รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การประยุกต์ใช้น้ำแข็งที่ผสมกรดอินทรีย์จากธรรมชาติ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาหมึกกล้วย

Application of a Natural Organic Acid-Icing System to Prolong Shelf-life of Squid

สวามินี ธีระวุฒิ

นายปฏิยุทธ์ ขวัญอ่อน

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้

จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 2561A10802267
สัญญาเลขที่ 12/2561

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
การประยุกต์ใช้น้ำแข็งที่ผสมกรดอินทรีย์จากธรรมชาติ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาหมึกกล้วย
Application of a Natural Organic Acid-Icing System to Prolong Shelf-life of Squid

สวามินี ธีระวุฒิ
นายปฏิยุทธ์ ขวัญอ่อน

พฤษภาคม พ.ศ. 2562

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 12/2561

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการเก็บรักษาหมึกกล้วยด้วยการแช่ในน้ำแข็งที่ผสมกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อคุณภาพของหมึกกล้วย ระดับความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ที่ใช้แตกต่างกัน 4 ความเข้มข้น ได้แก่ IL02 (กรดแล็กติก 0.02%), IL05 (กรดแล็กติก 0.05%), ILC207 (กรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) และ ILC210 (กรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%) เปรียบเทียบกับหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ICC) เป็นเวลา 21 วัน พบว่า การแช่หมึกกล้วยในน้ำแข็ง ILC207 ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี (TVB-N และ TMA-N) คุณภาพทางกายภาพ (% cooking loss, สี และแรงเฉือน) คุณภาพทางจุลินทรีย์ (จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด) และคุณภาพทางประสาทสัมผัส (กลิ่น รสชาติและเนื้อสัมผัส) ได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ ILC210, IL05, IL02 และ ICE0 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาอายุการเก็บรักษาจากจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (ไม่เกิน6 log CFU/g) หมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็ง ILC207, ILC210, IL05 และ IL02 เก็บได้ 9, 6, 3 และ 3 วัน ตามลำดับ ส่วน ICC มีอายุการเก็บรักษา 3 วัน

Abstract

The effect of natural organic acid-icing system on the quality of chilled squid by organic acid-icing system four conditions: IL02 (0.02% lactic acid), IL05 (0.05% lactic acid), ILC207 (0.02% lactic acid and 0.075% citric acid) and ILC210 (0.02% lactic acid and 0.1% citric acid) were compared to squid were none organic acid-icing system during ice storage of 21 days was investigated. ILC207 was the most effectively retarded chemical (TVB-N and TMA-N), physical (% cooking loss, color and shear force), microbiological (total plate count) and sensorial (odor, texture and tasty) qualities loss of cooked squid and were followed by ILC210, IL05, IL02 and ICC, respectively. Considering the shelf life of product by total bacterial count (total bacterial count were not more than 6 log CFU/g). The shelf life of ILC207, ILC210, IL05 and IL02 were 9, 6, 3 and 3 days respectively. The shelf life of ICC was only 3 days.

.

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ ..... ก

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ข

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค

สารบัญ ..... ง

สารบัญตาราง ..... จ

สารบัญภาพ ..... ฉ

บทที่

1 บทนำ 1

2 การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง 3

3 วิธีดำเนินการวิจัย 15

4 ผลการวิจัย 20

5 อภิปรายผลการวิจัย 34

6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 48

เอกสารอ้างอิง 49

ภาคผนวก 56

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ทางสถิติ 56

ประวัติผู้วิจัย 69

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2 – 1 การส่งออกหมึกของไทย ปี 2559 และ ปี 2560 7

4 – 1 ลักษณะของทางประสาทสัมผัสของเนื้อหมึกต้ม 20

ตารางผนวกที่

ก - 1 ปริมาณ TVB-N ของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน 57

ก - 2 ปริมาณ TMA-N ของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน 58

ก - 3 การสูญเสียน้ำหนักของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน 59

ก - 4 ค่าสี L* ของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน 60

ก - 5 ค่าสี a* ของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน 61

ก - 6 ค่าสี b* ของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน 62

ก - 7 ค่าแรงเฉือนของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน 63

ก - 8 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน 64

ก - 9 คะแนนการยอมรับลักษณะปรากฏของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของ กรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน... 65

ก - 10 คะแนนการยอมรับกลิ่นของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของ กรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน... 66

ก - 11 คะแนนการยอมรับรสชาติของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของ กรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน... 67

ก - 12 คะแนนการยอมรับเนื้อสัมผัสของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของ กรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน... 68

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

4 - 1 ปริมาณ TVB-N ของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน..... 23

4 - 2 ปริมาณ TMA-N ของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน..... 23

4 - 3 การสูญเสียน้ำหนักของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน..... 24

4 - 4 ค่าสี L*, a*, b* ของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน 26

4 - 5 แรงเฉือนของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน..... 27

4 - 6 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน..... 28

4 - 7 คะแนนการยอมรับลักษณะปรากฏของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้น ของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน 30

4 - 8 คะแนนการยอมรับกลิ่นของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 วัน..... 31

4 - 9 คะแนนการยอมรับรสชาติของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้น ของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน 32

4 - 10 คะแนนการยอมรับเนื้อสัมผัสของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้น ของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน 33

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ประเทศไทยประสบความสำเร็จด้านการพัฒนาการประมงโดยเป็นหนึ่งในสิบของโลกที่มีผลผลิตสูง และยังอยู่ลำดับต้นๆ ของผู้ส่งออกสินค้าประมง หนึ่งในสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่สำคัญคือหมึกกล้วยที่มีคุณค่าทางโภชนาการหลายด้านทั้งกรดไขมันโอเมก้า3 รวมทั้งกรดอะมิโนจำเป็นต่อร่างกายหลายชนิดทำให้มีความต้องการบริโภคหมึกกล้วยสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยมีการจำหน่ายทั้งในรูปแบบเนื้อหมึกสดแช่เย็น และการแปรรูปเพื่อเป็นวัตถุดิบเบื้องต้น เช่น หมึกสดแช่แข็ง ไปจนถึงกระบวนการแปรรูปจนได้เป็นผลิตภัณฑ์พร้อมรับประทาน เช่น เนื้อหมึกตากแห้ง เนื้อหมึกตากแห้งปรุงรส อย่างไรก็ตามการแปรรูปหมึกทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ขาดเนื้อสัมผัสด้านความยืดหยุ่นและรสชาติที่แตกต่างไปจากเนื้อหมึกสด ขณะเดียวกันการจำหน่ายเนื้อหมึกสดแช่เย็นมีข้อจำกัดเช่นกัน โดยหลังจากที่หมึกตายมีการเน่าเสียอย่างรวดเร็วจากการย่อยสลายตัวเองของเอนไซม์ (autolysis) การเน่าเสียจากจุลินทรีย์ (bacteria spoilage) และปฏิกิริยาระหว่างออกซิเจนกับไขมัน (oxidation) ทำให้รสชาติและเนื้อสัมผัสเปลี่ยนไปตามระยะเวลาและวิธีการเก็บรักษา ทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคและโรงงานแปรรูปหมึก หมึกที่เสื่อมคุณภาพมีราคาลดลงตามไปด้วย โดยหนึ่งในปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อคุณภาพและความสดของหมึกคือการดูแลหลังการจับที่ดี เช่นการให้ความเย็นกับหมึกด้วยน้ำแข็ง โดยน้ำแข็งช่วยชะลอกาเน่าเสียของหมึกได้ ซึ่งการใช้กรดอินทรีย์เป็นส่วนผสมให้น้ำแข็งนับเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากหาซื้อง่าย ราคาไม่แพงรวมทั้งยังอนุญาตให้ใช้ในอาหารได้ และที่สำคัญกรดอินทรีย์ต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นกรดแล็กติกและกรดซิตริกรวมทั้งเกลือของกรดทั้ง 2 ชนิด สามารถละลายได้ในไขมันทำให้สามารถซึมเข้าไปในผนังเซลล์และไซโทพลาสซึมของจุลินทรีย์ จึงไปรบกวนระบบการทำงานต่างๆ ภายในเซลล์ซึ่งเป็นการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียของหมึกได้

ดังนั้นการประยุกต์ใช้น้ำแข็งที่ผสมกรดอินทรีย์จากธรรมชาติเพื่อชะลอการเน่าเสียในหมึกจึงเป็นชะลอการเสื่อมคุณภาพของเนื้อหมึก สร้างความปลอดภัยให้ผู้บริโภค สนองตอบต่อความต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบัน ซึ่งทำให้เอื้อประโยชน์ทางการค้า ช่วยเพิ่มปริมาณและมูลค่าการส่งออกหมึกกล้วยคุณภาพดีรวมถึงจำหน่ายภายในและต่างประเทศของอุตสาหกรรมการแปรรูปเนื้อหมึกต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ศึกษาระดับการยอมรับเนื้อหมึกต้มและผลของการเก็บรักษาหมึกกล้วยแช่เย็นด้วยน้ำแข็งที่ผสมกรดอินทรีย์จากธรรมชาติต่อคุณภาพของหมึกกล้วยเพื่อให้สามารถรักษาคุณภาพหมึกกล้วยให้นานยิ่งขึ้นและสร้างความปลอดภัยในการบริโภค

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาระดับการยอมรับเนื้อหมึกต้มจากการทดสอบด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัส ด้วยวิธี Descriptive analysis เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการประเมินตัวอย่าง เนื้อหมึกในการทดลองต่อไป และศึกษาผลของการเก็บรักษาหมึกกล้วยแช่เย็นด้วยน้ำแข็งที่ผสมกรดอินทรีย์จากธรรมชาติ โดยนำหมึกกล้วยมาแช่เย็นด้วยน้ำแข็งที่ผสมกรดอินทรีย์จากธรรมชาติที่ปริมาณกรดอินทรีย์ต่างๆ กัน จากนั้นนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบคุณภาพทางเคมี กายภาพ จุลชีววิทยา รวมทั้งคุณภาพทางประสาทสัมผัส เริ่มต้นและเมื่อผ่านระยะเวลาการเก็บรักษา ทุก 3 วัน จนกระทั่งจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐาน หรือผู้ทดสอบไม่ยอมรับ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงปริมาณกรดอินทรีย์สำหรับผสมในน้ำแข็งที่ใช้แช่เนื้อหมึกกล้วยที่สามารถรักษาคุณภาพของเนื้อหมึกและสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อหมึกได้ดีที่สุด

2. นำความรู้จากงานวิจัยเป็นส่วนหนึ่งในการปรับใช้เพื่อการส่งเสริมและพัฒนาอุตสาหกรรมการแปรรูปหมึกกล้วยได้

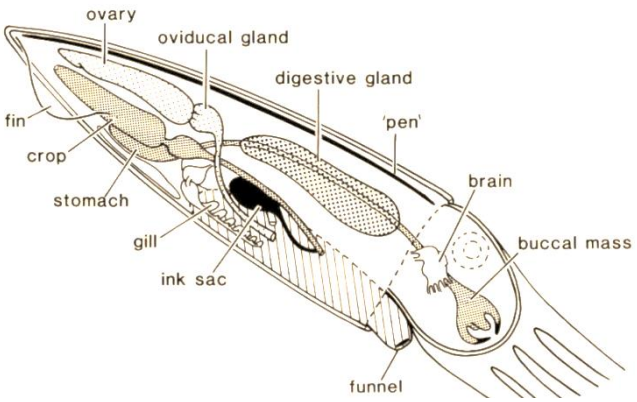
บทที่ 2
การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

1. หมึกกล้วย

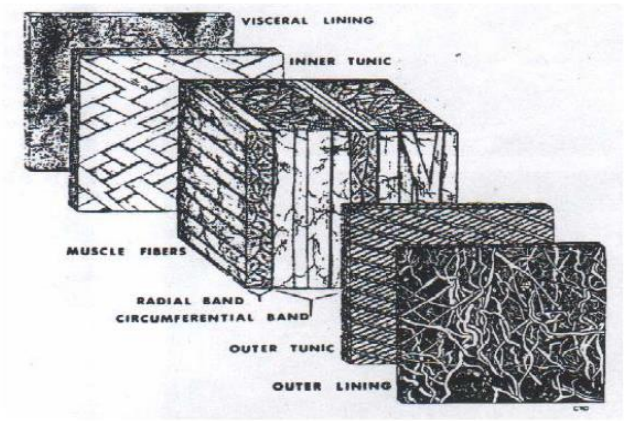
1.1 ลักษณะทางชีวภาพของหมึกกล้วย

หมึกกล้วย (*Loligo* spp.) เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังจัดอยู่ในไฟลัม Mollusca อาศัยอยู่ในทะเลทั้งหมด รูปร่างแบ่งออกเป็นส่วนหัวและลำตัว ไม่มีเปลือกหุ้มภายนอก ตาอยู่บริเวณส่วนหัว มีรยางค์รอบปาก 4 - 5 คู่ เรียกว่า หนวด (tantacle) และแขน (arm) บนหนวดแต่ละเส้นมีปุ่มดูด (sucker) เรียงเป็นแถว หนวดมีหน้าที่จับเหยื่อป้อนเข้าปากและช่วยการผสมพันธุ์ ภายในปากมีเขี้ยว 2 อัน คือ เขี้ยวบนและเขี้ยวล่าง ด้านล่างของตัวบริเวณคอมีท่อพ่นน้ำ (siphon) ช่วยในการเคลื่อนตัว ส่วนลำตัวมีแผ่นครีบติดอยู่ด้านข้าง ตามตัวมีจุดสี (chromotophore) กระจายอยู่ทั่วไป จุดสีนี้สามารถขยายให้ใหญ่หรือหดเล็กได้ด้วยการควบคุมของระบบประสาท ทำให้หมึกสามารถเปลี่ยนสีของลำตัวได้ตามสภาพสิ่งแวดล้อมได้ ภายในลำตัวของหมึกมีโครงสร้างของแข็ง เรียกว่า กระดองหมึก เป็นแผ่นใสคล้ายพลาสติกเป็นสารประกอบไคติน หมึกหายใจโดยใช้เหงือก 1 คู่ ภายในลำตัวมีท่อทางเดินอาหาร ระบบขับถ่าย ระบบสืบพันธุ์ ส่วนปลายสุดของท่อทางเดินอาหาร มีถุงบรรจุน้ำสีดำติดอยู่เรียกว่า ถุงหมึก (ink sac) ซึ่งจะพ่นออกมาเมื่อถูกรบกวนหรือต้องการหลบหลีกศัตรู อาหารของหมึกคือ กุ้ง ปู เคย ปลาขนาดเล็ก หรือกินพวกเดียวกันเป็นอาหาร (กรมประมง, 2550)

เนื้อส่วนลำตัวของหมึกประกอบด้วยชั้นเนื้อเยื่อจำนวน 5 ชั้น ชั้นกลางเป็นชั้นที่หนามากที่สุด (ประมาณ 98 % ของความหนาทั้งหมด) โดยประกอบด้วยแผ่นของเส้นใยกล้ามเนื้อหลายแผ่นเรียงซ้อนกัน เส้นใยกล้ามเนื้อประกอบด้วยไมโอไฟบริลจำนวนมาก บริเวณตรงกลางของเส้นใยกล้ามเนื้อ ประกอบด้วยซาร์โคพลาสซึม ไมโทคอนเดรีย และนิวคลีไอ ปกติเส้นใยกล้ามเนื้อมีเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ยประมาณ 3.5 ไมครอน ชั้นของเส้นใยกล้ามเนื้ออยู่ระหว่างชั้นของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน 2 ชั้น คือ outer tunic และ inner tunic ส่วนของ outer tunic ประกอบด้วยเส้นใยของคอลลาเจนจะติดอยู่กับ outer lining ซึ่งมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเป็นองค์ประกอบและติดอยู่กับผิวหนัง สำหรับ inner tunic ซึ่งมีการจับตัวของเส้นใยหลวม ๆ ถูกปกคลุมด้วย visceral lining (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548) การจับตัวของเส้นใยแบบหลวม ๆ ทำให้เนื้อหมึกมีเนื้อสัมผัสที่นิ่ม และโครงสร้างของกล้ามเนื้อหมึกมีชั้นของเนื้อเยื่อถึง 5 ชั้น เป็นผลทำให้เวลาที่รับประทานเนื้อหมึกจึงเกิดความยืดหยุ่นที่มากกว่าสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ



ภาพที่ 2 - 1 โครงสร้างภายในของหมึกกล้วย (*Loligo* spp.)
ที่มา : Hanabe et al. (1989)



ภาพที่ 2 - 2 โครงสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อหมึกกล้วย (*Loligo* spp.)
ที่มา : Otwell and Hamann (1979)

1.2 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อหมึก

เนื้อหมึกประกอบด้วย น้ำ โปรตีน และไขมัน โดยองค์ประกอบดังกล่าวมีประมาณ 98 % ของน้ำหนักเนื้อทั้งหมด องค์ประกอบเหล่านี้มีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ รวมทั้งคุณภาพด้านประสาทสัมผัสและอายุการเก็บรักษา สำหรับองค์ประกอบอื่นๆ เช่น คาร์โบไฮเดรต วิตามินและเกลือแร่ มีปริมาณน้อยโดยมีความสำคัญต่อกลิ่นรสมากกว่าคุณค่าทางโภชนาการ (มัทนา แสงจินดาวงษ์, 2548)

1.2.1 น้ำ กล้ามเนื้อหมึกประกอบด้วยน้ำ 75 - 80 % บทบาทสำคัญของน้ำคือช่วยในการละลายสารอินทรีย์และอนินทรีย์สำหรับปฏิกิริยาทางชีวเคมี และมีส่วนร่วมในปฏิกิริยาต่าง ๆ โดยการจับน้ำของโปรตีนมีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสและความฉ่ำน้ำของเนื้อหมึก (Hanabe et al., 1989)

1.2.2 โปรตีน ปริมาณโปรตีนในกล้ามเนื้อหมึก มีประมาณ 20% โดยโปรตีนแต่ละชนิดมีหน้าที่แตกต่างกันไป ได้แก่

- โปรตีนไมโอไฟบริล (myofibrillar proteins) มีความสำคัญต่อการเคลื่อนที่และมีบทบาทต่อการยืดหดของกล้ามเนื้อ และยังมีความสำคัญต่อการอุ้มน้ำของเนื้อรวมทั้งความสามารถในการเกิดเจล (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548) โปรตีนไมโอไฟบริลไม่สามารถละลายน้ำได้ การสกัดโปรตีนไมโอไฟบริลสามารถทำได้ด้วยการใช้สารละลายเกลือที่มีค่าความแรงไอออนสูงกว่า 0.15 ไมโอไฟบริลประกอบด้วยฟิลาเมนท์เส้นหนา (thick filament) ฟิลาเมนท์เส้นหนาในหมึกประกอบ ด้วยโปรตีนแกนที่เรียกว่า พาราไมโอซิน และล้อมรอบด้วยไมโอซินที่มีโครงสร้างเป็นเกลียว ทำให้ฟิลาเมนท์มีความยาวและหนามากกว่าสัตว์มีกระดูกสันหลัง และเป็นโครงสร้างที่เป็นลักษณะเฉพาะของหมึก (Okuzumi and Fujii, 2000) ฟิลาเมนท์เส้นหนาประกอบด้วยไมโอซินเป็นองค์ประกอบสำคัญปริมาณ 45 % และพาราไมโอซินซึ่งเป็นโปรตีนที่พบเฉพาะสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง โปรตีนไมโอซินช่วยควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อสัตว์จำพวกมอลลัส ซึ่งโปรตีนไมโอไฟบริลมีผลต่อความยืดหยุ่นของเนื้อหมึกกล้วย ส่งผลให้กล้ามเนื้อหมึกมีเนื้อสัมผัสนิ่มลง (สุทธวัฒน์ กุล, 2548)

- โปรตีนซาร์โคพลาสมิก (sarcoplasmic proteins) ในหมึกกล้วยมีโปรตีนซาร์โคพลาสมิกปริมาณ 12 - 20 % ของโปรตีนทั้งหมด โปรตีนชนิดนี้ได้แก่ เอนไซม์ ซึ่งมีเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่อผลคุณภาพของสัตว์น้ำ คือ ไฮโดรเลส (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548) เอนไซม์ไฮโดรเลสมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงภายหลังการตายของสัตว์น้ำ พบว่า เอนไซม์โปรตีเนสในกล้ามเนื้อหมึกกล้วยมีกิจกรรมสูงสุดที่ pH ในช่วงกรด 2.7 - 3.1 และ pH ในช่วงเบส 6.1 - 7.6 เอนไซม์เหล่านี้จัดอยู่ในกลุ่มของซีรีน ซีสเตอีนและเมทัลโลโปรติเนส ที่มีบทบาททำให้หมึกกล้วยมีเนื้อสัมผัสนิ่มลง (Ebina et al., 1995)

1.2.3 ไขมัน เนื้อหมึกกล้วยมีไขมันค่อนข้างน้อย ประมาณ 1 - 2 % ส่วนมากพบในรูปฟอสโฟลิปิต ประมาณ 62 - 84 % มีไตรกลีเซอไรด์ปริมาณต่ำประมาณ 0.8 - 3.2 % มีสเตอรอลประมาณ 15 - 20 % และกรดไขมันอิสระประมาณ 2.2 % กรดไขมันที่พบมาก คือ EPA, eicosapentaenoic acid (20 : 5) และ DHA, docosahexaenoic acid (22 : 6) ไขมันเมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะทำให้เกิดอนุมูลอิสระ โดยอนุมูลอิสระที่เกิดจะรวมตัวกับโปรตีน ส่งผลให้

โปรตีนอยู่ในรูปของ protein free radical ซึ่งเหนี่ยวนำให้เกิดการเชื่อมประสานระหว่างโปรตีนกับโปรตีน หรือระหว่างโปรตีนกับไขมันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของหมึกเป็นสีน้ำตาล นอกจากนี้ยังทำให้เกิดไขมันอิสระเพิ่มขึ้น โดยกรดไขมันอิสระจับกับโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ทำให้โปรตีนล้อมรอบไปด้วยส่วนที่ไม่ชอบน้ำเพิ่มขึ้น ทำให้หมึกมีเนื้อสัมผัสที่นิ่มลง มีกลิ่นที่ผิดปกติและไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (Thanonkaew et al., 2006)

1.3 คุณค่าทางโภชนาการและความสำคัญทางเศรษฐกิจ

หมึกกล้วยเป็นแหล่งโปรตีนโดยมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย (essential amino acid) โดยเฉพาะกรดอะมิโนไลซีนและทรีโอนีนที่มีผลต่อการเจริญเติบโตในเด็ก นอกจากนี้ยังมีส่วนที่เป็นวิตามินต่างๆ เช่น บี 1 บี 2 ไนอะซิน และหมึก 100 กรัม ให้พลังงาน 68 กิโลแคลลอรี่ โปรตีน 15.2 กรัม เป็นกรดอะมิโนจำเป็น ที่ร่างกายไม่สามารถสร้างเองได้ เช่น กรดอะมิโนไลซีนที่ช่วยป้องกันโรคเริมและโรคกระดูกพรุน และกรดอะมิโนทรีโอนีนที่ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันรวมทั้งเผาผลาญไขมัน ซึ่งในหมึก 100 กรัม ยังมีไขมัน 0.7 กรัม ประกอบด้วยกรดไขมันที่สำคัญคือ EPA, eicosapentaenoic acid ที่ช่วยป้องกันโรคหัวใจ โดยลดการเกิดลิ่มเลือดในหลอดเลือดและ DHA, docosahexaenoic acid (22 : 6) ที่มีความสำคัญต่อการเจริญและการพัฒนาของสมอง และมีโอกาสเกิดมะเร็งน้อยกว่าคนที่ไม่กินไขมันจากอาหารทะเล คาร์โบไฮเดรต 0.2 กรัม ช่วยให้พลังงานและความอบอุ่นแก่ร่างกาย ทำให้ร่างกายสามารถเคลื่อนไหวเพื่อทำงานหรือประกอบกิจกรรมต่างๆ ได้ แคลเซียม 5 มิลลิกรัม ช่วยในการสร้างและเป็นองค์ประกอบหลักของกระดูกและฟันในร่างกาย รวมถึงซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของกระดูกและฟัน ฟอสฟอรัส 128 มิลลิกรัม ช่วยป้องกันการเกิดโรคเหงือกอักเสบและโรคกระดูกอ่อนในเด็ก และวิตามิน B2 ในปริมาณ 0.03 มิลลิกรัม ที่ช่วยป้องกันการเกิดโรคปากนกกระจอก ช่วยในการทำงานของระบบประสาทและระบบหายใจให้ทำงานเป็นปกติ (กรมประมง, 2553; สมาคมอาหารแช่เยือกแข็งไทย, 2557)

