

การแปรรูปหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์

นางสาวจิรรัชต์ กันทะขันธ์

สถาบันวิทยบริการ
วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2549
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PROCESSING OF ABALONE *Haliotis asinina* L. IN BRINE IN RETORT POUCH



Miss Jirarat Kantakhoo

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2006

การแปรรูปหอยเป่าชื่อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์

นางสาวจิรรัชต์ กันทะขันธ์

เทคโนโลยีทางอาหาร

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิราวัฒน์ ทัตติยกุล

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รมณี สงวนดีกุล

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมณะเขต)

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กัลยา เลิศสงคราม)

(รองศาสตราจารย์ ดร. กัลยา เลิศสงคราม)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิราวัฒน์ หัตถติยกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมนี สงวนดีกุล)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อุดลรัตน์ สิริภทราวรรณ)

.....กรรมการ
(อาจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลัย)

จิรัชต์ กันทะชู : การแปรรูปหอยเป้าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ (PROCESSING OF ABALONE *Haliotis asinina* L. IN BRINE IN RETORT POUCH) อ. ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. จิราวัฒน์ ทัดติยกุล, อ. ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร. รมณี สงวนดีกุล. 126 หน้า

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแปรรูปหอยเป้าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ เริ่มตั้งแต่การศึกษาการจัดการวัตถุดิบเพื่อรักษาคุณภาพ โดยเก็บรักษาหอยเป้าฮื้อแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก ที่อุณหภูมิ 0°C และ 10°C พบว่า ค่า pH ของหอยเป้าฮื้อที่เก็บที่ทุกสภาวะจะมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ค่า firmness ลดลงเมื่อเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น โดยหอยเป้าฮื้อที่เก็บแบบทั้งตัวมีค่า firmness ต่ำกว่าแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก พบแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ $>10^6$ cfu/g เมื่อเก็บหอยเป้าฮื้อแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออกที่อุณหภูมิ 0°C เป็นเวลา 6 และ 9 วัน ตามลำดับ และที่ 10°C เป็นเวลา 3 และ 4 วัน ตามลำดับ แต่ไม่พบแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสและไม่พบฮิสตามีนตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาหอยเป้าฮื้อที่ทุกสภาวะการเก็บ ต่อมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยเป้าฮื้อเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที พบว่า ปริมาณ cooking loss เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนเช่นเดียวกับค่า degree of browning โดยหอยเป้าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 80°C เกิดสีน้ำตาลน้อยกว่าที่ 100°C และ 120°C ซึ่งสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดหลังจากให้ความร้อนที่ 100°C เป็นเวลา 60 นาที และ 20 นาที ที่ 120°C การเปลี่ยนแปลงค่า water-holding capacity (WHC) มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัส โดยพบว่า 10 นาทีแรกของการให้ความร้อนทุกอุณหภูมิ ค่า WHC และค่า toughness มีค่าลดลง และค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการให้ความร้อนเมื่อให้ความร้อนที่ 80°C ในขณะที่การให้ความร้อนที่ 100°C และ 120°C เป็นเวลา 60 นาที ขึ้นไป ค่า WHC เพิ่มขึ้น และที่ค่า toughness ลดลงอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากคอลลาเจนเปลี่ยนไปเป็นเจลาติน น้ำถูกจับไว้ในเนื้อมากขึ้นทำให้เนื้อนุ่มขึ้น rate constant ของการเปลี่ยนแปลงปริมาณ cooking loss ค่า degree of browning ค่า WHC และค่า toughness เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิการให้ความร้อน และค่า E_a ของการเปลี่ยนแปลงเท่ากับ 6.23, 6.33, 7.09 และ 13.34 kcal.mol⁻¹.K⁻¹ ตามลำดับ ในการศึกษาการแทรกผ่านความร้อนของผลิตภัณฑ์หอยเป้าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ โดยการให้ความร้อนที่ 110°C เป็นเวลา 50 นาที ได้ heat penetration parameters คือ $f_h = 6.7$ นาที และ $j = 1.059$ ซึ่งสามารถทำนายเวลาการฆ่าเชื้อตามวิธี Formula เพื่อให้ได้ $F_0 = 4$ นาที ดังนี้ เมื่ออุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 50°C ต้องให้ความร้อนที่ 114°C และ 121°C เป็นเวลา 23 นาที และ 7 นาที ตามลำดับ และเมื่ออุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 70°C ต้องให้ความร้อนที่ 114°C และ 121°C เป็นเวลา 22 นาที เป็นเวลา 6 นาที ตามลำดับ จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิเดียวกันไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) โดยให้คะแนนความชอบผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ 121°C มากกว่าที่ 114°C จึงเลือกภาวะดังกล่าวมาผลิตผลิตภัณฑ์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบต่อผลิตภัณฑ์ทุกคุณลักษณะระหว่างการเก็บรักษาทุกเดือนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และไม่พบจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายและทำให้เกิดการเน่าเสียตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร.....
สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร.....
ปีการศึกษา.....2549.....

ลายมือชื่อนิสิต.....จิรัชต์ กันทะชู.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4672533723 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEY WORD: ABALONE /PROCESSING/ RETORT POUCH

JIRARAT KANTAKHOO: PROCESSING OF ABALONE *Haliotis asinina* L. IN BRINE IN RETORT POUCH. THESIS ADVISOR: ASST.PROF. JIRARAT TATTIYAKUL, Ph.D. THESIS COADVISOR: ASST.PROF. ROMANEE SANGUANDEEKUL, Ph.D., 126 pp.

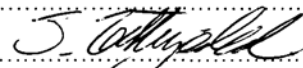
This research aimed to study the processing of abalone *Haliotis asinina* L. in brine in retort pouch. Initially, the effect of handling temperature (0°C and 10°C) on raw material (whole abalone and shelled-off gutted abalone) quality was studied. As storage time increased, the pH of abalone changed slightly. The firmness of abalone stored at 0°C and 10°C tended to decrease. The shelled-off gutted abalone had a better texture quality than whole abalone. Aerobic bacteria count reached 6 log cfu/g when storing shelled-off gutted abalone and whole abalone at 0°C for 6 and 9 days, respectively, and at 10°C for 3 and 4 days, respectively. Histidine decarboxylase producing bacteria and histamine were not found in abalone stored in all conditions. The effect of heating process was also studied by heating abalone at 80°C, 100°C, and 120°C for 2-240 minutes. As heating temperature and time increased, the cooking loss and degree of browning of abalone tended to increase. Heated abalone at 100°C and 120°C had more degree of browning compared to that at 80°C. A significant increase in browning was observed when heating abalone at 100°C for 60 minutes and 100°C for 20 minutes and longer. There was an obvious relationship between water-holding capacity (WHC) and toughness of abalone during heating. WHC and toughness decreased during the first 10 minutes of all heating temperatures, but remained rather constant over the range of heating time at 80°C. WHC increased and toughness concomitantly decreased when heating at 100°C and 120°C for up to 60 minutes, which were caused principally by complete gelation of collagen. Rate constant of cooking loss, degree of browning, WHC, and toughness increased with heating temperature. The activation energy of which was 6.23, 6.33, 7.09 and 13.34 kcal.mol⁻¹.K⁻¹, respectively. Heat penetration study of abalone in brine in retort pouch (150 g net weight) at 110°C for 50 minutes yielded a heating rate index (f_h) of 6.7 minutes and a heating lag factor (j) of 1.059. These values were further used to predict thermal process time for the product to be processed at 114°C and 121°C retort temperatures (RT) and 50°C and 70°C initial temperatures (IT). The predicted process time at IT = 50°C and RT = 114°C and 121°C were 23 and 7 minutes, respectively, while the predicted process time at IT = 70°C and RT = 114°C and 121°C were 22 and 6 minutes, respectively. The result from sensory evaluation of abalone processed in the above four conditions shows that the overall acceptability of the products processed at 121°C were higher than those processed at 114°C. During 6 months storage at room temperature, sensory score of all product attributes did not change significantly. Hazardous and spoilage bacteria were not found in all products during storage.

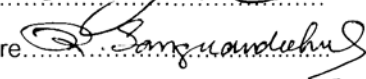
Department.....Food Technology.....

Field of study....Food Technology.....

Academic year.....2006.....

Student's signature.....JIRARAT KANTAKHOO.....

Advisor's signature..........

Co-Advisor's signature..........

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งและอย่างเต็มที่
เต็มกำลังของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิราวัฒน์ ทัตติยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วย
ศาสตราจารย์ ดร.รมณี สงวนดีกุล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา
คำแนะนำ และให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา เลหาสงคราม ประธานกรรมการ
สอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุบลรัตน์ สิริภักทราวรรณ และ อาจารย์ ดร.เกียรติศักดิ์
ดวงมาลย์ ที่ร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งกรุณาชี้แนะแนวทางในการปรับปรุง
วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.เผด็จศักดิ์ จารยะพันธุ์ ที่ให้ความ
อนุเคราะห์ในการจัดหาหอoyerเปื้ออี้ที่ใช้ในการทำวิจัย

ขอบคุณเพื่อน พี่ และน้อง ปริญญาโท และพี่ปริญญาเอก ภาควิชาเทคโนโลยี
ทางอาหาร ที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจกันมาตลอดการวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชา
เทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและคำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์

ขอบคุณพี่ๆ จากบริษัท กุญบุรีผลไม้กระป๋อง จำกัด สำหรับความช่วยเหลือและ
คำแนะนำต่างๆ และขอบคุณพี่ๆ จากชมรมอีสาน สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือที่
ให้ความช่วยเหลือแก้ปัญหาเกี่ยวกับคอมพิวเตอร์ตลอดการทำวิจัย

ท้ายสุดนี้ขอกราบขอบพระคุณ พ่อ แม่ และขอบคุณพี่สาวและครอบครัว และ
น้องสาวที่น่ารักสำหรับกำลังใจดีดีและความเข้าใจ รวมถึงการสนับสนุนกำลังใจทรัพย์ที่ทุ่มเทอย่าง
เต็มที่และเต็มใจแก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ณ
สารบัญรูป	ญ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วารสารปริทัศน์	3
2.1 หอยเป้าฮื้อ	3
2.2 ฮิสตามีนในอาหารทะเล	6
2.3 รีทอร์ตเพอร์ช	10
2.4 การฆ่าเชื้ออาหารบรรจุในบรรจุภัณฑ์อ่อนตัว	12
2.4.1 การกำหนดภาวะในการฆ่าเชื้อ	13
2.4.2 การเตรียมวัตถุดิบและการรักษาคุณภาพวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต ผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำบรรจุกระป๋องหรือในภาชนะปิดสนิท	16
2.5 คุณภาพของเนื้อสัตว์ที่มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค	18
2.5.1 องค์ประกอบที่มีผลต่อเนื้อสัมผัส	18
2.5.2 ผลของกระบวนการแปรรูปโดยใช้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ ของหอยเป้าฮื้อ	21
3. วิธีการทดลอง	26
4. ผลการทดลองและวิจารณ์	42
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของหอยเป้าฮื้อ	42
4.2 ผลของวิธีการจัดการ อุณหภูมิ และระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการเกิดฮิสตามีน ในหอยเป้าฮื้อสด	43
4.3 ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ ของหอยเป้าฮื้อ	52
4.4 กระบวนการฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของหอยเป้าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพอร์ช	64

4.5 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ ตลอดอายุการเก็บรักษา 6 เดือน	72
5. สรุปผลการทดลอง	75
รายการอ้างอิง	77
ภาคผนวก	91
ภาคผนวก ก	92
ภาคผนวก ข	96
ภาคผนวก ค	102
ภาคผนวก ง	104
ภาคผนวก จ	107
ภาคผนวก ฉ	111
ภาคผนวก ช	113
ภาคผนวก ซ	116
ภาคผนวก ฌ	119
ภาคผนวก ญ	123
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	126

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	องค์ประกอบทางเคมีของหอยเป้าฮื้อ	42
4.2	การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของหอยเป้าฮื้อที่เก็บแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือก เอาเครื่องในออก ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0°C และ 10°C	45
4.3	การเปลี่ยนแปลงค่า firmness ($\times 10^3$ g.mm) ของหอยเป้าฮื้อที่เก็บแบบทั้งตัว และแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0°C และ 10°C	47
4.4	การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ ($\times 10^6$ cfu/g) ของหอย เป้าฮื้อที่เก็บแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก ระหว่างการเก็บ รักษาที่อุณหภูมิ 0°C และ 10°C	49
4.5	rate constant (k) และ activation energy (Ea) ของการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ ต่างๆ ของเนื้อหอยเป้าฮื้อ <i>H. asinina</i> ในระหว่างการให้ความร้อน	63
4.6	ผลการคำนวณเวลาการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์หอยเป้าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุ รีทอร์ตเพอร์ที่อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารและอุณหภูมิของหม้อฆ่าเชื้อต่างๆ ตามวิธี Formula	66
4.7	เวลาการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์หอยเป้าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพอร์ที่อุณหภูมิ เริ่มต้นของอาหารและอุณหภูมิของหม้อฆ่าเชื้อต่างๆ ที่ทำให้ได้ $F_0 = 4$ นาที โดย คำนวณตามวิธี General	67
4.8	เวลาในการฆ่าเชื้อจริงและค่า F_0 ของผลิตภัณฑ์หอยเป้าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุ รีทอร์ตเพอร์ที่ได้จากกระบวนการผลิตจริง	67
4.9	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำหนักรับ ค่า degree of browning ปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ และค่า toughness ของหอยเป้าฮื้อ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อในภาวะอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารและอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ ต่างๆ	69
4.10	ลักษณะคุณภาพของผลิตภัณฑ์หอยเป้าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพอร์ที่ผ่าน การฆ่าเชื้อในภาวะที่อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารและอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อต่างๆ ..	69
4.11	คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของหอยเป้าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุ รีทอร์ตเพอร์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อในภาวะที่อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารและอุณหภูมิ หม้อฆ่าเชื้อต่างๆ	70

4.12	คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารและอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อต่างๆ	71
4.13	คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ในระหว่างการเก็บรักษา 6 เดือน	73
4.14	คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ในระหว่างการเก็บรักษา 6 เดือน	73
ง.1	การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของอาหารภายในรีทอร์ตเพาซ์ที่วางไว้ในตำแหน่งต่างๆ ภายในหม้อฆ่าเชื้อ	105
ช.1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า pH ปริมาณแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (aerobic bacteria) และค่า firmness ของหอยเป่าฮื้อที่มีการจัดการ (เก็บรักษาแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก) ก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0°C เป็น เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, และ 21 วัน	116
ช.2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า pH ปริมาณแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (aerobic bacteria) และค่า firmness ของหอยเป่าฮื้อที่มีการจัดการ (เก็บรักษาแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก) ก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C เป็น เวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, และ 7 วัน	117
ช.3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณ cooking loss ค่า degree of browning ค่า water-holding capacity และค่า toughness ของหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ	118
ฉ.1	ปริมาณ cooking loss (%) ของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที	119
ฉ.2	ค่า degree of browning (A420nm/g sample) ของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที	120
ฉ.3	ค่า water-holding capacity (%) ของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที	121
ฉ.4	ค่า toughness ($\times 10^3$ g.mm) ของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที	122

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ระบบอวัยวะภายในของหอยเป่าฮื้อ	3
2.2 ปฏิกิริยา decarboxylation ของกรดอะมิโนฮิสติดีนทำให้เกิดฮิสตามีน	6
2.3 ลักษณะการถ่ายเทความร้อนในอาหาร	14
2.4 จุด cold point ในอาหารที่มีการถ่ายเทความร้อนแบบการพาและการนำความร้อน	15
2.5 ลำดับกรดอะมิโนและโครงสร้างของโมเลกุลคอลลาเจน	19
3.1 ขั้นตอนการเตรียมหอยเป่าฮื้อเพื่อใช้ศึกษาผลของวิธีการจัดการ อุณหภูมิ และ ระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการเกิดฮิสตามีนในหอยเป่าฮื้อสด	32
3.2 ขั้นตอนการผลิตหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์	36
4.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ cooking loss ของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที	53
4.2 การเปลี่ยนแปลงการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่ อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที	55
4.3 การเปลี่ยนแปลง water-holding capacity ของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความ ร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที	56
4.4 การเปลี่ยนแปลงค่า toughness ของหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที	58
4.5 การเปลี่ยนแปลงค่า toughness กับ ค่า water-holding capacity (WHC) ของเนื้อ หอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 80°C 100°C และ 120°C	59
ง.1 ตำแหน่งการวางเข็มวัดอุณหภูมิคู่ควบเพื่อหาจุดร้อนช้าที่สุดในหม้อฆ่าเชื้อ	104
จ.1 Heat penetration curve ของผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ที่ วางที่ตำแหน่ง P3 ในหม้อฆ่าเชื้อ	107
ฉ.1 กราฟมาตรฐานไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline standard curve)	112
ญ.1 Kinetics ของการเปลี่ยนแปลง cooking loss ของเนื้อหอยเป่าฮื้อระหว่างการให้ ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C	123
ญ.2 Kinetics ของการเปลี่ยนแปลงค่า degree of browning ของเนื้อหอยเป่าฮื้อ ระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C	123
ณ.3 Kinetics ของการเปลี่ยนแปลง water-holding capacity ของเนื้อหอยเป่าฮื้อ ระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C	124

ฅ.4	Kinetics ของการเปลี่ยนแปลงค่า toughness ของเนื้อหอยเป่าฮื้อระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C	124
ฅ.5	Arrhenius plots ของการเปลี่ยนแปลงค่า degree of browning ค่า toughness ปริมาณ cooking loss และค่า water-holding capacity ของเนื้อหอยเป่าฮื้อระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C (แสดง activation energy)	125
ฅ.6	Arrhenius plots ของการเปลี่ยนแปลงค่า degree of browning ค่า toughness ปริมาณ cooking loss และค่า water-holding capacity ของเนื้อหอยเป่าฮื้อระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C (แสดงสมการเส้นตรง)	125

บทที่ 1

บทนำ

หอยเป่าฮื้อมีความสำคัญทางเศรษฐกิจมานานนับพันปีแล้ว โดยมีการค้าขายในลักษณะ หอยตากแห้งจากเอเชียส่งออกสู่ยุโรป ในสมัยยุคเมจิ (Meiji) ของญี่ปุ่นมีการส่งออกหอยเป่าฮื้อตากแห้งคิดเป็นมูลค่ามากกว่าร้อยละ 80 ของมูลค่าสินค้าส่งออกทั้งหมด (คเชนทร เฉลิวัฒน์, 2544) หอยเป่าฮื้อมีราคาแพงและเป็นที่ยอมรับในหลายประเทศทั่วโลก เช่น ในแถบยุโรปและอเมริกา ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ เป็นต้น อย่างไรก็ตามตลาดผู้บริโภคที่ใหญ่ที่สุดอยู่ในแถบเอเชียมีมูลค่าการบริโภคประมาณ 7,500-10,000 ล้านบาทต่อปี เช่น ญี่ปุ่น จีน เกาหลี ไต้หวันฮ่องกง และไทย เป็นต้น เนื่องจากมีรสชาติอร่อย เนื้อสัมผัสมีลักษณะเฉพาะตัว มีโปรตีนสูง นอกจากนี้ยังเชื่อว่าเป็นอาหารมงคลด้วย (พายัพ ยังปักซี่, 2541) ในสหรัฐอเมริกามีราคากิโลกรัมละ 1,000-1,650 บาท ในญี่ปุ่นซึ่งเป็นตลาดใหญ่ที่สุดในเอเชียราคาสูงถึง 2,000-2,400 บาท (คเชนทร เฉลิวัฒน์, 2544) ญี่ปุ่นนำเข้าและส่งออกหอยเป่าฮื้อในระดับอุตสาหกรรม โดยนำเข้าในรูปหอยสด หอยแช่แข็ง และหอยแช่เย็น จากประเทศจีน เกาหลี และนิวซีแลนด์เป็นจำนวนมากถึง 1,000 ตันต่อปี และนำเข้าหอยเป่าฮื้อบรรจุกระป๋องจากประเทศออสเตรเลียประมาณ 700-800 ตันต่อปี นอกจากนี้ญี่ปุ่นยังส่งออกหอยเป่าฮื้อแห้งไปยังฮ่องกงและไต้หวันปีละหลายสิบล้านตันด้วย (พายัพ ยังปักซี่, 2541)

ประเทศไทยได้มีการส่งเสริมให้เลี้ยงหอยเป่าฮื้อในเชิงพาณิชย์เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงหอยเป่าฮื้อพันธุ์ *Halotis asinina* ซึ่งมีความเป็นไปได้ทางธุรกิจค่อนข้างสูง เพราะตลาดต่างประเทศนิยมหอยเป่าฮื้อขนาดเล็กไม่ใหญ่นัก มีสัดส่วนของเนื้อที่ใช้เป็นอาหารสูง และมีอัตราการเติบโตสูงสุดในบรรดาหอยเป่าฮื้อทุกชนิดทั่วโลก (สมปอง วิชญวิเชียร, 2542) มีการคาดการณ์ว่าไทยจะสามารถผลิตหอยเป่าฮื้อเข้าสู่ตลาดได้ 500-1,000 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่า 1,500-3,000 ล้านบาท (จักรพันธ์ กังวาฬ, 2547) นอกจากจะช่วยเพิ่มรายได้เข้าสู่ประเทศมากขึ้นแล้วยังช่วยลดการนำเข้าหอยเป่าฮื้อจากต่างประเทศด้วย

แต่เดิมหอยเป่าฮื้อที่บริโภคภายในประเทศส่วนใหญ่เป็นหอยที่นำเข้าจากต่างประเทศในรูปของผลิตภัณฑ์แปรรูปซึ่งมักมีราคาสูง ดังนั้นการนำหอยเป่าฮื้อที่ผลิตได้ในประเทศมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ นอกจากจะช่วยลดมูลค่าการนำเข้าแล้วยังมีส่วนช่วยสนับสนุนการเพาะเลี้ยงได้มาก เนื่องจากการแปรรูปช่วยเพิ่มความหลากหลายของผลิตภัณฑ์และมูลค่าให้กับหอยเป่าฮื้อมากขึ้น ทำให้ผู้เพาะเลี้ยงมีช่องทางการตลาดเพิ่มมากขึ้นด้วย

การแปรรูปหอยเป่าฮื้อเป็นผลิตภัณฑ์บรรจุในรีทอร์ตแพจเป็นแนวทางการแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าแก่ผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยม เนื่องจากผลิตภัณฑ์อาหารบรรจุในรีทอร์ตแพจจัดเป็นอาหารในภาชนะบรรจุปิดสนิท ซึ่งใช้หลักการแปรรูปด้วยความร้อนสูงเช่นเดียวกับอาหารกระป๋อง และเป็นทางเลือกหนึ่งแทนการใช้กระป๋อง ซึ่งมีข้อดีหลายอย่าง เช่น ยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้นานเช่นเดียวกับอาหารกระป๋อง แต่มีน้ำหนักเบากว่า ประหยัดพื้นที่ในการจัดเก็บและขนส่ง สะดวกในการใช้งาน นอกจากนี้ยังลดเวลาในการฆ่าเชื้อจึงรักษาคุณภาพกลิ่นรสและเนื้อสัมผัสอาหารได้ดีกว่า ปัจจุบันหลายประเทศทั้งสหรัฐอเมริกาและยุโรปมีความนิยมอาหารบรรจุในรีทอร์ตแพจมากขึ้น โดยเฉพาะญี่ปุ่นจัดเป็นประเทศผู้ผลิตอาหารบรรจุรีทอร์ตแพจรายใหญ่ของโลก (งามจิตร์ โลวิฑูร, 2547) แสดงว่าตลาดให้ความสนใจและยอมรับผลิตภัณฑ์นี้มากขึ้น ทำให้ไทยในฐานะที่เป็นประเทศผู้ผลิตอาหารเพื่อการส่งออกต้องมีการปรับตัวตามไปด้วย จึงมีแนวโน้มการผลิตอาหารบรรจุในรีทอร์ตแพจในระดับอุตสาหกรรมเพิ่มมากขึ้น ทั้งเพื่อการบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออก แต่ในประเทศไทยการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์นี้มีน้อย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการแปรรูปหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตแพจให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความปลอดภัยทางจุลชีววิทยา โดยที่ยังคงรักษาคุณภาพผลิตภัณฑ์และการยอมรับของผู้บริโภคไว้ได้ ซึ่งคาดว่าจะสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการแปรรูปหอยเป่าฮื้อในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

งานวิจัยนี้ศึกษาการแปรรูปหอยเป่าฮื้อ โดยเริ่มตั้งแต่การศึกษาการจัดการและการเก็บรักษาวัตถุดิบเพื่อรักษาคุณภาพ การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของหอยเป่าฮื้อระหว่างการให้ความร้อน และการศึกษากระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนสูงที่ประกอบด้วย การศึกษาสมบัติการแทรกผ่านความร้อนของผลิตภัณฑ์เพื่อให้ได้พารามิเตอร์ที่ใช้ทำนายเวลาการฆ่าเชื้อ ศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย และศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน

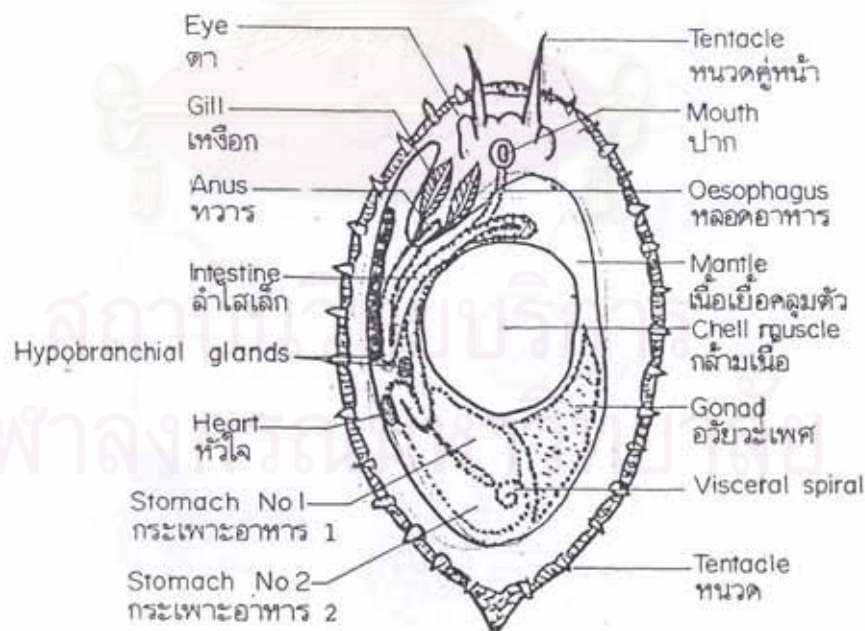
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 หอยเป้าฮื้อ

หอยเป้าฮื้อ (abalone) หอยโข่งทะเล หรือหอยร้อยรู เป็นสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลังประเภทหอยฝาเดียว ลักษณะทั่วไปของหอยเป้าฮื้อจะมีเปลือกเดี่ยวที่ค่อนข้างแบน รูปทรงค่อนข้างกลมจนถึงยาวรี เปลือกหอยมีหลายสี เช่น สีเขียวมะกอก สีแดงอมส้ม แตกต่างกันไปตามชนิดของหอย แหล่งอาศัย และอาหารที่กิน ลักษณะเด่นของหอยเป้าฮื้อ คือบริเวณเปลือกมีรูเรียงเป็นแถว จึงเป็นที่มาของชื่อ “หอยร้อยรู” ซึ่งรูเหล่านี้จะสร้างเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อหอยโตขึ้นรูเก่าจะถูกปิดไปเหลือจำนวนไว้ตามแต่ชนิดของหอย รูนี้ทำหน้าที่ช่วยถ่ายเทน้ำผ่านตัวเพื่อช่วยในการหายใจ รวมทั้งเป็นการขับถ่ายของเสีย และปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกมาสู่ภายนอก ส่วนอวัยวะภายในเป็นลักษณะของหอยโบราณ คือมีเหงือกเป็นคู่อยู่ในแอ่งด้านซ้ายของลำตัว มีเท้าและกล้ามเนื้อขนาดใหญ่ที่ใช้เป็นอาหาร มีปากและอวัยวะรับสัมผัสอยู่ส่วนหน้าของลำตัว (คเชนทรเฉลิมวัฒน์, 2544; จักรพันธุ์ กังวาฬ, 2547; อรุณี สมมณี, 2547) ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 ระบบอวัยวะภายในของหอยเป้าฮื้อ

ที่มา: พายัพ ยังปักซี่ (2541)

หอยเป้าชื่อมักอาศัยอยู่ตามแนวหินและซากปะการัง น้ำใสสะอาด มีการไหลเวียนดี มีความเค็มค่อนข้างสูงและคงที่ ไม่ชอบแสงและออกหากินในเวลากลางคืน อาหารของหอยเป้าชื่อมักเป็นสาหร่ายทะเลที่มีอยู่ในธรรมชาติ รวมทั้งสิ่งมีชีวิตเล็กๆ ที่อาศัยอยู่ตามพื้นผิวต่างๆ สิ่งมีชีวิตจำพวกพืชทะเลที่เกาะอยู่ตามก้อนหินและแนวปะการัง เช่น ไดอะตอมประเภทเกาะติด (benthic diatoms) หรือสาหร่ายขนาดเล็กที่เกาะตามโขดหินใต้น้ำ ทั้งสาหร่ายสีแดง สาหร่ายสีน้ำตาลและสาหร่ายสีเขียว (จักรพันธ์ กังวาฬ, 2547) สาหร่ายทะเลชนิดที่นิยมนำมาใช้เพาะเลี้ยงหอย ได้แก่ สาหร่ายผสมนาง สาหร่ายวุ้น หรือสาหร่ายหนาม (อรุณี สมมณี, 2547)

พบหอยเป้าชื่ออาศัยและเติบโตอยู่ทั่วโลกตั้งแต่ในเขตอบอุ่นจนถึงเขตร้อน โดยขนาดจะแตกต่างกันตามสภาพภูมิอากาศ ขนาดใหญ่มักอยู่ในเขตอบอุ่น ขนาดเล็กมักอยู่ในเขตร้อนและเขตนาวจัด หอยเป้าชื่อทั่วโลกมีประมาณ 100 ชนิด ในจำนวนนี้มีประมาณ 22 ชนิด ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่งแบ่งตามประเทศที่พบได้ดังนี้ (จักรพันธ์ กังวาฬ, 2547; พายัพ ยังกัษี, 2541; Hahn, 1989)

อเมริกาเหนือ ได้แก่ *Halotis rufescens*, *H. fulgens*, *H. corrugate*, *H. sorenseni*, *H. assimilis*, *H. cracherodii*, *H. wallalensis*, และ *H. kamtschatkana*

ญี่ปุ่น ได้แก่ *H. discus hannai*, *H. discus*, *H. diversicolor supertexta*, *H. gigantean*, *H. sieboldii*, และ *H. asinina*

ออสเตรเลีย ได้แก่ *H. rubber*, *H. laevigata* และ *H. roei*

นิวซีแลนด์ ได้แก่ *H. iris*, *H. australis*, และ *H. virginea*

ฝรั่งเศส ได้แก่ *H. tuberculata*

แอฟริกาใต้ ได้แก่ *H. midae*

หอยเป้าชื่อเมืองร้อนที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ หอยเป้าชื่อเล็ก (small abalone) (*H. diversicolor*) พบตามชายฝั่งของประเทศญี่ปุ่นและไต้หวัน เป็นชนิดที่เพาะเลี้ยงในประเทศจีนและไต้หวัน และหอยเป้าชื่อหูลา (ass's ear หรือ donkey's ear abalone) (*H. asinina*) เป็นชนิดที่ส่งเสริมให้เพาะเลี้ยงในประเทศไทย (มะลิ บุญยรัตผลิน, 2545)

หอยเป้าชื่อที่พบในประเทศไทยมี 3 ชนิด ได้แก่ *H. asinina*, *H. ovina* และ *H. varia* โดย *H. asinina* เป็นชนิดที่มีข้อมูลในเรื่องการเพาะเลี้ยงและการเจริญเติบโตมากที่สุด และมีศักยภาพในการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในประเทศไทย เนื่องจากเป็นหอยเป้าชื่อที่มีขนาดใหญ่ที่สุดที่พบในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีสัดส่วนของน้ำหนักเนื้อต่อน้ำหนักตัวสูงถึง 85% มี

อัตราการเจริญเติบโตสูง รวมทั้งยังสามารถควบคุมทุกขั้นตอนของวงจรชีวิตได้โดยการใช้ลูกพันธุ์จากโรงเพาะฟักและการเลี้ยงแบบฟาร์มบนบกในระบบน้ำหมุนเวียนแบบกึ่งปิด ซึ่งจัดเป็นระบบผลิตเชิงพาณิชย์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากไม่มีการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในระบบ จึงเป็นการเพาะเลี้ยงที่ถูกสุขลักษณะและปลอดภัยต่อผู้บริโภค (จักรพันธุ์ กังวาฬ, 2547)

การจัดอนุกรมวิธานของหอยเป่าชื่อ *H. asinina* (อรุณี สมมณี, 2547) พบว่าอยู่ใน

Phylum Mollusca

Class Gastropoda

Subclass Prosobranchia

Order Archaeogastropoda

Superfamily Pleurotomariacea

Family Haliotidae

Genus Haliotis

Species *Haliotis asinina*

ปัจจุบันการเลี้ยงหอยเป่าชื่อชนิดนี้มีความเป็นไปได้เชิงธุรกิจสูง เพราะตลาดต่างประเทศนิยมหอยขนาดไม่ใหญ่นัก โดยมีประเทศออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา และประเทศในเอเชียเป็นผู้รับซื้อก่อนนำไปแปรรูปบรรจุกระป๋องเพื่อการส่งออกอีกต่อหนึ่ง ประเทศผู้ส่งออกหอยเป่าชื่อรายใหญ่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ได้แก่ ฟิลิปปินส์ โดยมีการส่งออกหอยเป่าชื่อ *H. asinina* และ *H. varia* (ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์, 2541)

หอยเป่าชื่อของไทยที่สามารถส่งขายได้แบ่งเป็น 2 ขนาด คือ ขนาดค็อกเทล (cocktail size) น้ำหนัก 30-40 กรัมต่อตัว หรือ 20-30 ตัวต่อกิโลกรัม ใช้ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 8-12 เดือน และขนาดสเต็ก (steak size) น้ำหนัก 100 กรัมต่อตัว หรือ 10 ตัวต่อกิโลกรัม ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 18-24 เดือน (จักรพันธุ์ กังวาฬ, 2547) สำหรับประเทศไทยหอยเป่าชื่อขนาดค็อกเทล ราคาต่อกิโลกรัมละประมาณ 1,000-1,500 บาท (สมปอง วิชญวิเชียร, 2542) ราคาขายส่งหอยเป่าชื่อคุณภาพดีที่สุดในประเทศเม็กซิโกสูงถึง 40-45 เหรียญสหรัฐอเมริกาต่อปอนด์ และราคาขายปลีกยังสูงถึง 80 เหรียญสหรัฐอเมริกาต่อปอนด์ (Sanchez-Brambila และคณะ, 2002a) ในตลาดสหรัฐอเมริกาเนื้อหอยเป่าชื่อพันธุ์ที่นิยมบริโภคมากที่สุดมีราคา 1,000-1,600 บาทต่อกิโลกรัม มูลค่าการบริโภคต่อปีประมาณ 750 ล้านบาท แต่อย่างไรก็ตามตลาดผู้บริโภคที่ใหญ่ที่สุดอยู่ในเอเชีย คิดเป็นมูลค่าการบริโภคประมาณ 7,500-10,000 ล้านบาทต่อปี โดยมีญี่ปุ่นเป็นตลาดที่

สำคัญ (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2544) ญี่ปุ่นนำเข้าและส่งออกหอยเป่าฮื้อในระดับอุตสาหกรรม โดยนำเข้าในรูปหอยสด หอยแช่แข็ง และหอยแช่เย็น จากประเทศจีน เกาหลี และนิวซีแลนด์เป็นจำนวนมากถึง 1,000 ตันต่อปี และนำเข้าหอยเป่าฮื้อบรรจุกระป๋องจากประเทศออสเตรเลียประมาณ 700-800 ตันต่อปี นอกจากการนำเข้าแล้วญี่ปุ่นยังส่งออกหอยเป่าฮื้อแห้งไปยังฮ่องกงและไต้หวันปีละหลายสิบล้าน (พายัพ ยังปักชี, 2541)

ในหลายประเทศทั่วโลก และเป็นโรคที่เกิดจากสารพิษจากอาหารทะเลที่พบมากที่สุด (Lehane และ Olley, 2000) โรคอาหารเป็นพิษนี้ไม่เพียงแต่ก่อปัญหาในกลุ่มผู้บริโภคปลาหรืออาหารทะเลสดเท่านั้น ยังรวมถึงผู้บริโภคอาหารที่ผ่านการแปรรูปด้วย เช่น อาหารกระป๋อง อาหารรมควัน เป็นต้น เนื่องจากฮิสตามีนมีความคงตัวสูงและไม่สามารถทำลายด้วยความร้อนจากการหุงต้มหรือการแปรรูปด้วยความร้อนสูง (retorting) (Bremer, Fletcher, และ Osborne, 2003)

เกณฑ์กำหนดมาตรฐานปริมาณฮิสตามีนสูงสุดที่อนุญาตให้มีได้ในปลาหรืออาหารทะเลในประเทศนิวซีแลนด์และออสเตรเลียใช้มาตรฐาน The Australian New Zealand Food Standard Code ซึ่งกำหนดปริมาณฮิสตามีนในปลาและผลิตภัณฑ์ต้องไม่เกิน 200 mg/kg ในทางการค้าระหว่างประเทศใช้มาตรฐาน The United State Food and Drug Administration (USFDA) กำหนดปริมาณฮิสตามีนเป็น 2 ระดับ คือ กำหนดระดับการยอมรับปริมาณฮิสตามีนในปลาและผลิตภัณฑ์ต้องไม่เกิน 50 mg/kg และ 200 mg/kg เป็นระดับที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภค และ The Codex Alimentarius Standard กำหนดว่าปริมาณฮิสตามีนในปลาที่อยู่ในแฟมิลี Scombridae, Scomberesocidae, Pomatomidae, Clupeidae, และ Coryphaenidae ที่ 100 mg/kg เป็นระดับที่บ่งชี้ถึงการเน่าเสียของปลา (Bremer และคณะ, 2003) นอกจากนี้ The European Community กำหนดให้ปลาที่นำเข้าจะต้องมีปริมาณฮิสตามีนไม่เกิน 100 mg/kg (Bermejo และ Mondaca, 2002)

2.2.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดฮิสตามีน

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเกิดฮิสตามีนในอาหารทะเล ได้แก่ ปริมาณกรดอะมิโนฮิสติดีนในกล้ามเนื้อ แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลส (histidine decarboxylase producing Bacteria) และอุณหภูมิการเก็บรักษา

2.2.1 ปริมาณกรดอะมิโนฮิสติดีนในกล้ามเนื้อ

กรดอะมิโนฮิสติดีนเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการสร้างฮิสตามีน ปริมาณฮิสติดีนที่เป็นองค์ประกอบในอาหารทะเลแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ปลาที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ histamine fish poisoning ส่วนใหญ่มีปริมาณฮิสติดีนในกล้ามเนื้อสูง ได้แก่ ปลาในกลุ่ม scombroid ได้แก่ ปลาในแฟมิลี Scombridae และ Scomberesocidae เช่น mackerel, tuna, saury, bonito เป็นต้น และปลาที่ไม่อยู่ในกลุ่ม scombroid เช่น sardine, herring, salmon, amberjack, anchovies เป็นต้น (Lehane และ Olley, 2000)

Arnold และ Brown (1978) รายงานว่าปลา mackerel ที่มีเนื้อสีคล้ำ (dark-fleshed mackerel) และ horse mackerel มีปริมาณฮิสติดีนในเนื้อ 210-726 mg/100g

ส่วน Yoshinaga และ Frank (1982) พบว่าเนื้อปลา skipjack tuna มีกรดอะมิโนฮิสติดีนเป็นองค์ประกอบ 564-611 mg/100g นอกจากนี้ Flesher และคณะ (1995) รายงานว่าปลาที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ histamine fish poisoning ในประเทศนิวซีแลนด์ ได้แก่ ปลา kahawai, kingfish, และ albacore มีปริมาณกรดอะมิโนฮิสติดีนเป็นองค์ประกอบสูงกว่า 1000 mg/100g ตรงกันข้ามกับปลาที่ไม่พบว่าเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษนี้ เช่น ปลา sea perch, flounder, และ red snapper มีปริมาณกรดอะมิโนฮิสติดีนต่ำกว่า 5 mg/100g (Arnold and Brown, 1978)

2.2.2.2 แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลส

แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสมักเป็นแบคทีเรียพวก mesophile ที่สำคัญ ได้แก่ แบคทีเรียในแฟมิลี Enterobacteriaceae (Taylor และคณะ, 1978) เช่น *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, และ *Klebsiella oxytoca* เป็นแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสที่มีกิจกรรมสูงมาก สามารถสร้างฮิสตามีนได้มากกว่า 300 mg/100g เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อและบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ส่วน *Hafnia alvei*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, และ *Serratia marcescens* สร้างฮิสตามีนได้มากกว่า 100 mg/100g (Lopez-Sabater et al., 1996)

McMeekin และคณะ (1993) รายงานว่าแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสสามารถเจริญได้ทั้งที่ในอุณหภูมิการแปรรูปและที่อุณหภูมิการเก็บรักษา โดยพบว่า *Photobacterium phosphoreum* เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 10°C-15°C ส่วนแบคทีเรียพวก *Vibrio* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25°C-30°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิห้องและอุณหภูมิที่ใช้ในการรมควันแบบเย็น (cold smoking) ในประเทศเขตอบอุ่น แต่ในประเทศเขตร้อนจะพบ *M. morganii*, *K. pneumoniae*, และ *H. alvei* ซึ่งเจริญได้ดีที่ 35°C-40°C แม้กระทั่งอุณหภูมิที่ใช้รมควันแบบร้อน (hot smoking) (50°C-55°C) ก็พบแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสด้วย

โดยปกติแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสมักพบได้ทั่วไปในวัตถุดิบและสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิตหรือการเก็บรักษา และส่วนใหญ่ปนเปื้อนมาหลังการจับสัตว์ เช่น การปนเปื้อนจากเรือประมง จากขั้นตอนเตรียมวัตถุดิบหรือระหว่างกระบวนการแปรรูป จากระบบการขนส่งหรือกระจายสินค้า เป็นต้น (Bremer และคณะ, 2003) โดยจากการศึกษาของ Taylor และ Speckhard (1983) ซึ่งได้ตรวจสอบแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสจากส่วนเหงือก ลำไส้ และเนื้อของปลา skipjack tuna พบ *M. morganii* และ *C. freundii* เฉพาะในส่วนเหงือกของปลาเท่านั้น ซึ่งโดยปกติไม่พบแบคทีเรียดังกล่าวในปลาชนิดนี้ จึงสันนิษฐานว่าเป็นแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมาจากภายนอก เนื่องจากเหงือกของปลามักเป็นบริเวณที่

ถูกสัมผัสมากในขั้นตอนการเคลื่อนย้ายและขนส่ง Subburaj และคณะ (1984) พบว่าแหล่งการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสในตลาดปลากระจายทั่วไปในสภาพแวดล้อมของตลาด ทั้งจากตะกร้าใส่ปลา พื้นของตลาด น้ำแข็งหรือน้ำที่ใช้แช่ปลา และเมื่อตรวจสอบแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์นี้ในตัวอย่างปลา mackerel ที่มาจากตลาด พบแบคทีเรียพวก *Morganella* สูงถึง 52% ของปริมาณแบคทีเรียที่พบทั้งหมด

Lopez-Sabater และคณะ (1994) พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสในเนื้อปลาทูน่าที่ใช้ทำปลาทูน่ากระป๋องในระหว่างขั้นตอนการตัดแต่งวัตถุดิบ ซึ่งอาจปนเปื้อนจากมีดหรืออุปกรณ์ที่ใช้ หรือจากสภาพแวดล้อมในการผลิต และยังพบการปนเปื้อนในวัตถุดิบที่ลวกแล้วด้วย ซึ่งอาจเกิดจากความล่าช้าในระหว่างรอเข้าสู่ขั้นตอนต่อไปและปลาทูน่าถูกทิ้งไว้ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการฟื้นตัวของแบคทีเรีย รวมถึงอาจเกิดการปนเปื้อนซ้ำจากสภาพแวดล้อมในการผลิตด้วย

