สัดส่วนของเกลือที่เหมาะสมในการแช่หมึกกล้วยเพื่อคงคุณภาพร่วมกับการแช่เย็น

นิพพิชฌน์ อภิภูวสุขเจริญ* และ วริพัสย์ อารีกุล

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

*nippitch.apc@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสัดส่วนของเกลือที่เหมาะสมในการแช่หมึกกล้วยเพื่อคงคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ โดยใช้แผนการทดลองแบบส่วนผสม (Mixture design) ชนิด Simplex lattice โดยกำหนดชนิดของเกลือเป็นปัจจัยที่ต้องการศึกษา ได้แก่ โซเดียมคลอไรด์ (X_1) โซเดียมคาร์บอเนต (X_2) และ โซเดียมไบคาร์บอเนต (X_3) ที่ระดับความเข้มข้น 0 ถึง 5% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) แช่เป็นเวลา 120 นาที จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 6 วัน แล้ววิเคราะห์ ปริมาณด่างที่ระเหยได้ ปริมาณไตรเมทิลเอมีน พีเอช ค่าความแน่นเนื้อ และ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด นำข้อมูลมาสร้างเป็นสมการการทำนายผลของความเข้มข้นของเกลือทั้ง 3 ชนิด ต่อคุณภาพต่างๆ ของหมึกกล้วย โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง 0.69-0.98 จากนั้นกำหนดเกณฑ์ของแต่ละตัวแปรให้ใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุมในวันที่ 0 เพื่อวิเคราะห์หาสัดส่วนของเกลือที่เหมาะสมในการแช่หมึกที่ทำให้คุณลักษณะทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ มีความใกล้เคียงกับหมึกสด สภาวะที่เหมาะสมมากที่สุด ได้แก่ การใช้สารละลายที่เตรียมจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ 2.86% ร่วมกับ โซเดียมคาร์บอเนต 2.14% โดยมีค่าความพึงพอใจ (desirability) เท่ากับ 0.616

คำสำคัญ: หมึกกล้วย, โซเดียมคลอไรด์, โซเดียมคาร์บอเนต, สัดส่วนที่เหมาะสม, คุณภาพ

บทนำ

หมึกกล้วย เป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยอันดับรองลงมาจากกุ้ง (กองควบคุมการค้าสัตว์น้ำ, 2560) เนื่องจากเป็นแหล่งโปรตีน มีรสชาติที่ดี และสามารถหาซื้อได้ทั่วไปทั้งในตลาดสด ร้านสะดวกซื้อ ไปจนถึงห้างสรรพสินค้า สามารถนำไปประกอบอาหารได้หลากชนิด มีการส่งออกหมึกกล้วยทั้งในรูปแบบของหมึกแช่แข็งและแช่เย็น คิดเป็น 59% ของหมึกทั้งหมด ในช่วงเดือนมกราคมถึงมีนาคม พ.ศ. 2561 (ฐิติมา, 2561) โดยมีประเทศเกาหลีใต้เป็นตลาดอันดับหนึ่งของการส่งออกหมึกกล้วยแช่เย็น (กองควบคุมการค้าสัตว์น้ำ, 2560) อย่างไรก็ตาม การแช่เย็นหมึกที่อุณหภูมิ 4-6 องศาเซลเซียส จะสามารถเก็บรักษาได้เพียง 3-4 วันเท่านั้น (Hick, 2016) ทั้งนี้เอนไซม์จะถูกปลดปล่อยและย่อยสลายโปรตีนในตัวหมึกเอง และกรดอะมิโนเหล่านี้ จะเป็นแหล่งอาหารให้กับแบคทีเรียในการเจริญ (พิมพ์ชนก, มปป.) การใช้เกลือถนอมอาหารเป็นวิธีการที่มีมานาน หากใช้ร่วมกับการแช่เย็นอาจสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของอาหารได้ดีขึ้น