หมึกกล้วยยังเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจโดยการส่งออกผลิตภัณฑ์หมึกของไทยได้ขยายตัวขึ้นอย่างมาก ในอุตสาหกรรมการส่งออกผลิตภัณฑ์จากหมึกกล้วยมีมูลค่าที่สูง ดังแสดงในตารางที่ 2 - 1

ตารางที่ 2 -1 การส่งออกหมึกของไทย ปี 2559 และ ปี 2560

ปริมาณ : ตัน มูลค่า : บาท

รายการ	2559		2560	
	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ
หมึกสดแช่เย็น/แช่แข็ง	378,177,619	3,653,974	375,566,590	3,254,819
หมึกแห้ง	290,802,571	457,464	265,460,378	377,865
หมึกแปรรูป	11,984,409,257	54,510,483	12,080,517,690	47,573,171
หมึกปรุงแต่งอื่นๆ	1,677,913,203	7,455,637	1,801,300,563	6,869,674
รวม	14,331,299,650	66,077,558	14,522,854,221	58,075,529

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2561)

2. การเน่าเสียและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของสัตว์น้ำ

กระบวนการเปลี่ยนแปลงภายหลังจากการตาย โปรตีนเกิดการย่อยสลายอย่างรวดเร็วจากเอนไซม์ภายในตัวของหมึกที่มีกิจกรรมสูง ส่งผลให้เกิดสารประกอบไนโตรเจนที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนกล้ามเนื้อ ซึ่งส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ทำให้สามารถย่อยสลายโปรตีนได้อย่างรวดเร็วขึ้น โดยในหมึกเอนไซม์โปรติเอสมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อ (Hurtado et al., 1999) และในระหว่างการเน่าเสียจะเกิดสารระเหยได้หลายชนิด เช่น แอมโมเนีย ไดเมทิลเอมีน และไตรเมทิลเอมีน เป็นต้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของสารเหล่านี้ สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งบอกคุณภาพของสัตว์น้ำได้โดยแสดงในรูปปริมาณของด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (Okuzumi and Fujii, 2000) เมื่อโปรตีนเกิดการย่อยสลายอย่างรวดเร็วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีบริเวณกล้ามเนื้อเกิดเป็นเนื้อสีชมพู และคุณภาพทางประสาทสัมผัสของหมึกกล้วยจะลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากการจับ จึงอาจใช้เป็นดัชนีคุณภาพเบื้องต้นของหมึกได้ ซึ่งกระบวนการเน่าเสียของสัตว์น้ำเกิดจากกระบวนการต่างๆ ดังนี้

2.1 การเสื่อมเสียโดยน้ำย่อย (autolysis)

การเสื่อมเสียโดยน้ำย่อยเป็นการย่อยสลายกล้ามเนื้อโดยเอนไซม์ดีอะมิเนส (deaminase) ที่มีอยู่แล้วในตัวสัตว์น้ำทำให้เกิดการสลายตัวของนิวคลีโอไทด์ในกล้ามเนื้อ การสลายตัวของนิวคลีโอไทด์ในกล้ามเนื้อสัตว์น้ำเริ่มจาก adenosin triphosphase (ATP) สลายตัวโดยการปล่อยแอมโมเนีย (NH_3) ไปเป็น inosine monophosphate (IMP) และ innosine (Ino) ตามลำดับ จากนั้น inosine ส่วนหนึ่งเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลไรโบส (ribose) อีกส่วนหนึ่งเปลี่ยนเป็นไฮโปแซนทีน (hypoxanthine: Hx) แซนทีน (xanthine: Xa) และกรดยูริก (uric acid) เกิดการย่อยสลายตัวเองในกล้ามเนื้อสัตว์น้ำ (มัทนา แสงจินดาวงษ์, 2548) กล้ามเนื้อของหมึกกล้วยมีโปรตีนที่สำคัญ คือ โปรตีนซาร์โคพลาสมิก ในโปรตีนซาร์โคพลาสมิก ประกอบด้วยเอนไซม์ที่มีผลต่อคุณภาพของสัตว์น้ำ คือ ไฮโดรเลสทำหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อ โดยไฮโดรเลสเป็นเอนไซม์กลุ่มที่มีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงภายหลังการตายของสัตว์น้ำ

ในกล้ามเนื้อหมึกมีการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนสที่สามารถย่อยสลายโปรตีนซาร์โคพลาสมิกในกล้ามเนื้อได้อย่างรวดเร็ว ทำให้โครงสร้างของกล้ามเนื้อหมึกเกิดช่องว่างระหว่างเส้นใยกล้ามเนื้อและเส้นใยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเกิดเป็นรูเล็กๆ (pore) ระหว่างเซลล์กล้ามเนื้อของเนื้อหมึกกล้วย การเปลี่ยนแปลงนี้ทำให้เนื้อหมึกกล้วยมีเนื้อสัมผัสที่นิ่มลง (อดิศรา ตันตสุทธิกุล, 2553)

2.2 การเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์

กระบวนการเปลี่ยนแปลงภายหลังจากการตายของสัตว์น้ำนั้น โปรตีนเกิดการย่อยสลายอย่างรวดเร็วจากเอนไซม์ทั้งจากตัวสัตว์น้ำเองและเอนไซม์จากจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์นั้นอาจมาจากแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำ หรือจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนจากการขนส่งและการเก็บรักษา ซึ่งเอนไซม์โปรติเนสที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นมีการย่อยสลายโปรตีนทำให้เกิดสารประกอบไนโตรเจนที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนกล้ามเนื้อ ซึ่งส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ทำให้สามารถย่อยสลายโปรตีนได้อย่างรวดเร็วขึ้น ทั้งนี้กลิ่นเน่าเหม็นของสารที่ระเหยได้ ซึ่งในหมึกเมื่อตายใหม่ ๆ โดยเฉพาะในช่วงเกร็งตัว (rigor mortis) มีการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียน้อยมากเปรียบเสมือนช่วง lag phase ซึ่งในระยะนี้อาจมีการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นรสและลักษณะบางประการ จากนั้นแบคทีเรียจะเข้าสู่ระยะ log phase มีจำนวนจุลินทรีย์ค่อนข้างคงที่ ถึงแม้ว่าจำนวนของจุลินทรีย์ไม่ได้เพิ่มขึ้นแต่เป็นระยะที่มีการแสดงของกลิ่นที่เหม็นเน่า (putridity) และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียบางชนิดมีการใช้ TMAO ในเนื้อหมึกกล้วยในการเจริญ (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548) ซึ่งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียคือ *Shewanell putrefaciens* และ *Psuedomonas* spp. โดย *S. putrefaciens* สามารถผลิต TMA และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) เมทิลเมอร์แคบแทน (CH_3SH) ไดเมทิลซัลไฟด์ ($(CH_3)_2S$) จากสารตั้งต้นคือ TMAO ซีสเตอีน (Cysteine) เมโทโอนีน (Methionine) อินโนซิน

โมโนฟอตเฟส (inosine monophosphate, IMP) และคาร์โบไฮเดรต ตามลำดับ ขณะที่ *Psuedomonas* spp. ทำให้เกิดกลิ่นรสเน่าเสีย (rotten) ที่เกิดจากสารประกอบที่ระเหยได้ เช่น คีโตน เอสเทอร์ และซัลไฟด์ ดังนั้นกลิ่นต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นสามารถบอกการเน่าเสียได้ (Gram and Huss, 1996)

2.3 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid oxidation)

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน คือ ปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างออกซิเจนกับไขมัน (lipid) ซึ่งหมายถึงไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ณ ตำแหน่งพันธะคู่ ทำให้เกิดสารที่ให้กลิ่นและรสที่ผิดปกติ เรียกว่า การหืน (rancidity) เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) โดยอนุมูลอิสระ (free radical) ที่เกิดขึ้นไปกระตุ้นโมเลกุลของกรดไขมันที่เหลือให้เปลี่ยนแปลงจนได้เป็นสารใหม่ (secondary product) เช่น แอลดีไฮด์ คีโทน แอลกอฮอล์ แอลเคน และกรดอินทรีย์ เป็นต้น ซึ่งทำให้เกิดสี กลิ่น และรส ที่ผิดปกติของน้ำมัน และไขมัน (ชาตรี เอี้ยพิณ และภาราได แจ่มจำรูญ, 2550) รวมทั้งเมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันมีผลทำให้ปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้น โดยกรดไขมันอิสระเข้าจับกับโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อหมึกซึ่งมีผลโดยตรงกับเนื้อสัมผัสทำให้เนื้อหมึกกล้วยเกิดเป็นสารประกอบที่ซับซ้อนและมีสีเหลือง และทำให้เกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้มีผลทำให้คุณค่าทางโภชนาการที่ได้รับลดน้อยลงตามไปด้วย (อดิศรา ตันตสุทธิกุล, 2553)

3. การชะลอการเสื่อมคุณภาพของหมึกกล้วย

ในเนื้อหมึกมีปริมาณโปรตีนและปริมาณความชื้นสูง จึงเกิดการเน่าเสียได้ง่าย และเกิดขึ้นทันทีหลังจากตาย ทำให้มีอายุการเก็บรักษาสั้น และจากแนวโน้มรวมทั้งพฤติกรรมการบริโภคของผู้บริโภคในปัจจุบันที่ให้ความสำคัญต่ออาหารที่บริโภคด้านคุณค่าทางโภชนาการ ความปลอดภัย รวมทั้งสำหรับโรงงานแปรรูปหมึกกล้วยที่ต้องการใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพดี โดยไม่จำเป็นต้องเพิ่มการใช้สารเคมีต่างๆ เพื่อช่วยรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ซึ่งทำให้เสี่ยง ต่อการเกิดการสะสมของสารเคมีในผลิตภัณฑ์เกินปริมาณที่กำหนดรวมทั้งเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต ส่งผลให้ความสามารถในการแข่งขันน้อยลง ซึ่งกระบวนการแปรรูปที่สามารถตอบสนองต่อสิ่งที่ผู้บริโภคต้องการได้อย่างดีและช่วยชะลอการเสื่อมคุณภาพหมึกกล้วยมีหลายวิธีการ ได้แก่

3.1 การแช่เย็นด้วยน้ำแข็ง

การแช่เย็นด้วยการใช้น้ำแข็งเป็นการลดอุณหภูมิของอาหารลงให้น้อยกว่า 10 องศาเซลเซียส การใช้ความเย็นในการถนอมอาหารเป็นการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์เท่านั้นแต่ไม่ใช่การทำลายจุลินทรีย์ ที่สภาวะอุณหภูมิต่ำมีผลให้กระบวนการเมตาบอลิซึม

(metabolism) ของจุลินทรีย์เกิดขึ้นช้าลง โดยเฉพาะที่อุณหภูมิต่ำใกล้จุดเยือกแข็ง เมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ช้าลงมาก ปฏิกิริยาการสร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์จึงช้าลงตามไปด้วย อีกทั้งยังลดอัตราการเปลี่ยนแปลงทางเคมีทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้ระยะหนึ่ง

เนื่องจากสัตว์น้ำเกิดการเน่าเสียได้ง่ายและรวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อสัตว์ชนิดอื่น และผู้บริโภคไม่นิยมบริโภคสัตว์น้ำที่ไม่สด ดังนั้นผู้ประกอบการจึงจำเป็นต้องดูแลรักษาคุณภาพสัตว์น้ำหลังการจับ ซึ่งสามารถทำได้โดยการใช้ความเย็นและการรักษาความสะอาด การให้ความเย็นสัตว์น้ำทำได้ด้วยการใช้น้ำแข็งซึ่งจะช่วยชะลอและยับยั้งปฏิกิริยาต่างๆ รวมถึงการเจริญของจุลินทรีย์ นอกจากนี้น้ำแข็งที่ละลายแล้วยังช่วยชะล้างจุลินทรีย์ เมือกรวมทั้งสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นและรสที่ไม่ดีระหว่างการเก็บรักษาได้อีกด้วย ดังนั้นกรมประมงจึงมีข้อแนะนำคือควรนำสัตว์น้ำที่จับได้ขึ้นจากน้ำโดยเร็ว จากนั้นนำมาล้างทำความสะ อาด คัดแยกชนิดสัตว์น้ำอย่างรวดเร็ว ไม่ควรเก็บสัตว์น้ำต่างชนิดกันไว้รวมกันเนื่องจากเมือกของปลาชนิดหนึ่งอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในปลาชนิดหนึ่งได้ หลังจากนั้นให้ลดอุณหภูมิของสัตว์น้ำให้ใกล้เคียง 0 องศาเซลเซียส โดยใช้น้ำแข็งป่นวางสลับชั้นกับสัตว์น้ำในอัตราส่วนระหว่างสัตว์น้ำต่อน้ำแข็งเป็น 1 ต่อ 2-3 และเติมน้ำแข็งทดแทนน้ำแข็งที่ละลายไป ซึ่งการเก็บสัตว์น้ำที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ช่วยรักษาคุณภาพได้นานถึง 15 วัน ในขณะที่การเก็บที่ระดับอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และ 15 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาสัตว์น้ำได้นานเพียง 6 และ 2 วัน ตามลำดับ ทั้งนี้น้ำและน้ำแข็งที่ใช้สัมผัสสัตว์น้ำต้องทำมาจากน้ำที่สะอาด มีการขนถ่ายที่ถูกสุขลักษณะ โดยทุกสิ่งที่สัมผัสกับสัตว์น้ำ ภาชนะบรรจุต้องเป็นวัสดุผิวเรียบไม่เป็นสนิม ไม่ดูดซับน้ำ ทำความสะอาดง่าย และขนส่งสัตว์น้ำโดยใช้เวลาน้อยที่สุด

ข้อดีของการใช้น้ำแข็งในการรักษาคุณภาพสัตว์น้ำ ได้แก่

1. ช่วยลดอุณหภูมิ การใช้น้ำแข็งเป็นการลดอุณหภูมิของสัตว์น้ำให้เป็น 0 องศาเซลเซียส หรือใกล้เคียง ซึ่งช่วยลดอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ และส่งผลให้อัตราการเน่าเสียลดลง หรือกำจัดความเสี่ยงทางด้านความปลอดภัย หากสามารถให้ความเย็นได้รวดเร็วเท่าไรยิ่งส่งผลดีมากขึ้นเท่านั้น อย่างไรก็ตามในปลาบางชนิด การให้ความเย็นแบบ “cold shock” อาจทำให้ผลผลิต (yield) ของชิ้นปลา (fillet) ลดลงเมื่อมีการตัดแต่ง

2. ให้ความชื้นกับสัตว์น้ำ น้ำแข็งช่วยป้องกันไม่ให้ผิวหน้าสัตว์น้ำแห้งและน้ำหนักลด น้ำแข็งที่ละลายยังเร่งการส่งผ่านความร้อนระหว่างสัตว์น้ำกับผิวหน้าน้ำแข็ง (น้ำสามารถนำความร้อนได้ดีกว่าอากาศ) หากมีความจำเป็นไม่สามารถให้ความเย็นสัตว์น้ำด้วยน้ำแข็งทันที ควรทำให้สัตว์น้ำชุ่มชื้นอยู่ตลอดเวลา การให้ความเย็นโดยให้ความร้อนถ่ายเทออก จะทำให้อุณหภูมที่พื้นผิวของสัตว์น้ำลดลงจนอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าสภาพที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค การเน่าเสีย และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค แม้ว่าจะไม่สามารถป้องกันการเน่าเสียได้ทั้งหมดก็ตาม

การใช้น้ำแข็งร่วมกับการใช้ห้องเย็นควบคุมอุณหภูมิเพื่อให้ผิวหนังสัตว์ชุ่มชื้นอยู่ตลอดเวลานั้นให้ผลดีกว่าการใช้น้ำแข็งเพียงอย่างเดียว โดยห้องเย็นควรมีอุณหภูมิสูงกว่า 0 องศาเซลเซียส เล็กน้อย คือ ประมาณ 3-4 องศาเซลเซียส

3. ได้เปรียบด้านคุณสมบัติทางกายภาพ เนื่องจากน้ำแข็งสามารถส่งผ่านความร้อนได้อย่างรวดเร็ว การเก็บน้ำแข็งและสัตว์น้ำไว้ในภาชนะที่เป็นฉนวนสามารถลดปริมาณน้ำแข็งที่ใช้ลงได้ ในขณะที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพและประหยัดค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษาสัตว์น้ำสด หากใช้น้ำแข็งปริมาณน้อย น้ำหนักที่ต้องขนย้ายลดลง ปริมาณน้ำที่ต้องถ่ายออกจะลดลงตามไปด้วย นอกจากนี้น้ำแข็งที่ละลายแล้วยังสามารถคงอุณหภูมิไว้ได้ค่อนข้างคงที่ที่ 0 องศาเซลเซียส

4. สะดวก ผลิต เก็บรักษา ขนถ่าย และราคาถูก หากผลิตจากน้ำที่มีคุณภาพดี (ดื่มได้) จะได้น้ำแข็งที่สะอาดและถูกสุขลักษณะ

5. ยืดอายุการเก็บรักษาสัตว์น้ำได้ดี ทำให้สัตว์น้ำสดมีคุณภาพดี ปลอดภัยต่อการบริโภค การใช้น้ำแข็งเกล็ดทำให้น้ำแข็งกระจายได้ทั่วภาชนะ ขนาดเกล็ดสม่ำเสมอ ไม่ทำลายพื้นผิวบริเวณหนังของสัตว์น้ำ ส่วนน้ำแข็งบดหากบดไม่ละเอียดทำให้มีส่วนแหลมคม อาจทิ่มแทงพื้นผิวสัตว์น้ำให้เสียหายได้ น้ำแข็งที่มีเกล็ดขนาดเล็กละลายเร็ว ในขณะที่ก้อนน้ำแข็งใหญ่ละลายช้ากว่า การใช้น้ำแข็งก้อนได้เปรียบที่ไม่เปลืองพื้นที่ในการเก็บและน้ำแข็งละลายช้า

วิจัยหลายชิ้นที่แสดงถึงประสิทธิภาพของการใช้น้ำแข็งผสมกับสารชนิดต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เช่น Soto et al (2014) พบว่าการนำน้ำแข็งที่ผสมกรดซิตริกและกรดแล็กติกมาใช้ในการเก็บรักษาคุณภาพของปลา European hake (*Merluccius merluccius*) สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทนเย็น, จุลินทรีย์ในกลุ่มที่ไม่ต้องการอากาศ, proteolytic bacteria และจุลินทรีย์ในกลุ่ม Enterobacteriaceae ในเนื้อปลาได้ดีที่สุดเมื่อใช้ความเข้มข้นของกรดซิตริก 0.175% ผสมกับกรดแล็กติก 0.050% ทั้งยังช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นของปริมาณ trimethylamine-nitrogen (TMA-N) ได้ดี และมีคุณภาพทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคด้วย ขณะที่งานวิจัยของ Bensid et al (2014) พบว่าการแช่ปลา anchovy (*Engraulis encrasicholus*) ด้วยน้ำแข็งผสมน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยไธม์ (0.04% w/v), น้ำมันหอมระเหยออริกาโน (0.03% w/v) และน้ำมันหอมระเหยจาก clove (0.02% w/v) สามารถรักษาคุณภาพเนื้อปลาได้นาน 12 วัน ส่วนการแช่เย็นด้วยน้ำแข็งธรรมดาเก็บได้ 9 วัน โดยปลาที่แช่น้ำแข็งผสมน้ำมันหอมระเหยช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งวัดได้จากปริมาณสารประกอบเปอร์ออกไซด์ (PV) และปริมาณกรดไธโอบาร์บิทูริก (TBA) รวมทั้งยังช่วยชะลอการเกิดปริมาณด่างที่ระเหยได้ (TVB-N) และลดการเจริญของจุลินทรีย์ในกลุ่ม aerobic mesophiles และ psychrotrophic bacteria ได้ดีกว่าการใช้น้ำแข็งธรรมดา และการศึกษาของ Özyurt et al (2012) พบว่าการนำปลาซาร์ดีน (*Sardinella aurita*) มาแช่ในน้ำแข็งที่ผสมด้วยสารสกัดจากโรสแมรี่ ที่

ระดับความเข้มข้น 0.05 - 0.1% ทำให้เนื้อปลามีอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 15 วัน ขณะปลาที่แช่ในน้ำแข็งไม่ผสมน้ำมันหอมระเหยเก็บรักษาได้ 12 วัน รวมทั้งการแช่ปลาในน้ำแข็งที่ผสมด้วยสารสกัดจากโรสแมรี่ยังช่วยลดการเกิด histamine และ putrescine ซึ่งสอดคล้องกับการชะลอการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ได้อีกด้วย

3.2 การใช้กรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์ชนิดกรดอ่อนถูกนำมาซ้ำสำหรับการถนอมอาหารมาเป็นเวลานาน เนื่องจากสามารถปรับความเป็นกรด ทำให้เกิดรสชาติ สามารถชะลอการเสื่อมเสียและการหืนได้ เช่น กรดแล็กติก กรดซิตริก กรดมาลิคและกรดอะซิติก ที่มีการนำมาใช้ใน น้ำสลัด เครื่องดื่ม น้ำผลไม้และน้ำผลไม้เข้มข้น รวมทั้งเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยกรดดังที่กล่าวมาเป็นกรดอินทรีย์ที่มีการอนุญาตให้ใช้ได้ในอุตสาหกรรมอาหารตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2547) ได้ประกาศไว้ในข้อกำหนดการใช้วัตถุเจือปนอาหารซึ่งให้ใช้ได้ในอุตสาหกรรมแต่ละประเภทตามปริมาณที่กำหนดไว้และได้มีการพบกลไกการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยกรดอินทรีย์ ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์นั้นขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อม ได้แก่ pH ที่เป็นปัจจัยสำคัญในการพิจารณาประสิทธิภาพของกรด เนื่องจากกรดอ่อนมากทำให้ความสามารถในการแตกตัวได้ตามค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงไป ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการยังยั้งจุลินทรีย์ โดยเมื่อค่า pH น้อยกว่าค่า pKa กรดอ่อนจะอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวจึงสามารถแพร่เข้าสู่ชั้นเยื่อไขมันของเซลล์จุลินทรีย์ได้อย่างอิสระ เมื่อเข้าสู่เซลล์แล้วมีการแตกตัวส่งผลให้ภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์จุลินทรีย์มีประมาณ anions และ protons มากขึ้น ซึ่งทำให้แบคทีเรียต้องพยายามรักษาสมดุลของเซลล์ ด้วยการขับ protons ออกจากเซลล์ซึ่งต้องใช้ ATP เซลล์จุลินทรีย์จึงสูญเสียพลังงานหรืออาจเกิดกลไกที่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์โดยกรดอินทรีย์เข้าไปรบกวนโครงสร้างของเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมและเยื่อหุ้มโปรตีนต่างๆ เช่น กระบวนการขนส่งอิเล็กตรอนและการผลิต ATP ลดลง ทำให้ค่า pH และ electron gradient ของเยื่อหุ้มเซลล์ผิดปกติ อีกทั้ง anions ที่สะสมในเซลล์จุลินทรีย์ปริมาณมากมีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมต่างๆ ในเซลล์จุลินทรีย์ เช่น เกิดการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ ยับยั้งการเกิดเมตาบอลิซึมของเซลล์ เกิดการสะสมสารพิษในเซลล์จาก anions รวมทั้งเกิดการเปลี่ยนแปลง pH ในเซลล์ซึ่งส่งผลกับการเจริญของแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของกรดอ่อนชนิดต่างๆ สามารถเรียงตามลำดับจากมากไปน้ำได้ดังนี้ กรดโพรพริออนิก, กรดอะซิติก, กรดแล็กติก, กรดซิติริก, กรดฟอสฟอริก และกรดไฮโดรคลอริก ตามลำดับ

งานวิจัยหลายชิ้นได้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เช่น Metin et al. (2001) ได้นำเนื้อปลา chub mackerel (*Scomber japonicas* Houttuyn 1780) มาแช่ในสารละลายกรดแล็กติกที่ความเข้มข้นแตกต่างกันหลายระดับ ได้แก่ 0, 2 และ 4% ก่อนนำไปบรรจุแบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

