแห้ง

ในการทดลองนี้ต้องการใช้สารควบคุมความชื้น ได้แก่ กลีเซอรอล และซอร์บิทอล ร่วมกับสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครส เพื่อปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสและช่วยลดค่า a_w ของผลิตภัณฑ์ลง โดยแปรความเข้มข้นของกลีเซอรอลหรือซอร์บิทอล เท่ากับ 0 10 20 และ 30% (w/w) ดำเนินการเตรียมหอยหลอดและเตรียมสารละลายผสมตามข้อ 3.2.1 โดยแช่ตามเวลา แต่เพิ่มการใช้สารดูดความชื้นตามที่กำหนด และแช่หอยหลอดในสารละลาย เมื่อครบกำหนดเวลานำชิ้นหอยออกมาจากสารละลาย ปล่อยให้สะเด็ดน้ำบนตะแกรง แล้วนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์กึ่งแห้ง โดยนำไปอบในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนมีความชื้น 25$\pm$2% (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2539; ชมพู่ ยิ้มโต, 2550; ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, 2528)

(1) การวิเคราะห์คุณภาพของหอยหลอดหลังการแช่สารละลาย

นำตัวอย่างหอยหลังการแช่ในสารละลาย มาวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ดังนี้

- ปริมาณความชื้น (AOAC, 1990)
- ค่า a_w โดยใช้เครื่องวัดค่า a_w
- คำนวณค่าการถ่ายเทมวลสาร ตามรายละเอียดในข้อ 3.2.1

(2) การวิเคราะห์คุณภาพของหอยหลอดกึ่งแห้ง

นำตัวอย่างหอยกึ่งแห้งมาวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ดังนี้

- ค่า a_w ด้วยเครื่องวัดค่า a_w
- ค่าสี (L* a* และ b*) โดยใช้เครื่องวัดสี
- ค่าความแข็ง (Hardness) ด้วยเครื่อง Texture analyzer
- คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส ด้านความชอบลักษณะปรากฏ สี เนื้อสัมผัส รสชาติ และความชอบโดยรวม ด้วยวิธี 9-point hedonic scale กำหนดระดับความชอบดังนี้ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 5 = เฉยๆ 9 = ชอบมากที่สุด เตรียมตัวอย่างโดยนำหอยหลอดกึ่งแห้งมาทำให้สุก โดยทอดแบบน้ำมันท่วม แล้วทดสอบโดยผู้บริโภคจำนวน 30 คน

เลือกใช้สารควบคุมความชื้นที่เหมาะสมโดยพิจารณาคุณภาพของหอยหลอดหลังการแช่สารละลายทางประสาทสัมผัสร่วมกับค่าการถ่ายเทมวลสาร และค่า a_w โดยเลือกสิ่งทดลองที่ได้รับคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อสัมผัสไม่แข็งกระด้าง มีความนุ่ม เกิดการถ่ายเทมวลสารระหว่างการแช่ได้ดี และสามารถลดค่า a_w ลงได้มาก

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD สำหรับการประเมินคุณภาพทุกด้าน ยกเว้นการประเมินด้านประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองแบบ RCBD วิเคราะห์ผลทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan’s new multiple range test ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.3 การวิเคราะห์คุณภาพของหอยหลอดกึ่งแห้งระหว่างการเก็บรักษา

นำหอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้ มาบรรจุในถุงพลาสติกชนิด Polyamide (PA) ขนาด 13 x 18 เซนติเมตร และปิดผนึกสนิท เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งเป็นการเลียนแบบสภาวะจริงของการจำหน่าย โดยสุ่มตัวอย่างหอยหลอดกึ่งแห้งเป็นเวลา 0 1 2 3 และ 4 สัปดาห์ วิเคราะห์คุณภาพของหอยหลอดที่เก็บรักษา ดังนี้

- ปริมาณความชื้น (AOAC, 1990)
- ค่า a_w โดยใช้เครื่องวัดค่า a_w
- ค่าสี (L* a* และ b*) โดยใช้เครื่องวัดสี
- ค่าความแข็ง (Hardness) ด้วยเครื่อง Texture analyzer
- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา (AOAC, 2000)
- คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสด้านความชอบลักษณะปรากฏ สี เนื้อสัมผัส รสชาติ และความชอบโดยรวมด้วยวิธี 9-point hedonic scale กำหนดระดับความชอบดังนี้ 1 = ไม่ชอบมาก

ที่สุด 5 = เฉยๆ 9 = ชอบมากที่สุด เตรียมตัวอย่างโดยนำหอยหลอดกึ่งแห้งมาทำให้สุก โดยทอดแบบน้ำมันท่วม ทดสอบโดยผู้บริโภคจำนวน 30 คน

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD สำหรับการประเมินคุณภาพทุกด้าน ยกเว้นการประเมินด้านประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองแบบ RCBD วิเคราะห์ผลทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan’s new multiple range test ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

ตอนที่ 4.1 ผลการพัฒนากรรมวิธีการยืดอายุการเก็บหอยหลอดด้วยเทคนิค Sous vide

4.1.1 ผลของการเตรียมขั้นต้นด้วยการแช่ในสารละลายก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ต่อคุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา

จากการเตรียมขั้นต้นด้วยการแช่หอยหลอดในสารละลายก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ซึ่งแปรการแช่และไม่แช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ แปรชนิดกรดจากการสังเคราะห์ (กรดซิตริก และกรดอะซิติก) และกรดจากวัตถุดิบธรรมชาติ (น้ำมะนาว และน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด) เปรียบเทียบกับหอยหลอดที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide และหอยหลอดที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide รวมมีสิ่งทดลองทั้งหมด 10 สิ่งทดลอง รายละเอียดผลการวิเคราะห์คุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 1 2 และ 3 สัปดาห์ เมื่อเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส มีดังนี้

(1) ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพ

(1.1) ค่าสี L* a* และ b*

จากตารางที่ 4-1 แสดงค่าสี L* ของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 สัปดาห์ พบว่า หอยหลอดสดซึ่งหมายถึงสิ่งทดลองที่ 10 ที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide มีค่าสี L* เท่ากับ 60.19 ในขณะที่สิ่งทดลองที่ 9 ซึ่งหมายถึงหอยหลอดที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide มีค่าสี L* เท่ากับ 63.05 แสดงถึงมีความสว่างมากกว่าหอยหลอดสด ($p \leq 0.05$) อาจเนื่องมาจากการ sous vide เป็นการใช้ความร้อนระดับการพาสเจอร์ไรซ์ ซึ่งในการทดลองนี้ใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที อาจเพียงพอที่จะทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติ (denaturation) อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโพลีเปปไทด์ถูกทำลาย มีผลให้โครงสร้างทางเคมีเปลี่ยนไป นอกจากนี้กรณีการสุกของเนื้อสัตว์หรืออาหารทะเล มีผลเกี่ยวข้องกับการที่โครงสร้างเกิดการคลายตัว (unfolded) และเกิดการตกตะกอนของโปรตีน ทำให้มีสีและเนื้อสัมผัสเปลี่ยนแปลงไป และผันกลับไม่ได้ โดยมีการเปลี่ยนสีจากลักษณะใสเป็นลักษณะทึบสีขาวขุ่น และมีลักษณะเป็นเจลแข็งตัวมากขึ้น (Gonzalezs-Fandos et al., 2005) ดังนั้นการผ่านการแปรรูปวิธี sous vide จึงมีผลให้เนื้อหอยหลอดมีสีขาวสว่างมากขึ้นนั่นเอง

สำหรับสิ่งทดลองที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นทุกวิธี (สิ่งทดลองที่ 1-8) เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 สัปดาห์ พบว่า ค่าสี L* อยู่ในช่วง 62.15 – 70.49 ซึ่งมีความสว่างมากกว่าหอยหลอดสด แสดงให้เห็นว่า การเตรียมขั้นต้นร่วมกับการแปรรูปวิธี sous vide ทำให้หอยหลอด มีลักษณะสุก เนื้อหอยหลอดมีลักษณะทึบสีขาวขุ่นซึ่งเกิดจากการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนนั่นเอง จึงมีค่าสี L* มากกว่าหอยหลอดสด

การสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนในอาหารสามารถเกิดได้จากหลายสาเหตุ สำหรับสาเหตุที่สอดคล้องกับวิธีการเตรียมขั้นต้นและการแปรรูปด้วยวิธี sous vide ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ การสูญเสียสภาพธรรมชาติด้วยความร้อน (thermal denaturation) การสูญเสียสภาพธรรมชาติด้วย

การปรับ pH (pH denaturation) และการสูญเสียสภาพธรรมชาติด้วยการตกตะกอนด้วยเกลือ โดยผลสำคัญจากการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน คือ ทำให้โครงสร้างของโปรตีนในอาหารเปลี่ยนแปลงไป อาจเกิดการคลายตัวของพันธะและมีผลทำให้โปรตีนเกิดการตกตะกอน มีลักษณะเป็นเจลแข็งขึ้น และอาจมีผลให้สีของโปรตีนเปลี่ยนไป เช่น กรณีโปรตีนจากไข่ขาวเมื่อสูญเสียสภาพธรรมชาติจากการได้รับความร้อนจะมีสีขาวขุ่นทึบแสง เป็นต้น (วิจิตรา หลวงอินทร์, ม.ป.ป.)

สำหรับในวิจัยนี้อาจเป็นไปได้ว่า ในขั้นตอนการเตรียมขั้นต้นด้วยการแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ และการแช่ในสารละลายกรด มีผลทำให้โปรตีนในเนื้อหอยหลอดเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติไปบางส่วน การแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ มีผลทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติได้ เนื่องจากโซเดียมคลอไรด์สามารถแตกตัวเป็นประจุบวกและประจุลบและมีผลกับโครงสร้างของโปรตีน การมีเกลือปริมาณน้อยแพร่เข้าไปในชิ้นอาหารอาจทำให้โปรตีนละลายได้มากขึ้น หรือจับกับน้ำได้ดีขึ้น และเมื่อมีเกลือปริมาณมากขึ้นแพร่เข้าไปในชิ้นอาหารมีผลให้โปรตีนเกิดการตกตะกอนได้หรือเสียสภาพธรรมชาติได้นั่นเอง (บุญรอด วงษ์สวาท, 2557; วิจิตรา หลวงอินทร์, ม.ป.ป.) และสำหรับการแช่ในสารละลายกรด มีผลให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติได้ เนื่องจากโดยปกติค่า pH ของโปรตีนที่พบในธรรมชาติจะสูงกว่าจุดไอโซอิเล็กทริก (isoelectric point) ซึ่งทำให้พบโปรตีนในธรรมชาติมีประจุเป็นลบ (negative charge) ซึ่งประจุที่เหมือนกันจะเกิดแรงผลักกัน การอยู่ในสภาวะกรดจะทำให้ค่า pH ของโปรตีนลดลง จนมีค่าเท่ากับจุดไอโซอิเล็กทริก ซึ่งอาจทำให้ประจุรวมของโปรตีนเป็นศูนย์ แรงผลักกันระหว่างประจุที่เหมือนกันจะลดลง มีผลให้โปรตีนเกิดการตกตะกอน ดังนั้นถ้าหากอยู่ในสภาวะกรดมากขึ้น จะทำให้ค่า pH ของโปรตีนต่ำกว่าจุดไอโซอิเล็กทริกมาก โปรตีนจึงมีโอกาสมีประจุรวมเป็นบวก (positive charge) ถ้ามีประจุบวกมากแรงผลักกันระหว่างประจุก็จะมากขึ้น หากแรงผลักรุนแรง อาจทำให้โครงสร้างของโปรตีนเปลี่ยนไป สายของโพลีเปปไทด์ อาจเกิดการคลายตัว สูญเสียโครงสร้างตามธรรมชาติ ซึ่งจะมีผลคล้ายกับการสูญเสียสภาพธรรมชาติด้วยความร้อน ซึ่งหากเกิดรุนแรงอาจทำให้ผันกลับเป็นโครงสร้างแบบเดิมไม่ได้ (วิจิตรา หลวงอินทร์, ม.ป.ป.) อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองโปรตีนของหอยหลอดน่าจะเสียสภาพไปอย่างสมบูรณ์ เมื่อได้รับความร้อนจากการแปรรูปด้วยวิธี sous vide จึงมีผลให้ค่าสี L* ของทุกสิ่งทดลองเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในช่วงสูงกว่าค่าสี L* ของหอยหลอดสด

จากผลการทดลองพบข้อสังเกตว่าสิ่งทดลองที่ 4 และ 8 มีค่า L* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) อาจเนื่องมาจากกรดอะซิติกเป็นกรดสังเคราะห์ มีสมบัติละลายน้ำได้ดีและมีความเสถียร (ชมพู่ ยิ้มโต, 2550) อาจมีผลให้กรดอะซิติกมีความสามารถในการแพร่เข้าไปในเนื้อหอยหลอดได้ในปริมาณมาก จึงมีโอกาสเกิดการเสียสภาพโปรตีนได้มากจนทำให้เนื้อหอยหลอดมีลักษณะทึบ สีขาวขุ่นมาก แม้การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ร่วมด้วย อาจมีผลช่วยเสริมการเกิดการเสียสภาพโปรตีนได้ด้วยก็ตาม

สำหรับค่าสี a* และ b* แสดงผลดังตารางที่ 4-2 และ 4-3 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 วัน พบว่า ค่าสี a* มีค่าเป็นบวก (+) ซึ่งแสดงความเป็นสีแดง โดยค่า a* ของสิ่งทดลองที่ 9 และสิ่งทดลองที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นทุกวิธี ยกเว้นสิ่งทดลองที่ 2 และ 6 มีค่า a* (0.13 – 0.38) ต่ำกว่าค่า a* ของหอยหลอดสดในสิ่งทดลองที่ 10 (0.94) อาจเนื่องมาจากเนื้อหอยหลอดสุก มีลักษณะทึบแสง จึงไม่เห็นสีของอวัยวะหรือองค์ประกอบอื่นๆ ภายในเนื้อหอยหลอด ในขณะที่หอยหลอดสดมีลักษะใส จึงมีโอกาสเห็นสีเนื้อภายในได้ชัดเจนกว่า สำหรับสิ่งทดลองที่ 2 และ 6 มีการแช่หอยหลอดในน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด ซึ่งปกติมีสีออกส้มแดง จึงอาจมีผลให้เกิดการย้อมติดสีของน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดที่ผิวของเนื้อหอยหลอด จึงทำให้มีค่า a* สูงกว่าการแช่ในสารละลายกรดชนิดอื่น จนมีค่า a* ไม่แตกต่างกับหอยหลอดสด ($p > 0.05$) สำหรับค่าสี b* มีค่าเป็นบวก (+) ซึ่งแสดงความเป็นสีเหลือง พบว่า สิ่งทดลองที่ 9 และสิ่งทดลองที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นทุกวิธี (สิ่งทดลองที่ 1-8) มีค่า b* (14.28 – 19.02) สูงกว่าค่า b* ของหอยหลอดสดในสิ่งทดลองที่ 10 (11.83) แสดงถึงการสุกของเนื้อหอยหลอดมีผลให้เนื้อมีสีขาวออกเหลืองอ่อนมากกว่าหอยหลอดสดนั่นเอง ลักษณะของหอยหลอดหลังผ่านการเตรียมขั้นต้นด้วยวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide แสดงดังภาพที่ 4-1

สำหรับผลของระยะเวลาการเก็บต่อค่าสี L* a* และ b* ของหอยหลอด พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยพบแนวโน้มว่าเมื่อเก็บรักษานานขึ้นค่า L* a* และ b* มีแนวโน้มลดลง เนตรนรินทร์ ขุนสูงเนิน (2546) กล่าวว่าในเนื้อหอยมีรงควัตถุที่ให้สีที่ชื่อฮีโมไซยานิน (Haemocyanin) ซึ่งเป็นการจับกันระหว่างฮีโมโกลบิน ทองแดงและโปรตีน หากเก็บรักษาไว้นานขึ้นอาจมีโอกาสเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจน ทั้งแบบที่เกิดจากเอนไซม์และไม่ได้เกิดจากเอนไซม์ทำให้เนื้อหอยมีสีคล้ำลง (เนตรนรินทร์ ขุนสูงเนิน, 2546) นอกจากนี้หากเก็บรักษาสัตว์น้ำไว้นานขึ้น เนื้อสัตว์น้ำที่โดยปกติจะมีเนื้อใสจะมีลักษณะขุ่นคล้ำลงเป็นสีครีมหรือสีเทาได้ โดยส่วนใหญ่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบแคโรทีนอยด์ (carotenoids) ซึ่งมีในผิวหนังและเนื้อสัตว์น้ำ วิชุดา สังข์แก้ว (2554) รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพด้านสีอาจเกิดขึ้นในอาหารทะเลระหว่างการเก็บ อาจเกิดมาจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เช่น การเสื่อมเสียจากโปรตีนที่มักเกิดการสลายตัวเนื่องจากแบคทีเรียและเอนไซม์ การเสื่อมเสียจากไขมัน ที่มักเกิดการสลายตัวเมื่อสัมผัสกับออกซิเจน และการเปลี่ยนแปลงจากจุลินทรีย์ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจทำให้สี กลิ่นรส และเนื้อสัมผัส เปลี่ยนแปลงไป และอาจมีการเกิดแก๊สหรือการไหลเยิ้มของของเหลวเป็นต้น

(ก) สิ่งทดลองที่ 1

(ข) สิ่งทดลองที่ 2

(ค) สิ่งทดลองที่ 3

(ง) สิ่งทดลองที่ 4

(จ) สิ่งทดลองที่ 5

(ฉ) สิ่งทดลองที่ 6

(ช) สิ่งทดลองที่ 7

(ซ) สิ่งทดลองที่ 8

(ฌ) สิ่งทดลองที่ 9

(ญ) สิ่งทดลองที่ 10

ภาพที่ 4-1 ลักษณะของหอยหลอดหลังผ่านการเตรียมขั้นต้นด้วยวิธีการต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี ได้แก่ sous vide สิ่งทดลองที่ 1 ถึง สิ่งทดลองที่ 10 (ก) ถึง (ญ)

ตารางที่ 4-1 ค่าสี L* ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆ ก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 ℃

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	ค่าเฉลี่ยค่าสี L* ± SD			
			0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	แช่	น้ำมะนาว	$67.51 \pm 0.40^{c, E}$	$67.07 \pm 0.04^{c, F}$	$65.15 \pm 0.01^{b, E}$	$64.36 \pm 0.01^{a, E}$
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	$70.48 \pm 0.96^{b, G}$	$70.06 \pm 0.01^{b, J}$	$67.35 \pm 0.06^{a, H}$	$67.14 \pm 0.03^{a, I}$
3		สารละลายกรดซิตริก	$63.48 \pm 0.96^{b, C}$	$63.10 \pm 0.04^{b, D}$	$62.45 \pm 0.01^{b, C}$	$57.49 \pm 0.01^{a, C}$
4		สารละลายกรดอะซิติก	$70.49 \pm 0.14^{d, G}$	$69.72 \pm 0.06^{c, I}$	$67.08 \pm 0.04^{b, G}$	$65.22 \pm 0.02^{a, G}$
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว	$65.28 \pm 0.48^{c, D}$	$65.30 \pm 0.03^{c, E}$	$64.08 \pm 0.04^{b, D}$	$60.40 \pm 0.01^{a, D}$
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	$68.80 \pm 0.01^{d, F}$	$67.92 \pm 0.01^{c, G}$	$67.61 \pm 0.08^{b, I}$	$66.94 \pm 0.03^{a, H}$
7		สารละลายกรดซิตริก	$62.15 \pm 0.16^{d, B}$	$60.18 \pm 0.00^{c, C}$	$58.82 \pm 0.04^{b, B}$	$57.22 \pm 0.01^{a, B}$
8		สารละลายกรดอะซิติก	$70.03 \pm 0.02^{d, G}$	$68.83 \pm 0.06^{c, H}$	$66.46 \pm 0.01^{b, F}$	$65.07 \pm 0.08^{a, F}$
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide		$63.05 \pm 0.04^{d, BC}$	$60.04 \pm 0.01^{c, B}$	$58.02 \pm 0.02^{b, A}$	$56.15 \pm 0.01^{a, A}$
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide		$60.19 \pm 0.02^{b, A}$	$52.12 \pm 0.02^{a, A}$	-	-

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

ตารางที่ 4-2 ค่าสี a* ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆ ก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	ค่าเฉลี่ยค่าสี a* ± SD			
			0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	แช่	น้ำมะนาว	$0.34 \pm 0.01^{c, B}$	$0.29 \pm 0.02^{b, B}$	$0.25 \pm 0.02^{b, B}$	$0.20 \pm 0.01^{a, B}$
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	$0.87 \pm 0.01^{c, CD}$	$0.83 \pm 0.04^{bc, C}$	$0.78 \pm 0.02^{b, C}$	$0.68 \pm 0.05^{a, C}$
3		สารละลายกรดซิตริก	$0.37 \pm 0.03^{b, B}$	$0.29 \pm 0.04^{ab, B}$	$0.27 \pm 0.04^{a, B}$	$0.20 \pm 0.04^{a, B}$
4		สารละลายกรดอะซิติก	$0.38 \pm 0.04^{b, B}$	$0.38 \pm 0.06^{b, B}$	$0.29 \pm 0.02^{ab, B}$	$0.23 \pm 0.03^{a, B}$
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว	$0.35 \pm 0.01^{c, B}$	$0.29 \pm 0.01^{bc, B}$	$0.26 \pm 0.04^{b, B}$	$0.19 \pm 0.02^{a, B}$
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	$0.85 \pm 0.01^{b, C}$	$0.82 \pm 0.03^{ab, C}$	$0.78 \pm 0.03^{ab, C}$	$0.74 \pm 0.06^{a, C}$
7		สารละลายกรดซิตริก	$0.13 \pm 0.03^{b, A}$	$0.12 \pm 0.03^{b, A}$	$0.08 \pm 0.01^{ab, A}$	$0.05 \pm 0.02^{a, A}$
8		สารละลายกรดอะซิติก	$0.34 \pm 0.01^{c, B}$	$0.30 \pm 0.03^{bc, B}$	$0.26 \pm 0.01^{ab, B}$	$0.21 \pm 0.03^{a, B}$
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide		$0.35 \pm 0.04^{c, B}$	$0.29 \pm 0.02^{bc, B}$	$0.24 \pm 0.03^{ab, B}$	$0.19 \pm 0.01^{a, B}$
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide		$0.94 \pm 0.09^{a, D}$	$0.90 \pm 0.13^{a, C}$	-	-

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

ตารางที่ 4-3 ค่าสี b* ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆ ก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 ℃

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	ค่าเฉลี่ยค่าสี b* ± SD			
			0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	แช่	น้ำมะนาว	$19.02 \pm 0.11^{c, G}$	$17.95 \pm 0.21^{b, E}$	$17.61 \pm 0.25^{b, E}$	$16.62 \pm 0.25^{a, F}$
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	$17.92 \pm 0.11^{c, E}$	$17.10 \pm 0.28^{b, DE}$	$16.60 \pm 0.26^{b, E}$	$15.21 \pm 0.15^{a, E}$
3		สารละลายกรดซิตริก	$15.67 \pm 0.10^{c, C}$	$15.17 \pm 0.26^{bc, C}$	$14.53 \pm 0.46^{ab, CD}$	$13.97 \pm 0.57^{a, D}$
4		สารละลายกรดอะซิติก	$15.70 \pm 0.12^{c, C}$	$15.25 \pm 0.23^{bc, C}$	$14.89 \pm 0.16^{ab, D}$	$14.56 \pm 0.33^{a, DE}$
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว	$14.28 \pm 0.63^{c, B}$	$13.57 \pm 0.77^{bc, B}$	$11.67 \pm 0.95^{ab, A}$	$10.40 \pm 0.51^{a, A}$
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	$16.63 \pm 0.30^{b, D}$	$16.31 \pm 0.45^{b, D}$	$14.84 \pm 0.89^{a, CD}$	$13.94 \pm 0.10^{a, D}$
7		สารละลายกรดซิตริก	$14.70 \pm 0.23^{c, B}$	$14.05 \pm 0.23^{bc, B}$	$13.49 \pm 0.66^{ab, BC}$	$12.64 \pm 0.33^{a, BC}$
8		สารละลายกรดอะซิติก	$15.64 \pm 0.18^{c, C}$	$15.23 \pm 0.32^{c, C}$	$14.00 \pm 0.18^{b, BCD}$	$13.02 \pm 0.27^{a, C}$
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide		$14.30 \pm 0.25^{b, B}$	$14.09 \pm 0.46^{b, B}$	$12.88 \pm 0.58^{a, AB}$	$11.92 \pm 0.35^{a,B}$
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide		$11.83 \pm 0.73^{b, A}$	$11.47 \pm 0.64^{a, A}$	-	-

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

(1.2) ค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมด

จากการสุ่มตัวอย่างน้ำมะนาวและน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด รวมถึงสารละลายกรดซิตริกและสารละลายกรดอะซิติก นำมาวิเคราะห์ค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมด ได้ผลดังตารางที่ 4-4 พบว่า น้ำมะนาวมีค่า pH น้อยกว่าและมีปริมาณกรดทั้งหมดมากกว่าน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด และสามารถเตรียมสารละลายกรดซิตริกและสารละลายกรดอะซิติกให้มี pH และปริมาณกรดทั้งหมดใกล้เคียงกันกับน้ำมะนาวและน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด ตามลำดับได้

ตารางที่ 4-4 ค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นของสารละลายกรดที่ใช้ในงานวิจัย

ชนิดของสารละลายกรด	ค่า pH	ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้น (%)
น้ำมะนาว	2.27 ± 0.07	8.76 % ± 0.04
น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	2.63 ± 0.04	4.67 % ± 0.02
สารละลายกรดซิตริก	2.24 ± 0.06	8.75 % ± 0.03
สารละลายกรดอะซิติก	2.61 ± 0.02	4.66 % ± 0.05

จากตารางที่ 4-5 และ 4-6 แสดงค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 วัน พบว่า หอยหลอดสดซึ่งหมายถึงสิ่งทดลองที่ 10 ที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide และสิ่งทดลองที่ 9 ซึ่งหมายถึงหอยหลอดที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide มีค่า pH อยู่ในช่วง 6.38-7.30 และมีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ 0.01-0.02% ซึ่งมีค่า pH สูงกว่าหรือมีปริมาณกรดทั้งหมดน้อยกว่าสิ่งทดลองที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นทุกวิธี (สิ่งทดลองที่ 1-8) แสดงให้เห็นว่าการเตรียมขั้นต้นโดยการแช่ในสารละลายกรดมีผลให้หอยหลอดมีค่า pH ลดลงได้ หรือมีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น ซึ่งมีค่า pH อยู่ในช่วง 2.84 – 4.10 และมีปริมาณกรดทั้งหมด 0.03-0.06% ทั้งนี้เนื่องมาจากในระหว่างการแช่สารละลายกรดเป็นเวลา 30 นาที สารละลายกรดมีความเข้มข้นสูงกว่าความเข้มข้นของของเหลวภายในเนื้อหอยหลอด ความแตกต่างของความเข้มข้นนี้ทำให้เกิดความแตกต่างของแรงดันเกิดเป็นแรงขับให้มีการถ่ายโอนมวลสารได้ (Sankat, et al., 1996) สารละลายกรดจึงสามารถแพร่เข้าไปในเนื้อหลอดได้ นอกจากนี้สารละลายกรดบางส่วนน่าจะสามารถเคลือบติดอยู่ที่ผิวหอยหลอดด้วยจึงทำให้หอยหลอดมีค่า pH ลดลงหรือมีปริมาณกรดเพิ่มขึ้น

จากผลการทดลองพบว่า สิ่งทดลองที่ 3 และสิ่งทดลองที่ 7 ซึ่งเป็นการแช่ในสารละลายกรดซิตริกเหมือนกัน มีแนวโน้มทำให้หอยหลอดมีค่า pH ต่ำที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงที่สุด ($p<0.05$) เนื่องจากค่า pH ของสารละลายกรดซิตริกเริ่มต้นมีค่าต่ำ (2.24) โดยมีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ 8.75% และกรดซิตริกเป็นกรดสังเคราะห์มีความเสถียรสูงสามารถควบคุมค่า pH ได้ดีและไม่หมดประสิทธิภาพเมื่ออาหารสัมผัสความร้อน (ชมพู่ ยิ้มโต, 2550) จึงมีโอกาสให้สารละลายซิตริกสามารถแพร่เข้าในเนื้อหอยหลอดได้มาก และยังคงประสิทธิภาพความเป็นกรดแม้ผ่านกระบวนการแปรรูปด้วยวิธี sous vide และตลอดการเก็บ 3 สัปดาห์ พบว่าสิ่งทดลองที่มีการใช้กรดซิตริก (สิ่งทดลองที่ 3 และสิ่งทดลองที่ 7) ยังคงมีแนวโน้มค่า pH ต่ำที่สุด (2.88-2.90) และมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงที่สุด (0.72-0.80%)

Pacheco - Aguilar et al. (2008) รายงานว่า โดยปกติเนื้อสัตว์ทะเลที่เก็บรักษาไว้สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีตามธรรมชาติ โดยเกิดการสลายตัวของไกลโคเจนได้เป็นพวกกรดแลกติก นอกจากนี้ สุดสาย ตรีวานิช และ วราภา มหากาญจนกุล (2555) รายงานว่าในอาหารทะเลที่เน่าเสียสามารถตรวจพบกรดอินทรีย์หลายชนิดซึ่งเป็นผลผลิตจากแบคทีเรียพวก *Pseudomonas* กรดอินทรีย์ที่พบมาก ได้แก่ กรดฟอร์มิก (formic acid) กรดซิตริก (citric acid) กรดบิวทิริก (butyric acid) กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) และ กรดวาเลอริก (valeric acid) กรดเหล่านี้ ทำให้เนื้ออาหารทะเลมีกลิ่นและรสแตกต่างไปจากของสด จากผลการทดลองพบว่าสิ่งทดลองที่ 10 ซึ่งไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide แม้เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น 4±1 °C มีค่า pH ลดลงเป็น 5.71 และ มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 0.16% เมื่อเก็บตัวอย่างไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ (จากหอยหลอดสดที่มี pH 6.38 และปริมาณกรดทั้งหมด 0.02%) แสดงให้เห็นว่าการไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่ผ่านการแปรรูปก่อน มีโอกาสให้การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและการเจริญของจุลินทรีย์มีโอกาสเกิดได้ระหว่างการเก็บรักษาหอยหลอด เมื่อพิจารณาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นต่อค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดของหอยหลอดที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide พบว่า ค่า pH มีแนวโน้มลดลงและปริมาณกรดทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษานานขึ้น เป็นเวลา 2 และ 3 สัปดาห์ ($p<0.05$) แต่ในระยะเวลาการเก็บรักษาช่วงแรกเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดไม่แตกต่างกันกับการเก็บ 0 วัน ($p\geq0.05$) แสดงให้เห็นว่าการแปรรูปวิธี sous vide อาจมีผลต่อการชะลอการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและการเจริญของจุลินทรีย์ได้ จึงเกิดการเปลี่ยนแปลงค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดช้าลงกว่าการไม่แปรรูปวิธี sous vide

เมื่อพิจารณาค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดของสิ่งทดลองที่ 1-8 ซึ่งผ่านการเตรียมขั้นต้นก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ตลอดระยะเวลาการเก็บ 3 สัปดาห์ สำหรับค่า pH พบว่า สิ่งทดลองที่ไม่แช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์และแช่ในสารละลายกรดทุกชนิด (สิ่งทดลองที่ 5 6 7 และ 8) รวมถึงสิ่งทดลองที่แช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์และแช่ในสารละลายกรดซิตริก (สิ่งทดลองที่ 3) มีแนวโน้มคล้ายคลึงกัน คือ ค่า pH ตลอดการเก็บ 3 สัปดาห์ ค่อนข้างคงที่ โดยมีค่า pH ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงให้เห็นว่าความเป็นกรดของหอยหลอดในสิ่งทดลองดังกล่าวไม่เปลี่ยนแปลงไปตามเวลาการเก็บรักษา อาจเนื่องมาจากปริมาณกรดที่แพร่เข้าไปในเนื้อหอยหลอดมีปริมาณคงที่ หรือกลไกการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีรวมถึงการเจริญของจุลินทรีย์ อาจเกิดขึ้นน้อยหรือไม่เกิดขึ้น จนทำให้เกิดผลผลิตที่ส่งผลต่อค่าความเป็นกรดของหอยหลอด

โดยปกติการใช้สารละลายกรดช่วยควบคุม pH ของอาหารทำให้เกิดสภาวะ pH ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ และความเป็นกรดยังไปทำลายผนังเซลล์โดยทำให้โปรตีนที่ผนังเซลล์เกิดการแปรสภาพไปส่งผลให้คุณสมบัติของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ความสามารถในการให้สารต่างๆแทรกซึมผ่านของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไปเป็นสาเหตุทำให้เส้นทางขนส่งของอาหารจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เกิดการขัดข้องไปด้วย ทำให้การเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆชะงักและตายไปในที่สุด โดยมีสมมุติฐานว่ากรดจะไปรบกวนการสร้าง ATP โดยการไปขัดขวางระบบขนถ่ายอิเล็กตรอนหรือยับยั้งการขนถ่ายเมทาบอไลท์ไปยังเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (ศิวาพร ศิวเวชช, 2546) การไม่แช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์อาจมีผลส่งเสริมให้สารละลายกรดสามารถแพร่เข้าไปในเนื้อหอยหลอดได้ง่ายและสมบูรณ์มากกว่าการแช่หอยหลอดในสารละลายโซเดียมคลอ

ไรด์ก่อน การแช่อาหารในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ อาจมีผลให้สารละลายเกลือแพร่เข้าไปแทนที่น้ำในเซลล์อาหาร ช่องว่างในอาหารส่วนใหญ่จะถูกแทนที่ด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ จนกระทั่งความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์สูงขึ้นเรื่อยๆ จนถึงจุดหนึ่ง อาจมีผลให้โครงสร้างโปรตีนในอาหารเปลี่ยนแปลงไปและเสียรูปไป ทำให้เกิดลักษณะเป็นเจลขุ่นและแข็ง (กล้าณรงค์ ศรีรอต, 2521) จึงอาจขัดขวางการแพร่เข้าของสารละลายกรดหรือส่งผลให้สารละลายกรดมีโอกาสแพร่เข้าอย่างสมบูรณ์น้อยกว่า แต่สำหรับกรณีสิ่งทดลองที่ 3 แม้มีการแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ร่วมด้วย แต่ยังคงมีค่า pH ค่อนข้างต่ำและไม่เปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา อาจเนื่องมาจากสิ่งทดลองที่ใช้สารละลายกรดซิตริกซึ่งเป็นกรดที่ค่อนข้างมีความเสถียร และมี pH เริ่มต้นต่ำอยู่แล้ว จึงมีประสิทธิภาพในการแพร่เข้าไปในชิ้นหอยได้ ไม่แตกต่างกับสิ่งทดลองที่ไม่แช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ จึงให้แนวโน้มค่า pH ที่คล้ายคลึงกันตลอดการเก็บรักษา

สำหรับปริมาณกรดทั้งหมด พบว่า ทุกสิ่งทดลองมีแนวโน้มคล้ายคลึงกัน คือ ปริมาณกรดทั้งหมดตลอดการเก็บมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ทั้งนี้สำหรับกรณีสิ่งทดลองที่ผ่านการเตรียมขั้นต้น (สิ่งทดลองที่ 1-8) อาจเกิดการแพร่ของสารละลายกรดเข้าไปในชิ้นหอยหลอดเพิ่มขึ้น เพราะหอยหลอดยังคงสัมผัสกับสารละลายกรดที่ติดอยู่กับผิวหอยหลอด จึงมีผลทำให้ปริมาณกรดทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น นอกจากนี้อาจเกิดจากกลไกการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี รวมถึงการเจริญของจุลินทรีย์ที่อาจเกิดขึ้นและมีผลให้สามารถตรวจวัดปริมาณกรดที่เป็นผลได้ส่วนหนึ่ง