2.2.2.3 อุณหภูมิการเก็บรักษา

อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลส ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียประเภท mesophile สามารถเจริญและสร้างฮิสตามีนได้อย่างรวดเร็วในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง เช่น อุณหภูมิห้อง เป็นต้น และสร้างฮิสตามีนได้มากกว่าที่อุณหภูมิต่ำกว่า เช่น อุณหภูมิตู้เย็น เป็นต้น (Price และ Tom, 2004)

Du และคณะ (2002) รายงานว่าเมื่อเก็บเนื้อปลา yellowfin tuna ที่อุณหภูมิ 0°C เป็นเวลา 9 วัน พบปริมาณฮิสตามีนที่เกิดขึ้นน้อยกว่า 20 mg/kg แม้ปริมาณแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสสูงถึง 6 log cfu/g ในขณะที่การเก็บที่ 10°C และ 22°C ปริมาณแบคทีเรียเพียง 2-3 log cfu/g สามารถสร้างฮิสตามีนได้มากกว่า 50 mg/kg อาจเนื่องจากเป็นแบคทีเรียต่างชนิดกัน โดยแบคทีเรียพวกที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 22°C สามารถสร้างเอนไซม์ที่มีกิจกรรมสูงกว่าแบคทีเรียพวกที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำกว่า สอดคล้องกับรายงานของ Lopez-Sabater และคณะ (1996) ที่พบว่าในการเก็บรักษาปลาทูน่าที่อุณหภูมิ 0°C แม้จะพบ *M. morganii* หรือ *K. oxytoca* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างฮิสตามีนได้ดีถึง 5 log cfu/g แต่ปริมาณฮิสตามีนที่เกิดขึ้นยังต่ำกว่าระดับที่เป็นอันตราย เนื่องจากที่อุณหภูมินี้ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียดังกล่าว และไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลส ทำให้เอนไซม์มี activity ต่ำ จึงสร้างฮิสตามีนได้ในปริมาณน้อย

Kim และคณะ (2002) พบว่าการเก็บรักษาปลา mackerel, albacore, mahi-mahi, และ salmon ที่อุณหภูมิ -20°C และ -30°C สามารถควบคุมการเกิดฮิสตามีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ แม้ระยะเวลาเก็บรักษานานถึง 3 เดือน แต่ปริมาณฮิสตามีนอาจเพิ่มขึ้นได้

จากการจัดการที่ไม่เหมาะสมก่อนและ/หรือหลังการเก็บรักษา และเมื่อละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 25°C พบว่าปริมาณฮิสตามีนเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *M. organii* และหลังจาก 24 ชั่วโมง พบปริมาณฮิสตามีนในปลา mackerel, albacore, และ mahi-mahi สูงถึง 4610, 3430, และ 3340 mg/ kg ตามลำดับ

2.2.2 การควบคุมและป้องกันการเกิดฮิสตามีน

ฮิสตามีนมีความคงตัวสูงและไม่สามารถทำลายด้วยกระบวนการแปรรูปใดๆ การป้องกันให้มีฮิสตามีนเกิดขึ้นน้อยที่สุด จึงเป็นวิธีที่ดีที่สุดที่ช่วยป้องกันปัญหาที่เกิดจากฮิสตามีนได้ การควบคุมการผลิตให้มีการจัดการและสุขาภิบาลที่ดี รวมถึงการประยุกต์ใช้ระบบการวิเคราะห์จุดวิกฤติที่ต้องควบคุม (HACCP) ในกระบวนการผลิต สามารถช่วยลดปัญหานี้ได้ (Bremer และคณะ, 2003)

The Food and Drug Administration (FDA) แนะนำแนวทางปฏิบัติเพื่อป้องกันการเกิดฮิสตามีน โดยการทำให้เย็นอย่างรวดเร็วหลังการจับถือเป็นหลักสำคัญที่ช่วยควบคุมการเจริญของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสได้ โดยทั่วไปควรลดอุณหภูมิปลาให้เย็นถึง 4°C หรือต่ำกว่า ภายใน 6-12 ชั่วโมง หลังการจับหรือหลังจากปลาตาย และควรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C หรือต่ำกว่าด้วย นอกจากนี้การเอาเครื่องในออก (evisceration) เป็นวิธีที่ดีสำหรับปลาที่มีขนาดใหญ่ เพื่อกำจัดแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสบางส่วนที่อาศัยอยู่ในลำไส้ และในการลดอุณหภูมิควรใส่น้ำแข็งหรือน้ำเย็นลงในช่องท้องที่เอาเครื่องในออกด้วยจะช่วยลดอุณหภูมิในตัวปลาได้เร็วขึ้น แต่ในการเอาเครื่องในออกควรทำด้วยความระมัดระวังเพื่อไม่ให้แบคทีเรียจากลำไส้ปนเปื้อนสู่ตัวปลาได้ (Price และ Tom, 2004)

2.3 รีทอร์ตเพาซ์ (retort pouch)

รีทอร์ตเพาซ์เป็นบรรจุภัณฑ์ชนิดอ่อนตัว (flexible packaging) ประกอบด้วยวัสดุ เช่น พลาสติก อลูมิเนียม และวัสดุเชื่อมประสานตั้งแต่ 4 ชั้นขึ้นไป ใช้สำหรับบรรจุอาหารทนต่อความร้อนและความดันที่ใช้ในการฆ่าเชื้อได้เช่นเดียวกับกระป๋องและขวดแก้ว สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นานตั้งแต่ 6 เดือน ถึง 2 ปี (งามจิตร โลวิฑูร, 2547)

ในประเทศสหรัฐอเมริกามีการวิจัยบรรจุภัณฑ์รีทอร์ตเพาซ์มาตั้งแต่ปี 1950 ต่อมาในปี 1960 ได้พัฒนาบรรจุภัณฑ์นี้เพื่อใช้ในโครงการอวกาศพอลโดและเป็นเสบียงของทหารในกองทัพสหรัฐอเมริกาจนประสบความสำเร็จแต่ยังไม่เป็นที่แพร่หลายทางการค้า และในปี 1974 ประเทศญี่ปุ่นได้เริ่มพัฒนาบรรจุภัณฑ์ประเภทนี้และได้รับความนิยมเป็นอย่างมากจนจัด

ได้ว่าเป็นผู้ผลิตอาหารบรรจุในรีทอร์ตเพาซ์รายใหญ่ที่สุดของโลกในปัจจุบัน (งามจิตร โลวิฑูร, 2547)

วัสดุที่ใช้ทำรีทอร์ตเพาซ์โดยทั่วไปเป็นพลาสติก 3 ชั้น เชื่อมประสานกัน (lamination) หรือรีดรวมกัน (coextrusion) โดยตัวเชื่อมประสาน (sealant) ที่ใช้มักเป็น โคลิโพลิเมอร์ของโพลิโพรพีนและเอทรีลีน คุณสมบัติของพลาสติกชั้นนอกจะเป็นชั้นที่เหนียวทนต่อการขีดข่วน ชั้นกลางเป็นชั้นที่ป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจน แสงสว่าง และความชื้น และชั้นในสุดเป็นชั้นที่มีสมบัติปิดผนึกด้วยความร้อนได้และสามารถสัมผัสอาหารได้อย่างปลอดภัย รีทอร์ตเพาซ์ที่นิยมใช้บรรจุอาหารโดยทั่วไป ได้แก่ PET12/Al7/PP70, PET12/Al7/NY15/PP70, และ PET12/NY15/PP70 (PET : Polyester, Al : Aluminium foil, PP : Cast Polypropylene, ตัวเลขแสดงความหนาเป็นหน่วยเป็นไมครอน) (งามจิตร โลวิฑูร, 2547)

รีทอร์ตเพาซ์แบ่งตามประเภทและรูปแบบต่างๆ ได้แก่ ประเภทใส (transparent type) ซึ่งสามารถมองเห็นผลิตภัณฑ์ภายในถุงได้หรือแบบทึบแสงที่มีชั้นของอลูมิเนียม (aluminium type) มีทั้งรูปแบบที่เป็นถุงสี่เหลี่ยมปิดผนึกทั้ง 4 ด้าน หรือแบบที่มีส่วนขยายก้นถุง (gusset) เพื่อให้ถุงสามารถตั้งได้ (standing pouch) ในประเทศญี่ปุ่นนิยมใช้ถุง PET/Al/PP มากที่สุด นอกจากนี้ยังมีการใช้ถุง NY/PP เป็นถุงใสบรรจุข้าวสาร ส่วน PET/NY/Al/PP เป็นถุงที่มีโครงสร้างแข็งแรงที่สุดและแข็งแรงมากกว่า PET/Al/PP และ PET/Al/NY/PP จึงนิยมใช้ทำถุงแบบตั้งได้และทำถุงบรรจุขนาดใหญ่ (วราทิพย์ สมบุญญฤทธิ, 2542)

รีทอร์ตเพาซ์มีข้อดีหลายอย่าง เช่น ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้นาน เช่นเดียวกับอาหารกระป๋อง แต่มีน้ำหนักเบากว่า ประหยัดพื้นที่ในการจัดเก็บและขนส่ง สะดวกในการใช้งาน นอกจากนี้ยังช่วยลดเวลาในการฆ่าเชื้อจึงรักษาคุณภาพอาหารและคุณค่าทางอาหารได้ดีกว่าด้วย (งามจิตร โลวิฑูร, 2547) จากรายงานของ Chia, Baker, และ Hotchkiss (1983) พบว่า เวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ปลา rainbow trout ปลา pollock และกุ้งบรรจุรีทอร์ตเพาซ์สั้นกว่าผลิตภัณฑ์บรรจุกระป๋อง 34% 32% และ 37% ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์บรรจุรีทอร์ตเพาซ์สามารถรักษาปริมาณวิตามินบี 1 ไว้ได้สูงกว่า มีคุณภาพเนื้อสัมผัสและสีดีกว่า และได้รับคะแนนความชอบสูงกว่าผลิตภัณฑ์บรรจุกระป๋อง เนื่องจากใช้เวลาการให้ความร้อนสั้นกว่า สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Mohan และคณะ (2006) ที่พบว่าผลิตภัณฑ์แกงกะหรี่กุ้ง (kuruma shrimp) บรรจุรีทอร์ตเพาซ์ใช้เวลาฆ่าเชื้อสั้นกว่าผลิตภัณฑ์บรรจุกระป๋องถึง 35% เมื่อกำหนดภาวะการฆ่าเชื้อให้ได้ F_0 เท่ากัน ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณ cooking loss ต่ำกว่าผลิตภัณฑ์บรรจุกระป๋องถึง 5% และทำให้คุณภาพด้านสี เนื้อสัมผัส และการยอมรับทางประสาทสัมผัสดีกว่าด้วย

2.4 การฆ่าเชื้ออาหารบรรจุในบรรจุภัณฑ์อเนกประสงค์

ผลิตภัณฑ์อาหารกระป๋องหรือบรรจุภัณฑ์อเนกประสงค์หมายถึงผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูปบรรจุในภาชนะบรรจุปิดสนิท ไม่มีอากาศผ่านเข้าออก ผ่านการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อนก่อนหรือหลังการบรรจุและปิดผนึกด้วยอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม

จุดมุ่งหมายของการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน คือ เพื่อให้ทำให้อาหารนั้นอยู่ในสภาพปลอดเชื้อเชิงการค้า (commercial sterilization) ซึ่งหมายถึงทำให้อาหารปราศจากจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคโดยเฉพาะ *Clostridium botulinum* และต้องไม่มีจุลินทรีย์ชนิดที่ทำให้อาหารเน่าเสียเหลืออยู่ในอาหาร ส่วนจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่นั้นต้องไม่สามารถเจริญได้ภายใต้ภาวะการเก็บรักษาปกติ ในขณะเดียวกันยังคงรักษาคุณลักษณะที่ดีและคงคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ไว้ได้ จึงทำให้เก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารไว้ได้นานโดยไม่เน่าเสียที่อุณหภูมิการเก็บรักษาปกติ (ปริยาวิบูลย์ศาสตร์, 2538)

การให้ความร้อนเพื่อทำลายจุลินทรีย์และสปอร์ในผลิตภัณฑ์อาหารที่บรรจุในภาชนะบรรจุปิดสนิท พบว่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของอาหารมีผลโดยตรงต่อกระบวนการให้ความร้อนและความสามารถในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยในการผลิตอาหารสำเร็จรูปบรรจุในภาชนะปิดสนิท โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์อาหารที่มีความเป็นกรดต่างสูงกว่า 4.6 มักคำนึงถึงจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคโดยเฉพาะ *C. botulinum* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตและสร้างสารพิษที่เป็นอันตรายในภาวะที่ไม่มีอากาศ ทนความร้อนสูงและใช้เป็นดัชนีบ่งชี้การฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ไม่เพียงพอ แต่สปอร์ของจุลินทรีย์นี้ไม่สามารถเจริญในอาหารที่มีความเป็นกรดต่างต่ำกว่า 4.6 ดังนั้นระดับค่าความเป็นกรดต่างที่ 4.6 จึงนำมาใช้เป็นแนวทางในการกำหนดกรรมวิธีการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์อาหาร โดยทั่วไปการฆ่าเชื้อเชิงการค้าในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทกรดต่ำ มีค่าความเป็นกรดต่างสูงกว่า 4.6 และค่า water activity (a_w) มากกว่า 0.85 มักใช้การฆ่าเชื้อแบบสเตอริไลซ์ (sterilization) ซึ่งเป็นการทำลายจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารที่อุณหภูมิสูงกว่า 100°C ภายใต้ความดันไอน้ำหรืออุณหภูมิน้ำร้อนภายใต้ความดันสูง

การให้ความร้อนเพื่อทำลายจุลินทรีย์และสปอร์ในผลิตภัณฑ์อาหารที่อุณหภูมิสูงในระยะเวลาที่เหมาะสม จะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ในอาหาร ลักษณะและสมบัติของอาหารที่มีผลต่ออัตราการแทรกผ่านความร้อนเข้าไปยังจุดร้อนช้าที่สุดของอาหาร โดยคำนึงถึงการรักษาสสมบัติและลักษณะที่ดีของอาหารเพื่อให้ผู้บริโภคยอมรับ

2.4.1 การกำหนดภาวะในการฆ่าเชื้อ

ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการศึกษาและกำหนดกรรมวิธีการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารบรรจุในภาชนะปิดสนิทเพื่อให้มั่นใจว่าผลิตภัณฑ์นั้นได้รับการฆ่าเชื้อเชิงการค้าอย่างเพียงพอได้แก่

- สมบัติการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์
- อัตราการแทรกผ่านความร้อนไปยังจุดร้อนช้าที่สุด
- องค์ประกอบ คุณสมบัติและคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหาร

2.4.1.1 สมบัติการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์

การต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์และสปอร์ในอาหารขึ้นกับความเป็นกรดต่างของอาหาร จุลินทรีย์มักมีความต้านทานความร้อนสูงสุดในภาวะเป็นกลางและถูกทำลายด้วยความร้อนได้ง่ายในภาวะที่เป็นกรด ($\text{pH} < 4.6$)

การต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์จะแสดงด้วยกราฟข้อมูลเวลาของการทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อนเรียกว่า Thermal Death Time (TDT curve) หรือ Decimal Reduction Time (D-value) ซึ่งหมายถึงระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายจุลินทรีย์ไป 90 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนเริ่มต้นที่อุณหภูมิหนึ่งๆ จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีค่า D แตกต่างกัน ค่า D ยิ่งสูงบ่งบอกถึงความต้านทานต่อความร้อนมากขึ้น (วิวัฒน์ ปฐมโยธิน, 2542) ดังนั้นในการกำหนดความร้อนในการฆ่าเชื้อจึงจำเป็นต้องเลือกเอาจากจุลินทรีย์ที่ทนความร้อนสูงสุดที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์อาหารนั้นและจากสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิต (ทิพาพร อยู่วิทยา, 2535)

ค่า z คือ จำนวนองศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$) หรือองศาฟาเรนไฮต์ ($^{\circ}\text{F}$) ที่ทำให้ค่า D เปลี่ยนแปลงไป 1 log cycle หรืออุณหภูมิที่ทำให้อัตราการตายเปลี่ยนไป 10 เท่า

ค่า F (sterilizing value) เป็นค่าเวลาในการทำลายจุลินทรีย์จำนวนหนึ่งที่อุณหภูมิที่กำหนด ค่า F นี้จะใช้เปรียบเทียบการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ โดยมีการกำหนดค่า z สำหรับจุลินทรีย์เฉพาะและอุณหภูมิที่อ้างอิงไว้ เช่น F_{16}^{250} แสดงเวลาเป็นนาทีที่ใช้ทำลายจุลินทรีย์ที่มีค่า $Z = 16^{\circ}\text{F}$ จำนวนหนึ่งที่อุณหภูมิ 250°C แต่ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการทำลายจุลินทรีย์ต้องเปรียบเทียบที่สภาวะเดียวกัน จึงมีการกำหนดค่า F_0 เป็นค่าแสดงเวลาเป็นนาทีที่ใช้ทำลายจุลินทรีย์ที่มีค่า $Z = 18^{\circ}\text{F}$ หรือ 10°C จำนวนหนึ่งที่อุณหภูมิ 250°F หรือ 121.1°C

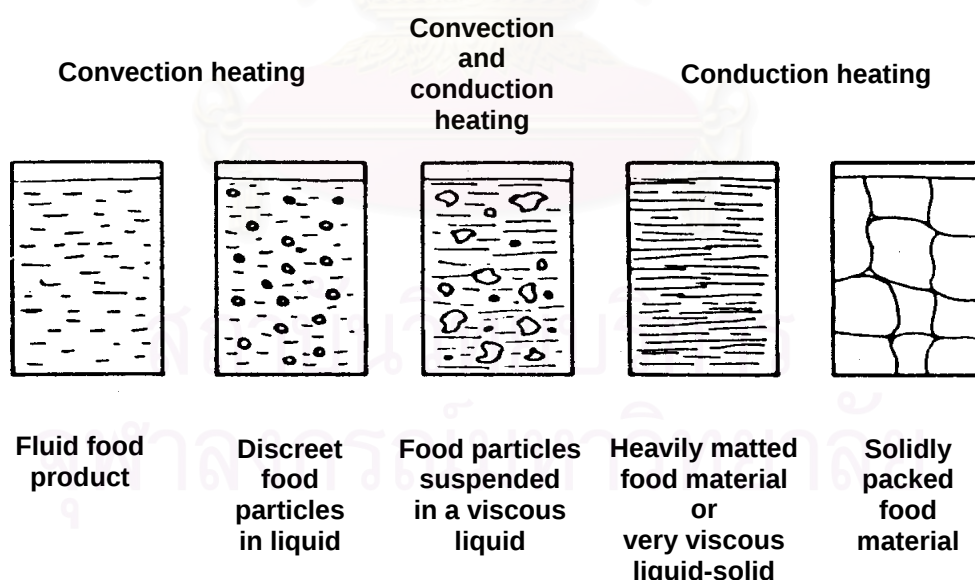
การกำหนดอุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนเป็นสิ่งสำคัญมากสำหรับอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ ($\text{pH} > 4.6$) เพราะเกี่ยวข้องกับความปลอดภัยของผู้บริโภคในการฆ่าเชื้อเชิงการค้าแก่อาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ ต้องให้ความร้อนเพียงพอที่จะทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายและสร้างพิษร้ายแรง ได้แก่ *Clostridium botulinum* โดยกำหนดให้มีค่า

process lethality (F_0) ไม่น้อยกว่า 3 นาที ปกติค่า F_0 ที่แนะนำมักสูงกว่าที่จำเป็นในการทำลายจุลินทรีย์จำนวนที่กำหนดเพื่อป้องกันความแปรปรวนของกระบวนการฆ่าเชื้อ (ทิพาพร อวยวิทยา, 2535)

2.4.1.2 อัตราการแทรกผ่านความร้อนไปยังจุดร้อนช้าที่สุด

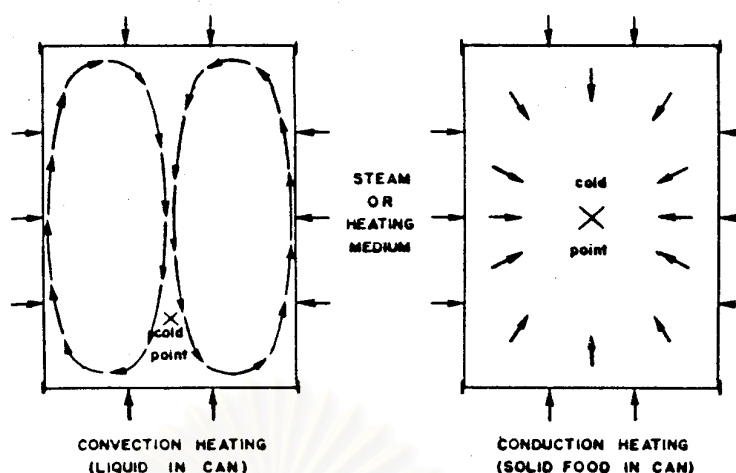
ในการกำหนดการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ในภาชนะปิดสนิทต้องศึกษาข้อมูลอัตราการแทรกผ่านความร้อนเข้าสู่จุดร้อนช้าที่สุดของผลิตภัณฑ์ ขณะที่อาหารได้รับการถ่ายเทความร้อนในระหว่างการฆ่าเชื้อจะมีลักษณะการถ่ายเทความร้อน 3 แบบ ซึ่งขึ้นอยู่กับสมบัติทางกายภาพของอาหาร คือ การนำ (conductive heating) การพา (convective heating) และถ่ายเทความร้อนแบบผสม (complex heating) ดังแสดงในรูปที่ 2.3 จุดที่ได้รับความร้อนช้าที่สุดของอาหารในภาชนะบรรจุเรียกว่า cold point นั้นจะขึ้นกับลักษณะการถ่ายเทความร้อนที่เกิดขึ้นว่าเป็นการนำหรือการพา ดังแสดงในรูปที่ 2.4

ในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์เชิงการค้าจึงใช้จุดร้อนช้าที่สุดเป็นจุดอ้างอิงเนื่องจากถ้าจุดที่ได้รับความร้อนช้าที่สุดได้รับความร้อนเพียงพอในเชิงการค้าแสดงว่าจุดอื่นๆ ย่อมได้รับความร้อนมากกว่าจุดดังกล่าวและผ่านการฆ่าเชื้อเชิงการค้าเช่นกัน



รูปที่ 2.3 ลักษณะการถ่ายเทความร้อนในอาหาร

ที่มา: รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต (2535)



รูปที่ 2.4 จุด cold point ในอาหารที่มีการถ่ายเทความร้อนแบบการพาและการนำความร้อน
ที่มา: รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต (2535)

2.4.1.3 องค์ประกอบ สมบัติและลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหาร

องค์ประกอบ สมบัติและลักษณะของอาหารเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่ง ซึ่งอาจมีผลต่ออัตราการแทรกผ่านความร้อนและการทำลายจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหาร (วิวัฒน์ ปฐมโยธิน, 2542) ได้แก่

- วัตถุดิบ เช่น ขนาดชิ้นอาหาร ความหนาแน่นของการบรรจุ ความอ่อนแอของวัตถุดิบความชื้นเหนียวของอาหาร ปริมาณแบ่งในวัตถุดิบ ปริมาณสารละลาย เกลือ น้ำตาล น้ำมัน ไขมันและ คุณภาพของวัตถุดิบ เป็นต้น

- การเตรียมวัตถุดิบ เช่น การลวก การตัดแต่งวัตถุดิบ เป็นต้น

- การบรรจุ เช่น อัตราส่วนของของแข็งต่อของเหลวที่บรรจุ น้ำหนักบรรจุ

การเรียงตัวของอาหารในบรรจุภัณฑ์ และ ช่องว่างเหนืออาหาร เป็นต้น

- ความล่าช้าหลังการบรรจุหรือหลังการปิดผนึก

- ชนิด รูปร่าง และขนาดของบรรจุภัณฑ์

- กรรมวิธีการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ เช่น ตำแหน่งและลักษณะการจัดวางผลิตภัณฑ์อาหารในเครื่องฆ่าเชื้อ อุณหภูมิของเครื่องฆ่าเชื้อ อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหาร เป็นต้น และการเคลื่อนที่ของผลิตภัณฑ์อาหารในเครื่องฆ่าเชื้อ เช่น การหมุนกระป๋องในแกนนอนหรือในแกนตั้งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการพาความร้อนเข้าสู่อาหารได้ เป็นต้น

2.4.2 การเตรียมวัตถุดิบและการรักษาคุณภาพวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ สัตว์น้ำบรรจุกระป๋องหรือในภาชนะปิดสนิท

ภาวะที่ใช้ในการฆ่าเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์อาหารต้องใช้ความร้อนสูงมีผลทำให้คุณลักษณะและคุณค่าอาหารเปลี่ยนแปลงไป การเตรียมวัตถุดิบก่อนเข้าสู่กระบวนการแปรรูปต่อไปจะช่วยปรับปรุงคุณภาพหรือรักษาคุณภาพวัตถุดิบให้มีความสม่ำเสมอ การลดช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนผิวอาหาร และยังเป็นการไล่อากาศที่มีในช่องว่างระหว่างเซลล์ทำให้เกิดสุญญากาศในกระป๋องได้ง่ายขึ้น รวมถึงทำให้สี กลิ่นรส และเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ดีขึ้น (วิไล รังสาดทอง, 2546)

การสูญเสียรสนอกจากทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพและเคมีของเนื้อสัตว์แล้ว อาจมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคด้วย ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีการใช้สารประกอบโพลีฟอสเฟต (polyphosphate) อย่างแพร่หลายเพื่อช่วยปรับปรุงความสามารถในการจับน้ำ (water binding) เนื้อสัมผัส สี และกลิ่นรส รวมถึงป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ (Sofos, 1986; Dziezak, 1990) ในอุตสาหกรรมอาหารทะเลนิยมใช้โซเดียมไตรฟอสเฟตมากที่สุด จุดประสงค์หลักในการใช้สารประกอบฟอสเฟต คือช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อเยื่อ โดยทำให้ pH และ ionic strength เพิ่มขึ้น และจับกับโปรตีนที่มีแมกนีเซียมและแคลเซียมจับอยู่ ทำให้ actomyosin แยกออกมาได้ จึงช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสและเพิ่มช่องว่างในโครงสร้างของไมโอไฟบริลให้จับน้ำได้ดีขึ้น (สุทนต์ วัฒน เบญจกุล, 2536; Li และคณะ, 1993) และเนื่องจากอาหารประเภทหอย กุ้ง ปู และปลาต่างๆ มีโลหะเป็นส่วนประกอบอยู่ค่อนข้างสูง เช่น เหล็ก ทองแดง เป็นต้น ในระหว่างการแปรรูปหรือระหว่างเก็บรักษา โลหะเหล่านี้มักรวมตัวกับสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ เป็นสาเหตุให้สี กลิ่น และรสของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป เช่น การเกิดผลึก struvite ในผลิตภัณฑ์ การเกิดจุดสีดำ (melanosis) ในระหว่างการเก็บกุ้งในน้ำแข็ง การเกิดสีน้ำเงิน (blue discoloration) ที่เกิดขึ้นในระหว่างการแปรรูปด้วยความร้อน เป็นต้น (ศิวพร ศิวเวช, 2535) นอกจากนี้โลหะยังเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (Maillard reaction) ในอาหารด้วย (นิธิยา รัตนานนท์, 2545) จึงมีการแก้ปัญหาดังกล่าวด้วยการใช้สารจับโลหะ (sequestrant) ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรม ได้แก่ กรดไฮดรอกซีคาร์บอกซิลิก (hydroxycarboxylic acids) กรดโพลีฟอสฟอริก (polyphosphoric acid) กรดอะมิโนบางชนิด เป็นต้น โดยสารนี้จะทำปฏิกิริยากับโลหะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (ศิวพร ศิวเวช, 2535) ในอุตสาหกรรมแช่แข็งเนื้อหอย Japanese cockle มักลวกเนื้อหอยที่อุณหภูมิ 85°C นาน 15 วินาที ในน้ำที่มีกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.15% ก่อนนำไปแช่แข็ง ซึ่งช่วยรักษาคุณภาพสีและเนื้อสัมผัสไว้ได้ดีกว่าเนื้อหอยที่ไม่ผ่านขั้นตอนดังกล่าว (Yoneda และคณะ, 2002)

สมพงษ์ คูประมงอารักษ์ (2534) ปรับปรุงคุณภาพสีเนื้อปูบรรจุกระป๋องโดยไม่ใช้เอทิลีนไดอะมีนเตตราอะซีเตต (EDTA) และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยใช้ไกลซีนความเข้มข้น 0.5% หรือโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตความเข้มข้น 0.2% ต้มปูที่ผ่านการแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0.1% และกรดซิตริกความเข้มข้น 0.15% เป็นเวลา 10 นาที ก่อนบรรจุกระป๋อง และส่วนที่เป็นน้ำบรรจุกระป๋องมีโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต 0.2% หรือไกลซีน 0.3% และกรดซิตริก 0.25% เป็นองค์ประกอบ ช่วยปรับปรุงคุณภาพสีและเนื้อสัมผัสให้เป็นที่ยอมรับได้ดี

Kolodziejska, Sikorski, และ Sadowska (1987) รายงานว่าการแช่เนื้อปลาหมึกในสารละลายผสมโซลิฟอสเฟตความเข้มข้น 2% ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ก่อนต้ม ช่วยให้น้ำสัมผัสนุ่มขึ้น มีความชุ่มน้ำมาก และลดปริมาณ cooking loss ได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ในขณะที่การแช่ในสารละลายกรดอะซีติกความเข้มข้น 2% ที่อุณหภูมิและระยะเวลาเท่ากันทำให้น้ำสัมผัสเหนียวขึ้น

English และคณะ (1988) รายงานว่าการแช่เนื้อปลา mullet (*Mugil cephalus*) ในสารละลายโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟตความเข้มข้น 5% ก่อนบรรจุกระป๋องและฆ่าเชื้อ ช่วยปรับปรุงคุณภาพเนื้อสัมผัสและลดการเกิดเคิร์ด (curd) ในผลิตภัณฑ์ได้ ซึ่งการเกิดเคิร์ดนี้มีสาเหตุจากโปรตีนในเนื้อปลาที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและละลายน้ำแข็งเกิดการเสียสภาพ เมื่อผ่านการให้ความร้อนโปรตีนนี้จะตกตะกอนหรือเกิดเคิร์ดขึ้น และจากการทดลองของ Wekell และ Teeney (1988) พบว่าเมื่อแช่เนื้อปลา sockeye salmon ในสารละลายผสมโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟตกับโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตความเข้มข้น 15%-20% เป็นเวลา 2 นาที ก็ช่วยลดการเกิดเคิร์ดในผลิตภัณฑ์ได้เช่นกัน

Crapo และ Crawford (1991) พบว่าเมื่อแช่เนื้อปูในสารละลายโซลิฟอสเฟตความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 60 นาที แล้วให้ความร้อนด้วยการนึ่ง ช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักและความชื้น รวมถึงมีฟอสฟอรัสหลงเหลืออยู่ในเนื้อมากกว่าการต้มในน้ำ ซึ่งจะช่วยในการปรับปรุงคุณภาพเนื้อและความคงตัวในระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่แข็งได้

Li และคณะ (1993) รายงานว่าการใช้โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 0.5% โดยน้ำหนักในเนื้อไก่งวงบด (ground turkey) ก่อนนำไปให้ความร้อน พบว่าทำให้น้ำมีปริมาณ cooking loss ต่ำ และค่า water-holding capacity (WHC) สูงกว่าเนื้อที่ไม่ได้ใช้ เพราะนอกจากจะช่วยในการอุ้มน้ำของเนื้อแล้ว สารประกอบโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟตช่วยลดผลกระทบจากความร้อนต่อ WHC ด้วย นอกจากนี้การให้ความร้อนยังมีผลต่อการสลายตัวของสารประกอบฟอสเฟตไปอยู่ในรูปออร์โธฟอสเฟต (orthophosphate) มากขึ้นด้วย ซึ่งอาจทำให้คุณสมบัติการจับโลหะของฟอสเฟตลดลงได้ (Tompkin, 1984; Ang และ Young, 1989)

Sanchez-Brambila และคณะ (2002a) พบว่าการใช้เอนไซม์ปาเปนความเข้มข้น 0.25% คลุกเคล้ากับเนื้อหอย whelk (*Astraea undosa*) เป็นเวลา 20 นาที ก่อนบรรจุกระป๋องและฆ่าเชื้อ ทำให้ความเหนียวและการทนต่อการเคี้ยว (chewiness) ของเนื้อหอยลดลงเมื่อเทียบกับหอยที่ไม่ได้ใช้เอนไซม์ ในขณะที่ Sanchez-Brambila และคณะ (2002b) พบว่าเนื้อหอยเป้าฮื้อ black abalone (*H. chacherodii*) ที่คลุกเคล้ากับเอนไซม์ปาเปนความเข้มข้น 0.25% และ 0.50% เป็นเวลา 10-20 นาที ก่อนบรรจุกระป๋อง เนื้อสัมผัสไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่มีผลทำให้เกิดรสชาติโลหะและรสขมในผลิตภัณฑ์ อาจเนื่องจากเอนไซม์ปาเปนซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งถูกย่อยในระหว่างกระบวนการฆ่าเชื้อ จึงทำให้เกิดกรดอะมิโนที่ทำให้เกิดรสขมขึ้นได้

The United State Food and Drug Administration (USFDA) ระบุชนิดของฟอสเฟตที่เป็น Generally Recognized As Safe (GRAS) คือ แกลือแคลเซียม โฟสเฟตโซเดียม โซเดียม และแอมโมเนียมของอโทฟอสเฟตและโพลีฟอสเฟต โดยปริมาณฟอสเฟตสูงสุดที่กฎหมายอนุญาตให้มีได้ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ต้องไม่เกิน 0.5% โดยน้ำหนัก และการใช้ฟอสเฟตเข้มข้นถึง 0.5% มีผลทำให้เกิดกลิ่นรสและลักษณะปรากฏที่ไม่ดีต่ออาหารได้ สำหรับ FAO/WHO ระบุว่าปริมาณฟอสฟอรัสน้อยกว่า 30 mg/kg ของน้ำหนักตัว จะปลอดภัยทุกกรณี แต่ถ้าปริมาณ 30-70 mg/kg อาจเป็นอันตรายได้ (Lampila และ Godber, 2002)

2.5 คุณภาพของเนื้อสัตว์ที่มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค

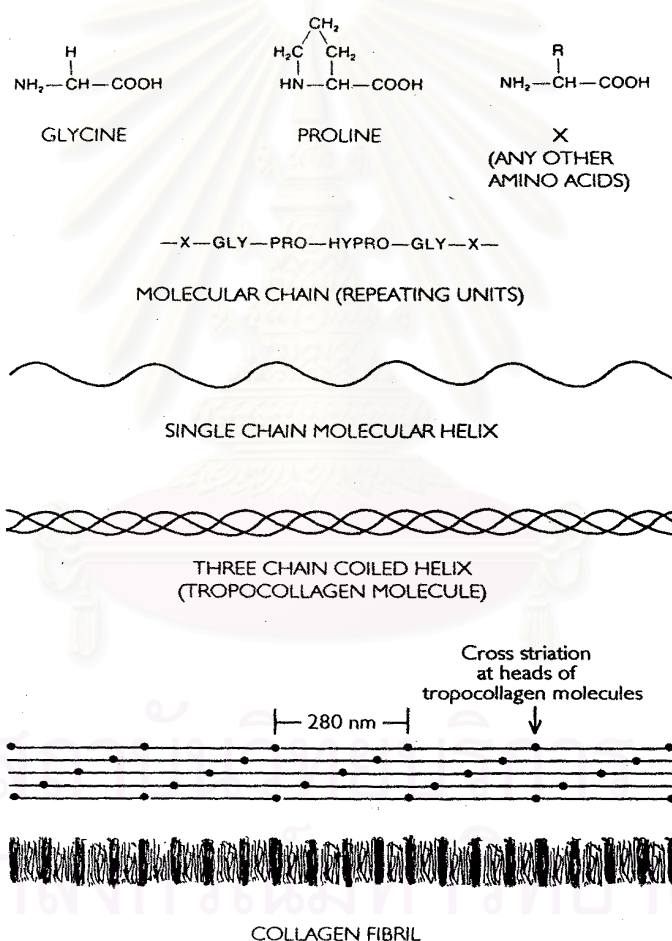
2.5.1 องค์ประกอบที่มีผลต่อเนื้อสัมผัส

เนื้อสัมผัสเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดที่มีผลต่อความน่ารับประทาน (palatability) และความพึงพอใจของผู้บริโภคต่ออาหารประเภทเนื้อสัตว์หรืออาหารทะเล (Olaechea และคณะ, 1993; Gao, Tashiro, และ Ogawa, 2002; Yoneda และคณะ, 2002; Chiou, Tsai, และ Lan, 2004)

เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) นับว่ามีอิทธิพลสูงต่อความนุ่มและความน่ารับประทานของเนื้อสัตว์ (ชัยณรงค์ คันทพนิต, 2529) การจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของเนื้อสัตว์ประกอบด้วยส่วนอีพิมิเซีย (epimysium) ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่พบอยู่ด้านนอกสุด ห่อหุ้มกลุ่มของมัดกล้ามเนื้อ (group of muscle bundle) เข้าด้วยกัน เพอริมิเซีย (perimysium) ซึ่งเป็นส่วนของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ล้อมรอบแต่ละมัดกล้ามเนื้อ (muscle bundle) และเอนโดมิเซีย (endomysium) ซึ่งทำหน้าที่ห่อหุ้มแต่ละเซลล์กล้ามเนื้อ (muscle fiber) (มาลัยวรรณ อารยะสกุล และ วรรณวิบูลย์ กาญจนบุญชร, 2540) ลักษณะการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเช่นนี้ สามารถพบได้เช่นเดียวกันกับในกล้ามเนื้อสัตว์มีกระดูกสันหลัง (vertebrate muscle) (Light, Voyle, และ

Champion, 1984) กล้ามเนื้อสัตว์น้ำจำพวกครัสเตเชีย (crustaceans) (Mizuta และคณะ, 1994) และกล้ามเนื้อของสัตว์จำพวกหอยสองฝา (bivalve molluscan) (Mizuta และคณะ, 2004)

คอลลาเจนเป็นโปรตีนที่พบมากที่สุดในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยสายเพปไทด์ที่มีลำดับกรดอะมิโนที่ซ้ำกัน (Gly-X-Pro) ทำให้มีแนวโน้มที่จะม้วนเป็นเกลียวเวียนซ้าย เกลียวเวียนซ้ายสามเกลียวจะม้วนพันกันเกิดเป็นเกลียวใหญ่เวียนขวา (triple helix) ที่ยึดกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ NH และหมู่ CO ของพันธะเพปไทด์ในแต่ละสาย นอกจากนี้ยังสามารถเกิดสะพานเชื่อมต่อกันทั้งภายในและระหว่างโมเลกุล (intra และ inter molecular cross-linkage) (ภิญโญ พานิชพันธ์, 2542) ดังแสดงในรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 ลำดับกรดอะมิโนและโครงสร้างของโมเลกุลคอลลาเจน

ที่มา: Xiong (1997)

คอลลาเจนในเนื้อสัตว์มีหลายชนิด มีลักษณะโครงสร้างทั่วไปคล้ายคลึงกัน แตกต่างกันเพียงเล็กน้อยที่องค์ประกอบของกรดอะมิโน เป็นผลให้คุณสมบัติของคอลลาเจนต่างกันไป โดยคอลลาเจนชนิดที่มีบทบาทต่อเนื้อสัมผัสของอาหาร ได้แก่ คอลลาเจนชนิด I และ III (Xiong, 1997) ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อสมบัติของคอลลาเจน คือสายพันธุ์และชนิดของเนื้อเยื่อ คอลลาเจนประกอบด้วยกรดอะมิโนที่สำคัญ ได้แก่ ไกลซีน (glycine) 33% ไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline) 10% โพรลีน (proline) 12%-15% อะลานีน (alanine) 11% และไฮดรอกซีไลซีน (hydroxylysine) น้อยกว่า 1% (มาลัยวรรณ อารยะสกุล และ วรณวิบูลย์ กาญจนบุญชร, 2540)

ปริมาณและคุณภาพของคอลลาเจนมีผลต่อคุณภาพเนื้อสัมผัสของอาหาร โดยพบว่าเนื้อสัตว์ที่คุณภาพต่ำมักมีปริมาณคอลลาเจนสูง ส่วนเนื้อคุณภาพดีมักมีปริมาณคอลลาเจนต่ำ (Bailey และ Light, 1989) กล้ามเนื้อที่มีคอลลาเจนสูงมีเนื้อสัมผัสเหนียวกว่าเนื้อที่มีปริมาณคอลลาเจนต่ำกว่า (Olaechea และคณะ, 1993)

นอกจากปริมาณคอลลาเจนแล้วการจัดเรียงตัวแบบเกิดพันธะเชื่อมขวางภายในโมเลกุล (intermolecular crosslink) ของคอลลาเจนยังมีผลต่อคุณภาพของกล้ามเนื้อเช่นกัน โดยกล้ามเนื้อที่มีสัดส่วนของ heat stable crosslink สูงมักมีคุณภาพต่ำ (Kijowski, 2001) ในกล้ามเนื้อที่ดองออกแรงมาก เช่น กล้ามเนื้อขา จำเป็นต้องพัฒนาตัวเองให้มีความแข็งแรงมากกว่ากล้ามเนื้ออื่นๆ จึงทำให้มีปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสูง รวมทั้งต้องมี crosslink สูงด้วย ทำให้เนื้อส่วนนี้เหนียวและมีคุณภาพต่ำกว่าเนื้อส่วนอื่น กล้ามเนื้อสันซึ่งเป็นกล้ามเนื้อที่ทำหน้าที่เพียงเสริมโครงสร้าง จึงมีปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและพันธะเชื่อมข้ามต่ำกว่า (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529) ในเนื้อสัตว์ที่มีอายุมากขึ้น ภายในโมเลกุลของคอลลาเจนจะมีปริมาณของ intermolecular crosslink มากกว่าเนื้อสัตว์ที่มีอายุน้อยกว่าทำให้ความสามารถละลายของคอลลาเจนลดลง มีผลให้เนื้อเหนียวมากกว่าด้วย (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529; Cross, Carpenter, และ Smith, 1973)

เนื้อสัมผัสของหอยเป่าฮื้อมีความสัมพันธ์กับการกระจายตัวของคอลลาเจนในกล้ามเนื้อ โดยปริมาณคอลลาเจนเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเหนียวของเนื้อหอย สัตว์จำพวกที่มีเปลือกแข็งหุ้ม (gastropods) มีปริมาณคอลลาเจนผันแปรตามส่วนของกล้ามเนื้อ ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ กล้ามเนื้อเท้า (foot muscle) กล้ามเนื้อ opercular (adductor) และกล้ามเนื้อส่วนเครื่องใน (visceral muscle) กล้ามเนื้อเท้ามีชั้นของเส้นใยคอลลาเจนหนาและมีความเหนียวมากที่สุด รองลงมาได้แก่ กล้ามเนื้อ opercular และกล้ามเนื้อส่วนเครื่องใน ตามลำดับ (James และ Olley, 1971; Olaechea และคณะ, 1993; Hatae และคณะ, 1996)

Ochiai และคณะ (1985) พบว่ากล้ามเนื้อเท้า กล้ามเนื้อ opercular และเครื่องในของ turban shell (*Batillus cornutus*) มีปริมาณคอลลาเจน 45% 34% และ 5% ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด ตามลำดับ ความเหนียวแปรผันตรงกับปริมาณคอลลาเจน โดยกล้ามเนื้อเท้ามีความ

เหนียวมากที่สุด รองลงมา คือ กล้ามเนื้อ opercular และเครื่องใน ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ที่พบว่าเส้นใยไมโอไฟบริลของกล้ามเนื้อทำมีเส้นใยคอลลาเจนล้อมรอบอยู่หนาประมาณ 1 ไมโครเมตร และหนากว่าในส่วนของกล้ามเนื้อ opercular และเครื่องใน ตามลำดับ ซึ่งมีการจัดเรียงตัวของเส้นใยคล้ายกัน แต่เส้นใยคอลลาเจนที่ล้อมรอบบางกว่า (Watabe และคณะ, 1986)

Olaechea และคณะ (1993) พบว่า ปริมาณคอลลาเจนในเนื้อหอยเป่าฮื้อมีความสัมพันธ์กับความเหนียว เมื่อปริมาณคอลลาเจนเพิ่มขึ้นเนื้อหอยเป่าฮื้อมีความเหนียวมากขึ้น จากการศึกษาการจัดเรียงตัวของเส้นใยโปรตีนภายในเนื้อหอยเป่าฮื้อ kuro-awabi (*H. discus*) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่ากล้ามเนื้อจากส่วนต่างๆ ของหอยเป่าฮื้อมีการจัดเรียงตัวของเส้นใยภายในกล้ามเนื้อที่คล้ายกัน ประกอบด้วยเส้นใยไมโอไฟบริลล้อมรอบด้วยเส้นใยคอลลาเจน แต่ต่างกันที่ความหนาของเส้นใยคอลลาเจน เรียงตามลำดับจากมากไปน้อยได้แก่ บริเวณ epipodium, pedal sole และ adductor ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับค่าความเหนียว (toughness) ที่พบว่าบริเวณ epipodium มีความเหนียวมากที่สุด รองลงมา คือ บริเวณ pedal sole และ adductor ตามลำดับ