นาน 12 วัน วิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส เคมีและจุลินทรีย์ทุก 3 วัน พบวาเนื้อปลาที่ไม่แช่ในสารละลายกรดแล็กติกเน่าเสียในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา ส่วนเนื้อปลาที่แช่ในกรดสามารถเก็บรักษาได้นาน 12 วัน ขณะที่ Gogus, Bozoglu and Yurdugul (2006) ได้ศึกษาผลของการใช้ไนซิน (0.04 g/L/kg ที่ pH 5.2), กรดแล็กติก (5% ที่ pH 2.9) และสารผสมของกรดทั้ง 2 ชนิดในการเคลือบ (สารตัวกลางสำหรับเคลือบคือสารผสมระหว่าง vegetable oil, beeswax และน้ำกลั่น ที่มี pH 7.2) เนื้อปลาซาร์ดีน (*Sardina pilchardus*) ก่อนนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า เนื้อปลาที่เคลือบกรดแล็กติกและไนซินมีจำนวนจุลินทรีย์ mesophilic aerobic เท่ากับ 5.95 log cfu/mL ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา ส่วนเนื้อปลาที่ไม่มีการเคลือบมีจำนวนจุลินทรีย์สูงถึง 6.62 log cfu/mL ในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา รวมทั้งการใช้กรดแล็กติกและไนซินเคลือบชิ้นปลาช่วยลดจำนวน *Pseudomonas* spp. ได้มากกว่าตัวอย่างควบคุม และงานวิจัยของ Sanjuás-Rey et al (2012a) ได้ศึกษาผลของการนำกรดอินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และกรดแล็กติก มาผสมในน้ำแข็งเกล็ดเพื่อรักษาคุณภาพของปลา hake (*Merluccius merluccius*), ปลา megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis*) และปลา angler (*Lophius piscatorius*) โดยใช้กรดปริมาณแตกต่างกัน ได้แก่ 800 mg/kg (C-800) และ 400 mg/kg (C-400) โดยใช้อัตราส่วนปลา : น้ำแข็ง เท่ากับ 1:1 จากนั้นวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลชีววิทยา ไม่ว่าจะเป็นจำนวน aerobic mesophiles, psychrotrophs, proteolytic bacteria คุณภาพด้านเคมี คือ ปริมาณTMA และค่า pH รวมทั้งคุณภาพทางประสาทสัมผัสระหว่างที่เก็บรักษาด้วยการแช่เย็น 4 องศาเซลเซียส นาน 15 วัน พบว่า ปลา hake และ ปลา megrim ในชุดการทดลอง C-800 และ C-400 มีจำนวนจุลินทรีย์ทุกชนิดน้อยกว่าชุดการทดลองที่แช่ในน้ำแข็งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมทั้งมีค่า pH น้อยกว่าชุดการทดลองที่แช่ในน้ำแข็ง ส่วนปลา angler ในชุดการทดลอง C-800 มีค่า pH ต่ำกว่าชุดการทดลองที่แช่ในน้ำแข็งเช่นกัน และเมื่อพิจารณาจากคุณภาพทางประสาทสัมผัสของปลา ทั้ง 3 ชนิดพบว่าการแช่เนื้อปลาในน้ำแข็งที่ผสมกรดในชุดการทดลอง C-800 ช่วยรักษาคุณภาพปลาและยืดอายุการเก็บรักษาปลาทั้ง 3 ชนิดได้ดีที่สุด ส่วนงานวิจัยของ García-Soto et al. (2013) ได้มีการนำกรดอินทรีย์ 2 ชนิด คือ กรดซิตริก (CA) และกรดแล็กติก (LA) มาผสมในน้ำแข็งเกล็ดเพื่อรักษาคุณภาพของปลา European hake (*Merluccius merluccius*) โดยนำปลามาแช่ในน้ำแข็งที่ผสมด้วยกรดที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันได้แก่ 0.075%/0.050% (C-75), 0.125%/0.050% (C-125) และ 0.175%/0.050% (C-175) แล้ววิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นคุณภาพด้านจุลชีววิทยา ได้แก่ จำนวน mesophiles, psychrotrophs, proteolytic bacteria, Enterobacteriaceae และ จุลินทรีย์ในกลุ่ม anaerobes คุณภาพด้านเคมี ได้แก่ ปริมาณTMA,

การเกิดปฏิกิริยา lipid hydrolysis และ lipid oxidation รวมทั้งมีการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสระหว่างการแช่เย็นนาน 13 วัน พบว่าปลาในชุดการทดลอง C-175 มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยที่สุด โดยจำนวนจุลินทรีย์ aerobes และ anaerobes นั้นมีน้อยกว่าชุดการทดลองอื่น 2 log CFU/g และความเข้มข้นของกรดซิตริกที่เพิ่มขึ้นยิ่งสามารถชะลอการเกิด TMA ได้ดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสที่พบว่าเนื้อปลาที่แช่ในน้ำแข็งที่ผสมกรดทั้ง 2 ชนิดในชุดการทดลอง C-125 และ C-175 มีคุณภาพดีทำให้มีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น และ Zhou et al (2011) ที่พบว่า puffer fish (*Takifugu obscurus*) ที่เก็บรักษาด้วยน้ำแข็งอิเล็กโทรไลต์ รวมทั้ง García-Soto et al (2011) ที่พบว่า ปลา European hake (*Merluccius merluccius*) ปลา megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis*) ที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติกและกรดซิตริกช่วยชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษา ช่วยลดการเกิดการย่อยสลายโปรตีนทำให้เกิดเป็นด่างที่ระเหย (TVB-N) ได้น้อยกว่าการเก็บรักษาด้วยน้ำแข็งธรรมดา

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

1. วัตถุดิบและอุปกรณ์

1.1 วัตถุดิบ

1.1.1 หมึกกล้วยที่ซื้อจากสะพานปลา ต.อ่างศิลา อ.เมือง จ.ชลบุรี (ขนาด 5 – 6 ตัวต่อกิโลกรัม ; ความกว้างและยาวของลำตัวประมาณ 5 เซนติเมตร × 15 เซนติเมตร)

1.1.2 กรดซิตริก (citric acid) ชนิด food grade

1.1.3 กรดแล็กติก (lactic acid solution) ชนิด food grade

1.2 อุปกรณ์ในการแปรรูป

1.2.1 อุปกรณ์สำหรับต้มหมึก

1.2.2 เทอร์โมมิเตอร์ (100 องศาเซลเซียส)

1.2.3 อุปกรณ์เครื่องครัวที่จำเป็นในการแปรรูป

1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการบรรจุและเก็บรักษา

1.3.1 ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.3.2 ถุงพลาสติกบรรจุอาหาร (ขนาด 15x25 เซนติเมตร ความหนา 80 ไมครอน)

1.4 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

1.4.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (AG 285, Mettler Toledo, Switzerland)

1.4.2 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) (SS-325, Tomy, USA)

1.4.3 ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) (BE Memmert, Germany)

1.4.4 เครื่องตีป่นผสมอาหาร (stomacher) (B.P.S 435270, AES Labortorie, France)

1.4.5 เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (TA-HD texture analyzer, UK)

1.4.6 เครื่องวัดค่าสี (Spectrophotometer Minolta CM - 300, Japan)

1.4.7 ชุดวิเคราะห์ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) และปริมาณไตรเมทิล - เอมีน (TMA) ได้แก่ จาน Conway และ Auto pipet ตามวิธีของ Hasegawa (1987)

1.4.8 ตู้แช่แข็ง – 20 องศาเซลเซียส (SF-PC1497, Panasonic Co. Ltd., Thailand)

1.4.9 เครื่องแก้วที่จำเป็นสำหรับการวิเคราะห์

1.4.10 ถุงพลาสติกปลอดเชื้อ

1.4.11 อุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับการทดสอบประสาทสัมผัส

1.5 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1.5.1 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณด่างที่ระเหยทั้งหมด (TVB - N) และปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA - N) ด้วยวิธี Conway microdiffusion method ตามวิธีของ Hasegawa (1987)

1.6 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการวิเคราะห์จุลินทรีย์

1.6.1 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้วิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ตามวิธีของ AOAC (1995)

1.6.2 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้วิเคราะห์จำนวนแบคทีเรีย Coliform และ *Escherichia coli* ตามวิธีของ AOAC (1994)

2. วิธีการทดลอง

2.1 การเตรียมตัวอย่าง

หมึกกล้วยที่ซื้อมาจากสะพานปลาตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี โดยเลือกหมึกกล้วยที่มีขนาดจำนวน 5 - 6 ตัวต่อ 1 กิโลกรัม แล้วบรรจุหมึกกล้วยในถุงพลาสติกทนความเย็นจากนั้นนำถุงพลาสติกที่มีหมึกกล้วยบรรจุอยู่ใส่กล่องสไตโรโฟมที่มีอัตราส่วนหมึกกล้วย : น้ำแข็ง เท่ากับ 1: 1.5 ปิดฝากล่องสไตโรโฟมแล้วนำไปใส่ในถังพลาสติกแล้วปิดฝาเพื่อป้องกันการสูญเสียความเย็นและป้องกันการเสียหายของตัวอย่าง จากนั้นขนส่งด้วยรถยนต์มายังห้องปฏิบัติการ ก่อนทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

2.2 การกำหนดระดับการยอมรับเนื้อหมึกต้ม

2.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำหมึกกล้วยจากข้อ 2.1 มาล้าง ลอกเปลือก และนำอวัยวะภายในออกเพื่อเอาแต่เนื้อ จากนั้นหั่นเนื้อหมึกเป็นสี่เหลี่ยมขนาดความกว้างประมาณ 1.5 × 1.5 นิ้ว ส่วนหนึ่งแบ่งบรรจุลงถุงพลาสติกแล้วน้ำไปแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอีกส่วนหนึ่งนำไปต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 95 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาให้ใช้กระชอนตักเนื้อหมึกต้มมาใส่ในน้ำเย็นที่ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จนตัวอย่างเนื้อหมึกต้มมีอุณหภูมิ 20$\pm$1 องศาเซลเซียส ทิ้งให้สะเด็ดน้ำนาน 1 นาที โดยตลอดเวลาที่เตรียมตัวอย่างต้องใส่ถุงมือ และล้างเครื่องมือที่ใช้ให้สะอาด เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และนำเนื้อหมึกที่ได้มาใช้ในการกำหนดคุณลักษณะของเนื้อหมึก โดยให้ผู้ทดสอบจำนวน 15 คน ช่วยกันกำหนดคุณลักษณะของเนื้อหมึกที่สังเกตได้ จากการทดสอบด้านลักษณะปรากฏ รสชาติและเนื้อสัมผัส ด้วยวิธี Descriptive analysis ตามวิธีของ Meilgaard et al. (1999) โดยให้ผู้ทดสอบกำหนดคะแนน 1 - 5

เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการประเมินตัวอย่างเนื้อหมึกในการทดลองต่อไป นำเกณฑ์ที่ได้ใช้ในการฝึกฝนผู้ทดสอบก่อนทำการทดสอบจริง และเตรียมตัวอย่างมาตรฐานนี้ให้ผู้ทดสอบชิมทุกครั้งก่อนทดสอบผลิตภัณฑ์

2.2.2 การฝึกฝนผู้ทดสอบ

คัดเลือกผู้ทดสอบมาทำการฝึกทดสอบให้มีความคุ้นเคยกับการบริโภคเนื้อหมึกต้มโดยให้ผู้ทดสอบดูลักษณะภายนอก ดมกลิ่นและรับประทานเนื้อหมึกต้ม จากนั้นให้คะแนนในแบบประเมินและเกณฑ์จากข้อ 2.2.1 ซึ่งการฝึกผู้ทดสอบเป็นการให้ผู้ทดสอบทั้ง 20 คน มีความคุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์ โดยให้ผู้ทดสอบรับประทานเนื้อหมึกต้ม (ต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 95 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาให้ใช้กระชอนตักเนื้อหมึกต้มมาใส่ในน้ำเย็นที่ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จนตัวอย่างเนื้อหมึกต้มมีอุณหภูมิ 20$\pm$1 องศาเซลเซียส ทิ้งให้สะเด็ดน้ำนาน 1 นาที) แล้วให้ผู้ทดสอบให้คะแนนทางประสาทสัมผัสจากนั้นคัดเลือกผู้ทดสอบให้เหลือ 15 คน โดยดูจากคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสในการคัดเลือกผู้ทดสอบคนใด และการฝึกฝนผู้ทดสอบก่อนทำการทดสอบจริง ตามที่ได้กล่าวข้างต้นและเตรียมตัวอย่างมาตรฐานนี้ให้ผู้ทดสอบชิมทุกครั้งก่อนทดสอบผลิตภัณฑ์

2.3 การเตรียมน้ำแข็ง

การเตรียมสารละลายสำหรับทำน้ำแข็งโดยใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนแล้วในการเตรียมสารละลายกรดอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยนำกรดแลกติกและกรดซิตริกมาละลายในน้ำกลั่นจนได้สารละลายที่มีความเข้มข้นของกรดแตกต่างกัน ได้แก่ สารละลาย 0.02% lactic acid (IL02), สารละลาย 0.05% lactic acid (IL05), สารละลาย 0.02% lactic acid และ 0.075% citric acid (ILC207), สารละลาย 0.02% lactic acid และ 0.1% citric acid (ILC210) จากนั้นบรรจุสารละลายที่เตรียมได้ 1,000 มิลลิลิตร ในถุงพลาสติก polypropylene ชนิดทนเย็น (ขนาด 8 x 12 นิ้ว) ปิดผนึกถุงด้วยความร้อนแล้วนำไปแช่ในตู้แช่แข็ง – 20 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง เพื่อให้ได้น้ำแข็งสำหรับเก็บรักษาตัวอย่างหมึกกล้วยสดในแต่ละชุดการทดลอง โดยเก็บรักษาน้ำแข็งในตู้แช่แข็ง – 20 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำไปใช้ โดยมีการบดด้วยเครื่องบดน้ำแข็งให้ได้ขนาดเกล็ดน้ำแข็งที่สม่ำเสมอกันก่อนนำไปใช้ น้ำแข็งเกล็ดที่ไม่ผสมกรด (ICC) นั้นใช้วิธีการเตรียมเช่นเดียวกันโดยไม่มีการผสมกรด

2.4 ผลของการแช่เย็นหมึกกล้วยสดด้วยน้ำแข็งที่ผสมกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

นำหมึกกล้วยสดจากที่เตรียมได้ในข้อ 2.1 มาแช่เย็นในกล่องสไตโรโฟมด้วยน้ำแข็งที่ผสมกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จากข้อ 2.3 โดยกำหนดให้สัดส่วนหมึกกล้วยสดต่อน้ำแข็งคงที่ คือ 1: 2 จากนั้นปิดฝากล่องแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและเปลี่ยนน้ำแข็งทุกวัน ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ที่แตกต่างกัน ได้แก่

ICC คือ น้ำแข็งปราศจากกรด (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%

สุ่มตัวอย่างหมึกกล้วยสดมาต้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 95 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที จุ่มในน้ำแข็ง 10 วินาที ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ และสุ่มตัวอย่างเนื้อหมึกต้มมาวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ได้แก่

2.4.1 คุณภาพทางเคมี

นำเนื้อหมึกต้มมาปั่นด้วยเครื่องปั่นผสม (waring blender) เนื้อหมึกกล้วยที่ได้นำมาวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ได้แก่ ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (total volatile base nitrogen; TVB-N) และปริมาณไตรเมธิลามีนออกไซด์ (TMA-N) ด้วย Conway microdiffision method ตามวิธีของ Hasegawa (1987). ทำการวิเคราะห์คุณภาพทุก 3 วัน นาน 21 วัน

2.4.2 คุณภาพทางกายภาพ

นำเนื้อหมึกวัดการสูญเสียน้ำหนักของหมึกกล้วย (% cooking loss) และนำเนื้อหมึกต้มมาวัดค่าสี (spectrophotometer) ในระบบ CIE (ค่า L* คือ ค่าความสว่าง, a* คือ ค่าความเป็นสีแดงและสีเขียว, b* คือ ค่าความเป็นเหลืองและสีน้ำเงิน และค่าเนื้อสัมผัสของเนื้อหมึกต้ม (TA-HD texture analyzer, UK) ตรงบริเวณกึ่งกลางของเนื้อ โดยวัดแรงเฉือน ตามวิธีของ Bourne (1982) ทำการวิเคราะห์คุณภาพทุก 3 วัน นาน 21 วัน

2.4.3 คุณภาพทางจุลชีววิทยา

นำเนื้อหมึกต้มมาวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total variable count, TVC) โคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* ตามวิธีของ AOAC (1994) โดยวิเคราะห์คุณภาพทุก 3 วัน นาน 21 วัน

2.4.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินผลทางประสาทสัมผัสโดยการนำหมึกกล้วยมาล้างและนำอวัยวะภายในออกเพื่อเอาแต่เนื้อ จากนั้นหั่นเนื้อหมึกเป็นสี่เหลี่ยมขนาดความกว้างประมาณ 1.5 × 1.5 นิ้ว นำไปต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 95 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาให้ใช้กระชอนตักเนื้อหมึกต้มมาใส่ในน้ำเย็นที่ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จนตัวอย่างเนื้อหมึกต้มมีอุณหภูมิ 20$\pm$1 องศาเซลเซียส ทิ้งให้สะเด็ดน้ำนาน 1 นาที แล้วนำเนื้อหมึกต้มใส่ลงในถ้วยพลาสติกเพื่อให้ผู้ทดสอบ 15 คน (ที่ผ่านการฝึกจากข้อ 2.2.2) ได้ทดสอบและให้คะแนนตัวอย่างในคุณลักษณะที่ทดสอบ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ ตามเกณฑ์ที่กำหนดในข้อ 2.1 และบันทึกคะแนนลงใบทดสอบ เมื่อเปลี่ยนตัวอย่างถัดไปให้ผู้ทดสอบกลั้วปากด้วยน้ำเปล่าที่อุณหภูมิของน้ำใกล้เคียงอุณหภูมิห้องทุกครั้ง ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส ทุกๆ 3 วัน จนผู้ทดสอบไม่ยอมรับหรือจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐาน (ตัวอย่างถูกตรวจจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจนทราบผลว่าตัวอย่างมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกินค่ามาตรฐาน แล้วจึงมีการนำตัวอย่างในชุดการทดลองที่เตรียมไว้เฉพาะการทดสอบทางประสาทสัมผัสมาให้ผู้ทดสอบดำเนินการทดสอบ หากมีจำนวนจุลินทรีย์เกินมาตรฐานจะไม่นำตัวอย่างไปทดสอบทางประสาทสัมผัส ทั้งนี้เพื่อความปลอดภัยของผู้ทดสอบ)

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพและจุลชีววิทยา ออกแบบการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ทดลอง 3 ซ้ำ ส่วนการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสออกแบบการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) ทดลอง 2 ซ้ำ นำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของการทดลองโดยวิธี Duncan’ s Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เพื่อทราบถึงความเข้มข้นของสารละลายกรดอินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตน้ำแข็งสำหรับการรักษาคุณภาพหมึกกล้วย

3. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการ BS 2203 และ BS 2204 อาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

อาคารปฏิบัติการแปรรูปอาหาร 2 สาขาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตบางพระ

บทที่ 4
ผลการวิจัย

1. การกำหนดระดับการยอมรับเนื้อหมึกต้ม

กำหนดระดับการยอมรับเนื้อหมึกต้มสำหรับเป็นเกณฑ์การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสและอายุการเก็บรักษาของเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งและน้ำแข็งผสมกรดโดย หั่นเนื้อหมึกเป็นสี่เหลี่ยมขนาดความกว้างประมาณ 1.5 × 1.5 นิ้ว แล้วนำไปต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 95 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาให้ใช้กระชอนตักเนื้อหมึกต้มมาใส่ในน้ำเย็นที่ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ทิ้งให้สะเด็ดน้ำนาน 1 นาที แล้วจึงนำเนื้อหมึกต้มมาใช้สำหรับการฝึกฝนผู้ทดสอบและกำหนดระดับการยอมรับ โดยให้ผู้ทดสอบจำนวน 15 คน ช่วยกันกำหนดคุณลักษณะของเนื้อหมึกต้มที่สังเกตได้จากการทดสอบด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติและเนื้อสัมผัส ด้วยวิธี Descriptive analysis ตามวิธีของ Meilgaard et al. (1999) โดยให้ผู้ทดสอบกำหนดคำบรรยายระดับคะแนน 1 - 5 เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการประเมินตัวอย่างเนื้อหมึกต้มในการทดลองต่อไป ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4 - 1

ตารางที่ 4 - 1 ลักษณะของทางประสาทสัมผัสของเนื้อหมึกต้ม

คุณลักษณะ	ระดับการยอมรับ (คะแนน)	คำอธิบาย
ลักษณะปรากฏ	5	เนื้อสีขาว เป็นมันเงา
	4	เนื้อสีขาวอมเหลืองจาง ๆ ไม่เป็นมันเงา
	3	เนื้อสีขาวอมเหลืองปานกลาง ไม่เป็นมันเงาและด้าน ยังไม่มีสีผิดปกติอื่น ๆ ปรากฏ
	2	เนื้อสีขาวอมเหลืองปานกลางและด้าน เนื้อบางบริเวณเริ่มมีสีผิดปกติเล็กน้อย เช่น สีเขียว/เทา/ชมพูจางๆ
	1	เนื้อสีขาวเหลืองปานกลางและด้าน หรือ เนื้อส่วนใหญ่มีสีผิดปกติชัดเจน เช่น สีเขียว/เทา/ชมพู

ตารางที่ 4 - 1 (ต่อ)

คุณลักษณะ	ระดับการยอมรับ (คะแนน)	คำอธิบาย
กลิ่น	5	กลิ่นหอมหวานตามธรรมชาติ โดยความเข้มของกลิ่นชัดเจน
	4	ไม่มีกลิ่นหอมหวาน แต่ยังไม่มีกลิ่นผิดปกติอื่น
	3	ไม่มีกลิ่นหอมหวาน เริ่มมีกลิ่นผิดปกติอื่นๆ เล็กน้อย เช่น กลิ่นเหม็นเน่า กลิ่นคาว กลิ่นเหม็นเปรี้ยว
	2	ไม่มีกลิ่นหอมหวาน มีกลิ่นผิดปกติอื่นๆ ปานกลาง เช่น กลิ่นเหม็นเน่า กลิ่นคาว กลิ่นเหม็นเปรี้ยว
	1	มีกลิ่นผิดปกติรุนแรง เช่น กลิ่นเหม็นเน่า กลิ่นเหม็นเปรี้ยว กลิ่นคาว กลิ่นแอมโมเนียที่รุนแรง
รสชาติ	5	รสหวานตามธรรมชาติของเนื้อหมึกต้มที่ชัดเจน
	4	รสหวานเล็กน้อย ไม่มีรสเฝื่อน
	3	จืดและไม่มีรสชาติ และรสเฝื่อนเล็กน้อย
	2	รสเปรี้ยวเล็กน้อย รสเฝื่อนเล็กน้อย ให้ความรู้สึกรสคาวติดลิ้นเล็กน้อย
	1	รสชาติผิดปกติรุนแรง เช่น รสเปรี้ยว ให้ความรู้สึกรสคาวติดลิ้นมาก
เนื้อสัมผัส	5	ยืดหยุ่นดีมาก เหนียว ไม่แข็ง
	4	ยืดหยุ่นดี ไม่แข็ง
	3	ยืดหยุ่นปานกลาง ไม่แข็ง
	2	ไม่ยืดหยุ่น เริ่มนิ่ม มีเมือกเล็กน้อย
	1	นิ่มเละ และเป็นเมือกมาก

2. ผลของการแช่เย็นหมึกกล้วยสดด้วยน้ำแข็งที่ผสมกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