ตารางที่ 4-5 ค่า pH ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆ ก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	ค่า pH เฉลี่ย ± SD			
			0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	แช่	น้ำมะนาว	3.50 ± 0.12 $^{c, B}$	3.33 ± 0.04 $^{bc, A}$	3.26 ± 0.03 $^{b, B}$	3.01 ± 0.02 $^{a, B}$
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	4.07 ± 0.05 $^{b, C}$	4.04 ± 0.08 $^{ab, B}$	3.97 ± 0.04 $^{ab, C}$	3.87 ± 0.10 $^{a, D}$
3		สารละลายกรดซิตริก	3.03 ± 0.27 $^{a, A}$	2.83 ± 0.02 $^{a, A}$	2.91 ± 0.11 $^{a, A}$	2.88 ± 0.05 $^{a, A}$
4		สารละลายกรดอะซิติก	4.10 ± 0.01 $^{b, C}$	4.09 ± 0.03 $^{b, B}$	4.03 ± 0.11 $^{b, C}$	3.87 ± 0.13 $^{a, E}$
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว	3.46 ± 0.29 $^{a, B}$	3.31 ± 0.09 $^{a, A}$	3.36 ± 0.24 $^{a, B}$	3.46 ± 0.02 $^{a, C}$
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	4.08 ± 0.00 $^{a, C}$	3.93 ± 0.05 $^{a, B}$	3.95 ± 0.01 $^{a, C}$	4.06 ± 0.12 $^{a, E}$
7		สารละลายกรดซิตริก	2.84 ± 0.08 $^{a, A}$	2.85 ± 0.04 $^{a, A}$	2.88 ± 0.04 $^{a, A}$	2.90 ± 0.04 $^{a, A}$
8		สารละลายกรดอะซิติก	4.06 ± 0.02 $^{a, C}$	4.07 ± 0.01 $^{a, B}$	4.02 ± 0.05 $^{a, C}$	4.05 ± 0.00 $^{a, E}$
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide		7.30 ± 0.00 $^{c, E}$	7.22 ± 0.09 $^{bc, D}$	7.09 ± 0.06 $^{b, D}$	6.78± 0.00 $^{a, F}$
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide		6.38 ± 0.33 $^{a, D}$	5.71 ± 0.67 $^{a, C}$	-	-

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

ตารางที่ 4-6 ปริมาณกรดทั้งหมดของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆ ก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	ปริมาณกรดทั้งหมดเฉลี่ย ± SD (%)			
			0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	แช่	น้ำมะนาว	$0.05 \pm 0.01^{a, CDE}$	$0.08 \pm 0.01^{ab, BC}$	$0.11 \pm 0.01^{b, A}$	$0.32 \pm 0.02^{c, A}$
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	$0.04 \pm 0.01^{a, CDE}$	$0.06 \pm 0.01^{a, ABC}$	$0.13 \pm 0.04^{b, A}$	$0.42 \pm 0.01^{c, AB}$
3		สารละลายกรดซิตริก	$0.06 \pm 0.01^{a, DE}$	$0.09 \pm 0.01^{a, CD}$	$0.16 \pm 0.01^{b, A}$	$0.80 \pm 0.01^{c, D}$
4		สารละลายกรดอะซิติก	$0.03 \pm 0.01^{a, ABC}$	$0.05 \pm 0.01^{a, AB}$	$0.15 \pm 0.05^{b, A}$	$0.56 \pm 0.04^{c, C}$
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว	$0.06 \pm 0.01^{a, DE}$	$0.07 \pm 0.01^{a, ABC}$	$0.13 \pm 0.01^{b, A}$	$0.36 \pm 0.01^{c, AB}$
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	$0.04 \pm 0.01^{a, BCD}$	$0.07 \pm 0.01^{ab, BC}$	$0.10 \pm 0.01^{b, A}$	$0.47 \pm 0.01^{c, BC}$
7		สารละลายกรดซิตริก	$0.06 \pm 0.01^{a, E}$	$0.07 \pm 0.01^{a, ABC}$	$0.13 \pm 0.03^{b, A}$	$0.72 \pm 0.01^{c, D}$
8		สารละลายกรดอะซิติก	$0.03 \pm 0.01^{a, ABC}$	$0.04 \pm 0.01^{a, A}$	$0.12 \pm 0.02^{b, A}$	$0.29 \pm 0.01^{c, E}$
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide		$0.01 \pm 0.01^{a, A}$	$0.12 \pm 0.02^{a, D}$	$2.70 \pm 0.28^{b, B}$	$3.71 \pm 0.16^{c, A}$
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide		$0.02 \pm 0.02^{a, AB}$	$0.16 \pm 0.03^{b, E}$	-	-

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

(1.3) ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N)

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่เกิดขึ้นของอาหาร ที่สามารถบ่งบอกผลการเน่าเสียของอาหารประเภทเนื้อได้ TVB-N หมายถึง สารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด ซึ่งเป็นกลุ่มของเอมีนที่ระเหยได้ (Valatile amine) โดยตัวอย่างที่สำคัญคือ Trimethylamine (TMA) และ Dimethylamine (DMA) รวมถึงแอมโมเนียและกรดที่ระเหยได้ ซึ่งเป็นผลที่เกิดเนื่องจากการสลายตัวของโปรตีนระหว่างการเน่าเสียซึ่งอาจเกิดจากการเจริญของแบคทีเรียและการทำงานของเอนไซม์ที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์ ก่อให้เกิดกลิ่นและรสที่ผิดปกติ ปริมาณ TVB-N มีความสัมพันธ์กับคุณภาพความสดของเนื้อสัตว์ (ลักขณา รุจนะไกรกานต์, 2533) Sikorski et al. (1990) กำหนดเกณฑ์ไว้ว่า ปริมาณ TVB-N ต้องไม่เกิน 30 มิลลิกรัม/100 กรัม ซึ่งหมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภค

จากตารางที่ 4-7 แสดงปริมาณ TVB-N ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 วัน พบว่าหอยหลอดสดซึ่งหมายถึงสิ่งทดลองที่ 10 ที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide มีปริมาณ TVB-N สูงที่สุดเท่ากับ 13.44 มิลลิกรัม/100 กรัม ในขณะที่สิ่งทดลองอื่นมีปริมาณ TVB-N อยู่ในช่วง 1.07 – 3.51 มิลลิกรัม/100 กรัม แสดงให้เห็นว่าการเตรียมขั้นต้นและแปรรูปวิธี sous vide มีผลทำให้ปริมาณ TVB-N ลดลงได้ อาจเนื่องมาจากการเตรียมขั้นต้นด้วยการแช่ในสารละลายกรดหรือสารละลายโซเดียมคลอไรด์ รวมถึงการให้ความร้อนในการแปรรูปวิธี sous vide สามารถกำจัดหรือลดสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้เริ่มต้นของหอยหลอดสดได้ ในระหว่างการแช่ในสารละลายหรือให้ความร้อน

จากผลการทดลองพบข้อสังเกตว่าที่การเก็บ 0 วัน สิ่งทดลองที่มีการแช่ในสารละลายกรดซิตริกและกรดอะซิติก ร่วมกับการแช่และไม่แช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ มีค่า TVB-N แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ สิ่งทดลองที่ 3 มีค่า TVB-N น้อยกว่าสิ่งทดลองที่ 7 และสิ่งทดลองที่ 4 มีค่า TVB-N น้อยกว่าสิ่งทดลองที่ 8 แสดงให้เห็นว่า การแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ร่วมด้วย มีผลให้ค่า TVB-N ของเนื้อหอยหลอดลดลงได้มากกว่า อาจเนื่องมาจากการแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ร่วมด้วย เป็นการเพิ่มโอกาสการชะล้างสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมดได้มากกว่านั่นเอง

เมื่อเก็บรักษานานขึ้นพบว่าปริมาณ TVB-N มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลาการเก็บรักษา โดยสิ่งทดลองที่ 9 และ 10 มีแนวโน้มปริมาณ TVB-N เพิ่มขึ้นมากกว่าสิ่งทดลองอื่น โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ สิ่งทดลองที่ 9 มีปริมาณ TVB-N สูงที่สุดเท่ากับ 24.74 มิลลิกรัม/100 กรัม และที่การเก็บ 1 สัปดาห์ สิ่งทดลองที่ 10 มีปริมาณ TVB-N สูงถึง 21.39 มิลลิกรัม/100 กรัม แสดงให้เห็นว่าเมื่อเก็บรักษาหอยหลอดไว้นานขึ้น ส่งเสริมสภาวะที่เอื้อต่อการสลายตัวของโปรตีนและองค์ประกอบมากขึ้น จึงทำให้ปริมาณ TVB-N ซึ่งเป็นผลได้จากกลไกดังกล่าวมีปริมาณเพิ่มขึ้น สิ่งทดลองที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นหรือการแปรรูปวิธี sous vide เพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอกับการขัดขวางการเจริญของแบคทีเรียหรือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ช่วยให้เกิดการสลายตัวของ

โปรตีนและองค์ประกอบอื่น จึงมีผลให้มีปริมาณ TVB-N เกิดขึ้นมาก ในขณะที่สิ่งทดลองที่ 1-8 ซึ่งผ่านการเตรียมขั้นต้นและแปรรูปวิธี sous vide มีปริมาณ TVB-N ต่ำกว่าสิ่งทดลองที่ 9 และ 10 ตลอดการเก็บ 3 สัปดาห์ มีปริมาณ TVB-N อยู่ในช่วง 1.07 – 6.79 มิลลิกรัม/100 กรัม แสดงให้เห็นว่าการเตรียมขั้นต้นและการแปรรูปวิธี sous vide มีผลชะลอการเกิด TVB-N ได้ การเตรียมขั้นต้นด้วยการแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์และสารละลายกรดสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เกิดสภาวะที่มีความเข้มข้นของ Na^+ และ Cl^- ที่ไปรบกวนสภาวะการเจริญของจุลินทรีย์ รวมถึงการทำให้เกิดสภาวะ pH ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และความเป็นกรดยังไปทำลายผนังเซลล์ส่งผลให้คุณสมบัติของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไป รวมถึงความสามารถในการให้สารต่างๆแทรกซึมผ่านของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไป เป็นสาเหตุทำให้เส้นทางขนส่งของอาหารจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เกิดการขัดข้องไปด้วย ทำให้การเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆชะงักและตายไปในที่สุด (ศิวาพร ศิวเวชช, 2546) ในขณะที่การแปรรูปด้วยวิธี sous vide สามารถชะลอการเกิด TVB-N ได้โดยความร้อนไปยับยั้งหรือทำลายเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย โดยเฉพาะเอนไซม์กลุ่มที่ย่อยโปรตีนได้ (proteolytic enzyme) เช่น เอนไซม์ protease สามารถย่อยโปรตีนโมเลกุลใหญ่ให้เป็นกรดอะมิโน (amino acid) และย่อยสลายต่อไปเป็นสารระเหยที่มีกลิ่นเหม็น และความร้อนที่ใช้ยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียให้เจริญได้น้อยลง จึงมีผลก่อให้เกิดสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ พวก Trimethylamine (TMA), Dimethylamine (DMA) แอมโมเนียและกรดที่ระเหยได้ ได้น้อยลงมาก (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2556)

การเตรียมขั้นต้นมีผลทำให้ปริมาณ TVB-N แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดเวลาการเก็บรักษา โดยสิ่งทดลองที่ 2 และ 6 มีปริมาณ TVB-N ต่ำกว่าสิ่งทดลองอื่น อาจเนื่องจากน้ำส้มสายชูหมักประกอบด้วยกรดอินทรีย์หลัก คือ กรดซิตริก กรดอะซิติก และกรดมาลิก สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียและสลายตัวของโปรตีนได้ โดยกรดจะไปรบกวนเยื่อหุ้มเซลล์ ยับยั้งระบบการขนส่ง รบกวนประจุบนเซลล์ส่งผลให้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (วลัย หุตะโกวิท, ม.ป.ป.) ดังนั้นจึงมีโอกาสเกิดของสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้น้อยลง การที่สิ่งทดลองที่เตรียมขั้นต้นโดยการแช่น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดมีความสามารถในการชะลอการเกิด TVB-N ได้ดีกว่าสิ่งทดลองอื่น อาจเนื่องจากการมีประสิทธิภาพร่วมกันของกรดหลายชนิด ทำให้สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวของสารประกอบไนโตรเจนได้ดีกว่าสิ่งทดลองอื่น โดยสอดคล้องกับการศึกษาโดย พายัพ มาศนิยม (2549) พบว่า การใช้กรดแลคติก กรดอะซิติก และกรดซิตริก สามารถช่วยลดการเสื่อมเสียหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์หอยแมลงภู่แช่เย็นได้ โดยกรดเหล่านี้สามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปภายในโดยอิสระและเกิดการแตกตัวโดยให้โปรตอน จึงมีแนวโน้มที่ทำให้เซลล์มีสภาพที่เป็นกรดและทำให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ขึ้นภายในเซลล์ โดยเซลล์จะพยายามรักษาความเป็นกรด-ด่าง ที่เป็นกลางไว้โดยขับไล่โปรตอนออกไปจากเซลล์ กลไกนี้มีผลทำให้จุลินทรีย์เติบโตช้าลง เนื่องจากต้องใช้พลังงานส่วนหนึ่งขับไล่โปรตอนออกไป (Adam and Moss, 1995)

เมื่อพิจารณาปริมาณ TVB-N ของสิ่งทดลองที่ 1-8 เมื่อเก็บรักษา 1 2 และ 3 สัปดาห์ พบข้อสังเกตว่าสิ่งทดลองที่มีการเตรียมขั้นต้นโดยการแช่หรือไม่แช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์แต่แช่ในกรดชนิดเดียวกันมีปริมาณ TVB-N ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงให้เห็นว่าปริมาณ TVB-N ที่เกิดขึ้นเป็นผลจากชนิดของกรดที่ใช้มากกว่าการแช่หรือไม่แช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์

ทั้งนี้พบว่าตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ สิ่งทดลองที่ 1-9 มีค่า TVB-N อยู่ในช่วง 1.07 – 24.74 มิลลิกรัม/100 กรัม ซึ่งยังไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน 30 มิลลิกรัม/100 กรัม หมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภค

ตารางที่ 4-7 ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆ ก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 ℃

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	ค่าเฉลี่ยปริมาณ TVB-N ± SD (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง)			
			0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	แช่	น้ำมะนาว	2.99 ± 0.34 $^{a, D}$	3.34 ± 0.17 $^{a, D}$	5.35 ± 0.31 $^{b, C}$	6.79 ± 0.02 $^{c, D}$
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	1.23 ± 0.16 $^{a, A}$	1.89 ± 0.15 $^{b, AB}$	2.53 ± 0.05 $^{c, A}$	3.14 ± 0.34 $^{d, A}$
3		สารละลายกรดซิตริก	1.07 ± 0.02 $^{a, A}$	2.31 ± 0.25 $^{b, BC}$	3.76 ± 0.26 $^{c, B}$	4.73 ± 0.17 $^{d, B}$
4		สารละลายกรดอะซิติก	1.46 ± 0.17 $^{a, AB}$	2.57 ± 0.60 $^{b, C}$	3.98 ± 0.36 $^{c, B}$	5.91 ± 0.06 $^{d, C}$
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว	2.91 ± 0.04 $^{a, D}$	3.36 ± 0.13 $^{a, D}$	4.85 ± 0.37 $^{b, C}$	6.70 ± 0.12 $^{c, D}$
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	1.34 ± 0.16 $^{a, A}$	1.41 ± 0.92 $^{a, A}$	2.50 ± 0.14 $^{b, A}$	3.10 ± 0.11 $^{c, A}$
7		สารละลายกรดซิตริก	1.75 ± 0.30 $^{a, B}$	2.23 ± 0.31 $^{a, BC}$	3.93 ± 0.11 $^{b, B}$	4.49 ± 0.12 $^{b, B}$
8		สารละลายกรดอะซิติก	2.22 ± 0.33 $^{a, C}$	2.55 ± 0.30 $^{a, C}$	3.96 ± 0.85 $^{b, B}$	5.51 ± 0.25 $^{c, C}$
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide		3.51 ± 0.01 $^{a, E}$	5.03 ± 0.03 $^{b, E}$	13.35 ± 0.56 $^{c, D}$	24.74 ± 0.52 $^{d, E}$
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide		13.44 ± 0.42 $^{a, F}$	21.39 ± 0.57 $^{b, F}$	-	-

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

(1.4) ปริมาณไตรเมททิลเอมีน (TMA-N)

ไตรเมททิลเอมีน (TMA-N) จัดเป็นสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบโดยมีสมบัติระเหยได้ หรือกล่าวได้ว่าเป็นสารเอมีนที่ระเหยได้ (volatile amine) ชนิดหนึ่ง ที่ก่อให้เกิดกลิ่นและรสที่ผิดปกติเป็นผลได้จากการสลายตัวของโปรตีนระหว่างการเน่าเสีย โดยกลไกนั้นเกิดจากไตรเมททิลเอมีนออกไซด์ (TMAO) สามารถเปลี่ยนเป็น TMA ด้วยเอนไซม์ไตรเมททิลเอมีนออกซิเดส (Trimethylamine oxidase) จากปฏิกิริยารีดักชันโดยมีแบคทีเรียเป็นตัวเร่ง ตัวอย่างเช่น แบคทีเรีย *Shewanella putrifaciens* ดังนั้นจึงสามารถใช้ปริมาณ TMA-N เป็นดัชนีใช้วัดการเน่าเสียของสัตว์น้ำ (เนตรนรินทร์ ขุนสูงเนิน, 2546) Sikorski et al. (1990) กำหนดเกณฑ์ไว้ว่า ปริมาณ TMA-N ต้องไม่เกิน 10 มิลลิกรัม/100 กรัม ซึ่งหมายถึงตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภค

จากตารางที่ 4-8 แสดงปริมาณ TMA-N ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษา พบว่าตลอดเวลาการเก็บรักษา ปริมาณ TMA-N ของทุกสิ่งทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และแต่ละสิ่งทดลองเมื่อเก็บรักษานานขึ้นมีปริมาณ TMA-N ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เช่นกัน อยู่ในช่วง 0.01 – 0.02 มิลลิกรัม/100 กรัม ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Olley and Thrower (1977) ที่พบว่า TMA-N ซึ่งเกิดจากการแตกตัวของ TMAO ในหอยเป๋าฮื้อ *Haliotis gigantean* มีปริมาณต่ำมากจนเกือบไม่มีเลย ทั้งนี้ขึ้นกับธรรมชาติของวัตถุดิบ โดยปริมาณของ TMAO และ TMA-N ขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์น้ำและสิ่งแวดล้อมเป็นสำคัญ TMA-N จะเป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นจากการเน่าเสียของปลาหลายชนิด แต่อาจตรวจพบได้ในปริมาณน้อยมากขึ้นกับชนิดปลา Ozogul, Ozogul and Gokbulut (2006) กล่าวว่าระดับของ TMAO ที่มีในสัตว์ทะเลนั้นแตกต่างกันไปตามชนิด อายุ ขนาด ที่อยู่อาศัย สิ่งแวดล้อมและช่วงเวลา จึงทำให้ระดับ TMAO เริ่มต้นและ TMA-N ที่เกิดขึ้นแตกต่างกันไปด้วย (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548) Murata and Sakaguchi (1986) ได้ทดลองหาปริมาณ TMAO ในหอยนางรมสดพบว่ามีปริมาณต่ำมาก คือพบว่าต่ำกว่า 0.5 มิลลิกรัม/100 กรัม เช่นเดียวกับปลานิลสดที่พบปริมาณ TMA-N ต่ำมาก คือประมาณ 0.05 มิลลิกรัม/100 กรัม (Reddy, Villanueva and Kautter, 1995) ปลาทูน่าสดก็มีปริมาณ TMA-N ต่ำมากประมาณ 1.1 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง เช่นกัน และมีปริมาณสูงเพียง 2.8 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง เมื่อเก็บรักษาโดยการแช่เย็นนานถึง 33 วัน (Price, Melvin and Bell, 1991) Reddy et al. (1994) รายงานว่าเมื่อเก็บรักษาปลานิล ที่อุณหภูมิต่ำสามารถช่วยชะลอการเกิด TMA-N ได้ โดยพบว่าการทดลองเก็บปลานิล ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณ TMA-N ต่ำมากใน 6 วันแรก (0.07-1.10 มิลลิกรัม/100 กรัม) จากเดิมที่มีปริมาณ TMA-N ที่พบในปลานิลสดต่ำอยู่แล้วคือประมาณ 0.07 มิลลิกรัม/100 กรัม สำหรับจากผลการทดลองอาจกล่าวได้ว่า การที่ปริมาณ TMA-N ในตัวอย่างหอยหลอดทุกสิ่งทดลองมีปริมาณต่ำอาจเนื่องจากในหอยหลอดมีปริมาณ TMAO เริ่มต้นต่ำ จึงมีโอกาสน้อยในการเปลี่ยนแปลงไปเป็น TMA-N และการเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิต่ำซึ่งมีส่วนช่วยชะลอการเกิด TMA-Nระหว่างการเก็บรักษาได้ด้วย ทั้งนี้พบว่าตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ สิ่งทดลองที่ 1-9 มีปริมาณ TMA-N อยู่ในช่วง 0.01 – 0.02 มิลลิกรัม/100 กรัม ซึ่งยังไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน 10 มิลลิกรัม/100 กรัม หมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภค

ตารางที่ 4-8 ปริมาณไตรเมททิลเอมีน (TMA-N) ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆ ก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 ℃

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	ค่าเฉลี่ยปริมาณ TMA-N ± SD (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง)			
			0 สัปดาห์ NS	7 สัปดาห์ NS	14 สัปดาห์ NS	21 สัปดาห์ NS
1	แช่	น้ำมะนาว ns	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด ns	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01
3		สารละลายกรดซิตริก ns	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01
4		สารละลายกรดอะซิติก ns	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว ns	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด ns	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01
7		สารละลายกรดซิตริก ns	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
8		สารละลายกรดอะซิติก ns	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide ns		0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide ns		0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	-	-

ns ค่าเฉลี่ยในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

NS ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

- ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

(1.5) ค่า TBARS

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid oxidation) เป็นกระบวนที่เกิดขึ้นได้โดยมีแสงและอุณหภูมิเป็นตัวเร่ง ซึ่งมักจะเกิดกับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงได้ง่ายและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพอาหารด้านต่างๆ เช่น กลิ่นหืน เมื่อไขมันถูกออกซิไดส์จะได้สารประกอบของมาโลนอัลดีไฮด์ (malonaldehyde) ซึ่งเทคนิค Thiobarbituric reactive substances (TBARS) เป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ทดสอบหาปริมาณมาโลนอัลดีไฮด์ได้ ซึ่งจัดเป็นการติดตามการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขั้นสุดท้าย โดยอาศัยหลักการว่ามาโลนอัลดีไฮด์ สามารถทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาบิทูริก (2-thiobabituric acid) เกิดเป็นสารประกอบสีแดง (red chromogen) ที่สามารถใช้ประเมินปริมาณมาโลนอัลดีไฮด์ได้ โดยค่า TBARS รายงานเป็นมิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์/กิโลกรัม (พัชรินทร์ ภักดีฉนวน, 2555) Schormuller (1968) กำหนดเกณฑ์ไว้ว่า ค่า TBARS ต้องไม่เกิน 12.5 มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์ / กิโลกรัม ซึ่งหมายถึงตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภค

จากตารางที่ 4-9 แสดงค่า TBARS ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 สัปดาห์ พบว่า หอยหลอดสด ซึ่งหมายถึงสิ่งทดลองที่ 10 ที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide มีค่า TBARS เท่ากับ 2.51 มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์/กิโลกรัม ในขณะที่สิ่งทดลองอื่น มีค่า TBARS อยู่ในช่วง 0.76 – 1.28มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์/กิโลกรัม แสดงให้เห็นว่าการเตรียมขั้นต้นและแปรรูปวิธี sous vide มีผลทำให้ค่า TBARS ลดลงได้ อาจเนื่องมาจากการเตรียมขั้นต้นด้วยการแช่ในสารละลายกรดหรือสารละลายโซเดียมคลอไรด์ รวมถึงการให้ความร้อนในการแปรรูปวิธี sous vide สามารถกำจัดหรือลดปริมาณมาโลนอัลดีไฮด์เริ่มต้นของหอยหลอดสดได้ ระหว่างการแช่ในสารละลายหรือให้ความร้อน

จากผลการทดลองพบข้อสังเกตว่าที่การเก็บ 0 สัปดาห์ สิ่งทดลองที่ 4 มีค่า TBARS มากกว่าสิ่งทดลองที่ 8 โดยสิ่งทดลองที่ 4 หมายถึงการแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับการแช่ในสารละลายกรดอะซิติก ในขณะที่สิ่งทดลองที่ 8 หมายถึงการแช่ในสารละลายกรดอะซิติกเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกรดอะซิติกเป็นกรดสังเคราะห์ที่มีสมบัติในการละลายไขมันได้ (ณัฐพล ฟ้าภิญโญ, 2550) การแช่เนื้อหอยหลอดในสารละลายกรดอะซิติกเพียงอย่างเดียวจึงเอื้อต่อการชะละลายไขมันในเนื้อหอยหลอดออกได้มาก ซึ่งเป็นการลดสารตั้งต้นที่จะก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ดีกว่าการแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ร่วมด้วย

เมื่อเก็บรักษานานขึ้นพบว่าค่า TBARS มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลาการเก็บรักษา เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ในเนื้อสัตว์ทะเลมักมีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบอยู่สูง ทำให้มีโอกาสเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวได้ นอกจากนี้กรดอินทรีย์ที่ใช้แช่เนื้อหอยมีผลให้เกิดการสูญเสียสภาพโปรตีน ทำให้เกิดการปลดปล่อยเหล็กจากฮีม ซึ่งเหล็กเป็นสาเหตุทำให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันในระบบกล้ามเนื้อสัตว์ได้ (พายัพ มาศนิยม, 2549) และการเก็บรักษานานขึ้นอาจเพิ่มโอกาสให้กรดสามารถแพร่เข้าไปในชิ้นหอยหลอดเพิ่มขึ้น เพราะหอยหลอดยังคงสัมผัสกับสารละลายกรดที่ติดอยู่กับผิวหอยหลอด Masniyom et al. (2002) รายงานว่าสภาวะกรดมีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ใน

เนื้อสัตว์ที่ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ อาจกล่าวได้ว่าการแช่สารละลายกรดอาจมีผลเชิงลบต่อการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาโดย Cosansu et al. (2013) รายงานว่า การใช้วิธี sous vide เพียงอย่างเดียวเพียงพอต่อการกำจัดและควบคุมปริมาณออกซิเจนที่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการใช้น้ำเลมอนร่วมด้วยในการแช่ปลาไวทิง (Whiting) จึงมิได้ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันลดลง ซึ่งสอดคล้องกับที่ Fernandaz-Espla and O'Neill (1993) กล่าวว่า ข้อดีของการแปรรูปวิธี sous vide ซึ่งมีการบรรจุในสภาวะสุญญากาศ ทำให้สามารถลดปริมาณออกซิเจนและช่วยลดการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้

ทั้งนี้พบว่า ตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ สิ่งทดลองที่ 1-9 มีค่า TBARS อยู่ในช่วง 0.76-3.24 มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์/กิโลกรัม ซึ่งยังไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน 12.5 มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์/กิโลกรัม หมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภค

ตารางที่ 4-9 ค่า TBARS ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆ ก่อนการแปรที่รูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาอุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	ค่าเฉลี่ยปริมาณ TBARS ± SD (มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม)			
			0 สัปดาห์	7 สัปดาห์	14 สัปดาห์	21 สัปดาห์
1	แช่	น้ำมะนาว	0.85 ± 0.02 $^{a, AB}$	1.01 ± 0.02 $^{b, B}$	1.11 ± 0.03 $^{c, A}$	1.66 ± 0.04 $^{d, B}$
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	0.76 ± 0.01 $^{a, A}$	1.05 ± 0.01 $^{b, B}$	1.20 ± 0.04 $^{b, B}$	1.48 ± 0.02 $^{c, A}$
3		สารละลายกรดซิตริก	0.77 ± 0.06 $^{a, A}$	1.26 ± 0.05 $^{b, C}$	1.92 ± 0.06 $^{c, E}$	2.15 ± 0.03 $^{d, D}$
4		สารละลายกรดอะซิติก	1.00 ± 0.04 $^{a, C}$	1.02 ± 0.03 $^{a, B}$	1.41 ± 0.01 $^{b, C}$	1.90 ± 0.01 $^{c, C}$
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว	0.92 ± 0.05 $^{a, C}$	1.00 ± 0.04 $^{a, B}$	1.26 ± 0.06 $^{b, B}$	1.63 ± 0.06 $^{c, B}$
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	0.76 ± 0.06 $^{a, A}$	1.03 ± 0.03 $^{b, B}$	1.25 ± 0.02 $^{c, B}$	1.48 ± 0.03 $^{d, A}$
7		สารละลายกรดซิตริก	1.02 ± 0.04 $^{a, C}$	1.61 ± 0.02 $^{b, D}$	1.65 ± 0.04 $^{b, D}$	2.15 ± 0.01 $^{c, D}$
8		สารละลายกรดอะซิติก	0.81 ± 0.02 $^{a, A}$	0.93 ± 0.02 $^{b, A}$	1.38 ± 0.04 $^{c, C}$	1.90 ± 0.01 $^{d, C}$
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide		1.28 ± 0.02 $^{a, D}$	2.11 ± 0.01 $^{b, E}$	2.64 ± 0.01 $^{c, F}$	3.24 ± 0.04 $^{d, E}$
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide		2.51 ± 0.01 $^{a, E}$	3.42 ± 0.03 $^{b, F}$	-	-

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

(2) ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลการประเมินความสดของตัวอย่างหอยหลอด ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมของหอยหลอด ทั้ง 10 สิ่งทดลอง โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 6 คน ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธีให้คะแนนการยอมรับ 0-10 คะแนน โดยคะแนน 0 หมายถึง ตัวอย่างเน่าเสียแล้ว 5 หมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ และ 10 หมายถึง ตัวอย่างสดมากที่สุด ประเมินความสดของทุกสิ่งทดลองระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 7 14 และ21 วัน ยกเว้นสิ่งทดลองที่ 10 ซึ่งตรวจพบการเจริญของ Mesophilic aerobic bacteria เกิน 6 log CFU/กรัม ตั้งแต่การเก็บรักษาเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จึงไม่มีการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส รายละเอียดผลการทดลอง มีดังนี้

(2.1) ความสดด้านลักษณะปรากฏ

จากตารางที่ 4-10 แสดงคะแนนประเมินความสดด้านลักษณะปรากฏของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 สัปดาห์ พบว่า หอยหลอดทุกสิ่งทดลองได้รับคะแนนประเมินความสดด้านลักษณะปรากฏเท่ากับ 10 คะแนนเท่ากัน ซึ่งหมายถึง ตัวอย่างสดมากที่สุด แสดงให้เห็นว่าการเตรียมขั้นต้นและแปรรูปวิธี sous vide ไม่มีผลต่อการยอมรับความสดด้านลักษณะปรากฏของหอยหลอด แต่เมื่อเก็บรักษานานขึ้น พบแนวโน้มคะแนนประเมินความสดด้านลักษณะปรากฏน้อยลง โดยเฉพาะสิ่งทดลองที่ 9 ซึ่งหมายถึงหอยหลอดที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide ได้รับคะแนนประเมินความสดได้คะแนนด้านลักษณะปรากฏต่ำที่สุด เมื่อเก็บไว้นานขึ้นถึง 2 และ 3 สัปดาห์ และพบว่าตัวอย่างไม่เป็นที่ยอมรับ (น้อยกว่า 5) เมื่อเก็บรักษาไว้ 3 สัปดาห์ โดยได้คะแนนความสดด้านลักษณะปรากฏ เท่ากับ 4.83 สำหรับสิ่งทดลองที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นทุกวิธี (สิ่งทดลองที่ 1-8) ตัวอย่างยังคงเป็นที่ยอมรับความสดด้านลักษณะปรากฏตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ โดยได้คะแนนอยู่ในช่วง 5.83 - 10.00 ทั้งนี้เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ พบว่าผู้ประเมินให้คะแนนความสดด้านลักษณะปรากฏกับสิ่งทดลองที่ 6 ซึ่งหมายถึง หอยหลอดที่ผ่านการแช่ในน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดสูงที่สุด (8.00 คะแนน)

(2.2) ความสดด้านสี

จากตารางที่ 4-11 แสดงคะแนนประเมินความสดด้านสีของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 สัปดาห์ พบว่า มีแนวโน้มคะแนนประเมินคล้ายกับกรณีความสดด้านลักษณะปรากฏ หอยหลอดทุกสิ่งทดลองได้รับคะแนนประเมินความสดด้านสี เท่ากับ 10 คะแนนเท่ากัน ซึ่งหมายถึง ตัวอย่างสดมากที่สุด แสดงให้เห็นว่าการเตรียมขั้นต้นและแปรรูปวิธี sous vide ไม่มีผลต่อการยอมรับความสดด้านสีของหอยหลอด เมื่อเก็บรักษานานขึ้น พบแนวโน้มคะแนนประเมินความสดด้านสีน้อยลง โดยเฉพาะสิ่งทดลองที่ 9 ซึ่งหมายถึงหอยหลอดที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide ได้รับคะแนนประเมินความสดด้านสีต่ำที่สุด เมื่อเก็บไว้นานขึ้นถึง 2 และ 3 สัปดาห์ และพบว่า ตัวอย่างไม่เป็นที่ยอมรับ (ได้คะแนนน้อยกว่า 5 คะแนน) เมื่อเก็บรักษาไว้ 3 สัปดาห์ โดยได้คะแนนประเมินความสดด้านสี เท่ากับ 4.67 สำหรับสิ่งทดลองที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นทุกวิธี (สิ่งทดลองที่ 1-8) ตัวอย่างยังคงเป็นที่ยอมรับความสดด้านสีตลอดการเก็บรักษา 3

สัปดาห์ โดยได้คะแนนอยู่ในช่วง 6.00 – 10.00 ทั้งนี้เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ พบว่าผู้ประเมินให้คะแนนความสดด้านสีกับสิ่งทดลองที่ 6 ซึ่งหมายถึง หอยหลอดที่ผ่านการแช่ในน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดสูงที่สุด (7.83 คะแนน) อาจเนื่องมาจากสิ่งทดลองนี้เป็นการแช่หอยหลอดในน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด ซึ่งปกติมีสีออกส้มแดง จึงอาจมีผลทำให้เกิดการย้อมติดสีของน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดที่ผิวของเนื้อหอยหลอด ทำให้มีสีไม่ซีดจาง จึงทำให้ได้รับคะแนนความสดด้านสีมากกว่าสิ่งทดลองอื่น