2.5.2 ผลของกระบวนการแปรรูปโดยใช้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยเป่าฮื้อ

หอยเป่าฮื้อมีรสชาติและเนื้อสัมผัสที่มีลักษณะเฉพาะตัว (unique) จึงถูกจัดให้เป็นอาหารที่อร่อยเป็นเลิศ (delicacy) (Olaechea และคณะ, 1993; Hatae และคณะ, 1996; Gao และคณะ, 2002; Chiou และคณะ, 2004) เนื้อหอยเป่าฮื้อดิบมีเนื้อสัมผัสแน่น (firm) และกรอบ (crisp) ภายหลังการแปรรูปด้วยความร้อนสูงหรือการให้ความร้อนเป็นเวลานาน เนื้อสัมผัสจะเหนียวนุ่ม (soft chewy texture) (Chiou และคณะ, 2004) และยืดหยุ่นคล้ายยาง (rubber like texture) (Sanchez-Brambila และคณะ, 2002b)

อุณหภูมิและเวลาในการหุงต้มมีผลอย่างมากต่อเนื้อสัมผัสของอาหาร รวมถึงปัจจัยคุณภาพอื่นๆ เช่น ความชุ่มน้ำ (juiciness) สี และกลิ่นรส เป็นต้น (Martens, Stabursvik, และ Martens, 1982)

การเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสของเนื้อสัตว์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการให้ความร้อน โดยทั่วไปเกี่ยวข้องกับองค์ประกอบที่เป็นโครงสร้าง (structural components) ของเนื้อเยื่อ กล้ามเนื้อที่สำคัญ ได้แก่ คอลลาเจน และ myofibrillar protein (Dawson, Sheldon และ Miles, 1991; Bertola, Bevilacqua, และ Zaritzky, 1994; Califano และคณะ, 1997) การเปลี่ยนแปลงเนื่องจากความร้อน (heat-induced change) ขององค์ประกอบทั้งสองนี้ให้ผลต่อเนื้อสัมผัสที่ตรง

ข้ามกัน โดยขณะให้ความร้อน connective tissue เปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่สามารถละลายน้ำได้ มีผลให้เนื้อสัมผัสนุ่มขึ้น ในขณะที่การแข็งตัว (hardening) ของ myofibrillar protein มีผลให้เกิดความเหนียวของเนื้อ (Paul, 1963; Laakkonen, Wellington, และ Sherbon, 1970; Hearne, Penfield, และ Goertz, 1978)

ความร้อนมีผลทำให้เนื้อเยื่อเกี่ยวพันบริเวณอพิไมเซียม เพอริไมเซียม และ เอนโดไมเซียมหดตัว เกิดการสูญเสียน้ำ (Light และคณะ, 1984) อุณหภูมิที่ทำให้คอลลาเจนเกิดการหดตัวนั้นขึ้นกับชนิดและลำดับของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุล คอลลาเจนเริ่มสูญเสียโครงสร้างไปอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 60°C (Dunajski, 1979) เนื่องจากความร้อนที่อุณหภูมิดังกล่าวไปรบกวนพันธะไฮโดรเจนในโมเลกุลคอลลาเจน ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ทำให้เนื้อสัมผัสนุ่มขึ้น (Lawrie, 1968) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 70°C ทำให้คอลลาเจนบริเวณเอนโดไมเซียมหดตัวอย่างถาวร ที่อุณหภูมิ 80°C คอลลาเจนบริเวณเพอริไมเซียมเปลี่ยนไปเป็นเจลลิติน (gelation) และที่อุณหภูมิ 90°C โครงสร้างของกล้ามเนื้อจะสูญเสียไป แต่ยังคงเห็นส่วนที่เป็นซาร์โคเมอร์ (sarcomere) (Cheng และ Parrish, 1976; Jones, Carrol, และ Cavanaugh, 1977)

ส่วนการเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar protein เนื่องจากความร้อน พบว่าเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50°C มีผลกระทบเพียงเล็กน้อย โดย myofibrillar protein เริ่มอัดตัวกัน (compressing) ที่อุณหภูมิ 60°C เส้นใยบาง (thin filament) และเส้นใยหนา (thick filament) รวมตัวกัน (coagulation) ตามด้วยการหดตัวของ myofibrillar protein (Cheng และ Parrish, 1976; Jones และคณะ, 1977) และที่อุณหภูมิ 70°C-90°C actomyosin เกิดการหดตัวและสูญเสียน้ำทำให้เนื้อสัมผัสเหนียวขึ้น (Bailey และ Light, 1989)

นอกจากนี้น้ำที่อยู่ในกล้ามเนื้อ (intrafibre water) ก็มีอิทธิพลต่อเนื้อสัมผัสด้วยเช่นกัน (Currie และ Wolfe, 1980; Offer และคณะ, 1989; Zayas, 1997) น้ำในกล้ามเนื้อส่วนใหญ่มักอยู่ในระหว่างช่องว่างที่เป็นโครงข่ายสามมิติ (three-dimensional network) ของเส้นใยไมโอไฟบริล มีเพียง 14%-21% เท่านั้นที่จับอยู่กับโปรตีนในกล้ามเนื้อด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างไฮโดรเจนอะตอมในโมเลกุลของน้ำกับหมู่ที่มีขั้ว (polar hydrophilic groups) ในโมเลกุลโปรตีน เช่น หมู่ imino, amino, carboxyl, hydroxyl, carbonyl, และ sulfhydryl เป็นต้น ดังนั้นความสามารถในการจับน้ำของโปรตีน จึงขึ้นกับชนิดและจำนวนของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของโปรตีน โดยแอกติน (actin) ไมโอซิน (myosin) และโทรโปไมโอซินที่คลายตัวบางส่วน (extent tropomyosin) เป็นองค์ประกอบสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการจับกับน้ำ (Zayas, 1997)

ความสามารถในการจับน้ำ (water-holding capacity; WHC) คือ ความสามารถของเนื้อที่จะคงปริมาณน้ำไว้ให้เกือบเท่าหรือเท่าเดิม แม้ว่าจะมีแรงจากภายนอกมากระทำ เช่น การตัด การให้ความร้อน การบด และการอัด เป็นต้น WHC มีหน่วยเป็นจำนวนกรัมของน้ำที่โปรตีนสามารถจับไว้ได้ต่อกรัมของโปรตีน (นิธิยา รัตนพานนท์, 2545) โดยทั่วไปอาจแบ่งกลุ่มของน้ำในเนื้อสัตว์ออกได้เป็น 3 กลุ่ม (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529) คือ

- น้ำที่ถูกตรึง (bound water) หมายถึง โมเลกุลของน้ำถูกดึงดูดไว้ด้วยขั้วที่ต่างกันระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับโมเลกุลของน้ำ ซึ่งได้แก่ กลุ่มคาร์บอกซิล ($-\text{COOH}$) และกลุ่มอะมิโน ($-\text{NH}_2$) น้ำที่ถูกตรึงนี้จะมีอยู่ในเนื้อประมาณ 4-5% ของน้ำในกล้ามเนื้อทั้งหมด การขับน้ำชนิดนี้ออกจากกล้ามเนื้อทำได้ยากมาก

- น้ำที่ถูกจำกัดการเคลื่อนที่ (immobilized water) หมายถึง น้ำส่วนที่อยู่ห่างถัดออกมาจากชั้นน้ำที่ถูกตรึง มีแรงดึงดูดที่มีอยู่ระหว่างโมเลกุลน้อยกว่า จึงทำให้น้ำส่วนนี้ถูกขับออกไปได้ง่ายกว่า การที่จะถูกขับออกมาหรือน้อยขึ้นกับแรงภายนอกที่มากระทำ

- น้ำอิสระ (free water) น้ำที่ถูกดึงดูดไว้ด้วยแรงดึงดูดที่น้อย เป็นน้ำที่อยู่ไกลสุดจากประจุไฟฟ้าของโมเลกุลโปรตีน จึงมีแรงดึงดูดต่ำสุด น้ำส่วนนี้จะถูกขับออกจากกล้ามเนื้อได้ง่ายที่สุด

นอกจากการเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสแล้ว การให้ความร้อนยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อสัตว์ด้วย ในระหว่างการให้ความร้อนจะเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลไรโบสหรือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอื่นๆ กับ hypoxanthine inosine หรือกรดอะมิโน มีผลทำให้เกิดกลิ่นรสขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนมากเกินไปอาจทำให้กรดอะมิโนสลายตัวเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (hydrogen sulfide, H_2S) และแอมโมเนียขึ้น โดยเฉพาะในภาวะที่ใช้ในการผลิตอาหารกระป๋องจะเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์จากการสลายตัวของ myofibrillar protein และ metal sulphide ทำให้สีของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป นอกจากการเปลี่ยนสีของผลิตภัณฑ์เนื่องจากไฮโดรเจนซัลไฟด์แล้ว ระหว่างการให้ความร้อนเนื้อสัตว์จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ globin myohaemichromogen และปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์และกรดอะมิโน (Lawrie, 1968)

James และ Olley (1971) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงด้านเนื้อสัมผัสของหอยเป๋าฮื้อ black abalone (*H. ruber*) ที่ผ่านการสเตอริไลซ์ พบว่าเนื้อสัมผัสของหอยเปลี่ยนแปลงไป โดยก่อนให้ความร้อนกล้ามเนื้อบริเวณ adductor มีเนื้อสัมผัสนุ่ม ส่วนกล้ามเนื้อเท้าจะเหนียวกว่า แต่เมื่อผ่านการให้ความร้อน กล้ามเนื้อบริเวณ adductor จะเหนียวขึ้น ส่วนกล้ามเนื้อเท้ากลับนุ่ม Kimura และ Kubota (1968) อธิบายว่าปกติเนื้อหอยเป๋าฮื้อบริเวณ adductor มีปริมาณคอลลาเจนต่ำกว่าบริเวณเท้า (1.4% และ 5.3% ตามลำดับ) เมื่อให้ความร้อน myofibrillar

protein ที่มีมากบริเวณ adductor เกิดการเปลี่ยนแปลงทำให้เนื้อเหนียวขึ้น ส่วนคอลลาเจนในกล้ามเนื้อเท้าเปลี่ยนไปเป็นเจลาตินเนื้อจึงนุ่มขึ้น

Ochiai และคณะ (1985) ศึกษาผลการให้ความร้อนแก่เนื้อหอย turban shell (*Batillus cornutus*) ที่อุณหภูมิ 30°C-60°C เป็นเวลา 30 นาที พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 30°C ทำให้ค่า toughness ของกล้ามเนื้อเท้าส่วนบน (upper region) และส่วนตรงกลาง (middle region) มีค่าลดลง ส่วนกล้ามเนื้อเท้าส่วนล่าง (lower region) มีค่าเพิ่มขึ้น และเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้น กล้ามเนื้อเท้าทั้งสามส่วนนุ่มขึ้น สันนิษฐานว่าเกิดจากการพองตัว (swelling) ของเส้นใยคอลลาเจนหรือการเกิดเจล (gelation) กล้ามเนื้อส่วน opercular มีค่า toughness ลดลงเมื่อให้ความร้อนที่ 30°C และค่อนข้างคงที่แม้จะเพิ่มความร้อนขึ้นอีก ในขณะที่กล้ามเนื้อส่วน visceral muscle มีค่า toughness เปลี่ยนแปลงน้อยมาก เนื่องจากกล้ามเนื้อส่วนนี้มีปริมาณ myofibrillar protein มากที่สุด และมีปริมาณคอลลาเจนอยู่น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับส่วนอื่น จึงเป็นไปได้ว่าปริมาณ myofibrillar protein อาจไม่มีผลต่อความเหนียวของเนื้อหอยส่วนนี้

Sikorski และ Borderias (1994) รายงานว่า คอลลาเจนเป็นโปรตีนที่มีปริมาณสูงที่สุดที่พบใน stroma protein มีบทบาทสำคัญต่อเนื้อสัมผัสของปลาและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้งดิบและที่ผ่านการให้ความร้อน โดยพบว่าเนื้อปลาดิบที่มีปริมาณคอลลาเจน 1.6%-2.3% มักมีเนื้อสัมผัสนุ่ม ส่วนปลาที่มีปริมาณคอลลาเจน 8.8%-12.4% มีเนื้อสัมผัสเหนียว แต่เมื่อนำไปให้ความร้อนจะให้ผลในทางกลับกัน เนื้อปลาที่มีปริมาณคอลลาเจนต่ำมักมีเนื้อสัมผัสแข็งกว่าเนื้อปลาที่มีปริมาณคอลลาเจนสูงซึ่งจะมีเนื้อสัมผัสฉ่ำน้ำและยืดหยุ่นดี อาจเนื่องจากคอลลาเจนเปลี่ยนไปเป็นเจลาตินสามารถจับน้ำไว้ในโครงสร้างได้ดี

Hatae และคณะ (1996) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของหอยเป่าฮือ *H. discus* ที่ต้มเป็นเวลา 0, 5, 30, 60, 180 และ 360 นาที พบว่าระหว่างให้ความร้อนเนื้อของหอยเป่าฮือจะหดตัว เกิดการสูญเสียน้ำและองค์ประกอบที่ละลายน้ำได้ออกมาในรูปของน้ำจากเนื้อ (drip) น้ำหนักของหอยลดลงเหลือประมาณ 60% ของน้ำหนักเริ่มต้น เมื่อให้ความร้อนนาน 360 นาที เนื้อสัมผัสก็มีการเปลี่ยนแปลงไป โดยพบว่าค่า breaking stress ลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากให้ความร้อน 15 นาที และเมื่อให้ความร้อนนานขึ้นถึง 180 หรือ 360 นาที เนื้อหอยนุ่มขึ้นเนื่องจากการเกิดเจลาตินของคอลลาเจน โดยปริมาณคอลลาเจนมีความสัมพันธ์กับความเหนียวของเนื้อหอย สำหรับองค์ประกอบทางเคมีที่มีผลต่อรสชาติของหอยเป่าฮือ พบว่าหลังจากให้ความร้อน 15 นาที ปริมาณ Adenosine Triphosphate (ATP) ลดลงเกือบหมด ในขณะที่ Adenosine Monophosphate (AMP) มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่ง AMP เป็นองค์ประกอบที่สำคัญทำให้เกิดกลิ่นรส umami โดยการเกิด synergism กับกรดกลูตามิก การให้ความร้อนแก่หอยเป่าฮือเป็น

เวลานานขึ้นถึง 180 นาที มีผลให้การยอมรับด้านรสชาติดีขึ้นเมื่อเทียบกับการให้ความร้อน 30 นาที เนื่องจากมีกลิ่นรสที่เข้มข้น

Chiou และคณะ (2004) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ทางกายภาพ และทางประสาทสัมผัสของหอยเป่าชื่อขนาดเล็กพันธุ์ *H. diversicolor* เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C และ 98°C เป็นเวลา 0-120 นาที พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 98°C ทำให้เกิดการสูญเสียความชื้นและน้ำหนัก รวมถึงเกิดสีน้ำตาลสูงกว่าที่อุณหภูมิ 80°C เนื้อหอยเป่าชื่อที่ได้รับความร้อนที่ 98°C นุ่มกว่าที่อุณหภูมิ 80°C และค่า cutting force ลดลงอย่างเห็นได้ชัดหลังจากได้รับความร้อนนาน 60 นาที เนื่องจากการเปลี่ยนคอลลาเจนไปเป็นเจลาตินที่อุณหภูมิต่ำกว่า 90°C เกิดได้ในอัตราที่ช้ากว่า (Ledward, 1984) ส่วนการเกิดสีน้ำตาลนั้นเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด ซึ่งเมื่ออุณหภูมิและเวลาการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น การเกิดสีน้ำตาลก็เพิ่มขึ้นด้วย Kawashima และ Yamanaka (1996) รายงานว่าการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อหอยแครงเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดของน้ำตาล glucose-6-phosphate กับกรดอะมิโนอิสระ ที่สำคัญได้แก่ taurine และ alanine ซึ่งพบว่าในระหว่างให้ความร้อนกรดอะมิโนสองชนิดนี้มีปริมาณลดลง

บทที่ 3

การดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบ

หอยเป๋าฮื้อ

หอยเป๋าฮื้อชนิด *Haliotis asinina* L. ขนาดน้ำหนักรวมเปลือกประมาณ 25-30 กรัมต่อตัว
จากฟาร์มหอยเป๋าฮื้ออันดามัน (Andaman Abalone Farm) จังหวัดตรัง

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

กรดซัลฟิวริก (J.T. Baker, USA)	(A.R.)
กรดบอริก (Univa, Ajax Finechem, Australia)	(A.R.)
เซลีนียมรีเอเจนท์มิกซ์เจอร์ (Merck, Darmstadt, Germany)	(A.R.)
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Univa, Ajax Finechem, Australia)	(A.R.)
โซเดียมคาร์บอเนต (Univa, Ajax Finechem, Australia)	(A.R.)
โบรโมครีซอลกรีน (Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italy)	(A.R.)
ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italy)	(A.R.)
โพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลท (Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italy)	(A.R.)
เมทิลเรด (Merck, Darmstadt, Germany)	(A.R.)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจน

คอปเปอร์ซัลเฟต (Univa, Ajax Finechem, Australia)	(A.R.)
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Univa, Ajax Finechem, Australia)	(A.R.)
ไดเมทิลอะซิโนเบนซาลดีไฮด์ (Fluka Biochemika, USA)	(A.R.)
ไฮดรอกซีโพรลีน (Fluka Biochemika, USA)	(A.R.)
ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Panreac, England)	(A.R.)
โพรพิลแอลกอฮอล์ (Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italy)	(A.R.)
กรดซัลฟิวริก	(A.R.)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์

โซเดียมคลอไรด์ (Univa, Ajax Finechem, Australia)	(A.R.)
เพลตเคาน์อะการ์ (Merck, Darmstadt, Germany)	(A.R.)
คูมิตมีเดียม (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India)	(A.R.)
ไฮรอนซัลไฟด์อะการ์ (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India)	(A.R.)
ทริปโตน (Bacto™ Tryptone, Bacton Dickinson and company, France)	(A.R.)
ยีสต์เอกซแทรกต์ (Merck, Darmstadt, Germany)	(A.R.)
แอล-ฮิสติดีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ (Fluka Biochemika, USA)	(A.R.)
อะการ์ (Univa, Ajax Finechem, Australia)	(A.R.)
แคลเซียมคาร์บอเนต (Fluka Biochemika, USA)	(A.R.)
บรอมครีซอลเพอร์เฟิล (Merck, Darmstadt, Germany)	(A.R.)
แอลกอฮอล์ 70%	
แอลกอฮอล์ 95%	

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ฮิสตามีน

เอทิลีนไดอะมีนเตตระอะซิติกแอซิดไดโซเดียมซอลท์ (Univa, Ajax Finechem, Australia)	(A.R.)
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Univa, Ajax Finechem, Australia)	(A.R.)

สารเคมีในชุดทดสอบฮิสตามีน (Kikkoman, Kikkoman Corporation, Japan)

colorimetric reagent ที่ประกอบด้วย tetrazolium salt และ 1-methoxy PMS

enzymatic reagent ได้แก่ เอนไซม์ histamine dehydrogenase

tris-HCl buffer solution

histamine standard solution

สารเคมีที่ใช้ในการผลิตหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุขวดเพอร์เฟกต์

เกลือแกง	
กรดซิตริก	(food grade)
โซเดียมไตรฟอสเฟต	(food grade)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ Degree of browning

Trichloroacetic acid (Merck, Darmstadt, Germany)	(A.R.)
--	--------

วัสดุและอุปกรณ์

วัสดุที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์

Stomacher bag

จานเพาะเชื้อชนิดพลาสติก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร × 15 มิลลิเมตร

วัสดุที่ใช้ในการผลิตหอยเป่าอื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพอร์

รีทอร์ตเพอร์ PET12/NYLON15/ALU7/PPP70 ขนาด 130 มิลลิเมตร × 170 มิลลิเมตร

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

เครื่องย่อยโปรตีน (Buchi รุ่น K-424, Switzerland)

เครื่องกลั่นไนโตรเจน (Buchi รุ่น B-324, Switzerland)

เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler-Toledo รุ่น AB204, USA)

ตู้อบลมร้อน (Mettmert model 600, Germany)

เตาเผา (Muffle Furnace) (Fisher Scientific รุ่น Isotherm, USA)

กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11 เซนติเมตร

ถ้วยอะลูมิเนียม

ครุชีเบล (crucible)

เดซิเคเตอร์

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ฮิสตามีน

ชุดทดสอบฮิสตามีน (KIKKOMAN, Kikkoman Corporation, Japan)

เครื่องปั่นผสม (Panasonic รุ่น MX-795N, Malaysia)

เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น BP3100s, Ireland)

เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Jasco UV/VIS Spectrophotometer รุ่น V-530, USA)

เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Thermo ICE รุ่น ICE Multi RF, USA)

หลอดเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงขนาด 80 มิลลิลิตร

หลอดทดลองพลาสติก

ปิเปต ขนาด 0.1 และ 1 มิลลิลิตร

อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บรักษาหอยเป่าฮื้อสด เพื่อศึกษาผลของวิธีการจัดการ อุณหภูมิและเวลา
การเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลชีววิทยาและทางกายภาพ

กล่องโฟม

ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิที่ 10°C (Gallenkamp Cooled, Germany)

เครื่องวัดพีค่าความเป็นกรดต่าง (Cyberscan รุ่น 1000pH, USA)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์

เครื่อง incubator (Mettler, Germany) สำหรับอุณหภูมิ 37°C

เครื่อง incubator (Mettler, Germany) สำหรับอุณหภูมิ 55°C

เครื่อง autoclave (Tomy SS-320, England)

เครื่อง stomacher (AES Laboratoire, France)

เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น BP3100s, Ireland)

ปิเปต ขนาด 0.1 และ 1 มิลลิลิตร

ตะเกียงแอลกอฮอล์

สเปรดเดอร์ (spreader)

หลอดทดลองขนาด 13 มิลลิเมตร × 125 มิลลิเมตร พร้อมฝาปิด

ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ Degree of browning

เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น BP3100s, Ireland)

เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Jasco UV/VIS Spectrophotometer รุ่น V-530, USA)

เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Thermo ICE รุ่น ICE Multi RF, USA)

หลอดเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงขนาด 80 มิลลิลิตร

เครื่อง homogenizer (Ystral รุ่น 79282, Netherlands)

ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร

กระบอกตวง

กรวย

กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11 เซนติเมตร

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ Water-holding capacity

เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler-Toledo รุ่น AB204, USA)

เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Jasco UV/VIS Spectrophotometer รุ่น V-530, USA)

เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Thermo ICE รุ่น ICE Multi RF, USA)

หลอดเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงขนาด 80 มิลลิลิตร

กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11 เซนติเมตร

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจน

เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler-Toledo รุ่น AB204, USA)

เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Jasco UV/VIS Spectrophotometer รุ่น V-530, USA)

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Mettmert รุ่น D-91126, Germany)

ขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร

หลอดทดลอง

ปิเปต ขนาด 1 และ 5 มิลลิลิตร

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์น้ำหนักเนื้อ

ตะแกรงขนาด 2.5 มิลลิเมตร × 2.5 มิลลิเมตร

เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น BP3100s, Ireland)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาเนื้อสัมผัส

เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer รุ่น TA-XT2, Stable Micro System, England)

ชุดใบมีดเฉื่อย (Knife/Guillotine blade)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์

เครื่องปิดผนึกถุง (Webomatic รุ่น Hansastr.199, Germany)

หม้อฆ่าเชื้อ (HISAKA simulator retort รุ่น RCS-40RTGN, Japan)

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

การเตรียมวัตถุดิบ

หอยเป่าฮือพันธุ์ *Haliotis asinina* ขนาดน้ำหนักประมาณ 25-30 กรัมต่อตัว และมีความหนาของตัวหอยประมาณ 1 เซนติเมตร จากฟาร์มหอยเป่าฮืออันดามัน จังหวัดตรัง บรรจุในถุงพลาสติกอัดอากาศใส่ในกล่องโฟมบรรจุน้ำแข็ง ขนส่งทางเครื่องบิน ระยะเวลาขนส่งไม่เกิน 6 ชั่วโมง เมื่อมาถึงห้องปฏิบัติการแปรรูปอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แช่เยือกแข็งอย่างรวดเร็วโดยใช้เครื่องแช่เยือกแข็งแบบไครโอจีนิก (Cryo-Test Chamber Nitrogen Freezer model F831059E, Allentown, Penna, USA) บรรจุในถุงพลาสติกโพลีเอทิลีนและปิดผนึกถุงแบบสุญญากาศ นำไปเก็บรักษาในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -31°C เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

เมื่อจะใช้หอยเป่าฮือนี้ จึ้้นำถุงที่บรรจุหอยมาแช่ในน้ำประปาที่อุณหภูมิห้องเพื่อละลายน้ำแข็ง แล้วแกะเปลือกและเอาเครื่องในออก ล้างทำความสะอาด ก่อนนำไปใช้ต่อไป หอยที่แกะเปลือกและเอาเครื่องในออกแล้วมีน้ำหนักประมาณ 12-15 กรัมต่อตัว

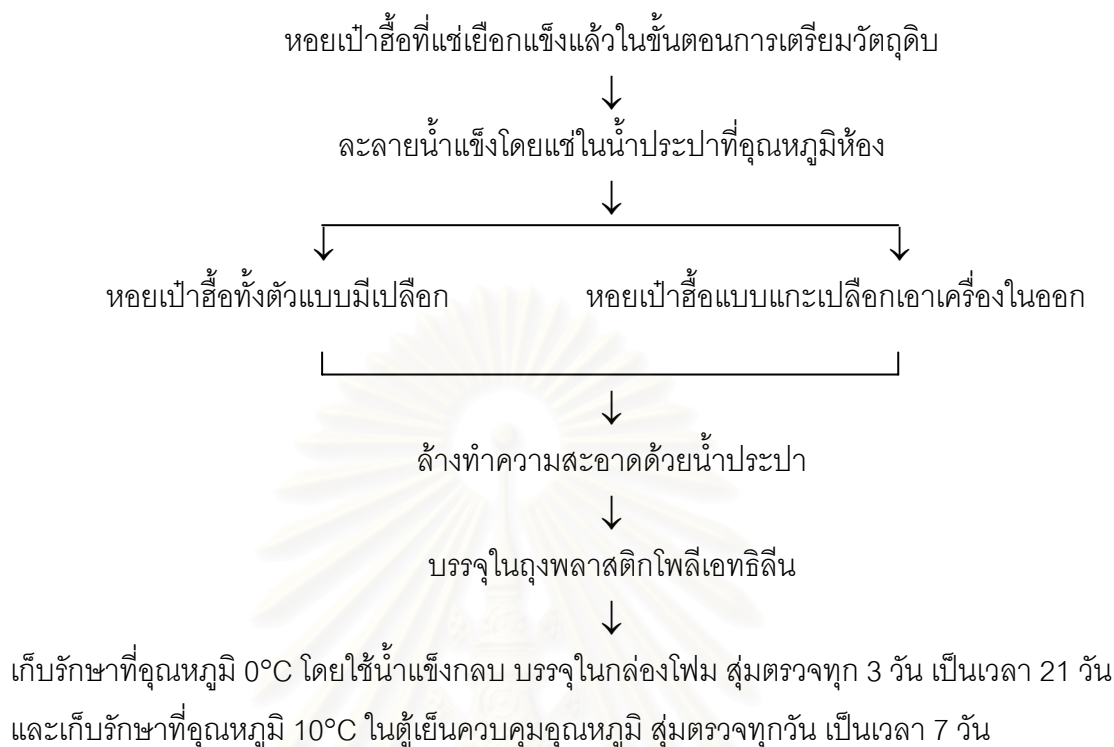
3.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหอยเป่าฮือสด

นำหอยเป่าฮือที่ล้างทำความสะอาดแล้วมาสับให้ละเอียด วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหอยเป่าฮือ ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และไขมัน (AOAC, 1995) โดยวิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก.1-ก.4

3.2 ศึกษาผลของวิธีการจัดการ อุณหภูมิ และระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการเกิดฮิสตามีนในหอยเป่าฮือสด

การเตรียมหอยเป่าฮือ: (แสดงในหน้าถัดไป)

การเตรียมหอยเป่าฮื้อ: (ต่อ)



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการเตรียมหอยเป่าฮื้อเพื่อใช้ศึกษาผลของวิธีการจัดการ อุณหภูมิ และระยะเวลา การเก็บรักษาต่อการเกิดฮิสตามีนในหอยเป่าฮื้อสด

ตรวจวิเคราะห์ดังนี้

3.2.1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH

นำตัวอย่างหอยเป่าฮื้อมาปั่นให้ละเอียด วัดค่า pH ที่อุณหภูมิห้องโดยใช้ pH Meter

3.2.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อสัมผัส

นำหอยเป่าฮื้อมาวัดค่าความแน่นเนื้อ (firmness) ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer TA-XT2) โดยใช้ cutting test ตัดตรงตำแหน่งกึ่งกลางตามความยาวของเนื้อหอยเป่าฮื้อ ที่อัตราเร็วหัววัด 2 มิลลิเมตร/วินาที โดยค่า firmness คือค่าของงาน (กรัม.มิลลิเมตร) ที่ใช้เพื่อตัด ตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน คำนวณจากพื้นที่ใต้กราฟระหว่างค่าแรง (กรัม) กับระยะทาง (มิลลิเมตร)

3.2.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์

3.2.3.1 ปริมาณแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (aerobic plate count)

ตามวิธี AOAC (1995) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ข.1

3.2.3.2 ปริมาณแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลส (histidine decarboxylase bacteria)

ตามวิธีของ Niven และคณะ (1981) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ข.2

3.2.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณฮิสตามีน

วิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีนในหอยเป่าฮื้อโดยใช้ชุดทดสอบฮิสตามีน (histamine test kits) ของบริษัท Kikkoman Corporation ประเทศญี่ปุ่น (วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค)

วางแผนการทดลองแบบ 2×7 factorial in Completely Randomized Design (CRD) (โดยแบ่งการเก็บหอยเป่าฮื้อที่แต่ละอุณหภูมิเป็น 2 แบบ คือ แบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก และจำนวนวันที่ตรวจสอบ 7 วัน) ข้อ 3.2.1 วิเคราะห์ 3 ซ้ำ ข้อ 3.2.2 วิเคราะห์ 7 ซ้ำ ข้อ 3.2.3 วิเคราะห์ 2 ซ้ำ และข้อ 3.2.4 วิเคราะห์ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1992) ที่ระดับความน่าจะเป็น (α) 0.05

3.3 การศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยเป่าฮื้อ

การเตรียมหอยเป่าฮื้อ:

นำหอยเป่าฮื้อมาแกะเปลือกและเอาเครื่องในออกให้เหลือแต่ส่วนของเนื้อทำ ล้างให้สะอาด แช่ในสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.15% นาน 10 นาที จากนั้นแช่ในสารละลายโซเดียมไตรฟอสเฟตความเข้มข้น 10% อีก 60 นาที อุณหภูมิระหว่างการแช่ประมาณ 2°-5°C

(ดัดแปลงจากวิธีของ สมพงษ์ คุประมหารักษ์, 2534; Crapo และ Crawford, 1991) เมื่อแช่เสร็จแล้วนำหอยมาล้างน้ำและทิ้งให้สะเด็ดน้ำก่อนนำไปทดลองในขั้นตอนต่อไป

บรรจุเนื้อหอยที่เตรียมเสร็จลงในรีโพรตเพอร์ PET12/NYLON15/ALU7/CP70 ขนาด 130 มิลลิเมตร × 170 มิลลิเมตร จำนวน 3-4 ตัวต่อถุง ปิดผนึกถุงแบบสุญญากาศ นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C โดยใช้อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ และที่อุณหภูมิ 100°C และ 120°C ให้ความร้อนผ่านน้ำมันพืชในหม้อทอดควบคุมอุณหภูมิ เป็นระยะเวลา 2 4 6 8 10 15 20 30 60 120 180 และ 240 นาที วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงดังนี้

3.1.1 ปริมาณ cooking loss (Hatae และคณะ, 1996)

ชั่งน้ำหนักเนื้อหอยเปลือกก่อนและหลังการให้ความร้อน คำนวณปริมาณ cooking loss ตามสมการที่ (1)

$$\text{cooking loss (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักหอยเปลือกก่อนให้ความร้อน} - \text{หลังให้ความร้อน (กรัม)}}{\text{น้ำหนักหอยเปลือกก่อนให้ความร้อน (กรัม)}} \times 100 \dots (1)$$

3.1.2 Degree of browning (Chiou และคณะ, 2004)

ชั่งน้ำหนักเนื้อหอยเปลือกที่ผ่านการให้ความร้อนและปั่นละเอียดแล้วมา 5 กรัม บดผสมกับสารละลายไตรคลอโรอะซิติกแอซิด (trichloroacetic acid) ความเข้มข้น 7% ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ด้วยเครื่อง homogenizer (13000 rpm/min) เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 4000×g นาน 20 นาที กรองของเหลวส่วนใสเก็บไว้ และนำส่วนที่เป็นของแข็งมาสกัดซ้ำอีก 2 รอบรวมของเหลวส่วนใสทั้งหมดที่ได้ แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายไตรคลอโรอะซิติกแอซิดความเข้มข้น 7% เพื่อให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำสารละลายสีน้ำตาลที่สกัดได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Jasco UV/VIS Spectrophotometer รุ่น V-530) ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร (A_{420}) แสดงเป็นค่า degree of browning (A_{420} /กรัม ตัวอย่าง)

3.3.3 Water-Holding Capacity (Jauregui, Regenstein, และ Baker, 1981; Ueng และ Chow, 1998)

ตัดชิ้นเนื้อหอยเป่าให้มีความหนาประมาณ 1×1 เซนติเมตร และชั่งน้ำหนักก่อนห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่ทราบน้ำหนัก นำไปหมนเหวี่ยงที่ 4500×g เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C ชั่งน้ำหนักกระดาษกรองหลังการหมนเหวี่ยง คำนวณค่า water-holding capacity (WHC) ดังสมการที่ (2)

$$WHC = \frac{\text{น้ำหนักกระดาษกรองหลังเซ็นตริฟิวจ์ (กรัม)} - \text{ก่อนเซ็นตริฟิวจ์ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักชิ้นตัวอย่างหอยเป่า (กรัม)}} \times 100 \dots (2)$$

(%)

3.3.4 ลักษณะเนื้อสัมผัส

นำหอยเป่ามาวัดค่า toughness ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer TA-XT2) โดยใช้ cutting test ตัดตรงตำแหน่งกึ่งกลางความยาวของเนื้อหอย ที่อัตราเร็วของหัววัด 2 มิลลิเมตร/วินาที โดยค่า toughness คือ ค่าของงาน (กรัม.มิลลิเมตร) ที่ใช้เพื่อตัดตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน คำนวณจากพื้นที่ใต้กราฟระหว่างค่าแรง (กรัม) กับระยะทาง (มิลลิเมตร)

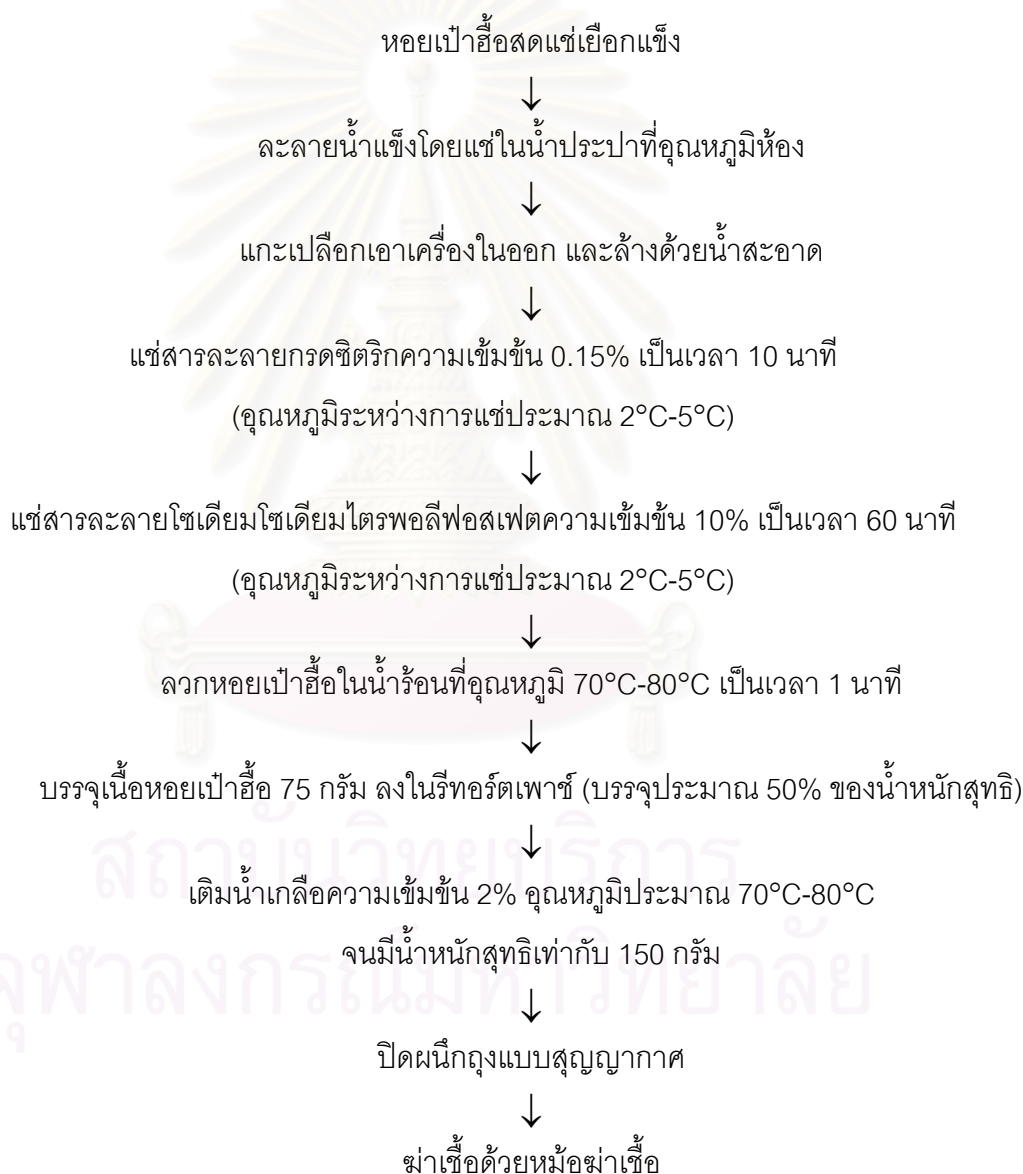
วางแผนการทดลองแบบ 3×12 factorial in CRD (โดยแบ่งอุณหภูมิการให้ความร้อนเป็น 3 ระดับ คือ 80°C 100°C และ 120°C และแบ่งระยะเวลาการให้ความร้อนเป็น 12 ช่วง) ข้อ 3.3.1 และ 3.3.2 วิเคราะห์ 3 ข้อ ข้อ 3.3.3 วิเคราะห์ 4 ข้อ และข้อ 3.3.4 วิเคราะห์ 7 ข้อ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1992) ที่ระดับความน่าจะเป็น 0.05

3.4 การศึกษากระบวนการฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์หอยเป่าในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์

3.4.1 การแทรกผ่านความร้อนและหาเวลาในการฆ่าเชื้อ

ขั้นตอนการเตรียมหอยเป่าในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ แสดงในรูปที่ 3.2 แต่ในการบรรจุเนื้อหอยเป่าจะบรรจุมากกว่าน้ำหนักปกติ 10%-15% คือ ประมาณ 83-87 กรัม ในรีทอร์ตเพาซ์ที่ติดตั้งเซ็นเซอร์อุณหภูมิคู่ควบ (thermocouple) ที่ด้านข้างถุงและปลายเข็มเสียบตรง

กลางชั้นเนื้อหอย ติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของอาหารระหว่างการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110°C เป็นเวลา 50 นาที โดยวางรีโอร์ทเพอร์ที่ติดตั้งเข็มวัดอุณหภูมิคู่ควบที่ด้านข้างถุง ในตำแหน่งจุดร้อนซ้ำที่สุดของหม้อฆ่าเชื้อ (วิธีทดลองแสดงในภาคผนวก ง) บันทึกอุณหภูมิของหม้อฆ่าเชื้อและอาหารทุก 5 วินาที จนสิ้นสุดกระบวนการให้ความร้อนและทำให้เย็น วิเคราะห์ 2 ซ้ำ นำข้อมูลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและเวลาของผลิตภัณฑ์ที่จุดร้อนซ้ำที่สุดมาสร้าง heat penetration curve แล้วคำนวณหา heat penetration parameters เพื่อใช้หาเวลาในการฆ่าเชื้อ (process time) และ sterilizing value (F_0) โดยวิธี formula method ต่อไป



รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการผลิตหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีโอร์ทเพอร์

3.4.2 จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุเทอร์ตเพอร์ซที่ผ่านการฆ่าเชื้อไม่เพียงพอ

ผลิตหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุเทอร์ตเพอร์ซตามรูปที่ 3.2 เพื่อให้ได้ F_0 เท่ากับ 2 นาที ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 114°C เป็นเวลา 12 นาที อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 50°C (เวลาการฆ่าเชื้อได้จากการคำนวณตามวิธี General) นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์ *Clostridium botulinum* (Solomon และคณะ, 2001) (วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ข.3) และ *Bacillus stearothermophilus* (Olson และ Sorrells, 2001) (วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ข.4) ตรวจวิเคราะห์ทุกเดือน ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิประมาณ 23°C-33 °C) เป็นเวลา 6 เดือน วิเคราะห์ 2 ซ้ำ

3.4.3 ผลของอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารและอุณหภูมิของหม้อฆ่าเชื้อที่มีผลต่อภาวะการฆ่าเชื้อหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุเทอร์ตเพอร์ซ

ผลิตหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุเทอร์ตเพอร์ซตามรูปที่ 3.2 โดยกำหนดให้ F_0 เท่ากับ 4 นาที เมื่ออุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 50°C ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 114°C และ 121°C เป็นเวลา 23 และ 7 นาที ตามลำดับ และเมื่ออุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 70°C (ปรับอุณหภูมิโดยใช้น้ำเกลือต้มเดือด) ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 114°C และ 121°C เป็นเวลา 22 และ 6 นาที ตามลำดับ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อทั้ง 4 ภาวะมาวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

3.4.3.1 น้ำหนักเนื้อ (drained weight)

เทผลิตภัณฑ์จากถุงให้กระจายทั่วกันบนตะแกรงที่ทราบน้ำหนัก วางตะแกรงเอียงเป็นมุมประมาณ 17-20 องศา ทิ้งไว้เช่นนี้นาน 2 นาที เพื่อแยกของเหลวออกจากเนื้อ จากนั้นซับของเหลวที่ติดกันตะแกรง แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก (มอก. 89, 2528) คำนวณน้ำหนักเนื้อ (drained weight) ตามสมการที่ (3)

$$\text{น้ำหนักเนื้อ (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักเนื้อหอยเป่าฮื้อหลังแยกของเหลวออกแล้ว}}{\text{น้ำหนักสุทธิของผลิตภัณฑ์ (กรัม)}} \times 100 \quad \dots (3)$$

3.4.3.2 Degree of browning (Chiou และคณะ, 2004)

การวิเคราะห์ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.3.2

3.4.3.3 ปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ (soluble collagen)

3.4.3.3.1 ขั้นตอนการย่อย

(Wattanachant, Benjakul, และ Ledward, 2005)

นำเนื้อหอยเป่าฮื้อป่นละเอียด 2 กรัม เติม Ringer's solution (32.8 mM NaCl, 1.5 mM KCl, และ 0.5 mM CaCl_2) ความเข้มข้น 25% ปริมาตร 8 มิลลิลิตร แล้วให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 15 นาที เพื่อละลายส่วนที่เป็นเจลาตินหรือคอลลาเจนที่ละลายได้ (soluble collagen) ในเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนออกมา จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ $2300\times g$ นาน 30 นาที แยกของเหลวส่วนใสออกมาใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำส่วนที่เป็นตะกอนมาสกัดซ้ำอีกครั้ง แล้วแยกของเหลวส่วนใสที่ได้ไปรวมกับของเหลวที่แยกได้ครั้งแรก จากนั้นนำส่วนที่เป็นของแข็งและของเหลวแต่ละส่วนมาย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6 โมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 130°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้จากการย่อยไปวิเคราะห์ปริมาณ hydroxyproline ต่อไป