เกลือโซเดียมคลอไรด์ (เกลือแกง) โซเดียมคาร์บอเนต (โซดาแอช) และโซเดียมไบคาร์บอเนต (เบคกิ้งโซดา) เป็นสารที่พบทั่วไปในครัวเรือน มีราคาถูก จัดเป็นวัตถุเจือปนในอาหารในกลุ่ม “Generally Recognized as Safe” หรือ GRAS (USFDA, มปป.) ในประเทศสหรัฐอเมริกา สามารถเติมลงในอาหารได้อย่างปลอดภัย และไม่จำกัดปริมาณที่ใช้ แต่จะให้ใช้เท่าที่จำเป็นตามข้อกำหนดของ Codex (FAO, 2018) ซึ่งมีรายงานว่าเกลือ 3 ชนิดนี้ สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ เช่น การเติมโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นตั้งแต่ 0.5% ขึ้นไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Nutrient Broth (MNB) สามารถลดจำนวนของเชื้อ *E. coli* ลงได้ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของแรงดันออสโมติกทำให้เซลล์เสียสภาพและไม่สามารถเจริญได้ดี (Abdulkarim et al. 2009) ส่วนโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 5% ทำให้เกิดโซนยับยั้ง (inhibition zone) เส้นผ่านศูนย์กลาง 12-15 มิลลิเมตร กับเชื้อ *Klebsiella oxytoca, S. aureus* และ *Proteus mirablis* ที่เลี้ยงในอาหาร Nutrient agar (NA) (Degiam et al. 2015) นอกจากนี้ โซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 4% สามารถยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas fluorescens* และ *Enterococcus faecalis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agarได้ (Corral et al. 1988) ดังนั้นการใช้เกลือทั้งสามร่วมกัน อาจมีประสิทธิภาพในการทำลายจำนวนจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของหมึก และ

อาหารทะเลชนิดอื่นๆ ในระหว่างการแช่เย็นได้ นอกจากนี้ การวางแผนการทดลองแบบส่วนผสมเพื่อใช้ในการหาสัดส่วนที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตด้วยวิธีการทางสถิตินั้น มีความสำคัญในงานด้านการปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์อีกด้วย เช่น การออกแบบการทดลองแบบส่วนผสม ชนิด Simplex lattice ในการพัฒนาสารดูดความชื้นเพื่อรักษาคุณภาพของเห็ดนางรม (Azevedo et al. 2011) การใช้แผนการทดลองชนิดนี้ ทำให้เห็นความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ใช้ศึกษาต่อตัวแปรตามได้ชัดเจนและไม่ซับซ้อน อีกทั้งยังมีความเหมาะสมกับขนาดของปัจจัยที่ใช้ศึกษา ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงนำการออกแบบการทดลองแบบส่วนผสมมาใช้ในการวิเคราะห์หาสัดส่วนของเกลือที่เหมาะสมในการแช่หมึก ก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาสัดส่วนของสารละลายเกลือผสมที่เหมาะสมในการแช่หมึกกล้วย

วางแผนการทดลองแบบส่วนผสม ด้วยโปรแกรม Design expert 7.0.0 trial เลือกแผนการทดลองย่อยชนิด simplex lattice โดยกำหนดปัจจัย 3 ปัจจัย ได้แก่สัดส่วนของ โซเดียมคลอไรด์ (X_1), โซเดียมคาร์บอเนต (X_2) และโซเดียมไบคาร์บอเนต (X_3) ที่ระดับความเข้มข้น 0 ถึง 5% ได้ทรีตเมนต์ใช้ทำการทดลองรวมทั้งสิ้น 13 ทรีตเมนต์ (ตารางที่ 1) โดยมีทรีตเมนต์ที่ 8, 9 และ 12 เป็นซ้ำของการทดลอง

ตารางที่ 1 ทรีตเมนต์ที่ใช้ทำการทดลอง

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

2. การเตรียมตัวอย่างหมึกกล้วย

ละลายหมึกกล้วยแช่แข็งขนาด 20-30 ตัว/กิโลกรัม ดึงหัว ควักไส้ออก ล้างให้สะอาด แล้วแช่ในสารละลายคลอรีน ความเข้มข้น 100 ppm นาน 30 นาที (กรมอนามัย, มปป.)เพื่อลดปริมาณเชื้อเริ่มต้นให้อยู่ในระดับใกล้เคียงกัน แล้วจึงสะเด็ดน้ำออกได้มากที่สุด จากนั้นแช่หมึกลงในสารละลายเกลือทรีตเมนต์ต่างๆ และในน้ำสำหรับตัวอย่างควบคุมนาน 120 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ดัดแปลงจากวิธีของ Chantarasuwan et al. 2011) เมื่อครบเวลาจึงสะเด็ดน้ำแล้วบรรจุลงกล่องพลาสติกประเภทโพลีโพรพิลีน นำเก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 วัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ดังข้อ 3

3. การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์

3.1 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ด้วยวิธีการกลั่น (Total volatile base nitrogen, TVB-N) (Malle & Tao, 1987)