(2.3) ความสดด้านกลิ่น

จากตารางที่ 4-12 แสดงคะแนนประเมินความสดด้านกลิ่นของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 สัปดาห์ พบว่า สิ่งทดลองที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นด้วยกรดจากธรรมชาติ (สิ่งทดลองที่ 1 2 5 และ 6) มีแนวโน้มคะแนนความสดด้านกลิ่น สูงกว่า สิ่งทดลองที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นด้วยกรดสังเคราะห์ (สิ่งทดลองที่ 3 4 7 และ 8) อาจเนื่องมาจากการใช้กรดจากวัตถุดิบธรรมชาติ มีส่วนช่วยให้เกิดการยอมรับด้านประสาทสัมผัสในผลิตภัณฑ์ได้ดีกว่าการใช้กรดสังเคราะห์ เนื่องจากวัตถุดิบธรรมชาติมีกลิ่นรสเฉพาะที่คุ้นเคยและเป็นธรรมชาติ รวมถึงได้รับการยอมรับโดยทั่วไปว่ามีความปลอดภัยในการบริโภค (Cosansu et al., 2013) เมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้น พบแนวโน้มคะแนนความสดด้านกลิ่นน้อยลง โดยเฉพาะสิ่งทดลองที่ 9 ซึ่งหมายถึงหอยหลอดที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide ได้รับคะแนนประเมินความสดด้านกลิ่นต่ำที่สุด เมื่อเก็บไว้นานขึ้นถึง 2 และ 3 สัปดาห์ และพบว่าตัวอย่างไม่เป็นที่ยอมรับ (ได้คะแนนน้อยกว่า 5 คะแนน) เมื่อเก็บรักษาไว้ 3 สัปดาห์ โดยได้คะแนนความสดด้านกลิ่น เท่ากับ 3.50 ทั้งนี้เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ พบว่าผู้ประเมินให้คะแนนความสดด้านกลิ่นกับสิ่งทดลองที่ 6 สูงที่สุด (7.67 คะแนน) ซึ่งสอดคล้องกับความสดด้านลักษณะปรากฏและสี เนื่องจากสิ่งทดลองดังกล่าวนี้แช่ในสารละลายน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด ที่ปกติมีกลิ่นหอมจากการหมักเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวและเป็นกลิ่นหอมจากสับปะรดที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักด้วย

(2.4) ความสดด้านรสชาติ

จากตารางที่ 4-13 แสดงคะแนนความสดด้านรสชาติของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาผลการทดสอบชิมหอยหลอดที่การเก็บ 0 สัปดาห์ และนำมาทำให้สุกโดยการให้ความร้อนโดยการต้ม พบว่า สิ่งทดลองที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นด้วยกรดจากธรรมชาติ (สิ่งทดลองที่ 1 2 5 และ 6) มีแนวโน้มคะแนนความสดด้านรสชาติสูงกว่าสิ่งทดลองที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นด้วยกรดสังเคราะห์ (สิ่งทดลองที่ 3 4 7 และ 8) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้กรดจากวัตถุดิบธรรมชาติมีส่วนช่วยให้เกิดการยอมรับด้านประสาทสัมผัสในผลิตภัณฑ์ได้ดีกว่าการใช้กรดสังเคราะห์ เนื่องจากวัตถุดิบธรรมชาติมีกลิ่นรสเฉพาะและได้รับการยอมรับโดยทั่วไปว่ามีความปลอดภัยในการบริโภค (Cosansu et al., 2013) เมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้น พบแนวโน้มคะแนนความสดด้านรสชาติน้อยลง โดยเฉพาะสิ่งทดลองที่ 9 ซึ่งหมายถึงหอยหลอดที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide ได้รับคะแนนความสดด้านรสชาติต่ำที่สุด เมื่อเก็บไว้นานขึ้นถึง 2 และ 3 สัปดาห์ และพบว่าตัวอย่างไม่เป็นที่ยอมรับ (ได้คะแนนน้อยกว่า 5 คะแนน) เมื่อเก็บรักษาไว้ 3 สัปดาห์ โดยได้คะแนนความสดด้าน

รสชาติ เท่ากับ 4.17 ทั้งนี้เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ พบว่าผู้ประเมินยังคงให้คะแนนความสดด้านรสชาติกับสิ่งทดลองที่ 6 ซึ่งหมายถึง หอยหลอดที่ผ่านการแช่ในน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดสูงที่สุด (7.83 คะแนน)

(2.5) ความชอบโดยรวม

จากตารางที่ 4-14 แสดงคะแนนความชอบโดยรวมของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา พบว่าแนวโน้มสอดคล้องกับผลประเมินคะแนนความสดด้านต่างๆ ที่พบว่า สิ่งทดลองที่ 6 ได้รับคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด ตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ แสดงให้เห็นว่าหากคุณลักษณะด้านความสดทุกด้านเป็นที่ยอมรับจากผู้ทดสอบ มีผลให้ได้คะแนนความชอบโดยรวมสูงด้วย การที่สิ่งทดลองที่ 6 ได้รับคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด คือได้คะแนน 8.33 – 9.67 ตลอดการเก็บ 3 สัปดาห์ ซึ่งอยู่ในระดับเป็นที่ยอมรับและตัวอย่างมีความสดมาก เนื่องจากสิ่งทดลองดังกล่าว ผ่านการเตรียมขั้นต้นโดยแช่ในน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด เป็นเวลา 30 นาที ก่อนการนำมาแปรรูปวิธี sous vide อาจมีผลทำให้น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดแพร่เข้าไปในชิ้นเนื้อหอยหลอด และระหว่างการ sous vide ที่เป็นการบรรจุในสภาวะสุญญากาศ เกิดแรงบีบอัดทำให้เกิดการกระตุ้นการแพร่ของสารละลายในสภาวะสุญญากาศได้อีกส่วนหนึ่งด้วย (พัชรินทร์ ภักดีฉนวน, 2557; ประกายแก้ว ศุภอักษร, 2557) โดยน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดนี้จะมีกลิ่นหอมตามกลิ่นของวัตถุดิบ มีรสชาติดี มีรสหวาน และมีกลิ่นของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักคือสับปะรด ที่มีความหอมเป็นที่ยอมรับ และในระหว่างการหมักอาจเกิดกลิ่นที่พึงประสงค์ที่เป็นเอกลักษณ์บางชนิดด้วย ดังนั้นจึงเอื้อให้เกิดกลิ่น รสชาติเฉพาะที่เป็นที่ยอมรับ รวมถึงกรดที่เคลือบอยู่ที่ชิ้นหอยหลอด สามารถชะลอการเสื่อมเสียจากจุลินทีย์ได้ โดยความเป็นกรดสามารถไปทำลายผนังเซลล์ทำให้โปรตีนที่ผนังเซลล์เกิดการแปรสภาพไป ส่งผลให้คุณสมบัติของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ความสามารถในการให้สารต่างๆแทรกซึมผ่านของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไป เป็นสาเหตุทำให้เส้นทางขนส่งของอาหารจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เกิดการขัดข้องไปด้วย ทำให้การเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆชะงักและตายไปในที่สุด โดยมีสมมุติฐานว่ากรดจะไปรบกวนการสร้าง ATP โดยการไปขัดขวางระบบขนถ่ายอิเล็กตรอนหรือยับยั้งการขนถ่ายเมทาบอไลท์ไปยังเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (ศิวาพร ศิวเวชช , 2546)

นอกจากนี้การไม่แช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ เป็นการลดโอกาสการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน เนื่องจากโซเดียมคลอไรด์สามารถแตกตัวเป็นประจุบวกและประจุลบและรวมกับโปรตีนเพราะการใช้เกลืออาจทำให้โปรตีนละลายได้มากขึ้น หรือจับกับน้ำได้ดีขึ้น มีผลให้โปรตีนเกิดการตกตะกอนได้หรือเสียสภาพธรรมชาติได้ (บุญรอด วงษ์สวาท, 2557; วิจิตรา หลวงอินทร์, ม.ป.ป.) สิ่งทดลองที่ 6 นี้ จึงเป็นตัวอย่างหอยหลอดที่มีลักษณะเนื้อสัมผัสคล้ายของสดมากกว่า สอดคล้องกับผลการวิจัยของ เกรียงไกร สิงห์แก้ว (2546) พบว่า เกลือเป็นสาเหตุของการสูญเสียน้ำอย่างรุนแรง อีกทั้งไอออนของเกลือ เช่น Na^+ ทำให้โปรตีนบางตัวเกิดการเสียสภาพธรรมชาติไปได้ ซึ่งมีผลให้เนื้อสัมผัสของวัตถุดิบเปลี่ยนแปลงไปจากของสด และสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Ponce De Leon et al. (1993) ที่พบว่า การใช้กรดอินทรีย์สามารถควบคุมการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อม

เสียในปลาได้ โดยใช้กรดอะซิติกและกรดซิตริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.02-0.05 มีผลให้แบคทีเรียชนิดต่างๆ ในปลา โดยเฉพาะ*Pseudomonas sp.* และ *Moraxella sp.* ถูกยับยั้งการเจริญได้ จึงมีผลให้การรักษาลักษณะของปลาให้คล้ายกับของสดได้มากกว่าการไม่ใช้กรด

ทั้งนี้พบว่า ตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ สิ่งทดลองที่ 6 มีคะแนนความสดด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมมากที่สุด อยู่ในช่วง 7.67-10.00 ซึ่งหมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสด

ตารางที่ 4-10 คะแนนความสดด้านลักษณะปรากฏของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆ ก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	ค่าเฉลี่ยคะแนนความสดด้านลักษณะปรากฏ * ± SD			
			0 สัปดาห์ ^{NS}	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	แช่	น้ำมะนาว	10.00 ± 0.00 ^{c}	9.50 ± 0.55 $^{c, CD}$	7.67 ± 0.52 $^{b, C}$	6.83 ± 0.41 $^{a, C}$
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	10.00 ± 0.00 ^{d}	8.67 ± 0.52 $^{c, AB}$	7.33 ± 0.52 $^{b, BC}$	6.67 ± 0.52 $^{a, C}$
3		สารละลายกรดซิตริก	10.00 ± 0.00 ^{c}	8.67 ± 0.52 $^{b, AB}$	6.00 ± 0.63 $^{a, A}$	5.83 ± 0.75 $^{a, B}$
4		สารละลายกรดอะซิติก	10.00 ± 0.00 ^{c}	9.83 ± 0.41 $^{c, D}$	7.50 ± 0.84 $^{b, C}$	6.50 ± 0.55 $^{a, C}$
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว	10.00 ± 0.00 ^{c}	9.67 ± 0.52 $^{c, D}$	7.50 ± 0.55 $^{b, C}$	7.00 ± 0.00 $^{a, C}$
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	10.00 ± 0.00 ^{b}	9.83 ± 0.41 $^{b, D}$	8.00 ± 0.00 $^{a, C}$	8.00 ± 0.00 $^{a, D}$
7		สารละลายกรดซิตริก	10.00 ± 0.00 ^{c}	8.33 ± 0.52 $^{b, A}$	6.67 ± 0.52 $^{a, B}$	6.50 ± 0.55 $^{a, C}$
8		สารละลายกรดอะซิติก	10.00 ± 0.00 ^{c}	9.67 ± 0.52 $^{c, D}$	7.33 ± 0.52 $^{b, BC}$	6.67 ± 0.52 $^{a, C}$
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide		10.00 ± 0.00 ^{d}	9.00 ± 0.00 $^{c, BC}$	5.67 ± 0.52 $^{b, A}$	4.83 ± 0.41 $^{a, A}$
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide		10.00 ± 0.00 ^{d}	-	-	-

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{NS} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

\- ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

* ให้คะแนนการยอมรับความสดจาก 0-10 โดยคะแนน 0 = ตัวอย่างเน่าเสียแล้ว 5 = ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ และ 10 = ตัวอย่างสดมากที่สุด

ตารางที่ 4-11 คะแนนความสดด้านสีของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆ ก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	ค่าเฉลี่ยคะแนนความสดด้านสี * ± SD			
			0 สัปดาห์ ^{NS}	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	แช่	น้ำมะนาว	10.00 ± 0.00 ^{b}	9.50 ± 0.55 $^{b, CD}$	7.17 ± 0.75 $^{a, C}$	6.67 ± 0.52 $^{a, BC}$
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	10.00 ± 0.00 ^{c}	8.67 ± 0.52 $^{b, AB}$	6.83 ± 0.41 $^{a, BC}$	6.67 ± 0.52 $^{a, BC}$
3		สารละลายกรดซิตริก	10.00 ± 0.00 ^{c}	8.67 ± 0.52 $^{b, AB}$	6.17 ± 0.41 $^{a, AB}$	6.00 ± 0.63 $^{a, B}$
4		สารละลายกรดอะซิติก	10.00 ± 0.00 ^{c}	9.83 ± 0.41 $^{c, D}$	7.33 ± 0.82 $^{b, CD}$	6.50 ± 0.55 $^{a, BC}$
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว	10.00 ± 0.00 ^{b}	9.67 ± 0.52 $^{b, D}$	7.17 ± 0.75 $^{a, C}$	7.00 ± 0.00 $^{a, C}$
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	10.00 ± 0.00 ^{b}	9.83 ± 0.41 $^{b, D}$	8.00 ± 0.00 $^{a, D}$	7.83 ± 0.41 $^{a, D}$
7		สารละลายกรดซิตริก	10.00 ± 0.00 ^{c}	8.33 ± 0.52 $^{b, A}$	6.17 ± 0.75 $^{a, AB}$	6.00 ± 0.63 $^{a, B}$
8		สารละลายกรดอะซิติก	10.00 ± 0.00 ^{b}	9.67 ± 0.52 $^{b, D}$	6.83 ± 0.75 $^{a, BC}$	6.67 ± 0.52 $^{a, BC}$
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide		10.00 ± 0.00 ^{d}	9.00 ± 0.00 $^{c, BC}$	5.67 ± 0.52 $^{b, A}$	4.67 ± 0.52 $^{a, A}$
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide		10.00 ± 0.00 ^{d}	-	-	-

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{NS} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

- ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

* ให้คะแนนการยอมรับความสดจาก 0-10 โดยคะแนน 0 = ตัวอย่างเน่าเสียแล้ว 5 = ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ และ 10 = ตัวอย่างสดมากที่สุด

ตารางที่ 4-12 คะแนนความสดด้านกลิ่นของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆ ก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	ค่าเฉลี่ยคะแนนความสดด้านกลิ่น * ± SD			
			0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	แช่	น้ำมะนาว	$9.33 \pm 0.52^{c, B}$	$7.17 \pm 0.75^{b, B}$	$6.50 \pm 0.55^{ab, CD}$	$5.83 \pm 0.75^{a, EF}$
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	$9.25 \pm 0.27^{c, B}$	$6.83 \pm 0.41^{b, B}$	$6.00 \pm 0.63^{a, BC}$	$5.50 \pm 1.04^{a, DEF}$
3		สารละลายกรดซิตริก	$7.33 \pm 0.52^{c, A}$	$5.67 \pm 0.52^{b, A}$	$5.50 \pm 0.55^{b, AB}$	$3.83 \pm 0.75^{a, AB}$
4		สารละลายกรดอะซิติก	$7.83 \pm 0.41^{c, A}$	$6.50 \pm 0.55^{b, B}$	$5.83 \pm 0.75^{b, BC}$	$5.00 \pm 0.63^{a, CDE}$
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว	$9.42 \pm 0.49^{b, B}$	$7.00 \pm 0.63^{a, B}$	$7.00 \pm 0.63^{a, DE}$	$6.33 \pm 0.52^{a, F}$
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	$9.33 \pm 0.26^{b, B}$	$7.83 \pm 0.41^{a, C}$	$7.67 \pm 0.52^{a, E}$	$7.67 \pm 0.52^{a, G}$
7		สารละลายกรดซิตริก	$7.50 \pm 0.55^{c, A}$	$5.50 \pm 0.55^{b, A}$	$5.33 \pm 0.52^{b, AB}$	$4.33 \pm 0.82^{a, ABC}$
8		สารละลายกรดอะซิติก	$7.67 \pm 0.52^{c, A}$	$6.50 \pm 0.55^{b, B}$	$6.00 \pm 0.63^{b, BC}$	$4.67 \pm 0.82^{a, BCD}$
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide		$9.67 \pm 0.52^{d, BC}$	$5.55 \pm 0.55^{c, A}$	$4.83 \pm 0.41^{b, A}$	$3.50 \pm 0.55^{a, A}$
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide		$10.00 \pm 0.00^{d, C}$	-	-	-

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

\- ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

* ให้คะแนนการยอมรับความสดจาก 0-10 โดยคะแนน 0 = ตัวอย่างเน่าเสียแล้ว 5 = ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ และ 10 = ตัวอย่างสดมากที่สุด

ตารางที่ 4-13 คะแนนความสดด้านรสชาติของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆ ก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	ค่าเฉลี่ยคะแนนความสดด้านรสชาติ * ± SD			
			0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	แช่	น้ำมะนาว	$9.67 \pm 0.41^{c, B}$	$7.00 \pm 0.63^{b, ED}$	$6.50 \pm 0.55^{ab, BC}$	$6.00 \pm 0.63^{a, CD}$
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	$9.67 \pm 0.52^{c, B}$	$6.67 \pm 0.52^{b, BCD}$	$6.33 \pm 0.52^{ab, B}$	$5.83 \pm 0.41^{a, CD}$
3		สารละลายกรดซิตริก	$7.33 \pm 0.52^{c, A}$	$6.00 \pm 0.63^{b, AB}$	$5.67 \pm 0.52^{b, A}$	$4.83 \pm 0.41^{a, B}$
4		สารละลายกรดอะซิติก	$7.67 \pm 0.52^{c, A}$	$6.33 \pm 0.52^{b, AB}$	$5.67 \pm 0.52^{a, A}$	$5.33 \pm 0.52^{a, BC}$
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว	$9.58 \pm 0.49^{c, B}$	$7.33 \pm 0.52^{b, CD}$	$7.00 \pm 0.63^{b, C}$	$6.17 \pm 0.75^{a, D}$
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	$9.75 \pm 0.42^{b, B}$	$8.00 \pm 0.00^{a, E}$	$8.00 \pm 0.00^{a, D}$	$7.83 \pm 0.41^{a, E}$
7		สารละลายกรดซิตริก	$7.50 \pm 0.55^{b, A}$	$5.67 \pm 0.82^{a, A}$	$5.50 \pm 0.55^{a, A}$	$5.00 \pm 0.00^{a, B}$
8		สารละลายกรดอะซิติก	$7.83 \pm 0.41^{c, A}$	$6.50 \pm 0.55^{b, BC}$	$6.00 \pm 0.63^{ab, AB}$	$5.50 \pm 0.55^{a, BCD}$
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide		$9.83 \pm 0.41^{c, B}$	$5.67 \pm 0.52^{b, A}$	$5.33 \pm 0.52^{b, A}$	$4.17 \pm 0.75^{a, A}$
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide		10 ± 0.00^{B}	-	-	-

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

\- ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

* ให้คะแนนการยอมรับความสดจาก 0-10 โดยคะแนน 0 = ตัวอย่างเน่าเสียแล้ว 5 = ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ และ 10 = ตัวอย่างสดมากที่สุด

ตารางที่ 4-14 คะแนนความสดด้านความชอบโดยรวมของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆ ก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 ℃

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	ค่าเฉลี่ยคะแนนความสดด้านความชอบโดยรวม *± SD			
			0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	แช่	น้ำมะนาว	9.50 ± 0.55$^{d, B}$	9.00 ± 0.89$^{c, CD}$	8.00 ± 0.89$^{b, C}$	6.83 ± 0.75$^{a, C}$
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	9.50 ± 0.45$^{b, B}$	8.00 ± 0.89$^{a, AB}$	7.83 ± 0.75$^{a, C}$	7.17 ± 0.75$^{a, CD}$
3		สารละลายกรดซิตริก	7.58 ± 0.49$^{b, A}$	7.33 ± 0.52$^{b, A}$	6.17 ± 0.42$^{a, AB}$	5.67 ± 0.82$^{a, B}$
4		สารละลายกรดอะซิติก	7.42 ± 0.49$^{b, A}$	7.17 ± 0.68$^{b, A}$	6.33 ± 0.41$^{a, B}$	5.75 ± 0.61$^{a, B}$
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว	9.58 ± 0.49$^{b, B}$	9.33 ± 0.82$^{b, D}$	7.83 ± 0.75$^{a, C}$	7.17 ± 0.41$^{a, C}$
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	9.67 ± 0.41$^{b, B}$	9.67 ± 0.52$^{b, D}$	8.33 ± 0.82$^{a, C}$	8.33 ± 0.82$^{a, D}$
7		สารละลายกรดซิตริก	7.67 ± 0.41$^{c, A}$	7.50 ± 0.45$^{c, A}$	6.67 ± 0.52$^{b, B}$	5.50 ± 0.84$^{a, B}$
8		สารละลายกรดอะซิติก	7.58 ± 0.38$^{c, A}$	7.25 ± 0.52$^{c, A}$	6.33 ± 0.52$^{b, B}$	5.67 ± 0.52$^{a, B}$
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide		9.83 ± 0.26$^{d, B}$	8.50 ± 0.55$^{c, BC}$	5.50 ± 0.55$^{b, A}$	4.50 ± 0.55$^{a, A}$
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide		10.00 ± 0.00$^{d, B}$	-	-	-

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

\- ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

* ให้คะแนนการยอมรับความสดจาก 0-10 โดยคะแนน 0 = ตัวอย่างเน่าเสียแล้ว 5 = ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ และ 10 = ตัวอย่างสดมากที่สุด

(3) ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

(3.1) ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria

Mesophilic aerobic bacteria หมายถึง แบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 20-50 องศาเซลเซียส (กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2553) จากตารางที่ 4-15 แสดงปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 สัปดาห์ พบว่า หอยหลอดสดซึ่งหมายถึงสิ่งทดลองที่ 10 ที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide มีปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria สูงที่สุด เท่ากับ 3.47 log CFU/กรัม ในขณะที่สิ่งทดลองอื่นมีปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria อยู่ในช่วงน้อยกว่า 1.00 – 1.00 log CFU/กรัม แสดงให้เห็นว่าการเตรียมขั้นต้นและแปรรูปวิธี sous vide มีผลให้ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria ลดลงได้ เนื่องมาจากการเตรียมขั้นต้นด้วยการแช่ในสารละลายกรดหรือสารละลายโซเดียมคลอไรด์ รวมถึงมีการให้ความร้อนในการแปรรูปวิธี sous vide สามารถช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาเบื้องต้นได้ ในระหว่างการแช่ในสารละลายหรือให้ความร้อน

เมื่อเก็บรักษานานขึ้นพบว่าปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลาการเก็บรักษา โดยสิ่งทดลองที่ 9 และ 10 มีแนวโน้มปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria เพิ่มขึ้นมากกว่าสิ่งทดลองอื่น โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ สิ่งทดลองที่ 9 มีปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria สูงที่สุด เท่ากับ 2.31 log CFU/กรัม และที่การเก็บ 1 สัปดาห์ สิ่งทดลองที่ 10 มีปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria สูงถึง 6.45 log CFU/กรัม แสดงให้เห็นว่าเมื่อเก็บรักษาหอยหลอดไว้นานขึ้น และอยู่ในสภาวะที่เอื้อต่อการเจริญของจุลินทรีย์ได้ จึงทำให้ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria มีปริมาณเพิ่มขึ้น สิ่งทดลองที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นหรือไม่ผ่านการแปรรูปวิธี sous vide ซึ่งไม่มีการขัดขวางการเจริญของแบคทีเรียหรือไม่ผ่านการลดปริมาณจุลินทรีย์เบื้องต้นจึงมีผลให้มีปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria มากขึ้น ตามเวลาในการเก็บรักษา การเตรียมขั้นต้นด้วยการแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์และสารละลายกรด ทำให้เกิดสภาวะที่มีความเข้มข้นของ Na^+ และ Cl^- ที่ไปรบกวนสภาวะการเจริญของจุลินทรีย์รวมถึงการทำให้เกิดสภาวะ pH ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และความเป็นกรดยังไปทำลายผนังเซลล์ส่งผลให้คุณสมบัติของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ความสามารถในการให้สารต่างๆแทรกซึมผ่านของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไปเป็นสาเหตุทำให้เส้นทางขนส่งของอาหารจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เกิดการขัดข้องไปด้วยทำให้การเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆชะงักและตายไปในที่สุด (ศิวาพร ศิวเวชช, 2546) ในขณะที่การแปรรูปด้วยวิธี sous vide สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ให้เจริญได้น้อยลงนั่นเอง

การเตรียมขั้นต้นแต่ละวิธีมีผลทำให้ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria มีแนวโน้มแตกต่างกันตลอดเวลาการเก็บรักษา โดยพบแนวโน้มว่าสิ่งทดลองที่ 6 มีปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria ต่ำกว่าสิ่งทดลองอื่น อาจเนื่องจากน้ำส้มสายชูหมักประกอบด้วยกรดอินทรีย์หลักหลายชนิด ได้แก่ กรดซิตริก กรดอะซิติก และกรดมาลิก ซึ่งมีฤทธิ์สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย โดยกรดอินทรีย์ต่างๆสามารถทำลายผนังเซลล์ ยับยั้งระบบการขนส่ง

และรบกวนประจุบนเซลล์ ส่งผลให้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (วลัย หุตะโกวิท, ม.ป.ป.) โดยพบว่าแม้สิ่งทดลองที่ 2 ซึ่งเป็นการแช่ในสารละลายน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดเช่นกัน แต่มีการแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ร่วมด้วยมีผลทำให้ Mesophilic aerobic bacteria มีแนวโน้มมากกว่าสิ่งทดลองที่ 6 อาจเนื่องมาจากการแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ก่อนการแช่ในน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด อาจผลมีทำให้น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดแพร่เข้าไปในเนื้อหอยหลอดได้น้อยกว่า จึงทำให้น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์น้อยลง

ทั้งนี้พบว่าตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ สิ่งทดลองที่ 1-9 มีปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria อยู่ในช่วงน้อยกว่า 1.00 – 2.31 log CFU/กรัม ซึ่งยังไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน 6 log CFU/กรัม ซึ่งหมายถึงตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภค ในขณะที่หอยหลอดสด ซึ่งหมายถึงสิ่งทดลองที่ 10 ที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide มีปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria เท่ากับ 6.45 log CFU/กรัม เมื่อเก็บรักษา 1 สัปดาห์ ซึ่งเกินเกณฑ์มาตรฐาน หมายถึง ตัวอย่างไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

ตารางที่ 4-15 ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆ ก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	ค่าเฉลี่ยปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria ± SD (log CFU/กรัม)			
			0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	แช่	น้ำมะนาว	<1.00 ± 0.00	1.70 ± 0.03	1.79 ± 0.01	1.90 ± 0.03
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	<1.00 ± 0.00	1.92 ± 0.01	2.00 ± 0.01	2.00 ± 0.08
3		สารละลายกรดซิตริก	<1.00 ± 0.00	1.02 ± 0.03	1.34 ± 0.01	1.62 ± 0.03
4		สารละลายกรดอะซิติก	<1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.03	2.00 ± 0.01	2.04± 0.04
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.01
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00
7		สารละลายกรดซิตริก	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	1.30 ± 0.05
8		สารละลายกรดอะซิติก	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.01
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide		1.00 ± 0.01	1.96 ± 0.01	2.00 ± 0.03	2.31 ± 0.01
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide		3.47 ± 0.01	6.45 ± 0.03	-	-

- ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

(3.2) ปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria

Psychrophilic aerobic bacteria หมายถึง เป็นแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิต่ำ ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต เจริญเติบโตได้ดีที่ -10-25 องซาเซลเซียส (กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2553)

Psychrophilic aerobic bacteria เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีความสำคัญต่อการเน่าเสียของอาหารทะเลและอาหารที่เก็บรักษาด้วยความเย็น ในการทดลองนี้มีการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ในอุณหภูมิแช่เย็น (4±1 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ซึ่งมีความเป็นไปได้สูงที่จะเกิดการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียกลุ่มนี้ จึงต้องวิเคราะห์ปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria จากตารางที่ 4-16 แสดงปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษา พบว่าสิ่งทดลองที่ 1-9 มีการเจริญของจุลินทรีย์ประเภท Psychrophilic aerobic bacteria น้อยกว่า 1.00 log CFU/กรัม ตลอดการเก็บรักษา อาจเนื่องมาจากการใช้ความร้อนสูงถึง 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเบื้องต้นได้มาก จึงมีผลให้มีปริมาณจุลินทรีย์อยู่น้อย

นอกจากนี้เนื่องจากการบรรจุตามวิธี sous vide เป็นการบรรจุแบบสุญญากาศจึงมีปริมาณออกซิเจนในภาชนะบรรจุอยู่น้อยจึงเป็นสภาวะไม่เอื้อต่อการเจริญของแบคทีเรียชอบความเย็นโดยเฉพาะกลุ่มที่ต้องใช้ออกซิเจนในการเจริญ วิชชญา นะราแก้ว (2548) กล่าวว่า กลุ่มแบคทีเรียที่ทนความเย็นได้ จะต้องใช้เวลาในการปรับตัวในช่วงแรก ดังนั้นในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิต่ำ ในระยะแรกของการเก็บรักษาอาจไม่สามารถตรวจพบแบคทีเรียกลุ่มที่ทนความเย็นได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gimenez, Roncales และ Beltran (2002) รายงานว่า ปลาเรนโบว์เทราท์ (rainbow trout) ที่บรรจุในสภาวะสุญญากาศและการปรับสภาพบรยากาศภายในภาชนะบรรจุที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 50 เปอร์เซ็นต์ และแปรอัตราส่วนก๊าซออกซิเจนระหว่าง 10-30 เปอร์เซ็นต์ ก๊าซไนโตรเจน 20-40 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการปรับสภาพบรรยากาศภายในภาชนะบรรจุจะมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทนความเย็น ซึ่งเป็นจุลินทรีย์กลุ่มสำคัญที่มักทำให้เกิดการเน่าเสียและสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gonzalez – Fandos et al. (2004) รายงานว่า การแปรรูปปลาเทราท์ (trout) และการบรรจุชิ้นปลาแซลมอน ให้เป็นอาหารพร้อมบริโภคโดยวิธี sous vide ทำให้เก็บรักษาปลาได้ 45 วัน โดยมีปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria ประมาณ 5 log CFU/กรัม นอกจากนี้ วิชชญา นะราแก้ว (2548) ซึ่งรายงานว่า ในการเก็บรักษาหอยเป๋าฮื้อที่อุณหภูมิ 2±1 องศาเซลเซียส การบรรจุแบบสุญญากาศสามารถลดการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียทนความเย็นในหอยเป๋าฮื้อได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับการบรรจุไม่ใช้สุญญากาศ แต่การบรรจุโดยการปรับสภาพบรรยากาศภายในภาชนะบรรจุ มีแนวโน้มสามารถลดการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียทนความเย็นได้ดีกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศ อย่างไรก็ตามยังไม่ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

การเตรียมขั้นต้นด้วยการนำหอยหลอดไปแช่ในสารละลายกรดก็เป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ Psychrophilic aerobic bacteria ได้ Cosansu et al. (2013) กล่าวว่า แม้อุณหภูมิการแช่เย็นจะเอื้อต่อการเจริญของแบคทีเรียชอบความเย็น แต่หากสภาวะแวดล้อมความเป็นกรดด่างของอาหารไม่เหมาะสม ก็สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย Psychrophilic aerobic bacteria ได้ เนื่องจากแบคทีเรียต้องใช้พลังงานในการรักษาสมดุลความเป็นกรดด่างของ

เซลล์ไว้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Juneja et al. (2006) ซึ่งรายงานว่าการเติมน้ำเกรฟฟรุตร่วมกับการบรรจุด้วยวิธี sous vide ทำให้ไก่หมักมีความปลอดภัยจากการบริโภคมากขึ้น เนื่องจากช่วยลดโอกาสการเกิดปฏิกิริยาเคมีและการเจริญของจุลินทรีย์ได้ โดยเฉพาะระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น

ทั้งนี้พบว่าตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ สิ่งทดลองที่ 1-9 มีปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria อยู่ในช่วงน้อยกว่า 1.00 log CFU/กรัม ซึ่งยังไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน 6 log CFU/กรัม หมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภค

(4) ผลการคัดเลือกสิ่งทดลองที่เหมาะสมที่สุด

จากเกณฑ์ในการคัดเลือกที่กำหนดไว้คือ เลือกสิ่งทดลองที่ผ่านเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคตลอดการเก็บรักษา ระหว่างการเก็บมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้อยและสามารถเก็บรักษาได้นานที่สุด พิจารณาตารางสรุปผลการเปรียบเทียบคุณภาพของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษากับเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเลในตารางที่ 4-17 พบว่า สิ่งทดลองที่ 1-8 ผ่านเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภค ใน 5 ด้านตามที่กำหนด ได้แก่ ปริมาณ TVB-N ปริมาณ TMA-N ค่า TBARS ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria และ ปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria แต่เมื่อพิจารณาคุณภาพทางประสาทสัมผัสร่วมด้วย พบว่า สิ่งทดลองที่ 9 ซึ่งหมายถึงหอยหลอดที่ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide ได้รับคะแนนความสดจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสทุกด้านต่ำที่สุดและต่ำกว่า 5 คะแนน ซึ่งหมายถึงตัวอย่างไม่เป็นที่ยอมรับด้านความสด และเมื่อพิจารณาเฉพาะสิ่งทดลองที่ 1-8 พบว่า สิ่งทดลองที่ 6 ซึ่งเตรียมขั้นต้นโดยไม่แช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับการแช่น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดก่อนการแปรรูปวิธี sous vide มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากได้รับคะแนนความสดด้านต่างๆรวมถึงความชอบโดยรวมสูงที่สุด เท่ากับ 8.33 นอกจากนี้ยังมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้อยกว่าสิ่งทดลองอื่น โดยเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ พบว่า มีปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) เท่ากับ 3.10 มิลลิกรัม/ 100 กรัมตัวอย่าง ปริมาณไตรเมททิลเอมีน (TMA-N) เท่ากับ เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัม/ 100 กรัมตัวอย่าง ค่า TBARS เท่ากับ 1.48 มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์/กิโลกรัม ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria และปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria น้อยกว่า 1.00 log CFU/กรัม

ตารางที่ 4-16 ปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria ของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆ ก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 ℃

สิ่งทดลองที่	การแช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์	ชนิดของสารละลายกรด	ค่าเฉลี่ยปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria ± SD (log CFU/กรัม)			
			0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	แช่	น้ำมะนาว	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00
2		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00
3		สารละลายกรดซิตริก	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00
4		สารละลายกรดอะซิติก	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00
5	ไม่แช่	น้ำมะนาว	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00
6		น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00
7		สารละลายกรดซิตริก	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00
8		สารละลายกรดอะซิติก	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00
9	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นแต่แปรรูปวิธี sous vide		<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00
10	ไม่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและไม่แปรรูปวิธี sous vide		<1.00 ± 0.00	2.05 ± 0.02	-	-

- ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

ตารางที่ 4-17 สรุปผลการเปรียบเทียบคุณภาพของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษากับเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล

สิ่งทดลองที่	TVB-N				TMA-N				TBARS			
	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
2	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
3	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
4	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
5	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
6	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
7	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
8	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
9	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
10	√	√	-	-	√	√	-	-	√	√	-	-

√ หมายถึง ผ่านเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล

x หมายถึง ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล

- หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

ตารางที่ 4-17 สรุปผลการเปรียบเทียบคุณภาพของหอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นวิธีต่างๆก่อนการแปรรูปวิธี sous vide ระหว่างการเก็บรักษากับเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล

สิ่งทดลองที่	Mesophilic aerobic bacteria				Psychrophilic aerobic bacteria				ความชอบโดยรวม *			
	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
2	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
3	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
4	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
5	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
6	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
7	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
8	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
9	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	x
10	√	x	-	-	√	√	√	√	√	-	-	-

√ หมายถึง ผ่านเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล

x หมายถึง ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล

* หมายถึง การผ่านเกณฑ์คือได้คะแนนอย่างน้อย 5 คะแนน (จาก 10 คะแนน) หมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ

- หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

4.1.2 ผลของสภาวะการพาสเจอร์ไรซ์ต่อคุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา

ขั้นตอนนี้ต้องการศึกษาผลของสภาวะการพาสเจอร์ไรซ์ต่อคุณภาพของหอยหลอด ระหว่างการเก็บรักษาโดยนำหอยหลอดผ่านการเตรียมขั้นต้นตามวิธีที่เลือกได้จากข้อ 4.1.1 คือ หอยหลอดที่ไม่แช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์แต่แช่น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดแล้วบรรจุแบบสุญญากาศ แล้วนำมาพาสเจอร์ไรซ์โดยแปรปัจจัยที่ศึกษาเป็น 2 ปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิการพาสเจอร์ไรซ์ (70 และ 80 องศาเซลเซียส) และ เวลาการพาสเจอร์ไรซ์ (3 และ 5 นาที) โดยวางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD และ วิเคราะห์ผลทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) แสดงให้เห็นว่าเมื่อเก็บรักษาหอยหลอดที่ระยะเวลา 1 2 และ 3 สัปดาห์ อิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัย (interaction) ได้แก่ อุณหภูมิและเวลาการพาสเจอร์ไรซ์ มีผลต่อคุณภาพของหอยหลอดทุกด้านที่วิเคราะห์ ได้แก่ ค่าสี L* a* b* ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ค่า TBARS คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านความสดลักษณะปรากฏ สีกลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม ยกเว้นปริมาณไตรเมททิลเอมีน (TMA-N)

สุรพล อุปดิสสกุล (2536) กล่าวว่า ข้อดีของการจัดสิ่งทดลองแบบ Factorial คือ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน สามารถอธิบายผลของอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยได้ โดยการมีอิทธิพลร่วมหมายถึง ค่าความแตกต่างของผลการทดลองระหว่างระดับของปัจจัยหนึ่ง ไม่เท่ากันบนทุกระดับของปัจจัยอื่น หมายความว่าปัจจัยต่างๆเหล่านั้น ไม่เป็นอิสระกัน นั่นแสดงว่าอุณหภูมิและเวลาการพาสเจอร์ไรซ์ มีอิทธิพลร่วมกันต่อคุณภาพโดยส่วนใหญ่ของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษา รายละเอียดผลการวิเคราะห์คุณภาพของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์สภาวะต่างๆระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 1 2 และ 3 สัปดาห์ เมื่อเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส มีดังนี้

(1) ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพ

(1.1) ค่าสี L* a* และ b*

จากตารางที่ 4-18 แสดงค่าสี L* ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์สภาวะต่างๆระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 วัน (หลังการพาสเจอร์ไรซ์) พบว่า สิ่งทดลองที่ 4 ซึ่งหมายถึง หอยหลอดที่พาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที มีค่าสี L* เท่ากับ 72.59 ซึ่งมีความสว่างมากที่สุด ($p \leq 0.05$) ในขณะที่สิ่งทดลองอื่นมีค่าสี L* อยู่ในช่วง 66.29 – 70.49 อาจเนื่องมาจากที่สภาวะดังกล่าวเป็นการใช้ความร้อนที่รุนแรงที่สุด (อุณหภูมิสูงที่สุดและเวลานานที่สุด) อาจทำให้โปรตีนในเนื้อหอยหลอดเกิดการเสียสภาพธรรมชาติ (denaturation) มาก และสมบูรณ์ที่สุด ที่สภาวะอุณหภูมิสูงจะทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโพลีเปปไทด์ถูกทำลาย มีผลให้โครงสร้างทางเคมีของโปรตีนเปลี่ยนไป โดยมักทำให้โครงสร้างเกิดการคลายตัว (unfolded) และเกิดการตกตะกอน ทำให้เนื้อสัตว์มีสีและเนื้อสัมผัสเปลี่ยนแปลงไป และผันกลับไม่ได้ โดยมีการเปลี่ยนสีจากลักษณะใส เป็นลักษณะทึบสีขาวขุ่น และมีลักษณะเป็นเจลแข็งตัวมากขึ้น (Gonzalez-Fandos et al., 2005) ดังนั้นการใช้สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิที่สูงขึ้นและใช้เวลานานขึ้น จึงมีผลให้เนื้อหอยหลอดมีแนวโน้มสีขาวสว่างมากขึ้นนั่นเอง

สำหรับค่าสี a* และ b* ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์สภาวะต่างๆระหว่างการเก็บรักษา แสดงผลดังตารางที่ 4-19 และ 4-20 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 สัปดาห์ พบว่า ค่าสี

a* มีค่าเป็นบวก (+) ซึ่งแสดงความเป็นสีแดง โดยค่า a* ของทุกสิ่งทดลอง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงให้เห็นว่าสภาวะการพาสเจอร์ไรซ์ที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อค่าสีแดง การเตรียมขั้นต้นโดยการแช่หอยหลอดในน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด ซึ่งปกติมีสีออกส้มแดง จึงอาจมีผลให้เกิดการย้อมติดสีของน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดที่ผิวของเนื้อหอยหลอด แม้ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์เนื้อหอยหลอดยังคงมีสีออกแดงไม่แตกต่างกัน สำหรับค่าสี b* มีค่าเป็นบวก (+) ซึ่งแสดงความเป็นสีเหลือง พบว่า สิ่งทดลองที่ 3 และ 4 มีค่า b* (21.79 – 21.88) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และมีค่าสูงกว่าค่า b* ของสิ่งทดลองที่ 1 และ 2 (18.31–19.72) อาจเนื่องมาจาก สิ่งทดลองที่ 3 และ 4 เป็นการใช้อุณหภูมิสูงในการพาสเจอร์ไรซ์สามารถช่วยเพิ่มการย้อมติดสีของน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดที่ผิวของเนื้อหอยหลอดได้ดีขึ้น พีระพงษ์ วงษ์ทหาร (2556) กล่าวว่า การออกซิเดชันของไขมันในกล้ามเนื้อทำให้เกิดโอกาสการสร้างพันธะแบบการเชื่อมข้าม (cross link) ของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเม็ดสี (pigment) และโปรตีนกล้ามเนื้อ ส่งผลให้โปรตีนเม็ดสีถูกตรึงอยู่กับโปรตีนกล้ามเนื้อจึงมีประสิทธิภาพในการเคลื่อนที่ของเม็ดสีลดลง หรือติดคงอยู่กับโปรตีนกล้ามเนื้อได้ดี โดยลักษณะของหอยหลอดหลังการพาสเจอร์ไรซ์ แสดงดังภาพที่ 4-2

สำหรับผลของระยะเวลาการเก็บต่อค่าสี L* a* และ b* ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) โดยพบแนวโน้มว่าเมื่อเก็บรักษานานขึ้นค่า L* a* และ b* มีแนวโน้มลดลงแสดงถึงสีคล้ำลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นระหว่างการเก็บแล้วเกิดผลให้สีของหอยหลอดเปลี่ยนแปลงไป เมื่อเก็บไว้นานขึ้นเนื้อหอยหลอดมีโอกาสสัมผัสกับออกซิเจนที่อาจหลงเหลือในภาชนะบรรจุอยู่บ้างหรือสามารถแพร่ผ่านภาชนะบรรจุเข้ามาได้บ้าง สามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยอาจมีผลกับรงควัตถุต่างๆที่มีอยู่ในเนื้อหอยหลอดหรือที่มีอยู่ในน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด เช่น เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบแคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในผิวหนังและเนื้อสัตว์น้ำ (เนตรนรินทร์ ขุนสูงเนิน, 2546) และเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบแคโรทีนอยด์และเอนโทไซยานินที่มีอยู่ในน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด (สรวงสุดา ไชยทิพย์, 2540) เป็นผลให้โครงสร้างของรงควัตถุต่างๆเปลี่ยนแปลงไป ความบริสุทธิ์ของสีลดลงจึงมีผลให้หอยหลอดมีสีคล้ำลงได้ นอกจากนี้ปฏิกิริยาการเสื่อมเสียจากโปรตีนมักสลายตัวเนื่องจากแบคทีเรียและเอนไซม์รวมถึงการเสื่อมเสียจากไขมัน ก็เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารทะเลมีสีเปลี่ยนแปลงไประหว่างการเก็บรักษา (วิชุดา สังข์แก้ว, 2554) จากเหตุผลข้างต้นทั้งหมดจึงอาจเป็นไปได้ว่าการเก็บรักษาหอยหลอดอาจยังมีออกซิเจนที่หลงเหลือในภาชนะบรรจุอยู่บ้างสามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ รวมถึงการเสื่อมเสียจากแบคทีเรียและเอนไซม์ที่อาจมีโอกาสเกิดได้เมื่อเก็บรักษานานขึ้น จึงมีผลให้หอยหลอดมีแนวโน้มสีคล้ำลงเมื่อเก็บไว้นานขึ้นที่ทุกสภาวะการพาสเจอร์ไรซ์

(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

ภาพที่ 4-2 ลักษณะของหอยหลอดหลังการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ได้แก่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที (ก) 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที (ข) 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 นาที (ค) และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที (ง)

ตารางที่ 4-18 ค่าสี L* ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์		ค่าเฉลี่ยค่าสี L* ± SD			
	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	70	3	66.29 ± 0.82 $^{b, A}$	65.87 ± 0.04 $^{b, A}$	64.68 ± 0.21 $^{a, A}$	64.01 ± 0.08 $^{a, A}$
2	70	5	68.88 ± 0.09 $^{d, B}$	67.92 ± 0.04 $^{c, B}$	66.93 ± 0.08 $^{b, B}$	65.20 ± 0.11 $^{a, B}$
3	80	3	70.49 ± 0.49 $^{c, C}$	67.04 ± 0.13 $^{b, C}$	66.89 ± 0.03 $^{b, B}$	65.59 ± 0.03 $^{a, C}$
4	80	5	72.59 ± 0.03 $^{c, D}$	68.62 ± 0.13 $^{b, D}$	68.06 ± 0.52 $^{ab, C}$	67.79 ± 0.05 $^{a, D}$

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4-19 ค่าสี a* ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์		ค่าเฉลี่ยค่าสี a* ± SD			
	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	0 สัปดาห์ ^{NS}	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	70	3	0.82 ± 0.02 ^{c}	0.76 ± 0.03 $^{bc, A}$	0.74 ± 0.01 $^{ab, A}$	0.69 ± 0.01 $^{a, A}$
2	70	5	0.86 ± 0.04 ^{b}	0.81 ± 0.03 $^{ab, AB}$	0.76 ± 0.04 $^{a, A}$	0.72 ± 0.04 $^{a, A}$
3	80	3	0.87 ± 0.04 ^{b}	0.84 ± 0.02 $^{ab, BC}$	0.79 ± 0.02 $^{a, AB}$	0.77 ± 0.02 $^{a, AB}$
4	80	5	0.89 ± 0.02 ^{a}	0.88 ± 0.01 $^{a, C}$	0.85 ± 0.03 $^{a, B}$	0.84 ± 0.04 $^{a, B}$

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{NS} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4-20 ค่าสี b* ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 ℃

สิ่งทดลองที่	สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์		ค่าเฉลี่ยค่าสี b* ± SD			
	อุณหภูมิ (℃)	เวลา (นาที)	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	70	3	$18.31 \pm 0.59^{c, A}$	$17.48 \pm 0.39^{b, A}$	$17.00 \pm 0.48^{b, A}$	$16.21 \pm 0.40^{a, A}$
2	70	5	$19.72 \pm 0.44^{c, B}$	$17.60 \pm 0.76^{b, A}$	$16.68 \pm 0.53^{b, A}$	$15.27 \pm 0.91^{a, A}$
3	80	3	$21.79 \pm 0.81^{c, C}$	$20.20 \pm 0.87^{b, B}$	$18.44 \pm 0.98^{a, B}$	$18.19 \pm 0.96^{a, B}$
4	80	5	$21.88 \pm 0.69^{c, C}$	$20.66 \pm 0.51^{b, B}$	$20.53 \pm 0.96^{b, C}$	$19.23 \pm 0.75^{a, B}$

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

(1.2) ค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมด

จากตารางที่ 4-21 และ 4-22 แสดงค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์สภาวะต่างๆระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 สัปดาห์ พบว่าทุกสิ่งทดลองมีค่า pH อยู่ในช่วง 4.03 – 4.10 และมีปริมาณกรดทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.04 – 0.05% ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงให้เห็นว่าสภาวะการพาสเจอร์ไรซ์ที่ใช้ไม่มีผลต่อค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดของหอยหลอดหลังการพาสเจอร์ไรซ์

เมื่อพิจารณาค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดของทุกสิ่งทดลอง ตลอดระยะเวลาในการเก็บ 3 สัปดาห์ พบว่า ค่า pH มีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ปริมาณกรดทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บเพิ่มขึ้น ความเข้มกรดที่เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บอาจเกิดจากการแพร่ของสารละลายกรดที่มีความเข้มข้นสูงกว่าความเข้มข้นของของเหลวภายในเนื้อหอยหลอด ความแตกต่างของความเข้มข้นนี้ทำให้เกิดความแตกต่างของแรงดันเกิดเป็นแรงขับให้มีการถ่ายโอนมวลสารได้ (Sankat, et al., 1996) สารละลายกรดจึงสามารถแพร่เข้าไปในเนื้อหลอดได้ จึงมีผลทำให้ปริมาณกรดทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามพบแนวโน้มว่าสิ่งทดลองที่ 3 และ 4 ซึ่งใช้อุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรซ์ 80 องศาเซลเซียส มีค่า pH ต่ำกว่า และมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าสิ่งทดลองอื่นเล็กน้อย อาจเป็นผลเนื่องมาจากที่สภาวะการใช้อุณหภูมิสูงกว่าทำให้เนื้อเยื่อของหอยหลอดถูกทำลายโครงสร้างไปมากกว่า เนื้ออาจอ่อนนุ่มลงทำให้สารละลายกรดสามารถแพร่เข้าไปในเนื้อหอยหลอดได้ง่ายและมากกว่าสิ่งทดลองที่ใช้อุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรซ์ต่ำกว่าได้ สอดคล้องกับที่ Voller-Reasonover et al. (1997) และ Wattana et al. (2008) กล่าวว่า การให้ความร้อนทำให้โครงสร้างของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของหอยถูกทำลายไป และทำให้คอลลาเจนละลายได้มากขึ้น ทำให้เนื้อหอยมีความนุ่มมากขึ้น

จากผลการทดลองสามารถยืนยันได้ว่าผลิตภัณฑ์หอยหลอดที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นด้วยการแช่น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด จัดเป็นอาหารปรับกรด (acidified food) ซึ่งหมายถึง อาหารที่มีสภาพเป็นกรด โดยมี pH ต่ำกว่า 4.6 การลด pH ของอาหารให้ต่ำลง มีผลช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ โดยทำให้เกิดสภาวะ pH ที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ที่อยู่ในอาหารนั้นต้องเสียพลังงานในการรักษาความสมดุลให้ของเหลวในช่องว่างระหว่างเซลล์มีความเป็นกลาง จึงมีผลให้เกิดการเจริญเติบโตต่ำ หรืออาจกล่าวได้ว่าการปรับให้อาหารมีสภาพเป็นกรด ทำให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้น้อยลง (Montville and Matthews, 2005) นอกจากนี้ความเป็นกรดยังไปทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ส่งผลให้คุณสมบัติของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ความสามารถในการให้สารต่างๆ แทรกซึมผ่านของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไปเป็นสาเหตุทำให้เส้นทางขนส่งของอาหารจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เกิดการขัดข้องไปด้วยทำให้การเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ ชะงักและตายไปในที่สุด (ศิวาพร ศิวเวชช, 2546) ทิพาพร อยู่วิทยา (2544) กล่าวว่า อาหารปรับกรดเป็นการนำอาหารที่มีกรดต่ำมาเติมกรด เช่น กรดซิตริก กรดแลคติก เพื่อปรับค่า pH ให้ต่ำลง (ต่ำกว่า 4.6) ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องใช้ความร้อนสูงในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งสอดคล้องกับการฆ่าเชื้อด้วยวิธีการพาสเจอร์ไรซ์ ซึ่งใช้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส ก็เพียงพอแล้ว ในกรณีใช้ร่วมกับวิธี sous vide สามารถใช้ความร้อนในช่วง 65-95 องศาเซลเซียส ก็เพียงพอในการฆ่าเชื้อในอาหารและยืดอายุการเก็บรักษาได้ (Armstrong, 2000)

ตารางที่ 4-21 ค่า pH ของหอยหลอดที่ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 ℃

สิ่งทดลองที่	สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์		ค่า pH เฉลี่ย ± SD			
	อุณหภูมิ (℃)	เวลา (นาที)	0 สัปดาห์ [NS]	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	70	3	4.10 ± 0.01 [c]	3.99 ± 0.01 [b, B]	3.93 ± 0.02 [b, B]	3.85 ± 0.04 [a, BC]
2	70	5	4.03 ± 0.01 [c]	3.96 ± 0.03 [b, B]	3.94 ± 0.03 [ab, B]	3.89 ± 0.01 [a, C]
3	80	3	4.09 ± 0.04 [b]	3.76 ± 0.05 [a, A]	3.70 ± 0.02 [a, A]	3.69± 0.02 [a, A]
4	80	5	4.06 ± 0.04 [b]	3.93 ± 0.03 [ab, B]	3.82 ± 0.10 [a, AB]	3.78 ± 0.04 [a, B]

[a,b,c,...] ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

[A,B,C,...] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

[NS] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4-22 ปริมาณกรดทั้งหมดของหอยหลอดผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์		ปริมาณกรดทั้งหมดเฉลี่ย ± SD (%)			
	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	0 สัปดาห์ [NS]	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	70	3	0.04 ± 0.01 [a]	0.08 ± 0.01 [b, A]	0.11 ± 0.01 [b, A]	0.45 ± 0.01 [c, A]
2	70	5	0.04 ± 0.01 [a]	0.09 ± 0.01 [b, A]	0.11 ± 0.01 [b, A]	0.47 ± 0.01 [c, AB]
3	80	3	0.05 ± 0.01 [a]	0.11 ± 0.01 [b, A]	0.13 ± 0.01 [b, AB]	0.49 ± 0.01 [c, BC]
4	80	5	0.05 ± 0.01 [a]	0.14 ± 0.01 [b, B]	0.16 ± 0.01 [b, B]	0.50 ± 0.01 [c, C]

[a,b,c,...] ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

[A,B,C,...] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

[NS] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

(1.3) ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N)

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่เกิดขึ้นของอาหาร ซึ่งเป็นผลที่เกิดเนื่องจากการสลายตัวของโปรตีนระหว่างการเน่าเสียซึ่งอาจเกิดจากการเจริญของแบคทีเรียและการทำงานของเอนไซม์ที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์ ก่อให้เกิดกลิ่นและรสที่ผิดปกติ ปริมาณ TVB-N มีความสัมพันธ์กับคุณภาพความสดของเนื้อสัตว์ (ลักขณา รุจนะไกรกานต์, 2533) Sikorski et al. (1990) กำหนดเกณฑ์ไว้ว่า ปริมาณ TVB-N ต้องไม่เกิน 30 มิลลิกรัม/100 กรัม ซึ่งหมายถึงตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภค

จากตารางที่ 4-23 แสดงปริมาณ TVB-N ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 สัปดาห์ พบว่า สิ่งทดลองที่ 3 และ 4 ซึ่งหมายถึงตัวอย่างหอยหลอดที่พาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 และ 5 นาที ตามลำดับ มีปริมาณ TVB-N ต่ำที่สุด เท่ากับ 1.20 และ 1.14 มิลลิกรัม/100 กรัม ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) อาจเนื่องมาจากการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการใช้อุณหภูมิสูงกว่า สามารถลดปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ ที่ปนเปื้อนกับตัวอย่างเริ่มต้นได้มากกว่าการใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จึงสามารถวิเคราะห์พบปริมาณเริ่มต้นได้น้อยกว่า

เมื่อเก็บรักษานานขึ้นพบว่าปริมาณ TVB-N มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลาการเก็บรักษา แสดงให้เห็นว่าเมื่อเก็บรักษาหอยหลอดไว้นานขึ้น ส่งเสริมสภาวะที่เอื้อต่อการสลายตัวของโปรตีนและสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบมากขึ้น จึงทำให้ปริมาณ TVB-N ซึ่งเป็นผลได้จากกลไกดังกล่าวมีค่าเพิ่มขึ้น ตลอดการเก็บ 3 สัปดาห์ พบแนวโน้มว่าสิ่งทดลองที่ 3 และ 4 ซึ่งผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 และ 5 นาที มีปริมาณ TVB-N ต่ำที่สุด แสดงให้เห็นว่าการใช้อุณหภูมิสูงกว่า และที่ระยะเวลาเพียงพอกับการพาสเจอร์ไรซ์มีโอกาสลดการสลายตัวของโปรตีน รวมถึงลดปัจจัยกระตุ้นต่างๆที่จะทำให้เกิดการเน่าเสียระหว่างการเก็บได้ เช่น ลดโอกาสเจริญของแบคทีเรียและการทำงานของเอนไซม์ที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์ที่จะก่อให้เกิดสารกลุ่มไนโตรเจนที่ระเหยได้ พวกเอมีนที่ระเหยได้ แอมโมเนียและกรดที่ระเหยได้ จึงวิเคราะห์ปริมาณ TVB-N ในหอยหลอดสิ่งทดลองดังกล่าวได้ต่ำกว่าสิ่งทดลองอื่นตลอดการเก็บรักษา บุษกร อุตรภิชาติ (2550) กล่าวว่าแบคทีเรียกลุ่มที่มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยโปรตีนในอาหารให้เป็นกรดอะมิโน รวมถึงให้สารที่มีไนโตรเจนที่ระเหยได้ ที่มีผลทำให้อาหารเสื่อมเสียและมีกลิ่นเหม็น มักเป็นกลุ่มแบคทีเรียทนร้อน (thermoduric bacteria) และแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิสูง (thermophilic bacteria) อย่างไรก็ตามการแปรรูปด้วยการพาสเจอร์ไรซ์ในระดับที่เพียงพอคือตั้งแต่ 75-80 องศาเซลเซียส สามารถทำลายแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวได้

ทั้งนี้พบว่าตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ ทุกสิ่งทดลอง มีปริมาณ TVB-N อยู่ในช่วง 1.14 – 3.16 มิลลิกรัม/100 กรัม ซึ่งยังไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน 30 มิลลิกรัม/100 กรัม หมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภค

ตารางที่ 4-23 ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์		ค่าเฉลี่ยปริมาณ TVB-N ± SD (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง)			
	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	70	3	$1.42 \pm 0.06^{a, B}$	$1.46 \pm 0.05^{a, B}$	$2.63 \pm 0.04^{b, B}$	$3.16 \pm 0.02^{c, B}$
2	70	5	$1.33 \pm 0.03^{a, B}$	$1.40 \pm 0.03^{a, B}$	$2.53 \pm 0.02^{b, B}$	$3.12 \pm 0.03^{c, B}$
3	80	3	$1.20 \pm 0.04^{a, A}$	$1.25 \pm 0.04^{a, A}$	$2.24 \pm 0.05^{b, A}$	$2.90 \pm 0.04^{c, A}$
4	80	5	$1.14 \pm 0.04^{a, A}$	$1.24 \pm 0.05^{a, A}$	$2.20 \pm 0.02^{b, A}$	$2.87 \pm 0.03^{c, A}$

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

(1.4) ปริมาณไตรเมททิลเอมีน (TMA-N)

ไตรเมททิลเอมีน (TMA) จัดเป็นสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบโดยมีสมบัติระเหยได้หรือกล่าวได้ว่าเป็นสารเอมีนที่ระเหยได้ (volatile amine) ชนิดหนึ่งที่ก่อให้เกิดกลิ่นและรสที่ผิดปกติ เป็นผลได้จากการสลายตัวของโปรตีนระหว่างการเน่าเสีย โดยกลไกนั้นเกิดจากไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ (TMAO) สามารถเปลี่ยนเป็น TMA ด้วยเอนไซม์ไตรเมธิลเอมีนออกซิเดส (Trimethylamine oxidase) จากปฏิกิริยารีดักชันโดยมีแบคทีเรียเป็นตัวเร่ง ตัวอย่างเช่น *Shewanella putrifaciens* ดังนั้นจึงสามารถใช้ปริมาณ TMA-N เป็นดัชนีใช้วัดการเน่าเสียของสัตว์น้ำ (เนตรนรินทร์ ขุนสูงเนิน, 2546) Sikorski et al. (1990) กำหนดเกณฑ์ไว้ว่า ปริมาณ TMA-N ต้องไม่เกิน 10 มิลลิกรัม/100 กรัม ซึ่งหมายถึงตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภค

จากตารางที่ 4-24 แสดงปริมาณ TMA-N ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา พบว่าตลอดเวลาการเก็บรักษา ค่า TMA-N ของทุกสิ่งทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และแต่ละสิ่งทดลองเมื่อเก็บรักษานานขึ้นมีค่า TMA-N ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เช่นกัน อยู่ในช่วง 0.01 – 0.02 มิลลิกรัม/100 กรัม ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณ TMA-N ที่ต่ำมาก ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ สวามินี ธีรวุฒิ (2557) ที่พบว่าหอยนางรมปากจีบสดแกะเปลือก มีปริมาณ TMA-N ตลอดการเก็บ 7 วัน ในสภาวะแช่เย็นน้อยกว่า 0.5 มิลลิกรัม/100 กรัม เนตรนรินทร์ ขุนสูงเนิน (2546) พบว่า เนื้อปลานิลสดเริ่มต้นจะมีปริมาณ TMA-N ที่ต่ำมากคือ 0.02 มิลลิกรัม/100 กรัม ซึ่งจัดว่าค่า TMA-N อยู่ในระดับต่ำมาก จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสภาวะการพาสเจอร์ไรซ์ที่แตกต่างกัน รวมทั้งระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นไม่มีผลต่อปริมาณ TMA-N ที่วิเคราะห์ได้ ซึ่งอาจเนื่องมาจากในหอยหลอดมีปริมาณ TMAO เริ่มต้นต่ำ จึงมีโอกาสน้อยในการเปลี่ยนแปลงไปเป็น TMA การพาสเจอร์ไรซ์ในสภาวะรุนแรงเพียงพอรวมถึงการแช่ในสารละลายกรดร่วมด้วยเป็นการช่วยลดการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงจาก TMAO ไปเป็น TMA ได้อีกทางหนึ่ง รวมทั้งการเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิต่ำซึ่งมีส่วนช่วยชะลอการเกิด TMA ระหว่างการเก็บรักษาได้ด้วย

ทั้งนี้พบว่าตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ ทุกสิ่งทดลอง มีปริมาณ TMA-N อยู่ในช่วง 0.01 – 0.02 มิลลิกรัม/100 กรัม ซึ่งยังไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน 10 มิลลิกรัม/100 กรัม ซึ่งหมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภค

ตารางที่ 4-24 ปริมาณไตรเมททิลเอมีน (TMA-N) ของหอยหลอดผ่านการพาสการเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์		ค่าเฉลี่ยปริมาณ TMA-N ± SD (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง)			
	อุณหภูมิ (°C) [ns]	เวลา (นาที) [ns]	0 สัปดาห์ [NS]	1 สัปดาห์ [NS]	2 สัปดาห์ [NS]	3 สัปดาห์ [NS]
1	70	3	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01
2	70	5	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01
3	80	3	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01
4	80	5	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01

[ns] ค่าเฉลี่ยในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

[NS] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

(1.5) ค่า TBARS

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (Lipid oxidation) เป็นกระบวนที่เกิดขึ้นได้โดยมีแสงและอุณหภูมิเป็นตัวเร่ง ซึ่งมักจะเกิดกับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงได้ง่ายและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพอาหารด้านต่างๆ เช่น กลิ่นหืน เมื่อไขมันถูกออกซิไดส์จะได้สารประกอบของมาโลนอัลดีไฮด์ (Malonaldehyde) ซึ่งเทคนิค Thiobarbituric reactive substances (TBARS) เป็นเทคนิคมาตรฐานที่ใช้ทดสอบปริมาณมาโลนอัลดีไฮด์ได้ ซึ่งจัดเป็นการติดตามการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขั้นสุดท้าย โดยค่า TBARS รายงานเป็นมิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์/กิโลกรัม (พัชรินทร์ ภักดีฉนวน, 2555) Schormuller (1968) กำหนดเกณฑ์ไว้ว่า ค่า TBARS ต้องไม่เกิน 12.5 มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์ / กิโลกรัม ซึ่งหมายถึงตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภค

จากตารางที่ 4-25 แสดงค่า TBARS ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 สัปดาห์ พบว่า สิ่งทดลองที่ 3 และ 4 ซึ่งหมายถึงตัวอย่างหอยหลอดที่พาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 และ 5 นาที ตามลำดับ มีค่า TBARS สูงที่สุด เท่ากับ 0.82 และ 0.88 มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์/กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) อาจเนื่องมาจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน การใช้อุณหภูมิสูงกว่าจึงอาจมีผลทำให้เร่งการออกซิเดชันของไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงได้ง่ายขึ้น จึงได้สารประกอบของมาโลนอัลดีไฮด์มากขึ้น จึงสามารถวิเคราะห์พบค่า TBARS สูงขึ้นด้วย พรพิมล ม่วงไทย (2554) กล่าวว่า เมื่อมีการแปรรูปเนื้อสัตว์โดยใช้อุณหูภูมิสูงจะมีผลให้ค่า TBARS เพิ่มขึ้น โดยการเปลี่ยนแปลงค่า TBARS จะสัมพันธ์กับอุณหภูมิแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล

เมื่อเก็บรักษานานขึ้นพบว่าค่า TBARS มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลาการเก็บรักษาอาจเนื่องมาจาก โดยปกติเนื้อสัตว์ทะเลมีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบอยู่สูง ทำให้มีโอกาสเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ อย่างไรก็ตามพบว่าตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ ทุกสิ่งทดลองมีค่า TBARS อยู่ในช่วง 0.72 – 1.56 มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์/กิโลกรัม โดยยังมีค่า TBARS ไม่เกิน 12.5 มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์/กิโลกรัม ซึ่งยังไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน หมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภค

ตารางที่ 4-25 ค่า TBARS ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์		ค่าเฉลี่ยปริมาณ TBARS ± SD (มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม)			
	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	70	3	$0.72 \pm 0.03^{a, A}$	$0.91 \pm 0.04^{b, A}$	$1.28 \pm 0.04^{c, A}$	$1.42 \pm 0.01^{d, A}$
2	70	5	$0.74 \pm 0.04^{a, A}$	$0.98 \pm 0.04^{b, A}$	$1.33 \pm 0.04^{c, AB}$	$1.45 \pm 0.02^{d, A}$
3	80	3	$0.82 \pm 0.03^{a, B}$	$1.12 \pm 0.06^{b, B}$	$1.39 \pm 0.02^{c, B}$	$1.54 \pm 0.04^{d, B}$
4	80	5	$0.88 \pm 0.03^{a, B}$	$1.17 \pm 0.05^{b, B}$	$1.41 \pm 0.02^{c, B}$	$1.56 \pm 0.04^{d, B}$

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

(2) ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลการประเมินความสดของตัวอย่างหอยหลอด ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมของหอยหลอด ทั้ง 4 สิ่งทดลอง โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 6 คน ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธีให้คะแนนการยอมรับ 0-10 คะแนน โดยคะแนน 0 หมายถึง ตัวอย่างเน่าเสียแล้ว 5 หมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ และ 10 หมายถึง ตัวอย่างสดมากที่สุด รายละเอียดผลการประเมินความสดของทุกสิ่งทดลองระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 1 2 และ 3 สัปดาห์ เมื่อเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส มีดังนี้

(2.1) ความสดด้านลักษณะปรากฏ

จากตารางที่ 4-26 แสดงคะแนนประเมินความสดด้านลักษณะปรากฏของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 สัปดาห์ พบว่า หอยหลอดทุกสิ่งทดลองได้รับคะแนนประเมินความสดด้านลักษณะปรากฏเท่ากับ 10 คะแนนเท่ากัน ซึ่งหมายถึง ตัวอย่างสดมากที่สุด แสดงให้เห็นว่าการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆไม่มีผลต่อการยอมรับความสดด้านลักษณะปรากฏของหอยหลอด เมื่อเก็บรักษานานขึ้น พบแนวโน้มคะแนนประเมินความสดด้านลักษณะปรากฏน้อยลง โดยเฉพาะสิ่งทดลองที่ 1 ซึ่งเป็นการพาสเจอร์ไรซ์อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ได้รับคะแนนประเมินความสดด้านลักษณะปรากฏต่ำที่สุด ทั้งนี้เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วันพบว่าผู้ประเมินให้คะแนนความสดด้านลักษณะปรากฏกับสิ่งทดลองที่ 3 ซึ่งหมายถึง หอยหลอดที่ใช้สภาวะในการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาทีมากที่สุด เท่ากับ 8.17 คะแนน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเป็นสภาวะการพาสเจอร์ไรซ์ที่เหมาะสมที่ทำให้โปรตีนในเนื้อหอยหลอดเกิดการเสียสภาพธรรมชาติ (denaturation) มาก และสมบูรณ์ โดยมีการเปลี่ยนสีจากจากลักษณะใสเป็นลักษณะสุกเล็กน้อยสีขาวขุ่น และมีลักษณะเป็นเจลแข็งตัวหอยหลอดจึงมีลักษณะเป็นชิ้นคงรูป รวมถึงไม่นิ่มเละจนเกินไป

2) ความสดด้านสี

จากตารางที่ 4-27 แสดงคะแนนประเมินความสดด้านสีของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์สภาวะต่างๆระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 สัปดาห์ พบว่า มีแนวโน้มคะแนนประเมินคล้ายกับกรณีความสดด้านลักษณะปรากฏหอยหลอดทุกสิ่งทดลองได้รับคะแนนประเมินความสดด้านสี เท่ากับ 10 คะแนนเท่ากัน ซึ่งหมายถึง ตัวอย่างสดมากที่สุด แสดงให้เห็นว่าการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ไม่มีผลต่อการยอมรับความสดด้านสีของหอยหลอด เมื่อเก็บรักษานานขึ้น พบแนวโน้มคะแนนประเมินความสดด้านสีน้อยลง โดยสิ่งทดลองที่ 1 ซึ่งหมายถึงหอยหลอดที่ใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ในการพาสเจอร์ไรซ์ได้รับคะแนนประเมินความสดด้านสีต่ำที่สุด เมื่อเก็บไว้นานขึ้นถึง 2 และ 3 สัปดาห์ โดยได้คะแนนประเมินความสดด้านสี เท่ากับ 7.52 สำหรับสิ่งทดลองอื่น (สิ่งทดลองที่ 2 3 และ 4) ได้คะแนนอยู่ในช่วง 7.73 – 7.92 ทั้งนี้เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ พบว่าผู้ประเมินให้คะแนนความสดด้านสีกับสิ่งทดลองที่ 3 ซึ่งหมายถึง หอยหลอดที่ใช้สภาวะในการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที มากที่สุด เท่ากับ 7.92 คะแนน อาจเนื่องมาจากสิ่งทดลองนี้ใช้อุณหภูมิและระยะเวลาในการพาสเจอร์ไรซ์ที่เหมาะสม ไม่รุนแรงน้อยหรือมากจนเกินไป จึงอาจมีผลทำให้เกิดการย้อมติดสีของน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดที่ผิวของเนื้อหอยหลอดคงอยู่ในเนื้อหอยหลอดในระดับที่เหมาะสมสีไม่ซีดจางไปมากจึงทำให้ได้รับ

คะแนนความสดด้านสีมากกว่าสิ่งทดลองอื่น รวมถึงสิ่งทดลองดังกล่าวมีลักษณะสุกเล็กน้อย มีสีขาวขุ่น ไม่นิ่มเละ จึงทำให้ผู้ทดสอบประเมินว่ามีความสดด้านสีมากที่สุด

