ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. องค์ประกอบเคมีของปลาหมึกกระดองส่วนลำตัว

องค์ประกอบเคมีของปลาหมึกกระดองส่วนลำตัว (*Sepia brevimana*) แสดงดังตารางที่ 3.1 ผลการวิเคราะห์พบว่ากล้ามเนื้อส่วนลำตัวของปลาหมึกกระดองมีปริมาณความชื้น ไขมัน เถ้า และโปรตีน ใกล้เคียงกับองค์ประกอบเคมีของปลาหมึกกระดอง (*Sepia pharaonis*) ส่วนลำตัวที่รายงานโดย Thanonkaew และคณะ (2006) ซึ่งพบว่า ประกอบด้วยปริมาณความชื้น ไขมัน เถ้า และโปรตีน ร้อยละ 82.78 ± 0.05, 0.47 ± 0.01, 1.20 ± 0.24 และ 14.91 ± 0.61 ตามลำดับ และสอดคล้องกับผลการศึกษาในปลาหมึกกล้วย (*Dosidicus gigas*) โดย Sánchez-Alonso และคณะ (2003) ซึ่งพบว่ามีปริมาณความชื้น ไขมัน เถ้า และโปรตีน 84.30 ± 0.3, 0.6 ± 0.1, 0.6 ± 0.05 และ 14.5 ± 0.2 ตามลำดับ และผลวิเคราะห์ในปลาหมึกกล้วยของ Gomez-Guillen และคณะ (1997) ซึ่งพบว่า มีปริมาณความชื้น ไขมัน เถ้า และโปรตีน เท่ากับ 79.90 ± 0.16, 1.43 ± 0.12, 1.36 ± 0.05 และ 18.96 ± 0.15 ตามลำดับ ความแตกต่างในปริมาณขององค์ประกอบเคมีอาทิเช่น โปรตีน อาจเป็นผลจากปัจจัยบางประการ เช่น ชนิดปลาหมึก ระยะการเจริญเติบโต และความสมบูรณ์ของอาหาร (Mizuta *et al.*, 2003)

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบเคมีส่วนลำตัวของปลาหมึกกระดอง (*Sepia brevimana*)(ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก)

Compositions	Percent (w/w)
Moisture	82.02 ± 0.43*
Fat	0.57 ± 0.12
Ash	0.77 ± 0.02
Protein	16.56 ± 0.09
Salt	1.72 ± 0.30

* Mean ± SD from triplicate determinations

ผลวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจนในกล้ามเนื้อส่วนลำตัวของปลาหมึกกระดอง ณ ตำแหน่งต่างๆ แสดงดังตารางที่ 3.2 พบว่าปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดที่พบในส่วนของลำตัวมีปริมาณมากกว่าปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดในปลาหมึกกระดอง (*Sepia pharaonis*) ที่รายงานโดย Thanonkaew และคณะ (2006) ที่พบว่ามีปริมาณเท่ากับร้อยละ 0.64 ± 0.22 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของชนิดและขนาดของปลาหมึกกระดองที่ใช้ในการวิเคราะห์ การศึกษาในครั้งนี้ได้ใช้ปลาหมึกกระดองขนาด 3 ตัวต่อกิโลกรัม ซึ่งใหญ่กว่าขนาดปลาหมึกกระดอง (8-10 ตัวต่อกิโลกรัม) ที่ใช้ในการศึกษาของ Thanonkaew และคณะ (2006) ปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดที่ได้จากการวิเคราะห์คิดเป็นร้อยละ 7.25 ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดในกล้ามเนื้อส่วนลำตัวของปลาหมึกกระดองที่มีน้ำหนักตัวเท่ากับ 1,020 กรัม/ตัวซึ่งรายงานโดย Mizuta และคณะ (2003) พบว่ามีปริมาณคิดเป็นร้อยละ 14 ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด ข้อมูลจากรายงานข้างต้นนี้ชี้ให้เห็นว่าปริมาณคอลลาเจนมีความสัมพันธ์กับขนาดของปลาหมึกกระดอง ในลักษณะที่ปลาหมึกกระดองที่มีขนาดใหญ่จะมีปริมาณคอลลาเจนในปริมาณที่สูงกว่าในปลาหมึกกระดองที่มีขนาดเล็ก ผลการศึกษาในครั้งนี้ยังพบว่าปริมาณคอลลาเจนในตำแหน่งต่างๆ ของตัวปลาหมึกกระดองแตกต่างกัน (ตารางที่ 3.2) โดยพบว่าชิ้นเนื้อที่แล่จากผิวด้านนอกของตัวปลาหมึกกระดองมีปริมาณคอลลาเจนสูงกว่าในชิ้นเนื้อที่แล่ได้จากผิวด้านท้องของตัวปลาหมึกกระดอง อย่างไรก็ตาม

ปริมาณคอลลาเจนในกล้ามเนื้อที่อยู่ถัดจากผิวหน้าทั้งสองด้านของตัวปลาหมึกกระดองนั้นพบว่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ความแตกต่างของปริมาณคอลลาเจนบนบริเวณผิวหน้าทั้งสองด้านนั้น อาจมีความสัมพันธ์กับความต้องการทางกายวิภาคโดยเฉพาะอย่างยิ่งปลาหมึกเป็นสัตว์ที่ไม่มีโครงร่างภายในที่แข็งแรง จึงอาจจำเป็นต้องมีโครงสร้างกล้ามเนื้อภายนอกที่แข็งแรงเพื่อทำหน้าที่เป็นส่วนหนึ่งของระบบโครงสร้างค้ำจุนตัวปลาหมึกกระดอง

ตารางที่ 3.2 ปริมาณคอลลาเจนในชิ้นเนื้อที่แล่จากปลาหมึกกระดอง (*Sepia brevimana*) ส่วนลำตัว

Sample position[1]	Collagen (%)
First Slice from inner surface	1.08 ± 0.39*[2]
Second slice from inner surface	0.80 ± 0.62
First slice from outer surface	1.78 ± 0.93
Second slice from outer surface	0.82 ± 0.74
Whole cleaned mantle	1.25 ± 0.98

Remark: [1]The specimen was sliced from the mantle muscle into a strip of 2 mm.

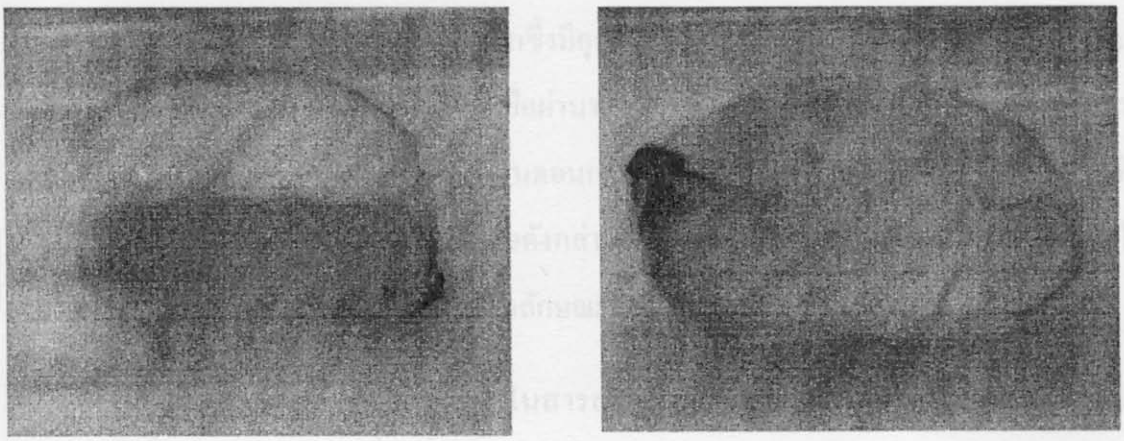
*[2] Mean ± SD from triplicate determinations.

2. ผลของโซเดียมคลอไรด์ในกล้ามเนื้อต่อสมบัติทางกล กายภาพ และโครงสร้างจุลภาคของกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดอง

การศึกษาเบื้องต้นเพื่อประเมินผลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์และระยะเวลาปั่นปลาหมึกกระดองต่อการดัดแปลงเนื้อสัมผัสและการสูญเสียน้ำหนักของปลาหมึกกระดอง โดยปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5 หรือ 10 และใช้เวลาปั่นนาน 10, 20, 30, 40 หรือ 50 นาที พบว่าการปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 ไม่สามารถดัดแปลงเนื้อสัมผัสของปลาหมึกกระดองให้มีความแน่นแข็งเพิ่มขึ้นได้แม้จะใช้ระยะเวลาปั่นนาน 50 นาที ก็ตาม และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์เป็นร้อยละ 5 พบว่าการปั่นเป็นเวลา 10 นาที สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของปลาหมึกกระดองได้ การเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายให้สูงกว่าร้อยละ 5 และ/หรือเพิ่มระยะเวลาปั่นปลาหมึกกระดองให้นานกว่า 10 นาที แม้ว่าจะสามารถดัดแปลงลักษณะทางกายภาพของปลาหมึกกระดองได้ไม่แตกต่างจากการปั่นในสารละลายที่มีความเข้มข้นร้อยละ 5 นาน 10 นาที แต่ระดับความเข้มข้นของเกลือที่สูงเกินไปหรือการใช้ระยะเวลาปั่นที่นานเกินไปอาจทำให้ปริมาณเกลือในปลาหมึกกระดองเพิ่มขึ้นสูงกระทั่งอาจทำให้รสชาติไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค จึงคัดเลือกการปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 5 นาน 10 นาที สำหรับใช้ดัดแปลงเนื้อสัมผัสของปลาหมึกกระดองสำหรับการศึกษาในครั้งนี้

การปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 0 - (-5) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที มีผลให้ปลาหมึกกระดองเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่สำคัญ 3 ประการ คือ การม้วนตามแนวเส้นรอบวงกระทั่งมีรูปร่างดังแสดงในภาพที่ 3.1 การมีความแข็งเพิ่มขึ้น ซึ่งสังเกตได้จากเมื่อจับและยกชิ้นปลาหมึกกระดองขึ้น ปลาหมึกกระดองยังคงรูปเป็นแผ่นไม่อ่อนตัวตามแรงโน้มถ่วง และการมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นร้อยละ 3 ทั้งนี้ปัจจัยอย่างน้อย 2 ประการที่อาจเป็นสาเหตุของการเปลี่ยนแปลงในลักษณะดังกล่าวคือ อุณหภูมิและความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ใช้ปั่นปลาหมึกกระดอง โดยอาจเป็นไปได้ว่าที่อุณหภูมิของสารละลาย –5 องศาเซลเซียส อาจทำให้น้ำบางส่วนในกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดองกลายเป็นผลึกน้ำแข็งซึ่งเนื้อสัตว์โดยทั่วไปจะแข็งตัวที่อุณหภูมิช่วง 1.7 – (-2.2) องศาเซลล์เซียส (สายสนม ประดิษฐ์ดวง, 2540) ในขณะที่การแพร่ของเกลือจากสารละลายเข้าสู่เนื้อเยื่อของปลาหมึกกระดองซึ่งทำให้ความเข้มข้นของเกลือในปลาหมึกกระดองเพิ่มขึ้นจนอาจก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างหรือองค์ประกอบเคมีของกล้ามเนื้อ อย่างไรก็ตามการตรวจสอบเบื้องต้นโดย

การปั่นชิ้นปลาหมึกกระดองที่บรรจุในถุงพลาสติกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ในสภาวะดังกล่าวพบว่าไม่มีผลให้เนื้อสัมผัสหรือลักษณะทางกายภาพของชิ้นปลาหมึกกระดองเปลี่ยนแปลงไปแต่อย่างใด จึงแสดงให้เห็นอุณหภูมิเพียงอย่างเดียวไม่สามารถทำให้ปลาหมึกกระดองเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ ในเบื้องต้นจึงได้ตั้งสมมติฐานว่าการม้วนตัวของปลาหมึกกระดองที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือ เป็นผลจากกล้ามเนื้อของปลาหมึกกระดองดูดซับเกลือไว้ ในปริมาณที่อาจทำให้โปรตีนกล้ามเนื้อพองตัว ประกอบกับการม้วนตัวของปลาหมึกกระดองดังแสดงในภาพที่ 3.1 เป็นการม้วนตัวเข้าด้านในของลำตัว จึงสันนิษฐานว่าเกลืออาจสามารถซึมผ่านเนื้อเยื่อจากผิวด้านนอกของลำตัวได้ดีกว่าด้านในลำตัว กล้ามเนื้อด้านนอกลำตัวจึงพองตัวได้มากกว่ากล้ามเนื้อด้านในทำให้ชิ้นปลาหมึกกระดองม้วนตัวเข้าด้านในลำตัว สำหรับการทำให้น้ำหนักปลาหมึกกระดองภายหลังการปั่นเกลือเพิ่มขึ้นร้อยละ 3 อาจเกิดจากการที่กล้ามเนื้อดูดซับน้ำไว้ภายในโครงสร้างเนื่องจากเกลือไปเพิ่มความสามารถอุ้มน้ำของโปรตีนกล้ามเนื้อทำให้น้ำหนักของปลาหมึกกระดองเพิ่มขึ้น ในขณะที่การมีเนื้อสัมผัสแน่นแข็งขึ้นอาจเนื่องจากผลร่วมของอุณหภูมิที่ใช้ในการปั่นและความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ ที่มีผลให้น้ำในกล้ามเนื้อบางส่วนเกิดการแข็งตัว จึงทำให้ปลาหมึกกระดองที่ผ่านการปั่นมีลักษณะแน่นแข็งดังกล่าว



ภาพที่ 3.1 รูปร่างของชิ้นปลาหมึกกระดองหลังการปั่นในสารละลายโซเดียมคลอไรด์

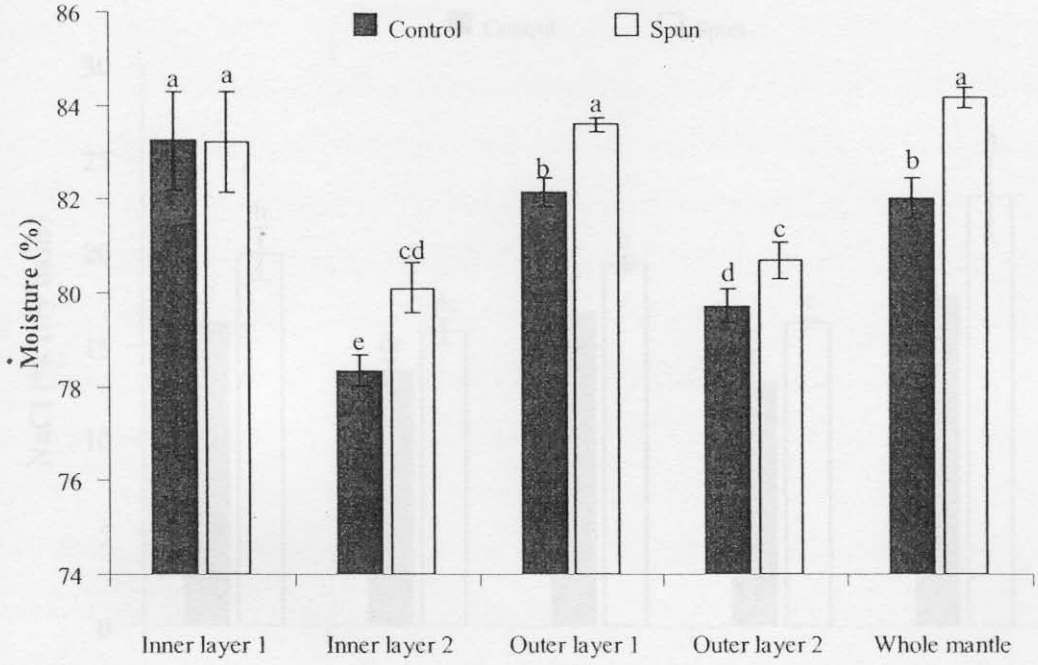
2.1 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อความสามารถอุ้มน้ำของปลาหมึกกระดอง

ผลการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของปลาหมึกกระดองที่ผ่านการปั่นในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 0 - (-5) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที พบว่าปลาหมึกกระดองมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 3 โดยพบว่ามีความสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของความชื้นสุทธิในปลาหมึกกระดองทั้งชิ้น (ภาพที่ 3.2) จึงอาจกล่าวได้ว่าการปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายเกลือตามสภาวะข้างต้นสามารถเพิ่มความสามารถอุ้มน้ำของปลาหมึกกระดองได้ อย่างไรก็ตามเมื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงความชื้นในชิ้นเนื้อที่แล่จากผิวหน้าทั้งสองด้านของตัวปลาหมึกกระดอง (หนาประมาณ 2 มิลลิเมตร) พบว่าความชื้นมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ในชิ้นเนื้อที่แล่ได้จากผิวหน้าด้านนอกชั้นที่ 1 และ 2 และชิ้นเนื้อที่แล่ได้จากผิวด้านในชั้นที่ 2 ในขณะที่ปริมาณความชื้นของชิ้นเนื้อที่แล่จากผิวหน้าด้านในของปลาหมึกกระดองก่อนและหลังการปั่นในสารละลายเกลือนั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยอาจเป็นผลจากปัจจัยอย่างน้อยสองประการ ประการแรกอาจเป็นไปได้ว่าเนื้อเยื่อในส่วนนี้มีความสามารถด้านการแพร่ผ่านของน้ำเข้าสู่ชิ้นเนื้อปลาหมึกกระดองได้อย่างมีประสิทธิภาพทำให้ในระหว่างการปั่นปลาหมึกกระดองน้ำจากสารละลายไม่สามารถแพร่เข้าสู่ชิ้นปลาหมึกกระดองจากผิวหน้าด้านในอัตราที่จะทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนี้มีความชื้นเพิ่มขึ้นได้ สำหรับการมีความชื้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในชิ้นเนื้อชั้นที่สองที่แล่จากผิวหน้าด้านในนั้น อาจเป็นผลจากการแพร่ของน้ำผ่านผิวหน้าด้านนอกของตัวปลาหมึกกระดองหรืออาจเป็นเพราะการเตรียมปลาหมึกด้วยการลอกหนังออกอาจทำลายชั้นของเนื้อเยื่อบริเวณผิวลำตัวด้านนอกซึ่งมีคุณสมบัติขัดขวางการแพร่ของสารต่างๆเข้าสู่ชั้นเนื้อเยื่อด้านใน จึงทำให้น้ำสามารถแพร่เข้าสู่เนื้อเยื่อผ่านทางผิวหน้าด้านนอกได้ดีกว่าการผ่านจากผิวด้านในซึ่งเนื้อเยื่ออาจไม่ได้เสียหายจากการปฏิบัติในขั้นตอนการลอกหนัง สำหรับความเป็นไปได้ประการที่สองคือการปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายเกลือดังกล่าวอาจมีผลให้ความสามารถอุ้มน้ำของเนื้อเยื่อในแต่ละส่วนของปลาหมึกกระดองเปลี่ยนแปลงไปในลักษณะที่แตกต่างกัน

การปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายเกลือ พบว่า มีผลให้ปริมาณเกลือในปลาหมึกกระดองทั้งชิ้น (Dry basis) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 3.3 ประการสำคัญคือพบว่าปริมาณเกลือในชิ้นเนื้อที่แล่ได้จากตัวปลาหมึกกระดองทั้ง 4 ชิ้นล้วนมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในระหว่างการปั่น เกลือจากสารละลายสามารถแพร่เข้าสู่กล้ามเนื้อส่วนลำตัวของปลาหมึกกระดองได้จากผิวทั้งสองด้าน จึงทำให้ความเข้มข้นของเกลือในปลาหมึกกระดองมีกระจายใน

ลักษณะที่มีความเข้มข้นสูงสุดบนผิวหน้าปลาหมึกกระดองทั้งสองด้าน และมีความเข้มข้นลดลงในชั้นของเนื้อเยื่อที่อยู่ถัดเข้าไปในตัวปลาหมึกกระดองจากผิวหน้าทั้งสองด้าน

การปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายเกลือดังกล่าวพบว่ายังมีผลให้พีเอชของปลาหมึกกระดองเพิ่มขึ้นจาก 6.57 $\pm$ 0.1 เป็น 6.88 $\pm$ 0.08 ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้โปรตีนมีประจุลบบนผิวหน้าเพิ่มขึ้นและเมื่อคลอไรด์ไอออนเข้าไปจับกับโมเลกุลของโปรตีนจะทำให้ประจุสุทธิของโปรตีนมีความเป็นลบเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เส้นใยกล้ามเนื้อเกิดการพองตัวและสามารถอุ้มน้ำได้มากขึ้นซึ่งแสดงให้เห็นในรูปของการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักหลังจากการปั่น ข้อเสนอที่กล่าวมาข้างต้น พบว่าสอดคล้องกับการเพิ่มความสามารถละลายของโปรตีนกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดองในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยความสามารถละลายของโปรตีนกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดองจะเพิ่มขึ้นจาก 22.16 มิลลิกรัม/กรัม ในปลาหมึกกระดองชุดควบคุม เป็น 59.06 มิลลิกรัม/กรัม ในปลาหมึกกระดองที่ผ่านการปั่นในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ เนื่องจากความสามารถละลายของโปรตีนมีความสัมพันธ์กับความสามารถอุ้มน้ำของกล้ามเนื้อ (Moral *et al.*, 2002) จึงเป็นไปได้ว่าโซเดียมคลอไรด์ที่เพิ่มขึ้นมีผลให้ความสามารถอุ้มน้ำของกล้ามเนื้อโดยเฉพาะกล้ามเนื้อบริเวณผิวด้านนอกของปลาหมึกกระดองเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 3.2 ความชื้นในชิ้นตัวอย่างปลาหมึกกระดองส่วนลำตัวที่ผ่านการปั่นในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5 อุณหภูมิ 0 - (-5) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล่ชิ้นเนื้อปลาหมึกกระดองหนาประมาณ 2 มิลลิเมตร

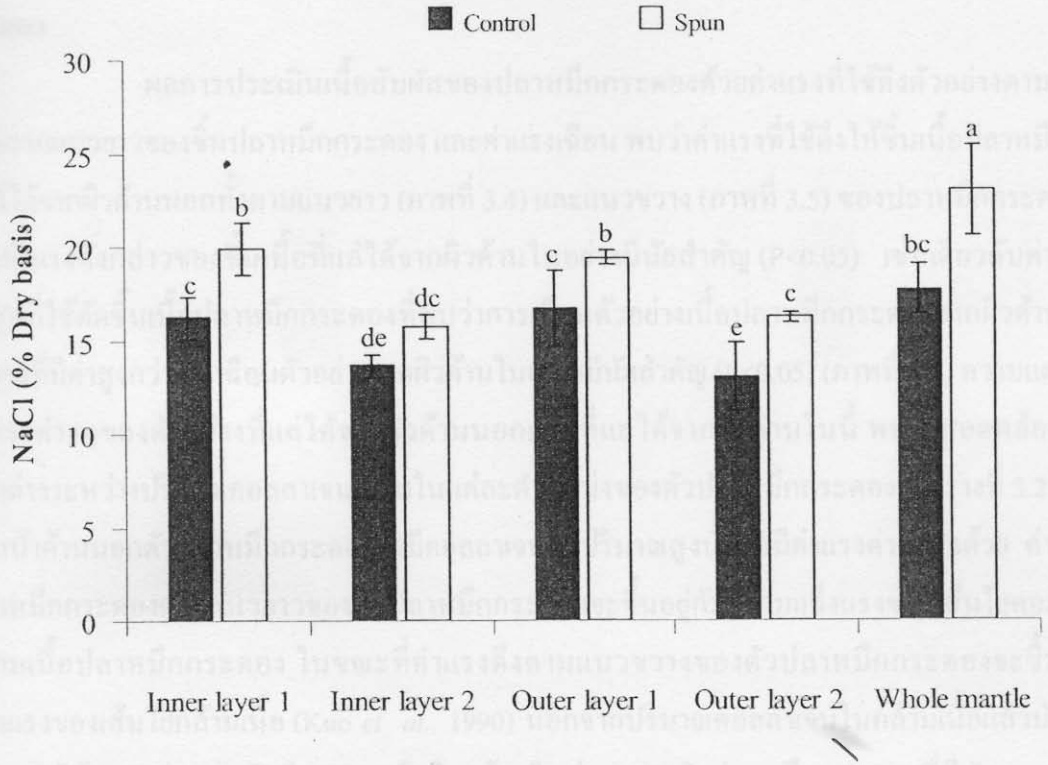
หมายเหตุ : Inner layer 1, 2 คือ ชิ้นเนื้อที่แล่ได้จากผิวด้านท้องของลำตัวชั้นที่ 1 และ 2ตามลำดับ

Outerlayer 1, 2 คือ ชิ้นเนื้อที่แล่ได้จากผิวด้านนอกของลำตัวชั้นที่ 1 และ 2ตามลำดับ

ชุดควบคุมคือ ปลาหมึกที่ไม่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือ

*Bar represent the standard deviation of triplicate determinations.

**Different letter indicate significant differences ($p<0.05$).



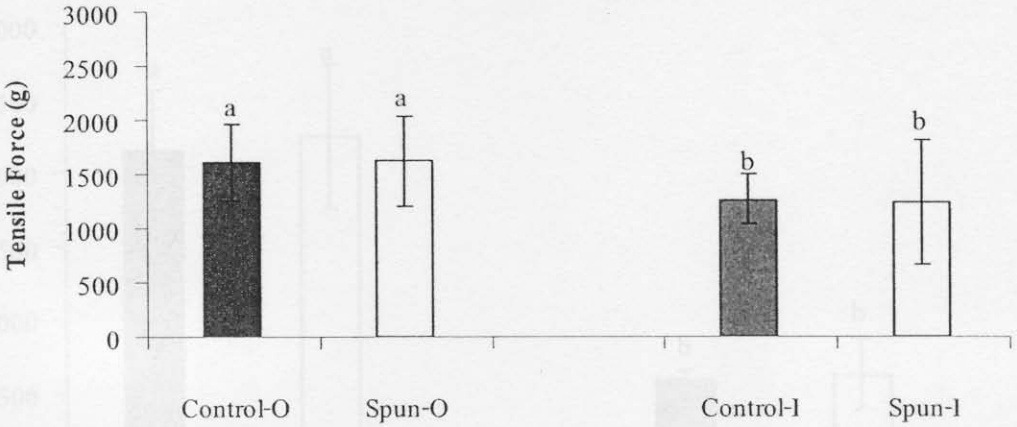
ภาพที่ 3.3 ปริมาณเกลือในตัวอย่างชิ้นเนื้อที่แล่จากปลาหมึกกระดองส่วนลำตัวที่ปั่นในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 0 - (-5) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

หมายเหตุ : สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.2

2.2 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อเนื้อสัมผัสและโครงสร้างจุลภาคของกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดอง

ผลการประเมินเนื้อสัมผัสของปลาหมึกกระดองด้วยค่าแรงที่ใช้ดึงตัวอย่างตามแนวขวางหรือตามแนวยาวของชิ้นปลาหมึกกระดอง และค่าแรงเฉือน พบว่าค่าแรงที่ใช้ดึงให้ชิ้นเนื้อปลาหมึกกระดองที่แล่ได้จากผิวด้านนอกทั้งตามแนวยาว (ภาพที่ 3.4) และแนวขวาง (ภาพที่ 3.5) ของปลาหมึกกระดองมีค่าสูงกว่าค่าแรงดังกล่าวของชิ้นเนื้อที่แล่ได้จากผิวด้านในอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เช่นเดียวกับค่าแรงเฉือนสูงสุดที่ใช้ตัดชิ้นเนื้อปลาหมึกกระดองที่พบว่าการเฉือนตัวอย่างเนื้อปลาหมึกกระดองจากผิวด้านนอกต้องใช้แรงที่มีค่าสูงกว่าการเฉือนตัวอย่างจากผิวด้านในอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) (ภาพที่ 3.6) ความแตกต่างของค่าแรงต่างๆของตัวอย่างที่แล่ได้จากผิวด้านนอกและที่แล่ได้จากผิวด้านในนี้ พบว่าสอดคล้องกับความแตกต่างระหว่างปริมาณคอลลาเจนที่พบในแต่ละตำแหน่งของตัวปลาหมึกกระดอง (ตารางที่ 3.2) กล่าวคือ ผิวหน้าด้านนอกตัวปลาหมึกกระดองซึ่งมีคอลลาเจนในปริมาณสูงนั้นจะมีค่าแรงต่างๆสูงด้วย ค่าแรงดึงชิ้นปลาหมึกกระดองตามแนวยาวของตัวปลาหมึกกระดองจะขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของเส้นใยคอลลาเจนในกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดอง ในขณะที่ค่าแรงดึงตามแนวขวางของตัวปลาหมึกกระดองจะขึ้นกับความแข็งแรงของเส้นใยกล้ามเนื้อ (Kuo *et al.*, 1990) นอกจากปริมาณคอลลาเจนในกล้ามเนื้อแล้วนักวิจัยคณะต่างๆยังได้เสนอว่า การจัดเรียงของเส้นใยกล้ามในส่วนของตัวปลาหมึกกระดองที่มีลักษณะเฉพาะซึ่งแตกต่างไปจากการเรียงตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อของสัตว์อื่นๆ เป็นอีกปัจจัยที่ทำให้ปลาหมึกกระดองมีเนื้อสัมผัสที่เหนียวแน่นและมีลักษณะเฉพาะตัว (Kier and Smith, 1985)

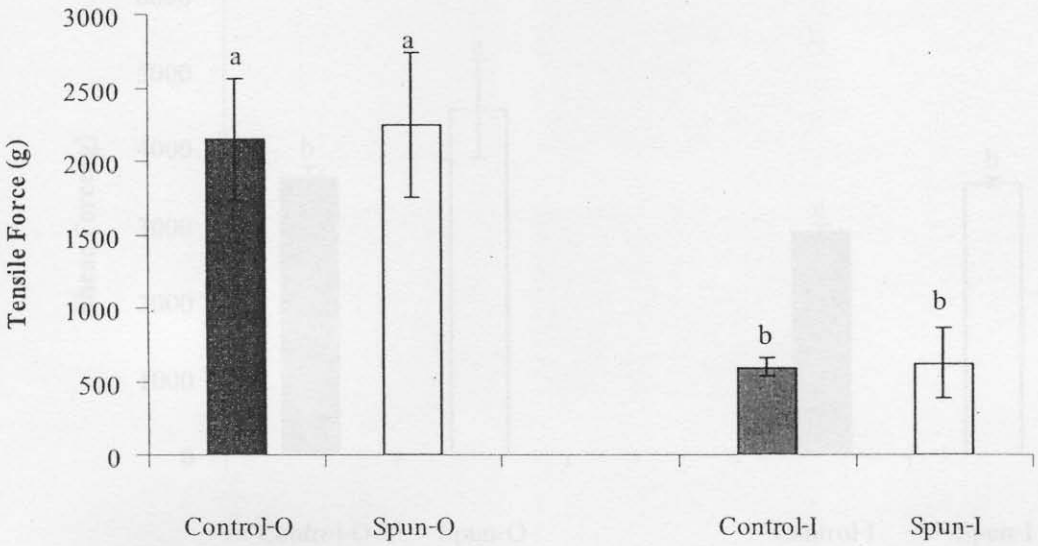
การตรวจสอบโครงสร้างจุลภาคของกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดองส่วนลำตัวเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมและตัวอย่างที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM: Scanning Electron Microscopy) พบการขยายตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อในแนวยาวของลำตัวปลาหมึกในบริเวณผิวด้านในของตัวปลาหมึก (ภาพที่ 3.7) และพบการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและขนาดของเส้นใยที่วางตัวในแนวขวางของส่วนต่างๆของตัวปลาหมึกในลักษณะที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 3.8) กล่าวคือ จะพบการพองตัวของเส้นใยบริเวณผิวด้านนอกและตำแหน่งกึ่งกลางชิ้นเนื้อ ในขณะที่เส้นใยในบริเวณผิวด้านในจะจับตัวกันเป็นเส้นใยที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีช่องว่างระหว่างเส้นใยเพิ่มขึ้น จากผลการทดลองข้างต้นพบว่า การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างกล้ามเนื้อของปลาหมึกไม่มีความสอดคล้องกับการม้วนตัวของปลาหมึกและการเพิ่มขึ้นของความชื้นและเกลือภายหลังการปั่นปลาหมึกในสารละลายเกลือ



ภาพที่ 3.4 ค่าแรงดึงของชิ้นเนื้อที่แล่จากปลาหมึกกระดองตามแนวยาวของลำตัวที่ผ่านและไม่ผ่านการปั่นในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้นร้อยละ 5 (w/v) อุณหภูมิ 0 – (-5) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

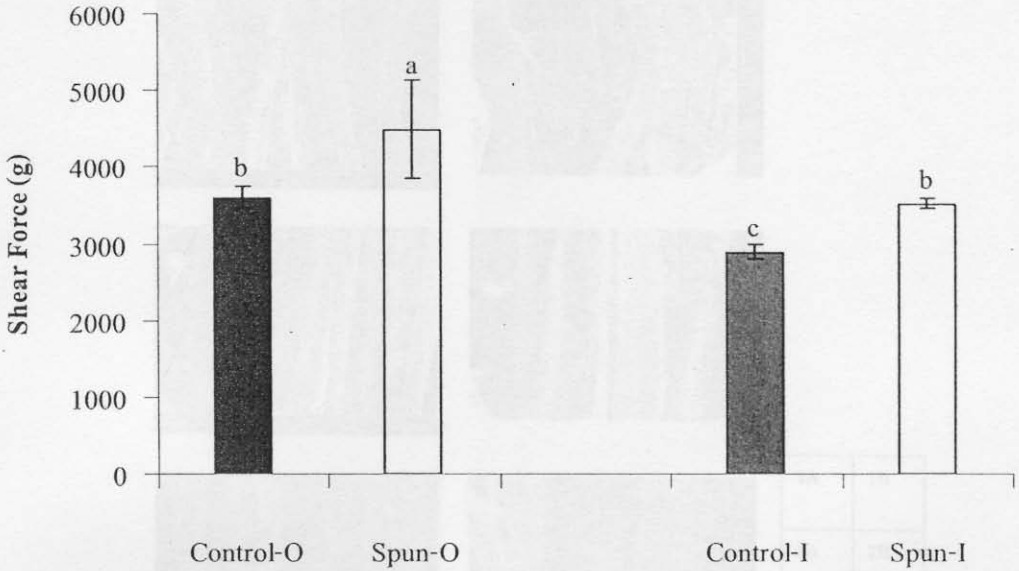
หมายเหตุ : Control-O และ Control-I คือ ชิ้นตัวอย่างที่แล่ได้จากลำตัวด้านนอกและด้านในของปลาหมึกกระดอง ชุดควบคุม ตามลำดับ

Spun-O และ Spun-I คือ ชิ้นตัวอย่างที่แล่ได้จากลำตัวด้านนอกและด้านในของปลาหมึกกระดองที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือตามลำดับ



ภาพที่ 3.5 ค่าแรงดึงของชิ้นเนื้อที่แล่จากปลาหมึกกระดองตามแนวขวางของลำตัวที่ผ่านและไม่ผ่านการปั่นในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้นร้อยละ 5 (w/v) อุณหภูมิ 0 – (-5) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

หมายเหตุ : สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.4



ภาพที่ 3.6 ค่าแรงเฉือนของตัวอย่างปลาหมึกกระดองที่ผ่านและไม่ผ่านการปั่นในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้นร้อยละ 5 (w/v) อุณหภูมิ 0 - (-5) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

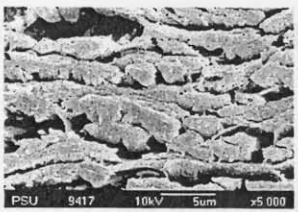
หมายเหตุ : สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.4

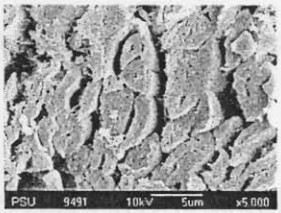
1A	1B
2A	2B
3A	3B

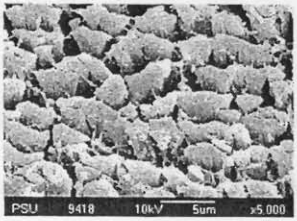
ภาพที่ 3.7 โครงสร้างจุลภาคของกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดองในตำแหน่งต่างๆตามแนวยาวของลำตัวโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

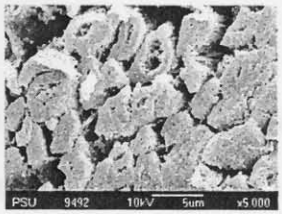
หมายเหตุ : A และ B คือ ตัวอย่างก่อนและหลังการปั่นในสารละลายเกลือ ตามลำดับ

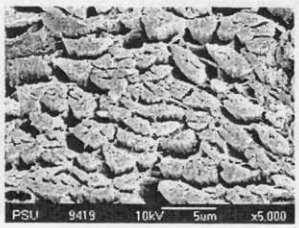
1, 2 และ3 คือ ตำแหน่งจากผิวด้านนอก, ตำแหน่งกึ่งกลาง และ ตำแหน่งผิวด้านใน ตามลำดับ

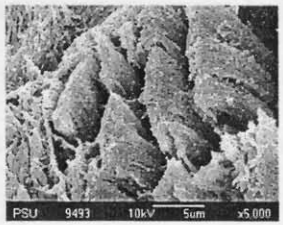












1A	1B
2A	2B
3A	3B

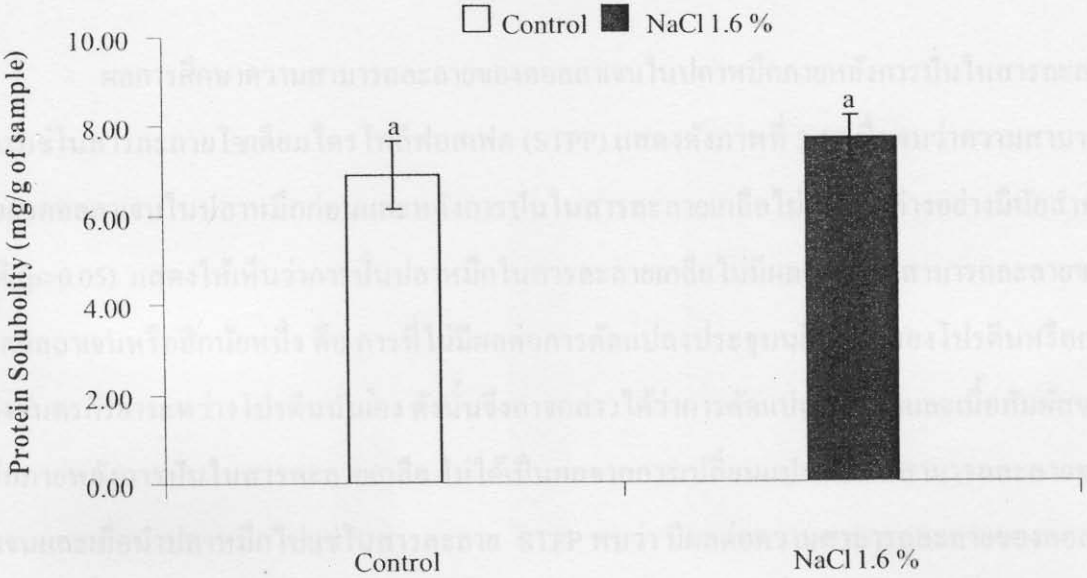
ภาพที่ 3.8 โครงสร้างจุลภาคของกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดองในตำแหน่งต่างๆตาม แนวขวางของลำตัวโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

หมายเหตุ : สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.7

3. ผลของโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตต่อความสามารถละลายของโปรตีนและคอลลาเจนในกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดอง

3.1 ผลของโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตต่อความสามารถละลายของโปรตีนในกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดอง

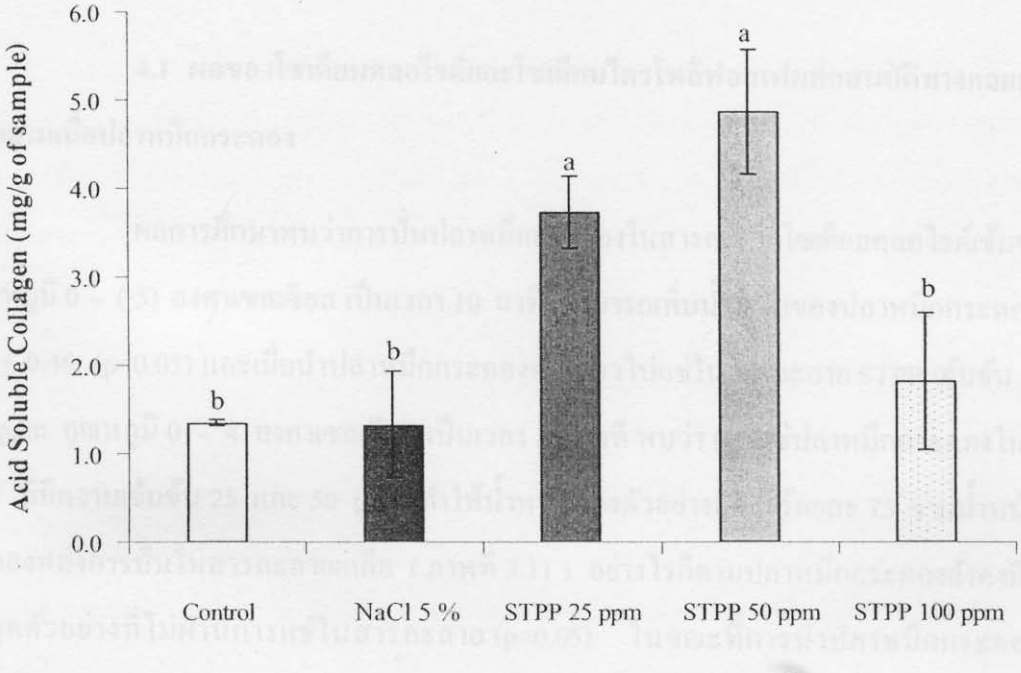
การวิเคราะห์ปริมาณของโปรตีนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.6 (ซึ่งเป็นความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่วิเคราะห์ได้ในกล้ามเนื้อส่วนลำตัวของปลาหมึกกระดองภายหลังการปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายเกลือ) พบว่า สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 1.6 ไม่สามารถเพิ่มความสามารถละลายของโปรตีนในกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดองได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับความสามารถละลายของโปรตีนในน้ำกลั่น (ภาพที่ 3.9) และเมื่อนำตะกอนที่ได้จากการเหวี่ยงแยกของแข็งที่ไม่ละลายไปกระจายตัวในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 ppm พบว่า ไม่มีผลเพิ่มการละลายของโปรตีนแต่อย่างใด และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการนำตะกอนที่แยกได้จากการโฮโมจิไนส์ตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นมากระจายในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้น ก็ไม่พบการละลายของโปรตีนในสารละลายส่วนใสเช่นเดียวกัน จึงชี้ให้เห็นว่าการดัดแปลงเนื้อสัมผัสและรูปร่างของชิ้นเนื้อปลาหมึกกระดองภายหลังการปั่นในสารละลายเกลือไม่ได้เป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงความสามารถละลายของโปรตีน โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากการสูญเสียความสามารถละลายของโปรตีนเนื่องจากปริมาณเกลือที่เพิ่มขึ้น (Salting out) และเนื่องจากปริมาณเกลือที่เพิ่มขึ้นนั้นยังมีค่าต่ำจนเกินไปที่จะมีผลต่อการเพิ่มความสามารถละลายโปรตีนกล้ามเนื้อ (Foegeding *et al.*, 1996) จึงทำให้ความสามารถละลายของโปรตีนทั้งหมดยังไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) จึงยืนยันให้เห็นว่าความสามารถละลายโปรตีนกล้ามเนื้อไม่ได้มีบทบาทต่อการดัดแปลงเนื้อสัมผัสของปลาหมึกด้วย การนำของแข็งที่ไม่ละลายในสารละลายเกลือมาสกัดซ้ำอีกครั้งด้วยสารละลายฟอสเฟตมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบว่าสารประกอบฟอสเฟตในระดับดังกล่าวจะมีผลอย่างไรต่อความสามารถละลายของโปรตีน ซึ่งจากผลการทดลองที่พบว่าไม่สามารถเพิ่มความสามารถละลายโปรตีนของปลาหมึกได้นั้น อาจเป็นผลจากความเข้มข้นของฟอสเฟตในสารละลายมีค่าต่ำ ทำให้ปริมาณอนุมูลฟอสเฟตไม่เพียงพอต่อการดัดแปลงประจุบนผิวหน้าโปรตีนเพื่อเพิ่มแรงผลักระหว่างโมเลกุลในระดับเดียวกับสารละลายเกลือที่ใช้ปั่นปลาหมึกกระดอง



ภาพที่ 3.9 ความสามารถละลายของโปรตีนปลาหมึกกระดองในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 1.6 และในน้ำกลั่น

3.2 ผลของโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตต่อความสามารถในการละลายในสารละลายกรดของคอลลาเจนของกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดอง

ผลการศึกษาความสามารถละลายของคอลลาเจนในปลาหมึกภายหลังการปั่นในสารละลายเกลือและแช่ในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (STPP) แสดงดังภาพที่ 3.10 ซึ่งพบว่าความสามารถละลายของคอลลาเจนในปลาหมึกก่อนและหลังการปั่นในสารละลายเกลือไม่ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงให้เห็นว่าการปั่นปลาหมึกในสารละลายเกลือไม่มีผลต่อความสามารถละลายของโปรตีนคอลลาเจนหรืออีกนัยหนึ่ง คือ การที่ไม่มีผลต่อการดัดแปลงประจุบนผิวหน้าของโปรตีนหรือการดัดแปลงอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนนั่นเอง ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าการดัดแปลงรูปร่างและเนื้อสัมผัสของปลาหมึกภายหลังการปั่นในสารละลายเกลือ ไม่ได้เป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงความสามารถละลายของคอลลาเจนและเมื่อนำปลาหมึกไปแช่ในสารละลาย STPP พบว่า มีผลต่อความสามารถละลายของคอลลาเจนได้แตกต่างกัน กล่าวคือ การแช่ตัวอย่างในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5 และสารละลาย STPP เข้มข้น 100 ppm ไม่สามารถเพิ่มความสามารถในการละลายของคอลลาเจนในสารละลายกรดได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($p>0.05$) (ภาพที่ 3.10) แต่พบการละลายของคอลลาเจนที่สูงขึ้นในตัวอย่างที่ผ่านการแช่ในสารละลาย STPP ระดับความเข้มข้น 25 และ 50 ตามลำดับ สาเหตุของการละลายที่ลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลาย STPP สูงขึ้นอาจเป็นผลจากการเพิ่มค่า pH ของกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดองโดย โดย pH ของตัวอย่างที่ผ่านการแช่ในสารละลาย STPP อยู่ที่ 6.81 ± 0.02 ซึ่งเป็นระดับ pH ที่เข้าใกล้จุด pI ของคอลลาเจนมากขึ้น ซึ่งคอลลาเจนมี pI อยู่ที่ช่วง pH 6-9 (Foegeding *et al.*, 1996) ซึ่ง ณ.จุด pI การละลายของคอลลาเจนในสารละลายกรดจะมีค่าต่ำสุด



ภาพที่ 3.10 ความสามารถละลายในสารละลายกรด (0.5 M Acetic acid) ของคอลลาเจนในปลาหมึกและแช่ในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (STPP) เข้มข้น 25, 50 และ 100 ppm

หมายเหตุ: Control คือ ปลาหมึกที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลายใดๆ NaCl 5% คือ ปลาหมึกกระดองที่ผ่านการปั่นในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เข้มข้นร้อยละ 5 STPP 25, 50 และ 100 ppm คือ ปลาหมึกที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือแล้วแช่ต่อในสารละลายฟอสเฟต 25, 50 และ 100 ppm ตามลำดับ

4. ผลของโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตต่อสมบัติทางกลและกายภาพของปลาหมึกกระดองก่อนและหลังการแช่เยือกแข็ง

4.1 ผลของโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตต่อสมบัติทางกลและ กายภาพของกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดอง

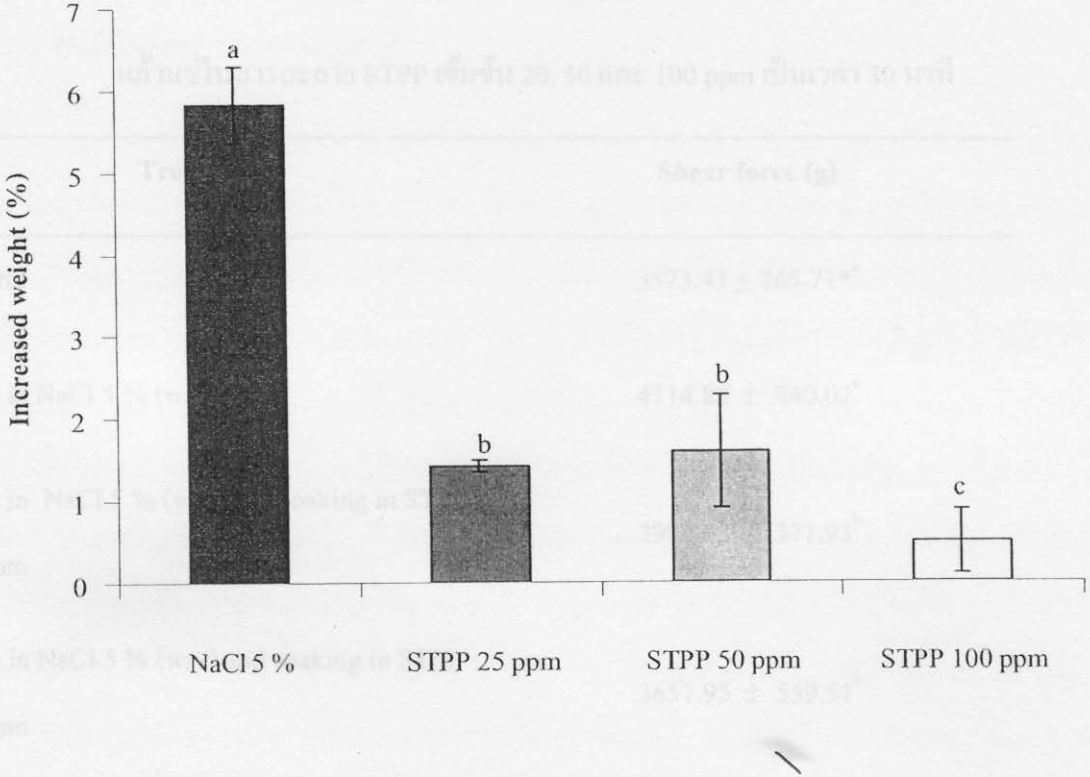
ผลการศึกษาพบว่าการปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 0 – (-5) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที สามารถเพิ่มน้ำหนักของปลาหมึกกระดองได้ร้อยละ 5.83 ± 0.46 ($p<0.05$) และเมื่อนำปลาหมึกกระดองดังกล่าวไปแช่ในสารละลาย STPP เข้มข้น 25, 50 และ 100 ppm อุณหภูมิ 0 – 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่า การแช่ปลาหมึกกระดองในสารละลาย STPP ที่มีความเข้มข้น 25 และ 50 ppm ทำให้น้ำหนักของตัวอย่างลดลงร้อยละ 75 จากน้ำหนักปลาหมึกกระดองหลังการปั่นในสารละลายเกลือ (ภาพที่ 3.11) อย่างไรก็ตามปลาหมึกกระดองยังคงมีน้ำหนักสูงกว่าชุดตัวอย่างที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลาย ($p<0.05$) ในขณะที่การนำปลาหมึกกระดองไปแช่ในสารละลาย STPP เข้มข้น 100 ppm กลับพบว่า ทำให้น้ำหนักปลาหมึกกระดองลดลงกระทั่งไม่แตกต่างจากชุดที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลาย จากผลการทดลองดังกล่าว การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวอย่างภายหลังการปั่นในสารละลายเกลืออาจเนื่องมาจากผลของคลอไรด์ไอออนที่จับกับโมเลกุลของโปรตีนทำให้เกิดการพองตัวของมัดกล้ามเนื้อ โมเลกุลของโปรตีนจึงจับกับน้ำได้มากขึ้น สำหรับตัวอย่างที่ผ่านการปั่นเกลือแล้วนำไปแช่ในสารละลาย STPP ที่มีผลให้ปลาหมึกกระดองมีน้ำหนักลดลงนั้น อาจเป็นเพราะในระหว่างการแช่ในสารละลายฟอสเฟต เกลือถูกชะออกจากปลาหมึกกระดอง ทำให้มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในกล้ามเนื้อลดลงจนส่งผลให้ความสามารถอุ้มน้ำของโปรตีนกล้ามเนื้อลดลง ดังจะเห็นได้จากการวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ของตัวอย่างภายหลังการแช่ในสารละลาย STPP ที่มีค่าไม่แตกต่างจากปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่วิเคราะห์ได้ในชุดตัวอย่างที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลาย (ไม่ได้แสดงข้อมูล)

ผลการศึกษาในตอนนี้ พบว่า การปั่นปลาหมึกในสารละลายเกลือมีผลให้ปลาหมึกมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นสูงกว่าผลการศึกษาในตอนที่ 2 และ 3 ความแตกต่างนี้อาจเป็นผลจากลักษณะของวัตถุดิบเริ่มต้น โดยเฉพาะฤดูกาลในการจับ หรือลักษณะถิ่นที่อยู่อาศัยและแหล่งอาหารของปลาหมึกกระดอง ซึ่งส่งผลให้ปลาหมึกมีความสมบูรณ์ของโปรตีนกล้ามเนื้อที่แตกต่างกัน โดยปลาหมึกที่ใช้ในการศึกษาในตอนที่ 2 และ 3 เป็นปลาหมึกในช่วงเดือนเมษายน-พฤษภาคม ในขณะที่ปลาหมึกที่ใช้ในการศึกษาในตอนนี้เป็นปลาหมึกที่จับได้ในเดือน กรกฎาคม อาจเป็นไปได้ว่าปลาหมึกกระดองชุดนี้ซึ่งมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นภายหลัง

การปั่นในสารละลายเกลือร้อยละ 5 นั้น อาจมีโครงสร้างกล้ามเนื้อและโปรตีนกล้ามเนื้อที่สมบูรณ์กว่าปลาหมึกกระดองชุดแรกที่มีน้ำหนักภายหลังการปั่นเพิ่มขึ้นร้อยละ 3

การปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายเกลือดังกล่าวพบว่ามีผลให้ค่าแรงเฉือนสูงสุดของปลาหมึกกระดองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในขณะที่ปลาหมึกกระดองที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือตามด้วยการแช่ในสารละลาย STPP ทุกระดับความเข้มข้น มีผลให้มีค่าแรงเฉือนลดลงกระทั่งไม่แตกต่างจากชุดตัวอย่างที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลาย (ตารางที่ 3.3) ซึ่งสามารถอธิบายได้ลักษณะเดียวกับที่อธิบายในตอนที่ 2

จากผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้นแม้ว่าปริมาณฟอสเฟตที่ใช้มีความเข้มข้นน้อยเกินไปไม่มีผลเพิ่มความสามารถอุ้มน้ำและดัดแปลงเนื้อสัมผัสของปลาหมึกกระดองส่วนลำตัวได้ แต่เนื่องจากข้อจำกัดของการจัดซื้อปลาหมึกกระดองที่ใช้ในการศึกษา (ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในวิธีการทดลอง) ทำให้ต้องศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวต่อสมบัติทางกลและกายภาพของปลาหมึกกระดองที่เก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 3 เดือน



ภาพที่ 3.11 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาหมึกกระดองที่ผ่านการแช่ในสารละลายต่างๆ

หมายเหตุ: สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายดังแสดงในภาพที่ 3.10

ตารางที่ 3.3 ค่าแรงเฉือนของปลาหมึกกระดองหลังการปั่นในสารละลายโซเดียมคลอไรด์แล้วแช่ในสารละลาย STPP เข้มข้น 20, 50 และ 100 ppm เป็นเวลา 30 นาที

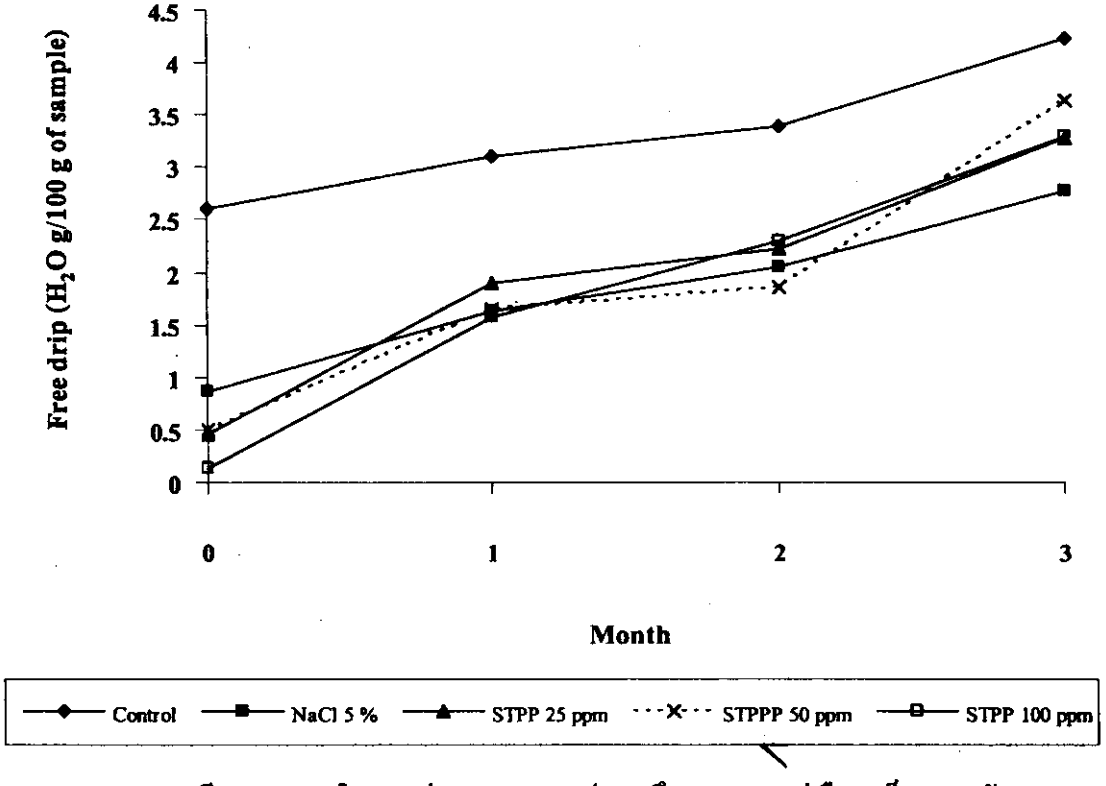
Treatment	Shear force (g)
Control	3573.43 ± 265.71*[b]
Spun in NaCl 5 % (w/v)	4714.88 ± 840.02[a]
Spun in NaCl 5 % (w/v) and soaking in STPP 25 ppm	3902.65 ± 371.93[b]
Spun in NaCl 5 % (w/v) and soaking in STPP 50 ppm	3657.95 ± 559.51[b]
Spun in NaCl 5 % (w/v) and soaking in STPP 100 ppm	3395.02 ± 242.52[b]

Remark: * Mean ± SD from ten determinations.

Means followed by different letters are significant difference ($p<0.05$).

