รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษา
โดยการแช่เย็นภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ
Quality Changes in Pasteurized Oyster Meat during Chilled Storage using Modified Atmosphere Packaging

คณะนักวิจัย
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมหวัง เล็กจริง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกร

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ประจำปีงบประมาณ 2557 รหัสโครงการ SIT570089S

การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษา
โดยการแช่เย็นภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ
สมหวัง เล็กจริง และ สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกร
ปีงบประมาณ 2557

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ประกอบด้วย 1) การศึกษาการทนต่อความร้อนของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในหอยนางพาสเจอร์ไรส์ และ 2) การศึกษาผลของการบรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อหอยนางพาสเจอร์ไรส์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น ซึ่งผลการศึกษาเป็นดังนี้

ในการศึกษาการทนต่อความร้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์นั้น ได้ทำการทดสอบความสามารถในการทำลายเชื้อ *L. monocytogenes* (D และ Z values) และวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยนางรมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ (57.5 ถึง 70.0 องศาเซลเซียส) พบว่า ค่าความต้านทานความร้อนหรือค่า Decimal reduction time (D-value) ของ *L. monocytogenes* ที่ระดับอุณหภูมิ 57.5, 60.0, 62.5, 65.0, 67.5 และ 70.0 องศาเซลเซียส เป็น 3.56, 2.07, 0.70, 0.64, 0.55 และ 0.33 นาที ตามลำดับ และช่วงอุณหภูมิที่ใช้ในการทำลาย หรือ *Z*-value ของเชื้อ *L. monocytogenes* เท่ากับ 12.57 องศาเซลเซียส ในการศึกษาผลของการพาสเจอร์ไรส์ต่อคุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของหอยนางรม โดยผ่านการให้ความร้อนระดับ 6D process ที่อุณหภูมิ 57.7 ถึง 70.0 องศาเซลเซียส ในการทำลายเชื้อ *L. monocytogenes* พบว่าเมื่ออุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์สูงขึ้นจะส่งผลให้ค่าการสูญเสียน้ำหนัก และ b* value เพิ่มขึ้น ในขณะที่แรงที่ใช้ในการตัด (Cutting strength), L* value, a* value และปริมาณความชื้นลดลง ($p<0.05$) ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างไม่เปลี่ยนแปลงและตรวจไม่พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่าความชอบด้านกลิ่น เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม ไม่แตกต่างกันในทุกระดับอุณหภูมิของการพาสเจอร์ไรส์ คะแนนการประเมินความชอบด้านลักษณะปรากฏที่สูงที่สุด คืออุณหภูมิ 57.5 องศาเซลเซียส ส่วนคะแนนความชอบด้านรสชาติที่สูงที่สุด คืออุณหภูมิ 70.0 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองสรุปได้ว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการพาสเจอร์ไรส์หอยนางรมที่เหมาะสมที่สุดคือ 57.5 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

ในส่วนที่สองของการวิจัยเป็นการประเมินผลของการบรรจุในสภาพดัดแปลงบรรยากาศต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ในระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น โดยมีชุดการทดลองได้แก่ การบรรจุด้วยอากาศปกติ (Control), การบรรจุในสภาพบรรยากาศ 75% CO_2 + 25% N_2 (MAP-1), การบรรจุในสภาพบรรยากาศ 75% CO_2 + 25% O_2 (MAP-2), การบรรจุในสภาพบรรยากาศ 75% CO_2 + 5% O_2 + 20% N_2 (MAP-3)) และการบรรจุในสภาพสุญญากาศ (VP) ทำการวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และลักษณะทางประสาทสัมผัส ตลอดระยะเวลา 27 วันของการเก็บรักษา พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นจะส่งผลให้ค่า L*, a*, ค่าแรงที่ใช้ในการตัด (Cutting strength), ค่าความเป็นกรด-ด่าง, ค่าความชื้น และคะแนนความชอบด้านคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสลดลง ในขณะที่ค่า b*, ปริมาณสารประกอบไนโตรเจน

ที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N), ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV), ค่ากรดไทโอบาร์บิทูริก (TBARS), จุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC) และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียในอาหารมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นในทุกชุดการทดลอง อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างชุดทดลอง MAP-3 มีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพช้าที่สุดเมื่อเปรียบกับชุดการทดลองทั้งหมด เมื่อพิจารณาจากคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์และการยอมรับทางประสาทสัมผัส พบว่าตัวอย่างชุดควบคุมสามารถเก็บรักษาได้นาน 9 วัน ชุดการทดลอง VP สามารถเก็บรักษาได้นาน 18 วัน ในขณะที่ชุดการทดลอง MAP-1 และ MAP-2 สามารถเก็บรักษาได้ไม่เกิน 24 วัน และ MAP-3 สามารถเก็บรักษาได้นาน 25 วัน ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น

คำสำคัญ: หอยนางรม, การพาสเจอร์ไรส์, การบรรจุแบบดัดแปลงสภาพบรรยากาศ, *ลิสทีเรีย โมโนไซโตจิเนส*

Quality Changes in Pasteurized Oyster Meat during Chilled Storage using Modified Atmosphere Packaging

Somwang Lekjing and Sunisa Siripongvutikorn

2013

Abstract

This study consists of two parts, namely 1) study of the heat resistance of *Listeria monocytogenes* caused by pasteurization of oyster (*Crassostrea belcheri*) meat, and 2) study of the effects of modified atmosphere packaging on quality changes in pasteurized oyster during chilled storage (4±2°C).

In the study of heat resistance of *L. monocytogenes* in pasteurized oyster (*C. belcheri*) meat, the thermal inactivation (D and Z values) of *L. monocytogenes* and the quality changes in oyster meat caused by pasteurization (57.5 to 70.0°C) were investigated. The D values of *L. monocytogenes* at treatment temperatures 57.5, 60.0, 62.5, 65.0, 67.5 and 70.0°C were 3.56, 2.07, 0.70, 0.64, 0.55 and 0.33 min, respectively. The Z value of *L. monocytogenes* was 12.57°C. In the study of physical, chemical, microbiological and sensory quality effects on pasteurized oyster meat, the 6D conditions for *L. monocytogenes* were used in processing at 57.5 to 70.0°C temperatures. It was found that the cooking loss and the b* value of oyster meat increased, whereas cutting strength, L* value, a* value and moisture content decreased ($p<0.05$) with treatment temperature. The pH value of oyster meat was not significantly affected by the choice of treatment, and no total viable count (TVC) was found in any sample. In the sensory evaluation, odor, texture and overall liking were not significantly affected by the treatment temperature. The highest score for appearance was obtained at 57.5°C, and for taste at 70.0°C. In these results, the optimal conditions to pasteurize oyster meat were treatment at 57.5°C temperature for 15 min.

The second part of this study assessed effects of modified atmosphere packaging on the quality and the shelf life of pasteurized oyster meat, when stored at chilled temperature. The various treatments of pasteurized oyster meat were: packed in normal air (Control), packed in 75% CO_2 + 25% N_2 (MAP-1), packed in 75% CO_2 + 25% O_2 (MAP-2), packed in 75% CO_2 + 5% O_2 + 20% N_2 (MAP-3), and vacuum packed (VP). Various microbiological, physical, chemical and sensory properties were monitored over 27 days of storage. L* value, a* value, cutting strength, pH value, moisture content, and sensory scores decreased, while b* value, total volatile basic

nitrogen (TVB-N), peroxide value (PV), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), TVC and spoilage microorganisms increased with storage time, across all treatments. However, these changes were slowest with the MAP-3 treatment. Based on sensory evaluation and microbiological quality, the shelf lives were 9 d for control, 18 d for VP, not over than 24 d for MAP-1 and MAP-2, and 25 d for MAP-3 treated samples, under chilled storage.

Key Words: Oyster, Pasteurization, Modified atmosphere packaging, *Listeria monocytogenes*

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เย็นภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี คณะผู้วิจัยขอขอบคุณนายพิจารณ์ หานศุภิชน ที่อำนวยความสะดวกในการจัดหาตัวอย่างหอยนางรมเพื่อใช้ในการทำวิจัยตลอดโครงการ ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้สถานที่และเครื่องมือสำหรับการบรรจุแบบดัดแปลงสภาพบรรยากาศ ขอขอบคุณศูนย์พัฒนาอุตสาหกรรมเกษตรเพื่อการส่งออก คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ในการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในหอยนางรม ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่อง Texture analyzer ขอขอบคุณศูนย์ปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์และเครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ที่อำนวยความสะดวกเรื่องสถานที่และเครื่องมือในการทำงานวิจัย ขอขอบคุณคณาจารย์ นักวิทยาศาสตร์และนักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ที่มีส่วนร่วมในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส และขอขอบคุณนางสาววรัญญา โพชสาลี ผู้ช่วยวิจัย ซึ่งมีส่วนในการช่วยทำงานวิจัยนี้จนสำเร็จได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประเภทงบประมาณแผ่นดิน (ยุทธศาสตร์รัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ 2557 สัญญาเลขที่ SIT570089S ซึ่งให้การสนับสนุนงบประมาณในการวิจัย และขอขอบคุณบุคคลในครอบครัวที่ให้การสนับสนุน อีกทั้งให้กำลังใจ ตลอดจนความห่วงใยอย่างไม่เคยขาดหาย สุดท้ายนี้คณะผู้วิจัยขอระลึกถึงพระคุณครูบาอาจารย์ทุกท่าน งานวิจัยฉบับนี้เป็นประโยชน์แก่ผู้ใดก็ตามขอมอบความดีทั้งหมด แด่ทุกท่านที่กล่าวมา ส่วนความผิดพลาดอันพึงปรากฏคณะผู้วิจัยยินดีน้อมรับ

คณะผู้วิจัย
เมษายน 2559

สารบัญ

เรื่อง หน้า

บทคัดย่อ..... ก
Abstract..... ค
กิตติกรรมประกาศ..... จ
สารบัญ..... ฉ
สารบัญตาราง..... ซ
สารบัญภาพ..... ฌ
บทที่ 1 บทนำ..... 1
ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย..... 1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร..... 3
หอยนางรม 3
สถานการณ์การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในหอยนางรม 4
การพาสเจอร์ไรส์..... 5
การแช่เย็น..... 9
การบรรจุแบบดัดแปลงสภาพบรรยากาศ..... 13
บทที่ 3 วิธีการวิจัย..... 20
วัตถุดิบ..... 20
การเตรียมตัวอย่างหอยนางรม 20
วิธีดำเนินการวิจัย..... 20
การวิเคราะห์ทางสถิติ 24
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 25
การศึกษาการทนต่อความร้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ 25
การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำลายเชื้อ *L. monocytogenes* ในหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ 25
การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์หอยนางรม..... 30
การเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาเนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์โดยการแช่เย็นภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ 36
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 52
เอกสารอ้างอิง..... 54

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง หน้า

ภาคผนวก..... 59
ภาคผนวก ก การเปลี่ยนแปลงรายละเอียดของโครงการ..... 60
ภาคผนวก ข ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่และการประชุมวิชาการ..... 64
ภาคผนวก ค วิธีวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ 65
ภาคผนวก ง วิธีวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี 69
ภาคผนวก จ วิธีวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลินทรีย์ 75
ภาคผนวก ฉ การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส 80
ภาคผนวก ช ผลิตภัณฑ์หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์..... 82
ประวัติผู้วิจัย..... 85

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 การทนต่อความร้อนของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ..... 8
2 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียของสัตว์น้ำสดและสัตว์น้ำที่ผ่านการบรรจุซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำหรือในน้ำแข็ง..... 18
3 ค่า D-value ของ *L. monocytogenes* ในการพาสเจอร์ไรส์ หอยนางรมที่อุณหภูมิต่าง ๆ..... 27
4 ผลของอุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์เนื้อหอยนางรมต่อ ค่าความเป็นกรด -ด่าง ความชื้น และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด..... 35
5 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเนื้อหอยนางรมที่ผ่านการพาสเจอไรส์ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ..... 36
6 ปริมาณจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียในหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆ..... 47

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1	องค์ประกอบของหอยนางรม *Crassostrea belcheri*.....	4
2	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ที่เหลือรอดระหว่างการพาสเจอร์ไรส์หอยนางรมและเวลาที่อุณหภูมิต่าง ๆ.....	26
3	ค่า Z-value ในผลิตภัณฑ์เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์.....	28
4	ระยะเวลาในการให้อุณหภูมิในผลิตภัณฑ์เนื้อหอยนางรมตั้งแต่เริ่มกระบวนการจนสิ้นสุดกระบวนการพาสเจอร์ไรส์.....	29
5	ค่าร้อยละของการสูญเสียน้ำหนัก (%Cooking loss) ในผลิตภัณฑ์เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ในแต่ละสภาวะของการพาสเจอร์ไรส์.....	31
6	ค่า Cutting strength ในผลิตภัณฑ์เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ในแต่ละสภาวะของการพาสเจอร์ไรส์.....	33
7	ค่าสี (L*, a* และ b*) ในผลิตภัณฑ์เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ในแต่ละสภาวะของการพาสเจอร์ไรส์.....	34
8	ค่า Cutting strength ของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน.....	38
9	ค่า สี L*, a*, b* ของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน.....	39
10	ค่าความเป็นกรด-ด่างของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน.....	40
11	ค่าความชื้นของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน.....	41
12	ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมดของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน.	42
13	ปริมาณเปอร์ออกไซด์ของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน.....	44
14	ปริมาณ TBARS ของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน.....	45
15	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน.....	46
16	คะแนนการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน.....	50

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

หอยนางรม เป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เนื่องด้วยหอยนางรมเป็นหอยที่มีคุณค่าทางอาหารสูง รสชาติอร่อยและมีลักษณะน่ารับประทานการบริโภคหอยนางรมโดยทั่วไปเป็นการบริโภคสด แต่ทางธรรมชาติของหอยนางรมซึ่งเป็นสัตว์น้ำที่มีลักษณะการกินอาหารแบบกรองกิน (Filter feeding) จึงกรองเอาพวกแพลงก์ตอน จุลินทรีย์ หรือสารแขวนลอยต่างๆ ในน้ำทะเลเข้าไปในระบบทางเดินอาหาร จึงทำให้มีแบคทีเรียก่อโรค สารพิษทางชีวภาพ รวมถึงสารเคมีที่เป็นอันตรายสะสมอยู่ในตัวของหอยนางรม ซึ่งทำให้เป็นข้อจำกัดทางด้านความปลอดภัยในการบริโภค และนอกจากข้อจำกัดด้านความปลอดภัยในการบริโภคแล้วหอยนางรมยังมีข้อจำกัดด้านอื่นๆ อีก คือ คุณภาพและอายุของการเก็บรักษาภายหลังการเก็บเกี่ยว เนื่องจากมีรายงานพบว่า การเสื่อมคุณภาพและการเน่าเสียของหอยนางรมสดเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว (Aaraas *et al*., 2004) เนื่องจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และการย่อยสลายตัวเองที่เกิดจากเอนไซม์ (Sikorski, Kolakowska, & Burt, 1990) สำหรับหอยนางรมพันธุ์ใหญ่หรือหอยตะโกรมกรามขาวที่เพาะเลี้ยงบริเวณอ่าวบ้านดอน จังหวัดสุราษฎร์ธานี มีรายงานการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจากรายงานการวิจัยหลายฉบับ การจัดการเพื่อลดปริมาณแบคทีเรียและสิ่งปนเปื้อนในหอยตะโกรมให้ปลอดภัยต่อผู้บริโภคมีหลายวิธี เช่น การนำหอยจากแหล่งเลี้ยงที่ได้รับการปนเปื้อนไปสู่แหล่งเลี้ยงที่น้ำมีความสะอาดไม่ได้รับการปนเปื้อน เพื่อให้หอยทำความสะอาดตัวเอง (Self-purification) อีกวิธีหนึ่งที่นิยมคือ การบำบัดสิ่งปนเปื้อนในตัวหอยด้วยวิธีการ Depuration โดยนำหอยตะโกรมมาใส่ในน้ำทะเลสะอาดที่ได้รับการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแล้ว เพื่อให้หอยคายสิ่งปนเปื้อนในตัวออกมาจนหอยสะอาดปราศจากสิ่งปนเปื้อน และมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค (Fleet, 1978) สำหรับการจำหน่ายในร้านอาหารนั้น ผู้บริโภคมักนิยมบริโภคในลักษณะของหอยตะโกรมสด ซึ่งมีโอกาสเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรคทางเดินอาหารเนื่องมาจากกลุ่มจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาการลดความเสี่ยงจากการบริโภคหอยนางรมสด รวมไปถึงกรรมวิธีการแปรรูปเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาหอยนางรมยังมีข้อมูลอย่างจำกัด ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการศึกษาคุณภาพด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ ประสาทสัมผัสและความปลอดภัยในหอยนางรมสด รวมไปถึงกระบวนการแปรรูปและการพัฒนาผลิตภัณฑ์หอยนางรม โดยการ นำกระบวนการ พาสเจอร์ไรส์ร่วมกับการเก็บรักษาภายใต้สภาพดัดแปลงบรรยากาศ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาหอยนางรม และลดความเสี่ยงจากจุลินทรีย์ก่อโรคที่มักพบปนเปื้อนในหอยนางรมสดรวมทั้งสามารถช่วยเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจของหอยนางรม สุราษฎร์ธานี โดยทำให้มีรูปแบบของการบริโภคได้ง่ายและสะดวกขึ้น รวมถึงขนส่งออกนอกพื้นที่ได้ง่ายขึ้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อ เพิ่มความปลอดภัยด้านจุลินทรีย์ในการผลิตหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาโดยการบรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ โดยแบ่งเป็นวัตถุประสงค์ย่อย ดังนี้

1. ศึกษาวิธีการผลิตหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์เพื่อที่จะให้มีความปลอดภัยต่อจุลินทรีย์ก่อโรค
2. ศึกษาผลของการพาสเจอร์ไรส์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และประสาทสัมผัสของเนื้อหอยนางรม
3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เย็นของผลิตภัณฑ์หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์
4. ศึกษาผลของการบรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และประสาทสัมผัสของเนื้อหอยนางรมในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น

บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

2.1 หอยนางรม

ลักษณะทั่วไป

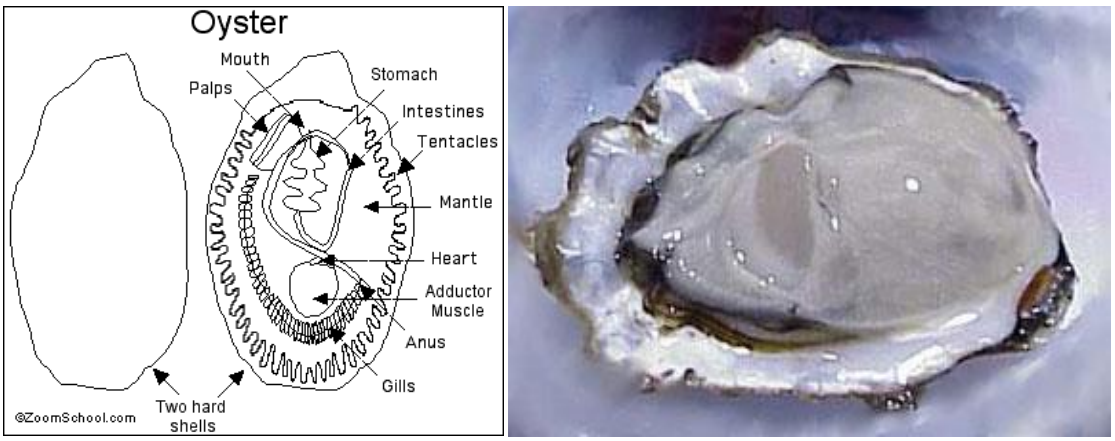
หอยนางรมหรือหอยตะโกรมกรามขาวมีชื่อสามัญ คือ White-Scar oyster ชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Crassostrea belcheri* จัดอยู่ในวงศ์ Ostreidae เป็นหอยสองฝา ประกอบด้วยเปลือกสองข้างที่มีขนาดไม่เท่ากัน เปลือกด้านซ้ายมีขนาดใหญ่และมีลักษณะเป็นรูปถ้วย ซึ่งเป็นด้านที่หอยใช้ติดกับวัสดุ ในขณะที่เปลือกด้านขวาของหอยจะมีลักษณะค่อนข้างแบนราบ เปลือกหอยนางรมประกอบด้วยสารประกอบแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นส่วนใหญ่ เปลือกทั้งสองข้างเชื่อมต่อกันด้วยบานพับ ลักษณะหอยนางรมโดยทั่วไปมีรูปร่างไม่คงที่แน่นอน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่อาศัย ภายในเปลือกประกอบด้วยส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อหอย โดยมีเนื้อเยื่อบางๆ ห่อหุ้มตัวทั้งสองข้างของลำตัว เรียกเนื้อเยื่อคลุม มีลักษณะเป็นริ้วแผ่ขยายออกไปถึงช่องปาก เหงือกมี 2 คู่ ทำหน้าที่เป็นกลไกกรองอาหารพร้อมทั้งทำหน้าที่หายใจ และช่วยในการขับถ่ายของเสียออกจากร่างกาย บริเวณกึ่งกลางของลำตัวประกอบด้วยกล้ามเนื้อใหญ่ ทำหน้าที่เปิดปิดเปลือก ตลอดจนบังคับให้เปลือกอ้ามากน้อยตามต้องการ ส่วนถัดไปเป็นก้อนเนื้ออันใหญ่ที่รวมอวัยวะต่างๆ ซึ่งบรรจุอยู่ภายใน เช่น ระบบประสาท ระบบขับถ่ายของเสีย และระบบสืบพันธุ์ (สุรชาติ วิชัยดิษฐ, 2552) ดังแสดงในภาพที่ 1

สายพันธุ์หอยนางรมในประเทศไทย

1. หอยนางรมพันธุ์เล็กหรือหอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea commercialis*) เป็นหอยนางรมขนาดเล็กส่วนใหญ่เลี้ยงในภาคตะวันออกของไทย

2. หอยตะโกรมขาว (*Crassostrea belcheri*) เป็นหอยนางรมที่มีขนาดใหญ่ เลี้ยงกันมากทางภาคใต้และภาคตะวันออกของไทย อาทิ อ่าวบ้านดอน จังหวัดสุราษฎร์ธานี อ่าวเขายั่ว จังหวัดกระบี่ อ่าวกระทุ่มแบน จังหวัดจันทบุรี

3. หอยตะโกรมดำ (*Crassostrea lugubris*) เป็นหอยนางรมที่มีขนาดรองจากหอยนางรมตะโกรมขาว พบมากในภาคตะวันออกของไทย (วันทนา อยู่สุข และ ธีระพงศ์ ด้วงดี, 2544)



ภาพที่ 1 องค์ประกอบของหอยนางรม *Crassostrea belcheri*
ที่มา: Barnes (1974)

2.2 สถานการณ์การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในหอยนางรม

มาตรฐานของสหภาพยุโรปได้กำหนดหอยสองฝาก่อนจำหน่ายต้องมีความสด มีชีวิต ไม่มีเศษดิน หรือสิ่งสกปรกอื่นๆอยู่ มีจำนวน Fecal coliform ไม่เกิน 300 MPN/100 g, *Escherichia coli* ไม่เกิน 230 MPN/100 g รวมทั้งตรวจไม่พบเชื้อไวรัสและแบคทีเรีย เช่น *Vibrio cholerae*, *Salmonella* spp. ในเนื้อหอย 25 g ไม่พบโลหะหนักในปริมาณที่ทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค มีปริมาณ Paralytic Shellfish Poison (PSP) ไม่เกิน 80 µg/100 g และต้องไม่พบ Diarrhetic Shellfish Poison (DSP) (Council Directive 91/492/EEC) และตามมาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2553) ได้กำหนดมาตรฐานทางจุลินทรีย์ในอาหารทะเลเพื่อบริโภคสดต้องมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดไม่เกิน 1.0×10^6 CFU/g, *Vibrio parahaemolyticus* ไม่เกิน 100 CFU/g, Fecal coliform ไม่เกิน 20 MPN/g และต้องไม่พบ *Salmonella* spp. ในเนื้อหอย 25 g

จากการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ของ มณีย์ กรรณรงค์, อนุวัฒน์ รัตนโชติ และสุพาภร ทศพร้อม (2544) รายงานการปนเปื้อนของแบคทีเรียในหอยตะโกรม น้ำทะเลและตะกอนดินบริเวณแหล่งเลี้ยงอ่าวบ้านดอน จังหวัดสุราษฎร์ธานีระหว่างเดือนมกราคม-ธันวาคม 2539 ว่า เนื้อหอยตะโกรมกรามขาวมีระดับการปนเปื้อนของแบคทีเรียรวมโดยเฉลี่ย 3.4×10^5 CFU/g, *V. parahaemolyticus* เฉลี่ย 1.7×10^3 CFU/g, Coliform เฉลี่ย 388 MPN/g, Fecal coliform เฉลี่ย 208 MPN/g และ *E. coli* เฉลี่ย 26 MPN/g ส่วนในน้ำทะเลมีระดับการปนเปื้อนของแบคทีเรียรวม โดยเฉลี่ย 2.5×10^3 CFU/ml, *V. parahaemolyticus* เฉลี่ย 35 CFU/ml, Coliform เฉลี่ย 650 MPN/100 ml, Fecal coliform เฉลี่ย 393 MPN/100 ml และ *E. coli* เฉลี่ย 59.79 MPN/100 ml ในตะกอนดินมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียรวมโดยเฉลี่ ย 5.5×10^4 CFU/g, *V.*

parahaemolyticus เฉลี่ย 2.6 x 10^2 CFU/g, Coliform เฉลี่ย 12.08 MPN/g, Fecal coliform เฉลี่ย 7.53 MPN/g และ *E. coli* เฉลี่ย 0.93 MPN/g

ในขณะที่อนุวัฒน์ รัตนโชติ , มณีย์ กรรณรงค์ , สมพร เกื้อสกุล และสุพาภร ทศพร้อม (2542) ศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียในหอยตะโกรมและในแหล่งน้ำอ่าวบ้านดอน จ. สุราษฎร์ธานี ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2536 – กันยายน พ.ศ. 2538 พบว่า หอยตะโกรมมีการปนเปื้อนแบคทีเรียรวมโดยเฉลี่ย 1.1 x 10^6 CFU/g, *V. parahaemolyticus* เฉลี่ย 3.2 x 10^3 CFU/g, Coliform เฉลี่ย 446.16 MPN/g และ Fecal coliform เฉลี่ย 98.46 MPN/g ส่วนในน้ำทะเลมีระดับการปนเปื้อนของแบคทีเรียรวมโดยเฉลี่ย 3.1 x 10^3 CFU/ml, *V. parahaemolyticus* เฉลี่ย 5.2 x 10 CFU/ml, Coliform เฉลี่ย 120.09 MPN/100 ml และ Fecal coliform เฉลี่ย 31.48 MPN/100ml

2.3 การพาสเจอร์ไรส์

การแปรรูปอาหารด้วยความร้อน (Thermal processing) หมายถึง การทำให้อาหารที่บรรจุอยู่ในภาชนะปิดสนิทได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูงเพื่อช่วยถนอมรักษาอาหาร โดยความร้อนจะไปทำลายจุลินทรีย์ที่ให้โทษและทำให้อาหารเสื่อมเสีย รวมทั้งเอนไซม์ สารพิษ พยาธิและแมลงต่างๆที่ไม่สามารถทนความร้อนได้ การพาสเจอร์ไรส์เป็นกระบวนการให้ความร้อนที่ไม่รุนแรงมากนัก อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของอาหารให้นานขึ้น มุ่งทำลายแบคทีเรียพวกที่ไม่สร้างสปอร์และก่อให้เกิดโรคกับมนุษย์ (Pathogenic bacteria) ส่วนจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆที่ทนความร้อนของการพาสเจอร์ไรส์ เมื่อมีการขยายจำนวนมากขึ้นสามารถทำให้อาหารเสื่อมเสียได้เช่นกัน ดังนั้นอาหารที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ต้องอาศัยความเย็นช่วยในการเก็บรักษา หรืออาจมีการใช้สารเคมีเพื่อให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ควบคู่กับการพาสเจอร์ไรส์ หรือใช้การพาสเจอร์ไรส์ควบคู่กับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ กระบวนการพาสเจอร์ไรส์สามารถทำได้ 2 ระบบ คือ

1. ระบบช้าอุณหภูมิต่ำ (Low Temperature Long Time; LTLT) เป็นระบบที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำและใช้เวลานาน แล้วทำให้เย็นทันที เป็นวิธีที่ง่ายสามารถทำได้ในระบบครัวเรือน

2. ระบบเร็วอุณหภูมิสูง (High Temperature Short Time; LTLT) เป็นระบบที่ให้ความร้อนในระดับที่สูงขึ้นแต่ใช้เวลาที่สั้นลง แล้วทำให้เย็นโดยเร็ว มักทำเป็นระบบต่อเนื่องโดยใช้อาหารเหลว เช่น น้ำผลไม้ นม ไหลผ่านแผ่นแลกเปลี่ยนความร้อนในช่วงระยะเวลาที่กำหนดตามชนิดของผลิตภัณฑ์

เวลาและอุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์อาหารขึ้นอยู่กับความต้านทานความร้อนของเซลล์จุลินทรีย์ ที่ต้องการทำลายและความไวต่อความร้อนของผลิตภัณฑ์ โดยพิจารณาจากค่า D ของ

เอนไซม์และจุลินทรีย์ซึ่งมีความทนทานต่อความร้อนที่สุดที่อาจอยู่ในอาหารนั้นๆ จะเป็นตัวบ่งชี้ถึงระดับของการใช้ความร้อนเพื่อให้อาหารมีความคงตัวเนื่องจากค่า D สามารถกำหนดกลิ่น สี และวิตามินของอาหารได้เช่นกัน ดังนั้นการใช้อุณหภูมิสูงเวลาสั้น ในการพาสเจอร์ไรส์จึงเป็นการช่วยถนอมคุณภาพทางโภชนาการและประสาทสัมผัสของอาหารได้ การออกแบบการพาสเจอร์ไรส์จึงขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการทำลายจุลินทรีย์กับปัจจัยคุณภาพ

ผลของการพาสเจอร์ไรส์ต่อคุณภาพของหอยนางรม

Chai, Liang, Pace, and Schlimme (1991) ศึกษาคุณภาพของหอยนางรมที่ผ่านการให้ความร้อนโดยการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่แตกต่างกัน เตรียมตัวอย่างโดยนำหอยสดที่ผ่านการเก็บเกี่ยวไม่เกิน 3 ชั่วโมงล้างในน้ำคลอรีน 50 ppm เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นบรรจุตัวอย่างในถุง Pouch ถุงละ 340 กรัม และแบ่งการทดลองเป็น 2 ขั้นตอน คือ การศึกษาอุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์ที่ 45, 55, 65, 70, 75, 79 และ 82 องศาเซลเซียส เป็นระยะ เวลา 8 นาที เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่บรรจุในถุง Pouch แต่ไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์และบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 8 นาที และการศึกษาระยะเวลาในการพาสเจอร์ไรซ์ที่ 0, 2, 4, 8, 12 และ 16 นาที ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปประเมินคุณภาพทางเคมี จุลินทรีย์ ประสาทสัมผัส สีและแรงเฉือน พบว่า การพาสเจอร์ไรส์เป็นระยะเวลา 8 นาที ส่งผลให้ความชื้นของตัวอย่างลดลงเมื่ออุณหภูมิการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น ค่าแรงเฉือนของตัวอย่างหอยนางรมสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิการพาสเจอร์ไรส์เพิ่มขึ้น และค่าความสว่างที่เหมาะสม คือตัวอย่างให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 นาที แต่อุณหภูมินี้เป็นอุณหภูมิที่ต่ำสำหรับการทำลายจุลินทรีย์ การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ระยะเวลามากกว่าหรือเท่ากับ 12 นาที ส่งผลให้การยอมรับทางประสาทสัมผัสมีค่าต่ำลง นอกจากนี้การประเมินคุณภาพทางจุลินทรีย์ พบว่า ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 2-16 นาที สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็น Aerobe ได้ 96% และสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็น Facultative anaerobe ได้ 85%

Pace, Wu, and Chai (1988) ศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาวะการแช่เย็น ซึ่งมีการเตรียมตัวอย่างโดยชุดที่ 1 ผ่านการล้างในน้ำคลอรีน 150 ppm เป็นเวลา 30 นาที ชุดที่ 2 ไม่ผ่านการล้างด้วยน้ำคลอรีน (ชุดควบคุม) จากนั้นบรรจุตัวอย่างในถุง Pouch และพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 72 และ 74 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0.5 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน ปริมาณจุลินทรีย์ในตัวอย่างชุดที่ 1 (ไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์) มีการเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย (จาก 5.8×10^4 CFU/g เป็น 4.3×10^5 CFU/g) แต่ปริมาณจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศในชุดที่ 2 (ไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์) มีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงถึง 10^7 CFU/g สำหรับตัวอย่างชุดที่ 2 ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส

พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศลดลงเป็น 5.2 × 10^2 CFU/g หลังเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศเพิ่มขึ้นเป็น 6.2 × 10^4 CFU/g การเพิ่มขึ้นอาจเนื่องมาจากจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บหลังผ่านการพาสเจอร์ไรส์สามารถเจริญขึ้นมาใหม่ได้ และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผ่านไป 2 และ 3 เดือน พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศลดลงเป็น 1.4 × 10^3 CFU/g และ 9.0 × 10^1 CFU/g ตามลำดับ การลดลงนี้อาจจะเนื่องมาจาก ค่า pH ที่ลดต่ำลง (จาก 6.5 เป็น 5.0) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น การพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 74 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศลดลงถึง 9.0 × 10^1 CFU/g ซึ่งลดลงมากกว่าการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส

Andrews, Park, and Chen (2000) ได้ศึกษาการใช้อุณหภูมิต่ำในการพาสเจอร์ไรส์เพื่อลดจำนวนเชื้อ *Vibrio* spp. ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคในเนื้อหอยนางรม พบว่า การใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที สามารถลดจำนวน *V. vulnificus, V. parahaemolyticus* และจุลินทรีย์ก่อโรคที่ใช้อากาศจาก มากกว่า 10^6 CFU/g ลงให้อยู่ในระดับที่ไม่สามารถตรวจสอบได้เป็นระยะเวลา 7 วัน

จุลินทรีย์ก่อโรคที่มีความสำคัญในการพาสเจอร์ไรส์หอยนางรม

1.1 เชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*

เชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง ก่อโรคอาหารเป็นพิษหรือ กระเพาะและลำไส้อักเสบพบระบาดครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่น (ค.ศ. 1950) เป็นสาเหตุของอาหารเป็นพิษจากการรับประทาน “ชิราสุ Shirasu” ชื่อเดิมเชื้อชนิดนี้ว่า *Pasteurella parahaemolyticus* มีรายงานในประเทศญี่ปุ่น จีน ไต้หวัน อินเดีย และหลายๆประเทศทางเอเชีย รวมทั้งอเมริกาว่ามีการเกิดอาหารเป็นพิษมากกว่า 50% มีสาเหตุจากเชื้อ *V. parahaemolyticus* สำหรับประเทศไทยเชื้อนี้เป็นสาเหตุอันดับ 1 ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษเช่นกันคิดเป็นร้อยละ 56, 56, 58, 60, 61 และ 78 ของผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษทั้งหมดในปี พ.ศ. 2540-2545 ตามลำดับ ที่เมืองกัลกัตตา (Calcutta) ประเทศอินเดียในปี พ.ศ. 2539 เกิดการระบาดใหญ่ของสายพันธุ์ O3:K6 และเกิดการระบาดอย่างต่อเนื่องในหลายๆ ประเทศทางทวีปเอเชียเช่น ญี่ปุ่น จีนไต้หวัน รวมทั้งประเทศอเมริกา (ศรีวรรณา หัทยานานนท์, 2550)

1.2 เชื้อ *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ที่มีลักษณะรูปท่อนสั้น มักเรียงตัวเป็นสายต่อกัน 3-5 เซลล์ หรือมากกว่านั้น เซลล์อายุ 18-24 ชั่วโมง จะเรียงตัวแบบพาลิเสด ไม่สร้างสปอร์หรือแคปซูล เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา จัดเป็น Psychrotroph สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส และจัดอยู่ในประเภท Facultative anaerobic bacteria สามารถทนเกลือได้ที่ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 5-10 สภาพความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดที่สามารถเจริญได้ที่ pH 4.3-4.4

อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตคือ 37 องศาเซลเซียส แต่สามารถเติบโตได้ที่อุณหภูมิต่ำถึง 2.5 องศาเซลเซียส สามารถอยู่รอดในที่มีโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 20 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นานถึง 8 สัปดาห์ และเชื้อ *L. monocytogenes* สามารถทนความร้อนได้สูงสุดในบรรดาแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคชนิดอื่น ๆ ที่ไม่สร้างสปอร์ (Bean and Griffin, 1990; D'Sa et al., 2000) สามารถพบเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ทั่วไปในน้ำ น้ำเสีย อุจจาระ คน และสัตว์ ซึ่งเป็นผลให้ *L. monocytogenes* สามารถปนเปื้อนลงไปในอาหารได้ง่าย ในระหว่างขั้นตอนการผลิต การบรรจุ การขนส่ง และการวางจำหน่าย

สำหรับอาหารที่มักพบแบคทีเรียชนิดนี้ได้แก่ นม เนื้อ ไก่ อาหารทะเล ส่วนในผักไม่พบหรือพบน้อยมาก นอกจากนี้ เชื้อ *L. monocytogenes* ยังสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิตู้เย็น และทนความร้อนได้ดีกว่าแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์ชนิดอื่น จึงสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ เช่น นม เนื้อสัตว์ ผัก และไส้กรอก การทนต่อความร้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การทนต่อความร้อนของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ

Temp (°C)	D-Value (min)	Medium	Reference
58.00	10.73	Salmon	Embarek, 1993
58.00	7.28	Cod	Embarek, 1993
60.00	2.39	Lobster meat	Budu-Amoako *et al*., 1992
60.00	1.31	Blue crabmeat	Harrison & Huang, 1990
60.00	0.15	Salmon	Embarek, 1993
62.00	0.87	Salmon	Embarek, 1993
65.00	2.07	Salmon	Embarek, 1993
68.00	4.48	Salmon	Embarek, 1993
70.00	10.73	Salmon	Embarek, 1993

Z-values: Lobster meat 5.0 °C, Blue crabmeat 8.40 °C in trypticase soy agar, Salmon 5.6 °C, Cod 5.7 °C.

จากการศึกษาความสามารถในการต้านทานความร้อนของ *L. monocytogenes* ในเนื้อหอยแมลงภู่ พบว่าค่า D ของ *L. monocytogenes* ที่อุณหภูมิ 56, 58, 59, 60 และ 62 องศาเซลเซียส เป็น 48.09, 16.25, 9.45, 5.49 และ 1.85 นาที ตามลำดับ และมีค่า *Z* เป็น 4.25 องศาเซลเซียส (Bremer & Osbone, 1995)

จากการศึกษาความสามารถในการต้านทานความร้อนของ *L. monocytogenes* ในเนื้อและหนังไก่ที่อุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่าค่า D ของ *L. monocytogenes* ในเนื้อเท่ากับ 38.94 และ 0.04 นาที ตามลำดับ ส่วนในหนังไก่มีค่า D เท่ากับ 34.05 และ 0.05 นาที ตามลำดับ และมีค่า Z เป็น 5.08 และ 5.27 องศาเซลเซียส (Murphy *et al*., 2004)

2.4 การแช่เย็น

การแช่เย็นเป็นกรรมวิธีที่ควบคุมอุณหภูมิของอาหารไว้ระหว่าง -1 ถึง 8 องศาเซลเซียส เพื่อลดอัตราการเกิด ปฏิกิริยาทางชีวเคมีและการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหารสดหรืออาหารแปรรูป วิธีการนี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติทางประสาทน้อยที่สุด ทำให้ผู้บริโภคมองว่าอาหารแช่เย็นเป็นอาหารที่ “สด” และเป็นอาหาร “สุขภาพ” มักใช้การแช่เย็นควบคู่กับกรรมวิธีแปรรูปอื่นๆ เช่น การหมัก การฉายรังสี หรือการพาสเจอร์ไรส์เพื่อยืดอายุให้กับอาหาร การลดอุณหภูมิลงให้ต่ำกว่าอุณหภูมิต่ำสุดที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้จะยับยั้งการเจริญและการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ได้ เชื้อจุลินทรีย์แบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มตามช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต ดังนี้

- Thermophilic bacteria มีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ 35-55 องศาเซลเซียส
- Mesophilic bacteria มีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ 10-40 องศาเซลเซียส
- Psychrophilic bacteria มีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ 5-15 องศาเซลเซียส

การแช่เย็นจะช่วยป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ประเภท Thermophile และ Mesophile ได้ เชื้อ Psychrophile ทำให้อาหารแช่เย็นเกิดการเน่าเสียได้แต่ยังไม่ปรากฏว่ามีเชื้อ Psychrophile ที่ก่อโรค ดังนั้นการแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5-7 องศาเซลเซียส จึงเป็นการยับยั้งการเน่าเสียและป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ การแช่เย็นจึงเป็นการลดอัตราการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากจุลินทรีย์หรือเอนไซม์ได้ (วิไล รังสาดทอง, 2547)

ประเภทของการแช่เย็น

1. แช่ในตู้เย็น (Chilling room) โดยจะมีการควบคุมอุณหภูมิในตู้เย็นให้อยู่ที่ -1 ถึง 8 องศาเซลเซียส โดยผลิตภัณฑ์อาหารที่อยู่ในห้องเย็นจะเกิดการถ่ายเทความร้อนกับขดท่อทำความเย็นทำให้ผลิตภัณฑ์มีอุณหภูมิลดต่ำลงการแช่เย็นด้วยวิธีนี้เป็นที่นิยมกันทั่วไป

2. ผ่านอุโมงค์ลมเย็น (Blast tunnels) ให้ความเย็นโดยมีพัดลมทำหน้าที่พัดพาความเย็นไปสู่ผลิตภัณฑ์ซึ่งผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่จะผ่านการบรรจุก่อนนำมาทำให้เย็นเพื่อป้องกันผิวหน้าของอาหารแห้งในการผลิตขนาดใหญ่ ผลิตภัณฑ์จะผ่านการแช่เย็นแบบบรรจุภัณฑ์เดี่ยว (Single packs) ในอุโมงค์ลมเย็นอัตโนมัติซึ่งบางครั้งผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีอุณหภูมิต่ำมาก

3. ใช้ละอองคาร์บอนไดออกไซด์พ่นไปที่กล่องบรรจุ (Master carton) โดยผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแช่เย็นจะถูกหุ้มด้วยบรรจุภัณฑ์หลายชั้นอัตราเร็วในการแช่เย็นในห้องเย็นค่อนข้างช้าแต่ถ้าอัตราเร็วเพิ่มขึ้นโดยการลดอุณหภูมิลงและเพิ่มการกระจายของอากาศเวลาในการแช่เย็นอยู่ในช่วง 24 ชั่วโมงวิธีนี้ถือเป็นวิธีที่ช่วยลดต้นทุนและเวลาในการแช่เย็นสำหรับการผลิตขนาดใหญ่

ปัจจัยที่กำหนดอายุของอาหารแปรรูปแช่เย็น มีดังต่อไปนี้

1. ชนิดของอาหาร
2. ระดับการทำลายเชื้อจุลินทรีย์หรือการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยกรรมวิธีการแปรรูป
3. การควบคุมสุขลักษณะระหว่างกรรมวิธีการแปรรูปและการบรรจุ
4. คุณสมบัติของบรรจุภัณฑ์ในการป้องกันการแทรกผ่านของอากาศ
5. อุณหภูมิในระหว่างการขนส่งและเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

สำหรับเนื้อเยื่อสัตว์ การหายใจโดยใช้ออกซิเจนจะลดลงอย่างรวดเร็วเพราะสัตว์ขาดออกซิเจน เมื่อถูกฆ่าที่โรงฆ่าสัตว์ การหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะทำให้ไกลโคเจนเปลี่ยนไปเป็นกรดแล็คติก pH ของเนื้อจึงลดลง เนื้อเริ่มหดแข็งและทำให้เซลล์กล้ามเนื้อแน่น ไม่สามารถยืดตัวออกไปได้ การแช่เย็นระหว่างการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน จึงมีความสำคัญเพื่อทำให้เนื้อมีลักษณะเนื้อสัมผัสและสีตามที่ต้องการ รวมทั้งเพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้

ตัวอย่างการแช่เย็นเนื้อสัตว์

หน่วยงานหลายแห่ง เช่น USDA, EEC (European Economic Community) และ FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/ World Health Organization) ได้ตั้งเป้าหมายในการแช่เย็นซากสัตว์โดยการสร้างรหัส (Codex) ขึ้นมา (กิตตยา สมยาภักดี และ โสบุญชัย กิตติเสรีบุตร, 2545 อ้างอิงมาจาก Ockerman, 1976) มาตรฐานรหัสดังกล่าวระบุให้การแช่เย็นเริ่มต้นภายในครึ่งชั่วโมงหลังการชำแหละ และต้องทำให้เนื้อวัวหรือเนื้อลูกวัวมีอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ภายใน 20 ชั่วโมง เนื้อหมูมีอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 15 ชั่วโมงหรือต่ำกว่า ส่วนเนื้อแกะมีอุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส ภายใน 12 ชั่วโมง EEC ได้ตั้งมาตรฐานสำหรับการเก็บรักษาไว้ที่ 7 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่าสำหรับเนื้อและ 3 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่าสำหรับเครื่องในจากสัตว์ ทั้งนี้อนุญาตให้มีการพ่นละอองสารละลายคลอรีนหรือน้ำเย็นเป็นระยะๆ ได้โดยมีข้อแม้ว่าน้ำหนักของซากสัตว์แช่เย็นจะต้องไม่เกินน้ำหนักของซากสัตว์ที่ไม่ได้แช่เย็น วิธีการดังกล่าวใช้กันแพร่หลายสำหรับเนื้อวัวและเนื้อหมูในยุโรปและสหรัฐอเมริกา

การลดอุณหภูมิที่จุดร้อนช้าที่สุดของซากหมูจะต้องลดต่ำลงถึง 2.8-3.9 องศาเซลเซียส ก่อนการตัดแต่งโรงงานในเดนมาร์กใช้ระบบแช่เย็นแบบลมเป่าลมเย็นจัดกับห้องแช่เย็นซึ่งมีอุณหภูมิ -35 ถึง -40 องศาเซลเซียส ในการเริ่มต้นแช่เย็นหลายชั่วโมง หลังจากนั้นจึงปล่อยให้ซากสัตว์มี

อุณหภูมิสมดุลที่ 0-2 องศาเซลเซียส วิธีการดังกล่าวจะช่วยให้ลดการหดตัว แม้อาจจะเกิดการเยือกเย็นของผิวหน้าบางส่วนแต่ไม่มีผลกระทบต่อซากหมู เนื่องจากมีชั้นผิวหน้าและไขมันเคลือบอยู่ (กิตตยา สมยาภักดี และ โสบุญชัย กิตติเสรีบุตร, 2545 อ้างอิงมาจาก ASHRAE, 1974) โรงงานบางแห่งในสหรัฐอเมริกาและแคนนาดาเริ่มใช้การแช่เย็นเนื้อหมูอย่างรวดเร็วตั้งแต่ปี 1985 และ 1986 วิธีดังกล่าวและวิธีการแช่เย็นโดยการพ่นละอองน้ำเป็นวิธีที่นิยมทั่วไป ระบบแช่เย็นแบบรวดเร็วจะช่วยขจัดปัญหาเรื่องลักษณะที่ไม่ต้องการของกล้ามเนื้อได้ เช่น สีซีด นิ่ม หรือการมีน้ำไหลออกมา การแช่เย็นแบบช้าๆ จะมีผลต่อคุณสมบัติของเนื้อหมูมาก (กิตตยา สมยาภักดี และ โสบุญชัย กิตติเสรีบุตร, 2545 อ้างอิงมาจาก Honikel, 1984) แนะนำว่าควรจะลดอุณหภูมิของซากหมูซึ่งมีอัตราไกลโคไลซิสตามปกติและมี pH ของกล้ามเนื้อ 5.8-6.0 ไปยัง 15 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 3-4 ชั่วโมงหลังการเชือด ในขณะที่ซากหมูที่มีอัตราไกลโคไลซิสสูงจะมีอุณหภูมิถึง 34 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 1-1.5 ชั่วโมงหลังการเชือด

เนื้อไก่ส่วนใหญ่จะจำหน่ายในรูปแช่เย็นมากกว่าแช่เยือกแข็ง อาจเป็นเพราะการจำหน่ายไก่ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปแช่เย็นแม้ว่าในต่างประเทศจะนิยมจำหน่ายไก่งวงในรูปแช่เยือกแข็ง (กิตตยา สมยาภักดี และ โสบุญชัย กิตติเสรีบุตร, 2545 อ้างอิงมาจาก Stadelmen, 1984) พบว่าการเน่าเสียของเนื้อไก่ที่ไม่ได้แช่เย็นในสหรัฐอเมริกาส่วนใหญ่เกิดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียบนผิวซึ่งสามารถสร้างเมือกได้ ไก่ส่วนใหญ่ที่จำหน่ายในสหรัฐอเมริกาในปี 1978 จะอยู่ในรูปไก่แช่น้ำแข็ง โดยที่น้ำหนักของน้ำแข็งที่บรรจุในกล่องจะสูงถึง 30-35% ของน้ำหนักไก่จึงทำให้ผลิตภัณฑ์มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นในการบรรทุกและรถบรรทุกไม่สามารถบรรทุกผลิตภัณฑ์อาหารอื่นๆ ได้ (กิตตยา สมยาภักดี และ โสบุญชัย กิตติเสรีบุตร, 2545 อ้างอิงมาจาก Hoey *et al*., 1983) ได้ศึกษาเปรียบเทียบการแช่เย็นซากไก่ในสารละลาย 5% NaCl หรือ 5% KCl ด้วยน้ำแข็งบดที่อุณหภูมิ -1.1 องศาเซลเซียสในสัดส่วน 3.5 : 1 ของน้ำเย็นต่อปริมาตรของไก่ พบว่าการแช่เย็นในสารละลายเกลือจะเพิ่มความสามารถในการเก็บรักษาความชื้นของเนื้อสุกและเพิ่มปริมาณการได้รับคลอไรด์อิออน การใช้เกลือ NaCl จะให้การอุ้มน้ำสูงที่สุด

สำหรับการแช่เย็นปลาจะเริ่มตั้งแต่บนเรือถ้าปลาต้องอยู่บนเรื่อนานซึ่งส่วนใหญ่ทำโดยการวางปลาทั้งตัวหรือที่ตัดแต่งแล้วบนน้ำแข็ง อุณหภูมิต่ำมีผลมากต่อการควบคุมคุณภาพของสัตว์ทะเล เนื่องจากจะทำให้อัตราการเน่าเสียซึ่งเกิดจากจุลินทรีย์หรือเอนไซม์ออโตไลซิสลดลง ถ้าปริมาณออกซิเจนยิ่งมากอัตราการเน่าเสียก็จะยิ่งสูง ดังนั้นการใช้อุณหภูมิต่ำควบคู่กับการใช้ก๊าซเฉื่อย เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ แทนที่อากาศในการเก็บรักษาโดยบรรยากาศดัดแปลงจึงให้ผลในการยืดอายุและคุณภาพของอาหารทะเล (Wang & Brown, 1983) ได้เปรียบเทียบการเก็บปลาคอดในน้ำแข็งกับเก็บในน้ำทะเลเย็นซึ่งเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ปรากฏว่าคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของปลาจะคงอยู่ได้ 6 และ 9 วัน ตามลำดับ การใช้น้ำทะเลมีผลทำให้ปลาดูดซึมเกลือเข้าไป แต่เดิมมีการ

กระจายปลาสดโดยแช่ในน้ำแข็ง (30% น้ำแข็ง) เช่นเดียวกันกับกรณีของไก่ ในปัจจุบันสหรัฐอเมริกามีการกระจายปลาในถุงเย็น (Chill pack) ที่อุณหภูมิ -2.2 องศาเซลเซียส (กิตตยา สมยาภักดี และ โสบุญชัย กิตติเสรีบุตร, 2545 อ้างอิงมาจาก Reed *et al*., 1983) รายงานจากการประเมินคุณภาพด้านกลิ่นของปลาด้วยวิธีใช้ถุงเย็นดังกล่าวเป็นเวลา 19 วัน พบว่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าวให้กลิ่นเหมือนปลาที่บรรจุในน้ำแข็ง 7 วัน ความสดของเนื้อปลาลดลงควบคู่กับการเพิ่มขึ้นของสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน เช่น อิโนซีน โอโปแซนทีน และไตรเมทิลอะมีน เช่นเดียวกับกลิ่นปลาเก่าที่เพิ่มขึ้น กรดอะมิโนอิสระในกล้ามเนื้อแดงจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกัน

ผลของการแช่เย็นต่อการคุณภาพของหอยสองฝา

Erkan (2005) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและลักษณะทางประสาทสัมผัสในหอยแมลงภู่ที่แกะเปลือกและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน พบว่า ในวันที่ 0 มีปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB - N) และค่าไตรเมทธิลเอมีน (TMA– N) เท่ากับ 22.55 และ 5.96 mg N/100 g และเพิ่มขึ้นเป็น 12.38 และ 0.42 mg N/100 g ตามลำดับ ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา ค่าอินโดล และ Putrescine เพิ่มขึ้นจาก 15.36 µg/kg และ 24.70 mg/kg เป็น 34.46 µg/kg และ 63.86 mg/kg ตามลำดับ ในวันที่ 4 ของการเก็บรักษา ค่า pH ลดลงเล็กน้อย และเมื่อพิจารณาคุณภาพทางประสาทสัมผัสและเคมีพบว่าอายุการเก็บรักษาหอยแมลงภู่ที่ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บได้นาน 4 วัน

นิชนันท์ เธียรพัฒนะวงศ์, พรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์ และ มณฑิรา นพรัตน์ (2550) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยแครงพร้อมปรุงที่ผ่านการลวกที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 นาทีและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น หอยแครงพร้อมปรุงมีค่าการสูญเสียน้ำหนัก, Expressible drip, moisture content, TMA, TVB-N, pH และจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นในขณะที่ค่าความแน่นเนื้อของหอยแครงและคะแนนทางประสาทสัมผัสลดลงโดยในช่วง 9 วันแรกของการเก็บรักษาหอยแครงมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 6.03 log CFU/g ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าหอยแครงพร้อมปรุงที่ผ่านการลวกเป็นเวลา 3 นาทีสามารถเก็บรักษาได้นาน 9 วัน

Cao, Xue, Liu, and Xue (2009) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ เคมีและคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของหอยนางรม (*Crassostrea gigas*) สดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 , 5 และ 0 องศาเซลเซียส พบว่า ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในตัวอย่างที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 และ 5 องศาเซลเซียส ส่วนตัวอย่างที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ค่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดจะลดลงในระหว่างการเก็บรักษาใน 4 วันแรกและจากการสังเกตช่วงแลกเฟสในระยะเวลาประมาณ 6 วัน ค่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในระหว่างการเก็บรักษาที่ 10, 5 และ 0 องศาเซลเซียส มีถึงระดับ 10^7 CFU/g ใน 6, 10 และ 18 วัน ตามลำดับ สำหรับค่า pH

จะลดลงเล็กน้อยและค่า TVB-N เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทุกชุดการทดลองในระหว่างการเก็บรักษา จากการพิจารณาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดร่วมกับการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่า สามารถเก็บรักษาหอยนางรมได้นาน 6-7 , 10-11 และ 17-18 วัน ที่อุณหภูมิ 10, 5 และ 0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

Songsaeng, Sophanodora, Kaewsrithong, and Ohshima (2010) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านเคมี จุลินทรีย์และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของหอยนางรม (*C. belcheri*) สดในระหว่างการเก็บรักษาที่สภาวะต่างกัน พบว่า หอยนางรมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น (4±2 องศาเซลเซียส) จะมีการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและจุลินทรีย์น้อยกว่าหอยนางรมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) หอยนางรมทั้งเปลือกที่เก็บในน้ำเกลือร้อยละ 2.5 จะมีอัตราการลดลงของค่า pH ที่ช้าแต่จะมีอัตราการเพิ่มขึ้นของค่า TVB-N, Total viable count (TVC) และแบคทีเรียพวก Psychrotroph ที่เร็วกว่าหอยนางรมที่เก็บรักษาในอากาศทั่วไป ในขณะที่คะแนนทางประสาทสัมผัสทุกคุณลักษณะลดลงในทุกชุดการทดลองระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาในด้านปริมาณจุลินทรีย์และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่าหอยนางรมทั้งเปลือกที่เก็บในอากาศทั่วไปที่อุณหภูมิแช่เย็นสามารถเก็บรักษาได้นาน 9 วัน หอยนางรมแกะเปลือกที่บรรจุในน้ำเกลือร้อยละ 4 จะมีค่า pH ลดลง ในขณะที่ TVB-N, TVC และแบคทีเรียพวก Psychrotroph มีค่าเพิ่มขึ้นในอัตราที่ช้ากว่าชุดการทดลองที่บรรจุในน้ำเกลือร้อยละ 2.5 และน้ำ เมื่อพิจารณาในด้านปริมาณจุลินทรีย์และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่าหอยนางรมแกะเปลือกที่บรรจุในน้ำเกลือร้อยละ 4 และเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นสามารถเก็บรักษาได้นาน 10 วัน

2.5 การบรรจุแบบดัดแปลงสภาพบรรยากาศ (Modified Atmosphere Packaging; MAP)

การบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศในบรรจุภัณฑ์เป็นการบรรจุอาหารในฟิล์มซึ่งมีความสามารถในการซึมผ่านความชื้น ออกซิเจน ไนโตรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ตามที่ต้องการ อากาศจะถูกกำจัดออกจากบรรจุภัณฑ์และแทนที่ด้วยส่วนผสมของก๊าซที่กำหนดและปิดผนึกฟิล์มด้วยความร้อน การผลิตแบบต่อเนื่องจะใช้เครื่องปิดผนึกแบบฟอร์มฟิล (Form-fill-seal) เพื่อให้มีพื้นที่รอบๆ อาหารสำหรับก๊าซ ในเครื่องที่ทำงานแบบกะจะบรรจุอาหารในถุงที่ขึ้นรูปไว้ก่อน ดูดอากาศภายในแล้วเติมก๊าซเข้าไป และปิดผนึกด้วยความร้อนตามลำดับที่ตั้งไว้ การเปลี่ยนแปลงส่วนผสมของอากาศขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้

1. อัตราการหายใจของอาหารสด อุณหภูมิในการเก็บรักษา
2. ความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำและก๊าซของบรรจุภัณฑ์
3. ความชื้นสัมพัทธ์ภายนอก ซึ่งจะมีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านฟิล์มบางชนิด
4. พื้นที่ผิวของบรรจุภัณฑ์ต่อปริมาณของอาหารบรรจุ

ในปัจจุบัน MAP ได้รับความนิยมทั้งในอุตสาหกรรมขนาดเล็กและขนาดใหญ่ สามารถใช้ร่วมกับการเก็บรักษาแบบแช่เย็น การบรรจุมีทั้งการบรรจุขนาดใหญ่ (Bulk package) และขนาดเล็กเพื่อขายปลีก (Retail package) มีต้นทุนต่ำเนื่องจากไม่ต้องควบคุมความเข้มข้นของก๊าซและบรรจุถูกนำมาประยุกต์ใช้ในอาหารหลายชนิด เพื่อที่จะควบคุมและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ (Undesirable microorganism) ทั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย (Spoilage bacteria) เช่น Pseudomonas, Enterobacteriaceae, Acinetobacter และ Moraxella (Fraser & Sumar, 1998) และแบคทีเรียก่อโรค (Pathogenic microorganism) เช่น *Listeria monocytogenes, Salmonella และ Staphylococcus aureus* (Church & Parson, 1995) โดยลดอัตราการเจริญ (Growth rate) และเพิ่มระยะเวลาในช่วงการปรับตัว (Lag phase) ของจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญ (Aerobic microorganism) ให้นานขึ้น แต่การเก็บรักษาภายใต้สภาวะนี้ จะสนับสนุนการเจริญของ Lactic acid bacteria สายพันธุ์ *Lactobacillus* spp. และอาจเสี่ยงต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค เช่น *C. botulinum* นอกจากนี้พบว่าการใช้ CO_2 ในปริมาณสูง สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียในปลาเรนโบว์เทราซ์ (Rainbow trout) (Reddy *et al*., 1994) และเนื้อปลาแฮร์ริ่ง (Herring fillets) (Molin, Stenstrom, & Ternstrom, 1983)

การบรรจุแบบสุญญากาศ

เป็นการบรรจุผลิตภัณฑ์ลงในฟิล์มที่มีความสามารถในการต้านทานการซึมผ่านของก๊าซ O_2 สูง จากนั้นดึงอากาศออกจากภาชนะบรรจุและปิดผนึกเพื่อให้บรรยากาศภายในภาชนะบรรจุมีสภาพเป็นสุญญากาศ เกิดการยุบตัวของฟิล์มรอบๆ ผลิตภัณฑ์ เนื่องจากความดันภายในภาชนะบรรจุน้อยกว่าความดันบรรยากาศภายนอก โดยปกติปริมาณ O_2 ที่อยู่ภายในภาชนะบรรจุจะน้อยกว่า 1% ที่สภาวะนี้จะสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ เช่น Pseudomonas และ Aeromonas แต่ในระหว่างการเก็บรักษาอัตราส่วนของก๊าซจะเปลี่ยนแปลงไป (Douglas & Nagel, 1967)

การบรรจุแบบเติมก๊าซผสม

การบรรจุแบบเติมก๊าซผสม (Gas packing) เป็นการบรรจุที่มีลักษณะการทำงานคล้ายกับการบรรจุแบบสุญญ ากาศ โดยทั่วไปมักนิยมใช้ก๊าซไนโตรเจน ก๊าซออกซิเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งก๊าซแต่ละชนิดมีบทบาทที่ต่างกัน

1) ก๊าซไนโตรเจน

เป็นก๊าซเฉื่อยซึ่งไม่มีผลในการเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ แม้ใช้ระดับที่ร้อยละ 100 การใช้ก๊าซไนโตรเจนมีวัตถุประสงค์ในการเป็นก๊าซเติมเต็ม (Inert filler) เพื่อป้องกันการยุบตัวของบรรจุภัณฑ์ นอกจากนี้สามารถใช้ในการแทนที่ก๊าซออกซิเจนโดยเฉพาะในสัตว์น้ำที่มีไขมันสูง

2) ก๊าซออกซิเจน

โดยทั่วไปมักหลีกเลี่ยงการใช้ก๊าซออกซิเจนในสัตว์น้ำที่มีไขมันสูง แต่อาจใช้ระดับความเข้มข้นต่ำ ทั้งในสัตว์น้ำที่มีไขมันสูงหรือต่ำ เพื่อป้องกันการเกิดสภาวะที่ไร้ออกซิเจนอย่างสมบูรณ์ เพื่อป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์จำพวก *C. botulinum* นอกจากนี้ก๊าซออกซิเจนสามารถใช้ในการรักษาสีแดงของฮีมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

3) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

เป็นก๊าซที่มีความสำคัญที่สุด เนื่องจากสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ มีคุณสมบัติในการละลายน้ำและไขมันได้สูง ซึ่งสามารถเกิดเป็นกรดคาร์บอนิก ซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชของเนื้อสัตว์น้ำ บทบาทของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการยืดอายุการเก็บรักษาพอสรุปได้ดังนี้

- กำจัดก๊าซออกซิเจนโดยการแทนที่ด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้สามารถลดหรือชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดที่ต้องการออกซิเจน ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเสื่อมเสีย
- คาร์บอนไดออกไซด์ และไบคาร์บอเนตอิออน (HCO_3) มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการซึมผ่านของเซลล์เมมเบรน
- คาร์บอนไดออกไซด์สามารถลดพีเอชภายในเซลล์จุลินทรีย์ได้ ส่งผลต่อการขัดขวางกิจกรรมเมตาบอลิซึมของเซลล์จุลินทรีย์
- คาร์บอนไดออกไซม์มีผลต่อเอนไซม์บางชนิด การเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ มีผลทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ Lag time และ Generation time ของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสาเหตุของการเน่าเสีย

ผลของการดัดแปลงสภาพบรรยากาศต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร

ในรายงานการศึกษาผลของ MAP ที่มีต่อเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเป็นจำนวนมาก เช่น เนื้อไก่และปลา (Finne, 1982; Christopher *et al*., 1980) อาหารอบ (Knorr & Tomlins, 1985; Ooraikul, 1982) ตัวอย่างอาหาร MAP ที่มีจำหน่ายในระดับอุตสาหกรรมได้แก่ เนื้อสด ปลาสด ผักผลไม้ อาหารอบกรอบ และเนยแข็ง อายุของเนื้อสดจะขยายจาก 3 วันไปเป็น 7 วัน ที่อุณหภูมิ 0-2 องศาเซลเซียส โดยการบรรจุใน 20% คาร์บอนไดออกไซด์ และ 80% ออกซิเจน หรือ 20% คาร์บอนไดออกไซด์ และ 69% ออกซิเจน และ 11% ไนโตรเจน ความเข้มข้นของออกซิเจนในทั้ง 2 บรรยากาศเพียงพอที่จะยับยั้งแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน และคงรักษาสีออกซโมโอโกลบินได้ อัตราการเกิดกลิ่นเหม็นหืนเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันก็ลดลง เนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อสุกไม่ต้องการออกซิเจนในการคงสีเอาไว้ ความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ที่สูง (90%) จะช่วยยืดอายุของผลิตภัณฑ์ได้เป็น 11 วัน

เมื่อเนื้อเยื่อปลาดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะทำให้ pH ของเนื้อปลาลดลงและเกิดน้ำซึมออกมา การลดความดันอากาศจะทำให้บรรจุภัณฑ์แฟบได้ ทั้งนี้สามารถป้องกันได้โดยเติมออกซิเจน 30% และไนโตรเจน 30% ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 10-15% จะลดการเน่าเสียในผักผลไม้สดได้ พืชผลบางชนิดสามารถทนระดับความเข้มข้นนี้ได้ เช่น สตรอเบอรี่ และผักโขม

ในขณะที่ส่วนใหญ่จะทนไม่ได้ การใช้ MAP จึงไม่เหมาะในกรณีดังกล่าว ความเข้มข้นสูงของคาร์บอนไดออกไซด์จะป้องกันการเจริญของเชื้อราและยืดอายุของผลิตภัณฑ์ไปได้ 3-6 เดือน หรืออาหารอื่นๆ เช่น ก้อนขนมปังแฮมเบอร์เกออร์ มีอายุการเก็บรักษาเพิ่มจาก 2 วันเป็น 3-4 อาทิตย์ (Guise, 1983)

พายัพ มาศนิยม, อมมี เบญจมะ และ จารุวรรณ มณีศรี (2550) ได้ศึกษาการเก็บรักษาหอยแมลงภู่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยการบรรจุภายใต้สภาพดัดแปลงบรรยากาศที่มี 80%CO_2 + 10%O_2 + 10%N_2 พบว่าสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ 12 วัน เมื่อเทียบกับในสภาพบรรยากาศปกติที่เก็บรักษาได้เพียง 6 วัน

ส่วน นิชนันท์ เธียรพัฒนะวงศ์, พรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์ และ มณฑิรา นพรัตน์ (2551) ได้ศึกษาการเก็บรักษาหอยแครงลวกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยการบรรจุภายใต้สภาพดัดแปลงบรรยากาศที่มี 60%CO_2 + 20%O_2 + 20%N_2 พบว่าสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ 21 วัน เมื่อเทียบกับในสภาพบรรยากาศปกติที่เก็บรักษาได้เพียง 4 วัน

ในขณะที่ Rutherford *et al*. (2007) ได้ศึกษาผลของการบรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศที่มี 100%CO_2 ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ในตัวอย่างกุ้งพร้อมบริโภค พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อดังกล่าวได้ถึง 15 วัน

จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญต่อการเสื่อมเสียของ สัตว์น้ำระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เย็นภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ

การจำแนกจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้สัตว์น้ำเน่าเสียตามชนิดของสารเคมีที่ผลิตสามารถกระทำได้ ดังนี้

1. จุลินทรีย์ที่สร้างฮีสตามีน สามารถที่จะเปลี่ยนฮีสติดีนเป็นฮีสตามีน เช่น *Achromobacter histamineum*

2. จุลินทรีย์สร้างแอมโมเนีย

- ใช้ยูเรียเป็นสับสเตรท เช่น *Achromobacter thalassius*, *Flavobacterium funcatum*

- ใช้ยูเรียและสารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ เช่น *Achromonobacter butyric* และพวก Micrococus

3. จุลินทรีย์ที่สร้าง TMA (Trimethylamine) เช่น Enterococci

4. จุลินทรีย์ที่สร้างสารประกอบไนโตรเจนจาก Hydroxylamine เช่น Pseudomonas

5. จุลินทรีย์สร้างสารให้กลิ่นต่างๆ เช่น *Pseudomonas* spp.