3) ความสดด้านกลิ่น

จากตารางที่ 4-28 แสดงคะแนนประเมินความสดด้านกลิ่นของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาเมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 สัปดาห์ พบว่า หอยหลอดทุกสิ่งทดลองได้รับคะแนนประเมินความสดด้านกลิ่นอยู่ในช่วง 9.30 – 9.33 คะแนน ซึ่งคะแนนของทุกสิ่งทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงให้เห็นว่าการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆไม่มีผลต่อการยอมรับความสดด้านกลิ่นของหอยหลอดเมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้น พบแนวโน้มคะแนนความสดด้านกลิ่นน้อยลง โดยสิ่งทดลองที่ 1 ซึ่งหมายถึงหอยหลอดที่ใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ในการพาสเจอร์ไรซ์ได้รับคะแนนประเมินความสดด้านกลิ่นต่ำที่สุด โดยได้คะแนนความสดด้านกลิ่น เท่ากับ 7.32 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที เป็นสภาวะที่ไม่รุนแรงน้อยที่สุด หอยหลอดยังมีลักษณะคล้ายของดิบที่มีกลิ่นคาวมากกว่าสิ่งทดลองอื่น เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ พบว่าผู้ประเมินให้คะแนนความสดด้านกลิ่นกับสิ่งทดลองที่ 3 ซึ่งหมายถึง หอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที มากที่สุดเท่ากับ 7.67 คะแนน ซึ่งสอดคล้องกับความสดด้านลักษณะปรากฏและสี อาจเนื่องมาจากสิ่งทดลองดังกล่าวนี้สามารถกำจัดกลิ่นคาวหรือกลิ่นไม่พึงประสงค์ต่างๆ ได้มากกว่าสภาวะอื่น รวมถึงยังรักษากลิ่นที่พึงประสงค์ของน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดไว้ได้อีกด้วย จึงส่งผลให้ได้รับคะแนนความสดด้านกลิ่นได้มากกว่า การใช้สภาวะพาสเจอร์ไรซ์ที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์หอยหลอดไม่รุนแรงน้อยหรือมากจนเกินไป อาจส่งผลทำให้โปรตีนไม่เกิดการเสียสภาพมากนักทำให้น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดสามารถยึดเกาะกับเนื้อหอยหลอดได้ดี และคงเหลืออยู่ในเนื้อหอยหลอดโดยที่ปกติแล้วน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดจะมีกลิ่นหอมจากการหมักเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวและเป็นกลิ่นหอมจากสับปะรดที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักอยู่แล้ว การยึดติดกับเนื้อหอยหลอดจึงช่วยเสริมคุณลักษณะที่พึงประสงค์ด้านกลิ่นได้

4) ความสดด้านรสชาติ

จากตารางที่ 4-29 แสดงคะแนนความสดด้านรสชาติของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาผลการทดสอบชิมหอยหลอดที่การเก็บ 0 สัปดาห์ ซึ่งผ่านการทำให้สุกโดยการต้มพบว่า หอยหลอดทุกสิ่งทดลองได้รับคะแนนประเมินความสดด้านรสชาติ อยู่ในช่วง 9.77 – 9.87 คะแนน ซึ่งคะแนนของทุกสิ่งทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงให้เห็นว่าการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ไม่มีผลต่อการยอมรับความสดด้านรสชาติของหอยหลอด เมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้น พบแนวโน้มคะแนนความสดด้านรสชาติน้อยลง โดยเฉพาะสิ่งทดลองที่ 1 ซึ่งหมายถึงหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ได้รับคะแนนความสดด้านรสชาติต่ำที่สุด โดยได้คะแนนความสดด้านรสชาติ เท่ากับ 7.32 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการพาสเจอร์ไรซ์อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที เป็นสภาวะการพาสเจอร์ไรซ์ที่รุนแรงน้อยที่สุด จึงอาจทำให้โครงสร้างเนื้อเยื่อหอยหลอดถูกทำลายไปไม่มากนักมีผลทำให้น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดแพร่เข้าไปในเนื้อหอยหลอดได้ไม่มากพอทำให้มีรสชาติของน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดที่เนื้อของหอยหลอดน้อยกว่าสิ่งทดลองอื่น เมื่อนำมา

ต้มสุกจึงทำให้ได้รับคะแนนความสดด้านรสชาติต่ำที่สุด ในขณะที่เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน พบว่าผู้ประเมินให้คะแนนความสดด้านรสชาติ สิ่งทดลองที่ 3 ซึ่งหมายถึง หอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ได้รับคะแนนความสดด้านรสชาติเท่ากับ 7.80 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้อุณหภูมิที่สูงกว่า ทำให้โครงสร้างเนื้อเยื่อถูกทำลายไปและทำให้คอลลาเจนละลายได้มากขึ้น ช่วยเพิ่มความนุ่มของเนื้อหอย (Voller-Reasonover et al., 1997; Wattanachant et al., 2008) ทำให้น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดแทรกผ่านเข้าไปในเนื้อหอยหลอดได้ดี แม้นำมาต้มสุกยิ่งทำให้หอยหลอดมีรสชาติคล้ายผ่านการปรุงรสมาเล็กน้อย ทำให้มีลักษณะรสชาติพึงประสงค์มากที่สุด

5) ความชอบโดยรวม

จากตารางที่ 4-30 แสดงคะแนนความชอบโดยรวมของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา พบว่าแนวโน้มสอดคล้องกับผลประเมินคะแนนความสดด้านต่างๆ ที่พบว่าสิ่งทดลองที่ 3 ได้รับคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุดตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ แสดงให้เห็นว่าหากคุณลักษณะด้านความสดทุกด้าน เป็นที่ยอมรับจากผู้ทดสอบมีผลให้ได้คะแนนความชอบโดยรวมสูงด้วย การที่สิ่งทดลองที่ 3 ได้รับคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด คือได้คะแนน 8.42 – 9.82 ตลอดการเก็บ 3 สัปดาห์ ซึ่งอยู่ในระดับเป็นที่ยอมรับและตัวอย่างมีความสดมาก เนื่องจากสิ่งทดลองดังกล่าว ผ่านการเตรียมขั้นต้นโดยแช่ในน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด เป็นเวลา 30 นาที ก่อนการนำมา sous vide คือ การใช้อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรซ์อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ซึ่งการใช้อุณหภูมิสูงอาจมีผลทำให้เกิดการยึดติดระหว่างน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดกับเนื้อหอยหลอดได้ดีขึ้นและการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะรุนแรงเพียงพอยังสามารถทำลายจุลินทรีย์ก่อโรครวมทั้งจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียจึงทำให้อายุการเก็บอาหารนานขึ้นจึงทำให้คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสที่เกี่ยวข้องกับความสดทุกด้านยังคงลักษณะดีเป็นที่ยอมรับมากที่สุด

ทั้งนี้พบว่า ตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ สิ่งทดลองที่ 3 มีคะแนนความสดด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมมากที่สุด อยู่ในช่วง 7.67-10.00 ซึ่งหมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสด

ตารางที่ 4-26 คะแนนความสดด้านลักษณะปรากฏของหอยหลอดผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 ℃

สิ่งทดลองที่	สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์		ค่าเฉลี่ยคะแนนความสดด้านลักษณะปรากฏ * ± SD			
	อุณหภูมิ (℃)	เวลา (นาที)	0 สัปดาห์ [NS]	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	70	3	10.00 ± 0.00 [c]	9.55 ± 0.05 [b, A]	7.60 ± 0.13 [a, A]	7.55 ± 0.08 [a, A]
2	70	5	10.00 ± 0.00 [c]	9.68 ± 0.12 [b, B]	8.02 ± 0.10 [a, B]	7.97 ± 0.08 [a, B]
3	80	3	10.00 ± 0.00 [d]	9.87 ± 0.08 [c, C]	8.28 ± 0.12 [b, C]	8.17 ± 0.08 [a, C]
4	80	5	10.00 ± 0.00 [d]	9.70 ± 0.09 [c, B]	8.17 ± 0.10 [b, C]	8.00 ± 0.06 [a, B]

[a,b,c,...] ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

[A,B,C,...] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

[NS] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

* ให้คะแนนการยอมรับความสดจาก 0-10 โดยคะแนน 0 = ตัวอย่างเน่าเสียแล้ว 5 = ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ และ 10 = ตัวอย่างสดมากที่สุด

ตารางที่ 4-27 คะแนนความสดด้านสีของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 ℃

สิ่งทดลองที่	สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์		ค่าเฉลี่ยคะแนนความสดด้านสี * ± SD			
	อุณหภูมิ (℃)	เวลา (นาที)	0 สัปดาห์ [NS]	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	70	3	10.00 ± 0.00 [d]	9.55 ± 0.10 [c, A]	7.97 ± 0.01 [b, A]	7.52 ± 0.07 [a, A]
2	70	5	10.00 ± 0.00 [d]	9.75 ± 0.08 [c, B]	8.02 ± 0.08 [b, A]	7.73 ± 0.08 [a, B]
3	80	3	10.00 ± 0.00 [c]	9.93 ± 0.08 [c, C]	8.37 ± 0.20 [b, B]	7.92 ± 0.12 [a, C]
4	80	5	10.00 ± 0.00 [d]	9.78 ± 0.07 [c, B]	8.28 ± 0.07 [b, B]	7.83 ± 0.08 [a, BC]

[a,b,c,...] ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

[A,B,C,...] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

[NS] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

* ให้คะแนนการยอมรับความสดจาก 0-10 โดยคะแนน 0 = ตัวอย่างเน่าเสียแล้ว 5 = ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ และ 10 = ตัวอย่างสดมากที่สุด

ตารางที่ 4-28 คะแนนความสดด้านรสกลิ่นของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 4±1 ℃

สิ่งทดลองที่	สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์		ค่าเฉลี่ยคะแนนความสดด้านกลิ่น * ± SD			
	อุณหภูมิ (℃)	เวลา (นาที)	0 สัปดาห์ [NS]	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	70	3	9.30 ± 0.11 [c]	7.58 ± 0.13 [b, A]	7.42 ± 0.08 [a, A]	7.32 ± 0.07 [a, A]
2	70	5	9.32 ± 0.12 [d]	7.77 ± 0.10 [c, BC]	7.55 ± 0.05 [b, B]	7.42 ± 0.12 [a, AB]
3	80	3	9.33 ± 0.12 [c]	7.85 ± 0.05 [b, C]	7.68 ± 0.07 [a, C]	7.67 ± 0.08 [a, C]
4	80	5	9.32 ± 0.15 [c]	7.68 ± 0.07 [b, AB]	7.57 ± 0.10 [ab, B]	7.50 ± 0.06 [a, B]

[a,b,c,...] ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

[A,B,C,...] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

[NS] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

* ให้คะแนนการยอมรับความสดจาก 0-10 โดยคะแนน 0 = ตัวอย่างเน่าเสียแล้ว 5 = ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ และ 10 = ตัวอย่างสดมากที่สุด

ตารางที่ 4-29 คะแนนความสดด้านรสชาติของหอยหลอดที่ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 ℃

สิ่งทดลองที่	สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์		ค่าเฉลี่ยคะแนนความสดด้านรสชาติ * ± SD			
	อุณหภูมิ (℃)	เวลา (นาที)	0 สัปดาห์ ^{NS}	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	70	3	9.77 ± 0.08 ^{d}	7.98 ± 0.12 $^{c, A}$	7.78 ± 0.10 $^{b, A}$	7.32 ± 0.07 $^{a, A}$
2	70	5	9.83 ± 0.12 ^{c}	8.08 ± 0.13 $^{b, A}$	8.05 ± 0.12 $^{b, B}$	7.73 ± 0.08 $^{a, BC}$
3	80	3	9.87 ± 0.08 ^{d}	8.32 ± 0.13 $^{c, B}$	8.07 ± 0.08 $^{b, B}$	7.80 ± 0.09 $^{a, C}$
4	80	5	9.82 ± 0.07 ^{d}	8.27 ± 0.08 $^{c, B}$	7.95 ± 0.14 $^{b, B}$	7.63 ± 0.10 $^{a, B}$

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{NS} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

* ให้คะแนนการยอมรับความสดจาก 0-10 โดยคะแนน 0 = ตัวอย่างเน่าเสียแล้ว 5 = ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ และ 10 = ตัวอย่างสดมากที่สุด

ตารางที่ 4-30 คะแนนความสดด้านความชอบโดยรวมของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์		ค่าเฉลี่ยคะแนนความสดด้านความชอบโดยรวม * ± SD			
	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	0 สัปดาห์ ^{NS}	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	70	3	9.47 ± 0.08 $^{c, A}$	9.33 ± 0.16 $^{b, A}$	8.17 ± 0.08 $^{a, A}$	8.08 ± 0.10 $^{a, A}$
2	70	5	9.65 ± 0.10 $^{c, B}$	9.55 ± 0.10 $^{c, B}$	8.33 ± 0.05 $^{b, B}$	8.20 ± 0.09 $^{a, AB}$
3	80	3	9.82 ± 0.08 $^{b, C}$	9.75 ± 0.10 $^{b, C}$	8.48 ± 0.08 $^{a, C}$	8.42 ± 0.10 $^{a, C}$
4	80	5	9.67 ± 0.05 $^{b, B}$	9.62 ± 0.08 $^{b, BC}$	8.35 ± 0.05 $^{a, B}$	8.27 ± 0.10 $^{a, B}$

$^{a,b,c,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{A,B,C,...}$ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

* ให้คะแนนการยอมรับความสดจาก 0-10 โดยคะแนน 0 = ตัวอย่างเน่าเสียแล้ว 5 = ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ และ 10 = ตัวอย่างสดมากที่สุด

(3) ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

(3.1) ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria

จากตารางที่ 4-31 แสดงปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาที่การเก็บ 0 วัน พบว่า หอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที มีปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria สูงที่สุดเท่ากับ 1.32 log CFU/กรัม ในขณะที่สิ่งทดลองอื่นมีปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria อยู่ในช่วงน้อยกว่า 1.00 log CFU/กรัม แสดงให้เห็นว่าสภาวะในการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที และ 5 นาที มีผลให้ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria ลดลงได้มาก อาจเนื่องมาจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงและระยะเวลานานกว่า มีผลต่อการทำลายปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นได้ดีกว่า ทำให้ไม่มีปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตหรือมีปริมาณเหลือรอดอยู่น้อย สอดคล้องกับงานวิจัยของ ประกายแก้ว โกมลตรี (2554) รายงานว่า ไก่กอและที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นและการใช้เทคนิค sous vide โดยการพาสเจอร์ไรซ์ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่า ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาไก่กอและมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด น้อยกว่า 1 log CFU/กรัม แสดงให้เห็นว่าการพาสเจอร์ไรซ์ในสภาวะที่รุนแรงเพียงพอสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์เบื้องต้นได้มาก จึงทำให้มีปริมาณจุลินทรีย์ตลอดการเก็บไม่มากและปลอดภัยสำหรับการบริโภค

เมื่อเก็บรักษานานขึ้นพบว่าปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลาการเก็บรักษา โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ มีปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria สูงที่สุดเท่ากับ 2.01 log CFU/กรัม แสดงให้เห็นว่าเมื่อเก็บรักษาหอยหลอดไว้นานขึ้น ซึ่งอยู่ในสภาวะที่เอื้อต่อการเจริญของจุลินทรีย์ได้ จึงทำให้ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria มีปริมาณเพิ่มขึ้น Carlin *et al*. (2008) กล่าวว่าจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางมีโอกาสสามารถรอดชีวิตได้ในระหว่างกระบวนการฆ่าเชื้อโดยให้ความร้อน และเติบโตได้แม้อยู่ในสภาวะแช่เย็น จากผลการทดลองพบว่าสิ่งทดลองอื่น มีปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria น้อยกว่า 1 log CFU/กรัม ตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ แสดงให้เห็นว่าการใช้สภาวะในการพาสเจอไรซ์ที่รุนแรงเพียงพอ สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเริ่มต้นได้มาก จึงลดโอกาสให้จุลินทรีย์เจริญได้ในระหว่างการเก็บ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Woothuis และ Smulders (1985) ได้อธิบายว่าการใช้กรดร่วมกับอุณหภูมิสูงในการพาสเจอร์ไรซ์สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนได้และจะไปทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยการที่ค่า pH ลดต่ำลง เป็นการขยายช่วงระยะปรับตัว (Lag phase) ออกไป จึงทำให้จุลินทรีย์ใช้เวลาในการปรับตัวนานขึ้น

ทั้งนี้พบว่าตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ สิ่งทดลองที่ 1-4 ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ มีปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria อยู่ในช่วงน้อยกว่า 1.00 – 2.01 log CFU/กรัม ซึ่ง

ยังไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน 6 log CFU/กรัม ซึ่งหมายถึงตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัย

(3.2) ปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria

จากตารางที่ 4-32 แสดงปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria ของหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา พบว่า ทุกสิ่งทดลองตรวจพบการเจริญของ Psychrophilic aerobic bacteria น้อยกว่า 1.00 log CFU/กรัม ตลอดการเก็บรักษา แสดงให้เห็นว่าสภาวะการพาสเจอร์ไรซ์ทุกสภาวะสามารถลดการเจริญของ Psychrophilic aerobic bacteria ได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน นอกจากนี้อาจเนื่องมาจากการบรรจุตามวิธี sous vide เป็นการบรรจุแบบสุญญากาศจึงมีปริมาณออกซิเจนในภาชนะบรรจุอยู่น้อยจึงเป็นสภาวะไม่เอื้อต่อการเจริญของแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิต่ำ โดยเฉพาะกลุ่มที่ต้องใช้ออกซิเจนในการเจริญ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ashie, smith และ Simpson (1996) และ Peck (1997) รายงานว่า ในตัวอย่างหอยเป๋าฮื้อที่บรรจุแบบปรับสภาพบรรยากาศภายในภาชนะบรรจุให้มีปริมาณออกซิเจนต่ำมากตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และการเก็บรักษาโดยการแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 3 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำได้รวมถึงยับยั้งการเจริญของ *Clostridium botulinum* ได้อย่างสมบูรณ์

ทั้งนี้พบว่าตลอดการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ ทุกสิ่งทดลองมีปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria น้อยกว่า 1.00 log CFU/กรัม ซึ่งยังไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน 6 log CFU/กรัม ซึ่งหมายถึงตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับด้านความสดและปลอดภัยสำหรับการบริโภค

นอกจากนี้ผลด้านปริมาณ Anaerobic bacteria ผลการวิเคราะห์พบว่า หอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ทุกสิ่งทดลองที่เก็บรักษาเป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีปริมาณ Anaerobic bacteria น้อยกว่า 10 CFU/กรัม หรือ น้อยกว่า 1 log CFU/กรัม (ในรายงานผลการทดสอบแสดงในภาคผนวก ช) สอดคล้องกับที่ Garcia Linares et al. (2004) รายงานว่า ในการแปรรูปปลาด้วยวิธี sous vide มักไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ประเภท Anaerobic bacteria

ตารางที่ 4-31 ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria ของหอยหลอดผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์		ค่าเฉลี่ยปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria ± SD (log CFU/กรัม)			
	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	70	3	1.32 ± 0.03	1.49 ± 0.01	1.72 ± 0.03	2.01 ± 0.01
2	70	5	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00
3	80	3	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00
4	80	5	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00

ตารางที่ 4-32 ปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria ของหอยหลอดผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 °C

สิ่งทดลองที่	สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์		ค่าเฉลี่ยปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria ± SD (log CFU/กรัม)			
	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	70	3	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00
2	70	5	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00
3	80	3	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00
4	80	5	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00	<1.00 ± 0.00

(4) ผลการคัดเลือกสิ่งทดลองที่เหมาะสมที่สุด

จากเกณฑ์ในการคัดเลือกที่กำหนดไว้คือ เลือกสิ่งทดลองที่ผ่านเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคตลอดการเก็บรักษา ระหว่างการเก็บมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้อยและสามารถเก็บรักษาได้นานที่สุด พิจารณาตารางสรุปผลการเปรียบเทียบคุณภาพของหอยหลอดผ่านพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษากับเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเลในตารางที่ 4-33 พบว่า สิ่งทดลองที่ 1-4 ผ่านเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคใน 5 ด้านตามที่กำหนด ได้แก่ ปริมาณ TVB-N ปริมาณ TMA-N ค่า TBARS ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria และ ปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria แต่เมื่อพิจารณาคุณภาพทางประสาทสัมผัสร่วมด้วย พบว่า สิ่งทดลองที่ 3 ซึ่งหมายถึงหอยหลอดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีแนวโน้มได้รับคะแนนความสดทุกด้านมากกว่าสิ่งทดลองอื่นและได้รับคะแนนความสดด้านความชอบโดยรวมสูงที่สุด เท่ากับ 8.42 โดยเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ พบว่า มีปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) เท่ากับ 2.90 มิลลิกรัม/ 100 กรัมตัวอย่าง ปริมาณไตรเมททิลเอมีน (TMA-N) เท่ากับ เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัม/ 100 กรัมตัวอย่าง ค่า TBARS เท่ากับ 1.54 มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์/กิโลกรัม ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria และปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria น้อยกว่า 1.00 log CFU/กรัม

ตารางที่ 4-33 สรุปผลการเปรียบเทียบคุณภาพของหอยหลอดผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษากับเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล

สิ่งทดลองที่	TVB-N				TMA-N				TBARS			
	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
2	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
3	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
4	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√

√ หมายถึง ผ่านเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล

x หมายถึง ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล

- หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

ตารางที่ 4-33 สรุปผลการเปรียบเทียบคุณภาพของหอยหลอดผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่สภาวะต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษากับเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล

สิ่งทดลองที่	Mesophilic aerobic bacteria				Psychrophilic aerobic bacteria				ความชอบโดยรวม *			
	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	0 สัปดาห์	1 สัปดาห์	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์
1	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
2	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
3	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
4	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√

√ หมายถึง ผ่านเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล

x หมายถึง ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับด้านความสดและความปลอดภัยสำหรับการบริโภคอาหารทะเล

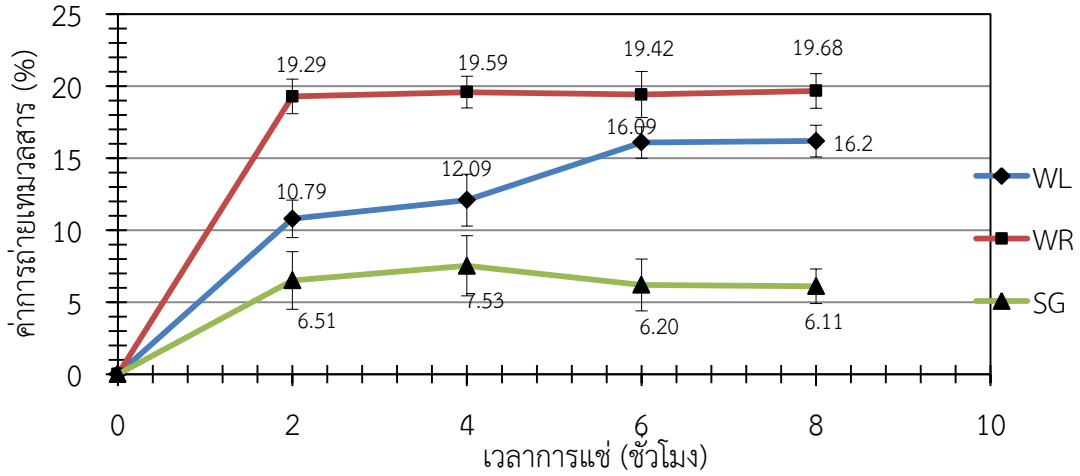
* หมายถึง การผ่านเกณฑ์คือได้คะแนนอย่างน้อย 5 คะแนน (จาก 10 คะแนน) หมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ

- หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างเน่าเสีย ไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

ตอนที่ 4.2 ผลการพัฒนากรรมวิธีการผลิตหอยหลอดกึ่งแห้ง

4.2.1 ผลการศึกษาการถ่ายเทมวลสารและค่า a_w ของหอยระหว่างการแช่ในสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครส

จากการแช่หอยหลอดในสารละลายผสมโดยใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 5% (w/w) ผสมกับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30% (w/w) เป็นเวลา 8 ชั่วโมง และติดตามผลของการถ่ายเทมวลสาร ได้แก่ ค่า WL SG และ WR แสดงดังภาพที่ 4-3



ภาพที่ 4-3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการถ่ายเทมวลสารของหอยหลอดกับเวลาการแช่ในสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครส

จากภาพที่ 4-3 พบว่าค่าการถ่ายเทมวลสารของหอยหลอดระหว่างการแช่ในสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครสในช่วงแรก (0-6 ชั่วโมง) มีค่า WL WR และ SG มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าในการแช่หอยหลอดในในสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครสเกิดการถ่ายเทมวลสารขึ้นระหว่างการแช่ ทั้งนี้เนื่องมาจากสารละลายที่ใช้แช่มีความเข้มข้นของตัวถูกละลายสูงกว่าความเข้มข้นของสารละลายภายในเซลล์เนื้อหอยหลอด จึงเกิดเป็นแรงดันออสโมติก ที่กระตุ้นให้เกิดการแพร่หรือเกิดการเคลื่อนย้ายโมเลกุลของน้ำภายในเซลล์เนื้อหอยหลอดไปยังสารละลายที่ใช้แช่ ในขณะเดียวกันตัวถูกละลายในสารละลาย ได้แก่ เกลือ และน้ำตาลซูโครส สามารถแพร่เข้าไปในชิ้นเนื้อหอยหลอดได้ (Schmidt et.al., 2007) นอกจากนี้ในระหว่างการแช่ชิ้นเนื้อหอยหลอดในสารละลายที่มีเกลือเป็นส่วนผสม สามารถเกิดปรากฏการณ์ Depolymerization ของ thick myosin filaments ส่งผลให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อซึ่งจะลดความสามารถในการอุ้มน้ำลง เป็นผลให้เกิดการสูญเสียน้ำออกจากกล้ามเนื้อได้ (Otoniel & Nelson, 2006) จากผลการทดลองสังเกตพบว่า ในช่วงแรกของการแช่ค่าการถ่ายเทมวลสารมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมาก ทั้งนี้เนื่องมาจากในช่วงแรกของการแช่เกิดความแตกต่างของแรงดันออสโมติกระหว่างเซลล์ของชิ้นหอยหลอดและสารละลายที่ใช้แช่มาก การถ่ายเทมวลสารจึงเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อเวลาใน

การแช่นานขึ้น จะเกิดการสะสมของน้ำที่แพร่กระจายออกมารอบๆชิ้นหอยหลอดมากขึ้น สารละลายที่ใช้แช่จึงมีความเข้มข้นลดลง เป็นผลให้ความแตกต่างของแรงดันออสโมติกน้อยลงจนเข้าสู่สมดุล ทำให้การถ่ายเทมวลสารมีแนวโน้มลดลง และคงที่ (Aleksandar, Juiliana, Ljubinko & Zoltan, 2007)

ค่า a_w แสดงถึง ค่าของปริมาณน้ำอิสระที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการทำปฏิกิริยาทางเคมีและเพื่อการเจริญเติบโต (ไพโรจน์ วิริยะจารี, 2539) จากการแช่หอยหลอดในสารละลายผสมโดยใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 5% (w/w) ผสมกับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30% (w/w) เป็นเวลา 8 ชั่วโมง และติดตามผลของการถเปลี่ยนแปลงค่า a_w ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4-34

ตารางที่ 4-34 ค่า a_w ของหอยหลอดที่แช่สารในสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครสที่เวลาต่างๆ

เวลาการแช่ (ชั่วโมง)	ค่า a_w เฉลี่ย±SD
0	0.986±0.005[a]
2	0.980±0.001[a]
4	0.975±0.002[b]
6	0.894±0.001[c]
8	0.893±0.001[c]

[a,b,c,d] ตัวอักษรในแนวตั้งต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

จากผลการทดลองในตารางที่ 4-34 พบว่า ค่า a_w ของเนื้อหอยหลอดมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการแช่ในสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครสเพิ่มขึ้น โดยเมื่อครบกำหนดเวลา 8 ชั่วโมง พบว่า การแช่หอยหลอดในสารละลายสามารถลดปริมาณน้ำอิสระที่จุลินทรีย์นำไปใช้ประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตได้ โดยสามารถลดค่า a_w จากหอยหลอดสดที่มีค่า a_w เท่ากับ 0.986 เหลือ 0.893 ซึ่งที่ระดับ a_w นี้สามารถลดโอกาสการเจริญของจุลินทรีย์พวกยีสต์ได้ รวมถึงจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียส่วนใหญ่ ยกเว้นแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถเจริญได้ที่ค่าน้ำอิสระต่ำกว่า 0.90 เช่น *Staphylococcus aureus* ซึ่งสามารถเจริญได้ที่ค่า a_w 0.86 และอาจมีแบคทีเรียบางชนิดที่ทนต่อสภาวะเกลือ ซึ่งสามารถเจริญได้ที่ค่า a_w 0.75 แต่ระดับ a_w นี้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้เนื่องจากเชื้อราหลายชนิดสามารถเจริญได้ในช่วงค่าประมาณ a_w 0.80 เจริญเติบโต (ไพโรจน์ วิริยะจารี, 2539; Barbosa-Canavas, et al.,2003)

เมื่อพิจารณาการถ่ายเทมวลสารต่างๆ และค่า a_w ดังที่ได้กล่าวมาแล้วซึ่งเป็นข้อมูลที่ทำให้ช่วยตัดสินใจสำหรับการวางแผนการทดลองในการหาเวลาในการแช่ที่เหมาะสมได้ โดยเลือกใช้เวลาแช่ 6 ชั่วโมง เนื่องจากที่เวลาการแช่ 6 ชั่วโมง ค่าการถ่ายเทมวลสารทุกค่าและค่า a_w มีแนวโน้มคงที่แล้ว

4.2.2 ผลของการเติมสารควบคุมความชื้นต่อคุณภาพของหอยหลอดกึ่งแห้ง

(1) คุณภาพของหอยหลอดหลังการแช่สารละลาย

จากการแปรความเข้มข้นของสารควบคุมความชื้น ได้แก่ กลีเซอรอล และ ซอร์บิทอล เท่ากับ 0 10 20 และ 30% (w/w) ในการเตรียมสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 5% (w/w) ผสมกับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30% (w/w) แล้วแช่หอยหลอดในสารละลายดังกล่าวเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ผลการการวิเคราะห์คุณภาพของหอยหลอดหลังการแช่สารละลาย แสดงดังตารางที่ 4-35 ถึง 4-39

(1.1) ปริมาณความชื้นและค่า a_w

จากตารางที่ 4-35 และ 4-36 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและค่า a_w ของหอยหลอดหลังการแช่ในสารละลายผสมที่มีการเติมสารควบคุมความชื้น ได้แก่ กลีเซอรอลและซอร์บิทอล ความเข้มข้นระดับต่างๆ พบว่า ความเข้มข้นของกลีเซอรอลและซอร์บิทอลที่เติมมีผลต่อปริมาณความชื้นและค่า a_w ของหอยหลอดหลังการแช่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยพบว่าการใช้สารควบคุมความชื้นเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณความชื้นและค่า a_w ของหอยหลอดลดลง เนื่องมาจากสารควบคุมความชื้นทั้งกลีเซอรอลและซอร์บิทอล มีสมบัติสามารถกระจายตัวและจับกับน้ำในอาหารได้ดี มีหมู่ไฮดรอกซิล จำนวนมากในโมเลกุล จึงมีสมบัติในการเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำในอาหารได้ จึงมีผลให้ปริมาณความชื้นและปริมาณน้ำอิสระลดลง (Luffingwell and Lesser, 1945) การใช้ในความเข้มข้นมากขึ้นจึงมีโอกาสกระจายตัวและจับกับน้ำได้มากจึงสามารถลดปริมาณความชื้นและค่า a_w ได้มาก โดยพบว่า สามารถลดปริมาณความชื้นจากตัวควบคุมที่ไม่มีการใช้สารควบคุมความชื้นซึ่งมีปริมาณความชื้นเท่ากับ 56.36% เหลือปริมาณความชื้น 39.89%-48.12% และลดค่า a_w จาก 0.893 เหลือค่า a_w 0.854-0.889 อย่างไรก็ตามพบว่าที่ปริมาณความเข้มข้นเดียวกันการใช้ซอร์บิทอลมีแนวโน้มให้ปริมาณความชื้นและค่า a_w ของหอยหลอดลดลงมากกว่าการใช้กลีเซอรอล แต่เมื่อทดสอบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าแม้ซอร์บิทอลจะมีแนวโน้มช่วยลดปริมาณความชื้นและค่า a_w ได้ดีกว่ากลีเซอรอบ แต่ก็ยังไม่แตกต่างกันมากนัก

ปัทมกร พรหมจรรย์ และ ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์ (2546) รายงานว่าในการผลิตปลาข้างเหลืองกึ่งแห้ง โดยเปรียบเทียบชนิดของสารควบคุมความชื้นที่มีผลต่อค่า a_w ในปลาข้างเหลืองกึ่งแห้ง โดยสารควบคุมความชื้นที่ใช้มี 4 ชนิด คือ กลีเซอรอล ซอร์บิทอล แลคทิทอล และกลูโคสไซรัป โดยใช้สารควบคุมความชื้นที่เข้มข้น 50% ของน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมด พบว่า การใช้กลีเซอรอลมีผลทำให้ปลาข้างเหลืองกึ่งแห้งมีปริมาณความชื้นสุดท้ายสูงที่สุด (24.97%) และการใช้ซอร์บิทอลมีผลทำให้ปลาข้างเหลืองกึ่งแห้งมีปริมาณความชื้นสุดท้ายต่ำที่สุด (18.41%) โดยปลาข้างเหลืองกึ่งแห้งทุกสิ่ง

ทดลองมีค่า a_w ใกล้เคียงกัน (ประมาณ 0.64-0.65) ในขณะที่ธีศิษฎ์ อภัยนิพัฒน์ (2548) ศึกษาผลของชนิดและปริมาณของสารควบคุมความชื้นต่อค่า a_w และคุณภาพการเก็บรักษาหอยแมลงภู่ปรุงรสกึ่งแห้ง โดยสารสารควบคุมความชื้นที่ศึกษา คือ กลีเซอรอล ซอร์บิทอล และกลีเซอรอลผสมซอร์บิทอล (อัตราส่วน 1:1) ทดแทนปริมาณของน้ำตาลที่ 25% โดยน้ำหนักส่วนผสม พบว่าการใช้กลีเซอรอลผสมซอร์บิทอลมีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการลดค่า a_w

ตารางที่ 4-35 ปริมาณความชื้นของหอยหลอดหลังการแช่สารในสารละลายที่มีการเติมกลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ

ชนิดของสารควบคุมความชื้น	ความเข้มข้น (%)	ปริมาณความชื้นเฉลี่ย±SD (%)
กลีเซอรอล	10	48.12 ±1.97[b]
	20	43.18±1.08[c]
	30	40.25 ±1.21[d]
ซอร์บิทอล	10	46.63 ±1.62[b]
	20	41.11±1.24[c]
	30	39.89 ±1.25[d]
ไม่ใช้ (ตัวควบคุม)	0	56.36±0.001[a]

[a,b,c,d] ตัวอักษรในแนวตั้งต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4-36 ค่า a_w ของหอยหลอดหลังการแช่สารในสารละลายที่มีการเติมกลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ

ชนิดของสารควบคุมความชื้น	ความเข้มข้น (%)	ค่า a_w เฉลี่ย±SD
กลีเซอรอล	10	0.889 ± 0.001^{b}
	20	0.864 ± 0.001^{c}
	30	0.854 ± 0.001^{d}
ซอร์บิทอล	10	0.886 ± 0.002^{b}
	20	0.861 ± 0.003^{c}
	30	0.852 ± 0.001^{d}
ไม่ใช้ (ตัวควบคุม)	0	0.893 ± 0.001^{a}

^{a,b,c,d} ตัวอักษรในแนวตั้งต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