4.2 ผลของโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตต่อสมบัติทางกลและกายภาพของกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็ง

ผลของการแช่เยือกแข็งและเก็บรักษาปลาหมึกกระดองไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสต่อการสูญเสียน้ำหนักในรูปของเหลวที่ไหลอย่างอิสระ (free drip) จากการทำละลายปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็ง แสดงดังภาพที่ 3.12 ซึ่งพบว่าการแช่เยือกแข็งปลาหมึกกระดองโดยไม่ผ่านการเตรียมใดๆ (ชุดควบคุม) มีผลให้ปลาหมึกกระดองเกิดปริมาณ free drip ร้อยละ 2.60 $\pm$ 0.83 เมื่อทำละลายที่อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส) และค่า free drip ของปลาหมึกกระดองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพิ่มขึ้น จนมีค่าสูงสุดที่ร้อยละ 4.23 $\pm$ 0.17 เมื่อปลาหมึกกระดองผ่านการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 3 เดือน ส่วนการเตรียมปลาหมึกกระดองก่อนการแช่เยือกแข็งด้วยการปั่นในสารละลายเกลือ (5% w/v) มีปริมาณ free drip ร้อยละ 0.86 $\pm$ 0.09 เมื่อผ่านการทำละลายที่อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส) และแม้ว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ปริมาณ free drip ของปลาหมึกกระดองที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือเพียงขั้นตอนเดียวจะเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณ free drip ยังเกิดขึ้นต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เนื่องจากการปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายโซเดียมคลอไรด์สามารถเพิ่มความสามารถในการจับกับน้ำได้ (ดังที่ได้อธิบายมาแล้วในตอนที่ 4.1) ส่งผลให้น้ำหนักของปลาหมึกภายหลังการปั่นในสารละลายเกลือเพิ่มขึ้น ดังนั้นการสูญเสียน้ำหนักในรูปของ free drip ของปลาหมึกกระดองเนื่องจากการแช่เยือกแข็งและการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งในปริมาณร้อยละ 4.23 $\pm$ 0.17 นี้ยังคงมีผลให้น้ำหนักสุทธิของปลาหมึกกระดองสูงกว่าน้ำหนักของปลาหมึกกระดองเริ่มต้น ดังนั้นการปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เพียงขั้นตอนเดียวจึงมีผลเพิ่มผลผลิตของกระบวนการผลิตได้ สำหรับปลาหมึกกระดองที่ผ่านการเตรียมด้วยการปั่นในสารละลายเกลือแล้วนำไปแช่ในสารละลาย STPP เข้มข้น 25, 50 และ 100 ppm ซึ่งพบว่ามีปริมาณ free drip ลดลง ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ free drip ที่เกิดขึ้นในชุดควบคุม อย่างไรก็ตาม พบว่าผลของการแช่ปลาหมึกกระดองในสารละลาย STPP ที่ความเข้มข้นต่างๆ ก่อนการแช่เยือกแข็งและการปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เพียงขั้นตอนเดียวต่อการเกิด free drip ของปลาหมึกกระดองตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)



ภาพที่ 3.12 การสูญเสียของเหลวในระหว่างการละลายปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน

หมายเหตุ : Control: ปลาหมึกกระดองที่แช่เยือกแข็งโดยไม่ผ่านการแช่ในสารละลายใดๆ

NaCl 5%: ปลาหมึกกระดองที่ปั่นในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (5% w/w)

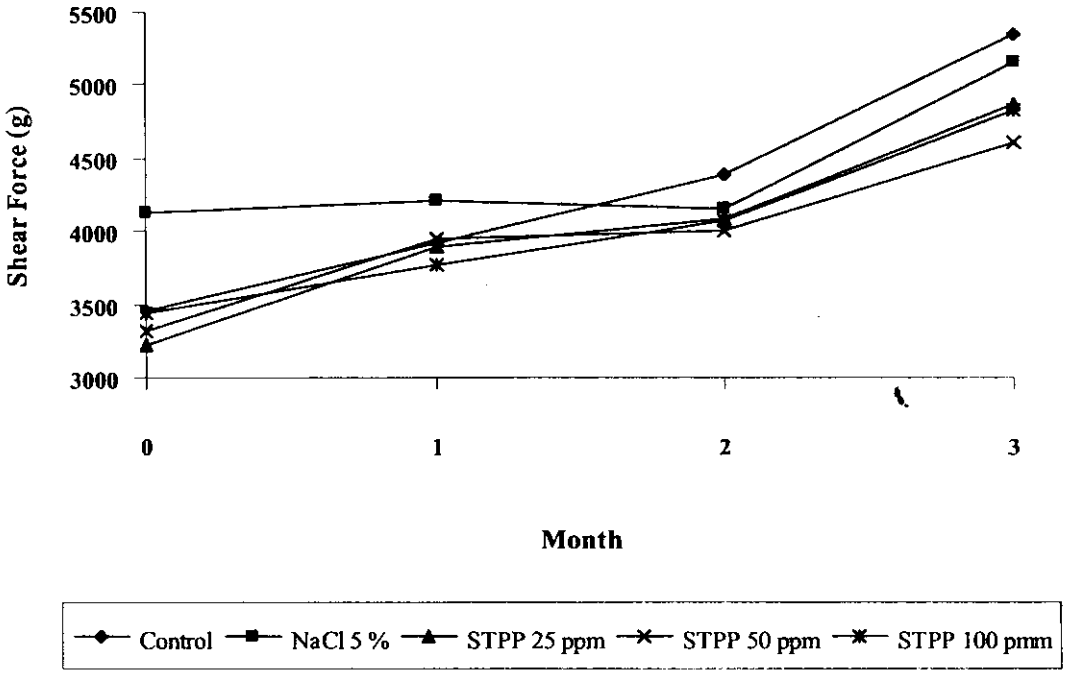
STPP: ปลาหมึกกระดองที่ปั่นในสารละลายโซเดียมคลอไรด์แล้วแช่ต่อในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (25, 50 และ 100 ppm) ตามลำดับ ก่อนการแช่เยือกแข็ง

การเกิด free drip นี้เป็นการเปลี่ยนแปลงที่พบเสมอในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง โดยเป็นผลจากการเกิดผลึกน้ำแข็งในตัวอย่างขณะทำการลดอุณหภูมิเพื่อแช่เยือกแข็งซึ่งทำให้น้ำในระบบโครงสร้างกล้ามเนื้อกลายเป็นผลึกน้ำแข็งที่อาจทิ่มตำเซลล์หรือเนื้อเยื่อให้ฉีกขาด ตลอดทั้งการตกผลึกของน้ำทำให้ตัวถูกละลายต่างๆ ของสารละลายในเซลล์หรือสารละลายที่อยู่ระหว่างเซลล์มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่า ionic strength ของสารละลายที่ยังไม่แข็งตัวเพิ่มขึ้นในระดับที่อาจทำให้โปรตีนกล้ามเนื้อสูญเสียสภาพธรรมชาติและสูญเสียความสามารถอุ้มน้ำ (Badii and Howell, 2002) อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติปริมาณ free drip ของปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในด้านอื่นๆ โดยเฉพาะเมื่อพิจารณาจากอิทธิพลของความแปรปรวนของอุณหภูมิของการเก็บรักษาปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็ง จึงควรได้ศึกษาเพิ่มเติมต่ออิทธิพลของปัจจัยดังกล่าว

ผลการศึกษาพบว่าการแช่เยือกแข็งและการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็ง มีผลให้ค่าแรงที่ใช้ตัดชิ้นปลาหมึกกระดองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยเฉพาะในระหว่างการเก็บรักษาในเดือนที่ 2 และ 3 (ภาพที่ 3.13) การเพิ่มของค่าแรงเฉือนดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าปลาหมึกกระดองมีความแข็งเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ueng และ Chow (1998) ที่พบว่า ปลาหมึกกระดองที่ผ่านการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่แข็งขึ้น โดยคณะวิจัยได้เสนอว่าการแช่เยือกแข็งมีผลให้โปรตีนกล้ามเนื้อสูญเสียความสามารถในการจับน้ำไว้ภายในโครงสร้าง ทำให้ปลาหมึกกระดองสูญเสียน้ำและเป็นปัจจัยให้ปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งมีเนื้อสัมผัสแข็งขึ้น แม้ว่าการเพิ่มค่าแรงเฉือนของปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งในการทดลองนี้จะมีความสอดคล้องกับการเกิด free drip อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นของค่าแรงเฉือนอย่างรวดเร็วในเดือนที่ 3 ของการเก็บรักษาของปลาหมึกกระดองจากทุกชุดการทดลอง แสดงให้เห็นว่าอาจมีปัจจัยอื่นที่นอกเหนือจากการเกิด free drip ที่มีส่วนเร่งให้ปลาหมึกกระดองมีความแข็งเพิ่มขึ้น โดยปัจจัยที่อาจเป็นสาเหตุให้ปลาหมึกกระดองภายหลังการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งมีเนื้อสัมผัสที่แข็งขึ้นได้แก่ การเกิดออกซิเดชันของไขมัน (Lipid oxidation) และการเกิดฟอมัลดีไฮด์ (Formaldehyde) (Badii and Howell, 2001) ซึ่งเป็นการเกิดการเปลี่ยนแปลงที่พบได้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่เก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งทั่วไป การเกิดออกซิเดชันในอาหารที่เก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งโดยเกิดจากการเกิดการสะสมของกรดไขมันอิสระซึ่งเกิดจากกระบวนการไฮโดรไลซิสของไขมัน ซึ่ง Paredi และคณะ (2006) พบว่าในระหว่างการเก็บรักษาปลาหมึกกล้วย (*Illex argentinus*) ที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 เดือน ในเดือนที่ 2 ของการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็ง ปริมาณของ Triacylgrecerols (TAG) ในปลาหมึกกล้วยลดลงอย่างมี

นัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างเริ่มต้น ซึ่งการลดลงของ TAG ทำให้มีปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มมากขึ้น

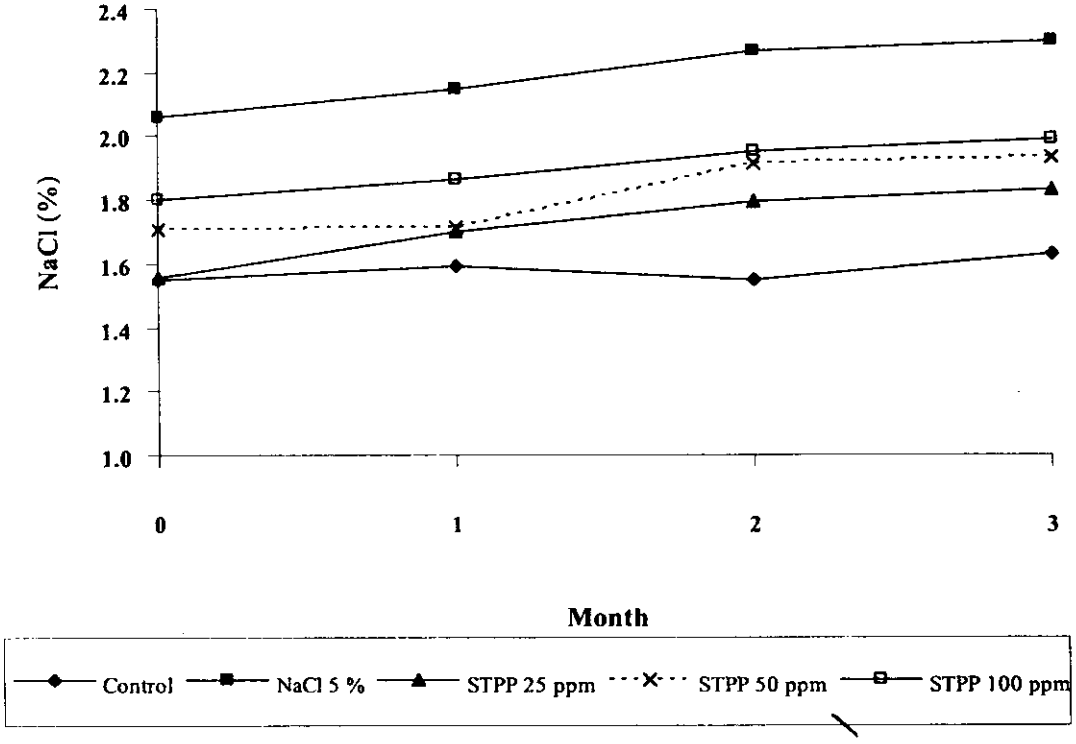
โดยกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นสามารถจับกับโมเลกุลของโปรตีนโดยเฉพาะแอคโตไมโอซิน (Actomyosin) ซึ่งจะทำให้เกิดเป็น Protein-free radicals ที่สามารถเชื่อมประสานกับโมเลกุลโปรตีนที่อยู่ข้างเคียงทำให้เกิดการรวมตัวกันของโปรตีน กลไกดังกล่าวมีผลให้โปรตีนเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติและการสูญเสียคุณลักษณะที่ดีของเนื้อสัมผัสของเนื้อปลาหมึกกล้วย ส่วนฟอมัลดีไฮด์เกิดจากการสลาย Trimethylamine-N-oxide (TMAO) เป็น Dimethylamine (DMA) และ Formaldehyde (FA) ซึ่งเป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์ Trimethylamine oxide demethylase (TMAOase) (Badii and Howell, 2001) โดยฟอมัลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นสามารถเกิดการเชื่อมประสาน (cross-links) กับโมเลกุลของโปรตีนส่งผลให้เกิดการรวมตัวกันของโปรตีน (Aggregation) และเกิดเนื้อสัมผัสที่แข็งขึ้น (Badii and Howell, 2002)



ภาพที่ 3.13 ค่าแรงเฉือนของตัวอย่างปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน

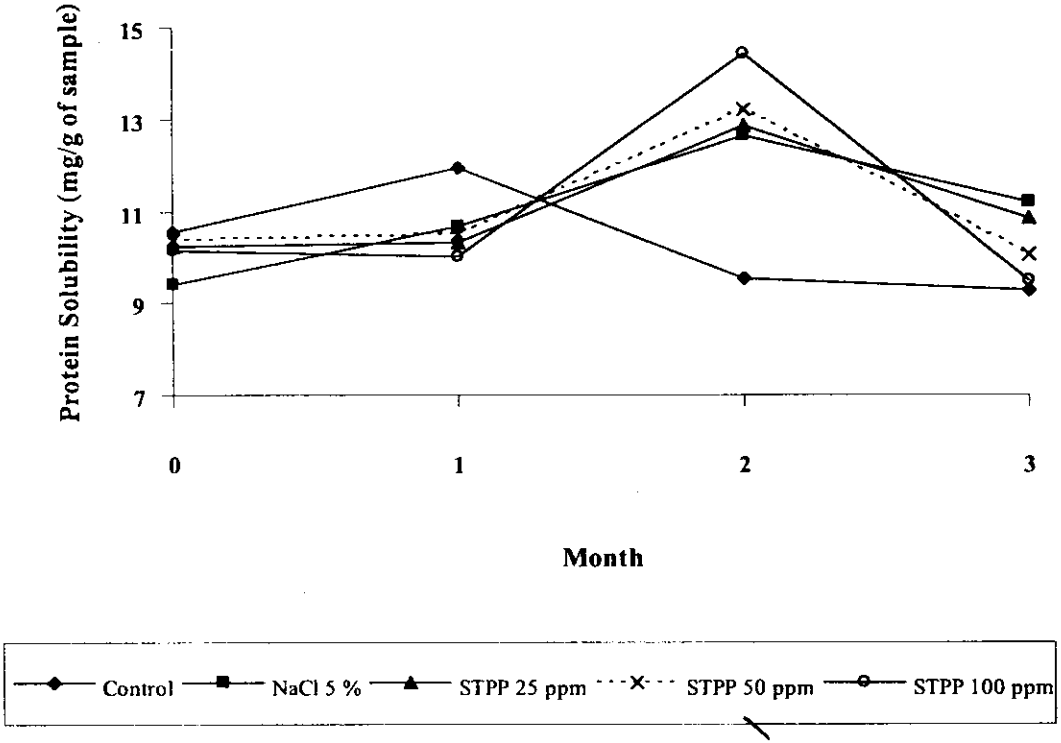
หมายเหตุ: สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.10

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเกลือในปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็ง แสดงในภาพที่ 3.14 ซึ่งพบว่าการปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายเกลือทำให้ปลาหมึกกระดองมีเกลือเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 1.55 ± 0.16 (ชุดควบคุม) เป็นร้อยละ 2.06 ± 0.24 อย่างไรก็ตามเมื่อปลาหมึกกระดองผ่านการปั่นในสารละลายเกลือแล้วนำไปแช่ต่อในสารละลาย STPP เข้มข้น 25, 50 และ 100 ppmพบว่า ปริมาณเกลือในตัวอย่างมีค่าลดลง ดังนั้น ความแตกต่างของปริมาณเกลือในชุดทดลองที่นำไปแช่ในสารละลาย STPP ยืนยันให้เห็นว่าเกลือถูกชะออกจากปลาหมึกกระดองในระหว่างการแช่ในสารละลาย STPP ส่วนในระหว่างการเก็บรักษาเดือนที่ 2 พบว่าความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในทุกชุดทดลองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) อาจเป็นผลจากการสูญเสียน้ำออกจากตัวอย่างเนื่องมาจากการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็ง ซึ่งการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของเกลือในปลาหมึกกระดองในลักษณะดังกล่าวอาจมีผลเพิ่มความสามารถละลายของโปรตีนกล้ามเนื้อ โดยจะเห็นได้ว่าโปรตีนมีการละลายเพิ่มขึ้นในเดือนที่ 2 ของการเก็บรักษา (ภาพที่ 3.15) อย่างไรก็ตามเนื่องจากการวิเคราะห์การละลายของโปรตีนในงานวิจัยนี้เป็นโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือที่มีความเข้มข้นเท่ากับปริมาณเกลือที่วิเคราะห์ได้จากกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดองภายหลังการปั่นในสารละลายเกลือ ซึ่งอาจไม่ได้เป็นเพียงโปรตีนกล้ามเนื้อเพียงชนิดเดียว อย่างไรก็ตามในขณะที่เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 3 เดือน พบว่าความเข้มข้นของเกลือไม่แตกต่างทางสถิติจากปริมาณเกลือในปลาหมึกที่วิเคราะห์ได้เมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน แต่กลับพบความสามารถละลายของโปรตีนในปลาหมึกในเดือนที่ 3 ของการเก็บรักษาลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับความสามารถในการละลายในเดือนที่ 2 ในขณะที่แรงเฉือนของปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งในเดือนที่ 3 มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ภาพที่ 3.13) บ่งชี้ให้เห็นว่าเมื่ออายุการเก็บรักษาผ่านไป 2 เดือน อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงบางประการที่มีผลให้โปรตีนซึ่งอยู่ในสภาพที่สามารถละลายได้สูญเสียความสามารถไปอยู่ในสภาพที่ไม่สามารถละลายได้เพิ่มขึ้น จากการเกิดออกซิเดชันของไขมัน (Lipid oxidation) และการเกิดฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde) ดังคำอธิบายข้างต้น ซึ่งอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ปลาหมึกมีค่าแรงเฉือนเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 3.14 ปริมาณเกลือในตัวอย่างปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งที่ผ่าน การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน

หมายเหตุ : สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.10



ภาพที่ 3.15 ความสามารถละลายของโปรตีนในปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน

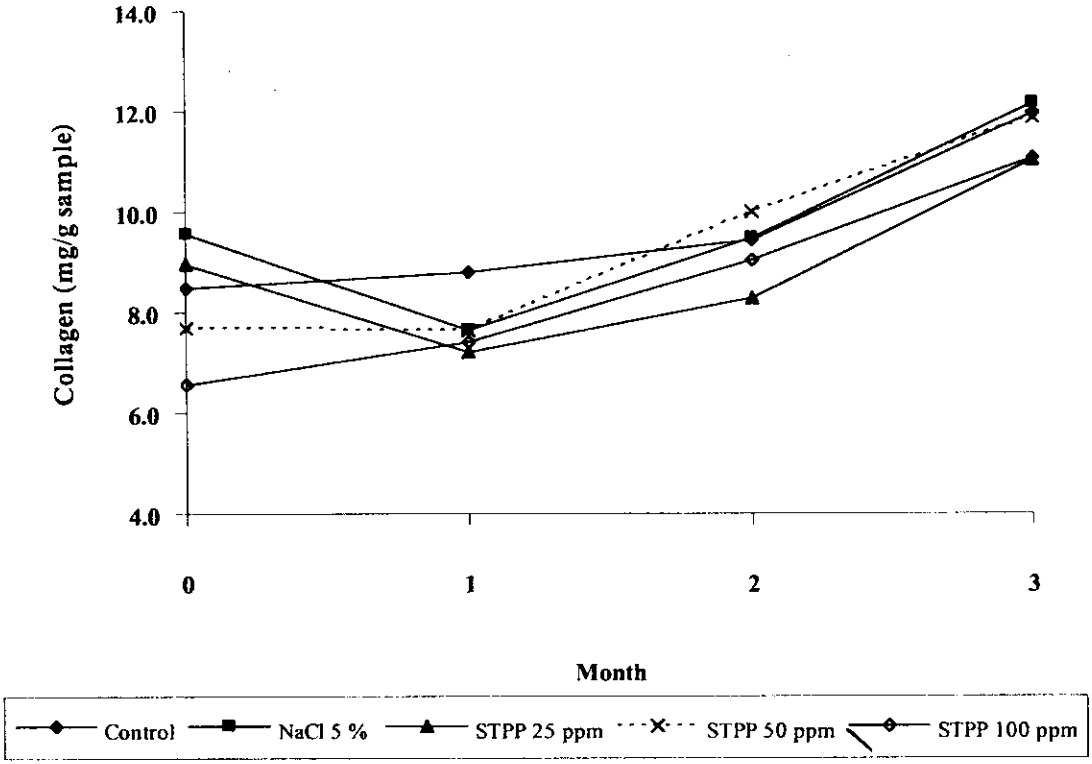
หมายเหตุ : สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.10