ถึงแม้ว่ามีแบคทีเรียจำนวนมากในเนื้อสัตว์น้ำ แต่อาจจะไม่มีบทบาทต่อการเน่าเสีย จุลินทรีย์พวกที่ก่อให้เกิด Off-odor และ Off-flavor ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (Chill storage) จะพบน้อยเนื่องจากมี Generation time นานที่อุณหภูมิต่ำ จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียบางชนิด มี TMAO ในเนื้อสัตว์น้ำเป็น Selective growth stimulant

จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียที่มีบทบาทสำคัญในสัตว์น้ำที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ คือ *Shewanella putrefaciens* และ *Pseudomonas* spp. สัตว์น้ำเค็มจากเขตอบอุ่นมักเน่าเสียจาก *Photobacterium phosphoreum* ส่วนแบคทีเรียแกรมบวกเป็นสาเหตุการเน่าเสียของสัตว์น้ำจืดหรือสัตว์น้ำเขตร้อนซึ่งบรรจุภายใต้สภาวะที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูง จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียของสัตว์น้ำสดและสัตว์น้ำที่ผ่านการบรรจุและเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (น้อยกว่า 4 องศาเซลเซียส) หรือเก็บรักษาน้ำแข็ง ดังแสดงในตารางที่ 2

จุลินทรีย์ก่อโรคเกิดสารระเหยมากมายหลายชนิด เช่น TMA สารประกอบซัลเฟอร์อัลดีไฮด์ คีโตน เอสเทอร์ ไฮโปแซนธีน และสารประกอบที่มีโมเลกุลต่ำอื่นๆ สับสเตรทสำคัญในการผลิตสารระเหยต่างๆ ประกอบด้วย TMAO กรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ คาร์โบไฮเดรต (เช่น ไรโบส แลกเตต) นิวคลีโอไทด์ (เช่น อินโนซีนโมโนฟอสเฟต อินโนซีน) สารประกอบซัลไฟด์และแอมโมเนีย (ตารางที่ 2)

จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสีย สามารถผลิตสารประกอบจำพวกซัลไฟด์ที่ระเหยได้ *S. putrefaciens* และ Vibrionaceae สามารถผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) จากซิสเตอีน แต่ *Pseudomonas* spp. และ *P. phosphoreum* ไม่ผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ ส่วนเมทธิลเมอร์แคปเทน (CH_3SH) และไดเมทธิลซัลไฟด์ ($(CH_3)S$) เกิดจากเมทไธโอนีน ส่วน Pseudomonas สามารถผลิตอัลดีไฮด์ คีโตน เอสเทอร์และซัลไฟด์ แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียในสัตว์น้ำหลายชนิดสามารถผลิตไฮโปแซนซีน จากอินโนซีนหรือ อินโนซีนโมโนฟอสเฟต เช่น *Pseudomonas* spp., *S. putrefaciens* และ *P. phosphoreum*

ตารางที่ 2 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียของสัตว์น้ำสดและสัตว์น้ำที่ผ่านการบรรจุซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำหรือในน้ำแข็ง

Atmosphere	Specific spoilage organisms of fresh, chilled fish		Tropical waters	
	Temperate waters		Tropical waters	
	Marine	fresh	Marine	fresh
Aerobic	*S.putrefaclens* *Pseudomonas* spp.	*Pseudomonas* spp.	*S.putrefaclens* *Pseudomonas* spp.	*Pseudomonas* spp.
Vacuum	*S.putrefaclens* *P.phosphoreum*	Gram-positive Bacteria Lactic acid Bacteria	Lactic acid Bacteria others	Lactic acid Bacteria
CO_2	*P.phosphoreum*	Lactic acid Bacteria	Lactic acid Bacteria TMAO reducing bacteria	Lactic acid Bacteria TMAO reducing bacteria

ที่มา: Gram and Huss (1996)

การตรวจสอบคุณภาพทางเคมีของ หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ ระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เย็นภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ

1. การตรวจสอบสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total volatile basic nitrogen; TVB-N)

ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) เป็นดัชนีใช้วัดความสดของสัตว์น้ำโดยตรวจวัดปริมาณสารที่เกิดจากการสลายตัวของสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด ได้แก่แอมโมเนีย, เอมีน, ไตรเมทิลเอมีน, ไดเมทิลเอมีนและสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ (นิรชา วงษ์จินดา, 2547; สวามินี ธีระวุฒิ, 2553) ซึ่งในปลาสดควรมี TVB-N 25-30 มิลลิกรัม/100 กรัมการเน่าเสียของหอยนางรมในระหว่างการเก็บรักษาอาจเกิดจากการย่อยสลายตัวเองอันเนื่องมาจากเอนไซม์ที่มีอยู่แล้วในหอยนางรมและจุลินทรีย์ในหอยนางรมใช้สารอาหารต่างๆ ในหอยด้วยการสร้างเอนไซม์มาย่อยสลายเนื้อหอยทำให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ในปริมาณมากขึ้นอีกทั้งสารประกอบที่เกิดขึ้นระหว่างการเน่าเสียถูกรีดิวซ์โดยแบคทีเรียจนได้เป็นไตรเมทิลเอมีนและแอมโมเนีย (ตรี วาทกิจ, 2552; Gram & Huss, 1996; Gram & Dalgaard, 2002)

จากการศึกษาการเก็บรักษาหอยนางรมปากจีบสดแกะเปลือก มีค่า TVB-N เริ่มต้นเท่ากับ 25-30 มิลลิกรัม/100 กรัม จากนั้นค่า TVB-N มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (8 วัน) ตัวอย่างควบคุม มีค่า TVB-N สูงที่สุดเท่ากับ 79.32 มิลลิกรัม/100 กรัม (สวามินี ธีระวุฒิ, อัครพล นางแล และ ราตรี คำหอม, 2557)

2. การตรวจสอบการหืนเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดกลิ่นหืนในสัตว์น้ำ และผลิตภัณฑ์จากสัตว์น้ำ รวมทั้งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัมผัสที่มีลักษณะเหนียวและกระด้างเพิ่มขึ้น ไขมันสัตว์น้ำสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่าย เนื่องจากประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง และมีปัจจัยภายนอก เช่น อุณหภูมิ ออกซิเจนและความเข้มแสง การตรวจสอบปฏิกิริยาออกซิเดชันในสัตว์น้ำสามารถทำได้หลายวิธี เช่น

2.1 ค่า Peroxide (PV)

ทำการสกัดไขมันจากตัวอย่างโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ แล้วจึงนำสารละลายที่ได้ไปกำจัดตัวทำละลายเพื่อให้ได้น้ำมันที่ต้องการ หลังจากนั้นจึงนำน้ำมันที่ได้มาชั่งน้ำหนักและทำละลายกับตัวทำปฏิกิริยา Potassium iodide เป็นเวลา 1 นาที เติมน้ำแป้งจะได้สีน้ำเงิน แล้วนำไปไตเตรทด้วย Sodium Thiosolfate จนกระทั่งสารละลายใสไม่มีสี

2.2 ค่า Thiobarbituric acid (TBA)

เป็นการนำตัวอย่างน้ำมันมาทำปฏิกิริยากับ TBA แล้วตรวจสอบความเข้มสีชมพู ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาระหว่าง Malonaldehyde ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ในการตรวจสอบค่า TBA จะต้องพิจารณาปัจจัยต่างๆ ดังนี้

- ในสภาวะที่มีเกลือของเหล็ก จะมีผลเร่งปฏิกิริยาดังกล่าว
- ในสภาวะที่มีสารกันหืนหรือสารจับโลหะ อาจมีผลต่อปฏิกิริยาการตรวจสอบ
- การเตรียมตัวอย่างสัตว์น้ำบางชนิด อาจจำเป็นต้องใช้กรดในการย่อยสลายตัวอย่างเพื่อให้มีการปลดปล่อยไขมันได้เพิ่มขึ้น
- สารเคมีที่เคยใช้แล้ว เช่น กรดอะซิติก อาจประกอบด้วยสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับ TBA ในปริมาณสูง

บทที่ 3
วิธีการวิจัย

วัตถุดิบ

หอยนางรมหรือหอยตะโกรมขาว (*Crassostrea belcheri*) สดทั้งเปลือกอายุประมาณ 2 ปี ขนาดน้ำหนักเฉลี่ยทั้งเปลือก 300-350 กรัม ความยาวเฉลี่ย 13-15 เซนติเมตร น้ำหนักเนื้อหอยเฉลี่ย 25-30 กรัม จากแหล่งเพาะเลี้ยงในอ่าวบ้านดอน ในพื้นที่อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี ถูกบรรจุในลังโฟม และ ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขต สุราษฎร์ธานี ภายในเวลา 1 ชั่วโมงเพื่อทำการทดลองต่อไป

การเตรียมตัวอย่างหอยนางรม

นำหอยนางรมทั้งเปลือกล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา เพื่อกำจัดดินโคลนและตัวเพลียงออกจากส่วนเปลือก จากนั้นนำหอยนางรมลงลวกในน้ำเดือด (อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 1 นาที (ไพรัตน์ โสภโณดร และ พลรัตน์ ขวัญรอด , 2554) แล้วยกลงแช่ในอ่างน้ำเย็นทันที (อุณหภูมิ 0-2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 2 นาที ยกวางให้สะเด็ดน้ำบนตะแกรง ประมาณ 5 นาที แกะเนื้อหอยออกจากส่วนของเปลือกโดยใช้ค้อนช่วย ล้างทำความสะอาดเนื้อหอยด้วยน้ำสะอาด เพื่อเอาเศษเปลือกหอยและเมือกที่ติดมาแล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น ได้แก่ *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus, Salmonella* sp., *S. aureus*, *E. coli* และ Coliform bacteria จากนั้นจุ่มเนื้อหอยในน้ำผสมคลอรีน 2 ครั้ง ที่ความเข้มข้น 50 ppm และ 10 ppm ตามลำดับ ทิ้งให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 2 นาที สุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *L. monocytogenes* (BAM, 2001) แล้วจึงนำเนื้อหอยนางรมไปทดลองต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การทดลองที่ 1 การศึกษาการทนต่อความร้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์

1.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำลายเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์

วิธีการทดลอง

เติมสารละลายที่มีเชื้อ *L. monocytogenes* บริสุทธิ์ลงไปในเนื้อหอยนางรมโดยวิธีการฉีดในอัตราส่วน 1: 100 มิลลิลิตรต่อกรัมตัวอย่า ง จากนั้น บรรจุเนื้อหอยนางรมในถุง Nylon/Polypropylene ถุงละ 1 ตัว ปิดผนึก นำไปบ่มที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เพื่อให้ได้เชื้อ *L. monocytogenes* ปริมาณ 10^7-10^9 CFU/g (ตารางผนวกที่ 1) ต่อจากนั้นใช้เทอร์

โมคัปเปิลเสียบให้ปลายเข็มของเทอร์โมคัปเปิลอยู่ในตำแหน่งที่ร้อนช้าที่สุด คือ ตำแหน่ง Adductor muscle (Dorsal) นำหอยไปพาสเจอร์ไรส์ โดยใช้อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่ 6 ระดับอุณหภูมิคือ 57.5, 60.0, 62.5, 65.0, 67.5 และ 70.0 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ ดังต่อไปนี้

อุณหภูมิในการให้ความร้อน (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการให้ความร้อน (นาที)
57.5	5, 10, 15, 20, 25
60.0	5, 7.5, 10, 12.5, 15
62.5	0.5, 1, 1.5, 2, 2.5
65.0	0.5, 1, 1.5, 2, 2.5
67.5	0.5, 1, 1.5, 2, 2.5
70.0	0.25, 0.5, 0.75, 1.0

และทำการบันทึกข้อมูลการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิของตัวอย่างทุกๆ 1 นาที ตั้งแต่เริ่มแช่ตัวอย่างในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) จนกว่าจะได้อุณหภูมิตามที่กำหนด (ทำ 3 ซ้ำ ในแต่ละอุณหภูมิ) จากนั้นเอาตัวอย่างออกจากอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) แล้วนำมาแช่น้ำเย็นทันที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นวางให้สะเด็ดน้ำประมาณ 5 นาที ทำการวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ที่หลงเหลือหลังการพาสเจอร์ไรส์ ดังแสดงวิธีการในภาคผนวก ค.4 แล้วจึงนำไปหาค่า D-value และ Z-value ของแต่ละอุณหภูมิที่ใช้ในการพาสเจอร์ไรส์หอยนางรม เพื่อใช้สำหรับการเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหลังการพาสเจอร์ไรส์ต่อไป

1.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์หอยนางรม

วิธีการทดลอง

นำเนื้อหอยนางรมที่ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่สภาวะต่างๆ ดังในการทดลองที่ 1.1 โดยใช้ 6D process ในการเตรียมตัวอย่าง ซึ่งแบ่งชุดการทดลองได้ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 57.5 องศาเซลเซียส
ชุดการทดลองที่ 2 หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60.0 องศาเซลเซียส
ชุดการทดลองที่ 3 หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 62.5 องศาเซลเซียส
ชุดการทดลองที่ 4 หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65.0 องศาเซลเซียส
ชุดการทดลองที่ 5 หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 67.5 องศาเซลเซียส
ชุดการทดลองที่ 6 หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 70.0 องศาเซลเซียส

จากนั้นนำไปศึกษาคุณภาพด้านต่างๆ ดังนี้

1.2.1 คุณภาพทางกายภาพ

- ร้อยละของการสูญเสียน้ำหนัก (%Cooking loss) ดังแสดงวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวกที่ ค.1
- ลักษณะเนื้อสัมผัส ทำการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Texture analyzer (Amanatidou *et al*., 2000) ดังแสดงในภาคผนวกที่ ค.2
- ค่าสี L*, a*, b* ทำการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง colorimeter (Precise Color Reader, SC80B, China) ดังแสดงในภาคผนวกที่ ค.3

1.2.2 คุณภาพทางเคมี

- ค่าความเป็นกรด-ด่าง ทำการวิเคราะห์โดยใช้วิธีของ Songsaeng *et al*. (2010) ดังแสดงในภาคผนวกที่ ง.1
- ค่าความชื้น ทำการวิเคราะห์โดยวิธีของ AOAC (2000) ดังแสดงในภาคผนวกที่ ง.2

1.2.3 คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ทำการวิเคราะห์โดยวิธีของ BAM (2001) ดังแสดงในภาคผนวกที่ ง. 3

1.2.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของหอยนางรมที่ผ่านการให้ความร้อนโดยการพาสเจอร์ไรส์และผ่านการทดสอบทางจุลินทรีย์ว่าอยู่ในระดับปลอดภัย คือ ต้องไม่เกิน 10^6 โคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ , 2553) คุณภาพทางประสาทสัมผัสที่ทดสอบ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัสและความยอมรับรวม ประเมินความชอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้ 9-point hedonic scale (คะแนนเท่ากับ 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด และคะแนนเท่ากับ 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด) โดยใช้ผู้ทด สอบซึ่งเป็นนักศึกษาและบุคลากรในสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานีที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 35 คน

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อหอยนางรมในด้านต่างๆ เพื่อนำไปพิจารณาคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์เนื้อหอยนางรมเพียง 1 สภาวะ จะได้ใช้ในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการศึกษาผลของการ เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นและการ บรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ในระหว่างการเก็บรักษาต่อไป

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการบรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น

วิธีการทดลอง

นำเนื้อหอยนางรม ที่ผ่านการ พาสเจอร์ไรส์ในสภาวะที่คัดเลือก จากการทดลองที่ 1 มาจัดเรียงบรรจุในถุง Nylon/Polypropylene ขนาด 5 x 7 นิ้ว โดยรองด้วยถาดโฟม ถุงละ 4 ตัว แล้วนำมาบรรจุด้วยสภาวะต่าง ๆ ซึ่งแบ่งออกเป็น 5 ชุดการทดลองดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์บรรจุด้วยอากาศปกติ (Control)

ชุดการทดลองที่ 2 หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์บรรจุด้วย 75% CO_2 + 25% N_2 (MAP-1)

ชุดการทดลองที่ 3 หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์บรรจุด้วย 75% CO_2 + 25% O_2 (MAP-2)

ชุดการทดลองที่ 4 หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์บรรจุด้วย 75% CO_2 + 5% O_2 + 20% N_2 (MAP-3)

ชุดการทดลองที่ 5 หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์บรรจุด้วยสุญญากาศ (VP)

จากนั้นนำตัวอย่างไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น (4±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 27 วัน โดยทำการสุ่มตัวอย่างทุก 3 วัน เพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และลักษณะทางประสาทสัมผัส ได้แก่

2.1 คุณภาพทางกายภาพ

- ลักษณะเนื้อสัมผัส ทำการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Texture analyzer (Amanatidou *et al.,* 2000) ดังแสดงในภาคผนวกที่ ค.2
- ค่าสี L, a, b ทำการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง colorimeter (Precise Color Reader, SC80B, China) ดังแสดงในภาคผนวกที่ ค.3

2.2 คุณภาพทางเคมี

- ค่าความเป็นกรด-ด่าง ทำการวิเคราะห์โดยวิธีของ Songsaeng *et al*. (2010) ดังแสดงในภาคผนวกที่ ง.1
- ค่าความชื้น ทำการวิเคราะห์โดยวิธีของ AOAC (2000) ดังแสดงในภาคผนวกที่ ง.2
- ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total Volatile Basic Nitrogen, TVB-N) ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีการของ Malle and Poumeyrol (1989) ดังแสดงในภาคผนวกที่ ง.3
- ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxdied, PV) ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีการของ AOAC (1998) ดังแสดงในภาคผนวกที่ ง.5

- ค่า Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีการของ Buege and Aust (1978) ดังแสดงในภาคผนวกที่ ง.6

2.3 คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีการของ BAM (2001) ดังแสดงในภาคผนวกที่ จ.3
- ปริมาณจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์ ได้แก่ Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* spp., Lactic acid bacteria ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีการของ Radna Krishnan *et al*. (2014) และ Hydrogen sulfide ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีการของ Amanatidou *et al*. (2000) ดังแสดงในภาคผนวกที่ จ.5 ทำการวิเคราะห์ผลในวันที่ 0, 6, 9, 15, 21 และ 24 ของการเก็บรักษา

2.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

คุณภาพทางประสาทสัมผัสที่ทดสอบ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ, สี, กลิ่น, รสชาติ, เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ประเมินโดยการใช้ 9-point hedonic scale กับผู้ทดสอบซึ่งเป็นนักศึกษาและบุคลากรในสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 35 คน โดยในการทดสอบทางประสาทสัมผัส ด้านรสชาติ จะทดสอบเฉพาะตัวอย่างที่มี ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ในการวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) ในการวิเคราะห์คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองโดยใช้วิธี Duncan’s Multiple Range Test (DMRT) จากโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Window Version 16 (Chicago, IL)

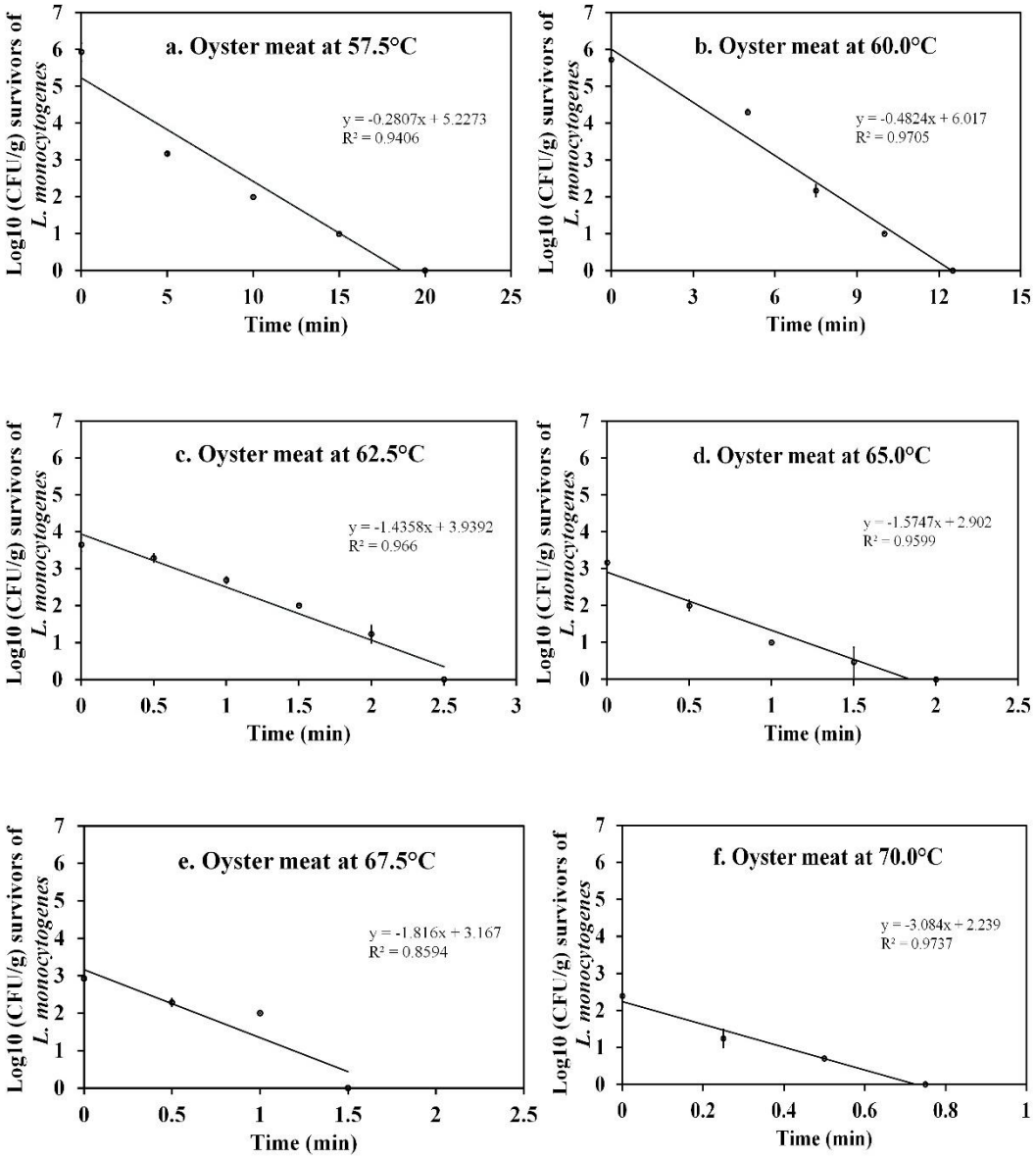
บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การศึกษาการทนต่อความร้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์

1.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำลายเชื้อ *L.monocytogenes* ในเนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์

ภายหลังการแกะเปลือกหอยนางรมด้วยวิธีการลวกในน้ำเดือดเป็นเวลา 1 นาที ล้างทำความสะอาดเนื้อหอยด้วยน้ำสะอาด เพื่อเอาเศษเปลือกหอยและเมือกที่ติดมาแล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus, Salmonella* sp., *S. aureus*, *E. coli* และ Coliform bacteria เริ่มต้นในเนื้อหอยนางรม พบว่ามีปริมาณเท่ากับ น้อยกว่า 10 CFU/g, น้อยกว่า 10 CFU/g, ไม่พบในอาหาร 25 กรัม, น้อยกว่า 10 CFU/g, น้อยกว่า 1.8 MPN/g และ น้อยกว่า 1.8 MPN/g ตามลำดับ และเมื่อนำเนื้อหอยนางรมจุ่มล้างต่อด้วยน้ำคลอรีนที่ความเข้มข้น 50 ppm และ 10 ppm ตามลำดับ แล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อเริ่มต้น พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ $5x10^2$ CFU/g และไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* เริ่มต้นในเนื้อหอยนางรม

ในการศึกษา อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการพาสเจอร์ไรส์หอยนางรมให้ปลอดภัยโดยจะใช้เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *L. monocytogenes* เป็นเชื้อทดสอบ เนื่องจาก *L. monocytogenes* เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิด โรค Listeriosis โดยผู้ป่วยมักมีอาการคล้ายไข้หวัดใหญ่ อาจมีโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหารร่วมด้วยในบุคคลที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ เช่น สตรีมีครรภ์ ทารก ผู้ป่วยโรคมะเร็ง ภูมิคุ้มกันบกพร่อง คนชรา ถ้าได้รับเชื้ออาจมีอาการรุนแรงถึงแก่ชีวิต เนื่องจากเกิดโรคแทรกซ้อน เช่น เยื่อหุ้มสมองอักเสบ หรือโรคเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ เป็นต้น (Ryser & Marth, 1991) *L. monocytogenes* จึงถูกใช้เป็นตัวกำหนดคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์วิทยาของผลิตภัณฑ์พร้อมบริโภค ทั้งนี้ เนื่องจากสามารถต้านทานความร้อนสูงกว่าแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคชนิดอื่นๆ ที่ไม่สร้างสปอร์ (Bean and Griffin, 1990; D'Sa et al., 2000) ดังนั้นการใช้อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์ จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเหลือรอดของเชื้อดังกล่าว จากผลการทดลองพบว่า เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้นจะใช้ระยะเวลาสั้นลงกว่าที่อุณหภูมิต่ำในการทำลายเชื้อดังกล่าว ดังแสดงในภาพที่ 2 จากกราฟดังกล่าวสามารถหา ค่าความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ หรือ Decimal reduction time (D-value) ได้โดยที่ค่า D-value คือระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายจุลินทรีย์จำนวนหนึ่งให้ลดลง 90% หรือ 1 log cycle ที่ระดับอุณหภูมิใดอุณหภูมิหนึ่ง คำนวณได้จากความชันของสมการเส้นตรงจากกราฟการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ระหว่างค่า log ของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตหลังการให้ความร้อน (log CFU/g) กับเวลา โดยที่ ค่า D = -1/slope



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ที่เหลือรอดระหว่างการพาสเจอร์ไรส์หอยนางรมและเวลาที่อุณหภูมิต่าง ๆ
เวลาที่ 0 คือ เวลาเริ่มต้นในการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ที่เหลือรอดเมื่อความร้อนถึงระดับอุณหภูมิที่กำหนด

พบว่าค่า D-value ของเชื้อ *L. monocytogenes* ที่อุณหภูมิ 57.5, 60.0, 62.5, 65.0, 67.5 และ 70.0 องศาเซลเซียส เท่ากับ 3.56, 2.07, 0.70, 0.64, 0.55 และ 0.33 นาที ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่าค่า D-value ของเชื้อ *L. monocytogenes* ลดลงเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเกิดจากการที่เซลล์ของจุลินทรีย์ถูกทำลาย สอดคล้องกันกับ

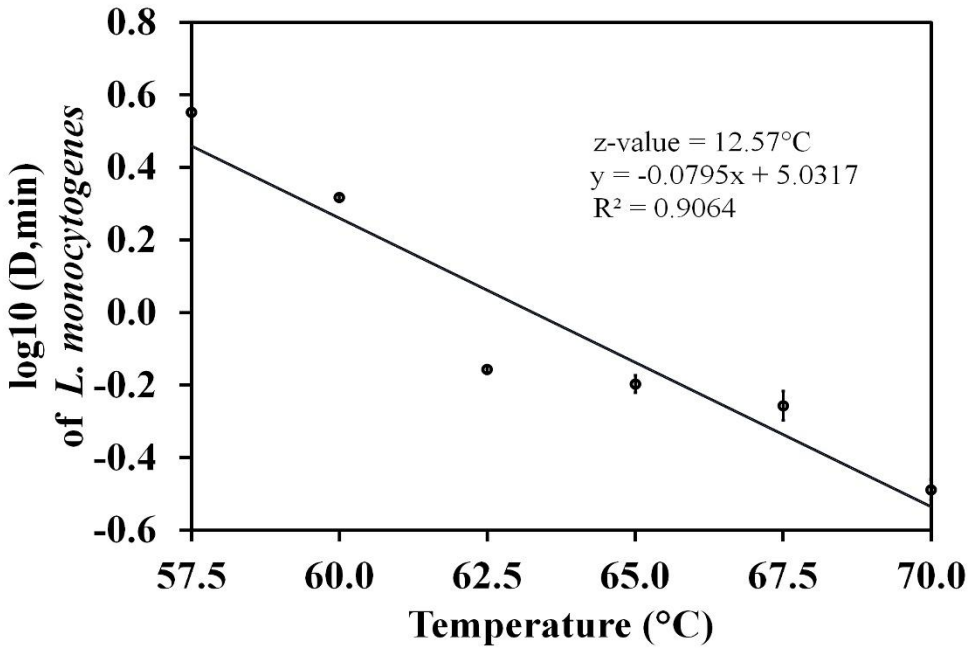
กระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิในการให้ความร้อนต่ำ จะใช้เวลาในการทำลายเชื้อที่นานขึ้น (Low Temperature Long Time) และเมื่ออุณหภูมิในการให้ความร้อนสูง จะใช้เวลาในการทำลายเชื้อที่สั้นลง (High Temperature Short Time)

ตารางที่ 3 ค่า D-value ของ *L. monocytogenes* ในการพาสเจอร์ไรส์หอยนางรมที่อุณหภูมิต่าง ๆ

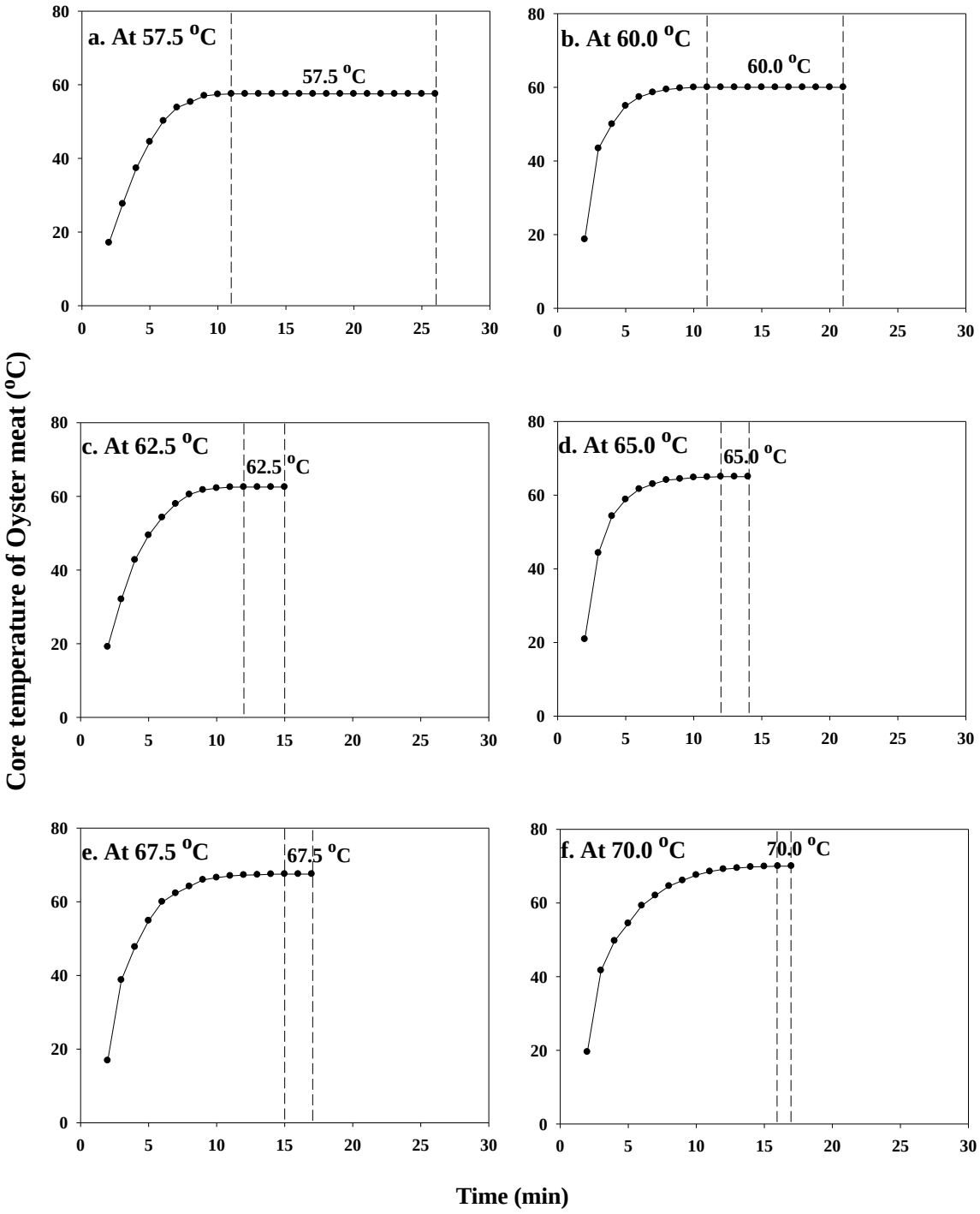
อุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์ (องศาเซลเซียส)	D-value (นาที)
57.5	3.56±0.12
60.0	2.07±0.04
62.5	0.70±0.02
65.0	0.64±0.03
67.5	0.55±0.05
70.0	0.33±0.02