การนำหมึกกล้วยสดทั้งตัวมาแช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยกำหนดสัดส่วนของหมึกกล้วยสดต่อน้ำแข็งคงที่ คือ 1: 1.5 จากนั้นปิดฝากล่องแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เปลี่ยนน้ำแข็งทุกวัน เมื่อทำการวิเคราะห์มีการสุ่มตัวอย่างมาหั่นเนื้อหมึกเป็นสี่เหลี่ยมขนาดความกว้างประมาณ 1.5 × 1.5 นิ้ว แล้วต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 95 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที แช่ในน้ำเย็น นาน 1 นาที ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ 1 นาที แล้วสุ่มตัวอย่างเนื้อหมึกต้มมาวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ได้แก่ คุณภาพทางเคมี คุณภาพทางกายภาพ คุณภาพทางจุลชีววิทยา และคุณภาพทางประสาทสัมผัส ได้ผลการทดลอง ดังนี้

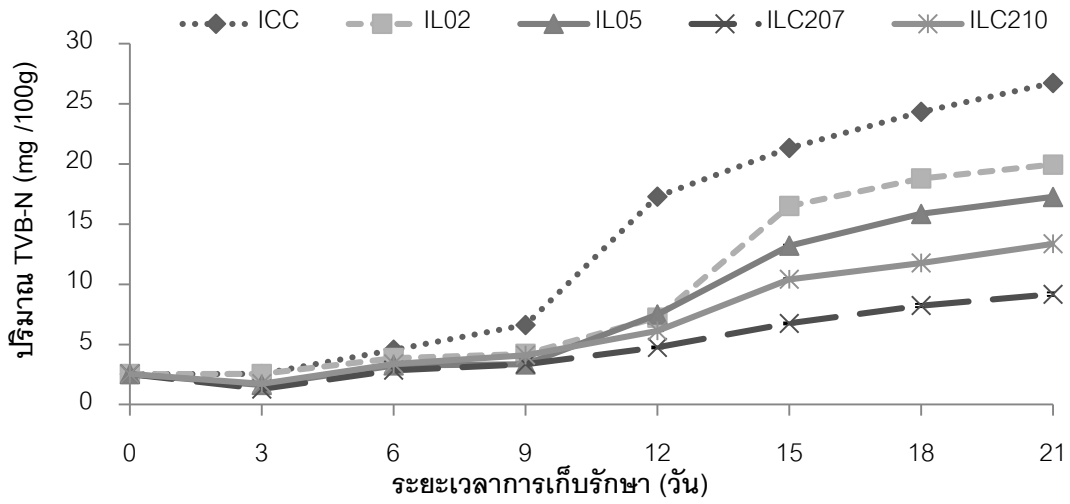
2.1 คุณภาพทางเคมี

2.1.1 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N)

ปริมาณ TVB-N ของเนื้อหมึกทุกชุดการทดลอง ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา มีค่า 2.53 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ 100 กรัมตัวอย่าง เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น เนื้อหมึกทุกชุดการทดลองทั้งที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ และที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน มีปริมาณ TVB-N สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$, ภาพที่ 4 - 1) โดยวันสุดท้ายของการเก็บรักษาของตัวอย่าง ICC (น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์) (วันที่ 21 ของการเก็บรักษา) มีปริมาณ TVB-N มากที่สุด คือ 26.74 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ 100 กรัมตัวอย่าง ขณะที่ IL02 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%), IL05 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%), ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) และ ILC210 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%) มีปริมาณ TVB-N 19.95, 17.27, 9.18 และ 13.37 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ 100 กรัมตัวอย่าง (วันที่ 21 ของการเก็บรักษา) ตามลำดับ รวมทั้งเนื้อหมึก ICC มีปริมาณ TVB-N สูงกว่าเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ IL02, IL05, ILC207 และ ILC210 โดยเนื้อหมึก ILC207 มีปริมาณ TVB-N น้อยกว่าชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา รองลงมาได้แก่ ILC210, IL02 และ IL05 ตามลำดับ

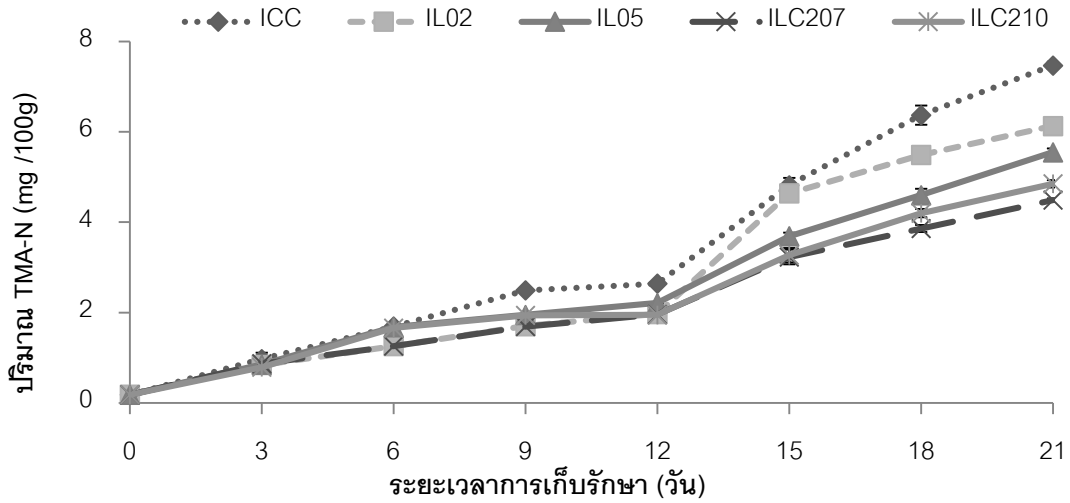
2.1.2 ปริมาณไตรเมธิลามีน (TMA–N)

ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ปริมาณ TMA–N ของเนื้อหมึกทุกชุดการทดลอง คือ 0.18 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ 100 กรัมตัวอย่าง รวมทั้งเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นเนื้อหมึกทุกชุดการทดลองทั้งที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ และที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน มีปริมาณ TMA–N เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$, ภาพที่ 4 - 2) โดยวันสุดท้ายของการเก็บรักษาเนื้อหมึก ICC (น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์) (วันที่ 21 ของการเก็บรักษา) มีปริมาณ TMA–N สูงที่สุด คือ 7.47 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ 100 กรัมตัวอย่าง ขณะที่ IL02 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%), IL05 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%), ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) และ ILC210 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%) มีปริมาณ TMA-N เท่ากับ 6.13, 5.55, 4.49 และ 4.85 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ 100 กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ผลการศึกษายังพบว่าเนื้อหมึก ICC มีปริมาณ TMA–N มากกว่าเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ IL02, IL05, ILC207 และ ILC210 ทั้งนี้เนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ ILC207 มีปริมาณ TMA–N น้อยที่สุด ตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา รองลงมาได้แก่ ILC210 ส่วน IL05 และ IL02 นั้นมีปริมาณ TMA–N ใกล้เคียงกัน ตามลำดับ



ภาพที่ 4 – 1 ปริมาณ TVB–N ของเนื้อหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกันโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 21 วัน

ICC คือ น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%



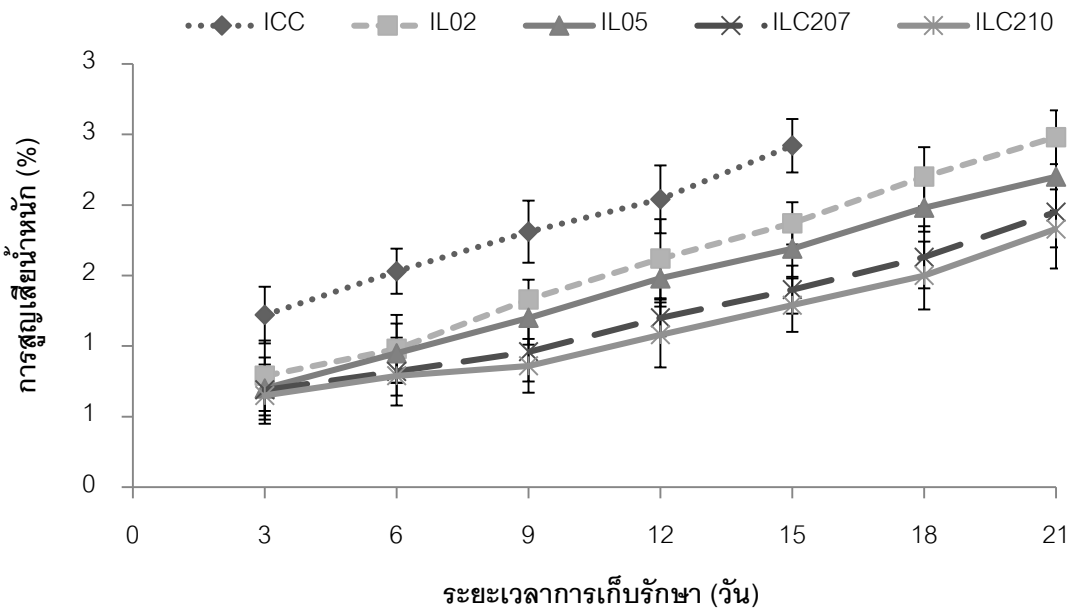
ภาพที่ 4 – 2 ปริมาณ TMA–N ของเนื้อหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกันโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 21 วัน

ICC คือ น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%

2.2 คุณภาพทางกายภาพ

2.2.1 การสูญเสียน้ำหนัก

การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อหมึก ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา คือ 0.65 – 1.22% และเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้นการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อหมึกในทุกชุดการทดลองทั้งที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ และที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน มีการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$, ภาพที่ 4 - 3) โดยวันสุดท้ายของการเก็บรักษาเนื้อหมึก ICC (น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์) (วันที่ 15 ของการเก็บรักษา) มีการสูญเสียน้ำหนักมากที่สุด คือ 2.42% ส่วนเนื้อหมึก IL02 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%), IL05 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%), ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) และ ILC210 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%) (วันที่ 21 ของการเก็บรักษา) มีการสูญเสียน้ำหนัก คือ 2.48, 2.20, 1.95 และ 1.83% ตามลำดับ



ภาพที่ 4 – 3 การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อหมึกกล้วยของเนื้อหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกันโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 21 วัน

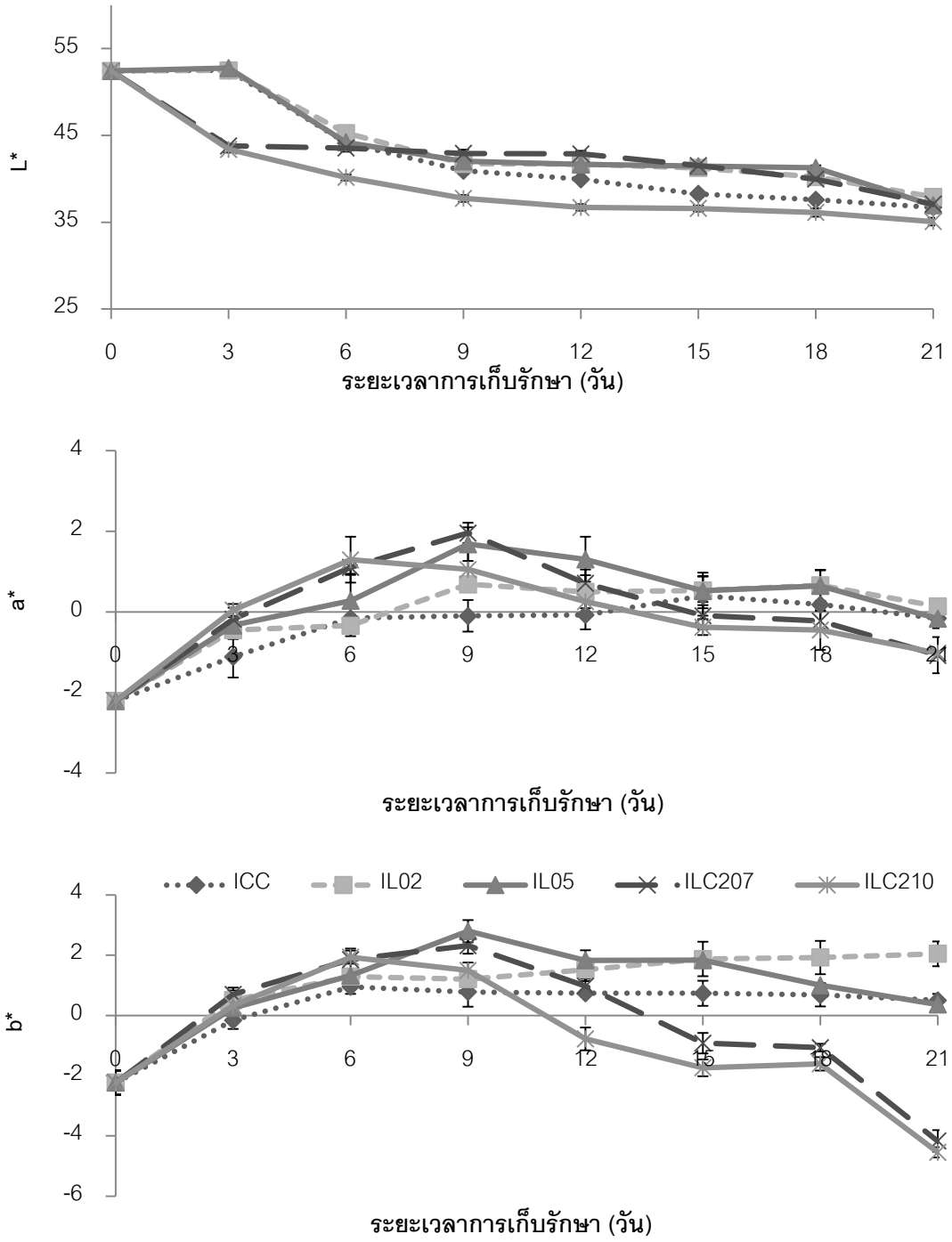
ICC	คือ	น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%

2.2.2. ค่าสี (L*, a*, b*)

ค่า L* คือ ค่าความสว่าง, a* คือ ค่าความเป็นสีแดงและสีเขียว และค่า b* คือ ค่าความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงิน ผลการทดลองพบว่า วันที่ 0 ของการเก็บรักษาเนื้อหมึกมีค่า L* เท่ากับ 52.43, a* เท่ากับ -2.21 และ b* เท่ากับ -2.23 แต่เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้นค่า L* ของเนื้อหมึกในทุกชุดการทดลองทั้งที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ และที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน มีค่า L* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$, ภาพที่ 4 - 4) จนกระทั่งวันสุดท้ายของการเก็บรักษาเนื้อหมึก ILC210 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%) (วันที่ 21 ของการเก็บรักษา) มี L* น้อยที่สุด คือ ค่า L* เท่ากับ 35.07 ขณะที่ ICC (น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์), IL02 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%), IL05 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%), ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) (วันที่ 21 ของการเก็บรักษา) มี L* เท่ากับ 36.71, 37.91, 36.94 และ 37.08 ตามลำดับ ขณะที่ค่า a* และ b* ของเนื้อหมึกทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นในวันที่ 0 – 9 ของการเก็บรักษา และเนื้อหมึกในชุดการทดลอง ICC และ IL02 มีค่า a* และ b* คงที่ในวันที่ 9 - 21 ของการเก็บรักษา ส่วนเนื้อหมึกในชุดการทดลอง IL05, ILC207 และ ILC210 มีค่า a* และ b* ลดลงวันที่ 9 - 21 ของการเก็บรักษา

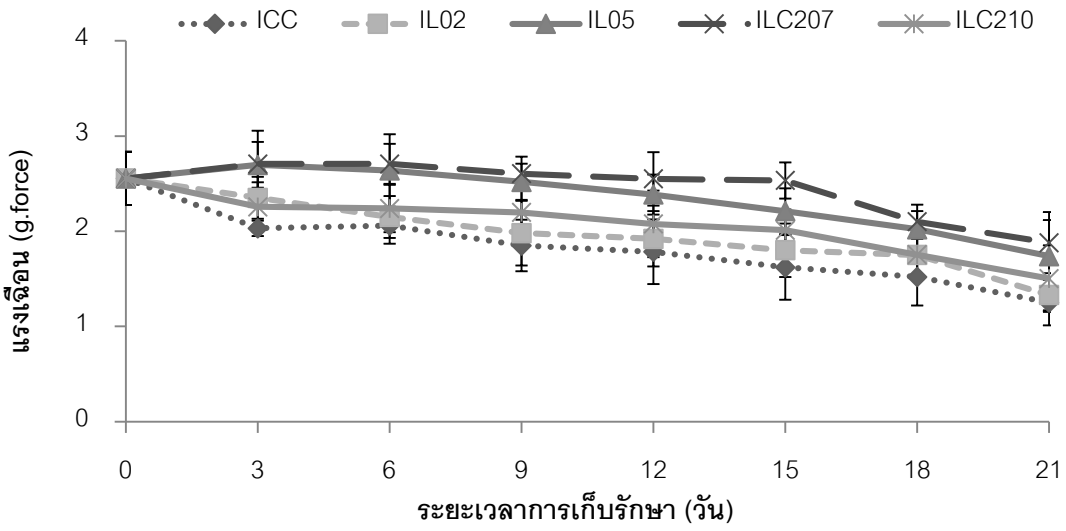
2.2.3 แรงเฉือน

ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ค่าแรงเฉือนของเนื้อหมึก มีค่า 2.55 $\pm$ 0.28 g.force เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาขึ้นแรงเฉือนของเนื้อหมึกทุกชุดการทดลอง มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$, ภาพที่ 4 - 5) จนกระทั่งวันสุดท้ายของการเก็บรักษาเนื้อหมึก ICC (น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์) (วันที่ 21 ของการเก็บรักษา) มีค่าแรงเฉือนน้อยที่สุด คือ 1.25 $\pm$ 0.24 g.force ขณะที่ IL02 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%), IL05 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%), ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) และ ILC210 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%) (วันที่ 21 ของการเก็บรักษา) มีค่าแรงเฉือนน้อยที่สุด คือ 1.33, 1.74, 1.88 และ 1.50 g.force ตามลำดับ ผลการศึกษายังพบว่าเนื้อหมึก ICC มีค่าแรงเฉือนน้อยกว่าเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ IL02, IL05, ILC207 และ ILC210 โดยเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ ILC207 มีค่าแรงเฉือนสูงกว่าเนื้อหมึกชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา ($p \leq 0.05$) รองลงมาได้แก่ IL05, ILC210 และ IL02 ตามลำดับ



ภาพที่ 4 – 4 ค่าสี L* (a), a* (b), b* (c) ของเนื้อหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกันโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 21 วัน

ICC	คือ	น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%



ภาพที่ 4 – 5 แรงเฉือนของเนื้อหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกันโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 21 วัน

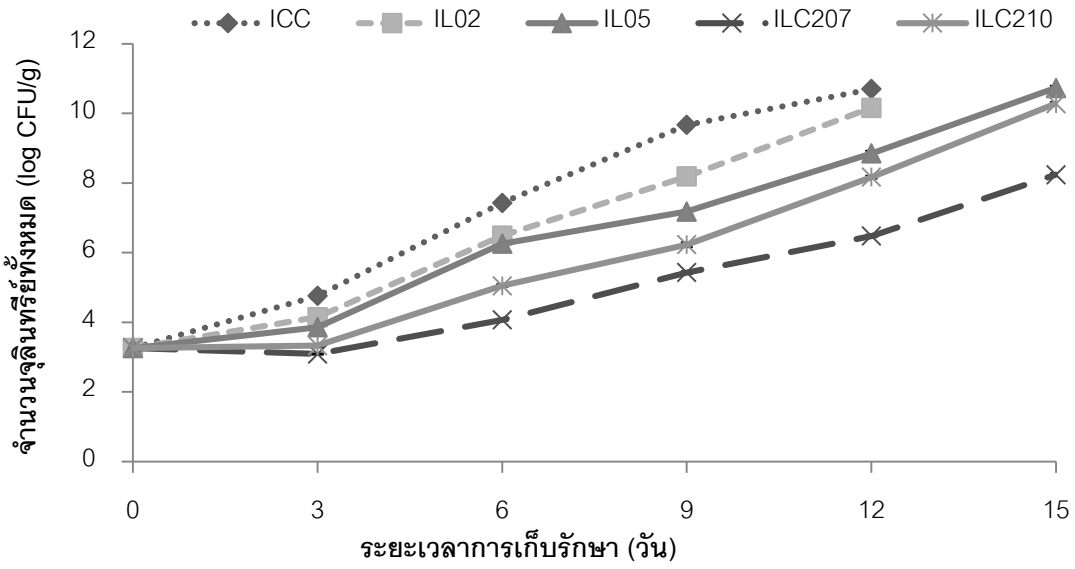
ICC	คือ	น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%

2.3 คุณภาพทางจุลชีววิทยา

2.3.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC)

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อหมึกกล้วย ในทุกชุดการทดลอง วันที่ 0 ของการเก็บรักษา พบว่ามีจำนวน 3.26 log CFU/กรัม เมื่อการเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อหมึกกล้วยชุดการทดลอง ICC (น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$, ภาพที่ 4 – 6) โดยมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 10.70 log CFU/กรัม ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 12 ของการเก็บรักษา) ขณะที่เนื้อหมึกกล้วยชุดการทดลองที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ IL02, IL05, ILC207 และ ILC210 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เช่นกัน โดยวันที่ 15 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการเก็บรักษา IL02 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 10.16 log CFU/กรัม ส่วน IL05, ILC207 และ ILC210 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 10.73, 8.24 และ 10.28 log CFU/กรัม ตามลำดับ ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 15 ของการเก็บรักษา) ผลการทดลองยังพบว่าเนื้อหมึกกล้วยชุดการทดลองที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรด IL02, IL05, ILC207 และ ILC210

มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่า ICC โดยเนื้อหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดชุดการทดลอง ILC207 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยที่สุดแตกต่างจากชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา รองลงมาได้แก่ ILC210, IL05 และ IL02 ตามลำดับ



ภาพที่ 4 – 6 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกันโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 21 วัน

ICC	คือ	น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%

2.3.2 โคลิฟอร์มแบคทีเรียและ E. coli

เนื้อหมึกทุกชุดการทดลองทั้งตัวอย่างที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์และแช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ที่แตกต่างกันตรวจไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคทั้งโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E. coli* ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

2.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

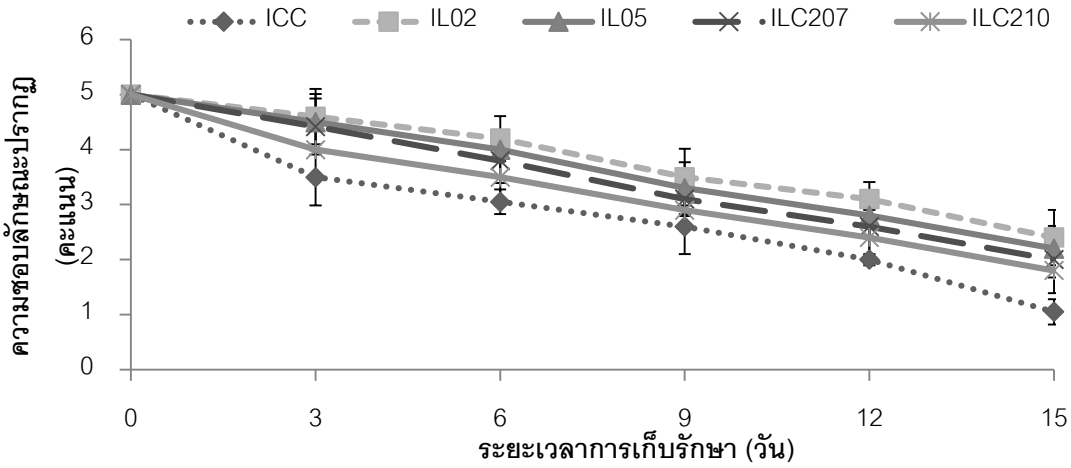
ผู้ทดสอบจำนวน 15 คน (ผ่านการฝึกให้มีความคุ้นเคยกับการบริโภคเนื้อหมึกต้ม) ทดสอบทางประสาทสัมผัสเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ และเนื้อหมึกต้มที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ที่แตกต่างกัน แล้วให้คะแนนในแบบประเมินที่เป็นการทดสอบแบบ 9 point hedonic scale (9 คือ ชอบมากที่สุด และ 1 คือ ไม่ชอบมากที่สุด) โดยให้คะแนนในแต่ละลักษณะที่ทดสอบ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ มีผลการทดลองดังนี้

