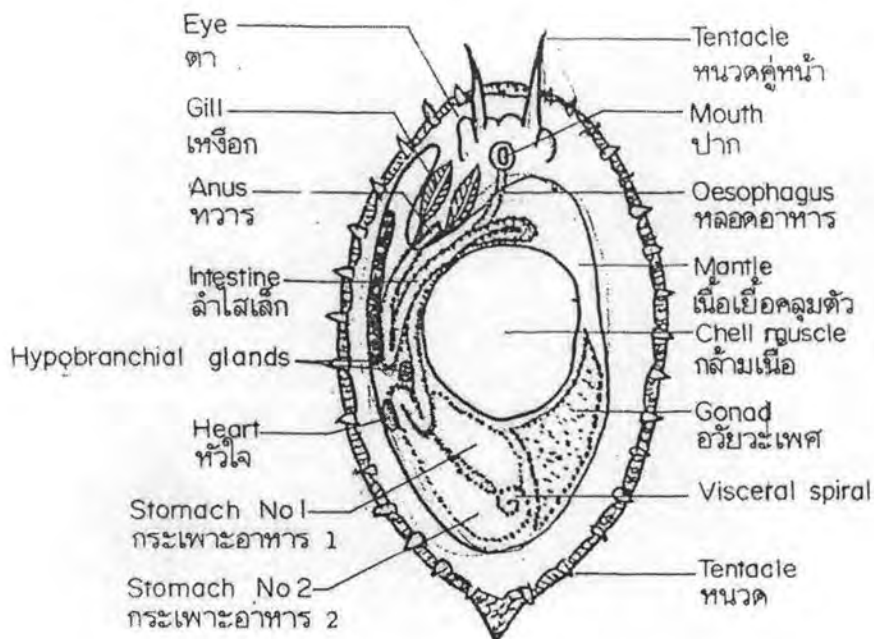


บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 หอยเป้าฮื้อ

หอยเป้าฮื้อ (abalone) หอยโข่งทะเล หรือหอยร้อยรู เป็นสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลังประเภทหอยฝาเดียว ลักษณะทั่วไปของหอยเป้าฮื้อจะมีเปลือกเดี่ยวที่ค่อนข้างแบน รูปทรงค่อนข้างกลมจนถึงยาวรี เปลือกหอยมีหลายสี เช่น สีเขียวมะกอก สีแดงอมส้ม แตกต่างกันไปตามชนิดของหอย แหล่งอาศัย และอาหารที่กิน ลักษณะเด่นของหอยเป้าฮื้อ คือบริเวณเปลือกมีรูเรียงเป็นแถว จึงเป็นที่มาของชื่อ "หอยร้อยรู" ซึ่งรูเหล่านี้จะสร้างเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อหอยโตขึ้นรูเก่าจะถูกปิดไปเหลือจำนวนไว้ตามแต่ชนิดของหอย รูนี้ทำหน้าที่ช่วยถ่ายเทน้ำผ่านตัวเพื่อช่วยในการหายใจ รวมทั้งเป็นการขับถ่ายของเสีย และปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกมาสู่ภายนอก ส่วนอวัยวะภายในเป็นลักษณะของหอยโบราณ คือมีเหงือกเป็นคู่อยู่ในแอ่งด้านซ้ายของลำตัว มีเท้าและกล้ามเนื้อขนาดใหญ่ที่ใช้เป็นอาหาร มีปากและอวัยวะรับสัมผัสอยู่บนหน้าของลำตัว (คเชนทรเฉลิมวัฒน์, 2544; จักรพันธ์ กังวาฬ, 2547; อรุณี สมนมณี, 2547) ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 ระบบอวัยวะภายในของหอยเป้าฮื้อ

ที่มา: พายัพ ยังปักซี่ (2541)

หอยเป่าฮือมักอาศัยอยู่ตามแนวหินและซากปะการัง น้ำใสสะอาด มีการไหลเวียนดี มีความเค็มค่อนข้างสูงและคงที่ไม่ชอบแสงและออกหากินในเวลากลางคืน อาหารของหอยเป่าฮือมักเป็นสาหร่ายทะเลที่มีอยู่ในธรรมชาติ รวมทั้งสิ่งมีชีวิตเล็กๆ ที่อาศัยอยู่ตามพื้นผิวต่างๆ สิ่งมีชีวิตจำพวกพืชทะเลที่เกาะอยู่ตามก้อนหินและแนวปะการัง เช่น ไดอะตอมประเภทเกาะติด (benthic diatoms) หรือสาหร่ายขนาดเล็กที่เกาะตามโขดหินใต้น้ำ ทั้งสาหร่ายสีแดง สาหร่ายสีน้ำตาลและสาหร่ายสีเขียว (จักรพันธ์ กังวาฬ, 2547) สาหร่ายทะเลชนิดที่นิยมนำมาใช้เพาะเลี้ยงหอย ได้แก่ สาหร่ายผสมนาง สาหร่ายวุ้น หรือสาหร่ายหนาม (อรุณี สมมณี, 2547)

พบหอยเป่าฮืออาศัยและเติบโตอยู่ทั่วโลกตั้งแต่ในเขตอบอุ่นจนถึงเขตร้อน โดยขนาดจะแตกต่างกันตามสภาพภูมิอากาศ ขนาดใหญ่มักอยู่ในเขตอบอุ่น ขนาดเล็กมักอยู่ในเขตร้อนและเขตนานาเขต หอยเป่าฮือทั่วโลกมีประมาณ 100 ชนิด ในจำนวนนี้มีประมาณ 22 ชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่งแบ่งตามประเทศที่พบได้ดังนี้ (จักรพันธ์ กังวาฬ, 2547; พายัพ ยังกัษี, 2541; Hahn, 1989)

อเมริกาเหนือ ได้แก่ *Haliotis rufescens*, *H. fulgens*, *H. corrugate*, *H. sorenseni*, *H. assimilis*, *H. cracherodii*, *H. wallalensis*, และ *H. kamtschatkana*

ญี่ปุ่น ได้แก่ *H. discus hannai*, *H. discus*, *H. diversicolor supertexta*, *H. gigantean*, *H. sieboldii*, และ *H. asinina*

ออสเตรเลีย ได้แก่ *H. rubber*, *H. laevigata* และ *H. roei*

นิวซีแลนด์ ได้แก่ *H. iris*, *H. australis*, และ *H. virginea*

ฝรั่งเศส ได้แก่ *H. tuberculata*

แอฟริกาใต้ ได้แก่ *H. midae*

หอยเป่าฮือเมืองร้อนที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ หอยเป่าฮือเล็ก (small abalone) (*H. diversicolor*) พบตามชายฝั่งของประเทศญี่ปุ่นและไต้หวัน เป็นชนิดที่เพาะเลี้ยงในประเทศจีนและไต้หวัน และหอยเป่าฮือหูลา (ass's ear หรือ donkey's ear abalone) (*H. asinina*) เป็นชนิดที่ส่งเสริมให้เพาะเลี้ยงในประเทศไทย (มะลิ บุญยรัตผลิน, 2545)

หอยเป่าฮือที่พบในประเทศไทยมี 3 ชนิด ได้แก่ *H. asinina* *H. ovina* และ *H. varia* โดย *H. asinina* เป็นชนิดที่มีข้อมูลในเรื่องการเพาะเลี้ยงและการเจริญเติบโตมากที่สุด และมีศักยภาพในการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในประเทศไทย เนื่องจากเป็นหอยเป่าฮือที่มีขนาดใหญ่ที่สุดที่พบในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีสัดส่วนของน้ำหนักเนื้อต่อน้ำหนักตัวสูงถึง 85% มี

อัตราการเจริญเติบโตสูง รวมทั้งยังสามารถควบคุมทุกขั้นตอนของวงจรชีวิตได้โดยการใช้ลูกพันธุ์จากโรงเพาะฟักและการเลี้ยงแบบฟาร์มบนบกในระบบน้ำหมุนเวียนแบบกึ่งปิด ซึ่งจัดเป็นระบบผลิตเชิงพาณิชย์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากไม่มีการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในระบบ จึงเป็นการเพาะเลี้ยงที่ถูกสุขลักษณะและปลอดภัยต่อผู้บริโภค (จักรพันธ์ กังวาฬ, 2547)

การจัดอนุกรมวิธานของหอยเป่าฮื้อ *H. asinina* (อรุณี สมมณี, 2547) พบว่าอยู่ใน

Phylum Mollusca

Class Gastropoda

Subclass Prosobranchia

Order Archaeogastropoda

Superfamily Pleurotomariacea

Family Haliotidae

Genus Haliotis

Species *Haliotis asinina*

ปัจจุบันการเลี้ยงหอยเป่าฮื้อชนิดนี้มีความเป็นไปได้เชิงธุรกิจสูง เพราะตลาดต่างประเทศนิยมหอยขนาดไม่ใหญ่นัก โดยมีประเทศออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา และประเทศในเอเชียเป็นผู้รับซื้อก่อนนำไปแปรรูปบรรจุกระป๋องเพื่อการส่งออกอีกต่อหนึ่ง ประเทศผู้ส่งออกหอยเป่าฮื้อรายใหญ่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ได้แก่ ฟิลิปปินส์ โดยมีการส่งออกหอยเป่าฮื้อ *H. asinina* และ *H. varia* (ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์, 2541)

หอยเป่าฮื้อของไทยที่สามารถส่งขายได้แบ่งเป็น 2 ขนาด คือ ขนาดค็อกเทล (cocktail size) น้ำหนัก 30-40 กรัมต่อตัว หรือ 20-30 ตัวต่อกิโลกรัม ใช้ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 8-12 เดือน และขนาดสเต็ก (steak size) น้ำหนัก 100 กรัมต่อตัว หรือ 10 ตัวต่อกิโลกรัม ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 18-24 เดือน (จักรพันธ์ กังวาฬ, 2547) สำหรับประเทศไทยหอยเป่าฮื้อขนาดค็อกเทล ราคา กิโลกรัมละประมาณ 1,000-1,500 บาท (สมปอง วิชญวิเชียร, 2542) ราคาขายส่งหอยเป่าฮื้อคุณภาพดีที่สุดในประเทศเม็กซิโกสูงถึง 40-45 เหรียญสหรัฐอเมริกาต่อปอนด์ และราคาขายปลีกยังสูงถึง 80 เหรียญสหรัฐอเมริกาต่อปอนด์ (Sanchez-Brambila และคณะ, 2002a) ในตลาดสหรัฐอเมริกาเนื้อหอยเป่าฮื้อพันธุ์ที่นิยมบริโภคมากที่สุดมีราคา 1,000-1,600 บาทต่อกิโลกรัม มูลค่าการบริโภคต่อปีประมาณ 750 ล้านบาท แต่อย่างไรก็ตามตลาดผู้บริโภคที่ใหญ่ที่สุดอยู่ในเอเชีย คิดเป็นมูลค่าการบริโภคประมาณ 7,500-10,000 ล้านบาทต่อปี โดยมีญี่ปุ่นเป็นตลาดที่

