วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุ

วัตถุดิบ

ปลาหมึกกระดอง (*Sepia brevimana*) (ซื้อจากท่าเรือประมง จังหวัดสงขลา) โดยเลือกปลาหมึกที่มีตาใส ผิวหนังไม่มีรอยถลอก ส่วนหัวและลำตัวมีความขาวใส ไม่มีกลิ่นคาวจัด ขนาด 3 ตัวต่อกิโลกรัม เก็บรักษาด้วยการบรรจุปลาหมึกในถุงพลาสติกแล้วแช่ในน้ำแข็งในอัตราส่วนปลาหมึกต่อน้ำแข็งเท่ากับ 1:2

สารเคมี

โซเดียมคลอไรด์, โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต, สารทดแทนสารประกอบฟอสเฟตที่วางจำหน่ายในทางการค้า ชนิด SQ-UP, SQ-TH และ ทรียาโลส จากบริษัท เมอคิวรี เพทโทรล (1995) จำกัด โซเดียมไบคาร์บอเนต, แอมโมเนียมไบคาร์บอเนต, แคลเซียมคลอไรด์, แมกนีเซียมคลอไรด์ และสารที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าทางเคมี

อุปกรณ์

1. เครื่องโฮโมจิไนเซอร์ ยี่ห้อ Polytron รุ่น PT-2100 ประเทศสวิตส์เซอร์แลนด์
2. เครื่องวัด pH ยี่ห้อ Thermo Orion รุ่น Model 230 ประเทศสหรัฐอเมริกา
3. เครื่องวัดเนื้อสัมผัส ยี่ห้อ Stable Micro System รุ่น TA-XT2I ประเทศอังกฤษ
4. เครื่องวัดความหนืด (Blookfield Viscimetor) รุ่น DV-II2 ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น UV-16001 ประเทศออสเตรเลีย
6. เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Sorvall รุ่น RC-5B plus ประเทศสหรัฐอเมริกา
7. เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิความเร็วสูง (Super speed centrifuge) ยี่ห้อ Beckman Coulter รุ่น Avanti™ I-30I ประเทศสหรัฐอเมริกา
8. เครื่อง scanning electron microscopy ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM-5800 ประเทศญี่ปุ่น

9. อ่างควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert รุ่น W 350 ประเทศเยอรมัน

10. เครื่องมือวิเคราะห์ทางเคมี

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมวัตถุดิบ

นำปลาหมึกกระดองมาแยกหัว เครื่องใน ลอกหนัง และล้างด้วยน้ำเย็น อุณหภูมิประมาณ 4-10 °C ผ่าตามแนวยาวของลำตัว กระทั่งได้ชิ้นเนื้อของปลาหมึกส่วนลำตัวรูปสามเหลี่ยม เนื่องจากข้อจำกัดของการจัดซื้อวัตถุดิบส่งผลให้มีการออกแบบการทดลองโดยใช้ปลาหมึกที่จัดซื้อชุดที่ 1 ศึกษาในหัวข้อที่ 2-4 ปลาหมึกที่จัดซื้อชุดที่ 2 ใช้ศึกษาในหัวที่ 5.1 และหัวข้อที่ 5.2 ควบคู่กันไปในเวลาเดียวกัน ส่วนปลาหมึกที่จัดซื้อชุดที่ 3 และ 4 ใช้ศึกษาในหัวข้อที่ 6 และ 7 ตามลำดับ

2. องค์ประกอบทางเคมีของปลาหมึกกระดอง

ตรวจสอบองค์ประกอบของกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดอง ดังนี้คือ

2.1 โปรตีน (AOAC, 1999)

2.2 ไขมัน (AOAC, 1999)

2.3 เถ้า (AOAC, 1999)

2.4 ความชื้น (AOAC, 1999)

2.5 ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (AOAC, 1999)

2.6 ความเป็นกรด-ด่าง ด้วยการปั่นละเอียดปลาหมึก 1 กรัม ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ใช้สำหรับการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยพีเอชมิเตอร์

2.7 คอลลาเจน (Liu *et al.*, 1996) ในชิ้นเนื้อปลาหมึกที่สมบูรณ์และชิ้นเนื้อปลาหมึกหนาประมาณ 2 มิลลิเมตร ที่แล่ได้จากผิวลำตัวด้านนอก ผิวลำตัวด้านใน และจากบริเวณกึ่งกลางของความหนาของชิ้นเนื้อ (รูปแสดงดังภาคผนวกที่ 4)

3. ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อสมบัติทางกล กายภาพ และโครงสร้างจุลภาค ของกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดอง

3.1 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อความสามารถอุ้มน้ำของปลาหมึกกระดอง

แช่ปลาหมึกกระดองที่ผ่านการเตรียมตามวิธีที่ระบุในการเตรียมวัตถุดิบ ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5 และ 10 ด้วยอัตราส่วนปลาหมึกต่อสารละลายเท่ากับ 1:5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ควบคุมอุณหภูมิของสารละลายให้อยู่ในช่วง 0 – (-5) องศาเซลเซียส กวนสารละลายตลอดเวลาด้วยเครื่อง Magnetic stirrer เป็นเวลา 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที สุ่มตัวอย่างตามระยะเวลาที่กำหนด เพื่อตรวจสอบสมบัติทางกล กายภาพและองค์ประกอบเคมีของปลาหมึกเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการปั่นในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ดังนี้คือ

3.1.1 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของปลาหมึก (Weight loss) โดยการวัดการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของปลาหมึกก่อนและหลังการปั่น

3.1.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยการปั่นละเอียดปลาหมึก 1 กรัม ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ใช้สำหรับการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยพีเอชมิเตอร์

3.1.3 ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (AOAC, 1999) ในชิ้นเนื้อปลาหมึกที่สมบูรณ์ และชิ้นเนื้อปลาหมึก หนาประมาณ 2 มิลลิเมตรที่แล่ได้จากผิวลำตัวด้านนอก ผิวลำตัวด้านใน และจากบริเวณกึ่งกลางของความหนาของชิ้นเนื้อ (รูปแสดงดังภาพภาคผนวกที่ 4)

3.1.4 ความชื้น (AOAC, 1999) ในชิ้นเนื้อปลาหมึกที่สมบูรณ์ และชิ้นเนื้อปลาหมึก หนาประมาณ 2 มิลลิเมตรที่แล่ได้จากผิวลำตัวด้านนอก ผิวลำตัวด้านใน และจากบริเวณกึ่งกลางของความหนาของชิ้นเนื้อ (รูปแสดงดังภาพภาคผนวกที่ 4)

3.2 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อเนื้อสัมผัสและโครงสร้างจุลภาคของกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดอง

3.2.1 ค่าแรงดึง โดยใช้ชิ้นปลาหมึกหนาประมาณ 2 มิลลิเมตรที่แล่จากผิวลำตัว ด้านนอก ด้านใน ทั้งในแนวยาวและแนวขวางของลำตัว (รูปแสดงดังภาพภาคผนวกที่ 1) ตรวจสอบแรงดึงโดยใช้ Texture analyzer (Stable Micro System, TA-XT2i) หัววัด Tensile Roller Grip

3.2.2 ค่าแรงเฉือน (ดัดแปลงจาก Ueng และ Chow, 1998) (เตรียมตัวอย่างดังภาพภาคผนวกที่ 2) โดยใช้ Texture analyzer (Stable Micro System, TA-XT2i) หัววัด Warner-Bratzler (WB)

3.2.3 โครงสร้างจุลภาค โดยใช้ Scanning Electron Microscopy (SEM) (เตรียมตัวอย่างดังภาคผนวกที่ ง) บันทึกภาพตัดขวาง (Transverse section) และภาพตามยาว (longitudinal section) ที่ระดับ Magnification x 5,000 เท่า (Palka and Daun, 1999)

คัดเลือกความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์และระยะเวลาในการปั่นปลาหมึก โดยพิจารณาจากชุดทดลองที่ให้เนื้อสัมผัสแน่นแข็งสูงสุด (ประเมินจากค่าแรงที่ใช้ในการวัดลักษณะเนื้อสัมผัส) และสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุด คัดเลือกวิธีการประเมินสมบัติทางกลของชิ้นปลาหมึกที่สามารถระบุความแตกต่างของชิ้นเนื้อก่อนและหลังการปั่นได้ โดยสภาวะที่คัดเลือกได้ ได้แก่

- โซเดียมคลอไรด์ เข้มข้นร้อยละ 5 อุณหภูมิ 0 – (-5) องศาเซลเซียส ปั่นเป็นเวลา 10 นาที อัตราส่วนปลาหมึกต่อสารละลาย เท่ากับ 1:5 (น้ำหนัก/ปริมาตร)

- การวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยการวัดค่าแรงเฉือน ซึ่งให้ผลในการวิเคราะห์ที่สามารถระบุความแตกต่างของชิ้นเนื้อปลาหมึกก่อนและหลังการปั่นได้

4. ผลของโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตต่อความสามารถละลายของโปรตีนกล้ามเนื้อและโปรตีนคอลลาเจนในกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดอง

4.1 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนกล้ามเนื้อและคอลลาเจน

โฮโมจิไนซ์ปลาหมึกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นเท่ากับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ได้จากกล้ามเนื้อปลาหมึกหลังการปั่น โดยใช้อัตราส่วนระหว่างปลาหมึกต่อสารละลายเท่ากับ 1 : 5 แล้วหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 rpm และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ตรวจสอบสมบัติของตัวอย่างปลาหมึก ดังนี้ คือ

4.1.1 ปริมาณโปรตีนในสารละลายใส โดยวิธีของ Lowry ที่ดัดแปลงโดย Markwell และคณะ (1978)

4.1.2 คอลลาเจน (Sivakumar and Chandrakasan, 1998) โดยวิเคราะห์ปริมาณไฮดรอกซีโพรลีนตามวิธีของ Liu และคณะ (1996)

4.2 ผลร่วมของโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนกล้ามเนื้อและคอลลาเจน

นำตะกอนที่เหวี่ยงแยกได้จากข้อที่ 4.1 มาปั่นให้กระจายตัวในสารละลาย

โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 25 50 และ 100 ppm โดยใช้อัตราส่วนระหว่างปลาหมึกกับสารละลายเท่ากับ 1 : 5 แล้วหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 rpm และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ตรวจสอบในค่าต่างๆต่อไปนี้

4.2.1 ปริมาณโปรตีนในสารละลายใส โดยวิธีของ Lowry ที่ดัดแปลงโดย Markwell และคณะ (1978)

4.2.2 คอลลาเจน (Sivakumar and Chandrakasan, 1998) โดยวิเคราะห์ปริมาณ ไฮดรอกซีโพรลีนตามวิธีของ Liu และคณะ (1996)

5. ผลของโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตต่อสมบัติทางกล และกายภาพ ของปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็ง

5.1 ผลของโซเดียมคลอไรด์และผลร่วมของโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตต่อสมบัติทางกล และ กายภาพ ของกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดอง

ปั่นปลาหมึกกระดองที่ผ่านการเตรียมตามวิธีที่ระบุในการเตรียมวัตถุดิบ ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5 อุณหภูมิ 0 - (-5) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (ความเข้มข้นที่คัดเลือกได้จากตอนที่ 3) ด้วยอัตราส่วนปลาหมึกต่อสารละลายเท่ากับ 1:5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) หลังจากนั้นแช่ปลาหมึกในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่ระดับความเข้มข้น 25 50 และ 100 ppm เป็นเวลา 30 นาที อุณหภูมิ 0 - 4 องศาเซลเซียส (เลือกใช้ระดับความเข้มข้นต่ำ เนื่องจากต้องการลดปริมาณการใช้สารประกอบฟอสเฟตในการแช่ปลาหมึกกระดองก่อนการแช่เยือกแข็ง) ตรวจสอบสมบัติและองค์ประกอบของตัวอย่างปลาหมึกดังนี้ คือ

5.1.1 ค่าแรงเฉือน (ดัดแปลงจาก Ueng และ Chow, 1998)

5.1.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยการปั่นละเอียดปลาหมึก 1 กรัม ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ใช้สำหรับการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยพีเอชมิเตอร์

5.1.3 ปริมาณฟอสเฟต (AOAC, 1999)

5.1.4 การสูญเสียของเหลวอย่างอิสระ (Free Drip) (Ueng and Chow, 1998)

5.1.5 ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (AOAC, 1999)

5.1.6 การละลายของโปรตีน โดยโฮโมจิไนซ์ปลาหมึกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นเท่ากับระดับที่วิเคราะห์ได้ในกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดองภายหลังการปั่นในสารละลายเกลือ อัตราส่วนระหว่างปลาหมึกต่อสารละลายเท่ากับ 1: 5 แล้วหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 rpm และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แยกสารละลายส่วนใสเพื่อวิเคราะห์การละลายของโปรตีนโดยวิธีของ Lowry ที่ดัดแปลงโดย Markwell และคณะ (1978)