3.4.3.3.2 วิเคราะห์ปริมาณ hydroxyproline ในเนื้อหอยเป่าฮื้อ

(Leach, 1960)

ปิเปตสารละลายที่ได้จากขั้นตอนการย่อย (ข้อ 3.4.3.3.1) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายที่ได้ 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2.5 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน นำสารละลายนี้ไปให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ 40°C จนกระทั่งอุณหภูมิภายในหลอดทดลองถึง 40°C (3-5 นาที) จึงเติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 6% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าผสมทันทีและให้ความร้อนนาน 10 นาที และในระหว่างการให้ความร้อนนำหลอดทดลองขึ้นมาเขย่าเป็นครั้งคราว เมื่อครบกำหนดจึงทำให้เย็น และเติมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 3 โมลาร์ 4 มิลลิลิตร และสารละลายไดเมทิลอะมิโนเบนซาลดีไฮด์ความ

เข้มข้น 5% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน ปิดฝาหลอดทดลอง แล้วนำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 16 นาที ทำให้เย็น แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Jasco UV/VIS Spectrophotometer รุ่น V-530) ที่ความยาวคลื่น 555 นาโนเมตร

นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณปริมาณ hydroxyproline (ไมโครกรัม/2มิลลิลิตร) จากกราฟมาตรฐาน (แสดงในภาคผนวก ข) แล้วคำนวณปริมาณ hydroxyproline (กรัม/100 กรัม) ตามสมการที่ (4)

$$\text{ปริมาณ hydroxyproline (กรัม/100 กรัม)} = \frac{(h \times V \times 2.5)}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \quad \dots (4)$$

h คือ ปริมาณ hydroxyproline (ไมโครกรัม / 2 มิลลิลิตร) ที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

V คือ ปริมาตรของสารละลายก่อนย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก (ส่วนของเหลว) หรือ

ปริมาตรของสารละลายหลังย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก (ส่วนที่เป็นตะกอนของแข็ง)

คำนวณปริมาณคอลลาเจน (กรัม/100กรัม) ตามสมการที่ (5) โดยให้ปริมาณ hydroxyproline คิดเป็น 7.52% ของปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ (soluble collagen) และคิดเป็น 7.25% ของปริมาณคอลลาเจนที่ละลายไม่ได้ (insoluble collagen) (Cross และคณะ, 1973) แล้วคำนวณปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ (%ปริมาณคอลลาเจนทั้งหมด) (Wattanachant และคณะ, 2005)

$$\text{ปริมาณคอลลาเจน (กรัม/100 กรัม)} = \frac{\text{ปริมาณ hydroxyproline (กรัม/100 กรัม)} \times 100}{7.25^* \text{ หรือ } 7.52^{**}} \quad \dots (5)$$

* ใช้ในการคำนวณปริมาณคอลลาเจนที่ละลายไม่ได้ในเนื้อหอยเป่าฮื้อ

** ใช้ในการคำนวณปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ในเนื้อหอยเป่าฮื้อ

3.4.3.4 ลักษณะเนื้อสัมผัส

นำหอยเป่าฮื้อมาวัดค่า toughness ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer TA-XT2) โดยใช้ cutting test ตัดตรงตำแหน่งกึ่งกลางตามความยาวของเนื้อหอยเป่าฮื้อ

ที่อัตราเร็วของหัววัด 2 มิลลิเมตร/วินาที โดยค่า toughness คือ ค่าของงาน (กรัม.มิลลิเมตร) ที่ใช้เพื่อตัดตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน คำนวณจากพื้นที่ใต้กราฟระหว่างค่าแรง (กรัม) กับระยะทาง (มิลลิเมตร)

3.4.3.5 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบรวม ด้วยแบบทดสอบชนิด Hedonic scale แบ่งคะแนนเป็น 7 ระดับ โดยคะแนน 7 เป็นระดับที่ชอบมาก และคะแนนต่ำกว่า 4 เป็นระดับที่ไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์ ส่วนคะแนนลักษณะคุณภาพมีเกณฑ์ 1-5 คะแนน ได้แก่ สี (1 หมายถึงสีน้ำตาลเข้ม - 5 หมายถึงสีขาว) ความยืดหยุ่น (1 หมายถึงไม่มีความยืดหยุ่นเลย - 5 หมายถึงยืดหยุ่นมาก) ความเหนียว (1 หมายถึงเปื่อยมากจนละลาย - 5 หมายถึงเหนียวปานกลาง) และความชุ่มน้ำ (1 หมายถึงแห้งมาก - 5 หมายถึงชุ่มน้ำมาก) (ตัวอย่างแบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข) ใช้ผู้ทดสอบทั้งฝึกฝน 10 คน

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยในข้อ 3.4.3.1 วิเคราะห์ 2 ข้อ ข้อ 3.4.3.2 วิเคราะห์ 7 ข้อ ข้อ 3.4.3.3 วิเคราะห์ 3 ข้อ ข้อ 3.4.3.4 วิเคราะห์ 7 ข้อ และข้อ 3.4.3.5 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) วิเคราะห์ 2 ข้อ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1992) ที่ระดับความน่าจะเป็น 0.05

เลือกภาวะการฆ่าเชื้อที่ดีที่สุดมาผลิตหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพอร์ชเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลชีววิทยาและทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน โดยพิจารณาจากคะแนนความชอบสูงสุดที่ผู้ทดสอบมีต่อผลิตภัณฑ์

3.5 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพอร์ชตลอดอายุการเก็บรักษา 6 เดือน

ผลิตหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพอร์ชตามรูปที่ 3.2 โดยใช้ภาวะการฆ่าเชื้อที่เลือกได้จากข้อ 3.4 และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิประมาณ 23°C-33°C) เป็นเวลา 6 เดือน ประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษาในแต่ละเดือนดังนี้

3.5.1 คุณภาพทางจุลชีววิทยา

ตรวจสอบลักษณะภายนอกของบรรจุภัณฑ์ว่ามีลักษณะที่ผิดปกติหรือไม่ เช่น บวม รั่ว เป็นต้น แบ่งตัวอย่างเป็นสองส่วนนำไปบ่มเชื้อในตู้บเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35°C-37°C เป็นเวลา 14 วัน และที่อุณหภูมิ 50°C-55°C เป็นเวลา 7 วัน ในกรณีที่มีลักษณะผิดปกติเกิดขึ้นระหว่างการบ่มเชื้อไม่ต้องนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ต่อ นำผลิตภัณฑ์ที่บ่มครบกำหนดแล้วไปวิเคราะห์จุลินทรีย์ flat sour, thermophilic anaerobes, putrefactive anaerobes และ sulfide spoilage (มอก.335 เล่ม 1, 2533) วิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ข.5-ข.8

3.5.2 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบรวม ด้วยแบบทดสอบชนิด Hedonic scale แบ่งคะแนนเป็น 7 ระดับ โดยคะแนน 7 เป็นระดับที่ชอบมาก และคะแนนต่ำกว่า 4 เป็นระดับที่ไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์ ส่วนคะแนนลักษณะคุณภาพมีเกณฑ์ 1-5 คะแนน ได้แก่ สี (1 หมายถึงสีน้ำตาลเข้ม - 5 หมายถึงสีขาว) ความยืดหยุ่น (1 หมายถึงไม่มีความยืดหยุ่นเลย - 5 หมายถึงยืดหยุ่นมาก) ความเหนียว (1 หมายถึงเปื่อยมากจนเละ - 5 หมายถึงเหนียวปานกลาง) และความชุ่มน้ำ (1 หมายถึงแห้งมาก - 5 หมายถึงชุ่มน้ำมาก) (ตัวอย่างแบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข) ใช้ผู้ทดสอบทั้งฝึกฝน 10 คน วิเคราะห์ 2 ซ้ำ

วางแผนการทดลองแบบ RCBD วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1992) ที่ระดับความน่าจะเป็น 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 องค์ประกอบทางเคมีของหอยเป้าฮือสด

วัตถุดิบที่ใช้ คือ หอยเป้าฮือสด *H. asinina* ที่มีน้ำหนักรวมเปลือกประมาณ 30 กรัมต่อตัว เมื่อแกะเปลือกและเอาเครื่องในออกแล้วมีน้ำหนักประมาณ 12-15 กรัมต่อตัว จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อหอยเป้าฮือด้วยวิธีมาตรฐาน AOAC (1995) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของหอยเป้าฮือสด (โดยน้ำหนักเปียก)

องค์ประกอบทางเคมีที่วิเคราะห์	ปริมาณที่พบ (%)
โปรตีน	14.39 ± 0.32
ไขมัน	0.27 ± 0.21
ความชื้น	84.32 ± 0.36
เถ้า	1.02 ± 0.17

หอยเป้าฮือ *H. asinina* นี้ประกอบด้วยโปรตีน 14.39% ไขมัน 0.27% ความชื้น 84.32% และเถ้า 1.02% โดยมีค่าใกล้เคียงกับผลการวิเคราะห์หอยเป้าฮือ *H. asinina* ขนาดน้ำหนักประมาณ 20 กรัม ที่อุบลวรรณ พิงฉิม (2546) พบว่ามีองค์ประกอบที่เป็นโปรตีน 15.31% ไขมัน 0.06% ความชื้น 82.22% และเถ้า 1.00% นอกจากนี้องค์ประกอบทางเคมีของหอยเป้าฮือ *H. asinina* ที่พบยังมีค่าใกล้เคียงกับหอยเป้าฮืออื่นๆ เช่น หอยเป้าฮือ *H. gigantea sieboldii* ที่พบในญี่ปุ่นมีความชื้น 78%-83% โปรตีน 12%-17% ชนิด *H. gigantea discus* มีความชื้น 78%-90% โปรตีน 9.4%-17.5% และชนิด *H. discus hannai* มีความชื้น 72%-78% โปรตีน 7.5%-12.5% (Takayama และคณะ, 1970) ส่วนหอยเป้าฮือที่พบในสหรัฐอเมริกา *H. cracheroidii* มีความชื้น 68%-72% โปรตีน 18%-23% (Webber, 1970) หอยเป้าฮือ *H. rubber* ที่พบในออสเตรเลียมีความชื้น 74%-78% โปรตีน 16%-19.5% (Olley และ Thrower, 1977) และจากการศึกษาของ Olachea และคณะ (1993) พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของหอยเป้าฮือ kuro-awabi (*H. discus*) ที่เพาะเลี้ยงและจับจากธรรมชาติในแต่ละช่วงเวลาของปีที่น่าสนใจในการทดลองนั้นค่อนข้างคงที่

ตลอดทั้งปี ประกอบด้วยโปรตีน 16.10% ไขมัน 0.58% ความชื้น 76.20% และเถ้า 1.52% ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Hatae และคณะ (1995, 1996) ที่พบว่าหอยเป่าฮือ *H. discus* มีโปรตีน 14.20%–18.40% ไขมัน 0.26%–0.93% ความชื้น 72.30%–82.10% และเถ้า 1.11%–1.29% การที่หอยเป่าฮือมีปริมาณองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันส่งผลให้กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และลักษณะปรากฏแตกต่างกัน (Olley และ Thrower, 1977) ซึ่งปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันของสัตว์แต่ละชนิดขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิด ขนาด อายุ เพศ แหล่งที่อยู่ อาหาร สภาพภูมิอากาศ ฤดูกาล และสภาวะการวางไข่ เป็นต้น (Pigott และ Tucker, 1990)

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหอยเป่าฮือ จะเห็นว่าหอยเป่าฮือมีปริมาณโปรตีนสูง แต่มีไขมันต่ำ เช่นเดียวกับอาหารทะเลอื่นๆ ที่มีปริมาณไขมันต่ำ (Shahidi, 1994) ซึ่งสอดคล้องกับความต้องการของผู้บริโภคที่ใส่ใจสุขภาพในปัจจุบันที่นิยมบริโภคอาหารทะเลเพราะนอกจากจะให้โปรตีนคุณภาพสูง ร่างกายสามารถย่อยได้ง่าย อีกทั้งยังมีแร่ธาตุสำคัญหลายชนิด มีกรดไขมันที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย รวมทั้งมีไขมันต่ำ และให้พลังงานน้อยด้วย (Pigott และ Tucker, 1990) สัตว์พวกมีเปลือกแข็งหุ้ม (shellfish) โดยทั่วไปจะมีไขมันต่ำ เช่น กุ้งและปูบางชนิดมีปริมาณไขมันต่ำกว่า 1% (Sidwell, 1981) แต่ในหอยนางรมบางชนิดอาจสูงถึง 4% (Pigott และ Tucker, 1990) หอยเป่าฮือมีปริมาณไขมันต่ำเนื่องจากไม่ได้เก็บไขมันไว้เป็นแหล่งพลังงานเหมือนปลา (Hatae และคณะ, 1995) แต่คาดว่าจะมีการเก็บพลังงานไว้ในรูปของไกลโคเจน ซึ่งทำให้เนื้อของสัตว์พวกมีเปลือกแข็งหุ้ม รวมถึงหอยเป่าฮือมีรสชาติหวานเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว โดยหอยเป่าฮือ หอยนางรม หอยลาย (clam) หอยแมลงภู่ (mussel) และหอยทาก (snail) มีปริมาณไกลโคเจน 3%-5% (Bennion, 1980; Pigott และ Tucker, 1990) ส่วนในหอย scallop พบถึง 7.5% (Wongso และ Yamanaka, 1998)

4.2 ผลของวิธีการจัดการ อุณหภูมิ และระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการเกิดฮิสตามีนในหอยเป่าฮือสด

ฮิสตามีนเป็นสารพิษประเภท biogenic amine ที่เกิดจากปฏิกิริยาดีคาร์บอกซีเลชัน (decarboxylation) ของกรดอะมิโนฮิสติดีน โดยมีเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสที่สร้างโดยแบคทีเรียทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา และทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ histamine fish poisoning ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการเจ็บป่วยจากการบริโภคอาหารทะเลทั้งสดและอาหารที่ผ่านกระบวนการแปรรูปต่างๆ เช่น อาหารกระป๋อง อาหารรมควัน เป็นต้น ฮิสตามีนมีความคงตัวสูงและไม่ถูกทำลายด้วยกระบวนการแช่แข็ง การหุงต้ม หรือการแปรรูปด้วยความร้อนสูง (Lehane และ Olley, 2000) ฮิสตามีนถูกนำมาใช้เป็นเกณฑ์กำหนดด้านความปลอดภัยของอาหาร (food safety)

ในทางการค้าระหว่างประเทศ ดังนั้นเพื่อลดข้อจำกัดดังกล่าว ในฐานะที่เป็นประเทศผู้ผลิตหอยเป่าฮื้อในเชิงพาณิชย์ จึงควรมีการศึกษาอิสตามีนในหอยเป่าฮื้อสดเพื่อเป็นข้อมูลไว้ด้วย

การวิจัยส่วนนี้ทดลองเก็บรักษาหอยเป่าฮื้อแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก ที่อุณหภูมิ 0°C และ 10°C เนื่องจากการขนส่งอาหารทะเลสดภายในประเทศหรือการขนส่งระยะทางไกล มักใช้การแช่น้ำแข็งหรือการแช่ในอุณหภูมิตู้เย็นเพื่อรักษาคุณภาพของอาหาร โดยอุณหภูมิตู้เย็นอยู่ระหว่าง 7°C-10°C (Ashie, Smith, และ Simpson, 1996; Lopez-Sabater และคณะ, 1996) นอกจากนี้มีหลายงานวิจัยพบว่าการเอาเครื่องในออกช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหารทะเลสดได้ (Scott และคณะ, 1986) แต่ก็มีบางรายงานที่พบว่าการเอาเครื่องในออกกลับเร่งการเสื่อมคุณภาพของปลาบางชนิดและไม่ได้ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาปลาให้นานขึ้น (Huss และ Asenjo, 1976) การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพต่างๆ ได้แก่ ค่า pH เนื้อสัมผัส จุลินทรีย์ และการเกิดอิสตามีนในหอยเป่าฮื้อที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก ที่อุณหภูมิ 0°C และ 10°C ระหว่างการเก็บรักษา

4.2.1 การเปลี่ยนแปลงของค่า pH ระหว่างการเก็บรักษา

จากการทดลอง พบว่า ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาคงที่ มีอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการจัดการหอยเป่าฮื้อ (เก็บรักษาแบบทั้งตัวหรือแกะเปลือกเอาเครื่องในออก) และระยะเวลาการเก็บรักษา ($p \leq 0.05$) ต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของหอยเป่าฮื้อ (แสดงในภาคผนวก ข.1 และ ข.2) โดยที่อุณหภูมิการเก็บรักษาเท่ากัน หอยเป่าฮื้อที่เก็บแบบทั้งตัวมีค่า pH สูงกว่าแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก ($p \leq 0.05$) การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของหอยเป่าฮื้อที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0°C มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น ในขณะที่ pH ของหอยเป่าฮื้อที่เก็บรักษาที่ 10°C มีแนวโน้มลดลง (ตารางที่ 4.2)

หอยเป่าฮื้อที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0°C มีค่า pH เพิ่มขึ้น อาจเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายโปรตีนทำให้เกิดสาร volatile amine เช่น แอมโมเนีย เป็นต้น ทำให้ค่า pH สูงขึ้น (Ashie และคณะ, 1996; สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) รวมถึงเกิดสารอื่นๆ เช่น สารประกอบ amines และ sulfides ถ้าเกิดในปริมาณมากอาจทำให้เกิดกลิ่นและรสผิดปกติขึ้นได้ (Sofos, 1994) Scott และคณะ (1986) รายงานว่าปลา orange roughy ที่เก็บแบบทั้งตัว และแบบตัดหัว และเอาเครื่องในออกเกิดกลิ่นที่ทำให้ผู้ทดสอบไม่ยอมรับหลังการเก็บรักษาด้วยน้ำแข็ง 11 และ 13 วัน ตามลำดับ และพบว่าค่า pH ของปลาที่เก็บทั้งสองแบบเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น เนื่องจากเกิดสารพวก volatile bases เช่น แอมโมเนีย dimethylamine และ trimethylamine เป็นต้น แต่ไม่พบความสัมพันธ์ของค่า pH ที่เพิ่มขึ้นกับการไม่ยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองเก็บรักษาปู Dungeness crab (*Cancer magister*) (Parkin และ Brown, 1983) กุ้ง brown shrimp (*Penaeus aztecus*) (Lannelongue และคณะ, 1982) และกุ้งน้ำจืด (*Pacifastacus leniusculus*) (Wang และ Brown, 1983) ในบรรยากาศปกติที่พบว่าค่า pH เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตลอดการเก็บรักษา แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงค่า pH กับการเจริญของแบคทีเรียที่ต้องการอากาศและการเกิดแอมโมเนีย

หอยเป่าฮื้อที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวมีค่า pH สูงกว่าแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก อาจเนื่องจากการเก็บแบบทั้งตัวมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียในลำไส้หรือท้องมากกว่าและมีหลายชนิดที่สามารถเจริญได้ดี โดยแบคทีเรียพวกที่ทำให้ค่า pH สูงขึ้น เช่น *Pseudomonas Moraxella* และ *Acinetobacter* เป็นต้น (Sofos, 1994) อาจมีการเจริญมากกว่าพวกที่สร้างกรดแลคติก ทำให้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง pH มากกว่า

ตารางที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของหอยเป่าฮื้อที่เก็บแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0°C และ 10°C

ระยะเวลาการเก็บ			ระยะเวลาการเก็บ		
(วัน)	0°C		(วัน)	10°C	
	ทั้งตัว	แกะเปลือก เอาเครื่องในออก		ทั้งตัว	แกะเปลือก เอาเครื่องในออก
0	6.12 ^b ±0.01	6.12 ^b ±0.01	0	6.12 ⁱ ±0.01	6.12 ⁱ ±0.01
3	6.22 ^e ±0.01	6.07 ^a ±0.01	1	6.20 ^l ±0.02	6.06 ^h ±0.01
6	6.29 ^f ±0.01	6.11 ^b ±0.01	2	6.16 ^k ±0.02	5.95 ^f ±0.01
9	6.29 ^f ±0.01	6.08 ^a ±0.01	3	6.19 ^j ±0.02	6.04 ^g ±0.01
12	6.37 ^g ±0.01	6.14 ^c ±0.01	4	6.17 ^k ±0.02	5.92 ^e ±0.01
15	6.42 ^h ±0.01	6.15 ^c ±0.01	5	6.14 ^j ±0.01	5.79 ^c ±0.01
18	6.42 ^h ±0.01	6.19 ^d ±0.02	6	6.06 ^h ±0.01	5.64 ^b ±0.02
21	6.42 ^h ±0.01	6.23 ^e ±0.01	7	5.86 ^d ±0.01	5.47 ^a ±0.01

a, b, c, ... ตัวเลขในแต่ละอุณหภูมิที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

หอยเป่าฮื้อที่เก็บที่อุณหภูมิ 10°C มีแนวโน้มค่า pH ลดลง อาจเนื่องมาจากสัตว์จำพวกหอยมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตซึ่งอยู่ในรูปไกลโคเจน เมื่อสัตว์น้ำตายเซลล์จะไม่สามารถออกซิเจน ไกลโคเจนจึงไม่สามารถเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำได้เหมือนในสภาพที่ยังมี

ชีวิตอยู่ แต่ไกลโคเจนยังคงแตกตัวต่อไปโดยการเกิดปฏิกิริยาไกลโคไลซิส (glycolysis) จากการทำงานของเอนไซม์ภายใต้ภาวะไม่มีอากาศ ทำให้เกิดกรดแลคติกขึ้น เมื่อมีการสะสมของกรดแลคติกเพิ่มมากขึ้นทำให้กล้ามเนื้อมี pH ลดต่ำลง (James และ Olley, 1970; นงลักษณ์ สุทธิวิธ, 2531) สอดคล้องกับการทดลองของ Baldwin และคณะ (1992) ซึ่งพบว่าเมื่อเก็บหอยเป่าฮือ *H. iris* ไว้ 1 วัน ที่อุณหภูมิ 5.5°C ค่า pH จะลดลงเนื่องจากเกิดปฏิกิริยาไกลโคไลซิสแบบไม่ใช้ออกซิเจนภายในกล้ามเนื้อ และจากการศึกษาของ Chiou และคณะ (2002) พบว่าเมื่อเก็บหอยเป่าฮือ small abalone (*H. diversicolor*) ที่อุณหภูมิ 5°C 15°C และ 25°C ค่า pH มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น และพบว่าค่า pH ที่ลดลงมีความสัมพันธ์กับปริมาณไกลโคเจนในเนื้อหอยที่ลดลงด้วย เช่นเดียวกับที่พบในหอย hard clam (Chiou, Lin, และ Shiau, 1998) และหอย Japanese baking scallop (Wongso และ Yamanaka, 1998)

นอกจากนี้การลดลงของค่า pH อาจเกิดจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติกได้ เช่น Lactobacilli, Streptococci และ ยีสต์ เป็นต้น (Ashie และคณะ, 1996) เช่นเดียวกับที่พบว่าค่า pH ของหอยนางรมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7°C เป็นเวลา 2 วัน ลดลงเนื่องจากการเจริญของ acid-tolerant lactic acid bacteria ซึ่งพบมากถึง 75% ของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Fieger และ Novak, 1961) James และ Olley (1970) รายงานว่าการเก็บหอยเป่าฮือแบบทั้งตัวและแกะเปลือกที่อุณหภูมิสูงกว่า 5°C-7°C ค่า pH ลดลงมากอย่างเห็นได้ชัดและทำให้เกิดการสูญเสียน้ำมากด้วย ในขณะที่เมื่อเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า ค่า pH เปลี่ยนแปลงเล็กน้อยแต่ก็มีการสูญเสียน้ำออกจากเนื้อ อาจเนื่องมาจากผลกระทบจากความเย็น และสรุปว่าค่า pH ที่ต่ำลงและการสูญเสียน้ำของหอยเป่าฮือมีผลทำให้ปริมาณน้ำในเนื้อลดลง ทำให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮือบรรจุกระป๋องเหนียวขึ้นด้วย

4.2.2 การเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัมผัส

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสของหอยเป่าฮือที่เก็บแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก ที่อุณหภูมิ 0°C และ 10°C พบว่า ค่า firmness มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0°C มีผลให้ค่า firmness ของหอยเป่าฮือที่เก็บแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออกมีค่าลดลงมากอย่างเห็นได้ชัดหลังจากเก็บ 3 และ 12 วันตามลำดับ และเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 10°C ค่า firmness ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) หลังการเก็บ 2 และ 5 วันตามลำดับ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่า firmness ($\times 10^3$ g.mm) ของหอยเป่าฮื้อที่เก็บแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0°C และ 10°C

ระยะเวลาการเก็บ			ระยะเวลาการเก็บ		
0°C			10°C		
(วัน)	ทั้งตัว	แกะเปลือก เอาเครื่องในออก	(วัน)	ทั้งตัว	แกะเปลือก เอาเครื่องในออก
0	18.62 ^f ±2.48	18.62 ^f ±2.48	0	24.62 ⁱ ±2.64	24.62 ⁱ ±2.64
3	10.26 ^c ±0.80	15.17 ^e ±1.57	1	21.23 ^h ±1.67	28.97 ^j ±0.93
6	5.24 ^b ±0.05	14.96 ^e ±2.37	2	16.38 ^{fg} ±1.85	25.22 ⁱ ±1.46
9	4.64 ^b ±0.06	15.49 ^e ±1.26	3	11.92 ^{de} ±0.72	25.16 ⁱ ±2.37
12	1.79 ^a ±0.02	12.17 ^d ±1.28	4	9.59 ^{cd} ±1.08	23.17 ^{hi} ±2.59
15	1.51 ^a ±0.01	4.87 ^b ±0.66	5	7.40 ^{bc} ±0.75	17.52 ^g ±2.55
18	1.20 ^a ±0.01	1.90 ^a ±0.23	6	6.13 ^b ±0.59	14.15 ^{ef} ±1.43
21	1.55 ^a ±0.02	1.67 ^a ±0.01	7	3.54 ^a ±0.64	12.75 ^e ±1.58

a, b, c, ... ตัวเลขในแต่ละอุณหภูมิที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

หอยเป่าฮื้อที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวมีค่า firmness ต่ำกว่าแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออกที่ทุกอุณหภูมิการเก็บรักษา เนื่องจากการเสื่อมเสียของหอยเป่าฮื้อเป็นไปอย่างรวดเร็วถ้าเก็บไว้ที่อุณหภูมิสูงและไม่มีการเอาเปลือกออก การเอาเปลือกและเครื่องในออกเป็นการป้องกันการปนเปื้อนจากแบคทีเรียที่อยู่ในเครื่องในและป้องกันการเสื่อมเสียจากเอนไซม์ด้วย (James และ Olley, 1974) ลำไส้ของปลาตามปกติต้องฆ่าและออกก่อนที่ปลาจะเสีย เนื่องจากแบคทีเรียในลำไส้สามารถปนเปื้อนเข้าไปในเนื้อปลาโดยอาศัยเอนไซม์ย่อยโปรตีนช่วยในกลไกนี้ (สุมนทนา วัฒนสินธุ์, 2545) การเจริญของจุลินทรีย์ที่พบได้ทั่วไปบริเวณผิวหนัง เหงือก หรือลำไส้ และการย่อยสลาย (autolysis) ของ endogenous enzyme ของแบคทีเรียที่อยู่ในลำไส้ ทำให้เกิดการเน่าเสียและมีผลให้เกิดลักษณะที่ไม่ดีต่างๆ เช่น การทำลายเนื้อสัมผัส (texture deterioration) การเกิดกลิ่นไม่ดี (off-flavors) และการเปลี่ยนสี (discoloration) เป็นต้น (Ashie และคณะ, 1996) Robbins และคณะ (1979) พบว่าการที่ปลาหรืออาหารทะเลมีเนื้อสัมผัสเน่าขึ้นระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่เป็นที่ต้องการ นอกจากเกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์จากจุลินทรีย์แล้วยังพบว่า endogenous protease ในกล้ามเนื้อบางชนิดที่สามารถทำงานได้ดีที่ pH ระหว่างการเก็บซึ่งอยู่ในช่วง 5.5-6.5 ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสด้วย ดังนั้นหอยเป่าฮื้อที่เก็บแบบทั้งตัว

จึงเกิดการเน่าเสียได้เร็วกว่า ทำให้ค่า firmness ลดลงมากกว่าเนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์และเอนไซม์ นอกจากนี้การเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นกรดแลคติกซึ่งมีผลให้ค่า pH ลดลงก็อาจมีผลกระทบต่อน้ำสัมผัสและลักษณะปรากฏของเนื้อปลาได้ (Konagaya และ Konagaya, 1979; Ang และ Haard, 1985)

4.2.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์

4.2.3.1 ปริมาณแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ

ปริมาณแบคทีเรียที่ต้องการอากาศที่พบในหอยเป่าฮื้อสดมีประมาณ 2×10^4 cfu/g เมื่อระยะเวลาการเก็บหอยเป่าฮื้อนานขึ้นปริมาณแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น ($p \leq 0.05$) เมื่อใช้ปริมาณจุลินทรีย์เท่ากับ 10^6 cfu/g หรือประมาณ 6 log cfu/g เป็นเกณฑ์ในการกำหนดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากเป็นปริมาณที่คาดว่าจะทำให้เกิดการเน่าเสีย (Gram และ Dalgaard, 2002) และมักเป็นระดับที่ทำให้อาหารไม่เป็นที่ยอมรับทางประสาทสัมผัส (Olafsdottir และคณะ, 1997) พบว่าสามารถเก็บรักษาหอยเป่าฮื้อแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออกที่อุณหภูมิ 0°C ได้เป็นเวลา 6 และ 9 วัน ตามลำดับ และที่อุณหภูมิ 10°C เป็นเวลา 3 และ 4 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) การเก็บรักษาที่ 0°C ช่วยชะลอเมตาบอลิซึมต่าง ๆ ภายในเซลล์ของหอยเป่าฮื้อและเซลล์จุลินทรีย์ได้ดีกว่าการเก็บรักษาที่ 10°C รวมถึงการแกะเปลือกเอาเครื่องในออกช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้ด้วย สอดคล้องกับการศึกษาของ Scott และคณะ (1986) ที่พบว่าปลา orange roughy ที่ตัดหัวและเอาเครื่องในออกมีอายุการเก็บรักษานานกว่าปลาที่เก็บแบบทั้งตัว โดยสามารถเก็บได้นานถึง 13-16 วัน ในขณะที่ปลาที่เก็บแบบทั้งตัวมีอายุการเก็บ 11 วัน James และ Olley (1970, 1974) พบว่าการเสื่อมเสียของหอยเป่าฮื้อเป็นไปอย่างรวดเร็วถ้าเก็บไว้ที่อุณหภูมิสูงและไม่มีการเอาเปลือกออก การแกะเปลือกและเครื่องในออกเป็นการป้องกันการปนเปื้อนจากแบคทีเรียที่อยู่ในเครื่องในและป้องกันการเสื่อมเสียจากเอนไซม์ด้วย จึงควรเก็บหอยเป่าฮื้อในสภาพที่แกะเปลือกและเอาเครื่องในออกภายใต้อุณหภูมิต่ำ

การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำหรือต่ำกว่าจะช่วยยืดอายุของอาหารได้เนื่องจากอุณหภูมิต่ำไม่เหมาะสมกับการเจริญของแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (mesophiles) แต่เหมาะสมกับแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิต่ำ (psychrophiles) หรือแบคทีเรียที่ปรับตัวเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (psychrotrophs) แม้ว่าแบคทีเรียจำพวก psychrotrophs เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ แต่การเจริญก็เป็นไปอย่างช้าๆ การเน่าเสียจึงเกิดขึ้นช้ากว่า (สุมนทนา วัฒนสินธุ์, 2545; Ashie และคณะ, 1996) Wei และคณะ (1990) รายงานว่าแบคทีเรียในเนื้อปลาทูน่าที่เก็บ

รักษาที่อุณหภูมิ 10°C เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วจนถึง 10^7 cfu/g หลังการเก็บ 6 วัน แต่เนื้อปลาเกิดกลิ่นเหม็น (putrefactive odors) และเกิดเมือกขึ้นหลังจากเก็บได้ 3 วัน ในขณะที่การเก็บที่อุณหภูมิ 2°C เกิดกลิ่นไม่ดีหลังจากเก็บ 10 วัน ส่วนปริมาณแบคทีเรียที่ต้องการอากาศในเนื้อปลาซึ่งคาดว่าเป็นแบคทีเรียพวก psychrotrophs บางชนิด มีการเพิ่มขึ้นช้ากว่าที่ 10°C และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น แบคทีเรียพวก psychrotrophs ที่มักปนเปื้อนในอาหารทะเล ได้แก่ *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, และ *Bacillus* spp. เป็นต้น โดยแบคทีเรียในจลินัส *Pseudomonas* ปริมาณ 10^7 cfu/m² ขึ้นไป ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นและเกิดเมือกในเนื้อที่เก็บรักษาในตู้เย็น (Sofos, 1994)

ตารางที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ ($\times 10^6$ cfu /g) ของหอยเป่าฮื้อที่เก็บแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0°C และ 10°C

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	0°C		ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	10°C	
	ทั้งตัว	แกะเปลือก เอาเครื่องในออก		ทั้งตัว	แกะเปลือก เอาเครื่องในออก
0	0.02 ^a ±0.01	0.02 ^a ±0.01	0	0.02 ^a ±0.01	0.02 ^a ±0.01
3	0.27 ^a ±0.02	0.10 ^a ±0.01	1	0.01 ^a ±0.01	0.05 ^a ±0.01
6	1.16 ^a ±0.06	0.46 ^a ±0.01	2	0.08 ^a ±0.02	0.20 ^a ±0.01
9	5.07 ^b ±0.06	1.08 ^a ±0.06	3	5.64 ^a ±0.04	0.86 ^a ±0.07
12	7.52 ^c ±0.07	3.41 ^b ±0.10	4	13.27 ^a ±0.57	4.87 ^a ±0.20
15	12.65 ^d ±0.07	9.39 ^c ±0.02	5	124.10 ^c ±5.42	44.31 ^b ±1.01
18	20.87 ^f ±0.89	18.36 ^e ±0.75	6	226.29 ^e ±6.86	130.32 ^c ±9.31
21	92.80 ^h ±0.90	56.04 ^g ±4.09	7	226.29 ^f ±41.54	188.63 ^d ±13.24

a, b, c, ... ตัวเลขในแต่ละอุณหภูมิที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.2.3.2 ปริมาณแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮีสติดีนดีคาร์บอกซีเลส

จากการทดลองพบว่าตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาหอยเป่าอื้อแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออกที่อุณหภูมิ 0°C และ 10°C ไม่พบแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮีสติดีนดีคาร์บอกซีเลสซึ่งช่วยเร่งปฏิกิริยาดีคาร์บอกซีเลชันของกรดอะมิโนฮีสติดีนไปเป็นฮีสตามีน

โดยปกติแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮีสติดีนดีคาร์บอกซีเลสพบได้ทั่วไปในวัตถุดิบและสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิตหรือการเก็บรักษา แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮีสติดีนดีคาร์บอกซีเลสมักเป็นแบคทีเรียพวก mesophile ที่สำคัญ ได้แก่ แบคทีเรียในแฟมิลี Enterobacteriaceae เช่น *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* และ *Hafnia alvei* เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียในจีนัส Clostridium และ Lactobacillus สามารถสร้างฮีสตามีนในอาหารได้เช่นกัน (Taylor และคณะ, 1978) Lopez-Sabater และคณะ (1994) พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮีสติดีนดีคาร์บอกซีเลสในเนื้อปลาจากชั้นตอนต่างๆ ในกระบวนการผลิตปลากระป๋องก่อนการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ โดยพบ *Morganella* และ *Enterobacter* spp. ถึง 73% ของปริมาณแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮีสติดีนดีคาร์บอกซีเลสที่พบทั้งหมด ซึ่งโดยปกติจะไม่พบแบคทีเรียเหล่านี้ได้ทั่วไป (natural microflora) ในปลาที่ถูกจับขึ้นมาใหม่ๆ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่สุดที่ควบคุมการเจริญและการสร้างฮีสตามีนของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮีสติดีนดีคาร์บอกซีเลส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *M. morganii* อยู่ที่ 25°C ซึ่งสามารถสร้างฮีสตามีนได้ถึง 5,253 mg/kg ในเวลา 48 ชั่วโมง แต่ไม่พบการเจริญและการสร้างฮีสตามีนของแบคทีเรียชนิดนี้ที่อุณหภูมิ 4°C เนื่องจากอุณหภูมิต่ำมีผลไปลดเมตาบอลิซึมต่างๆ ของเซลล์แบคทีเรีย เช่น การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ หรือการเคลื่อนย้ายสารผ่านเยื่อเซลล์ เป็นต้น จึงทำให้แบคทีเรียพวก mesophile เจริญได้น้อยที่อุณหภูมิ 4°C หรือต่ำกว่า (Kim และคณะ, 2000) สอดคล้องกับผลการทดลองของ Wei และคณะ (1990) ที่พบว่าแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮีสติดีนดีคาร์บอกซีเลส *M. morganii*, *K. oxytoca* และ *H. alvei* ในเนื้อปลาทูน่าไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 2°C ส่วนที่ 10°C แบคทีเรียเพิ่มขึ้นเร็วกว่าที่อุณหภูมิ 2°C และสามารถสร้างฮีสตามีนได้มากกว่า 2,000 mg/kg หลังการเก็บรักษา 15 วัน จากรายงานของ Lopez-Sabater และคณะ (1996) พบว่า *M. morganii*, *K. oxytoca*, *Serratia marcescens*, และ *Plesiomonas shigelloides* ในเนื้อปลาทูน่าที่เก็บรักษาที่ 8°C มีการเจริญและสร้างฮีสตามีนเล็กน้อย หลังจาก 84 ชั่วโมง พบปริมาณฮีสตามีนเพียง 23, 28, 31, และ 43 mg/kg ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิ 0°C แบคทีเรียทั้ง 4 ชนิดไม่สามารถเจริญและสร้างฮีสตามีน

ได้ แม้จะพบ *M. morganii* หรือ *K. oxytoca* ซึ่งถือเป็นแบคทีเรียที่มีศักยภาพสูงที่ทำให้เกิดฮิสตามีนมากถึง 5 log cfu/g เนื่องจากอุณหภูมิไม่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียและไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลส ทำให้เอนไซม์มี activity ต่ำ จึงสร้างฮิสตามีนได้น้อยมาก และจากการศึกษาของ Du และคณะ (2002) พบว่าการเก็บปลาทูน่าที่อุณหภูมิ 0°C เป็นเวลา 9 วัน ปริมาณฮิสตามีนเกิดขึ้นน้อยกว่า 20 mg/kg แม้จะพบแบคทีเรียนี้สูงถึง 6 log cfu/g ในขณะที่การเก็บที่ 10°C และ 22°C ปริมาณแบคทีเรียเพียง 2-3 log cfu/g สามารถสร้างฮิสตามีนได้มากกว่า 50 mg/kg อาจเนื่องจากเป็นแบคทีเรียต่างชนิดกัน โดยแบคทีเรียพวกที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 22°C สามารถสร้างเอนไซม์ที่มี activity สูงกว่าแบคทีเรียพวกที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำกว่า จึงอาจกล่าวได้ว่าชนิดของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดฮิสตามีนมากกว่าปริมาณของแบคทีเรียที่พบ ซึ่งอาจไม่ใช่พวกที่สร้างเอนไซม์ที่มี activity สูง ทำให้เกิดฮิสตามีนได้น้อย

4.2.4 ปริมาณฮิสตามีน

จากการวิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีนในหอยเป่าฮื้อที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก ที่อุณหภูมิ 0°C และ 10°C โดยใช้ชุดทดสอบฮิสตามีน (KIKKOMAN ,Kikkoman Corporation, Japan) ไม่พบฮิสตามีนในเนื้อหอยเป่าฮื้อจากทุกภาวะการเก็บรักษา เนื่องจากไม่พบแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสในหอยเป่าฮื้อดังที่ได้กล่าวถึงในข้อ 4.2.3.2 จึงไม่มีการสร้างเอนไซม์ไปเร่งปฏิกิริยาดีคาร์บอกซีเลชันของกรดอะมิโนฮิสติดีนไปเป็นฮิสตามีน นอกจากนี้ปริมาณกรดอะมิโนฮิสติดีนที่เป็นสารตั้งต้นสำคัญของการเกิดฮิสตามีนในเนื้อหอยเป่าฮื้อมีเพียง 10 mg/100g (Chiou และคณะ, 2002) ทำให้ไม่พบฮิสตามีนในหอยเป่าฮื้อในทุกภาวะการเก็บ โดยปกติปลาที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ histamine fish poisoning เช่น ปลา kahawai kingfish และ albacore มีปริมาณกรดอะมิโนฮิสติดีนสูงกว่า 1,000 mg/100g (Flesher และคณะ, 1995) ส่วนปลาที่ไม่เกี่ยวข้องกับโรคอาหารเป็นพิษนี้ เช่น ปลา sea perch, flounder, และ red snapper มีปริมาณกรดอะมิโนต่ำกว่า 5 mg/100g (Arnold และ Brown, 1978) และการควบคุมการเกิดฮิสตามีนที่ดีที่สุด คือ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0°C หรือที่อุณหภูมิต่ำกว่า ซึ่งอุณหภูมิต่ำช่วยยับยั้งการเจริญและการสร้างฮิสตามีนของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสชนิดที่มีศักยภาพในการสร้างฮิสตามีนได้สูง ซึ่งมักเป็นพวก mesophile เช่น *M. morganii* เป็นต้น (Kim และคณะ, 2000; Du และคณะ, 2002) ในการศึกษาของ Du และคณะ (2002) พบว่าปลาทูน่าที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0°C เป็นเวลา 9 วัน มีปริมาณฮิสตามีนเกิดขึ้นน้อยกว่า 20 mg/kg ในขณะที่การเก็บที่ 10°C พบปริมาณฮิสตามีนสูงกว่า 100

mg/kg หลังการเก็บรักษาเพียง 3 วัน ซึ่งสูงกว่าระดับที่ The Food and Drug Administration (FDA) ได้กำหนดไว้ คือ 50 mg/kg ถือเป็นระดับที่ก่อให้เกิดอันตราย (hazard action level)

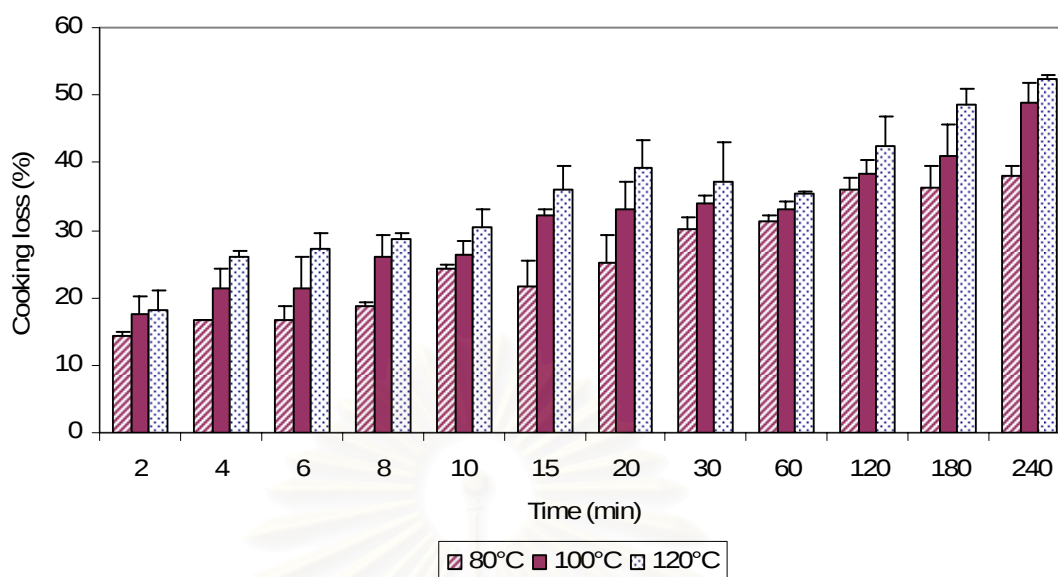
จากการทดลองนี้จึงช่วยยืนยันได้ว่าไม่มีฮิสตามีนเกิดขึ้นในหอยเป่าฮื้อที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวหรือแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก ที่อุณหภูมิ 0°C เป็นเวลา 21 วัน และที่ 10°C เป็นเวลา 7 วัน หอยเป่าฮื้อนี้มีความปลอดภัยไม่ทำให้เกิดปัญหาโรคอาหารเป็นพิษ histamine fish poisoning