2.4.1 ลักษณะปรากฏ

ผู้ทดสอบให้ระดับการยอมรับด้านลักษณะปรากฏสูงที่สุดคือ 5.00 คะแนน ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาของเนื้อหมึกชุดการทดลอง ICC (น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์) โดยเนื้อหมึกมีเนื้อสีขาวเป็นมันเงา และเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้นผู้ทดสอบให้คะแนนระดับการยอมรับลักษณะปรากฏของเนื้อหมึกต้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยในวันที่ 15 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการเก็บรักษาเนื้อหมึกมีสีขาวเหลืองปานกลางและเนื้อมีลักษณะด้าน ผู้ทดสอบให้ระดับการยอมรับลักษณะปรากฏน้อยที่สุดคือ 1.05

ส่วนเนื้อหมึกชุดการทดลองที่แช่ในน้ำแข็งผสมผสมกรดอินทรีย์ ได้แก่ IL02 (ความเข้มข้นของกรดแลกติก 0.02%), IL05 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%), ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) และ ILC210 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%) พบว่า วันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผู้ทดสอบให้ระดับการยอมรับด้านลักษณะปรากฏ 5.00 คะแนน โดยเนื้อหมึกมีเนื้อสีขาวเป็นมันเงา และเนื้อหมึกต้ม IL02, IL05, ILC207 และ ILC210 มีระดับการยอมรับด้านลักษณะปรากฏน้อยลงจนกระทั่งวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 15 ของการเก็บรักษา) ($p \leq 0.05$) ดังภาพที่ 4 - 7 และตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อหมึก IL02 มีระดับการยอมรับลักษณะปรากฏสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ IL05, ILC207 และ ILC210 ตามลำดับ ซึ่งในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 15 ของการเก็บรักษา) ผู้ทดสอบให้ระดับการยอมรับลักษณะปรากฏของเนื้อหมึก IL02 ที่ 2.40 คะแนน รองลงมา คือ 2.20, 2.00 และ 1.80 คะแนน ตามลำดับ

ผลการทดลองยังพบว่าเนื้อหมึกต้มที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ ได้แก่ IL02, IL05, ILC207 และ ILC210 มีคะแนนระดับการยอมรับด้านลักษณะปรากฏสูงกว่า ICC อีกทั้งเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ ที่ได้รับคะแนนการยอมรับด้านลักษณะปรากฏสูงที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา คือ IL02 (ความเข้มข้นของกรดแลกติก 0.02%) รองลงมา ได้แก่ IL05, ILC207 และ ILC210 ตามลำดับ



ภาพที่ 4 – 7 คะแนนการยอมรับลักษณะปรากฏของเนื้อหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกันโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 วัน

ICC	คือ	น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%

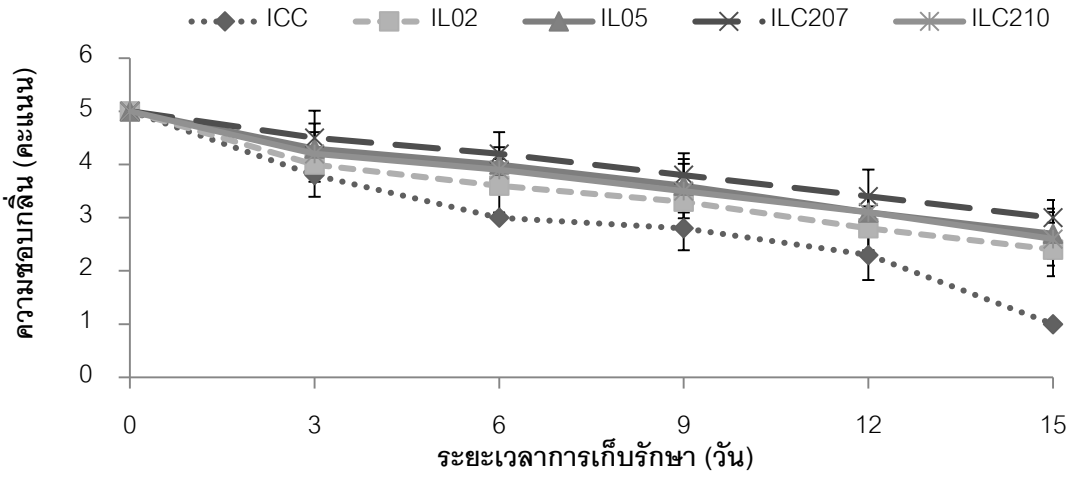
2.4.2 กลิ่น

ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาเนื้อหมึก ICC (น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์) พบว่า ผู้ทดสอบให้ระดับการยอมรับด้านกลิ่นมากที่สุด คือ 5.00 คะแนน เนื่องจากเนื้อหมึกต้มมีกลิ่นหอมหวานตามธรรมชาติของเนื้อหมึกต้ม โดยมีระดับความเข้มของกลิ่นมาก เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นผู้ทดสอบให้คะแนนระดับการยอมรับกลิ่นของเนื้อหมึกต้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$, ภาพที่ 4-8) โดยในวันที่ 15 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการเก็บรักษาเนื้อหมึกมีกลิ่นผิดปกติรุนแรง เช่น กลิ่นเหม็นเน่า กลิ่นเหม็นเปรี้ยว กลิ่นคาว ที่รุนแรง ผู้ทดสอบให้ระดับการยอมรับกลิ่นน้อยที่สุดคือ 1.00

ส่วนตัวอย่างเนื้อหมึกในชุดการทดลองที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ ได้แก่ IL02 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%), IL05 (ความเข้มข้นของกรดแลกติก 0.05%), ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) และ ILC210 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%) ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผู้ทดสอบมีระดับการยอมรับ ด้านกลิ่น 5.00 คะแนน โดยเนื้อหมึกต้มมีกลิ่นหอมหวานตามธรรมชาติ และทุกชุดการทดลองมีคะแนนระดับการยอมรับด้านกลิ่นน้อยลงจนกระทั่งวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 15 ของการเก็บรักษา) ($p \leq 0.05$) เช่นเดียวกับเนื้อหมึก ICC โดยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อหมึก ILC207 มีระดับการยอมรับกลิ่นสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ IL05, ILC210 และ IL02 ตามลำดับ ซึ่ง

ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 15 ของการเก็บรักษา) ผู้ทดสอบให้ระดับการยอมรับกลิ่นของเนื้อหมึก ILC207 ที่ 3.00 คะแนน รองลงมา คือ 2.70, 2.60 และ 2.40 คะแนน ตามลำดับ

ทั้งนี้เนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ ได้แก่ IL02, IL05, ILC207 และ ILC210 มีคะแนนระดับการยอมรับด้านกลิ่นสูงกว่า ICC โดยเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ที่ได้รับคะแนนการยอมรับด้านกลิ่นมากที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา คือ ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) รองลงมา ได้แก่ IL05, ILC210 และ IL02 ตามลำดับ



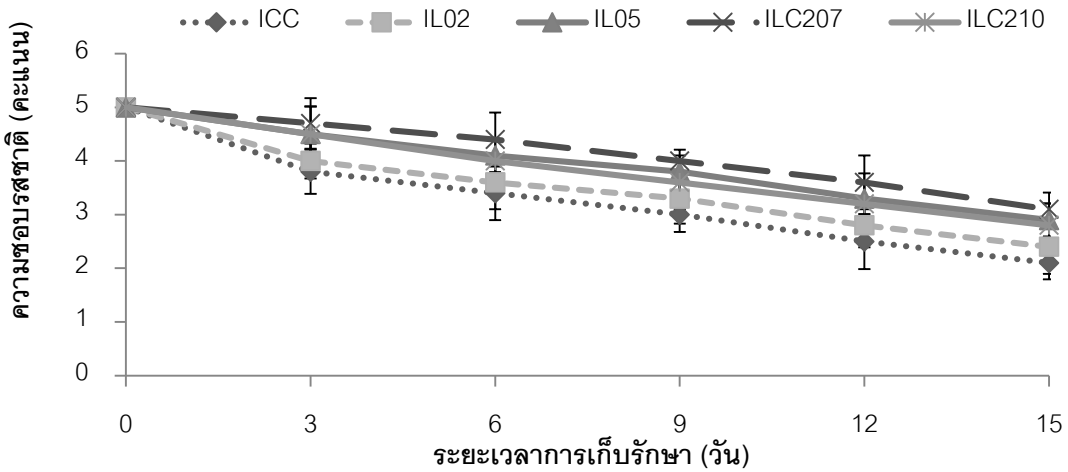
ภาพที่ 4 – 8 คะแนนการยอมรับกลิ่นของเนื้อหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกันโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 วัน

ICC	คือ	น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%

2.4.3 รสชาติ

ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผู้ทดสอบให้คะแนนระดับการยอมรับด้านรสชาติของเนื้อหมึก ICC (น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์คือ 5.00 คะแนน ขณะที่เนื้อหมึกในชุดการทดลองที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ ได้แก่ ได้แก่ IL02 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%), IL05 (ความเข้มข้นของกรดแลกติก 0.05%), ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) และ ILC210 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%) ผู้ทดสอบให้ระดับการยอมรับด้านรสชาติ 5.00 คะแนน เช่นกัน รวมทั้งเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้นผู้ทดสอบให้คะแนนรสชาติของเนื้อหมึกต้มในทุกชุดการทดลองลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังภาพที่ 4 - 9 โดยวันที่ 15 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการเก็บรักษาสำหรับเนื้อหมึกทุกชุดการทดลองมีคะแนนระดับการยอมรับด้านรสชาติลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ผลการทดลองยังพบว่าเนื้อหมึกในชุดการทดลองที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ ได้แก่ IL02, IL05, ILC207 และ ILC210 มีคะแนนระดับการยอมรับด้านรสชาติสูงกว่า ICC โดยเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ที่ผู้ทดสอบให้คะแนนการยอมรับด้านรสชาติมากที่สุดตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา คือ ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) รองลงมาได้แก่ IL05 และ ILC210 ที่ได้รับคะแนนการยอมรับด้านกลิ่นใกล้เคียงกัน และ IL02 และ ICC ตามลำดับ คะแนนการยอมรับรสชาติของเนื้อ ILC207 ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา คือ 3.10 คะแนน รองลงมาได้แก่ IL05, ILC210, IL02 และ ICC ที่ได้รับคะแนนการยอมรับรสชาติเท่ากับ 2.90, 2.80, 2.40 และ 2.10 คะแนน ตามลำดับ



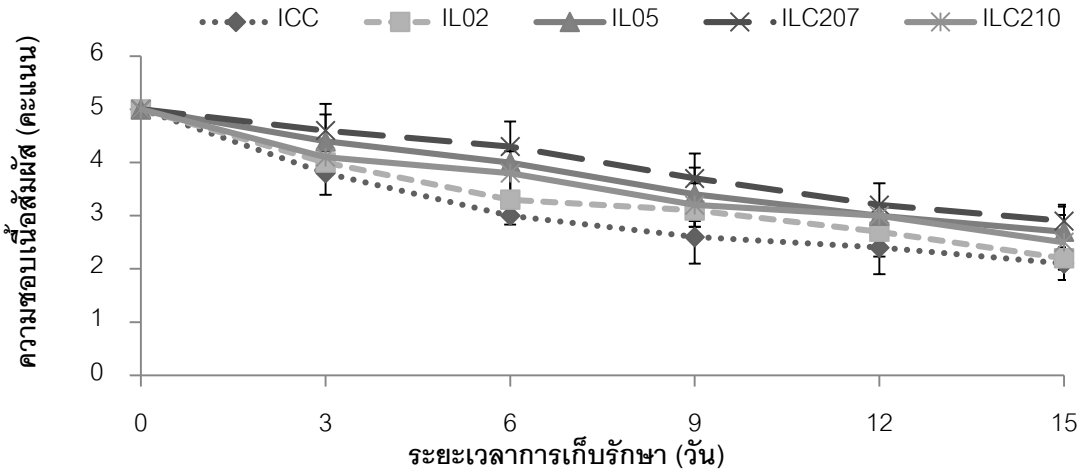
ภาพที่ 4 – 9 คะแนนการยอมรับรสชาติของเนื้อหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกันโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 วัน

ICC	คือ	น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%

2.4.4 เนื้อสัมผัส

ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ผู้ทดสอบมีระดับการยอมรับด้านเนื้อสัมผัสสูงที่สุดคือ 5.00 คะแนน ในเนื้อหมึกทุกชุดการทดลอง (ICC, IL02, IL05, ILC207 และ ILC210) เนื่องจากเนื้อกุ้งหมึกยืดหยุ่นดีมาก เหนียว และไม่แข็ง เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น ผู้ทดสอบให้คะแนนระดับการยอมรับเนื้อสัมผัสของเนื้อหมึกทุกชุดการทดลองลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จนวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ดังภาพที่ 4 - 10 ในวันที่ 15 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของ

การเก็บรักษาของเนื้อหมึกต้มในชุดการทดลอง ICC, IL02, IL05, ILC207 และ ILC210 มีระดับการยอมรับด้านเนื้อสัมผัส 2.10, 2.20, 2.70, 2.90 และ 2.50 ตามลำดับ รวมทั้งยังพบว่าเนื้อหมึกที่แช่น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ ICC มีคะแนนระดับการยอมรับเนื้อสัมผัสน้อยกว่าเนื้อหมึกที่แช่น้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ IL02, IL05, ILC207 และ ILC210 ทั้งนี้ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ที่ผู้ทดสอบให้คะแนนการยอมรับด้านเนื้อสัมผัสมากที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา คือ ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) รองลงมาได้แก่ ได้แก่ IL05, ILC210, IL02 และ ICC ตามลำดับ



ภาพที่ 4 – 10 คะแนนการยอมรับเนื้อสัมผัสของเนื้อหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกันโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 วัน

ICC	คือ	น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ	น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%

เมื่อพิจารณาคุณภาพด้านประสาทสัมผัสทั้งหมด ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัส ดังที่กล่าวมา พบว่า การนำหมึกกล้วยสดทั้งตัวมาแช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ในชุดการทดลอง ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) ได้รับคะแนนการยอมรับจากผู้ทดสอบทั้งในด้าน รสชาติ และเนื้อสัมผัสมากที่สุด รองลงมา ได้แก่ IL05, ILC210, IL02 และ ICC ตามลำดับ ส่วนการนำหมึกกล้วยสดทั้งตัวมาแช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ในชุดการทดลอง IL02 (ความเข้มข้นของกรดแลกติก 0.02%) ได้รับคะแนนการยอมรับจากผู้ทดสอบด้านลักษณะปรากฏมากที่สุด รองลงมา ได้แก่ IL05, ILC207, ILC210 และ ICC ตามลำดับ และ

การนำหมึกกล้วยสดทั้งตัวมาแช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ในชุดการทดลอง ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) ได้รับคะแนนการยอมรับจากผู้ทดสอบด้านกลิ่นมากที่สุด รองลงมา ได้แก่ IL05, ILC210, IL02 และ ICC ตามลำดับ

บทที่ 5
อภิปรายผลการวิจัย

1. การกำหนดระดับการยอมรับเนื้อหมึกต้ม

ระดับการยอมรับเนื้อหมึกต้มที่ให้ผู้ทดสอบ 15 คน ช่วยกันกำหนดคุณลักษณะของเนื้อหมึกต้มที่สังเกตได้ มี 4 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติและเนื้อสัมผัส โดยคะแนนระดับการยอมรับมากที่สุดคือ 5 คะแนน และระดับการยอมรับน้อยที่สุดคือ 1 คะแนน ผู้ทดสอบกำหนดให้ระดับการยอมรับต่อลักษณะด้านกลิ่นที่คะแนนน้อยกว่า 3 คะแนน เป็นระดับการยอมรับที่ใช้ตัดสินอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อหมึกต้มในเรื่องคุณภาพทางประสาทสัมผัส เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงตามการเน่าเสียเร็วกว่าลักษณะด้านอื่น และเมื่อตัวอย่างมีระดับการยอมรับน้อยกว่า 3 คะแนน จะไม่ได้รับการยอมรับในการทดสอบ ซึ่งสามารถใช้การเปลี่ยนแปลงของกลิ่นในผลิตภัณฑ์ในการบ่งบอกคุณภาพและอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารได้ เนื่องจากความสามารถรับรู้ถึงความผิดปกติด้านกลิ่นของมนุษย์เกิดขึ้นเร็วกว่าลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านอื่น (Coban et al, 2012)

2. ผลของการแช่เย็นหมึกกล้วยสดด้วยน้ำแข็งที่ผสมกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

2.1 คุณภาพทางเคมี

2.1.1 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N)

หลังจากสัตว์น้ำตายลงเอนไซม์ที่มีอยู่แล้วในตัวสัตว์น้ำเองและเอนไซม์ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นจะเกิดการย่อยสลายสารประกอบไนโตรเจนทั้งที่เป็นโปรตีนและไม่ใช่ไนโตรเจนจนได้เป็นสารประกอบที่เป็นด่างที่ระเหยได้ (Bono et al., 2012) ดังนั้นเมื่อสัตว์น้ำเน่าเสียมากขึ้นการสะสมของด่างที่ระเหยได้มีมากขึ้นดังนั้น การตรวจวัดปริมาณ TVB-N ในสัตว์น้ำจึงสามารถใช้ติดตามการเน่าเสียของสัตว์น้ำได้ ผลการทดลองครั้งนี้พบว่าปริมาณ TVB-N ของเนื้อหมึกในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาของตัวอย่างทุกชุดการทดลองมีค่า 2.53 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ 100 กรัมตัวอย่าง และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น เนื้อหมึกทุกชุดการทดลองมีปริมาณ TVB-N เพิ่มขึ้น เกิดจากปฏิกิริยาการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) จากเอนไซม์ในเนื้อหมึกรวมทั้งการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ย่อยสารประกอบไนโตรเจนจนได้เป็นสารในกลุ่มด่างที่ระเหยได้ในปริมาณมากขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Hernandez et al. (2009) พบว่า ปลา *Argyrosomus regius* ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งมีปริมาณ TVB-N สูงขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่นาน และ Okpala et al. (2014) พบว่า การเสื่อมคุณภาพของกุ้งขาวที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นระยะเวลานานส่งผลให้ปริมาณ TVB-N เพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาเช่นกัน

เนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ (IL02, IL05, ILC207 และ ILC210) มีปริมาณ TVB-N น้อยกว่าเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ICC) โดยเนื้อหมึกในชุดการทดลอง ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) มีปริมาณ TVB-N น้อยที่สุดตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา เนื่องจากความเข้มข้นของกรดที่มากขึ้น หมายถึงความสามารถในการแพร่ผ่านเยื่อหุ้มผนังเซลล์ของจุลินทรีย์มีมาก การนำเข้ากรดอะมิโนเพื่อการเจริญลดลง การสร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์เพื่อไปย่อยสารประกอบไนโตรเจนให้เป็นด่างที่ระเหยได้มีปริมาณน้อยกว่าชุดการทดลองอื่นที่มีความเข้มข้นของกรดต่ำกว่า สอดคล้องกับการศึกษาของ Xiao et al. (2017) ที่พบว่าหมึกที่เก็บรักษาด้วยน้ำแข็งอิเล็กโทรไลต์ และ García-Soto et al. (2013) ที่ผลการศึกษาการแช่ปลา European hake (*Merluccius merluccius*) ปลา megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis*) ในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติกและ กรดซิตริกช่วยชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษา ช่วยลดการย่อยสลายโปรตีนที่ทำให้เกิดเป็นด่างที่ระเหยได้มากกว่าการเก็บรักษาด้วยน้ำแข็งธรรมดา Bono et al. (2012) ได้แนะนำว่าสัตว์น้ำปรุงสุกที่มีคุณภาพดีควรมีปริมาณ TVB-N ไม่เกิน 25 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ 100 กรัมตัวอย่าง ดังนั้นหากพิจารณาจากปริมาณ TVB-N ดังกล่าวทำให้เนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์สามารถเก็บรักษาได้ไม่เกิน 18 วัน ขณะที่เนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ IL02, IL05, ILC207 และ ILC210 เก็บได้ไม่น้อยกว่า 21 วัน

2.1.2 ปริมาณไตรเมธิลามีน (TMA–N)

ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาปริมาณ TMA–N ของเนื้อหมึกทุกชุดการทดลองเท่ากับ 0.18 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ 100 กรัมตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าเนื้อหมึกต้มมีคุณภาพดี ซึ่งโดยทั่วไปแล้วสัตว์น้ำปรุงสุกที่มีคุณภาพดีไม่ควรมีปริมาณ TMA–N เกิน 5 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ 100 กรัมตัวอย่าง (Kusuma and Teerawut, 2014; Cobb and Vanderzant, 1971) แต่เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นมากขึ้น ปริมาณ TMA–N ของเนื้อหมึกทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นเกิดจากไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ (TMAO) ซึ่งเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนที่ทำหน้าที่ปองกันการสูญเสียน้ำออกจากตัว (water logout) ของสัตว์น้ำ ถูกเปลี่ยนเป็นไตรเมทิลเอมีน (TMA) โดยเอนไซม์ trimethylamine oxidase ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น ซึ่งเมื่อมีปริมาณ TMA มากขึ้นจะทำให้สัตว์น้ำมีกลิ่นเหม็นเน่า รวมทั้งกลิ่นคาวเพิ่มขึ้น (Erkan and Bilen, 2010) ผลการทดลองในครั้งนี้ให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาของ Bahmani et al. (2011) พบว่าปริมาณ TMA-N ของปลา golden grey mullet (*Liza aurata*) ระหว่างการแช่เย็น มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา เช่นเดียวกับ Okpala et al. (2014) พบว่า เนื้อกุ้งขาว (*L.vannamei*) ที่เก็บรักษาโดยใช้น้ำแข็งมีปริมาณ TMA-N เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา

เนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ (IL02, IL05, ILC207 และ ILC210) มีปริมาณ TMA-N ต่ำกว่าเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ICC) โดยเนื้อหมึกในชุดการทดลอง ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) มีปริมาณ TMA-N น้อยที่สุดตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา ซึ่งเกิดจากกรดแล็กติกและซิตริกสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม aerobes, anaerobes, psychrotrophs, proteolytic bacteria รวมทั้ง Enterobacteriaceae ได้ (García-Soto et al., 2013) นอกจากนี้กรดซิตริกยังเป็น chelator ที่จับกับโลหะจึงช่วยชะลอการทำงานของเอนไซม์บางส่วนที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น (Badii and Howell, 2002; Kilinc et al., 2009) ดังนั้นการเปลี่ยน TMAO ไปเป็น TMA–N จึงเกิดช้าลงและเมื่อความเข้มข้นของกรดที่ใช้มากขึ้นประสิทธิภาพในการชะลอการเพิ่มขึ้นของปริมาณ TMA–N จึงมีมากขึ้นตามไปด้วย สอดคล้องกับการศึกษาของ Sanjuás-Rey et al. (2012b) พบว่า การแช่ปลา mackerel (*Scomber scombrus*) ในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติกและกรดซิตริก ช่วยชะลอการเพิ่มปริมาณ TMA-N ได้ดีกว่าการแช่น้ำแข็งธรรมดา

2.2 คุณภาพทางกายภาพ

2.2.1 การสูญเสียน้ำหนัก

การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อหมึก ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา มีค่า 0.65 - 1.22% และเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้นการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อหมึกในทุกชุดการทดลองทั้งที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ และที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน มีการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้มีสาเหตุมาจากเอนไซม์ในตัวหมึกเองจากปฏิกิริยาการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) รวมทั้งเอนไซม์ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นไปย่อยสลายโครงสร้างต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกิดการย่อยโปรตีนทำให้โปรตีนมีคุณสมบัติในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ลดลง น้ำ แร่ธาตุ และวิตามิน ที่เคยยึดจับกับโปรตีนเกิดการคลายตัวออกและถูกปลดปล่อยออกมาทำให้น้ำหนักของสัตว์น้ำลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (นิอร โฉมศรี, 2555) ซึ่งให้ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกับงานวิจัยของ

2.2.2 ค่าสี

เมื่อเก็บรักษาเนื้อหมึกในทุกชุดการทดลองทั้งที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ และที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน เป็นระยะเวลานานขึ้นค่า L* (ค่าความสว่าง) ของเนื้อหมึกในทุกชุดการทดลอง มีค่า L* ลดลง ขณะที่ค่า a* และ b* ของเนื้อหมึกทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นใน 9 วันแรกของการเก็บรักษา และวันที่ 9 - 21 ของการเก็บรักษา