5.1.7 คอลลาเจน (Sivakumar and Chandrakasan, 1998) โดยวิเคราะห์ปริมาณ ไฮดรอกซีโพรลีนตามวิธีของ Liu และคณะ (1996)

5.2 ผลของโซเดียมคลอไรด์และผลร่วมของโซเดียมคลอไรด์กับโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตต่อสมบัติทางกลและกายภาพของกล้ามเนื้อปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็ง

ปั่นปลาหมึกกระดองที่ผ่านการเตรียมตามวิธีที่ระบุในการเตรียมวัตถุดิบ ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5 อุณหภูมิ 0 - (-5) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (ความเข้มข้นที่คัดเลือกได้จากตอนที่ 3) ด้วยอัตราส่วนปลาหมึกต่อสารละลายเท่ากับ 1:5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) หลังจากนั้นแช่ปลาหมึกในสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่ระดับความเข้มข้น 25 50 และ 100 ppm เป็นเวลา 30 นาที อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส บรรจุปลาหมึกในถุงพลาสติกและปิดผนึกแช่เยือกแข็งด้วยเครื่องแช่เยือกแข็งแบบแผ่นสัมผัส (Contact Plate Freezer) จนอุณหภูมิกึ่งกลางของตัวอย่างเท่ากับ -20 องศาเซลเซียส เก็บรักษาในห้องเย็นที่อุณหภูมิ – 20 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างปลาหมึกเมื่อครบระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 0, 1, 2 และ 3 เดือน หลังจากนั้นตรวจสอบสมบัติทางกล กายภาพและองค์ประกอบเคมีของปลาหมึก เช่นเดียวกับข้อที่ 5.1

6. ผลของสารเติมแต่งอาหารชนิดต่างๆและการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายต่อการสูญเสียน้ำหนักของปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็ง

ศึกษาผลของชนิดและระดับความเข้มข้นของสารเติมแต่งอาหารชนิดต่างๆ ต่อการสูญเสียน้ำหนักของปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็ง (ระดับความเข้มข้นที่เลือกใช้ เป็นระดับความเข้มข้นที่เลือกได้จากการตรวจเอกสาร) ดังนี้

1. สารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (STPP) เข้มข้นร้อยละ 0.1, 1.0 และ 5.0
2. สารทดแทนสารประกอบฟอสเฟตที่วางจำหน่ายในทางการค้า (SQ-UP และ SQ-TH) เข้มข้นร้อยละ 2.5 (เลือกใช้ระดับความเข้มข้นตามคำแนะนำของผู้ผลิต)
3. ทรีฮาโลส (Trehalose) ความเข้มข้นร้อยละ 4, 6 และ 8
4. โซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) เข้มข้นร้อยละ 4, 6 และ 8
5. แอมโมเนียมไบคาร์บอเนต (NH_4HCO_3) เข้มข้นร้อยละ 6 และ 8
6. แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) เข้มข้นร้อยละ 0.4, 0.6 และ 0.8

7. แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) เข้มข้นร้อยละ 0.4, 0.8 และ 1.0

8. สารผสมระหว่าง โซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) เข้มข้นร้อยละ 4 แอมโมเนียมไบคาร์บอเนต (NH_4HCO_3) เข้มข้นร้อยละ 4

9. สารผสมระหว่างแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) เข้มข้นร้อยละ 0.4 กับ แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) เข้มข้นร้อยละ 0.8

ปั่นปลาหมึกกระดองที่ผ่านการเตรียมตามวิธีที่ระบุในการเตรียมวัตถุดิบ ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5 อุณหภูมิ 0- (-5) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (ความเข้มข้นที่คัดเลือกได้จากตอนที่ 3) ด้วยอัตราส่วนปลาหมึกต่อสารละลายเท่ากับ 1:5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) หลังจากนั้นนำปลาหมึกที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือมาแช่ในสารละลายข้อที่ 1-9 ด้วยอัตราส่วนปลาหมึกต่อสารละลายเท่ากับ 1:5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที บรรจุปลาหมึกในถุงพลาสติกและปิดผนึก นำไปแช่เยือกแข็งด้วยเครื่องแช่เยือกแข็งแบบแผ่นสัมผัส (Contact Plate Freezer) จนกระทั่งกึ่งกลางของตัวอย่างมีอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเก็บรักษาในห้องเย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชม. นำปลาหมึกวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 นาที ก่อนจะนำไปเก็บรักษาในห้องเย็นที่มีอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชม. อีกครั้ง ทำซ้ำลักษณะดังกล่าวจำนวน 3 รอบหลังจากนั้นละลายปลาหมึกอย่างสมบูรณ์ด้วยการวางในอุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส) ทำการตรวจสอบคุณสมบัติ ดังนี้