4.3 ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยเป่าฮื้อ

กระบวนการแปรรูปเนื้อสัตว์ด้วยความร้อนมีอิทธิพลต่อเนื้อสัมผัส การเปลี่ยนแปลงของโปรตีน ปริมาณผลผลิต (cooking yield) และปัจจัยคุณภาพคุณภาพที่สำคัญอื่นๆ เช่น ความชุ่มน้ำ (juiciness) สี กลิ่นรส เป็นต้น ซึ่งมีความสัมพันธ์กับความน่ารับประทานและการยอมรับต่อผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภค (Califano และคณะ, 1997) และเนื่องจากการแปรรูปหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุฟอรัทเพาซ์เป็นการแปรรูปอาหารโดยใช้ความร้อนสูง ย่อมมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ด้วย การวิจัยส่วนนี้จึงศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยเป่าฮื้อ โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C โดยใช้อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ และที่อุณหภูมิ 100°C และ 120°C ให้ความร้อนผ่านน้ำมันพืชในหม้อทอดควบคุมอุณหภูมิ เป็นระยะเวลา 2-240 นาที

4.3.1 ปริมาณ cooking loss

จากการทดลองเมื่อให้ความร้อนเนื้อหอยเป่าฮื้อที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที พบว่าปริมาณ cooking loss มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น (ดังรูปที่ 4.1 และดูรายละเอียดข้อมูลเพิ่มเติมในภาคผนวก ณ.1) โดยการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อน (Laakkonen และคณะ, 1970; Bouton, Harris, และ Shorthose, 1975; Offer และคณะ, 1989) สอดคล้องกับการทดลองของ Chiou และคณะ (2004) ที่พบว่าเมื่อให้ความร้อนเนื้อหอยเป่าฮื้อ small abalone (*H. diversicolor*) ที่อุณหภูมิ 98°C ทำให้เกิดการสูญเสียความชื้นและน้ำหนักมากกว่าที่ 80°C และรายงานของ Gao และ Ogawa (2002) ที่พบว่าการต้มเนื้อหอยเป่าฮื้อ *H. discus* เป็นเวลา 1-3 ชั่วโมง เนื้อหอยสูญเสียน้ำหนักถึง 34%-39%



รูปที่ 4.1 ปริมาณ cooking loss ของเนื้อหอยเป่าที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที

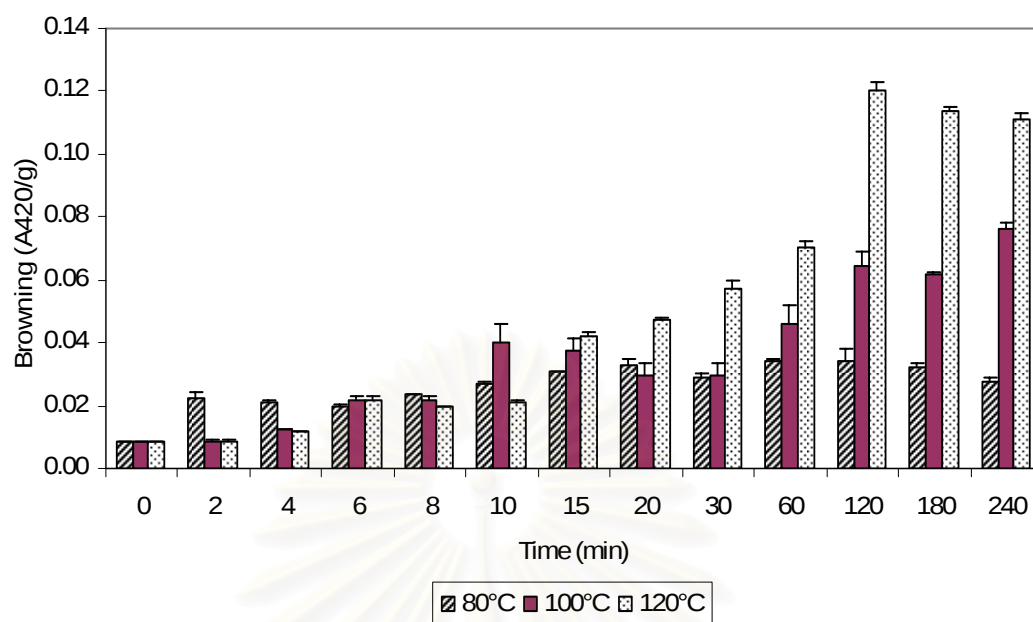
การเปลี่ยนแปลงเนื่องจากความร้อนของโปรตีนโครงสร้าง 2 ชนิด คือ actomyosin complex และ คอลลาเจน มีผลต่อการสูญเสียของน้ำของเนื้อ (Bailey และ Light, 1989; Tyszkiewicz, 1979) โดยไมโอซินเกิดการเสียสภาพที่อุณหภูมิ 40°C-60°C แอ็กตินเสียสภาพที่ 66°C-73°C และคอลลาเจนเกิดการหดตัวที่ 56°C-62°C ซึ่งการหดตัวของโปรตีนดังกล่าวเป็นสาเหตุทำให้น้ำที่อยู่ในกล้ามเนื้อถูกขับออกมา (Marten และคณะ, 1982) Gao และคณะ (2001) ศึกษาการเสียสภาพของโปรตีนกล้ามเนื้อหอยเป่าด้วยวิธี differential scanning calorimetry (DSC) พบว่าอุณหภูมิที่ไมโอซิน คอลลาเจน และแอ็กติน เกิดการเสียสภาพเท่ากับ 51.3°C 57.5°C และ 68.3°C ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ Offer และคณะ (1984) Palka และ Daun (1999) และ Bertola และคณะ (1994) ที่รายงานว่าน้ำในเนื้อหอยเป่าอยู่ส่วนใหญ่อยู่อในช่องว่างระหว่างเส้นใยกล้ามเนื้อ การสูญเสียของน้ำเนื่องจากความร้อนเกี่ยวข้องกับการหดตัวของกล้ามเนื้อ 2 ช่วง (phase) การหดตัวครั้งแรกเกิดที่อุณหภูมิ 45°C-60°C โดยกล้ามเนื้อเกิดการหดตัวตามขวาง (transverse) กับแนวแกนเส้นใย (fiber axis) ซึ่งอาจเกิดจากการเสียสภาพของไมโอซินมีผลทำให้เกิดการสูญเสียในเนื้อไปปริมาณมาก และการหดตัวครั้งที่สองเกิดการหดตัวตามยาว (parallel) ที่อุณหภูมิ 60°C-90°C ซึ่งอาจเกิดจากการเสียสภาพของ actomyosin complex และนอกจากนี้การหดตัวของกล้ามเนื้อเนื่องจากความร้อนยังมีความสัมพันธ์กับการหดสั้นลงของซาร์โคเมอร์ ซึ่งความยาวซาร์โคเมอร์ที่สั้นลงมีผลให้เกิดการสูญเสียของน้ำของเนื้อด้วย (Laakkonen และคณะ, 1970; Bouton และคณะ, 1975; Findlay, Stanley, และ Gullet, 1986)

จากการศึกษาของ Palka และ Daun (1999) พบว่าการเปลี่ยนแปลงความยาวของซาร์โคเมอร์แปรผกผันกับปริมาณ cooking loss โดยเมื่ออุณหภูมิการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น ทำให้ความยาวของซาร์โคเมอร์สั้นลงอย่างเห็นได้ชัด ในขณะที่ปริมาณ cooking loss เพิ่มขึ้น และพบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50°C-90°C เท่านั้น ที่ปริมาณ cooking loss ที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับค่า hardness ที่เพิ่มขึ้นด้วย แต่เมื่อให้ความร้อนสูงขึ้นอีก ค่า hardness กลับมีแนวโน้มลดลง แม้ปริมาณ cooking loss เพิ่มขึ้นก็ตาม อาจเนื่องมาจากคอลลาเจนเปลี่ยนไปเป็นเจลาตินทำให้เนื้อนุ่มขึ้น แต่จากการทดลองให้ความร้อนแก่เนื้อหอยเป่าฮื้อที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที พบว่าปริมาณ cooking loss ที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลทำให้ความเหนียวของเนื้อหอยเป่าฮื้อเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.4) และไม่พบความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงปริมาณ cooking loss กับค่า toughness

4.3.2 Degree of browning

อุณหภูมิและระยะเวลาการให้ความร้อนมีอิทธิพลร่วมกันต่อการเกิดสีน้ำตาลอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อให้ความร้อนเนื้อหอยเป่าฮื้อที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที การเกิดสีน้ำตาลของเนื้อหอยเป่าฮื้อมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.2 และดูรายละเอียดข้อมูลเพิ่มเติมในภาคผนวก ฉ.2) สีน้ำตาลของเนื้อหอยเป่าฮื้อเกิดได้ดีเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 80°C โดยจะเห็นว่าที่ 80°C การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อหอยค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการให้ความร้อน 4 ชั่วโมง แต่เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C การเกิดสีน้ำตาลเพิ่มสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดหลังผ่านความร้อนเป็นเวลา 60 นาที ขึ้นไป ในขณะที่การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120°C สีน้ำตาลเกิดได้เร็วและมากกว่าอย่างเห็นได้ชัดหลังให้ความร้อนเพียง 20 นาที เมื่อเทียบกับที่อุณหภูมิ 80°C และ 100°C

Kawashima และ Yamanaka (1996) รายงานว่าเนื้อหอย scallop มีสีน้ำตาลมากขึ้นหลังผ่านการให้ความร้อนเนื่องจากเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดของ sugar phosphate โดยเฉพาะ glucose-6-phosphate กับกรดอะมิโนอิสระ เช่น taurine และ alanine เช่นเดียวกับการเกิดสีน้ำตาลที่พบในเนื้อหอยเป่าฮื้อ *H. disversicolor* (Chiou และคณะ, 2004) นอกจากนี้ Nakayama และ Kimura (1979) และ Kawashima และ Yamanaka (1995, 1996) พบว่าปริมาณ glucose-6-phosphate มีความสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อหอยแครงเป็นอย่างมาก

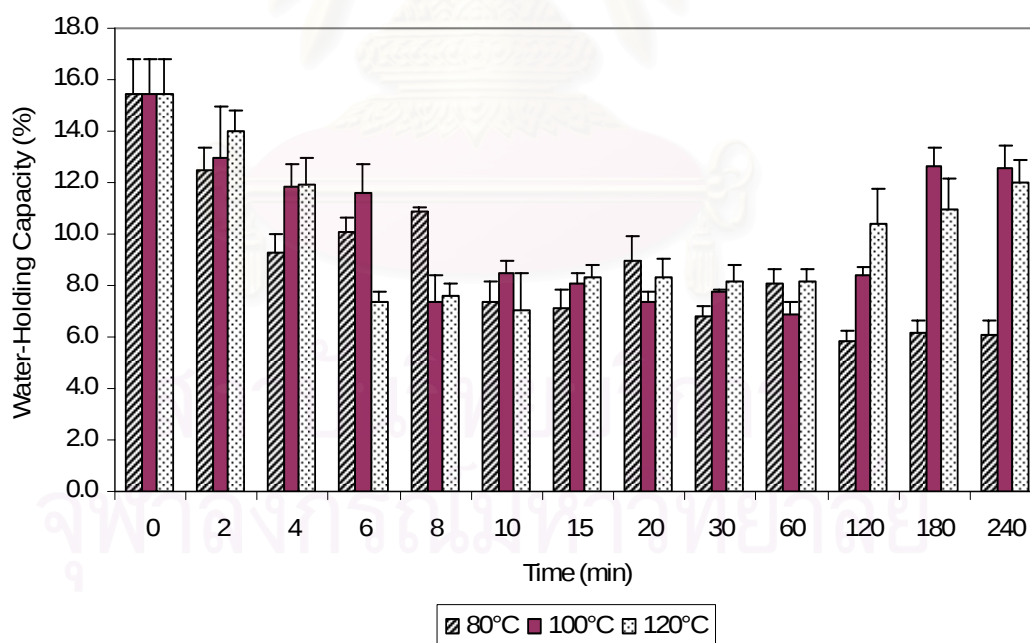


รูปที่ 4.2 การเกิดสีน้ำตาลของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที

การเกิดสีน้ำตาลของเนื้อหอยแครงทั้งชนิดแห้งและบรรจุกระป๋องนั้นเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการแปรรูป (Kawashima และ Yamanaka, 1995) ซึ่งในภาวะที่กรดอะมิโนอิสระ และ glucose-6-phosphate รวมถึงน้ำตาลอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลมีปริมาณสูง ทำให้เกิดสีน้ำตาลขึ้นได้ในระหว่างกระบวนการทำแห้งหรือกระบวนการให้ความร้อนอื่นๆ ได้ (Wongso และ Yamanaka, 1998) ปฏิกิริยาเมลลาร์ดเกิดขึ้นที่อุณหภูมิสูงประมาณ 90°C (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529) อัตราการเกิดสีน้ำตาลในอาหารขึ้นกับองค์ประกอบของอาหาร และปัจจัยอื่นๆ เช่น ค่า pH ค่า water activity เป็นต้น (Kumar และคณะ, 2006) แต่ปัจจัยสำคัญที่สุดที่มีผลต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาคือ อุณหภูมิ (Carabasa และ Ibarz, 2000) อัตราเร็วของปฏิกิริยาเมลลาร์ดจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ดังนั้นในภาวะที่สารตั้งต้นมีความเข้มข้นสูงและอุณหภูมิสูงปฏิกิริยาจะเกิดได้เร็วมาก เนื่องจากเกิด autocatalytic อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นเป็น 2-3 เท่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นทุกๆ 10°C (นิธิยา รัตนปนนท์, 2545) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Chiou และคณะ (2004) ที่พบว่า การเกิดสีน้ำตาลของเนื้อหอยเป่าฮื้อ *H. diversicolor* ที่ 98°C เกิดได้มากกว่าที่ 80°C

4.3.3 Water-holding capacity (WHC)

การให้ความร้อนแก่เนื้อหอยเป่าฮื้อที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C ในช่วง 0-10 นาที มีผลให้ค่า WHC ลดลง ดังรูปที่ 4.3 (ดูรายละเอียดข้อมูลเพิ่มเติมในภาคผนวก ณ.3) การลดลงของค่า WHC นี้เกิดจากการเสียสภาพของโปรตีน เกิดการหดตัวของไมโอไฟบริลที่อุณหภูมิประมาณ 40°C-50°C (Cheng และ Parrish, 1976; Davey และ Gilbert, 1974; Jones และคณะ, 1977) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเกิดการหดตัวเหลือ 1 ใน 3 ของความยาวเดิมที่อุณหภูมิ 60°C-65°C ทำให้สูญเสียน้ำออกไปจากกล้ามเนื้อ (มาลัยวรรณ และ วรรณวิบูลย์, 2540; Davey และ Gilbert, 1974) เนื่องจากน้ำในเนื้อส่วนใหญ่อยู่ในช่องว่างระหว่างเส้นใยหนาและเส้นใยบางของไมโอไฟบริลซึ่งถูกห่อหุ้มด้วยโครงข่ายของคอลลาเจน (collagen network) การหดตัวของกล้ามเนื้อเนื่องจากความร้อน ทำให้น้ำส่วนนี้ถูกบีบออกมาจากเนื้อ (Zayas, 1997) Hamm (1970) อธิบายว่าการจัดเรียงตัวของเส้นใยไมโอไฟบริลมีบทบาทอย่างมากในการกักเก็บน้ำอิสระไว้ในกล้ามเนื้อ ดังนั้นการจับตัวกันแน่นขึ้นของโปรตีนกล้ามเนื้อเนื่องจากการเสียสภาพของโปรตีน จึงอาจเป็นสาเหตุทำให้สูญเสียความสามารถในการจับน้ำได้



รูปที่ 4.3 water-holding capacity ของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที

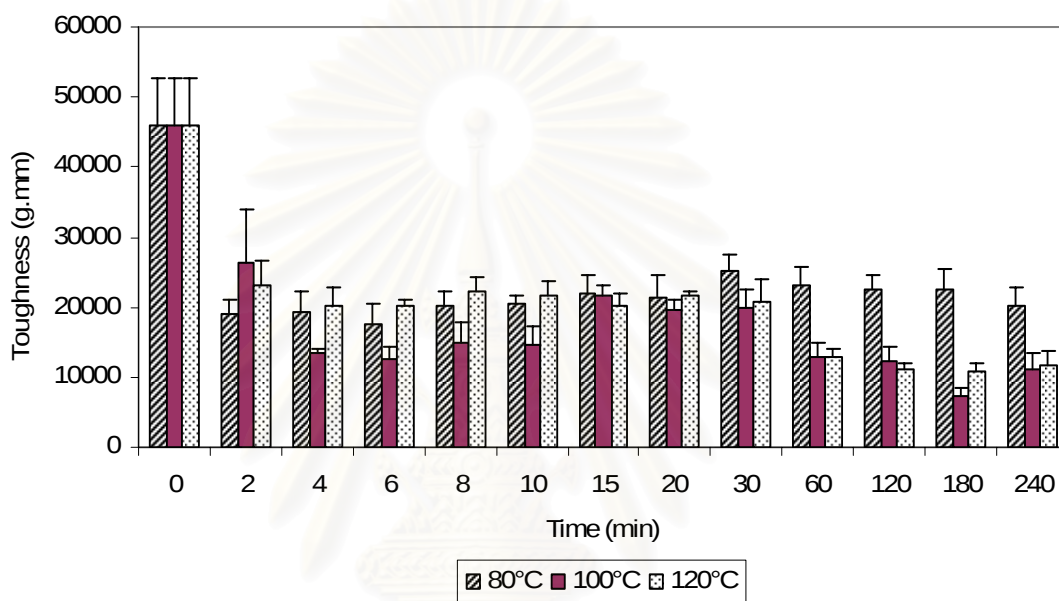
ค่า WHC มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นหลังการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C และ 120°C เป็นเวลา 60 นาที เนื่องจากคอลลาเจนเปลี่ยนไปเป็นเจลาติน ซึ่งอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้มากขึ้น ทำให้สามารถจับกับน้ำได้มากขึ้น (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529) ส่วนการให้ความร้อนที่ 80°C ค่า WHC ไม่เพิ่มขึ้นและค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการให้ความร้อน แม้ว่าที่อุณหภูมิ 80°C คอลลาเจนที่เป็นองค์ประกอบในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบริเวณเพอริไมเซียบางส่วนเริ่มเปลี่ยนไปเป็นเจลาตินบ้างแล้วก็ตาม (Cheng และ Parrish, 1976; Jones และคณะ, 1977; Larick และ Turner, 1992) ทั้งนี้เนื่องจากคอลลาเจนส่วนใหญ่เปลี่ยนไปเป็นเจลาตินที่อุณหภูมิสูงกว่า 80°C (Davey และ Gilbert, 1974) Ledward (1984) รายงานว่าแม้ว่ากระบวนการที่คอลลาเจนเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้จะเกิดขึ้นได้ที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิการหดตัวของคอลลาเจน แต่ก็พบว่าที่อุณหภูมิต่ำกว่า 90°C อัตราการเปลี่ยนแปลงเกิดได้ช้ากว่าที่อุณหภูมิ 100°C ซึ่งอัตราการเกิดจะเพิ่มขึ้นมากกว่าอย่างเห็นได้ชัด

4.3.4 ลักษณะเนื้อสัมผัส

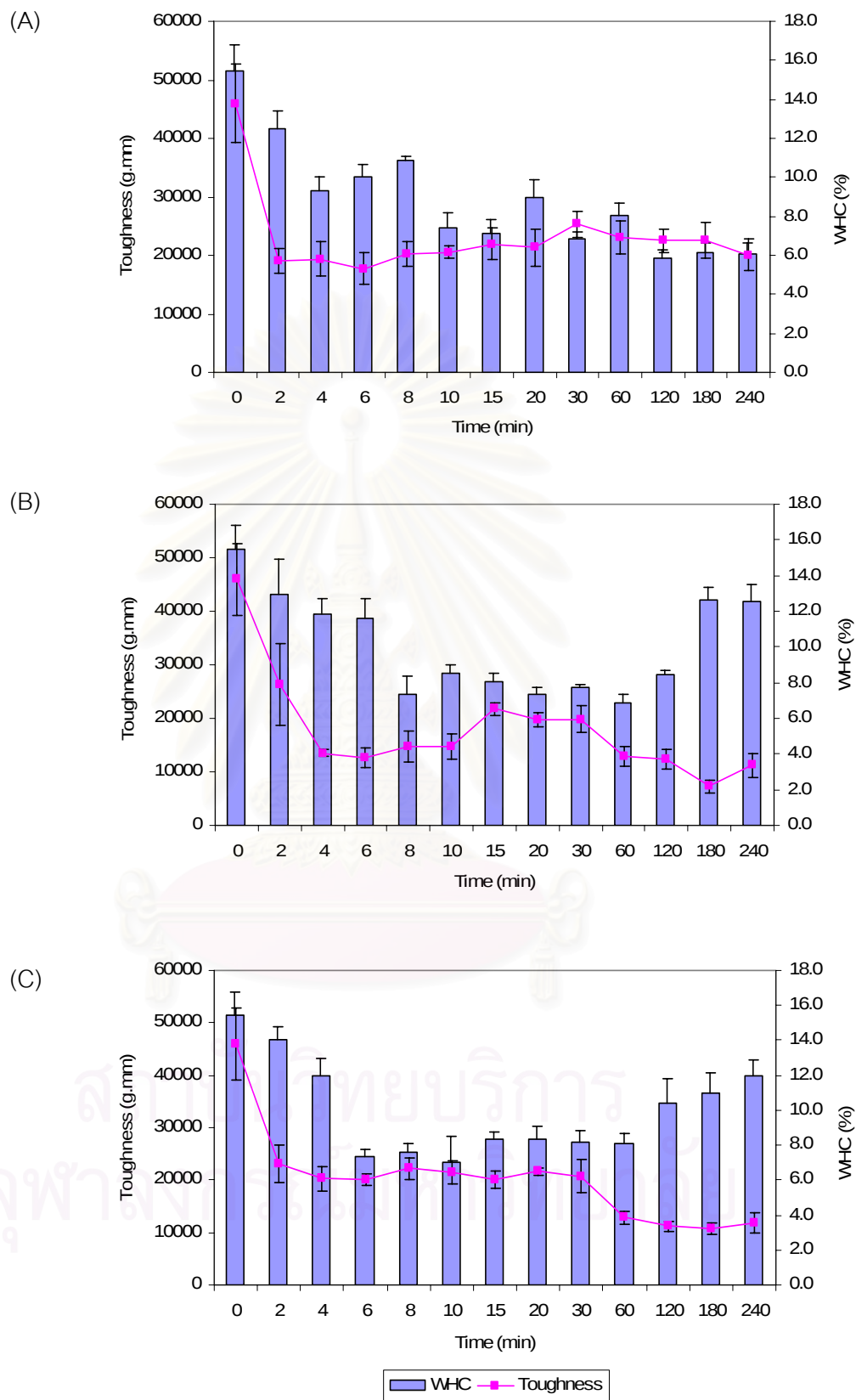
ค่า toughness ของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที ลดลงในช่วง 10 นาทีแรกของการให้ความร้อน (ดังรูปที่ 4.4 และดูรายละเอียดข้อมูลเพิ่มเติมในภาคผนวก ฉ.4) และจะเห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของค่า toughness ที่ลดลงสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของค่า WHC ที่มีแนวโน้มลดลงในช่วงแรกของการให้ความร้อนด้วยเช่นกัน (แสดงในรูปที่ 4.5) อาจเนื่องมาจากเกิดการเสียสภาพของโปรตีนเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน มีผลทำให้ความแข็งแรงของโครงร่างเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue network) ลดลง ซึ่งเกิดพร้อมกับการหดตัวของคอลลาเจนที่อุณหภูมิประมาณ 55°C-65°C (Ledward, 1979) โดยคอลลาเจนของเนื้อหอยเป่าฮื้อเกิดการเสียสภาพที่อุณหภูมิ 57.5°C (Gao และคณะ, 2001) ในขณะที่คอลลาเจนเกิดการหดตัวเนื่องจากความร้อน จะมีชิ้นส่วนที่ละลายน้ำได้ (soluble fragments) ของเส้นใยบางส่วนละลายออกมา และทำให้ความเหนียวลดลงได้ (Ledward, 1979) โดยปกติเนื้อหอยเป่าฮื้อประกอบด้วยคอลลาเจนสูงถึง 30%-50% ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด (Olaechea และคณะ, 1993) การเปลี่ยนแปลงของคอลลาเจนเนื่องจากความร้อนจึงมีอิทธิพลต่อเนื้อสัมผัสของหอยเป่าฮื้อมาก ในขณะที่ myofibrillar protein แทบไม่มีบทบาทต่อเนื้อสัมผัสเลย (Ochiai และคณะ, 1985; Olaechea และคณะ, 1993)

เมื่อระยะเวลาการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น พบว่า เนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C และ 120°C มีค่า toughness ลดลงอย่างเห็นได้ชัดหลังการให้ความร้อน 60 นาทีขึ้นไป เช่นเดียวกับที่พบว่าค่า WHC เพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.5) คาดว่าเนื่องมาจากคอลลาเจนเปลี่ยนไป

เป็นเจลตินอย่างสมบูรณ์ น้ำถูกจับไว้ในเนื้อมากขึ้น จึงทำให้เนื้อสัมผัสนุ่มมากขึ้นด้วย (Gao และ คณะ, 2001) ในขณะที่การให้ความร้อนที่ 80°C ค่า toughness ค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการให้ความร้อน (รูปที่ 4.4) เนื่องจากคอลลาเจนเปลี่ยนไปเป็นเจลตินได้ดีที่อุณหภูมิสูงกว่า 80°C และอัตราการเกิดเจลตินจะเพิ่มขึ้นเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า (Davey และ Gilbert, 1974; Ledward, 1984) จึงทำให้ค่า toughness มีการเปลี่ยนแปลงน้อย



รูปที่ 4.4 ค่า toughness ของหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที



รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงค่า toughness กับ ค่า water-holding capacity (WHC) ของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่ (A) 80°C (B) 100°C และ (C) 120°C

4.3.5 Kinetic parameters ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อ หอยเป่าฮื้อ

จากการทดลองพบว่าการเปลี่ยนแปลงคุณภาพต่างๆ ของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อน ซึ่งได้แก่ ปริมาณ cooking loss ค่า degree of browning ค่า WHC และค่า toughness สามารถอธิบายได้ด้วยปฏิกิริยาแบบ first order kinetic ดังสมการข้างล่าง

$$\begin{aligned} - (dQ/dt) &= kQ \\ \int_{Q_0}^{Q_t} (1/Q) dQ &= - \int_0^t k dt \\ \ln Q - \ln Q_0 &= -kt \\ \ln Q/Q_0 &= -kt \end{aligned} \quad \text{----- (1)}$$

เมื่อ Q_t : ลักษณะคุณภาพที่วิเคราะห์ที่เวลาใดๆ
 Q_0 : ลักษณะคุณภาพที่วิเคราะห์ที่เวลาเริ่มต้น
 k : rate constant (นาที่⁻¹)
 t : เวลาในการให้ความร้อน (นาที่)

Rizvi และ Tong (1997) กำหนดให้

$$\text{fractional conversion (f)} = (Q_0 - Q_t)/(Q_0 - Q_\infty)$$

โดย Q_0 : ลักษณะคุณภาพที่วิเคราะห์ที่เวลาเริ่มต้น
 Q_t : ลักษณะคุณภาพที่วิเคราะห์ที่เวลาใดๆ
 Q_∞ : ลักษณะคุณภาพที่วิเคราะห์ที่ระยะเวลาการให้ความร้อน 240 นาที

แทนค่า fractional conversion ลงในสมการ (1)

$$\text{จะได้ } \ln Q_t/Q_0 = \ln (1-f) = -kt \quad \text{----- (2)}$$

เมื่อสร้างกราฟระหว่าง $\ln (1-f)$ กับระยะเวลาการให้ความร้อน (t) ความชันของกราฟที่ได้ คือ ค่า rate constant ของปฏิกิริยา (แสดงในตารางที่ 4.5 และภาคผนวก ญ.1-ญ.4)

การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหาร เช่น เนื้อสัมผัส ที่ปฏิกิริยาอธิบายได้ด้วย first order kinetic อัตราเร็วของปฏิกิริยาแบ่งเป็น 2 ช่วง หรือเรียกว่า dual mechanism first order kinetic ช่วงแรกกราฟการเปลี่ยนแปลงคุณภาพกับเวลามีความชันมาก ซึ่งหมายถึงอัตราเร็วของ

ปฏิกิริยาสูง และช่วงต่อมากราฟมีความชันต่ำ แสดงว่าอัตราเร็วของปฏิกิริยาเกิดได้ช้า ค่า rate constant และ activation energy (E_a) ของปฏิกิริยาแต่ละช่วงจะถูกคำนวณแยกกัน ดังนั้นการทำนายการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหารจึงต้องใช้พารามิเตอร์ที่ได้ทั้งสองค่าจากปฏิกิริยาแต่ละช่วงมาทำนาย

การนำเทคนิค fractional conversion มาใช้ ทำให้สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหารจาก dual mechanism first order kinetic ให้เป็น simple first order kinetic และสามารถนำพารามิเตอร์ที่ได้มาทำนายการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหาร (โดยใช้สมการ (3)) ได้อย่างถูกต้อง น่าเชื่อถือ และใช้ได้สะดวกมากกว่าการอธิบายด้วย dual mechanism first order kinetic

$$Q_t = Q_x + (Q_0 - Q_x) \exp(-kt) \quad \text{----- (3)}$$

นอกจากนี้การใช้ fractional conversion ยังช่วยกำจัดความแปรปรวน (variability) ที่อาจมีผลต่อค่า rate constant ที่คำนวณได้ เช่น การใช้วิธีการวัด หรือพารามิเตอร์ที่ใช้ในการวัด หรือวิธีการเตรียมตัวอย่างที่แตกต่างกันมีผลทำให้ rate constant ที่คำนวณได้แตกต่างกัน แม้ว่า จะให้ความร้อนที่อุณหภูมิเดียวกัน Rizvi และ Tong (1997) ได้ยกตัวอย่างการเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสของแครอทที่ผ่านการลวกที่ 74°C เป็นเวลา 4 นาที (Bourne, 1987) และไม่ผ่านการลวก (Heil และ McCarty, 1989) ก่อนให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C โดยใช้เครื่องมือวัดและพารามิเตอร์ที่ใช้ในการวัดต่างกัน พบว่าเมื่อสร้างกราฟ $\log(\text{firmness})$ กับเวลา การเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสเป็นแบบ dual mechanism และได้ rate constant ของปฏิกิริยาในช่วงแรกแตกต่างกัน แต่เมื่อนำเทคนิค fractional conversion มาใช้ ทำให้อธิบายการเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสของแครอทด้วยปฏิกิริยา simple first order kinetic ได้เนื่องจากการใช้ fractional conversion จะนำค่าที่ได้จากการวัดลักษณะคุณภาพหลังจากการให้ความร้อนเป็นระยะเวลานานมาก (Q_x) มาใช้ในการคำนวณด้วย ทำให้ได้ rate constant เพียงค่าเดียวและค่าที่ได้จากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิเดียวกันมีค่าเท่ากันด้วย เมื่อนำ rate constant ที่ได้นี้มาทำนายการเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสของแครอทตามสมการ (3) พบว่าค่าความแข็งของแครอทที่คำนวณได้มีความถูกต้องและใกล้เคียงกับค่าที่วัดได้จากการทดลองมาก แสดงให้เห็นว่าเทคนิค fractional conversion เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ สามารถทำนายการเปลี่ยนแปลงคุณภาพได้อย่างถูกต้องและน่าเชื่อถือด้วย

ความสัมพันธ์ระหว่าง rate constant และ activation energy เป็นไปตามสมการ Arrhenius คือ

$$\ln k = \ln A - (E_a/RT) \quad \text{----- (4)}$$

เมื่อ A : ค่าคงที่สำหรับปฏิกิริยาหนึ่งๆ

E_a : activation energy (kcal/mol.K)

R : ค่าคงที่ของก๊าซ = 1.987 kcal/mol.K หรือ 8.314 kJ/mol.K

T : อุณหภูมิ (K)

เมื่อสร้างกราฟระหว่าง $\ln k$ กับ $1/T$ จะได้ค่า activation energy ของการเปลี่ยนแปลง (แสดงในตาราง 4.5 และภาคผนวก ญ.5)

ยกตัวอย่างการคำนวณ activation energy ของการเปลี่ยนแปลงค่า degree of browning ตามสมการ (5) โดยสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟระหว่าง $\ln k$ (แกน y) กับ $1/T$ (แกน x) ของค่า degree of browning คือ $y = 3.184x - 4.2559$ ($R^2 = 0.9962$) (แสดงในภาคผนวก ญ.6)

$$\text{ความชันของกราฟ} = E_a/R \quad \text{----- (5)}$$

$$\text{จะได้ว่า } E_a/R = 3.184$$

$$E_a/1.987 = 3.184$$

$$E_a = 6.33 \text{ kcal/mol.K}$$

จากตารางที่ 4.5 พบว่าอัตราการเปลี่ยนแปลงปริมาณ cooking loss ค่า degree of browning ค่า WHC และค่า toughness เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิการให้ความร้อน และค่า E_a ของปริมาณ cooking loss ค่า degree of browning ค่า WHC และค่า toughness เท่ากับ 6.23 ($R^2 = 0.9617$), 6.33 ($R^2 = 0.9962$), 7.09 ($R^2 = 0.9983$), และ 13.34 ($R^2 = 0.9019$) kcal/mol.K ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ Ma และคณะ (1983) ที่พบว่าการเปลี่ยนแปลงความนุ่มของเนื้อกุ้งกระป๋องที่ฆ่าเชื้อที่ 115°C 124°C 133°C และ 140°C สามารถอธิบายได้ด้วยปฏิกิริยาแบบ first order kinetic มีค่า k เท่ากับ 0.025, 0.048, 0.10, และ 0.17 min⁻¹ ตามลำดับ โดยอัตราการเปลี่ยนแปลงจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น ส่วนค่า E_a ของการเปลี่ยนแปลงเท่ากับ 24 kcal/mol.K ซึ่งค่า k และ E_a ที่คำนวณได้สามารถนำไปทำนายการเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสระหว่างกระบวนการให้ความร้อนของเนื้อกุ้งได้ และจากการศึกษาของ Bertola และคณะ (1994) พบว่าอัตราการสูญเสียน้ำหนักและการเปลี่ยนแปลงความนุ่มของเนื้อเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิการให้ความร้อน ค่า E_a ของการเปลี่ยนแปลงเท่ากับ 13.13 kcal/mol.K และ 144.50 kcal/mol.K

ตามลำดับ Ateba และ Mittal (1994) พบว่าการเปลี่ยนแปลงสีโดยรวมของลูกชิ้นเนื้อทอดสามารถอธิบายได้ด้วยปฏิกิริยา first order kinetic อัตราเร็วของการเปลี่ยนแปลงสีเท่ากับ $9.12 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ และ E_a เท่ากับ 4.03 kcal/mol.K และจากการทดลองให้ความร้อนแก่อหอยเป่าฮื้อจะเห็นว่า E_a ของการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อหอยเป่าฮื้อเท่ากับ 6.33 kcal/mol ซึ่งต่ำกว่า E_a การเกิดสีน้ำตาลของเต้าหู้ทอด (18.16 kcal/mol.K) (Baik และ Mittal, 2003) และขนม gulabjaman ทอด (10.40 kcal/mol.K) (Kumar และคณะ, 2003) แต่มีค่าสูงกว่าการเกิดสีน้ำตาลของลูกชิ้นเนื้อทอด (Ateba และ Mittal, 1994) อัตราการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดของอาหารที่ต่างกัน อาจเกิดจากองค์ประกอบในอาหารและปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการเกิดสีน้ำตาล เช่น อุณหภูมิ ค่า pH ค่า water activity เป็นต้น มีความแตกต่างกัน ทำให้ E_a ของอาหารแต่ละชนิดต่างกัน (Kumar และคณะ, 2006)

ตารางที่ 4.5 rate constant และ activation energy ของการเปลี่ยนแปลงคุณภาพต่างๆของเนื้อหอยเป่าฮื้อ *H. asinina* ในระหว่างการให้ความร้อน

ลักษณะทางคุณภาพ	อุณหภูมิ (°C)	k (min ⁻¹)	* R ²	Ea (kcal.mol ⁻¹ .K)	** R ²
Cooking loss	80	0.0197	0.9766	6.23	0.9617
	100	0.0272	0.9176		
	120	0.0489	0.9733		
Degree of browning	80	0.0084	0.8990	6.33	0.9926
	100	0.0143	0.9903		
	120	0.0210	0.9554		
WHC	80	0.0786	0.8644	7.09	0.9983
	100	0.1401	0.9766		
	120	0.2196	0.9694		
Toughness	80	0.0044	0.6719	13.34	0.9019
	100	0.0210	0.9920		
	120	0.0299	0.9647		

* R² ของ rate constant

** R² ของ activation energy

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพต่างๆ ของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนซึ่งได้แก่ ปริมาณ cooking loss ค่า degree of browning ค่า WHC และค่า toughness ทำให้ได้ rate constant และ activation energy ของการเปลี่ยนแปลงคุณภาพต่างๆ ของหอยเป่าฮื้อ ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์เพื่อกำหนดภาวะการให้ความร้อนที่เหมาะสมของเนื้อหอยเพื่อรักษาคุณภาพ เมื่อเปรียบเทียบอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพอาหารกับอัตราการทำลายจุลินทรีย์ที่สำคัญในอาหาร เช่น *Clostridium botulinum* เป็นต้น ถ้าอัตราการทำลายจุลินทรีย์สูงกว่าอัตราการทำลายคุณภาพอาหาร แสดงว่าภาวะดังกล่าวเหมาะสมที่จะใช้การผลิตอาหาร แต่ในทางกลับกันถ้าอัตราการทำลายจุลินทรีย์ต่ำกว่าอัตราการสูญเสียคุณภาพอาหาร การเลือกภาวะดังกล่าวจึงไม่เหมาะสมต่ออาหารนั้น เพราะแม้ให้ความร้อนเพื่อทำลายจุลินทรีย์จนปลอดภัย แต่กลับทำให้อาหารสูญเสียคุณภาพไม่เป็นที่ยอมรับ

4.4 กระบวนการฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์

4.4.1 การแทรกผ่านความร้อนและเวลาในกระบวนการฆ่าเชื้อ

จากการศึกษาการแทรกผ่านความร้อนของผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ ขนาด 130 มิลลิเมตร×170 มิลลิเมตร น้ำหนักสุทธิ 150 กรัม โดยอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 50°C ให้ความร้อนที่อุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ 110°C เป็นเวลา 50 นาที จากการทดลองเดินเครื่องฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง จะเลือกนำข้อมูลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิกับเวลาที่ได้จากภาวะการฆ่าเชื้อที่แย่ที่สุด คือ เมื่อสิ้นสุดช่วงการฆ่าเชื้อ 50 นาที ทำให้ได้ F_0 เท่ากับ 3.8 นาที (ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิกับเวลาอีกชุดหนึ่งได้ F_0 เท่ากับ 3.9 นาที) มาสร้างกราฟการแทรกผ่านความร้อน heat penetration parameter ที่ได้จากกราฟ คือ $f_h = 6.7$ นาที และ $j = 1.059$ (การคำนวณแสดงในภาคผนวก จ.1)

4.4.2 จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อไม่เพียงพอ

เนื่องจากผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์เป็นผลิตภัณฑ์อาหารชนิดใหม่ยังขาดข้อมูลเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอาหาร จึงจำเป็นต้องศึกษาจุลินทรีย์ที่มีในวัตถุดิบหรือปนเปื้อนจากขั้นตอนต่างๆ ของกระบวนการผลิตซึ่งอาจเป็นอันตรายหรือเป็นสาเหตุของการเน่าเสียของอาหาร

การกำหนดการฆ่าเชื้อให้ได้ F_0 เท่ากับ 2 นาที กำหนดขึ้นเพื่อเลียนแบบสภาวะการผลิตที่มีโอกาสเกิดขึ้นจากความผิดพลาดต่างๆ ทำให้อาหารได้รับการฆ่าเชื้อไม่เพียงพอ จึงมีความเสี่ยงที่จะก่ออันตรายแก่ผู้บริโภคหรืออาจเกิดการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นในการทดลองจึงเลือกศึกษาจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ *Clostridium botulinum* และ *Bacillus stearothermophilus* ในผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อไม่เพียงพอ เนื่องจากผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์จัดเป็นอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ จุลินทรีย์สำคัญที่ทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค คือ *C. botulinum* ซึ่งมักใช้เป็นดัชนีบ่งชี้การฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ไม่เพียงพอ ส่วน *B. stearothermophilus* เป็นแบคทีเรียที่ทนความร้อนมากที่สุด ($D_{121.1^\circ\text{C}}$ เท่ากับ 4-5 นาที) และทำให้อาหารเน่าเสียแบบ flat sour

จากการทดลองไม่พบ *C. botulinum* และ *B. stearothermophilus* ในผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อไม่เพียงพอ (ค่า F_0 เท่ากับ 2 นาที) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องนาน 6 เดือน การที่ไม่พบเชื้อ *B. stearothermophilus* อาจเนื่องจากการเลือกใช้วัตถุดิบหรือส่วนผสมต่างๆ ที่ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าว ซึ่งแม้ว่าโดยปกติ *B. stearothermophilus* พบกระจายทั่วไปในดิน น้ำ หรือพืชทั่วไป และการปนเปื้อนในอาหารกระป๋องอาจเกิดจากการปนเปื้อนของวัตถุดิบ หรือส่วนผสม เช่น น้ำตาล แป้ง เครื่องเทศ เป็นต้น การเลือกใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพจึงช่วยลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนของเชื้อนี้ได้ และในขั้นตอนหลังผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว อาหารถูกลดอุณหภูมิให้เย็นลงอย่างรวดเร็วจะช่วยทำลายเชื้อได้ เนื่องจากเกิด heat shock (ปริยา วิบูลย์เศรษฐ์, 2538)

การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องช่วยป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อได้ ที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิไม่เกิน $30-35^\circ\text{C}$) เป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของ *B. stearothermophilus* ซึ่งปกติเชื้อนี้เจริญได้ดีที่ 55°C และสามารถเจริญได้แม้อุณหภูมิสูงถึง $65^\circ\text{C}-75^\circ\text{C}$ นอกจากนี้การใช้กรดอินทรีย์หรือการใช้โซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 0.5 mol/L (หรือประมาณร้อยละ 2.9) มีผลไปลดความสามารถต้านทานความร้อนของเชื้อได้ (Kotzekidou, 2000) ซึ่งในผลิตภัณฑ์ที่ผลิตใช้น้ำเกลือความเข้มข้น 2% จึงมีผลให้ความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ลดลงด้วย

นอกจากนี้ไม่พบ *C. botulinum* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สำคัญที่สุดในอุตสาหกรรมอาหารกระป๋องชนิดที่มีความเป็นกรดต่ำ เนื่องจากสามารถสร้างสารพิษที่อันตรายมาก สปอร์ของจุลินทรีย์ *C. botulinum* สามารถพบได้ทั่วไปทั้งในดิน ชายฝั่งทะเล ในน้ำทะเล บ่อปลา หรือในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ ดังนั้นวัตถุดิบที่มาจากทะเล สุนหรือไร่ หรือในสัตว์ที่คลุกคลีอยู่กับดิน มีโอกาสปนเปื้อนจุลินทรีย์นี้ด้วยกันทั้งนั้น (ปริยา วิบูลย์เศรษฐ์, 2538) แต่อาจเป็นไปได้ที่วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต คือ หอยเป่าฮื้อ มีการเพาะเลี้ยงในระบบฟาร์มที่มีการควบคุมคุณภาพการผลิต ซึ่งช่วยลดโอกาสการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้ และในขั้นตอนการผลิตมีการปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ที่ดีของการ

ผลิตอาหารกระป๋อง แม้อาหารจะไม่ได้ผ่านความร้อนจนอยู่ในสภาพปลอดจุลินทรีย์เชิงการค้า และ ยังเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องซึ่งเป็นภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตด้วย ก็ไม่พบ *C. botulinum* ในผลิตภัณฑ์

สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารชนิดใหม่หรือเปลี่ยนแปลงสูตรต่างออกไปจากเดิม จำเป็น ต้องทำการศึกษาระดับอุณหภูมิและปริมาณความร้อนที่ต้องการเพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่มีในวัตถุดิบ หรือมีเฉพาะในบริเวณนั้น แม้ว่าจุลินทรีย์ดังกล่าวอาจไม่เป็นอันตรายแต่อาจเป็นสาเหตุของการ เน่าเสียได้ โดยปกติแล้วจะใช้จุลินทรีย์ที่มีความทนทานมากกว่า *C. botulinum* เพื่อให้แน่ใจใน ความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ (ทิพาพร อยู่วิทยา, 2535) เนื่องจากไม่พบ *B. stearothermophilus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ทนต่อความร้อนสูงที่สุดที่ทำให้เกิดการเน่าเสียแบบ flat sour ในอาหารกระป๋อง ชนิดที่มีความเป็นกรดต่ำ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะไม่พบจุลินทรีย์ที่ทนความร้อนสูงกว่าและเป็น จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหารด้วย จึงไม่ต้องทดสอบ thermal inactivation kinetics ของจุลินทรีย์นั้น

4.4.3 ผลของอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารและอุณหภูมิของหม้อฆ่าเชื้อที่มีผลต่อ ภาวะการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์

เนื่องจากผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือเป็นอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ ($pH > 4.6$) การฆ่าเชื้อจึงมุ่งหวังที่จะทำลายจำนวนสปอร์ของ *C. botulinum* ซึ่งมีค่า $D_{121.1^{\circ}C}$ เท่ากับ 0.25 นาที ให้ได้ 12 log cycle ดังนั้นจึงต้องใช้เวลาในการฆ่าเชื้อที่ $121.1^{\circ}C$ (F_0) เท่ากับ 3 นาที แต่เพื่อความปลอดภัยของอาหาร ในงานวิจัยนี้จะฆ่าเชื้อให้ได้ F_0 เท่ากับ 4 นาที ซึ่งสามารถนำ heat penetration parameter ที่ได้มาทำนายเวลาในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.6 (การคำนวณแสดงในภาคผนวก จ.2)

ตารางที่ 4.6 ผลการคำนวณเวลาการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ที่ อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารและอุณหภูมิของหม้อฆ่าเชื้อต่างๆ ตามวิธี Formula

ผลิตภัณฑ์	น้ำหนักสุทธิ (g)	F_0 (min)	เวลาในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ (นาที)		
			อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหาร ($^{\circ}C$)	อุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ ($^{\circ}C$)	
				114	121
หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือ	150	4	50	24.9	7.8
			70	23.1	6.3

จากตารางที่ 4.6 เมื่อนำ kinetic parameters ที่ได้จากการทดลองในข้อ 4.4.1 มาคำนวณเวลาของกระบวนการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ เพื่อให้ได้ F_0 เท่ากับ 4 นาที โดยที่อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่าเดิม (50°C) ต้องให้ความร้อนในการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 114°C และ 121°C เป็นเวลา 24.9 และ 7.8 นาที ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเป็น 70°C ต้องให้ความร้อนเป็นเวลา 23.1 และ 6.3 นาที ตามลำดับ

ตารางที่ 4.7 เวลาการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ที่อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารและอุณหภูมิของหม้อฆ่าเชื้อต่างๆ ที่ทำให้ได้ $F_0 = 4$ นาที โดยคำนวณตามวิธี General

ผลิตภัณฑ์	น้ำหนักสุทธิ (g)	F_0 (min)	เวลาในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ (นาที)		
			อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหาร ($^{\circ}\text{C}$)	อุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ ($^{\circ}\text{C}$)	
				114	121
หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือ	150	4	50	22.3	6.2
			70	21.9	5.6

ตารางที่ 4.8 เวลาในการฆ่าเชื้อจริงและค่า F_0 ของผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ที่ได้จากกระบวนการผลิตจริง

อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหาร ($^{\circ}\text{C}$)	อุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ ($^{\circ}\text{C}$)	เวลาในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ (min)	F_0 ของการผลิตจริง (min)
50	114	23	4.4
	121	7	4.5
70	114	22	4.2
	121	6	4.3

เมื่อทดลองเดินเครื่องภายใต้ภาวะที่คำนวณได้ พบว่าการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ที่มีอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหาร 50°C ที่อุณหภูมิ 114°C และ 121°C เพื่อให้ได้ F_0 เท่ากับ 4 นาที ต้องให้ความร้อนเป็นเวลา 22.3 และ 6.2 นาที ตามลำดับ และเมื่ออุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเพิ่มขึ้นเป็น 70°C ต้องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 114°C และ 121°C เป็นเวลา 21.9 และ 5.6 นาที ตามลำดับ จึงทำให้ได้ F_0 เท่ากับ 4 นาที (ตารางที่ 4.7) และเพื่อให้สามารถนำเวลาในการฆ่าเชื้อที่

ได้ไปปรับใช้ในการเดินเครื่องจริง จึงกำหนดเวลาการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ที่ 114°C และ 121°C เมื่ออุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 50°C จากเดิม 22.3 และ 6.2 นาที ตามลำดับ ไปเป็น 23 และ 7 นาที ตามลำดับ ทำให้ค่า F_0 เพิ่มขึ้นเป็น 4.4 และ 4.5 นาที ตามลำดับ และเมื่ออุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเป็น 70°C จากเดิมต้องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 114°C และ 121°C เป็นเวลา 21.9 และ 5.6 นาที ตามลำดับ ปรับเป็น 22 และ 6 นาที ตามลำดับ ทำให้ค่า F_0 เพิ่มขึ้นเป็น 4.2 และ 4.3 นาที ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8)

จากการคำนวณเวลาการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์เพื่อให้มี F_0 เท่ากับ 4 นาที ตามวิธี Formula จะเห็นว่าเวลาการฆ่าเชื้อที่คำนวณได้มีค่ามากกว่าภาวะการผลิตจริงเล็กน้อย จึงถือว่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการทดลองและนำมาคำนวณนี้ สามารถนำมาใช้ในการคำนวณเวลาการฆ่าเชื้อของผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ได้อย่างปลอดภัยในกรณีที่ต้องการเปลี่ยนภาวะการผลิต แต่ก่อนที่จะนำภาวะการผลิตที่คำนวณได้ไปใช้ในการผลิตจริงควรมีการยืนยัน โดยการหาค่าการฆ่าเชื้อของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อภายใต้ภาวะนั้นอีกครั้ง

ในทดลองนี้ทำการเดินเครื่องก่อนนำไปใช้จริงเพียงครั้งเดียว เนื่องจากกระบวนการฆ่าเชื้อมีความแปรปรวนน้อย โดยพิจารณาจากขั้นตอนการศึกษากาแฟผ่านความร้อนของผลิตภัณฑ์ที่ทดลอง 2 ครั้ง พบว่าค่า F_0 ที่ได้ต่างกันน้อยมาก (ต่างกันเพียง 0.1 นาที) และนอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ยังเป็นอาหารชนิดเดียวกัน มีลักษณะการถ่ายเทความร้อนไม่ต่างกัน ทำให้มีความแปรปรวนน้อย การทดลองเดินเครื่องเพื่อยืนยันกระบวนการฆ่าเชื้อเพียงครั้งเดียวมีความเหมาะสมและมั่นใจได้ว่ากระบวนการฆ่าเชื้อนั้นปลอดภัยต่อผลิตภัณฑ์ การทำซ้ำเพิ่มขึ้นจึงอาจไม่จำเป็นนัก เพราะหมายถึงค่าใช้จ่ายที่เพิ่มขึ้นด้วย

และจากการทดลองฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮือในน้ำเกลือบรรจุขวดเพาซ์โดยใช้เวลาการฆ่าเชื้อที่คำนวณได้ด้วยวิธี Formula พบว่าค่า F_0 ของกระบวนการฆ่าเชื้อมากกว่าที่กำหนดไว้ เนื่องจากในการคำนวณด้วยวิธี Formula ใช้พารามิเตอร์ที่ได้จากการศึกษากาแฟผ่านความร้อนของผลิตภัณฑ์ซึ่งใช้น้ำหนักบรรจุมากกว่าปกติมาคำนวณ แต่ในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์จริงๆ บรรจุน้ำหนักปกติ (50% ของน้ำหนักสุทธิ) ทำให้อัตราการแทรกผ่านความร้อนเร็วกว่า ดังนั้นเมื่อนำภาวะการฆ่าเชื้อที่คำนวณด้วยวิธี Formula มาฆ่าเชื้อโดยใช้น้ำหนักบรรจุปกติจึงได้ค่า F_0 มากกว่า

จากตารางที่ 4.6 4.7 และ 4.8 จะเห็นว่าเมื่ออุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อคงที่ การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารมีผลเพียงเล็กน้อยต่อเวลาของกระบวนการฆ่าเชื้อ ในขณะที่เมื่อให้อุณหภูมิของอาหารคงที่ การเปลี่ยนอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อทำให้เวลาของกระบวนการฆ่าเชื้อต่างกันมากอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารและ

อุณหภูมิของหม้อฆ่าเชื้อต่างกันมาก มีผลให้อัตราการถ่ายเทความร้อนของผลิตภัณฑ์เพิ่มสูงขึ้น จึงใช้เวลาในการให้ความร้อนสั้นลง (รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต, 2535)

ตารางที่ 4.9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำหนักเนื้อ ค่า degree of browning ปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ และค่า toughness ของหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ในภาวะอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารและอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อต่างๆ

Source of Variance	Drained weight	Degree of browning	Soluble collagen	Toughness
อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหาร (A)	*	*	ns	ns
อุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ (B)	*	*	*	*
A*B	*	*	ns	ns

* หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.10 ลักษณะคุณภาพของผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ที่ฆ่าเชื้อใน ภาวะที่อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหาร (IT) และอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ (RT) ต่างๆ

ภาวะการฆ่าเชื้อ (IT/RT) (°C)	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	drained weight (%)	degree of browning (Abs.420/ g sample $\times 10^{-3}$)	soluble collagen (%collagen/ total collagen)	toughness (g.mm $\times 10^3$)
50/114	31.8 ^a $\pm$ 0.8	47.1 ^d $\pm$ 0.1	27.1 ^b $\pm$ 1.5	26.6 ^a $\pm$ 4.5
50/121	40.3 ^c $\pm$ 0.1	38.1 ^b $\pm$ 0.1	20.2 ^a $\pm$ 0.9	37.7 ^b $\pm$ 5.3
70/114	35.4 ^b $\pm$ 1.3	45.2 ^c $\pm$ 0.2	26.7 ^b $\pm$ 0.1	27.0 ^a $\pm$ 4.8
70/121	40.2 ^c $\pm$ 0.1	30.4 ^a $\pm$ 0.2	19.4 ^a $\pm$ 2.6	34.8 ^b $\pm$ 3.9

a, b, c, ... ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละสดมภ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.9 และ 4.10 จะเห็นว่าเมื่อนำผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อทั้ง 4 ภาวะ มาวิเคราะห์คุณภาพต่างๆ ได้แก่ น้ำหนักเนื้อ (drained

weight) ค่า degree of browning ปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ (soluble collagen) และค่า toughness พบว่าอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารและอุณหภูมิของหม้อฆ่าเชื้อมีอิทธิพลร่วมกัน ($p \leq 0.05$) ต่อปริมาณน้ำหนักรวมและการเกิดสีน้ำตาล โดยที่อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่ากัน การฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิสูงกว่า (121°C) ทำให้มีน้ำหนักรวมมากกว่า และเกิดสีน้ำตาลได้น้อยกว่า ($p \leq 0.05$) เนื่องจากใช้เวลากการฆ่าเชื้อสั้นกว่า และพบว่าอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อมีอิทธิพลต่อปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้และค่า toughness อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อต่ำกว่า (114°C) ทำให้มีปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ในเนื้อหอยเป่าฮื้อสูงกว่าและค่า toughness ลดลงมากกว่าการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิสูง เนื่องจากใช้เวลากการฆ่าเชื้อนานกว่า ทำให้คอลลาเจนเปลี่ยนไปเจลาตินได้มากกว่า เนื้อสัมผัสของหอยเป่าฮื้อจึงนุ่มกว่า

ตารางที่ 4.11 คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อในภาวะที่อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารและอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อต่างๆ

ความชอบ	คะแนนความชอบ			
	อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหาร ($^{\circ}\text{C}$)/อุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ ($^{\circ}\text{C}$)			
	50/114	50/121	70/114	70/121
รวม	$3.6^a \pm 1.5$	$5.1^{bc} \pm 0.8$	$4.4^b \pm 1.4$	$5.6^c \pm 1.0$
สี ^{ns}	$4.8^a \pm 1.3$	$5.2^a \pm 1.1$	$5.1^a \pm 1.2$	$5.2^a \pm 1.2$
กลิ่น	$4.0^a \pm 1.4$	$5.0^b \pm 1.0$	$4.6^{ab} \pm 1.6$	$5.2^b \pm 1.4$
ความยืดหยุ่น	$3.6^a \pm 2.1$	$5.1^b \pm 1.0$	$4.2^a \pm 1.5$	$5.4^b \pm 1.2$
ความเหนียว	$3.5^a \pm 1.5$	$5.0^b \pm 0.8$	$4.0^a \pm 1.6$	$5.2^b \pm 1.4$
ความชุ่มน้ำ	$4.1^a \pm 1.3$	$5.2^b \pm 1.1$	$4.1^a \pm 1.6$	$5.4^b \pm 0.8$

a, b, c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแถวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ns หมายถึงค่าในแถวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

จากตารางที่ 4.11 เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อทั้ง 4 ภาวะ มาทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยใช้วิธีการให้คะแนนความชอบต่อลักษณะต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบด้านกลิ่น ความยืดหยุ่น ความเหนียว ความชุ่มน้ำ และความชอบรวมต่อผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C มากกว่าผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าเชื้อที่ 114°C ยกเว้นความชอบด้านสีที่ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) โดยผู้ทดสอบให้คะแนน

ความชอบผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าเชื้อที่ 121°C อยู่ในระดับค่อนข้างชอบถึงชอบปานกลาง (5-6 คะแนน) ส่วนผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 114°C ได้คะแนนความชอบทุกด้าน ยกเว้นความชอบด้านสี อยู่ในระดับค่อนข้างไม่ชอบ (3-4 คะแนน)

ตารางที่ 4.12 คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อในภาวะที่อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารและอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อต่างๆ

ลักษณะคุณภาพ	คะแนนลักษณะคุณภาพ			
	อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหาร (°C)/อุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ (°C)			
	50/114	50/121	70/114	70/121
สี	2.8 ^a ±0.7	3.1 ^a ±0.7	3.0 ^a ±0.7	3.6 ^b ±0.7
ความยืดหยุ่น	3.0 ^a ±1.0	3.7 ^b ±0.7	3.2 ^a ±0.8	4.0 ^b ±0.8
ความเหนียว	2.8 ^a ±1.1	4.0 ^b ±0.6	3.2 ^a ±0.8	4.2 ^b ±0.9
ความชุ่มน้ำ	4.3 ^c ±0.7	3.8 ^{ab} ±0.6	4.2 ^{bc} ±0.8	3.4 ^a ±0.6

a, b, c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแถวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

จากตารางที่ 4.12 ผู้ทดสอบชอบผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ซึ่งใช้เวลาในการฆ่าเชื้อสั้นกว่า เพราะเนื้อสัมผัสมีความยืดหยุ่นปานกลาง (4 คะแนน) ค่อนข้างเหนียว (4 คะแนน) และชุ่มน้ำเล็กน้อยถึงปานกลาง (3-4 คะแนน) ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 114°C ผู้ทดสอบไม่ค่อยชอบ เพราะมีเนื้อสัมผัสค่อนข้างเปื่อย (3 คะแนน) และมีความชุ่มน้ำค่อนข้างมาก (>4 คะแนน) ซึ่งสอดคล้องกับผลวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ในเนื้อหอยที่มากกว่าและค่า toughness ที่ต่ำกว่า (ดังแสดงในตาราง 4.10) แต่จะเห็นว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบต่อสีของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อทั้งที่อุณหภูมิ 114°C และ 121°C ไม่แตกต่างกัน (p>0.05) โดยผู้ทดสอบให้ความเห็นว่าสีของผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่มีสีครีมไม่ต่างกัน (3 คะแนน) ยกเว้นผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C และอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 70°C มีสีครีมอ่อนกว่า (3.6 คะแนน) ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ภาวะอื่น (แสดงในตารางที่ 4.12) แม้ว่าค่า degree of browning ของผลิตภัณฑ์ที่วิเคราะห์ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05) ก็ตาม (ตารางที่ 4.10)

ดังนั้นจึงเลือกภาวะการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เพราะช่วยรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ด้านสี กลิ่น และโดยเฉพาะเนื้อสัมผัสดีกว่า และแม้ว่าการกำหนดภาวะการฆ่าเชื้อที่

อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารที่ 70°C ผลิตภัณฑ์ได้รับคะแนนการยอมรับสูงกว่าที่ 50°C แต่ในการผลิตจริงการควบคุมอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารให้ได้ 70°C ทำได้ค่อนข้างยาก ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการผลิตในระดับที่มีขนาดใหญ่ขึ้น และนอกจากนี้การเพิ่มอุณหภูมิเริ่มต้นอาหารไม่มีผลต่อเวลาการฆ่าเชื้อ รวมถึงคุณภาพด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์มากนัก ดังนั้นจึงเลือกภาวะการผลิตที่กำหนดอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารที่ 50°C อุณหภูมิฆ่าเชื้อ 121°C เป็นเวลา 7 นาที ในการผลิตผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ เพื่อใช้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลชีววิทยาและการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน ต่อไป

4.5 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ตลอดอายุการเก็บรักษา 6 เดือน

4.5.1 คุณภาพทางจุลชีววิทยา

ผลการตรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ทุกเดือน ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน ไม่พบจุลินทรีย์ flat sour, thermophilic anaerobes, putrefactive anaerobes และ sulfide spoilage ในผลิตภัณฑ์ แสดงว่าภาวะการฆ่าเชื้อดังกล่าวเพียงพอต่อการทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย จึงปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ได้นาน

4.5.2 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลการตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพาซ์ ซึ่งใช้วิธีการให้คะแนนความชอบคุณลักษณะต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง พบว่าตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 6 เดือน ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบในทุกคุณลักษณะในแต่ละเดือนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และให้คะแนนสูงกว่าเกณฑ์ไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์ (4 คะแนน) โดยอยู่ในช่วงชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง (5-6 คะแนน) ดังแสดงในตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ในระหว่างการเก็บรักษา 6 เดือน

ความชอบ	คะแนนความชอบ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)					
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน
สี ^{ns}	5.9 $\pm$ 0.7	5.3 $\pm$ 1.0	5.4 $\pm$ 1.4	5.8 $\pm$ 0.6	5.8 $\pm$ 0.8	5.4 $\pm$ 1.3
กลิ่น ^{ns}	5.0 $\pm$ 1.6	5.0 $\pm$ 1.7	4.6 $\pm$ 0.8	5.0 $\pm$ 1.3	4.6 $\pm$ 1.2	4.6 $\pm$ 0.8
ความยืดหยุ่น ^{ns}	5.0 $\pm$ 1.2	5.0 $\pm$ 1.3	5.0 $\pm$ 1.2	5.2 $\pm$ 1.1	5.0 $\pm$ 0.7	5.2 $\pm$ 0.6
ความเหนียว ^{ns}	5.4 $\pm$ 0.9	5.4 $\pm$ 0.8	5.4 $\pm$ 0.8	5.4 $\pm$ 0.7	5.4 $\pm$ 0.8	5.4 $\pm$ 0.6
ความชุ่มน้ำ ^{ns}	5.1 $\pm$ 1.0	5.0 $\pm$ 1.0	4.9 $\pm$ 0.8	5.0 $\pm$ 0.8	5.0 $\pm$ 1.0	5.0 $\pm$ 0.9
ความชอบรวม ^{ns}	5.4 $\pm$ 0.9	5.2 $\pm$ 0.8	5.2 $\pm$ 1.2	5.3 $\pm$ 1.0	5.4 $\pm$ 0.9	5.2 $\pm$ 1.0

ns หมายถึงค่าในแถวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตารางที่ 4.14 คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสของหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ในระหว่างการเก็บรักษา 6 เดือน

ลักษณะคุณภาพ	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน
สี	3.8 ^b $\pm$ 0.6	3.6 ^{ab} $\pm$ 0.5	3.8 ^b $\pm$ 0.5	3.2 ^a $\pm$ 0.6	3.2 ^a $\pm$ 0.6	3.3 ^a $\pm$ 0.7
ความยืดหยุ่น ^{ns}	3.6 $\pm$ 0.6	3.5 $\pm$ 0.7	3.4 $\pm$ 0.7	3.4 $\pm$ 0.5	3.4 $\pm$ 0.7	3.5 $\pm$ 0.8
ความเหนียว ^{ns}	4.0 $\pm$ 0.7	4.0 $\pm$ 0.8	4.0 $\pm$ 0.6	4.0 $\pm$ 0.6	4.0 $\pm$ 0.7	4.0 $\pm$ 0.8
ความชุ่มน้ำ ^{ns}	4.2 $\pm$ 0.8	4.0 $\pm$ 0.7	4.2 $\pm$ 0.7	3.9 $\pm$ 0.7	4.1 $\pm$ 0.7	4.1 $\pm$ 0.6

a, b ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแถวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$)

ns หมายถึงค่าในแถวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

จากตารางที่ 4.13 และ 4.14 พบว่าผู้ทดสอบมีความชอบโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์ในระดับชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง (5-6 คะแนน) โดยให้คะแนนความชอบต่อสีของผลิตภัณฑ์ที่มีสีครีมถึงครีมอ่อนอยู่ในระดับชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง (5-6 คะแนน) มีความชอบต่อกลิ่นเล็กน้อย (4-5 คะแนน) อาจเนื่องมาจากผู้ทดสอบไม่คุ้นเคยกับกลิ่นของผลิตภัณฑ์ บางคนให้

ความเห็นว่าเป็นกลิ่นน้ำเกลือแต่ไม่ถือว่าเป็นกลิ่นแปลกปลอม แม้จะไม่ค่อยชอบกลิ่นมากนักแต่ก็สามารถยอมรับได้ ส่วนความชอบต่อลักษณะเนื้อสัมผัส ได้แก่ ความยืดหยุ่น ความเหนียว ความชุ่มน้ำอยู่ในระดับชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง (5-6 คะแนน) โดยผลิตภัณฑ์มีความยืดหยุ่นเล็กน้อยถึงปานกลาง (ระดับ 3-4 คะแนน) มีความเหนียวเล็กน้อย (ระดับ 4 คะแนน) มีความชุ่มน้ำปานกลาง (ระดับ 4-5 คะแนน)

ดังนั้นคาดว่าสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์หอยเป้าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ได้มากกว่า 6 เดือนขึ้นไป โดยที่ยังคงรักษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสและทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ไว้ได้ดี ซึ่งพิจารณาจากการศึกษาจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ (ข้อ 4.4.2 และข้อ 4.5.1) ที่ไม่พบทั้งจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในอาหาร และพิจารณาจากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ผู้ทดสอบยังคงให้คะแนนค่อนข้างสูง และสูงกว่าเกณฑ์ไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์ตลอดระยะเวลาการเก็บ 6 เดือน

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์หอยเป้าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ จะเห็นว่าแม้ระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นผลิตภัณฑ์ยังคงมีคุณภาพใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์ที่ผลิตใหม่ จนผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างของผลิตภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษาในแต่ละเดือนได้ แสดงว่าผลิตภัณฑ์อาหารบรรจุในรีทอร์ตเพาซ์นั้นสามารถยืดอายุการเก็บรักษาและคงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไว้ได้ดีเช่นเดียวกับอาหารกระป๋อง เช่น จากรายงานของ Gopal และคณะ (2001) พบว่าผลิตภัณฑ์ปลาแมคเคอเรลบรรจุรีทอร์ตเพาซ์มีอายุการเก็บรักษาไม่ต่ำกว่า 12 เดือน โดยที่คุณภาพของอาหารยังเป็นที่ยอมรับ Heidelbaugh และ Karel (1970) รายงานว่าคะแนนความชอบต่อผลิตภัณฑ์เบคอนในซอสบรรจุกระป๋องและบรรจุในรีทอร์ตเพาซ์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในขณะที่ Chen และ George (1981) พบว่าถั่วลิสงเตาบรรจุในรีทอร์ตเพาซ์มีคะแนนความชอบด้านกลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบรวมดีกว่าผลิตภัณฑ์บรรจุกระป๋อง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Durance และ Collins (1991) ที่พบว่าผู้ทดสอบยอมรับผลิตภัณฑ์ปลาแซลมอนบรรจุในถุงรีทอร์ตเพาซ์มากกว่าบรรจุกระป๋อง และไม่พบกลิ่นผิดปกติเหมือนกับที่พบในผลิตภัณฑ์บรรจุกระป๋อง และจากการศึกษาของ Mohan และคณะ (2006) พบว่าผลิตภัณฑ์กุ้งกระหี่กึ่ง (kuruma shrimp) บรรจุรีทอร์ตใช้เวลานาน่าเชื้อสั้นกว่าผลิตภัณฑ์บรรจุกระป๋องถึง 35% ทำให้ปริมาณ cooking loss น้อยกว่า และทำให้ปัจจัยคุณภาพด้านสี เนื้อสัมผัส และการยอมรับทางประสาทสัมผัสดีกว่าผลิตภัณฑ์บรรจุกระป๋อง

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

1. หอยเป่าฮื้อที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก และเก็บที่อุณหภูมิ 0°C และ 10°C ตรวจไม่พบฮิสตามีนและแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลส แต่การเก็บรักษาในภาว๋ะดังกล่าวทำให้ ค่า pH เนื้อสัมผัส และปริมาณแบคทีเรียที่ต้องการอากาศเปลี่ยนแปลง
2. หอยเป่าฮื้อสดที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก ที่อุณหภูมิ 0°C มีอายุการเก็บรักษา 6 และ 9 วัน ตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิ 10°C มีอายุการเก็บรักษา 3 และ 4 วัน ตามลำดับ เมื่อใช้ปริมาณจุลินทรีย์เท่ากับ 10^6 cfu/g เป็นเกณฑ์กำหนดอายุการเก็บ ดังนั้นการขนส่งหอยเป่าฮื้อแบบทั้งตัวหรือแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก โดยใช้อุณหภูมิแช่เย็น (ไม่เกิน 10°C) หรือการใช้น้ำแข็งช่วยในการเก็บรักษาในระยะเวลาไม่เกิน 2 วัน จะยังคงรักษาคุณภาพของหอยเป่าฮื้อทั้งทางด้านปริมาณจุลินทรีย์ การเปลี่ยนแปลงค่า pH และเนื้อสัมผัสไว้ได้
3. ปริมาณ cooking loss และค่า degree of browning ของเนื้อหอย เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อน ส่วนการเปลี่ยนแปลงของค่า water-holding capacity มีความสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของค่า toughness โดยจะลดลงในช่วง 10 นาทีแรกของการให้ความร้อน และค่า toughness ของเนื้อหอยเป่าฮื้อลดลงมากหลังให้ความร้อนนาน 60 นาที เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C และ 120°C
4. ค่าคงที่ของอัตราการเกิดปฏิกิริยา (reaction rate constant) ของปริมาณ cooking loss ค่า degree of browning ค่า water-holding capacity และค่า toughness เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิการให้ความร้อน และค่า activation energy ของการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเท่ากับ 6.23, 6.33, 7.09 และ 13.34 kcal/mol ตามลำดับ
5. ภาว๋ะการฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรจัวร์ทอร์ตเพาซ์ คือการใช้อุณหภูมิสูง เวลาสั้น (121°C เป็นเวลา 6 นาที เมื่ออุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 70°C และ 7 นาที เมื่ออุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 50°C) เนื่องจากสามารถรักษาคุณภาพของอาหารได้ดี สูญเสียน้ำหนักน้อย เกิดสีน้ำตาลดำ เนื้อสัมผัสไม่เปื่อยละ และเป็นที่ยอมรับของผู้

ทดสอบเมื่อพิจารณาจากคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสที่ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบอยู่ในระดับค่อนข้างชอบถึงชอบปานกลาง โดยให้ความเห็นว่าเนื้อสัมผัสมีความยืดหยุ่นปานกลาง ค่อนข้างเหนียว และชุ่มน้ำปานกลาง ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่ใส่เชื้อที่อุณหภูมิ 114°C ผู้ทดสอบไม่ค่อยชอบเพราะมีเนื้อสัมผัสค่อนข้างเปื่อยและชุ่มน้ำมาก เนื่องจากใช้ระยะเวลาการให้ความร้อนนานกว่า

6. ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน ผลิตภัณฑ์มีการเปลี่ยนแปลงน้อย ผู้ทดสอบไม่เห็นความแตกต่างของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเก็บรักษาในแต่ละเดือน โดยให้คะแนนความชอบทุกด้าน ได้แก่ ความชอบสี กลิ่น ความยืดหยุ่น ความเหนียว ความชุ่มน้ำ และความชอบรวมในแต่ละเดือนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และให้คะแนนอยู่ในช่วงชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง (5-6 คะแนน) ซึ่งสูงกว่าเกณฑ์ไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์ (4 คะแนน) นอกจากนี้ยังไม่พบจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายและทำให้เกิดการเน่าเสียตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- คเชนทร เฉลิมวัฒน์. 2544. การเพาะเลี้ยงหอย. กรุงเทพมหานคร: รั้วเขียว.
- งามจิตร โลวิฑูร. 2547. อาหารพร้อมบริโภคในบรรจุภัณฑ์รีทอร์ทเพาซ์. อาหาร 34(4): 284-286.
- จักรพันธุ์ กังวาล. 2547. หอยเป่าฮื้อจากธรรมชาติสู่ฟาร์มเลี้ยง. สารคดี 20(231): 74-76.
- ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. กรุงเทพมหานคร: ไทยวัฒนาพานิช.
- ทิพาพร อยู่วิทยา. 2535. การกำหนดกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน. อาหาร 22(4): 39-50.
- นิธิยา รัตนานนท์. 2545. เคมีอาหาร. กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์.
- นงลักษณ์ สุทธิวิช. 2531. องค์ประกอบทางเคมีของสัตว์น้ำ. ใน คุณภาพสัตว์น้ำ, หน้า 48-79.
- ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ปรียา วิบูลย์ศาสตร์. 2538. จุลชีววิทยาของอาหารกระป๋องที่มีความเป็นกรดต่ำ. อาหาร 25(2): 127-133.
- พ่ายพ ยังปักชี. 2541. หอยเป่าฮื้อ. สัตว์น้ำฉบับพิเศษ 10 (มกราคม) : 169 – 174.
- ภิญโญ พานิชพันธ์. 2542. กรดอะมิโนและโปรตีน. ใน ชีวเคมี, หน้า 89-123. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- มะลิ บุญยรัตผลิน. 2545. การพัฒนาสัตว์น้ำเศรษฐกิจของไทยหอยเป่าฮื้อ. ใน เอกสารประกอบการสัมมนาเรื่องการพัฒนาสัตว์น้ำเศรษฐกิจของไทย, หน้า 1-18. 2 กุมภาพันธ์ 2545 ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ กรุงเทพมหานคร.
- มาลัยวรรณ อารยะสกุล และ วรณวิบูลย์ กาญจนบุญชร. 2540. เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์. ใน วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, หน้า 248-281. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2535. วิศวกรรมแปรรูปอาหาร: การถนอมอาหาร. กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์.
- ลิลา เรืองแป้น. 2543. การเพาะเลี้ยงหอยเป่าฮื้อ. สัตว์น้ำฉบับพิเศษ 12 (มกราคม): 126 – 131.
- วราทิพย์ สมบุญญฤทธิ. 2542. บรรจุภัณฑ์อ่อนตัวสำหรับอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ. ใน เอกสารประกอบการอบรมเรื่อง retort pouch for low acid canned food, หน้า 1-12. 29-30 กรกฎาคม 2542 ณ โรงแรมมารวยการ์เดนและภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

วิไล รัตตาทอง. 2546. เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร:

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

วิวัฒน์ ปฐมโยธิน. 2542. หลักการฆ่าเชื้ออาหารกระป๋องในบรรจุภัณฑ์อ่อนตัว. ใน

เอกสารประกอบการอบรมเรื่อง retort pouch for low acid canned food, หน้า 61-75.

29-30 กรกฎาคม 2542 ณ โรงแรมมารวยการ์เดนและภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง

คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2536. การใช้ฟอสเฟตในอาหารทะเล. อาหาร 23(1): 7-12.

สุนันทา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

สมปอง วิชญวิเชียร. 2542. หอยเป้าฮื้อ. ข่าวกรมประมง 23 (มกราคม-มิถุนายน): 19-31.

สมพงษ์ คูประมงอาร์กซ์. 2534. การผลิตเนื้อปูม้าบรรจุกระป๋องปลอดซัลเฟอร์ไดออกไซด์และ

เอทิลีนไดออกไซด์เตตราอะซิเตด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยี

ทางอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2528. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมปลาจารีดิน

กระป๋อง. มอก. 89-2528. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงอุตสาหกรรม.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2533. วิธีวิเคราะห์อาหารทางจุลชีววิทยา เล่ม 1

อาหารกระป๋อง. มอก. 335-2533. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงอุตสาหกรรม.

ศิวพร ศิวเวช. 2535. วัตถุดิบอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร. นครปฐม:

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์. 2541. การเพาะเลี้ยงหอยเป้าฮื้อเชิง

พาณิชย์. วารสารการประมง 51(5): 395-405.

อรุณี สมมณี. 2547. หอยเป้าฮื้อ. วารสารการประมง 57(1): 47-51.

อุบลวรรณ พิงฉิม. 2546. ผลของการให้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อต่อองค์ประกอบทางเคมี

และเนื้อสัมผัสของหอยเป้าฮื้อชนิด *Haliotis asinina* และ *Haliotis ovina*. วิทยานิพนธ์

ปริญญาโทมหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed. Virginia: The Association of Official

Analytical Chemists.

- Abe, H. 1983. Distribution of free L-histidine and its related compounds in marine fishes. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 49: 1683-1687.
- Ang, C. Y. W. and Young, L. L. 1989. Factors relating to oxidative stability of cooked broiler breast patties treated with sodium tripolyphosphate. Journal of Food Science 54(5): 1151-1154.
- Ang, J. F. and Haard, N. F. 1985. Chemical composition and postmortem changes in soft textured muscle from intensely feeding Atlantic cods. Journal of Food Biochemistry 9(1): 49-51.
- Antoine, F. R., Wei, C. I., Littell, R. C., and Marshall, M. R. 1999. HPLC method for analysis of free amino acid in fish using 0-phthaldialdehyde precolumn derivatization. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47: 5100-5107.
- Arnold, S. H., and Brown, W. 1978. Histamine toxicity from fish products. Advance Food Research 24: 113-154.
- Ashie, I. N. A., Smith, J. P., and Simpson, B. K. 1996. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 36(1&2):87-121.
- Ateba, P. and Mittal, G. S. 1994. Dynamics of crust formation and kinetics of quality changes during frying of meatballs. Journal of Food Science 59(6): 1275-1278
- Baik, O. D. and Mittal, G. S. 2003. Kinetics of tofu color changes during deep-fat frying. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie 36: 43-48.
- Bailey, A. J. and Light, N. D. 1989. Connective Tissue in Meat and Meat Products. London: Elsevier Applied Science.
- Baldwin, J., Wells, R. M. G., Low, M., and Ryder, J. M. 1992. Tauropine and D-lactate as metabolic stress indicators during transport and storage of live paua, (New Zealand abalone) (*Halotis iris*). Journal of Food Science 57:280-282.
- Bennion, M. 1980. Introductory Foods. 7th ed. New York: Macmillan. Cite in Pigott, G. M. and Tucker, B. W. 1990. Seafood: Effects of Technology on Nutrition. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Bertola, N. C., Bevilacqua, A. E., and Zaritzky, N. E. 1994. Heat treatment effect on texture changes and thermal denaturation of proteins in beef muscle. Journal of Food Processing and Preservation 18: 31-46.

- Bermejo, A. and Mondaca, M. A. 2002. Growth and characterization of the histamine-producing bacteria of jack mackerel (*Thachurus symmetricus*). Journal of Food Processing Preservation 26: 401-414.
- Bourne, M. C. 1987. Effect of branch temperature on kinetics of thermal softening of carrots and green beans. Journal of Food Science 52(3): 667-668.
- Bouton, P. E., Harris, P. V., and Shorthose, W.R. 1975. Changes in shear parameters of meat associated with structural changes produced by aging, cooking, and myofibrillar contraction at 50-65°C. Journal of Food Science 40(6): 1122-1126.
- Bremer, P. J., Fletcher, G. C. and Osborne, C. 2003. Scombrotoxin in seafood[Online]. Christchurch: New Zealand Institute for Crop and Food Research Limited. Available from: www.crop.cri.nz/home/research/marine/pathogens/scrombotoxin.pdf [2004, October 11]
- Califano, A. N., Bertola, N. C., Bevilacqua, A. E., and Zaritzky, N. E. 1997. Effect of processing conditions on the hardness of cooked beef. Journal of Food Engineering 34: 41-54.
- Carabasa, M. and Ibarz, A. 2000. Kinetics of color development in aqueous glucose system at high temperatures. Journal of Food Engineering 44:181-189.
- Chen, T. S. and George, W. Z. 1981. Ascorbic acid retention in retort pouched green beans. Journal of Food Science 46(2): 642-643.
- Cheng, C. S. and Parrish, F. C. 1976. Scanning electron microscopy of bovine muscle: effect of heating on ultrastructure. Fisheries Science 41: 14449-1454.
- Chia, S. S., Baker, R. C., and Hotchkiss, J. H. 1983. Quality comparison of thermo processed fishery products in cans and retortable pouches. Journal of Food Science 48(5): 1521-1525, 1531.
- Chiou, T., Lai, M., Lan, H., and Shiau, C. 2002. Extractive component changes in the foot muscle of live small abalone during storage. Fisheries Science 68: 380-387.
- Chiou, T., Tsai, C., and Lan, H. 2004. Chemical, physical and sensory changes of small abalone meat during cooking. Fisheries Science 70: 867-874.
- Chiou, T. K., Lin, J. F., and Shiau, C. Y. 1998. Changes in extractive components and glycogen in the edible meat of hard clam *Meretrix lusoria* during storage at different temperatures. Fisheries Science 64: 115-120.

- Cochran, W. C. and Cox, G. M. 1992. Experimental Designs. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons.
- Corzo, O., Bracho, N., and Marjal, J. 2006. Color change kinetics of sardine sheets during vacuum pulse osmotic dehydration. Journal of Food Engineering 75: 21-26.
- Crapo C. A. and Crawford, D. L. 1991. Influence of polyphosphate soak and cooking procedures on yield and quality of Dungeness crab meat. Journal of Food Science 56(3): 657-659, 664.
- Cross, H. R., Carpenter, Z. L., and Smith, G. C. 1973. Effects of intramuscular collagen and elastin on bovine muscle tenderness. Journal of Food Science 38(6): 998-1003.
- Currie, R. W. and Wolfe, F. H. 1980. Rigor related changes in mechanical properties (tensile and adhesive) and extracellular space in beef muscle. Meat Science 4: 123-143.
- Dawson, P. L., Sheldon, B. W., and Miles, J. J. 1991. Effect of aseptic processing on the texture of chicken meat. Poultry Science 70: 2359-2367.
- Davey, C. L. and Gilbert, K. V. 1974. Cite in D. A. Ledward. 1979. Meat. In Priestley, R. J. (ed.), Effects of Heating on Foodstuffs, pp. 157-194. London: Applied Science Publishers Ltd.
- Du, W. X., Lin, C. M., Phu, A. T., Cornell, J. A., Marshall, M. R., and Wei, C. I. 2002. Development of biogenic amines in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) : Effect of storage and correlation with decarboxylase- positive bacterial flora. Journal of Food Science 67(1): 292-301.
- Dunajski, E. 1979. Texture of fish muscle. Journal of Texture Studies 10: 301-309.
- Durance, T. D. and Collins, L. S. 1991. Quality enhancement of sexually mature chum salmon *Onchorhynchus keta* in retort pouches. Journal of Food Science 56(5): 1282-1286.
- Dziezak, J. D. 1990. Phosphates improve many foods. Food Technology 44(4): 80-92.
- English, P. M., Gerdes, D. L., Finerty, M. W., and Grodner, R. M. 1988. Effects of tripolyphosphate dips on quality of thermally processed mullet (*Mugi cephalus*). Journal of Food Science 53(5): 1319-1321, 1502.

- Fieger, E. A. and Novak, A. 1961. Microbiology of shellfish deterioration. In Borgstrom, G. (ed.), Fish as Food, Vol. 1. San Diego: Academic Press.
- Findlay, C. J., Stanley, D.W., and Gullet, E. A. 1986. Thermo-mechanical properties of beef muscle. Meat Science 16: 57-70.
- Fletcher, G. C., Summers, G., Winchester, R. V., and Wong, R. 1995. Histamine and histidine in New Zealand marine fish and shellfish species, particularly kahawai (*Arripis trutta*). Journal of Aquatic Food Product Technology 4:54-74.
- Gao, X., Ogawa, H., Tashiro, Y., and Iso, N. 2001. Rheological properties and structural changes in raw and cooked abalone meat. Fisheries Science 67: 314-320.
- Gao, X., Tashiro, Y., and Ogawa, H. 2002. Rheological properties and structural changes in steamed and boiled abalone meat. Fisheries Science 68: 499-508.
- Gopal, T. K. S., Vijayan, P. K., Balachandran, K. K., Madhavan, P., and Iyer, T. G. S. 2001. Traditional Karala style fish curry in indigenous retort pouch. Food Control 12: 523-527.
- Gram, L. and Dalgaard, P. 2002. Fish spoilage bacteria—problems and solutions. Biotechnology 13: 262–266.
- Hahn, K., O. 1989. Handbook of Culture of Abalone and Other Marine Gastropoda. CRC Press. Boca Raton. Florida, USA.
- Hamm, R. 1970. Properties of meat proteins. Cite in Cheng, C. S. and Parrish, F. C. 1976. Scanning electron microscopy of bovine muscle: effect of heating on ultrastructure. Fisheries Science 41: 14449-1454
- Hatae, K., Nakai, H., Shimada, A., Murakami, T., Takada, K., Shiroy, Y., and Watabe, S. 1995. Abalone (*Haliotis discus*): Seasonal variations in chemical composition and textural properties. Journal of Food Science 60(1): 32-35, 39.
- Hatae, K., Nakai, H., Tanaka, C., Shimada, A., and Watabe, S. 1996. Taste and texture of abalone meat after extended cooking. Fisheries Science 62: 643-647.
- Hearne, E. H., Penfield, M. P., and Goertz, G. E. 1978. Heating effects on bovine semitendinosus: shear, muscle fiber measurements, and cooking losses. Journal of Food Science 43(1): 10-16.
- Heidelbaugh, N. D. and Karel, M. 1970. Changes in pouched heat-processed foods. Modern Packaging 43(11): 80-90.

- Heil, R. J. and McCarty, M. J. 1989. Influence of acidification on texture of canned carrots. Journal of Food Science 54 (4): 1092-1094.
- Huss, H. H. and Asenjo, I. 1976. Storage life of gutted and ungutted white fish. Cite in Scott, D. N., Fletcher, G. C., Hogg, M. G., and Ryder, J. M. 1986. Comparison of whole and headed and gutted orange roughy stored in ice: sensory, microbiology and chemical assessment. Journal of Food Science 51(1): 79-83.
- James, D. G. and Olley, J. 1970. Moisture and pH changes as criteria of freshness in abalone and their relationship to texture of the canned product. Food Technology in Australia 22:350-357.
- James, D. G. and Olley, J. 1971. Studies on the processing of abalone II the maturometer as a guide to canned abalone texture. Food Technology in Australia 23: 3914-3918.
- James, D. G. and Olley, J. 1974. The abalone industry in Australia. In Rudolf K. (ed.), Fishery Products, pp.238-242. England: The Whitefriar Press Ltd.
- Jauregui, C., Regenstein, J., and Baker, R.C. 1981. A simple centrifugal method for measuring expressible moisture, a water-binding property of muscle foods. Journal of Food Science 46(4): 1271, 1273.
- Jones, S. B., Carrol, R. J., and Cavanaugh, J. R. 1977. Structural changes in heated bovine muscle: a scanning electron microscope study. Journal of Food Science 42(1): 125-131.
- Kawashima, K. and Yamanaka, H. 1995. Effects of cold storage, freezing and thawing on browning of cooked scallop adductor muscle. Fisheries Science 61: 1031-1034.
- Kawashima, K., and Yamanaka, H. 1996. Free amino acids responsible for the browning of cooked scallop adductor muscle. Fisheries Science 62: 293-296.
- Kijowski, J. 2001. Muscle proteins. In Sikorski, Z. E. (ed.), Chemical and Functional Properties of Food Proteins, pp. 233-269. Pennsylvania: Technomic Publication.
- Kim, S. H., Price, R. J., Morissey, M. T., Field, K. G., Wei, C. I., and An, H. 2002. Histamine production by *Moganella morganii* in mackerel, albacore, mahi-mahi, and salmon at various storage temperatures. Journal of Food Science 67(4): 1522-1528.