ชั่งตัวอย่างเนื้อหมึกบดละเอียด 100 กรัม เติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก 7.5% ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ตวงส่วนใสปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดกลั่น (distillation tube) เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจน กลั่นลงในสารละลายกรดบอริก 4% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จนปริมาตรทั้งหมดเท่ากับ 40 มิลลิลิตร และหยดอินดิเคเตอร์เมทิลเรดและโบรโมครีซอลกรีน

นำสารละลายที่ได้ไปไทเทรตด้วย กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 N จนกระทั่งสีของอินดิเคเตอร์ที่ใช้เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพู ค่า TVB-N แสดงในหน่วยมิลลิกรัมไนโตรเจนต่อน้ำหนักตัวอย่าง 100 กรัม โดยคำนวณจากปริมาณกรดซัลฟูริกที่ใช้ (n ml) ดังสมการที่ (1)

TVB-N = n x 16.8 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ 100 กรัมตัวอย่าง (1)

3.2. ปริมาณไตรเมทิลเอมีนด้วยวิธีการกลั่น (Trimethylamine, TMA) (Malle & Tao, 1987)

ทำเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณ TVB-N แต่ขั้นตอนกลั่นด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจน มีการเติมสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ 35% ลงไป 20 มิลลิลิตรลงในตัวอย่าง กลั่นลงในสารละลายกรดบอริค 4 % และใช้เมทิลเรดและโบรโมครีซอลกรีนเป็นอินดิเคเตอร์ จากนั้นนำไปไทเทรตด้วย กรดซัลฟูริก และดูการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ จากนั้นนำไปคำนวน TMA เช่นเดียวกันโดยใช้สมการ (1)

3.3 พีเอช (Xuan et al. 2017)

บดหมึกละเอียดหนัก 10 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นที่กำจัดไอออน (deionized water) ปริมาณ 90 มิลลิลิตร จากนั้น โฮโมจิไนซ์ ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทส่วนใสไปวัดพีเอช ด้วยเครื่องวัดพีเอช

3.4 ค่าความแน่นเนื้อ (Firmness) (Kangsanant et al. 2006)

ซับน้ำออกจากผิวของหมึก แล้วตัดชิ้นเนื้อบริเวณกลางลำตัว ขนาด 2x3 เซนติเมตร จากนั้นการตรวจวัดค่าความแน่นเนื้อด้วยวิธี Warner Bratzler shear โดยใช้ใบมีดชนิด Warner Braztler Blade ด้วยความเร็ว 2 มิลลิเมตรต่อวินาที ตัดตัวอย่างจนขาดออกจากกัน แสดงค่าเป็นนิวตัน

3.5 จุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี pour plate

ชั่งตัวอย่างหมึกกล้วย 25 กรัม ใส่ในถุง stomacher จากนั้นเติมสารละลายเปปโตนที่ปราศจากเชื้อ เข้มข้น 0.1% ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปตีป่นด้วยเครื่องตีป่นอาหารเป็นเวลา 1 นาที แล้วเจือจางตัวอย่างแบบ 10x dilution จนถึงระดับความเข้มข้น 10^{-6} แล้ววิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ด้วยวิธีการ pour plate method .ในอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ รายงานผลเป็น cfu/กรัม

4. การวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยโปรแกรมทางคณิตศาสตร์

4.1 สร้างแผนภาพ contour เพื่อศึกษาผลของตัวแปรต้นต่อค่าตอบสนอง

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

4.2 วิเคราะห์หาสัดส่วนที่เหมาะสมในการแช่หมึก

นำสมการที่ได้จากการวิเคราะห์ในข้อ 4.1 มาวิเคราะห์หาสัดส่วนที่เหมาะสม (Optimization) กำหนดค่าของคุณลักษณะ Y_i ที่ต้องการเช่น สูงสุด (maximize) ต่ำสุด (minimize) หรืออยู่ในช่วงที่กำหนด (in range) แล้วพิจารณาเลือกสัดส่วนที่เหมาะสมจากค่าความพึงพอใจ (Desirability) โดยอ้างอิงเกณฑ์ของ Lazic (2004)

ผลและอภิปรายผล

1. ผลของเกลือต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ของหมึกระหว่างการเก็บรักษา