(1.2) ค่าการถ่ายเทมวลสาร

จากตารางที่ 4-37 4-38 และ 4-39 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำที่สูญเสีย ปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้น และปริมาณน้ำหนักที่ลดลงของหอยหลอดหลังการแช่ในสารละลายผสมที่มีการเติมสารควบคุมความชื้น ได้แก่ กลีเซอรอลและซอร์บิทอล ความเข้มข้นระดับต่างๆ พบว่า ความเข้มข้นของกลีเซอรอลและซอร์บิทอลที่เติมมีผลต่อค่าการถ่ายเทมวลสารทุกค่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกลีเซอรอลและซอร์บิทอลมีคุณสมบัติในการดูดความชื้นจึงดึงน้ำออกจากเนื้อหอยหลอดได้มากขึ้น กล่าวได้ว่าการเติมกลีเซอรอลและซอร์บิทอลช่วยลดค่า a_w ของสารละลายที่ใช้แช่ ทำให้เพิ่มแรงดันออสโมติก ส่งผลให้เกิดการดึงน้ำออกได้มาก (Pascua et al., 1944) โดยค่า WL และ WR มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณกลีเซอรอลและซอร์บิทอลมากขึ้น การใช้กลีเซอรอลมากถึง 30% ทำให้มีค่า WL ประมาณ 27% และมีค่า WR ประมาณ 22% ส่วนการใช้ซอร์บิทอลมากถึง 30% ทำให้มีค่า WL ประมาณ 30% และมีค่า WR ประมาณ 22% ซึ่งพบแนวโน้มว่าการใช้ซอร์บิทอลมีผลให้เกิดการสูญเสียน้ำมากกว่าการใช้กลีเซอรอล ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารละลายที่มีการเติมกลีเซอรอลมีความหนืดมากกว่าสารละลายที่มีการเติมซอร์บิทอล Guillemin et al (2008) รายงานว่า เมื่อสารละลายออสโมติกมีความหนืดสูงขึ้นมีผลให้ตัวถูกละลายแพร่เข้าไปในรูพรุนของชิ้นแอปเปิ้ลได้น้อยลง จึงมีผลให้อัตราการเพิ่มขึ้นของของแข็งและอัตราการสูญเสียน้ำที่เกิดขึ้นได้ช้าลง สำหรับค่า SG พบว่า การใช้สารดูดความชื้นทั้งกลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลร่วมด้วย ทำให้หอยหลอดมีค่า SG ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\geq0.05$) การเพิ่มขึ้นของของแข็งเป็นผลจากการที่ทั้งกลีเซอรอลและซอร์บิทอลเป็นสารดูดความชื้นที่สามารถแพร่เข้าไปในชิ้นเนื้ออาหารได้ โดย

สามารถไปสร้างพันธะไฮโดรเจนกับน้ำภายในชิ้นอาหารได้ Iseya et al (2000) รายงานว่า ในระหว่างการแช่ปลาเอทคาแมคเคอเรล (Atka mackerel) และปลาหมึก ในสารละลายเกลือที่มีการเติมซอร์บิทอลร่วมด้วย มีผลให้ซอร์บิทอลแพร่เข้าสู่ชิ้นปลาและปลาหมึกได้ และมีผลทำให้ปริมาณความชื้นลดลง 52% และ 42% อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองพบว่าการใช้สารดูดความชื้นทั้งกลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลร่วมด้วย มีผลให้เกิดการถ่ายเทมวลสารด้านการลดปริมาณน้ำและลดน้ำหนักมากกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการใช้สารดูดความชื้น

ตารางที่ 4-37 ปริมาณน้ำที่สูญเสีย (WL) ของหอยหลอดหลังการแช่สารในสารละลายที่มีการเติมกลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ

ชนิดของสารควบคุมความชื้น	ความเข้มข้น (%)	WL เฉลี่ย±SD
กลีเซอรอล	10	22.53 ± 0.44^{c}
	20	23.05 ± 0.54^{b}
	30	27.05 ± 0.60^{b}
ซอร์บิทอล	10	22.51 ± 0.43^{c}
	20	24.11 ± 0.42^{b}
	30	30.01 ± 0.32^{a}
ไม่ใช้ (ตัวควบคุม)	0	16.68 ± 0.49^{d}

^{a,b,c,d} ตัวอักษรในแนวตั้งต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4-38 ปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้น (SG) ของหอยหลอดหลังการแช่สารในสารละลายที่มีการเติมกลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ

ชนิดของสารควบคุมความชื้น	ความเข้มข้น (%)	SG เฉลี่ย±SD
กลีเซอรอล	10	5.24 ± 0.47^{b}
	20	5.17 ± 0.37^{b}
	30	5.57 ± 1.02^{b}
ซอร์บิทอล	10	5.70 ± 0.79^{b}
	20	5.61 ± 0.45^{b}
	30	5.78 ± 0.14^{b}
ไม่ใช้ (ตัวควบคุม)	0	6.13 ± 0.96^{a}

^{a,b,c,d} ตัวอักษรในแนวตั้งต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4-39 ปริมาณน้ำหนักที่ลดลง (WR) ของหอยหลอดหลังการแช่สารในสารละลายที่มีการเติมกลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ

ชนิดของสารควบคุมความชื้น	ความเข้มข้น (%)	WR เฉลี่ย±SD
กลีเซอรอล	10	19.83 ± 0.78^{b}
	20	$20.89^{c} \pm 1.01^{a}$
	30	$21.91^{c} \pm 0.15^{a}$
ซอร์บิทอล	10	$19.99^{c} \pm 0.98^{b}$
	20	$21.14^{c} \pm 0.57^{a}$
	30	$22.32^{c} \pm 1.01^{a}$
ไม่ใช้ (ตัวควบคุม)	0	$19.80^{c} \pm 0.90^{b}$

^{a,b,c,d} ตัวอักษรในแนวตั้งต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

(2) คุณภาพของหอยหลอดกึ่งแห้ง

เมื่อนำหอยหลอดที่ผ่านการแช่ในสารละลายต่างๆ มาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์กึ่งแห้ง จากการนำไปอบในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนมีความชื้น 25$\pm$2% ผลการการวิเคราะห์คุณภาพของหอยหลอดกึ่งแห้ง แสดงดังตารางที่ 4-40 ถึง 4-45

(2.1) ค่า a_w

จากตารางที่ 4-40 แสดงผลการวิเคราะห์ค่า a_w ของหอยหลอดกึ่งแห้งที่มีการใช้สารควบคุมความชื้น ได้แก่ กลีเซอรอลและซอร์บิทอล ความเข้มข้นระดับต่างๆ พบว่า ความเข้มข้นของกลีเซอรอลและซอร์บิทอลที่เติมมีผลต่อค่า a_w ของหอยหลอดกึ่งแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยพบว่า การใช้กลีเซอรอลและซอร์บิทอลร่วมด้วย มีผลให้ค่า a_w ของหอยหลอดกึ่งแห้ง (0. 687-0.806) ลดลงมากกว่าการไม่ใช้ (0.815) สอดคล้องกับที่ ธีศิษฎ์ อภัยนิพัฒน์ (2548) รายงานว่าในการผลิตหอยแมลงภู่ปรุงรสกึ่งแห้งที่มีการเติมสารดูดความชื้น การใช้กลีเซอรอลผสมซอร์บิทอลมีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดค่า a_w ทำให้ใช้เวลาในการอบแห้งน้อยที่สุด ($p<0.05$) เนื่องจากกลีเซอรอลและซอร์บิทอลเป็นสารฮิวแมคแตนท์ชนิดโพลิออล ซึ่งสามารถจับกับน้ำในอาหารได้ดีเพราะมีหมู่ไฮดรอกซิลมากในโมเลกุลต่างกับน้ำตาลที่มีหมู่คาร์บอกซิล (COOH) ในโมเลกุล จึงดูดความชื้นได้ดีกว่าน้ำตาลทรายทำให้น้ำในอาหารอยู่ในรูป bound water ส่งผลให้ปริมาณน้ำอิสระ a_w ลดลง จุลินทรีย์จึงนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยลง นอกจากนี้ปัทมกร พรหมจรรย์ และก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์ (2546) กล่าวว่า กลีเซอรอลมีความสามารถในการลดค่า a_w ได้ดีและมีความคงตัวต่อการเปลี่ยนแปลงความชื้นที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการเก็บรักษา ในการผลิตปลาข้างเหลืองกึ่งแห้งเลือกที่จะใช้กลีเซอรอลความเข้มข้น 50% ของเครื่องปรุงรส โดยเติมร่วมกับการหมักเครื่องปรุงรสในการผลิตปลาข้างเหลืองกึ่งแห้ง

จากการตรวจเอกสารพบว่ามีผู้ให้คำอธิบายถึงค่าความชื้นและค่า a_w ของอาหารกึ่งแห้งไว้ดังนี้ อาหารกึ่งแห้งเป็นอาหารที่ผ่านกระบวนการลดความชื้นเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.6 - 0.9 (ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, 2528; Leistner et al., 1981) แต่ในทางการค้าอาหารกึ่งแห้งมักจะควบคุมให้มีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.7 - 0.85 (Brockmann, 1969) ส่วนปริมาณความชื้นในอาหารกึ่งแห้งนั้นได้มีรายงานปริมาณความชื้นที่เหมาะสมแตกต่างกันไปกล่าวคือ 15 – 30% (Desrosier, 1970) 15 – 40% (Smith and Norvell, 1975) 20 – 40% (Leibetseder, 1980) 15 – 50% (Edney, 1982) และ 25 – 35% (Sylvester, 1984) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด ไพโรจน์ วิริยจารี (2539) กล่าวว่า อาหารกึ่งแห้งเป็นอาหารที่มีค่า a_w อยู่ในระดับปานกลางคือช่วง 0.65-0.85 มีความชื้นประมาณร้อยละ 15-30 ซึ่งเป็นระดับที่เชื้อจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ แต่อาจจะมีปัญหาเกี่ยวกับเชื้อรา และยีสต์ที่อาจจะเจริญเติบโตได้ ดังนั้นจากผลการทดลองในขั้นตอนนี้ยืนยันให้เห็นว่าการใช้กลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลร่วมด้วยในการผลิตหอยหลอดกึ่งแห้งสามารถลดปริมาณความชื้นและค่า a_w ให้ลดต่ำลงจนอยู่ในช่วงของอาหารกึ่งแห้งได้

ตารางที่ 4-40 ค่า a_w ของหอยหลอดกึ่งแห้งเมื่อมีการใช้กลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ

ชนิดของสารควบคุมความชื้น	ความเข้มข้น (%)	ค่า a_w เฉลี่ย±SD
กลีเซอรอล	10	0.768 ± 0.001^{c}
	20	0.723 ± 0.001^{d}
	30	0.687 ± 0.001^{e}
ซอร์บิทอล	10	0.806 ± 0.001^{b}
	20	0.768 ± 0.002^{c}
	30	0.701 ± 0.001^{d}
ไม่ใช้ (ตัวควบคุม)	0	0.815 ± 0.001^{a}

^{a,b,c,d} ตัวอักษรในแนวตั้งต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

(2.2) ค่าสี L* a* และ b*

จากตารางที่ 4-41 4-42 และ 4-43 แสดงผลการวิเคราะห์ค่าสี L* a* และ b* ของหอยหลอดกึ่งแห้งที่มีการใช้สารควบคุมความชื้น ได้แก่ กลีเซอรอลและซอร์บิทอล ความเข้มข้นระดับต่างๆ พบว่า ความเข้มข้นของกลีเซอรอลและซอร์บิทอลที่เติมมีผลต่อค่าสี L* a* และ b* ของหอยหลอดกึ่งแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สำหรับค่าสี L* พบว่า การใช้กลีเซอรอลมีผลให้หอยหลอดกึ่งแห้งมีค่าสี L* มากขึ้น แสดงว่ามีความสว่างเพิ่มมากขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นที่ใช้ และมีค่าสี L* มากกว่าสิ่งทดลองอื่น ($p<0.05$) สำหรับค่าสี a* การใช้กลีเซอรอลมีผลให้หอยหลอดกึ่งแห้งมีค่าสี a* ต่ำกว่า (2.12-3.09) สิ่งทดลองอื่น ($p<0.05$) แสดงว่ามีความเป็นสีแดงต่ำกว่า โดยการใช้กลีเซอรอลเพิ่มมากขึ้นทำให้พบแนวโน้มว่าค่าสี a* ยิ่งลดลง การใช้ซอร์บิทอลความเข้มข้น 10% และ 20% มีผลให้หอยหลอดกึ่งแห้งมีแนวโน้มค่าสี a* ใกล้เคียงกับตัวควบคุม แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นสูงถึง 30% พบว่าหอยหลอดกึ่งแห้งมีค่าสี a*สูงที่สุด ($p<0.05$) แสดงถึงความเป็นสีแดงสูงที่สุด สำหรับค่าสี b* พบว่า การใช้ซอร์บิทอลความเข้มข้น 10% 20% และ 30% รวมทั้งการใช้กลีเซอรอบความเข้มข้น 10% มีผลให้หอยหลอดกึ่งแห้งมีค่าสี b* สูงที่สุด (18.19-18.95) ($p<0.05$) แสดงถึงมีความเป็นสีเหลืองมากที่สุด

จากภาพรวมของผลการทดลองแสดงให้เห็นแนวโน้มว่าการใช้กลีเซอรอลมีแนวโน้มทำให้หอยหลอดกึ่งแห้งมีความสว่างมากขึ้นและมีสีออกแดงลดลง ทั้งนี้เนื่องมาจากกลีเซอรอลมีสมบัติทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะมันวาว จึงส่งผลให้เกิดการกระเจิงแสงได้ดี ผลิตภัณฑ์มีความสว่างมากขึ้นและมีลักษณะออกแดงคล้ำลดลงนั่นเอง สำหรับการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้นของหอยหลอดกึ่งแห้ง มีความเป็นไปได้ว่าเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดเมื่อได้รับความร้อนจากการอบ เนื่องจากในสารละลายที่ใช้แช่มี

ส่วนผสมของน้ำตาลซูโครสซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาอินเวอร์ชันเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุกโตส ซึ่งมีสมบัติเป็นน้ำตาลรีดิวซ์และในเนื้อหอยหลอดมีกรดอะมิโนเป็นองค์ประกอบ จึงสามารถทำปฏิกิริยากันในระหว่างการอบแห้งเกิดเป็นสารสีน้ำตาลได้

ตารางที่ 4-41 ค่าสี L* ของหอยหลอดกึ่งแห้งเมื่อมีการใช้กลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ

ชนิดของสารควบคุมความชื้น	ความเข้มข้น (%)	ค่าสี L* เฉลี่ย±SD
กลีเซอรอล	10	44.33 ± 0.42^{c}
	20	47.01 ± 0.26^{b}
	30	49.01 ± 0.14^{a}
ซอร์บิทอล	10	42.41 ± 0.43^{c}
	20	43.11 ± 0.06^{c}
	30	43.09 ± 0.12^{c}
ไม่ใช้ (ตัวควบคุม)	0	42.53 ± 0.50^{c}

^{a,b,c,d} ตัวอักษรในแนวตั้งต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4-42 ค่าสี a* ของหอยหลอดกึ่งแห้งเมื่อมีการใช้กลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ

ชนิดของสารควบคุมความชื้น	ความเข้มข้น (%)	ค่าสี a* เฉลี่ย±SD
กลีเซอรอล	10	3.09 ± 0.15^{c}
	20	2.12 ± 0.17^{d}
	30	2.17 ± 0.25^{d}
ซอร์บิทอล	10	3.63 ± 0.04^{b}
	20	3.78 ± 0.27^{b}
	30	4.63 ± 0.24^{a}
ไม่ใช้ (ตัวควบคุม)	0	3.65 ± 0.12^{b}

^{a,b,c,d} ตัวอักษรในแนวตั้งต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4-43 ค่าสี b* ของหอยหลอดกึ่งแห้งเมื่อมีการใช้กลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ

ชนิดของสารควบคุมความชื้น	ความเข้มข้น (%)	ค่าสี b* เฉลี่ย±SD
กลีเซอรอล	10	18.95 ± 0.64[a]
	20	17.19 ± 0.49[b]
	30	17.21± 0.25[b]
ซอร์บิทอล	10	18.63 ± 0.56[a]
	20	18.19 ± 0.72[a]
	30	18.30± 0.24[a]
ไม่ใช้ (ตัวควบคุม)	0	17.28 ± 0.30[b]

[a,b,c,d] ตัวอักษรในแนวตั้งต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

(2.3) ค่าความแข็ง

จากตารางที่ 4-44 แสดงผลการวิเคราะห์ค่าความแข็งของหอยหลอดกึ่งแห้งที่มีการใช้สารควบคุมความชื้น ได้แก่ กลีเซอรอลและซอร์บิทอล ความเข้มข้นระดับต่างๆ พบว่า ความเข้มข้นของกลีเซอรอลและซอร์บิทอลที่เติมมีผลต่อค่าความแข็งของหอยหลอดกึ่งแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยพบว่าเมื่อมีการใช้กลีเซอรอลและซอร์บิทอลมากขึ้นทำให้ค่าความแข็งของหอยหลอดกึ่งแห้งลดลง หรือมีความอ่อนนุ่มมากขึ้นตามลำดับ เนื่องจากทั้งกลีเซอรอลและซอร์บิทอลเป็นสารดูดความชื้นจำพวกน้ำตาลแอลกอฮอล์หรือโพลิออล ซึ่งมีคุณสมบัติเพิ่มความคงตัวต่อการเสียสภาพของโปรตีนเนื่องจากความร้อน โดยมีผลเพิ่มความแข็งแรงของพันธะไฮโดรโฟบิก และเพิ่มพันธะไอโดรฟิลิก ซึ่งเพิ่มความคงตัวของโครงสร้างโปรตีนทำให้ป้องกันการเสียสภาพของโปรตีน (Yoo and Lee, 1993) และเพิ่มความสามารถในการกักเก็บน้ำของผลิตภัณฑ์ จึงมีผลช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัสนุ่มขึ้น (Iseya et al, 2000) จากผลการทดลองพบว่าที่ระดับการใช้ความเข้มข้นของกลีเซอรอลและซอร์บิทอลเท่ากัน ค่าความแข็งของหอยหลอดกึ่งแห้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\geq0.05$) อย่างไรก็ตามจากภาพรวมของผลการทดลองแสดงให้เห็นแนวโน้มว่าการใช้สารดูดความชื้นทั้งกลีเซอรอลและซอร์บิทอลมีแนวโน้มทำให้หอยหลอดกึ่งแห้งมีความแข็งลดลง (0.58-2.33 กิโลกรัม) มากกว่าตัวควบคุมที่ไม่ใช้สารดูดความชื้น (3.89 กิโลกรัม)

ตารางที่ 4-44 ค่าความแข็ง (Hardness) ของหอยหลอดกึ่งแห้งเมื่อมีการใช้กลีเซอรอลหรือซอร์บิทอล ความเข้มข้นระดับต่างๆ

ชนิดของสารควบคุมความชื้น	ความเข้มข้น (%)	ค่า Hardness เฉลี่ย±SD (กิโลกรัม)
กลีเซอรอล	10	2.18 ± 0.24[a]
	20	1.01 ± 0.34[b]
	30	0.58 ± 0.18[c]
ซอร์บิทอล	10	2.33 ± 0.21[a]
	20	1.20 ± 0.11[b]
	30	0.72 ± 0.10[c]
ไม่ใช้ (ตัวควบคุม)	0	3.89 ± 0.32[b]

[a,b,c,d] ตัวอักษรในแนวตั้งต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

(2.4) ความชอบทางประสาทสัมผัส

จากตารางที่ 4-45 แสดงผลการประเมินความชอบทางประสาทสัมผัสของหอยหลอดกึ่งแห้งที่มีการใช้สารควบคุมความชื้น ได้แก่ กลีเซอรอลและซอร์บิทอล ความเข้มข้นระดับต่างๆ พบว่า ความเข้มข้นของกลีเซอรอลและซอร์บิทอลที่เติมมีผลต่อคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสทุกด้าน ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี เนื้อสัมผัส รสชาติ และความชอบโดยรวม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สำหรับการใช้กลีเซอรอล พบว่า การใช้กลีเซอรอลเพิ่มขึ้นจาก 10% เป็น 20% มีผลทำให้ได้รับคะแนนความชอบทุกด้านมากขึ้น ($p<0.05$) แต่เมื่อใช้กลีเซอรอลถึง 30% มีผลทำให้ได้รับคะแนนความชอบด้านรสชาติและความชอบโดยรวมลดลง ($p<0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเพิ่มกลีเซอรอลขึ้นในปริมาณมาก ทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติจางลง ผู้ทดสอบจึงมีให้คะแนนความชอบด้านรสชาติลดลง และส่งผลต่อความชอบโดยรวม สำหรับการใช้ซอร์บิทอล พบว่า เมื่อมีการใช้ซอร์บิทอลปริมาณมากขึ้นมีแนวโน้มทำให้ได้รับคะแนนความชอบทุกด้านมากขึ้น ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่าการเติมซอร์บิทอลมีส่วนช่วยในการปรับปรุงคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆ ได้แก่ ลักษณะปรากฏเนื้อสัมผัส สี และรสชาติ ให้ดีขึ้นได้ จากผลการทดลองโดยภาพรวมแสดงให้เห็นว่าการใช้กลีเซอรอลความเข้มข้น 20% และการใช้ซอร์บิทอลความเข้มข้น 30% ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์หอยหลอดกึ่งแห้งที่ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆ สูงที่สุด โดยได้รับคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด เท่ากับ 7.21 และ 7.14 ตามลำดับ ซึ่งหมายถึง ระดับชอบปานกลาง

ตารางที่ 4-45 คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของหอยหลอดกึ่งแห้งเมื่อมีการใช้กลีเซอรอลหรือซอร์บิทอลความเข้มข้นระดับต่างๆ

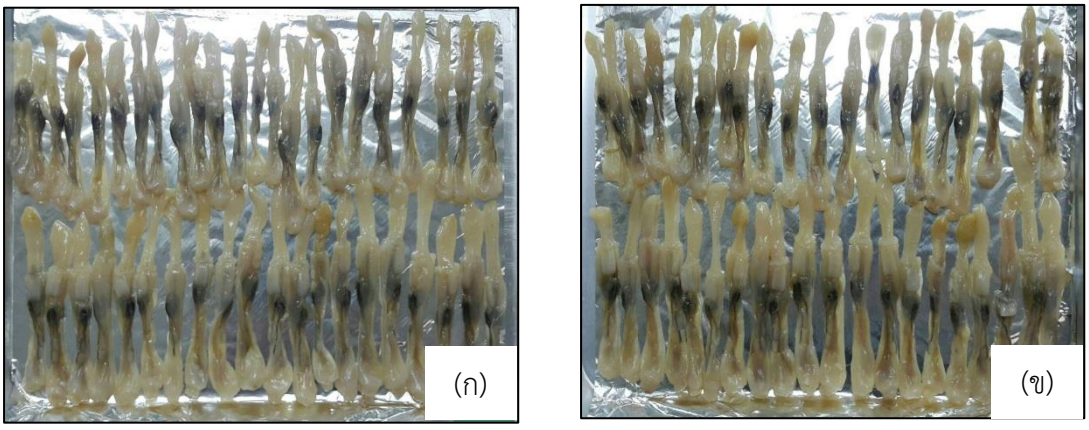
ชนิดของสารควบคุมความชื้น	ความเข้มข้น (%)	คะแนนความชอบเฉลี่ย ± SD				
		ลักษณะปรากฏ	สี	เนื้อสัมผัส	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
กลีเซอรอล	10	6.75 ± 0.12[b]	6.55 ± 0.91[b]	6.72 ± 0.89[b]	5.89 ± 0.57[c]	6.22 ± 0.90[b]
	20	7.21 ± 0.11[a]	7.08 ± 0.26[a]	7.45 ± 0.58[a]	7.20 ±.01[a]	7.21 ± 0.87[a]
	30	7.23 ± 0.15[a]	7.15 ± 0.98[a]	7.36 ± 0.22[a]	5.85 ± 0.14[c]	6.35 ± 0.91[a]
ซอร์บิทอล	10	6.54 ± 0.58[b]	6.47 ± 0.91[b]	6.87 ± 1.10[b]	5.87 ± 1.07[c]	6.22 ± 0.86[b]
	20	6.45 ± 0.90[b]	6.50 ± 0.54[b]	6.79 ± 0.98[b]	5.83 ± 0.89[c]	6.23 ± 0.82[b]
	30	7.15 ± 0.97[a]	7.05 ± 0.89[a]	7.33 ± 0.55[a]	7.20 ± 1.01[a]	7.14 ± 0.95[a]
ไม่ใช้ (ตัวควบคุม)	0	6.71 ±. 0.25[b]	6.59 ± 1.17[b]	6.85 ± 1.01[b]	6.89 ± 0.98[b]	6.22 ± 0.78[b]

[a,b,c,d] ตัวอักษรในแนวตั้งต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

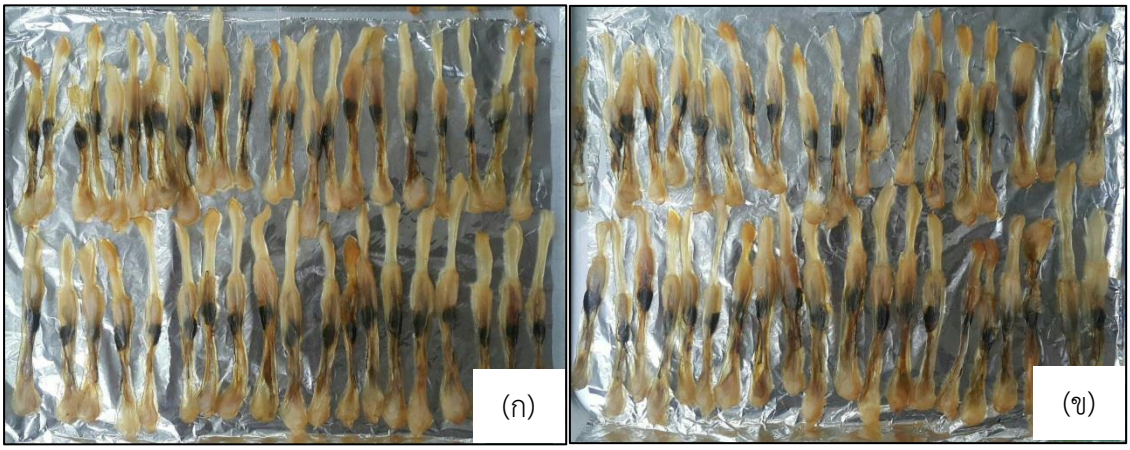
(3) ผลการคัดเลือกสิ่งทดลองที่เหมาะสมที่สุด

จากเกณฑ์ในการคัดเลือกที่กำหนดไว้คือ เลือกสิ่งทดลองที่ได้รับคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อสัมผัสไม่แข็งกระด้าง มีความนุ่ม เกิดการถ่ายเทมวลสารระหว่างการแช่ได้ดี และสามารถลดค่า a_w ลงได้มาก จากผลการทดลอง พบว่า สิ่งทดลองที่ใช้กลีเซอรอลความเข้มข้น 20% และซอร์บิทอลความเข้มข้น 30% โดยได้รับคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด เท่ากับ 7.21 และ 7.14 ตามลำดับ โดยผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อสัมผัสไม่แข็งกระด้าง มีความนุ่ม เมื่อพิจารณาค่าความแข็ง พบว่า สิ่งทดลองที่ใช้กลีเซอรอลความเข้มข้น 20% และซอร์บิทอลความเข้มข้น 30% มีค่าความแข็ง เท่ากับ 1.01 กิโลกรัม และ 0.72 กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าค่าความแข็งของตัวอย่างควบคุม (3.89 กิโลกรัม) เมื่อพิจารณาค่าการถ่ายเทมวลสารโดยเฉพาะค่า WL และ ค่า WR ซึ่งแสดงถึงปริมาณน้ำที่สูญเสียและปริมาณน้ำหนักที่ลดลง พบว่า สิ่งทดลองที่ใช้กลีเซอรอลความเข้มข้น 20% มีค่า WL และ ค่า WR น้อยกว่าสิ่งทดลองที่ใช้ซอร์บิทอลอย่างไรก็ตาม ค่า a_w ของหอยหลอดกึ่งแห้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) มีค่าอยู่ในช่วง 0.701-0.723 จากผลการพิจารณา สิ่งทดลองที่ใช้กลีเซอรอลความเข้มข้น 20% มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากได้รับคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด ผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อสัมผัสไม่แข็งกระด้าง มีความนุ่ม เกิดการถ่ายเทมวลสารระหว่างการแช่ได้ดี และสามารถลดค่า a_w ลงได้มาก รวมทั้งเป็นการใช้กลีเซอรอลที่ความเข้มข้นเพียง 20% เท่านั้น จึงเป็นการลดต้นทุนการผลิตได้มากกว่ากรณีจะเลือกสิ่งทดลองที่ใช้ซอร์บิทอลความเข้มข้น 30%

ลักษณะของหอยหลอดหลังการแช่ในสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครสร่วมกับการใช้กลีเซอรอลความเข้มข้น 20% และร่วมกับการใช้ซอร์บิทอล 30% เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แสดงดังภาพที่ 4-4 และลักษณะของหอยหลอดกึ่งแห้งที่มีการใช้กลีเซอรอลความเข้มข้น 20% และร่วมกับการใช้ซอร์บิทอล 30% แสดงดังภาพที่ 4-5



ภาพที่ 4-4 ลักษณะของหอยหลอดหลังการแช่ในสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครสร่วมกับการใช้กลีเซอรอลความเข้มข้น 20% (ก) และร่วมกับการใช้ซอร์บิทอล 30% (ข) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง



ภาพที่ 4-5 ลักษณะของหอยหลอดกึ่งแห้งที่มีการใช้กลีเซอรอลความเข้มข้น 20% (ก) และร่วมกับการใช้ซอร์บิทอล 30% (ก)

4.2.3 ผลการวิเคราะห์คุณภาพหอยหลอดกึ่งแห้งระหว่างการเก็บรักษา

ขั้นตอนนี้ต้องการติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยหลอดกึ่งแห้งระหว่างการเก็บรักษา โดยนำหอยหลอดกึ่งแห้งตามวิธีที่เลือกได้จากข้อ 4.2.2 คือ หอยหลอดกึ่งแห้งที่ผ่านในแช่สารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครสร่วมกับการเติมกลีเซอรอลความเข้มข้น 20% เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วนำมาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนมีความชื้น 25±2% แล้วบรรจุในถุงพลาสติกชนิด Polyamide (PA) ผลการวิเคราะห์คุณภาพของหอยหลอดกึ่งแห้ง ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 1 2 3 และ 4 สัปดาห์ เมื่อเก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง มีดังนี้

(1) ปริมาณความชื้น ค่า a_w และค่าความแข็ง

จากตารางที่ 4-46 พบว่า ระยะเวลาในการเก็บรักษาไม่มีผลต่อคุณภาพด้านปริมาณความชื้น ค่า a_w และค่าความแข็งของหอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้ ($p \geq 0.05$) โดยพบว่าตลอดการเก็บนาน 4 สัปดาห์ ปริมาณความชื้น ค่า a_w และค่าความแข็ง มีค่าอยู่ในช่วง 24.19%-24.39% 0.723-0.726 และ 1.02 กิโลกรัม-1.12 กิโลกรัม ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าหอยหลอดกึ่งแห้งยังคงคุณภาพด้านต่างๆ ดังกล่าวไว้ได้ตลอดการเก็บรักษา

ปริมาณความชื้น และค่า a_w สามารถแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกี่ยวข้องกับปริมาณน้ำในหอยหลอดกึ่งแห้งระหว่างการเก็บรักษาได้ โดยเฉพาะกรณีค่า a_w แสดงถึงปริมาณน้ำที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เป็นดัชนีสำคัญที่สามารถบ่งชี้ถึงอายุการเก็บหรือการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ได้ (Chirife and Pilar Buere, 1994) การไม่พบการเปลี่ยนแปลงอาจเนื่องมาจากหอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้มีปริมาณความชื้นและปริมาณน้ำอิสระที่สมดุลกับสภาวะการเก็บรักษา และการบรรจุในถุงพลาสติกชนิด Polyamide (PA) สามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำเข้าหรือออกจากถุงได้ดี รวมถึงสามารถควบคุมปริมาณความชื้นและอากาศได้เป็นอย่างดี เนื่องจากเป็นพลาสติกที่มีความเหนียวสูง ค่าความแข็งบ่งบอกถึงลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ โดยค่าความแข็งได้จากการ

วัดด้วยเครื่อง Texture analyzer หมายถึง แรงสูงสุดที่ใช้ในการกดให้ผลิตภัณฑ์แยกออกจากกัน จากผลการทดลองค่าความแข็งของหอยหลอดกึ่งแห้งไม่เปลี่ยนแปลงไปตลอดการเก็บรักษา อาจเนื่องมาจากปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ไม่เปลี่ยนแปลง เนื้อสัมผัสของหอยหลอดกึ่งแห้งจึงยังคงที่ด้วย นอกจากนี้การเติมกลีเซอรอลร่วมด้วย มีผลดีที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความอ่อนนุ่ม และสามารถคงลักษณะเนื้อสัมผัสไว้ได้ สอดคล้องกับที่ ปัทมกร พรหมจรรย์ และก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์ (2546) รายงานว่า การใช้กลีเซอรอลร่วมด้วยในการผลิตปลาข้างเหลืองกึ่งแห้งมีผลดีด้านการรักษาปริมาณความชื้นให้คงตัวระหว่างการเก็บรักษา ดีกว่าการใช้น้ำตาลแลคทิทอลซึ่งเป็นสารดูดความชื้นชนิดหนึ่ง

ตารางที่ 4-46 ปริมาณความชื้น ค่า a_w และค่าความแข็งของหอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้ระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลาเก็บรักษา (สัปดาห์)	ค่าเฉลี่ย ± SD		
	ปริมาณความชื้น^{ns} (%)	ค่า a_w^{ns}	ค่า Hardness^{ns} (กิโลกรัม)
0	24.19±0.21	0.724±0.001	1.02±0.35
1	24.21±0.56	0.723±0.001	1.04±0.36
2	24.39±0.12	0.724±0.002	1.10±0.51
3	24.32±0.31	0.724±0.002	1.09±0.21
4	24.29±0.13	0.726±0.001	1.12±0.25

^{ns} ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

(2) ค่าสี L* a* และ b*

จากตารางที่ 4-47 พบว่า ระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อค่าสี L* a* และ b* ของหอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้ ($p\geq 0.05$) สำหรับค่าสี L* มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บมากขึ้น ซึ่งแสดงถึงผลิตภัณฑ์มีความสว่างลดลง ค่าสี a* และ b* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แสดงว่าเมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไว้นานขึ้นผลิตภัณฑ์จะมีสีแดงและเหลืองเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์อาจเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ คือ ปฏิกิริยาเมลลาร์ด ซึ่งเป็นปฏิกิริยาของหมู่คาร์บอนิลและหมู่อะมิโนที่เป็นอิสระ ซึ่งนำไปสู่การเกิดเม็ดสีน้ำตาลของเมลานอยดิน (melanoidin) โดยการเกิดสีน้ำตาลในอาหารจะเกิดขึ้นได้มากน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ สารตั้งต้นของการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด เช่น หากองค์ประกอบของน้ำตาลเป็นสารประกอบคาร์บอนิลและเอมีนที่มีความคงตัวต่ำและสลายตัวได้ง่ายจะสามารถเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดได้ที่อุณหภูมิห้อง หากอาหารที่มีน้ำตาลรีดิวส์ชิงสูงจะเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดได้อย่างรวดเร็ว หากมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนชนิดแอลฟาจะเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดได้ดีที่สุด รวมถึงปัจจัยด้านอุณหภูมิ โดยอัตราเร็วของปฏิกิริยาเมลลาร์ดจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น อย่างไรก็ตามการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องก็สามารถมีโอกาส

เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดได้ เพียงแต่อัตราเร็วจะเพิ่มขึ้นเป็น 2-3 เท่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นทุก 10 องศาเซลเซียส เป็นต้น (ประสาร สวัสดิ์ชิตัง, 2538)