- Kim, S., Ben-Gigirey, B., Barros-Velazquez, J., Price, R. J., and An, H. 2000. Histamine and biogenic amine production by *Moganella morganii* isolated from temperature-abused albacore. Journal of Food Protection 63(2): 244-251.
- Kimura, S. and Kubota, M. 1968. Some properties of collagen from the abalone. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 34(4): 925-929.
- Kolodziejska, I., Sikorski, Z. E., and Sadowska, M. 1987. Texture of cooked mantle of squid *Illex argentinus* as influenced by specimen characteristics and treatments. Journal of Food Science 52(4): 932-935.
- Konagaya, S. and Konagaya, T. 1979. Acid denaturation of myofibrillar protein as the main cause of formation of "yake-niku", a spontaneously of done meat, in red meat fish. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 45(2): 245-248.
- Kotzekidou, P. 2000. *Bacillus stearothermophilus*. In Robinson, R. K., Batt, C. A., and Patel, P. D. (eds.), Encyclopedia of Food Microbiology Volume 1, pp.124-129. London: Academic Press.
- Kumar, A. J., Singh, R. R. B., Patel, A. A., and Patil, G. R. 2006. Kinetics of color and texture changes in gulabjamun balls during deep-fat frying. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie 39: 827-833.
- Laakkonen, E., Wellington, G. H., and Sherbon, J. W. 1970. Low temperature, long time heating of bovine muscle. 1. Changes in tenderness, water-binding capacity, pH and amount of water soluble components. Journal of Food Science 35(2): 175-177.
- Lampila, L. E. and Godber, J. P. 2002. Food phosphates. In Branen, A. L., Davidson, P. M., Salminen, N., and Thorngate III, J. H. (eds.), Food Additives 2nd ed., pp. 809-896. New York: Marcel Dekker.
- Lannelongue, M., Finne, G., Hanna, M. O., Nickelson, R., and Vanderzant, G. 1982. Storage characteristics of brown shrimp (*Penaeus aztecus*) stored in retail packages containing CO₂-enriched atmospheres. Journal of Food Science 47(3): 911-913.
- Larick, D. K. and Turner, B. E. 1992. Aseptic processing of bovine particulates: flavor development/stability and texture. Journal of Food Science 57(5): 1046-1050.

- Lawrie, R. A. 1968. Chemical changes in meat due to processing – a review. Journal of the Science of Food and Agriculture 19(1): 233-240.
- Leach, A. A. 1960. Notes on a modification of the Neuman & Longman method for the determination of the hydroxyproline. The Biochemical Journal 74(1): 70-71.
- Ledward, D. A. 1979. Meat. In Priestley, R. J. (ed.), Effects of Heating on Foodstuffs, pp. 157-194. London: Applied Science Publishers Ltd.
- Ledward, D. A. 1984. Food group (meat panel) symposium connective tissue in meat and meat products - Thermal stability of connective tissue in meat and meat products. Journal of the Science of Food and Agriculture 35(5): 1261-1267.
- Lehane, L. and Olley, J. 2000. Histamine fish poisoning revisited. International Journal of Food Microbiology 58: 1-37.
- Li, W., Bowers, J. A., Craig, J. A., and Perng, S. K. 1993. Sodium tripolyphosphate stability and effect in ground turkey meat. Journal of Food Science 58(3): 501-504.
- Light, N., Voyle, C., and Champion, A. 1984. Relationship between collagen content, type and texture of difference muscles. Journal of Science of Food and Agriculture 35 (5): 1261-1262.
- Lopez-Sabater, E. I., Rodriguez, J. J., Roig- Saguez, A. X., and Mora-Ventura, M. T. 1994. Bacteriological quality of tuna fish (*Thunnus thynnus*) destined for canning: Effect of tuna handling on presence of histidine decarboxylase bacteria and histamine level. Journal of Food Protection 57(4): 318-323.
- Lopez-Sabater, E. I., Rodriguez-Jerez, J. J., Hernadez-Herrero, M., Roig-Sagues, A. X., and Mora-Ventura, M. T. 1996. Sensory quality and histamine formation during controlled decomposition of tuna (*Thunnus thynnus*). Journal of Food Protection 59(2): 167-174.
- Ma, L. Y., Deng, J. C., Ahmed, E. M., and Adams, J. P. 1983. Canned shrimp texture as a function of its heat history. Journal of Food Science 48(2): 360-363.
- Martens, H., Stabursvik, E., and Martens, M. 1982. Texture and colour changes in meat during cooking related to thermal denaturation of muscle proteins. Journal of Texture Studies 13: 291-309.

- McMeekin, T. A., Olley, J., Ross, and T., Ratkowski, D. A. 1993. A thermodynamic approach to bacterial growth. Cite in Lehane, L., and Olley, J. 2000. Histamine fish poisoning revisited: a review. International Journal of Food Microbiology 58: 1-37.
- Mizuta, S., Miyaki, T., Nishimiya, T., and Yoshinaka, R. 2004. Partial characterization of collagen in several bivalve molluscs. Food Chemistry 87: 83-88.
- Mizuta, S., Yoshinaka, R., Sato, M., and Sakaguchi, M. 1994. Characterization of collagen in the muscle several crustacean species in association with raw meat texture. Fisheries Science 60: 323-328.
- Mohan, C. O., Ravishankar, C. N., Bindu, J., Geethalakshmi, V., and Srinivasa Gopal, T. K. 2006. Effect of thermal process time on quality of "shrimp kuruma" in retortable pouches and aluminum cans. Journal of Food Science 71(6): S496-S500.
- Nakayama, F. and Kimura, S. 1979. Glucose-6-phosphate content in the meat of boiled scallop and browning of the canned product. Journal of Tokyo University of Fisheries 44(1): 209-213.
- Niven, C.F., Jeffrey, M. B., and Corlett, D. A. 1981. Differential plating medium for quantitative detection of histamine-producing bacteria. Applied and Environmental Microbiology 41(1): 321-322.
- Ochiai, Y., Kariya, Y., Watabe, S., and Hashimoto, K. 1985. Heat-induced tendering of turban shell (*Batillus cornutus*) muscle. Journal of Food Science 50(2): 981-984.
- Offer, G., Knight, P., Jeacocke, R., Almond, R, Consins, T., Elsey, J., Parsons, N., Sharp, A., Starr, R., and Purslow, P. 1989. The structural basis of the water-holding, appearance and toughness of meat and meat products. Food Microstructure 8: 151-170.
- Olaechea, R. P., Ushio, H., Watabe, S., Takada, K., and Hatae, K. 1993. Toughness and collagen content of abalone muscles. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 57(1): 6-11.
- Olafsdottir, G., Martinsdottir, E., Oehlenschläger, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Undeland, I., Mackie, I. M., Henehan, G., Nielsen, J., and Nilsen, H. 1997. Method to evaluate fish freshness in research and industry. Trends in Food Science & Technology 8:258–265.

- Olley, J. and Thrower, S. J. 1977. Abalone – an esoteric food. Advance in Food Research 23(1): 143-185.
- Olson, K. I. and Sorrells, K. M. 2001. Thermophilic flat sour sporeformers. In Pouch, S. F. and Ito, K. (eds.), Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, pp. 245-248. Washington, D. C.: American Public Health Association.
- Palka, K. and Daun, H. 1999. Changes in texture, cooking losses, and myofibrillar structure of bovine M. semitendinosus during heating. Meat Science 51: 237-243.
- Parkin, K. L. and Brown, W. D. 1983. Modified atmosphere storage of Dungeness crab (*Cancer magister*). Journal of Food Science 48(2): 370-374.
- Paul, P. 1963. Influence of methods of cooking on meat tenderness. In Processing of Meat Tenderness Symposium, pp. 225-242, Campell Soup Co., Camden NJ.
- Pigott, G. M. and Tucker, B. W. 1990. Seafood: Effects of Technology on Nutrition. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Price, R. J. and Tom, P.D. 2004. Scombrotoxin (Histamine): Chapter 27[online]. Davis: The National Sea Grant College Fisheries Extension Enhancement Grant Program. Available from: <http://seafood.ucdavis.edu/haccp/compendium/chapter27.htm> [2005, March 29]
- Rizvi, A. F. and Tong, C. H. 1997. Fractional conversion of determining texture degradation kinetics of vegetables. Journal of Food Science 62(1): 1-7.
- Robbin, F. M., Walker, J. E., Cohen, S. H., and Charterjee, S. 1979. Action of proteolytic enzymes on bovine myofibrils. Journal of Food Science 44(6): 1672-1680.
- Sanchez-Bramila, J. V., Lyon, B.G., Huang, Y. W., Franco Santiago, J. R., Lyon, C. E., and Gates, K. W. 2002a. Sensory and texture quality of canned whelk (*Astraea undosa*) subjected to tenderizing treatments. Journal of Food Science 67(4): 1559-1563.
- Sanchez-Bramila, J. V., Lyon, B. G., Huang, Y. W., Lyon, C. E., and Gates, K. W. 2002b. Sensory characteristics and instrumental texture attributes of abalone, *Haliotis fulgens* and *cracherodii*. Journal of Food Science 67(3): 1233-1239.
- Scott, D. N., Fletcher, G. C., Hogg, M. G., and Ryder, J. M. 1986. Comparison of whole and headed and gutted orange roughy stored in ice: sensory, microbiology and chemical assessment. Journal of Food Science 51(1): 79-83.

- Shahidi, F. 1994. Seafood proteins and preparation of protein concentrates. In Shahidi, F. and Botta, J. R. (eds.), Seafood: Chemistry, Processing Technology and Quality, pp. 3-9. Glasgow: Blackie Academic and Professional.
- Sidwell, V. 1981. Chemical and nutritional composition of finfish, whales, crustaceans, mollusks, and their products. NOAA Technical memorandum, NMFS F/SEC-11. United States Department of commerce, Washington, D. C. Cite in Pigott, G. M. and Tucker, B. W. 1990. Seafood: Effects of Technology on Nutrition. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Sikorski, Z. E. and Borderias, J. 1994. Collagen in muscle and skin of marine animals. In Sikorski, Z. E., Pan, B. S., and Shahidi, F. (eds.), Seafood Protein, pp. 58-70. New York: Chapman & Hall.
- Sofos, J. N. 1986. Use of phosphate in low-sodium meat products. Food Technology 40(9): 52-69.
- Sofos, J. N. 1994. Microbial growth and its control in meat, poultry and fish. In Pearson, A. M. and Dutson, T. R. (eds.), Advances in Meat Research Series Volume 9: Quality Attributes in Meat, Poultry and Fish Products, pp. 359-403. London: Blackie Academic & Professional.
- Solomon, H. M., Johnson, E. A., Bernard, D.T., Arnon, S. S., and Ferreira, J. L. 2001. *Clostridium botulinum* and its toxins. In Pouch, S. F. and Ito, K. (eds.), Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, pp. 317-323. Washington, D. C.: American Public Health Association.
- Subburaj, M., Karunasagar, I., and Karunasagar, I. 1984. Incidence of histidine-decarboxylating bacteria in fish and market environments. Food Microbiology 1: 263-267
- Takayama, N., Yamamoto, Y., Kadowaki, Y., and Endo, K. 1970. Chemical components of abalone meat. Kaseikaku Zasshi. 21(1): 239-245.
- Taylor, S. L., Guthertz, L. S., Leatherwood, M., Tillman, F., and Lieber, E. R. 1978. Histamine production by food-borne bacteria species. Journal of Food Safety 1: 173-187.
- Taylor, S. L. and Speckhard, M. W. 1983. Isolation of histamine producing bacteria from frozen tuna. Marine Fisheries Review 45(4-6): 35-39.

- Tompkin, R. B. 1984. Indirect antimicrobial effects in foods: Phosphates. Journal of Food Protection 46: 846-860.
- Tyszkiewicz, S. 1979. Factors determining meat tenderness (in Polish). Przemysł Spożywczy 23: 218-221. Cite in Palka, K., and Daun, H. 1999. Changes in texture, cooking losses, and myofibrillar structure of bovine *M. semitendinosus* during heating. Meat Science 51: 237-243.
- Ueng, Y. and Chow, C. 1998. Textural and histological changes of different squid mantle muscle during frozen storage. Journal of Agriculture and Food Chemistry 46: 4728-4733.
- Wang, M. Y. and Brown, W. D. 1983. Effects of elevated CO₂ atmosphere on storage of freshwater crayfish (*Pacifastacus leniusculus*). Journal of Food Science 48(1): 158-162.
- Watabe, S., Ochiai, Y., Kariya, Y., Dinh, T. N. L., Kimura, S., and Hashimoto, K. 1986. Characterization of three types of turban shell *Batillus cornutus* muscle – ultrastructure and protein composition. Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries 52(4): 737-744.
- Wattanachant, S., Benjakul, S., and Ledward, D. A. 2005. Effect of heat treatment on changes in texture, structure and properties of Thai indigenous chicken muscle. Food Chemistry 93: 337-348.
- Webber, H. H. 1970. Changes in metabolite composition during the reproductive cycle of the abalone *Haliotis cracheroidii* (Gastropoda: Prosobranchiata). Physiological Zoology 43(1): 213-217.
- Wei, C. I., Chen, C. M., Koburger, J. A., Oswell, W. S., and Marshall, M. R. 1990. Bacterial growth and histamine production on vacuum packaged tuna. Journal of Food Science 55(1): 59-63.
- Wekell, J. C. and Teeney, F. M. 1988. Canned salmon curd reduced by use of polyphosphates. Journal of Food Science 53(4): 1009-1013.
- Wongso, S. and Yamanaka, H. 1998. Extractive components of the adductor muscle of Japanese baking scallop and changes during refrigerated storage. Journal of Food Science 63(5): 772-776.

- Xiong, Y. L. 1997. Structure-function relationships of muscle protein. In Damodaran, S. (ed.), Food Proteins and Their Application, pp. 341-362. New York: Marcel Dekker.
- Yoneda, C., Kasamatsu, C., Hatae, K., and Watabe, S. 2002. Changes in taste and textural properties of the foot of the Japanese cockle (*Fulvia mutica*) by cooking and during storage. Fisheries Science 68: 1138-1144.
- Yoshinaga, D.H. and Frank, H. A. 1982. Histamine-producing bacteria in decomposing skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). Applied and Environmental Microbiology 44(2): 447-452.
- Zayas, J. F. 1997. Functionality of Proteins in Food. Germany: Springer.





ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมี

ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นด้วยวิธี air oven method

ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC (1995) โดยเปลี่ยนอุณหภูมิที่ใช้อบจาก $130 \pm 3^{\circ}\text{C}$ เป็น $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$

อุปกรณ์และเครื่องมือ

ตู้อบลมร้อน (Mettmert รุ่น model 600, Germany)

วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างอูมเนียมไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$ นาน 1 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ จากนั้นชั่งน้ำหนักตัวอย่างอูมเนียมเปล่าที่แน่นอนเก็บไว้
2. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยที่เตรียมไว้ในข้อ 1
3. นำตัวอย่างเข้าอบในตู้อบที่อุณหภูมิ $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$ นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ นาน 30 นาที จากนั้นชั่งน้ำหนักตัวอย่างอูมเนียมพร้อมตัวอย่างที่แน่นอน
4. นำตัวอย่างแบ่งเข้าอบต่อในตู้อบที่อุณหภูมิ $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$ นาน 1 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ โดยให้ค่าความชื้นมีความคลาดเคลื่อนได้ร้อยละ 0.2
5. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างอูมเนียมพร้อมตัวอย่างแล้วห้กลับด้วยน้ำหนักของตัวอย่างอูมเนียมเปล่าจะได้น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบ

$$\text{ปริมาณความชื้น (\% wet basis)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบ}}$$

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (crude protein)

วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องย่อยโปรตีน (Buchi รุ่น K-424, Switzerland)
2. เครื่องกลั่นไนโตรเจน (Buchi รุ่น B-324, Switzerland)

สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น
2. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 35%
4. สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4%
5. สารผสมเซเลเนียมมิกเซอร์
6. อินดิเคเตอร์ (สารละลายเมทิลเรดความเข้มข้น 0.2% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมกับ สารละลายเมทิลีนบลูความเข้มข้น 0.2% ปริมาตร 25 มิลลิลิตร)

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 มิลลิลิตร ลงบนกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วเติมสารผสมเซเลเนียมมิกเซอร์เพื่อเร่งปฏิกิริยา 5 กรัม ห่อกระดาษกรอง ใส่ลงในหลอดย่อย
2. เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อย
3. ทำ blank โดยการใช้น้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร แทนตัวอย่าง แล้ววิเคราะห์เช่นเดียวกัน
4. ต่อหลอดย่อยโปรตีนเข้ากับเครื่องย่อยโปรตีน เปิดเตาให้ความร้อนที่เบอร์ 8 ย่อยจนได้สารละลายสีเขียวอ่อนใส
5. ปิดเตาย่อยแล้วยกหลอดออกจากเครื่องย่อยแล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
6. นำหลอดย่อยโปรตีนและขวดรูปชมพู่ที่เติมอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ไปต่อเข้ากับเครื่องกลั่นไนโตรเจน กำหนดสภาวะกลั่น ดังนี้
 - สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 35% ปริมาตร 60 มิลลิลิตร
 - สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
 - น้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
 - เวลาในการกลั่น 5 นาที
7. ในระหว่างการกลั่นจะเกิดแอมโมเนียและแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจะถูกจับไว้ด้วย สารละลายกรดบอริกได้สารละลายสีเขียว เมื่อกลั่นเสร็จแล้วนำขวดรูปชมพู่ที่ได้จากการกลั่นไปไตเตรทด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล ที่วิเคราะห์หาความเข้มข้นที่แน่นอนแล้ว จนกระทั่งถึงจุดยุติได้สารละลายสีม่วงแดง จดปริมาตรสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรทไปคำนวณหาปริมาณโปรตีน

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} = \frac{(V-B) \times N \times 1.4 \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\%wet basis)} = \text{ปริมาณไนโตรเจน} \times 6.25$$

V คือ ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่าง

B คือ ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรต blank

N คือ ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันทั้งหมด (crude fat)

วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องสกัดไขมัน (Soxhlet extractor)
2. ตู้อบลมร้อน (Mettmert รุ่น model 600, Germany)

สารเคมี

สารละลายปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีการทดลอง

1. นำขวดก้นกลมมาอบในตู้อบที่อุณหภูมิ $100 \pm 5^\circ\text{C}$ จนแห้งสนิท ทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์ จากนั้นชั่งน้ำหนักขวดก้นกลมเปล่าที่แน่นอนเก็บไว้
2. นำตัวอย่างไปอบแห้งที่อุณหภูมิ $100 \pm 5^\circ\text{C}$ แล้วชั่งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
3. ใส่ตัวอย่างที่ห่อด้วยกระดาษกรองลงในทิมเบล แล้วนำไปประกอบเข้าในชุดสกัดไขมัน โดยใช้สารละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เป็นตัวสกัด สกัดนาน 3 ชั่วโมง
4. นำขวดก้นกลมที่ได้จากข้อ 3 ไประเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ออกด้วยเครื่องระเหยจนหมด
5. นำขวดก้นกลมไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ $100 \pm 5^\circ\text{C}$ จนแห้งสนิท ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ จากนั้นชั่งน้ำหนักขวดก้นกลมหลังการสกัดไขมันที่แน่นอนเพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณไขมันทั้งหมดในตัวอย่าง

$$\text{ปริมาณไขมันทั้งหมด} = \frac{(\text{น้ำหนักขวดก้นกลมหลังสกัด} - \text{น้ำหนักขวดก้นกลมก่อนสกัด}) \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง}}$$

ก.4 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เตาเผา (Muffle furnace, Carbolite รุ่น CWF 1200, England)
2. crucible (crucible)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ใน crucible ที่เผาและทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว
2. นำตัวอย่างไปเผาโดยใช้ hot plate ในตู้ดูดควันจนกระทั่งตัวอย่างหมดควัน
3. นำตัวอย่างเข้าเผาในเตาเผา ที่อุณหภูมิ 550°C จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว
4. ทิ้งให้เย็นใน desiccator 1 ชั่วโมง
5. ชั่งน้ำหนักเถ้าที่ได้และคำนวณปริมาณเถ้า

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์จุลินทรีย์

ข.1 แบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (aerobic plate count)

วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC Official Method 986.32(1995)

การเตรียมสารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลายเกลือเพื่อเจือจาง (saline dilution blanks)

ซิงโซเดียมคลอไรด์ 8.5 กรัม ใส่น้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2. เพลตเคนอะการ์ (plate count agar)

ซิงเพลตเคนอะการ์ 22.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 45°C เทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ จานละประมาณ 10-15 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

ซิงตัวอย่าง 10 กรัม ใส่น้ำในถุง stomacher ที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ เติมสารละลายเกลือเพื่อเจือจาง 90 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องตีปั่นนาน 1 นาที จะได้ความเข้มข้น 1 ต่อ 10 หรือทำให้เจือจางต่อไปจนได้ความเข้มข้น 10^{-4} - 10^{-6} เพื่อให้สามารถนับจำนวนจุลินทรีย์ได้ 30-300 โคโลนี ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่างๆ 1 มิลลิลิตร ใสลงในเพลตเคนอะการ์ที่เตรียมไว้ แล้วเกลี่ยให้กระจายทั่วผิวน้ำอาหาร นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อซึ่งมีปริมาณ 30-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ย แล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัม (colony forming unit หรือ cfu/g)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข.2 แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลส (histidine decarboxylase bacteria)

วิเคราะห์ตามวิธีของ Niven และคณะ (1981)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลส ประกอบด้วย

ทริปโตเน (tryptone)	5	กรัม
ยีสต์เอ็กซแทรกต์ (yeast extract)	5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ 5 กรัม		
แอล-ฮิสติดีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ (L-histidine monohydrochloride)	20	กรัม
อะการ์ 20 กรัม		
แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3)	1	กรัม
บรอมครีซอลเพอร์เพิล (bromocresol purple)	0.06	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ในน้ำกลั่น คนให้ละลาย แล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 10 นาทีหรือน้อยกว่า เพื่อป้องกันการสลายตัว (hydrolysis) ของอะการ์ เนื่องจากอาหารมีค่าความเป็นกรดต่ำ (pH 5.3) จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ ตามวิธีการเตรียมเพลตเคาน์อะการ์ในข้อ ข.1

วิธีวิเคราะห์

ทำเช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์แบคทีเรียที่ต้องการอากาศข้อ ข.1 ทำการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลส โดยสังเกตจากโคโลนีสีม่วง ซึ่งแบคทีเรียนี้จะสร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสไปเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนฮิสติดีนไปเป็นฮิสตามีน มีผลทำให้ pH เพิ่มขึ้น ทำให้อินดิเคเตอร์ (บรอมครีซอลเพอร์เพิล) เปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีม่วง หาค่าเฉลี่ยแล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัม (cfu/g)

ข.3 การวิเคราะห์ *Clostridium botulinum*

วิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐานของ American Public Health Association (Solomon และคณะ, 2001)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. คุกกี้มีเดีย
2. trypticase peptone glucose yeast extract broth (TPGY) หรือ trypticase peptone glucose yeast extract with tryptone broth (TPGYP)
3. liver veal egg yolk agar หรือ anaerobic egg yolk agar

วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างประมาณ 2 กรัม เพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อคุกกี้มีเดีย ซึ่งได้ต้มไล่อากาศออกและทำให้เย็นแล้ว และอาหาร trypticase peptone glucose yeast extract จำนวนอย่างละ 4 หลอด
2. นำคุกกี้มีเดียไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35°C ส่วน trypticase peptone glucose yeast extract บ่มที่อุณหภูมิ 26°C-28°C เป็นเวลา 5 วัน ถ้าสังเกตว่าอาหารเลี้ยงเชื้อมีความขุ่น มีก๊าซเกิดขึ้น หรือเกิดการเปื่อยยุ่ยของชิ้นเนื้อ หรือเกิดกลิ่น จึงนำไปย้อมสีด้วยวิธีกรัมสแติน (gram stain) ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เชื้อพวกคลอสทริเดียมซึ่งเป็นเชื้อกรัมบวก มีรูปร่างเป็นแท่ง มีสปอร์อยู่ปลายหรือค่อนข้างปลาย
3. เพื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์ (pure culture isolation) จะถ่ายเชื้อจากอาหารเดิมที่พบเชื้อดังกล่าว โดยปิเปตบริเวณส่วนบนของอาหาร 2 มิลลิลิตร เติม absolute ethanol 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมา
4. เพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ liver veal egg yolk agar หรือ anaerobic egg yolk agar แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35°C 48 ชั่วโมง ในภาวะที่ไม่มีอากาศ
5. เลือกโคโลนีที่มีลักษณะนูนเล็กน้อยหรือแบน เรียบหรืออาจขรุขระเล็กน้อย มาเพาะลงใน TPGY หรือ TPGYP บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35°C 5 วัน
6. เพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ liver veal egg yolk agar อีกครั้ง แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35°C 48 ชั่วโมง โดยแบ่งจานที่เพาะเชื้อแล้วนี้เป็นสองส่วน โดยส่วนแรกบ่มเพาะเชื้อในภาวะอากาศปกติ และอีกส่วนบ่มในภาวะที่ไม่มีอากาศ ถ้าเป็นเชื้อ *C. botulinum* จึงจะเจริญได้ในภาวะไร้อากาศ การเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์จะเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (ประมาณ 5°C)

ข.4 การวิเคราะห์ *Bacillus stearothermophilus*

วิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐานของ American Public Health Association (Olson และ Sorrells, 2001)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

เดกซ์โตรสทริปโตโนอะการ์ (dextrose tryptone agar)

วิธีวิเคราะห์

นำผลิตภัณฑ์อาหารมาบ่มที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 7 วัน เมื่อบ่มครบกำหนด เปิดภาชนะบรรจุอาหารด้วยเครื่องมือปลอดเชื้อ นำตัวอย่างใส่ภาชนะปราศจากเชื้อ นำไปให้ความร้อนในน้ำเดือด 5 นาที จากนั้นชั่งตัวอย่าง 2 กรัม เพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเดกซ์โตรสทริปโตโนอะการ์ เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 50°C-55°C เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง ถ้าเป็น *Bacillus stearothermophilus* จะมีลักษณะโคโลนีสีเหลือง ขนาด 2-5 มิลลิเมตร เนื่องจากเชื้อสามารถสร้างกรด ซึ่งจะเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อจากสีม่วงเป็นสีเหลือง

ข.5 แบคทีเรียพวกแฟลตซาวร์ (flat sour) ชนิดเทอร์โมฟิลิก (thermophilic) และชนิดมีโซฟิลิก (mesophilic)

วิเคราะห์ตามวิธีของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 335-2533)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. เดกซ์โตรสทริปโตโนบรอมครีซอลเพอร์เฟิลบรอต (dextrose tryptone bromcresol purple broth) ประกอบด้วย

ทริปโตน (tryptone)	10	กรัม
เดกซ์โตรส (dextrose)	5	กรัม
บรอมครีซอลเพอร์เฟิล (bromcresol purple)	0.04	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ในน้ำกลั่น คนให้ละลาย แล้วแบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 10 มิลลิลิตร ปิดฝา นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2. เดกซ์โตรสทริปโตเนบรอมครีซอลเพอร์เฟิลอะการ์ (dextrose tryptone bromcresol purple agar) ประกอบด้วย

ทริปโตเน (tryptone)	10	กรัม
เดกซ์โตรส (dextrose)	5	กรัม
บรอมครีซอลเพอร์เฟิล (bromcresol purple)	0.04	กรัม
อะการ์	12	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ในน้ำกลั่นและคนให้ละลาย นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิ ประมาณ 45°C เทอาหารลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อประมาณ 10-15 มิลลิลิตรต่อจาน

วิธีวิเคราะห์

นำตัวอย่างประมาณ 2 กรัม เพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเดกซ์โตรสทริปโตเนบรอมครีซอลเพอร์เฟิลบรอท จำนวน 4 หลอด และในอาหารเลี้ยงเชื้อเดกซ์โตรสทริปโตเนบรอมครีซอลเพอร์เฟิลอะการ์ อีก 4 จาน อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 และ 55°C อย่างละ 4 หลอด และ 4 จาน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ถ้ามีเชื้อพวกแฟลตซัวร์จะทำให้เกิดกรดขึ้น ซึ่งจะเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อจากสีม่วงเป็นสีเหลือง

ข.6 จุลินทรีย์พวกเทอร์โมฟิลิกแอนแอโรบส์ (thermophilic anaerobes)

วิเคราะห์ตามวิธีของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 335-2533)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อคูกมีตมีเดีย (cooked meat medium)

ชั่งคูกมีตมีเดีย 12.5 กรัม ต่อน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แบ่งเนื้อใส่ในหลอดทดลองให้มี ปริมาณของเนื้อสูง 2.5 เซนติเมตร เติมน้ำกลั่นให้สูงประมาณ 4 เซนติเมตร ปิดฝา ฆ่าเชื้อในหม้อ นึ่งความดันอุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

วิธีวิเคราะห์

นำตัวอย่างประมาณ 2 กรัม เพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อคูกมีตมีเดีย ซึ่งได้ต้มไล่อากาศ ออกและทำให้เย็นแล้ว จำนวน 4 หลอด แบ่งไปต้มที่ 80°C นาน 20 นาที 2 หลอด ทำให้เย็นแล้ว

เพาะการที่ปราศจากเชื้อทပ်ผิวน้ำอาหารในหลอดทั้ง 4 หรือจะใส่ในแอนแอโรบิกจาร์ (anaerobic jar) ก็ได้ แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 55°C นาน 48-72 ชั่วโมง ถ้ามีก๊าซเกิดขึ้นนำไปย้อมสีด้วยวิธีกรัมสแติน (gram stain) ถ้ามีเชื้อซึ่งเป็นเชื้อกรัมบวก (gram positive) มีรูปร่างเป็นแท่ง มีสปอร์อยู่ปลายหรือค่อนข้างปลาย แสดงว่าเป็นเชื้อพวกเทอร์โมฟิลิกแอนแอโรบส์

ข.7 จุลินทรีย์พวกพิวทรีแฟกตีฟแอนแอโรบส์ (putrefactive anaerobes)

วิเคราะห์ตามวิธีของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 335-2533)

วิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ ข.6 แต่นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35°C-37°C 72-96 ชั่วโมง

ข.8 จุลินทรีย์พวกซัลไฟด์สปอยเลจ (sulphide spoilage)

วิเคราะห์ตามวิธีของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 335-2533)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อไอร่อนซัลไฟด์อะการ (iron sulphite agar)

ซังไอร่อนซัลไฟด์อะการ 26 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ ตามวิธีการเตรียมเพลตเคาน์อะการ ในข้อ ข.1

วิธีวิเคราะห์

ทำเช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์แบคทีเรียที่ต้องการอากาศ ข้อ ข.1 แต่บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 55°C นาน 48-72 ชั่วโมง ถ้าพบโคโลนีสีดำแสดงว่าเป็นแบคทีเรียพวกซัลไฟด์สปอยเลจ

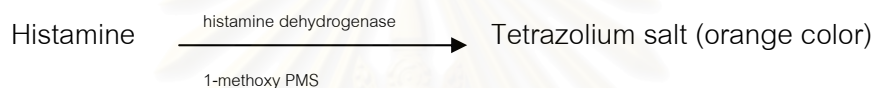
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

วิธีวิเคราะห์ฮิสตามีน

วิเคราะห์ฮิสตามีนในตัวอย่างเนื้อหอยเป่าฮิโตะด้วยชุดทดสอบฮิสตามีน (KIKKOMAN, Kikkoman Corporation, Japan)

หลักการวิเคราะห์ฮิสตามีน คือ เอนไซม์ histamine dehydrogenase จะช่วยเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของฮิสตามีนในภาวะที่มี 1-methoxy-5-methylphenazinium methylsulphate (1-methoxy PMS) ทำให้เกิด tetrazolium salt ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีสีส้ม ดังสมการ แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 460 นาโนเมตร



สารเคมีและวิธีการเตรียม

1. สารละลายบัฟเฟอร์ 0.1 M EDTA .2Na (pH 8.0)

ชั่งเอทรีลีนไดอะมีนเตตระอะซิติกแอซิดไดโซเดียมซอลท์ (EDTA.2Na.2H₂O) 37.22 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับพีเอชด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

2. สารเคมีในชุดทดสอบฮิสตามีน ประกอบด้วย

2.1 colorimetric reagent ที่ประกอบด้วย tetrazolium salt และ 1-methoxy PMS เตรียมโดยเติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ เมื่อละลายดี ห่อหุ้มขวดด้วยฟอยล์และแช่ตู้เย็นก่อนนำมาใช้งาน

2.2 enzymatic reagent ได้แก่ เอนไซม์ histamine dehydrogenase เตรียมโดยเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ เมื่อละลายดี ห่อหุ้มขวดด้วยฟอยล์ และแช่ตู้เย็นก่อนนำมาใช้งาน

2.3 tris-hydrochloric acid buffer solution

2.4 histamine standard solution

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมสารสกัดจากตัวอย่าง (sample extraction)

นำหอยเป่าฮิโตะที่ปั่นละเอียด 1 กรัม ใส่ในหลอดเข็นตริฟิวจ์ เติมสารละลายบัฟเฟอร์ EDTA .2Na (pH 8.0) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 24 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือด 20 นาที แล้ว

ทำให้เย็นอย่างรวดเร็วในอ่างน้ำแข็ง แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 10,000×g นาน 5 นาที เก็บของเหลวส่วนใสเพื่อใช้วิเคราะห์ต่อไป

2. การวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบฮิสตามีน

2.1 ปิเปตสารละลายแต่ละชนิดลงในหลอดทดลองพลาสติกดังนี้

สารที่ใช้	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิลิตร)			
	Sample	sample blank	standard solution	reagent blank
น้ำกลั่น	1.0	1.4	1.0	2.4
สารสกัดตัวอย่าง	1.0	1.0	-	-
histamine standard solution	-	-	1.0	-
buffer solution	0.4	0.4	0.4	0.4
colorimetric reagent	0.4	0.4	0.4	0.4
enzyme solution	0.4	-	0.4	-

2.2 เขย่าผสมให้เข้ากัน แล้วบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Jasco UV/VIS Spectrophotometer รุ่น V-530) ที่ความยาวคลื่น 460 นาโนเมตร คำนวณปริมาณฮิสตามีนในตัวอย่างดังสมการ

$$\text{ปริมาณฮิสตามีน (ppm)} = \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงของ sample} - \text{sample blank}) \times 100}{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงของ histamine standard solution} - \text{reagent blank})}$$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

การหาจุดร้อนซ้ำที่สุด (cold point) ภายในหม้อฆ่าเชื้อ

วิธีการทดลอง

วางผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ทเพอร์ที่เสียบเข็มวัดอุณหภูมิคู่ควบ บริเวณด้านข้างถุงและปลายเข็มเสียบตรงกึ่งกลางเนื้อหอยเป่าฮื้อ ไว้ในตำแหน่งต่างๆ ภายในหม้อฆ่าเชื้อ (HISAKA simulator retort รุ่น RCS-40RTGN) จำนวน 6 ตำแหน่ง ดังรูป ง.1 และบันทึกการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในรีทอร์ทเพอร์แต่ละตำแหน่งทุก 1 นาที เมื่อฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ที่ 110°C เป็นเวลา 50 นาที (แสดงในตารางที่ ง.1)

ฝาปิดหม้อฆ่าเชื้อ		ชั้นตะแกรงบรรจุอาหารในหม้อฆ่าเชื้อ			
		10	P5		P6
		9			
		8			
		7			
		6			
		5			
		4		P4	
		3			
		2		P3	
		1	P1		P2

รูปที่ ง.1 ตำแหน่งการวางเข็มวัดอุณหภูมิคู่ควบเพื่อหาจุดร้อนซ้ำที่สุดในหม้อฆ่าเชื้อ

จากข้อมูลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในรีทอร์ทเพอร์ (ตารางที่ ง.1) จะเห็นว่าจุดร้อนซ้ำที่สุดของหม้อฆ่าเชื้อนี้อยู่บริเวณตอนกลางของตะแกรงบรรจุอาหารชั้นที่ 2 (P3) เมื่อสิ้นสุดการฆ่าเชื้อ ผลิตภัณฑ์ที่วางไว้ในตำแหน่ง P1, P2, P3, P4, P5, และ P6 มี Lethality (F_0) เท่ากับ 4.3, 4.5, 3.9, 4.6, 4.6, และ 4.0 นาที ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกตำแหน่ง P3 เป็นจุดร้อนซ้ำที่สุด และใช้เป็นตำแหน่งที่ใช้ติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของอาหารที่จุดร้อนซ้ำที่สุดระหว่างกระบวนการฆ่าเชื้อต่อไป

ตารางที่ ง.1 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของอาหารภายในรีทอร์ตเพาซ์ที่วางไว้ในตำแหน่งต่างๆ
ภายในหม้อฆ่าเชื้อ

เวลา (นาที)	อุณหภูมิ (°ซ)						Lethality (นาที)					
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6
0	39.3	39.4	40.6	38.6	39.3	38.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1	104.0	104.4	65.9	104.0	104.1	103.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2	102.4	102.7	81.4	103.0	103.0	102.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
3	104.4	105.0	88.2	105.1	104.8	104.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4	105.9	106.3	92.7	106.4	106.4	105.7	0.1	0.1	0.0	0.1	0.1	0.1
5	108.9	109.5	97.0	109.6	109.5	109.0	0.1	0.1	0.0	0.1	0.1	0.1
6	111.0	111.5	100.4	111.6	111.5	110.9	0.2	0.2	0.0	0.2	0.2	0.2
7	109.9	110.0	103.7	110.1	110.1	109.6	0.3	0.3	0.0	0.3	0.3	0.3
8	109.9	110.0	105.9	111.2	111.1	110.3	0.4	0.4	0.0	0.4	0.4	0.3
9	111.3	111.6	107.1	111.8	111.9	111.0	0.4	0.5	0.1	0.5	0.5	0.4
10	110.8	111.2	107.9	111.7	111.7	110.9	0.5	0.6	0.1	0.6	0.6	0.5
11	110.6	110.7	108.5	110.5	110.5	110.0	0.6	0.7	0.2	0.7	0.7	0.6
12	110.0	110.1	108.9	110.2	110.2	109.7	0.7	0.7	0.2	0.8	0.8	0.7
13	110.1	110.2	109.2	110.3	110.3	109.7	0.8	0.8	0.3	0.8	0.8	0.7
14	110.0	110.2	109.4	110.3	110.3	109.7	0.9	0.9	0.4	0.9	0.9	0.8
15	110.0	110.2	109.6	110.2	110.2	109.6	0.9	1.0	0.4	1.0	1.0	0.9
16	109.9	110.0	109.7	110.1	110.1	109.6	1.0	1.1	0.5	1.1	1.1	1.0
17	110.2	110.4	109.8	110.2	110.3	109.7	1.1	1.2	0.6	1.2	1.2	1.0
18	109.9	110.0	109.9	110.1	110.1	109.6	1.2	1.2	0.6	1.3	1.3	1.1
19	109.9	110.0	110.0	110.1	110.1	109.6	1.3	1.3	0.7	1.4	1.4	1.2
20	110.1	110.2	110.0	110.2	110.3	109.7	1.3	1.4	0.8	1.4	1.4	1.3
21	110.9	111.1	110.0	111.6	111.5	110.8	1.4	1.5	0.9	1.5	1.5	1.3
22	109.9	109.9	110.0	110.1	110.1	109.5	1.5	1.6	1.0	1.6	1.6	1.4
23	109.9	110.0	110.1	110.1	110.1	109.6	1.6	1.7	1.0	1.7	1.7	1.5
24	110.1	110.2	110.1	110.2	110.2	109.6	1.7	1.7	1.1	1.8	1.8	1.6
25	110.9	111.1	110.1	110.7	110.8	110.2	1.7	1.8	1.2	1.9	1.9	1.6
26	110.0	110.1	110.1	110.2	110.2	109.7	1.8	1.9	1.3	2.0	2.0	1.7
27	109.9	110.0	110.1	110.9	110.8	110.1	1.9	2.0	1.4	2.0	2.0	1.8
28	109.9	110.0	110.1	110.1	110.1	109.5	2.0	2.1	1.4	2.1	2.1	1.8
29	109.9	110.0	110.1	110.1	110.2	109.6	2.1	2.2	1.5	2.2	2.2	1.9
30	110.0	110.1	110.1	110.3	110.3	109.7	2.1	2.2	1.6	2.3	2.3	2.0
31	110.9	111.1	110.1	110.1	110.1	109.5	2.2	2.3	1.7	2.4	2.4	2.1
32	109.9	109.9	110.1	110.6	110.7	110.0	2.3	2.4	1.8	2.4	2.5	2.1

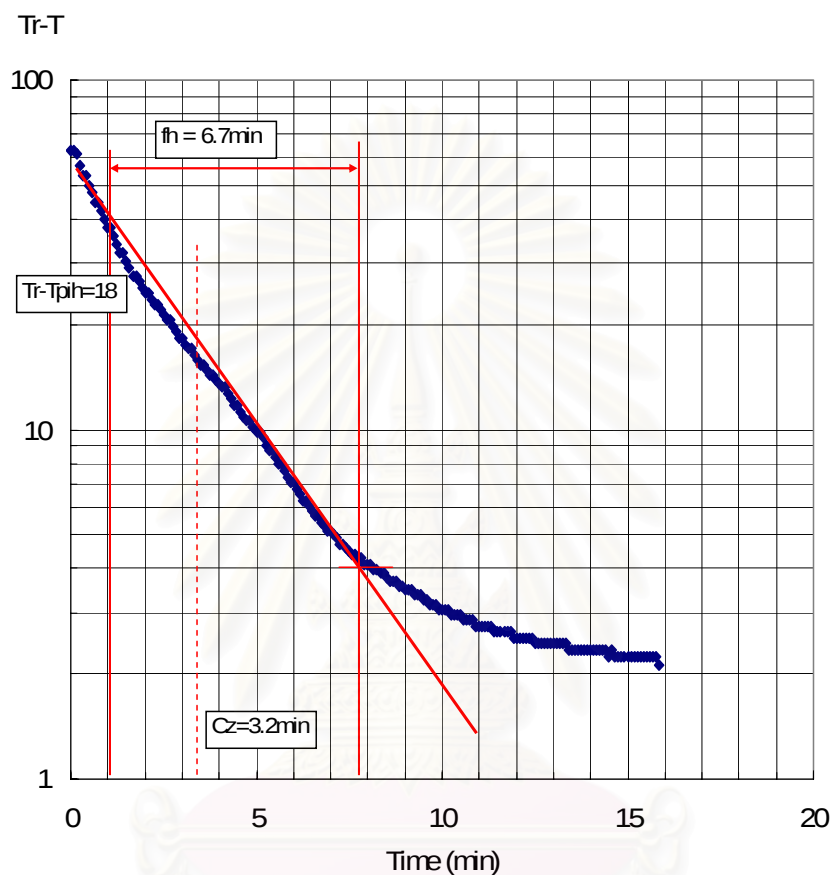
ตารางที่ ง.1 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของอาหารภายในรีโอร์ตเพาซ์ที่วางไว้ในตำแหน่งต่างๆ
ภายในหม้อฆ่าเชื้อ (ต่อ)