ผลการศึกษาพบว่า ความสามารถละลายในสารละลายกรดของคอลลาเจนเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 3.16) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานการศึกษาของ Ruiz-Capillas และคณะ (2002) ที่พบว่าในช่วง 4 เดือนแรกของการเก็บรักษาปลาหมึกกล้วย (*Illex coindetii*)โดยการแช่เยือกแข็ง ปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ในกรดจะมีการละลายที่เพิ่มขึ้น แต่เนื่องจากคอลลาเจนในปลาหมึกกระดองส่วนใหญ่เป็นคอลลาเจนที่สามารถเปลี่ยนแปลงได้ง่ายเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกรด เนื่องจากเป็นสภาวะที่โมเลกุลของคอลลาเจนไม่เกิดการเชื่อมประสานกัน (non-croslinking molecules) และเส้นใยกล้ามเนื้อยังไม่เกิด aldimin links ซึ่งเป็นสภาวะที่ทำให้คอลลาเจนมีความคงตัวต่ำ ซึ่งคณะวิจัยพบว่าเมื่อระยะการเก็บรักษาปลาหมึกกล้วยโดยการแช่เยือกแข็งเพิ่มขึ้นนานกว่า 4 เดือน การละลายได้ของคอลลาเจนในสารละลายกรดลดลง คณะวิจัยได้ให้การอธิบายว่าเป็นเพราะคอลลาเจนที่ละลายได้ในตอนแรกเกิดการเชื่อมประสานกัน (cross-linking molecules) ซึ่งนำไปสู่การสูญเสียความสามารถในการละลาย

ผลการศึกษาพบว่าปลาหมึกกระดองสูญเสียความชื้น (ภาพที่ 3.12) และเนื้อสัมผัสมีความแข็งเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 3.13) นั่นแสดงให้เห็นว่าโปรตีนกล้ามเนื้อของปลาหมึกกระดองสูญเสียสภาพธรรมชาติในลักษณะที่ทำให้โปรตีนสูญเสียสมบัติในการอุ้มน้ำ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงแสดงให้เห็นว่าปริมาณฟอสเฟตในสารละลาย STPP ในทุกระดับความเข้มข้นมีน้อยเกินไปจนไม่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนในกล้ามเนื้อของปลาหมึกกระดองที่ผ่านการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งได้ โดยจะเห็นว่าในชุดทดลองที่แช่ STPP ในทุกระดับความเข้มข้นให้ผลการวิเคราะห์ในค่าต่างๆไม่แตกต่างไปจากค่าที่วิเคราะห์ได้ในชุดทดลองที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือเพียงอย่างเดียว ($p>0.05$) (ในทางอุตสาหกรรมสารประกอบฟอสเฟตจะถูกใช้เพื่อรักษาความสามารถอุ้มน้ำของโปรตีน)

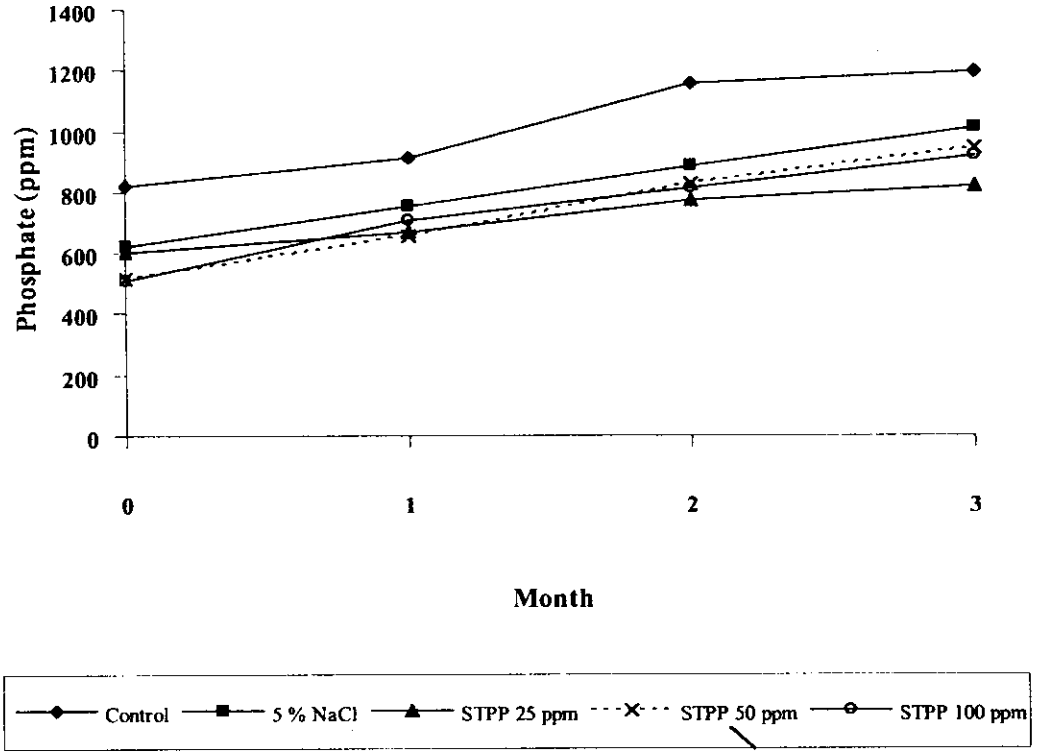
ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตในปลาหมึกกระดองหลังการแช่เยือกแข็งและในระยะต่างๆของการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็ง พบว่า ปริมาณฟอสเฟตในปลาหมึกกระดองจากทุกชุดทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นดังแสดงในภาพที่ 3.17 โดยสามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารประกอบฟอสเฟตในปลาหมึกกระดองได้ในลักษณะเดียวกับการอธิบายการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเกลือ กล่าวคือการมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเนื่องจากปลาหมึกสูญเสียน้ำในระหว่างการเก็บรักษา สำหรับในกรณีที่พบว่าปริมาณฟอสเฟตในชุดตัวอย่างที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลายใดๆมีปริมาณฟอสเฟตมากกว่าชุดที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือและชุดที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือร่วมกับการแช่ในสารละลาย STPP ทุกระดับความเข้มข้น ($p<0.05$) นั้น อาจเป็นผลจากปริมาณฟอสเฟตในตัวอย่างเริ่มต้นสูงกว่าความเข้มข้นของ

สารละลายฟอสเฟตที่ถูกเตรียมขึ้นทำให้ปริมาณฟอสเฟตในตัวอย่างถูกเจือจางหรือถูกชะล้างออกไปในระหว่างการแช่ สำหรับค่า pH ของปลาหมึกกระดองในทุกชุดทดลองนั้น พบว่า ไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) pH ของปลาหมึกกระดองในทุกชุดการทดลองมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยปลาหมึกที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลายใดๆก่อนการแช่เยือกแข็ง มี pH เท่ากับ 6.73 ± 0.01 และมีค่าลดลงเป็น 6.48 ± 0.32 เมื่อเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 3 เดือน (ไม่แสดงข้อมูล) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำแช่เยือกแข็งโดยทั่วไปที่พบว่าค่า pH จะลดลงในระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็ง (MacDonald and Lanier, 1991) การเปลี่ยนแปลงของ pH ในลักษณะดังกล่าวจึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งของการสูญเสียความสามารถอุ้มน้ำ ค่าแรงเฉือนที่เพิ่มขึ้น และการละลายของโปรตีนที่ลดลง



ภาพที่ 3.16 ความสามารถละลายของคอลลาเจนในสารละลายกรดของปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน

หมายเหตุ : สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.10



ภาพที่ 3.17 ปริมาณฟอสเฟตในปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน

หมายเหตุ : สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.10

5. ผลของสารเติมแต่งอาหารชนิดต่างๆและการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายต่อการสูญเสียน้ำหนักของปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็ง

5.1 ผลของสารเติมแต่งอาหารชนิดต่างๆต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของปลาหมึกกระดอง

การปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายเกลือเข้มข้นร้อยละ 5 อุณหภูมิ 0 – (-5)องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที พบว่าทำให้ปลาหมึกกระดองมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นจากน้ำหนักปลาหมึกกระดองก่อนการปั่น ร้อยละ 3.29 $\pm$ 0.24 และเมื่อนำปลาหมึกกระดองไปแช่ต่อในสารละลายชนิดต่างๆเป็นเวลา 30 นาที พบว่าชนิดและความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้มีผลให้น้ำหนักของปลาหมึกกระดองเปลี่ยนแปลงไปในลักษณะที่แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 3.4 ซึ่งสามารถใช้จำแนกสารละลายดังกล่าวออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่1 เป็นกลุ่มของสารละลายที่ทำให้ปลาหมึกกระดองมีน้ำหนักลดลงเมื่อเปรียบเทียบจากน้ำหนักปลาหมึกกระดองก่อนการแช่ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปลาหมึกสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการแช่สารเหล่านี้ อย่างไรก็ตามปลาหมึกกระดองยังคงมีน้ำหนักสุทธิสูงกว่าน้ำหนักปลาหมึกกระดองเริ่มต้นก่อนการปั่นในสารละลายเกลือ จึงชี้ให้เห็นว่าการสูญเสียน้ำหนักบางส่วนของปลาหมึกในระหว่างการแช่ในสารละลายยังคงต่ำกว่าน้ำหนักปลาหมึกกระดองที่เพิ่มขึ้นจากการปั่นในสารละลายเกลือ ซึ่งสารละลายในกลุ่มนี้ ได้แก่ สารละลายทรีฮาโลส แคลเซียมคลอไรด์ แมกนีเซียมคลอไรด์ สารละลายของส่วนผสมระหว่างโซเดียมไบคาร์บอเนตและแอมโมเนียมไบคาร์บอเนต และสารละลายผสมระหว่างแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมคลอไรด์ โดยยกเว้นสารละลายแมกนีเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.4 ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่ทำให้ปลาหมึกกระดองสูญเสียน้ำหนักสูงกว่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการปั่นในสารละลายเกลือ จึงทำให้น้ำหนักสุทธิของปลาหมึกกระดองต่ำกว่าน้ำหนักเริ่มต้น กลุ่มที่ 2 คือกลุ่มของสารละลายที่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของปลาหมึก ปลาหมึกกระดองจึงยังคงมีน้ำหนักสุทธิสูงกว่าน้ำหนักปลาหมึกกระดองเริ่มต้นก่อนการปั่นในสารละลายเกลือ ได้แก่สารละลายของสารประกอบฟอสเฟต (0.1 % w/v), SQ-UP (2.5 % w/v), โซเดียมไบคาร์บอเนต (6-8 % w/v) และแอมโมเนียมไบคาร์บอเนต (8% w/v) และกลุ่มที่ 3 ซึ่งประกอบด้วยสารละลายที่ทำให้น้ำหนักปลาหมึกกระดองเพิ่มขึ้นจากน้ำหนักของปลาหมึกกระดองก่อนการแช่ จึงเป็นกลุ่มที่ทำให้น้ำหนักสุทธิของปลาหมึกกระดองเพิ่มขึ้นสูงสุด ซึ่งได้แก่ สารละลายของสารประกอบฟอสเฟต (1.0 % w/v), SQ-TH (2.5% w/v) และแอมโมเนียมไบคาร์บอเนต (6% w/v)

ทรีฮาโลสเป็นหนึ่งในกลุ่มของน้ำตาลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่ได้รับการรายงานว่าสามารถลดการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนในระหว่างการเก็บรักษาด้วยการแช่เยือกแข็งได้(MacDonald *et al.*, 2000) โดยมีความสัมพันธ์กับความสามารถเพิ่มอุณหภูมิของการเกิดสถานะเหมือนแก้ว (Glass transition

temperature) (Ohkumaa *et al.*, 2006) รายงานการศึกษาโดย Zhou และคณะ (2006) แสดงให้เห็นว่าการเติมทรีฮาโลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 ในซูริมิที่ผลิตได้จากปลานิลสามารถลดการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนและสามารถทำให้ซูริมิแช่เยือกแข็งยังคงมีสมบัติเชิงหน้าที่ที่ดี จึงได้รับการนำเสนอว่าสามารถใช้ทดแทนสารป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมแปรรูปซูริมิได้ อย่างไรก็ตามผลการสืบค้นเอกสารต่างๆยังไม่พบรายงานการศึกษาที่กล่าวถึงความสามารถของทรีฮาโลสต่อการปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ เช่น การแช่วัตถุดิบก่อนการแปรรูปด้วยการแช่เยือกแข็ง ผลการศึกษาที่พบว่าทรีฮาโลสลดน้ำหนักของปลาหมึกกระดองลงนั้น อาจเป็นผลจากเนื้อปลาหมึกกระดองมีการดูดซับน้ำปริมาณมากเข้าสู่เซลล์ในระหว่างการปั่นในสารละลายเกลือ ส่งผลให้เมื่อปลาหมึกถูกนำไปแช่ต่อในสารละลายทรีฮาโลสซึ่งมีความเข้มข้นของตัวถูกละลายสูงกว่าความเข้มข้นของสารละลายภายในเซลล์ของปลาหมึกกระดองนั้น สารละลายทรีฮาโลสความเข้มข้นสูงกว่าสารละลายภายในเซลล์จึงมีคุณสมบัติเป็นสารละลายไฮเปอร์โทนิก (Hypertonic solution) ซึ่งถ้าเซลล์กล้ามเนื้ออยู่ในภาวะที่มีสารละลายไฮเปอร์โทนิกอยู่ล้อมรอบ เยื่อหุ้มเซลล์จะหดตัวและเหี่ยวแฟบลงเนื่องจากมีการสูญเสียน้ำจากเซลล์ เรียกกระบวนการแพร่ของน้ำออกจากเซลล์และมีผลให้เซลล์มีปริมาตรเล็กลงนี้ว่า Plasmolysis (การลำเลียงสารเข้าออกจากเซลล์, 2007) จากปรากฏการณ์ดังกล่าวจึงอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการสูญเสียน้ำหนักที่เกิดขึ้นซึ่งเกิดขึ้นดังแสดงในผลการทดลอง

สำหรับการแช่ปลาหมึกที่ผ่านการปั่นเกลือในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมคลอไรด์มีผลให้น้ำหนักปลาหมึกภายหลังการแช่ลดลง อาจเป็นผลจากเกลือทั้งสองชนิดเป็นเกลือชนิด Divalent ซึ่งทำให้มีค่า electro negativity ที่สูง โดยเกลือทั้ง 2 ชนิดเมื่อแตกตัวให้จะให้ Mg^{2+} และ Ca^{2+} โดยไอออนทั้ง 2 สามารถที่จะจับกับบริเวณที่มีขั้วของโมเลกุลของโปรตีนได้อย่างแข็งแรงด้วยแรงทางไฟฟ้า (Martinez-alvarez *et al.*, 2005a) ทำให้บริเวณผิวหน้าของโมเลกุลโปรตีนมีประจุเป็นบวก มีผลในการลดการจับกันระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับโมเลกุลของน้ำ ทำให้โปรตีนเกิดการรวมตัวกันมากขึ้น (Aggregation) ด้วยพันธะ hydrophobic (Vojdani, 1996) จากเหตุผลดังกล่าวจึงอาจเป็นสาเหตุให้น้ำหนักของปลาหมึกภายหลังการแช่ในสารละลายเกลือทั้ง 2 ชนิดลดลง จากการทดลองจะเห็นได้ว่าปลาหมึกที่ผ่านการแช่ในสารละลาย $CaCl_2$ จะมีน้ำหนักที่ลดลงน้อยกว่าปลาหมึกที่ผ่านการแช่ในสารละลาย $MgCl_2$ ทั้งนี้เนื่องจากการที่ Mg^{2+} มีขนาดไอออนที่เล็กกว่าไอออนของ Ca^{2+} จึงทำให้ Mg^{2+} มีค่า electro negativity สูงกว่า Ca^{2+} (Martinez-alvarez *et al.*, 2005a) จากเหตุผลดังกล่าวจึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ปลาหมึกที่ผ่านการ

แช่ในสารละลาย $MgCl_2$ เกิดการสูญเสียน้ำหนักภายหลังการแช่ที่สูงกว่าปลาหมึกที่ผ่านการแช่ในสารละลาย $CaCl_2$

การปั่นปลาหมึกกระดองในสารละลายเกลือเพียงขั้นตอนเดียวสามารถเพิ่มน้ำหนักภายหลังการแช่ได้ร้อยละ 3.29 ± 0.24 (ตารางที่ 3.4) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลายใดๆ ในขณะที่การนำปลาหมึกไปแช่ต่อในสารละลาย STPP เข้มข้นร้อยละ 0.1 ให้ผลในการเพิ่มน้ำหนักหลังการแช่ไม่แตกต่างกับชุดตัวอย่างที่ผ่านการปั่นเกลือเพียงขั้นตอนเดียว ($p>0.05$) แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของฟอสเฟตขึ้นเป็นร้อยละ 1.0 พบว่าสามารถเพิ่มน้ำหนักปลาหมึกกระดองภายหลังการแช่ได้สูงกว่าชุดที่ผ่านการปั่นเกลือร่วมกับแช่ในสารละลาย STPP ร้อยละ 0.1 และชุดที่ไม่ผ่านการแช่ ตามลำดับ ($p<0.05$) แต่จากการศึกษาเบื้องต้นการเพิ่มระดับความเข้มข้นของฟอสเฟตถึงร้อยละ 5 พบว่าให้ผลในการเพิ่มน้ำหนักภายหลังการแช่ไม่แตกต่างจากการใช้สารละลายที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1.0 ($p>0.05$) (ไม่แสดงผลการทดลอง) แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักปลาหมึกกระดองหลังแช่ในสารละลาย STPP อาจขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ความสดของวัตถุดิบ ระยะเวลาในการแช่หรือผลร่วมของสารละลายเกลือรวมทั้งปริมาณฟอสเฟตเริ่มต้นที่มีอยู่ในวัตถุดิบ อย่างไรก็ตามมีการอธิบายกลไกการเพิ่มน้ำหนักของอาหารประเภทเนื้อหลังแช่ในสารประกอบฟอสเฟตว่า เมื่อความเข้มข้นของฟอสเฟตที่เพิ่มขึ้นอาจมีผลในการเสริมประสิทธิภาพในการทำงานร่วมกับสารละลายเกลือ โดยที่เกลือมีบทบาทต่อเส้นใยกล้ามเนื้อของปลาหมึกเนื่องจากคลอไรด์ไอออนเป็นตัวที่จะทำหน้าที่ในการดัดแปลงประจุบริเวณผิวหน้าของโมเลกุลโปรตีนให้มีประจุสุทธิเป็นลบ จากการเข้าไปจับกับหมู่ที่มีประจุบวกและอยู่บนผิวหน้าโมเลกุล ส่งผลให้เส้นใยกล้ามเนื้อเกิดการพองตัว ในขณะที่ฟอสเฟตมีส่วนเสริมด้วยการเพิ่มค่า pH และ ionic strength ของสาระละลาย เมื่อ pH ของระบบกล้ามเนื้อมีค่าสูงกว่าค่า pI จะทำให้ประจุสุทธิของโปรตีนมีความเป็นลบมากขึ้น ประกอบกับการมี ionic strength ที่สูงขึ้น ฟอสเฟตจึงสามารถช่วยเสริมการพองตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อทำให้เส้นใยกล้ามสามารถอุ้มน้ำไว้ได้มากขึ้น (Thorarinsdottir *et al.*, 2004)