การเปลี่ยนแปลงภายหลังการเก็บรักษาของตัวอย่างควบคุมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน พบว่า ปริมาณ TVBN ของตัวอย่างเพิ่มขึ้นจาก 7.98 เป็น 13.44 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัมตัวอย่าง ทั้งนี้ TVB-N เป็นผลรวมของสารประกอบเอมีนที่ระเหยได้ 3 กลุ่มใหญ่ได้แก่ แอมโมเนีย ไดเมทิลเอมีน (Dimethylamine, DMA) และ ไตรเมทิลเอมีน (Trimethylamine, TMA) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายของโปรตีนและไนโตรเจนระหว่างการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) และการเจริญของจุลินทรีย์ (สุทธวัฒน์, 2554) โดยแอมโมเนียจะเกิดจากการสลายตัวตามธรรมชาติของ อะดิโนซีน โมโนฟอสเฟต (Adenosine monophosphate, AMP) รวมถึงการย่อยโปรตีนเปบไทด์ และกรดอะมิโนโดยจุลินทรีย์ ส่วน DMA และ TMA นั้นเกิดจากการสลายตัวของไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ (Trimethylamine oxide, TMAO) ซึ่งเป็นสารประกอบที่เกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลของสัตว์ ด้วยเอนไซม์ ไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ดีเมทิลเลส (TMAOease) ในตัวของหมึกเอง และ เอนไซม์ไตรเมทิลเอมีนออกซิเดส จากแบคทีเรีย *Shewanella putrifacien* เป็นต้น นอกจากนี้ TMA ยังเป็นสาเหตุของกลิ่นคาว และกลิ่นเน่าเสีย (สุทธวัฒน์, 2554) จากการสลายตัวเอง และเจริญของจุลินทรีย์ทำให้ค่า TVB-N มีค่าเพิ่มขึ้น ผลการทดลองสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของค่า TMA ที่เพิ่มจาก 2.10 เป็น 6.30 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัมตัวอย่าง นอกจากนี้การสลายตัวของสารประกอบไนโตรเจน ยังทำให้ค่าพีเอชเป็นด่างเพิ่มขึ้น โดยเพิ่มจาก 6.59 เป็น 6.85 สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางด้านเนื้อสัมผัส พบว่า ค่าความแน่นเนื้อของตัวอย่าง ลดลงจาก 26.33 เป็น 25.04 นิวตัน ทั้งนี้การย่อยสลายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันด้วยเอนไซม์โปรตีเอสในตัวหมึกเอง และจากแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์นี้ได้ (เนตรนรินทร์, 2546) ส่งผลให้ความแน่นเนื้อของหมึกลดลง สอดคล้องกับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด เพิ่มขึ้นจาก 3.11 เป็น 6.40 log cfu/กรัม ทั้งนี้กลไกการป้องกันจุลินทรีย์ตามธรรมชาติเสื่อมสภาพลง จุลินทรีย์สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนได้มากขึ้นจากโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในหมึก โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ที่สร้างโปรตีเอส (พิมพ์ชนก, มปป.; สุทธวัฒน์, 2554)

ส่วนการเปลี่ยนแปลงของตัวอย่างที่แช่ในสารละลายเกลือสัดส่วนต่าง ๆ พบว่า มีความแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม (ตารางที่ 2) โดยพบว่า โซเดียมคลอไรด์ และโซเดียมคาร์บอเนต แสดงสมบัติเป็นสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีเนื่องจาก ความเข้มข้นของตัวทำละลายในเซลล์จุลินทรีย์สูงกว่าภายนอก จึงทำให้ตัวทำละลายในเซลล์ไหลออกนอกเซลล์ (exosmosis) ส่งผลให้เซลล์หดตัว เนื่องจากปริมาตรภายในเซลล์ลดลง (เรืองลักขณา, 2537)