6.1 การสูญเสียของเหลวอย่างอิสระ (Free Drip) (Ueng and Chow, 1998)

6.2 การสูญเสียของเหลวด้วยแรงบีบอัด (Expressible Drip) (ดัดแปลงจาก Ng, 1978) (เตรียมตัวอย่างดังภาพภาคผนวกที่ 3)

6.3 ค่าแรงเฉือน (Ueng and Chow, 1998) (เตรียมตัวอย่างดังภาพภาคผนวกที่ 2)

คัดเลือกชนิดสารละลายที่มีผลให้ปริมาณของเหลวที่แยกได้จากปลาหมึกหลังการละลายเกิดขึ้นน้อยที่สุด โดยชนิดสารที่คัดเลือกได้แก่

- สารทดแทนสารประกอบฟอสเฟตทางการค้า ชนิด SQ-UP เข้มข้นร้อยละ 2.5
- โซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) เข้มข้นร้อยละ 6

7. ผลของสารเติมแต่งอาหารบางชนิดต่อเนื้อสัมผัสและความสามารถอุ้มน้ำของปลาหมึกกระดองแช่เยือกแข็ง

แช่ปลาหมึกกระดองที่ผ่านการเตรียมตามวิธีที่ระบุในการเตรียมวัตถุดิบ ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5 อุณหภูมิ 0- (-5) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (ความเข้มข้นที่คัดเลือกได้จากตอนที่ 3) ด้วยอัตราส่วนปลาหมึกต่อสารละลายเท่ากับ 1: 5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) หลังจากนั้นนำปลาหมึกที่ผ่านการปั่นในสารละลายเกลือมาแช่ในสารละลายที่คัดเลือกได้จากตอนที่ 6 ด้วยอัตราส่วนปลาหมึกต่อสารละลายเท่ากับ 1:5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นเวลา 30 นาที อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส บรรจุปลาหมึกในถุงพลาสติกและปิดผนึก แช่เยือกแข็งด้วยเครื่องแช่เยือกแข็งแบบแผ่นสัมผัส (Contact Plate Freezer) เก็บรักษาปลาหมึกแช่เยือกแข็งในห้องเย็นที่มีอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน เมื่อครบกำหนดระยะเวลาในการเก็บรักษาในแต่ละช่วง ทำการตรวจสอบคุณสมบัติตามข้อที่ 5.1 โดยเพิ่มการตรวจสอบ ดังนี้

7.1 การสูญเสียของเหลวอย่างอิสระ (Free Drip) (Ueng and Chow, 1998)

7.2 การสูญเสียของเหลวด้วยแรงบีบอัด (Expressible Drip) (ดัดแปลงจาก Ng, 1978) (เตรียมตัวอย่างดังภาพภาคผนวกที่ 3)

7.3 ความหนืด (Viscosity) โดยการโฮโมจิไนซ์เนื้อปลาหมึกกระดองในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ระดับความเข้มข้นเท่ากับปริมาณที่วิเคราะห์ได้ในกล้ามเนื้อของปลาหมึกกระดองอัตราส่วน ปลาหมึกต่อสารละลาย เท่ากับ 1: 10 วิเคราะห์ความหนืดของสารสกัดจากปลาหมึกกระดองที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่อง Blookfield Viscometer (DV-II+) เข็มเบอร์ 2 ความเร็ว 50 rpm รายงานค่าความหนืดในรูปของ cP (Centi Point)

คัดเลือกชุดการทดลองที่มีผลให้การสูญเสียน้ำหนักของปลาหมึกหลังการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 3 เดือน น้อยที่สุด เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ปฏิบัติในโรงงานอุตสาหกรรม

8. การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิจัยในข้อที่ 2-3 และ 5 วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) การวิจัยในข้อ 4 และ 7 วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล (Factorial) ทำการทดลอง 3 ซ้ำในแต่ละชุดการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดทดลองด้วย Duncan's multiple range test (Steel and Torrie, 1980) ด้วยโปรแกรม SPSS version 14