มีการเปลี่ยนแปลงค่า a* และ b* แตกต่างกันโดยเนื้อหมึกในชุดการทดลอง ICC และ IL02 มีค่า a* และ b* คงที่ ส่วน IL05, ILC207 และ ILC210 มีค่า a* และ b* ลดลง ซึ่งหมายถึงในช่วง 9 วันแรกของการเก็บรักษาเนื้อหมึกทุกชุดการทดลองมีสีขาวอมเหลืองมากขึ้น และวันที่ 9 - 21 ของการเก็บรักษาเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรด และที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติก 0.02% มี สีขาวอมน้ำตาลคงที่ แต่เนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติก 0.05% และที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติกและกรดซิตริกนั้นมีสีขาวอมเหลืองน้อยลง เนื่องจากในขณะที่แช่เนื้อหมึกในน้ำแข็งเกิดการเน่าเสียโดยโปรตีนที่เคยจับกับรงควัตถุให้สีในหมึกเกิดการย่อยสลายจากเอนไซม์ในตัวหมึกเองและเอนไซม์จากจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการปลดปล่อยรงควัตถุ และยังเกิดจากรงควัตถุให้สีในหมึกเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทั้งแบบที่เกิดจากเอนไซม์ (enzymatic oxidation) และไม่ได้เกิดจากเอนไซม์ (non - enzymatic oxidation) ทำให้รงควัตถุให้สีถูกทำลาย (Farajzadeh et al., 2015) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Farajzadeh et al. (2015) พบว่าค่าสี L* ของกุ้งขาว (*L vannamei*) ทั้งที่เคลือบและไม่เคลือบไคโตซานมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาภายใต้สภาวะการแช่เย็นเป็นเวลา 14 วัน แต่การแช่เนื้อหมึกไว้ในน้ำแข็งผสมกรดชะลอการเปลี่ยนแปลงสีได้เพราะโครงสร้างโปรตีนของเนื้อหมึกในชุดการทดลองที่มีการแช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์มีการสูญเสียสภาพน้อย โดย H+ ของกรดแล็กติกแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้เซลล์เกิดการสะสม H+ เป็นจำนวนมาก จึงพยายาม ขับ H+ ที่เกินออกมานอกเซลล์ทำให้เซลล์สูญเสียพลังงานในรูป ATP เป็นจำนวนมาก ดังนั้นจึงช่วยชะลอการเกิดการเจริญของจุลินทรีย์ได้ โครงสร้างโปรตีนของเนื้อหมึกถูกย่อยสลายช้าลง และกรดซิตริกช่วยชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ส่งผลให้การเปลี่ยนแปลงสีจึงน้อยลงตามไปด้วย(พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2553 ข ; Gould, 1996)

2.2.3 ค่าแรงเฉือน

ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ค่าแรงเฉือนของเนื้อหมึก เท่ากับ 2.55 $\pm$ 0.28 g.force และเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้นค่าแรงเฉือนของเนื้อหมึกในทุกชุดการทดลองมีค่าแรงเฉือนลดลง เนื่องจากเมื่อมีการเน่าเสียมากขึ้นโครงสร้างโปรตีนในเนื้อหมึกโดยเฉพาะอย่างยิ่งไมโอฟิบริลลาโปรตีนที่มีบทบาทต่อการยืดหดของกล้ามเนื้อของหมึก (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548) ซึ่งมีฟิลาเมนท์เส้นหนาที่ประกอบด้วยไมโอซินเป็นองค์ประกอบสำคัญ และพาราไมโอซินซึ่งเป็นโปรตีนที่พบเฉพาะสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ซึ่งโปรตีนไมโอไฟบริลมีผลต่อความยืดหยุ่นของเนื้อหมึกกล้วย ส่งผลให้กล้ามเนื้อหมึกมีเนื้อสัมผัสนิ่มลง (สุทธวัฒน์ กุล, 2548) ดังนั้นแรงจากใบมีดที่ตัดผ่านลงไปบนเนื้อหมึกขณะทำการวิเคราะห์ค่าแรงเฉือนจึงน้อยลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ซึ่ง

บ่งบอกถึงการเน่าเสียของเนื้อหมึกนั่นเอง สอดคล้องกับผลการศึกษาของ ทรงพล สงวนทรัพย์ สวามินี ธีระวุฒิ และ ปฏิยุทธ์ ขวัญอ่อน. (2561) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพของกุ้งขาว (*L. vannamei*) สุกระหว่างการเก็บรักษาด้วยการแช่เย็นพบว่าเนื้อกุ้งขาวมีค่าแรงเฉือนลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา

อีกทั้งเนื้อหมึกในชุดการทดลองที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์มีค่าแรงเฉือนน้อยกว่าชุดการทดลองที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ความเข้มข้นต่างๆ โดยเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ในชุดการทดลอง ILC207 มีค่าแรงเฉือนมากที่สุดตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา เนื่องจากกรดแล็กติกยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ด้วยการที่ H+ ของกรดแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้เสียคุณสมบัติการเป็นเยื่อเลือกผ่าน จึงช่วยชะลอการเกิดการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2553 ก) และสมบัติการเป็น chelating agent ของกรดซิตริกทำให้สามารถจับโลหะที่เป็นองค์ประกอบในผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ได้จึงเกิดการปลดปล่อยสารภายในเซลล์ออกมาภายนอกเซลล์จุลินทรีย์จึงตายลง (Badii and Howell, 2002; Kilinc et al., 2009) ส่งผลให้การเสื่อมสภาพของโปรตีนในเนื้อหมึกเกิดน้อยลง

2.3 คุณภาพทางจุลชีววิทยา

2.3.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC)

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาของเนื้อหมึกทุกชุดการทดลอง 3.26 log CFU/กรัม และเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อหมึกทุกชุดการทดลองมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น เกิดจากจุลินทรีย์สร้างเอนไซม์มาย่อยสลายโครงสร้างต่างๆ ในตัวสัตว์น้ำได้มากยิ่งขึ้น สามารถนำสารอาหารไปใช้ในการเจริญและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้นทำให้สัตว์น้ำเกิดการเน่าเสียมากขึ้นด้วย ทำให้สามารถใช้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในการบ่งบอกการเน่าเสียของสัตว์น้ำได้ (Teerawut et al., 2016) ซึ่งผลการทดลองครั้งนี้ให้ผลเช่นเดียวกับ Dabadéa et al. (2015) ที่เก็บรักษากุ้ง Tropical brackish water (*Penaeus notialis*) ไว้ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมากขึ้นเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น และ Bahmani et al. (2011) ที่พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ในปลา golden grey mullet (*Liza aurata*) ที่เก็บรักษาด้วยการแช่เย็น มีจำนวนเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาเช่นกัน

การศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ (IL02, IL05, ILC207 และ ILC210) มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่าเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ICC) โดยเนื้อหมึกในชุดการทดลอง ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยที่สุดตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา เนื่องจาก

การละลายของน้ำแข็งผสมกรดช่วยลดการเกิดเมือกที่เป็นแหล่งของจุลินทรีย์ได้ และจากสมบัติความเป็นกรดแล็กติก และกรดซิตริกที่มีผลรบกวนสมดุลภายในและภายนอกเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ลดการนำเข้ากรดอะมิโน จึงยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ เช่นจุลินทรีย์กลุ่ม aerobes, anaerobes, psychrotrophs, proteolytic bacteria และ Enterobacteriaceae (García-Soto et al., 2013) ประกอบกับสมบัติการเป็น chelating agent ของกรดซิตริกทำให้ไปจับโลหะที่เป็นองค์ประกอบในชั้นของ lipopolysaccharide (LPS) บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรีย จึงเกิดการปลดปล่อยสารภายในเซลล์ออกมาภายนอกเซลล์จุลินทรีย์จึงตายลง (Badii and Howell, 2002; Kilinc et al., 2009) สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Sanjuás-Rey et al. (2012a) ที่พบว่าการแช่ปลา hake (*Merluccius merluccius*), ปลา megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis*) และปลา angler (*Lophius piscatorius*) ในน้ำแข็งผสมกรดซิตริก กรดแล็กติกและกรดแอสคอร์บิก มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่าปลาที่แช่ในน้ำแข็งไม่ผสมกรดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

สำหรับผลการทดลองในครั้งนี้หากใช้เกณฑ์มาตรฐานด้านจุลินทรีย์ของกองควบคุมอาหาร (2552) ที่กำหนดให้อาหารทะเลปรุงสุกมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ไม่เกิน 6.0 log CFU/g สำหรับกำหนดอายุการเก็บรักษาของเนื้อหมึก แสดงให้เห็นว่า ระดับความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ที่เหมาะสมในการชะลอการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075% ซึ่งสามารถเก็บรักษาเนื้อหมึกได้นานที่สุดคือ ไม่เกิน 9 วัน รองลงมาได้แก่ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%, น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%, น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% ซึ่งเก็บได้ 6, 3, 3 วัน ตามลำดับ ส่วนเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ มีอายุการเก็บรักษาได้ 3 วัน

2.3.2 โคลิฟอร์มแบคทีเรียและ E. coli

ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อหมึกต้มทุกชุดการทดลองไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคทั้งโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E. coli* เพราะจุลินทรีย์เหล่านั้นไม่สามารถทนต่อการต้มเนื้อหมึกที่ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสได้ โดยโปรตีนและเอนไซม์ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญสำหรับกลไกการทำงานต่าง ๆ ในเซลล์ของจุลินทรีย์ถูกทำลายทำให้จุลินทรีย์จึงตายลง เช่นเดียวกับ Martínez-Alvarez et al. (2009) ที่พบว่าการนำกุ้งตะกาด (*Parapenaeus longirostris*) มานึ่งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม Enterobacteriaceae เช่น โคลิฟอร์มแบคทีเรีย, *E. coli* ได้ โดยปกติแล้วโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมทั้ง *E. coli* เจริญที่ 4 - 60 องศาเซลเซียส (พูลทรัพย์ วิรุฬหกุล, 2547) ทั้งนี้ หากร่างกายได้รับโคลิฟอร์มแบคทีเรียมากเกินจำนวนที่กำหนดทำให้มีอาการท้องเดิน ปวดศีรษะ มีไข้และหนาวสั่น ซึ่งเกิดขึ้นภายในเวลา 24 ชั่วโมง หลังได้รับเชื้อ (มัทนา แสงจินดาวงษ์, 2548) ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว

อาหารทะเลปรุงสุกที่สามารถบริโภคได้อย่างปลอดภัยนั้นจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* ต้องไม่เกิน log 2 CFU/กรัม (10^2 CFU/กรัม) (Food Safety Authority of Ireland, 2001)

2.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

2.4.1 ลักษณะปรากฏ

ผู้ทดสอบให้คะแนนระดับการยอมรับด้านลักษณะปรากฏสำหรับเนื้อหมึกทุกชุดการทดลองวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ที่ 5.00 คะแนน โดยเนื้อหมึกต้มมีเนื้อสีขาว เป็นมันเงา และเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้นผู้ทดสอบให้คะแนนระดับการยอมรับลักษณะปรากฏของเนื้อหมึกต้มน้อยลง ($p \leq 0.05$) ในทุกชุดการทดลอง โดยเนื้อหมึกค่อยๆ มีสีขาวเหลืองปานกลางและด้านเนื้อส่วนใหญ่มีสีผิดปกติชัดเจน เช่น สีเขียว/เทา/ชมพู สีเนื้อมีลักษณะเป็นสีแบบด้านรวมทั้งมีการเกิดเมือก เกิดจากเมื่อเก็บรักษานานขึ้นจุลินทรีย์มีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น การสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยสลายโครงสร้างต่างๆ ภายในเนื้อหมึกได้มากขึ้น ทำให้ความมันเงาที่เกิดจากแคปซูลของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสาร polysaccharide ที่สังเกตได้ในลักษณะการเกิดเมือกขึ้นนั้นมองเห็นได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้นเมื่อเกิดการเน่าเสีย (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2554) และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างกรดไขมันและออกซิเจนได้เป็นสารประกอบเปอร์ออกไซด์ และสารประกอบคาร์บอนิลชนิดต่างๆ ที่ไปรวมตัวกับกรดอะมิโนอิสระทำให้เกิดเป็นโครงสร้างโปรตีนเชิงซ้อนที่ให้สีน้ำตาลได้ (Pokorny, 1982) เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ สวามินี ธีระวุฒิ และปฏิยุทธ์ ขวัญอ่อน (2561) พบว่ากุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่ไม่แช่และแช่ในน้ำแข็งผสมน้ำมันหอมระเหยมีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏสูงในวันแรกและมีคะแนนน้อยลงเมื่อเก็บรักษานานขึ้น เช่นเดียวกับ Farajzadeh et al. (2016) ที่เก็บรักษาเนื้อกุ้งขาว (*L. vannamei*) ที่ผ่านการเคลือบด้วยไคโตซานและเจลาตินแล้วนำไปเก็บรักษาในตู้เย็น พบว่าเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้นทำให้เนื้อกุ้งทุกชุดการทดลองมีคะแนนยอมรับลดลง

เนื้อหมึกต้มที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ICC) มีระดับการยอมรับด้านลักษณะปรากฏน้อยกว่าเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรด (IL02, IL05, ILC207 และ ILC210) โดยเนื้อหมึกในชุดการทดลอง IL02 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%) มีการยอมรับด้านลักษณะปรากฏมากที่สุดตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา เนื่องจากกรดแล็กติกยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ด้วยการที่ H+ ของกรดแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการสะสมของอิออน ดังนั้น pH ภายในเซลล์จึงสูงกว่าภายนอกเซลล์ เกิดการสะสม H+ ภายในเซลล์เป็นจำนวนมาก

จุลินทรีย์จึงพยายาม ขับ H+ ที่เกินออกมานอกเซลล์ทำให้ต้องสูญเสียพลังงานในรูปของ ATP จำนวนมาก จึงช่วยชะลอการเกิดการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2553 ก) โครงสร้างโปรตีนของเนื้อหมึกถูกย่อยสลายช้าลงส่งผลให้การเปลี่ยนแปลงสีและเมือกจึงน้อยลงตามไปด้วย และกรดซิตริกที่มีประสิทธิภาพในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2553 ข ; Gould, 1996) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ García-Soto et al. (2013) ที่พบว่าคะแนนความชอบลักษณะปรากฏของเนื้อปลา hake (*Merluccius merluccius*) ที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ (กรดแล็กติก กรดซิตริก และกรดแอสคอร์บิก) มีมากกว่าเนื้อปลาที่แช่ในน้ำแข็งธรรมดา และ Xuan et al. (2017) พบว่าการนำหมึก (*Loligo* spp.) มาแช่ในน้ำแข็งอิเล็กโทรไลต์ที่มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อนช่วยชะลอการเจริญของจุลินทรีย์และลดปฏิกิริยาและช่วยชะลอการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อหมึกได้เป็นอย่างดี

2.4.2 กลิ่น

วันที่ 0 ของการเก็บรักษาผู้ทดสอบให้คะแนนระดับการยอมรับด้านกลิ่นสำหรับเนื้อหมึกทุกชุดการทดลอง ที่ 5.00 คะแนน ซึ่งเนื้อหมึกต้มมีกลิ่นหอมหวานตามธรรมชาติของหมึกต้ม โดยมีระดับความเข้มของกลิ่นหอมหวานและกลิ่นหมึกต้มมีมาก ขณะที่เมื่อเก็บรักษาเวลานานขึ้นผู้ทดสอบให้คะแนนระดับการยอมรับกลิ่นของเนื้อหมึกต้มทุกชุดการทดลองลดลง โดยเนื้อหมึกต้มมีกลิ่นเหม็นเน่าและกลิ่นเหม็นเปรี้ยว เป็นผลจาก เอนไซม์ที่มีอยู่แล้วในเนื้อหมึกและเอนไซม์ที่สร้างโดยจุลินทรีย์เกิดการย่อยสลายโปรตีนเพื่อใช้สารต่างๆ ในการเจริญและแบ่งเซลล์ จนได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบกลุ่ม TVB-N ได้แก่ แอมโมเนีย, ไตรเมทิลเอมีน (TMA - N), ไดเมทิลเอมีน (DMA), เมทิลเอมีน (methylamine) และสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ในปริมาณมากขึ้น และจุลินทรีย์บางกลุ่มสามารถสร้างเอนไซม์เพื่อเปลี่ยนสารประกอบ TMAO ไปเป็น TMA ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นผิดปกติต่างๆ เช่น กลิ่นแอมโมเนียและกลิ่นเหม็นเน่า (Kusuma and Teerawut, 2014) ส่วนกลิ่นเหม็นเปรี้ยวนั้นอาจเกิดจากการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างกรดแล็กติกได้ (Francoise, 2010; Okuzumi and Fujii, 2000) อีกทั้งกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ที่พบมากในสัตว์น้ำยังเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารประกอบเปอร์ออกไซด์ อัลดีไฮด์และคีโตนชนิดต่างๆ และการที่ไขมันในกลุ่ม triglyceride ในเนื้อสัตว์น้ำถูกย่อยสลายโดย lipolytic enzyme ต่างๆ เช่น lipase เกิดเป็นกรดไขมันอิสระ ซึ่งกรดไขมันที่มีโมเลกุลสั้นระเหยได้ง่าย (ชาตรี เอี้ยพิณ และ ภาราได แจ่มจำรูญ, 2550) ส่งผลให้เกิดกลิ่นหืนและกลิ่นเหม็นเน่าในเนื้อหมึกต้มเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mendes et al. (2011) พบว่าคุณลักษณะประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของตัวอย่างเนื้อหมึก (*Octopus vulgaris*) ต้มสุก

ที่เก็บรักษาแบบบรรยากาศปกติและแบบปรับสภาพบรรยากาศผู้ทดสอบให้คะแนนการยอมรับด้านกลิ่นลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษารวมทั้ง Teerawut and Pratumchart (2014) ที่พบว่าเนื้อกุ้งขาว (*L. vannamei*) ที่ไม่แช่และที่ไม่แช่ด้วยสารละลาย EDTA มีคะแนนการยอมรับด้านกลิ่นลดลงเมื่อเก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลานานขึ้นเช่นกัน

ผลการทดลองยังพบว่าเนื้อหมึกต้มที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ICC) มีระดับการยอมรับด้านกลิ่นต่ำกว่าเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรด (IL02, IL05, ILC207 และ ILC210) ซึ่งเนื้อหมึกในชุดการทดลอง ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) มีการยอมรับด้านกลิ่นสูงที่สุดตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา เป็นเพราะกรดแพร่ผ่านเข้าไปในเซลล์จุลินทรีย์แล้วแตกตัวให้ไอออนซึ่งทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ (Booth and Kroll, 1989) การเกิดสารประกอบกลุ่ม TVB-N และ TMA น้อยลงจึงช่วยลดการเกิดกลิ่นเหม็นเน่า กลิ่นแอมโมเนีย กลิ่นคาวได้ และกรดซิตริกยังเป็น antioxidant ที่ช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในสัตว์น้ำและออกซิเจนในอากาศที่ทำให้กลิ่นเหม็นหืนได้อีกด้วย เช่นเดียวกับ Sanjuás-Rey et al. (2012a) พบว่าการแช่ปลา hake (*Merluccius merluccius*), ปลา megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis*) และปลา angler (*Lophius piscatorius*) น้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ทำให้ได้รับคะแนนทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นมากกว่าเนื้อปลาที่แช่ในน้ำแข็ง และ Xuan et al. (2017) พบว่าหมึก (*Loligo* spp.) ที่แช่ในน้ำแข็งอิเล็กโทรไลต์ที่มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อนช่วยชะลอการเจริญของจุลินทรีย์และช่วยลดการเกิดออกซิเดชัน และลดการเกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์จากการเน่าเสียได้

2.4.3 รสชาติ

ผู้ทดสอบให้คะแนนระดับการยอมรับด้านรสชาติของเนื้อหมึกทุกชุดการทดลองวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ที่ 5.00 คะแนน โดยเนื้อหมึกต้มมีรสชาติอร่อยและมีรสหวานตามธรรมชาติของเนื้อหมึกต้มและเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้นผู้ทดสอบให้คะแนนระดับการยอมรับรสชาติของเนื้อหมึกต้มน้อยลง ($p \leq 0.05$) ในทุกชุดการทดลอง เกิดจากมีรสหวานน้อยลงกลายเป็นจืด ไม่มีรสชาติรวมทั้งมีรสเฝื่อนเพิ่มขึ้นเกิดจากในช่วงต้นของการเก็บรักษาการเน่าเสียยังไม่เกิดขึ้น กรดอะมิโนอิสระและสารประกอบนิวคลีโอไทด์ เช่น 5′ - inosine monophosphate (IMP), 5′ - guanosine monophosphate (GMP), and 5′ - adenosine monophosphate (AMP) ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของการลิ้มรสอูมามิของเนื้อหมึกต้ม (Yue et al., 2015) ยังไม่ถูกย่อยสลายจากเอนไซม์ในเนื้อหมึกเองและเอนไซม์ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น และเมื่อเก็บรักษานานขึ้น

เกิดการเน่าเสียโดยกรดอะมิโนอิสระเหล่านี้ถูกย่อยสลาย และกรดอะมิโนบางชนิด ได้แก่ กรดอะมิโน aspartic ที่ทำให้เกิดรสเปรี้ยว และกรดอะมิโน arginine ที่ทำให้เกิดรสขมถูกปลดปล่อยเป็นอิสระออกมาจากโครงสร้างโปรตีนที่เป็นโพลีเพปไทด์มากขึ้น (Aristoy et al., 2010; Fuentes et al., 2009) และอาจเกิดการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างกรดแล็กติกได้เนื้อหมึกจึงมีรสเปรี้ยว รวมทั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากขึ้นทำให้มีการสะสมของสารประกอบอัลดีไฮด์ คีโตนและแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ ที่ทำให้กลิ่นรสของเนื้อหมึกผิดปกติ (Okuzumi and Fujii, 2000) สอดคล้องกับ Deng et al. (2014) พบว่า ในเนื้อหมึกมีกรดอะมิโนเปปไทด์ที่มีผลโดยตรงกับรสชาติของเนื้อหมึก เมื่อโปรตีนและกรดอะมิโนเปปไทด์ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์จากจุลินทรีย์มากขึ้นทำให้เนื้อหมึกมีรสชาติจางลงและเกิดกลิ่นรสไม่พึงประสงค์มากขึ้น และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Xu et al. (2014) พบว่าปลา American shad (*Alosa sapidissima*) ที่แช่น้ำเย็น น้ำเย็นอิเล็กโทรไลต์และน้ำเย็นอิเล็กโทรไลต์ที่ผสมไคโตซาน ต่างก็มีการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านรสชาติลดลงเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น

ผลการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าเนื้อหมึกต้มที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ICC) มีระดับการยอมรับด้านรสชาติน้อยกว่าเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรด (IL02, IL05, ILC207 และ ILC210) โดยเนื้อหมึกในชุดการทดลอง ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) มีระดับการยอมรับด้านรสชาติสูงที่สุดตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา เนื่องจากกรดซิตริกเป็น chelating agent ที่ช่วยจับโลหะที่เป็นองค์ประกอบในชั้นของ lipopolysaccharide (LPS) บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรียทำให้เกิดการปลดปล่อยสารในเซลล์ออกมาภายนอกดังนั้นจุลินทรีย์จึงตายลง (Badii and Howell, 2002; Kilinc et al., 2009) และทั้งกรดแล็กติกและกรดซิตริกที่มีในน้ำแข็งมีผลต่อการรักษาสมดุลภายในและภายนอกเซลล์ส่งผลให้จุลินทรีย์เจริญช้าลง (García-Soto et al., 2013) สอดคล้องกับ García-Soto et al. (2014) ที่พบว่าปลา European hake (*Merluccius merluccius*) และปลา megrim *(Lepidorhombus whiffiagonis*) ที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติกและกรดซิตริกมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านรสชาติช้ากว่าตัวอย่างที่แช่น้ำแข็งไม่ผสมกรด