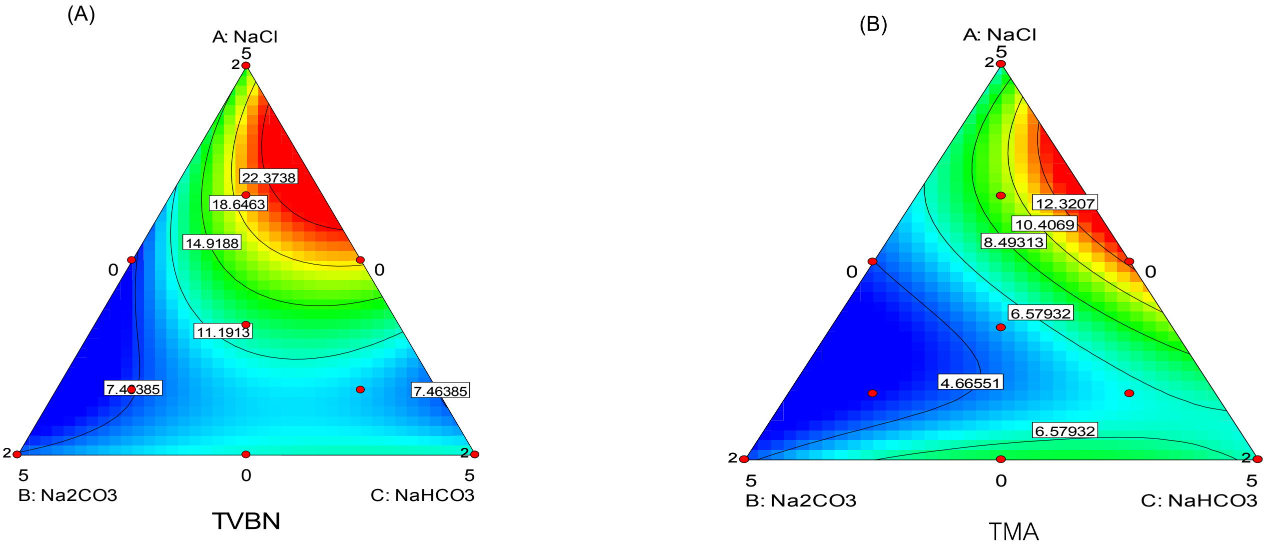
ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ของหมึกกล้วยแช่เย็น

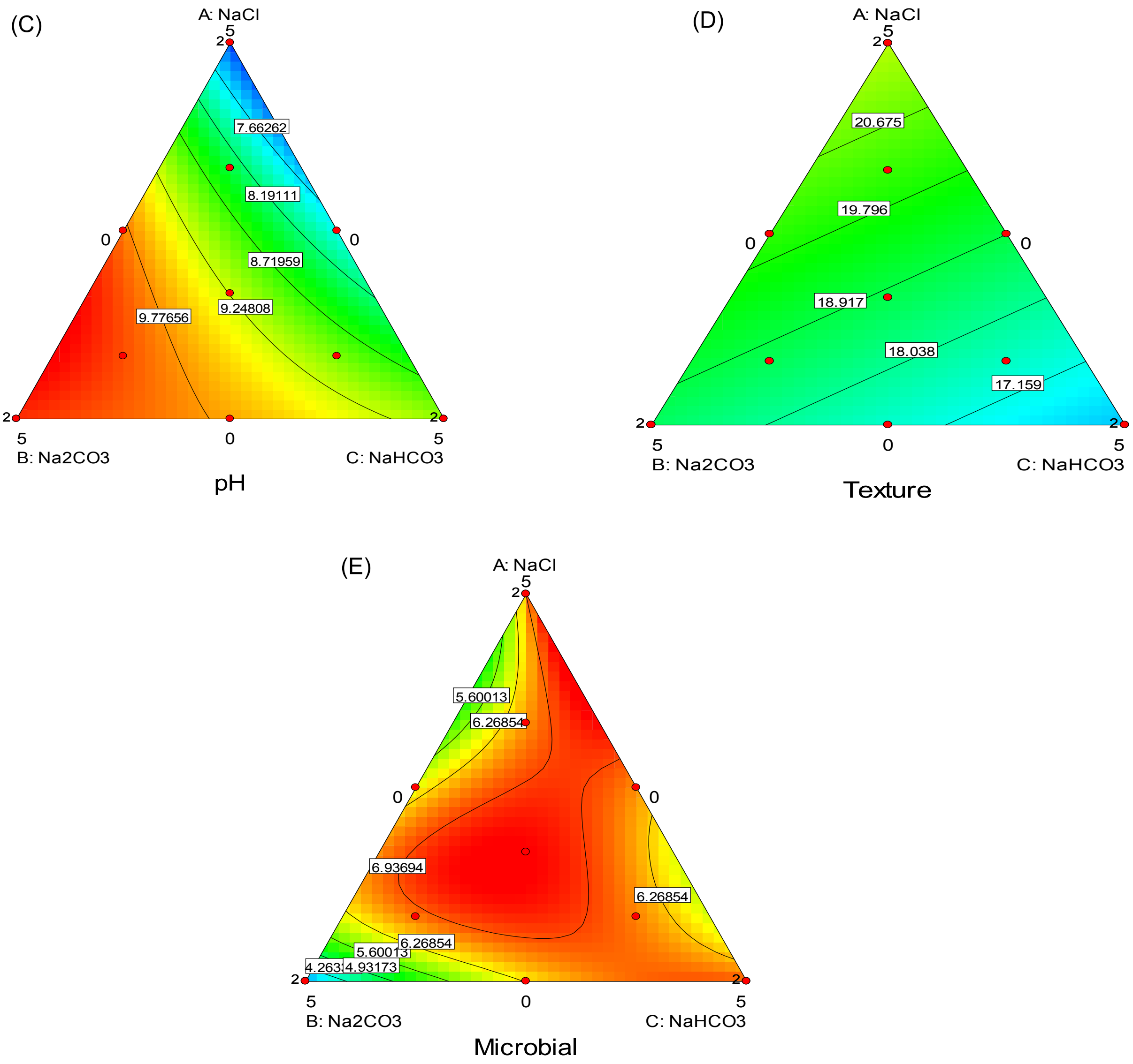
Treatment	TVB-N (mg N/100g)	TMA-N (mg N/ 100 g)	pH	Firmness (N)	Microbial count (log cfu/g)
Control	13.44	6.30	6.85	25.04	6.40
1	9.24	3.78	9.84	17.79	6.87
2	11.34	6.30	9.14	14.17	6.66
3	14.70	6.30	7.19	23.75	7.24
4	9.66	5.46	9.32	17.28	7.15
5	18.48	12.60	7.63	19.12	6.57
6	21.84	9.66	8.58	19.91	6.69
7	11.34	6.30	9.05	17.55	6.85