จากการศึกษาความสามารถในการต้านทานความร้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ที่อุณหภูมิ 57.5-70.0 องศาเซลเซียส สามารถใช้ นำไป คำนวณหาช่วงอุณหภูมิที่ใช้ในการทำลายจุลินทรีย์ โดยทำให้ค่า Thermal death time ลดลงหรือเพิ่มขึ้น 90% หรือ 1 log cycle (Z-value) จากการคำนวณหาค่า Z-value ของเชื้อ *L. monocytogenes* พบว่ามีค่าเท่ากับ 12.57 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 3

จาก การบันทึกการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิภายในเนื้อหอยนางรมระหว่างการพาสเจอร์ไรส์ โดยอุณหภูมิเริ่มต้นของเนื้อหอยนางรมอยู่ในช่วง 17.08-20.86 องศาเซลเซียส และบันทึกจนกว่าจะให้ความร้อนในการพาสเจอร์ไรส์จนเสร็จสมบูรณ์ ในแต่ละระดับอุณหภูมิได้แก่ 57.5, 60.0, 62.5, 65.0, 67.5 และ 70.0 องศาเซลเซียส นั้น พบว่าใช้ระยะเวลาเท่ากับ 26, 21, 15, 14, 17 และ 17 นาที ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4 จากภาพแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นจำเป็นต้องใช้เวลาในการให้ความร้อนที่นานขึ้นเพื่อให้ได้ระดับความร้อนตามที่กำหนดไว้ แต่ระดับความร้อนที่สูงขึ้นทำให้ความสามารถในการต้านทานความร้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ลดลง ทำให้ช่วงเวลาในการทำลายเชื้อในระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้น มีช่วงที่แคบลง ซึ่งมีระยะเวลาเป็น 15, 10, 2.5, 2, 2 และ 0.75 นาที ตามลำดับ



ภาพที่ 3 ค่า Z-value ในผลิตภัณฑ์เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์



ภาพที่ 4 ระยะเวลาในการให้อุณหภูมิในผลิตภัณฑ์เนื้อหอยนางรมตั้งแต่เริ่มกระบวนการจนสิ้นสุดกระบวนการพาสเจอร์ไรส์

1.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์หอยนางรม

ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์หอยนางรม ได้จากการนำเนื้อหอยนางรมที่ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ จากการทดลองที่ 1.1 โดยใช้ 6D process ในการเตรียมตัวอย่าง แล้วนำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่า

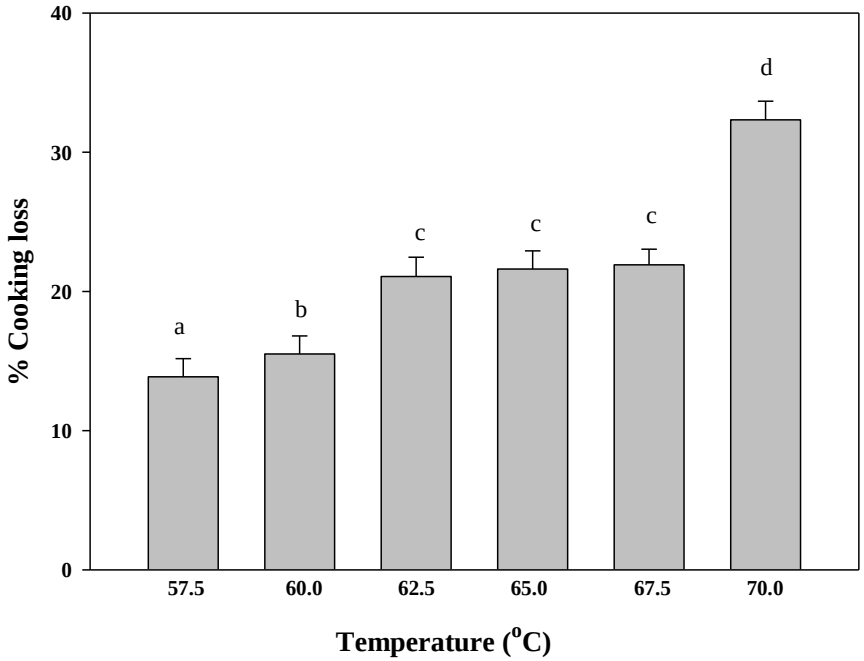
1.2.1 คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าร้อยละของการสูญเสียน้ำหนัก (%Cooking loss)

จากการพาสเจอร์ไรส์เนื้อหอยนางรมในสภาวะ อุณหภูมิ ต่างๆ ที่สามารถทำลายเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ พบว่าค่าร้อยละของการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่อุณหภูมิ 57.5, 60.0, 62.5, 65.0, 67.5 และ 70.0 องศาเซลเซียส มีค่าร้อยละของการสูญเสียน้ำหนักเฉลี่ยเป็น 13.87, 15.51, 21.07, 21.61, 21.91 และ 32.33 ตามลำดับ ดังภาพที่ 5 การเพิ่มอุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์ ทำให้เนื้อหอยนางรมได้รับความร้อนที่สูงขึ้น และความร้อนจะเข้าไปทำให้โปรตีนในเนื้อหอยนางรมเกิดการเสียสภาพ (Denaturization) เกิดการคลายตัว (Unfolding) และมีการจับตัวกันเป็นก้อนของโปรตีน (Coagulation) ส่งผลให้เกิดการสูญเสียคุณสมบัติในการอุ้มน้ำ จึงทำให้มีน้ำไหลออกมาจากเนื้อของหอยนางรม (นิชนันท์ เธียรพัฒนะวงศ์ และคณะ, 2550)

- ลักษณะเนื้อสัมผัส

จากการทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture analyzer เลือกชนิดของการทดสอบเป็น Cutting strength โดยกำหนดระยะในการตัดเท่ากับ 5 มิลลิเมตร ใช้ความเร็วในการตัด 12 มิลลิเมตร/นาที และใช้แรงการตัด 5 นิวตัน ในเนื้อหอยนางรมทุกสภาวะของการพาสเจอร์ไรส์ ซึ่งกำหนดตำแหน่งในการตัดออกเป็นสองตำแหน่งในเนื้อหอยนางรม 1 ตัว ได้แก่ ตำแหน่ง บริเวณเนื้อเยื่อ (Oyster tissue; ventral) ดังแสดงในภาพที่ 6a และตำแหน่งบริเวณกล้ามเนื้อ (Adductor muscle; dorsal) ดังแสดงในภาพที่ 6b พบว่าทั้งสองตำแหน่งใช้แรงในการตัดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่ออุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์สูงขึ้น โดยที่ระดับอุณหภูมิ 67.5 และ 70.0 องศาเซลเซียส ในตำแหน่ง a ใช้แรงในการตัดลดลงที่ไม่แตกต่างกัน และในตำแหน่ง b ที่ระดับอุณหภูมิ 62.5, 65.0 และ 67.5 องศาเซลเซียส ใช้แรงในการตัดลดลงที่ไม่แตกต่างเช่นเดียวกัน แสดงว่าความสามารถในการตัดง่ายขึ้นเมื่อเนื้อหอย นางรมได้รับความร้อนในระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้น เนื่องจากโปรตีนเกิดการเสียสภาพมากขึ้น



ภาพที่ 5 ค่าร้อยละของการสูญเสียน้ำหนัก (%Cooking loss) ในผลิตภัณฑ์เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ในแต่ละสภาวะของการพาสเจอร์ไรส์

- ค่าสี (Color)

จากการ ตรวจวัด ค่าสีในเนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่สภาวะ อุณหภูมิ ต่างๆ ด้วยเครื่อง Colorimeter แสดงผลดังภาพที่ 7 โดยค่า L* บ่งบอกถึงความสว่างและความมืดของตัวอย่าง โดยที่ L เข้าใกล้ 100 แสดงว่าในตัวอย่างนั้นมีความสว่างมาก และตัวอย่างจะมีความมืดคล้ำเพิ่มมากขึ้นเมื่อค่า L เข้าใกล้ 0 ในเนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่สภาวะต่างๆ มีการทดสอบค่าสี 2 ตำแหน่ง เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพด้านสีของผลิตภัณฑ์หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ ในบริเวณที่เป็นส่วนของเนื้อเยื่อ (Oyster tissue; ventral) (ภาพที่ 7a) และบริเวณที่เป็นส่วนของกล้ามเนื้อ (Adductor muscle; dorsal) (ภาพที่ 7b) พบว่า ในตำแหน่ง a เมื่อมีการปรับเปลี่ยนสภาวะการพาสเจอร์ไรส์ตามระดับอุณหภูมิเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าความสว่างมีแนวโน้มที่ลดลง อยู่ในช่วง 54.76-60.63 โดยที่อุณหภูมิ 57.5 และ 60.0 องศาเซลเซียส มีการลดลงที่ไม่แตกต่างกัน และอุณหภูมิ 65.0 และ 67.5 องศาเซลเซียส มีการลดลงที่ไม่แตกต่างเช่นเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) เนื้อหอยมีลักษณะคล้ำขึ้นในตำแหน่ง b เมื่อมีการปรับเปลี่ยนสภาวะการพาสเจอร์ไรส์ตามระดับอุณหภูมิเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าความสว่างมีแนวโน้ม ลดลงเช่นเดียวกัน อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่า a* บ่งบอกถึงการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นสีแดง (+a) และสีเขียว (-a) ในตำแหน่ง a มีแนวโน้มลดลงอยู่ในช่วง (-0.63)-(-3.42) โดยที่อุณหภูมิ 62.5 และ 65.0 องศาเซลเซียส มีการลดลงที่ไม่แตกต่างกันเนื้อหอยนางรมมีลักษณะเขียวขึ้น เมื่อมีการปรับเปลี่ยน

สภาวะการพาสเจอร์ไรส์ตามระดับอุณหภูมิเพิ่มขึ้น ในตำแหน่ง b ค่า a* มีแนวโน้มลดลงอยู่ในช่วง 0.88-2.21 ซึ่งเป็นการลดลงที่เข้าใกล้การเปลี่ยนแปลงไปเป็นสีเขียว เนื้อหอยจึงมีลักษณะเขียวคล้ำเพิ่มขึ้นตามระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้นด้วยเช่นเดียวกัน จากการทดลองจะเห็นได้ว่าในส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อจะมีสีเขียวคล้ำมากกว่าส่วนของ Adductor เมื่อได้รับความร้อน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากภายในส่วนเนื้อเยื่อนั้นประกอบไปด้วยอวัยวะภายในสำคัญมากมายซึ่งอาจมีรงควัตถุที่มีคอปเปอร์เป็นองค์ประกอบ เมื่อคอปเปอร์ได้รับความร้อนจะทำปฏิกิริยาเกิดเป็นสารฮีโมไซยานิน ทำให้เกิดเป็นสีเขียวคล้ำมากขึ้น ในขณะที่ส่วนของ Adductor มีไกลโคเจนเป็นองค์ประกอบ ทำให้ไม่เกิดการสร้างสารสีเขียว

การเปลี่ยนแปลงค่า b* บ่งบอกถึงการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นสีเหลือง (+b) และสีน้ำเงิน (-b) ทั้งในตำแหน่ง a และ b มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของระดับอุณหภูมิ อยู่ในช่วง 4.03-9.25 ในตำแหน่ง a ค่า b* ที่อุณหภูมิ 60.0 และ 62.5 องศาเซลเซียส มีการเพิ่มขึ้นที่ไม่แตกต่างกัน และในตำแหน่ง b ค่า b* มีการเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 8.07-11.81 แสดงให้เห็นว่าการปรับเปลี่ยนสภาวะการพาสเจอร์ไรส์ตามระดับอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น เนื้อหอยมีลักษณะการเปลี่ยนแปลงไปทางสีเหลือง

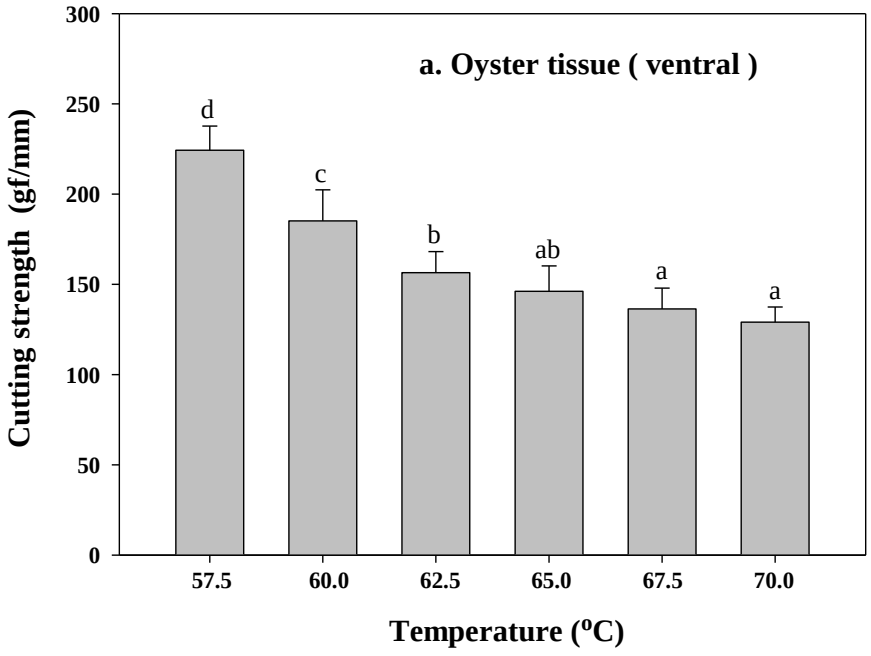
1.2.2 คุณภาพทางเคมี

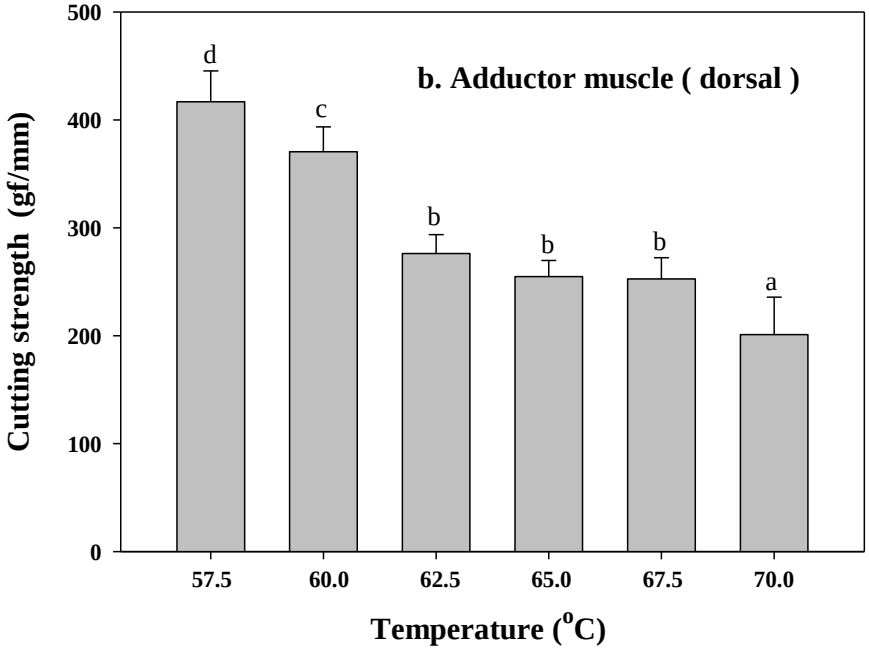
- ค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการศึกษาความแตกต่างของอุณหภูมิและเวลาในการพาสเจอร์ไรส์เนื้อหอยนางรม พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วง 6.18 - 6.22 ดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของความร้อนไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในเนื้อหอยได้

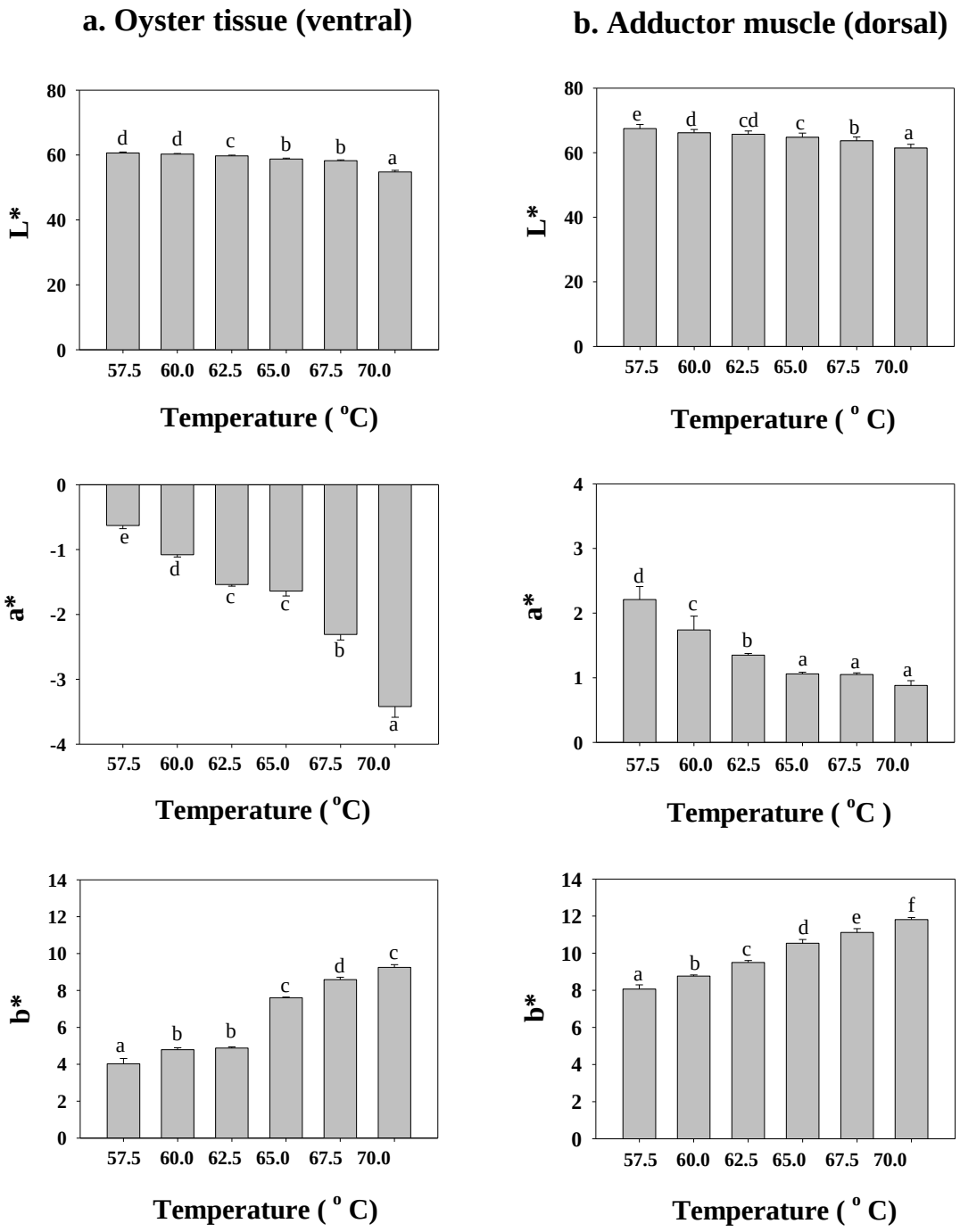
- ค่าความชื้น

จากการศึกษาค่าความชื้นในเนื้อหอยนางรมแต่ละสภาวะ พบว่าเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ ในการพาสเจอร์ไรส์ จะส่งผลให้ค่าความชื้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงที่แปรผกผันกับค่าร้อยละของการสูญเสียน้ำหนัก โดยที่อุณหภูมิ 65.0 และ 67.5 องศาเซลเซียส มีค่าที่ไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างกันกับอุณหภูมิ 57.5, 60.0, 62.5 และ 70.0 องศาเซลเซียสดังแสดงในตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่าเมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิของการพาสเจอร์ไรส์ ความร้อนจะเข้าไปทำให้โปรตีนในกล้ามเนื้อเกิดการคลายตัว (Unfolding) มีการจับตัวกันเป็นก้อนของโปรตีน (Coagulation) ส่งผลให้เกิดการสูญเสียคุณสมบัติในการอุ้มน้ำ จึงทำให้มีน้ำไหลออกมาจากเนื้อ (นิชนันท์ เธียรพัฒนะวงศ์ และคณะ, 2550) ขณะที่น้ำถูกดึงออกมา มีผลทำให้ความชื้นในผลิตภัณฑ์ลดลง





ภาพที่ 6 ค่า Cutting strength ในผลิตภัณฑ์เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ในแต่ละสภาวะของการพาสเจอร์ไรส์



ภาพที่ 7 ค่าสี (L*, a* และ b*) ในผลิตภัณฑ์เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ในแต่ละสภาวะของการพาสเจอร์ไรส์

1.2.3 คุณภาพทางจุลชีววิทยา

จากการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อหอยนางรมแต่ละสภาวะที่ทำการพาสเจอร์ไรส์ พบว่าไม่พบจุลินทรีย์ที่เหลือรอดในเนื้อหอยนางรม (ตารางที่ 4) เนื่องจากสภาวะที่ถูกคัดเลือกมา

นั้นเป็นสภาวะที่ผ่านการทดลองแล้วว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่ไม่สร้างสปอร์ที่มีความทนทานต่อความร้อนมากที่สุด ดังนั้นหากสามารถทำลายเชื้อ *L. monocytogenes* ได้หมด ก็จะสามารถทำลายเชื้อก่อโรคอื่น ๆที่ไม่สร้างสปอร์ได้ด้วย

ตารางที่ 4 ผลของอุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์เนื้อหอยนางรมต่อค่าความเป็นกรด-ด่างความชื้น และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

Temperature (°C)	pH	% Moisture	TVC (CFU/g)
57.5	6.19±0.04[a]	75.24±0.22[a]	Not detected
60.0	6.19±0.03[a]	73.29±0.14[b]	Not detected
62.5	6.22±0.09[a]	72.48±0.06[c]	Not detected
65.0	6.18±0.07[a]	70.49±0.51[d]	Not detected
67.5	6.19±0.01[a]	69.02±0.11[d]	Not detected
70.0	6.19±0.03[a]	63.40±0.69[e]	Not detected

[a-e] Means without same superscripts in a column within a treatment are different *($p<0.05$).*

1.2.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

จากการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ด้วยวิธี Hedonic scale โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 35 คน ตัวอย่างแบ่งออกเป็น 6 ชุดของการทดลอง จำแนกตามสภาวะของการพาสเจอร์ไรส์ ได้แก่ ที่อุณหภูมิ 57.5, 60.0, 62.5, 65.0, 67.5 และ 70.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ พบว่าคะแนนความชอบทั้งด้านกลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมไม่ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\geq0.05$) ในขณะที่ลักษณะปรากฏ โดยเฉพาะด้านสีและความหดตัวของตัวอย่างหอย ที่อุณหภูมิ 57.5 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างจากสภาวะที่ใช้อุณหภูมิ 65, 67.5 และ 70 องศาเซลเซียส ซึ่งที่อุณหภูมิ 57.5 องศาเซลเซียส มีค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบลักษณะปรากฏสูงที่สุด (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเนื้อหอยนางรมที่ผ่านการพาสเจอไรส์ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

Temperature (°C)	Appearance score	Odor score	Taste score	Texture score	Overall liking score
57.5	7.44±1.23[c]	6.76±1.36[a]	6.88±1.33[ab]	6.68±1.41[a]	7.20±1.12[a]
60.0	6.84±0.80[abc]	7.00±1.04[a]	6.80±1.63[ab]	7.00±1.00[a]	7.24±0.88[a]
62.5	7.04±1.27[bc]	7.04±1.06[a]	6.72±1.21[ab]	6.84±0.99[a]	7.28±0.98[a]
65.0	6.24±1.27[a]	6.60±1.53[a]	6.72±1.49[ab]	6.84±0.80[a]	6.92±1.00[a]
67.5	6.52±1.29[ab]	6.96±1.14[a]	6.64±1.15[a]	6.68±0.99[a]	6.88±1.13[a]
70.0	6.48±1.42[ab]	7.04±0.73[a]	7.44±1.36[b]	6.96±0.98[a]	7.12±0.93[a]

[a-c] Means without same superscripts in a column within a treatment are different (*p<0.05*).

จากผลการทดสอบคุณภาพด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และการยอมรับทางด้านคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างหอยนางรมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน เมื่อเปรียบเทียบคุณภาพในด้านดังกล่าวแล้ว ชุดการทดลองที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 57.5 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่จะนำไปเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและอายุการเก็บรักษาภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศต่อไป

การทดลองที่ 2 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาเนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์โดยการแช่เย็นภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ

ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของเนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่ต่างกันทั้ง 5 สภาวะ ได้แก่ การบรรจุด้วยอากาศปกติ (Control) การบรรจุด้วยการดัดแปลงสภาพบรรยากาศ (75% CO_2 + 25% N_2 (MAP-1), 75% CO_2 + 25% O_2 (MAP-2), 75% CO_2 + 5% O_2 + 20% N_2 (MAP-3)) และการบรรจุด้วยสภาวะสุญญากาศ (VP) ที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 27 วัน โดยทำการสุ่มตัวอย่างทุก 3 วัน เพื่อวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่า

2.1 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพ

- ลักษณะเนื้อสัมผัส

จากการทดสอบ ลักษณะเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture analyzer เลือกชนิดของการทดสอบเป็น Cutting strength โดยกำหนดระยะในการตัดเท่ากับ 5 มิลลิเมตร ใช้ความเร็วในการตัด 12 มิลลิเมตร/นาที และใช้แรงการตัด 5 นิวตัน ในเนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ ภายใต้สภาวะการเก็บรักษาต่าง ๆ ซึ่งกำหนดตำแหน่งในการตัดออกเป็นสองตำแหน่งในเนื้อหอยนางรม 1 ตัว ได้แก่ ตำแหน่งบริเวณเนื้อเยื่อ (Oyster tissue; ventral) ดังแสดงในภาพที่ 8a และตำแหน่งบริเวณ

กล้ามเนื้อ (Adductor muscle; dorsal) ดังแสดงในภาพที่ 8b พบว่าค่า Cutting strength ของตัวอย่างทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลง ($p<0.05$) เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น โดยที่แรงที่ใช้ในการตัดเนื้อหอยนางรมในตำแหน่ง Ventral จะใช้น้อยกว่าตำแหน่ง Dorsal ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบค่า Cutting strength ในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในชุดการทดลองของการบรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศและสุญญากาศ แต่สำหรับตัวอย่างชุดควบคุมนั้นมีการใช้แรงลดลงมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ ที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาเท่ากัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากเริ่มมีการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดที่ผลิตเอนไซม์เพื่อย่อยสลายโปรตีนขึ้นทำให้เนื้อสัมผัสอ่อนนิ่มจนถึงเละมากขึ้น ส่งผลให้สามารถใช้แรงในการตัดน้อยลง

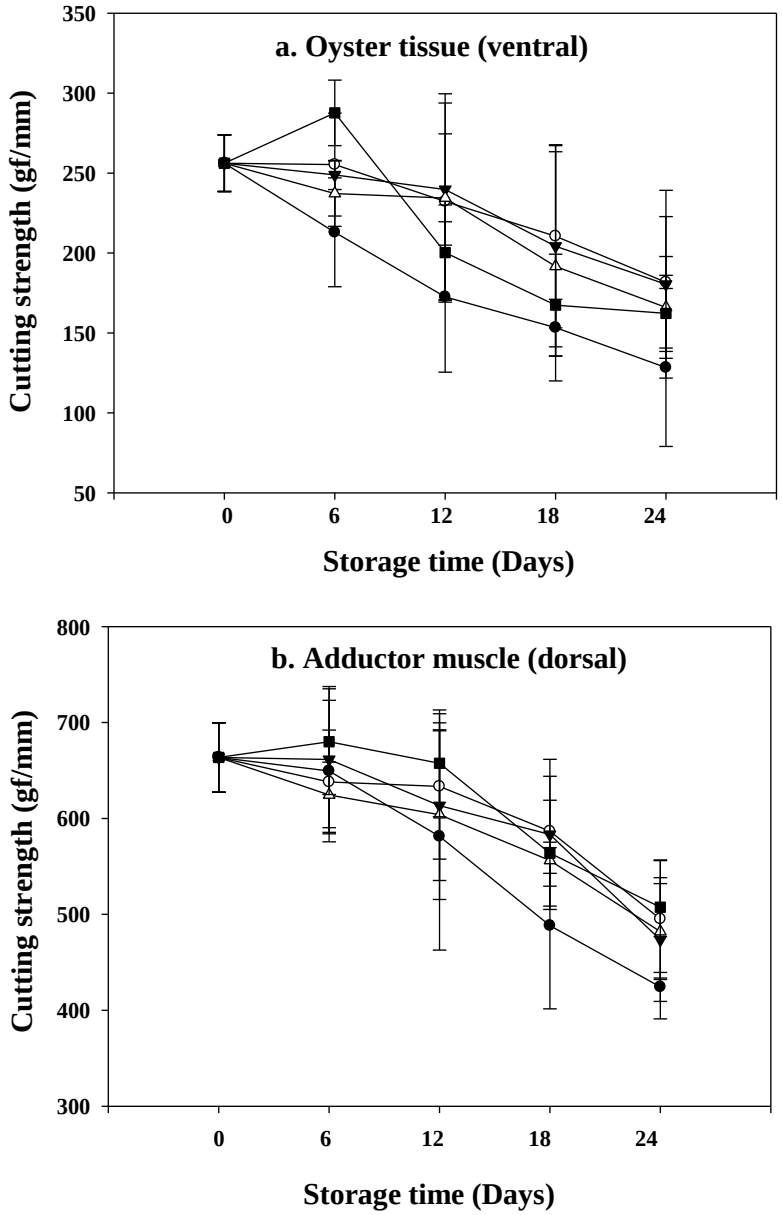
- ค่าสี

จากการวิเคราะห์ค่าสี L*, a*, b* ของพื้นผิวเนื้อหอยนางรม บริเวณเนื้อเยื่อ (Oyster tissue; ventral) ดังแสดงในภาพที่ 9a และบริเวณกล้ามเนื้อ (Adductor muscle; dorsal) ดังแสดงในภาพที่ 9b ระหว่างการเก็บรักษาที่สภาวะต่าง ๆ กัน พบว่าค่า L* และค่า a* ทั้งตำแหน่ง Ventral และ Dorsal ของเนื้อหอยนางรมในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ค่า b* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ($p<0.05$)