2.4.4 เนื้อสัมผัส

วันที่ 0 ของการเก็บรักษาผู้ทดสอบให้คะแนนระดับการยอมรับด้านเนื้อสัมผัสสำหรับเนื้อหมึกทุกชุดการทดลอง ที่ 5.00 คะแนน ซึ่งเนื้อหมึกต้มมีความยืดหยุ่นดีมาก เหนียว ไม่แข็ง แต่เมื่อเก็บรักษานานขึ้นผู้ทดสอบให้คะแนนระดับการยอมรับรสชาติของเนื้อหมึกต้มทุกชุดการทดลองลดลง เนื่องจากเนื้อหมึกต้มนิ่มเละ รวมทั้งเป็นมีความเป็นเมือกมากโดยเมื่อมีการเน่าเสียมากขึ้นเอนไซม์ในเนื้อหมึกและเอนไซม์จากจุลินทรีย์ทำให้โครงสร้างต่าง ๆ โดยเฉพาะโปรตีนเกิดการเสียสภาพ ความสามารถของโปรตีนในการจับกับน้ำน้อยลง ความยืดหยุ่นของโปรตีนลดลงโดยเฉพาะอย่างยิ่งไมโอฟิบริลลาโปรตีนถูกย่อยสลายเป็นเพปไทด์สายสั้น รวมทั้งได้เป็นกรดอะมิโน (สุมาลี เหลืองสกุล, 2527; Imran, Chawalit and Somrote, 2013) ส่วนความเป็นเมือกที่มากขึ้นเกิดจากแคปซูลของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสาร polysaccharide ที่สังเกตได้ในลักษณะการเกิดเมือกเมื่อเกิดการเน่าเสีย (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2554) การเกิดลักษณะดังที่กล่าวมาข้างต้นทำให้ผู้ทดสอบให้คะแนนระดับการยอมรับเนื้อสัมผัสลดลง ซึ่งสอดคล้องกับ อดิศรา ตันตสุทธิกุล (2553) ศึกษาคุณภาพของหมึกกล้วย (*Loligo duvauceli*) และหมึกกระดอง (*Sepia pharaonic*) ในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นเนื้อสัมผัสของหมึกนิ่มเละมากขึ้นเมื่อเก็บรักษานานขึ้น Teerawut and Pratumchart (2014) พบว่า กุ้งขาว (*L. vannamei*) ที่เก็บรักษาด้วยการแช่น้ำแข็ง ผู้ทดสอบให้คะแนนการยอมรับด้านเนื้อสัมผัสลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา

การทดลองในครั้งนี้ยังพบว่าเนื้อหมึกต้มที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรด (IL02, IL05, ILC207 และ ILC210) มีระดับการยอมรับด้านเนื้อสัมผัสมากกว่าเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ICC) โดยเนื้อหมึกในชุดการทดลอง ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) มีการยอมรับด้านเนื้อสัมผัสสูงที่สุดตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา เนื่องจากเนื้อหมึกในชุดการทดลองที่แช่น้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์มีการชะลอการเน่าเสียโดยกรดแล็กติกและกรดซิตริกที่ช่วยชะลอระบบเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ยับยั้งการเจริญของจุลิทรีย์ได้ ส่งผลให้การสลายตัวของโปรตีนเกิดช้าลง ความสามารถจับกับน้ำและความยืดหยุ่นของโปรตีนยังมีอยู่ เช่นเดียวกับ Sanjuás-Rey et al. (2012a) พบว่าการแช่ปลา hake (*Merluccius merluccius*) ปลา megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis*) และ ปลา angler (*Lophius piscatorius*) ในน้ำแข็งผสมกรดซิตริกและวิตามินซีมีการยอมรับเนื้อสัมผัสมากกว่าตัวอย่างที่แช่ในน้ำแข็งไม่ผสมกรด

เมื่อพิจารณาคุณภาพด้านประสาทสัมผัสทั้งหมด ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัส ดังที่กล่าวมา พบว่า การนำหมึกกล้วยสดทั้งตัวมาแช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางประสาทสัมผัสได้ โดย ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงกลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัสมากที่สุด IL02 (ความเข้มข้นของกรดแลกติก 0.02%) ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏมากที่สุด

อย่างไรก็ตามระดับความเข้มข้นของกรดแล็กติก และกรดซิตริกสำหรับผลการทดลองในครั้งนี้อาจมีความแตกต่างกับผลการศึกษาอื่นๆ ทั้งนี้เกิดจากหลายปัจจัยเช่น ระดับกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกิดการย่อยสลายตัวเองในสัตว์น้ำ ปริมาณและชนิดของเอนไซม์ (Scott, Fletcher & Hogg, 1986) ชนิดของจุลินทรีย์กลุ่มหลักที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสีย, ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น (Ryder, Buisson & Scott, 1984) ลักษณะทางชีวภาพ เคมีกายภาพ (bio-physiochemical properties) ของสัตว์น้ำและสภาวะการเก็บรักษา (Hanna, 1992) ชนิดของกรดที่ใช้ สัดส่วนของน้ำแข็งและวิธีการแช่เย็นเพื่อการชะลอการเสื่อมคุณภาพนั้น ซึ่งล้วนมีผลต่อประสิทธิภาพของการชะลอการเน่าเสียของกรดที่มีความแตกต่างกันไป ดังนั้นระดับความเข้มข้นและชนิดของกรดอินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับสัตว์น้ำแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป อาทิเช่น Sanjuás-Rey et al. (2012a) พบว่าปลา hake (*Merluccius merluccius*) ปลา megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis*) และ ปลา angler (*Lophius piscatorius*) ที่แช่เย็นในน้ำแข็งผสมสารละลายกรดอินทรีย์ผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริกและกรดแล็กติก 800 mg/kg (1 meq of each acid/120 mg product solution) ผู้ทดสอบให้การยอมรับทางประสาทสัมผัสมากกว่าปลาที่แช่ในน้ำแข็งไม่ผสมกรด García-Soto et al. (2013) พบว่าการแช่ปลา hake (*Merluccius merluccius*) ในน้ำแข็งผสมกรดซิตริก 0.175% และกรดแล็กติก 0.050% ทำให้การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี จุลชีววิทยา และประสาทสัมผัสเกิดช้าลง ขณะที่ García-Soto et al. (2014) พบว่าการแช่ปลา European hake (*Merluccius merluccius*) และปลา Megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis*) ในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติก 0.05% และกรดซิตริก 0.125% สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี กายภาพ จุลชีววิทยาและประสาทสัมผัสของเนื้อปลาได้

ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ จุลชีววิทยาและประสาทสัมผัสของเนื้อหมึกแช่ในน้ำแข็งไม่ผสมกรดอินทรีย์ (ICC) และเนื้อหมึกที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ (IL02, IL05, ILC207 และ ILC210) ในภาพรวมของคุณภาพทั้ง 4 ด้าน แสดงให้เห็นว่าการเก็บรักษาหมึกกล้วยในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) ช่วยรักษาคุณภาพของเนื้อหมึกได้ดีที่สุด และการเก็บรักษาหมึกกล้วยในน้ำแข็งผสม

กรดอินทรีย์ในทุกระดับความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ในการทดลองครั้งนี้ ได้แก่ IL02 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%), IL05 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก0.05%), ILC207 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%) และ ILC210 (ความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%) ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี กายภาพ จุลชีววิทยาและประสาทสัมผัสของเนื้อหมึกกล้วยได้ดีกว่าการเก็บรักษาหมึกกล้วยในน้ำแข็ง ICC (น้ำแข็งไม่ผสมกรดอินทรีย์)

การกำหนดอายุการเก็บรักษาสำหรับเนื้อหมึกในการทดลองนี้พิจารณาจากการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลชีววิทยาในด้านจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เกินมาตรฐาน (มากกว่า 6 log CFU/g) เกิดขึ้นเร็วกว่าการเปลี่ยนแปลงด้านประสาทสัมผัส โดย ILC207 มีอายุการเก็บรักษามากที่สุดคือ 9 วัน รองลงมาคือ ILC210 ซึ่งเก็บได้ 6 วัน และ IL05, IL02, ICC ที่มีอายุการเก็บรักษาเท่ากันคือไม่เกิน 3 วัน

บทที่ 6
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. สรุปผลการวิจัย

การนำหมึกกล้วยสดทั้งตัวมาแช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ (IL02, IL05, ILC207 และ ILC210) ช่วยชะลอการเสื่อมคุณภาพของเนื้อหมึกกล้วยได้ดีกว่าการแช่ในน้ำแข็งปราศจากกรด โดยการแช่หมึกกล้วยในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075% (ILC207) ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี กายภาพ จุลชีววิทยาและประสาทสัมผัสด้านกลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัสได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ หมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1% (ILC210) หมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติก 0.05% (IL05) หมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติก 0.02% (IL02) ตามลำดับ ส่วนหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ICC) มีการเน่าเสียเร็วที่สุด

การพิจารณาเพื่อกำหนดอายุการเก็บรักษาหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งสำหรับการทดลองนี้ พิจารณาจากจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เกินมาตรฐาน (มากกว่า 6 log CFU/g) หมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075% (ILC207) มีอายุการเก็บรักษานานที่สุดคือ 9 วัน รองลงมาได้แก่ หมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1% (ILC210) เก็บรักษาได้ 6 วัน และที่เก็บรักษาได้ 3 วันเท่ากันได้แก่ หมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติก 0.05% (IL05) หมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดแล็กติก 0.02% (IL02) และ หมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ICC)

2. ข้อเสนอแนะ

เพิ่มการตรวจสอบจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดอื่น และเพิ่มการตรวจสอบกลุ่มจุลินทรีย์ เช่น กลุ่มจุลินทรีย์ทนความเย็น จุลินทรีย์ที่สร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ จุลินทรีย์ที่สร้างกรดแล็กติก ที่ช่วยบ่งชี้กลุ่มจุลินทรีย์หลักที่เป็นสาเหตุหลักในการเน่าเสียของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งผสมกรดอินทรีย์ได้

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. (2553). แหล่งเรียนรู้ด้านประมง: สารอาหาร. วันที่ค้นข้อมูล 10 มกราคม 2561, เข้าถึงได้จาก http://www.aquatoyou.com/index.php/2013-05-13-09-04-34/780-2013-05-13-10-36-16

กรมประมง. (2550). *คู่มือการจำแนกหมึกครอบครัว Loliginidae.* วันที่ค้นข้อมูล 16 ธันวาคม 2560, เข้าถึงได้จาก http://www.fisheries.go./marine/MT%CA%D4%A7%CB%D2%A4%C150.pdf

กองควบคุมอาหาร. (2552). *มาตรฐานจุลชีววิทยาในอาหารที่ตรวจพบ.* กรุงเทพฯ: สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี.

ชาตรี เอี้ยพิณ และ ภาราได แจ่มจำรูญ .(2550). ผลอุณหภูมิและเวลาต่อสมบัติการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของหัวหอมใหญ่อบแห้ง. *Agricultural Science Journal. 38(6)*, 139-142.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. (2554). การเสื่อมเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์. วันที่ค้นข้อมูล 2 มกราคม 2562, เข้าถึงได้จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1856/การเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์-microbial-spoilage.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. (2553 ก). กรดแล็กติก. วันที่ค้นข้อมูล 2 มกราคม 2562. เข้าถึงได้จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/782/lactic-acid

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. (2553 ข). กรดซิตริก. วันที่ค้นข้อมูล 2 มกราคม 2562. เข้าถึงได้จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/782/critic-acid

พูลทรัพย์ วิรุฬหกุล. (2547). *การจัดการผลผลิตสัตว์น้ำเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค.* กรุงเทพฯ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 131 – 134.

มัทนา แสงจินดาวงษ์. (2548). *ผลิตภัณฑ์ประมงของไทย* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมาคมอาหารแช่เยือกแข็งไทย. (2557). ปลาหมึก. วันที่ค้นข้อมูล 5 พฤษภาคม 2560, เข้าถึงได้จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1973/ปลาหมึก

สวามินี ธีระวุฒิ และปฏิยุทธ์ ขวัญอ่อน. (2561). ผลของการใช้น้ำแข็งผสมน้ำมันหอมระเหยไธม์ต่อการรักษาคุณภาพทางเคมีและกายภาพของกุ้งขาว. *วารสารแก่นเกษตร 46*(พิเศษ1), 1059-1066.

สุมาลี เหลืองสกุล. (2527). *จุลชีววิทยาทางอาหาร*. กรุงเทพฯ: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร.

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

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2547). *ข้อกำหนดการใช้วัตถุเจือปนอาหาร*. วันที่ค้นข้อมูล 16 สิงหาคม 2560. เข้าถึงได้จาก http://food.fda.moph.go.th/data/FoodAdditives/GSFA_2014.pdf

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2561). สถิติการส่งออก (Export) ผลิตภัณฑ์หมึก: ปริมาณและมูลค่าการส่งออกรายเดือน. วันที่ค้นข้อมูล 13 มกราคม 2562. เข้าถึงได้จาก http://oldweb.oae.go.th/oae_report/export_import/export.php.

อดิศรา ตันคสุทิกุล. (2553). *การศึกษาดัชนีคุณภาพของหมึกกล้วย และหมึกกระดองระหว่างการเก็บรักษาโดยแช่ในน้ำแข็งและการแช่เยือกแข็ง*. (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์).

AOAC. (1994). AOAC Official Method 991.14 Coliforms and *Escherichia coli* Counts in Foods. Day Rehydratable Film (Petrifilm ™ *E. coli* Coliform Count Plate ™ and Petrifilm ™ Coliform Count Plate ™) Methods. *Journal of AOAC, 74*, 635.

AOAC. (1995). *Official Methods of Analysis*. 16th ed. The Association of official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.

Badii, F. & Howell, N. (2002). Effect of antioxidants, citrate, and cryoprotectants on protein denaturation and texture of frozen cod (*Gadus morhua*). Journal of *Agricultural and Food Chemistry, 50*(7), 2053-2061.

Bahmani, Z.A., Rezai, M., Hosseini, S.V., Regenstein, J.M., Böhme, K., Alishahi, A. & Yadollahi, F. (2011). Chilled storage of golden grey mullet (*Liza aurata*). *LWT Food Science and Technology, 44*(9), 1894-1900.

Bensid, A., Ucar, Y., Bendeddouche, B. & Özogul, F. (2014). Effect of the icing with thyme, oregano and clove extracts on quality parameters of gutted and deheaded anchovy (*Engraulis encrasicholus*) during chilled storage. *Food Chemistry, 145*, 681 - 686.

Bono, G. & Badalucco, C. (2012). Combining ozone and modified atmosphere packaging (MAP) to maximize shelf-life and quality of striped red mullet (*Mullus surmuletus*). *Food Science and Technology, 47*(2), 500-504.

Booth, I.R. & Kroll, R.G. (1989). *The preservation of foods by low pH*. G.W. Gould (Ed.), Mechanism of action of food preservation procedures, Elsevier Applied Science, London, pp. 119-160.

Coban, O.E., Patir, B., & Yilmaz, O. (2012). Protective effect of essential oils on the shelf life of smoked and vacuum packaged rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.1792) fillets. J. Food Sci Technol, DOI. 10.1007/s13197-012-0795-8.

Cobb, B.F. & Vanderzant, C. (1971). Biochemical changes in shrimp inoculated with Pseudomonas, Bacillus, and Coryneform bacterium. *Journal of Food Technology, 34*, 533-540.

Dabadé, D.S., Azokpota, P., Nout, M.J., Hounhouigan, D.J., Zwietering, M.H., & Besten, H.M. (2015). Prediction of spoilage of tropical shrimp (*Penaeus notialis*) under dynamic temperature regimes. *International Journal of Food Microbiology, 210,* 121-130.

Deng, Y., Luo, Y., Wanga, Y. & Zhao, Y. (2014). Effect of different drying methods on the myosin structure, amino acid composition, protein digestibility and volatile profile of squid fillets. *J. Food Chemistry., 171*, 168 – 176.

Ebina, H., Nagashima, Y., Ishizaki, S. & Taguchi, T. (1995). Myosin heavy chain-degrading proteinase from spear squid muscle. *Food Res. Int. 28*, 31 - 36.

Erkan, N. & Bilen, G. (2010). Effect of essential oils treatment on the frozen storage stability of chub mackerel fillets. *Journal of Verbr. Lebensm*., *5*, 101 – 110.

Farajzadeh, F., Motamedzadegan, A., Shahidi, S. & Hamzeh, S. (2016). The effect of chitosan-gelatin coating on the quality of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under refrigerated condition. Food Control, 67, 163–170.

Food Safety Authority of Ireland. (2001). Guidance note no 3 guidelines for the interpretation of results of microbiological analysis of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale.

Francoise, L. (2010). Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products. *Food Microbiology, 27*(6), 698-709.

Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Escriche, I. & Serra, J.A. (2009). Comparison of physico-chemical parameters and composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk.) from different Spanish origins. *Food Chemistry, 112*(2), 295-302.

García-Soto, B., Aubourg, S.P., Calo-Mata, P. & Barros-Velázquez, J. (2013). Extension of the shelf life of chilled hake (*Merluccius merluccius*) by a novel icing medium containing natural organic acids. *Food Control, 34*(2), 356-363.

García-Soto, B., Fernández-No, I.C., Barros-Velázquez, J. & Aubourg, S.P. (2014). Use of citric and lactic acids in ice to enhance quality of two fish species during on-board chilled storage. *International Journal of Refrigeration, 40*, 390-397.

Gould, G.W. (1996). Methods for preservation and extension of shelf life. *International Journal of Food Microbiology*, *33*(1), 51-64.

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

Hanna, J. (1992). *Rapid microbial methods and fresh fish quality assessment.* G.M. Hall (Ed.), Fish processing technology, Black Academic & Professional, VCR Publishers, London, pp. 275-305.

Hanabe, M. Kousu, S., Okada, Y. & Sugiyama, M. (1989). *Utilization of squid*. Company Limited. Tokyo.

Hasegawa, H. (1987). Laboratory manual on analytical stored at different temperatures. *J. methods and procedures for fish and fish Food Sci. 55*, 1201-1205, 1242; 1990. Marine fisheries research department, Southeast Asian Fisheries Development Center, Singapore.

Hernandez, M.D., Lopez, M.B., Alvarez, A., Ferrandini, E. & Garcia-Garcia, B. (2009). Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. *Food Chemistry, 114*(1), 237-245.

Hurtado, J.L., Borderias, J., Montero, P. & An, H. (1999). Charaterization of proteolytic activity in octopus (*Octopus vulgaris*) arm muscle. *J. Food Biochem*., *23,* 469 - 483.

Imran, A., Chawalit, J., & Somrote, K. (2013). Characterization of quality degradation during chilled shrimp (*Litopenaeus vannamei*) supply chain. *International Food Research Journal, 20*(4), 1833-1842. Retrieved from http://www.ifrj.upm.edu.my/20(04)2013/45IFRJ20(04)2013Ismail(414).pdf

Kilinc, B., Cakli, S., Dincer, T. & Tolasa, S. (2009). Microbiological, chemical, sensory, color, and textural changes of rainbow trout fillets treated with sodium acetate, sodium lactate, sodium citrate, and stored at 4°C. *Journal of Aquatic Food Product Technology, 18*(1-2), 3-17.

Kusuma, B. & Teerawut, S. (2014). Shelf-life extension of pre-cooked shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by oregano essential oil during refrigerated storage. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ฉบับพิเศษ การประชุมวิชาการระดับชาติ วิทยาศาสตร์วิจัยครั้งที่ 6*, 71-77.

Martínez-Alvarez, O., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C. & Montero, P. (2009). The effect of several cooking treatments on subsequent chilled storage of thawed deep-water pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) treated with different melanosis-inhibiting formulas. *LWT - Food Science and Technology, 42*, 1335-1344.

Meilgaard, M., Civille, G.V. & Carr, B.T. (1999). *Sensory evaluation techniques*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.

Mendes, R., Goncalves, A., Pestana, J., & Pestana, C. (2005). Indole production and deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) decomposition. *Eur Food Res Technol, 221*, 320-328.

Metin, S., Erkan, N., Varlik, C. and Aran, N. (2001). Extension of shelf life of chub mackerel (*Scomber japonicus* Houttuyn 1780) treated with lactic acid. *Eur. Food Res. Technol*. 213, 174 – 177.

Okpala, C.O.R., Choo, W.S., & Dykes, G.A. (2014). Quality and shelf life assessment of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) freshly harvested and stored on ice. *LWT - Food Science and Technology, 55*(1), 110-116.

Okusumi, M. & Fujii, T. (2000). Nutrition and functional properties of squid and cuttlefish. *National Cooperative Association of squid Processors*. Tokyo.

Otwell, W.S. & Hamann, D. (1979). Textural characterization of squid eletron microscopy of cooked mantle. *J. Food Sci., 44*, 1629 - 1635.

Özyurt, G., Kuley, E., Balikçi, E., Kaçar, Ç., Gökdogan, S., & Etyemez, M. (2012). Effect of the icing with rosemary extract on the oxidative stability and biogenic amine formation in sardine (*Sardinella aurita*) during chilled storage. *Food and Bioprocess Technology. 5*(7), 2777-2786.

Pokorny, J. (1982). Browning from lipid-protein interactions. *Prog. Food Nutr. Sci., 5*, 421–428.

Ryder, L.M., Buisson, D.H. & Scott, D.N. (1984). Storage of New Zealand jack mackerel (*Trachurus novaezelandiae*) in ice: chemical, microbiological and sensory assessment. *Journal of Food Science, 49*, 1453-1456.

Sanjuás-Rey, M., García-Soto, B., Fuertes-Gamundi, R., Aubourg, S. & Barros-Velázquez, J. (2012a). Effect of a natural organic acid-icing system on the microbiological quality of commercially relevant chilled fish species. *LWT – Food Science and Technology, 46*(1), 217-223.

Sanjuás-Rey, M., Gallardo, J.M., Barros-Velázquez, J. & Aubourg, S. (2012b). Microbiological activity inhibition in chilled mackerel (*Scomber scombrus*) by employment of an organic acid-icing system. *Journal of Food Science, 77*(5), M264-M269.

Scott, D., Fletcher, G. & Hogg, M. (1986). Comparison of whole with headed and gutted orange roughy stored in ice: sensory, microbiology, and chemical assessment. *Journal of Food Science, 51*, 79-86.

Soto, B.G., Fernandez, I.C.N., Velázquez, J.B. & Aubourg, S.P. (2014). Use of citric and lactic acids in ice to enhance quality of two fish species during on-board chilled storage. *International Journal of Refrigeration*, 40, 390 – 397.

Teerawut, S. & Pratumchart, B. (2014). Effect of EDTA on physical and sensory properties of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during ice storage. *Thammasat International Journal of Science and Technology. 19*(1), 72-82.

Teerawut, S., Sangsriraung, K. & Kwan-on, P. (2016). Effect of modified atmosphere packaging on the physical and sensory properties of smoked oyster (*Saccostrea cucullata*) during refrigerated storage. *NU. International Journal of Science*, *13*(1), 26-36.

Thanonkaew, A., Benjakul, S., Visessanguan W., & Decker, E. (2006). Development of yellow pigmentation in squid (*Loligo peali*) as a result of lipid oxidation. *J. Agric. Food chem., 54*, 956 – 962.

Xiao, T. X., Yi, F. F., Jian, G. L., Ya, Q. H., Dong, H. L., Shi, G. C., Xing, Q. Y. & Tian, D. (2017). Preservation of squid by slightly acidic electrolyzed water ice. *Food Control*, *73*, 1483–1489.

Xu, G., Tang, X., Tang, S., You, H., Shi, H. & Gu, R. (2014). Combined effect of electrolyzed oxidizing water and chitosan on the microbiological, physicochemical, and sensory attributes of American shad (*Alosa sapidissima*) during refrigerated storage. *Food Control, 46*, 397-402.

Xuan, X.T, Fan, Y.F, Ling, J.G, Hu, Y.Q, Liu, D.H, Chen, S.G, Ye, X.Q & Ding,T. (2017). Preservation of squid by slightly acidic electrolyzed water ice., *Food Control, 73*, 1483-1489

Yue, J., Zhang, Y., Jin, Y., Deng, Y. & Zhao, Y. (2015). Impact of high hydrostatic pressure on non-volatile and volatile compounds of squid muscles. *Food Chemistry., 194*, 12 – 19.

Zhou, R., Liu, Y., Xie, J. & Wang, X. (2011). Effects of combined treatment of electrolysed water and chitosan on the quality attributes and myofibril degradation in farmed obscure puffer fish (*Takifugu obscurus*) during refrigerated storage. *Food Chemistry, 129*(4), 1660-1666.