Treatment	TVB-N (mg N/100g)	TMA-N (mg N/ 100 g)	pH	Firmness (N)	Microbial count (log cfu/g)
8	9.66	6.30	9.05	17.33	6.61
9	15.12	7.14	7.04	23.18	6.67
10	7.98	5.04	10.10	25.01	4.50
11	6.30	4.62	9.76	15.04	6.01
12	7.14	3.78	10.28	15.89	2.68
13	10.08	7.56	9.67	18.51	6.27

เมื่อคำนวณผลการทดลองที่ได้ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ เพื่อหาความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ศึกษากับตัวแปรตาม โดยแสดงเป็นรูปแผนภาพ contour plot (รูปที่ 1) พบว่า การเพิ่มปริมาณโซเดียมคลอไรด์ทำให้ค่า TVBN สูงกว่า ทรีตเมนต์อื่นๆ และ ตัวอย่างควบคุม (รูปที่ 1A) ทั้งนี้อาจเนื่องจากโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 5% อาจทำให้โปรตีนคลายตัวบางส่วน (สุเวทย์และจิรวัฒน์, 2543) และย่อยสลายได้ง่ายขึ้นจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังพบว่า การเพิ่มปริมาณโซเดียมคลอไรด์ทำให้มีค่า TMA สูงกว่าเช่นกัน (รูปที่ 1B) ทั้งนี้ ปริมาณ TVB-N และ TMA มีความสัมพันธ์กัน ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น (สุทธวัฒน์, 2554) สำหรับค่าพีเอชพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคาร์บอเนต มีผลต่อค่าพีเอชของหมึกมากที่สุด(รูปที่ 1C) ทั้งนี้ สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตจะแตกตัวได้เป็นโซเดียมไฮดรอกไซด์และกรดคาร์บอนิก ซึ่งเป็นด่างแก่ และ กรดอ่อน ตามลำดับ ทำให้ตัวอย่างหมึกมีความเป็นด่างมากขึ้น ดังนั้น ค่าพีเอชภายหลังการแช่ด้วยสารละลายเกลือจะเป็นผลจากซึมผ่านเข้าไปในเนื้อหมึก มากกว่าเกิดจากการสลายตัวของโปรตีนในหมึก (NCBI, 2018)

ในส่วนของความแน่นเนื้อ พบว่าโซเดียมคาร์บอเนตมีผลทำให้ความแน่นเนื้อของหมึกลดลงมากที่สุด (ภาพที่ 1D) ทั้งนี้โซเดียมคาร์บอเนตเป็นสารที่เพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อ และทำให้แรงที่ใช้ตัดกล้ามเนื้อลดลง (Török *et al*, 2015) สำหรับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด พบว่า โซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้นสูงมีผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงได้มากที่สุด (รูปที่ 1E) อาจเป็นผลเนื่องมาจากการปลดปล่อยคาร์บอเนตแอนไอออน ที่จะรบกวนพันธะของไลโพโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide, LPS) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของ peptidoglycan ที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียในสัตว์น้ำ (สุทธวัฒน์, 2554) และเมื่อ LPS ไม่เสถียร เซลล์แบคทีเรียจะสูญเสียความสมบูรณ์ของโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้โปรตีนเพอริพลาสมิกไหลออกนอกเซลล์ และมีผลให้เซลล์ถูกยับยั้งการเจริญได้ (Jarvis, 2001)