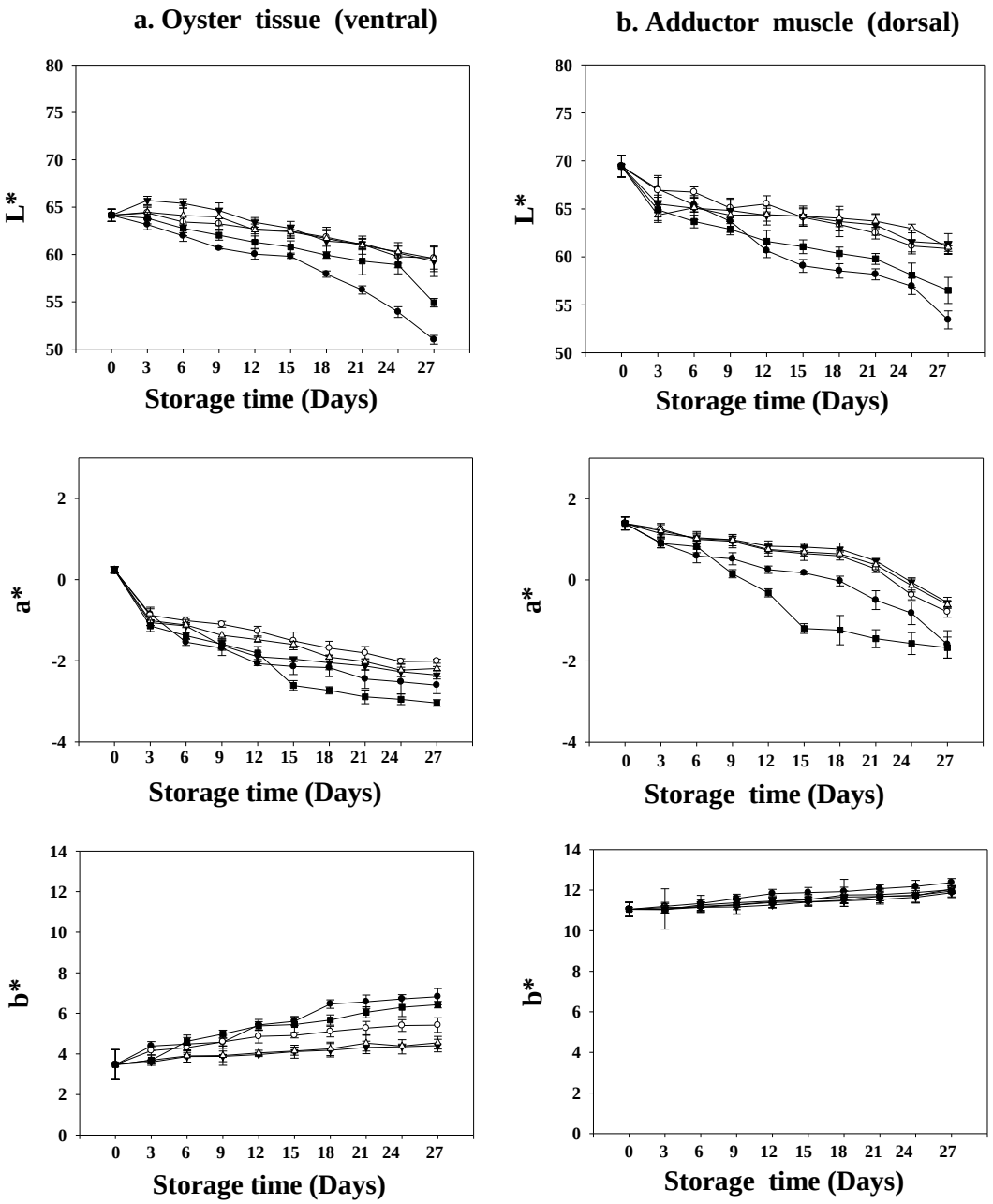
ค่า L* แสดงถึงความสว่าง จากผลการทดลองพบว่าตัวอย่างทุกชุดการทดลองมีความสว่างลดลง ซึ่งตัวอย่างชุดควบคุมมีการลดลงของค่า L* อย่างรวดเร็วกว่าตัวอย่างที่เก็บรักษาในสภาวะอื่น รองลงมาคือตัวอย่างชุดการทดลอง VP และ MAP ตามลำดับ โดยที่ตัวอย่างชุดการทดลอง MAP ทั้งสามสภาวะมีการเปลี่ยนแปลงของค่า L* ไม่แตกต่างกัน ($p\geq0.05$) ตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา และเมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงค่า L* ระหว่างตำแหน่ง Ventral และ Dorsal พบว่า ส่วนของ Dorsal มีความสว่างมากกว่าส่วนของ Ventral ในทุกชุดการทดลองตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา

การเปลี่ยนแปลงค่า a* มีแนวโน้มลดลงค่อนไปทางสีเขียวในทุกชุดการทดลองและทั้งสองตำแหน่งบนเนื้อหอยนางรม โดยที่ชุดการทดลอง VP มีค่า a* ลดลงอย่างรวดเร็วที่สุดภายหลังจากวันที่ 12 ของการเก็บรักษา รองลงมาคือชุดการทดลอง Control และ MAP ตามลำดับ โดยที่ตัวอย่างชุดทดลอง MAP ทั้งสามสภาวะมีการเปลี่ยนแปลงของค่า a* ไม่แตกต่างกัน ($p\geq0.05$) ตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา และเมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงค่า a* ระหว่างตำแหน่ง Ventral และ Dorsal พบว่า ในส่วนของ Ventral มีค่าค่อนไปทางสีเขียวและมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงสีที่มากกว่าส่วนของ Dorsal ในทุกชุดการทดลอง

การเปลี่ยนแปลงค่า b* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นค่อนไปทางสีน้ำเงินในทุกชุดการทดลองและทั้งสองตำแหน่งบนเนื้อหอยนางรม โดยที่ชุดการทดลอง Control มีการเพิ่มขึ้นของค่า b* สูงที่สุด รองลงมาคือ VP และ MAP ตามลำดับ ซึ่งชุดการทดลอง MAP-1 จะมีค่า b* สูงกว่าชุดการทดลอง MAP-2 และ MAP-3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา โดยจะพบการเปลี่ยนแปลงเช่นนี้เฉพาะในตำแหน่งของ Ventral ขณะที่ส่วนของ Dorsal มีการเพิ่มขึ้นของค่า b* ในทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกัน ($p\geq0.05$)



ภาพที่ 8 ค่า Cutting strength ของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น ภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน โดยที่ ● : in normal air (Control); ○: in MAP at 75% CO_2 + 25% N_2 (MAP-1); ▼: in MAP at 75% CO_2 + 25% O_2 (MAP-2); Δ : in MAP at 75% CO_2 + 20% N_2 + 5%O_2 (MAP-3); ■ : in vacuum (VP)

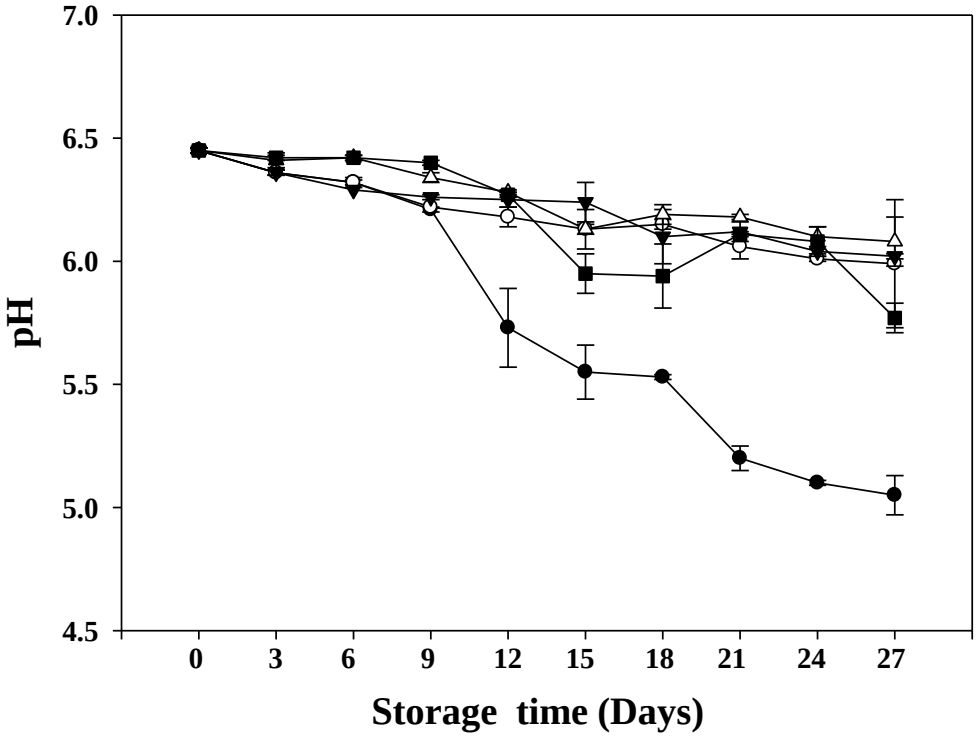


ภาพที่ 9 ค่า สี L*, a*, b* ของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น ภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน โดยที่ ● : in normal air (Control); ○: in MAP at 75% CO_2 + 25% N_2 (MAP-1); ▼: in MAP at 75% CO_2 + 25% O_2 (MAP-2); Δ : in MAP at 75% CO_2 + 20% N_2 + 5%O_2 (MAP-3); ■ : in vacuum (VP)

2.2 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี

- ค่าความเป็นกรด-ด่าง

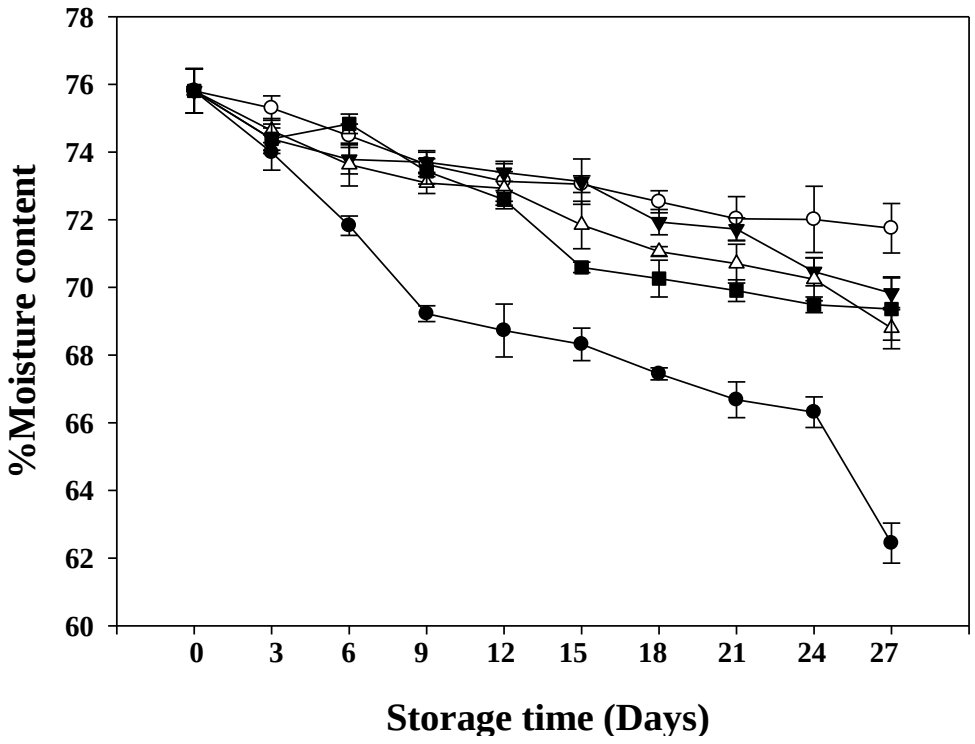
ค่าความกรด -ด่างเริ่มต้นของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์มีค่าเท่ากับ 6.45 และเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นค่าความเป็นกรด -ด่างมีแนวโน้มลดลงในทุกชุดการทดลอง ดังแสดงในภาพที่ 10 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบอัตราเร็วในการลดลงของค่าความเป็นกรด -ด่างของตัวอย่างในแต่ละชุดการทดลองแล้ว พบว่าชุดการทดลองที่เป็นชุดควบคุมมีการลดลงของค่าความเป็นกรด -ด่างรวดเร็วที่สุด โดยเฉพาะหลังจากวันที่ 9 ของการเก็บรักษา ซึ่งในวันที่ 27 ของการเก็บรักษามีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.05 ในขณะที่ชุดการทดลองที่บรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศและสุญญากาศมีการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างอย่างช้า ๆ ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา โดยในวันที่ 27 ของการเก็บรักษา พบว่าความเป็นกรด-ด่างของชุดการทดลอง MAP-1, MAP-2, MAP-3 และ VP ลดลงเหลือเท่ากับ 5.99, 6.02, 6.08 และ 5.77 ตามลำดับ



ภาพที่ 10 ค่าความเป็นกรด-ด่างของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน โดยที่ ● : in normal air (Control); ○: in MAP at 75% CO_2 + 25% N_2 (MAP-1); ▼: in MAP at 75% CO_2 + 25% O_2 (MAP-2); Δ : in MAP at 75% CO_2 + 20% N_2 + 5%O_2 (MAP-3); ■ : in vacuum (VP)

- ค่าความชื้น

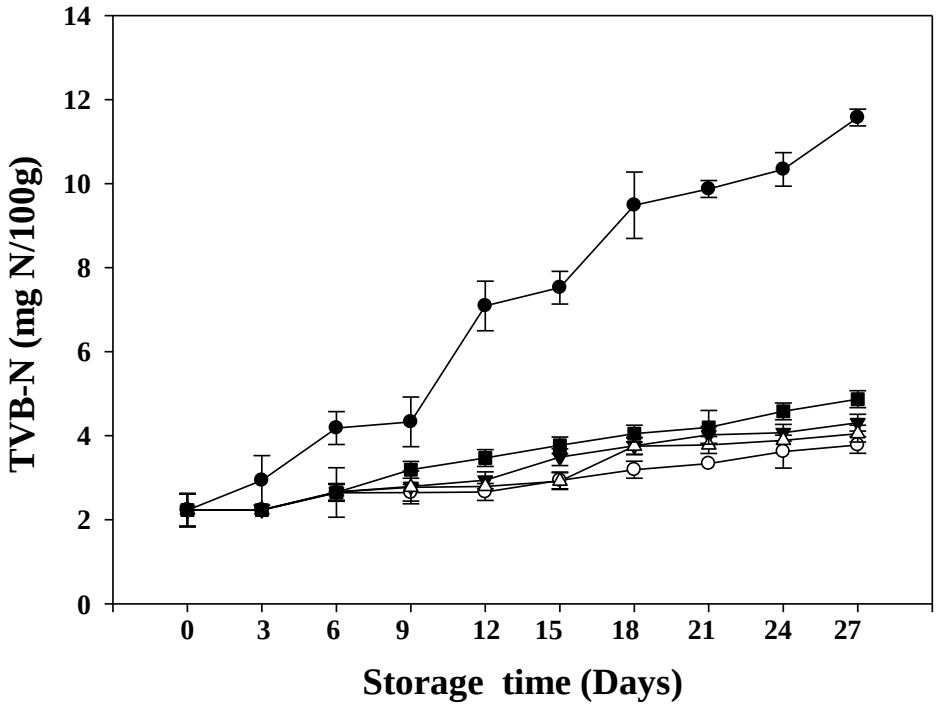
จากการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของค่าความชื้นในหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษาที่สภาวะต่างกัน พบว่า ค่าความชื้นเริ่มต้นของตัวอย่างหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์เป็นร้อยละ 75.81 และค่าความชื้นในทุกชุดการทดลอง จะลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น (ภาพที่ 11) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงส่งผลให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติไปทำให้ความสามารถในอุ้มน้ำของตัวอย่างลดลง ดังนั้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นจึงมีการพบว่ามีน้ำไหลเยิ้มออกมาจากตัวอย่าง ส่งผลให้ค่าความชื้นที่วัดได้ในตัวอย่างมีค่าลดลงในระหว่างการเก็บรักษา โดยที่ความชื้นของชุดการทดลองภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศและสุญญากาศมีการเปลี่ยนแปลงช้ากว่าในชุดควบคุมตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา ซึ่งในวันที่ 27 ของการเก็บรักษาพบว่า ชุดการทดลอง MAP-1, MAP-2, MAP-3 และ VP มีความชื้นเท่ากับร้อยละ 71.75, 69.83, 68.80 และ 69.36 ตามลำดับ ในขณะที่ค่าความชื้นของชุดควบคุมลดลงเป็นร้อยละ 62.44



ภาพที่ 11 ค่าความชื้นของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน โดยที่ ● : in normal air (Control); ○: in MAP at 75% CO_2 + 25% N_2 (MAP-1); ▼: in MAP at 75% CO_2 + 25% O_2 (MAP-2); Δ : in MAP at 75% CO_2 + 20% N_2 + 5%O_2 (MAP-3); ■ : in vacuum (VP)

- ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N)

ในการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของค่า TVB-N ในตัวอย่างหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ (ภาพที่ 12) พบว่า ค่า TVB-N ของตัวอย่างเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 2.23 มิลลิกรัมไนโตรเจนใน 100 กรัมตัวอย่าง และเมื่อเก็บรักษานานขึ้น มีเพียงชุดควบคุมที่มีค่า TVB-N เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะในช่วงหลังจากวันที่ 9 ของการเก็บรักษา ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียที่เพิ่มขึ้นมาก ในขณะที่ในชุดการทดลองภายใต้สภาวะการเก็บรักษาแบบดัดแปลงบรรยากาศและสุญญากาศ มีการเพิ่มขึ้นของค่า TVB-N เป็นไปอย่างช้าตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา โดยในวันที่ 27 ของการเก็บรักษา พบว่าค่า TVB-N ในชุดการทดลอง MAP-1, MAP-2 , MAP-3 และ VP เท่ากับ 3.78, 4.31, 4.05 และ 4.87 มิลลิกรัมไนโตรเจนใน 100 กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ในขณะที่ค่า TVB-N ของตัวอย่างชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 11.57 มิลลิกรัมไนโตรเจนใน 100 กรัมตัวอย่าง



ภาพที่ 12 ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมดของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน โดยที่ ● : in normal air (Control); ○: in MAP at 75% CO_2 + 25% N_2 (MAP-1); ▼: in MAP at 75% CO_2 + 25% O_2 (MAP-2); Δ : in MAP at 75% CO_2 + 20% N_2 + 5%O_2 (MAP-3); ■ : in vacuum (VP)

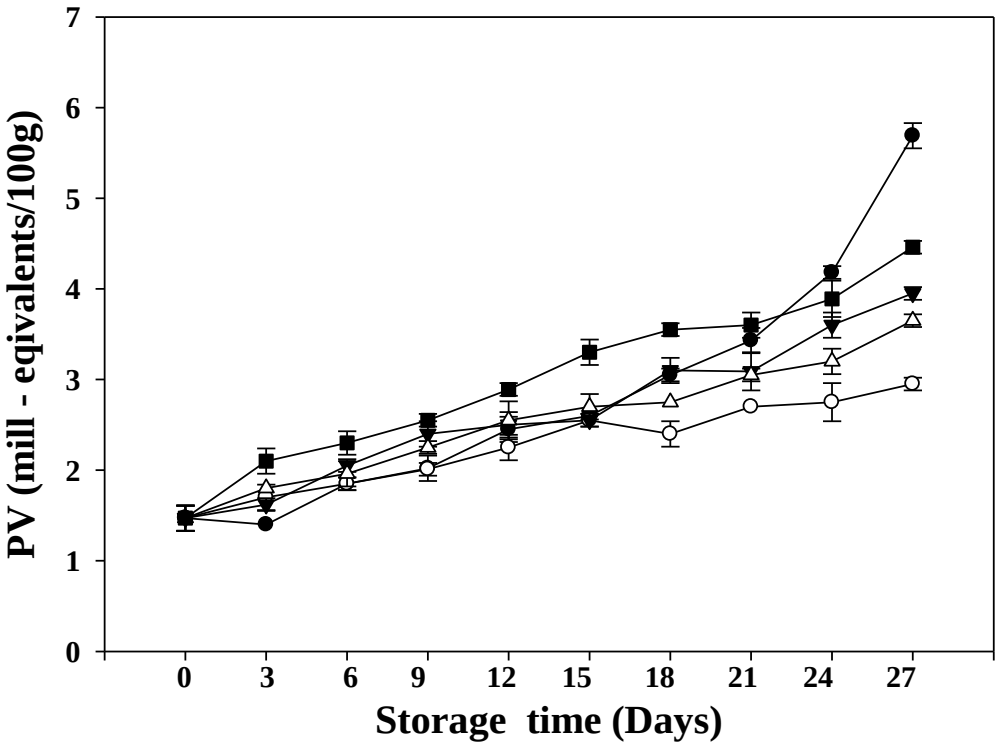
- ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV)

ค่า PV เป็นดัชนีบ่งชี้การเกิดออกซิเดชันในระดับเริ่มต้น (Primary product of oxidation) ของตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ค่า PV ของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์เริ่มต้นเป็น 1.47 มิลลิอิควิวาเลนต์ใน 100 กรัมตัวอย่าง และเมื่อมีการเก็บรักษานานขึ้น พบว่าค่า PV ในทุกตัวอย่างมีการเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 13 สำหรับตัวอย่างชุดควบคุมมีอัตราเร็วในการเพิ่มขึ้นของค่า PV มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ โดยในวันที่ 27 ของการเก็บรักษา พบว่าตัวอย่างชุดควบคุมมีค่า PV เท่ากับ 5.69 มิลลิอิควิวาเลนต์ใน 100 กรัมตัวอย่าง ในขณะที่ชุดการทดลองที่ทำการเก็บภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ ได้แก่ MAP-1, MAP-2 และ MAP-3 พบว่าค่า PV ที่เพิ่มขึ้นไม่มีความแตกต่างกันจากวันที่ 0 ถึงวันที่ 15 แต่หลังจากนั้นมีการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยที่ชุดการทดลองที่มีปริมาณออกซิเจนอยู่ในบรรจุภัณฑ์มากก็จะส่งผลการเร่งให้เกิดการออกซิเดชันมาก ซึ่งจะเห็นได้ว่าชุดการทดลอง MAP-2 ซึ่งมีปริมาณออกซิเจนอยู่ร้อยละ 25 พบว่ามีค่า PV สูงกว่าในตัวอย่างชุดการทดลอง MAP-3 (มีปริมาณออกซิเจนอยู่ร้อยละ 5) และ ชุดการทดลอง MAP-1 (ไม่มีปริมาณออกซิเจน) ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเก็บรักษาถึงวันที่ 27 พบว่าตัวอย่างในชุดการทดลอง MAP-2, MAP-3 และ MAP-1 มีค่า PV เท่ากับ 3.95, 3.65 และ 2.95 มิลลิอิควิวาเลนต์ใน 100 กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงค่า PV ในตัวอย่างชุดการทดลองที่เก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศ พบว่าค่า PV ของตัวอย่างนี้สูงกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ ตั้งแต่วันที่ 3 ถึงวันที่ 21 หลังจากนั้นยังคงมีการเพิ่มขึ้นเป็นลำดับซึ่งพบในปริมาณสูงกว่าชุดการทดลองที่เก็บรักษาภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา แต่เพิ่มขึ้นน้อยกว่าชุดควบคุมหลังจากวันที่ 21 เป็นต้นไป ซึ่งในวันที่ 27 ของการเก็บรักษา พบว่าตัวอย่างชุดการทดลอง VP มีค่า PV เท่ากับ 4.46 มิลลิอิควิวาเลนต์ใน 100 กรัมตัวอย่าง

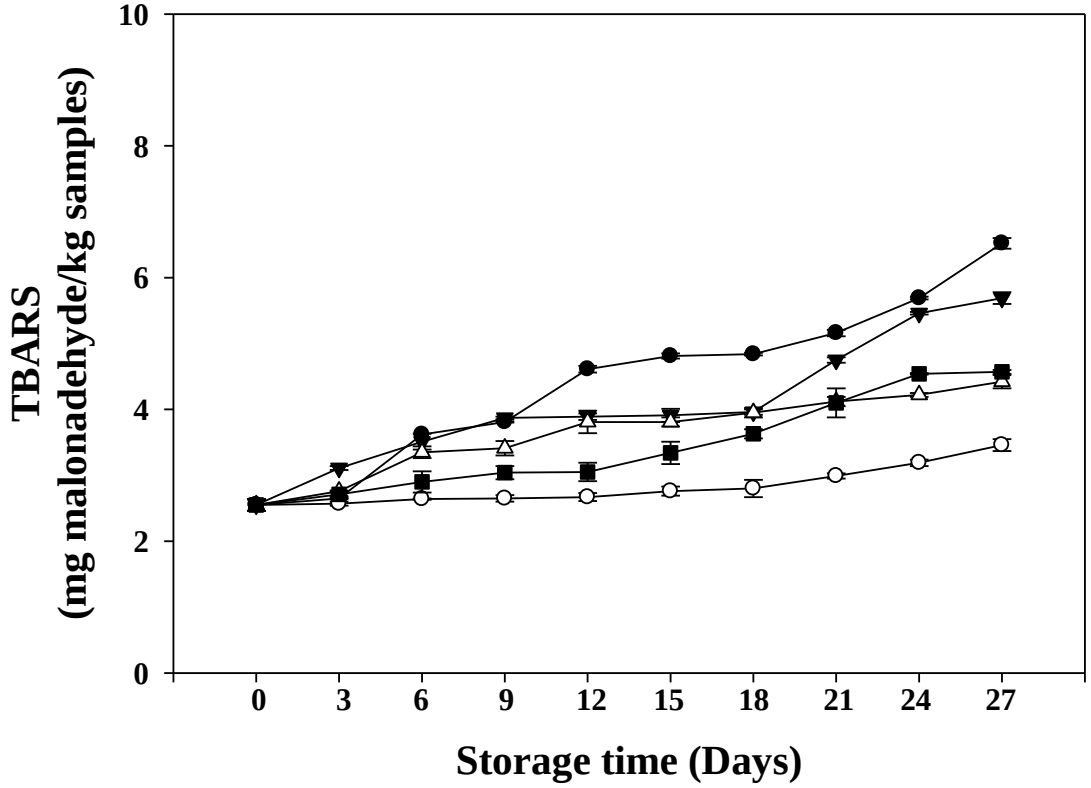
- ค่า Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)

ค่า TBARS เป็นผลิตภัณฑ์ลำดับที่สองจากการเกิดออกซิเดชัน (Secondary product of oxidation) ของตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ค่า TBARS ของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์เริ่มต้นเป็น 2.55 มิลลิกรัมมาโลนาวดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง และเมื่อมีการเก็บรักษานานขึ้น พบว่าค่า TBARS ในทุกตัวอย่างมีการเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 14 สำหรับตัวอย่างชุดควบคุมมีอัตราเร็วในการเพิ่มขึ้นของค่า TBARS มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ โดยในวันที่ 27 ของการเก็บรักษา พบว่าตัวอย่างชุดควบคุมมีค่า TBARS เท่ากับ 6.52 มิลลิกรัมมาโลนาวดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง ในขณะที่ชุดการทดลองที่ทำการเก็บภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ ได้แก่ MAP-1, MAP-2 และ MAP-3 พบว่าค่า TBARS มีการเพิ่มขึ้นที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา โดยที่ชุดการทดลองที่มีปริมาณออกซิเจนอยู่ในบรรจุภัณฑ์มากก็จะส่งผลการเร่งให้เกิดการออกซิเดชันมาก ซึ่งจะเห็นได้ว่าชุดการทดลอง MAP-2 ซึ่งมีปริมาณออกซิเจนอยู่ร้อยละ 25 พบว่ามีค่า TBARS สูงกว่าในตัวอย่างชุดการทดลอง MAP-3 (มีปริมาณออกซิเจนอยู่ร้อยละ 5) และ ชุดการทดลอง MAP-1 (ไม่มีปริมาณออกซิเจน) ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเก็บ

รักษาถึงวันที่ 27 พบว่าตัวอย่างในชุดการทดลอง MAP-2, MAP-3 และ MAP-1 มีค่า TBARS เท่ากับ 5.69, 4.42 และ 3.46 มิลลิกรัมมาโลนาวดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ในตัวอย่างชุดการทดลองที่เก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศ พบว่าค่า TBARS ของตัวอย่างนี้ใกล้เคียงกับชุดการทดลอง MAP-3 ซึ่งในวันที่ 27 ของการเก็บรักษา พบว่าตัวอย่างชุดการทดลอง VP มีค่า TBARS เท่ากับ 4.57 มิลลิกรัมมาโลนาวดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง



ภาพที่ 13 ปริมาณเปอร์ออกไซด์ของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน โดยที่ ● : in normal air (Control); ○: in MAP at 75% CO_2 + 25% N_2 (MAP-1); ▼: in MAP at 75% CO_2 + 25% O_2 (MAP-2); Δ : in MAP at 75% CO_2 + 20% N_2 + 5%O_2 (MAP-3); ■ : in vacuum (VP)



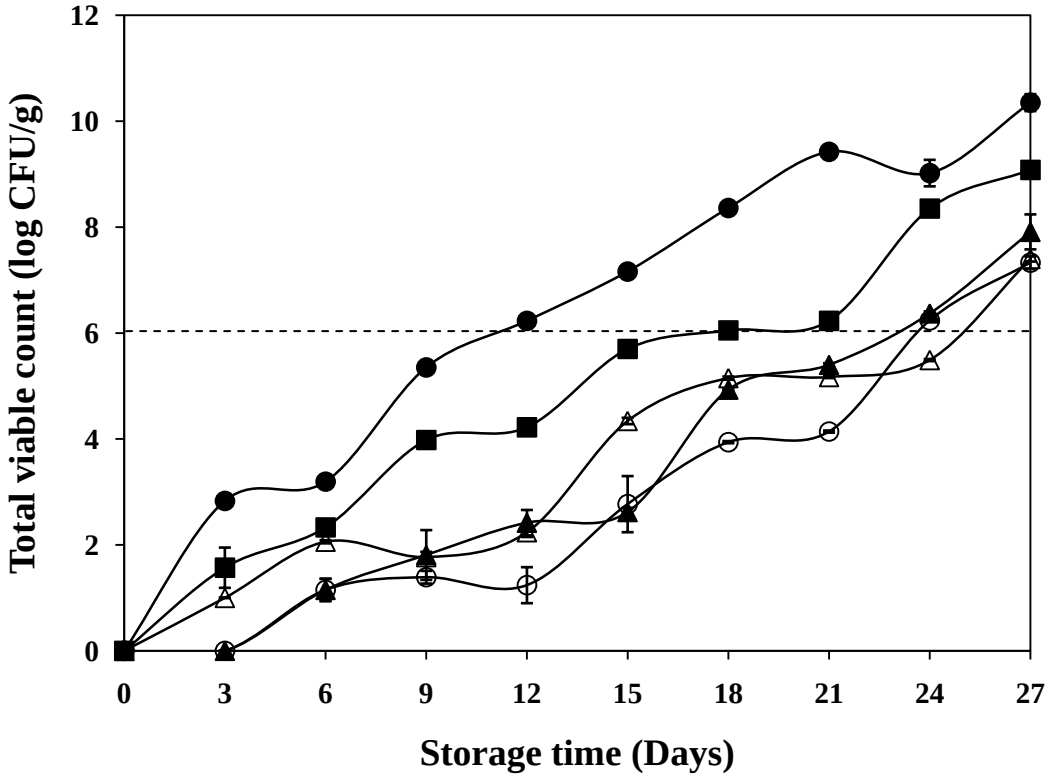
ภาพที่ 14 ปริมาณ TBARS ของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น ภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน โดยที่ ● : in normal air (Control); ○: in MAP at 75% CO_2 + 25% N_2 (MAP-1); ▼: in MAP at 75% CO_2 + 25% O_2 (MAP-2); Δ : in MAP at 75% CO_2 + 20% N_2 + 5%O_2 (MAP-3); ■ : in vacuum (VP)

2.3 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลชีววิทยา

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษาที่สภาวะต่าง ๆ ดังแสดงในภาพที่ 15 พบว่า ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ และเมื่อเก็บรักษานานขึ้นปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นในทุกชุดการทดลอง เมื่อพิจารณาผลเชื้อในชุดควบคุม พบว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดมีอัตราเร็วสูงที่สุดเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ ในขณะที่อัตราเร็วรองลงมาคือชุดการทดลอง VP และส่วนชุดการทดลองเก็บรักษาภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศมีอัตราเร็วของการเพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้อค่อนข้างช้าและไม่แตกต่างกัน จากเกณฑ์มาตรฐาน การยอมรับในประเภทอาหารปรุงสุกทั่วไปจะต้อง มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 6 log CFU/g (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2553) นั้นสามารถสรุปได้ว่า ในชุดควบคุมสามารถเก็บรักษาได้ไม่เกิน 12 วัน ในชุดการทดลอง VP สามารถเก็บรักษาได้ 18 วัน ในขณะที่ในชุดการทดลอง MAP-1 และ

MAP-2 สามารถเก็บรักษาได้ไม่เกิน 24 วัน และในชุดการทดลอง MAP-3 สามารถเก็บรักษาได้นานที่สุด 25 วัน



ภาพที่ 15 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน โดยที่ ● : in normal air (Control); ○: in MAP at 75% CO_2 + 25% N_2 (MAP-1); ▲: in MAP at 75% CO_2 + 25% O_2 (MAP-2); Δ : in MAP at 75% CO_2 + 20% N_2 + 5%O_2 (MAP-3); ■ : in vacuum (VP)

- ปริมาณจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์

จากผลการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย ได้แก่ Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* spp., Lactic acid bacteria และ Hydrogen sulfide ในผลิตภัณฑ์หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้สภาวะต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 6 พบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิด และเมื่อเก็บรักษาระยะเวลานานขึ้นพบว่า ปริมาณเชื้อ Enterobacteriaceae ไม่มีการเจริญในผลิตภัณฑ์หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ในทุกสภาวะการเก็บรักษาตลอดระยะเวลา 24 วัน ในส่วนของเชื้อ *Pseudomonas* spp. สามารถพบการ