ตารางที่ 4-47 ค่าสี L* a* และ b* ของหอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้ระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลาเก็บรักษา (สัปดาห์)	ค่าเฉลี่ย ± SD		
	L*	a*	b*
0	47.10±0.11	2.23±0.59	17.21±0.87
1	47.10±0.11	2.23±0.59	17.21±0.87
2	47.10±0.11	2.23±0.59	17.21±0.87
3	47.10±0.11	2.23±0.59	17.21±0.87
4	47.10±0.11	2.23±0.59	17.21±0.87

^{a,b,c,d} ตัวอักษรในแนวตั้งต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

(3) ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา

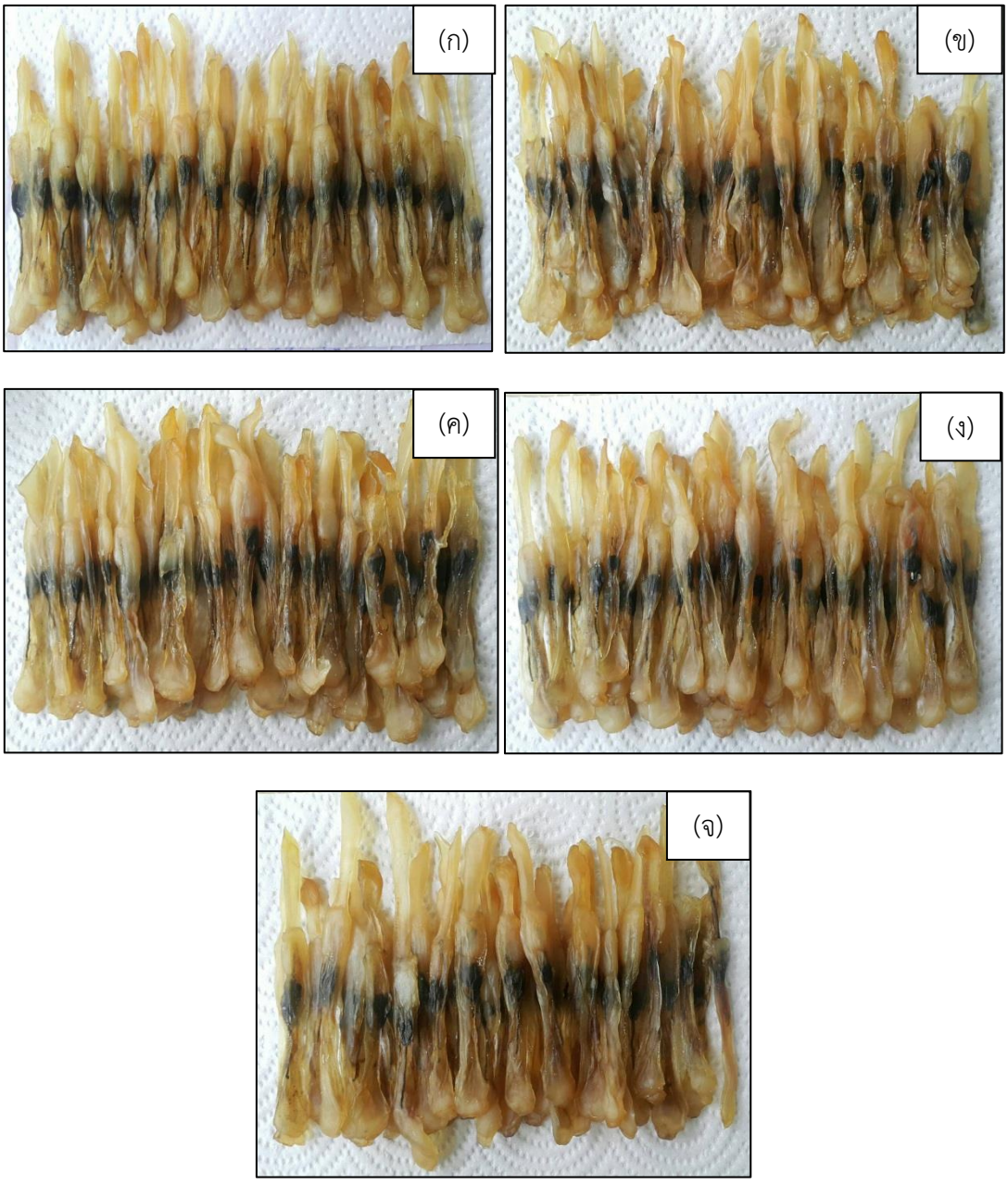
จากตารางที่ 4-48 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณยีสต์และรา มีปริมาณน้อยกว่า 1.0×10^1 CFU/กรัม ตลอดการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ เมื่อเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของผลิตภัณฑ์ที่เทียบคือ หอยแห้ง ที่กำหนดไว้ว่าปริมาณยีสต์และราต้องไม่เกิน 500 CFU/กรัม (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, 2559) จึงพบว่า ผลิตภัณฑ์ยังคงมีปริมาณยีสต์ราต่ำกว่าปริมาณที่กำหนดไว้ แสดงถึงผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสำหรับการนำมาบริโภค การที่ไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ ยีสต์และราหรือพบการเจริญเพียงจำนวนน้อยในผลิตภัณฑ์หอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้ อาจเนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการลดปริมาณความชื้นและค่า a_w มีผลทำให้จุลินทรีย์บางส่วนตายไปหรือบางส่วนอาจอยู่รอดแต่ไม่สามารถเจริญได้

ตารางที่ 4-48 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราของหอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้ระหว่างการเก็บรักษา

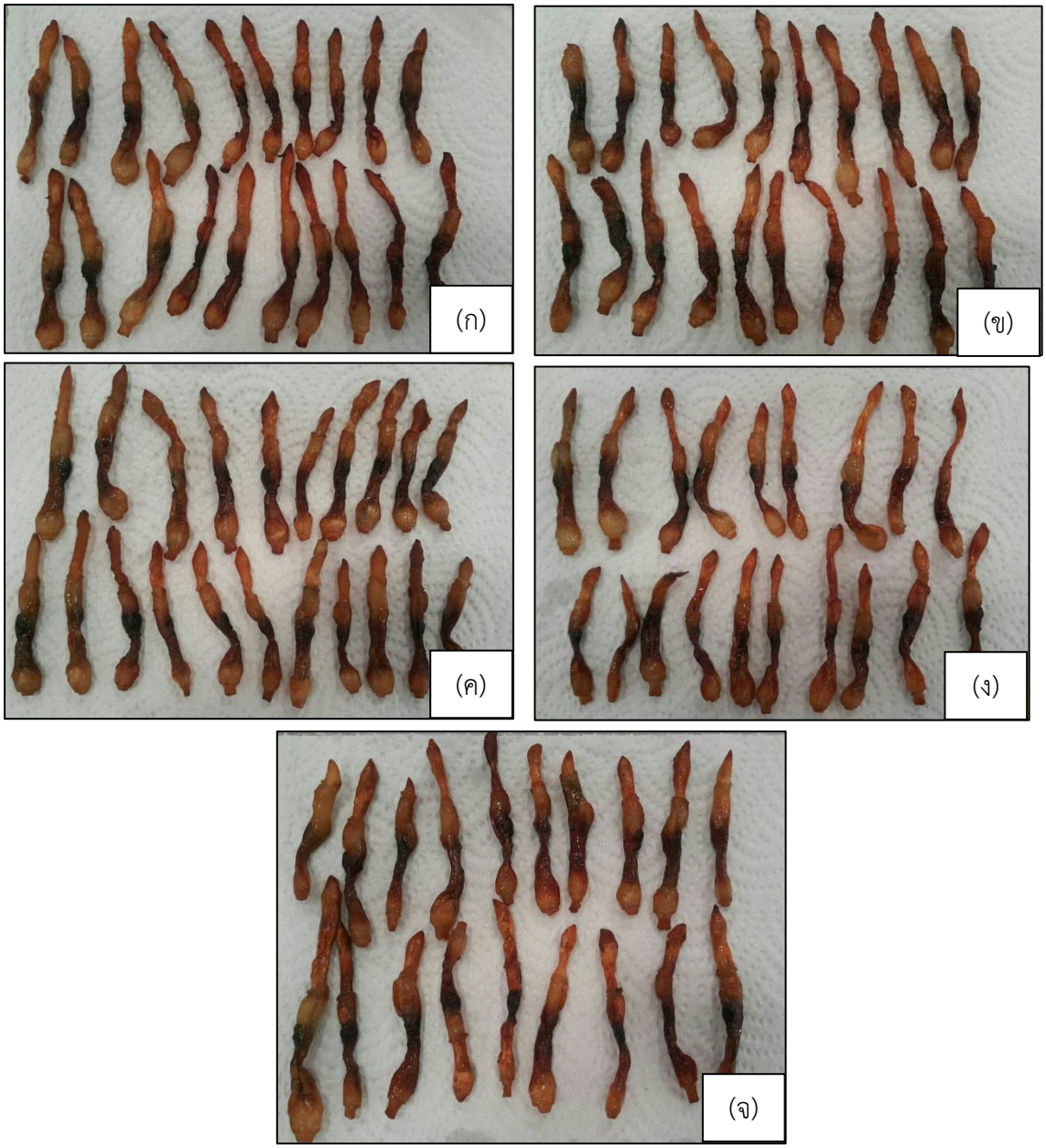
ระยะเวลาเก็บรักษา (สัปดาห์)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/กรัม)	ปริมาณยีสต์และรา (CFU/กรัม)
0	$<1.0 \times 10^1$	$<1.0 \times 10^1$
1	$<1.0 \times 10^1$	$<1.0 \times 10^1$
2	$<1.0 \times 10^1$	$<1.0 \times 10^1$
3	$<1.0 \times 10^1$	$<1.0 \times 10^1$
4	$<1.0 \times 10^1$	$<1.0 \times 10^1$

(4) ความชอบทางประสาทสัมผัส

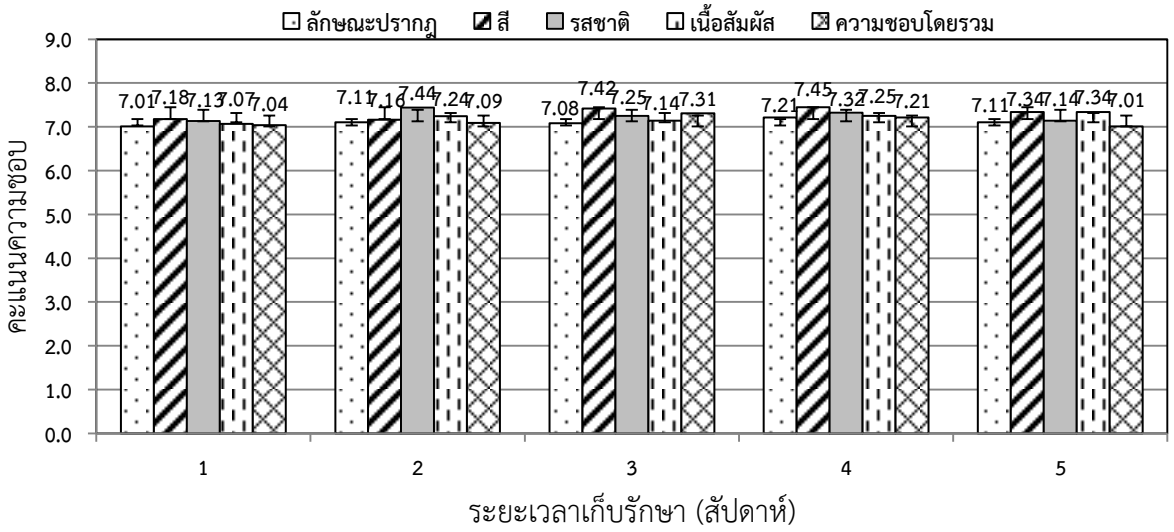
จากการสุ่มตัวอย่างหอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องทุกสัปดาห์ นำมาทำให้สุก โดยทอดแบบน้ำมันท่วมเพื่อทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส ลักษณะของหอยหลอดกึ่งแห้งก่อนทอด แสดงดังภาพที่ 4-6 และลักษณะหอยหลอดกึ่งแห้งหลังทอด แสดงดังภาพที่ 4-7 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส แสดงดังภาพที่ 4-8 โดยพบว่า อายุการเก็บรักษาไม่มีผลต่อคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยได้รับคะแนนความชอบทุกด้านอยู่ในช่วง 7.01-7.44 ซึ่งแสดงถึงมีความชอบปานกลาง



ภาพที่ 4-6 ลักษณะของหอยหลอดกึ่งแห้งก่อนทอด เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 0 สัปดาห์ (ก) 1 สัปดาห์ (ข) 2 สัปดาห์ (ค) 3 สัปดาห์ (ง) และ 4 สัปดาห์ (จ)



ภาพที่ 4-7 ลักษณะของหอยหลอดกึ่งแห้ง (หลังทอด) เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 0 สัปดาห์ (ก) 1 สัปดาห์ (ข) 2 สัปดาห์ (ค) 3 สัปดาห์ (ง) และ 4 สัปดาห์ (จ)



ภาพที่ 4-8 คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของหอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้ระหว่างการเก็บรักษา

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1) สามารถพัฒนากรรมวิธีการยืดอายุการเก็บหอยหลอดด้วยเทคนิค Sous vide ได้ จากการศึกษาผลของการเตรียมขั้นต้นด้วยการแช่และไม่แช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับการแช่สารละลายกรด (น้ำมะนาว น้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด กรดซิตริก และกรดอะซิติก) เป็นเวลา 30 นาที ก่อนการแปรรูปด้วยวิธี sous vide พบว่า วิธีการเตรียมขั้นต้นมีผลต่อค่าสี ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณ TVB-N ค่า TBARS และคะแนนความสดจากการทดสอบทางประสาทสัมผัส ($p \leq 0.05$) วิธีการเตรียมขั้นต้นที่เหมาะสมที่สุดคือ การไม่แช่สารละลายโซเดียมคลอไรด์แต่แช่ในน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด โดยเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 3 สัปดาห์ หอยหลอดมีปริมาณ TVB-N เท่ากับ 3.10 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ปริมาณ TMA-N เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ค่า TBARS เท่ากับ 1.48 มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมและปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria และ Psychrophilic aerobic bacteria น้อยกว่า 1.00 log CFU/กรัม รวมถึงได้คะแนนความสดด้านความชอบโดยรวมเท่ากับ 8.33

จากการศึกษาผลของสภาวะการพาสเจอร์ไรซ์ต่อคุณภาพของหอยหลอดระหว่างการเก็บรักษาโดยแปรปัจจัยด้านอุณหภูมิและเวลา พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่าง 2 ปัจจัย มีผลต่อค่าสี ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณ TVB-N ค่า TBARS และคะแนนความสดจากการทดสอบทางประสาทสัมผัส ($p \leq 0.05$) สภาวะการพาสเจอร์ไรซ์ที่เหมาะสมที่สุดคือ การพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที โดยเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 3 สัปดาห์ หอยหลอดมีปริมาณ TVB-N เท่ากับ 2.90 มิลลิกรัม/ 100 กรัมตัวอย่าง ปริมาณ TMA-N เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัม/ 100 กรัมตัวอย่าง ค่า TBARS เท่ากับ 1.54 มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์/กิโลกรัม และปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria และ Psychrophilic aerobic bacteria น้อยกว่า 1.00 log CFU/กรัม รวมถึงได้คะแนนความสดด้านความชอบโดยรวมเท่ากับ 8.42

5.1.2) สามารถพัฒนากรรมวิธีการผลิตหอยหลอดกึ่งแห้งได้ โดยการแช่หอยหลอดในสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครส เกิดการถ่ายเทมวลสารระหว่างการแช่ ทำให้มีปริมาณน้ำที่สูญเสีย ปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้น และน้ำหนักที่ลดลง มีแนวโน้มมากขึ้นเมื่อเวลาในการแช่เพิ่มขึ้น และเริ่มคงที่เมื่อผ่านระยะเวลาไป 6 ชั่วโมง และมีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.893-0.986 โดยระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่หอยหลอด คือ 6 ชั่วโมง จากการศึกษาผลการเติมสารควบคุมความชื้น ได้แก่ กลีเซอรอล และซอร์บิทอล ร่วมกับสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และน้ำตาลซูโครส พบว่า ทำให้ค่าการถ่ายเทมวลสารเพิ่มขึ้นมี และค่า a_w ลดลงโดยอยู่ในช่วง 0.687-0.768 และหอยหลอดกึ่งแห้งที่ได้มีค่าความแข็งลดลง โดยการเติมปริมาณกลีเซอรอล 20% เป็นสิ่งทดลองที่เหมาะสมที่สุด หอยหลอดกึ่งแห้งได้รับคะแนนความชอบโดยรวมมากที่สุด เท่ากับ 7.21 ผลิตภัณฑ์หอยหลอดกึ่งแห้งที่พัฒนาได้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษา 4 สัปดาห์

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1) สามารถนำการแปรรูปด้วยวิธี sous vide ร่วมกับการเตรียมขั้นต้นที่เหมาะสม มาปรับใช้กับวัตถุดิบชนิดอื่นได้ เช่น เนื้อหอยชนิดอื่น เนื้อปลาชนิดต่างๆ เป็นต้น

5.2.2) ในการแปรรูปหอยหลอดกึ่งแห้ง อาจมีการเติมเครื่องเทศหรือสมุนไพรบางชนิดร่วมด้วย เพื่อพัฒนารสชาติและเพิ่มทางเลือกใหม่ให้ผู้บริโภค

บรรณานุกรม

กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. (2553). *แบคทีเรียในอาหาร*. วันที่สืบค้นข้อมูล 29 เมษายน 2558, เข้าถึงได้จาก http://siweb.dss.go.th/repack/fulltext/IR19.pdf

กรมประมง. (2557). *หอยหลอด.* วันที่ค้นข้อมูล 11 สิงหาคม 2557, เข้าถึงได้จาก http://www.fisheries.go.th/if-suratthani/web2/index

เกรียงไกร สิงห์แก้ว. (2546). *ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ Salmonella ในไส้กรอกอีสานดิบและผักสดที่จำหน่ายตามรถเข็นในเขตลาดกระบัง.* ปัญหาพิเศษ สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.

กล้าณรงค์ ศรีรอด. (2521). *เกลือ: คุณสมบัติและการใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร.* ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

จันธิรา แก้วสีทอง. (2545). *การแปรรูปสัตว์น้ำ.* วันที่สืบค้นข้อมูล 27 สิงหาคม 2557, เข้าถึงได้จาก file:///C:/Users/Compaq/Downloads/-2005-92%20(1).pdf

จิตรา วราอัศวปติ. (2540). *การพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาริ้วกึ่งแห้ง*. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, มหาวิทยาลับเชียงใหม่.

ชัยณรงค์ คันธพนิต. (2529). *วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์.* กรุงเทพมหานคร: วัฒนาพานิช.

ชมภู่ ยิ้มโต. (2550). *การถนอมอาหาร.* กรุงเทพ: โอเดียนสโตร์.

ณัฐพล ฟ้าภิญโญ. (2550). *คุณภาพและการยืดอายุการเก็บรักษาปูนิ่ม (Scylla serrate Forskal) โดยใช้โอโซน กรดแอซิติก กรดแล็คติก กรดแอสคอร์บิก และการเก็บรักษาภายใต้สภาวะปรับบรรยากาศ*. ปริญญาดุษฎีบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง), สาขาผลิตภัณฑ์ประมง, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทิพาพร อยู่วิทยา. (2544). *หลักการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน.* ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร, คณะวิศวกรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ธัญวรัตม์ พิมุขมนัสกิจ, บุศรินทร์ แพทย์วิบูลย์ และประไพพรรณ พูลสมบัติ. (2546). *ผลของสารดูดความชื้นและกระบวนการผลิตที่มีต่อลักษณะของกล้วยตาก.* ปัญหาพิเศษ, สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ธีศิษฎ์ อภัยนิพัฒน์. (2548). ผลของชนิดและปริมาณของสารดูดความชื้นต่อค่า a_w และคุณภาพการเก็บรักษาหอยแมลงภู่ปรุงรสกึ่งแห้ง. รายงานวิชาปัญหาพิเศษ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

นิธิยา รัตนาปนนท์. (2556). *ไตรเมทิลามีน.* วันที่สืบค้นข้อมูล 7 เมษายน 2558, เข้าถึงได้จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2049/trimethylamine-TMA

เนตรนรินทร์ ขุนสูงเนิน, (2546). การเปลี่ยนแปลงคุณภาพเนื้อปลานิลซึ่งเก็บรักษาภายใต้การปรับเปลี่ยนบรรยากาศ. สาขาเทคโนโลยีอาหาร, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

บุญรอด วงษ์สวาท. (2557). *การเปลี่ยนแปลงสภาพโปรตีน.* วันที่สืบค้นข้อมูล 10 มกราคม 2558, เข้าถึงได้จาก http://www.promma.ac.th

บุษกร อุตรภิชาติ. (2550). *จุลชีววิทยาทางอาหาร.* ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยทักษิณ.

ประกายแก้ว โกมลตรี. (2554). *ผลของสารหมักเนื้อและเทคนิค sous vide ต่อคุณภาพไก่กอ และพร้อมบริโภค*. วันที่สืบค้นข้อมูล 14 สิงหาคม 2557, เข้าถึงได้จาก http://kb.psu.ac.th/psukb/bitstream/2010/8512/2/Abstracts.pdf

ประมุข ภระกูลสุขสถิตย์, ปัจฉิมาภรณ์ อุดมคุณ, บัณฑิต อินณวงศ์ และวรรณวิบูลย์ กาญจนกุลชร. (2550). *ผลของก๊าซโอโซนต่อคุณลักษณะทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ของปลานิลอบแห้ง.* ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประเสริฐ สายสิทธิ์. (2514). *ผลิตภัณฑ์ประมงและหลักการถนอมอาหาร*.กรุงเทพมหานคร: คุรุสภาลาดพร้าว.

ประสาร สวัสดิ์ชิตัง. (2538). การเกิดสีน้ำตาลของอาหารและการควบคุมป้องกัน. *วารสารอาหาร*, *25* (3), 160-169.

ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์. (2528). *A_w กับอาหารและอาหาร IMF*. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปัทมกร พรหมจรรย์. (2545). *การลดค่าวอเตอร์แอกติวิตีและคุณภาพการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ปลาข้างเหลืองกึ่งแห้ง*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, เทคโนโลยีอาหาร, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พัชรินทร์ ภักดีฉนวน และประกายแก้ว สุภอักษร. (2557). *โครงสร้างทางจุลภาคและการยอมรับไก่กอและทีผลิตแบบดัง เดิมและผลิตโดยใช้กระบวนการ หมักเนื้อร่วมกับเทคนิค Sous vide*. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พรพิมล ม่วงไทย. (2554). *การศึกษาการเกิดปฏิกิริยาลิพิดออกซิเดชันในเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์แปรรูปจากไก่*. ภาควิชาเคมี, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.

พายัพ มาศนิยม. (2549). *การยืดอายุการเก็บของหอยแมลงภู่แช่เย็นโดยใช้กรดแล็กติก อะซิติก และซิตริก.* ภาควิชาเทคโนโลยีและการอุตสาหกรรม, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, วิทยาเขตปัตตานี.

พิมพ์สิริ จันทองโชติ, กุลพัฒน์พัฒนกิจ และสุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกร. (2549). *การยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อย่อยปลาแซลมอนโดยการใช้พืชสมุนไพรเครื่องเทศ*. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พีระพงษ์ วงษ์ทหาร. (2556). *การผลิตเนื้อปลาขึ้นรูปเพื่อสุขภาพจากผลิตผลพลอยได้จากการแปรรูปปลานิลโดยใช้สารปรับปรุงคุณภาพเนื้อสัมผัส*. หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร, คณะเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก. (2532). *กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร.* กรุงเทพมหานคร : โอเดียนสโตร์.

ไพโรจน์ วิริยจารี. (2539). *อาหารกึ่งแห้ง : Intermediate moisture foods*. ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2559). มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน หอยแห้ง มผช. 310/2559.

ลักขณา รุจนะไกรกานต์. (2533). *หลักการวิเคราะห์อาหาร* (พิมพ์ครั้งที่ 2). ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ลักขณา รุจนะไกรกานต์. (2533). *วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเนื้อสัตว์*. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วลัย หุตะโกวิท. (ม.ป.ป.). *การศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำคั้นเปลือกสับปะรด.* สถาบันวิทยบริการ, สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล, กรุงเทพมหานคร.

วันทนา อยู่สุข. (2552). *หอยในทะเลไทย.* วันที่สืบค้นข้อมูล 27 สิงหาคม 2557, เข้าถึงได้จาก http://kanchanapisek.or.th/kp6/Ebook/BOOK34/pdf/book34_5.pdf

วิจิตรา หลวงอินทร์. (ม.ป.ป.). *Enzyme and Protein Technology*. วันที่สืบค้นข้อมูล 6 มกราคม 2558, เข้าถึงได้จาก www. Ajahntechno.wordpress.com/enzyme

วิชชญา นะราแก้ว. (2548). *การยืดอายุการเก็บหอยเป๋าฮื้อ Haliotis asinina Linnaeus โดยการปรับสภาพบรรยากาศภายในภาชนะบรรจุ*. สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร, ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิชมณี ยืนยงพุทธกาล, กุลิสรา ปรีดาสุทธิจิตต์ และนันทพร อุดม. (2554). การผลิตปลาดุกเทศกึ่งแห้งโดยการดึงน้ำออกแบบออสโมซิสร่วมกับการอบแห้งโดยใช้ความร้อน ใน *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49* (390-397). สาขาอุตสาหกรรมเกษตร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 1-4 กุมภาพันธ์ 2554.

วิชุดา สังข์แก้ว. (2554). *ผลิตภัณฑ์เนื้อ.* กรุงเทพฯ: ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย.

วีระชัย แก่นทรัพย์. (2544). *เครื่องผลิตน้ำมะนาวเข้มข้นระบบ Freeze Concentration*. วันที่สืบค้นข้อมูล 30 สิงหาคม 2557, เข้าถึงได้จาก http://www.kmutt.ac.th/rippc/mast_45.htm

ศิวาพร ศิวเวชช. (2535). *วัตถุเจือปนอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร.* ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิวาพร ศิวเวชช. (2546). *วัตถุเจือปนอาหาร* (พิมพ์ครั้งที่ 1). นครปฐม: โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ.

สถาบันอาหาร. (2547). *การผลิตอาหารในภาชนะปิดสนิทด้วยความร้อน.* วันที่สืบค้นข้อมูล 3 กันยายน 2557, เข้าถึงได้จาก http://fic.nfi.or.th/law/level

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. (2548). *เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ.* กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

สุดสาย ตรีวานิช และวราภา มหากาญจกุล. (2555). *การเน่าเสียของอาหาร.* วันที่สืบค้นข้อมูล 13 มีนาคม 2558, เข้าถึงได้จาก https://ajarncharoen.wordpress.com

สรวงสุดา ไชยทิพย์. (2540). *ผลของอุณหภูมิและสารเคลือบผิวที่บริโภคได้ต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของสับปะรดสดพร้อมบริโภค*. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุรพล อุปดิสสกุล. (2536). *สถิติการวางแผนการทดลอง* (เล่ม 1). กรุงเทพมหานคร.

สุรัตน์ ธารไชย, สลิล นิลพงษ์ และยงยุทธ เฉลิมชาติ. (2550). *การลดความชื้นในปลาชะโดโดยการใช้วิธีออสโมติกดีไฮเดรชั่นร่วมกับการใช้การอบแห้งแบบถาด.* ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สวามินี ธีรวุฒิ. (2557). *การยืดอายุการเก็บหอยนางรมปากจีบสดแกะเปลือกด้วยการแช่สารละลายผสมร่วมกับการแช่เย็น.* ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

Adams, M. R. & Moss, M. O. (1995). *Food Microbiology*. The Royal Society of Chemistry, pp. 156 – 251.

Aleksandar, J., Juliana, G., Ljubinko, L. and Zoltan, Z. (2007). Osmotic dehydration of sugar beet in combined aqueous solutions of sucrose and sodium chloride. *Journal of Food Engineering*, 76: 47-51.

AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists*, Washington, DC.

Armstrong, G. A. (2000). *Sous vide products*. In D. Kilcast and P.Subramaniam, eds. The Stability and Shelf-life of Foods. CRC press, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge. pp. 171-196.

Ashie, I. N. A., Smith, J. P., & Simpson, B. K. (1996). Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. *36* (1and2), 87-121.

Brockmann, M. C. (1969). *Proceedings of Symposium on Feeding the Military Man*. Cited By Carlin, D. A., Guinebretiere, M. H., Choma, C., Pasqualini, R., Braconnier, A., & Nguyen, C. (2008). Sporeforming bacteria in commercial cooked, pasteurized and chilled vegetable purees. Food Microbiology 17: 153–165.

Corzo, O., Bracho, N. (2006). Equilibrium water and salt contents of sardine sheets during osmotic dehydration. *LWT-Technology*, *39,* 357–363.

Cosansu, S., Mol, S., Ucok, D., Ozturan, A., & Ozturan, S. (2013). The Effect of Lemon Juice on Shelf Life of Sous vide Packaged Whiting (Merlangiusmerlangus euxinus, Nordmann, 1840). *Food Bioprocess Technol*, *6*, 283-289.

Desrosier, N. W. (1970). *The Technology of Food Preservation***.** The AVI Publishing Co., Inc., Westport, Connecticut.

Dymza, H. A., & Silverman, G. (1979). Improving the acceptability of intermediate moisture fish. *Food Technol, 33,* 52-53.

Edney, A. T. B. (1982). *Dog and Cat Nutrition***.** Pergamon Press, Oxford.

Fernandez-Espla, M. D. & O'Neill, E. (1993). Lipid oxidation in rabbit meat under different storage conditions. *Journal Food Science*, *58*, 1262-1264.

Garcia-Linares, M. C., Gonzalez-Fandos, E., Garcia-Fernandez, M. C., & Garcia-Arias, M. T. (2004). Microbiological and nutritional quality of sous vide or traditionally processed fish: Influence of fat content. *Journal of Food Quality*, *27,* 371-387.

Giménez, B., Roncalés, P and Beltrán, J. (2002) Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *82*(10), 1154–1159.

Gonzalez-Fandos, E., Garcia-Linares, M. C., Villaniro-Rodriguez, A., Garcia-Arias M. T., & GarciaFernandez, M. T., (2004). Evaluation of the microbiological safety and sensory quality of rainbow trout (Oncorhynchusmykiss) processed by the sous vide method. *Food Microbiology, 21*, 193-201.

Gonzalez-Fandos, E., Villarino-Rodriguez, A., Garcia-Linares, M. C., Garcia-Arias, M. T. & Garcia-Fernandez, M. C. (2005). Microbiological safety and sensory characteristics of salmon slices processed by the sous vide method. *Food Control, 16*, 77-85.

Guillemin, A., Degraeve, P., Noël, C., Saurel, R. (2008). Influence of impregnation solution viscosity and osmolarity on solute uptake during vacuum impregnation of apple cubes (var. Granny Smith). *Journal of Food Engineering, 86*(4), 475-483.

Hilda, N. (2000). An evaluation of the effect of storage and processing temperatures on the microbiological status of sous vide extended shelf-life products. *Food Control, 11*, 471-476.

Iseya, Z., Kubo, T., Saeki, H. (2000). Effect of sorbitol on moisture transportation and textural change of fish and squid meats during curing and drying processes. *Fish Science, 66*, 1144-1149.

Jang, J. D., & Lee, D. S. (2005). Development of a sous-vide packaging process for Korean seasoned beef. *Food Control, 16*, 285-291.

Juneja, V. K., Fan, X., Pena-Ramos, A., Diaz-Cinco, M., & Pacheco-Aguilar, R. (2006). The effect of grapefruit extract and temperature abuse on growth of Clostridium perfringens from spore inocula in marinated sous-vide chicken products. *Innovation in Food Science Emerging Technology, 7*, 100–106.

Labuza, T. P. (1970). Properties of water as related to the keeping quality of foods. In *Proceeding of the 3 rd. International Congress of Food Science and Technology.*

Leffingwell, G., Lesser, M. A., & Bennett, H. (1945). Glycerin, its industrial and commercial applications. Chemical publishing co., inc. Michigan

Leibetseder, J. (1980). *The Nutrition of the Dog***.** Animal Nutrition Department, Switzerland.

Leistner, L., Rodel, W., & Krispien, K. (1981). Microbiology of meat and meatproducts in high and intermediate–moisture ranges, p. 855. *In* L.B. Rocklandand G.F. Stewart, eds. *Water Activity : Influences on Food Quality***.** Academic Press, New York and London.

Lilabati H., & Vishwanath, W. (1996). Nutritional quality of fresh water catfish *(Wallago attu)* available in Manipur, India. *Food Chemistry, 57*(2), 197-199.

Masniyom, P., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2002). Shelf-life extension of refrigerated sea bass slices under modified atmosphere packaging. *Journal Science Food Agriculture, 82*, 873–880.

Montville, T. J, & Matthews, K. R. (2005). *Food Microbiology: An Introduction*. ASM Press, Washington D.C.

Murata, M., & Sakaguchi., M. (1986). Changes in contents of free amino acids, trimethylamine, and nonprotein nitrogen of oyster during ice storage. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 52*(11), 1975-1980.

Otoniel, C. and B. Nelson. (2006). Equilibrium water and salt contents of sardine Sheets during osmotic dehydration. *LWT - Food Science and Technology*. 39, 358-364.

Ozagul, Y., Ozagul, F., & Gokbulut, C. (2006). Quality assessment of wild European eel (Anguilla anguilla) stored in ice. *Food Chemistry*, *95*, 458-465.

Pacheco-Aquilar, R., Crawford, D. L., & Lanpila, L. E. (1989). Procedure for the Efficient washing of minced whiting (Marluccius products) flesh for surimi production. *Journal Food Science*, *54*, 248-252.

Pascua, G. L. S., Casales, M. R., & Yeannes, M. I. (1994). Preliminary Development of Intermediate moisture, pasteurized mackerel (*Scomber Japaonicus marplantensis*) Chunks. *Journal of Science and Food Agricultural*, *64*, 199-204.

Pedro, D., Gema, N., Maria, D. G., & Sancho, B. (2008). Microbial, physical-chemical and sensory spoilage during the refrigerated storage of cooked pork loin processed by the *sous vide* method. *Meat Science, 80*(2), 287-292.

Peck, M. W. (1997). *Clostridium botulinum* and the safety of refrigerated processed foods of extended durability. *Trends in Food science and Technology, 8*, 186-192.

Ponce De Leon, S., Inoue, N., & Shinano, H. (1993). Effect of acetic and citric acid on The growth and activity (VB-N) of *Pseudomonas* sp. And *Moraxella* sp. Faculty of Fisheries, Hokkaido University. *Bull, 44*(2), 80-85.

Price, R. J., Melvin, E. F., & Bell, J. W. (1991). Postmortem changes in chilled round bled and dressed albacore. *Journal of food Protection, 56*, 318-321.

Reddy, N. R., Schreiber, C. L., Buzard, K. S., Skinner, G. E., & Armstrong, D. J. (1994). Shelf life of fresh tilapia fillets packaged in high barrier film with modified atmospheres. *Journal of food Protection, 59*, 260-264.

Reddy, N. R., Villnueva, M., & Kautter, D. A. (1995). Shelf life of modified-atmosphere-packaged fresh tilapia fillets stored under refrigeration and temperature-abuse conditions. *Journal of food Protection, 58*(8), 908-914.

Sankat, C. K., Castaigne, F., & Maharaj, R. (1996). The air drying behavior of fresh and osmotically dehydrated banana slices. *International Journal Food Science and Technology, 31*, 123-135.

Schmidt, F. C., Carciofi, B. A. M., Laurindo, J. B. (2008). Salting operational diagrams for chicken breast cuts: hydration–dehydration. *Journal of Food Engineering, 88*, 36-44.