สารทดแทนสารประกอบฟอสเฟตทางการค้าทั้ง 2 ชนิดคือ SQ-TH และ SQ-UP ซึ่งทางตัวแทนจำหน่ายระบุว่าเป็นสารในกลุ่มเกลือโซเดียม และแนะนำให้ใช้ในปริมาณความเข้มข้นร้อยละ 2-3 ซึ่งพบว่าการใช้สารทั้ง 2 ชนิดที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ทำให้น้ำหนักของปลาหมึกเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) คือทำให้น้ำหนักปลาหมึกเพิ่มขึ้นร้อยละ 4.12 ± 0.20 และ ร้อยละ 3.57 ± 0.31 สำหรับ SQ-TH และ SQ-UP ตามลำดับ และน้ำหนักของปลาหมึกกระดองที่เพิ่มขึ้นก็ไม่แตกต่างกับน้ำหนักของปลาหมึกที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือเพียงขั้นตอนเดียว($p>0.05$)

การแช่ปลาหมึกกระดองในสารละลาย $NaHCO_3$ และ สารละลาย NH_4HCO_3 พบว่าทำให้น้ำหนักของปลาหมึกเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของสารทั้งสองชนิดเมื่อประเมินจากความสามารถในการเพิ่มน้ำหนักของปลาหมึกพบว่าไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากน้ำหนักของปลาหมึกที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือเพียงขั้นตอนเดียว ($p>0.05$) การแช่ปลาหมึกในสารละลาย $NaHCO_3$ ที่มีคุณสมบัติเป็น negatively charge alkaline solution ซึ่งทำให้ประจุสุทธิของโปรตีนมีค่าเป็นลบ ทำให้เกิดแรงทางไฟฟ้าที่แข็งแรงที่ส่งผลให้เกิดการผลักกันระหว่างโมเลกุลของโปรตีนซึ่งเป็นสาเหตุให้โปรตีนเกิดการคลายตัว (Unfold) ประกอบกับการทำลายสะพานเชื่อมไดซัลไฟด์ (disulphide bridges) จึงทำให้โปรตีนสามารถอุ้มน้ำได้สูงขึ้น (Martinez-alvarez *et al.*, 2005b) จากเหตุผลดังกล่าวจึงอาจเป็นสาเหตุให้ปลาหมึกที่ผ่านการแช่ในสารละลาย $NaHCO_3$ และ NH_4HCO_3 ไม่สูญเสียน้ำหนักภายหลังการแช่ แต่เมื่อทำการแช่ปลาหมึกกระดองในสารผสมระหว่าง $NaHCO_3$ เข้มข้นร้อยละ 4 และ NH_4HCO_3 เข้มข้นร้อยละ 4 ทำให้น้ำหนักปลาหมึกภายหลังการแช่เพิ่มขึ้นเพียงร้อยละ 1.63 ± 0.08 ซึ่งน้อยกว่าน้ำหนักของปลาหมึกที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือเพียงขั้นตอนเดียวที่เป็นเช่นนี้สามารถอธิบายได้ดังปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นกับปลาหมึกที่แช่ในสารละลายทรีฮาโลส นอกจากนี้จากการทดลองยังพบว่า เมื่อระดับความเข้มข้นของสารละลาย NH_4HCO_3 เพิ่มขึ้นปลาหมึกกระดองที่ผ่านการแช่ในสารละลายดังกล่าวจะมีกลิ่นของแอมโมเนียที่รุนแรงซึ่งถือว่าเป็นข้อจำกัดอย่างหนึ่งของการใช้งาน

5.2 ผลของสารเติมแต่งอาหารชนิดต่างๆต่อการสูญเสียน้ำหนักของปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งภายหลังการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย

ผลของการปั่นปลาหมึกในสารละลายเกลือร่วมกับการแช่ในสารละลายชนิดต่างๆก่อนการแช่เยือกแข็งและผลร่วมของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 3 รอบต่อการสูญเสียน้ำหนักในรูปของการสูญเสียของเหลวอย่างอิสระ (Free drip) และการสูญเสียของเหลวด้วยแรงบีบอัด (Expressible drip) แสดงดังตารางที่ 3.5 ผลการศึกษาพบว่าการปั่นปลาหมึกในสารละลายเกลือและการปั่นปลาหมึกในสารละลายเกลือร่วมกับการแช่ในสารละลายต่างๆ ไม่สามารถป้องกันการสูญเสียน้ำหนักของปลาหมึกเนื่องจากการแช่แข็งและทำละลาย 3 รอบได้อย่างสมบูรณ์ ในกรณีของ free drip สามารถจำแนกผลของสารต่างๆต่อการสูญเสียของเหลวออกได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มของสารที่มีผลให้ free drip เกิดขึ้นในปริมาณที่น้อยกว่าปลาหมึกที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลายใดๆ และกลุ่มของสารที่มีผลให้ free drip เกิดขึ้นในปริมาณที่มากกว่าปลาหมึกที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลายใดๆ ซึ่งชุดทดลองในกลุ่มแรกได้แก่ กลุ่มของปลาหมึกที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือ ปลาหมึกที่ปั่นในสารละลายเกลือแล้วแช่ในสารละลาย STPP (0.1-1.0 %w/v) SQ-TH (2.5 %w/v), SQ-UP (2.5 %

w/v), $NaHCO_3$ (4-8 % w/v), NH_4HCO_3 (6-8 % w/v), สารผสมระหว่าง $NaHCO_3$ (4%w/v) และ NH_4HCO_3 (4 % w/v) หรือสารผสมระหว่าง $CaCl_2$ (0.4 % w/v) และ $MgCl_2$ (0.8 % w/v) สารละลายในกลุ่มนี้จึงสามารถป้องกันการสูญเสียความสามารถอุ้มน้ำของโปรตีนกล้ามเนื้อปลาหมึกไว้ได้ในระดับหนึ่ง ในขณะที่ชุดทดลองกลุ่มที่เหลือซึ่งพบว่าปริมาณ free drip เกิดขึ้นมากกว่าปลาหมึกที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลายใดๆ ซึ่งได้แก่ กลุ่มของสารละลาย $CaCl_2$ (0.4-0.8 % w/v) และ $MgCl_2$ (0.4 % w/v) แสดงให้เห็นว่าสารต่างๆ เหล่านี้ไม่สามารถป้องกันการสูญเสียของเหลวของปลาหมึกได้ การที่สารละลาย $CaCl_2$ และ $MgCl_2$ ทำให้เกิดการสูญเสียของเหลวในรูปของ free drip ที่สูงกว่าปลาหมึกที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลายใดๆ อาจเนื่องจาก การที่ $CaCl_2$ และ $MgCl_2$ เป็นเกลือชนิด divalent ซึ่งเกลือทั้ง 2 ชนิดมีค่า electro negativity ที่สูง ทำให้ไอออนของเกลือดังกล่าวสามารถที่จะจับกับบริเวณที่มีขั้วของโมเลกุลโปรตีนอย่างแข็งแรง ส่งผลให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของโปรตีน เกิดการจับตัวกันของโปรตีนเพิ่มขึ้น นำไปสู่การสูญเสียความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนกล้ามเนื้อ โดยเฉพาะ $MgCl_2$ ซึ่งมีขนาดของโมเลกุลเล็กกว่า $CaCl_2$ ทำให้มีค่า electro negativity สูงกว่า $CaCl_2$ (Martinez-Alvarez *et al.*, 2005a) จึงอาจมีผลทำให้ปลาหมึกที่ผ่านการแช่ในสารละลาย $MgCl_2$ เกิดการสูญเสียของเหลวสูงกว่าปลาหมึกที่ผ่านการแช่ในสารละลาย $CaCl_2$

เมื่อกดทับปลาหมึกหลังการละลายโดยตุ้มน้ำหนักขนาด 5 กิโลกรัม พบว่าทำให้ของเหลวสูญเสียได้เพิ่มขึ้น ของเหลวที่ไหลออกจากปลาหมึกด้วยแรงบีบอัด (Expressible drip) นี้จึงประกอบด้วยของเหลวทั้งที่สามารถไหลออกจากปลาหมึกได้อย่างอิสระและที่จับกับโครงสร้างกล้ามเนื้อทำให้ไหลออกได้อย่างจำกัด ดังนั้นปริมาณของเหลวในส่วนของ Expressible drip ของตัวอย่างชุดต่างๆที่เกิดขึ้นระหว่างร้อยละ 3.33-11.81 โดยพบว่าปลาหมึกที่ผ่านการแช่ในสารละลาย SQ-UP, $NaHCO_3$ หรือ NH_4HCO_3 ก่อนการแช่เยือกแข็งมีปริมาณ Expressible drip เกิดขึ้นน้อยกว่าร้อยละ 5 แสดงให้เห็นว่า การแช่ปลาหมึกในสารละลายเหล่านี้สามารถทำให้โครงสร้างกล้ามเนื้อหรือโปรตีนกล้ามเนื้อปลาหมึกสามารถจับกับน้ำไว้ได้อย่างแข็งแรงกว่าสารชนิดอื่นที่ใช้ผลการศึกษานี้พบว่าความสามารถป้องกันการสูญเสียของเหลวในรูป Expressible drip มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการเพิ่มน้ำหนักของปลาหมึกในระหว่างการแช่ กลุ่มของสารที่มีผลให้น้ำหนักของปลาหมึกภายหลังการแช่ลดลงจากก่อนการแช่ มีผลให้ปลาหมึกภายหลังการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายมีปริมาณ Expressible drip ที่สูง สารละลายในกลุ่มนี้ได้แก่กลุ่มของสารละลายทรีฮาโลส, แคลเซียมคลอไรด์, แมกนีเซียมคลอไรด์, สารผสมระหว่างโซเดียมไบคาร์บอเนตกับแอมโมเนียมไบคาร์บอเนต หรือสารผสมระหว่างแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมคลอไรด์ ซึ่งการเกิดปริมาณ Expressible drip ที่สูงในตัวอย่างที่แช่ในสารละลายกลุ่มนี้อาจสามารถอธิบายได้ในลักษณะเดียวกับที่ได้อธิบายแล้วในตอนที่ 5.1

5.3 ผลของสารเติมแต่งอาหารชนิดต่างๆต่อค่าแรงเฉือนของปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งภายหลังการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย

ผลการศึกษาพบว่าการแช่เยือกแข็ง การทำละลาย 3 รอบ มีผลดัดแปลงเนื้อสัมผัสได้แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3.5 หากพิจารณาโดยยึดค่าแรงเฉือนที่ใช้ตัดปลาหมึกหลังการปั่นในสารละลายเกลือจากผลการศึกษาในตอนที่ 2.2 (ภาพที่ 3.6) เป็นเกณฑ์ อาจจำแนกผลของการแช่ในสารละลายต่างๆก่อนแช่เยือกแข็งร่วมกับผลของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 3 รอบ ต่อการดัดแปลงเนื้อสัมผัสปลาหมึกออกเป็น 3 กลุ่ม ได้ดังนี้ กลุ่มแรกได้แก่กลุ่มของสารที่มีผลให้ปลาหมึกมีค่าแรงเฉือนสูงกว่าปลาหมึกภายหลังการปั่นในสารละลายเกลือ ซึ่งได้แก่ ปลาหมึกซึ่งแช่เยือกแข็งโดยไม่ผ่านการแช่ในสารละลายใดๆ และที่ผ่านการแช่ในสารละลายทรีฮาโลส (4 และ 8 % w/v) ก่อนแช่เยือกแข็ง โดยมีค่าแรงเฉือนประมาณ 4500 กรัม กลุ่มที่ 2 ได้แก่ กลุ่มของสารที่มีผลให้ปลาหมึกมีค่าแรงเฉือนใกล้เคียงกับค่าแรงเฉือนของปลาหมึกหลังการปั่นในสารละลายเกลือ ได้แก่ ปลาหมึกที่ผ่านการแช่ในสารละลาย STPP (0.1% w/v), $NaHCO_3$ (4 และ 8 % w/v), $CaCl_2$ (0.4 % w/v), $MgCl_2$ (0.4-1.0 % w/v) หรือสารผสมของ $CaCl_2$ และ $MgCl_2$ และกลุ่มที่ 3 ได้แก่กลุ่มของสารละลายที่มีผลให้ปลาหมึกมีค่าแรงเฉือนใกล้เคียงกับค่าแรงเฉือนของปลาหมึกก่อนการปั่นในสารละลายเกลือโดยมีค่าแรงเฉือนอยู่ที่ประมาณ 3500 กรัม ได้แก่ ปลาหมึกที่แช่ในสารละลายเกลือเพียงขั้นตอนเดียวและปลาหมึกที่ผ่านการแช่ในสารละลายเกลือร่วมกับการแช่ในสารละลาย SQ-TH (2.5 % w/v), SQ-UP (2.5 % w/v), ทรีฮาโลส (6 % w/v), $NaHCO_3$ (6 % w/v), NH_4HCO_3 (8 % w/v) และ $CaCl_2$ (0.6-0.8 % w/v)

การแช่ปลาหมึกที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือในสารละลายทรีฮาโลสนอกจากจะมีผลให้น้ำหนักของปลาหมึกภายหลังการแช่น้อยกว่าน้ำหนักก่อนการแช่แล้ว ยังมีผลให้ค่าแรงที่ใช้ในการตัดชิ้นเนื้อสูงขึ้นด้วย การแช่เยือกแข็งและการละลาย 3 รอบ มีผลให้ปลาหมึกที่ผ่านการแช่ในสารละลายทรีฮาโลส (4 และ 8 % w/v) มีค่าแรงเฉือนของชิ้นปลาหมึกสูงกว่าชุดทดลองอื่นๆ อาจเป็นผลจากเนื้อปลาหมึกกระดองมีการดูดซับน้ำปริมาณมากเข้าสู่เซลล์ในระหว่างการปั่นในสารละลายเกลือ ส่งผลให้เมื่อปลาหมึกถูกนำไปแช่ต่อในสารละลายทรีฮาโลสซึ่งมีความเข้มข้นของตัวถูกละลายสูงกว่าความเข้มข้นของสารละลายภายในเซลล์ของปลาหมึกกระดองนั้น สารละลายทรีฮาโลสความเข้มข้นสูงกว่าสารละลายภายในเซลล์จึงมีคุณสมบัติเป็นสารละลายไฮเปอร์โทนิก (Hypertonic solution) ซึ่งถ้าเซลล์กล้ามเนื้ออยู่ในภาวะที่มีสารละลายไฮเปอร์โทนิกอยู่ล้อมรอบ เยื่อหุ้มเซลล์จะหดตัวและเหี่ยวแฟบลงเนื่องจากมีการสูญเสียน้ำจากเซลล์ เรียกกระบวนการแพร่ของน้ำออกจากเซลล์และมีผลให้เซลล์มีปริมาตรเล็กลงนี้ว่า Plasmolysis (การลำเลียงสารเข้าออกจากเซลล์,

2007) นำไปสู่การสูญเสียของเหลวทั้งในรูปของ free drip และ expressible drip และยังมีผลให้เนื้อสัมผัสมีความแน่นแข็งเพิ่มขึ้นในปลาหมึกกระดองดังผลการศึกษาข้างต้น

การศึกษาผลของสารต่างๆที่ใช้ในการแช่ปลาหมึกกระดองภายหลังการปั่นในสารละลายเกลือต่อการสูญเสียของเหลวอย่างอิสระ (free drip) พบว่า สารกลุ่มที่สามารถรักษาการสูญเสียของเหลวให้เกิดขึ้นในปริมาณต่ำจะเป็นสารในกลุ่มของ STPP (0.1-1.0 % w/v), SQ-TH (2.5 % w/v), SQ-UP (2.5 % w/v), $NaHCO_3$ (4-8 % w/v), NH_4HCO_3 (6-8 % w/v) และสารผสมระหว่าง $NaHCO_3$ (4% w/v) และ NH_4HCO_3 (4% w/v) และเมื่อพิจารณาการสูญเสียของเหลวด้วยแรงบีบอัด (expressible drip) พบว่า สารกลุ่มที่สามารถทำให้เกิด expressible drip ได้น้อยกว่าร้อยละ 5 ได้แก่สารในกลุ่ม SQ-UP (2.5 % w/v), $NaHCO_3$ (4-8 % w/v) และ NH_4HCO_3 (6-8 % w/v) นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ค่าแรงเฉือนของปลาหมึกกระดอง พบว่า กลุ่มของของสารที่ทำให้ปลาหมึกมีแรงเฉือนภายหลังการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายมีค่าใกล้เคียงกับปลาหมึกที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลายใดๆก่อนการแช่เยือกแข็งและไม่ผ่านการแช่เยือกแข็ง (วัตถุดิบเริ่มต้น) พบว่า ได้แก่ สารในกลุ่ม NaCl (5 % w/v), SQ-TH (2.5 % w/v), SQ-UP (2.5 % w/v), ทรีฮาโลส (6 % w/v), $NaHCO_3$ (6 % w/v), NH_4HCO_3 (8 % w/v) และ $CaCl_2$ (0.6-0.8 % w/v) จากผลการศึกษาถ้าใช้ค่าปริมาณ free drip, expressible drip และค่าแรงเฉือนของปลาหมึกกระดองที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือเพียงขั้นตอนเดียวภายหลังการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกสาร สารที่ให้ประสิทธิภาพในการป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของปลาหมึกในระหว่างการแช่เยือกแข็งได้ใกล้เคียงกับโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5 ได้แก่ SQ-UP (2.5 % w/v), SQ-TH (2.5 % w/v) และ $NaHCO_3$ (6 % w/v) จึงคัดเลือกสารดังกล่าวเพื่อศึกษาผลของสารต่อการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งโดยสารทดแทนสารประกอบฟอสเฟตทางการค้าทั้ง 2 ชนิด ให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกันจึงคัดเลือกเพียงชนิดเดียวเพื่อใช้ในการทดลองในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 3.4 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของตัวอย่างปลาหมึกกระดองที่ผ่านการแช่ในสารละลายต่างๆ

Treatment	Weight (%)
Control	$0.00 \pm 0.00^{*h}$
NaCl (5 %)	3.29 ± 0.24^{bc}
STPP (0.1 %)	3.04 ± 0.19^{bcd}
STPP (1.0 %)	4.96 ± 0.38^{a}
SQ-TH (2.5 %)	4.12 ± 0.20^{ab}
SQ-UP (2.5 %)	3.57 ± 0.31^{bc}
Trehalose (4 %)	2.02 ± 0.14^{def}
Trehalose (6 %)	1.07 ± 0.22^{fghij}
Trehalose (8 %)	0.48 ± 0.30^{ghij}
$NaHCO_3$ (4 %)	2.71 ± 0.54^{cde}
$NaHCO_3$ (6 %)	3.34 ± 0.22^{bc}
$NaHCO_3$ (8 %)	3.54 ± 0.36^{bc}
NH_4HCO_3 (6 %)	4.19 ± 0.44^{ab}
NH_4HCO_3 (8 %)	3.24 ± 0.17^{bc}
$CaCl_2$ (0.4 %)	0.67 ± 0.10^{ghij}
$CaCl_2$ (0.6 %)	1.47 ± 0.07^{fgh}
$CaCl_2$ (0.8 %)	1.18 ± 0.22^{fghi}
$MgCl_2$ (0.4 %)	-0.06 ± 0.15^{j}
$MgCl_2$ (0.8 %)	0.62 ± 0.07^{ghij}
$MgCl_2$ (1.0 %)	1.44 ± 2.46^{fgh}
$NaHCO_3$ (4 %) and NH_4HCO_3 (4 %)	1.63 ± 0.08^{efg}
$CaCl_2$ (0.4 %) and $MgCl_2$ (0.8 %)	0.27 ± 1.32^{hij}

Remark: *Mean ± SD from triplicate determinations *Different letters indicate significant differences ($p<0.05$).