เจริญเฉพาะในตัวอย่างชุดควบคุมตั้งแต่วันที่ 9 ของการเก็บรักษา และเมื่อเก็บรักษานานขึ้นปริมาณเชื้อที่พบเพิ่มขึ้นอย่างเป็นลำดับ โดยพบเชื้อ *Pseudomonas* spp. เริ่มต้นในตัวอย่างควบคุม เท่ากับ 2.38 log CFU/g และในวันที่ 24 ของการเก็บรักษามีปริมาณเชื้อเพิ่มเป็น 6.85 log CFU/g ส่วนของเชื้อ Lactic acid bacteria สามารถพบได้ทุกชุดการทดลอง โดยสำหรับตัวอย่างชุดควบคุมจะพบการเจริญของเชื้อ Lactic acid bacteria ตั้งแต่วันที่ 9 ของการเก็บรักษา (1.30 log CFU/g) และเพิ่มปริมาณขึ้นถึง 7.08 log CFU/g ในวันที่ 24 ของการเก็บรักษา ในขณะที่ในตัวอย่างชุดการทดลอง MAP-1, MAP-2, MAP-3 และ VP สามารถพบการเจริญของเชื้อดังกล่าวได้ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษาเป็น 1.00, 3.20, 2.54 และ 4.40 log CFU/g ตามลำดับ และจะพบว่าเชื้อมีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเก็บรักษานานขึ้น โดยพบว่ามีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นในตัวอย่างชุดการทดลอง MAP-1, MAP-2, MAP-3 และ VP เป็น 2.70, 4.08, 3.36 และ 6.00 log CFU/g ตามลำดับ ในวันที่ 24 ของการเก็บรักษา ในส่วนของเชื้อ Hydrogen sulfide พบว่าในตัวอย่างชุดควบคุมสามารถพบเชื้อดังกล่าวได้ตั้งแต่วันที่ 15 (3.28 log CFU/g) ในขณะที่ชุดการทดลอง MAP-1, MAP-2, MAP-3 และ VP สามารถพบการเจริญของเชื้อนี้ได้ตั้งแต่วันที่ 21 ของการเก็บรักษา โดยพบว่ามีเชื้อเริ่มต้นเป็น 2.18, 2.63, 1.60 และ 3.23 log CFU/g ตามลำดับ และมีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างเป็นลำดับเมื่อมีระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นจนถึง 24 วัน โดยพบว่ามีปริมาณเชื้อในตัวอย่างชุดควบคุม, MAP-1, MAP-2, MAP-3 และ VP เท่ากับ 6.30, 2.18, 4.00, 3.30 และ 5.71 log CFU/g ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ปริมาณจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียในหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆ

Days	Enterobacteriaceae (log CFU/g)				
	Control	MAP-1	MAP-2	MAP-3	VP
0	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-
Days	*Pseudomonas* spp. (log CFU/g)				
	Control	MAP-1	MAP-2	MAP-3	VP
0	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
9	2.38	-	-	-	-
15	3.40	-	-	-	-
21	5.18	-	-	-	-
24	6.85	-	-	-	-

Days	Lactic acid bacteria (log CFU/g)				
	Control	MAP-1	MAP-2	MAP-3	VP
0	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
9	1.30	-	-	-	-
15	3.28	-	-	-	-
21	5.52	1.00	3.20	2.54	4.40
24	7.08	2.70	4.08	3.36	6.00
Days	Hydrogen sulfide (log CFU/g)				
	Control	MAP-1	MAP-2	MAP-3	VP
0	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-
15	3.28	-	-	-	-
21	4.48	2.18	2.63	1.60	3.23
24	6.30	2.18	4.00	3.30	5.71

Control = in normal air; MAP-1 = in MAP at 75% CO_2 + 25% N_2; MAP-2 = in MAP at 75% CO_2 + 25% O_2; MAP-3 = in MAP at 75% CO_2 + 20% N_2 + 5%O_2; VP = in vacuum
(-) = Not found

3.4 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางประสาทสัมผัส

จากผลการประเมินความชอบ ทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์แช่เย็นภายใต้สภาวะการเก็บรักษาต่างๆ ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9-Point Hedonic Scale ในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 35 คน และได้ทำการทดสอบทุกๆ 3 วัน จนถึงวันที่ 24 ของการเก็บรักษา เนื่องจากทุกชุดการทดลองมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินจากค่ามาตรฐาน สำหรับคุณภาพด้านรสชาติจะให้ผู้ทดสอบชิมทำการทดสอบเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของจุลินทรีย์ ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 6 log CFU/g (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2553) เท่านั้น ดังแสดงผลในภาพที่ 16

- ลักษณะปรากฏ

จากผลการประเมินความชอบด้านลักษณะปรากฏ พบว่าคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์เริ่มต้นเป็น 7.80 คะแนน และเมื่อเก็บรักษานานขึ้นคะแนนความชอบในตัวผลิตภัณฑ์จะลดน้อยลงอย่างเห็นได้ชัดเจนในทุกชุดการทดลอง ซึ่งจะเห็นว่าเมื่อเก็บรักษานานขึ้นสีของตัวอย่างจะยิ่งคล้ำขึ้น มีเนื้อเยิ้มออกมามากขึ้น และลักษณะเนื้อจะเหี่ยวลง บ่งบอกถึงการเสื่อมสภาพคุณภาพของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษา และเมื่อกำหนดให้คะแนนที่ยอมรับได้ในผลิตภัณฑ์ต้องไม่ต่ำกว่า 5 คะแนน สามารถสรุปได้ว่า ในตัวอย่างชุดควบคุม

และชุดการทดลอง VP สามารถเก็บรักษาได้นาน 15 วัน สำหรับชุดการทดลอง MAP-2 สามารถเก็บรักษาได้นาน 21 วัน ในขณะที่ชุดการทดลอง MAP-1 และ MAP-3 สามารถเก็บรักษาได้นานกว่า 24 วัน

- กลิ่น

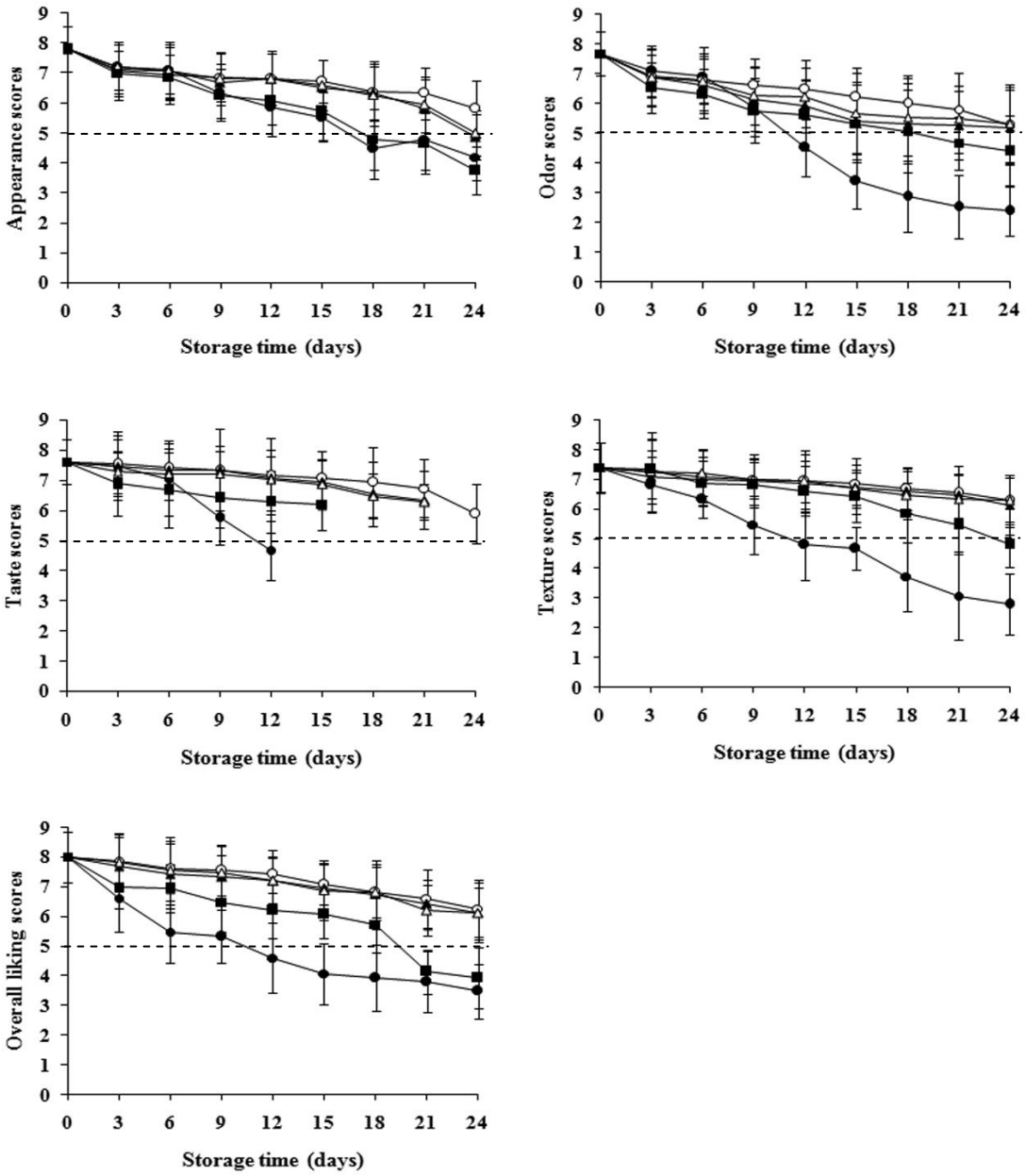
จากผลการประเมินความชอบด้านกลิ่น พบว่าคะแนนความชอบด้านกลิ่นของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์เริ่มต้นเป็น 7.67 คะแนน และเมื่อเก็บรักษานานขึ้นคะแนนความชอบในตัวผลิตภัณฑ์จะลดน้อยลงอย่างเห็นได้ชัดเจนในทุกชุดการทดลอง ซึ่งจะเห็นว่าเมื่อเก็บรักษานานขึ้นกลิ่นของตัวอย่างหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์จะเปลี่ยนแปลงจากกลิ่นต้มสุกไปเป็นกลิ่นเหม็นเน่า บ่งบอกถึงการเสื่อมเสียของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษา และเมื่อกำหนดให้คะแนนที่ยอมรับได้ในผลิตภัณฑ์ต้องไม่ต่ำกว่า 5 คะแนน สามารถสรุปได้ว่า ในตัวอย่างชุดควบคุมสามารถเก็บรักษาได้นาน 9 วัน ชุดการทดลอง VP สามารถเก็บรักษาได้นาน 18 วัน ในขณะที่ชุดการทดลอง MAP-1, MAP-2 และ MAP-3 สามารถเก็บรักษาได้นานกว่า 24 วัน

- รสชาติ

จากผลการประเมินความชอบด้านรสชาติ พบว่าคะแนนความชอบด้านรสชาติของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์เริ่มต้นเป็น 7.60 คะแนน และเมื่อเก็บรักษานานขึ้นคะแนนความชอบในตัวผลิตภัณฑ์จะลดน้อยลงอย่างเห็นได้ชัดเจนในทุกชุดการทดลอง ซึ่งจะเห็นว่าเมื่อเก็บรักษานานขึ้นรสชาติหอมหวานจะค่อยๆ จางลง และจะเปลี่ยนเป็นไม่รสหวาน บ่งบอกถึงการเสื่อมคุณภาพของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษา และเมื่อกำหนดให้คะแนนที่ยอมรับได้ในผลิตภัณฑ์ต้องไม่ต่ำกว่า 5 คะแนน สามารถสรุปได้ว่า ในตัวอย่างชุดควบคุมสามารถเก็บรักษาได้นาน 9 วัน ชุดการทดลอง VP สามารถเก็บรักษาได้นานกว่า 15 วัน แต่เนื่องจากปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เกินกำหนดมาตรฐานแล้ว เพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้ทดสอบชิม จึงได้หยุดการทดสอบไว้เพียง 15 วัน สำหรับชุดการทดลอง MAP-2 และ MAP-3 สามารถเก็บรักษาได้นานกว่า 21 วัน แต่เนื่องจากปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เกินกำหนดมาตรฐานแล้ว เพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้ทดสอบชิม จึงได้หยุดการทดสอบไว้เพียง 21 วัน ในขณะที่ชุดการทดลอง MAP-1 สามารถเก็บรักษาได้นานกว่า 24 วัน

- เนื้อสัมผัส

การประเมินความชอบด้านลักษณะเนื้อสัมผัสทำได้ โดยการให้ผู้ทดสอบกัดบริเวณกลางลำตัวของตัวอย่างเพื่อพิจารณาความแข็งและความแน่นเนื้อของตัวผลิตภัณฑ์จากนั้นทำการประเมินให้คะแนน ผลจากการประเมินพบว่าคะแนนความชอบด้านลักษณะเนื้อสัมผัสของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์เริ่มต้นเป็น 7.40 คะแนน และเมื่อเก็บรักษานานขึ้นคะแนนความชอบในตัวผลิตภัณฑ์จะลดน้อยลงอย่างเห็นได้ชัดเจนในทุกชุดการทดลอง ซึ่งจะเห็นว่าเมื่อเก็บรักษานานขึ้น ความแข็งและความแน่นเนื้อของตัวอย่างหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์จะลดลง และใช้แรงในกัดให้ขาดได้ง่ายขึ้น บ่งบอกถึงการเสื่อมคุณภาพของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษา และเมื่อกำหนดให้คะแนนที่ยอมรับได้ในผลิตภัณฑ์ต้องไม่ต่ำกว่า 5 คะแนน สามารถสรุปได้ว่า ในตัวอย่างชุดควบคุมสามารถเก็บรักษาได้นาน 9 วัน ชุดการทดลอง VP สามารถเก็บรักษาได้นาน 21 วัน ในขณะที่ชุดการทดลอง MAP-1, MAP-2 และ MAP-3 สามารถเก็บรักษาได้นานกว่า 24 วัน



ภาพที่ 16 คะแนนการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศที่สภาวะต่าง ๆกัน โดยที่ ● : in normal air (Control); ○: in MAP at 75% CO_2 + 25% N_2 (MAP-1); ▲: in MAP at 75% CO_2 + 25% O_2 (MAP-2); Δ : in MAP at 75% CO_2 + 20% N_2 + 5%O_2 (MAP-3); ■ : in vacuum (VP)

- ความชอบโดยรวม

จากผลการประเมินความชอบโดยรวม พบว่าคะแนนความชอบโดยรวมของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์เริ่มต้นเป็น 8.00 คะแนน และเมื่อเก็บรักษานานขึ้นคะแนนความชอบในตัวผลิตภัณฑ์จะลดน้อยลงอย่างเห็นได้ชัดเจนในทุกชุดการทดลอง และเมื่อกำหนดให้คะแนนที่ยอมรับได้ในผลิตภัณฑ์ต้องไม่ต่ำกว่า 5 คะแนน สามารถสรุปได้ว่า ในตัวอย่างชุดควบคุมสามารถเก็บรักษาได้นาน 9 วัน ชุดการทดลอง VP สามารถเก็บรักษาได้นาน 18 วัน ในขณะที่ชุดการทดลอง MAP-1, MAP-2 และ MAP-3 สามารถเก็บรักษาได้นานกว่า 24 วัน

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยเรื่อง การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เย็นภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ ได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 ทำการศึกษาการทนต่อความร้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ และส่วนที่ 2 ทำการศึกษาผลของการบรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อหอยนางพาสเจอร์ไรส์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น ซึ่งสามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

ในการศึกษาการทนต่อความร้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์นั้น ได้ทำการทดสอบความสามารถในการทำลายเชื้อ *L. monocytogenes* ในหอยนางรมที่ 6 ระดับอุณหภูมิ คือ 57.5, 60.0, 62.5, 65.0, 67.5 และ 70.0 องศาเซลเซียส พบว่า ค่าความต้านทานความร้อนของ *L. monocytogenes* หรือค่า Decimal reduction time (D-value) เป็น 3.56, 2.07, 0.70, 0.64, 0.55 และ 0.33 นาที ตามลำดับ และจากผลของค่า D-value สามารถคำนวณหาช่วงอุณหภูมิที่ใช้ในการทำลาย เชื้อ *L. monocytogenes* (Z-value) ได้เท่ากับ 12.57 องศาเซลเซียส และจากนั้นทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์หอยนางรม โดยใช้ 6D process ในการเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่า เมื่อใช้อุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์สูงขึ้นจะส่งผลให้ค่าการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้น สีคล้ำขึ้นและเป็นสีเขียวเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่แรงที่ใช้ในการตัด (Cutting strength) และปริมาณความชื้นลดลง ส่วนค่าความเป็นกรด -ด่างไม่เปลี่ยนแปลงและตรวจไม่พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เมื่อพิจารณาคะแนนความชอบด้านกลิ่น เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม พบว่าผู้ทดสอบให้ระดับคะแนนไม่แตกต่างกันในทุกระดับอุณหภูมิของการพาสเจอร์ไรส์ แต่เมื่อพิจารณาจากคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏและรสชาติ พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏที่ระดับของการพาสเจอร์ไรส์ 57.5 องศาเซลเซียส สูงที่สุด แต่ให้คะแนนความชอบด้านรสชาติที่ระดับของการพาสเจอร์ไรส์ 70.0 องศาเซลเซียส สูงที่สุด ดังนั้นหากจะพิจารณาวิธีการผลิตหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์เพื่อให้เกิดความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ก่อโรคและยังคงคุณภาพของหอยนางรมดีที่สุดจึงได้เลือกระดับอุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์ที่ 57.5 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของเนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เย็นภายใต้สภาวะการเก็บรักษาต่างๆ ได้แก่ การบรรจุด้วยอากาศ

ปกติ (Control) การบรรจุด้วยการดัดแปลงสภาพบรรยากาศ (75% CO_2 + 25% N_2 (MAP-1), 75% CO_2 + 25% O_2 (MAP-2), 75% CO_2 + 5% O_2 + 20% N_2 (MAP-3)) และการบรรจุด้วยสภาวะสุญญากาศ (VP) โดยทำการวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นจะส่งผลให้ค่าสี L*, a*, ค่าแรงที่ใช้ในการตัด (Cutting strength), ค่าความเป็นกรด-ด่าง, ค่าความชื้น และคะแนนความชอบด้านคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสลดลง ในขณะที่ค่าสี b*, TVB-N, PV, TBARS, จุลินทรีย์ทั้งหมดและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียในอาหารมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นในทุกชุดการทดลอง โดยเฉพาะตัวอย่างชุดควบคุมจะมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพอย่างรวดเร็วที่สุดเมื่อเปรียบกับชุดการทดลองที่มีการดัดแปลงสภาพบรรยากาศและสุญญากาศ เมื่อพิจารณาจากคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์และการยอมรับทางประสาทสัมผัส พบว่าตัวอย่างชุดควบคุมสามารถเก็บรักษาได้นาน 9 วัน ชุดการทดลอง VP สามารถเก็บรักษาได้นาน 18 วัน ในขณะที่ชุดการทดลอง MAP-1 และ MAP-2 สามารถเก็บรักษาได้ไม่เกิน 24 วัน และ MAP-3 สามารถเก็บรักษาได้นาน 25 วัน

ข้อเสนอแนะ

อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการพาสเจอร์ไรส์ที่ได้จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการนี้มีความเหมาะสมและจำเพาะกับเฉพาะหอยนางรมตะโกรมขาวหรือหอยนางรมพันธุ์ใหญ่ที่มีอายุประมาณ 2 ปี น้ำหนักเฉลี่ยทั้งเปลือก 300-350 กรัม ความยาวเฉลี่ย 13-15 เซนติเมตร น้ำหนักเนื้อหอยเฉลี่ย 25-30 กรัม จากแหล่งเลี้ยงในอ่าวบ้านดอน อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี เท่านั้น หากจะต่อยอดผลการวิจัยโดยการขยายขนาดการผลิตให้อยู่ในระดับการค้า เพื่อให้ผู้นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ เกิดความมั่นใจว่าสามารถทำได้จริง อาจมีความจำเป็นต้องมีการศึกษาสภาวะหรือปัจจัยอื่น ๆ เพิ่มเติม อย่างเช่น แหล่งวัตถุดิบ ฤดูกาล องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ อายุ ขนาด น้ำหนัก ปริมาณเชื้อเริ่มต้นและชนิดของเชื้อก่อโรคเป้าหมาย เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2553). *เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร*. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://www.dmsc.moph. go.th /webroot/food/ files/news/news45food/ news45_t3.htm. (วันที่ค้นข้อมูล: 1 ตุลาคม 2557).

กิตตยา สมยาภักดี และ โสบุญชัย กิตติเสรีบุตร. (2545). *ศูนย์บริการข้อมูลเกี่ยวกับความปลอดภัยในอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ปี พ.ศ. 2545*. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://natres.psu.ac.th/Department/plantscience/510-111web/exercise/My%20Web111-Activity5/images/postharvest-chilled%20food.pdf. (วันที่ค้นข้อมูล: 1 ตุลาคม 2557).

ตรี วาทกิจ. (2552). *เอกสารประกอบการสอนผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ (Fishery Product).* นครพนม: คณะวิชาอุตสาหกรรมเกษตร วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีนครพนม มหาวิทยาลัยนครพนม.

นิชนันท์ เธียรพัฒนะวงศ์, พรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์ และ มณฑิรา นพรัตน์. (2550). ผลของระยะเวลาการลวกและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อคุณภาพของหอยแครงพร้อมปรุง. ใน *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45: สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร* (หน้า 461-468). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน.

นิชนันท์ เธียรพัฒนะวงศ์, พรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์ และ มณฑิรา นพรัตน์. (2551). การยืดอายุการเก็บของหอยแครง (*Anadara granosa*) ลวกโดยใช้สภาพบรรยากาศดัดแปร. ใน *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46* (หน้า 414-421). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน.

นิรชา วงษ์จินดา. (2547). *คู่มือการดูแลรักษาสัตว์น้ำที่สถานแปรรูปเบื้องต้น.* กรุงเทพฯ: ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

พายัพ มาศนิยม, อมมี เบญจมะ และ จารุวรรณ มณีศรี. (2550). *การยืดอายุของหอยแมลงภู่แช่เย็นภายใต้สภาวะการดัดแปลงบรรยากาศ* . รายงานฉบับสมบูรณ์ภายใต้ทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2550. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ไพรัตน์ โสภโณดร และ พลรัตน์ ขวัญรอด. (2554). *การพัฒนากระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์หอยนางรมความชื้นปานกลางพร้อมบริโภค* . กรุงเทพ ฯ: ฐานข้อมูลโครงสร้างพื้นฐานภาครัฐด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.

มณีย์ กรรณรงค์, อนุวัฒน์ รัตนโชติ และ สุพาภร ทศพร้อม. (2544). การปนเปื้อนของแบคทีเรียในหอยตะโกรม น้ำทะเล และตะกอนดิน บริเวณแหล่งเลี้ยงอ่าวบ้านดอน จังหวัดสุราษฎร์ธานี.*วารสารการประมง, 54*, 311-319.

วันทนา อยู่สุข และ ธีระพงศ์ ด้วงดี. (2544). *การศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยและตัวหอย.* กรุงเทพฯ : ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิไล รังสาดทอง. (2547). *เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร.* พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

ศรีวรรณา หัทยานานนท์. (2550). *โรคติดเชื้ออุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ .* [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_1_001c.asp?info_id=1134. (วันที่ค้นข้อมูล: 15 กันยายน 2557).

สวามินี ธีระวุฒิ. (2553). *เอกสารประกอบการสอนวิชาหัวข้อเลือกสรรทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ 2*. ชลบุรี: สาขาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

สวามินี ธีระวุฒิ อัครพล นางแล และ ราตรี คำหอม. (2557). การยืดอายุการเก็บรักษาหอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea cucullata*) สดแกะเปลือกด้วยการแช่สารละลายผสมร่วมกับการแช่เย็น. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, *19*(1), 119-130.

สุรชาติ วิชัยดิษฐ. (2552). *การประเมินความเสี่ยงของหอยนางรมจากแหล่งเลี้ยงในอ่าวบ้านดอน อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี* . วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อนุวัฒน์ รัตนโชติ, มณีย์ กรรณรงค์, สมพร เกื้อสกุล และ สุพาภร ทศพร้อม. (2542). การปนเปื้อนของแบคทีเรียในหอยตะโกรมและในแหล่งเลี้ยงอ่าวบ้านดอน จังหวัดสุราษฎร์ธานี ระหว่างตุลาคม 2536 – กันยายน 2538. *เอกสารวิชาการฉบับที่ 11/2542.* กรุงเทพฯ: กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Aaraas, R., Hernar, I. J., Vorre, A., Bergslien, H., Lunestad, B. T., Skeie, S., Slinde, E. & Mortensen, S. (2004). Sensory, histological, and bacteriological changes in flat oyster, *Ostrea edulis*, L., during different storage conditions. *Journal of Food Science, 69*, 205-210.

Amanatidou, A., Schlüter, O., Lemkau, K., Gorris, L. G. M., Smid, E. J., & Knorr, D. (2000). Effect of combined application of high pressure treatment and modified atmospheres on the shelf life of fresh Atlantic salmon. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 1*, 87–98.

Andrews, L. S., Park, D. L., & Chen, Y. P. (2000). Low temperature pasteurization to reduce the risk of Vibrio infections from raw shell-stock oysters. *Food Additives & Contaminants, 19*, 787-791.

AOAC. (1998). *Official Method of Analysis*. (15th ed.). Washington DC, USA: Association of Official Analytical Chemists.

AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis*. (17th ed.). Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemists.

BAM. (2001). Bacteriological Analytical Manual Chapter 3: Aerobic Plate Count. In *FDA Bacteriological Analytical Manual.* [Online]. Retrieved from http://www.cfsan. fda.gov/~ebam/bam-3.html**.** (February 1, 2014).

Barnes, R. D. (1974). *Invertebrate Zoology*. (3rd ed.). Philadelphia: Saunders.

Bean, N. H., & Griffin, P. M. (1990). Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973-1977: Pathogens, vehicles, and trends. *Journal of Food Protection, 53*, 804-817.

Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37*, 911-917.

Bremer, P., & Osbone, C. (1995). Thermal-death times of *Listeria monocytogenes* in green shell mussels (*Perna canaliculus*) prepared for hot smoking. *Journal of Food Protection, 58*, 604-608.

Budu-Amoako, E., Toora, S., Walter, C., Ablett, R. F., & Smith, J. (1992). Thermal death times for *Listeria monocytogenes* in lobster meat. *Journal of Food Protection, 55*, 211-213.

Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation methods. *Methods in Enzymology, 52*, 302-310.

Cao, R., Xue, C. –H., Liu, Q., & Xue, Y. (2009). Microbiological, chemical, and sensory assessment of Pacific oysters (*C. gigas*) stored at different temperatures. *Czechoslavian Journal of Food Science, 27*(2), 102-108.

Chai, T., Liang, K. T., Pace, J., & Schlimme, D. V. (1991). Effect of heat processing on quality of pasteurized oysters. *Journal of Food Science, 56*, 1292-1294.

Christopher, F. M., Carpenter, Z. L., Dill, C. W., Smith, G. C., & Vanderzant, C. (1980). Microbiology of beef, pork and lamb stored in vacuum or modified gas atmospheres. *Journal of Food Protection, 43*, 259-264.

Church, I. J., & Parson, A. L. (1995). Modified atmosphere packaging technology: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 67*(11), 143-152.

Douglas, J. R., & Nagel, C. W. (1967). Growth inhibition of a Pseudomonas by carbon dioxide. *Journal of Food Science, 32*(8), 575-579.

D'Sa, E. M., Harrison, M. A., Williams, S. E., & Broccoli, M. H. (2000). Effectiveness of two cooking systems in destroying *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in ground beef patties. *Journal of Food Protection, 63*, 894-899.

Embarek, P. K. B., & Huss, H. H. (1993). Heat resistance of *Listeria monocytogenes* in vacuum packaged pasteurized fish fillets. *International Journal of Food Microbiology, 20*, 85-95.

Erkan, N. (2005). Changes in quality characteristics during cold storage of shucked mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and selected chemical decomposition indicators. *Journal of the Science of Food* 2625–2630.

Finne, G. (1982). Modified and controlled atmosphere storage of muscle foods. *Food Technology, 36*, 128–133.

Fleet, G.H. (1978). Oyster Depuration; a review. *Food Technology in Australia, 30*, 444-454.

Fraser, O., & Sumar, S. (1998). Compositional changes and spoilage in fish. *Nutrition & Food Science, 5*, 275-279.

Gram, L., & Dalgaard, P. (2002). Fish spoilage bacteria— problems and solutions. *Environmental Biotechnology, 13*, 262-266.

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

Guise, B. (1983). Controlled atmosphere packaging. *Food Process, 52*, 29–33.

Harrison M. A., & Huang, Y. (1990). Thermal death times for *Listeria monocytogenes* (Scott A) in crabmeat. *Journal of Food Protection, 53*(10), 878-880.

Knorr, D., & Tomlins, R. I. (1985). Effect of carbon dioxide modified atmosphere on the compressibility of stored baked goods. *Journal of Food Science, 50*, 1172–1176.

Malle, P. & Poumeyrol, M. (1989). A new chemical criterion for the quality control of fish: Trimethylamine /Total Volatile Basic Nitrogen (%). *Journal of Food Protection*, *52*, 419-423.

Molin, G., Stenstrom, M. I., Ternstrom, A. (1983). The microbial flora of herring fillets after storage in carbon dioxide, nitrogen or air at 2 °C. *Journal of Applied Bacteriology, 55*(1), 49-56.

Murphy, R. Y., Osaili, T., Duncan, L. K., & Marcy, J. A. (2004). Thermal inactivation of Salmonella and *Listeria monocytogenes* in ground chicken thigh/leg meat and skin. *Poultry Science, 83*, 1218-1225.

Ooraikul, B. (1982). Gas packing for bakery products. *Canadian Institute of Food Science and Technology, 15*(4), 313-315.

Pace, J. Wu, C. Y., & Chai, T. (1988). Bacterial flora in pasteurized oysters after refrigerated storage. *Food Science, 53*, 325-327.

Radha krishnan, K., Babuskin, S., Azhagu Saravana Babu, P., Sasikala, M., Sabina, K., Archana, G., Sivarajan, M., & Sukumar, M. (2014). Antimicrobial and antioxidant effects of spice extracts on the shelf life extension of raw chicken meat. *International Journal of Food Microbiology, 3*(171), 32-40.

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

Rutherford, T. J., Marshall, D. L., Andrews, L. S., Coggins, P. C., Wes Schilling, M., & Gerard, P. (2007). Combined effect of packaging atmosphere and storage temperature on growth of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat shrimp. *Food Microbiology, 24*, 703-710.

Ryser, E. T., & Marth, E. H. (1991). *Listeria, Listeriosis and Food Safety*. NY: Marcel Dekker.

Sikorski, Z. E., Kolakowska, A., & Burt, I. R. (1990). Postharvest biochemical and microbial changes. In Z. E. Sikorski (Ed.), *Seafood: Resources, Nutritional Composition, and Preservation* (pp. 55-75). FL, USA: CRC Press, Inc.

Songsaeng, S., Sophanodora, P., Kaewsrithong, J., & Ohshima, T. (2010). Quality changes in oyster (*Crassostrea belcheri*) during frozen storage as affected by freezing and antioxidant. *Food Chemistry, 123*, 286-290.