รูปที่ 1 แผนภาพ contour ของโซเดียมคลอไรด์ (X_1) โซเดียมคาร์บอเนต (X_2) และ โซเดียมไบคาร์บอเนต (X_3) ต่อคุณภาพหมึกกล้วย: TVBN (A) TMA (B) pH (C) ความแน่นเนื้อ (D) และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (E)

สมการที่ได้จากการวิเคราะห์ข้อมูลโดยโปรแกรมทางสถิติ แสดงดังตารางที่ 4 โดยพบว่า สมการส่วนใหญ่เป็นสมการกำลังสาม (cubic model) และสมการกำลังสอง (quadratic model) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R-square) อยู่ระหว่าง 0.6856-0.9871 ซึ่งสามารถนำมาใช้วิเคราะห์หาสัดส่วนที่เหมาะสมของเกลือที่ใช้ในการแช่หมึกได้

ตารางที่ 4 สมการที่ทำนายได้จากการแผนการทดลองแบบผสม

ค่าตอบสนอง	สมการ	R^2
TVBN	$15.07 X_1 + 7.72 X_2 +10.66 X_3 -17.82 X_1 X_2 + 25.02 X_1 X_3 + 6.12 X_2 X_3 – 2.35 X_1 X_2 X_3 +26.46 X_1 X_2 (X_1- X_2) + 79.38 X_1 X_3 (X_1- X_3)$	0.9096
TMA	$6.73 X_1 + 4.42 X_2 + 6.31 X_3 – 3.71 X_1 X_2 +24.43 X_1 X_3 + 8.89 X_2 X_3 – 95.65 X_1 X_2 X_3 + 15.96 X_1 X_2 (X_1- X_2) + 29.82 X_1 X_3 (X_1- X_3)$	0.9833
pH	$7.13 X_1+10.15 X_2+9.0 X_3+4.76 X_1 X_2-1.14 X_1 X_3+0.48 X_2 X_3$	0.9871
ความแน่นเนื้อ	$23.44 X_1 + 20.42 X_2 + 17.41 X_3 -28.00 X_1 X_2 – 5.66 X_1 X_3 – 2.07 X_2 X_3 + 9.06 X_1 X_2 X_3 – 18.39 X_1 X_2 (X_1- X_2) + 53.19 X_1 X_3 (X_1- X_3)$	0.6856
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด	$6.96 X_1 + 3.59 X_2 + 6.79 X_3 + 3.01 X_1 X_2 – 1.03 X_1 X_3 + 4.50 X_2 X_3 +20.40 X_1 X_2 X_3-17.07 X_1 X_2 (X_1- X_2) + 8.91 X_1 X_3 (X_1- X_3)$	0.9085

หมายเหตุ X_1: NaCl, X_2: Na_2CO_3, X_3: $NaHCO_3$

2. สัดส่วนของเกลือที่เหมาะสมในการแช่หมึก

เมื่อวิเคราะห์หาสัดส่วนของเกลือที่เหมาะสมในการแช่หมึก โดยกำหนดเงื่อนไขของค่าตอบสนองแต่ละตัวให้ใกล้เคียงกับผลการวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมในวันที่ 0 ของการทดลอง ดังนี้ ค่า TVBN, TMA และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ให้มีค่าต่ำสุด (minimize) ส่วนค่าความแน่นเนื้อกำหนดให้มีค่าสูงที่สุด (maximize) และค่าพีเอชให้อยู่ในช่วงที่วิเคราะห์ได้ (in-range) จากทุกทรีตเมนต์ พบว่า การใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2.9% ร่วมกับ โซเดียมคาร์บอเนต 2.1% เป็นสัดส่วนที่ทำให้ค่าทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์อยู่ในระดับที่ต้องการ ค่าความพึงพอใจเป็นค่า ที่แสดงถึงความพึงพอใจต่อค่าที่เป็นไปได้ของ Y_i โดยที่ 0 เท่ากับ ค่าที่ไม่ต้องการมากที่สุด และ 1 สำหรับค่าที่ต้องการมากที่สุด (สันติ, 2552) ซึ่ง Lazic (2014) ได้กำหนดเกณฑ์ค่าความพึงพอใจออกเป็น 6 ระดับ จากผลการวิเคราะห์พบว่า มีค่าความพึงพอใจ (desirability) 0.61 ซึ่งอยู่ในระดับที่ 4 หรือระดับพอใช้ (satisfactory) หรือระหว่าง 0.37-0.63