ตารางที่ 3.5 การสูญเสียของเหลวอย่างอิสระ, การสูญเสียของเหลวด้วยแรงบีบอัดและค่าแรงเฉือนของปลาหมึกกระดองที่แช่ในสารละลายต่างๆและผ่านแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 3 รอบ

Treatment	Free Drip (%)	Expressible Drip (%)	Shear Force (g)
Control	3.15 ± 0.43^{*bc}	10.41 ± 0.42^{*b}	4988.24 ± 93.58^{**bc}
NaCl (5 %)	1.37 ± 0.06^{fgh}	5.85 ± 0.19^{fg}	4172.14 ± 697.18^{ef}
STPP (0.1 %)	2.47 ± 0.19^{cde}	6.27±0.28^{f}	4785.06 ± 23.79^{cde}
STPP (1.0 %)	2.45 ± 0.26^{cde}	8.40 ± 0.26^{cd}	4464.24 ± 46.02^{cdef}
SQ-TH (2.5 %)	1.40 ± 0.13^{fgh}	5.43 ± 0.26^{fghi}	4104.19 ± 449.12^{f}
SQ-UP (2.5 %)	1.04 ± 0.00^{h}	4.59 ± 0.28^{ij}	4149.87 ± 480.27^{ef}
Trehalose (4 %)	2.06 ± 0.12^{ef}	6.06 ± 0.74^{fg}	5583.05 ± 831.20^{a}
Trehalose (6 %)	2.80 ± 0.28^{bcd}	8.36 ± 1.31^{cde}	4299.40 ± 623.08^{def}
Trehalose (8 %)	2.51 ± 0.55^{cde}	5.73 ± 0.47fgh	5460.43 ± 680.12^{ab}
$NaHCO_3$ (4 %)	1.69 ± 0.01^{fgh}	4.17 ± 0.09^{jk}	4708.74 ± 02.99^{cdef}
$NaHCO_3$ (6 %)	1.20 ± 0.14^{gh}	3.33 ± 0.25^{k}	4099.27 ± 442.07^{f}
$NaHCO_3$ (8 %)	1.61 ± 0.04^{fgh}	4.66 ± 0.13^{ij}	4773.38 ± 95.68^{cde}
NH_4HCO_3 (6 %)	1.14 ± 0.03^{h}	4.87 ± 0.05^{hij}	4702.13 ± 81.95^{cdef}
NH_4HCO_3 (8 %)	0.94 ± 0.05^{h}	4.26 ± 0.04^{ij}	4442.83 ± 30.49^{cdef}
$CaCl_2$ (0.4 %)	4.54 ± 0.55^{a}	8.68 ± 0.14^{cd}	4871.49 ± 38.81^{bcd}
$CaCl_2$ (0.6 %)	4.23 ± 0.62^{a}	9.27 ± 0.67^{c}	4142.63 ± 451.61^{ef}
$CaCl_2$ (0.8 %)	3.39 ± 0.50^{b}	11.81 ± 0.74^{a}	4246.63 ± 341.23^{def}
$MgCl_2$ (0.4 %)	4.35 ± 1.10^{a}	11.48 ± 0.17^{a}	4893.17 ± 79.48^{bcd}
$MgCl_2$ (0.8 %)	2.41 ± 0.38^{def}	5.10 ± 0.69^{ghij}	4836.10 ± 392.82^{cde}
$MgCl_2$ (1.0 %)	1.88 ± 0.50^{efg}	7.46 ± 0.60^{e}	4735.44 ± 92.19^{cdef}
$NaHCO_3$ (4%) and NH_4HCO_3 (4 %)	1.02 ± 0.21^{h}	7.82 ± 1.04^{de}	4997.91 ± 551.69^{bc}
$CaCl_2$ (0.4 %) and $MgCl_2$ (0.8 %)	1.37 ± 0.15^{fgh}	5.14 ± 0.22^{ghij}	4833.61 ± 542.88^{cde}

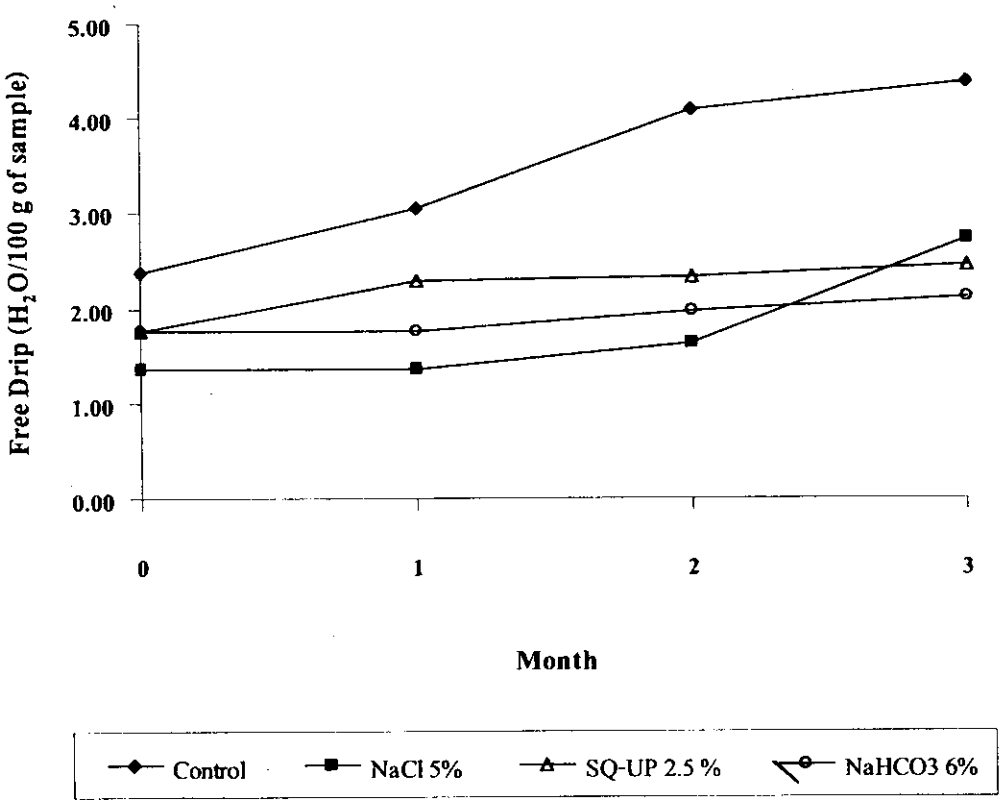
*Mean ± SD from triplicate determinations, ** Mean ± SD from ten determinations.

6. ผลของสารเติมแต่งอาหารบางชนิดต่อเนื้อสัมผัสและความสามารถอุ้มน้ำของปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็ง

ผลของสารเติมแต่งอาหารที่คัดเลือกได้จากการศึกษาในตอนที่ 5 ต่อความสามารถอุ้มน้ำและเนื้อสัมผัสของปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็ง เมื่อประเมินจากปริมาณการสูญเสียของเหลวอย่างอิสระ (Free drip) (ภาพที่ 3.14) และปริมาณการสูญเสียของเหลวด้วยแรงบีบอัด (Expressible drip) (ภาพที่ 3.15) พบว่าการแช่เยือกแข็งปลาหมึกกระดองโดยไม่ผ่านการเตรียมใดๆ (ชุดควบคุม) จะทำให้ปลาหมึกกระดองหลังการละลายมีปริมาณของ Free drip และ Expressible drip เกิดขึ้นร้อยละ 2.38 ± 0.54 และ 8.00 ± 1.58 จากน้ำหนักของปลาหมึกกระดองก่อนแช่เยือกแข็งตามลำดับ จึงบ่งชี้ให้เห็นว่าการแช่เยือกแข็งมีผลให้ปลาหมึกกระดองสูญเสียความสามารถอุ้มน้ำ ปริมาณ Free drip และ Expressible drip ที่สูญเสียออกจากปลาหมึกกระดองหลังการละลายมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ – 20 องศาเซลเซียสเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) จนมีค่าสูงสุดร้อยละ 4.38 ± 1.19 และ 14.96 ± 0.45 ตามลำดับ เมื่ออายุเก็บรักษาเท่ากับ 3 เดือน การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเป็นปรากฏการณ์ที่พบว่าเกิดขึ้นเสมอในระหว่างการแปรรูปอาหารด้วยการแช่เยือกแข็ง การเตรียมปลาหมึกกระดองขั้นต้นด้วยการปั่นในสารละลายเกลือ (5% w/v) ก่อนการแช่เยือกแข็งมีผลให้ปลาหมึกกระดองมีความสามารถอุ้มน้ำได้เพิ่มขึ้น ดังจะเห็นได้จากการมีผลให้ปลาหมึกกระดองมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นหลังการปั่น (ผลการศึกษาตอนที่ 2, 3, 4 และ 5) และยังทำให้ปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งสามารถรักษาความสามารถอุ้มน้ำไว้ในระยะหนึ่ง ดังข้อมูลที่พบว่าปลาหมึกกระดองชุดนี้มีการสูญเสีย Free drip และ Expressible drip น้อยกว่าชุดควบคุม แต่เมื่อเก็บรักษาปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งไว้นาน 1 เดือน การสูญเสียของเหลวทั้งสองส่วนมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่ยังคงเกิดขึ้นในระดับที่มีความรุนแรงน้อยกว่าที่พบในชุดควบคุม

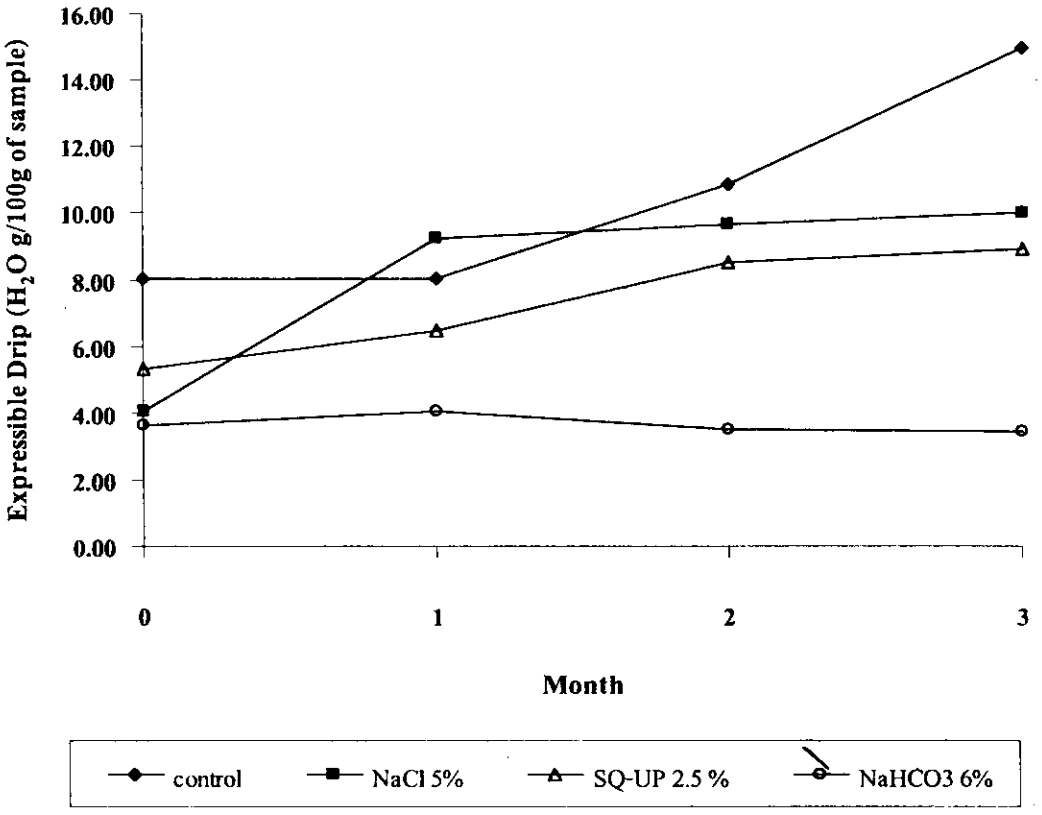
สำหรับชุดทดลองซึ่งนำปลาหมึกกระดองที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือไปแช่ต่อในสารละลาย SQ-UP (2.5 % w/v) ที่ไม่มีผลให้น้ำหนักปลาหมึกกระดองเปลี่ยนแปลงไปอย่างมีนัยสำคัญนั้น ($p>0.05$) (ผลการศึกษาตอนที่ 5) เมื่อนำมาแช่เยือกแข็งและเก็บรักษา พบว่าการสูญเสีย Free drip และ Expressible drip จากปลาหมึกกระดองไม่แตกต่างจากชุดทดลองที่ปั่นในสารละลายเกลือเพียงขั้นตอนเดียว สำหรับชุดทดลองที่นำปลาหมึกกระดองที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือไปแช่ในสารละลาย $NaHCO_3$ (6%w/v) ก่อนการแช่เยือกแข็งที่พบว่ามีผลให้ความสามารถอุ้มน้ำของปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งเพิ่มขึ้นสูงกว่าชุดทดลองอื่นๆ (ผลการศึกษาตอนที่ 5) การที่ปลาหมึกกระดองที่ผ่านการแช่ในสารละลาย $NaHCO_3$ สามารถเพิ่มน้ำหนักภายหลังการแช่ได้และลดการสูญเสียน้ำภายหลังการทำละลายได้อาจเป็นผลเนื่องมาจาก $NaHCO_3$ มีผลให้ pH ของระบบกล้ามเนื้อสูงขึ้น (Sheard and Tali, 2004) การที่ pH ของระบบสูงกว่าจุด pI มี

ผลให้ประจุสุทธิของโปรตีนเป็นลบ มีผลต่อการเพิ่มความสามารถในการจับน้ำไว้ภายในโครงสร้างได้มากขึ้น (Zayas, 1997) นอกจากนี้การแช่ปลาหมึกในสารละลาย $NaHCO_3$ ที่มีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ (buffer) มีผลทำให้เกิดแรงทางไฟฟ้าที่แข็งแรงที่เป็นผลผลิตจากการที่โปรตีนมีประจุสุทธิที่เป็นลบสูง ส่งผลให้เกิดการผลักกันระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกล้ามเนื้อซึ่งเป็นสาเหตุให้โปรตีนเกิดการคลายตัว (Unfold) จึงทำให้โปรตีนสามารถอุ้มน้ำได้สูงขึ้น (Martinez-alvarez *et al.*, 2005B) และเมื่อนำปลาหมึกที่ผ่านการแช่ในสารละลายดังกล่าวไปแช่เยือกแข็งและเก็บรักษาด้วยการแช่เยือกแข็ง พบว่าปลาหมึกกระดองชุดนี้มีการสูญเสีย Free drip และ Expressible drip เกิดขึ้นน้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่าการแช่ปลาหมึกในสารละลาย $NaHCO_3$ มีผลให้กล้ามเนื้อของปลาหมึกกระดองมีความสามารถอุ้มน้ำสูงกว่าชุดทดลองอื่นๆตลอดอายุการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง



ภาพที่ 3.18 การสูญเสียของเหลวอย่างอิสระของปลาหมึกกระดองในระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 3 เดือน

หมายเหตุ ตัวอย่างปลาหมึกกระดองที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เข้มข้นร้อยละ 5 ร่วมกับการแช่ในทางการค้า (SQ-UP 2.5 %) และโซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$ 6%) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

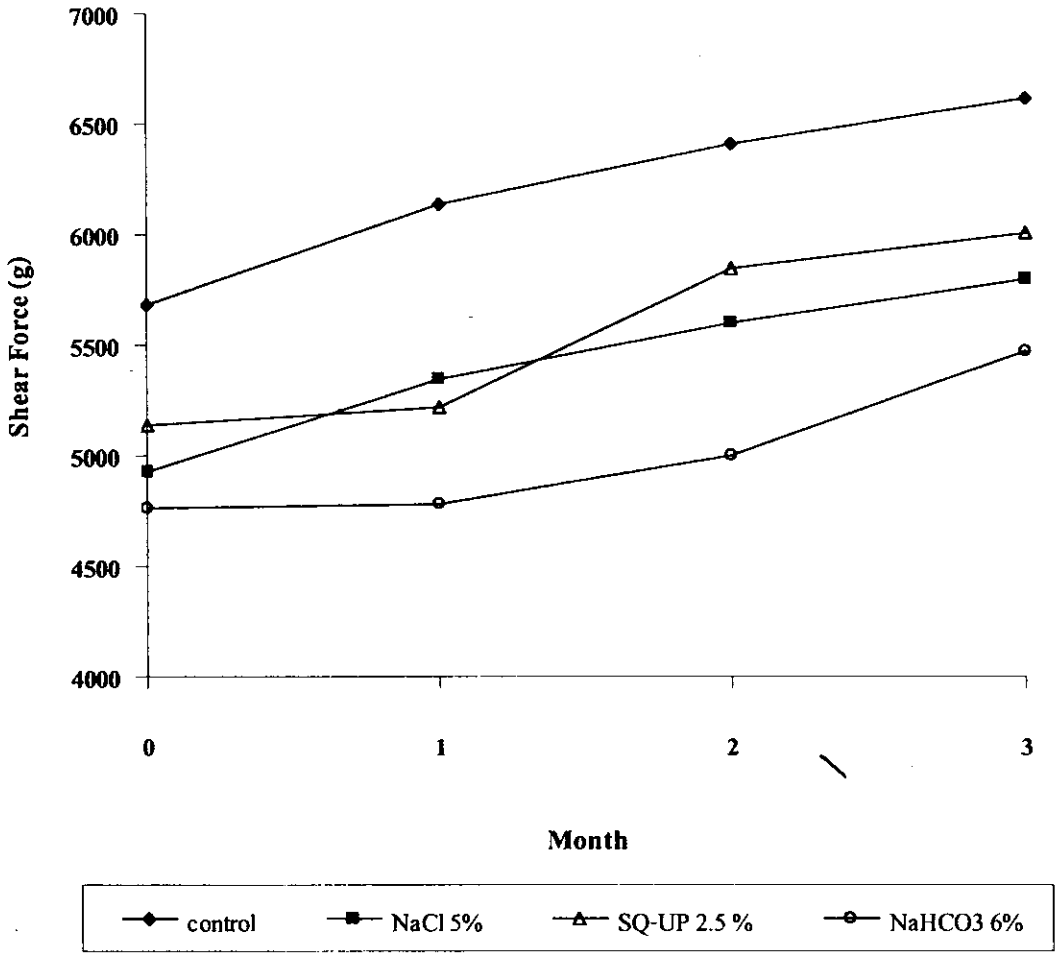


ภาพที่ 3.19 การสูญเสียของเหลวด้วยแรงบีบอัดของปลาหมึกกระดองในระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 3 เดือน

หมายเหตุ สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.18

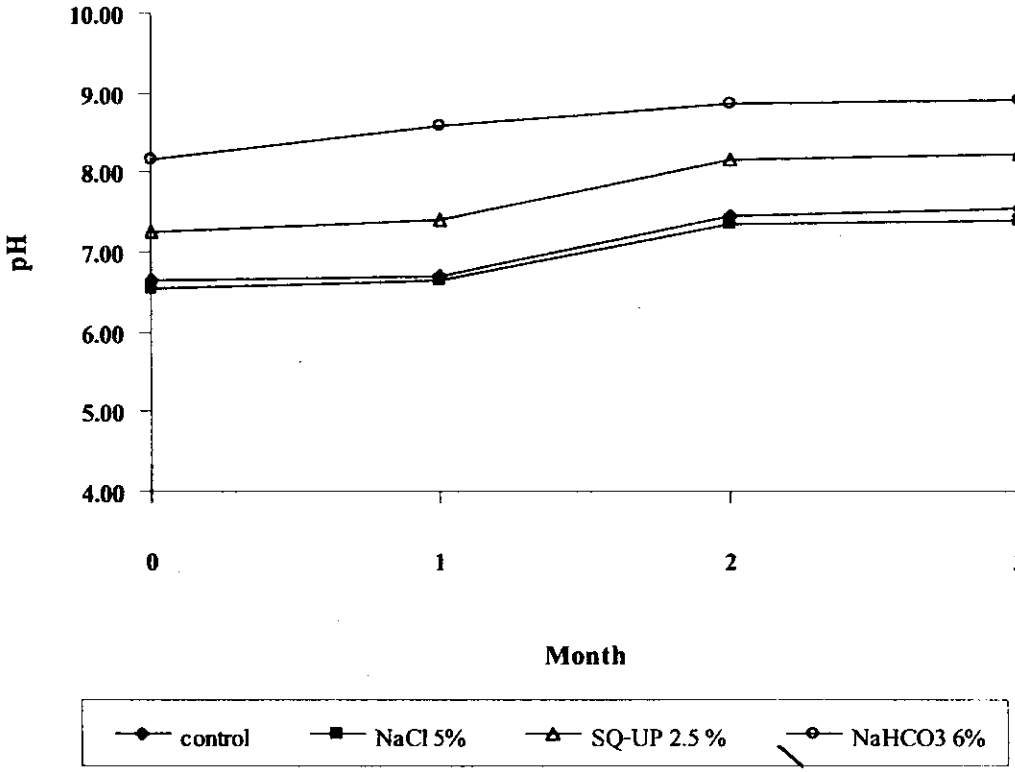
ผลการศึกษาค่าแรงที่ใช้ตัดชิ้นปลาหมึกกระดองที่ผ่านการแช่เยือกแข็งที่ได้รับการเตรียมด้วยการแช่ในสารละลายต่างๆก่อนการแช่เยือกแข็งแสดงในภาพที่ 3.20 ซึ่งพบว่าการแช่เยือกแข็งและการเก็บรักษาด้วยการแช่เยือกแข็งมีผลให้แรงที่ใช้ตัดปลาหมึกกระดองจากทุกชุดทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะการเก็บรักษา โดยสามารถจำแนกชุดทดลองออกได้เป็น 3 กลุ่ม ตามระดับของค่าแรงที่ใช้ตัดชิ้นตัวอย่าง กลุ่มแรกคือชุดควบคุมซึ่งแช่เยือกแข็งโดยไม่ผ่านการแช่ในสารละลายใดๆนั้นพบว่าแรงเฉือนของตัวอย่างทุกระยะการเก็บรักษามีค่าสูงสุด กลุ่มที่สองประกอบตัวอย่างที่ปั่นในสารละลายเกลือเพียงขั้นตอนเดียว และปลาหมึกที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือแล้วแช่ในสารละลาย SQ-UP ที่มีผลให้ปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งมีค่าแรงตัดเพิ่มขึ้นต่ำกว่าชุดควบคุม และกลุ่มที่สามได้แก่ตัวอย่างที่ปั่นในสารละลายเกลือแล้วนำไปแช่ต่อในสารละลาย $NaHCO_3$ ที่มีผลให้ปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งมีการเพิ่มของค่าแรงตัดต่ำสุด