Wang, M. Y., & Brown, W. D. (1983). Effects of elevated CO_2 atmosphere on storage of fresh water crayfish (*Pasifastacus leniusculus*). *Journal of Food Science, 48*, 155-162.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเปลี่ยนแปลงรายละเอียดของโครงการ

ตารางการขอปรับปรุง/เปลี่ยนแปลงโครงการ

เดิม	ใหม่ที่เปลี่ยนแปลง	เหตุผล	ผลการพิจารณาจากมหาวิทยาลัยโดยผู้ทรงฯ
1.สัดส่วนที่ทำงานวิจัยของหัวหน้าโครงการ 60% และผู้ร่วมโครงการ 40%	1.สัดส่วนที่ทำงานวิจัยของหัวหน้าโครงการ 80% และผู้ร่วมโครงการ 20%	1.เนื่องจากได้มีการปรับเปลี่ยนวิธีการดำเนินการวิจัยบางส่วนจึงได้มีการแบ่งหน้าที่รับผิดชอบกันใหม่	อนุมัติ
2.วิธีการดำเนินการวิจัยประกอบด้วย ข้อ 1 การศึกษาคุณภาพของเนื้อหอยนางรมหลังการแกะโดยวิธีการลวกเปรียบเทียบกับการแกะโดยวิธีดั้งเดิม ข้อ 2 การศึกษาการทนต่อความร้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ ข้อ 3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เย็น ข้อ 4 ศึกษาผลของการบรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น ข้อ 5 การวิเคราะห์ทางสถิติ	2.วิธีการดำเนินการวิจัยประกอบด้วยข้อ 1 การศึกษาการทนต่อความร้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ ข้อ 2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เย็น ข้อ 3 ศึกษาผลของการบรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น ข้อ 4 การวิเคราะห์ทางสถิติ	2.เนื่องจากต้องปรับลดงบประมาณในการทำวิจัยไปเกือบ 40% ประกอบกับที่ผู้ทรงได้ให้ข้อเสนอแนะไว้ในแบบวิจัย 6 จึงได้ตัดในส่วนหัวข้อที่ 1 ไปโดยได้อ้างอิงข้อมูลวิธีการลวกที่เหมาะสมจากงานวิจัยเก่ามาใช้ในการดำเนินการวิจัยในหัวข้อต่อไปเลยเพื่อช่วยลดงบประมาณและระยะเวลาในการทำวิจัยลง ทั้งนี้สาระสำคัญเของงานวิจัยยังคงเดิม	อนุมัติ
3. วิธีการดำเนินการวิจัยหัวข้อที่ 1 เรื่อง การศึกษา	3.รายละเอียดที่ขอปรับปรุงใหม่ คือ ทำการหาค่า D-	3.เนื่องจากได้ทำการทดลองตามแผนเดิมที่วางไว้ ผลที่ได้	อนุมัติ

การทนต่อความร้อนของเชื้อ *L.monocytogenes* ในหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ โดยมีรายละเอียดที่จะปรับปรุงดังนี้คือ มีการวางแผนการทดลองโดยใช้ระดับการพาสเจอร์ไรส์ที่ 2 อุณหภูมิ คือ 50 และ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 15 20 และ 25 นาที แล้วทำการวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ	value หรือเวลา ณ อุณหภูมิหนึ่ง ๆ ที่สามารถทำให้เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคลดลง 1 log cycle ของแต่ละอุณหภูมิที่จะใช้ในการพาสเจอร์ไรส์ ได้แก่ 57.5 60 62.5 65 67.5 และ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นหาค่า Z เพื่อบ่งบอกถึงความทนทานของเชื้อ *L.monocytogenes* ในหอยนางรมว่ามีมากน้อยเพียงใด แล้วนำค่า D-value ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ที่กำหนดมาใช้ในการเตรียมตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์คุณภาพด้านต่าง ๆ เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างและคัดเลือกชุดการทดลองที่เหมาะสมที่สุดเพื่อนำไปศึกษาในส่วนของการเก็บรักษาต่อไป	คือที่อุณหภูมิต่ำถึง 50 องศาเซลเซียสต้องใช้เวลานานกว่า 25 นาที จึงจะฆ่าเชื้อที่กำหนดได้แต่ทำให้คุณภาพทางประสาทสัมผัสไม่เป็นที่ยอมรับ ในขณะที่หากใช้อุณหภูมิที่ 75 องศาเซลเซียส แม้ใช้เวลาน้อยกว่า 10 นาที ก็ทำลายเชื้อที่กำหนดได้หมดแล้ว ไม่จำเป็นต้องพาสเจอร์ไรส์ถึง 25 นาที จึงคิดว่าหากใช้การกำหนดระยะห่างของอุณหภูมิให้แคบลงและใช้เวลาในการฆ่าเชื้อในระดับที่สามารถฆ่าเชื้อตามที่กำหนดได้และยังคงคุณภาพได้มากที่สุดน่าจะเป็นวิธีที่ความเหมาะสมกว่า ประกอบกับได้ตรวจเอกสารงานที่ใกล้เคียงแล้วมีความเป็นไปได้ที่จะสามารถตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติและมีประโยชน์กับผู้วิจัยคนอื่นที่จะนำข้อมูลไปใช้ต่อไป จึงเห็นว่าควรปรับปรุง	
4.วิธีการดำเนินการวิจัย หัวข้อที่ 2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เย็น หัวข้อที่ 3 ศึกษาผลของการบรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของ	4.ทำการรวบหัวข้อที่ 2 และ 3 มาไว้ด้วยกัน และใช้ชื่อหัวข้อที่ 3 คือศึกษาผลของการบรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น และใช้	4.เนื่องจากพิจารณาแล้วชุดการทดลองของหัวข้อที่ 2 เดิม เป็นชุดการทดลองเดียวกับ ชุดการทดลอง (ก) ในหัวข้อที่ 3 ต่างกันที่ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ ดังนั้นจึงควรรวบงานมาไว้ด้วยกัน เพื่อให้ลดระยะเวลาในการศึกษาวิจัย	อนุมัติ

เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น	รายละเอียดของการตรวจสอบคุณภาพด้านต่าง ๆ จากหัวข้อที่ 2 มาใช้ทั้งหมด	ลงแต่ก็ยังสามารถนำผลการวิจัยมาแยกตีพิมพ์ได้เช่นเดิม	
5.รายละเอียดในส่วนของวิธีการดำเนินการวิจัยหัวข้อที่ 3 ศึกษาผลการบรรจุภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณภูมิแช่เย็น ซึ่งชุดการทดลองที่ตั้งไว้มี 4 ชุดการทดลอง ได้แก่ ก. เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์บรรจุในบรรยากาศปกติ ข.เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์บรรจุในสภาวะอากาศที่มี ออกซิเจน:ไนโตรเจน: คาร์บอนไดออกไซด์ เป็น 20:60:20 ค.เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์บรรจุในสภาวะอากาศที่มี ออกซิเจน:ไนโตรเจน: คาร์บอนไดออกไซด์ เป็น 20:40:40 ง.เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์บรรจุในสภาวะอากาศที่มี ออกซิเจน:ไนโตรเจน: คาร์บอนไดออกไซด์ เป็น 20:20:60 และการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ ซึ่งทำการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และจำนวน	5.ขอเปลี่ยนแปลงรายละเอียดชุดการทดลอง เป็นดังนี้ ก.เนื้อหอยนางรมที่ไม่ได้ผ่านการพาสเจอร์ไรส์บรรจุในบรรยากาศปกติ ข. เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์บรรจุในบรรยากาศปกติ ค.เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์บรรจุในสภาวะไร้อากาศ (vaccuum) ง.เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์บรรจุในสภาวะอากาศที่มี ออกซิเจน:ไนโตรเจน: คาร์บอนไดออกไซด์ เป็น 0:25:75 จ.เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์บรรจุในสภาวะอากาศที่มี ออกซิเจน:ไนโตรเจน: คาร์บอนไดออกไซด์ เป็น 25:0:75 ฉ.เนื้อหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์บรรจุในสภาวะอากาศที่มี ออกซิเจน:ไนโตรเจน: คาร์บอนไดออกไซด์ เป็น 5:20:75 และการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ ซึ่งทำการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนจุลินทรีย์ก่อ	5.1เนื่องจากประสิทธิภาพของเครื่องมือ 5.2เป็นชุดการทดลองที่แยกความแตกต่างกันชัดเจน สามารถอธิบายได้ในเชิงวิชาการ 5.3เนื่องจากสภาพการบรรจุที่แตกต่างกันมากทำให้สาเหตุของการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์เป็นคนละชนิดกัน	อนุมัติ และขอให้พิจารณาดังนี้ 1.ทบทวนงานแต่ละขั้นตอนว่าในการทดลองมีวัตถุประสงค์อย่างไร มีผลลัพธ์ใด และความเชื่อมโยงของแผนงานแต่ละขั้น 2.ทบทวนผลงานที่ได้เผยแพร่มาก่อนโดยนักวิจัยท่านอื่น ๆ โดยเฉพาะในหัวข้อเรื่อง การเก็บในสภาวะดัดแปลงบรรยากาศ เช่น งานของ Jafri et al. 2013, Posthavest Biology & Technology, 76:112-8 หรือของ Provincial et al. 2013. Int J Food Micro 166:141-7 เป็นต้น 3.การทดลองหัวข้อ ก. เนื้อหอยนางรมที่ไม่ได้ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ ไม่ควรทดสอบ ขอเสนอแนะให้ทดสอบในหอยที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส และเพิ่มระยะเวลาการเก็บให้นานขึ้น (เดิมกำหนดเป็น 12 วัน)

จุลินทรีย์ก่อโรค	โรค และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ได้แก่ Lactic acid bacteria และ *pseudomonas* เป็นต้น		

ภาคผนวก ข
ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่และการประชุมวิชาการ

ผลงานตีพิมพ์

Lekjing, S., & Siripongvutikorn, S. (2016). Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in oyster (*Crassostrea belcheri*) meat and pasteurization effects on meat quality. *International Journal of Food Microbiology*. *In writing process*.

Lekjing, S., & Siripongvutikorn, S. (2016). Shelf life extension of pasteurized oyster meat during chilled storage using modified atmosphere packaging. *LWT*. *In writing process*.

การประชุมวิชาการ

Lekjing, S., & Siripongvutikorn, S. (2014). Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in oyster (*Crassostrea belcheri*) meat and pasteurization effects on meat quality. In *The 5th International Symposium on Wellness, Healthy Lifestyle and Nutrition 2014* (pp. 25). Lee Garden Plaza Hotel, Hat Yai, Songkhla, Thailand. 2-3 December 2014. *(Oral presentation). (Abstract).*

การได้รับเชิญให้เผยแพร่ผลงานวิจัย

สมหวัง เล็กจริง และ สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกร. (2559). การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เย็นภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ. ใน *The 3rd Food Research Symposium and Exhibition: Science Technology and Innovation for Seafood Industry 2016* (pp. 15-16). ศูนย์ประชุมนานาชาติฉลองสิริราชสมบัติครบ 60 ปี, หาดใหญ่ สงขลา ประเทศไทย. 9-10 กันยายน 2559.

ภาคผนวก ค
วิธีวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ

ค.1 วิธีวิเคราะห์ร้อยละการสูญเสียน้ำหนัก (% Cooking loss)

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของเนื้อหอยนางรมก่อนให้ความร้อนและบันทึกค่าที่ได้
2. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของเนื้อหอยนางรมหลังให้ความร้อนและบันทึกค่าที่ได้

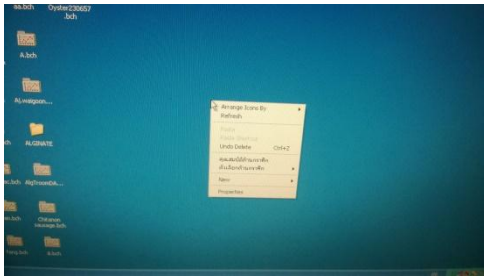
วิธีคำนวณ

$$\% \text{ Cooking loss} = \frac{\text{น้ำหนักเนื้อหอยนางรมก่อนให้ความร้อน - น้ำหนักเนื้อหอยนางรมหลังให้ความร้อนน้ำหนัก}}{\text{เนื้อหอยนางรมก่อนให้ความร้อน}} \times 100$$

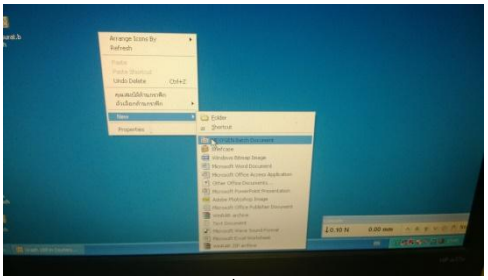
ค.2 วิธีวิเคราะห์เนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture analyzer (Amanatidou *et al*., 2000)

ขั้นตอนการใช้งาน

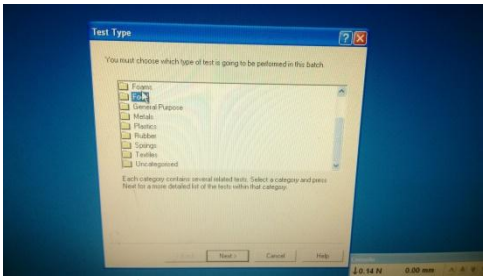
1. เปิดเครื่อง Texture และคอมพิวเตอร์
2. เชื่อมต่อเครื่อง Texture และคอมพิวเตอร์
3. คลิกขวาที่ว่างหน้าจอ



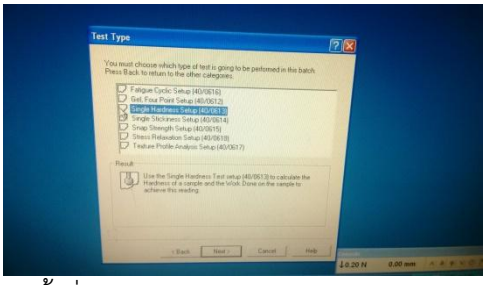
4. กดปุ่ม New เลือก NEXYGEN Batch Document



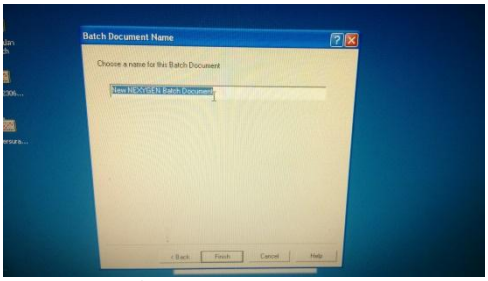
5. เลือกปุ่ม Food เพื่อเลือกชนิดของการทดสอบ กด Next



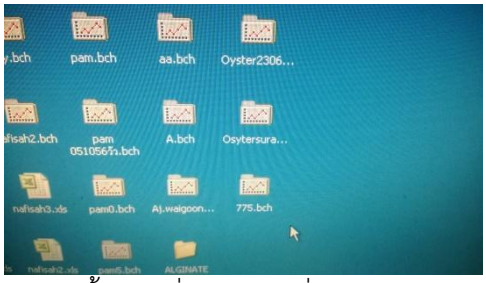
6. เลือกค่าที่จะทดสอบ กด Next



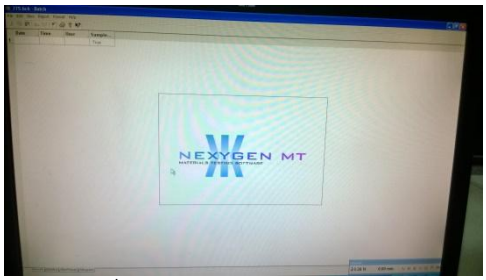
7. ตั้งชื่อ Folder กด Finish



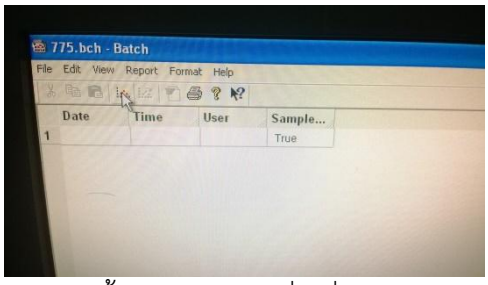
8. Folder ที่ถูกสร้างจะแสดงบนหน้าจอ



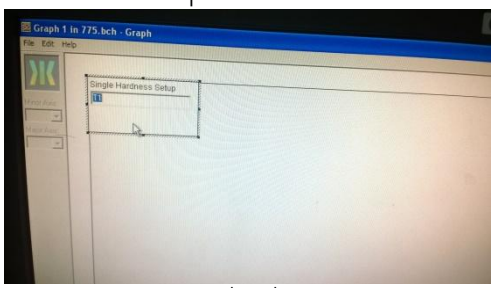
9. ดับเบิ้ลคลิกที่ Folder เพื่อเปิดโปรแกรม



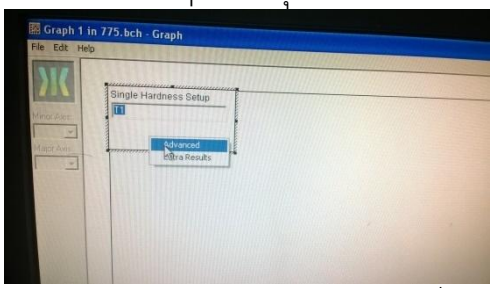
10. คลิกที่ไอคอนรูปกราฟ



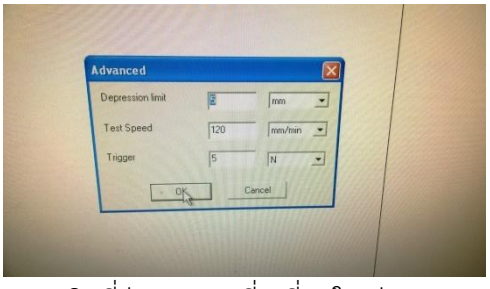
11. ดับเบิ้ลคลิก ในกล่องสี่เหลี่ยม Single Hardness Setup



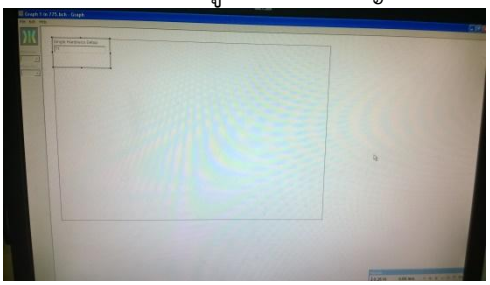
12. คลิกขวาในช่องสี่เหลี่ยม Single Hardness Setup เลือกปุ่ม Advanced



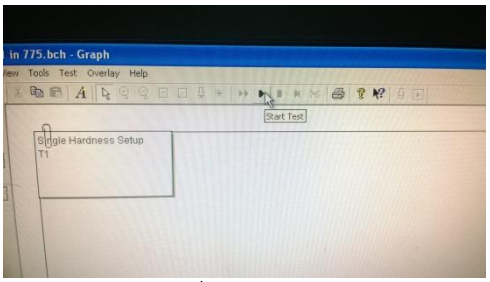
13. Set ค่า Depression limit (ระยะที่ตัด) ค่า Test Speed (ความเร็วในการตัด) และ Trigger (แรงที่ใช้ตัด) กด OK



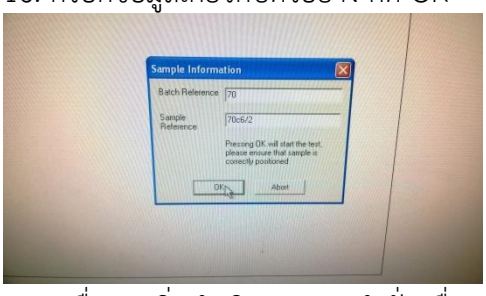
14. คลิกที่ว่างนอกรูปสี่เหลี่ยมใหญ่



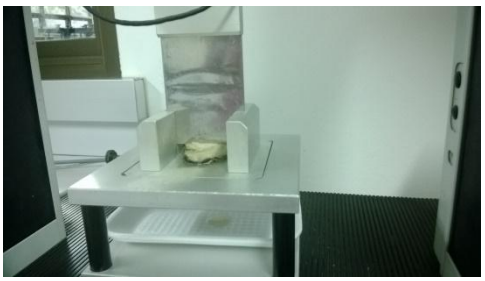
15. เลือกไอคอน Start Test



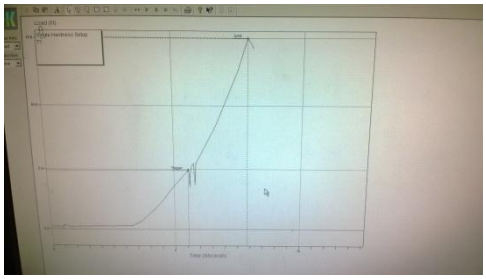
16. กรอกข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่าง กด OK



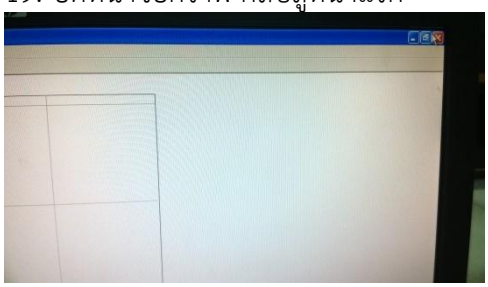
17. เครื่องจะเริ่มดำเนินการตามคำสั่ง เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการตัด ใบมีดจะถูกยกขึ้น



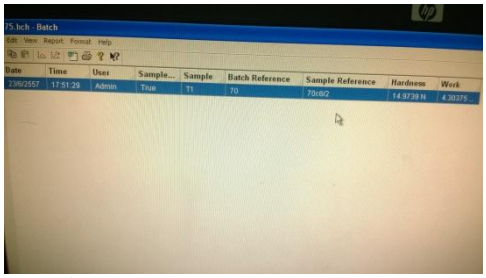
18. หน้าจอแสดงผลในรูปแบบของกราฟ



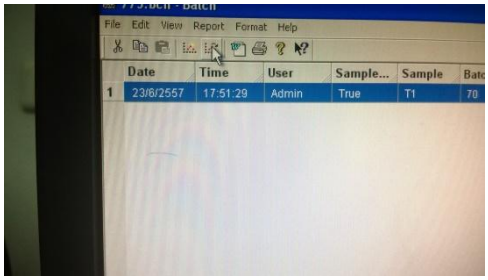
19. ปิดหน้าจอกราฟ กลับสู่หน้าแรก



20. หน้าจอแสดงผลการทดลองและรหัสของข้อมูล



21. เริ่มตัวอย่างถัดไปตามวิธีการเดิม



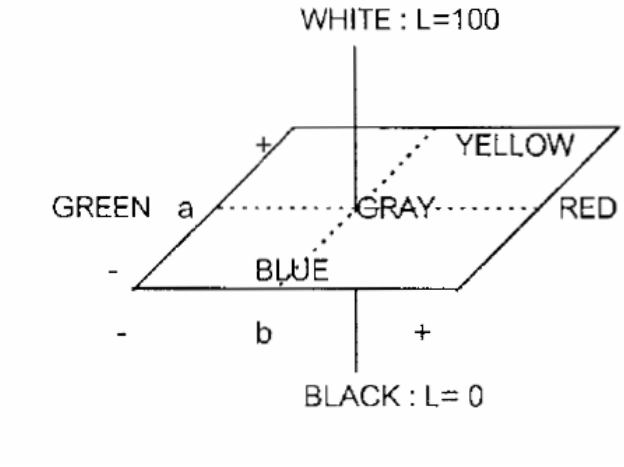
ค.3 วิธีวิเคราะห์ค่าสีด้วยเครื่อง colorimeter (Precise Color Reader, SC80B, China)

การวัดสีด้วยเครื่องวัดสี Color Flexในระบบ Hunter Lab จะให้ค่าสี L เป็นค่าความสว่าง (Lightness) ค่าสี a เป็นค่าสีแดงและสีเขียว (Redness/Greenness) และค่าสี b เป็นค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (Yellowness/Blueness)

ที่ ค่าสี L* คือ ค่าแสดงความสว่างของสี มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100 กรณีถ้า L* มีค่าเป็น 0 หมายถึงมืด (darkness) แต่ถ้ามีค่าเป็น 100 หมายถึง สว่าง (Lightness)

ค่าสี a* คือ แสดงความเป็นสีแดงและเขียว (Redness/Greenness) กรณีถ้า a* มีค่าเป็นบวก หมายถึง สีแดง และกรณี ถ้า a* มีค่าเป็นลบ หมายถึง สีเขียว

ค่าสี b* คือ แสดงความเป็นสีเหลืองและน้ำเงิน (Yellowness/Blueness) กรณีถ้า b* มีค่าเป็นบวก หมายถึง สีเหลือง และกรณี ถ้า b* มีค่าเป็นลบ หมายถึง สีน้ำเงิน



ภาพผนวกที่ 1 Hunter Lab color scale.
ที่มา: Pomeranz and Meloan (1971)

<u>วิธีการ</u>

ก่อนการวัดทุกครั้งต้องทำการปรับมาตรฐานเครื่องด้วยแผ่นสีขาวมาตรฐาน (Standard white tabula) และแผ่นสีดำมาตรฐาน (Standard black cavity) กำหนดค่า illuminant เป็น D65 และ standard observer angle เท่ากับ 10° และเลือกใช้ port insert ที่เส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 1.25 นิ้ว แล้วจึงทำการวัดสีตัวอย่างโดยนำตัวอย่างเนื้อหอยนางรมตัวเดี่ยวๆ วางบน petri dish แล้วใช้เครื่องวัดสีวางทาบลงไปให้แนบสนิทกับตัวเนื้อหอยนางรมโดยให้ช่อง port insert ตรงกับบริเวณที่จะวัดค่าสี ซึ่งมี 2 ตำแหน่งคือ Oyster tissue (ventral) และ Adductor muscle (dorsal) ตำแหน่งละ 5 จุด และใช้หอยนางรม 5 ตัวต่อชุดการทดลอง บันทึกค่าสี L*, a*, b* นำมาหาค่าเฉลี่ย

ภาคผนวก ง
วิธีวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี

ง.1 วิธีการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (Songsaeng *et al*., 2010)

อุปกรณ์

1. pH meter
2. Homogenizer

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อหอยนางรมประมาณ 15 กรัม สับให้ละเอียด แล้วนำมาผสมกับน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร
2. นำตัวอย่างที่ผสมกันแล้วปั่นด้วย Homogenizer ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที
3. วัดค่า pH ด้วย pH meter และบันทึกผล

ง.2 วิธีการวิเคราะห์หาความชื้น (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
2. ภาชนะอลูมิเนียม (Moisture can) พร้อมฝาปิด
3. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)
4. โถดูดความชื้นที่มีสารดูดความชื้น

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 3-5 กรัม ที่เหมาะสมให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนใส่ในภาชนะอลูมิเนียมโดยเปิดฝาเล็กน้อยซึ่งผ่านการอบ 30 นาที และทราบน้ำหนักที่แน่นอน
2. อบให้แห้งในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง
3. จากนั้นนำภาชนะออกจากตู้อบไฟฟ้าพร้อมปิดฝาอลูมิเนียม
4. ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
5. ชั่งน้ำหนัก นำไปอบซ้ำอีกครั้ง ครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งได้น้ำหนักที่คงที่
6. นำผลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณความชื้นดังนี้

วิธีคำนวณ เปอร์เซ็นต์ความชื้น $= \dfrac{100\left(w_1 - w_2\right)}{w_1 - w}$

เมื่อ w น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด (กรัม)

w_1 น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด และตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

w_2 น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด และตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

ง.3 วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ ทั้งหมด (Total Volatile Basic Nitrogen, TVB-N) ด้วยวิธีการกลั่น (distillation) (*Malle* & Poumeyrol, *1989*)

<u>อุปกรณ์</u>

1. Homogenizer
2. เครื่องปั่นเหวี่ยง (High speed Table top Centrifuge)
3. หลอดกลั่น
4. ชุดกลั่นลำดับส่วน
5. ชุดไตเตรท

<u>วิธีการ</u>

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อหอยนางรมประมาณ 25 กรัม

2. เติม 7.5% trichloroacetic acid (TCA) 50 มิลลิลิตร ปั่นเนื้อหอยนางรมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย Homogenizer ที่ความเร็วสูงนาน 1 นาที

3. ปั่นเหวี่ยงที่ 4000 rpm นาน 15 นาที นำส่วนใส 25 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดกลั่น (distillation tube)

4. กลั่นด้วย Kjeldahl-type distillator (VAP 30) เติม 10% โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 6 มิลลิลิตร ลงในหลอดกลั่น ระวังอย่าให้เนื้อหอยนางรมติดที่ด้านข้างหลอด นำบีกเกอร์บรรจุ 4% กรดบอริค (boric acid) 10 มิลลิลิตรและหยดโปรตีนอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด (protein indicator) (methyl red ผสมกับ bromocresol green) วางบีกเกอร์ที่ปลายคอนเดนเซอร์ (condenser) เริ่มทำการกลั่นจนกระทั่งได้สารละลายที่กลั่นได้ (distillate) 40 มิลลิลิตร โดยทำการกลั่นภายใต้สภาวะดังต่อไปนี้ (ก่อนที่จะทำการกลั่นควรทำ การกลั่นด้วยน้ำกลั่น เพื่อล้างทำความสะอาด)

ขั้นตอนที่ 1 เวลาในการเติมน้ำ 0 วินาที
ขั้นตอนที่ 2 เวลาในการเติมด่าง NaOH 0 วินาที
ขั้นตอนที่ 3 เวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำกับด่าง 0 วินาที
ขั้นตอนที่ 4 เวลาในการกลั่น 300 วินาที
ขั้นตอนที่ 5 การผลิตไอน้ำ (Steam generation) 80 %

จะสังเกตเห็นว่าสารละลายกรดบอริค (boric acid solution) จะเปลี่ยนเป็นสีเขียวและไทเทรตกับ 0.1 N กรดซัลฟูริค (sulfuric acid) จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู

<u>วิธีคำนวณ</u>

$$\text{TVB-N (mg TVB-N/100 กรัมตัวอย่าง)} = \frac{(\text{ปริมาณของกรดที่ใช้} \times 14 \times \text{ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ไตเตรท})}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้}}$$

ง.4 วิธีการหาปริมาณไขมันรวม (Total Fat) (Bligh & Dyer, 1959)

<u>อุปกรณ์</u>

1. Homogenizer
2. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Hight speed Table top Centrifuge)
3. กรวยแยก (separatory funnel)

4. เครื่องระเหย (rotary evaporator)

5. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)

6. โถดูดความชื้น (Desiccator)

7. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

<u>สารเคมี</u>

1. Chloroform

2. Methanol

<u>วิธีการ</u>

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อหอยนางรมที่สับละเอียดแล้วประมาณ 50 กรัม ใส่ในบีกเกอร์

2. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน

3. เติมคลอโรฟอร์ม 60 มิลลิลิตร และเมทานอล 120 มิลลิลิตร แล้วโฮโมจีไนส์เป็นเวลา 1 นาที (ระหว่างการโฮโมจีไนส์จะต้องแช่บีกเกอร์ที่บรรจุตัวอย่างและสารละลายผสมในน้ำผสมน้ำแข็ง)

4. เติมคลอโรฟอร์มอีก 60 มิลลิลิตร และโฮโมจีไนส์อีก 30 วินาที

5. เติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร และโฮโมจีไนส์ต่ออีก 30 วินาที

6. ถ่ายของเหลวผสมลงในหลอดสำหรับแยกเหวี่ยง แล้วแยกเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 rpm เป็นเวลา 10 นาที

7. เทเฉพาะส่วนใสใส่ในกรวยแยก ตั้งทิ้งไว้ให้สารแยกชั้น (โดยจะแยกเป็น 3 ชั้น คือ ชั้นล่างสุดจะเป็นส่วนผสมของไขมันละลายในคลอโรฟอร์ม ชั้นกลาง เป็นเนื้อสัตว์และน้ำ และชั้นบนจะเป็นชั้นของเมทานอล)

8. ไขเอาส่วนล่างที่เป็นคลอโรฟอร์มและไขมันออกผ่านกระดาษกรองใส่ในขวดก้นกลมที่ทราบน้ำหนักแน่นอน

9. นำไประเหยเอาคลอโรฟอร์มออกโดยใช้เครื่องระเหย (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิของ water bath 40 องศาเซลเซียส

10. นำไขมันที่เหลือในขวดก้นกลมไปเข้าตู้อบ (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นใน desiccators

11. นำขวดก้นกลมที่มีไขมันอยู่ไปชั่งน้ำหนัก บันทึกผล

12. ละลายไขมันด้วยสารละลาย C-M mixture (คลอโรฟอร์ม : เมทานอล, อัตราส่วน 2 : 1) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เทใส่ในขวด vial สีชา เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ใช้วิเคราะห์ขั้นตอนต่อไป

<u>วิธีคำนวณ</u>

$$\% \text{ ไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

ง.5 วิธีการวิเคราะห์ค่า Peroxide Value (PV) (AOAC, 1998)

อุปกรณ์

1. Hood
2. ตู้มืด
3. บิวเรต
4. ปิเปต
5. Flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
6. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

สารเคมี

1. Peroxide Value solvent (Chloroform : Acetic acid; 2:3)
2. Potassium
3. Starch
4. Sodium Thiosulphate

วิธีการ

1. ทำการสกัดไขมันจากตัวอย่างตามวิธีในการหาปริมาณไขมันรวมโดยการสกัดด้วย C-M mixture
2. ชั่งไขมันที่สกัดได้ 0.5 กรัม ลงในขวดรูปชมพูขนาด 250 มิลลิลิตร เติม Peroxide Value solvent 30 มิลลิลิตร แล้วเขย่าให้เข้ากันอย่างดี
3. เติม 0.5 มิลลิลิตร Potassium iodide อิ่มตัว แล้วตั้งเก็บในที่มืด 1 นาที เติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร
4. เติมน้ำแป้งประมาณ 5 หยดลงในตัวอย่าง ไตเตรทด้วย 0.01 N Sodium thiosulphate จุดยุติจะพบว่าสีม่วงจางหายไป บันทึกผล

*** หาค่า Blank โดยไม่มีการเติมตัวอย่างด้วยวิธีเดียวกัน

วิธีคำนวณ

$$\text{Peroxide value (mill-equivalents/100 g)} = \frac{(S-B) \times N \times 100}{W}$$

เมื่อ S = ค่ามิลลิลิตรของ sodium thiosulphate ไตเตรทตัวอย่าง

B = ค่ามิลลิลิตรของ sodium thiosulphate ไตเตรท blank

N = Normality ของ thiosulphate

W = น้ำหนักตัวอย่างเป็นกรัม

ง.6 วิธีการวิเคราะห์ ค่า Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) (Buege & Aust, 1978)

<u>อุปกรณ์</u>

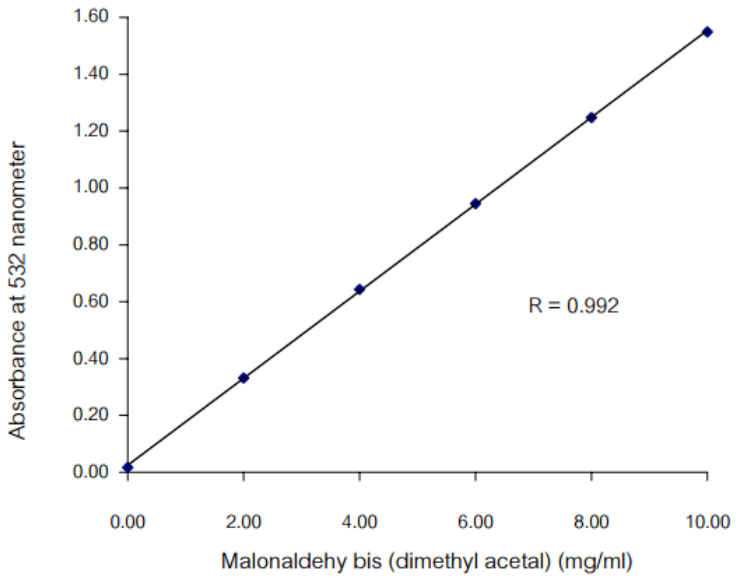
1. Hood
2. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
3. Vortex
4. ปิเปต
5. Volumetric Flask ขนาด 25 มิลลิลิตร
6. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
7. Spectrophotometer