สำคัญ (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2544) ญี่ปุ่นนำเข้าและส่งออกหอยเป่าฮื้อในระดับอุตสาหกรรม โดยนำเข้าในรูปหอยสด หอยแช่แข็ง และหอยแช่เย็น จากประเทศจีน เกาหลี และนิวซีแลนด์เป็นจำนวนมากถึง 1,000 ตันต่อปี และนำเข้าหอยเป่าฮื้อบรรจุกระป๋องจากประเทศออสเตรเลียประมาณ 700-800 ตันต่อปี นอกจากการนำเข้าแล้วญี่ปุ่นยังส่งออกหอยเป่าฮื้อแห้งไปยังฮ่องกง และได้หวนปีละหลายสิบล้าน (พายัพ ยังปักซี่, 2541)

ผู้บริโภคหอยเป่าฮื้อส่วนใหญ่เป็นชาวญี่ปุ่นและชาวจีน รวมถึงประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ด้วย โดยบริโภคมากกว่า 80% ของหอยเป่าฮื้อทั้งหมดที่มีการจับทั่วโลก และมักซื้อขายในรูปแบบที่มีชีวิต แบบสด และแบบแช่แข็ง ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีที่สุดใน ชาวญี่ปุ่นชอบรับประทานหอยเป่าฮื้อโดยนำไปทำอาหารหลายรูปแบบ เช่น ต้ม และอบด้วยความร้อน เป็นต้น แต่วิธีที่นิยมมากที่สุด คือ การรับประทานหอยดิบเรียกว่า ซาซิมิ (sashimi) หรือทำเป็นชิ้นแล้ววางปะบนก้อนข้าวเรียกว่า ซูชิ (sushi) ในขณะที่ชาวจีนนิยมบริโภคหอยเป่าฮื้อบรรจุกระป๋อง ส่วนชาวยุโรปและอเมริกันนิยมนำหอยเป่าฮื้อไปย่าง (grilling) หรือนำไปทอดในน้ำมันที่ร้อนจัดจนเนื้อกรอบ แต่ก่อนที่จะย่างหรือทอดต้องทำให้เนื้อหอยนิ่มลงโดยการทุบด้วยหม้อนก่อน (ลิลลา เรืองแป้น, 2543)

2.2 ฮิสตามีน (histamine) ในอาหารทะเล

ฮิสตามีนเป็นสารพิษประเภท biogenic amine ชนิดหนึ่งที่เกิดจากปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชัน (decarboxylation) ของกรดอะมิโนฮิสติดีน โดยมีเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซิเลส (histidine decarboxylase) ที่สร้างโดยแบคทีเรียทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเกิดฮิสตามีน ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 ปฏิกิริยา decarboxylation ของกรดอะมิโนฮิสติดีนทำให้เกิดฮิสตามีน

ที่มา: Price และ Tom (2004)

ฮิสตามีนมีความสำคัญและถูกนำมาใช้เป็นเกณฑ์กำหนดด้านความปลอดภัยของอาหาร (food safety) ในทางการค้าระหว่างประเทศ เนื่องจากเกี่ยวข้องกับสุขภาพของผู้บริโภค โดยฮิสตามีนทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ histamine (หรือ scombroid) fish poisoning

ในหลายประเทศทั่วโลก และเป็นโรคที่เกิดจากสารพิษจากอาหารทะเลที่พบมากที่สุด (Lehane และ Olley, 2000) โรคอาหารเป็นพิษนี้ไม่เพียงแต่ก่อปัญหาในกลุ่มผู้บริโภคปลาหรืออาหารทะเลสดเท่านั้น ยังรวมถึงผู้บริโภคอาหารที่ผ่านการแปรรูปด้วย เช่น อาหารกระป๋อง อาหารรมควัน เป็นต้น เนื่องจากฮิสตามีนมีความคงตัวสูงและไม่สามารถทำลายด้วยความร้อนจากการหุงต้มหรือการแปรรูปด้วยความร้อนสูง (retorting) (Bremer, Fletcher, และ Osborne, 2003)

เกณฑ์กำหนดมาตรฐานปริมาณฮิสตามีนสูงสุดที่อนุญาตให้มีได้ในปลาหรืออาหารทะเลในประเทศนิวซีแลนด์และออสเตรเลียใช้มาตรฐาน The Australian New Zealand Food Standard Code ซึ่งกำหนดปริมาณฮิสตามีนในปลาและผลิตภัณฑ์ต้องไม่เกิน 200 mg/kg ในทางการค้าระหว่างประเทศใช้มาตรฐาน The United State Food and Drug Administration (USFDA) กำหนดปริมาณฮิสตามีนเป็น 2 ระดับ คือ กำหนดระดับการยอมรับปริมาณฮิสตามีนในปลาและผลิตภัณฑ์ต้องไม่เกิน 50 mg/kg และ 200 mg/kg เป็นระดับที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภค และ The Codex Alimentarius Standard กำหนดว่าปริมาณฮิสตามีนในปลาที่อยู่ในแฟมิลี Scombridae, Scomberesocidae, Pomatomidae, Clupeidae, และ Coryphaenidae ที่ 100 mg/kg เป็นระดับที่บ่งชี้ถึงการเน่าเสียของปลา (Bremer และคณะ, 2003) นอกจากนี้ The European Community กำหนดให้ปลาที่นำเข้ามาจะต้องมีปริมาณฮิสตามีนไม่เกิน 100 mg/kg (Bermejo และ Mondaca, 2002)

2.2.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดฮิสตามีน

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเกิดฮิสตามีนในอาหารทะเล ได้แก่ ปริมาณกรดอะมิโนฮิสติดีนในกล้ามเนื้อ แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซิเลส (histidine decarboxylase producing Bacteria) และอุณหภูมิการเก็บรักษา

2.2.1 ปริมาณกรดอะมิโนฮิสติดีนในกล้ามเนื้อ

กรดอะมิโนฮิสติดีนเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการสร้างฮิสตามีน ปริมาณฮิสติดีนที่เป็นองค์ประกอบในอาหารทะเลแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ปลาที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ histamine fish poisoning ส่วนใหญ่มีปริมาณฮิสติดีนในกล้ามเนื้อสูง ได้แก่ ปลาในกลุ่ม scombroid ได้แก่ ปลาในแฟมิลี Scombridae และ Scomberesocidae เช่น mackerel, tuna, saury, bonito เป็นต้น และปลาที่ไม่อยู่ในกลุ่ม scombroid เช่น sardine, herring, salmon, amberjack, anchovies เป็นต้น (Lehane และ Olley, 2000)

Arnold และ Brown (1978) รายงานว่าปลา mackerel ที่มีเนื้อสีคล้ำ (dark-fleshed mackerel) และ horse mackerel มีปริมาณฮิสติดีนในเนื้อ 210-726 mg/100g

ส่วน Yoshinaga และ Frank (1982) พบว่าเนื้อปลา skipjack tuna มีกรดอะมิโนฮิสติดีนเป็นองค์ประกอบ 564-611 mg/100g นอกจากนี้ Flesher และคณะ (1995) รายงานว่าปลาที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ histamine fish poisoning ในประเทศนิวซีแลนด์ ได้แก่ ปลา kahawai, kingfish, และ albacore มีปริมาณกรดอะมิโนฮิสติดีนเป็นองค์ประกอบสูงกว่า 1000 mg/100g ตรงกันข้ามกับปลาที่ไม่พบว่าเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษนี้ เช่น ปลา sea perch, flounder, และ red snapper มีปริมาณกรดอะมิโนฮิสติดีนต่ำกว่า 5 mg/100g (Arnold and Brown, 1978)

2.2.2.2 แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลส

แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสมักเป็นแบคทีเรียพวก mesophile ที่สำคัญ ได้แก่ แบคทีเรียในแฟมิลี Enterobacteriaceae (Taylor และคณะ, 1978) เช่น *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, และ *Klebsiella oxytoca* เป็นแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสที่มีกิจกรรมสูงมาก สามารถสร้างฮิสตามีนได้มากกว่า 300 mg/100g เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อและบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ส่วน *Hafnia alvei*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, และ *Serratia marcescens* สร้างฮิสตามีนได้มากกว่า 100 mg/100g (Lopez-Sabater et al., 1996)

McMeekin และคณะ (1993) รายงานว่าแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสสามารถเจริญได้ทั้งที่ในอุณหภูมิการแปรรูปและที่อุณหภูมิการเก็บรักษา โดยพบว่า *Photobacterium phosphoreum* เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 10°C-15°C ส่วนแบคทีเรียพวก *Vibrio* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25°C-30°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิห้องและอุณหภูมิที่ใช้ในการรมควันแบบเย็น (cold smoking) ในประเทศเขตอบอุ่น แต่ในประเทศเขตร้อนจะพบ *M. morganii*, *K. pneumoniae*, และ *H. alvei* ซึ่งเจริญได้ดีที่ 35°C-40°C แม้กระทั่งอุณหภูมิที่ใช้รมควันแบบร้อน (hot smoking) (50°C-55°C) ก็พบแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสด้วย

โดยปกติแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสมักพบได้ทั่วไปในวัตถุดิบและสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิตหรือการเก็บรักษา และส่วนใหญ่ปนเปื้อนมาหลังการจับสัตว์ เช่น การปนเปื้อนจากเรือประมง จากขั้นตอนเตรียมวัตถุดิบหรือระหว่างกระบวนการแปรรูป จากกระบวนการขนส่งหรือกระจายสินค้า เป็นต้น (Bremer และคณะ, 2003) โดยจากการศึกษาของ Taylor และ Speckhard (1983) ซึ่งได้ตรวจสอบแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสจากส่วนเหงือก ลำไส้ และเนื้อของปลา skipjack tuna พบ *M. morganii* และ *C. freundii* เฉพาะในส่วนเหงือกของปลาเท่านั้น ซึ่งโดยปกติไม่พบแบคทีเรียดังกล่าวในปลาชนิดนี้ จึงสันนิษฐานว่าเป็นแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมาจากภายนอก เนื่องจากเหงือกของปลามักเป็นบริเวณที่