สรุปผลการวิจัย

การใช้สารละลายเกลือทั้ง 3 ชนิด มีผลต่ออายุการเก็บรักษาหมึกกล้วยที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 วัน โดยการแช่สารละลายเกลือส่วนใหญ่สามารถคงรักษาคุณภาพของหมึกกล้วยได้ดีกว่าตัวอย่างควบคุม ยกเว้นการใช้เกลือโซเดียมไบคาร์บอเนต จากผลการวิเคราะห์พบว่าสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ 2.86% และ โซเดียมคาร์บอเนต 2.14% ในการแช่หมึกกล้วยก่อนการแช่เย็น สามารถคงความสดของตัวอย่างได้ดีกว่าการใช้สารละลายเกลือสัดส่วนอื่นๆ และควรมีการทดสอบทางประสาทสัมผัสในลำดับถัดไป

บรรณานุกรม

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

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

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

Corral, L.G., Post, L.S., & Montville, T.J. (1988). Antimicrobial activity of sodium bicarbonate. Journal of Food Science 53(3), 981-982.

Degiam, Z.D., Adhreen, H.A., & Abbas, F.N. (2011). Influence of some weak acids, weak bases and salts against some phathogenic microorganisms. Thi-Qur Medical Journal 5(2), 93-99.

FAO. (2018). Generally standard for food additive. Retrieved from http://www.fao.org/gsfaonline/docs/CXS_192e.pdf

Hick, D. (2016). Seafood safety: What consumers need to knows. University of Delaware Sea Grant College Program and the National Seafood HACCP Alliance. Retrieved from http://nsgl.gso.uri.edu/delu/delug99001.pdf

Jarvis, G.N., Field, M. W., Adamovich, D. A., Authurs, C. E. and Russell, J. B. (2001). The Mechanism of carbonate killing of *Escherichia coli*. Letters in Applied Microbiology. 33: 196-200.

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

Lazic, Z.R. (2004). Design of experiments in chemical engineering: A practical guide. WILEY-VCH, Verlag GmbH and Weinheim.

Malle, P., & Tao, S.H. (1987). Rapid quantitative determination trimethylamine using steam distillation. Journal of Food Protection 50(9), 756-760.

National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2018). Sodium carbonate. Retrieved from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10340

Török, P., Chu, X.L., Peterson, C., & Aikens, T. (2015). The effect of sodium bicarbonate on the water-holding of pork loin. Retrieved from https://goo.gl/ZN6aVi

USFDA. (2018). Generally recognized as safe (GRAS). Retrieved from https://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/gras

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

กรมอนามัย. (มปป.) การฆ่าเชื้อโรคในน้ำด้วยคลอรีน. สืบค้น. พฤศจิกายน 2561, จาก https://goo.gl/59CBNH

กองควบคุมการค้าสัตว์น้ำและปัจจัยการผลิต. (2560). การวิเคราะห์เส้นทางการส่งออกปลาหมึกสดแช่เย็นไปยังประเทศเกาหลีใต้. สืบค้น พฤศจิกายน 2561, จาก https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20180226115600_1_file.pdf

ฐิติมา เอียดแก้ว. (2561). สถานการณ์สินค้าหมึกและผลิตภัณฑ์ในช่วง 3 เดือนแรกของปี 2561. สืบค้น ธันวาคม 2561, จาก https://goo.gl/QWv28i

เนตรนรินทร์ ขุนสูงเนิน. (2546). การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลานิลซึ่งเก็บรักษาภายใต้การปรับเปลี่ยนบรรยากาศ (ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต). นครราชสีมา. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

พิมพ์ชนก พริกบุญจันทร์. (มปป.). เทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ประมง. สืบค้น พฤศจิกายน 2561, จาก https://goo.gl/wi2HzR

เรืองลักขณา จามิกรณ์. (2537). ชีวเคมีเบื้องต้น. กรุงเทพฯ. มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

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

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. (2554). เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ. โอเดียนสโตร์.

สุเวทย์ นิงสานนท์ และ จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล. (2543). การเร่งกระบวนการแปรรูปน้ำปลา. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (รายงานการวิจัย). นครราชสีมา.