<u>สารเคมี</u>

1. n-Buthanol
2. Trichloroacetic acid
3. Acetic acid

<u>วิธีการ</u>

1. เติมตัวอย่าง 0.05 g ใสในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร
2. ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย n-buthanol ให้ได้ 25 มิลลิลิตร
3. ดูดสารละลายที่ปรับปริมาตรมา 5 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง และเติมสารละลาย TBA 5 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดทดลองแล้วเขย่าให้เข้ากัน ด้วยเครื่อง vortex
4. นำหลอดทดลองไปให้ความร้อนใน water bath ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. ทำให้เย็นโดยการเปิดให้น้ำไหลผ่าน (ระวังอย่าให้น้ำเข้าหลอด)
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer
7. เตรียมกราฟมาตรฐาน โดยใช้ malonaldehy bis (dimethyl acetal) (MDA) ที่ความเข้มข้นจาก 0 ถึง 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังภาพผนวกที่ 2 และแสดงผลค่า TBARS ในรูปของมาโลนาวดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง



ภาพผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณมาโลนาวดีไฮด์ โดยใช้ Malonaldehy bis (dimethyl acetal)

ภาคผนวก จ
วิธีวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลชีววิทยา

จ.1 เตรียมเชื้อ Stock culture ของ *Listeria monocytogenes*

<u>อุปกรณ์</u>

1. จานเพาะเชื้อที่ปลอดเชื้อ
2. ปิเปต ขนาด 1, 10 มิลลิลิตร ที่ปลอดเชื้อ
3. หลอดทดลองที่ปลอดเชื้อ
4. หม้อนึ่งความดัน (Auto clave)
5. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
6. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar air flow)

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อ</u>

1. Listeria selective or tryptic soy agar +0.6% yeast extract
2. Peptone water
3. Tryptic soy broth

<u>วิธีการ</u>

1. คัดเลือกเชื้อ *L. monocytogenes* 1 loop จาก Stock culture ที่เก็บในตู้ –80 องศาเซลเซียส ถ่ายลงในหลอดทดลองที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Tryptic soy broth + 0.6% Yeast extract ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
2. เขย่าให้เข้ากันแล้วนำหลอดทดลองบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. เขี่ยเชื้อ *L. monocytogenes* จาก Stock culture 1 loop มาทำการ streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Tryptic soy agar + 0.6% Yeast extract
4. บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
5. เลือกโคโลนีเดี่ยวจากจานเพาะเชื้อ 1 โคโลนี (ยืนยันชนิดเชื้อด้วยการย้อมแกรมและส่องดูลักษณะโคโลนีด้วยกล้องจุลทรรศน์) ถ่ายลงอาหารเหลว Tryptic soy broth + 0.6% Yeast extract
6. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (อาหารเหลวขุ่น) จากนั้นจะได้ Stock culture ของ *L. monocytogenes* พร้อมใช้ในการทดลองต่อไป

จ.2 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อหอยนางรมให้ได้ความเข้มข้น 10^7-10^9 CFU/g (ดัดแปลงวิธีการจาก Murphy et al., 2004)

1. ใช้เชื้อจากภาคผนวก ค.1 ฉีดลงในตัวอย่างเนื้อหอยนางรม ในอัตราส่วน 1:100 มิลลิลิตรต่อกรัมตัวอย่าง
2. นำตัวอย่างบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการสุ่มตัวอย่างที่เวลา 0 10 20 และ 30 นาที

3. วิเคราะห์หาปริมาณ *L. monocytogenes* โดยวิธีการ Spread plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Listeria selective agar บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตรวจนับจำนวนโคโลนี รายงานผลจำนวนโคโลนีเป็น CFU/g ในตัวอย่างเนื้อหอยนางรม ผลการทดลองดังแสดงในตารางผนวกที่ 1

ตารางผนวกที่ 1 ปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อหอยนางรมที่ระยะเวลาบ่มต่าง ๆ กัน

ระยะเวลาที่ใช้บ่มตัวอย่าง (นาที)	**ปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* (CFU/g)**
0	4.0×10^{5}
10	2.5×10^{8}
20	1.5×10^{9}
30	8.0×10^{11}

จากผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มเชื้อ *L. monocytogenes* ในหอยนางรม พบว่า ระยะเวลาในการบ่มตัวอย่างมีความสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาในการบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* เพิ่มขึ้น เนื่องจากในการศึกษาต้องการเติมเชื้อ *L. monocytogenes* ลงในตัวอย่างให้ได้ปริมาณเชื้อตั้งต้นอยู่ในช่วง 10^{7}-10^{9} CFU/g จึงเลือกระยะเวลาที่ใช้ในการบ่มตัวอย่างเป็น 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Murphy (2004)

จ.3 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียกลุ่มที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (Total viable count) ตามวิธีของ BAM (2001)

<u>อุปกรณ์</u>

1. จานเพาะเชื้อที่ปลอดเชื้อ
2. ปิเปต ขนาด 1, 10 มิลลิลิตร ที่ปลอดเชื้อ
3. หลอดทดลองที่ปลอดเชื้อ
4. กรรไกร, Forceps ที่ปลอดเชื้อ
5. หม้อนึ่งความดัน (Auto clave)
6. ตู้บ่มเชื้อ (Incubactor)
7. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar air flow)

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อ</u>

1. Plate count agar (PCA)

<u>วิธีการ</u>

1.ใช้กรรไกรและ forcep ปลอดเชื้อตัดตัวอย่างเนื้อหอยนางรมให้ละเอียด

2. ชั่งน้ำหนัก 25 กรัม เติมสารละลาย 0.1 % Peptone water ปริมาตร 225 มิลลิลิตร เขย่าตัวอย่าง 25 ครั้งต่อนาที จากนั้นนำวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 30 นาที

3. ทำการเจือจางให้เป็น 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ10^{-5} ตามลำดับ โดยใช้สารละลาย 0.1 % Peptone water

4. ปิเปตตัวอย่างจากหลอดทดลองในข้อ 3 ตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร (ทำ 2 ซ้ำ) ลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

5. เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในจานเพาะเชื้อ ประมาณ 15-20 มิลลิลิตร (อุณหภูมิอาหารประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส) เขย่าจานเบาๆ ในลักษณะเลขแปด วางจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว

6. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (Mesophilic) ในลักษณะคว่ำจานเพาะเชื้อ เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง และบ่มที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส (Psychrophic) เป็นเวลา 7 วัน

7. ตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี

8. บันทึกผลและรายงานผลการทดลองเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง log (CFU/g)

<u>วิธีคำนวณ</u>

log CFU/g = log Average no. of colonies x dilution factor

จ.4 การวิเคราะห์หาปริมาณ *L. monocytogenes*

<u>อุปกรณ์</u>

1. จานเพาะเชื้อที่ปลอดเชื้อ
2. ปิเปต ขนาด 1, 10 มิลลิลิตร ที่ปลอดเชื้อ
3. กรรไกร, Forceps ที่ปลอดเชื้อ
4. หม้อนึ่งความดัน (Auto clave)
5. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
6. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar air flow)

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อ</u>

1. Listeria selective agar
2. Peptone water

<u>วิธีการ</u>

1.ใช้กรรไกรและ forcep ปลอดเชื้อตัดตัวอย่างเนื้อหอยนางรมให้ละเอียด

2. ชั่งน้ำหนัก 10 กรัม เติมสารละลาย 0.1% Peptone water ปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่าตัวอย่าง 25 ครั้งต่อนาที

3. ทำการเจือจางให้เป็น 10^{-2}และ 10^{-3} ตามลำดับ โดยใช้สารละลาย 0.1% Peptone water

4. ปิเปตตัวอย่างจากหลอดทดลอง 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3} ตัวอย่างละ 0.1 มิลลิลิตร (ทำ 2 ซ้ำ) ลงบน Listeria selective agar

5. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

6. ตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี

7. บันทึกผลและรายงานผลการทดลองเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง

วิธีคำนวณ

log CFU/g = log Average no. of colonies x dilution factor

จ.5 การวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ที่ ก่อให้เกิด การ เน่าเสีย ในผลิตภัณฑ์ ได้แก่ Enterobacteriaaceae, *Pseudomonas* spp., Lactic acid bacteria (Radna Krishnan *et al*., 2014) และ Hydrogen sulfide (Amanatidou *et al*., 2000)

อุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อที่ปลอดเชื้อ
2. ปิเปต ขนาด 1, 10 มิลลิลิตร ที่ปลอดเชื้อ
3. กรรไกร, Forceps ที่ปลอดเชื้อ
4. หม้อนึ่งความดัน (Auto clave)
5. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
6. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar air flow)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Iron Agar Salfile
2. Violet Red Bile Glucose agar
3. Glutamant Starch Phenol Red agar
4. Man Rogosa sharpe agar
5. Peptone water
6. Sodium chloride (NaCl)

วิธีการ

1.ใช้กรรไกรและ forcep ปลอดเชื้อตัดตัวอย่างเนื้อหอยนางรมให้ละเอียด

2. ชั่งน้ำหนัก 10 กรัม เติมสารละลาย 0.1% Peptone water ปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่าตัวอย่าง 25 ครั้งต่อนาที

3. ทำการเจือจางให้เป็น 10^{-2} และ 10^{-3} ตามลำดับ โดยใช้สารละลาย 0.1% Peptone water + 0.85% NaCl

4. ปิเปตตัวอย่างจากหลอดทดลอง 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3} (เพิ่มระดับความเข้มข้นขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา) ตัวอย่างละ 0.1 มิลลิลิตร (ทำ 2 ซ้ำ) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อดังต่อไปนี้

- Iron Agar Salfide สำหรับการวิเคราะห์ Hydrogen sulfide
- Violet Red Bile Glucose agar สำหรับการวิเคราะห์ Enterobacteriaceae
- Glutamant Starch Phenol Red agar สำหรับการวิเคราะห์ Pseudomonas
- Man Rogosa sharpe agar สำหรับการวิเคราะห์ Lactic acid bacteria

5. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิและเวลาดังต่อไปนี้

เชื้อที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (ชั่วโมง)
Hydrogen sulfide	20	96
Enterobacteriaceae	37	24
Pseudomonas spp.	30	48
Lactic acid bacteria	30	72

6. ตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี
7. บันทึกผลและรายงานผลการทดลองเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง

ภาคผนวก ฉ
การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส Hedonic scale

ตัวอย่าง : หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ (เพื่อคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์หอยนางรม)

ผู้ประเมิน..... **วันที่**.....

คำชี้แจง จงประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสในชุดการทดลอง โดยเรียงลำดับตัวอย่างจากซ้ายไปทางขวามือของท่าน แล้วให้คะแนนการยอมรับในแต่ละตัวอย่าง ตามคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

เกณฑ์การให้คะแนน

9 = ยอมรับมากที่สุด	6 = ยอมรับน้อย	3 = ไม่ยอมรับปานกลาง
8 = ยอมรับมาก	5 = เฉยๆ	2 = ไม่ยอมรับมาก
7 = ยอมรับปานกลาง	4 = ไม่ยอมรับเล็กน้อย	1 = ไม่ยอมรับมากที่สุด

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส	รหัสตัวอย่าง					
ลักษณะปรากฏ						
กลิ่น						
รสชาติ						
เนื้อสัมผัส						
ความชอบโดยรวม						

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....
.....
.....
.....

****** Thank you ******

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส Hedonic scale

ตัวอย่าง : หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษาภายใต้สภาวะดัดแปลงบรรยากาศที่อุณหภูมิแช่เย็น

ผู้ประเมิน..... **วันที่**.....

คำชี้แจง จงประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสในชุดการทดลอง โดยเรียงลำดับตัวอย่างจากซ้ายไปทางขวามือของท่าน แล้วให้คะแนนการยอมรับในแต่ละตัวอย่าง ตามคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

เกณฑ์การให้คะแนน

9 = ยอมรับมากที่สุด	6 = ยอมรับน้อย	3 = ไม่ยอมรับปานกลาง
8 = ยอมรับมาก	5 = เฉยๆ	2 = ไม่ยอมรับมาก
7 = ยอมรับปานกลาง	4 = ไม่ยอมรับเล็กน้อย	1 = ไม่ยอมรับมากที่สุด

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส	**รหัสตัวอย่าง**					
ลักษณะปรากฏ						
กลิ่น						
รสชาติ						
เนื้อสัมผัส						
ความชอบโดยรวม						

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....

.....

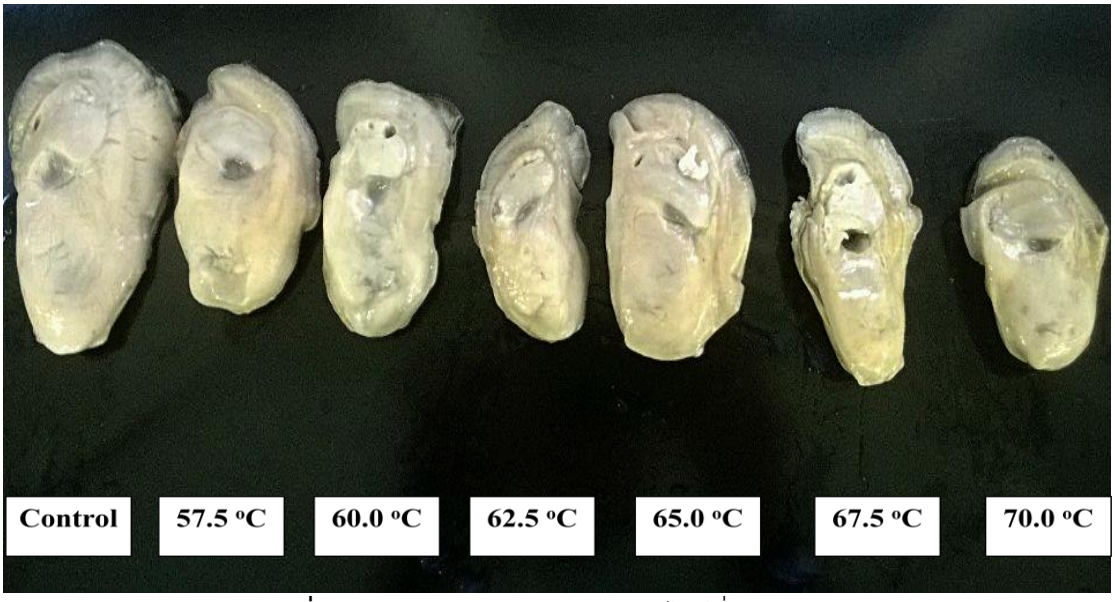
.....

.....

****** Thank you ******

ภาคผนวก ช

ผลิตภัณฑ์หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์



ภาพผนวกที่ 3 หอยนางรมหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน

ภาพผนวกที่ 4 หอยนางรมพาสเจอร์ไรส์บรรจุภายใต้สภาพดัดแปลงบรรยากาศ

ภาพผนวกที่ 5 ชุดอุปกรณ์ปิดผนึกภายใต้สภาพดัดแปลงบรรยากาศ

ประวัติผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) ดร. สมหวัง เล็กจริง
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Dr. Somwang Lekjing
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน : 3930300544037
   ตำแหน่งปัจจุบัน: ผู้ช่วยศาสตราจารย์
3. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก
   สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม
   มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ต. มะขามเตี้ย อ. เมือง จ. สุราษฎร์ธานี 84000
   โทรศัพท์/โทรสาร: 077355453 มือถือ 0897360443
   อีเมล์: somwang.s@psu.ac.th
4. ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
Ph.D.	Food Technology	Prince of Songkla University	2553
B.Sc.	Food Technology	Walailak University	2545

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ
   - เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร
   - เคมีและชีวเคมีของสัตว์และสัตว์น้ำ
   - การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
6. ผลงานทางวิชาการ

ก. ผลงานที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติ/นานาชาติ

1. Lekjing, S. (2016). A chitosan-based coating with or without clove oil extends the shelf life of cooked pork sausages in refrigerated storage. *Meat Science, 111*, 192-197.
2. วิภาวดี สำแดง, ฑิฆัมพร ไม้เรียง, เบญจมาภรณ์ พิมพา และ สมหวัง เล็กจริง. (2558). การยืดอายุการเก็บรักษาคั่วกลิ้งเห็ดแครงและน้ำพริกเห็ดแครง. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 20*(2): 1-15.
3. Songsaeng, S., Sophanodora, P., Kaewsrithong, J., & Ohshima, T. (2010). Quality changes in oyster (*Crassostrea belcheri*) during frozen storage as affected by freezing and antioxidant. *Food Chemistry, 123*, 286-290.

4. Songsaeng, S., Sophanodora, P., Kaewsrithong, J., & Ohshima, T. (2010). Effect of different storage conditions on quality of white-scar oyster (*Crassostrea belcheri*). *International Food Research Journal, 17*, 491-500.
5. Songsaeng, S., Sophanodora, P., Kaewsrithong, J., & Ohshima, T. (2009). Changes in lipid of white-scar oyster (*Crassostrea belcheri*) during chilled storage under different salt concentrations. *Asian Journal of Food and Agro-Industry, 2*(2), 140-154.

ข. การนำเสนอผลงานวิชาการในระดับชาติ/นานาชาติ (Proceeding)

1. Lekjing, S. (2015). Effect of chitosan and clove oil on pork sausage product. In *The 10th International Workshop for East Asian Young Rheologists (IWEAYR-10)*. Kyushu University, Fukuoka, Japan. 4-7 February 2015.
2. Lekjing, S., & Siripongvutikorn, S. (2557). Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in oyster (*Crassostrea belcheri*) meat and pasteurization effects on meat quality. In *The 5th International Symposium on Wellness, Healthy Lifestyle and Nutrition 2014*. Lee Garden Plaza Hotel, Hat Yai, Songkhla, Thailand. 2-3 December 2014.
3. สมหวัง สงแสง. (2557). การศึกษาสมบัติทางกายภาพและการยอมรับทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกหมูโดยการเคลือบไคโตซานร่วมกับน้ำมันหอมระเหยกานพลู. ใน *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52*, หน้า 59-66. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ. 4-7 กุมภาพันธ์ 2557.
4. จิตร์ติมา ทิพย์อักษร, ศศิลักษณ์ เหมียนเอียด และ สมหวัง สงแสง. (2555). การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยแมลงภู่ (Perna viridis) ลวกในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น. ใน *การประชุมวิชาการวลัยลักษณ์ ครั้งที่ 4*, หน้า 241-242. มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ นครศรีธรรมราช. 21 มิถุนายน 2555.
5. สุกานดา วิเชียร, สุทธินี ศรีเทพ และ สมหวัง สงแสง. (2555). การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลากะตักอบแห้งระหว่างการเก็บรักษาในสภาวะต่างกัน. ใน *การประชุมวิชาการวลัยลักษณ์ ครั้งที่ 4,* หน้า 239-240. มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ นครศรีธรรมราช. 21 มิถุนายน 2555.
6. Songsaeng, S., Sophanodora, P., Kaewsrithong, J., & Ohshima, T. (2553). Effects of antioxidant on lipids of white-scar oyster (*Crassostrea belcheri*) during frozen storage. In *The 2010 Spring Meeting of the Japanese Society of Fisheries Science*, หน้า 187. College of Bioresource Sciences, Nihon University, ฟุจิซาวะ คานะกาวะ ประเทศญี่ปุ่น. 26-30 มีนาคม 2553.
7. Songsaeng, S., Sophanodora, P., Kaewsrithong, J., & Ohshima, T. (2552). Changes in lipid of white-scar oyster (*Crassostrea belcheri*) during chilled storage under different salt concentrations. In *Proceeding of the Food Innovation Asia*

Conference 2009: Value Creation through Innovation in Food Technology, หน้า 55. ไบเทค กรุงเทพ ประเทศไทย. 18-19 มิถุนายน 2552.

8. Songsaeng, S., Sophanodora, P., Kaewsrithong, J., & Ohshima, T. (2552). Effect of antioxidants on volatile profile of contact plate and individual quick frozen oysters (*Crassostrea belcheri*). In *The 47th Kasetsart University Annual Conference,* หน้า 580-587. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ ประเทศไทย . 17-20 มีนาคม 2552.
9. Songsaeng, S., Sophanodora, P., Kaewsrithong, J., & Ohshima, T. (2550). Quality changes of frozen oyster (*Crassostrea belcheri*) as affected by freezing and antioxidant. In *JSPS-NRCT International Symposium: Sufficiency Economy Philosophy for the Sustained Development of Fishery*, หน้า 97. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ ประเทศไทย. 17-18 ธันวาคม 2550.
10. Songsaeng, S., Sophanodora, P., Ohshima, T., & Kaewsrithong, J. (2550). Chemical and microbiological changes during chilled storage of shell-on and shucked oyster (*Crassostrea belcheri*). In *The 7th National Grad Research Conference*, หน้า 196-199. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี จ. สุราษฎร์ธานี ประเทศไทย. 4-5 เมษายน 2550.
11. Songsaeng, S., Sophanodora, P., Ohshima, T., & Kaewsrithong, J. (2548). Effect of various storage conditions on qualities of fresh oyster (*Crassostrea belcheri*). In *RGJ-Ph.D. Congress VI*, หน้า 266. โรงแรมจอมเทียน ปาล์มบีช อ. พัทยา จ. ชลบุรี ประเทศไทย. 28-30 เมษายน 2548.
12. Songsaeng, S., Sophanodora, P., & Kaewsrithong, J. (2547). Effect of pretreatment and storage temperature on qualities of fresh oyster (*Crassostrea belcheri*). In R*GJ Seminar Series XXX in Biosciences and Biotechnology for the Development of Southern Thailand*, หน้า7. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา ประเทศไทย. 13 สิงหาคม 2547.

ผู้วิจัยร่วม

1. ชื่อ-นามสกุล ดร. สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกร หมายเลขประจำตัวประชาชน 3 8412 00347 33 9
(ENGLISH) Assist. Prof. Dr. Sunisa Siripongvutikorn

2. เพศ หญิง เกิดวันที่ 1 เดือน เมษายน พ.ศ. 2509

3. ตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์

4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์และโทรสาร

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ โทรศัพท์ 074-286320-1 และโทรสาร 074-212-889

5. ประวัติการศึกษา

เริ่มปีพ.ศ.	จบปี พ.ศ.	วุฒิที่ได้รับ	สาขาวิชา	สถาบัน	ประเทศ
2542	2547	ปร.ด	เทคโนโลยีอาหาร	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	ไทย
2532	2535	วท.ม	เทคโนโลยีอาหาร	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	ไทย
2528	2532	วท.บ	การจัดการศัตรูพืช	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	ไทย

6. สาขาวิชาที่เชี่ยวชาญ

- เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวสัตว์น้ำ
- การเพิ่มประสิทธิภาพสมบัติการต้านจุลินทรีย์และออกซิเดชันในเครื่องแกงไทยและการประยุกต์ใช้
- การยืดอายุการเก็บรักษาสัตว์น้ำด้วยพืชสมุนไพร

7. ผลงานวิจัย

ก. ผลงานที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติ/นานาชาติ

1. Pengseng, N., Siripongvutikorn, S., Usawakesmanee, W., Wattanachant, S., & Sutthirak, P. (2013). Effect of lipids and thermal processing on antioxidant activities of tested antioxidants and Tom-Kha paste extract. *Food Nutrition and Science, 4* (8A), 229-243.
2. Bunruk, B., Siripongvutikorn, S., & Suttirak, P. (2013). Combined effect of garlic juice and Sa-Tay marinade on quality changes of oyster meat during chilled storage. *Food Nutrition and Sciences, 4*, 690-700.
3. Promjiam, P., Siripongvutikorn, S., & Usawakesmanee, W. (2013). Effect of added garcinia fruit on total phenolic compound content, antioxidant properties and quality changes of the Southern sour curry paste, Keang-hleung, during storage. *Food Nutrition and Sciences, 4*, 812-820.
4. Siripongvutikorn, S., Usawakesmanee, W. Wittaya, T., Koonwpaew, B., & Pengseng, N. (2012). Combined effect of low acid paste and modified atmospheric condition on quality changes of shrimp, *Litopenaeus*

vannamei during chilled storage. *International Food Research Journal, 19*, 1573-1580.

5. Settharaksa, S., Jongjareonrak, A., Hmadhlu, P., Chansuwan, W., & Siripongvutikorn, S. (2012). Flavonoid, phenolic contents and antioxidant properties of Thai hot curry paste extract and its ingredients as affected of pH, solvent types and high temperature. *International Food Research Journal, 19*, 1581-1587.
6. Junsri, M., Usawakesmanee, W., & Siripongvutikorn, S (2012). Effect of using starch on off-odors retention in tuna dark meat. *International Food Research Journal, 19*, 709-714.
7. Arunrat, K., Siripongvutikorn, S, & Thongraung, C. (2011). Total phenolic content and antioxidant activity in seasoning protein hydrolysate as affected by pasteurization and storage. *Journal of Food Science and Engineering, 1*, 252-262.
8. Seah, R., Siripongvutikorn, S., & Usawakesmanee, W. (2011). Stability of antioxidant and antibacterial properties in heated turmeric-chili paste and its ingredients. *International Food Research Journal, 18*, 397-404.
9. Pengseng, N., Siripongvutikorn, S., Usawakesmanee, W., & Wattanachant, S. (2011). Combined effect of carbohydrate and thermal processing on antioxidant activity of galangal coconut-milk paste extract, Tom-Kha. *International Food Research Journal, 18,* 875-882.
10. Wichachuchoet, S ., Usawakesmanee, W. Siripongvutikorn, S., Jitbunjerdkul, S., & Wattanachant, S. (2011). Quality changes of chicken frying oil as affected of frying conditions. *International Food Research Journal, 18,* 606-611.
11. Buaniaw, C., Siripongvutikorn, S., & Thongraung, C. (2010). Effectiveness of ethanolic galangal extract (*Alpinia galanga* Linn.) on inhibition of lipid oxidation in fish muscle systems. *International Journal of Food Science and Technology, 45*(11), 2373-2378.
12. Wongwiwat, P., Wattanachant, S., & Siripongvutikorn, S. (2010). Effect of phosphate treatments on microbiological, physicochemical changes of spent hen muscle marinated with Tom Yum paste during chilled storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 90*(8), 1293-1299.
13. Seah, R., Siripongvutikorn, S., & Usawakesmanee, W. (2010). Antioxidant and antibacterial properties in Keang-hleung and its ingredients. *Asian Journal Food Agro-Industry, 3*(02), 213-220.

14. Ifesan, B. O. T., Siripongvutikorn, S., Thummaratwasik, P., & Kanthachote, D. (2010). Stability of antibacterial property of Thai green curry during chilled storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, *34* (SUPPL. 1), 308-321.
15. Ifesan, B. O., Siripongvutikorn, S., Hutadilok-Towatana, N., & Voravuthikunchai, S. P. (2009). Evaluation of the Ability of *Eleutherine americana* Crude Extract as Natural Food Additive in Cooked Pork. *Journal of Food Science, 74* (7), 352-357.
16. Ifesan, B. O., Siripongvutikorn, S., & Voravuthikunchai, S. P. (2008). Application of *Eleutherine americana* Crude Extract in Homemade Salad Dressing. *Journal of Food Protection, 72*(6), 650-655.
17. Ayasuk, S., Siripongvutikorn, S., Thummaratwasik, P., & Usawakesmanee. W. (2009). Effect of heat treatment on antioxidant properties of Tom-Kla paste and herbs/spices used in Tom-Kla paste. *Kasetsart Journal (Natural Science), 43,* 305-312.
18. Pakawatchai, C., Siripongvutikorn, S., & Usawakesmanee, W. (2009). Effect of herb and spice pastes on the quality changes in minced salmon flesh waste during chilled storage. *Asian Journal Food Agro-Industry, 2*(04), 481-492
19. Siripongvutikorn, S., Thongraung, C., Usawakesmanee, W., Bourtoom, T., & Thammarutwasik, P. (2009). Development of instant garcinia (*Garcinia atroviridis*) Tom-Yum mix as a high acid seasoning. *Journal of Food Processing and Preservation, 33*, 74-86.
20. Siripongvutikorn, S., Ayusook, S., Pengseng, N., & Usawakesmanee, W. (2008). Development of green curry paste marinade for white shrimp (*Litopenaeus vannamai*). *Songklanakarin Journal of Science and Technology, 30* (Suppl.1), 35-40.
21. Buaniew, C., Usawakesmanee, W., Siripongvutikorn, S., & Thongraung, C. (2008). Effect of pH and ATP on hemoglobin accelerates lipid oxidation in unwashed and washed seabass (*Lates calcarifer*) muscle. *Songklanakarin Journal of Science and Technology, 30* (Suppl.1), 19-23.
22. Chuayanukool, K., Wattanachant, S., & Siripongvutikorn, S. (2007). Chemical and physical properties of raw and cooked spent hen, broiler and Thai indigenous chicken muscle in mixed herbs acidified soup (Tom-Yum). *Journal of Food Technology, 5*, 180-186.
23. Siripongvutikorn, S., Thammarutwasik, P., & Huang, Y, W. (2005). Antibacterial and antioxidant effect of Thai seasoning, Tom-Yum. *LTW-Food Science and Technology, 38*, 347-352.

ข. การนำเสนอผลงานวิชาการในระดับชาติ/นานาชาติ (Proceeding)

Invited speaker

1. Siripongvutikorn, S. (2010). International Symposium as Guest Speaker for the Status and Future of Functional Foods. Asian Perspectives held on November 10, 2010 in Cheonan, Korea.

Proceeding

1. Pakawatchai, C., Siripongvutikorn, S., & Usawakesmanee, W. (2009). Effect of herb and spice pastes on the quality changes of minced Salmon flesh waste during chilled storage. FIAC2009 POSTER PRESENTATION. In *11th Agro-Industry Conference*. BITEC, Bangkok, Thailand. Food Innovation Conference. 18-19 June 2009.
2. Seah, R., & Siripongvutikorn, S. (2009). Antioxidant and antibacterial properties in Keang-hleung paste and its ingredients. FIAC2009 POSTER PRESENTATION. In *11th Agro-Industry Conference*. BITEC, Bangkok, Thailand. Food Innovation Conference. 18-19 June 2009
3. Siripongvutikorn, S., Prasartong, B., Pecharatong, V., & Usawakesmanee, W. (2009). Application of a Thai Barbecue Seasoning, Sa-teh Paste, Marinade for White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). In *11th Asean Food Conference 2009 "Food Science and Technology: Innovative Approaches and Opportunities for Global Market"*, pp. 137-147. Banda Seri Begawan, Brunei Darussalam. 21-23 October 2009,
4. Chartwangsakul, N., Siripongvutikorn, S., & Bourtoom, T. (2007). Effect of heat treatment on physical, chemical and biological attributes of garcinia (Garcinia atroviridis Griff. Ex T.Andres) Tom-Yum paste. In *proceeding of 10th ASEAN FOOD CONFERENCE 2007: Food for Mankind-Contribution of Science and Technology.* Kula Lumpur, Malaysia.
5. Siripongvutikorn, S., Thammaratwasik, P., & Huang, Y-W. (2004). Natural preservative properties of Tom-Yum mix and its application in marinated fish In *10th World Congress on Clinical Nutrition* (Oral session). Phuket Province. Thailand
6. Siripongvutikorn, S., Thammarutwasik, P., & Huang, Y. W. (2003). Natural preservative property of Tom-Yum mix. In *2003 IFT Annual Meeting Technical Program*. Chicago, USA.
7. Siripongvutikorn, S., Thammarutwasik, P., & Huang, Y. W. (2002). Antibacterial effects and antioxidant content of Tom-Yum. In *2002 IFT Annual Meeting Technical Program*. California, USA.

ค. ผลงานวิจัยที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

- การประยุกต์ใช้ GMP การให้คำปรึกษาแก่ผู้ประกอบ/กลุ่มแม่บ้านในการจัดทำระบบและการขอเครื่องหมาย อย.
- การพัฒนาเครื่องต้มยำส้มแขกก้อน (โครงการ วพส)

ง. ผลงานอื่นๆ เช่น ตำรา บทความ สิทธิบัตร ฯลฯ

1. จักรี ทองเรือง และ สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกร. (2548) อนุสิทธิบัตร เรื่องวิธีการยับยั้งการเปลี่ยนสีของน้ำปลาในระหว่างการเปิดใช้หรือการเก็บรักษา.
2. สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกร, ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก และ Huang, Y. W. สิทธิบัตร เรื่องสูตรเครื่องต้มยำที่ใช้สำหรับการหมักเนื้อสัตว์หรืออาหารทะเลและกรรมวิธีการผลิต (ผ่านขั้นตอนการลงโฆษณา).
3. วรพงษ์ อัศวเกศมณี, สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกร , จักรี ทองเรือง และ เถวียน บัวตุ่ม . อนุสิทธิบัตร เรื่องการอบแห้งใบมะกรูดด้วยไมโครเวฟ (อยู่ในระหว่างการตรวจสอบจากกรรมทรัพย์สินทางปัญญา)
4. สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกร , จักรี ทองเรือง , วรพงษ์ อัศวเกศมณี , เถวียน บัวตุ่ม และ ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก. อนุสิทธิบัตร เรื่องเครื่องต้มยำส้มแขกก้อน (อยู่ในระหว่างดำเนินการยื่นจด)

จ. รางวัลผลงานวิจัยที่เคยได้รับ

1. ประกาศนียบัตร ผลงานด้านอนุสิทธิบัตร เรื่องการยับยั้งการเกิดสีคล้ำในน้ำปลาหลังการเปิดใช้ด้วยพืชสมุนไพรบางชนิด