ถูกสัมผัสมากในขั้นตอนการเคลื่อนย้ายและขนส่ง Subburaj และคณะ (1984) พบว่าแหล่งการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสในตลาดปลาระบายทั่วไปในสภาพแวดล้อมของตลาด ทั้งจากตะกร้าใส่ปลา พื้นของตลาด น้ำแข็งหรือน้ำที่ใช้แช่ปลา และเมื่อตรวจสอบแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์นี้ในตัวอย่างปลา mackerel ที่มาจากตลาด พบแบคทีเรียพวก *Morganella* สูงถึง 52% ของปริมาณแบคทีเรียที่พบทั้งหมด

Lopez-Sabater และคณะ (1994) พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสในเนื้อปลาทูน่าที่ใช้ทำปลาทูน่ากระป๋องในระหว่างขั้นตอนการตัดแต่งวัตถุดิบ ซึ่งอาจปนเปื้อนจากมีดหรืออุปกรณ์ที่ใช้ หรือจากสภาพแวดล้อมในการผลิต และยังพบการปนเปื้อนในวัตถุดิบที่ลวกแล้วด้วย ซึ่งอาจเกิดจากความล่าช้าในระหว่างรอเข้าสู่ขั้นตอนต่อไปและปลาทูน่าถูกทิ้งไว้ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการฟื้นตัวของแบคทีเรีย รวมถึงอาจเกิดการปนเปื้อนซ้ำจากสภาพแวดล้อมในการผลิตด้วย

2.2.2.3 อุณหภูมิการเก็บรักษา

อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลส ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียประเภท mesophile สามารถเจริญและสร้างฮิสตามีนได้อย่างรวดเร็วในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง เช่น อุณหภูมิห้อง เป็นต้น และสร้างฮิสตามีนได้มากกว่าที่อุณหภูมิต่ำกว่า เช่น อุณหภูมิตู้เย็น เป็นต้น (Price และ Tom, 2004)

Du และคณะ (2002) รายงานว่าเมื่อเก็บเนื้อปลา yellowfin tuna ที่อุณหภูมิ 0°C เป็นเวลา 9 วัน พบปริมาณฮิสตามีนที่เกิดขึ้นน้อยกว่า 20 mg/kg แม้ปริมาณแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสสูงถึง 6 log cfu/g ในขณะที่การเก็บที่ 10°C และ 22°C ปริมาณแบคทีเรียเพียง 2-3 log cfu/g สามารถสร้างฮิสตามีนได้มากกว่า 50 mg/kg อาจเนื่องจากเป็นแบคทีเรียต่างชนิดกัน โดยแบคทีเรียพวกที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 22°C สามารถสร้างเอนไซม์ที่มีกิจกรรมสูงกว่าแบคทีเรียพวกที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำกว่า สอดคล้องกับรายงานของ Lopez-Sabater และคณะ (1996) ที่พบว่าในการเก็บรักษาปลาทูน่าที่อุณหภูมิ 0°C แม้จะพบ *M. morgani* หรือ *K. oxytoca* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างฮิสตามีนได้ดีถึง 5 log cfu/g แต่ปริมาณฮิสตามีนที่เกิดขึ้นยังต่ำกว่าระดับที่เป็นอันตราย เนื่องจากที่อุณหภูมินี้ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียดังกล่าว และไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลส ทำให้เอนไซม์มี activity ต่ำ จึงสร้างฮิสตามีนได้ในปริมาณน้อย

Kim และคณะ (2002) พบว่าการเก็บรักษาปลา mackerel, albacore, mahi-mahi, และ salmon ที่อุณหภูมิ -20°C และ -30°C สามารถควบคุมการเกิดฮิสตามีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ แม้ระยะเวลาเก็บรักษานานถึง 3 เดือน แต่ปริมาณฮิสตามีนอาจเพิ่มขึ้นได้

จากการจัดการที่ไม่เหมาะสมก่อนและ/หรือหลังการเก็บรักษา และเมื่อละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 25°C พบว่าปริมาณฮิสตามีนเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *M. organii* และหลังจาก 24 ชั่วโมง พบปริมาณฮิสตามีนในปลา mackerel, albacore, และ mahi-mahi สูงถึง 4610, 3430, และ 3340 mg/kg ตามลำดับ

2.2.2 การควบคุมและป้องกันการเกิดฮิสตามีน

ฮิสตามีนมีความคงตัวสูงและไม่สามารถทำลายด้วยกระบวนการแปรรูปใดๆ การป้องกันให้มีฮิสตามีนเกิดขึ้นน้อยที่สุด จึงเป็นวิธีที่ดีที่สุดที่ช่วยป้องกันปัญหาที่เกิดจากฮิสตามีนได้ การควบคุมการผลิตให้มีการจัดการและสุขาภิบาลที่ดี รวมถึงการประยุกต์ใช้ระบบการวิเคราะห์จุดวิกฤติที่ต้องควบคุม (HACCP) ในกระบวนการผลิต สามารถช่วยลดปัญหานี้ได้ (Bremer และคณะ, 2003)

The Food and Drug Administration (FDA) แนะนำแนวทางปฏิบัติเพื่อป้องกันการเกิดฮิสตามีน โดยการทำให้เย็นอย่างรวดเร็วหลังการจับถือเป็นหลักสำคัญที่ช่วยควบคุมการเจริญของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสได้ โดยทั่วไปควรลดอุณหภูมิปลาให้เย็นถึง 4°C หรือต่ำกว่า ภายใน 6-12 ชั่วโมง หลังการจับหรือหลังจากปลาดตาย และควรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C หรือต่ำกว่าด้วย นอกจากนี้การเอาเครื่องในออก (evisceration) เป็นวิธีที่ดีสำหรับปลาที่มีขนาดใหญ่ เพื่อกำจัดแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ฮิสติดีนดีคาร์บอกซีเลสบางส่วนที่อาศัยอยู่ในลำไส้ และในการลดอุณหภูมิควรใส่น้ำแข็งหรือน้ำเย็นลงในช่องท้องที่เอาเครื่องในออกด้วยจะช่วยลดอุณหภูมิในตัวปลาได้เร็วขึ้น แต่ในการเอาเครื่องในออกควรทำด้วยความระมัดระวังเพื่อไม่ให้แบคทีเรียจากลำไส้ปนเปื้อนสู่ตัวปลาได้ (Price และ Tom, 2004)

2.3 รีทอร์ตเพาซ์ (retort pouch)

รีทอร์ตเพาซ์เป็นบรรจุภัณฑ์ชนิดอ่อนตัว (flexible packaging) ประกอบด้วยวัสดุ เช่น พลาสติก อลูมิเนียม และวัสดุเชื่อมประสานตั้งแต่ 4 ชั้นขึ้นไป ใช้สำหรับบรรจุอาหารทนต่อความร้อนและความดันที่ใช้ในการฆ่าเชื้อได้เช่นเดียวกับกระป๋องและขวดแก้ว สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นานตั้งแต่ 6 เดือน ถึง 2 ปี (งามจิตร โสวิฑูร, 2547)

ในประเทศสหรัฐอเมริกามีการวิจัยบรรจุภัณฑ์รีทอร์ตเพาซ์มาตั้งแต่ปี 1950 ต่อมาในปี 1960 ได้พัฒนาบรรจุภัณฑ์นี้เพื่อใช้ในโครงการอวกาศพอลโลและเป็นเสบียงของทหารในกองทัพสหรัฐอเมริกาจนประสบความสำเร็จแต่ยังไม่เป็นที่แพร่หลายทางการค้า และในปี 1974 ประเทศญี่ปุ่นได้เริ่มพัฒนาบรรจุภัณฑ์ประเภทนี้และได้รับความนิยมเป็นอย่างมากจนจัด

ได้ว่าเป็นผู้ผลิตอาหารบรรจุในรีทอร์ตแพคเกจที่ใหญ่ที่สุดของโลกในปัจจุบัน (งามจิตร โสวิฑูร, 2547)

วัสดุที่ใช้ทำรีทอร์ตแพคเกจโดยทั่วไปเป็นพลาสติก 3 ชั้น เชื่อมประสานกัน (lamination) หรือรีดรวมกัน (coextrusion) โดยตัวเชื่อมประสาน (sealant) ที่ใช้มักเป็น โคลโพลิเมอร์ของโพลีโพรพีนและเอทรีลีน คุณสมบัติของพลาสติกชั้นนอกจะเป็นชั้นที่เหนียวทนต่อการขีดข่วน ชั้นกลางเป็นชั้นที่ป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจน แสงสว่าง และความชื้น และชั้นในสุดเป็นชั้นที่มีสมบัติปิดผนึกด้วยความร้อนได้และสามารถสัมผัสอาหารได้อย่างปลอดภัย รีทอร์ตแพคเกจที่นิยมใช้บรรจุอาหารโดยทั่วไป ได้แก่ PET12/Al7/ CPP70, PET12/Al7/NY15/ CPP70, และ PET12/NY15/ CPP70 (PET : Polyester, Al : Aluminium foil, CPP : Cast Polypropylene, ตัวเลขแสดงความหนาเป็นไมครอน) (งามจิตร โสวิฑูร, 2547)

รีทอร์ตแพคเกจแบ่งตามประเภทและรูปแบบต่างๆ ได้แก่ ประเภทใส (transparent type) ซึ่งสามารถมองเห็นผลิตภัณฑ์ภายในถุงได้หรือแบบทึบแสงที่มีชั้นของอลูมิเนียม (aluminium type) มีทั้งรูปแบบที่เป็นถุงสี่เหลี่ยมปิดผนึกทั้ง 4 ด้าน หรือแบบที่มีส่วนขยายกันถุง (gusset) เพื่อให้ถุงสามารถตั้งได้ (standing pouch) ในประเทศญี่ปุ่นนิยมใช้ถุง PET/Al/ CPP มากที่สุด นอกจากนี้ยังมีการใช้ถุง NY/ CPP เป็นถุงใสบรรจุข้าวสาร ส่วน PET/NY/Al/ CPP เป็นถุงที่มีโครงสร้างแข็งแรงที่สุดและแข็งแรงมากกว่า PET/Al/ CPP และ PET/Al/NY/ CPP จึงนิยมใช้ทำถุงแบบตั้งได้และทำถุงบรรจุขนาดใหญ่ (วราทิพย์ สมบุญญฤทธิ, 2542)

รีทอร์ตแพคเกจมีข้อดีหลายอย่าง เช่น ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้นาน เช่นเดียวกับอาหารกระป๋อง แต่มีน้ำหนักเบากว่า ประหยัดพื้นที่ในการจัดเก็บและขนส่ง สะดวกในการใช้งาน นอกจากนี้ยังช่วยลดเวลาในการฆ่าเชื้อจึงรักษาคุณภาพอาหารและคุณค่าทางอาหารได้ดีกว่าด้วย (งามจิตร โสวิฑูร, 2547) จากรายงานของ Chia, Baker, และ Hotchkiss (1983) พบว่า เวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ปลา rainbow trout ปลา pollock และกุ้งบรรจุรีทอร์ตแพคเกจสั้นกว่าผลิตภัณฑ์บรรจุกระป๋อง 34% 32% และ 37% ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์บรรจุรีทอร์ตแพคเกจสามารถรักษาปริมาณวิตามินบี 1 ไว้ได้สูงกว่า มีคุณภาพเนื้อสัมผัสและสีดีกว่า และได้รับคะแนนความชอบสูงกว่าผลิตภัณฑ์บรรจุกระป๋อง เนื่องจากใช้เวลาการให้ความร้อนสั้นกว่า สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Mohan และคณะ (2006) ที่พบว่าผลิตภัณฑ์แกงกะหรี่กุ้ง (kuruma shrimp) บรรจุรีทอร์ตแพคเกจใช้เวลาฆ่าเชื้อสั้นกว่าผลิตภัณฑ์บรรจุกระป๋องถึง 35% เมื่อกำหนดภาวะการฆ่าเชื้อให้ได้ F_0 เท่ากัน ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณ cooking loss ต่ำกว่าผลิตภัณฑ์บรรจุกระป๋องถึง 5% และทำให้คุณภาพด้านสี เนื้อสัมผัส และการยอมรับทางประสาทสัมผัสดีกว่าด้วย

2.4 การฆ่าเชื้ออาหารบรรจุในบรรจุภัณฑ์อ่อนตัว

ผลิตภัณฑ์อาหารกระป๋องหรือบรรจุภัณฑ์อ่อนตัวหมายถึงผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูปบรรจุในภาชนะบรรจุปิดสนิท ไม่มีอากาศผ่านเข้าออก ผ่านการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อนก่อนหรือหลังการบรรจุและปิดผนึกด้วยอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม

จุดมุ่งหมายของการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน คือ เพื่อให้ทำให้อาหารนั้นอยู่ในสภาพปลอดเชื้อเชิงการค้า (commercial sterilization) ซึ่งหมายถึงทำให้อาหารปราศจากจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคโดยเฉพาะ *Clostridium botulinum* และต้องไม่มีจุลินทรีย์ชนิดที่ทำให้อาหารเน่าเสียเหลืออยู่ในอาหาร ส่วนจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่นั้นต้องไม่สามารถเจริญได้ภายใต้ภาวะการเก็บรักษาปกติ ในขณะที่เดียวกันยังคงรักษาคุณลักษณะที่ดีและคงคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ไว้ได้ จึงทำให้เกิดรักษาผลิตภัณฑ์อาหารไว้ได้นานโดยไม่เน่าเสียที่อุณหภูมิการเก็บรักษาปกติ (ปริยาวิบูลย์ศาสตร์, 2538)

การให้ความร้อนเพื่อทำลายจุลินทรีย์และสปอร์ในผลิตภัณฑ์อาหารที่บรรจุในภาชนะบรรจุปิดสนิท พบว่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของอาหารมีผลโดยตรงต่อกระบวนการให้ความร้อนและความสามารถในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยในการผลิตอาหารสำเร็จรูปบรรจุในภาชนะปิดสนิท โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์อาหารที่มีความเป็นกรดต่างสูงกว่า 4.6 มักคำนึงถึงจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคโดยเฉพาะ *C. botulinum* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตและสร้างสารพิษที่เป็นอันตรายในภาวะที่ไม่มีอากาศ ทนความร้อนสูงและใช้เป็นตัวบ่งชี้การฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ไม่เพียงพอ แต่สปอร์ของจุลินทรีย์นี้ไม่สามารถเจริญในอาหารที่มีความเป็นกรดต่างต่ำกว่า 4.6 ดังนั้นระดับค่าความเป็นกรดต่างที่ 4.6 จึงนำมาใช้เป็นแนวทางในการกำหนดกรรมวิธีการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์อาหาร โดยทั่วไปการฆ่าเชื้อเชิงการค้าในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทกรดต่ำ มีค่าความเป็นกรดต่างสูงกว่า 4.6 และค่า water activity (a_w) มากกว่า 0.85 มักใช้การฆ่าเชื้อแบบสเตอริไลซ์ (sterilization) ซึ่งเป็นการทำลายจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารที่อุณหภูมิสูงกว่า 100°C ภายใต้ความดันไอน้ำหรืออุณหภูมิน้ำร้อนภายใต้ความดันสูง

การใช้ความร้อนเพื่อทำลายจุลินทรีย์และสปอร์ในผลิตภัณฑ์อาหารที่อุณหภูมิสูงในระยะเวลาที่เหมาะสม จะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ในอาหาร ลักษณะและสมบัติของอาหารที่มีผลต่ออัตราการแทรกผ่านความร้อนเข้าไปยังจุดร้อนช้าที่สุดของอาหาร โดยคำนึงถึงการรักษาสสมบัติและลักษณะที่ดีของอาหารเพื่อให้ผู้บริโภคยอมรับ

2.4.1 การกำหนดภาวะในการฆ่าเชื้อ

ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการศึกษาและกำหนดกรรมวิธีการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารบรรจุในภาชนะปิดสนิทเพื่อให้มั่นใจว่าผลิตภัณฑ์นั้นได้รับการฆ่าเชื้อเชิงการค้าอย่างเพียงพอได้แก่

- สมบัติการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์
- อัตราการแทรกผ่านความร้อนไปยังจุดร้อนช้าที่สุด
- องค์ประกอบ คุณสมบัติและคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหาร

2.4.1.1 สมบัติการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์

การต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์และสปอร์ในอาหารขึ้นกับความเป็นกรดต่างของอาหาร จุลินทรีย์มักมีความต้านทานความร้อนสูงสุดในภาวะเป็นกลางและถูกทำลายด้วยความร้อนได้ง่ายในภาวะที่เป็นกรด ($\text{pH} < 4.6$)

การต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์จะแสดงด้วยกราฟข้อมูลเวลาของการทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อนเรียกว่า Thermal Death Time (TDT curve) หรือ Decimal Reduction Time (D-value) ซึ่งหมายถึงระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายจุลินทรีย์ไป 90 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนเริ่มต้นที่อุณหภูมิหนึ่งๆ จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีค่า D แตกต่างกัน ค่า D ยิ่งสูงบ่งบอกถึงความต้านทานต่อความร้อนมากขึ้น (วิวัฒน์ ปฐมโยธิน, 2542) ดังนั้นในการกำหนดความร้อนในการฆ่าเชื้อจึงจำเป็นต้องเลือกเอาจากจุลินทรีย์ที่ทนความร้อนสูงที่สุดที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์อาหารนั้นและจากสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิต (ทิพาพร อยู่วิทยา, 2535)

ค่า z คือ จำนวนองศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$) หรือองศาฟาเรนไฮต์ ($^{\circ}\text{F}$) ที่ทำให้ค่า D เปลี่ยนแปลงไป 1 log cycle หรืออุณหภูมิที่ทำให้อัตราการตายเปลี่ยนไป 10 เท่า

ค่า F (sterilizing value) เป็นค่าเวลาในการทำลายจุลินทรีย์จำนวนหนึ่งที่อุณหภูมิที่กำหนด ค่า F นี้จะใช้เปรียบเทียบการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ โดยมีการกำหนดค่า z สำหรับจุลินทรีย์เฉพาะและอุณหภูมิที่อ้างอิงไว้ เช่น F_{250}^{16} แสดงเวลาเป็นนาทีที่ใช้ทำลายจุลินทรีย์ที่มีค่า $Z = 16^{\circ}\text{F}$ จำนวนหนึ่งที่อุณหภูมิ 250°C แต่ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการทำลายจุลินทรีย์ต้องเปรียบเทียบที่สภาวะเดียวกัน จึงมีการกำหนดค่า F_0 เป็นค่าแสดงเวลาเป็นนาทีที่ใช้ทำลายจุลินทรีย์ที่มีค่า $Z = 18^{\circ}\text{F}$ หรือ 10°C จำนวนหนึ่งที่อุณหภูมิ 250°F หรือ 121.1°C

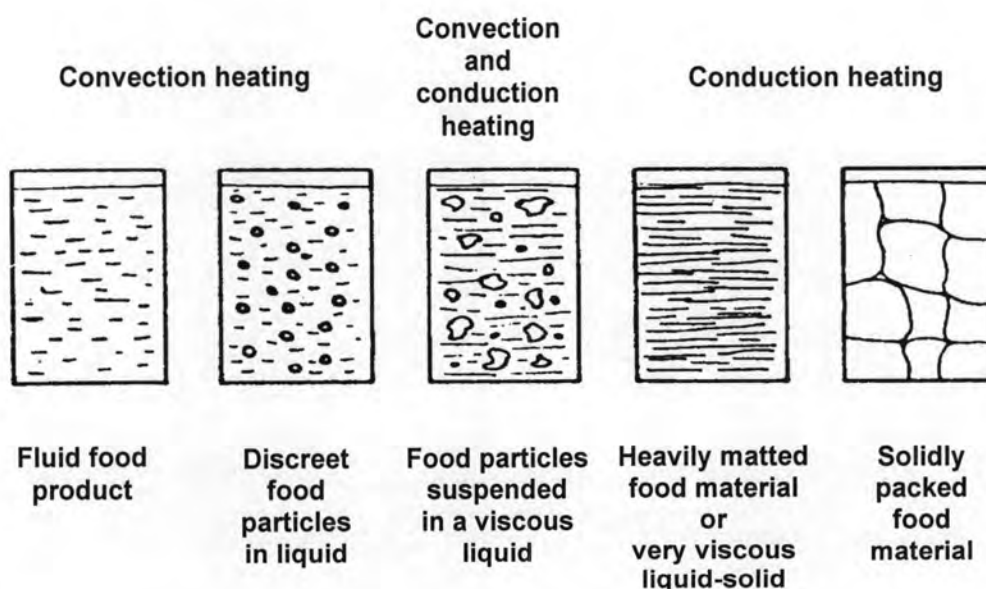
การกำหนดอุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนเป็นสิ่งสำคัญมากสำหรับอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ ($\text{pH} > 4.6$) เพราะเกี่ยวข้องกับความปลอดภัยของผู้บริโภคในการฆ่าเชื้อเชิงการค้าแก่อาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ ต้องให้ความร้อนเพียงพอที่จะทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายและสร้างพิษร้ายแรง ได้แก่ *Clostridium botulinum* โดยกำหนดให้มีค่า

process lethality (F_0) ไม่น้อยกว่า 3 นาที ปกติค่า F_0 ที่แนะนำมักสูงกว่าที่จำเป็นในการทำลาย จุลินทรีย์จำนวนที่กำหนดเพื่อป้องกันความแปรปรวนของกระบวนการฆ่าเชื้อ (ทิพาพร อัญญา, 2535)

2.4.1.2 อัตราการแทรกผ่านความร้อนไปยังจุดร้อนช้าที่สุด

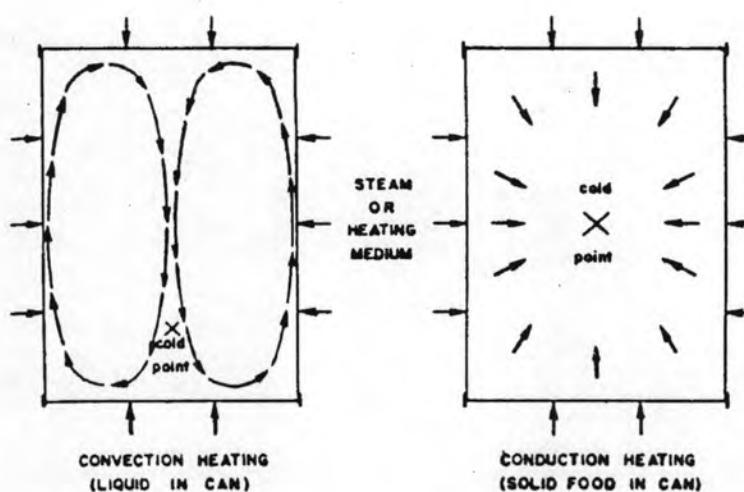
ในการกำหนดการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ในภาชนะปิดสนิทต้องศึกษาข้อมูล อัตราการแทรกผ่านความร้อนเข้าสู่จุดร้อนช้าที่สุดของผลิตภัณฑ์ ขณะที่อาหารได้รับการถ่ายเท ความร้อนในระหว่างการฆ่าเชื้อจะมีลักษณะการถ่ายเทความร้อน 3 แบบ ซึ่งขึ้นอยู่กับสมบัติทางกายภาพของอาหาร คือ การนำ (conductive heating) การพา (convective heating) และถ่ายเทความร้อนแบบผสม (complex heating) ดังแสดงในรูปที่ 2.3 จุดที่ได้รับความร้อนช้าที่สุดของอาหารในภาชนะบรรจุเรียกว่า cold point นั้นจะขึ้นกับลักษณะการถ่ายเทความร้อนที่เกิดขึ้นว่าเป็นการนำหรือการพา ดังแสดงในรูปที่ 2.4

ในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์เชิงการค้าจึงใช้จุดร้อนช้าที่สุดเป็นจุดอ้างอิง เนื่องจากถ้าจุดที่ได้รับความร้อนช้าที่สุดได้รับความร้อนเพียงพอในเชิงการค้าแสดงว่าจุดอื่นๆ ย่อมได้รับความร้อนมากกว่าจุดดังกล่าวและผ่านการฆ่าเชื้อเชิงการค้าเช่นกัน



รูปที่ 2.3 ลักษณะการถ่ายเทความร้อนในอาหาร

ที่มา: รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต (2535)



รูปที่ 2.4 จุด cold point ในอาหารที่มีการถ่ายเทความร้อนแบบการพาและการนำความร้อน
ที่มา: รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต (2535)

2.4.1.3 องค์ประกอบ สมบัติและลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหาร

องค์ประกอบ สมบัติและลักษณะของอาหารเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งซึ่งอาจมีผลต่ออัตราการแทรกผ่านความร้อนและการทำลายจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหาร (วิวัฒน์ปฐมโยธิน, 2542) ได้แก่

- วัตถุดิบ เช่น ขนาดชิ้นอาหาร ความหนาแน่นของการบรรจุ ความอ่อนแก่ของวัตถุดิบความชื้นหนืดของอาหาร ปริมาณแป้งในวัตถุดิบ ปริมาณสารละลาย เกลือ น้ำตาล น้ำมัน ไขมันและ คุณภาพของวัตถุดิบ เป็นต้น
- การเตรียมวัตถุดิบ เช่น การลวก การตัดแต่งวัตถุดิบ เป็นต้น
- การบรรจุ เช่น อัตราส่วนของของแข็งต่อของเหลวที่บรรจุ น้ำหนักบรรจุ การเรียงตัวของอาหารในบรรจุภัณฑ์ และ ช่องว่างเหนืออาหาร เป็นต้น
- ความล่าช้าหลังการบรรจุหรือหลังการปิดผนึก
- ชนิด รูปร่าง และขนาดของบรรจุภัณฑ์
- กรรมวิธีการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ เช่น ตำแหน่งและลักษณะการจัดวางผลิตภัณฑ์อาหารในเครื่องฆ่าเชื้อ อุณหภูมิของเครื่องฆ่าเชื้อ อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหาร เป็นต้น และการเคลื่อนที่ของผลิตภัณฑ์อาหารในเครื่องฆ่าเชื้อ เช่น การหมุนกระป๋องในแกนนอนหรือในแกนตั้งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการพาความร้อนเข้าสู่อาหารได้ เป็นต้น

2.4.2 การเตรียมวัตถุดิบและการรักษาคุณภาพวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำบรรจุกระป๋องหรือในภาชนะปิดสนิท

ภาวะที่ใช้ในการฆ่าเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์อาหารต้องให้ความร้อนสูงมีผลทำให้คุณลักษณะและคุณค่าอาหารเปลี่ยนแปลงไป การเตรียมวัตถุดิบก่อนเข้าสู่กระบวนการแปรรูปต่อไปจะช่วยปรับปรุงคุณภาพหรือรักษาคุณภาพวัตถุดิบให้มีความสม่ำเสมอ การลวกช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนผิวอาหาร และยังเป็นการไล่อากาศที่มีในช่องว่างระหว่างเซลล์ทำให้เกิดสุญญากาศในกระป๋องได้ง่ายขึ้น รวมถึงทำให้สี กลิ่นรส และเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ดีขึ้น (วิลโลว์ รังสาตทอง, 2546)

การสูญเสียน้ำนอกจากทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพและเคมีของเนื้อสัตว์แล้ว อาจมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคด้วย ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีการใช้สารประกอบโพลีฟอสเฟต (polyphosphate) อย่างแพร่หลายเพื่อช่วยปรับปรุงความสามารถในการจับน้ำ (water binding) เนื้อสัมผัส สี และกลิ่นรส รวมถึงป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ (Sofos, 1986; Dziezak, 1990) ในอุตสาหกรรมอาหารทะเลนิยมใช้โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตมากที่สุด จุดประสงค์หลักในการใช้สารประกอบฟอสเฟต คือช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อเยื่อ โดยทำให้ pH และ ionic strength เพิ่มขึ้น และจับกับโปรตีนที่มีแอมโนเนียมและแคลเซียมจับอยู่ ทำให้ actomyosin แยกออกมาได้ จึงช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสและเพิ่มช่องว่างในโครงสร้างของไมโอไฟบริลให้จับน้ำได้ดีขึ้น (สุทรวัดณ์ เบญจกุล, 2536; Li และคณะ, 1993) และเนื่องจากอาหารประเภทหอย กุ้ง ปู และปลาต่างๆ มีโลหะเป็นส่วนประกอบอยู่ค่อนข้างสูง เช่น เหล็ก ทองแดง เป็นต้น ในระหว่างการแปรรูปหรือระหว่างเก็บรักษา โลหะเหล่านี้มักรวมตัวกับสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ เป็นสาเหตุให้สี กลิ่น และรสของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไป เช่น การเกิดผลึก struvite ในผลิตภัณฑ์ การเกิดจุดสีดำ (melanosis) ในระหว่างการเก็บกุ้งในน้ำแข็ง การเกิดสีน้ำเงิน (blue discoloration) ที่เกิดขึ้นในระหว่างการแปรรูปด้วยความร้อน เป็นต้น (ศิวพร ศิวเวช, 2535) นอกจากนี้โลหะยังเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (Maillard reaction) ในอาหารด้วย (นิธิยา รัตนานนท์, 2545) จึงมีการแก้ปัญหาด้วยการใช้สารจับโลหะ (sequestrant) ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรม ได้แก่ กรดไฮดรอกซีคาร์บอกซิลิก (hydroxycarboxylic acids) กรดโพลีฟอสฟอริก (polyphosphoric acid) กรดอะมิโนบางชนิด เป็นต้น โดยสารนี้จะทำปฏิกิริยากับโลหะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (ศิวพร ศิวเวช, 2535) ในอุตสาหกรรมแช่แข็งเนื้อหอย Japanese cockle มักลวกเนื้อหอยที่อุณหภูมิ 85°C นาน 15 วินาที ในน้ำที่มีกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.15% ก่อนนำไปแช่แข็ง ซึ่งช่วยรักษาคุณภาพสีและเนื้อสัมผัสไว้ได้ดีกว่าเนื้อหอยที่ไม่ผ่านขั้นตอนดังกล่าว (Yoneda และคณะ, 2002)

สมพงษ์ คุประมงอารักษ์ (2534) ปรับปรุงคุณภาพสีเนื้อปูบรรจุกระป๋องโดยไม่ใช้เอทิลีนไดอะมีนเตตราอะซิเตต (EDTA) และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยใส่ไกลซีนความเข้มข้น 0.5% หรือโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตความเข้มข้น 0.2% ต้มปู้ที่ผ่านการแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0.1% และกรดซิตริกความเข้มข้น 0.15% เป็นเวลา 10 นาที ก่อนบรรจุกระป๋อง และส่วนที่เป็นน้ำบรรจุกระป๋องมีโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต 0.2% หรือไกลซีน 0.3% และกรดซิตริก 0.25% เป็นองค์ประกอบ ช่วยปรับปรุงคุณภาพสีและเนื้อสัมผัสให้เป็นที่ยอมรับได้ดี

Kolodziejska, Sikorski, และ Sadowska (1987) รายงานว่าการแช่เนื้อปลาหมึกในสารละลายผสมโซลิตฟอสเฟตความเข้มข้น 2% ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ก่อนต้ม ช่วยให้น้ำสัมผัสนุ่มขึ้น มีความชุ่มน้ำมาก และลดปริมาณ cooking loss ได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ในขณะที่การแช่ในสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 2% ที่อุณหภูมิและระยะเวลาเท่ากันทำให้น้ำสัมผัสเหนียวขึ้น

English และคณะ (1988) รายงานว่าการแช่เนื้อปลา mullet (*Mugil cephalus*) ในสารละลายโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟตความเข้มข้น 5% ก่อนบรรจุกระป๋องและฆ่าเชื้อ ช่วยปรับปรุงคุณภาพเนื้อสัมผัสและลดการเกิดเคิร์ด (curd) ในผลิตภัณฑ์ได้ ซึ่งการเกิดเคิร์ดนี้มีสาเหตุจากโปรตีนในเนื้อปลาที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและละลายน้ำแข็งเกิดการเสียสภาพ เมื่อผ่านการให้ความร้อนโปรตีนนี้จะตกตะกอนหรือเกิดเคิร์ดขึ้น และจากการทดลองของ Wekell และ Teeney (1988) พบว่าเมื่อแช่เนื้อปลา sockeye salmon ในสารละลายผสมโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟตกับโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตความเข้มข้น 15%-20% เป็นเวลา 2 นาที ก็ช่วยลดการเกิดเคิร์ดในผลิตภัณฑ์ได้เช่นกัน

Crapo และ Crawford (1991) พบว่าเมื่อแช่เนื้อปูในสารละลายโซลิตฟอสเฟตความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 60 นาที แล้วให้ความร้อนด้วยการนึ่ง ช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักและความชื้น รวมถึงมีฟอสฟอรัสหลงเหลืออยู่ในเนื้อมากกว่าการต้มในน้ำ ซึ่งจะช่วยในการปรับปรุงคุณภาพเนื้อและความคงตัวในระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่แข็งได้

Li และคณะ (1993) รายงานว่าการใช้โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 0.5% โดยน้ำหนักในเนื้อไก่วงบด (ground turkey) ก่อนนำไปให้ความร้อน พบว่าทำให้น้ำมีปริมาณ cooking loss ต่ำ และค่า water-holding capacity (WHC) สูงกว่าเนื้อที่ไม่ได้ใช้ เพราะนอกจากจะช่วยในการอุ้มน้ำของเนื้อแล้ว สารประกอบโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟตช่วยลดผลกระทบจากความร้อนต่อ WHC ด้วย นอกจากนี้การให้ความร้อนยังมีผลต่อการสลายตัวของสารประกอบฟอสเฟตไปอยู่ในรูปออร์โธฟอสเฟต (orthophosphate) มากขึ้นด้วย ซึ่งอาจทำให้คุณสมบัติการจับโลหะของฟอสเฟตลดลงได้ (Tompkin, 1984; Ang และ Young, 1989)

Sanchez-Brambila และคณะ (2002a) พบว่าการใช้เอนไซม์ปาเปนความเข้มข้น 0.25% คลุกเคล้ากับเนื้อหอย whelk (*Astraea undosa*) เป็นเวลา 20 นาที ก่อนบรรจุกระป๋องและฆ่าเชื้อ ทำให้ความเหนียวและการทนต่อการเคี้ยว (chewiness) ของเนื้อหอยลดลงเมื่อเทียบกับหอยที่ไม่ได้ใช้เอนไซม์ ในขณะที่ Sanchez-Brambila และคณะ (2002b) พบว่าเนื้อหอยเป่าอื้อ black abalone (*H. chacherodii*) ที่คลุกเคล้ากับเอนไซม์ปาเปนความเข้มข้น 0.25% และ 0.50% เป็นเวลา 10-20 นาที ก่อนบรรจุกระป๋อง เนื้อสัมผัสไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่มีผลทำให้เกิดรสชาติโลหะและรสขมในผลิตภัณฑ์ อาจเนื่องจากเอนไซม์ปาเปนซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งถูกย่อยในระหว่างกระบวนการฆ่าเชื้อ จึงทำให้เกิดกรดอะมิโนที่ทำให้เกิดรสขมขึ้นได้

The United State Food and Drug Administration (USFDA) ระบุชนิดของฟอสเฟตที่เป็น Generally Recognized As Safe (GRAS) คือ กลีโคลแคลเซียม โพลีแคลเซียม โซเดียม และแอมโมเนียมของอโทฟอสเฟตและโพลีฟอสเฟต โดยปริมาณฟอสเฟตสูงสุดที่กฎหมายอนุญาตให้มีได้ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ต้องไม่เกิน 0.5% โดยน้ำหนัก และการใช้ฟอสเฟตเข้มข้นถึง 0.5% มีผลทำให้เกิดกลิ่นรสและลักษณะปรากฏที่ไม่ดีต่ออาหารได้ สำหรับ FAO/WHO สรุปว่าการบริโภคฟอสฟอรัสน้อยกว่า 30 mg/kg ของน้ำหนักตัว จะปลอดภัยทุกกรณี แต่ถ้าบริโภค 30-70 mg/kg อาจเป็นอันตรายได้ (Lampila และ Godber, 2002)

2.5 คุณภาพของเนื้อสัตว์ที่มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค

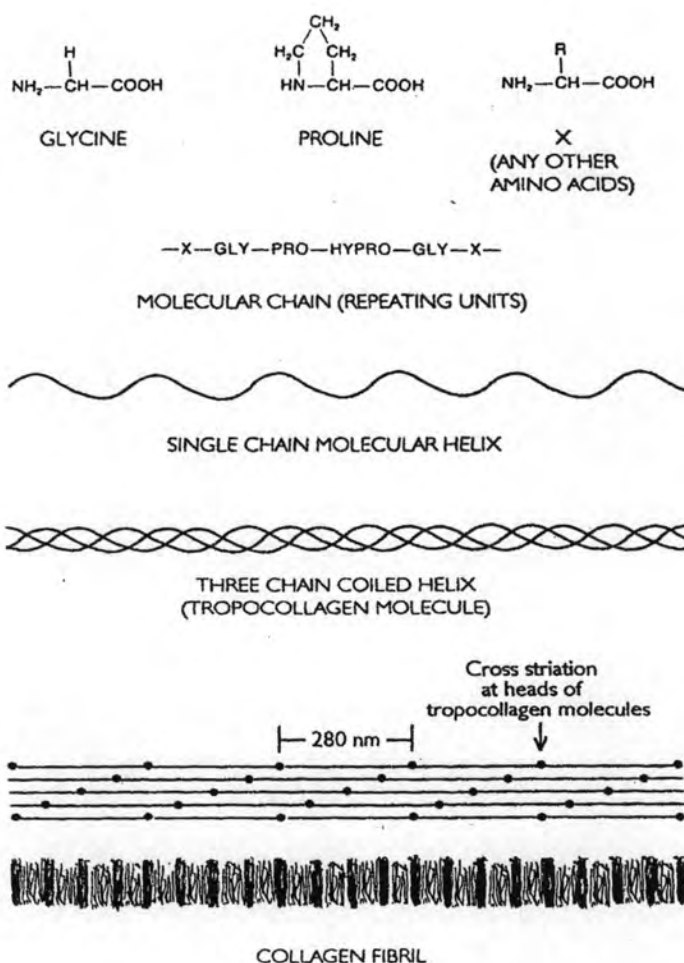
2.5.1 องค์ประกอบที่มีผลต่อเนื้อสัมผัส

เนื้อสัมผัสเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดที่มีผลต่อความน่ารับประทาน (palatability) และความพึงพอใจของผู้บริโภคต่ออาหารประเภทเนื้อสัตว์หรืออาหารทะเล (Olaechea และคณะ, 1993; Gao, Tashiro, และ Ogawa, 2002; Yoneda และคณะ, 2002; Chiou, Tsai, และ Lan, 2004)

เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) นับว่ามีอิทธิพลสูงต่อความนุ่มและความน่ารับประทานของเนื้อสัตว์ (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529) การจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของเนื้อสัตว์ประกอบด้วยส่วนอีพิมิเซียม (epimysium) ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่พบอยู่ด้านนอกสุด ห่อหุ้มกลุ่มของมัดกล้ามเนื้อ (group of muscle bundle) เข้าด้วยกัน เพอริมิเซียม (perimysium) ซึ่งเป็นส่วนของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ล้อมรอบแต่ละมัดกล้ามเนื้อ (muscle bundle) และเอนโดมิเซียม (endomysium) ซึ่งทำหน้าที่ห่อหุ้มแต่ละเซลล์กล้ามเนื้อ (muscle fiber) (มาลัยวรรณ อารยะสกุล และ วรรณวิบูลย์ กาญจนกุญชร, 2540) ลักษณะการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเช่นนี้ สามารถพบได้เช่นเดียวกันกับในกล้ามเนื้อสัตว์มีกระดูกสันหลัง (vertebrate muscle) (Light, Voyle, และ

Champion, 1984) กล้ามเนื้อสัตว์น้ำจำพวกครัสเตเชีย (crustaceans) (Mizuta และคณะ, 1994) และกล้ามเนื้อของสัตว์จำพวกหอยสองฝา (bivalve molluscan) (Mizuta และคณะ, 2004)

คอลลาเจนเป็นโปรตีนที่พบมากที่สุดในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยสายเพปไทด์ที่มีลำดับกรดอะมิโนที่ซ้ำกัน (Gly-X-Pro) ทำให้มีแนวโน้มที่จะม้วนเป็นเกลียวเวียนซ้าย เกลียวเวียนซ้ายสามเกลียวจะม้วนพันกันเกิดเป็นเกลียวใหญ่เวียนขวา (triple helix) ที่ยึดกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ NH และหมู่ CO ของพันธะเพปไทด์ในแต่ละสาย นอกจากนี้ยังสามารถเกิดสะพานเชื่อมต่อกันทั้งภายในและระหว่างโมเลกุล (intra และ inter molecular cross-linkage) (ภิญโญ พานิชพันธ์, 2542) ดังแสดงในรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 ลำดับกรดอะมิโนและโครงสร้างของโมเลกุลคอลลาเจน
ที่มา: Xiong (1997)

คอลลาเจนในเนื้อสัตว์มีหลายชนิด มีลักษณะโครงสร้างทั่วไปคล้ายคลึงกัน แตกต่างกันเพียงเล็กน้อยที่องค์ประกอบของกรดอะมิโน เป็นผลให้คุณสมบัติของคอลลาเจนต่างกันไป โดยคอลลาเจนชนิดที่มีบทบาทต่อเนื้อสัมผัสของอาหาร ได้แก่ คอลลาเจนชนิด I และ III (Xiong, 1997) ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อสมบัติของคอลลาเจน คือสายพันธุ์และชนิดของเนื้อเยื่อ คอลลาเจนประกอบด้วยกรดอะมิโนที่สำคัญ ได้แก่ ไกลซีน (glycine) 33% ไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline) 10% โพรลีน (proline) 12%-15% อะลานีน (alanine) 11% และไฮดรอกซีไลซีน (hydroxylysine) น้อยกว่า 1% (มาลัยวรรณ อารยะสกุล และ วรรณวิบูลย์ กาญจนกุญชร, 2540)

ปริมาณและคุณภาพของคอลลาเจนมีผลต่อคุณภาพเนื้อสัมผัสของอาหาร โดยพบว่าเนื้อสัตว์ที่คุณภาพต่ำมักมีปริมาณคอลลาเจนสูง ส่วนเนื้อคุณภาพดีมักมีปริมาณคอลลาเจนต่ำ (Bailey และ Light, 1989) กล้ามเนื้อที่มีคอลลาเจนสูงมีเนื้อสัมผัสเหนียวกว่าเนื้อที่มีปริมาณคอลลาเจนต่ำกว่า (Olaechea และคณะ, 1993)

นอกจากปริมาณคอลลาเจนแล้วการจัดเรียงตัวแบบเกิดพันธะเชื่อมขวางภายในโมเลกุล (intermolecular crosslink) ของคอลลาเจนยังมีผลต่อคุณภาพของกล้ามเนื้อเช่นกัน โดยกล้ามเนื้อที่มีสัดส่วนของ heat stable crosslink สูงมักมีคุณภาพต่ำ (Kijowski, 2001) ในกล้ามเนื้อที่ต้องออกแรงมาก เช่น กล้ามเนื้อขา จำเป็นต้องพัฒนาตัวเองให้มีความแข็งแรงมากกว่ากล้ามเนื้ออื่นๆ จึงทำให้มีปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสูง รวมทั้งต้องมี crosslink สูงด้วย ทำให้เนื้อส่วนนี้เหนียวและมีคุณภาพต่ำกว่าเนื้อส่วนอื่น กล้ามเนื้อสันซึ่งเป็นกล้ามเนื้อที่ทำหน้าที่เพียงเสริมโครงสร้าง จึงมีปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและพันธะเชื่อมข้ามต่ำกว่า (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529) ในเนื้อสัตว์ที่มีอายุมากขึ้น ภายในโมเลกุลของคอลลาเจนจะมีปริมาณของ intermolecular crosslink มากกว่าเนื้อสัตว์ที่มีอายุน้อยกว่าทำให้ความสามารถละลายของคอลลาเจนลดลง มีผลให้เนื้อเหนียวมากกว่าด้วย (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529; Cross, Carpenter, และ Smith, 1973)

เนื้อสัมผัสของหอยเป่าฮื้อมีความสัมพันธ์กับการกระจายตัวของคอลลาเจนในกล้ามเนื้อ โดยปริมาณคอลลาเจนเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเหนียวของเนื้อหอย สัตว์จำพวกที่มีเปลือกแข็งหุ้ม (gastropods) มีปริมาณคอลลาเจนผันแปรตามส่วนของกล้ามเนื้อ ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ กล้ามเนื้อเท้า (foot muscle) กล้ามเนื้อ opercular (adductor) และกล้ามเนื้อส่วนเครื่องใน (visceral muscle) กล้ามเนื้อเท้ามีชั้นของเส้นใยคอลลาเจนหนาและมีความเหนียวมากที่สุด รองลงมาได้แก่ กล้ามเนื้อ opercular และกล้ามเนื้อส่วนเครื่องใน ตามลำดับ (James และ Olley, 1971; Olaechea และคณะ, 1993; Hatae และคณะ, 1996)

Ochiai และคณะ (1985) พบว่ากล้ามเนื้อเท้า กล้ามเนื้อ opercular และเครื่องในของ turban shell (*Batillus cornutus*) มีปริมาณคอลลาเจน 45% 34% และ 5% ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด ตามลำดับ ความเหนียวแปรผันตรงกับปริมาณคอลลาเจน โดยกล้ามเนื้อเท้ามีความ

เหนียวมากที่สุด รองลงมา คือ กล้ามเนื้อ opercular และเครื่องใน ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ที่พบว่าเส้นใยไมโอไฟบริลของกล้ามเนื้อเทามีเส้นใยคอลลาเจนล้อมรอบอยู่หนาประมาณ 1 ไมโครเมตร และหนากว่าในส่วนของกล้ามเนื้อ opercular และเครื่องใน ตามลำดับ ซึ่งมีการจัดเรียงตัวของเส้นใยคล้ายกัน แต่เส้นใยคอลลาเจนที่ล้อมรอบบางกว่า (Watabe และคณะ, 1986)

Olaechea และคณะ (1993) พบว่า ปริมาณคอลลาเจนในเนื้อหอยเป่าฮื้อมีความสัมพันธ์กับความเหนียว เมื่อปริมาณคอลลาเจนเพิ่มขึ้นเนื้อหอยเป่าฮื้อมีความเหนียวมากขึ้นจากการศึกษาการจัดเรียงตัวของเส้นใยโปรตีนภายในเนื้อหอยเป่าฮื้อ kuro-awabi (*H. discus*) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่ากล้ามเนื้อจากส่วนต่างๆ ของหอยเป่าฮื้อมีการจัดเรียงตัวของเส้นใยภายในกล้ามเนื้อที่คล้ายกัน ประกอบด้วยเส้นใยไมโอไฟบริลล้อมรอบด้วยเส้นใยคอลลาเจน แต่ต่างกันที่ความหนาของเส้นใยคอลลาเจน เรียงตามลำดับจากมากไปน้อยได้แก่ บริเวณ epipodium, pedal sole และ adductor ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับค่าความเหนียว (toughness) ที่พบว่าบริเวณ epipodium มีความเหนียวมากที่สุด รองลงมา คือ บริเวณ pedal sole และ adductor ตามลำดับ

2.5.2 ผลของกระบวนการแปรรูปโดยใช้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหอยเป่าฮื้อ

หอยเป่าฮื้อมีรสชาติและเนื้อสัมผัสที่มีลักษณะเฉพาะตัว (unique) จึงถูกจัดให้เป็นอาหารที่อร่อยเป็นเลิศ (delicacy) (Olaechea และคณะ, 1993; Hatae และคณะ, 1996; Gao และคณะ, 2002; Chiou และคณะ, 2004) เนื้อหอยเป่าฮื้อดิบมีเนื้อสัมผัสแน่น (firm) และกรอบ (crisp) ภายหลังจากแปรรูปด้วยความร้อนสูงหรือการให้ความร้อนเป็นเวลานาน เนื้อสัมผัสจะเหนียวนุ่ม (soft chewy texture) (Chiou และคณะ, 2004) และยืดหยุ่นคล้ายยาง (rubber like texture) (Sanchez-Brambila และคณะ, 2002b)

อุณหภูมิและเวลาในการหุงต้มมีผลอย่างมากต่อเนื้อสัมผัสของอาหาร รวมถึงปัจจัยคุณภาพอื่นๆ เช่น ความชุ่มน้ำ (juiciness) สี และกลิ่นรส เป็นต้น (Martens, Stabursvik, และ Martens, 1982)

การเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสของเนื้อสัตว์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการให้ความร้อน โดยทั่วไปเกี่ยวข้องกับองค์ประกอบที่เป็นโครงสร้าง (structural components) ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อที่สำคัญ ได้แก่ คอลลาเจน และ myofibrillar protein (Dawson, Sheldon และ Miles, 1991; Bertola, Bevilacqua, และ Zaritzky, 1994; Califano และคณะ, 1997) การเปลี่ยนแปลงเนื่องจากความร้อน (heat-induced change) ขององค์ประกอบทั้งสองนี้ให้ผลต่อเนื้อสัมผัสที่ตรง

ข้ามกัน โดยขณะให้ความร้อน connective tissue เปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่สามารถละลายน้ำได้ มีผลให้เนื้อสัมผัสนุ่มขึ้น ในขณะที่การแข็งตัว (hardening) ของ myofibrillar protein มีผลให้เกิดความเหนียวของเนื้อ (Paul, 1963; Laakkonen, Wellington, และ Sherbon, 1970; Hearne, Penfield, และ Goertz, 1978)

ความร้อนมีผลทำให้เนื้อเยื่อเกี่ยวพันบริเวณอพิไมเซียม เพอริไมเซียม และ เอนโดไมเซียมหดตัว เกิดการสูญเสียน้ำ (Light และคณะ, 1984) อุณหภูมิที่ทำให้คอลลาเจนเกิดการหดตัวนั้นขึ้นกับชนิดและลำดับของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุล คอลลาเจนเริ่มสูญเสียโครงสร้างไปอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 60°C (Dunajski, 1979) เนื่องจากความร้อนที่อุณหภูมิดังกล่าวไปรบกวนพันธะไฮโดรเจนในโมเลกุลคอลลาเจน ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ทำให้เนื้อสัมผัสนุ่มขึ้น (Lawrie, 1968) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 70°C ทำให้คอลลาเจนบริเวณเอนโดไมเซียมหดตัวอย่างถาวร ที่อุณหภูมิ 80°C คอลลาเจนบริเวณเพอริไมเซียมเปลี่ยนไปเป็นเจลลาติน (gelation) และที่อุณหภูมิ 90°C โครงสร้างของกล้ามเนื้อจะสูญเสียไป แต่ยังคงเห็นส่วนที่เป็นซาร์โคเมอร์ (sarcomere) (Cheng และ Parrish, 1976; Jones, Carrol, และ Cavanaugh, 1977)

ส่วนการเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar protein เนื่องจากความร้อน พบว่าเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50°C มีผลกระทบเพียงเล็กน้อย โดย myofibrillar protein เริ่มอัดตัวกัน (compressing) ที่อุณหภูมิ 60°C เส้นใยบาง (thin filament) และเส้นใยหนา (thick filament) รวมตัวกัน (coagulation) ตามด้วยการหดตัวของ myofibrillar protein (Cheng และ Parrish, 1976; Jones และคณะ, 1977) และที่อุณหภูมิ 70°C-90°C actomyosin เกิดการหดตัวและสูญเสียน้ำทำให้เนื้อสัมผัสเหนียวขึ้น (Bailey และ Light, 1989)

นอกจากนี้ น้ำที่อยู่ในกล้ามเนื้อ (intrafibre water) ก็มีอิทธิพลต่อเนื้อสัมผัสด้วยเช่นกัน (Currie และ Wolfe, 1980; Offer และคณะ, 1989; Zayas, 1997) น้ำในกล้ามเนื้อส่วนใหญ่มักอยู่ในระหว่างช่องว่างที่เป็นโครงข่ายสามมิติ (three-dimensional network) ของเส้นใยไมโอไฟบริล มีเพียง 14%-21% เท่านั้นที่จับอยู่กับโปรตีนในกล้ามเนื้อด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างไฮโดรเจนอะตอมในโมเลกุลของน้ำกับหมู่ที่มีขั้ว (polar hydrophilic groups) ในโมเลกุลโปรตีน เช่น หมู่ imino, amino, carboxyl, hydroxyl, carbonyl, และ sulfhydryl เป็นต้น ดังนั้นความสามารถในการจับน้ำของโปรตีน จึงขึ้นกับชนิดและจำนวนของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของโปรตีน โดยแอกติน (actin) ไมโอซิน (myosin) และโทรโปไมโอซินที่คลายตัวบางส่วน (extent tropomyosin) เป็นองค์ประกอบสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการจับกับน้ำ (Zayas, 1997)

ความสามารถในการจับน้ำ (water-holding capacity; WHC) คือ ความสามารถของเนื้อที่จะคงปริมาณน้ำไว้ให้เกือบเท่าหรือเท่าเดิม แม้ว่าจะมีแรงจากภายนอกมากระทำ เช่น การตัด การให้ความร้อน การบด และการอัด เป็นต้น WHC มีหน่วยเป็นจำนวนกรัมของน้ำที่โปรตีนสามารถจับไว้ได้ต่อกรัมของโปรตีน (นิธิยา รัตนพานนท์, 2545) โดยทั่วไปอาจแบ่งกลุ่มของน้ำในเนื้อสัตว์ออกได้เป็น 3 กลุ่ม (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529) คือ

- น้ำที่ถูกตรึง (bound water) หมายถึง โมเลกุลของน้ำถูกดึงดูดไว้ด้วยขั้วที่ต่างกัน ระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับโมเลกุลของน้ำ ซึ่งได้แก่ กลุ่มคาร์บอกซิล (-COOH) และกลุ่มอะมิโน (-NH₂) น้ำที่ถูกตรึงนี้จะมีอยู่ในเนื้อประมาณ 4-5% ของน้ำในกล้ามเนื้อทั้งหมด การจับน้ำชนิดนี้ออกจากกล้ามเนื้อทำได้ยากมาก

- น้ำที่ถูกจำกัดการเคลื่อนที่ (immobilized water) หมายถึง น้ำส่วนที่อยู่ห่างถัดออกมาจากชั้นน้ำที่ถูกตรึง มีแรงดึงดูดที่มีอยู่ระหว่างโมเลกุลน้อยกว่า จึงทำให้น้ำส่วนนี้ถูกขับออกไปได้ง่ายกว่า การที่จะถูกขับออกมาหรือน้อยขึ้นกับแรงภายนอกที่มากระทำ

- น้ำอิสระ (free water) น้ำที่ถูกดึงดูดไว้ด้วยแรงดึงดูดที่อ่อนกว่า เป็นน้ำที่อยู่ไกลสุดจากประจุไฟฟ้าของโมเลกุลโปรตีน จึงมีแรงดึงดูดต่ำสุด น้ำส่วนนี้จะถูกขับออกจากกล้ามเนื้อได้ง่ายที่สุด

นอกจากการเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสแล้ว การให้ความร้อนยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อสัตว์ด้วย ในระหว่างการให้ความร้อนจะเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลไรโบสหรือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอื่นๆ กับ hypoxanthine inosine หรือกรดอะมิโน มีผลทำให้เกิดกลิ่นรสขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนมากเกินไปอาจทำให้กรดอะมิโนสลายตัวเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (hydrogen sulfide, H₂S) และแอมโมเนียขึ้น โดยเฉพาะในภาวะที่ใช้ในการผลิตอาหารกระป๋องจะเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์จากการสลายตัวของ myofibrillar protein และ metal sulphide ทำให้สีของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป นอกจากการเปลี่ยนสีของผลิตภัณฑ์เนื่องจากไฮโดรเจนซัลไฟด์แล้ว ระหว่างการให้ความร้อนเนื้อสัตว์จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ globin myohaemichromogen และปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์และกรดอะมิโน (Lawrie, 1968)

James และ Olley (1971) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงด้านเนื้อสัมผัสของหอยเป๋าฮื้อ black abalone (*H. ruber*) ที่ผ่านการสเตอริไลซ์ พบว่าเนื้อสัมผัสของหอยเปลี่ยนแปลงไป โดยก่อนให้ความร้อนกล้ามเนื้อบริเวณ adductor มีเนื้อสัมผัสนุ่ม ส่วนกล้ามเนื้อเท้าจะเหนียวกว่า แต่เมื่อผ่านการให้ความร้อน กล้ามเนื้อบริเวณ adductor จะเหนียวขึ้น ส่วนกล้ามเนื้อเท้ากลับนุ่ม Kimura และ Kubota (1968) อธิบายว่าปกติเนื้อหอยเป๋าฮื้อบริเวณ adductor มีปริมาณคอลลาเจนต่ำกว่าบริเวณเท้า (1.4% และ 5.3% ตามลำดับ) เมื่อให้ความร้อน myofibrillar

protein ที่มีมากบริเวณ adductor เกิดการเปลี่ยนแปลงทำให้เนื้อเหนียวขึ้น ส่วนคอลลาเจนในกล้ามเนื้อเท้าเปลี่ยนไปเป็นเจลาตินเนื้อจึงนุ่มขึ้น

Ochiai และคณะ (1985) ศึกษาผลการให้ความร้อนแก่เนื้อหอย turban shell (*Batillus cornutus*) ที่อุณหภูมิ 30°C-60°C เป็นเวลา 30 นาที พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 30°C ทำให้ค่า toughness ของกล้ามเนื้อเท้าส่วนบน (upper region) และส่วนตรงกลาง (middle region) มีค่าลดลง ส่วนกล้ามเนื้อเท้าส่วนล่าง (lower region) มีค่าเพิ่มขึ้น และเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้น กล้ามเนื้อเท้าทั้งสามส่วนนุ่มขึ้น สันนิษฐานว่าเกิดจากการพองตัว (swelling) ของเส้นใยคอลลาเจนหรือการเกิดเจล (gelation) กล้ามเนื้อส่วน opercular มีค่า toughness ลดลงเมื่อให้ความร้อนที่ 30°C และค่อนข้างคงที่แม้จะเพิ่มความร้อนขึ้นอีก ในขณะที่กล้ามเนื้อส่วน visceral muscle มีค่า toughness เปลี่ยนแปลงน้อยมาก เนื่องจากกล้ามเนื้อส่วนนี้มีปริมาณ myofibrillar protein มากที่สุด และมีปริมาณคอลลาเจนอยู่น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับส่วนอื่น จึงเป็นไปได้ว่าปริมาณ myofibrillar protein อาจไม่มีผลต่อความเหนียวของเนื้อหอยส่วนนี้

Sikorski และ Borderias (1994) รายงานว่า คอลลาเจนเป็นโปรตีนที่มีปริมาณสูงที่สุดที่พบใน stroma protein มีบทบาทสำคัญต่อเนื้อสัมผัสของปลาและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทั้งดิบและที่ผ่านการให้ความร้อน โดยพบว่าเนื้อปลาดิบที่มีปริมาณคอลลาเจน 1.6%-2.3% มักมีเนื้อสัมผัสนุ่ม ส่วนปลาที่มีปริมาณคอลลาเจน 8.8%-12.4% มีเนื้อสัมผัสเหนียว แต่เมื่อนำไปให้ความร้อนจะให้ผลในทางกลับกัน เนื้อปลาที่มีปริมาณคอลลาเจนต่ำมักมีเนื้อสัมผัสแข็งกว่าเนื้อปลาที่มีปริมาณคอลลาเจนสูงซึ่งจะมีเนื้อสัมผัสฉ่ำน้ำและยืดหยุ่นดี อาจเนื่องจากคอลลาเจนเปลี่ยนไปเป็นเจลาตินสามารถจับน้ำไว้ในโครงสร้างได้ดี

Hatae และคณะ (1996) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของหอยเป้าฮือ *H. discus* ที่ต้มเป็นเวลา 0, 5, 30, 60, 180 และ 360 นาที พบว่าระหว่างให้ความร้อนเนื้อของหอยเป้าฮือจะหดตัว เกิดการสูญเสียน้ำและองค์ประกอบที่ละลายน้ำได้ออกมาในรูปของน้ำจากเนื้อ (drip) น้ำหนักของหอยลดลงเหลือประมาณ 60% ของน้ำหนักเริ่มต้น เมื่อให้ความร้อนนาน 360 นาที เนื้อสัมผัสก็มีการเปลี่ยนแปลงไป โดยพบว่าค่า breaking stress ลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากให้ความร้อน 15 นาที และเมื่อให้ความร้อนนานขึ้นถึง 180 หรือ 360 นาที เนื้อหอยนุ่มขึ้นเนื่องจากการเกิดเจลาตินของคอลลาเจน โดยปริมาณคอลลาเจนมีความสัมพันธ์กับความเหนียวของเนื้อหอย สำหรับองค์ประกอบทางเคมีที่มีผลต่อรสชาติของหอยเป้าฮือ พบว่าหลังจากให้ความร้อน 15 นาที ปริมาณ Adenosine Triphosphate (ATP) ลดลงเกือบหมด ในขณะที่ Adenosine Monophosphate (AMP) มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่ง AMP เป็นองค์ประกอบที่สำคัญทำให้เกิดกลิ่นรส umami โดยการเกิด synergism กับกรดกลูตามิก การให้ความร้อนแก่หอยเป้าฮือเป็น

เวลานานขึ้นถึง 180 นาที มีผลให้การยอมรับด้านรสชาติดีขึ้นเมื่อเทียบกับการให้ความร้อน 30 นาที เนื่องจากมีกลิ่นรสที่เข้มข้น

Chiou และคณะ (2004) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ทางกายภาพ และทางประสาทสัมผัสของหอยเป่าฮื้อขนาดเล็กพันธุ์ *H. diversicolor* เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C และ 98°C เป็นเวลา 0-120 นาที พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 98°C ทำให้เกิดการสูญเสียความชื้นและน้ำหนัก รวมถึงเกิดสีน้ำตาลสูงกว่าที่อุณหภูมิ 80°C เนื้อหอยเป่าฮื้อที่ได้รับความร้อนที่ 98°C นุ่มกว่าที่อุณหภูมิ 80°C และค่า cutting force ลดลงอย่างเห็นได้ชัดหลังจากได้รับความร้อนนาน 60 นาที เนื่องจากการเปลี่ยนคอลลาเจนไปเป็นเจลาตินที่อุณหภูมิต่ำกว่า 90°C เกิดได้ในอัตราที่ช้ากว่า (Ledward, 1984) ส่วนการเกิดสีน้ำตาลนั้นเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด ซึ่งเมื่ออุณหภูมิและเวลาการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น การเกิดสีน้ำตาลมักเพิ่มขึ้นด้วย Kawashima และ Yamanaka (1996) รายงานว่าการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อหอยแครงเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดของน้ำตาล glucose-6-phosphate กับกรดอะมิโนอิสระ ที่สำคัญได้แก่ taurine และ alanine ซึ่งพบว่าในระหว่างให้ความร้อนกรดอะมิโนสองชนิดนี้มีปริมาณลดลง