Schormüller, J. (1968). Tierische Lebensmittel Eier, Fleisch, Buttermilch. *In* Handbuch der Lebensmittel Chemie. Band III/2 Teil. Berlin: Springer.

Shi, Qi-Long, Xue, C. H., Zhao, Y., Li, Z. J., & Wang, X. Y. (2008). Drying characteristics of horse mackerel (*Trachurrus japonicus*) dried in a heat pump dehumidifier. *Journal of Food Engineering*, *84*(1), 12-20.

Sikorski, R.S., Boguski, M.S., Goebl, M., & Hieter, P. (1990). A repeating amino acid motif in CDC23 de®nes a new family of proteins and a new relationship among genes required for mitosis and RNA synthesis. *Cell, 60*, 307-317.

Smith, R. E. & Norvell. M. A. (1975). Nutrition overview of the pet food industry. *Cereal Food World***,** *20*, 8-11.

Sylvester, P. (1984). *Book of Dogs.* The Reader' s Digest Association Ltd., Canada.

Szerman, N., Gonzalez, C. B., Sancho, A. M., Grigioni, G., Carduza, F., & Vaudagna, S. R. (2008). Optimization of whey protein concentrate and sodium chloride concentrations and cooking temperature of sous vide cooked whole-muscle beef from Agentina. *Meat Science, 79*, 557-567.

Vaudagna, S. R., Pazos, A. A., Guidi, S. M., Sanchez, G., Carp, D. J., & Gonzalez, C. B. (2008). Effect of salt addition on sous vide cooked whole beef muscles from Argentina. *Meat Science, 79*, 470-482.

Voller-Reasonover, L., Han, I. Y., Acton, J. C., Titus, T. C., Bridges, W. C., & Dawson, P. L. (1997). High temperature processing effects on the properties of fowl meat gels. *Poultry Science, 76*, 774-779.

Wattanachant, S., Sornprasitt, T., & Polpara, Y. (2008). Quality characteristics of raw and canned goat meat in water, brine, oil and Thai curry during storage. *Journal of Science and Technology, 30*, 41-50.

Woothuis, C. H. J., & Smulders, F. J. M. (1985). Microbial decontamination of Carcasses by lactic acid sprays. *Journal Food Protection, 48*, 832-837.

Yoo, B. & Lee, C. M. (1993). Thermoprotective effect of sorbitol on proteins during dehydration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 41(2) : 190-192.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพ

ก-1 ค่าสี L* a* และ b* โดยใช้เครื่องวัดสี

การวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (Hunter lab รุ่น Mini Scan XP Plus) ต้องดำเนินการเทียบมาตรฐานของเครื่องวัดสี (Calibration) ก่อน การวัดตัวอย่างโดยสุ่มตัวอย่างหอยหลอดแล้วจัดเรียงใส่ในถ้วยสำหรับใส่ตัวอย่างให้เต็มถ้วย โดยแต่ละสิ่งทดลองวัด 3 ซ้ำ ซึ่งค่าที่วัดในระบบ CIE รายงานเป็นค่าสี L* a* และ b* ดังนี้

ค่าสี L* หมายถึง ค่าความสว่าง (Lightness) มีช่วงตั้งแต่ 0 (สีดำ) จนถึง 100 (สีขาว)

ค่าสี a* หมายถึง ค่าสีเขียว-แดง มีค่าเป็นลบหมายถึงสีเขียว ถ้าเป็นบวกหมายถึงสีแดง

ค่าสี b* หมายถึง ค่าสีน้ำเงิน-เหลือง มีค่าเป็นลบหมายถึงสีน้ำเงิน ถ้าเป็นบวกหมายถึงสีเหลือง

ขั้นตอนการใช้เครื่องวัดสีมีดังนี้

1. การ Standardize

1) เข้าโปรแกรม Universal

2) เข้า Manu Standardize (CAL)

3) เลือก Port Size เป็น 1.25 นิ้ว กด OK

4) เครื่องจะถามหาแผ่น Black Glass ให้วาง Black Glass ที่ Sample Port กด OK

5) เครื่องจะถามหาแผ่น White Glass ให้วาง White Glass ที่ Sample Port กด OK

6) กด OK อีกครั้ง

7) ทำการวัดค่าเทียบกับแผ่นขาว โดยใช้ Scale X Y Z วัดค่าเทียบ Scale ด้านหลังแผ่น ความแตกต่าง Delta X Y Z ต้องมีค่าไม่เกิน ±0.3 Units ถ้าเกินให้ทำความสะอาดแผ่น Black Glass และ White Glass แล้วทำการ Standardize ใหม่อีกครั้ง

2. การวัดค่า

1) สามารถทำการวัดค่าได้เลย โดยเลือกเข้าหน้าจอ Master Color Data

2) ต้องการวัดค่า Standard กด Read Sam ที่ Manu Bar เครื่องจะทำการวัดและแสดงค่า Standard

3) ถ้าต้องการวัดค่า Sample กด Read Sam ที่ Manu Bar เครื่องจะทำการวัดและแสดงค่า Sample

ก-2 ค่า pH โดยใช้เครื่องวัด pH

1. อุปกรณ์

1) เครื่องวัด pH

2) บีกเกอร์ ขนาด 50 มิลลิลิตร

3) กระบอกตวง ขนาด 50 มิลลิลิตร

2. วิธีการ

เตรียมตัวอย่างโดยชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ใส่ภาชนะบรรจุ 50 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร โฮโมจิไนส์เป็นเวลา 2 นาที แล้วจุ่มหัววัดของเครื่องวัด pH ลงในตัวอย่างที่เตรียมไว้ แล้วอ่านค่า pH

ก-3 ปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 2002)

การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด ตามวิธีนี้เป็นการหาปริมาณกรดที่ไตเตรทได้อาจเรียกว่า Total Titratable Acidity ในงานวิจัยนี้จะรายงานปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก

1. อุปกรณ์

1) บิวเรต ขนาด 50 มิลลิลิตร
2) ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร
3) ปิเปต ขนาด 1 มิลลิลิตร
4) กระบอกตวง ขนาด 100 มิลลิลิตร
5) ขวดปรับปริมาตร ขนาด 500 มิลลิลิตร
6) บีกเกอร์ ขนาด 100 และ 300 มิลลิลิตร
7) แท่งแก้วคนสาร
8) ช้อนตักสาร

2. สารเคมี

1) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (N)
2) ฟีนอลฟทาลีน (Phenolphthalein) ความเข้มข้น1%
3) เอทานอล (Ethanol) ความเข้มข้น 95%
4) โพแทสเซียมพทาเลต (Potassium phthalate)

3. การเตรียมสารเคมี

1) สารละลาย NaOH มาตรฐาน 0.1 N เตรียมโดยประมาณก่อน โดยชั่ง NaOH 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป Standardize ด้วยสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมพทาเลต ($KHC_8H_4O_4$) วิธี Standardize สารละลาย NaOH ทำโดย

ก. ละลาย $KHC_8H_4O_4$ ที่ผ่านการอบแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และทำให้เย็นใน Desiccator ปริมาณ 0.6000 – 0.7000 กรัม ในน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่
ข. หยดสารละลายฟีนอลฟทาลีน 1% ในสารละลาย $KHC_8H_4O_4$ จำนวน 2 หยด
ค. นำไปไทเทรตกับสารละลาย NaOH ที่บรรจุอยู่ในบิวเรต จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพูอ่อนที่คงตัว โดยทำการไตเตรท 3 ครั้ง บันทึกปริมาตร NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต

$$\text{Normality ของ NaOH} = \frac{\text{จำนวนกรัม } KHC_8H_4O_4 \times 1000}{\text{มิลลิลิตร NaOH} \times 204.229}$$

2) สารละลายฟีนอลฟทาลีน 1% โดยละลายฟีนอลฟทาลีน 1 กรัม ในเอทานอล 95% 100 มิลลิลิตร

4. การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัมใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อยคนให้ละลายเข้ากันดี ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ volumetric flask แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4

5. วิธีวิเคราะห์

1) ปิเปตของเหลวที่กรองได้มา 10 มิลลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิตร

2) ไทเทรตกับ 0.1 N NaOH โดยใช้ฟีนอล์ฟธาลีน 2- 3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์จนได้จุดยุติเป็นสีชมพูจางๆ คงที่บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรตทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

3) คำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมด

$$\text{ปริมาณกรด (ร้อยละ)} = \frac{\text{Normality x ปริมาตร x น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของกรดซิตริก x 100}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง x 1000}}$$

Normality= ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์
ปริมาตร = จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์
น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของกรดซิตริก= 64

ก-4 ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) และไตรเมททิลเอมีน (TMA-N) โดยวิธี Conway microdiffusion method (Cosansu et al., 2013)

หลักการของวิธีการวิเคราะห์นี้คือ เมื่อเติมสารละลายโปแตสเซียมคาร์บอเนตลงในน้ำที่ได้จากเนื้อหอยหลอด จะมีสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ (volatile nitrogen) เกิดขึ้น ซึ่งจะ diffuse เข้าไปในสารละลายกรดบอริค ไตเตรตสารประกอบไนโตรเจนที่อยู่ในสารละลายกรดบอริคด้วยสารละลายกรดมาตรฐาน

เมื่อเติมฟอร์มาลินลงไปในน้ำที่ได้จากเนื้อหอยหลอดก่อนที่จะเติมสารละลายด่าง แอมโนเมียจะทำปฏิกิริยากับฟอร์มาลินได้เป็น hexamethylenetetramine ดังนั้นจะมีเฉพาะ TMA เท่านั้นที่ diffuse เข้าไปในสารละลายกรดบอริค ทำให้วิเคราะห์ปริมาณ TMA ได้

$$6HCHO + 4NH_3 \longrightarrow (CH_2)_6 N_4 + 6H_2O$$

formalin ammonia hexamethylenetetramine

1. อุปกรณ์

1) จานคอนเวย์ (Conway diffusion disk)
2) Volumetric pipette
3) Microburette
4) เครื่องโฮโมจิไนส์
5) กระดาษกรอง
6) กรวยกรอง
7) ขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร

2. สารเคมี

1) Mixed indicator : ละลาย Bromocresol green 0.01 กรัม และ Methyl red 0.02 กรัม ด้วย ethanol แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร

2) Inner ring solution : ละลาย Boric acid 10 กรัม ใน ethanol 200 มิลลิลิตร แล้วเติม mixed indicator (จากข้อ 1) 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนได้ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

3) สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.02 นอร์มอล

4) สารละลาย K_2CO_3 อิ่มตัว : ละลาย $K_2CO_3$60 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ต้มนาน 10 นาที ทำให้เย็นแล้วกรองผ่านกระดาษกรอง

5) สารละลายกรดไตรคลอโรอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 4 : ละลายกรดไตรคลอโรอะซีติก (CCl_3COOH) 40 กรัม ในน้ำกลั่น 960 มิลลิลิตร

6) สารละลายฟอร์มาลดิไฮด์ร้อยละ 10 : เติม $MgCO_3$ 10 กรัม ลงใน Formalin (สารละลายฟอร์มาลดิไฮด์ร้อยละ 35) 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วกรองผ่านกระดาษกรอง ทำให้เจือจาง 3 เท่าด้วยน้ำกลั่น

7) วาสลีน

3. การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม เติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาณ 8 มิลลิลิตร โฮโมจิไนส์ให้ละเอียด ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41 ปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร

4. การหาปริมาณ TVB – N

1) ทาวาสลีนที่ขอบฝาจานคอนเวย์

2) ดูดสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงในวงกลมชั้นนอกของจานคอนเวย์

3) ดูด Inner ring solution 1 มิลลิลิตร ลงในวงกลมชั้นในของจานคอนเวย์

4) ดูสารละลาย K_2CO_3 อิ่มตัว 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในวงกลมชั้นนอก แต่ให้อยู่คนละด้านกับสารละลายตัวอย่างที่ใส่ในข้อ 2)

5) ปิดฝาจานคอนเวย์ให้สนิท

6) เอียงหรือหมุนจานคอนเวย์เบาๆ ให้ K_2CO_3 ผสมกับสารละลายตัวอย่าง ระวังอย่าให้ผสมกับ Indicator ที่วงกลมชั้นในเป็นอันขาด

7) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที

8) เปิดฝาจานคอนเวย์แล้วไตเตรทที่วงกลมชั้นในด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 นอร์มอล จนกระทั่งสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีชมพู จดปริมาตรกรดไว้คำนวณ

9) ทำ Blank โดยใช้สารละลายกรดไตรคลอโรอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 1 มิลลิลิตร แทนตัวอย่าง

5. การคำนวณหาปริมาณ TVB-N

$$\text{TVB-N (มิลลิลิตรไนโตรเจน/100 กรัมตัวอย่าง)} = \frac{(N)(14)(A-B)(V)(100)}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

เมื่อ N คือ Normality ของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรท

A คือ มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง
B คือ มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรท Blank
V คือ ปริมาตรรวมของตัวอย่างและสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง

6. การหาปริมาณ TMA – N

1) ทำเช่นเดียวกันกับการหา TVB – N ข้อ 1 – 3
2) เติมสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ร้อยละ 10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ผสมกับตัวอย่าง
3) ปิดฝาทันที แล้วค่อยๆ เอียงหรือหมุนเบาๆ ให้สารละลายชั้นนอกผสมกัน
4) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง
5) ไตเตรทที่วงชั้นในด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 1 มิลลิลิตร ทำเช่นเดียวกับตัวอย่าง

7. การคำนวณหาปริมาณ TMA-N

$$\text{TMA-N (มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัมตัวอย่าง)} = \frac{(N)(14)(C-B)(V)(100)}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

เมื่อ N คือ Normality ของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรท
C คือ มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง
B คือ มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรท Blank
V คือ ปริมาตรรวมของตัวอย่างและสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง

ก-5 ค่า TBARS (Buege and Aust, 1978)

1. อุปกรณ์

1) หลอดทดลองพร้อมฝาเกลียว
2) บีกเกอร์ขนาด 15 มิลลิลิตร
3) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
4) อ่างควบคุมอุณหภูมิ
5) เครื่องเหวี่ยงแยก

2. สารเคมี

สารละลาย TBARS เตรียมโดยผสมกรดไทโอบาบิทูริก 0.0375 กรัม กรดไตรคลอโรอะซีติก 15 กรัม และกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.25 โมลาร์ 0.875 มิลลิลิตรให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรจนได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

3. วิธีการ

1) ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 15 มิลลิลิตร แล้วผสมกับสารละลาย TBARS 2.5 มิลลิลิตร และโฮโมจิไนส์เป็นเวลา 2 นาที

2) เทตัวอย่างลงในหลอดทดลอง แล้วนำไปวางลงในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 95-100 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 10 นาที

3) ทำให้เย็นโดยนำหลอดทดลองไปไหลผ่านน้ำเป็นเวลา 2 นาที

4) นำตัวอย่างไปเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 3600 x g นาน 20 นาที

5) นำสารละลายใสที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 532 นาโนเมตร

6) เตรียมกราฟมาตรฐานโดยใช้ Malonaldehybis (dimethyl acetal) (MDA) ที่ความเข้มข้นจาก 0 ถึง 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่า TBARS ในรูปของมาโลนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง แล้วคำนวณหาปริมาณ TBARS เทียบกับกราฟมาตรฐานที่ได้ และรายงานในหน่วย มิลลิกรัมของมาโลนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม

ก-6 การหาปริมาณความชื้น (AOAC, 1990)

1. อุปกรณ์

1) ตู้อบลมร้อน

2) โถดูดความชื้น

3) ภาชนะอะลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น

4) เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง

2. วิธีการ

1) อบภาชนะอะลูมิเนียมสำหรับหาความชื้นในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบ ทิ้งให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

2) นำภาชนะอะลูมิเนียมไปอบซ้ำ ชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอน (แตกต่างไม่เกิน 0.05 กรัม)

3) ชั่งตัวอย่างบดละเอียดที่ต้องการหาความชื้นให้ได้ตัวอย่างที่แน่นอน 1-3 กรัม บันทึกน้ำหนักของตัวอย่างที่ชั่งได้ ใส่ตัวอย่างลงในภาชนะอะลูมิเนียมหาความชื้นที่ทราบน้ำหนักคงที่ ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักของภาชนะพร้อมตัวอย่าง จากนั้นนำไปอบซ้ำในตู้อบเช่นเดิมจนได้น้ำหนักคงที่ โดยผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.05 กรัม

การคำนวณ

ปริมาณความชื้น (โดยน้ำหนักฐานเปียก) = [(m1-m2)/m] x100

เมื่อ m = น้ำหนักตัวอย่าง

m1 = น้ำหนักตัวอย่างและภาชนะอะลูมิเนียมก่อนอบ (กรัม)

m2 = น้ำหนักตัวอย่างและภาชนะอะลูมิเนียมหลังอบ (กรัม)

ก-7 ค่า Water activity (a_w)

วิเคราะห์ค่า Water activity ด้วยเครื่อง Novasina รุ่น AWC Water Activity Center ใช้สารละลายอิ่มตัวของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ค่า a_w = 0.75) เป็นสารละลายมาตรฐานโดยนำตัวอย่างมาบรรจุในภาชนะสำหรับวัดค่า a_w บรรจุตัวอย่างประมาณ 2 ใน 3 ของภาชนะ นำตัวอย่างไปเข้าเครื่องวัดจนกระทั่งค่าคงที่ อ่านค่า a_w ที่ได้ โดยทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ขั้นตอนการใช้เครื่องวัดค่า a_w มีดังนี้

1. การ calibration

1) นำตลับ Salt Standard SAL – 98 (98% ERH)

2) ปิดฝาครอบให้เรียบร้อย

3) ให้หมุนปุ่มสีเหลืองตรงด้านซ้ายมือของเครื่องไปยังหมายเลข 2

4) รอจนอุณหภูมิใกล้เคียงกับที่วัดค่า aw ใกล้เคียงกับที่จะ calibration แล้วจึงค่อยกดปุ่มสีฟ้า Enter แช่จน 98 CAL กระพริบแล้วค่อยปล่อย

5) กดปุ่มสีฟ้า Enter อีกครั้ง จนกระทั่งข้อความบนจอหยุดกระพริบ

6) เครื่องจะทำการ calibration จนเสร็จสิ้นกระบวนการ

7) หลังจากเสร็จสิ้นระบวนการ calibration แล้วเครื่องจะคืนกลับสู่สภาพปกติ คือพร้อมที่จะวัดและแสดงค่าอุณหภูมิ และ % ERH (aw =ERH/100) ของตัวอย่าง

8) สำหรับค่าอื่นๆ ที่ต้องการ calibration ในทำนองเดียวกันกับค่า 98 ดังกล่าว

2. การวัดค่า

1) หมุนปุ่มสีเหลืองของเครื่อง AWC ในตำแหน่งที่ 2

2) นำตลับพลาสติกมาใส่สารตัวอย่างให้ได้ปริมาตรประมาณ 80-90%

3) นำตลับตัวอย่างมาใส่ไว้ใน Measuring Chamber

4) ปิดฝาให้เรียบร้อย

5) ตั้งอุณหภูมิที่ได้ตามต้องการ ในงานวิจัยนี้กำหนดใช้ 25 องศาเซลเซียส

6) รอจนกระทั่งอ่านอุณหภูมิได้ตามที่ตั้งไว้ และอ่านค่า a_w

ก-8 ค่าความแข็ง

วิเคราะห์ค่าความแข็งโดยใช้เครื่องวัดเนื้อสัมผัส Stable Micro Systems รุ่น TA-XT2 วัดโดยใช้แรงกด (Compression) โดยใช้หัววัดรูปทรงกระบอก (cylinder probe) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร (p/2) กดบริเวณกึ่งกลางของชิ้นตัวอย่าง รายงานเป็นค่าความแข็ง (กิโลกรัม) คือค่าแรงที่สูงสุด โดยแต่ละสิ่งทดลองใช้ตัวอย่าง 5 ชิ้น นำค่าที่วัดได้มาหาค่าเฉลี่ย ขั้นตอนการใช้เครื่องวัดเนื้อสัมผัส มีดังนี้

1. การ calibration

1) ไปที่ T.A. บน menu bar Calibrate Force จะปรากฏหน้าต่างของ Force Calibration ตรวจดูให้แน่ใจว่าไม่มีหัววัด (probe) ติดอยู่ที่ calibration platform แล้วคลิก OK

2) จากนั้นจะปรากฏหน้าต่างของใหม่ของ Force Calibration ให้วางตุ้มน้ำหนัก 5 กิโลกรัม บน calibration platform จากนั้นให้คลิก OK

3) เมื่อปรากฏข้อความว่า “Calibration Successful” ให้ยกตุ้มน้ำหนักลงแล้วคลิก OK

4) หลังจากนั้น Calibrate Probe ทุกครั้งที่ทดสอบ โดยไปที่ T.A. บน menu bar Calibrate Probe จะปรากฏหน้าต่างของ Probe Calibration กำหนดระยะทางให้ probe เคลื่อนที่ขึ้นหลังจากสัมผัสตัวอย่าง แล้วคลิก OK

2. การตั้งค่า

ไปที่ T.A. Setting (หรือF4) จะปรากฏหน้าต่างของ Texture Analyzer Setting ตั้งค่าพารามิเตอร์ดังนี้

Mode Measure Force in Compression

Option Return to Start

Pre – Test Speed	2.0 mm./s
Test Speed	2.0 mm./s
Post Test Speed	10.0 mm./s
Distance	3 mm.
Trigger Force	Auto- 10 g
Data Acqiusition Rate	200 pps

3. การวัดค่า

1) วางตัวอย่างบนแท่นทดสอบหรือ probe ชุดล่างเรียบร้อยแล้ว ให้เลือก T>A> บน menu bar Run a Test (หรือF2) จะปรากฏหน้าต่างของ Run a Test ให้ตั้งค่าพารามิเตอร์ต่างๆ เช่น ตั้งค่า Auto Save ตั้งชื่อไฟล์ ตั้งชื่อกราฟแสดงผล เป็นต้น

2) เมื่อตั้งค่าต่างๆ เรียบร้อยแล้ว ให้คลิก OK เครื่องจะเริ่มการทดสอบพร้อมปรากฏเส้นกราฟบนหน้าต่างกราฟ ส่วนการทดสอบขั้นต่อไป ถ้าไม่มีการเปลี่ยนแปลงสภาวะ ให้เลือก T.A. บน menu bar Quick Test Run (หรือ Ctrl+Q)

3) อ่านค่าที่ได้จากกราฟ ในที่นี้พิจารณาค่าความแข็ง (กิโลกรัม) คือ ค่าแรงที่สูงสุด

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ข-1 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสในการประเมินความสด

หมายเลขผู้ทดสอบ : ..... วันที่ : .....

คำแนะนำ กรุณาประเมินความสดของหอยหลอดด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น และทดสอบชิมตัวอย่าง และให้คะแนนด้านรสชาติและความชอบโดยรวม พิจารณาตัวอย่างจากซ้ายไปขวาตามลำดับ แล้วให้คะแนนการยอมรับจาก 0-10 คะแนนโดยบ้วนปากก่อนการชิมทุกครั้ง โดยคะแนนมีความหมายดังนี้

0 หมายถึง ตัวอย่างเน่าเสียแล้ว
5 หมายถึง ตัวอย่างยังเป็นที่ยอมรับ
10 หมายถึง ตัวอย่างสดมากที่สุด

รหัสตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

ข-2 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสในการประเมินความชอบวิธี 9-point-hedonic scale

หมายเลขผู้ทดสอบ : ..... วันที่ : .....

คำแนะนำ กรุณาชิมตัวอย่างจากซ้ายไปขวาตามลำดับ แล้วให้คะแนนความชอบที่มีผลต่อผลิตภัณฑ์ กรุณาบ้วนปากก่อนชิมทุกครั้ง

1 = ไม่ชอบมากที่สุด	2 = ไม่ชอบมาก	3 = ไม่ชอบปานกลาง
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย	5 = เฉยๆ	6 = ชอบเล็กน้อย
7 = ชอบปานกลาง	8 = ชอบมาก	9 = ชอบมากที่สุด

รหัสตัวอย่าง	.....	.....	.....	.....
ลักษณะปรากฏ	.....	.....	.....	.....
สี	.....	.....	.....	.....
รสชาติ	.....	.....	.....	.....
เนื้อสัมผัส	.....	.....	.....	.....
ความชอบโดยรวม	.....	.....	.....	.....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

ค-1 ปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria และ ปริมาณ Psychrophilic aerobic bacteria

โดยวิธีนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป (ดัดแปลงจาก BAM, 2001; Cosansu et al., 2013)

1.วัสดุและสารเคมี

1) อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปตรวจเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (Compact Dry TC Count Plate, Nissui Pharmaceutical, Japan)

2) เปปโตน วอเตอร์ (Peptone Water, Merck Darmstadt, Germany)

2. เครื่องมือและอุปกรณ์

1) เครื่องตีผสม (Stomacher, Stomacher 400, Seaward Meducai Limited, England)

2) ตู้บ่มเชื้อ (Incubator, INE 300 39L, Memmert, England)

3) อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์จุลินทรีย์

3. การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์

1) ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ลงในถุงพลาสติกที่ปลอดเชื้อ แล้วเติม Peptone Water 225 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องตีผสมนาน 1 นาที จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจาง 10^{-1}

2) ปิเปตสารละลายตัวอย่างจากข้อ 1. มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่บรรจุสารละลาย Peptone Water 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจาง 10^{-2}

3) เจือจางสารละลายตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 2 จนได้ความเจือจาง 10^{-3}

4) ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจาง 10^{-1} มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป แล้วรีบปิดฝาถาดอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป

5) ทำเช่นเดียวกับข้อที่ 4 จนครบสารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-3}

6) กรณี Mesophilic นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และในกรณี Psychrophilic นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

7) เลือกจานอาหารของระดับการเจือจางที่พบจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี มานับจำนวน

8) การตรวจนับจำนวนโคโลนีจากถาดอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำได้โดยนับจำนวนโคโลนีสีแดงทั้งหมด แล้วหาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีในแต่ละความเจือจาง และรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ที่ความเจือจางต่ำที่สุด (Yousef & Carlstrom, 2003) ได้ตามสูตร ดังนี้

$$\text{โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (CFU/g)} = n \times df$$

เมื่อ n คือ จำนวนโคโลนีเฉลี่ยที่ความเจือจางต่ำที่สุด

df คือ Dilution Factor หรือส่วนกลับของความเจือจางของตัวอย่างที่นำมาเพาะเชื้อในถาดที่หาค่า n ได้

8.1) หากทุกความเจือจางมีจำนวนโคโลนีอยู่ในช่วง 1-30 โคโลนี ให้รายงานผลการตรวจนับโคโลนีที่ความเจือจางต่ำที่สุด ในรูปของโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม และให้เขียนคำว่า est. ต่อท้าย

8.2) หากไม่ตรวจพบจำนวนโคโลนีเลยในจำนวน 2 ซ้ำ ให้รายงานว่า <1.0 x (dilution ที่ความเจือจางต่ำที่สุด)

8.3) หากจำนวนโคโลนีเกิน 300 โคโลนีไม่มากนัก ให้นับจำนวนโคโลนีทั้งหมดที่พบในความเจือจางสูงสุด คำนวณเป็นค่าเฉลี่ยและรายงานผลเป็นค่าโดยประมาณแบคทีเรียทั้งหมด

ในกรณีที่มีจำนวนโคโลนีมากกว่า 300 โคโลนี สามารถนับได้โดยการประมาณค่าโดยนับจำนวนโคโลนีจากตารางจำนวน 3-4 ช่องหรือมากกว่า จากนั้นหาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีต่อ 1 ช่อง แล้วจึงคูณค่าเฉลี่ยด้วย 20 (พื้นที่ของการเจริญเติบโตของเชื้อเป็นพื้นที่ 20 ตารางเซนติเมตร) จะได้จำนวนโคโลนีโดยประมาณของการทดสอบ

ค-2 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

โดยวิธีนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป (BAM, 2003)

1. วัสดุและสารเคมี

1) อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปตรวจเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Compact Dry TC, Nissui Pharmaceutical, Japan)

2) เปปโตนวอเตอร์ (Peptone Water)

2. **เครื่องมือและอุปกรณ์**

1) เครื่องตีผสม (Stomacher)

2) ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

3) อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์จุลินทรีย์

3. การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์

1) ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ลงในถุงพลาสติกที่ปลอดเชื้อ แล้วเติม Peptone Water 225 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องตีผสมนาน 1 นาที จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจาง 10^{-1}

2) ปิเปตสารละลายตัวอย่างจากข้อ 1. มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่บรรจุสารละลาย Peptone Water 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจาง 10^{-2}

3) เจือจางสารละลายตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 2 จนได้ความเจือจาง 10^{-3}

4) ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ความเจือจาง 10^{-1} มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป แล้วรีบปิดฝาถาดอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป

5) ทำเช่นเดียวกับข้อที่ 4 จนครบสารละลายตัวอย่างที่ความเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-3}

6) นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

7) การตรวจนับจำนวนโคโลนีจากถาดอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำได้โดยนับจำนวนโคโลนีสีแดงทั้งหมด แล้วหาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีในแต่ละความเจือจาง และรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ที่ความเจือจางต่ำที่สุด (Yousef & Carlstrom, 2003) ได้ตามสูตร ดังนี้

โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (CFU/ g) = n x df

เมื่อ n คือ จำนวนโคโลนีเฉลี่ยที่ความเจือจางต่ำที่สุด

df คือ Dilution Factor หรือ ส่วนกลับของความเจือจางของตัวอย่างที่นำมาเพาะเชื้อในถาดที่หาค่า n ได้

7.1) หากทุกความเจือจางมีจำนวนโคโลนีอยู่ในช่วง 1-15 โคโลนี ให้รายงานผลการตรวจนับโคโลนีที่ความเจือจางต่ำที่สุด ในรูปของโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม และให้ให้เขียนคำว่า est. ต่อท้าย

7.2) หากไม่ตรวจพบจำนวนโคโลนีเลยในจำนวน 3 ซ้ำ ให้รายงานว่า <1.0 x (dilution ที่ความเจือจางต่ำที่สุด)

7.3) หากจำนวนโคโลนีเกิน 300 โคโลนีไม่มากนัก ให้นับจำนวนโคโลนีทั้งหมดที่พบในความเจือจางสูงสุด คำนวณเป็นค่าเฉลี่ยและรายงานผลเป็นค่าโดยประมาณแบคทีเรียทั้งหมด

ถ้าตรวจพบจำนวนโคโลนีมากกว่า 300 โคโลนี เกิน 10 โคโลนีต่อพื้นที่ 1 เซนติเมตร ให้นับจำนวนโคโลนีที่พบใน 1 ตารางเซนติเมตร (โดยแบ่งเป็นช่องขนาด 1 ตารางเซนติเมตร แล้วนับจำนวนโคโลนีที่อยู่ในช่องนั้นจำนวน 13 ช่อง แบบสุ่ม) รวมจำนวนโคโลนีโดยประมาณ (โคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม) ของตัวอย่างนั้น

ถ้าจำนวนโคโลนีเกิน 300 โคโลนี มากจนไม่สามารถนับได้ ให้รายงานว่า “TNTC” (Too Numerous To Count) และต้องเตรียมตัวอย่างให้มีระดับความเจือจางที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ครั้งต่อไป

ค-3 ปริมาณยีสต์และรา

โดยวิธีการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป (BAM, 2003)

1. **วัสดุและสารเคมี**

1) อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปตรวจเชื้อยีสต์และรา (Compact Dry YM, Nissui Pharmaceutical, Japan)

2) เปปโตนวอเตอร์ (Peptone Water)

2. **เครื่องมือและอุปกรณ์**

1) เครื่องตีผสม (Stomacher)

2) ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

3) อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์จุลินทรีย์

3. การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์

1) ทำวิธีเดียวกันกับกรณีวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ในภาคผนวก ค-2 ข้อที่ 1) – 5)

2) นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

3) การตรวจนับจำนวนโคโลนีจากถาดอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำได้โดยนับจำนวนโคโลนีสีฟ้าเขียวอ่อน (Light Bluish Green) ทั้งหมดแล้วหาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีในแต่ละความเจือจางและรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ที่ความเจือจางต่ำที่สุด ทำเช่นเดียวกับกรณีวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ในภาคผนวก ค-2

ยกเว้นกรณี หากจำนวนโคโลนีเกิน 150 โคโลนีไม่มากนัก ให้นับจำนวนโคโลนีทั้งหมดที่พบในความเจือจางสูงสุด คำนวณเป็นค่าเฉลี่ยและรายงานผลเป็นค่าโดยประมาณแบคทีเรียทั้งหมด

ถ้าตรวจพบจำนวนโคโลนีมากกว่า 150 โคโลนี เกิน 10 โคโลนีต่อพื้นที่ 1 เซนติเมตร ให้นับจำนวนโคโลนีที่พบใน 1 ตารางเซนติเมตร (โดยแบ่งเป็นช่องขนาด 1 ตารางเซนติเมตร แล้วนับจำนวนโคโลนีที่อยู่ในช่องนั้นจำนวน 13 ช่อง แบบสุ่ม) รวมจำนวนโคโลนีโดยประมาณ (โคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม) ของตัวอย่างนั้น

ถ้าจำนวนโคโลนีเกิน 150 โคโลนี มากจนไม่สามารถนับได้ ให้รายงานว่า “TNTC” (Too Numerous To Count) และต้องเตรียมตัวอย่างให้มีระดับความเจือจางที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ครั้งต่อไป

ภาคผนวก ง
การเตรียมกรดซิตริกและกรดอะซิติก

ง-1 การเตรียมสารละลายกรดซิตริก

1) พิจารณาปริมาณกรดทั้งหมดสังเคราะห์ได้จากมะนาวและเตรียมสารละลายกรดซิตริกให้มีความเข้มข้นมากกว่าปริมาณกรดทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้เล็กน้อย คำนวณจากสูตรดังนี้

ความเข้มข้นของสารละลายกรด (%w/v) = $\frac{\text{น้ำหนักของกรด (g)} \times 100}{\text{ปริมาตร (ml)}}$

2) เตรียมสารละลายกรดซิตริก เช่น ในกรณีการทดลองนี้เตรียมสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 9% (ปริมาณกรดทั้งหมดของน้ำมะนาว เท่ากับ 8.76%)

3) ปรับปริมาณกรดให้ใกล้เคียงกับน้ำมะนาวโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ เป็นตัวปรับ เพื่อความสะดวกในการปรับ ใช้ค่า pH เป็นตัวเทียบแบบคร่าวก่อน โดยสุ่มตัวอย่างสารละลายกรดมาวัดค่า pH ด้วย pH meter และสุ่มตัวอย่างสารละลายกรดมาวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดเพื่อยืนยันความถูกต้องอีกครั้ง

ง-2 การเตรียมสารละลากยกรดอะซิติก

1) พิจารณาปริมาณกรดทั้งหมดสังเคราะห์ได้จากน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดและเตรียมสารละลายกรดอะซิติกให้มีความเข้มข้นมากกว่าปริมาณกรดทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้เล็กน้อย คำนวณจากสูตรดังนี้

ความเข้มข้นของสารละลายกรด (%w/v) = $\frac{\text{น้ำหนักของกรด (g)} \times 100}{\text{ปริมาตร (ml)}}$

2) เตรียมสารละลายกรดอะซิติก เช่น ในกรณีการทดลองนี้เตรียมสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 5% (ปริมาณกรดทั้งหมดของน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด เท่ากับ 4.67%)

3) ปรับปริมาณกรดให้ใกล้เคียงกับน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ เป็นตัวปรับ เพื่อความสะดวกในการปรับ ใช้ค่า pH เป็นตัวเทียบแบบคร่าวก่อน โดยสุ่มตัวอย่างสารละลายกรดมาวัดค่า pH ด้วย pH meter และสุ่มตัวอย่างสารละลายกรดมาวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดเพื่อยืนยันความถูกต้องอีกครั้ง