ปลาหมึกกระดองที่ผ่านการแช่ในสารละลาย $NaHCO_3$ (6 %) พบว่ามีค่า pH หลังการทำละลายที่สูงกว่าชุดทดลองอื่นๆ ($p<0.05$) อีกทั้งยังมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเก็บรักษาเพิ่มขึ้น และยังคงมีค่าสูงกว่าชุดทดลองอื่นๆตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p<0.05$) การที่ pH ของปลาหมึกกระดองที่ผ่านการแช่ในสารละลายดังกล่าวมีค่าสูงกว่าชุดทดลองอื่นๆ อาจเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้การสูญเสียความสามารถอุ้มน้ำและการแปรปรวนของเนื้อสัมผัสของปลาหมึกชุดนี้เกิดขึ้นน้อยกว่าชุดทดลองอื่นๆ การมี pH ที่สูงกว่าจุด pI นั้นยิ่งส่งผลให้ประจุสุทธิของโปรตีนกล้ามเนื้อมีความเป็นลบมากขึ้น ทำให้โปรตีนกล้ามเนื้อสามารถที่จะจับน้ำไว้ภายในโครงสร้างได้ดี ทำให้ปลาหมึกกระดองที่ผ่านการแช่ในสารละลาย $NaHCO_3$ มีการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนในระหว่างการแช่เยือกแข็งต่ำกว่าชุดทดลองอื่นๆ การเพิ่มขึ้นของ pH เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นมีแนวโน้มที่สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของการสูญเสียความสามารถอุ้มน้ำและค่าแรงเฉือนของปลาหมึกกระดองที่ผ่านการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็ง การที่ปลาหมึกกระดองสูญเสียน้ำออกจากโครงสร้างในระหว่างการเก็บรักษามีผลให้ตัวถูกละลายในระบบกล้ามเนื้อซึ่งส่วนหนึ่งเป็นผลของสารที่ใช้ในการแช่ซึ่งมี pH ที่สูงอยู่แล้วมีความเข้มข้นสูงขึ้นส่งผลให้ค่า pH ของระบบมีค่าสูงขึ้นด้วย



ภาพที่ 3.20 แรงเฉือนของปลาหมึกกระดองในระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 3 เดือน

หมายเหตุ สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.18



ภาพที่ 3.21 pH ของปลาหมึกกระดองในระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 3 เดือน

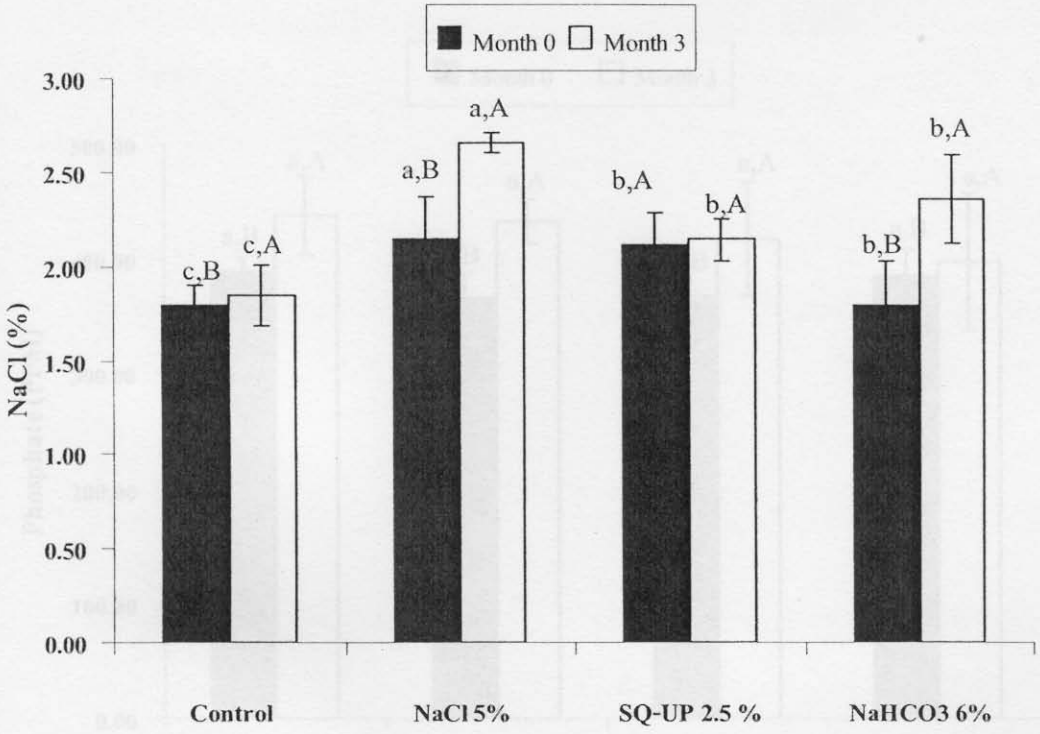
หมายเหตุ สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.18

การแช่เยือกแข็งและการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งพบว่า ยังมีผลต่อปริมาณเกลือและปริมาณฟอสเฟตในปลาหมึกด้วย (ภาพที่ 3.22 และ 3.23) โดยพบว่า ปริมาณเกลือที่วิเคราะห์ได้ในทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยปลาหมึกกระดองที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือเพียงขั้นตอนเดียวยังคงมีปริมาณเกลือสูงกว่าในชุดทดลองอื่นๆตลอดการเก็บรักษา การวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตในปลาหมึกกระดองที่ผ่านการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 3 เดือนพบว่า มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) เช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเกลือ แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของปริมาณฟอสเฟตในทุกชุดทดลอง ($p>0.05$) การเพิ่มขึ้นของปริมาณเกลือและปริมาณฟอสเฟตในกล้ามเนื้อของปลาหมึกกระดองดังกล่าวอาจเกิดจากการสูญเสียน้ำออกจากโครงสร้าง ซึ่งมีผลให้ปริมาณตัวถูกละลายต่างๆในระบบกล้ามเนื้อมีความเข้มข้นสูงขึ้น

การเพิ่มขึ้นของ pH และค่า ionic strength มีผลให้โปรตีนสูญเสียความสามารถในการละลายเนื่องจากการเพิ่ม hydrophobic-hydrophobic interaction ระหว่างโมเลกุลของโปรตีน (Vojdani, 1996) การวิเคราะห์การละลายของโปรตีนในปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็งที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลายใดๆ และปลาหมึกที่ผ่านการปั่นเกลือเพียงขั้นตอนเดียวก่อนการแช่เยือกแข็งนั้นมีความสามารถละลายของโปรตีนที่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และเมื่อผ่านการเก็บรักษาความสามารถละลายของโปรตีนจะลดลงตามอายุเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 3.24) การสูญเสียความสามารถในการละลายของโปรตีนในตัวอย่างเหล่านี้พบว่ามีความสัมพันธ์กับการสูญเสียความสามารถอุ้มน้ำของปลาหมึกกระดองเมื่อผ่านการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 3 เดือน สำหรับปลาหมึกที่ผ่านการแช่ในสารละลาย SQ-UP (2.5 % w/v) และสารละลาย $NaHCO_3$ (6 % w/v) ก่อนการแช่เยือกแข็งนั้นพบว่าไม่สามารถตรวจวัดความสามารถละลายของโปรตีนได้ เนื่องจากไม่สามารถเหวี่ยงแยกของแข็งที่ไม่ละลายออกจากสารละลายได้ ทั้งนี้อาจเป็นผลการสารละลายที่ใช้แช่ปลาหมึกทำให้กล้ามเนื้อปลาหมึกมีพีเอชสูงขึ้น ในระดับที่ทำให้โปรตีนกล้ามมีประจุลบเพิ่มขึ้นทำให้สามารถแขวนลอยอยู่ในสารละลายได้ เช่นเดียวกับผลการวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ในสารละลายกรดที่พบว่าคอลลาเจนในปลาหมึกชุดที่ผ่านการแช่ในสารละลายต่างๆจะสูญเสียความสามารถละลายไป ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการมีพีเอชที่เพิ่มขึ้นจนมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 7-8 ทำให้ค่าพีเอชของปลาหมึกเข้าใกล้ค่า pI ของคอลลาเจนที่มีค่าอยู่ในช่วง 6-9 (Foegeding *et al.*, 1996) จึงทำให้ความสามารถละลายของคอลลาเจนลดลง

เพื่อเปรียบเทียบผลของการแช่ปลาหมึกในสารละลายต่างๆก่อนการแช่เยือกแข็ง ต่อสมบัติของโปรตีนจึงได้วัดค่าความหนืด (ภาพที่ 3.25) ของสารละลายสกัดที่เตรียมจากการปั่นละเอียดเนื้อปลาหมึก

ซึ่งพบว่าสารละลายที่เตรียมจากตัวอย่างปลาหมึกกระดองที่ผ่านการแช่ในสารละลาย SQ-UP มีค่าความหนืดที่สูงสุด ($p<0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากค่าความหนืดของสารละลายที่เตรียมจากการปั่นละเอียดปลาหมึกที่แช่เยือกแข็งโดยไม่ผ่านการแช่ในสารละลายใดๆ และพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเพิ่มขึ้น ค่าความหนืดของสารละลายที่เตรียมจากตัวอย่างของทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของความหนืดมีความสัมพันธ์กับปริมาณของแข็งและรูปร่างของตัวละลายที่ละลายอยู่ในสารละลาย อย่างไรก็ตาม Ruiz-Capillas และคณะ (2003) รายงานว่าการรวมตัวและการเชื่อมประสานกันระหว่างโมเลกุลของโปรตีนที่เกิดขึ้นเนื่องจากการสูญเสียความสามารถละลายได้ของโปรตีนมีผลให้ความหนืดของสารละลายเพิ่มขึ้น

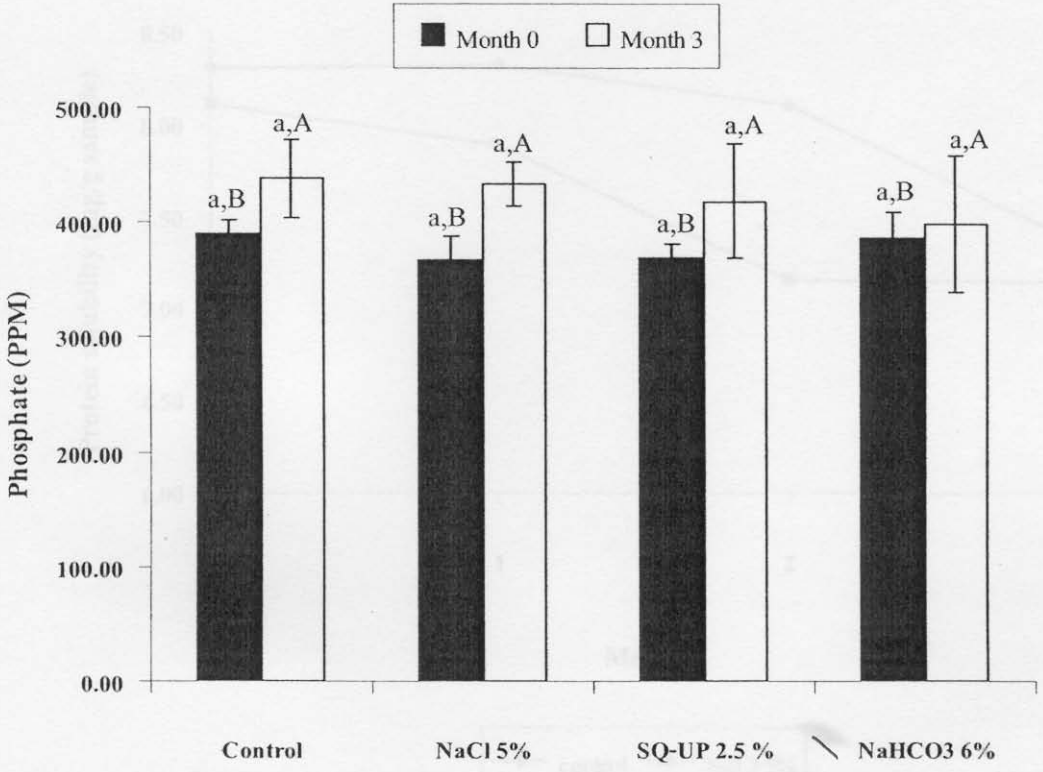


ภาพที่ 3.22 ปริมาณเกลือในปลาหมึกกระดองในระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 3 เดือน

หมายเหตุ สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.18

**The different letter indicate significant differences ($p<0.05$).

The different capital letters indicate the significant differences ($p<0.05$).

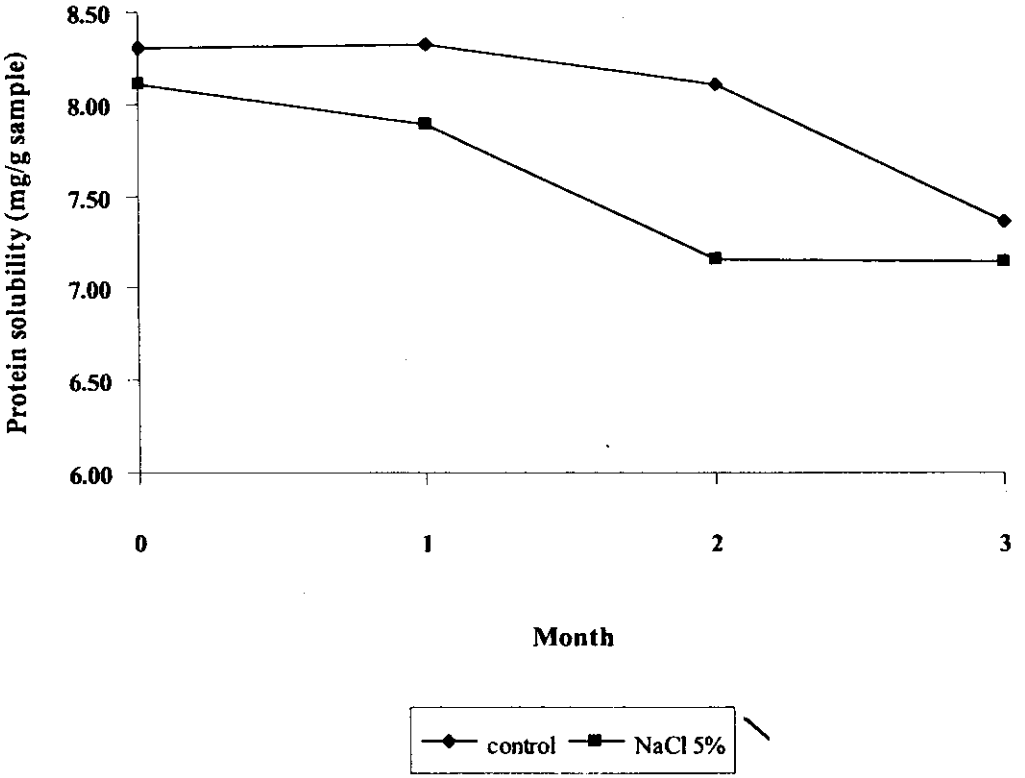


ภาพที่ 3.23 ปริมาณฟอสเฟตในปลาหมึกกระดองที่ผ่านการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 3 เดือน

หมายเหตุ สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.18

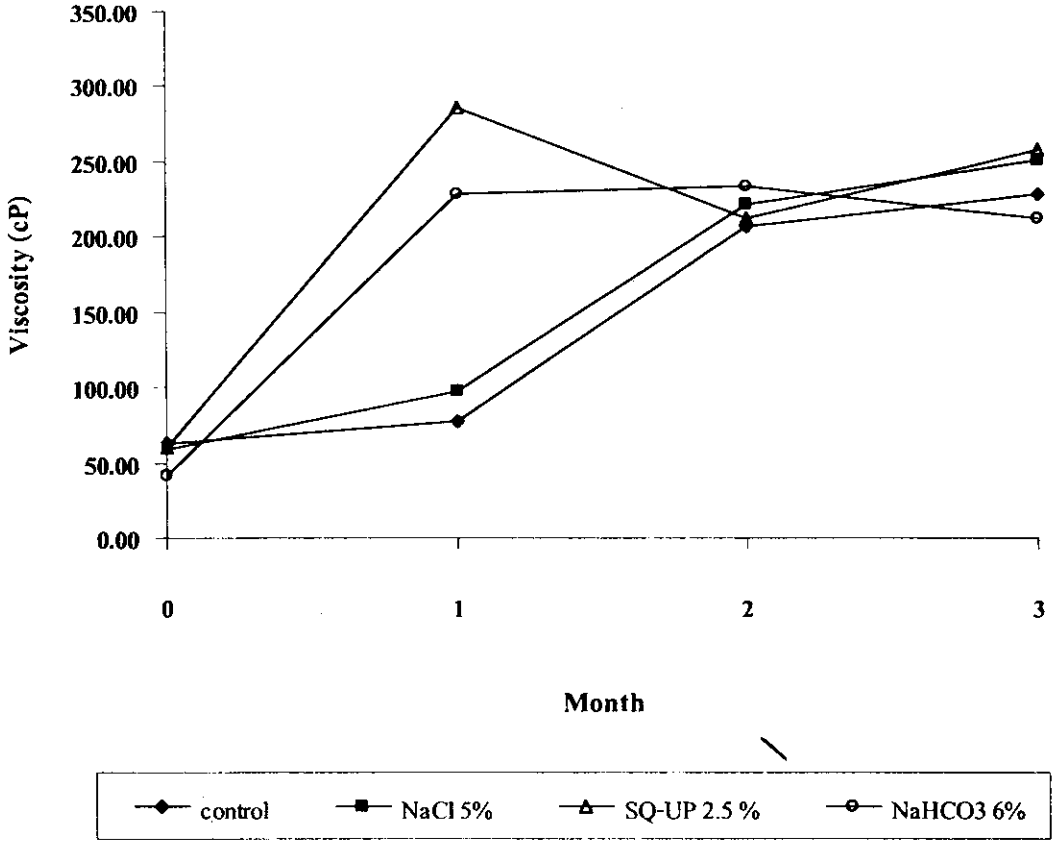
**The different letter indicate significant differences ($p<0.05$).

The different capital letters indicate the significant differences ($p<0.05$).



ภาพที่ 3.24 การละลายของโปรตีนในปลาหมึกกระดองในระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 3 เดือน

หมายเหตุ สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.18



ภาพที่ 3.25 ความหนืดของสารละลายสกัดจากของปลาหมึกกระดองที่ผ่านการเตรียมด้วยวิธีการต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 3 เดือน

หมายเหตุ สัญลักษณ์ต่างๆมีความหมายตามรูปที่ 3.18