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางผนวกที่ ก - 1 ปริมาณ TVB-N ของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณ TVB-N (มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม) ± SD				
	ชุดการทดลอง				
	ICC	IL02	IL05	ILC207	ILC210
0^{NS}	2.53_{a} ± 0.08	2.53_{b} ± 0.08	2.53_{b} ± 0.08	2.53_{b} ± 0.08	2.53_{a} ± 0.08
3	2.54_{a}^{C} ± 0.08	2.54_{a}^{C} ± 0.08	1.63_{a}^{B} ± 0.08	1.29_{a}^{A} ± 0.08	1.73_{b}^{B} ± 0.08
6	4.56_{b}^{C} ± 0.05	3.86_{c}^{D} ± 0.06	3.25_{c}^{B} ± 0.16	2.85_{c}^{A} ± 0.04	3.39_{c}^{B} ± 0.09
9	6.62_{c}^{D} ± 0.05	4.21_{c}^{C} ± 0.02	3.35_{d}^{A} ± 0.03	3.36_{d}^{A} ± 0.08	4.11_{d}^{B} ± 0.02
12	17.29_{d}^{E} ± 0.08	7.23_{d}^{C} ± 0.01	7.48_{e}^{D} ± 0.01	4.76_{e}^{A} ± 0.08	6.13_{d}^{B} ± 0.02
15	21.32_{e}^{E} ± 0.16	16.50_{e}^{D} ± 0.08	13.21_{f}^{C} ± 0.08	6.75_{f}^{A} ± 0.08	10.41_{e}^{B} ± 0.08
18	24.33_{f}^{E} ± 0.08	18.79_{f}^{D} ± 0.16	15.85_{g}^{C} ± 0.08	8.23_{g}^{A} ± 0.14	11.77_{f}^{B} ± 0.08
21	26.74_{g}^{E} ± 0.14	19.95_{g}^{D} ± 0.14	17.27_{h}^{C} ± 0.08	9.18_{h}^{A} ± 0.14	13.37_{g}^{B} ± 0.07

หมายเหตุ:

ICC คือ น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)

IL 02 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%

IL 05 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%

ILC 207 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%

ILC 210 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%

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

A, B, C,... ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

NS มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ก - 2 ปริมาณ TMA-N ของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณ TMA-N (มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม) ± SD				
	ชุดการทดลอง				
	ICC	IL02	IL05	ILC207	ILC210
0^{NS}	0.18_{a} ± 0.08	0.18_{a} ± 0.08	0.18_{a} ± 0.08	0.18_{a} ± 0.08	0.18_{a} ± 0.08
3	0.97_{b}^{B} ± 0.14	0.84_{b}^{AB} ± 0.01	0.85_{b}^{AB} ± 0.02	0.87_{b}^{AB} ± 0.08	0.79_{b}^{A} ± 0.08
6	1.69_{c}^{B} ± 0.02	1.26_{c}^{A} ± 0.02	1.68_{c}^{B} ± 0.02	1.26_{c}^{A} ± 0.02	1.66_{c}^{B} ± 0.02
9	2.49_{d}^{C} ± 0.04	1.70_{d}^{A} ± 0.03	1.95_{d}^{B} ± 0.01	1.69_{d}^{A} ± 0.05	1.94_{d}^{B} ± 0.03
12	2.64_{d}^{C} ± 0.01	1.97_{e}^{A} ± 0.05	2.21_{e}^{B} ± 0.01	1.96_{e}^{A} ± 0.03	1.95_{d}^{A} ± 0.01
15	4.82_{e}^{C} ± 0.16	4.64_{f}^{C} ± 0.08	3.69_{f}^{B} ± 0.08	3.23_{f}^{A} ± 0.16	3.27_{e}^{A} ± 0.16
18	6.37_{f}^{E} ± 0.21	5.49_{g}^{D} ± 0.08	4.60_{g}^{C} ± 0.14	3.86_{g}^{A} ± 0.08	4.20_{f}^{B} ± 0.09
21	7.47_{g}^{E} ± 0.08	6.13_{h}^{D} ± 0.02	5.55_{h}^{C} ± 0.08	4.49_{h}^{A} ± 0.04	4.85_{g}^{B} ± 0.08

หมายเหตุ:

ICC	คือ น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%
a, b, c,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
A, B, C,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
NS	มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ก - 3 การสูญเสียน้ำหนักของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	การสูญเสียน้ำหนัก (ร้อยละ) ± SD				
	ชุดการทดลอง				
	ICC	IL02	IL05	ILC207	ILC210
3	1.22_{a}^{B} ± 0.20	0.79_{a}^{A} ± 0.25	0.70_{a}^{A} ± 0.22	0.69_{a}^{A} ± 0.18	0.65_{a}^{A} ± 0.20
6	1.53_{ab}^{B} ± 0.16	0.98_{ab}^{A} ± 0.24	0.95_{ab}^{A} ± 0.21	0.82_{a}^{A} ± 0.24	0.79_{ab}^{A} ± 0.14
9	1.81_{bc}^{C} ± 0.22	1.33_{bc}^{B} ± 0.14	1.20_{bc}^{AB} ± 0.19	0.96_{ab}^{A} ± 0.21	0.86_{ab}^{A} ± 0.19
12	2.04_{c}^{C} ± 0.24	1.62_{cd}^{B} ± 0.28	1.48_{cd}^{AB} ± 0.20	1.20_{bc}^{AB} ± 0.13	1.08_{bc}^{A} ± 0.23
15	2.42_{d}^{D} ± 0.19	1.87_{de}^{C} ± 0.15	1.69_{de}^{BC} ± 0.20	1.40_{cd}^{B} ± 0.17	1.29_{cd}^{A} ± 0.19
18	-	2.20_{ef}^{C} ± 0.21	1.98_{ef}^{BC} ± 0.17	1.63_{de}^{B} ± 0.22	1.50_{de}^{A} ± 0.24
21	-	2.48_{f}^{B} ± 0.19	2.20_{f}^{AB} ± 0.24	1.95_{e}^{A} ± 0.25	1.83_{e}^{A} ± 0.28

หมายเหตุ:

ICC คือ น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)

IL 02 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%

IL 05 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%

ILC 207 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%

ILC 210 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%

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

A, B, C,... ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ก - 4 ค่าสี L* ของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 21 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ค่าสี L* ± SD				
	ชุดการทดลอง				
	ICC	IL02	IL05	ILC207	ILC210
0^{NS}	$52.43_{g} \pm 0.56$	$52.43_{e} \pm 0.56$	$52.43_{d} \pm 0.56$	$52.43_{f} \pm 0.56$	$52.43_{f} \pm 0.56$
3	$52.49_{g}^{B} \pm 0.36$	$52.50_{e}^{B} \pm 0.51$	$52.76_{d}^{B} \pm 0.38$	$43.80_{e}^{A} \pm 0.20$	$43.40_{e}^{A} \pm 0.36$
6	$44.12_{f}^{B} \pm 0.37$	$45.28_{d}^{C} \pm 0.29$	$44.20_{c}^{B} \pm 0.31$	$43.54_{de}^{B} \pm 0.40$	$40.16_{d}^{A} \pm 0.35$
9	$40.94_{e}^{B} \pm 0.40$	$41.72_{c}^{C} \pm 0.35$	$42.02_{b}^{C} \pm 0.48$	$42.93_{d}^{D} \pm 0.42$	$37.75_{c}^{A} \pm 0.39$
12	$39.95_{d}^{B} \pm 0.18$	$41.71_{c}^{C} \pm 0.43$	$41.66_{b}^{C} \pm 0.52$	$42.88_{d}^{D} \pm 0.36$	$36.70_{b}^{A} \pm 0.37$
15	$38.26_{c}^{B} \pm 0.39$	$41.25_{c}^{C} \pm 0.19$	$41.46_{b}^{C} \pm 0.35$	$41.53_{c}^{C} \pm 0.37$	$36.58_{b}^{A} \pm 0.36$
18	$37.58_{b}^{B} \pm 0.28$	$40.21_{b}^{C} \pm 0.29$	$41.26_{b}^{D} \pm 0.28$	$39.96_{b}^{C} \pm 0.35$	$36.12_{b}^{A} \pm 0.46$
21	$36.71_{a}^{B} \pm 0.42$	$37.91_{a}^{C} \pm 0.38$	$36.94_{a}^{B} \pm 0.35$	$37.08_{a}^{B} \pm 0.43$	$35.07_{a}^{A} \pm 0.45$

หมายเหตุ:

ICC	คือ น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%
a, b, c,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
A, B, C,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
NS	มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ก - 5 ค่าสี a* ของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ค่าสี a* ± SD				
	ชุดการทดลอง				
	ICC	IL02	IL05	ILC207	ILC210
0^{NS}	$-2.21_{a} \pm 0.16$	$-2.21_{a} \pm 0.16$	$-2.21_{a} \pm 0.16$	$-2.21_{a} \pm 0.16$	$-2.21_{a} \pm 0.16$
3	$-1.11_{b}^{A} \pm 0.52$	$-0.45_{b}^{B} \pm 0.23$	$-0.33_{b}^{B} \pm 0.21$	$-0.18_{c}^{B} \pm 0.29$	$0.05_{cd}^{B} \pm 0.15$
6	$-0.15_{c}^{A} \pm 0.34$	$-0.34_{bc}^{A} \pm 0.27$	$0.28_{bcd}^{A} \pm 0.67$	$1.11_{d}^{B} \pm 0.19$	$1.30_{e}^{B} \pm 0.57$
9	$-0.10_{c}^{A} \pm 0.39$	$0.69_{d}^{B} \pm 0.19$	$1.68_{f}^{CD} \pm 0.42$	$1.96_{e}^{D} \pm 0.25$	$1.06_{e}^{BC} \pm 0.55$
12	$-0.07_{c}^{A} \pm 0.36$	$0.50_{d}^{AB} \pm 0.41$	$1.31_{ef}^{C} \pm 0.56$	$0.71_{d}^{BC} \pm 0.34$	$0.26_{d}^{AB} \pm 0.28$
15	$0.40_{c}^{B} \pm 0.49$	$0.53_{d}^{B} \pm 0.44$	$0.52_{cd}^{B} \pm 0.36$	$-0.09_{c}^{AB} \pm 0.34$	$-0.38_{bcd}^{A} \pm 0.20$
18	$0.18_{c}^{AB} \pm 0.60$	$0.66_{d}^{B} \pm 0.38$	$0.65_{de}^{B} \pm 0.38$	$-0.22_{c}^{A} \pm 0.25$	$-0.45_{bc}^{A} \pm 0.49$
21	$-0.16_{c}^{B} \pm 0.20$	$0.14_{cd}^{B} \pm 0.19$	$-0.17_{bc}^{B} \pm 0.24$	$-1.07_{b}^{A} \pm 0.45$	$-1.02_{b}^{A} \pm 0.04$

หมายเหตุ:

ICC	คือ น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%
a, b, c,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
A, B, C,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
NS	มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ก - 6 ค่าสี b* ของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 21 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ค่าสี b* ± SD				
	ชุดการทดลอง				
	ICC	IL02	IL05	ILC207	ILC210
0^{NS}	$-2.23_{a} \pm 0.40$	$-2.23_{a} \pm 0.40$	$-2.23_{a} \pm 0.40$	$-2.23_{b} \pm 0.40$	$-2.23_{b} \pm 0.40$
3	$-0.16_{b}^{A} \pm 0.29$	$0.51_{b}^{AB} \pm 0.32$	$0.25_{b}^{B} \pm 0.08$	$0.70_{d}^{B} \pm 0.23$	$0.33_{e}^{B} \pm 0.17$
6	$0.95_{c}^{A} \pm 0.23$	$1.29_{cd}^{A} \pm 0.13$	$1.32_{c}^{A} \pm 0.23$	$1.85_{e}^{B} \pm 0.37$	$1.93_{f}^{B} \pm 0.22$
9	$0.78_{c}^{A} \pm 0.49$	$1.20_{c}^{AB} \pm 0.27$	$2.80_{e}^{C} \pm 0.37$	$2.31_{e}^{C} \pm 0.27$	$1.49_{f}^{B} \pm 0.26$
12	$0.74_{c}^{B} \pm 0.11$	$1.51_{cd}^{CD} \pm 0.37$	$1.83_{d}^{D} \pm 0.33$	$0.97_{d}^{BC} \pm 0.25$	$-0.78_{d}^{A} \pm 0.38$
15	$0.73_{c}^{C} \pm 0.42$	$1.87_{cd}^{D} \pm 0.57$	$1.83_{d}^{D} \pm 0.12$	$-0.92_{c}^{B} \pm 0.34$	$-1.74_{c}^{A} \pm 0.28$
18	$0.68_{c}^{B} \pm 0.38$	$1.92_{cd}^{C} \pm 0.55$	$1.00_{c}^{B} \pm 0.06$	$-1.07_{c}^{A} \pm 0.13$	$-1.61_{c}^{A} \pm 0.22$
21	$0.50_{c}^{B} \pm 0.21$	$2.04_{d}^{C} \pm 0.41$	$0.36_{b}^{B} \pm 0.23$	$-4.17_{a}^{A} \pm 0.36$	$-4.54_{a}^{A} \pm 0.17$

หมายเหตุ:

ICC	คือ น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%
a, b, c,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
A, B, C,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
NS	มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ก - 7 แรงเฉือนของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ค่าแรงเฉือน (g force) ± SD				
	ชุดการทดลอง				
	ICC	IL02	IL05	ILC207	ILC210
0^{NS}	$2.55_{d} \pm 0.28$	$2.55_{d} \pm 0.28$	$2.55_{c} \pm 0.28$	$2.55_{bc} \pm 0.28$	$2.55_{c} \pm 0.28$
3	$2.03_{c}^{A} \pm 0.08$	$2.35_{cd}^{AB} \pm 0.22$	$2.70_{c}^{B} \pm 0.24$	$2.71_{c}^{B} \pm 0.35$	$2.26_{c}^{AB} \pm 0.26$
6	$2.06_{c}^{A} \pm 0.19$	$2.15_{bcd}^{AB} \pm 0.22$	$2.64_{c}^{BC} \pm 0.38$	$2.71_{c}^{C} \pm 0.21$	$2.24_{bc}^{ABC} \pm 0.25$
9	$1.85_{bc}^{A} \pm 0.27$	$1.98_{bc}^{A} \pm 0.34$	$2.52_{bc}^{B} \pm 0.19$	$2.60_{c}^{B} \pm 0.18$	$2.20_{bc}^{AB} \pm 0.29$
12	$1.78_{bc}^{A} \pm 0.34$	$1.92_{bc}^{AB} \pm 0.29$	$2.39_{bc}^{BC} \pm 0.21$	$2.55_{bc}^{C} \pm 0.28$	$2.08_{bc}^{ABC} \pm 0.35$
15	$1.62_{abc}^{A} \pm 0.34$	$1.80_{ab}^{AB} \pm 0.28$	$2.21_{abc}^{BC} \pm 0.24$	$2.53_{bc}^{C} \pm 0.19$	$2.01_{bc}^{ABC} \pm 0.22$
18	$1.52_{ab}^{A} \pm 0.30$	$1.75_{ab}^{AB} \pm 0.22$	$2.02_{ab}^{B} \pm 0.19$	$2.10_{ab}^{B} \pm 0.18$	$1.75_{ab}^{AB} \pm 0.25$
21	$1.25_{a}^{A} \pm 0.24$	$1.33_{a}^{AB} \pm 0.16$	$1.74_{a}^{AB} \pm 0.38$	$1.88_{a}^{B} \pm 0.32$	$1.50_{a}^{AB} \pm 0.35$

หมายเหตุ:

ICC	คือ น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%
a, b, c,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
A, B, C,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
NS	มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ก - 8 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/g.) ± SD				
	ชุดการทดลอง				
	ICC	IL02	IL05	ILC207	ILC210
0^{NS}	3.26_{a} ± 0.02	3.26_{a} ± 0.02	3.26_{a} ± 0.02	3.26_{b} ± 0.02	3.26_{a} ± 0.02
3	4.76_{b}^{E} ± 0.05	4.15_{b}^{D} ± 0.02	3.86_{b}^{C} ± 0.01	3.09_{a}^{A} ± 0.02	3.33_{a}^{B} ± 0.04
6	7.43_{c}^{D} ± 0.03	6.49_{c}^{C} ± 0.00	6.26_{c}^{B} ± 0.01	4.07_{c}^{A} ± 0.03	5.05_{b}^{A} ± 0.04
9	9.67_{d}^{E} ± 0.03	8.19_{d}^{D} ± 0.11	7.18_{d}^{C} ± 0.03	5.43_{d}^{A} ± 0.04	6.23_{c}^{B} ± 0.07
12	10.70_{e}^{D} ± 0.00	10.16_{e}^{C} ± 0.07	8.85_{e}^{B} ± 0.08	6.48_{e}^{A} ± 0.04	8.17_{d}^{A} ± 0.04
15	-	-	10.73_{f}^{C} ± 0.06	8.24_{f}^{A} ± 0.04	10.28_{e}^{B} ± 0.04

หมายเหตุ:

ICC	คือ น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%
a, b, c,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
A, B, C,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
NS	มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ก - 9 คะแนนการยอมรับลักษณะปรากฏของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	คะแนนการยอมรับลักษณะปรากฏ (คะแนน) ± SD				
	ชุดการทดลอง				
	ICC	IL02	IL05	ILC207	ILC210
0^{NS}	5.00_{f} ± 0.00	5.00_{f} ± 0.00	5.00_{f} ± 0.00	5.00_{f} ± 0.00	5.00_{f} ± 0.00
3	3.50_{e}^{A} ± 0.51	4.60_{e}^{C} ± 0.50	4.50_{e}^{C} ± 0.51	4.42_{e}^{C} ± 0.51	4.00_{e}^{B} ± 0.00
6	3.05_{d}^{A} ± 0.22	4.20_{d}^{D} ± 0.41	4.00_{d}^{CD} ± 0.00	3.80_{d}^{C} ± 0.41	3.50_{d}^{B} ± 0.51
9	2.60_{c}^{A} ± 0.50	3.50_{c}^{D} ± 0.51	3.30_{c}^{CD} ± 0.47	3.10_{c}^{BC} ± 0.31	2.90_{c}^{B} ± 0.31
12	2.00_{b}^{A} ± 0.00	3.10_{b}^{D} ± 0.31	2.80_{b}^{C} ± 0.41	2.60_{b}^{BC} ± 0.50	2.40_{b}^{B} ± 0.50
15	1.05_{a}^{A} ± 0.23	2.40_{a}^{D} ± 0.50	2.20_{a}^{CD} ± 0.41	2.00_{a}^{BC} ± 0.32	1.80_{a}^{B} ± 0.41

หมายเหตุ:

ICC	คือ น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%
a, b, c,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
A, B, C,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
NS	มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ก - 10 คะแนนการยอมรับกลิ่นของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	คะแนนการยอมรับกลิ่น (คะแนน) ± SD				
	ชุดการทดลอง				
	ICC	IL02	IL05	ILC207	ILC210
0^{NS}	5.00_{f} ± 0.00	5.00_{f} ± 0.00	5.00_{f} ± 0.00	5.00_{f} ± 0.00	5.00_{f} ± 0.00
3	3.80_{e}^{A} ± 0.41	4.00_{e}^{AB} ± 0.32	4.30_{e}^{CD} ± 0.47	4.50_{e}^{D} ± 0.51	4.20_{e}^{BC} ± 0.41
6	3.00_{d}^{A} ± 0.00	3.60_{d}^{B} ± 0.50	4.00_{d}^{CD} ± 0.32	4.20_{d}^{D} ± 0.41	3.90_{d}^{C} ± 0.31
9	2.80_{c}^{A} ± 0.41	3.30_{c}^{B} ± 0.47	3.60_{c}^{BC} ± 0.50	3.80_{c}^{C} ± 0.41	3.50_{c}^{BC} ± 0.51
12	2.30_{b}^{A} ± 0.47	2.80_{b}^{B} ± 0.41	3.10_{b}^{C} ± 0.31	3.40_{b}^{D} ± 0.50	3.10_{b}^{C} ± 0.31
15	1.00_{a}^{A} ± 0.00	2.40_{a}^{B} ± 0.50	2.70_{a}^{C} ± 0.47	3.00_{a}^{D} ± 0.33	2.60_{a}^{BC} ± 0.50

หมายเหตุ:

ICC คือ น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)

IL 02 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%

IL 05 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%

ILC 207 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%

ILC 210 คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%

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

A, B, C,... ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

NS มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ก - 11 คะแนนการยอมรับรสชาติของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	คะแนนการยอมรับรสชาติ (คะแนน) ± SD				
	ชุดการทดลอง				
	ICC	IL02	IL05	ILC207	ILC210
0^{NS}	$5.00_{f} \pm 0.00$	$5.00_{f} \pm 0.00$	$5.00_{f} \pm 0.00$	$5.00_{f} \pm 0.00$	$5.00_{f} \pm 0.00$
3	$3.80_{e}^{A} \pm 0.41$	$4.00_{e}^{A} \pm 0.32$	$4.50_{e}^{B} \pm 0.51$	$4.70_{e}^{B} \pm 0.47$	$4.50_{e}^{B} \pm 0.51$
6	$3.40_{d}^{A} \pm 0.50$	$3.60_{d}^{A} \pm 0.50$	$4.10_{d}^{B} \pm 0.31$	$4.40_{d}^{C} \pm 0.50$	$4.00_{d}^{B} \pm 0.00$
9	$3.00_{c}^{A} \pm 0.32$	$3.30_{c}^{B} \pm 0.47$	$3.80_{c}^{CD} \pm 0.41$	$4.00_{c}^{D} \pm 0.00$	$3.60_{c}^{C} \pm 0.50$
12	$2.50_{b}^{A} \pm 0.51$	$2.80_{b}^{B} \pm 0.41$	$3.30_{b}^{C} \pm 0.47$	$3.60_{b}^{D} \pm 0.50$	$3.20_{b}^{C} \pm 0.41$
15	$2.10_{a}^{A} \pm 0.31$	$2.40_{a}^{B} \pm 0.50$	$2.90_{a}^{CD} \pm 0.31$	$3.10_{a}^{D} \pm 0.31$	$2.80_{a}^{C} \pm 0.41$

หมายเหตุ:

ICC	คือ น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%
a, b, c,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
A, B, C,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
NS	มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ก - 12 คะแนนการยอมรับเนื้อสัมผัสของหมึกกล้วยที่แช่ในน้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติกและกรดซิตริกแตกต่างกัน โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	คะแนนการยอมรับเนื้อสัมผัส (คะแนน) ± SD				
	ชุดการทดลอง				
	ICC	IL02	IL05	ILC207	ILC210
0^{NS}	5.00_{e} ± 0.00	5.00_{f} ± 0.00	5.00_{f} ± 0.00	5.00_{f} ± 0.00	5.00_{f} ± 0.00
3	3.80_{d}^{A} ± 0.41	4.00_{e}^{AB} ± 0.00	4.40_{e}^{C} ± 0.50	4.60_{e}^{C} ± 0.50	4.10_{e}^{B} ± 0.31
6	3.00_{c}^{A} ± 0.00	3.30_{d}^{B} ± 0.47	4.00_{d}^{C} ± 0.00	4.30_{d}^{D} ± 0.47	3.80_{d}^{C} ± 0.41
9	2.60_{b}^{A} ± 0.50	3.10_{c}^{B} ± 0.31	3.40_{c}^{C} ± 0.50	3.70_{c}^{D} ± 0.47	3.20_{c}^{BC} ± 0.41
12	2.40_{b}^{A} ± 0.50	2.70_{b}^{B} ± 0.47	3.00_{b}^{C} ± 0.00	3.20_{b}^{C} ± 0.41	3.00_{b}^{C} ± 0.00
15	2.10_{a}^{A} ± 0.31	2.20_{a}^{A} ± 0.41	2.70_{a}^{BC} ± 0.47	2.90_{a}^{C} ± 0.31	2.50_{a}^{B} ± 0.51

หมายเหตุ:

ICC	คือ น้ำแข็งปราศจากกรดอินทรีย์ (ชุดการทดลองควบคุม)
IL 02	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02%
IL 05	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.05%
ILC 207	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.075%
ILC 210	คือ น้ำแข็งที่มีความเข้มข้นของกรดแล็กติก 0.02% และกรดซิตริก 0.1%
a, b, c,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
A, B, C,...	ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)
NS	มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)