เวลา (นาที)	อุณหภูมิ (°ซ)						Lethality (นาที)					
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6
33	110.1	110.2	110.1	110.5	110.4	109.8	2.4	2.5	1.8	2.5	2.5	2.2
34	109.9	110.0	110.1	110.1	110.2	109.6	2.5	2.6	1.9	2.6	2.6	2.3
35	110.0	110.0	110.1	110.1	110.2	109.6	2.5	2.6	2.0	2.7	2.7	2.4
36	109.9	110.0	110.1	110.1	110.2	109.6	2.6	2.7	2.1	2.8	2.8	2.4
37	109.9	110.1	110.1	110.2	110.2	109.6	2.7	2.8	2.1	2.9	2.9	2.5
38	109.9	110.0	110.1	110.1	110.2	109.6	2.8	2.9	2.2	3.0	3.0	2.6
39	110.0	110.1	110.1	110.2	110.2	109.6	2.9	3.0	2.3	3.0	3.0	2.6
40	109.8	109.9	110.1	110.0	110.0	109.5	2.9	3.1	2.4	3.1	3.1	2.7
41	110.8	110.9	110.1	111.1	111.0	110.4	3.0	3.1	2.5	3.2	3.2	2.8
42	110.0	110.1	110.1	110.2	110.2	109.6	3.1	3.2	2.5	3.3	3.3	2.9
43	109.9	110.0	110.1	110.1	110.2	109.6	3.2	3.3	2.6	3.4	3.4	2.9
44	110.1	110.2	110.1	110.8	110.7	110.0	3.3	3.4	2.7	3.5	3.5	3.0
45	110.0	110.1	110.1	110.2	110.2	109.6	3.3	3.5	2.8	3.5	3.6	3.1
46	109.9	110.1	110.1	110.5	110.5	109.9	3.4	3.5	2.9	3.6	3.6	3.2
47	110.0	110.1	110.1	110.2	110.2	109.6	3.5	3.6	2.9	3.7	3.7	3.2
48	110.0	110.1	110.1	110.2	110.2	109.6	3.6	3.7	3.0	3.8	3.8	3.3
49	110.5	110.6	110.1	110.5	110.6	110.0	3.7	3.8	3.1	3.9	3.9	3.4
50	109.9	109.9	110.1	110.1	110.1	109.5	3.7	3.9	3.2	4.0	4.0	3.5
51	109.9	110.0	110.1	110.1	110.1	109.6	3.8	3.9	3.3	4.0	4.1	3.5
52	110.8	111.0	110.1	110.8	110.8	110.2	3.9	4.0	3.3	4.1	4.1	3.6
53	109.9	110.0	110.1	110.1	110.2	109.6	4.0	4.1	3.4	4.2	4.2	3.7
54	109.9	110.0	110.1	110.1	110.1	109.5	4.0	4.2	3.5	4.3	4.3	3.7
55	109.9	110.0	110.1	110.1	110.1	109.5	4.1	4.3	3.6	4.4	4.4	3.8
56	109.9	110.1	110.1	110.2	110.2	109.6	4.2	4.4	3.6	4.5	4.5	3.9
57	109.7	109.9	110.1	110.0	110.0	109.3	4.3	4.4	3.7	4.5	4.6	4.0
58	106.7	107.9	110.1	107.1	107.6	106.3	4.3	4.5	3.8	4.6	4.6	4.0
59	40.8	42.0	81.4	103.8	100.4	103.3	4.3	4.5	3.9	4.6	4.6	4.0
60	49.4	49.7	62.8	49.1	49.4	48.6	4.3	4.5	3.9	4.6	4.6	4.0

ภาคผนวก จ

วิธีคำนวณ heat penetration parameter และเวลาในการฆ่าเชื้อ

จ.1 การคำนวณ heat penetration parameters



รูปที่ จ.1 Heat penetration curve ของผลิตภัณฑ์หอยเป่าลื้อในน้ำเกลือบรรจุเทอร์ตเพอร์ที่วางที่ตำแหน่ง P3 ในหม้อฆ่าเชื้อ

Heat penetration parameters ที่ใช้ในการคำนวณ

- F_0 Sterilizing value (นาที)
- F_i เวลาในการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ T_i ที่มีค่าการฆ่าเชื้อเทียบเท่ากับการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิมาตรฐาน (121.1°C หรือ 250°F) เป็นเวลา 1 นาที
- f_h Heating rate index มีค่าเท่ากับเวลา (นาที) ที่ทำให้ค่า $(T_r - T)$ ลดลง 1 log cycle
- g $T_r - T$ (°C หรือ °F) ที่เวลาใดๆ
- I_h $T_r - T_{ih}$ (°C หรือ °F)

j_{ch}	Heating rate lag factor มีค่าเท่ากับ $(T_r - T_{pih}) / (T_r - T_{ih})$
T_{ih}	อุณหภูมิอาหารเมื่อเริ่มต้นให้ความร้อน ($^{\circ}\text{C}$ หรือ $^{\circ}\text{F}$)
T_{pih}	pseudo-initial temperature ในช่วงที่เริ่มให้ความร้อน ($^{\circ}\text{C}$ หรือ $^{\circ}\text{F}$) มีค่าเท่ากับจุดตัดของเส้นที่ลากผ่าน heat penetration curve ในส่วนที่เป็นเส้นตรงกับเวลาศูนย์ที่แก้ไขแล้ว (Corrected zero time = $0.58 \times \text{CUT}$)
T_r	อุณหภูมิของหม้อฆ่าเชื้อ ($^{\circ}\text{C}$ หรือ $^{\circ}\text{F}$)
t_B	thermal process time คำนวณโดย Ball's formula method (นาฬิกา) มีค่าเท่ากับเวลานับตั้งแต่เปิดจนปิดไอน้ำลบลด้วย $0.58 \times \text{CUT}$ หรือ $t_B = t_p + 0.42 \text{ CUT}$
t_p	Operator's process time เท่ากับเวลานับตั้งแต่จุดที่หม้อฆ่าเชื้อมีอุณหภูมิตามที่กำหนดจนถึงเวลาที่ปิดไอน้ำ (นาฬิกา)
CUT	เวลา (นาฬิกา) ที่ใช้ในการเพิ่มอุณหภูมิของหม้อฆ่าเชื้อจากจุดที่เปิดไอน้ำจนกระทั่งหม้อฆ่าเชื้อ มีอุณหภูมิตามที่กำหนด

จากการทดลองฆ่าเชื้อหอยเป่าฮื้อในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาซ์ที่อุณหภูมิ 110°C เป็นเวลา 50 นาที เครื่องจะบันทึกข้อมูลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิทุก 5 วินาที ตั้งแต่เริ่มฆ่าเชื้อจนถึงสิ้นสุดกระบวนการ

พบว่า come-up time (CUT) = 5.55 นาที

corrected zero time (C_2) = 3.2 นาที

จากกราฟ heat penetration ณ จุดร้อนช้าที่สุดของผลิตภัณฑ์ สามารถคำนวณ heat penetration parameter

จะได้ $f_h = 6.7$ นาที

จากสมการ $j_{ch} = (T_r - T_{pih}) / (T_r - T_{ih})$

เมื่อ $T_r - T_{pih} = 18$ และ $f_h = T_r - T_{ih} = 110 - 93 = 17$

ดังนั้น $j_{ch} = 18/17 = 1.0588$

จ.2 การคำนวณเวลาการฆ่าเชื้อ เมื่อกำหนดให้ sterilizing value (F_0) เท่ากับ 4 นาที ตามวิธี Formula

จ.2.1 อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 50°C และอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ 114°C

เมื่อ $F_i = F(114^{\circ}\text{C}) = 5.275$

$U = F_0 F_i = 4 \times 5.275 = 21.1$

$$\text{ดังนั้น } f_h/U = 6.7/21.1 = 0.3175$$

หาค่า $\log g$ จากสมการ (เมื่อ $f_h/U \leq 0.6$)

$$\begin{aligned}\log g &= ((0.71 \times (f_h/U)) - 1) / (f_h/U) \\ &= (0.71 \times 0.3175) - 1 / (0.3175) \\ &= -2.4393\end{aligned}$$

ที่อุณหภูมิฆ่าเชื้อ 114°C พบว่า $I_h = T_r - T_{ih} = 114 - 95.9 = 18.1$

$$\begin{aligned}t_B &= f_h (\log j_l - \log g) \\ &= 6.7 (\log (1.0588 \times 18.1) - (-2.4393)) \\ &= 24.94 \text{ นาที}\end{aligned}$$

ดังนั้นการกำหนดเวลาฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ที่มีอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเป็น 50°C และอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ 114°C ต้องใช้เวลา 24.94 นาที เพื่อให้ได้ F_0 เท่ากับ 4 นาที

จ.2.2 อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 50°C และอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ 121°C

$$\text{เมื่อ } F_i = F(121^\circ\text{C}) = 1.0272$$

$$U = F_0 F_i = 4 \times 1.0272 = 4.11$$

$$\text{ดังนั้น } f_h/U = 6.7/4.11 = 1.630$$

หาค่า $\log g$ จากตาราง f_h/U vs. $\log g$

$$\log g = 0.159$$

ที่อุณหภูมิฆ่าเชื้อ 121°C พบว่า $I_h = T_r - T_{ih} = 121 - 101 = 20$

$$\begin{aligned}t_B &= f_h (\log j_l - \log g) \\ &= 6.7 (\log (1.0588 \times 20) - (0.159)) \\ &= 7.82 \text{ นาที}\end{aligned}$$

ดังนั้นการกำหนดเวลาฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ที่มีอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหาร 50°C อุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ 121°C ต้องใช้เวลา 7.82 นาที เพื่อให้ได้ F_0 เท่ากับ 4 นาที

จ.2.3 อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 70°C และอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ 114°C

เมื่ออุณหภูมิเริ่มต้นอาหารเปลี่ยนไปจะทำให้ค่า f_h และค่า j เปลี่ยนไปด้วย

$$\text{จะได้ } f_h = 5.4 \text{ นาที}$$

$$\text{จากสมการ } j_{ch} = (T_r - T_{pih}) / (T_r - T_{ih})$$

$$\text{เมื่อ } T_r - T_{pih} = 11.1 \text{ และ } I_h = T_r - T_{ih} = 110 - 100.2 = 9.8$$

$$\text{ดังนั้น } j_{ch} = 11.1/9.8 = 1.1327$$

$$\text{เมื่อ } F_i = F(114^\circ\text{C}) = 5.275$$

$$U = F_0 F_i = 4 \times 5.275 = 21.1$$

$$\text{ดังนั้น } f_h/U = 5.4/21.1 = 0.2559$$

หาค่า $\log g$ จากสมการ (เมื่อ $f_h/U \leq 0.6$)

$$\begin{aligned}\log g &= ((0.71 \times (f_h/U)) - 1) / (f_h/U) \\ &= (0.71 \times 0.2559) - 1 / (0.2559) \\ &= -3.1974\end{aligned}$$

ที่อุณหภูมิฆ่าเชื้อ 114°C พบว่า $I_h = T_r - T_{ih} = 114 - 103.3 = 10.7$

$$\begin{aligned}t_B &= f_h (\log jI - \log g) \\ &= 5.4 (\log (1.1327 \times 10.7) - (-3.1974)) \\ &= 23.12 \text{ นาที}\end{aligned}$$

ดังนั้นการกำหนดเวลาฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ที่มีอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเป็น 70°C และอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ 114°C ต้องใช้เวลา 23.12 นาที เพื่อให้ได้ F_0 เท่ากับ 4 นาที

จ.2.4 อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 70°C และอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ 121°C

$$\text{เมื่อ } F_i = F(121^\circ\text{C}) = 1.0272$$

$$U = F_0 F_i = 4 \times 1.0272 = 4.11$$

$$\text{ดังนั้น } F_h/U = 5.4/4.11 = 1.3143$$

หาค่า $\log g$ จากตาราง f_h/U vs. $\log g$

$$\log g = -0.01$$

ที่อุณหภูมิฆ่าเชื้อ 121°C พบว่า $I_h = T_r - T_{ih} = 121 - 108.6 = 12.4$

$$\begin{aligned}t_B &= f_h (\log jI - \log g) \\ &= 5.4 (\log (1.1327 \times 12.4) - (-0.01)) \\ &= 6.25 \text{ นาที}\end{aligned}$$

ดังนั้นการกำหนดเวลาฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหาร 70°C อุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ 121°C ต้องใช้เวลา 6.25 นาที เพื่อให้ได้ F_0 เท่ากับ 4 นาที

ภาคผนวก จ

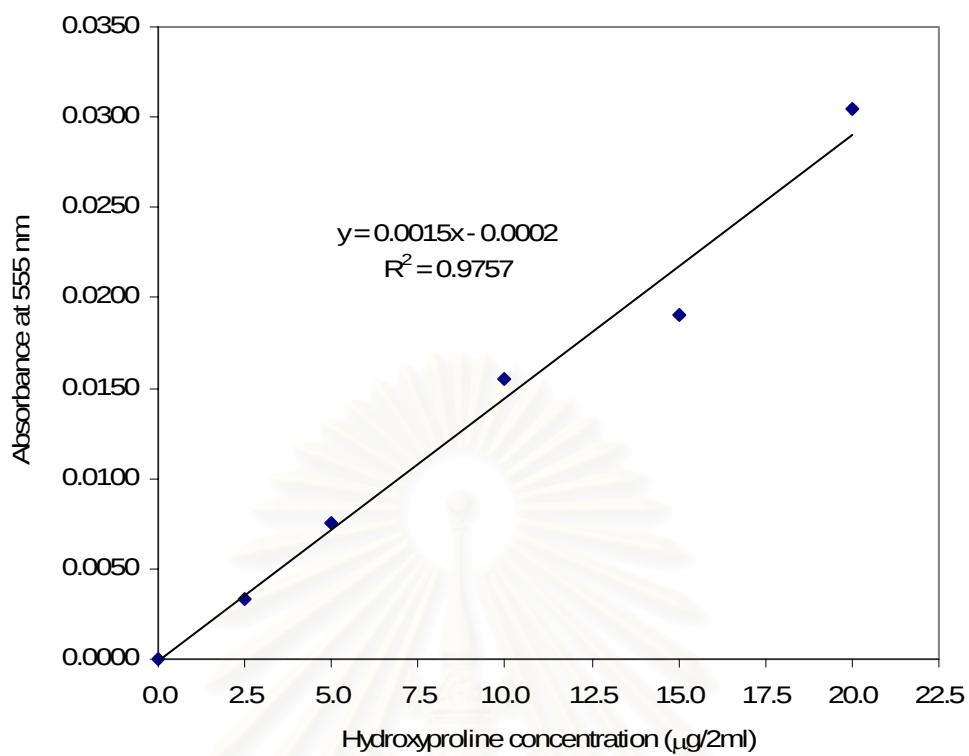
การสร้างกราฟมาตรฐานไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline standard curve)

การเตรียมสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีโพรลีน (Leach, 1960)

ชั่งไฮดรอกซีโพรลีน (L-hydroxyproline) 0.05 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร และเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร จะได้สารละลายไฮดรอกซีโพรลีนความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/2 มิลลิลิตร เจือจางให้มีความเข้มข้น 5-20 ไมโครกรัม/2 มิลลิลิตร

การสร้างกราฟมาตรฐานไฮดรอกซีโพรลีน (Leach, 1960)

ปิเปตสารละลายไฮดรอกซีโพรลีนความเข้มข้นต่างๆ 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2.5 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน นำสารละลายนี้ไปให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ 40°C จนกระทั่งอุณหภูมิภายในหลอดทดลองถึง 40°C (3-5 นาที) จึงเติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 6% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าผสมทันทีและให้ความร้อนนาน 10 นาที ในระหว่างการให้ความร้อนนำหลอดทดลองขึ้นมาเขย่าเป็นครั้งคราว เมื่อครบกำหนดจึงทำให้เย็น และเติมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 3 โมลาร์ 4 มิลลิลิตร และสารละลายไดเมทิลอะมิโนเบนซาลดีไฮด์ความเข้มข้น 5% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน ปิดฝาหลอดทดลอง แล้วนำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 16 นาที ทำให้เย็น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Jasco UV/VIS Spectrophotometer รุ่น V-530) ที่ความยาวคลื่น 555 นาโนเมตร และสร้างกราฟมาตรฐานของไฮดรอกซีโพรลีนดังรูปที่ จ.1



รูปที่ ๑.1 กราฟมาตรฐานไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline standard curve)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ช

ตัวอย่างแบบทดสอบผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮือในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาช์

แบบทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์หอยเป่าฮือในน้ำเกลือบรรจุรีทอร์ตเพาช์

ผู้ทดสอบ

วันที่

รหัสตัวอย่าง

กรุณาประเมินตัวอย่างในด้านต่างๆ ดังต่อไปนี้ ตามลำดับจากข้อ 1-4 โดยให้ใส่เครื่องหมาย ✓ ในระดับที่อธิบายความรู้สึกของท่านได้ดีที่สุด

1. ความชอบโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์

☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ชอบมาก	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	เฉยๆ	ชอบ	ชอบ	ชอบมาก
	ปานกลาง	เล็กน้อย		เล็กน้อย	ปานกลาง	

2. สี

2.1 ท่านมีความ **ชอบ** ต่อสีของตัวอย่างนี้อยู่ในระดับใด

☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ชอบมาก	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	เฉยๆ	ชอบ	ชอบ	ชอบมาก
	ปานกลาง	เล็กน้อย		เล็กน้อย	ปานกลาง	

2.2 ท่านรู้สีว่าตัวอย่างนี้มี **ความเข้มของสี** อยู่ในระดับใด

☐	☐	☐	☐	☐
สีน้ำตาลเข้ม	สีน้ำตาล	สีครีม	สีครีมอ่อน	สีขาว

3. กลิ่น

3.1 ท่านมีความ **ชอบ** ต่อกลิ่นของตัวอย่างนี้อยู่ในระดับใด

☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ชอบมาก	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	เฉยๆ	ชอบ	ชอบ	ชอบมาก
	ปานกลาง	เล็กน้อย		เล็กน้อย	ปานกลาง	

3.2 ท่านรู้สึกว่าคุณลักษณะนี้มี กลิ่น เป็นแบบใด

☐ มีกลิ่นแปลกปลอม

ถ้ามีกลิ่นแปลกปลอม คือ กลิ่น

☐ มีกลิ่นตามธรรมชาติ

4. เนื้อสัมผัส

4.1 ความยืดหยุ่น (elasticity) คือ การคืนตัวกลับมาของตัวอย่าง หลังการใช้ฟันบดโดยที่อาหารยังไม่แตก

4.1.1 ท่านมีความ ชอบ ต่อความยืดหยุ่นของตัวอย่างนี้อยู่ในระดับใด

☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ชอบมาก	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	เฉยๆ	ชอบ	ชอบ	ชอบมาก
	ปานกลาง	เล็กน้อย		เล็กน้อย	ปานกลาง	

4.1.2 ท่านรู้สึกว่าคุณลักษณะนี้มี ความยืดหยุ่น อยู่ในระดับใด

☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ยืดหยุ่นเลย	น้อยมาก	เล็กน้อย	ปานกลาง	มาก

4.2 ความเหนียว (toughness) คือ แรงที่ใช้ตัดตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน

4.2.1 ท่านมีความ ชอบ ต่อความเหนียวของตัวอย่างนี้อยู่ในระดับใด

☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ชอบมาก	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	เฉยๆ	ชอบ	ชอบ	ชอบมาก
	ปานกลาง	เล็กน้อย		เล็กน้อย	ปานกลาง	

4.2.2 ท่านรู้สึกว่าคุณลักษณะนี้มี ความเหนียว อยู่ในระดับใด

☐	☐	☐	☐	☐
เปื่อยมากจนละลาย	เปื่อยมาก	ค่อนข้างเปื่อย	เหนียวเล็กน้อย	เหนียวปานกลาง

4.3 ความชุ่มน้ำ

4.3.1 ท่านมีความ ชอบ ต่อความชุ่มน้ำของตัวอย่างนี้อยู่ในระดับใด

☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ไม่ชอบมาก	ไม่ชอบ	ไม่ชอบ	เฉยๆ	ชอบ	ชอบ	ชอบมาก
	ปานกลาง	เล็กน้อย		เล็กน้อย	ปานกลาง	

4.3.2 ท่านรู้สึกว่าคุณอย่างนี้มี **ความชุ่มน้ำ** อยู่ในระดับใด

☐ ☐ ☐ ☐ ☐
 แห้งมาก แห้งเล็กน้อย ชุ่มน้ำเล็กน้อย ชุ่มน้ำปานกลาง ชุ่มน้ำมาก

ข้อเสนอนี้

หมายเหตุ

แบบทดสอบนี้แบ่งคะแนนความชอบเป็น 7 ระดับ คือ

- | | |
|------------------|---------------|
| 1 ไม่ชอบมาก | 5 ชอบเล็กน้อย |
| 2 ไม่ชอบปานกลาง | 6 ชอบปานกลาง |
| 3 ไม่ชอบเล็กน้อย | 7 ชอบมาก |
| 4 เฉยๆ | |

ความเข้มข้นของเนื้อหอยเป่าฮื้อแบ่งเป็น 5 ระดับ คือ

- | | | |
|----------------|------------|----------|
| 1 สีน้ำตาลเข้ม | 2 สีน้ำตาล | 3 สีครีม |
| 4 สีครีมอ่อน | 5 สีขาว | |

ความยืดหยุ่นแบ่งคะแนนเป็น 5 ระดับ คือ

- | | | |
|------------------|-----------|------------|
| 1 ไม่ยืดหยุ่นเลย | 2 น้อยมาก | 3 เล็กน้อย |
| 4 ปานกลาง | 5 มาก | |

ความเหนียวแบ่งคะแนนเป็น 5 ระดับ คือ

- | | | |
|--------------------|-----------------|------------------|
| 1 เปื่อยมากจนละลาย | 2 เปื่อยมาก | 3 ค่อนข้างเปื่อย |
| 4 เหนียวเล็กน้อย | 5 เหนียวปานกลาง | |

ความชุ่มน้ำแบ่งคะแนนเป็น 5 ระดับ คือ

- | | | |
|------------------|----------------|-------------------|
| 1 แห้งมาก | 2 แห้งเล็กน้อย | 3 ชุ่มน้ำเล็กน้อย |
| 4 ชุ่มน้ำปานกลาง | 5 ชุ่มน้ำมาก | |

ภาคผนวก ซ
ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน

ตารางที่ ซ.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า pH ปริมาณแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (aerobic bacteria) และค่า firmness ของหอยเป่าฮื้อที่มีการจัดการ (เก็บรักษาแบบทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก) ก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0°C เป็นเวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, และ 21 วัน

ลักษณะทดสอบ	SOV	df	MS
pH	การจัดการ (A)	1	0.68*
	เวลา (B)	7	0.06*
	A*B	7	0.02*
	Error	64	0.00
Aerobic bacteria	การจัดการ (A)	1	1.04×10^{15} *
	เวลา (B)	7	3.51×10^{15} *
	A*B	7	3.87×10^{14} *
	Error	24	1.30×10^{13}
Firmness	การจัดการ (A)	1	3.76×10^8 *
	เวลา (B)	7	2.95×10^8 *
	A*B	7	3.96×10^7 *
	Error	46	1.53×10^6

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๗.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า pH ปริมาณแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (aerobic bacteria) และค่า firmness ของหอยเป่าฮื้อที่มีการจัดการ (เก็บรักษาแบบ ทั้งตัวและแบบแกะเปลือกเอาเครื่องในออก) ก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C เป็น เวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, และ 7 วัน

ลักษณะทดสอบ	SOV	df	MS
pH	การจัดการ (A)	1	1.14*
	เวลา (B)	7	0.26*
	A*B	7	0.05*
	Error	64	0.00
Aerobic bacteria	การจัดการ (A)	1	4.70×10^{17} *
	เวลา (B)	7	3.54×10^{17} *
	A*B	7	1.917×10^{17} *
	Error	26	4.53×10^{14}
Firmness	การจัดการ (A)	1	1.34×10^9 *
	เวลา (B)	7	3.59×10^8 *
	A*B	7	4.31×10^7 *
	Error	55	3.14×10^6

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๗.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณ cooking loss ค่า degree of browning
ค่า water-holding capacity และค่า toughness ของหอยเป่าสี่ที่ผ่านการให้ความ
ร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ลักษณะ	SOV	df	MS
Cooking loss	อุณหภูมิ (A)	2	567.41*
	เวลา (B)	12	966.07*
	A*B	24	13.15 ^{ns}
	Error	58	8.33
Degree of browning	อุณหภูมิ (A)	2	0.0189*
	เวลา (B)	12	0.0153*
	A*B	24	0.0037*
	Error	351	0.0001
Water-holding capacity	อุณหภูมิ (A)	2	26.11*
	เวลา (B)	12	69.25*
	A*B	24	12.26*
	Error	117	0.74
Toughness	อุณหภูมิ (A)	2	6.15×10^8 *
	เวลา (B)	12	1.45×10^9 *
	A*B	24	1.01×10^8 *
	Error	265	8.65×10^6

^{ns} ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ภาคผนวก ฅ
รายละเอียดข้อมูลผลการทดลองเพิ่มเติม

ตารางที่ ฅ.1 ปริมาณ cooking loss (%) ของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ
80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที

เวลา (min)	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (%)		
	อุณหภูมิการให้ความร้อน (°C)		
	80	100	120
2	14.30 ^a $\pm$ 0.49	17.52 ^{ab} $\pm$ 2.67	18.13 ^{ab} $\pm$ 3.01
4	16.57 ^{ab} $\pm$ 0.05	21.46 ^{bcd} $\pm$ 2.90	26.16 ^{defg} $\pm$ 0.91
6	16.74 ^{ab} $\pm$ 2.07	21.49 ^{cd} $\pm$ 4.62	27.13 ^{defgh} $\pm$ 2.44
8	18.84 ^{abc} $\pm$ 0.57	26.09 ^{defg} $\pm$ 3.10	28.62 ^{efghi} $\pm$ 0.90
10	24.21 ^{cde} $\pm$ 0.71	26.22 ^{defg} $\pm$ 2.12	30.55 ^{ghijk} $\pm$ 2.57
15	21.57 ^{defgh} $\pm$ 3.83	32.08 ^{hijk} $\pm$ 0.92	35.86 ^{klm} $\pm$ 3.67
20	25.30 ^{def} $\pm$ 3.95	33.19 ^{ijkl} $\pm$ 3.92	39.18 ^{klm} $\pm$ 4.13
30	30.29 ^{fghij} $\pm$ 1.58	33.99 ^{ijkl} $\pm$ 1.19	37.13 ^{klmno} $\pm$ 5.99
60	31.35 ^{ghijk} $\pm$ 0.94	33.08 ^{ijklm} $\pm$ 1.05	35.28 ^{klmn} $\pm$ 0.55
120	36.11 ^{ijklm} $\pm$ 1.73	38.21 ^{lmno} $\pm$ 2.16	42.33 ^{mno} $\pm$ 4.43
180	36.30 ^{klmn} $\pm$ 3.25	40.96 ^{lmno} $\pm$ 4.78	48.69 ^{no} $\pm$ 2.10
240	38.19 ^{lmno} $\pm$ 1.43	48.91 ^o $\pm$ 2.92	52.40 ^o $\pm$ 0.44

a, b, c ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๓.2 ค่า degree of browning (A420nm/g sample) ของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที

เวลา (min)	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (A420nm/g sample)		
	อุณหภูมิการให้ความร้อน (°C)		
	80	100	120
0	0.0086 ^a $\pm$ 0.0002	0.0086 ^a $\pm$ 0.0002	0.0086 ^a $\pm$ 0.0002
2	0.0224 ^{def} $\pm$ 0.0018	0.0086 ^a $\pm$ 0.0003	0.0086 ^a $\pm$ 0.0006
4	0.0213 ^{cde} $\pm$ 0.0007	0.0123 ^{abc} $\pm$ 0.0001	0.0116 ^{ab} $\pm$ 0.0003
6	0.0200 ^{bcd} $\pm$ 0.0001	0.0218 ^{cde} $\pm$ 0.0015	0.0218 ^{cde} $\pm$ 0.0013
8	0.0234 ^{defg} $\pm$ 0.0004	0.0215 ^{cde} $\pm$ 0.0014	0.0198 ^{bcd} $\pm$ 0.0002
10	0.0270 ^{defgh} $\pm$ 0.0003	0.0400 ^{klm} $\pm$ 0.0058	0.0210 ^{cde} $\pm$ 0.0007
15	0.0310 ^{efghij} $\pm$ 0.0002	0.0377 ^{ijkl} $\pm$ 0.0039	0.0422 ^{klm} $\pm$ 0.0011
20	0.0328 ^{ghijk} $\pm$ 0.0022	0.0296 ^{defghi} $\pm$ 0.0042	0.0476 ^m $\pm$ 0.0002
30	0.0288 ^{defghi} $\pm$ 0.0015	0.0296 ^{defghi} $\pm$ 0.0042	0.0571 ⁿ $\pm$ 0.0027
60	0.0344 ^{hijk} $\pm$ 0.0006	0.0460 ^{lm} $\pm$ 0.0063	0.0706 ^{op} $\pm$ 0.0016
120	0.0345 ^{hijk} $\pm$ 0.0034	0.0643 ^{no} $\pm$ 0.0050	0.1206 ^r $\pm$ 0.0025
180	0.0321 ^{fghij} $\pm$ 0.0011	0.0615 ⁿ $\pm$ 0.0007	0.1136 ^{qr} $\pm$ 0.0014
240	0.0321 ^{defghi} $\pm$ 0.0007	0.0760 ^p $\pm$ 0.0023	0.1111 ^q $\pm$ 0.0020

a, b, c ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ๓.3 ค่า water-holding capacity (%) ของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที

เวลา (min)	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (%)		
	อุณหภูมิการให้ความร้อน (°C)		
	80	100	120
0	15.47 ^q $\pm$ 1.31	15.47 ^q $\pm$ 1.31	15.47 ^q $\pm$ 1.31
2	12.52 ^o $\pm$ 0.86	12.93 ^{op} $\pm$ 2.03	14.03 ^p $\pm$ 0.73
4	9.31 ^{hij} $\pm$ 0.73	11.86 ^{no} $\pm$ 0.83	11.96 ^{no} $\pm$ 1.00
6	10.06 ^{ijk} $\pm$ 0.59	11.59 ^{mno} $\pm$ 1.16	7.35 ^{bcdef} $\pm$ 0.42
8	10.85 ^{lmn} $\pm$ 0.21	7.34 ^{bcdef} $\pm$ 1.02	7.64 ^{cdefg} $\pm$ 0.44
10	7.38 ^{bcdef} $\pm$ 0.79	8.49 ^{fgh} $\pm$ 0.48	7.01 ^{abcde} $\pm$ 1.50
15	7.21 ^{abcdef} $\pm$ 0.69	8.06 ^{cdefgh} $\pm$ 0.45	8.34 ^{efgh} $\pm$ 0.42
20	8.96 ^{ghi} $\pm$ 0.94	7.37 ^{bcdef} $\pm$ 0.35	8.31 ^{defgh} $\pm$ 0.73
30	6.83 ^{abc} $\pm$ 0.35	7.73 ^{cdefg} $\pm$ 0.14	8.17 ^{cdefgh} $\pm$ 0.63
60	8.06 ^{cdefgh} $\pm$ 0.61	6.86 ^{abcd} $\pm$ 0.48	8.13 ^{cdefgh} $\pm$ 0.53
120	5.88 ^a $\pm$ 0.39	8.43 ^{efgh} $\pm$ 0.29	10.37 ^{kl} $\pm$ 1.41
180	6.18 ^{ab} $\pm$ 0.46	12.67 ^o $\pm$ 0.68	10.97 ^{lmn} $\pm$ 1.18
240	6.05 ^{ab} $\pm$ 0.58	12.57 ^o $\pm$ 0.89	11.98 ^{no} $\pm$ 0.86

a, b, c ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ๓.๔ ค่า toughness ($\times 10^3$ g.mm) ของเนื้อหอยเป่าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C เป็นเวลา 2-240 นาที

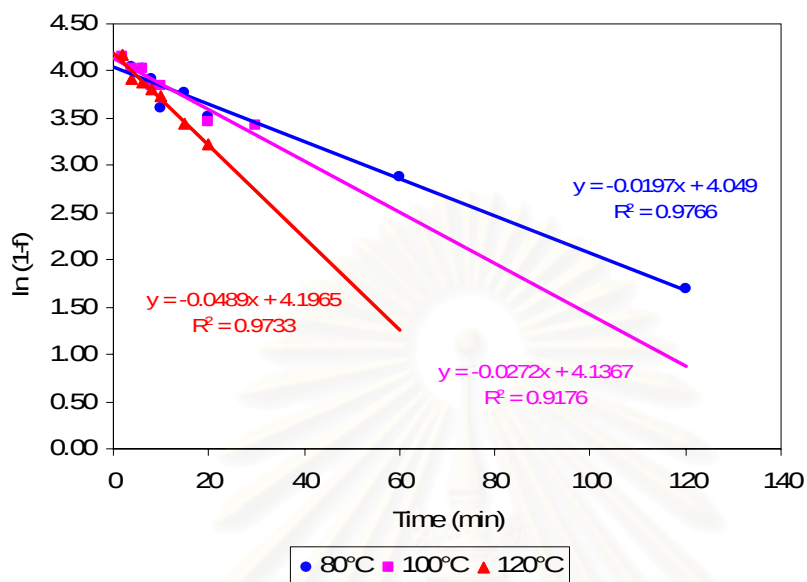
เวลา (min)	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\times 10^3$ g.mm)		
	อุณหภูมิการให้ความร้อน (°C)		
	80	100	120
0	45.97 ^j $\pm$ 6.76	45.97 ^j $\pm$ 6.76	45.97 ^j $\pm$ 6.76
2	19.08 ^{ef} $\pm$ 2.11	26.36 ⁱ $\pm$ 7.61	23.22 ^{gh} $\pm$ 3.55
4	19.36 ^{ef} $\pm$ 2.96	13.46 ^{bc} $\pm$ 0.63	20.33 ^{efg} $\pm$ 2.37
6	17.67 ^{de} $\pm$ 2.71	12.67 ^{bc} $\pm$ 1.81	20.10 ^{efg} $\pm$ 1.05
8	20.16 ^{efg} $\pm$ 2.12	14.86 ^{cd} $\pm$ 2.89	22.19 ^{fgh} $\pm$ 2.07
10	20.59 ^{efg} $\pm$ 1.13	14.75 ^{cd} $\pm$ 2.41	21.57 ^{fg} $\pm$ 2.19
15	21.96 ^{fgh} $\pm$ 2.71	21.77 ^{fg} $\pm$ 1.22	20.11 ^{efg} $\pm$ 1.77
20	21.31 ^{fg} $\pm$ 3.16	19.71 ^{efg} $\pm$ 1.26	21.68 ^{fg} $\pm$ 0.65
30	25.30 ^{hi} $\pm$ 2.18	19.86 ^{efg} $\pm$ 2.57	20.77 ^{efg} $\pm$ 3.25
60	23.05 ^{gh} $\pm$ 2.74	12.95 ^{bc} $\pm$ 1.86	12.81 ^{bc} $\pm$ 1.15
120	22.53 ^{fgh} $\pm$ 1.98	12.40 ^{bc} $\pm$ 1.87	11.18 ^b $\pm$ 0.92
180	22.52 ^{fgh} $\pm$ 3.02	7.28 ^a $\pm$ 1.18	10.74 ^b $\pm$ 1.19
240	20.08 ^{efg} $\pm$ 2.74	11.20 ^b $\pm$ 2.14	11.84 ^{bc} $\pm$ 1.82

a, b, c ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

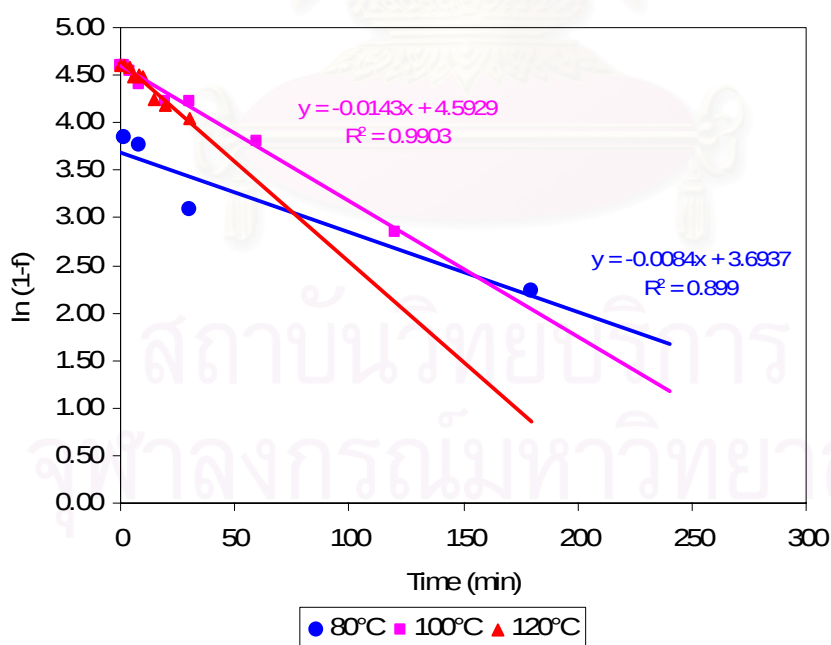
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ญ

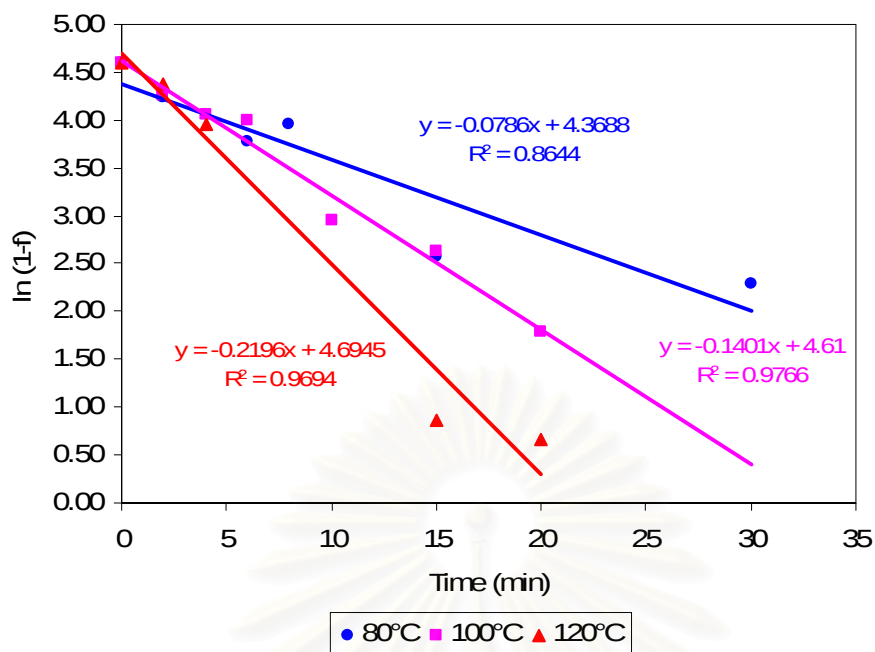
Kinetic parameters ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อหอยเป่าฮื้อ



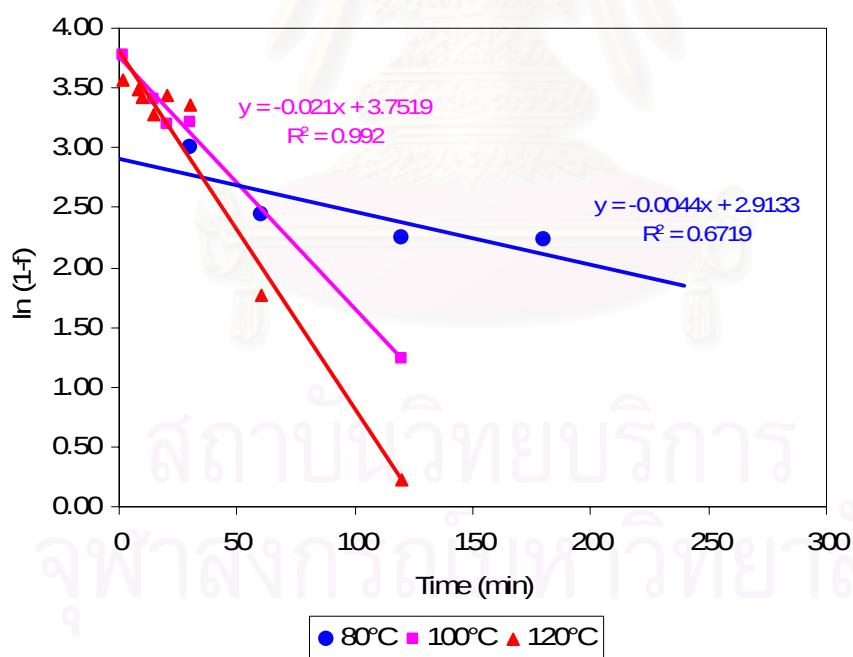
รูปที่ ญ.1 Kinetics ของการเปลี่ยนแปลง cooking loss ของเนื้อหอยเป่าฮื้อระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C



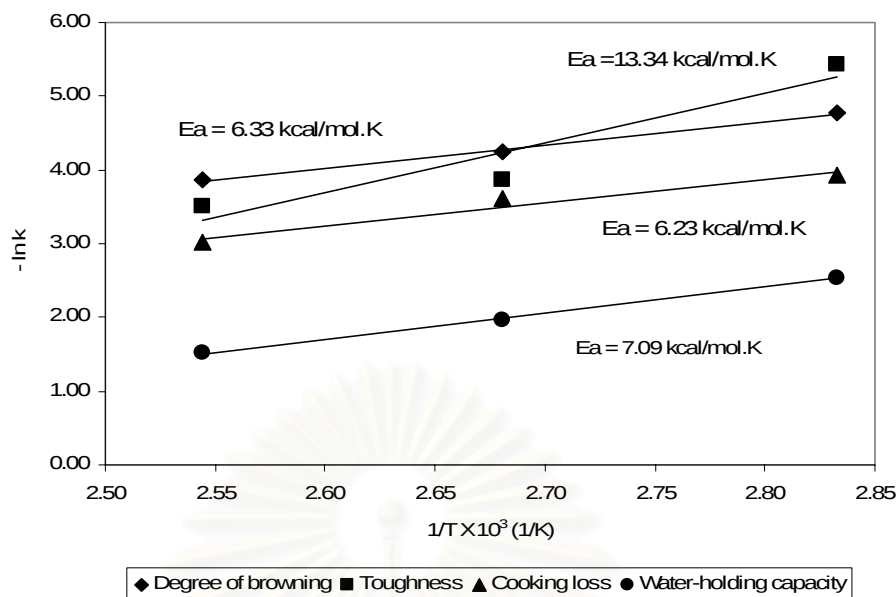
รูปที่ ญ.2 Kinetics ของการเปลี่ยนแปลงค่า degree of browning ของเนื้อหอยเป่าฮื้อระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C



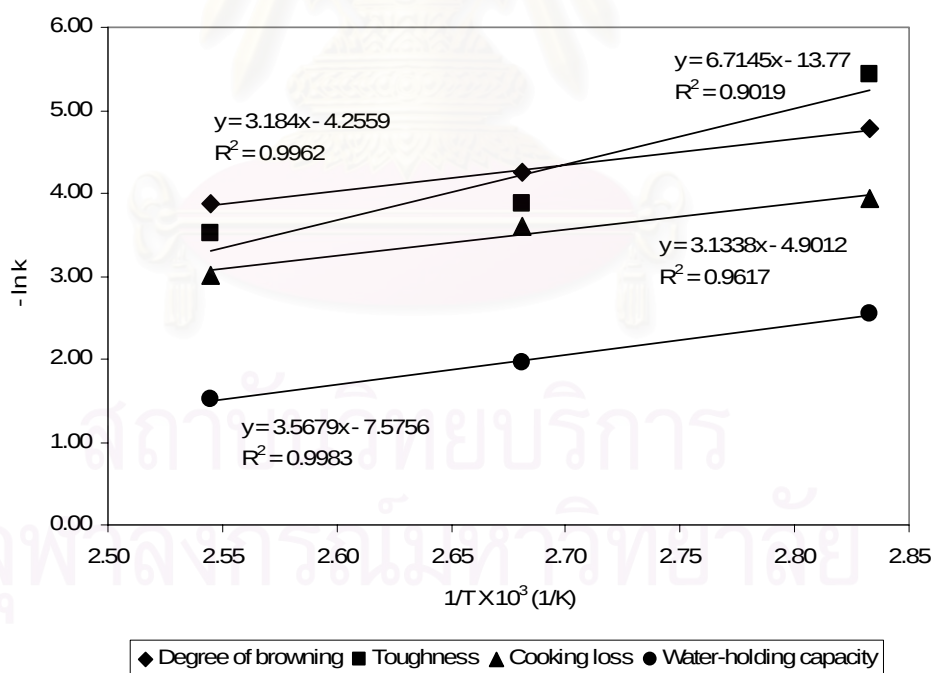
รูปที่ ๓ Kinetics ของการเปลี่ยนแปลง water-holding capacity ของเนื้อหอยเป่าสี่ระหว่าง การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C



รูปที่ ๔ Kinetics ของการเปลี่ยนแปลงค่า toughness ของเนื้อหอยเป่าสี่ระหว่างการให้ความ ร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C



รูปที่ ๕.5 Arrhenius plots ของการเปลี่ยนแปลงค่า degree of browning ค่า toughness ปริมาณ cooking loss และค่า water-holding capacity ของเนื้อหอยเป่าฮื้อระหว่าง การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C (แสดง activation energy)



รูปที่ ๕.6 Arrhenius plots ของการเปลี่ยนแปลงค่า degree of browning ค่า toughness ปริมาณ cooking loss และค่า water-holding capacity ของเนื้อหอยเป่าฮื้อระหว่าง การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 100°C และ 120°C (แสดงสมการเส้นตรง)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวจิรัชต์ กันทะขู้ เกิดวันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2521 ที่จังหวัดพะเยา สำเร็จการศึกษา ระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยี อุตสาหกรรมเกษตร จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ในปี พ.ศ. 2544 แล้วเข้าทำงานในบริษัทกฤษณบุรีผลไม้กระป๋อง จำกัด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ตำแหน่ง production supervisor เป็นเวลา 1 ปี และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2546



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย