ผลของไตรพอลิฟอสเฟตต่อคุณสมบัติและการเกิดเจลของไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนจากปลาทรายแดงในระหว่างการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย

Effect of Tripolyphosphate on Properties and Gelation of Myofibrillar Protein from Threadfin Bream as Subjected to Different Freeze-thaw Cycles

กาญจนา จันทะ

Kanjana Janta

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ประมง

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Fishery Products Technology

Prince of Songkla University

2544

เลขหมู่ TP453.P7 ก62 2544 ฉ.2

Bib Key 218535

ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของไตรพอลิฟอสเฟตต่อคุณสมบัติ และการเกิดเจลของไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนจากปลาทรายแดงในระหว่างการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย
ผู้เขียน	นางสาวกาญจนา จันทะ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ประมง

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.................................ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก)

......(ลาศึกษาต่อ)..............กรรมการ
(อาจารย์สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกรณ์)

......(ลาศึกษาต่อ)..............กรรมการ
(อาจารย์จักรี ทองเรือง)

คณะกรรมการสอบ

.................................ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก)

......(ลาศึกษาต่อ)..............กรรมการ
(อาจารย์สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกรณ์)

......(ลาศึกษาต่อ)..............กรรมการ
(อาจารย์จักรี ทองเรือง)

.................................กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุทธวัฒน์ เบญจกุล)

.................................กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นันทา เชิงเชาว์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ประมง

....
(รองศาสตราจารย์ ดร. ปิติ ทฤษฎิคุณ)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของไตรพอลิฟอสเฟตต่อคุณสมบัติ และการเกิดเจลของไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนจากปลาทรายแดงในระหว่างการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย
ผู้เขียน	นางสาวกาญจนา จันทะ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ประมง
ปีการศึกษา	2543

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเนื้อปลาทรายแดงแล่ และต่อคุณสมบัติในการเกิดเจลของซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายรอบต่างๆพบว่าปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด และไตรเมทธิลเอมีนของเนื้อปลาแล่ที่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (P>0.05) คือมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบที่ 3 (P<0.05) ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ ความสามารถในการอุ้มน้ำ และค่า Tmax ของโปรตีนไมโอซินของเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต มีอัตราลดลงต่ำกว่าชุดควบคุมของในแต่ละรอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย โดยมีการเปลี่ยนแปลงอย่างเด่นชัดหลังจากผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบที่ 3 แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของแอคติน

ค่าแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิที่เตรียมจากเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในแต่ละรอบ มีค่าลดลงเมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเจลซูริมิที่เตรียมจากเนื้อปลาที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต และชุดควบคุมปรากฏว่าค่าแรงเจาะทะลุของเนื้อปลาที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตมีค่าสูงกว่าเจลซูริมิที่เตรียมจากชุดควบคุม (P<0.05) ซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลา

ทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต ก่อนผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ ค่า Tmaxของไมโอซินน้อยกว่าชุดควบคุม(P<0.05) สำหรับผลของโซเดียมไตรพอลิ-ฟอสเฟต และเกลือต่อคุณภาพของเจลซูวาริและเจลคามาโบโกะ พบว่าเจลคามาโบโกะที่เติมโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตร่วมกับเกลือมีค่าแรงเจาะทะลุสูงกว่าเจลที่มีการเติมเกลือเพียงอย่างเดียว การเติมโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตสามารถลดการสูญเสียปริมาณของเหลวจากการบีบอัดได้ดีกว่าชุดควบคุม (P<0.05) ทั้งในเจลซูวาริและเจลคามาโบ-โกะ

Thesis Title	Effect of Tripolyphosphate on Properties and Gelation of Myofibrillar Protein from Threadfin Bream as Subjected to Different Freeze-thaw Cycles
Author	Miss. Kanjana Janta
Major Program	Fishery Products Technology
Academic Year	2000

Abstract

Effects of sodium tripolyphosphate (STPP) on properties and gelling properties of surimi from threadfin bream fillets subjected to freeze-thaw cycles were carried out. The values of total volatile base (TVB) and trimethylamine (TMA) of STPP treated and control fillets were almost identical. Both TVB and TMA increased after 3 freeze-thaw cycles ($P<0.05$). The salt soluble protein (SSP), water uptake ability (WUA) and Tmax of myosin of the fillet treated with STPP subjected to freeze-thaw decreased lower than those of the control. The samples also changed considerably after subjected to 3 freeze-thaw cycles ($P<0.05$), but no changes in actin was observed.

Breaking force and deformation of surimi gels prepared from both STPP treated and control of the freeze-thaw fillet decreased significantly when freeze-thaw cycle increased ($P<0.05$). The breaking force of surimi gel of the STPP treated sample was higher than those of surimi gel of the control. Surimi produced from freeze-thaw fillet treated with STPP changed the SSP and Tmax of myosin which was lower than those of surimi from the control.

Effects of STPP and NaCl on quality of suwari and kamaboko gel were found that kamaboko gel added with STPP and NaCl had higher breaking force than of those added with NaCl. The suwari and kamaboko gel treated with STPP was significantly lower expressible moisture ($P<0.05$) .

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก ประธานกรรมการที่ปรึกษา อาจารย์สุนิสา ศิริพงศ์วุฒิกรณ์ และอาจารย์จักรี ทองเรือง กรรมการที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำแนะนำในการค้นคว้าวิจัยและเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุทธวัฒน์ เบญจกุล กรรมการผู้แทนคณะอุตสาหกรรมเกษตร และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นันทา เชิงเชาว์กรรมการผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ให้ทุนอุดหนุนในการค้นคว้าวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และน้องชาย ที่ให้การสนับสนุนการศึกษาและเป็นกำลังใจสำคัญในการศึกษาตลอดมา

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้องๆ และเจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตรที่มีส่วนให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

กาญจนา จันทะ

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบาญ	(8)
รายการตาราง	(10)
รายการรูป	(11)
รายการตารางผนวก	(14)
รายการตารางรูปผนวก	(17)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
ปลาทรายแดง และ องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา	3
ซูริมิ	6
การเกิดเจลของโปรตีนปลา	6
การตรวจหาปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด	8
การตรวจหาระดับของไตรเมทธิลเอมีน	9
การสูญเสียสภาพของโปรตีนในระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็ง	9
การป้องกันการสูญเสียสภาพของไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนโดยใช้พอลิฟอสเฟต	12
วัตถุประสงค์	14
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	15
วัตถุดิบ	15

สารบาญ(ต่อ)

หน้า

สารเคมี 15

อุปกรณ์ 16

วิธีการทดลอง 16

1) วิเคราะห์องค์ประกอบโปรตีนและสมบัติของโปรตีนกล้ามเนื้อปลาทรายแดง 16

2) ศึกษาผลของไตรพอลิฟอสเฟตต่อคุณสมบัติของโปรตีนในปลาแล่ และซูริมิ 19

3) บทบาทของโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตต่อการเกิดเจลของซูริมิ 22

3. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 24

1) องค์ประกอบโปรตีนและสมบัติโปรตีนกล้ามเนื้อปลาทรายแดง

1.1) องค์ประกอบทางเคมีของปลาทรายแดง 24

1.2) ตรวจสอบชนิดของโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน 26

2) ผลของการแช่เยือกแข็งและทำละลายต่อคุณสมบัติของโปรตีนในเนื้อปลาแล่และซูริมิ

2.1) ผลของการแช่เยือกแข็งและทำละลายต่อคุณสมบัติของโปรตีนในเนื้อปลาแล่ 28

2.2) ผลของการแช่เยือกแข็งและทำละลายเนื้อปลาทรายแดงแล่ต่อคุณสมบัติของโปรตีนในซูริมิ 44

3) ผลของไตรพอลิฟอสเฟตต่อการเกิดเจลซูวาริ และ คามาโบโกะ 56

4. สรุปผลการทดลอง 64

เอกสารอ้างอิง 65

ภาคผนวก 79

ประวัติผู้เขียน 110

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อปลาทรายแดง	25
2	ลักษณะปรากฏของปลาทรายแดง	26
3	ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่แยกได้จากกล้ามเนื้อปลาทรายแดง	27
4	ค่า Tmax ของเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย	39
5	ค่า Tmax ของเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิ-ฟอสเฟตก่อนการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย	40
6	ค่า Tmax ของซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย	48
7	ค่า Tmax ของซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตก่อนแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย	49

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1	ปลาทรายแดง	5
2	รูปแบบจำลองของไมโอซิน	5
3	การเกิดโครงสร้างตาข่ายเจลของสายโซ่โปรตีน	6
4	แบบจำลองโครงสร้างเจลที่ผ่านและไม่ผ่านการเตรียมเจลซูวาริ	8
5	ปัจจัยที่มีผลต่อการสูญเสียสภาพของโปรตีนระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็ง	10
6	ขั้นตอนการแยกส่วนโปรตีนจากกล้ามเนื้อปลา	18
7	กระบวนการผลิตซูริมิ	21
8	กระบวนการเตรียมเจลซูวาริ	23
9	รูปแบบโปรตีนของเนื้อปลาทรายแดงสดและไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนโดย SDS-PAGE	28
10	ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (ก) และไตรเมทธิลเอมีน (ข) ของเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ	30
11	ค่าพีเอชของปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ	32
12	ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือของเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ	34
13	ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ	37
14	รูปแบบโปรตีนของเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ โดย SDS-PAGE	42

รายการรูป(ต่อ)

รูปที่		หน้า
15	รูปแบบโปรตีนของเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียม-ไตรพอลิฟอสเฟตก่อนที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ โดย SDS-PAGE	43
16	ค่าพีเอชของซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง - ทำละลายในรอบต่างๆ	45
17	ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือของซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ	46
18	รูปแบบโปรตีนของซูริมิที่ผลิตจากปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง - ทำละลายในรอบต่างๆ โดย SDS-PAGE	51
19	รูปแบบโปรตีนของซูริมิที่ผลิตจากปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตก่อนผ่าการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ โดย SDS-PAGE	52
20	แรงเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง - ทำละลายในรอบต่างๆ	54
21	ระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ	54
22	แรงเจาะทะลุของเจลซูริมิที่เตรียมโดยเติมเกลือและสารประกอบโซเดียมไตร-พอลิฟอสเฟตของเจลซูวาริและเจลคามาโบโกะ	58
23	ระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิที่เตรียมโดยเติมเกลือและสารประกอบโซ-เดียมไตรพอลิฟอสเฟตของเจลซูวาริและเจลคามาโบโกะ	58
24	ค่าพีเอชของเจลซูริมิที่เตรียมโดยเติมเกลือและสารประกอบโซเดียมไตรพอลิ-ฟอสเฟตของเจลซูวาริและเจลคามาโบโกะ	60

รายการรูป(ต่อ)

รูปที่		หน้า

25 ปริมาณของเหลวจากการบีบอัดของเจลซูริมิที่เตรียมโดยเติมเกลือและสารประกอบโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตของเจลซูวาริและเจลคามาโบโกะ 61

26 โครงสร้างจุลภาคของเจลซูริมิโดยใช้ Scanning Electron Microscopy (SEM) เติมเกลือ (ก) เติมเกลือร่วมกับสารประกอบโซเดียมไตรพอลิ-ฟอสเฟต (ข) 63

รายการตารางผนวก

ตารางผนวกที่ หน้า

1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ 102

2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณไตรเมทธิลเอมีนของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ 102

3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าพีเอช ของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ 103

4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ 103

5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Tmax ของโปรตีนในพีคที่ 1 (ไมโอซิน) ของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ 104

6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Tmax ของโปรตีนในพีคที่ 2 (แอคติน) ของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ 104

7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าพีเอช ของซูริมิที่ผลิตได้จากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ 105

8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือของซูริมิที่ผลิตได้จากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ 105

9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแรงเจาะทะลุของซูริมิที่ผลิตจากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ 106

รายการตารางผนวก(ต่อ)

ตารางผนวกที่ หน้า

10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะทางก่อนเจาะทะลุของซูริมิที่ผลิตจากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ 106

11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Tmax ของโปรตีนนพีคที่ 1 (ไมโอซิน) ของซูริมิที่ผลิตจากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง - ทำละลายในรอบต่างๆ 107

12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Tmax ของโปรตีนในพีคที่ 2 (แอคติน) ของซูริมิที่ผลิตจากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการ แช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ 107

13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าพีเอชของซูริมิที่เติมสารต่าง ๆ 108

14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณของเหลวจากการบีบอัดของซูริมิที่เติมสารต่าง ๆ

15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแรงเจาะทะลุของซูริมิที่เติมสารต่าง ๆ 108

16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะทางก่อนเจาะทะลุของซูริมิที่เติมสารต่าง ๆ 109

รายการรูปผนวก

รูปผนวกที่ หน้า

1 กราฟมาตรฐาน Bovine Serum Albumin 89

2 กราฟมาตรฐานฟอสเฟต 93

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

แม้ว่าการแช่เยือกแข็งเป็นวิธียืดอายุการเก็บรักษาสัตว์น้ำ ที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ลดกิจกรรมของเอนไซม์ และสามารถรักษาคุณภาพให้ใกล้เคียงของสดมากที่สุด โดยที่สามารถรักษา กลิ่นรส สี และ คุณค่าทางอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่พบว่าสามารถรักษาเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไว้ได้ในระดับปานกลางเท่านั้น แม้จะเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า –21 องศาเซลเซียส (Kawisan *et al.*, 1982) การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นดังกล่าวพบว่าเป็นผลมาจากการสูญเสียสภาพของโปรตีนและการจับตัวกันของโปรตีนในกล้ามเนื้อปลา ส่งผลให้โปรตีนสูญเสียคุณสมบัติเชิงหน้าที่ (Sikorski,1992: Shenouda, 1980) สำหรับในซูริมิมีไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก และเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของซูริมิ ดังนั้นการสูญเสียสภาพจึงส่งผลให้คุณภาพของซูริมิและผลิตภัณฑ์จากซูริมิลดลง (Park *et al*, 1988: Shaban *et al.*, 1985)

MacDonald และคณะ (1994) ได้รายงานว่าวัตถุดิบที่ผ่านการแช่เยือกแข็งสามารถผลิตซูริมิได้ โดยเจลที่ได้จากซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาpacific whiting บดแช่เยือกแข็งซึ่งใช้ซูโครส ร้อยละ 12 และ พอลิฟอสเฟตร้อยละ 0.2 และผ่านการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ –20 และ -50 องศาเซลเซียส นาน 6 เดือน เจลมีคุณภาพไม่แตกต่างจากซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาสด สอดคล้องกับรายงานของ Suvanich และคณะ (2000) กล่าวว่าการเก็บรักษาวัตถุดิบใช้ผลิตซูริมิไว้ในสภาพแช่เยือกแข็งอาจทำได้หลายวิธี เช่น ปลาทั้งตัว ปลาแล่ และเนื้อปลาบด การรักษาเนื้อปลาแล่โดยการแช่เยือกแข็งเป็นวิธีที่กำลังได้รับความสนใจด้วยเหตุผลที่ว่า สามารถลดปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้ย่อยโปรตีนที่อยู่ในเครื่องในปลาซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการเน่าเสียของปลา Simpson และคณะ (1994) รายงานว่าการเติมซูโครส ร้อยละ 12 และ พอลิฟอสเฟตร้อยละ 0.2 ลงใน

เนื้อปลาบด เพื่อเป็นสารป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีน ก่อนที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียสจากนั้นนำวัตถุดิบดังกล่าวมาผลิตซูริมิ พบว่าเจลที่ได้มีคุณภาพดี ดังนั้นการเติมสารเติมแต่งอาหารที่มีคุณสมบัติป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีน ลงในเนื้อปลาแล่ และปลาบดก่อนการแช่เยือกแข็ง จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถป้องกันการสูญเสียคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนได้ (Shenouda, 1980; Lee, 1984; MacDonald and Lanier, 1991)

Hanson และ Kowalewski (1992) รายงานว่าสารประกอบฟอสเฟตสามารถช่วยรักษาโครงร่างของโปรตีนในซูริมิระหว่างการแช่เยือกแข็ง และการเก็บรักษาแช่-เยือกแข็ง แต่ในการเกิดเจลของซูริมิ ไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนจำเป็นต้องผ่านการสูญเสียสภาพของโครงสร้างเดิม ดังนั้นยังมีข้อสงสัยว่าฟอสเฟตที่เติมในขั้นตอนการผลิตซูริมิและผลิตภัณฑ์จากซูริมินั้นมีบทบาทต่อการเกิดเจลในลักษณะใด

อุณหภูมิของห้องเย็น และความแปรปรวนของอุณหภูมิห้องเย็นขณะเก็บรักษาเป็นปัจจัยสำคัญ ที่มีผลต่อการลดคุณภาพของเนื้อปลาแล่ในระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็ง งานวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นเพื่อศึกษาบทบาทของไตรพอลิฟอสเฟตที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนในเนื้อปลาแล่และซูริมิระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็ง-ทำละลายและรวมทั้งศึกษาผลของไตรพอลิฟอสเฟตที่มีผลต่อคุณภาพของเจลซูริมิ

ตรวจเอกสาร

1. ปลาทรายแดง และ องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา

ปลาทรายแดง (*Nemipterus hexadon*) ชื่อสามัญ threadfin bream (Min *et al.*,1987) ซึ่งมีลำตัวแบนยาวมีแถบสีเหลืองสว่าง 5 แถบตามยาวด้านข้างลำตัว โดยเฉลี่ยแล้วจะมีขนาดลำตัวยาว 10-25 เซนติเมตร ดังแสดงในรูปที่ 1 สามารถพบปลาทรายแดงได้ตามชายฝั่งทะเลอันดามัน และชายฝั่งทะเลประเทศเวียดนาม เนื้อปลาทรายแดงมีสีขาว มีกลิ่นรสดี และเมื่อนำมาเตรียมเจล เจลที่ได้มีความแข็งแรงสูง มีปริมาณไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนสูง และมีความคงตัวในระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็งทำให้สามารถผลิตซูริมิที่มีคุณภาพสูงได้ (Lanier and Lee , 1992)

องค์ประกอบหลักทางเคมีของเนื้อปลา ประกอบด้วยน้ำ โปรตีน และ ไขมัน ซึ่งคล้ายกับองค์ประกอบทางเคมีของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Mackie, 1994) ปริมาณองค์-ประกอบหลักของเนื้อปลาจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ อายุ สภาวะโภชนาการของปลา และรวมทั้งวงจรสืบพันธุ์ (Almas, 1981) Kongpun (1999) รายงานว่าองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาทรายแดงประกอบด้วย น้ำร้อยละ 78.9 โปรตีนร้อยละ 16.5 ไขมันร้อยละ 1.2 วิตามินและแร่ธาตุร้อยละ 0.9 โดยที่ น้ำ โปรตีน และไขมันเป็นองค์ประกอบที่มีผลกระทบต่อคุณค่าทางโภชนาการ คุณสมบัติเชิงหน้าที่ คุณสมบัติทางประสาทสัมผัส และความคงตัวระหว่างการเก็บรักษา

Suzuki และคณะ (1981) ได้รายงานว่าโปรตีนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของกล้ามเนื้อปลาซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ

1. ไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีน (myofibrillar protein) มีอยู่ประมาณ ร้อยละ 70-80 ของโปรตีนทั้งหมด มีลักษณะเป็นเส้นทำหน้าที่ในการยืดหดของกล้ามเนื้อประกอบด้วยโปรตีนที่สำคัญ คือ

-ไมโอซิน (myosin) เป็นโปรตีนที่พบในส่วน thick filament มีประมาณร้อยละ 40-60 ของไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนทั้งหมด โดยมีน้ำหนักโมเลกุล 480,000 dalton (Bechtet, 1986) มีรูปร่างโมเลกุลดังแสดงในรูปที่ 2 ซึ่งสามารถจำแนกโมเลกุลไมโอซิน

ออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนหัวของโมเลกุลเป็นด้านปลายไนโตรเจน (N-terminal) มีลักษณะเป็นทรงกลม สำหรับส่วนหางเป็นด้านปลายคาร์บอน (C-terminal) มีรูปร่างเป็นเส้นประกอบด้วยสายโพลีเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 200,000 dalton จำนวน 2 เส้น และสายโพลีเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ คือมีน้ำหนักโมเลกุล 20,000 dalton จำนวน 4 เส้น (Watabe *et al.*, 1982)

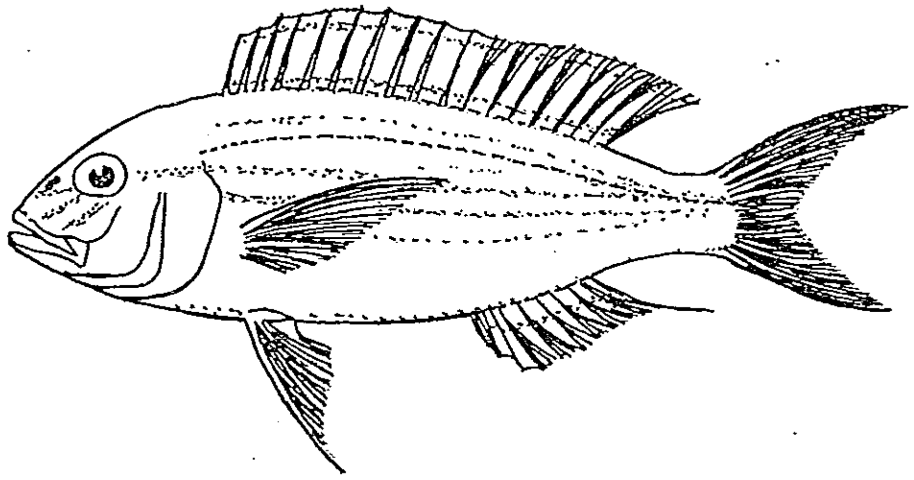
-แอคติน (actin) เป็นโปรตีนที่พบในส่วนของ thin filament มีอยู่ประมาณร้อยละ 15-30 ของไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนทั้งหมดของกล้ามเนื้อปลา โดยมีน้ำหนักโมเลกุล 42,000 dalton ทำหน้าที่ร่วมกับไมโอซินในการยืดหดกล้ามเนื้อ ซึ่งอยู่ในรูปของแอคโตไมโอซิน

-โทรโปนิน (troponin) เป็นโปรตีนที่พบใน thin filament มีประมาณ ร้อยละ 5 ของไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนโดยมีน้ำหนักโมเลกุล 36,500 dalton (Bechtel, 1986)

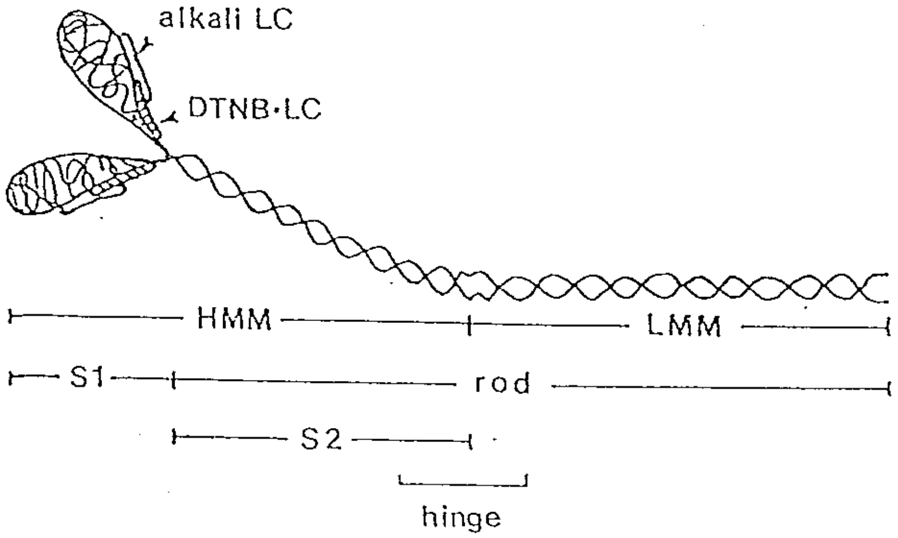
-โทโปรไมโอซิน (tropomyosin) เป็นโปรตีนที่พบใน thin filament มีประมาณร้อยละ 5 ของไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนโดยมีน้ำหนักโมเลกุล 37,000 dalton

2. ซาร์โคพลาสมิกโปรตีน (sarcoplasmic protein) มีอยู่ประมาณร้อยละ 20-30 ของโปรตีนทั้งหมด ซึ่งเป็นโปรตีนที่ละลายน้ำได้ เช่น ไมโอโกลบิน และ ไซโตโครม

3. สโตรมา (stroma) เป็นโปรตีนที่อยู่ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน มีประมาณร้อยละ 2-3 ในปลากระดูกแข็ง และร้อยละ 10 ในปลากระดูกอ่อน ประกอบด้วยคอลลาเจน (collagen) และอีลาสติน (elastin)



รูปที่ 1 ปลาทรายแดง (*Nemipterus hexadon*)
ที่มา : Lanier และ Lee (1992)



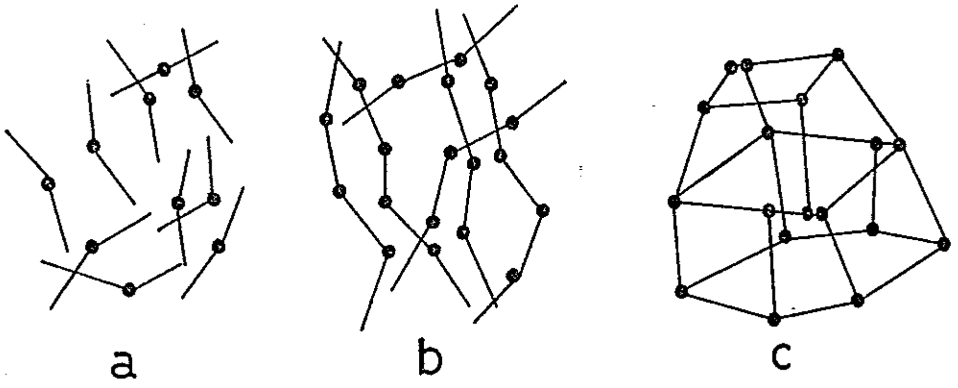
รูปที่ 2. รูปแบบจำลองของไมโอซิน
ที่มา : Watabe และคณะ (1982)
หมายเหตุ HMM : Heavy meromyosin ; LMM : Light meromyosin ;
S1 : Subfragment-1 ; S2 : Subfragment-2

2. ซูริมิ

ซูริมิเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อปลาบด ที่เตรียมได้โดยนำปลามาผ่านกระบวนการแยกเนื้อออกจากกระดูกแล้วนำเนื้อปลาบดนั้นมาล้างเพื่อกำจัดโปรตีนที่ละลายได้ ไขมันและสารที่ทำให้เกิดกลิ่นคาว บีบน้ำแล้วคัดแยกสิ่งแปลกปลอมหลังจากนั้นเติมสารป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีน ระหว่างการแช่เยือกแข็ง เช่น น้ำตาล ซอร์บิทอล และโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต เป็นต้น จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปลดอุณหภูมิให้ได้ –18 องศาเซียลเซียส (Chang-Lee, 1989 : Suzuki , 1981)

3. การเกิดเจลของโปรตีนปลา *

การเกิดเจลเป็นการเชื่อมประสานอย่างเป็นระเบียบของสายโซ่โปรตีน เกิดเป็นโครงสร้างตาข่าย 3 มิติ ทำให้สามารถเก็บกักของเหลวไว้ในโครงสร้าง (Asghar *et al* ., 1985 ; Smith , 1991) ดังแสดงในรูปที่ 3 การเกิดโครงสร้างตาข่าย 3 มิติ ต้องประกอบด้วยการเชื่อมอย่างน้อย 3 จุด ในทุกโมเลกุล



รูปที่ 3 การเกิดโครงสร้างตาข่ายเจลของสายโซ่โปรตีน

(-) สายโซ่โปรตีน , (0) การเชื่อมประสาน , a และ b ไม่เกิดโครงสร้างตาข่าย

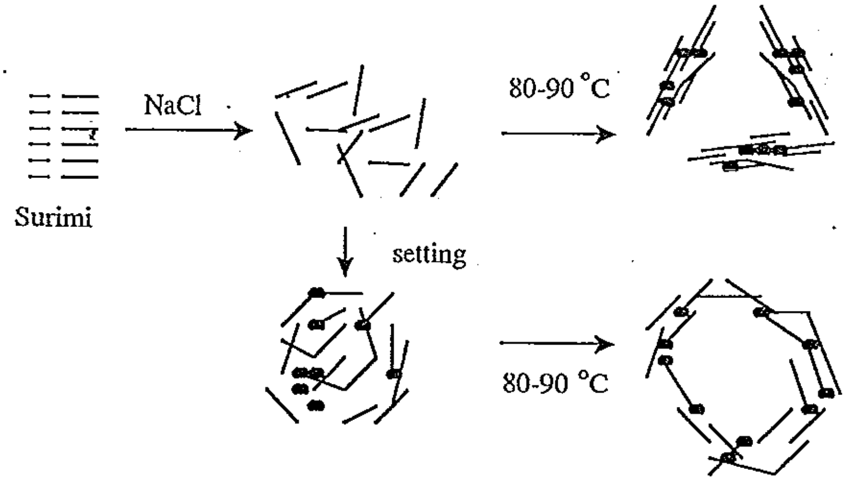
c โครงสร้างที่มีลักษณะเป็นโครงสร้างตาข่าย

ที่มา : Lanier (1997)

ขั้นตอนการเกิดเจลประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลัก คือ

1. การสูญเสียสภาพของโปรตีน คือโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุล เช่น โปรตีนเกิดการคลายตัว เมื่อใช้เกลือผสมในเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้างน้ำทำให้ไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนซึ่งเป็นโปรตีนที่ละลายในเกลือเกิดการคลายตัว นอกจากนี้การให้ความร้อนกับโปรตีนมีผลให้โปรตีนเกิดการสูญเสียสภาพได้เช่นกัน (Smith,1991)

2. การจับตัวกัน เป็นผลมาจากการสูญเสียสภาพของโปรตีน แล้วมีการจับตัวกันอย่างเป็นระเบียบอย่างช้าๆเกิดเป็นโครงสร้างตาข่ายที่ห่อหุ้มน้ำและองค์ประกอบอื่นๆ ไว้ภายในโครงสร้าง สำหรับการเตรียมเจลเริ่มจากการสับซูริมิกับเกลือประมาณร้อยละ 2-3 ก่อนเพื่อเพิ่มความสามารถละลายของไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนเพื่อทำให้เจลที่เตรียมได้มีคุณสมบัติยืดหยุ่น และมีความคงตัวที่ดี เรียกว่า โซล (Akahane and Shimisu , 1989) เมื่อให้ความร้อนแก่โซลที่อุณหภูมิต่ำ หรือการเก็บโซลไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิห้อง โซลจะเปลี่ยนเป็นเจลใสเรียกว่า ซูวาริ ในระยะนี้ ไมโอซินได้จับกันเป็นโครงสร้างตาข่าย 3 มิติ (Suzuki , 1981 ; Wu *et al* ., 1985) ทั้งนี้อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดเจลซูวาริแตกต่างไปตามชนิดของปลา (Shimizu *et al* ., 1981 ; Hasting , 1990) เมื่อให้ความร้อนกับเจลซูริมิจนกระทั่งถึงอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่าโครงสร้างของเจลจะถูกทำลาย ปรากฏการณ์ดังกล่าวเรียกเจลในระยะเวลานี้ว่า เจลโมโดริ (Suzuki , 1981) สำหรับการเกิดเจลคามาโบโกะ เกิดขึ้นเมื่อให้ความร้อนผ่านระยะโมโดริ ในช่วงนี้โมเลกุลของไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างที่แข็งแรงกว่าโครงสร้างเจลซูวาริ ลักษณะปรากฏของเจลจะไม่ใสเหมือนเจลซูวาริ (Niwa,1992) คุณสมบัติสำคัญของเจลคามาโบโกะ คือมีความยึดเกาะและยืดหยุ่นที่ดีและมีความสามารถในการอุ้มน้ำในปริมาณสูง คุณสมบัติเหล่านี้เป็นผลมาจากการจับตัวกันของโปรตีนเป็นโครงสร้างตาข่ายอย่างช้าๆในระยะซูวาริ (Niwa, 1985) (รูปที่ 4) ดังนั้นการเซ็ตตัวจึงมีบทบาทสำคัญต่อการเพิ่มความแข็งแรงของเจล (Chan *et al* .,1995)



รูปที่ 4 แบบจำลองโครงสร้างเจลที่ผ่านและไม่ผ่านการเตรียมเจลซูวาริ
ที่มา : ดัดแปลงจาก Niwa (1985)

4. **ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB)** *

การตรวจสอบหาปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดเป็นวิธีหนึ่งที่นำมาใช้เป็นดัชนีบ่งบอกคุณภาพของสัตว์น้ำได้ การตรวจสอบหาปริมาณ TVB เป็นการตรวจค่ารวมทั้งค่า TMA, DMA, แอมโมเนีย เมื่อปลาเริ่มเสื่อมคุณภาพปริมาณ TVB จะสูงขึ้น Huss (1988) รายงานว่าในช่วงที่ปลามีคุณภาพยอมรับได้ค่า TVB จะมีค่าต่ำ จนกระทั่งมีคุณภาพลดลงใกล้จะไม่ยอมรับทางประสาทสัมผัส ค่า TVB เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว

Al-Kahtani และคณะ (1996) กล่าวว่าเนื้อปลาที่มีความสดลดลงแต่การเน่าเสียยังไม่มากนักอาจประเมินคุณภาพได้จากค่า TVB ในขณะที่เมื่อการเน่าเสียมากขึ้นควรประเมินด้วยค่า TMA และแอมโมเนีย Banks และคณะ (1980) แนะนำว่าปลาสดควรมีปริมาณ TVB ต่ำกว่า 12 มิลลิกรัม / 100 กรัมตัวอย่าง ส่วนปลาที่ยังบริโภคได้มี

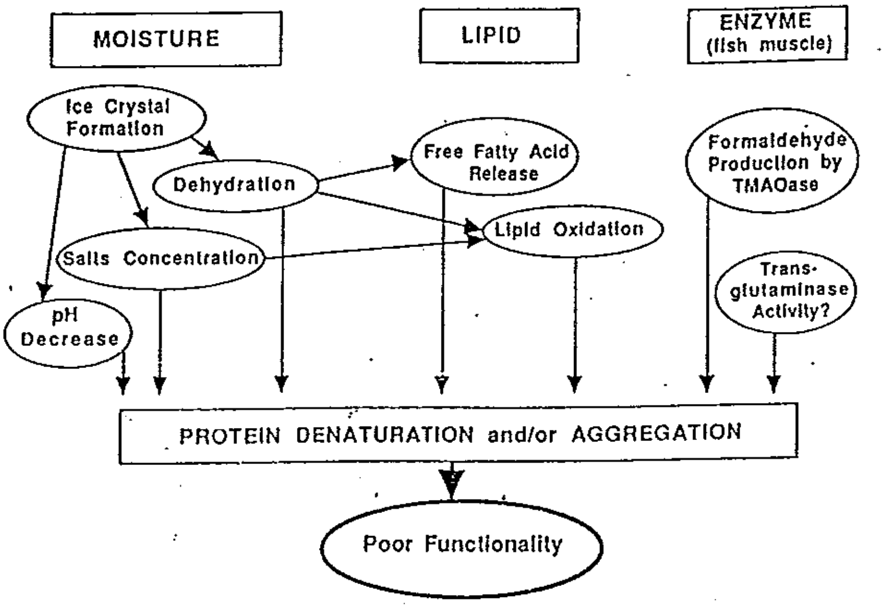
ปริมาณ TVB 12 - 20 มิลลิกรัม / 100 กรัมตัวอย่าง และปลาที่เริ่มเกิดการเน่าเสียมีปริมาณ TVB มากกว่า 20 มิลลิกรัม / 100 กรัมตัวอย่าง

5. ระดับของไตรเมทธิลเอมีน (TMA)

ไตรเมทธิลเอมีนมีสาเหตุมาจากการสลายตัวของไตรเมธิลเอมีนออกไซม์ (TMAO) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีแอมโมเนียเป็นองค์ประกอบสำคัญ พบมากในสัตว์น้ำเค็ม โดยทั่วไป TMAO จะแตกตัวให้ไตรเมทธิลเอมีน และฟอร์มัลดีไฮด์ โดยเอนไซม์จากเนื้อเยื่อและแบคทีเรีย การตรวจสอบค่า TMA นั้นให้ผลดีเมื่อปลาเสื่อมเสียคุณภาพระยะหลัง ซึ่งมีแบคทีเรียเข้ามามีบทบาทเพิ่มมากขึ้น Ng และคณะ (1982) รายงานว่าเมื่อปลา cod, haddock และ herring มีค่า TMA ประมาณ 5 มิลลิกรัมไนโตรเจน / 100 กรัมตัวอย่าง ปลาจึงเริ่มเสื่อมเสียคุณภาพ ส่วนปลาจะละเม็ด และปลาเก๋าค่า TMA ประมาณ 2 – 3 มิลลิกรัมไนโตรเจน / 100 กรัมตัวอย่าง ก็เริ่มปรากฏกลิ่นคาวจัด

6. การสูญเสียสภาพของโปรตีนในระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็ง

MacDonald และ Lanier (1991) ได้เสนอแบบจำลองเพื่ออธิบายปัจจัยที่มีผลต่อการสูญเสียสภาพของโปรตีนระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งว่า เกิดจากปัจจัยที่สำคัญ 3 ประการ คือ ผลจากการแช่เยือกแข็งและสภาวะในการเก็บรักษา ผลจากการเปลี่ยนแปลงของไขมัน และ ผลจากการเกิดปฏิกิริยากับฟอร์มัลดีไฮด์ (รูปที่ 5)



รูปที่ 5. ปัจจัยที่มีผลต่อการสูญเสียสภาพของโปรตีน ระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็ง

ที่มา : MacDonald และ Lanier (1991)

6.1 ผลของการแช่เยือกแข็ง และสภาวะที่ใช้ในการเก็บรักษา

การเก็บรักษาเนื้อปลาโดยการแช่เยือกแข็งก่อให้เกิดเนื้อสัมผัสที่แข็งและแห้งมากขึ้นตามระยะเวลาของการเก็บรักษา เป็นผลมาจากการสูญเสียสภาพและการเกิดการรวมตัวกันของโปรตีนในระหว่างการแช่เยือกแข็ง (Subramanian, 1997) คือน้ำจะเปลี่ยนเป็นน้ำแข็งทำให้ของเหลวที่ไม่ผ่านการแช่แข็งมี ionic strength สูงขึ้น นอกจากนี้โปรตีนเกิดการสูญเสียน้ำในช่วงการแช่แข็ง เกิดการรวมตัวกันของหมู่ซัลไฮดริล การกำจัดหมู่เอมีน (deamination) และการเกิดออกซิเดชั่นของหมู่อะมิโนอิสระ ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของโปรตีน เช่น การเพิ่มขึ้นของพันธะไดซัลไฟด์ อัลดีไฮด์ การเชื่อมต่อกันของหมู่เอสเทอร์ และหมู่อะมิโนอิสระ ทำให้ปริมาณหมู่ไฮโดรโฟบิคมากขึ้นและเป็นสาเหตุให้เกิดการสูญเสียน้ำ เนื่องจากปริมาณหมู่ไฮโดรฟิลลิค

ลดลง ทำให้หมู่ไฮโดรโฟบิคที่สามารถเกิดปฏิกิริยาภายในหรือระหว่างโมเลกุลโปรตีนอยู่ใกล้ชิดกันมากขึ้นและเกิดการรวมตัวกันของโปรตีน มีผลให้กล้ามเนื้อมีความเหนียวเพิ่มขึ้น (Lablanc , 1992)

การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ในห้องเย็นที่มีอุณหภูมิต่ำและ การควบคุมอุณหภูมิของห้องเย็นให้เกิดความผันแปรน้อยที่สุด เป็นปัจจัยสำคัญต่อการรักษาคุณภาพที่ดีของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากความแปรปรวนของอุณหภูมิห้องเย็น มีผลกระทบต่อโครงสร้างเนื้อเยื่อของเซลล์กล้ามเนื้อปลา คือก่อให้เกิดการทำลายออร์แกนเนล เช่นไมโตคอนเดียและไลโซโซม จึงทำให้เกิดการปลดปล่อยของเหลวออกจากเซลล์ (Foegeding *et al.*, 1996) Koning และ Mon (1991) รายงานว่า ในระหว่างการเก็บรักษาปลาเฮกแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส ทั้งที่ในรูปเนื้อปลาแล่ และปลาบด ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ลดลงตามอายุการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นซึ่งการลดลงของโปรตีนมีผลให้มีค่าการยอมรับทางประสาทสัมผัสลดลง

Connell (1961) กล่าวว่าโปรตีนของกล้ามเนื้อปลาโดยเฉพาะไมโอไฟบริลล่าร์-โปรตีนจะเกิดการสูญเสียสภาพได้ง่ายกว่าโปรตีนในสัตว์เลือดอุ่น ความคงตัวของโปรตีนในกล้ามเนื้อปลามีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิแหล่งน้ำที่ปลาอาศัย โดยพบว่าโปรตีนของปลาที่จับได้จากแหล่งน้ำในเขตร้อนมีความคงตัวที่สูงกว่าโปรตีนของปลาที่จับได้จากแหล่งน้ำเขตหนาว (Hashimoto *et al* ., 1982)

6.2 ผลของไขมัน

Connell และคณะ (1975) ระบุว่าการเกิดกรดไขมันอิสระ และฟอร์มัลดีไฮด์เป็นสาเหตุสำคัญต่อการสูญเสียสภาพของโปรตีน Konning และ Mol (1991) กล่าวว่าการเปลี่ยนแปลงของไขมันและโปรตีน ในระหว่างการเก็บรักษาปลาเฮกทั้งที่ในรูปเนื้อปลาแล่ และปลาบดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส นั้นมีความสัมพันธ์กันโดยที่ไขมันที่ถูกออกซิไดซ์ มีบทบาทสำคัญต่อการสูญเสียสภาพของโปรตีน เนื่องจากสามารถเกิดปฏิกิริยากับหมู่ที่มีความจำเพาะต่อกัน เช่น หมู่ซัลไฮดริลของกรดอะ-มิโนซิสเตอีน หมู่อะมิโนของไลซีน และปลายด้านอะมิโนของกรดแอสปาร์ติก ไทโรซีน

เมทไทโอนีน และอาร์จีนีน ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนั้นมีผลทำให้ความไม่ชอบน้ำบนผิวหน้าโมเลกุลโปรตีนเพิ่มขึ้น และมีผลให้ความสามารถในการละลายของโปรตีนลดต่ำลง (Kussi *et al.*, 1975)

6.3 ผลของฟอร์มัลดีไฮด์

Babbitt และ Castell (1973) รายงานว่าโปรตีนในปลาตระกูล Gadoid เกิดการสูญเสียสภาพของโปรตีนได้ง่ายกว่าปลาในตระกูลอื่นๆ ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากปลาในตระกูลนี้มีเอนไซม์ ไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ดีเมทิลเลส (TMAOase) ซึ่งเร่งให้เกิดการย่อยสลายไตรเมทิลเอมีนออกไซม์ (TMAO) เป็นไดเมทิลเอมีน (DMA) และฟอร์มัลดีไฮด์ (HCHO) ได้เร็วขึ้น (Gill, 1979) Mackie (1993) กล่าวว่าฟอร์มัลดีไฮด์ สามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีน โดยเชื่อมประสานกันด้วยพันธะโควาเลนท์ของหมู่เมทธิลีน ทำให้น้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้นกลายเป็นโพลีเมอร์ที่ไม่สามารถละลายในสารละลายที่มีคุณสมบัติทำละลายพันธะไฮโดรเจน การทำปฏิกิริยาของฟอมัลดีไฮด์กับโปรตีนเกิดได้สูงขึ้น เมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น และระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ทำให้เนื้อสัมผัสมีลักษณะเหนียว (Connell , 1975) นอกจากนี้ปริมาณของฟอร์มัลดี-ไฮด์จะเพิ่มขึ้น เมื่อสัตว์น้ำเน่าเสียมากขึ้น (Hultin, 1992 ; Lanier, 2000) Ang และ Hultin (1989) พบว่าการเติมฟอร์มัลดีไฮด์ในปริมาณเพียงเล็กน้อยในปลาคอด ที่ทำการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ –80 องศาเซลเซียส มีผลให้ความสามารถในการละลายของโปรตีนลดลง เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น

7.การป้องกันการสูญเสียสภาพของไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนโดยใช้พอลิฟอสเฟต

Lee (1984) ได้รายงานว่าการสูญเสียสภาพ หรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีน ในเนื้อปลาและผลิตภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็ง เป็นสาเหตุสำคัญของการสูญเสียคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนโดยเฉพาะความสามารถในการละลายและความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนปลา Matsumato (1980) รายงานว่าการสูญเสียคุณภาพของซูริมิจากปลาเรดเฮก

จากการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งนั้นตรวจสอบได้จากการที่เจลมีค่าความแข็งแรงและความยืดหยุ่นลดลง Park และคณะ (1988) กล่าวว่าการเติมสารเติมแต่งอาหารที่มีคุณสมบัติป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีนลงในซูริมิก่อนการแช่เยือกแข็งมีผลให้ซูริมิหลังการละลายยังคงมีความสามารถในการเกิดเจลที่ดี

Hanson และ Kowalewski (1992) ได้กล่าวว่าการใช้สารพอลิฟอสเฟต ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลนั้นได้รับการรับรองให้เป็นส่วนประกอบที่ใช้กับอาหารได้อย่างปลอดภัย ซึ่งในสหรัฐอเมริกาให้การรับรองว่าพอลิฟอสเฟตเป็นสารที่เติมลงไปในอาหารเพื่อประโยชน์ในการทำให้กระบวนการผลิตดีขึ้น โดยสารประกอบฟอสเฟตที่ใช้ในอุตสาหกรรมในการผลิตซูริมิ คือ ไดโซเดียมฟอสเฟต โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต และโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ซึ่งโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตเป็นสารประกอบที่นิยมใช้มากที่สุดในอุตสาหกรรมอาหารทะเล

Bendall (1954) ได้กล่าวถึงบทบาทและคุณสมบัติของไตรพอลิฟอสเฟต ว่ามีผลต่อโปรตีนในกล้ามเนื้อ คือสามารถแยกไมโอซินออกมาจากโปรตีนแอคโตไมโอซิน จึงทำให้สามารถจับกับน้ำได้ง่ายขึ้น ดังนั้นการใช้ฟอสเฟตจึงมีผลช่วยรักษาโปรตีน เกลือแร่ และวิตามินในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลได้ Ellinge (1972) รายงานว่าการเติมสารประกอบพอลิฟอสเฟตสามารถยับยั้งการสูญเสียสภาพของโปรตีนได้ด้วยกลไก 2 ประการ คือเกลือฟอสเฟตจะจับกับโปรตีน มีผลต่อการเพิ่มจำนวนหมู่ที่มีขั้วบนโปรตีน ดังนั้นการละลายจึงเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ฟอสเฟตสามารถจับกับอนุมูลต่างๆ เช่น แคลเซียม สังกะสี ส่งผลให้ความมีขั้วเพิ่มสูงขึ้น คุณสมบัติในการจับกับน้ำจึงมีค่าเพิ่มขึ้น เพราะในการแช่เยือกแข็งหรือการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็ง มักทำให้เซลล์แตก โปรตีนสูญเสียสภาพทำให้เกิดการสูญเสียน้ำเพิ่มมากขึ้น การเติมสารประกอบฟอสเฟตจึงเป็นการเพิ่มความเป็นขั้วของโปรตีนทำให้โปรตีนสามารถดูดซับของเหลวที่เกิดขึ้นระหว่างการละลาย (Chang and Regenstein, 1997) สำหรับบทบาทของสารประกอบฟอสเฟต ต่อการป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีนนั้น Lee (1984) ได้อธิบายว่าฟอสเฟตช่วยรักษาค่าพีเอชให้มีความเป็นกลาง ซึ่งเป็นสภาพที่โปรตีนมีความคงตัวมากที่สุด นอกจากนี้ฟอสเฟตยังสามารถจับกับอิออนของโลหะที่มี

ประจุ +2 ชนิดต่างๆ เช่น Fe^{+2}และ Cu^{+2} ที่เกี่ยวข้องกับการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้ (Kumazawa *et al*., 1990) นอกจากนี้สารประกอบฟอสเฟตสามารถแตกตัว แยกแอคโตไมโอซิน เนื่องจากฟอสเฟตมีคุณสมบัติคล้าย ATP ทำให้สามารถสกัดไมโอซิน ส่งผลให้มีการสลาย A-band จากบริเวณด้านปลายของไมโอฟิลาเมนท์เส้นหนา (Nauss *et al*., 1969) การแตกตัวของแอคโตไมโอซินจะทำให้ไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนสามารถอุ้มน้ำได้มากขึ้น โดยน้ำจะเข้าไปแทรกซึมอยู่ระหว่างช่องว่างที่เกิดการแตกตัว (Xiong *et al*., 2000)

Park และคณะ (1987) ศึกษาความคงตัวของโปรตีนด้วยเครื่อง ดิฟเฟอเรนเชียน สแกนนิ่ง แคลอริเมททรี (Differrential Scanning Calorimetry : DSC) พบว่าการเติมสารผสมระหว่างน้ำตาล ร่วมกับ ซอร์บิทอล และสารประกอบพอลิฟอสเฟตในซูริมิ มีผลให้ค่า Tmax ซึ่งเป็นระดับอุณหภูมิที่แสดงการเปลี่ยนแปลงสภาพของไมโอซิน มีค่าเพิ่มขึ้นจากค่า Tmax ของโปรตีนในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าสารป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีน มีผลให้ไมโอซินมีความคงตัวเพิ่มขึ้นแต่ไม่มีผลต่อการเพิ่มความคงตัวให้โมเลกุลแอคตินแต่อย่างใด

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของไตรพอลิฟอสเฟตต่อการเกิดเจลของซูริมิจากปลาทรายแดงแล่ระหว่างการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย
2. ศึกษาผลของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย ต่อการเปลี่ยนแปลงไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีน

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัสดุ

1.วัตถุดิบ

เก็บตัวอย่างปลาทรายแดงจากท่าเทียบเรือประมง อ. เมือง จ. สงขลา โดยบันทึกสภาพการเก็บรักษา อายุการเก็บรักษารวมทั้งแหล่งที่จับ ก่อนนำปลาไปบรรจุในกล่องโฟมโดยวางปลาสลับกับน้ำแข็งในอัตราส่วนน้ำแข็งต่อปลา 2 : 1 ระหว่างขนส่งมายังห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร ภายในเวลา 1 ชั่วโมง

2. สารเคมี

สารเคมีเกรดวิเคราะห์ต่างๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ชนิดของโปรตีน และคุณภาพของเจล ได้แก่

โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต
โพแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต
โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต
กรดไตรคลอโรอะซิติก
โซเดียมโพแตสเซียมทาร์เตรท
โฟลีนฟีนอล
โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต
โบรโมฟีนอลบลู
โพแทสเซียมคาร์บอเนต
โซเดียมคาร์บอเนต

อุปกรณ์

1. ชุดอิเล็กโตโฟริซิส ยี่ห้อ Bio-Rad รุ่น Mini- Protein II ประเทศสหรัฐอเมริกา
2. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ Hitachi รุ่น U-200 ประเทศญี่ปุ่น
3. เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส ยี่ห้อ Stable Micro Systems รุ่น TA-XT2 ประเทศอังกฤษ
4. เครื่องโฮโมจีไนส์เซอร์ ยี่ห้อ Nissel รุ่น AM-8 ประเทศญี่ปุ่น
5. เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Sorvall รุ่น RC-5B plus ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. เครื่องกวนชนิดแม่เหล็ก ยี่ห้อ IKAMG รุ่น R010 power ประเทศเยอรมันนี
7. เครื่องสับผสม ยี่ห้อ National รุ่น MK-K77 ประเทศญี่ปุ่น
8. อ่างควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert รุ่น W 350 ประเทศเยอรมันนี
9. เครื่องแช่เยือกแข็งแบบเพลทสัมผัส ยี่ห้อ Platejunior รุ่น CAJ7-422 ประเทศสหรัฐอเมริกา
10. ห้องเก็บแช่เยือกแข็ง –20 องศาเซลเซียส
11. เครื่องพีเอชมิเตอร์ ยี่ห้อ Denver instrument รุ่น 15 ประเทศสหรัฐอเมริกา

วิธีการทดลอง

1. วิเคราะห์องค์ประกอบโปรตีนและสมบัติของโปรตีนกล้ามเนื้อปลาทรายแดง

1.1 คุณภาพ และองค์ประกอบทางเคมี ของกล้ามเนื้อปลาทรายแดง

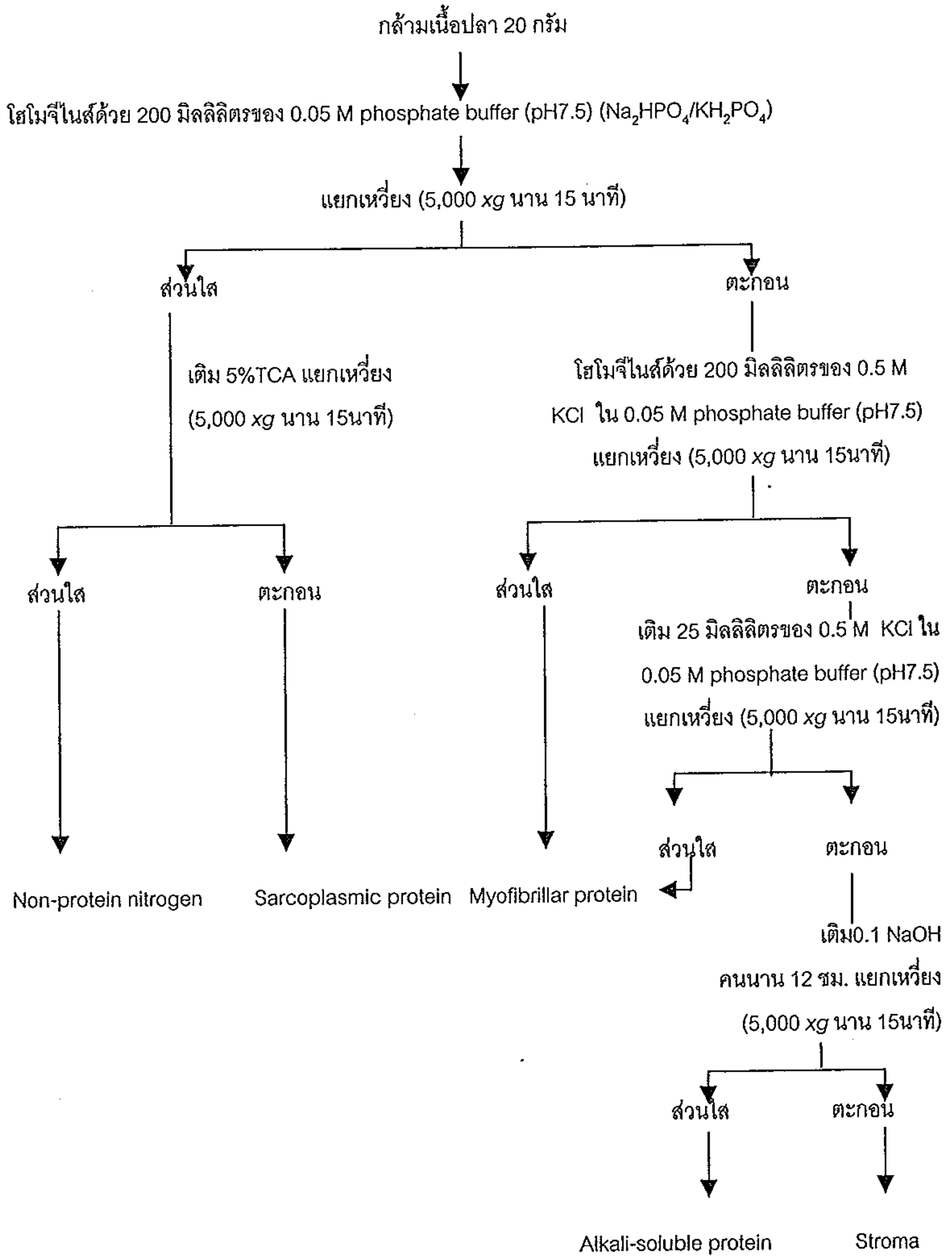
1.1.1 วิเคราะห์องค์ประกอบกล้ามเนื้อปลาทรายแดงได้แก่ โปรตีน ความชื้น ไขมัน และเถ้า ด้วยวิธี A.O.A.C. (1995)

1.1.2 ตรวจสอบปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด และปริมาณไตรเมทิลเอมีนด้วยวิธี Conway (Hasegawa, 1987)

1.1.3 ตรวจสอบลักษณะปรากฏของปลาทรายแดงได้แก่ เหงือก ตา เกล็ด กลิ่น และความแน่นเนื้อ (Lindley, 1978)

1.2 ตรวจสอบชนิดของโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน

แยกส่วนโปรตีนต่างๆ จากกล้ามเนื้อปลาทรายแดงตามวิธีของ Hashimoto และคณะ (1979) (รูปที่ 6) อันได้แก่ สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน ซาร์โค-พลาสมิคโปรตีน ไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีน โปรตีนที่ละลายในด่าง และ สโตรมา จากนั้นตรวจสอบรูปแบบและน้ำหนักโมเลกุลของไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนที่แยก โดยใช้ Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) 10% running gel และ 4 % stacking gel ตามวิธีการของ Leammli (1970)



รูปที่ 6. ขั้นตอนการแยกส่วนโปรตีนจากกล้ามเนื้อปลา
ที่มา : ดัดแปลงจาก Hashimoto และคณะ (1979)

2. **ศึกษาผลของไตรพอลิฟอสเฟตต่อคุณสมบัติของโปรตีนในปลาแล่และซูริมิ**

นำปลาทรายแดงมาแล่และแบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลอง

ชุดที่1. นำเนื้อปลาแช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตเข้มข้น ร้อยละ 5 โดยใช้อัตราส่วนสารละลายต่อเนื้อปลาเท่ากับ 2 : 1 (น.น/ปริมาตร) และทำการตรวจสอบหาปริมาณฟอสเฟตในทุกๆ 5 นาที จนกระทั่งเนื้อปลามีโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตเข้มข้นเป็นร้อยละ 0.2 (บันทึกเวลาที่ใช้แช่)

ชุดที่ 2. เป็นชุดควบคุม นำเนื้อปลาแช่ในน้ำเป็นเวลาเท่ากับชุดการทดลองที่ 1

จากนั้นนำตัวอย่างทั้ง 2 ชุด ไปแช่เยือกแข็งด้วยเครื่องแช่เยือกแข็งแบบเพลทสัมผัสจนอุณหภูมิตรงจุดกึ่งกลางของเนื้อปลามีค่า –30 องศาเซลเซียส เก็บรักษาในห้องเก็บเยือกแข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำออกมาละลายในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งอุณหภูมิตรงจุดกึ่งกลางของเนื้อปลามีค่า 0 องศาเซลเซียส (ซึ่งเนื้อปลาบริเวณรอบนอกมีอุณหภูมิ 2-3 องศาเซลเซียส) เพื่อจำลองผลของความแปรปรวนของอุณหภูมิห้องเย็นระหว่างการเก็บรักษาตัวอย่างจะผ่านการแช่เยือกแข็งและละลายในลักษณะที่กล่าวมาข้างต้น จำนวน 0, 1, 2, 3, 4, และ 5 รอบ จากนั้นนำตัวอย่างของแต่ละชุดการทดลองมาแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ

2.1 ส่วนแรกนำมาวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

2.1.1 ตรวจสอบปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด และปริมาณไตรเมทธิลเอมีนด้วยวิธี Conway (Hasegawa, 1987)

2.1.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ตามวิธีของ Chang และ Regenstein (1997)

2.1.3 ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือตามวิธีการของ Sych และคณะ (1990)

2.1.4 ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนตามวิธีการของ Hasegawa (1987)

ฝ่ายหอสมุด
คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร

2.1.5 ค่า Tmax ของโปรตีนในเนื้อปลาแล่ ตามวิธีการของ Kim และคณะ (1986)

2.1.6 องค์ประกอบโปรตีนในเนื้อปลาแล่โดยใช้ SDS-PAGE ตามวิธีการของ Leammli (1970)

2.2 ส่วนที่สองนำมาผลิตเป็นซูริมิตามวิธีการของ Lee (1984) (**รูปที่** 7) และทำการตรวจสอบค่าต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

2.2.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ตามวิธีของ Chang และ Regenstein (1997)

2.2.2 ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือตามวิธีการของ Sych และคณะ (1990)

2.2.3 ค่า Tmax ของโปรตีนในซูริมิตามวิธีการของ Kim และคณะ (1986)

2.2.4 องค์ประกอบโปรตีนในซูริมิโดยใช้ SDS-PAGE ตามวิธีการของ Leammli (1970)

2.2.5 ตรวจสอบความแข็งแรงของเจลโดยเครื่อง Texture analyzer โดยตรวจสอบค่า breaking force และ deformation ใช้หัวเข็มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร โดยสภาวะในการเตรียมเจลซูริมิ คือเซ็ทตัวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง แล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที (Kim *et al* ., 1986)

ปลาทรายแดง

↓

ล้างน้ำ

↓

ขอดเกล็ด, ตัดหัว และควักไส้

↓

ล้างน้ำ

↓

แยกเนื้อปลาออกจากก้างและหนัง

↓

บด

↓

ล้างปลาบดด้วยน้ำเย็นอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ทำการล้างน้ำ 3 ครั้ง ๆ ละ 9 นาที
อัตราส่วนเนื้อปลาต่อน้ำ 1 : 3 (น.น /ปริมาตร)

↓

แยกสิ่งแปลกปลอมออกจากเนื้อปลาบด

↓

บีบน้ำออกและปรับความชื้นให้ได้ ร้อยละ 80

↓

ซูริมิ

รูปที่ 7 . กระบวนการผลิตซูริมิ

ที่มา : ดัดแปลงจาก Lee (1984)

3. **บทบาทของโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตต่อการเกิดเจลของซูริมิ**

3.1 **ผลของโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตต่อการเกิดเจลซูวาริ**

นำซูริมิมาเตรียมเจลจำนวน 2 ชุด โดยสับผสมกับสารเติมแต่งดังต่อไปนี้

ชุดที่ 1. เกลือร้อยละ 3

ชุดที่ 2. สารผสมระหว่างเกลือร้อยละ 3 และโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต ร้อยละ 0.2 (ดังรูปที่ 8)

จากนั้นนำเจลที่ได้จากการเตรียมมาวิเคราะห์ค่าต่อไปนี้

3.1.1 ค่า Tmax ของโปรตีนในซูริมิหลังการเกิดเจลตามวิธีการของ Kim และคณะ (1986)

3.1.2 ตรวจสอบความแข็งแรงของเจลโดยเครื่อง Texture analyzer โดยตรวจสอบค่า breaking force และ deformation

3.1.3 ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือตามวิธีการของ Sych และคณะ (1990)

3.1.4 ความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลตามวิธีการของ Hasegawa (1987)

3.1.5 ค่าพีเอชตามวิธีการของ Chang และ Regenstein (1997)

3.2 **ผลของโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตต่อคุณภาพเจลคามาโบโกะ**

เตรียมเจลซูวาริตามวิธีการในข้อที่ 3.1 จากนั้นนำมาให้ความร้อนที่อุณห-ภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ลดอุณหภูมิจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วนำเจลมาวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ต่อไปนี้

3.2.1 ความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลตามวิธีของ Hasegawa (1987)

3.2.2 ตรวจสอบความแข็งแรงของเจลโดยตรวจสอบค่า breaking force และ deformation

3.2.3 ค่าพีเอชตามวิธีการของ Chang และ Regenstein (1997)

3.2.4 โครงสร้างของจุลภาคของเจลโดยใช้ SEM

ซูริมิ

↓

ใส่สารเติมแต่ง (2 ชุดการทดลอง)

↓

สับผสมนาน 5 นาที

↓

บรรจุส่วนผสมในไส้ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร

↓

บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมงและที่อุณหภูมิ
25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีเพื่อให้โซลกลายสภาพเป็นเจล

รูปที่ 8 . กระบวนการเตรียมเจลซูวาริ

ที่มา : ดัดแปลงจาก Scott และคณะ (1988)

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์

1.องค์ประกอบโปรตีนและสมบัติโปรตีนกล้ามเนื้อปลาทรายแดง

1.1 องค์ประกอบทางเคมีของปลาทรายแดง

ปลาทรายแดงที่ใช้ในการทดลอง จับได้จากทะเลอ่าวไทย หลังจากจับได้นำมาบรรจุในกล่องพลาสติกโดยวางปลาสลับน้ำแข็งในอัตราส่วนน้ำแข็ง : ปลา 2 : 1 ซึ่งปลาที่ใช้ในการทดลองมีอายุการเก็บรักษาในน้ำแข็งไม่เกิน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปตรวจสอบคุณภาพต่างๆ ตามแผนการทดลอง

องค์ประกอบทางเคมีของปลาทรายแดงพบว่าประกอบด้วย ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ร้อยละ 79.44, 17.06, 1.79, และ 1.40 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ผลที่ได้ใกล้เคียงกับการทดลองของ Kongpun (1999) ซึ่งรายงานว่าองค์ประกอบทางเคมีของปลาทรายแดงที่ศึกษาประกอบด้วย ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ร้อยละ 78.92, 16.57, 1.23, และ 0.92 ตามลำดับ Lee (1994) กล่าวว่าแม้ซูริมิสามารถผลิตได้จากปลาหลายชนิดแต่พบว่ามีปลาเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่ได้รับความสนใจจากผู้ผลิตในการใช้เป็นวัตถุดิบ ปลาที่นิยมนำมาผลิตซูริมิเป็นปลาที่มีไขมันต่ำคือมีไขมันน้อยกว่าร้อยละ 2 เนื่องจากจะไม่มีปัญหาการแยกไขมันออกจากเนื้อปลาบดในระหว่างการล้าง

การตรวจสอบคุณภาพของปลาพบว่าปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดและปริมาณไตรเมทธิลเอมีนมีค่า 2.49 และ 0.28 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัมตัวอย่างตามลำดับ (ตารางที่ 1) แสดงว่าปลาที่ใช้ในการศึกษามีคุณภาพดี สามารถยืนยันได้จากการตรวจสอบลักษณะปรากฏของปลาที่มีสภาพสมบูรณ์ ทั้งเหงือก ตา เกล็ด และความแน่นเนื้อดังแสดงในตารางที่ 2 ผ่องเพ็ญ รัตตกุล (2532) ระบุว่าลักษณะปรากฏของปลาที่เหมาะสมสำหรับการผลิตซูริมิ คือ สีตาและผิวหนังคงความมันวาวไม่ขุ่นมัว เกล็ดอาจหลุดเล็กน้อย ลักษณะเนื้อสัมผัสไม่นุ่มตามแรงมือกด เหงือกไม่มีกลิ่น ลูกตา

เป็นสีดำมันนูนพอเหมาะปราศจากเลือดบริเวณขอบตา และตาดำไม่ขุ่นมัว บริเวณท้องไม่บวมหรือแตก Sanu (1986) รายงานว่าความสดของวัตถุดิบเป็นหัวใจสำคัญของการผลิตซูริมิ ดังนั้นเพื่อให้ได้ซูริมิที่มีความสามารถเกิดเจลที่ดีการปฏิบัติต่อวัตถุดิบตั้งแต่หลังการจับจนเข้าสู่กระบวนการผลิตจึงต้องได้รับการดูแลอย่างใกล้ชิด

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อปลาทรายแดง

องค์ประกอบ	ปริมาณ*
ความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก)	79.44±0.15
โปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก)	17.06±0.13
ไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก)	1.79±0.16
เถ้า (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก)	1.40±0.05
ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (มิลลิกรัมไนโตรเจน/100กรัมตัวอย่าง)	2.49±0.03
ปริมาณไตรเมทธิลเอมีน (มิลลิกรัมไนโตรเจน/100กรัมตัวอย่าง)	0.28±0.01

* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ครั้ง ๆ ละ 3ซ้ำ

ตารางที่ 2 ลักษณะปรากฏของปลาทรายแดง

ลักษณะปรากฏ	คะแนนการตรวจสอบ** (0-10) *
เหงือก	9.67±0.51 (แดงสด)
ตา	9.67±0.51 (ตาใส)
เกล็ด	9.50±0.51 (เรียบติดแน่น)
ความแน่นเนื้อ	9.83±0.48 (ไม่ทิ้งรอยกด)

*0 คือ คุณภาพต่ำมาก ๆ 10 คือคุณภาพดีเยี่ยม

** ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ครั้ง ๆ ละ 10 ตัว (จากผู้ประเมินเพียงคนเดียว)

1.2 ตรวจสอบชนิดของโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน

จากการแยกโปรตีนต่างๆ จากกล้ามเนื้อปลาทรายแดง พบว่าประกอบด้วยซาร์โคพลาสมิกโปรตีน ไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีน โปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายด่างและสโตรมา ร้อยละ 23.45, 68.75, 3.99 และ 3.80 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) Hashimoto และคณะ (1979) ได้ทำการแยกโปรตีนจากเนื้อปลาซาร์ดีน พบว่าประกอบด้วยซาร์โคพลาสมิกโปรตีน ไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีน โปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายด่าง และสโตรมา ร้อยละ 27.5, 63.7, 6.8 และ 1.9 ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของ Suzuki และคณะ (1981) รายงานว่าในเนื้อปลามีปริมาณไมโอไฟ-บริลล่าร์โปรตีนอยู่ประมาณร้อยละ 70-80 ของโปรตีนทั้งหมด ซึ่งประกอบด้วยไมโอซิน แอคติน โทรโปนิน และโทรโปไมโอซิน โดยที่โปรตีนเหล่านี้เป็นโปรตีนที่ละลายเกลือ (Stefansson and Hultin 1994) ส่วนซาร์โคพลาสมิกโปรตีนมีปริมาณร้อยละ 30 ของโปรตีนทั้งหมดได้แก่พวก ไมโอโกลบิน เอนไซม์และอัลบลูมิน โดยโปรตีนในกลุ่มนี้สามารถละลายได้ในน้ำ ขณะที่สโตรมาและโปรตีนที่ละลายด่างในเนื้อปลานั้นมีปริมาณน้อยเช่น คลอลาเจน และอิลาสติน สำหรับปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่

ใช้โปรตีนนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของปลาแหล่งที่จับ และความสด ของปลาสารประกอบเหล่านี้ ได้แก่ กรดอะมิโน เอมีน ออกไซด์ของเอมีน นิวคลีโอไทด์ และยูเรีย (Mackie, 1994)

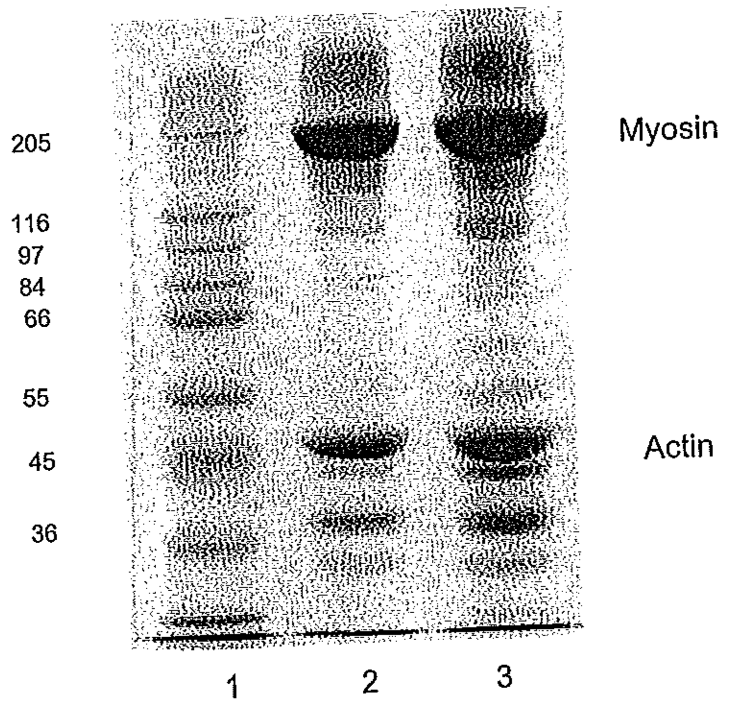
สำหรับการตรวจสอบชนิดของโปรตีนในกล้ามเนื้อปลาทรายแดงสด และไมโอ-ไฟบริลล่าร์โปรตีนที่สกัดได้จากกล้ามเนื้อปลาทรายแดงโดยวิธีการ SDS-PAGE (รูปที่9) กล้ามเนื้อปลาทรายแดงปรากฏแถบของโปรตีนชนิดต่างๆ หลายแถบด้วยกัน โดยที่มีไมโอซินและแอคตินในปริมาณมาก ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (205,000 และ 45,000 ดาลตัล) ผลของการนำไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนมาตรวจสอบปรากฏพบแถบของโปรตีนต่างๆ เช่น ไมโอซิน (205,000) แอคติน (45,000) โทรโปรนิน (36,500) และโทรโปรไมโอซิน (37,000) เท่านั้น ส่วนโปรตีนตัวอื่น ๆ ถูกกำจัดไปในขั้นตอนของการสกัดแล้ว ผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Chawla และคณะ (1996) ซึ่งรายงานว่าการล้างเนื้อปลาส่งผลให้ไม่ปรากฏแถบของโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เนื่องจากการล้างเป็นการกำจัดพวกซาร์โคพลาสมิกโปรตีนซึ่งเป็นโปรตีนที่ละลายน้ำออกไปได้ จากผลการทดลองพบว่าไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีน (แถวที่ 2) นั้นมีแถบของโปรตีนไม-โอซิน และแอคตินในปริมาณน้อยกว่า ของปลาทรายแดงสด (แถวที่ 3) ที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดจากความผิดพลาดในขั้นตอนของการเตรียมตัวอย่างโปรตีน จึงมีผลให้แถบโปรตีนที่ปรากฏนั้นผิดพลาดไป

ตารางที่ 3 ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่แยกได้จากกล้ามเนื้อปลาทรายแดง

ชนิดของโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน	ปริมาณไนโตรเจน* (มิลลิกรัมไนโตรเจน/กรัมตัวอย่าง)	
สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน	1.11±0.15	
โปรตีนซาร์โคพลาสมิก	6.22±0.03	(23.45)
โปรตีนที่ละลายด่าง	1.06±0.06	(3.99)
สโตรมา	1.01±0.03	(3.80)
โปรตีนไมโอไฟบริลล่าร์	18.24±0.50	(68.75)

* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ครั้งๆ 3 ซ้ำ

( ) ร้อยละของปริมาณไนโตรเจนแต่ละส่วนเปรียบเทียบกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด



รูปที่ 9 รูปแบบโปรตีนของเนื้อปลาทรายแดงสด และ ไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนโดย SDS-PAGE (10% running gel และ 4% stacking gel) โดยใช้ปริมาณโปรตีน 40 ไมโครกรัม

แถวที่ 1 โปรตีนมาตรฐาน

แถวที่ 2 ไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีน

แถวที่ 3 เนื้อปลาทรายแดงสด

2 ผลของการแช่เยือกแข็งและทำละลายต่อคุณสมบัติของโปรตีนในเนื้อปลาแล่และซูริมิ

2.1 ผลของการแช่เยือกแข็งและทำละลายต่อคุณสมบัติของโปรตีนในเนื้อปลาแล่

2.1.1 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด และปริมาณไตรเมทธิลเอมีน

จากการศึกษาปริมาณ TVB และ TMA ของชิ้นปลาทรายแดงแล่

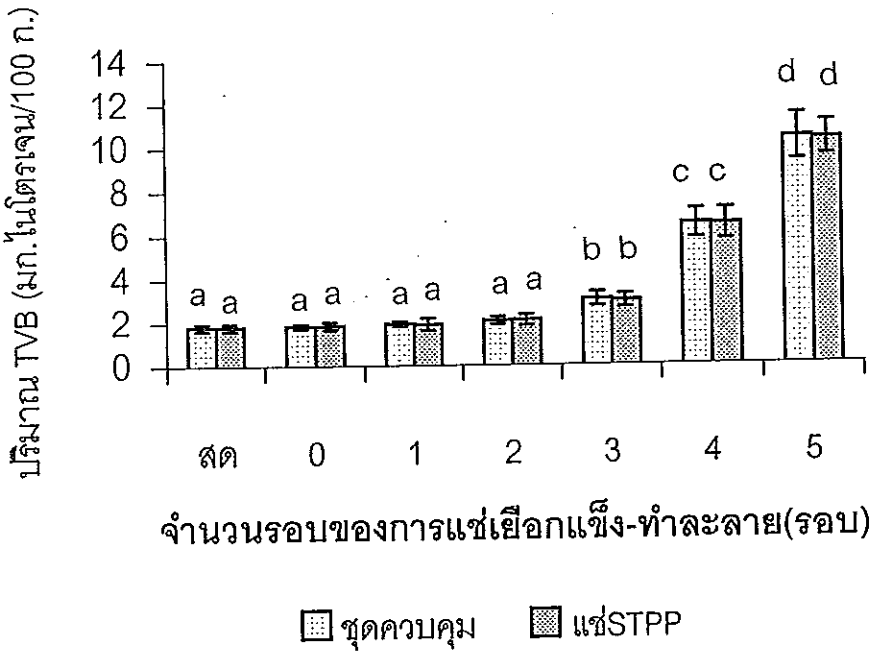
ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเป็นจำนวน 5 รอบ พบว่าปริมาณ TVB และ TMA ของปลาทรายแดงสดเริ่มต้นมีค่า 1.81 และ 0.14 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ (รูปที่ 10) ถือว่าปลาทรายแดงที่นำมาใช้ในการทดลองนี้คุณภาพดีมาก

พบว่าทั้งค่า TVB และ TMA เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น ($P<0.05$) โดยที่ปริมาณ TVB และ TMA เพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดเมื่อผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายรอบที่ 3 แล้ว Huss (1988) ได้กล่าวว่าในช่วงที่ปลามีคุณภาพดีหรือในช่วงที่สามารถบริโภคได้ค่า TVB มีค่าต่ำ แต่เมื่อปลาเริ่มเสื่อมคุณภาพค่า TVB มีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื้อปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่-เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบสุดท้ายมีปริมาณ TVB และ TMA สูงขึ้นมีค่าอยู่ในช่วง 10.37 - 10.46 และ 1.15 - 1.17 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ 100กรัมตัวอย่างตามลำดับ จึงสามารถกล่าวได้ว่าเมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายมากขึ้น ปริมาณ TVB และ TMA เพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากในกระบวนการทำละลายแต่ละรอบนั้นใช้เวลามากคือประมาณ 36 ชั่วโมง เพื่อให้จุดกึ่งกลางของตัวอย่างมีอุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส แต่พบว่าอุณหภูมิของตัวอย่างบริเวณรอบนอกนั้นมีอุณหภูมิสูงกว่าจุดกึ่งกลาง คือ อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 2-3 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่ จุลินทรีย์และเอนไซม์สามารถทำงานได้ โดยหลังการตายของปลามีการเปลี่ยนแปลงสภาพทางเคมี ซึ่งมีสาเหตุมาจากเอนไซม์ในตัวปลาและการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ซึ่งจะสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อปลา นอกจากนี้เอนไซม์ที่มีอยู่ในตัวปลาเองก็เป็นสาเหตุของการย่อยสลายโปรตีนเช่นเดียวกันทำให้เกิดสารประกอบที่ระเหยได้ เช่นไตรเมทธิลเอมีน ไดเมทธิลเอมีน แอมโมเนีย การเกิดไตรเมทธิลเอมีน มีสาเหตุมาจากการสลายตัวของไตรเมทธิลเอมีนออกไซม์ (Sikorski,1990)

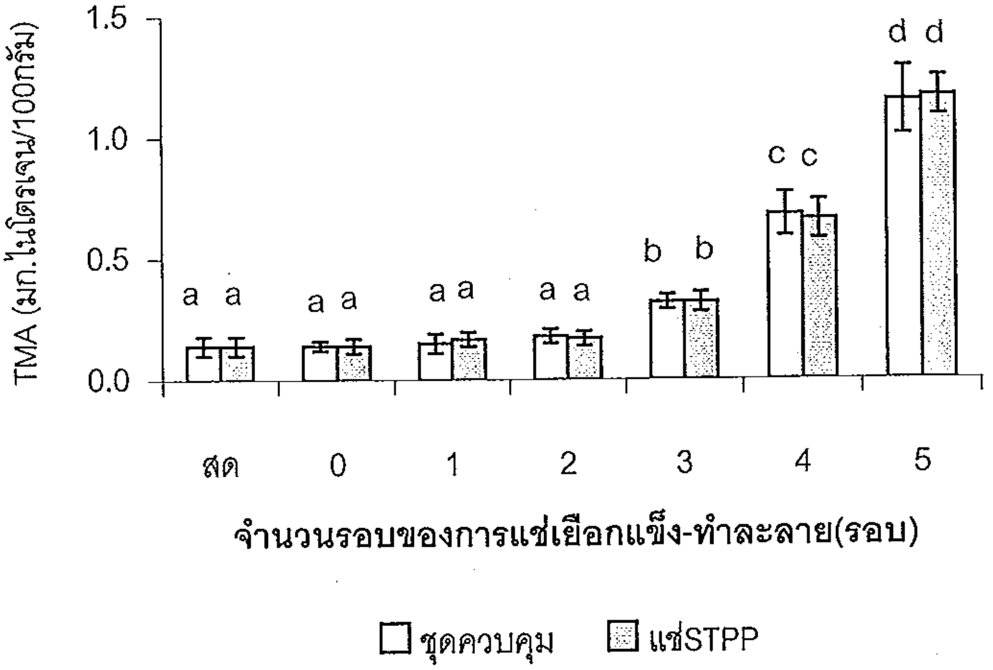
การแช่ปลาในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตไม่มีผลช่วยลดค่า TVB และ TMA เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($P>0.05$) อาจกล่าวได้ว่าการแช่เนื้อปลาในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตก่อนทำการแช่เยือกแข็งไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และ การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียคุณภาพของเนื้อปลาทรายแดงแล่ในระหว่างการแช่เยือกแข็งและทำละลายได้ Suvanich และคณะ

(2000) ได้กล่าวว่าการเพิ่มขึ้นของสารประกอบไนโตรเจนหลังการตายของสัตว์น้ำมีความสำคัญมากต่อการสูญเสียความสดและคุณภาพลักษณะปรากฏของเนื้อปลาและเป็นการเริ่มต้นการเน่าเสีย ในขณะที่ Pacheco และคณะ (2000) ได้รายงานว่าโดยทั่วไปปลาเกิดการเสื่อมเสียอย่างมากจะมี TMA อยู่ในช่วง 5-10 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม สอดคล้องกับรายงานของ Al-Kahtani และคณะ (1996) ซึ่งกล่าวว่าเมื่อปลาเกิดการเสื่อมเสียคุณภาพปริมาณ TVB ของปลาต่างชนิดกันจะมีค่าแตกต่างกัน เช่น ปลาทรายแดงที่อาศัยในเขตร้อน เกิดการเน่าเสียเมื่อมีค่า TVB สูงกว่า 19.5 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ 100 กรัม ในขณะที่ปลา Spannish mackerel การเสื่อมเสียคุณภาพเกิดขึ้นเมื่อปริมาณ TVB สูงกว่า 25.2 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม Suvanich และคณะ (2000) ได้ศึกษาหาปริมาณ TVB ในเนื้อปลาดุกบด 2 ชุดการทดลอง คือเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้างน้ำ และไม่ผ่านการล้างน้ำ แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส พบว่าในวันแรกของการเก็บรักษาปลาที่ผ่านการล้างน้ำและไม่ผ่านการล้างน้ำมีปริมาณ TVB เท่ากับ 5 และ 15 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัมตามลำดับ แต่เมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ปรากฏว่ามีค่า TVB 17.5 และ 32 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม ตามลำดับ โดยปริมาณ TVB ของปลาทั้ง 2 ชุดการทดลองมีปริมาณเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยใน 3 วันแรกของการเก็บรักษา แต่หลังจากนั้นปริมาณ TVB เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าการล้างเนื้อปลาบดก่อนการเก็บรักษาสามารถรักษาคุณภาพของเนื้อปลาไว้ได้ดีกว่าปลาที่ไม่ผ่านการล้างน้ำ

ก)



ข)

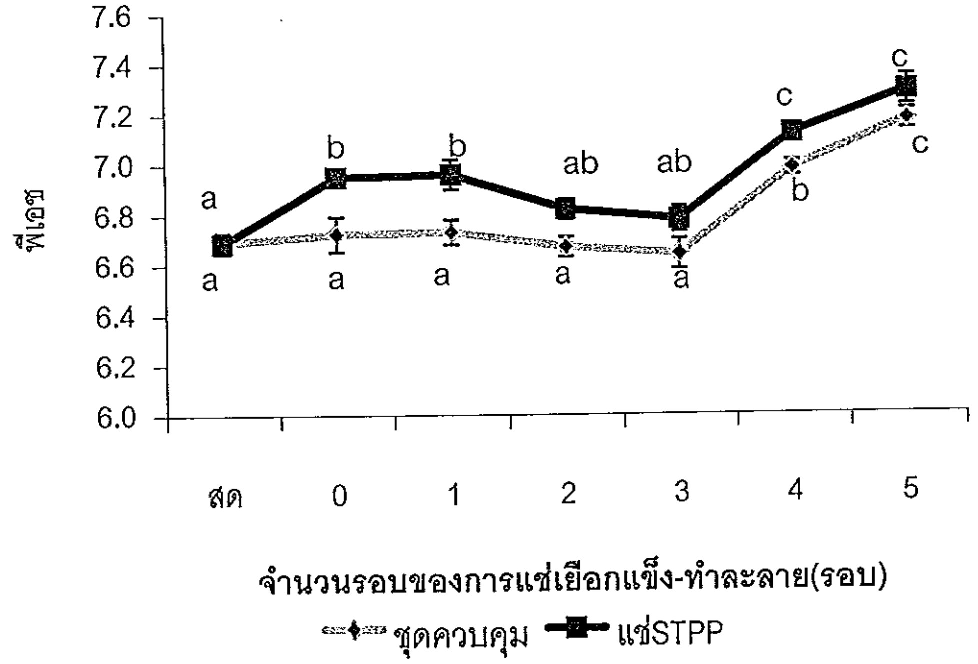


รูปที่ 10 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (ก) และไตรเมทธิลเอมีน (ข) ของเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

หมายเหตุ ตัวอักษร a b c และ d ที่แตกต่างกันในทรีตเมนท์เดียวกันบ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$)

2.1.2 ค่าพีเอช

ผลของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายต่อค่าพีเอช พบว่าเนื้อปลาทรายแดงสดมีค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.69 (รูปที่ 10) แต่เมื่อนำเนื้อปลาทรายแดงมาแช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตนาน 15 นาทีก่อนการแช่เยือกแข็งพบว่า มีค่าสูงขึ้นกว่าของปลาทรายแดงสดคือมีค่า 6.95 ในขณะที่ชุดควบคุมมีค่าพีเอช 6.72 หลังจากผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายจำนวน 3 รอบ ค่าพีเอชของตัวอย่างทั้ง 2 ชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย โดยชุดที่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต และชุดควบคุมมีค่า 6.78 และ 6.64 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามหลังจากผ่านรอบที่ 3 ไปแล้วพบว่าค่าพีเอชของตัวอย่างทั้ง 2 ชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้น และค่าพีเอชในรอบสุดท้ายของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายมีค่าสูงถึง 7.29 และ 7.17 ตามลำดับ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าตัวอย่างที่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตสามารถรักษาค่าพีเอชของเนื้อปลาให้ใกล้เคียงค่าเป็นกลางได้มากกว่าชุดควบคุม โดยสอดคล้องกับรายงานของ Chang และ Regenstein (1997) ได้ศึกษาผลของการเติมโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต และโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ต่อค่าพีเอชของปลาคอดบดที่เก็บรักษาโดยการแช่ในน้ำแข็ง พบว่าค่าพีเอชในเนื้อปลาต่ำลงเมื่อเก็บรักษาภายใน 3 วันแรกแต่หลังจากนั้นค่าพีเอชสูงขึ้น Lim (1980) ระบุว่าปลาในเขตร้อนทั่วๆไปมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.4 - 6.8 โดยที่ค่าพีเอชสามารถเปลี่ยนแปลงไปตามฤดูกาลของเนื้อปลา นอกจากนี้ปลาที่อยู่ในช่วงหลังการเกร็งตัวค่าพีเอชเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้ง เนื่องจากด่างและสารแอมโมเนียที่ระเหยได้ซึ่งเกิดจากปริมาณแบคทีเรียเพิ่มขึ้นและการสลายตัวของสารประกอบไนโตรเจน นอกจากนี้อัตราการเพิ่มขึ้นของค่าพีเอชยังขึ้นกับอุณหภูมิซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Suvanich และคณะ (2000) ซึ่งได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในเนื้อปลาดุกบดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส พบว่ามีค่าพีเอชสูงขึ้นช่วงหลังของการเก็บรักษาเนื่องจากเกิดสารประกอบที่ระเหยได้ Love (1980) และ Rodger และคณะ (1980) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงค่าพี-เอชของเนื้อปลาในระหว่างการเก็บรักษาส่งผลให้ไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนมีความสามารถในการละลายลดต่ำลง



รูปที่ 11 ค่าพีเอชของปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

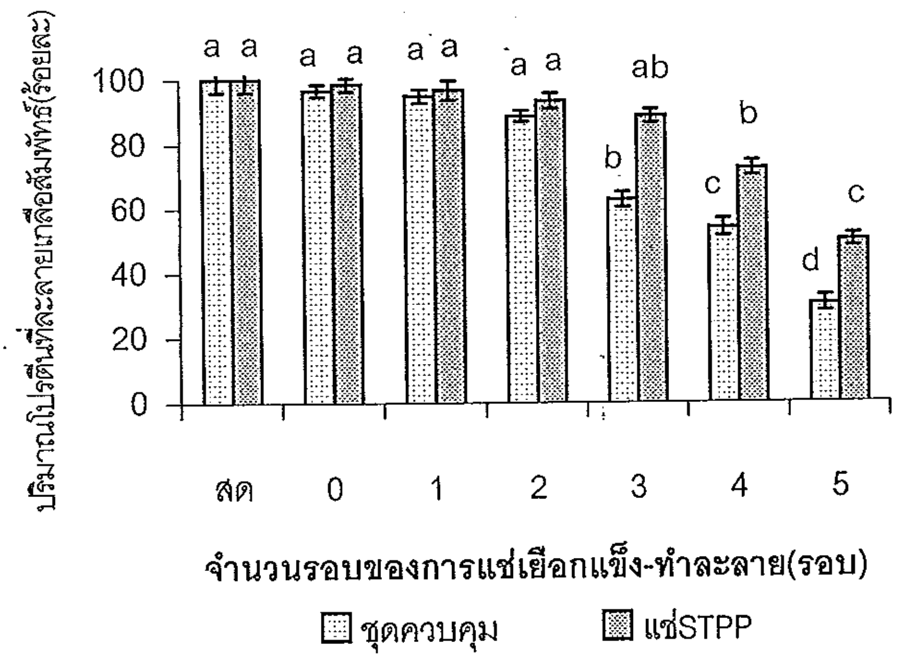
หมายเหตุ ตัวอักษร a b และ c ที่แตกต่างกันในทรีตเมนท์เดียวกันบ่งชี้ความแตก-ต่างทางสถิติ (P<0.05)

2.1.3 ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ

ผลของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเนื้อปลาทรายแดงแล่ต่อ ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ พบว่าเนื้อปลาทรายแดงสดที่ไม่ผ่านการแช่เยือกแข็งสามารถละลายในสารละลายเกลือได้ดี เมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเพิ่มมากขึ้นพบว่าปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือมีค่าลดลง (P<0.05) (รูปที่ 12) โดยที่ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือลดลงอย่างเด่นชัด เมื่อผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายรอบที่ 3 แล้ว พบว่าปลาที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและทำละลายรอบที่ 5 มีปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือของชุดการทดลองที่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต และชุดควบคุมมีค่าร้อยละ 50.16 และ 30.57 ตามลำดับ อาจกล่าวได้ว่าการแช่เยือกแข็งและทำละลายแต่ละรอบมีผลต่อปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) อย่างไรก็ตาม

พบว่าชิ้นปลาแล่ที่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตสามารถป้องกันการสูญเสียปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) (ในทุกๆ รอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย) เนื่องจากการที่โซเดียมไตรพอ-ลิฟอสเฟตมีประจุลบหลายประจุบนโมเลกุล ทำให้สามารถรวมตัวกับประจุบวกที่อยู่บนโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น โปรตีน จึงส่งผลให้โปรตีนสามารถละลายได้ดีขึ้น

จากผลการทดลองสามารถกล่าวได้ว่าการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายมีผลต่อปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือคือมีปริมาณลดต่ำลงตามจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและทำละลายที่เพิ่มขึ้น แต่การนำตัวอย่างปลาแช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตก่อนการแช่เยือกแข็งนั้นสามารถลดการสูญเสียปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลืออย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังนั้นก่อนการเก็บรักษาปลาแล่ในสภาพแช่เยือกแข็งเพื่อผลิตซูริมิจึงควรมีการแช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต Ellinge (1972) ให้เหตุผลว่าเมื่อโปรตีนสูญเสียสภาพมีผลให้การละลายลดลงทำให้เนื้อสัมผัสเหนียวขึ้น การแช่ตัวอย่างในสารละลารโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตก่อนสามารถยับยั้งการสูญเสียสภาพของโปรตีนได้คือเกลือฟอสเฟตจะจับกับโปรตีน ทำให้มีผลต่อการเพิ่มจำนวนหมู่ที่มีขั้วบนโปรตีน ดังนั้นการละลายจึงเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ฟอสเฟตจะจับกับอนุมูลต่างๆ เช่น แคลเซียม สังกะสี มีผลให้ความมีขั้วเพิ่มสูงขึ้น Huidobro และคณะ (1991) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนในเนื้อปลา และผลิตภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็งเป็นสาเหตุของการสูญเสียคุณสมบัติเชิง-หน้าที่ของโปรตีน โดยเฉพาะความสามารถในการละลายและความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนปลา Srinivasan และคณะ (1997) ได้กล่าวเพิ่มเติมอีกว่าเนื้อกุ้งที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและทำละลายหลายครั้งก่อให้เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสที่หยาบกระด้างซึ่งเป็นผลมาจากไมโอซินเกิดการสูญเสียสภาพ คือเกิดการรวมตัวกันของไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีน



รูปที่ 12 ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือของเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

หมายเหตุ ตัวอักษร a b c และ d ที่แตกต่างกันในทรีตเมนท์เดียวกันบ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$)

Koning และ Mol (1991) กล่าวว่าปริมาณโปรตีนที่ละลายเกลือสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้การสูญเสียสภาพของโปรตีน เนื่องจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมีผลให้ความไม่ชอบน้ำบนผิวหน้าโมเลกุลของโปรตีนเพิ่มขึ้น ทำให้การจับตัวของโปรตีนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้คุณภาพของปลาแช่เยือกแข็งลดลง (Kussi *et al.*, 1975) Hultin (1992) กล่าวว่าฟอร์มัลดีไฮด์เป็นสารที่ก่อให้เกิดการสูญเสียสภาพของโปรตีน ทำให้โปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ เช่นความสามารถในการละลาย จึงทำให้เนื้อปลามีเนื้อสัมผัสที่เหนียวมากขึ้นอันเนื่องจากฟอร์มัลดีไฮด์ทำปฏิกิริยากับโปรตีน โดยเร่งให้เกิดการรวมตัวของโปรตีน ด้วยพันธะโควาเลนท์ของหมู่เมทธิลีน ทำให้น้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้นกลายเป็นโพลีเมอร์ที่ไม่สามารถละลายในสารละลายที่มีคุณสมบัติทำลายพันธะไฮโดรเจน การทำปฏิกิริยาของฟอร์มัลดีไฮด์กับโปรตีนเกิดได้สูง เมื่ออุณหภูมิในการเก็บ

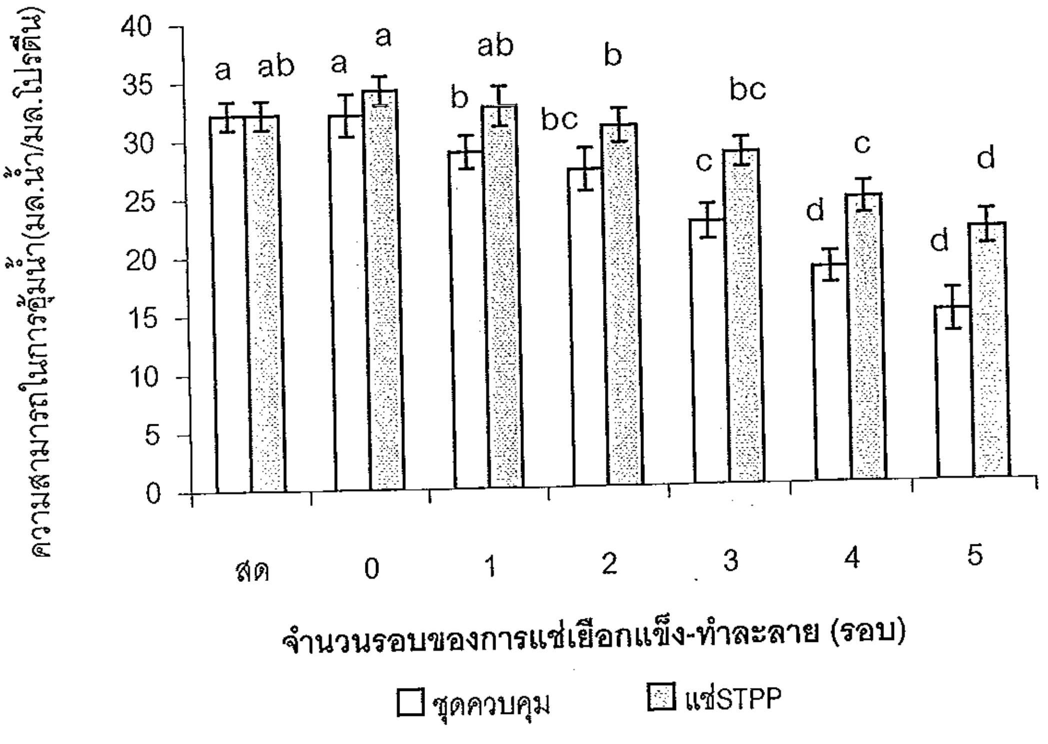
รักษาเพิ่มขึ้น และระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ทำให้เนื้อสัมผัสมีลักษณะเหนียวมากขึ้น (Connell, 1975) Careche และ Li-Chan (1997) กล่าวว่าโปรตีนในเนื้อปลาบดเกิดการสูญเสียความสามารถในการละลาย ได้ง่ายและรวดเร็วกว่าชิ้นปลาแล่หรือปลาที่ผ่านการตัดหัวและควักไส้

Koning และ Mol (1991) รายงานว่าในระหว่างการเก็บรักษาปลาเฮกแช่เยือก-แข็งที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส ทั้งที่อยู่ในรูปของปลาแล่และปลาบดพบว่าปริมาณของโปรตีนที่สกัดได้ลดลงตามอายุการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น โดยที่การเก็บรักษาในรูปปลาแล่นั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่า (Kotakowska ,1992) การเปลี่ยนแปลงต่างๆ นี้มีความสัมพันธ์กับการยอมรับทางประสาทสัมผัส คือค่าการยอมรับลดลง ในขณะที่ Chang และ Regenstein (1997) รายงานว่าการเติมโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต และโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ลงไปในเนื้อปลาคอดบดที่เก็บรักษาในน้ำแข็งนั้น สามารถรักษาสมบัติการละลายของโปรตีนได้ดีกว่าชุดควบคุม อย่างไรก็ตามเมื่อผ่านการเก็บรักษานาน 9 วัน พบว่าผลที่ได้ไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ที่เป็นเช่นนี้อาจกล่าวได้ว่าเมื่อปลามีการเสื่อมเสียเพิ่มมากขึ้น ทำให้ความสามารถในการจับกับโปรตีนของฟอสเฟตลดลง ความสามารถในการละลายของโปรตีนจึงลดต่ำลง Suvanich และคณะ (2000) ได้ศึกษาปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือของปลาดุกบดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0 และ 5 องศาเซลเซียส พบว่าความสามารถในการละลายลดลง ซึ่งการลดลงปรากฏเด่นชัดหลังผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 วัน

2.1.4 ความสามารถในการอุ้มน้ำ

ผลของการแช่เยือกแข็ง - ทำละลายเนื้อปลาทรายแดงแล่ต่อความสามารถในอุ้มน้ำ พบว่าเมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้นความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนมีค่าลดลง ($P<0.05$) (รูปที่ 13) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลองคือแช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต และชุดควบคุม พบว่าการแช่ตัวอย่างในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตนั้นสามารถลดการสูญเสียความสามารถในการสูญเสียน้ำได้ดีกว่าชุดควบคุม ($P<0.05$) เนื่องจากคุณสมบัติของโซเดียมไตรพอ-

ลิฟอสเฟตที่มีประจุลบหลายประจุบนโมเลกุล จึงสามารถรวมตัวกับประจุบวกที่อยู่บนโมเลกุลของโปรตีน ทำให้โปรตีนมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้มากขึ้น ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ Srinivassan และคณะ(1997) ที่กล่าวว่าเมื่อเก็บรักษาเนื้อปลาโดยการแช่เยือกแข็งนั้นจะทำให้ความสามารถในการความสามารถในการอุ้มน้ำลดต่ำลง รวมทั้งการละลายของโปรตีนก็ลดต่ำลงด้วยเช่นกัน คุณภาพของปลาที่ด้อยลงนี้เกิดจากสาเหตุหลายประการด้วยกัน เช่นอัตราการแช่เยือกแข็งและทำละลาย การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิขณะทำการเก็บรักษา รวมทั้งการนำเอาเนื้อปลามาทำการละลายซ้ำขณะทำการเก็บรักษา



รูปที่ 13 ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อปลาทรายแดงแส่ที่ผ่าน การแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

หมายเหตุ ตัวอักษร a b c และ d ที่แตกต่างกันในทรีตเมนท์เดียวกันบ่งชี้ความแตก-ต่างทางสถิติ ($P<0.05$)

2.1.5 Tmax ของโปรตีนกล้ามเนื้อปลา

Srinivasan และคณะ (1997) ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน จากค่า Tmax ของโปรตีนโดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในพีคที่ 1 และ 2 เป็นระดับอุณหภูมิที่ทำให้โปรตีนไมโอซิน และแอคตินเกิดการสูญเสียสภาพ

จากการศึกษาพบว่ากล้ามเนื้อปลาทรายแดงสด เกิดการสูญเสียสภาพของโปรตีนไมโอซิน และแอคตินที่อุณหภูมิ 52.67 และ 72.99 องศาเซลเซียสตามลำดับ (ตารางที่ 4 และ 5) ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Poulter และคณะ (1985) กล่าวว่า ไมโอซิน และแอคตินของปลาทรายแดงสูญเสียสภาพที่อุณหภูมิ 52.7 และ 73.2 องศา-เซลเซียสตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่า Tmax ของไมโอซินมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น ($P<0.05$) โดยปลาที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายรอบที่ 5 การสูญเสียสภาพของไมโอซิน ของชุดการทดลองที่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต และชุดควบคุมเกิดที่อุณหภูมิ 48.76 (ตารางที่ 5) และ 46.36 (ตารางที่ 4) องศาเซลเซียสตามลำดับ จึงอาจกล่าวได้ว่าการแช่เนื้อปลาแล่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต สามารถป้องกันการสูญเสียสภาพของไมโอซินได้มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่การแช่เยือกแข็ง-ทำ-ละลายไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการสูญเสียสภาพของแอคตินทั้ง 2 ชุดการทดลองแม้จะผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเป็นเวลา 5 รอบแล้วก็ตาม ($P>0.05$)

จากการทดลองสามารถทำนายได้ว่า การแช่เยือกแข็ง-ทำละลายมีผลต่อการสูญเสียสภาพของโปรตีนไมโอซิน กล่าวคือค่า Tmax (พีคที่ 1) ลดลงตามจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น การแช่ตัวอย่างในสารละลายโซเดียมไตรพอลิ-ฟอสเฟตก่อน สามารถลดการสูญเสียสภาพของโปรตีนไมโอซินได้ในระดับหนึ่ง คืออัตราการลดลงของค่า Tmax (พีคที่ 1) จะลดลงต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างเด่นชัด ส่วนโปรตีนแอคตินพบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงแม้ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเป็นจำนวน 5 รอบแล้วก็ตาม Jiang และ Lee (1985) กล่าวว่าระหว่างเก็บรักษาเนื้อปลาที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส มีผลให้ความคงตัวต่อความร้อนของไมโอซินลดลง เนื่องจากในระหว่างการเก็บรักษามีการย่อยสลายตัวเองทำให้โครงสร้างของโปรตีนถูก

ทำลายและเกิดเป็นเปปไทด์ใหม่อาจมีผลที่แตกต่างกัน สอดคล้องกับรายงานของ Poulter และคณะ (1985) ได้รายงานว่าการแช่เยือกแข็งมีผลให้โปรตีนไมโอซินสูญเสียสภาพ ทำให้ความคงตัวต่อความร้อนของโปรตีนกล้ามเนื้อปลาทรายแดงลดต่ำลง แต่อย่างไรก็ตามการแช่เยือกแข็งและทำละลายมีผลต่อแอคตินน้อยมาก Rodgers และคณะ (1987) ได้กล่าวว่าโปรตีนไมโอซินจากสัตว์น้ำมีความคงตัวต่อความร้อนต่ำกว่าโปรตีนของกล้ามเนื้อสัตว์อื่นๆ การสูญเสียสภาพของไมโอซินของปลานั้นพบว่าเกิดขึ้นอย่างช้าๆ แม้ว่าจะเก็บรักษาเนื้อปลาไว้ที่อุณหภูมิต่ำแล้วก็ตาม นอกจากนี้ยังพบอีกด้วยว่าระดับความคงตัวต่อความร้อนของโปรตีนไมโอซินแตกต่างไปตามชนิดของปลา โดยปลาที่จับได้จากเขตที่มีอุณหภูมิต่ำ โปรตีนจะมีความคงตัวต่อความร้อนต่ำกว่าโปรตีนของปลาที่จับได้จากเขตน้ำอุ่น

ตารางที่ 4 ค่า Tmax ของเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย

จำนวนรอบแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย (รอบ)	ค่าความคงตัวต่อความร้อน * พีคที่ 1	พีคที่ 2
ปลาทรายแดงสด	52.67±1.16a	72.99±0.17ab
0	51.83±0.46b	72.83±0.46ab
1	50.44±0.55b	72.58±0.58b
2	49.25±0.41c	72.66±1.00ab
3	48.91±0.75cd	72.83±0.83ab
4	47.83±0.33d	73.66±1.05a
5	46.36±0.97e	73.33±1.02ab

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05)

* ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้ง ๆ ละ 2 ซ้ำ

ตารางที่ 5 ค่า Tmaxของเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิ-ฟอสเฟตก่อนการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย

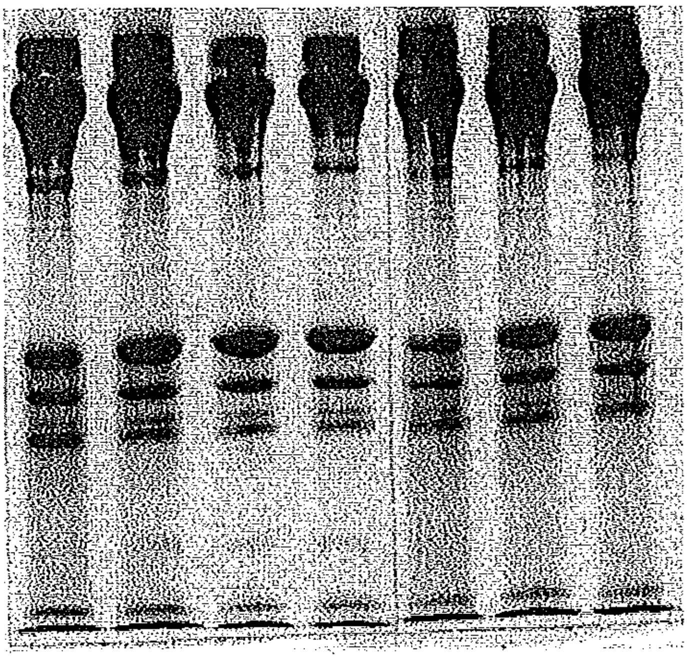
จำนวนรอบแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย (รอบ)	ค่าความคงตัวต่อความร้อน *	
	พีคที่ 1	พีคที่ 2
ปลาทรายแดงสด	52.67±0.06a	72.99±0.17a
0	52.03±0.52b	72.83±0.57ab
1	50.58±0.75b	72.25±0.25abc
2	49.75±0.05b	72.42±0.58abc
3	49.12±0.29c	71.41±0.25c
4	49.11±0.28c	71.91±0.08bc
5	48.76±0.74c	72.24±0.09abc

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05)
* ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้ง ๆ ละ 2ซ้ำ

2.1.6 ตรวจสอบรูปแบบและน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีน

ผลของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเนื้อปลาทรายแดงแล่ต่อองค์ประกอบของโปรตีนโดยวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE เมื่อเปรียบเทียบระหว่างปลาทรายแดงสด และปลาที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเป็นจำนวน 5 รอบ ในรูปที่ 14 และ 15 พบว่าแถบของโปรตีนไมโอซินมีปริมาณลดต่ำลงเล็กน้อย แต่อย่างไรก็ตามไม่พบการเปลี่ยนแปลงของแถบแอคตินแม้จะผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเป็นเวลา 5 รอบแล้วก็ตาม การแช่เนื้อปลาในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตไม่มีผลให้แถบของไมโอซินและแอคตินที่ปรากฏนั้นแตกต่างจากชุดควบคุม จากผลการทดลองพบว่าแถบของโปรตีนไมโอซินในบางแถว มีลักษณะแถบใหญ่กว่าแถบของโปรตีนไมโอซินของปลาทราย-

แดงสด ที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดจากความคลาดเคลื่อนของการเตรียมตัวอย่างในขั้นตอนของการปรับปริมาณโปรตีนให้เท่ากันทุกๆตัวอย่าง แต่การเตรียมตัวอย่างในการทดลองครั้งนี้ ได้ทำการเตรียมตัวอย่างหลายครั้ง(คือในทุกรอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย) ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนที่ทำการปรับนั้นเกิดความคลาดเคลื่อนได้ Leiont และคณะ (1992) กล่าวว่าการเก็บรักษาปลาซาร์ดีนภายหลังการจับได้เก็บในน้ำแข็งพบว่าปริมาณของซาร์โคพลาสมิกโปรตีนลดลงตามอายุการเก็บรักษา ขณะที่ปริมาณของไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนด้วย SDS-PAGE พบว่าการเก็บปลาในน้ำแข็งมีผลให้ปริมาณโปรตีน MHC ลดลง Jiang และ Lee (1995) รายงานถึงโปรตีนกล้ามเนื้อปลาชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาที่ –20 องศาเซลเซียส หลังจากผ่านการเก็บรักษา 12 สัปดาห์พบว่าไม่ปรากฏไมโอซินเส้นเบา อาจเป็นผลมาจากปฏิกิริยาระหว่างไมโอซินเส้นเบากับองค์ประกอบอื่นๆ ระหว่างการเก็บรักษาแต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของแอคติน



รูปที่ 14 รูปแบบโปรตีนของเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ โดย SDS-PAGE (10% running gel และ 4% stacking gel) โดยใช้ปริมาณโปรตีน 40 ไมโครกรัม

แถวที่ 1 ปลาทรายแดงสด

แถวที่ 2 ปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่น้ำ

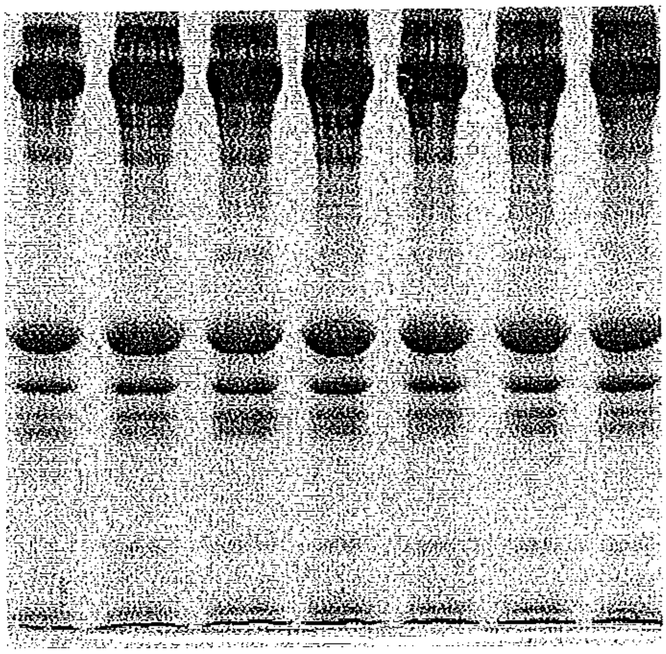
แถวที่ 3 ปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 1 รอบ

แถวที่ 4 ปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 2 รอบ

แถวที่ 5 ปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 3 รอบ

แถวที่ 6 ปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 4 รอบ

แถวที่ 7 ปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 5 รอบ



รูปที่ 15 รูปแบบโปรตีนของเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียม-ไตรพอลิฟอสเฟตก่อนที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ โดย SDS-PAGE (10% running gel และ 4% stacking gel) โดยใช้ปริมาณโปรตีน 40 ไมโครกรัม

แถวที่ 1 ปลาทรายแดงสด

แถวที่ 2 ปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่ STPP

แถวที่ 3 ปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 1 รอบ

แถวที่ 4 ปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 2 รอบ

แถวที่ 5 ปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 3 รอบ

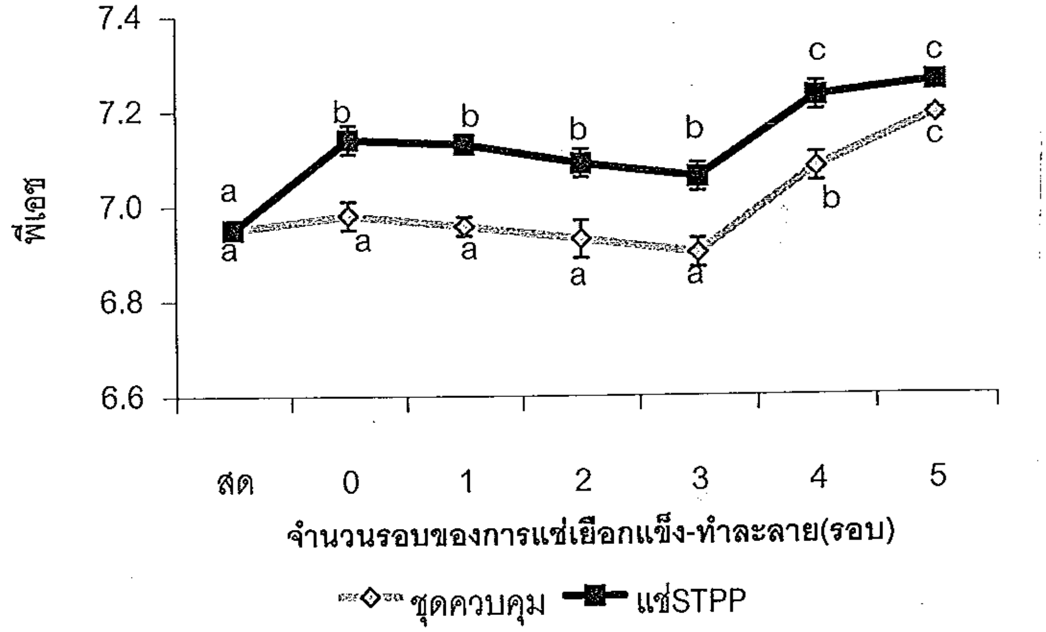
แถวที่ 6 ปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 4 รอบ

แถวที่ 7 ปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 5 รอบ

2.2 ผลของการแช่เยือกแข็งและทำละลายเนื้อปลาทรายแดงแล่ต่อคุณสมบัติของโปรตีนในซูริมิ

2.2.1 ค่าพีเอช

ผลของการนำเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ มาผลิตซูริมิ พบว่าซูริมิที่ได้จากปลาทรายแดงสดมีค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.95 (รูปที่ 16) แต่ซูริมิที่ผลิตจากปลาทรายแดงที่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตก่อนนำมาผลิตซูริมิมีค่าพีเอชเท่ากับ 7.14 ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมที่มีค่า 6.98 หลังจากนั้นซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายจำนวน 3 รอบ ค่าพีเอชลดต่ำลงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับซูริมิที่ผลิตจากปลาแล่ที่แช่สารละลายแต่ไม่ผ่านการแช่เยือกแข็ง อย่างไรก็ตามซูริมิที่ผลิตจากปลาที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายหลังจากรอบที่ 3 ค่าพีเอชของซูริมิที่ได้มีค่าสูงขึ้น ($P<0.05$) จนกระทั่งรอบสุดท้าย ค่าพีเอชของซูริมิทั้ง 2 ชุดการทดลองมีค่าประมาณ 7.20 โดยที่ซูริมิที่ผลิตจากปลาที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตของทุกๆ รอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย ค่าพีเอชของซูริมิที่ได้มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม ($P<0.05$) เนื่องจากสารประกอบฟอสเฟตมีค่าเป็นด่าง โดยผลที่ได้นั้นแปรผันตรงกับการตรวจค่าพีเอชของปลาแล่ จากผลการทดลองพบว่าค่าพีเอชของซูริมิมีค่าสูงกว่าค่าพีเอชของปลาแล่ ผลที่ได้สัมพันธ์กับรายงานของ Suvanich และคณะ (2000) กล่าวว่าพีเอชของซูริมิจากปลาดุกมีค่าสูงกว่าค่าพีเอชของเนื้อปลาดุกแล่ โดยให้เหตุผลว่าการล้างเนื้อปลาบดในกระบวนการผลิตซูริมินั้นได้กำจัดพวก กรดไขมันอิสระ กรดแลคติก รวมทั้งกรดต่างๆ ที่ละลายน้ำออกไปส่งผลให้ค่าพีเอชเพิ่มสูงขึ้น



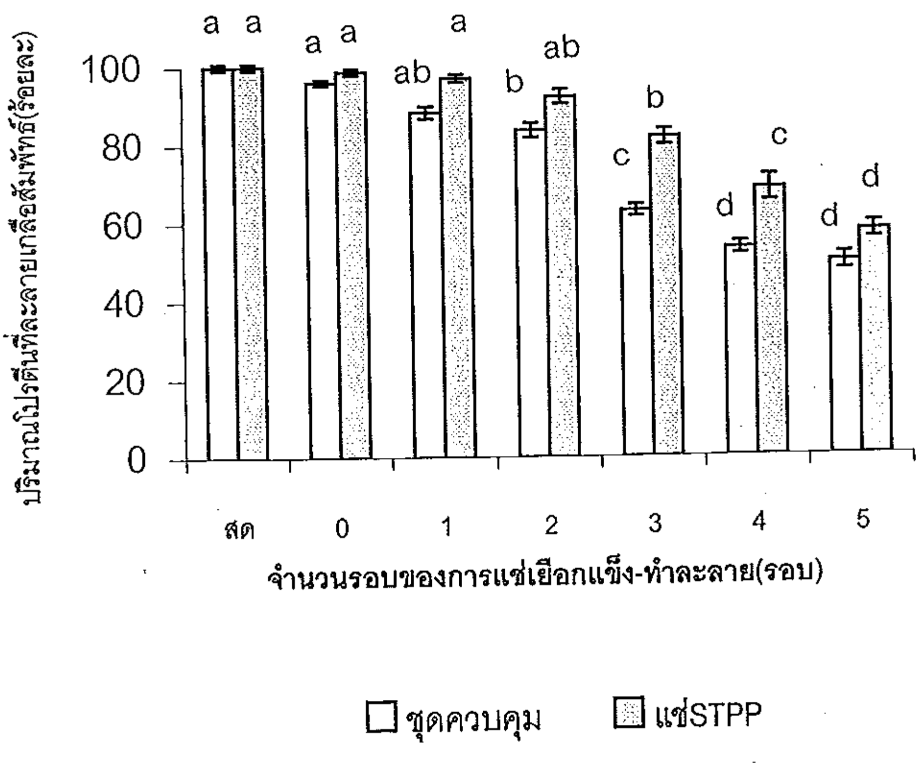
รูปที่ 16 ค่าพีเอชของซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

หมายเหตุ ตัวอักษร a b และ c ที่แตกต่างกันในทรีตเมนท์เดียวกันบ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ (P<0.05)

2.2.2 ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือของซูริมิ

ผลของการนำเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งในรอบต่างๆ มาผลิตซูริมิ พบว่าซูริมิที่ได้จากปลาทรายแดงสดมีปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือร้อยละ 97.77 (รูปที่17) แต่เมื่อนำปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายที่รอบต่างๆ มาทำการผลิตซูริมิแล้วตรวจสอบปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ ปรากฏว่ามีค่าลดลงตามจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายที่เพิ่มขึ้น

อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือของซูริมิลดลงอย่างเด่นชัด เมื่อผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายรอบที่ 3 แล้ว ผลที่ได้แปรผันตรงกับการตรวจสอบปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือของเนื้อปลาแล่ ซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายรอบที่ 5 ของชุดควบคุมและชุดที่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตมีปริมาณโปรตีนที่ละลายเกลือร้อยละ 40.53 และ 50.39 ตามลำดับ



รูปที่ 17 ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือของซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

หมายเหตุ ตัวอักษร a b c และ d ที่แตกต่างกันในทรีตเมนท์เดียวกันบ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ (P<0.05)

จากผลการทดลองสามารถกล่าวได้ว่า ซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายมีผลให้ปริมาณโปรตีนที่ละลายเกลือลดต่ำลง ตามจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายที่เพิ่มขึ้น แต่ซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาที่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตก่อนการแช่เยือกแข็งนั้นสามารถลดการสูญเสียปริมาณโปรตีนที่ละลายเกลือได้อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) โปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือระหว่างเนื้อปลาทรายแดงแล่กับซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาแล่ พบว่าปริมาณโปรตีนที่ละลายเกลือในซูริมินั้นมีค่าสูงกว่า Sikorski และคณะ (1994) ได้กล่าวว่าในกระบวนการผลิตซูริมินั้นเนื้อปลาได้ผ่านการล้างน้ำ จึงสามารถกำจัดโปรตีนในส่วนของซาร์โคพลาสมิก ซึ่งมีอยู่ประมาณร้อยละ 25 ของโปรตีนในกล้ามเนื้อปลา ทำให้ในซูริมิมีสัดส่วนของไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนในปริมาณสูง โดยที่โปรตีนชนิดนี้เป็นโปรตีนที่สามารถละลายเกลือ Cheng และคณะ (1979) ได้กล่าวว่าปริมาณโปรตีนที่ละลายเกลือลดลงระหว่างการเก็บรักษานั้น ส่งผลให้ความสามารถในการเกิดเจลของซูริมิที่ได้มีคุณภาพลดต่ำลงด้วยเช่นกัน

2.2.3 ค่า Tmax ของโปรตีนในซูริมิ

ซูริมิที่ผลิตจากปลาทรายแดงสดมีค่า Tmax ของไมโอซิน และแอคตินที่อุณหภูมิ 52.60 และ 70.16 องศาเซลเซียสตามลำดับ (ตารางที่ 6 และ 7) โดยค่า Tmax ของไมโอซิน มีค่าลดลงอย่างต่อเนื่อง เมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น (P<0.05) ส่งผลให้เนื้อปลาที่นำมาผลิตซูริมิและค่า Tmax ของไมโอซินลดต่ำลง โดยผลที่ได้ แปรผันตรงกับค่า Tmax ของโปรตีนไมโอซินของเนื้อปลาแล่ แต่แอคตินไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงแม้ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเป็นเวลา 5 รอบแล้วก็ตาม (P> 0.05) เมื่อศึกษาถึงผลของโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตต่อค่า Tmax ของไมโอซิน และแอคตินพบว่าให้ผลไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (P>0.05) จากผลการทดลองสามารถกล่าวได้ว่าการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย มีผลต่อค่า Tmax ของโปรตีนไมโอซิน

ตารางที่ 6 ค่า Tmax ของซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย

จำนวนรอบแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย (รอบ)	ค่าความคงตัวต่อความร้อน *	
	พีคที่ 1	พีคที่ 2
ปลาทรายแดงสด	52.60±0.16a	70.16±1.83a
0	51.61±0.44b	69.59±1.99a
1	50.75±0.75b	68.33±2.50a
2	50.58±0.42bc	68.09±1.24a
3	50.49±0.66bc	68.00±1.17a
4	50.66±0.99bc	68.58±0.42a
5	49.83±0.83c	67.91±0.75a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$)
* ค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้ง ๆ ละ 2ซ้ำ

ตารางที่ 7 ค่า Tmaxของซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตก่อนแช่เยือกแข็ง -ทำละลาย

จำนวนรอบแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย (รอบ)	ค่าความคงตัวต่อความร้อน *	
	พีคที่ 1	พีคที่ 2
ปลาทรายแดงสด	52.60±0.10a	70.16±1.83a
0	51.76±0.59b	69.91±1.88a
1	50.99±0.83bc	69.58±1.75a
2	50.71±0.62bcd	67.89±0.06a
3	50.16±0.36cd	67.50±0.17a
4	50.25±0.75cd	67.60±0.05a
5	49.67±0.66d	67.59±1.23a

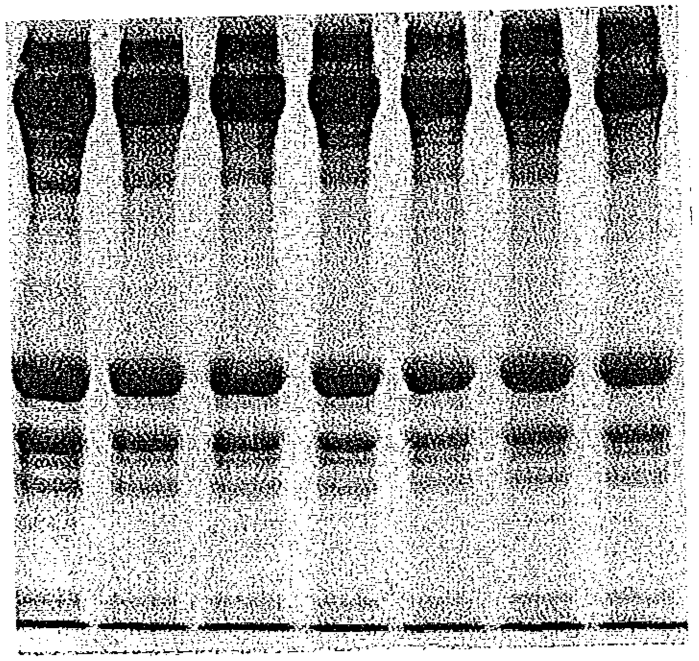
หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05)
* ค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้ง ๆ ละ 2ซ้ำ

Matsunage และคณะ (1990) กล่าวว่าโปรตีนของซูริมิเกิดการสูญเสียสภาพที่อุณหภูมิสูงกว่าโปรตีนของปลาสด เนื่องจากซูริมิมีการเติมสารไคโอโปรแทคแตนท์ซึ่งมีผลช่วยเสริมการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลโปรตีน เช่นสารประกอบฟอสเฟตทำให้โปรตีนจับตัวกันดีขึ้นไม่สูญเสียสภาพได้ง่าย สำหรับ Connell (1961) ได้รายงานว่าความคงตัวต่อความร้อนของโปรตีนในกล้ามเนื้อปลามีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิแหล่งน้ำที่ปลาชนิดนั้นอาศัยอยู่ ในกรณีของซูริมิที่มีไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก และเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของซูริมิ ดังนั้นการติดตามการสูญเสียสภาพของโปรตีนชนิดนี้ในซูริมิจึงสามารถทำได้โดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลง

สามารถเกิดเจลของซูริมิจากคุณภาพของเจลที่เตรียมได้เช่นการตรวจสอบความแข็งแรงของเจล

2.2.4 ตรวจสอบรูปแบบและน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีน

ผลของการนำเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ มาผลิตซูริมิจากนั้นศึกษาองค์ประกอบของโปรตีนโดยวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE ปรากฏว่าแถบโปรตีนไมโอซินลดต่ำลง เมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเพิ่มมากขึ้น (รูปที่ 18 และ 19) เนื้อปลาที่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตมีผลให้แถบของไมโอซินลดลงในอัตราส่วนที่ต่ำกว่าชุดควบคุม จากผลการทดลองพบว่าแถบของโปรตีนไมโอซินในบางแถว มีลักษณะแถบใหญ่กว่าแถบของโปรตีนไมโอซินของซูริมิที่ผลิตจากปลาทรายแดงสด ที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดจากความคลาดเคลื่อนของการเตรียมตัวอย่างในขั้นตอนของการปรับปริมาณโปรตีนให้เท่ากันทุกๆตัวอย่าง แต่การเตรียมตัวอย่างในการทดลองครั้งนี้ ได้ทำการเตรียมตัวอย่างหลายครั้ง (คือในทุกรอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย) ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนที่ทำการปรับนั้นเกิดความคลาดเคลื่อนได้ Chan และคณะ (1995) รายงานว่าในระหว่างการเก็บรักษาซูริมิที่ผลิตได้จากปลาแฮริ่งไว้ที่อุณหภูมิ – 20องศาเซลเซียส ส่งผลต่อโปรตีน MHC คือมีปริมาณลดลง สอดคล้องกับรายงานของ Nomura และคณะ (1995) ได้กล่าวว่าการลดลงของโปรตีนไมโอซิน มีความสัมพันธ์กับการสูญเสียความยืดหยุ่นของเจล สำหรับ Wan และคณะ (1995) กล่าวว่าปริมาณโปรตีนในซูริมิมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดเจลซูริมิ เช่น ซูริมิที่ผลิตจากปลา chum salmon ที่มีโปรตีนไมโอซินเส้นหนัก ร้อยละ 20 มีความแข็งแรงของเจลต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับซูริมิที่ผลิตจากปลา pollack ซึ่งมีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 30



รูปที่ 18 รูปแบบโปรตีนของซูริมิที่ผลิตจากปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ โดย SDS-PAGE (10% running gel และ 4% stacking gel) โดยใช้ปริมาณโปรตีน 40 ไมโครกรัม

แถวที่ 1 ซูริมิจากปลาทรายแดงสด

แถวที่ 2 ซูริมิจากปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่น้ำ

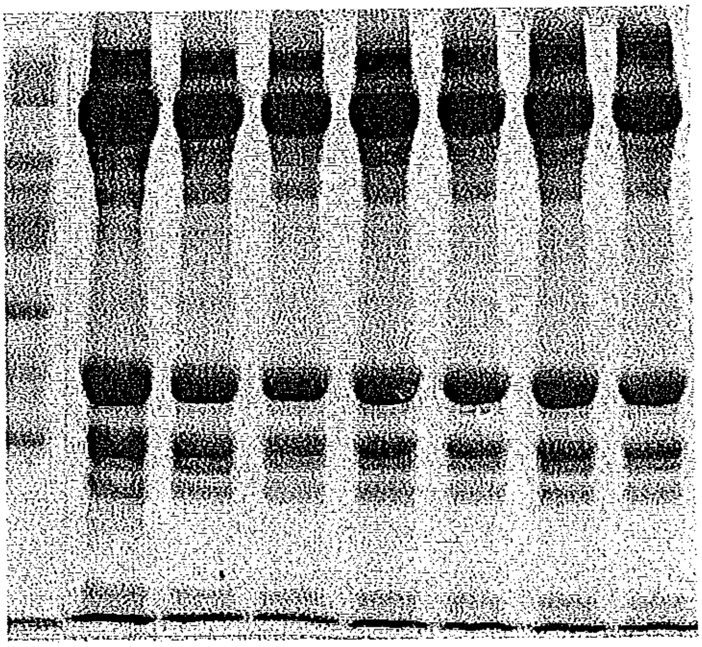
แถวที่ 3 ซูริมิจากปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 1 รอบ

แถวที่ 4 ซูริมิจากปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 2 รอบ

แถวที่ 5 ซูริมิจากปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 3 รอบ

แถวที่ 6 ซูริมิจากปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 4 รอบ

แถวที่ 7 ซูริมิจากปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 5 รอบ



รูปที่ 19 รูปแบบโปรตีนของปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตก่อนที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ โดย SDS-PAGE (10% running gel และ 4% stacking gel)โดยใช้ปริมาณโปรตีน 40 ไมโครกรัม

แถวที่ 1 โปรตีนมาตรฐาน

แถวที่ 2 ซูริมิจากปลาทรายแดงสด

แถวที่ 3 ซูริมิจากปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่ STPP

แถวที่ 4 ซูริมิจากปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 1 รอบ

แถวที่ 5 ซูริมิจากปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 2 รอบ

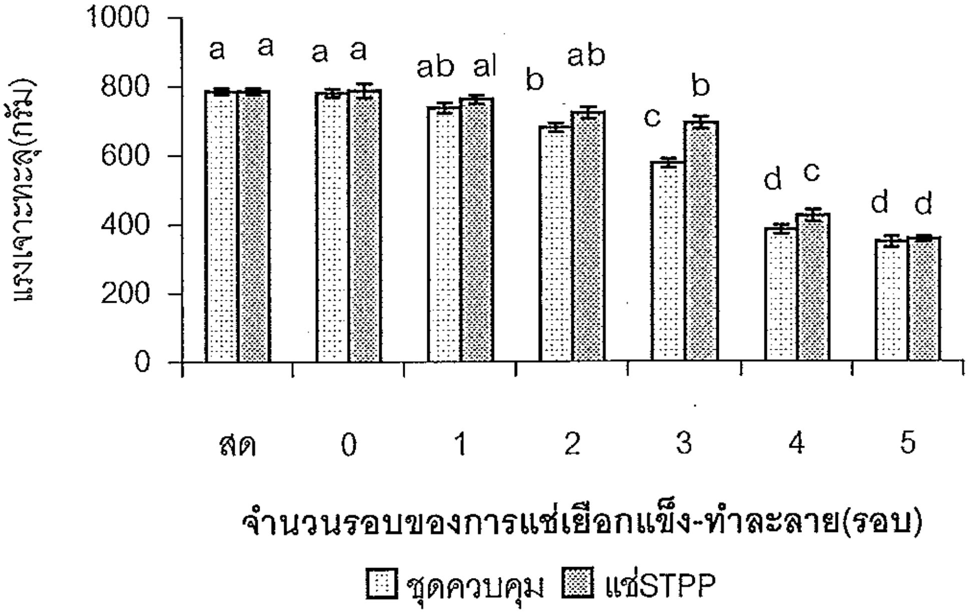
แถวที่ 6 ซูริมิจากปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 3 รอบ

แถวที่ 7 ซูริมิจากปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 4 รอบ

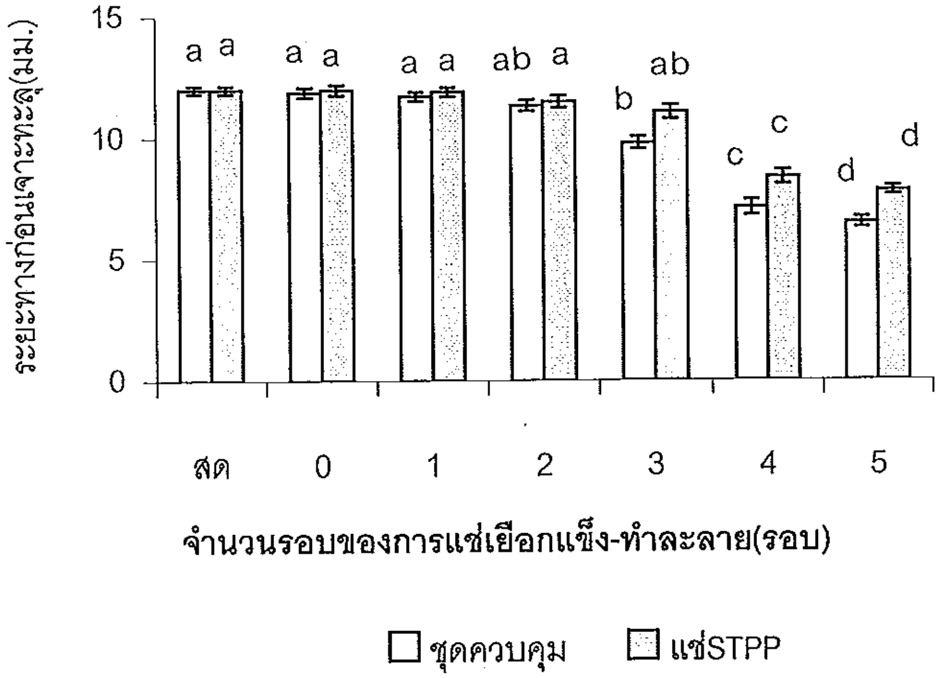
แถวที่ 8 ซูริมิจากปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย 5 รอบ

2.2.5 ตรวจสอบความแข็งแรงของเจล

ผลของการนำเนื้อปลาทรายแดงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งจากรอบต่างๆ มาผลิตซูริมิ หลังจากนั้นทำการเตรียมเจลซูริมิภายใต้สภาวะที่มีการเซ็ตตัวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (12 ชั่วโมง) และตามด้วยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ซูริมิที่ได้จากเนื้อปลาทรายแดงสดมีค่าความแข็งแรงของเจลสูง คือมีค่าแรงเจาะทะลุ และระยะทางก่อนเจาะทะลุ 787.41 กรัม และ 11.98 มิลลิเมตร ตามลำดับ (รูปที่ 20 และ 21) พบว่าเมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น ค่าแรงเจาะทะลุ และระยะทางก่อนเจาะทะลุ ของเจลซูริมิที่เตรียมจากเนื้อปลาทราย-แดงแล่ทั้ง 2 ชุดการทดลองมีค่าลดลง ($P<0.05$) โดยค่าแรงเจาะทะลุ และระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลมีค่าลดลงอย่างชัดเจนหลังจากผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายรอบที่ 3 แล้ว Roura และคณะ (1992) กล่าวว่าความแข็งแรงของเจลลดลง เมื่อใช้ปลาที่มีคุณภาพต่ำในการผลิตซูริมิเช่นเดียวกับรายงานของ Pacheco-Aguilar และคณะ (1998) และ Lee (1986) รายงานว่าความสดของปลาเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อคุณภาพของเจลซูริมิ สำหรับ Yean และคณะ (1992) ได้รายงานว่าซูริมิที่ผลิตจากปลาทรายแดงที่ผ่านการเก็บรักษาในน้ำแข็งไว้นาน 2 วันมีผลให้เจลมีความแข็งแรงต่ำกว่าเจลซูริมิที่ได้จากปลาทรายแดงสด และคุณภาพของเจลจะไม่เป็นที่ยอมรับเมื่อใช้ปลาที่ผ่านการเก็บรักษาไว้นานกว่า 4 วัน Haard และ Warren (1985) รายงานว่าความสามารถเกิดเจลของซูริมิที่ผลิตจากปลาที่ผ่านการเก็บรักษาจะแตกต่างกันไปตามชนิดของปลา เช่น Kurokawa (1979) รายงานว่าความแข็งแรงของเจลที่ได้จากปลาปากคมลดลงร้อยละ 50 เมื่อใช้ปลาที่ผ่านการเก็บรักษาไว้ในน้ำแข็งนาน 3 วันเป็นวัตถุดิบ เช่นเดียวกับคุณภาพของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาอลาสกาพอลแลคที่ผ่านการเก็บไว้ในน้ำแข็ง 3-4 วันมีคุณภาพของเจลต่ำลง (Lee, 1986) แต่ปลาโฮกิที่เก็บรักษาในน้ำแข็งนานถึง 10 วันสามารถใช้ผลิตซูริมิที่มีคุณภาพสูงได้ (MacDonald *et al* ., 1990)



รูปที่ 20 แรงเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ



รูปที่ 21 ระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

หมายเหตุ ตัวอักษร a b c และ d ที่แตกต่างกันในทรีตเมนท์เดียวกันบ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$)

ส่วน McDonald และคณะ (1994) รายงานความเป็นไปได้ของการใช้วัตถุดิบที่ผ่านการแช่เยือกแข็งในการผลิตซูริมิด้วยการวิเคราะห์คุณภาพเจล พบว่าคุณภาพเจลที่ได้จากซูริมิที่ผลิตจากปลาpacific whiting บดซึ่งเติมซูโครสร้อยละ 12 และ พอลิ-ฟอสเฟตร้อยละ 0.2 ที่ผ่านการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ –20 และ –50 องศาเซลเซียส นาน 6 เดือนนั้นให้ผลที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติจากคุณภาพของเจลซที่ได้จากซูริมิปกติ เช่นเดียวกับรายงานของ Simpson และคณะ (1994) ได้ใช้วัตถุดิบที่ผ่านการแช่เยือก-แข็งในการผลิตซูริมิ แสดงให้เห็นว่าซูริมิที่ผลิตได้จากเนื้อปลาบดแช่เยือกแข็งซึ่งใช้ซูโครสร้อยละ 12 และพอลิฟอสเฟตร้อยละ 0.2 เป็นสารป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีนและผ่านการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ –20 และ –50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 9 เดือน เจลที่เตรียมได้จากซูริมิมีคุณภาพไม่แตกต่างในทางสถิติจากคุณภาพของเจลที่เตรียมจากซูริมิที่ผลิตได้จากปลาสดและเก็บไว้ในห้องเย็นในเวลาเดียวกัน

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเจลซูริมิที่เตรียมจากเนื้อปลาที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต และชุดควบคุม พบว่า ค่าแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุของเนื้อปลาที่ผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต มีอัตราลดลงต่ำกว่าเจลซูริมิที่เตรียมจากชุดควบคุม ($P<0.05$) แต่เจลซูริมิที่เตรียมจากเนื้อปลาแล่ที่ผ่านแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเป็นเวลา 5 รอบของทั้ง 2 ชุดการทดลองให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน คือมีค่าแรงเจาะทะลุ และระยะก่อนเจาะทะลุ อยู่ในช่วง 350-357 กรัม และ 6.48 -6.64 มิลลิเมตรตามลำดับถือว่าเจลที่ได้มีคุณภาพต่ำ Shaban และคณะ (1985) กล่าวว่าปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของซูริมิในระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็งคืออุณหภูมิของห้องเย็นที่ใช้เก็บรักษา และความแปรปรวนของอุณหภูมิห้องเย็นขณะทำการเก็บ จากผลการทดลองสามารถกล่าวได้ว่าความแข็งแรงของเจลซูริมิมีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือคือ มีปริมาณลดต่ำลงเมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือก-แข็ง-ทำละลายมากขึ้น มีผลให้ความสามารถในการเกิดเจลของซูริมิลดลง

3 ผลของโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตต่อการเกิดเจลซูวาริ และ คามาโบโกะ

3.1 ค่า Tmax ของโปรตีน

จากการศึกษาผลของโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต และเกลือต่อคุณภาพของเจลซู-วาริ (เจลที่ผ่านการเซ็ตตัวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 12 ชั่วโมงแต่ไม่ผ่านการให้ความร้อน) และเจลคามาโบโกะ (เจลที่ผ่านการเซ็ตตัวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 12 ชั่วโมง และผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส) พบว่าเจลซูวาริที่เตรียมโดยมีการเติมเกลือร่วมกับโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต (โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 3 และโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก) มีค่า Tmax ของโปรตีนไมโอซิน และแอคตินที่อุณหภูมิ 48.00 และ 71.45 องศาเซลเซียส สำหรับเจลซูวาริที่เตรียมโดยมีการเติมเกลือเพียงอย่างเดียวมีค่า Tmax ของโปรตีนดังกล่าวที่อุณหภูมิ 47.16 และ 71.28 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองสามารถกล่าวได้ว่าค่า Tmax ของโปรตีนไมโอซินของทั้ง 2 ชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกัน

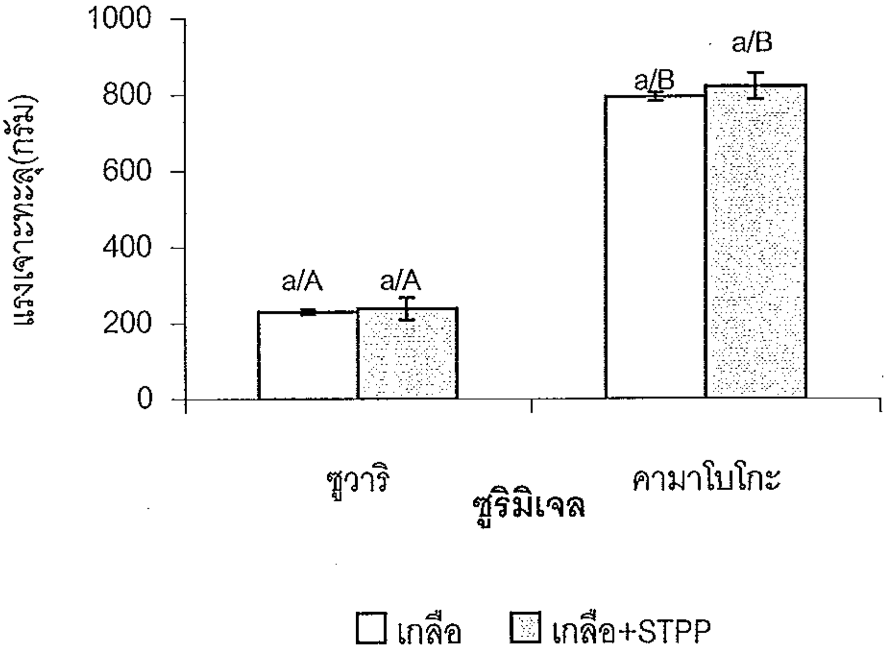
3.2 ตรวจสอบความแข็งแรงของเจล

จากการศึกษาพบว่าการเตรียมเจลโดยการเติมเกลือเพียงอย่างเดียว และการเติมเกลือร่วมกับโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตร้อยละ 0.2 ต่อคุณภาพเจลซูวาริ และเจลคา-มาโบโกะที่ได้มีค่าแรงเจาะทะลุ และระยะทางก่อนเจาะทะลุไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) (รูปที่ 22) Okada (1985) กล่าวว่าโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.1-0.3 โดยน้ำหนักมีประสิทธิภาพในการเพิ่มความแข็งแรงของเจล คือสารประกอบฟอสเฟตมีผลให้ไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนละลายออกมาได้มาก โดยเป็นผลมาจากปัจจัยที่สำคัญ 3 ประการ คือ เพิ่มความเป็นกรดด่าง การเพิ่มความแรงอิออน และการเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนไมโอซิน

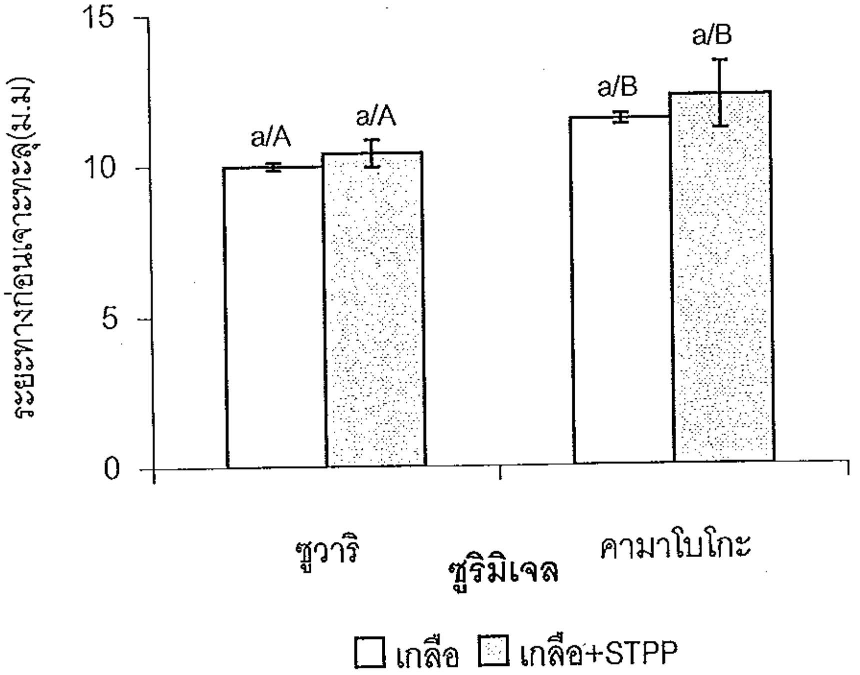
เมื่อเปรียบเทียบคุณภาพเจล ระหว่างเจลซูวาริและ เจลคามาโบโกะ พบว่าเจลคามาโบโกะที่ได้มีค่าแรงเจาะทะลุ และระยะทางก่อนเจาะทะลุสูงกว่า ($P<0.05$) เนื่องจากเจลที่ผ่านการเซ็ตตัวแล้วผ่านการให้ความร้อน มีความแข็งแรงของเจลสูงกว่าเจลซูวาริที่ผ่านการเซ็ตตัวเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เนื่องจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง

ส่งเสริมการจัดเรียงตัวของโปรตีนโดยพันธะชนิดต่างๆ โดยเฉพาะพันธะไฮโดรโฟบิกและพันธะไดซัลไฟด์เพิ่มขึ้นทำให้ความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น Chen และคณะ(1992) กล่าวว่าไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนเป็นโปรตีนชนิดที่ละลายในเกลือ เมื่อนำปลาบดซึ่งมีไมโอไฟบริลล่าร์โปรตีนเป็นองค์ประกอบหลักมาบดผสมกับเกลือจะเกิดการคลายตัวของโปรตีน และเกิดเป็นร่างแหของโปรตีน ดังนั้นการเซ็ตตัวของเนื้อปลาบดที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิห้องจะเพิ่มการคลายตัวของโปรตีน และเพิ่มการทำปฏิกิริยาระหว่างหมู่ที่ไม่ชอบน้ำบนโซ่โปรตีน ส่งผลให้โครงสร้างที่แข็งแรงกว่าเนื้อปลาบดที่ไม่ได้เซ็ตตัวก่อนการให้ความร้อน นอกจากนี้โครงสร้างของเจลที่แข็งแรงเกิดจากสมดุลย์ระหว่างโปรตีนกับน้ำ ส่วนการจับตัวกันของหมู่ที่ไม่ชอบน้ำและพันธะไดซัลไฟด์เป็นสิ่งสำคัญที่มีผลต่อความแข็งแรงของโครงสร้างภายในเจล

Lanier และคณะ (1982) รายงานว่าการเก็บโซลไว้ที่อุณหภูมิต่ำหรือการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำ เช่นที่อุณหภูมิ 0 หรือ 10 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลาหนึ่งก่อนให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงมีผลให้เจลที่ได้มีความคงตัวและมีความแข็งแรงที่ดีเนื่องจากการเตรียมเจลในลักษณะนี้การคลายตัวของโปรตีนจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ ทำให้ปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนที่คลายตัวออกมาเกิดขึ้นอย่างมีระเบียบโครงสร้างของเจลจึงมีความต่อเนื่อง Foegeding และคณะ (1986) กล่าวว่าการใช้สารประกอบฟอสเฟตในซูริมิ มีผลให้เจลมีความแข็งแรงและมีความสามารถอุ้มน้ำได้มากขึ้น โดยโซเดียมไพโรฟอสเฟตและโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต มีประสิทธิภาพเพิ่มความแข็งแรงและความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลซูริมิที่ดี



รูปที่ 22 แรงเจาะทะลุของเจลซูริมิที่เตรียมโดยเติมเกลือและสารประกอบโซเดียมไตร-พอลิฟอสเฟตของเจลซูวาริและเจลคามาโบโกะ



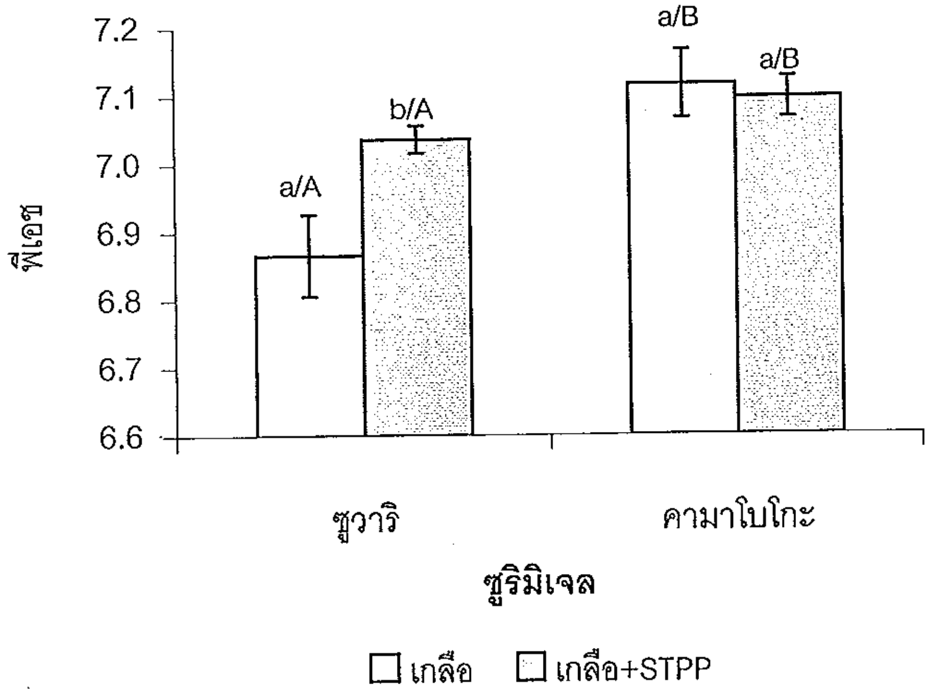
รูปที่ 23 ระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิที่เตรียมโดยเติมเกลือและสารประกอบโซ-เดียมไตรพอลิฟอสเฟตของเจลซูวาริและเจลคามาโบโกะ

หมายเหตุ ตัวอักษร a b ที่แตกต่างกัน ในเจลชนิดเดียวกันที่เติมสารต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติ (P<0.05)
ตัวอักษร A B ที่แตกต่างกัน ของสารที่เติมเหมือนกันในเจลต่างชนิดกัน มีความแตกต่างทางสถิติ (P <0.05)

ส่วน Konno (1992) กล่าวว่าการใช้สารประกอบฟอสเฟตร่วมกับเกลือจะมีผลให้ความสามารถเกิดเจลของโปรตีนไมโอซินเพิ่มมากขึ้น โดยอาจเป็นผลจากการสูญเสียสภาพของโปรตีนไมโอซินที่แยกตัวออกจากโปรตีนแอคติน หรือเกิดจากสารประกอบฟอสเฟตทำปฏิกิริยาโดยตรงกับโปรตีนไมโอซิน คือทำให้โปรตีนเกิดการคลายตัวได้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น และเกิดการจับตัวกันของโปรตีนเป็นโครงสร้างตาข่ายที่เป็นระเบียบ และต่อเนื่อง จึงส่งผลให้เจลที่ได้มีความแข็งแรง

3.2 ค่าพีเอช

เมื่อเปรียบเทียบค่าพีเอช ระหว่างเจลที่มีการเติมเกลือ และเติมเกลือร่วมกับโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต พบว่าเจลซูวาริที่มีการเติมเกลือร่วมกับโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตนั้นค่าพีเอชเป็นกลางมากกว่า เนื่องจากโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีคุณสมบัติในการเป็นบัฟเฟอร์ สำหรับเจลซูวาริและเจลคามาโบโกะ พบว่าเจลคาโบโกะที่ได้มีค่าพีเอชสูงกว่า ($P<0.05$) (รูปที่ 24) ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากกระบวนการให้ความร้อนมีผลให้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออนน้อยลง มีผลให้ค่าพีเอชสูงขึ้น



รูปที่ 24 ค่าพีเอชของเจลซูริมิที่เตรียมโดยเติมเกลือและสารประกอบโซเดียมไตรพอลิ-ฟอสเฟตของเจลซูวาริและเจลคามาโบโกะ

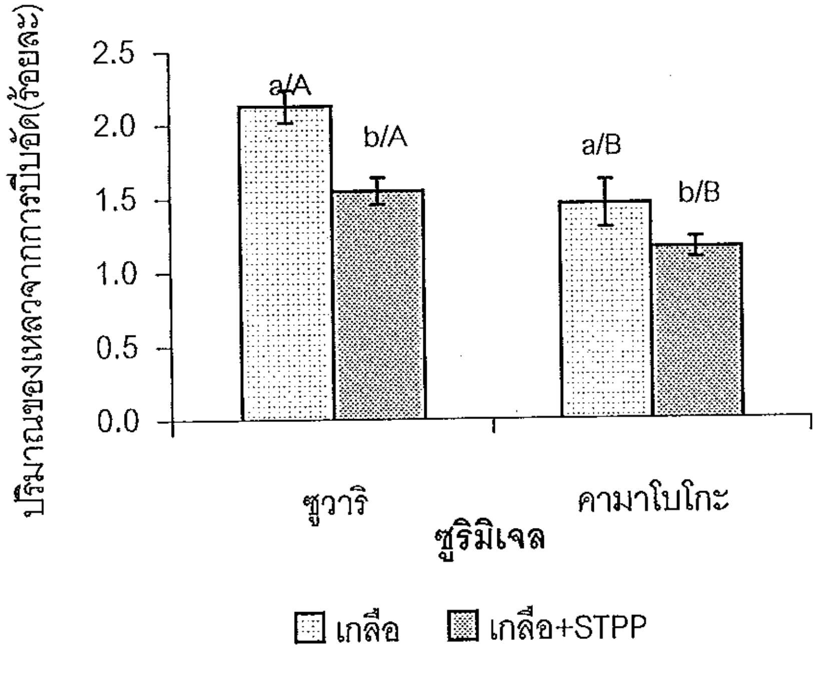
หมายเหตุ ตัวอักษร a b ที่แตกต่างกัน ในเจลชนิดเดียวกันที่เติมสารต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติ (P<0.05)
ตัวอักษร A B ที่แตกต่างกัน ของสารที่เติมเหมือนกันในเจลต่างชนิดกัน มีความแตกต่างทางสถิติ (P <0.05)

3.4 ปริมาณของเหลวจากการบีบอัด

เมื่อพิจารณาปริมาณของเหลวจากการบีบอัดของเจลซูวาริและเจลคามาโบโกะที่มีการเติมเกลือเพียงอย่างเดียวและเติมเกลือร่วมกับโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต มีปริมาณของเหลวจากการบีบอัดแตกต่างกัน (P<0.05) ปริมาณของเหลวจากการบีบอัดของเจลซูวาริและคามาโบโกะที่เติมโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตร่วมด้วยพบว่ามีค่าต่ำกว่าเจลที่มีการเติมเกลือเพียงอย่างเดียว (P<0.05) (รูปที่ 25)

เมื่อเปรียบเทียบเจลซูวาริ และเจลคามาโบโกะพบว่าเจลซูวาริที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนมีปริมาณของเหลวจากการบีบอัดสูงกว่า ทั้งนี้เนื่องจากการให้ความร้อนภาย

หลังการเซ็ตตัวก่อให้เกิดพันธะต่างๆ ที่มีผลให้เกิดโครงสร้างเจลที่แข็งแรงและสามารถกักเก็บน้ำภายในโครงสร้างได้อย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น โดยสัมพันธ์กับงานวิจัยของ Kumazawa และคณะ(1995) กล่าวว่าเจลซูวาริที่ผ่านและไม่ผ่านการให้ความร้อนมีปริมาณของเหลวจากการบีบอัดที่แตกต่างกัน โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิของการเซ็ตตัวเพิ่มขึ้นปริมาณของเหลวจากการบีบอัดมีค่าลดลง เมื่อเปรียบเทียบเจลซูวาริที่ไม่ผ่านและผ่านการให้ความร้อนพบว่า เจลซูวาริที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนมีปริมาณของเหลวจากการบีบอัดสูงกว่า ทั้งนี้เนื่องจากการให้ความร้อนภายหลังการเซ็ตตัวก่อให้เกิดพันธะต่างๆที่มีผลให้เกิดโครงสร้างเจลที่แข็งแรง และสามารถกักเก็บน้ำภายในโครงสร้างได้อย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น



รูปที่ 25 ปริมาณของเหลวจากการบีบอัดของเจลซูริมิที่เตรียมโดยเติมเกลือและสารประกอบโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตของเจลซูวาริและเจลคามาโบโกะ

หมายเหตุ ตัวอักษร a b ที่แตกต่างกัน ในเจลชนิดเดียวกันที่เติมสารต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติ (P<0.05)
ตัวอักษร A B ที่แตกต่างกัน ของสารที่เติมเหมือนกันในเจลต่างชนิดกัน มีความแตกต่างทางสถิติ (P <0.05)

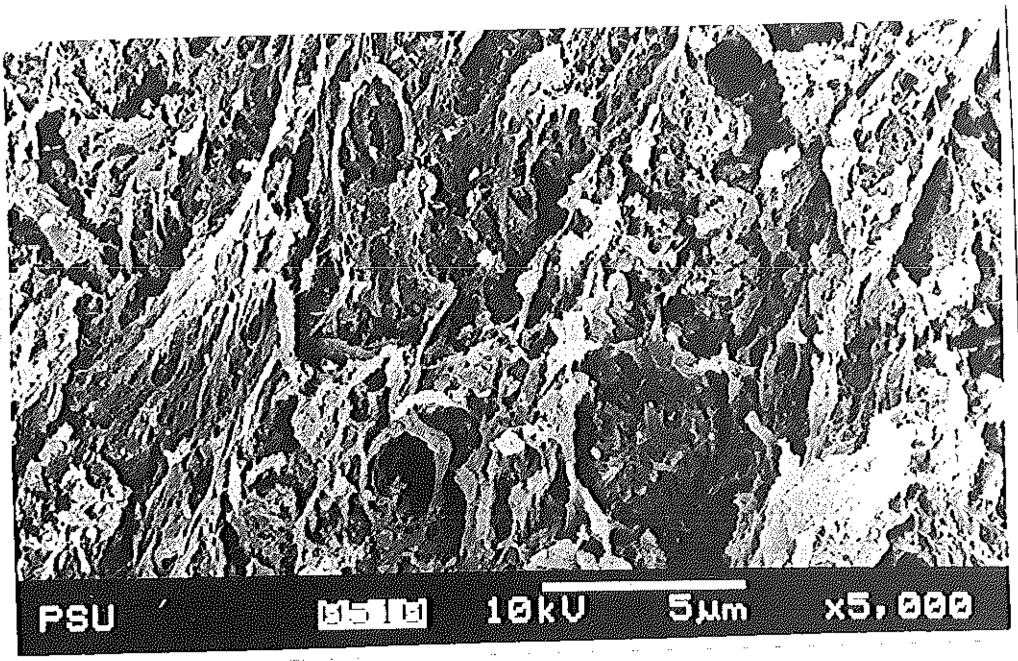
ความสามารถในการอุ้มน้ำของซูริมิขึ้นกับโครงสร้างและชนิดของโปรตีน โดยปกติน้ำจะถูกกักเก็บอยู่ในช่องว่างระหว่างเมตริกซ์

Nishimoto และคณะ (1987) ได้กล่าวว่าสำหรับซูริมิสมบัติเชิงหน้าที่ที่ดีคือ มีความสามารถในการเกิดเจลที่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ในปริมาณสูง และมีความยืดหยุ่น โดยที่สมบัติดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับความสมบูรณ์ของโมเลกุลโปรตีนแอคโตไมโอซิน และการเปลี่ยนแปลงโครงร่างโมเลกุลโปรตีน โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับโปรตีนระหว่างการให้ความร้อน

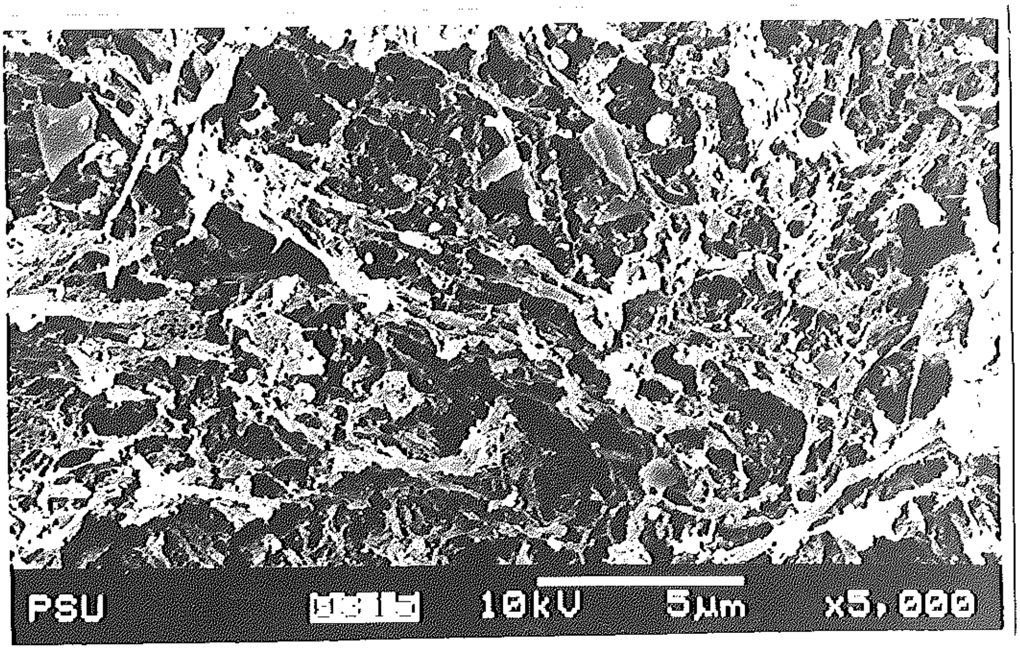
3.5 โครงสร้างจุลภาคของเจลซูริมิ

จากการวิเคราะห์โครงสร้างเจลที่เตรียมโดยใช้เกลือ และเกลือร่วมกับโซเดียม-ไตรพอลิฟอสเฟต (รูปที่ 26) แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างร่างแหของเจลทั้ง 2 ชุดการทดลองให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน คือโครงสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อของโปรตีนจับตัวกันแน่นต่อเนื่องและเป็นระเบียบ สังเกตได้จากขนาดช่องว่างระหว่างโครงสร้างร่างแหของเจลที่เกิดจากการจับตัวกันของโปรตีนที่มีขนาดและการกระจายตัวที่สม่ำเสมอ Gomez-Guillen และคณะ (1997) กล่าวว่าโครงสร้างตาข่าย 3 มิติของเจล มีความสัมพันธ์กับความแข็งแรงของเจล และความสามารถในการอุ้มน้ำของเจล โดยเจลที่มีโครงสร้างแน่นและแข็งแรงจะอุ้มน้ำไว้ได้สูง โดยน้ำที่มีอยู่ในโครงสร้างของเจลนั้นเชื่อมกันว่าจะถูกตรึงอยู่ในโครงสร้าง 3 มิติของเจล

ก



ข



รูปที่ 26 โครงสร้างจุลภาคของเจลซูริมิโดยใช้ Scanning Electron Microscopy(SEM) เติมเกลือ (ก) เติมเกลือร่วมกับสารประกอบโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต (ข)

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

1 กระบวนการแช่เยือกแข็ง-ทำละลาย มีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลาทรายแดงแล่ และซูริมิที่ผลิตจากเนื้อปลาทรายแดงแล่ ซึ่งตรวจสอบได้จากค่า Tmax ของโปรตีนไมโอซิน ความสามารถในการอุ้มน้ำ ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ รูปแบบของโปรตีนโดยใช้ SDS-PAGE และการตรวจสอบความแข็งแรงของเจล คือมีปริมาณลดลงและมีการเปลี่ยนแปลงอย่างเด่นชัดหลังจากผ่านการแช่เยือกแข็ง–ทำละลายในรอบที่ 3 แสดงว่าโปรตีนเกิดการสูญเสียคุณภาพมากขึ้นเมื่อผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น

2 การแช่เนื้อปลาทรายแดงในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตก่อนการแช่-เยือกแข็ง สามารถชลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของโปรตีนได้

3 การเติมโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตร่วมกับเกลือมีผลให้คุณภาพเจลที่ได้สูงกว่าการเติมเกลือเพียงอย่างเดียว

เอกสารอ้างอิง

Akahane, Y.and Shimisu, Y. 1989. Effects of pH and sodium chloride on the water holding capacity surimi and it's gel. Nippon Suisan Gakkaishi. 55: 1827-1832.

Almas, K A. 1981. Chemistry and microbiology of fish processing. Dept. of Biochemistry, Norwegian Inst. of Technol., Univ. of Trondheim. Norway.

Alvarez, C., Couso, I., and Tejada, M. 1995. Sardine surimi gel as affected by salt concentration, blending, heat treatment and moisture. J. Food Sci. 60: 622-626.

Aguilar, R.P., Sanchez, M., and Burgueno, M.r. 2000. Postmortem biochemical and functional characteristic of monterey sardine muscle stored at 0° C. J. Food Sci. 65:40-47.

Ang, J.F., and Haltin, H.O. 1989. Denaturation of cod myosin during freezing after modification with formaldehyde. J. Food Sci. 54:814-818.

A.O.A.C. 1990. Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical chemists 14th ed. Verginia: The Association of Official Analytical Chemists,

Asghar, A., Samejima, K., and Yasui, T. 1985. Functionality of muscle proteins in gelation mechanisms of structured meat products. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.22:27-28.

Babbitt, J.K. and Reppond, K.D. 1988. Factors affecting the gel properties of surimi. J. Food Sci. 53:965-966.

Beas, V.E., Wagner, J.R., and Anon, M.C. 1991. Thermal denaturation in fish muscle proteins during gelling : effect of spawning condition. J. Food Sci. 53:281-284.

Bechtel, P.J. 1986. Muscle development and contractile proteins. In Muscle as Food. P.J. Bechtel(Ed.), p.2-31. Academic Press, Inc., Orlando, FL.

Benjakul, S., and Bauer, F. 2000. Physicochemical and enzymatic changes of cod muscle proteins subjected to differrent freeze-thaw cycled. J. Sci Food Agric. 80:1143-1150.

Benjakul, S., and Bauer, F. 2001. Biochemical and physicochemical changes in catfish (*Silurus glanis Linne*) muscle an influenced by different freeze-thaw cycles. Food Chem. 72:207-217.

Bligh, E.G. and Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J.Biochem. Physiol. 37:911-917.

Careche, M. and Li-Chan, E.C.V. 1997. Structural changes in cod myosin after modification with formaldehyde on frozen storage. J. Food Sci. 62:717-723.

Casserly, U., Mooney, M., and Troy, D. 2000 Standardisation and application of semi-quantitative SDS-PAGE method for measurement of myofibrillar protein fragments in bovine *longissimus* muscle. Food Chem. 69:379-385.

Chang, C.C. and Regenstein, J.M. 1997. Water uptake protein solubility and Protein changes of cod mince stored on ice as affected by polyphosphates. J. Food Sci. 62:305-309.

Chan, J.K., Gill, T.A.,Thompson, J.W., and Singer, D.S. 1995. Herring surimi during low temperature setting physicochemical and textural properties. J. Food Sci. 60:1248-1253.

Chang-Lee, M.V., Lampila, L.E., and Crawford, D.L. 1990. Yield and composition of surimi from Pacific whiting (*Merluccius productus*) and the effect of various protein additive on gel strength. J. Food Sci. 55:83-86.

Cheng, C.S., Hamann, D.D., and Webb, N.B. 1979. Effect of thermal processing on minced fish gel texture. J. Food Sci. 44:1080-1086.

Chen, H.H. 1995. Thermal stability and gel-forming ability of shark muscle as related to ionic strength. J. Food Sci. 60:1237-1240.

Connell, J.J. 1975. The role of fomaldehyde as a protein crosslinking agent acting during the frozen strorage of cod. J. Sci Food Agric. 26:1925-1929.

Davies, J.R., Bardsley, R.G., and Ledward, D.A. 1988. Myosin thermal stability in fish muscle. J. Sci Food Agric. 45:69-78.

Douglas-Scwarz, M. and Lee, C.M. 1988. Comparison of the thermostability of red hake and Alaska pollock surimi during processing. J. Food Sci. 53: 1347-1351.

Dziezak, J.D. 1990. Phosphates improve many foods. Food Technol. 44: 80-92.

Foegeding, E.A., Allen, C.E., and Dayton, W.R. 1986. Effect of heating rate on thermally formed myosin fibrinogen and albumin gels. J. Food Sci. 51:104-108.

Gill, T.A., Keith, R.A., and Smith, B. 1979. Textural deterioration of red hake and haddock muscle in frozen storage as related to chemical parameters and changes in the myofibrillar protein. J. Food Sci. 44:666-667.

Gomez-Guillen, C., Borderias A.J., and Montero, P. 1997. Thermal gelation properties of two differrent composition sardine (*Sarding pilchardus*) muscals with addition of non-muscle proteins and hydrocolloids. Food Chem. 58:81-87.

Gomez-Guillen, C., Sola, S. T., and Monterso, P. 1997. Influence of added salt and non-muscle proteins on the rheology and ultrastructure of gels made from minced flesh of sadine(*Sarding pilchardus*). Food Chem. 58:193-202.

Hashimoto,A., Kobayashi, A., and Arai, K. 1982. Thermostability of fish myofibrillar Ca-ATPase and adaptation to environmental temperature. Nippon Suisan Gakkaishi. 57:747

Hashimoto, K., Watabe, S., Kono. M., and Shiro, K. 1979. Muscle protein composition of sardine and mackerel. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 45:1435-1441.

Hastings, R.J., Rodger, G.W., Park, R., Matthews, A.D., and Anderson, E.M. 1985. Differential scanning calorimetry of fish muscle: the effect of processing and species variation. J. Food Sci. 50:503-510.

Hastings, R.J., Keay, J.N., and Young , K.W. 1990. The properties of surimi and kamaboko gels from nine British species of fish. Int. J. Food Sci. Technol. 25:281-283.

Henson, L.S. and Kowalewski, K.M. 1992. Use of phosphates in seafood INFOFISH International. 5:52-54.

Huidobro, A. and Tejada, M. 1993. Emulsifying capacity of fish mince from several species during frozen storage. J. Sci. Food Agric. 61: 333-338.

Jiang, S.T., Hsieh, J,e., Ho, M.L., and Chung, Y.C. 2000. Microbial transglu – taminase affects gel properties of golden threadfin bream and pollack surimi. J. Food Sci. 65:694-699.

Jiang, S.T., Hwang, D.C. and Chen, C.S. 1988. Effect of storage temperatures on the formation of disulfides and denaturation of milk fish actomyosin (*Chanos chanos*). J. Food Sci. 53:1333-1335.

Jiang, S.T. and Lee, T.C. 1985. Changes in free amino acide and denaturation of fish muscle during frozen storage. J. Agric Food Chem. 33: 839-844.

Kim, B.Y. Hamann , D.D. Lanier, T.C. and Wu, M.C. 1986. Effecs of freeze-thaw abuse on the viscosity and gel-forming properties of surimi from two species. J. Food Sci. 51:951-956.

Kim, J.M. and Lee, C.M. 1987. Effect of starch on textural properties of surimi gel. J. Food Sci. 52:722-725.

Koning, A.J. and Mol, T.H. 1991. Quantitative quality tests for frozen fish : soluble protein and free fatty acids content as quality criteria for hake (*Merluccius capensis*) stored at -18^{0}C. J. Sci Food Agric. 54:449-458.

Konno, K. 1992. Suppression of thermal denaturation of myosin subfragment of Alaska pollack *(Thergra chacogramma)* by sorbitol and accelerated inactivation by pyrophosphate. J. Food Sci. 57:261-264.

Konno, K. Yamadodera, K. and Kiuchi, H. 1997. Sulubilization of fish muscle myosin by sorbitol. J. Food Sci. 62: 980-984.

Krueger, D.J. and Fennema, O.R. 1989. Effect of chemical additives on toughening of fillets of frozen Alaska pollack. J. Food Sci. 54:1101-1106.

Kumazawa, Y., Numazawa, T., Seuro, K., and Motoki, M. 1995. Suppression of surimi gel setting by transglutaminase inhibitors. J. Food Sci. 60:715-717.

Lablanc, E.L. and Lablanc, R. 1992. Determination of hydrophobicity and reactive groups in proteins of cod (*Gadus morhua*) muscle during frozen storage. Food Chem. 43: 3-11.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of head bacteriophage T4. Nature. 277: 680-685.

Lanier, T.C.,Lin, T.S., Liu, Y.M., and Hamann. D.D. 1982. Heat gelation properties of actomyosin and surimi prepared from Atlantic croaker. J. Food Sci. 47: 1921-1925.

Lanier, T.C 1986. Functional properties of surimi. Food Technol. 40 (3):107-108.

Lee, C.M. 1984. Surimi process technology. Food Technol. 38(11):69-70.

Lou, X., Wang, C., Xion, Y.L., Wang, B., and Mims, S.D. 2000 . Gelation characteristics of peddlefish (*polyodan spathula*) surimi under differrent heating condition. J. Food Sci. 65: 394-398.

Love, R. M. 1992. Biochemical dynamics and the quality of fresh and frozen fish. In Fish processing Tecnology. G. M. Hall (Ed) pp. 1-30. Blackie Academic and processional. New York.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol Chem. 193:265-275.

MacDonald, G.A., and Lanier, T.C. 1991. Carbohydrated as cryoprotectants for meat and surimi. Food Technol. 45(4):150-155.

MacDonald ,G.A., and Lanier, T.C. 1994. Actomyosin stabilization to freeze-thaw and heat denaturation by lactate salts. J. Food Sci. 59: 101-105.

MacDonald, G.A., Sterven, J., and Lanier, T. C. 1994. Characterization of New Zealand hoki and southern blue whiting surimi compared to Alaska pollock surimi. J. Aqua. Food prod. Technol. 3(1):19-38.

Mackie, J.M. 1994. Fish protein. In New and developing sources of Food proteins. B.J.F. Hudson(Ed.) 95-114. Chamman and Hall, London.

Matsumoto, J.J. 1980. Chemical deterioration of muscle proteins during frozen storage. In Chemical Deterioration of Proteins (Ed. by J.R. Whitaker, and M. Fujimaki), p.95 Advances in Chemistry Series. No.123. American Chemical Society Washington.DC.

Min, T.S., Chung, N.M., Fujiwara, T.,Kuang, H.K., and Hasegawa, H. 1987. Handbook on the processing of frozen surimi and fish jelly product in Southeast Asia. Koon Wah Printing Pte. Ltd. Singapore. 30 pp

Nielsen, R.G., and Pigott, G.M. 1994.Gel strength increased in low-grade heat-set surimi with blended phosphates. J. Food Sci. 59:246-250.

Nilsson, K. and Ekstrand, B. 1995. Frozen storage and thawing methods affect biochemical and sensory attributes of rainbow trout. J. Food Sci. 60:627-630.

Nishimoto,S., Hashimoto, A., Seki, N., Kimura, I., Toyada, K., Fujita, T. and Arai, K. 1987. Influencing factors on changes in myosin heavy chain and jelly strength of salted meat paste from alaska pollack during setting. Nippon Suisan Gakkaishi 53:2011-2020.

Noguchi, S.F. 1986. Dynamic viscoelastic changers of surimi (minced meat) during thermal gelation. Bull Japan. Soc. Fish. 52:1261.

Okada, M. 1985. Ingredient on gel texture. In. Engineered Seafood Including Surimi. R.E. Martin and R.L. Collette. (Eds) pp. 507-521. Internationnal Symposium On Engineered Seafood Including Surimi . Nov. 19-21, Sea. Ttle, Washington.

Okada, T., Ohta, F., Inoue, N., and Akiba, M. 1985. Denaturation of carp myosin B in KCl solution during frozen storage. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish 51:1887-1892.

Park, J.W. and Lanier, T.C. 1987. Combined effects of phosphates and sugar or polyol on protein stabilization of fish myofibrills. J. Food Sci. 52:1509-1513.

Park, J.W., Lanier, T.C., and Green, D.P. 1988. Cryoprotective effects of sugar polyols and/or phosphates on alaska pollack surimi. J. Food Sci. 53: 1-3.

Pigott, G.M. and Tucker, B.W. 1990. Seafood: Effect of Technology in Nutrition. Marcel Dekker, Inc. USA. 362 pp.

Pipatsattayanuwong, S., Park, J.W., and Marrissey, M.T. 1995. Functional properties and shelf life of fresh surimi from pacific whiting. J. Food Sci. 60: 1241-1244.

Ramirez,J.A., Martin-PoLo, M.o., and Bandman, E. 2000. Fish myosin aggregation as Affected by freezing and initial physical state. J.Food Sci. 65:556-560.

Rodgers, M.E., Karr, T., Biedermann, K. Ueno, H., and Harrington, W.F. 1987. Thermal stability of myosin rod from various species. Biochemistry, 26: 8703-8708.

Rosinski, M.J., Barmore, C.R., Bridges, W.C., Dick, R.L., and Acton, J.C. 1989. Phosphate type and salt concentration effects on shear strength of packaging film adhesion to processed meat from a cook-in packaging system. J. Food Sci. 54 :1422-1425.

Roura, S.I., Saavedra, J. P., Truco, R.e., and Crupkin, M. 1992. Conformational change in actomyosin from post-spawned hake stored on ice. J. Food Sci. 57:1109-1111.

Scott, D.N., Porter, R.W., and Kourg, B. 1988. Effect of freezing and frozen storage of Alaska pollock on chemical and gel-forming properties of surimi. J. Food Sci. 53: 353-357.

Shaban. O., Ochiai, Y., Watabe, S., and Hashimoto, K. 1985. Quality changes in alaska pollack meat paste (surimi) during frozen storage. Nippon suisan Gakkaishi. 51:1853-1858.

Shenouda, S.Y.K. 1980. Theories of protein denaturation during frozen stored of fish flehs. Adv. Food Res. 26:275-280.

Shimizu, Y., Machida R., and Takenami, S. 1981. Species variation in the gelforming characteristics of fish meat paste. Bull Japan. Soc. Sci. Fish.47: 95-97.

Sikorski, Z.E. and Kotakowska, A. 1992. Changers in protein frozen stored fish. pp. 99-112

Simpson, R., Kolbe, E., MacDonald, G. A., Lanier, T.C., and Morrissey, M.T. 1994. Surimi production from partially processed and frozen pacific whiting (*Merluccius productus*). J. Food Sci. 59: 272-276.

Simpson, R., Morriseey, M.T., Kolbe, E., Lanier, T.C., and MacDonald, G.A. 1994. Effect of varying sucrose concentrations in Pacific whiting (*Merluccius productus*) J. Aqua. Food Technol. 3:41-52.

Sirkorski, Z.E. 1990. Seafood : Resources, Nutritional composition and preservation CRC Press, Florida. pp 30-90.

Sikorski, Z.E. and Kotakowoska, A.1992. Change in proteins is frozen stored fish. pp. 99-112 In.

Smith, D.M. 1991. Factor influencing heat induce gelation of muscle proteins. In Interactions of food protein. pp. 243-256. Washington DC: American Chemical Society.

Srinivasan, S., Xiong, Y.L., and Blanchard, S. 1997. Effects of freezing and thawing methods and storage time on thermal properties of freshwater prawns (*Macrobrachium rosenbergii*) . J. Sci Food Agric . 75: 37-44.

Stabursvik ,E. and Martens, H. 1980. Thermal denaturation of protein in post rigor muscle tissue as studied by differential scanning calorimetry. J. Sci. Food Agric. 31:1034-1042.

Suvanich, V., Jahncke, M.L., and Marshall, D.L. 2000. Changes in selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill and frozen storage. J. Food Sci. 65:24-29.

Suzuki, T. 1981. Fish and krill protein : proceesing technology. Applier science Publishers London.

Sych, J., Lacroix, C.,Adambounou, L.T., and Castaigne, F.1990. Cryoprotective of some materials on cod-surimi proteins during frozen storage. J. Food Sci. 55:1222-1227.

Wagner, J.R. and Anon, M.C. Effect of frozen storage on protein denaturation in bovine muscle.II. Influence on solubility, viscosity and electrophoretic behaviour of myofibrillar proteins. J. Food Sci. 21:547-558.

Watabe, S., Ochiai, Y., and Hashimoto, K. 1982. Identification of 5,5-dithio-bis-z-nitrobenzoic acid (DTNB) and alkali light chains of piscine myosin. Bull. Jpn. Soc.Sci. Fish. 48:827-832.

Watabe, S., Ushino, H., Iwamoto, M., Yamanaka, H., and Hashimoto, K. 1989. Temperature dependency of rigor-mortis of fish muscle: myofibrillar Mg^{2+}-ATPase activity and Ca^{2+} uptake by sacoplasmic reticulum. J. Food Sci. 54: 1107-1115.

Wright, D.J. and Wilding, P. 1983. Differential scanning calorimetry study of muscle and its protein : myosin and its subfragments. J. Sci. Food Agric. 35: 357-372.

Wu, M.C., Lanier, T.C. and Hamann, D.D. 1985. Rigidity and viscosity changes of croaker actomyosin during thermal gelation. J. Food Sci. 50:14-15.

Wu, M.C., Atallah, M.T., and Hultin, H.O. 1992. The proteins of washed minced fish muscle have singnificant solubility in water . J. Food Biochem. 15:209-218.

Xiong, Y.L., Lou. X., Wang, C., Moody, W.G., and Harmon, R.J. 2000 Protein extraction from chicken myofibrils irrigated with various polyphosphate and NaCl solution. J. Food Sci. 65:96-100.

Yean, Y.S. 1993. The quality of surimi made from Theadfin bream stored on ice for different periods. Inter. J. Food Sci . 28:343-346.

Yongsawatdigul, J and Park, J.W. 1996. Linear heating rate affects gelation of Alaska pollck and Pacific whiting surimi. J. Food Sci. 61:149-153.

Yongsawatdigul, J., Park, J.W., Virulhakul, P., and Viratchakul, S. 2000. Proteolytic degradation of tropical tilapia surimi J. Food Sci. 65:129-133.

ภาคผนวก

ก. การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ความชื้น โดยวิธีอบในตู้อบไฟฟ้า (A.O.A.C., 1995)

อุปกรณ์

1. ภาชนะอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น
2. ตู้อบไฟฟ้า
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

วิธีการ

1. ภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสนาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งน้ำหนัก

2. กระทำเช่นข้อ 1 จนได้ผลต่างน้ำหนักที่แน่นอนอย่างละเอียดประมาณ 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนอย่างละเอียดประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว

4. นำไปอบในตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งหาน้ำหนัก

5. นำออกจากตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง

6. อบซ้ำอีกครั้งประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

7. คำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

2. การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (A.O.A.C., 1995)

อุปกรณ์

1. เตาเผา
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปิดสวิทช์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาลดลงก่อน แล้วนำออกมาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. เผาซ้ำอีกครั้งประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นเดียวกับข้อ 1 จนได้ผลต่างน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 1-2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบซึ่งทราบน้ำหนักแล้วนำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผาตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 600 องศาเซลเซียส และทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2

4. คำนวณหาปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้าคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = \frac{100 \times \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

3. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ใช้วิธีเจลดาล (A.O.A.C., 1995)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ย่อยโปรตีน ประกอบด้วยเตาย่อย และเครื่องดักจับไอกรด
2. อุปกรณ์กลั่นโปรตีน
3. ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร และขวดปรับปริมาณขนาด 100 มิลลิลิตร
4. ปิเปตขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
5. บิวเรตขนาด 25 มิลลิลิตร
6. ลูกแก้ว
7. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
8. กระดาษกรอง

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง (ของแข็ง) ให้ได้น้ำหนักประมาณ 0.5-1.0 กรัม (ตัวอย่างของเหลวใช้ปริมาตร 10-15 มิลลิลิตร) ใส่ในหลอดย่อยโปรตีนและทำแบลงค์ด้วย

2. ใส่สารผสม $CuSO_4$ และ K_2SO_4 ปริมาณ 5 กรัม

3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาณ 20 มิลลิลิตร

4.วางหลอดย่อยในเตาย่อยแล้วประกอบสายยางระหว่างฝาครอบขวดด่างและเครื่องดักจับไอกรดให้เรียบร้อย

5.เปิดสวิทช์เครื่องดักจับไอกรดและเตาย่อย แล้วตั้งอุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที จากนั้นปรับอุณหภูมิเป็น 350 องศาเซลเซียส ย่อยต่ออีก 60 นาทีจนได้สารละลายใส

6. ปล่อยทิ้งให้เย็น

7.นำมาถ่ายลงในขวดปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร แล้วใช้น้ำกลั่นล้างหลอดย่อยให้หมดสารละลายตัวอย่าง ปริมาณให้ได้ 100 มิลลิลิตรเก็บไว้กลั่นต่อไป

ขั้นตอนการกลั่นและไตเตรต

1. จัดอุปกรณ์กลั่น แล้วเปิดสวิทซ์ให้ความร้อน และเปิดน้ำหล่อเย็นเครื่องควบแน่นด้วย

2. นำขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตรซึ่งบรรจุกรดบอริก (เข้มข้นร้อยละ 4) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ซึ่งเติมอินดิเคเตอร์เรียบร้อยแล้วไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้ โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มในสารละลายกรดบอริก

3. ดูดสารละลายตัวอย่างโดยปิเปตแบบกระเปาะขนาดความจุ 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในช่องใส่ตัวอย่าง แล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป 20 มิลลิลิตร

4. กลั่นประมาณ 10 นาที ล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ

5. ไตเตรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดเกลือที่มีความเข้มข้น 0.02 นอร์มาลจนสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง

6. คำนวณปริมาณโปรตีนจากสูตร

$$\text{ปริมาณโปรตีนคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = \frac{(A - B) \times N \times 12.007 \times F}{W}$$

A = ปริมาณกรดที่ใช้ในการไตเตรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรตกับแบลงค์ (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของกรด (นอร์มาล)

F = แฟกเตอร์ (6.5)

W = น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

4.การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (A.O.A.C., 1995)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน ประกอบด้วยขวดกลม ซอคเลต อุปกรณ์ควบแน่น และเตาให้ความร้อน
2. หลอดใส่ตัวอย่าง
3. สำลี
4. ตู้อบไฟฟ้า
5. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
6. โถดูดความชื้น
7. ปิโตรเลียมอีเทอร์ หรือ เฮกเซน

วิธีการ

1. อบขวดกลมสำหรับหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้า ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก ถ้าตัวอย่างเป็นอาหารที่มีไขมันมาก (ให้ชั่ง 1-2 กรัม) ถ้าเป็นชนิดที่มีไขมันน้อยให้ชั่ง 3-5 กรัม ห่อให้มิดชิดแล้วใส่ในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยสำลีเพื่อให้สารตัวอย่างทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ
3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซอคเลต
4. เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ลงในขวดหาไขมันประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตา ประกอบอุปกรณ์ชุดสกัดไขมันนาน 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที
5. เมื่อครบ 14 ชั่วโมงแล้วนำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอคเลตทิ้งให้ตัวทำละลายไหลจากซอคเลตลงในขวดกลมจนหมด
6. ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ

7.นำขวดหาไขมันอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียสจนแห้งใช้เวลาประมาณ 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

8. ชั่งน้ำหนัก แล้วอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

9. คำนวณหาปริมาณไขมันจากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมันคิดเป็นร้อยละ} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

5.การตรวจสอบค่าด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (Hasegawa, 1987)

อุปกรณ์

1. จาน conway unit
2. Volumetric pipette
3. Pipette ขนาด 1 มิลลิลิตร
4. โฮโมจีไนส์
5. กระดาษกรอง
6. กรวยกรอง

สารเคมี

1. สารละลาย Mixed indicator
2. สารละลาย Innerring
3. สารละลาย HCl 0.02 นอร์มาล
4. สารละลายโพแทสเซียมคาร์บอเนตอิ่มตัว
5. กรดไตรคลอโรอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 4
6. วาสลีน

การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม บดผสมกับ กรดไตรคลอโรอะซีติกเข้มข้นร้อยละ4 8 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 41 ปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร หากไม่ได้วิเคราะห์เลยในวันนั้นควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

วิธีการ

1. ทาวาสลีนที่ขอบฝาจาน conway
2. ดูดสารละลาย Innerring 1 มิลลิลิตรลงในจานชั้นในของจาน conway
3. เอียงจาน conway ในขณะที่มีฝาปิด
4. ดูดสารละลายโพแทสเซียมคาร์บอเนตอิ่มตัว 1 มิลลิลิตร ใส่ชั้นนอก
5. ดูดสารตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในชั้นนอกของจานโดยให้อยู่คนละด้านกับสารละลายในข้อที่ 4
6. ปิดฝาจาน conway ให้สนิท
7.ค่อยๆ เอียงจานให้สารละลายโพแทสเซียมคาร์บอเนตอิ่มตัวผสมกับสารละลายตัวอย่างระวังอย่าให้เกิดการผสมกันของสารละลายที่อยู่ในวงกลมกับสารชั้นนอกเป็นอันขาด
8. บ่มที่อุณหภูมิ 37องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที
9. เปิดฝาจาน conway แล้วไตเตรทสารในวงกลมชั้นในด้วยสารละลาย 0.02 นอร์มาล HCl ที่ใช้เพื่อใช้ในการคำนวณ
10. ทำ Blank โดยใช้ กรดไตรคลอโรอะซีอิกเข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 1 มิลลิลิตร แทนที่ตัวอย่างแล้วดำเนินการตั้งแต่ข้อ 2-9

คำนวณ TVB-N

$$\text{TVB-N (มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัมตัวอย่าง)} = \frac{(N)(14)(A-B)(V)\,100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

เมื่อ N คือ ความเข้มข้นของ HCl ที่ใช้ไตเตรท

A คือ มิลลิลิตรของ HCl ที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

B คือ มิลลิลิตรของ HCl ทีใช้ไตเตรท

V คือ ปริมาตรของตัวอย่างและ TCA ที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง

6. การตรวจสอบค่าไตรเมททิลเอมีน (Hasegawa, 1987)

อุปกรณ์

1. จาน conway unit
2. Volumetric pipedtte
3. Micro burette
4. โฮโมจีไนส์
5. กระดาษกรอง
6. กรวยกรอง

สารเคมี

1. สารละลาย Mixed indicator
2. สารละลาย Innerring
3. สารละลาย HCl 0.02 นอร์มอล
4. สารละลายโพแทสเซียมคาร์บอเนตอิ่มตัว
5. กรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 4
6. ฟอร์มัลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 10

7. วาสรีน

การเตรียมตัวอย่าง

ทำเช่นเดียวกับ TVB-N

วิธีการ

1. ทำเช่นเดียวกับการหา TVB-N ตั้งแต่ข้อ 1-4
2. เติม 10% ฟอร์มัสดีไฮด์ 1 มิลลิลิตรผสมกับตัวอย่าง
3. ปิดฝาจนจาน conway ให้สนิทและค่อยๆ เอียงจนให้สารละลายชั้นนอกผสมกัน ระวังอย่างให้เกิดการผสมกันของสารละลายที่อยู่ในวงกลมกับสารชั้นนอกเป็นอันขาด
4. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที
5. เปิดฝาจาน conway แล้วไตเตรทสารในวงกลมชั้นในด้วยสารละลาย 0.02 นอร์-มาล HCl จนกระทั่งสีเขียวจางหายไป บันทึกปริมาณ HCl ที่ใช้เพื่อใช้ในการคำนวณ
6. ทำ Blank โดยใช้ 4% ไตรคลอโรอะซีติก จำนวน 1 มิลลิลิตร แทนที่ตัวอย่างแล้วดำเนินการตั้งแต่ข้อ 2-5 ต่อไป

การคำนวณ TMA-N

$$\text{TMA-N (มิลลิกรัมไนไตรเจน/100 กรัมตัวอย่าง)} = \frac{(N)\ (14)\ (C-B)\ (V)\ 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

เมื่อ

N คือ ความเข้มข้นของ HCl ที่ใช้ไตเตรท

C คือ มิลลิลิตรของ HCl ที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

B คือ มิลลิลิตรของ HCl ที่ใช้ไตเตรทแบลงค์

V คือ ปริมาตรของตัวอย่างและไตรคลอโรอะซีติก

7. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรท

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. นาฬิกาจับเวลา

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐาน BSA 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

2. สารละลายไบยูเรท : ชั่ง $CuSo_4$ $5H_2O$ 1.5 กรัม โซเดียมโพแตสเซียมทาร์เตรท 6.0 กรัม เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 500 มิลลิลิตร คนจนเป็นเนื้อเดียวกัน เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 10 จำนวน 300 มิลลิลิตร ในขณะคนปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

วิธีการ

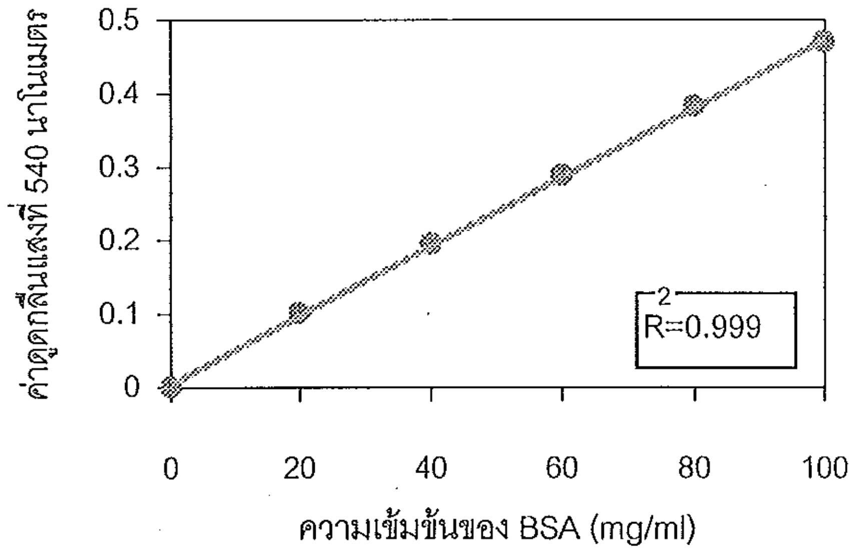
1. ดูดสารละลายโปรตีน 500 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดลอง

2.เติมสารละลายไบยูเรท 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันหลังจากนั้นวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

3.วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน BSA (รูปภาคผนวก 1)

การเตรียมโปรตีนมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA)

ดูดสารละลาย BSA 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จำนวน 100, 200, 300, 400 และ 500 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เท่ากับ 500 ไมโครลิตร เติมสารละลายไบยูเรท 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร



รูปภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐาน Bovine Serum Albumin

8. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry method (Lowry *et al.*, 1951)

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. ไมโครปิเปต
3. Vertex mixer
4. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
5. นาฬิกาจับเวลา

สารเคมี

1. สารละลาย A : โซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 2 ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล
2. สารละลาย B : $CuSO_4$. $5H_2O$ ร้อยละ 0.5 ในสารละลายโซเดียมซิเตรทที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1
3. สารละลาย C : นำสารละลายโฟลีนฟีนอล 2 นอร์มอล มาทำการเจือจางร้อยละ 50 ก่อนใช้
4. สารละลาย D : นำสารละลาย B จำนวน 1 มิลลิลิตร + สารละลาย A จำนวน 50 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. นำสารละลายตัวอย่าง 200 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย D 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vertex mixer ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
2. เติมสารละลาย C 200 ไมโครลิตร ลงไปในสารละลายในข้อที่ 1 และผสมให้เข้ากันโดยใช้ vertex mixer และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
3. นำสารละลายไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานโปรตีนโดยใช้ BSA

9.การวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟต

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. ไมโครปิเปต
3. โฮโมจีไนส์
4. Vertex mixer
5. กระดาษกรอง
6. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

สารเคมี

1. สารละลายไตรคลอโรอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 10
2. สารละลาย NaOH 1 นอร์มาล
3. สารละลายแอมโมเนียโมลิเบทเข้มข้นร้อยละ 1.5
4. สารละลาย stanous chloride เข้มข้นร้อยละ 1

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนัก 10 กรัม และผสมกับกรดไตรคลอโรอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 10 จำนวน 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปบดให้ละเอียดโดยเครื่องโฮโมจีไนส์

2. ทำการกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 41

3 . ปรับพีเอชของสารละลายตัวอย่างให้เท่ากับ 5 ด้วย NaOH 1 นอร์มาล

4. ดูดสารละลายจากข้อ 3 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นก็ปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

5. ดูดสารละลายจากข้อ 4 มา 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองเติมน้ำกลั่นจำนวน 9 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายแอมโมเนียมโมลิเบท เข้มข้นร้อยละ 1.5 จำนวน 1 มิลลิลิตร

แล้วผสมให้เข้ากัน

6. นำหลอดทดลองที่มีสารละลายไปต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที และหลังจากนั้นเติม stanous chloride เข้มข้นร้อยละ 1 จำนวน 1 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากันจากนั้นต้มต่อในน้ำเดือดอีก 10 นาที

7. ทำให้เย็นโดยนำหลอดทดลองมาแช่ในน้ำเย็น 20 นาที

8. นำสารละลายไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 830 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานของฟอสเฟต

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณฟอสเฟต (ppm)} = \frac{C \times 25 \times 30}{W \times 1 \times 1}$$

เมื่อ

C = ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน

W = น้ำหนักตัวอย่าง(กรัม)

25 และ 30 = จำนวนเท่าของการเจือจาง

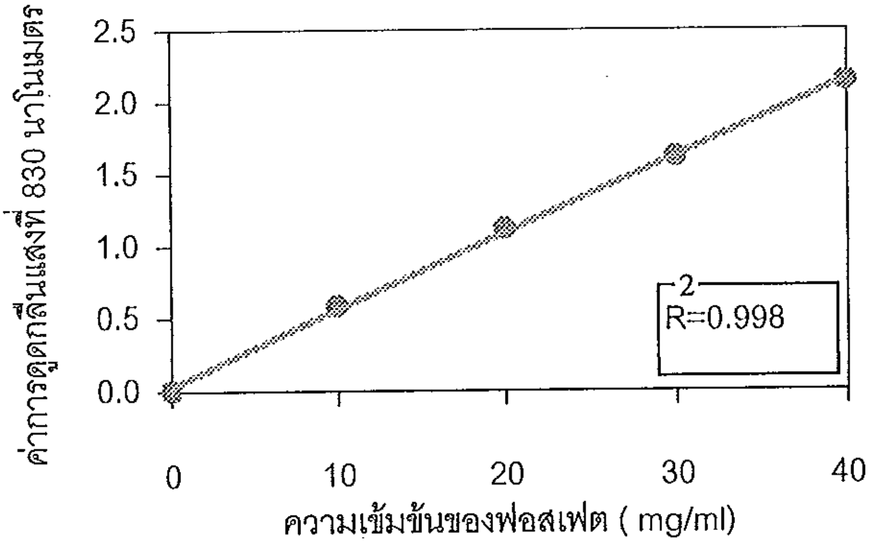
การเตรียมกราฟมาตรฐานฟอสเฟต

1.เตรียมสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต (โดยใช้โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต) เข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2. ดูดสารละลายฟอสฟอรัส 0 , 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, และ 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 10 มิลลิลิตร

3. นำสารละลายฟอสฟอรัสจากข้อ 2 ที่ความเข้มข้นต่างๆ มาหาฟอสเฟตเช่นเดียวกับตัวอย่าง

4. เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารฟอสฟอรัสกับค่าดูดกลืนแสง (รูปภาคผนวกที่ 2)



รูปภาคผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานฟอสเฟต

10 . **ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ** (Sych *et al.*, 1990)

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. ไมโครปิเปต
3. โฮโมจีไนส์
4. Vertex mixer
5. เครื่องเหวี่ยงแยกที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้
6. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

สารเคมี

1. NaCl เข้มข้น 0.6 โมลาร์
2. สารละลายมาตรฐาน BSA 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
3. สารละลายไบยูเรท

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม และเติมสารละลาย 0.6 M NaCl 200 มิลลิลิตรแล้วนำไปบดให้ละเอียดโดยเครื่องโฮโมจีไนส์

2.นำสารผสมที่ได้มาเหวี่ยงแยกด้วยเครื่องแยกเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที

3. นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Biuret method เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ BSA

คำนวณปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ

$$\text{ประมาณโปรตีนที่ละลายเกลือ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ}}{100}$$

11. **ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีน** (Hasegawa, 1987)

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. ไมโครปิเปต
3. โฮโมจีไนส์
4. Vertex mixer
5. เครื่องเหวี่ยงแยกที่ควบคุมอุณหภูมิได้
6. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

สารเคมี

1. NaOH เข้มข้น 1 นอร์มอล

วิธีการ

หาปริมาณโปรตีนทั้งหมดในส่วนใส

1. ชั่งตัวอย่าง 1.7 กรัม และเติมน้ำ 34 มิลลิลิตรแล้วนำไปบดให้ละเอียดโดยเครื่องโฮโมจีไนส์

2. นำสารละลายตัวอย่างที่ได้มาเก็บในน้ำแข็งเป็นเวลา 30 นาที

3. นำสารผสมที่ได้มาเหวี่ยงแยกด้วยเครื่องแยกเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 20,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที

4. นำตะกอนที่ได้ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อหาความชื้น

5. นำส่วนใสที่ได้จากข้อที่ 3 ไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry method (1957) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ BSA

หาปริมาณโปรตีนทั้งหมดในตัวอย่าง

1.ชั่งตัวอย่าง 1.7 กรัม และเติมน้ำ 34 มิลลิลิตรแล้วนำไปบดให้ละเอียดโดยเครื่องโฮโมจีไนส์

2. ปรับพีเอช ของสารละลายตัวอย่างให้เท่ากับ 12 ด้วย NaOH เข้มข้น 1 นอร์มาล

3. นำสารตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry method (1957) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน BSA

การคำนวณความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีน

ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีน (มิลลิกรัมของน้ำ/มิลลิกรัมของโปรตีน) = $\frac{\text{มิลลิกรัมของน้ำที่อยู่ในตะกอน}}{\text{มิลลิกรัมของโปรตีนที่อยู่ในตะกอน}}$

12 . **การทำเจลอิเล็กโตรโฟรีซีสตามวิธีการของ** Laemmli (1970)

อุปกรณ์

1. ชุดอิเล็กโตรโฟรีซีสแบบมินิเจล

สารเคมี

1. Acrylamide/bisacrylamide เตรียมโดยละลาย Acrylamide 29.2 กรัม และ bisacrylamide 0.8 กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาณให้ได้ 100 มิลลิลิตร เก็บใส่ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ใช้ได้ประมาณ 1 เดือนหลังจากเตรียมไว้)

2. สารละลายทริส-ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์เข้มข้น 1.5 โมลาร์ พีเอช 8.8

3. สารละลายทริส – ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์เข้มข้น 0.5 โมลาร์ พีเอช 6.8

4. โซเดียมโดดิลซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 1 เก็บที่อุณหภูมิห้อง

5. Sample buffer (SDS reducing buffer)

น้ำกลั่น	3.8	มิลลิลิตร
0.5 M Tris-HCl, pH 6.8	1.0	มิลลิลิตร
กลีเซอรอล	0.8	มิลลิลิตร
10% SDS	1.6	มิลลิลิตร
เบต้าเมอแคปโตเอทานอล	0.4	มิลลิลิตร
1 % โบรโมฟีนอลบลู	0.4	มิลลิลิตร

6. Electrode (running) buffer. พีเอช 8.3

Tris base	6	กรัม
ไกลซีน	28.8	กรัม
SDS	2	กรัม
ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	2,000	มิลลิลิตร

7. Catalyst ประกอบด้วย

- แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 1 เตรียมใหม่ก่อนที่จะใช้ทุกครั้ง
- N, N, N′, N′- Tetramethylethylendiamin (TEMED)

8. โปรตีนมาตรฐานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (High Molecular weight) (Sigma) ประกอบด้วย myosin, galactosidase, phsphorylase b, fructose-6-phosphate kinase, albumin, glutamic dehydrogenase, ovalbumin, glyceraldehyde-3 phosphate dehydrogenase มีน้ำหนักโมเลกุล 205,000 116,000 97,000 84,000 66,000 55,000 45,000 และ 36,000 ดาลตัลตามลำดับ

9. สีย้อมโปรตีน Coomassie Biliant Blue R-250

Staining Solution : ละลาย Coomassie Biliant Blue R-250 0.04 กรัม ในเมธา-นอล 100 มิลลิลิตร คนจนละลายจนหมดแล้วเติม Glascial Acetic acid 15 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 85 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่าง 1.5 กรัม ผสมกับ SDS เข้มข้นร้อยละ 5 13.5 มิลลิลิตร โฮโมจิไนส์ 1 นาที บ่มที่ 85 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง นำสารละลายมาเหวี่ยงแยก 5,000 รอบต่อนาที 5 นาที นำส่วนใสที่ได้มาผสมกับ Sample buffer (อัตราส่วน 1:1) ให้มีโปรตีนเท่ากับ 40 ไมโครกรัมต่อ 10 ไมโครลิตร ต้มสารละลายผสมเป็นเวลา 4 นาที ในน้ำเดือด

2. การเตรียม running gel (10%)

สารเคมี		
30% Acrylamide/bis	1.167	มิลลิลิตร
1.5 M Tris-HCl buffer, pH 8.8	0.875	มิลลิลิตร
1 % SDS	0.35	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	0.758	มิลลิลิตร
2% Ammomium persufate	0.35	มิลลิลิตร
TEMED	6	ไมโครลิตร

3. การเตรียม stacking gel (4%)

สารเคมี		
30% Acrylamide/bis	0.4	มิลลิลิตร
0.5 M Tris-HCl buffer, pH 8.8	1	มิลลิลิตร
1 % SDS	0.3	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1.1	มิลลิลิตร
0.1 M EDTA	0.8	มิลลิลิตร
1% Ammomium persufate	0.4	มิลลิลิตร
TEMED	5	ไมโครลิตร

4. การแยกโปรตีนโดยเจลอิเล็กโตรโฟรีซีส

ประกอบชุดเจลอิเล็กโตรโฟรีซีสที่บรรจุ running gel และ stacking gel จากนั้นเติม electrode buffer ให้เต็ม chamber จากนั้น load ตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 1 จำนวน 10 ไมโครลิตร จากนั้นต่อชุดอิเล็กโตรโฟรีซีสเข้ากับ power supply เปิดกระแสไฟฟ้า 50 โวลต์จนสีของโบรโมฟีนอลบูลเคลื่อนถึง running gel จากนั้นเพิ่มกระแสไฟฟ้าเป็น 150 โวลต์จนสีของโบรโมฟีนอลบลูเคลื่อนจนเกือบสุดปลายกระจก จึงหยุดการให้กระแสไฟฟ้า

5. การย้อมสีโปรตีนในเจล โดยย้อมใน Staining solution ข้ามคืนจากนั้นนำมาแช่ด้วย Destaining solution 1 เป็นเวลา 30 นาที แล้วแช่ใน Destaining solution 2

13.การเตรียมตัวอย่างในการศึกษาเครื่อง Scanning electron microscopy (SEM)

อุปกรณ์

1. หลอดทดลองพร้อมฝาเกลียว
2. ใบมีด

สารเคมี

1. Glutaraldehyde เข้มข้นร้อยละ 2.5
2. Phosphate buffer เข้มข้น 0.2 M pH 7.2 (ประกอบด้วย KH_2PO_4/Hna_2PO_4)
3. Phosphate buffer เข้มข้น 0.1 M pH 7.2 (ประกอบด้วย KH_2PO_4/Hna_2PO_4)
4. Ethanol เข้มข้นร้อยละ 50, 70, 80, 90 และ 100
5. น้ำกลั่น

วิธีการ

1. นำตัวอย่างซูริมิ มาตัดโดยใช้ใบมีดตัดให้มีขนาดชิ้น 0.5 x 0.5 x 0.5 cm^3

2. Primary fixation ด้วย 2.5% Glutaraldehyde ใน Phosphate buffer 0.2 M พีเอช 7.2 เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง

3. ล้างออกด้วย Phosphate buffer 2-3 ครั้ง ๆ ละ 15 นาที

4. ล้างออกด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้งๆ ละ 15 นาที

5. ดึงน้ำออกจากเซลล์ด้วย Ethanol จากความเข้มข้นต่ำไปสูง

50% 2 ครั้ง ครั้งละ 15 นาที

70% 2 ครั้ง ครั้งละ 15 นาที

80% 2 ครั้ง ครั้งละ 15 นาที

90% 2 ครั้ง ครั้งละ 15 นาที

และ 100% 2 ครั้ง ครั้งละ 30 นาที

6. ทำตัวอย่างให้แห้งด้วย CPD (หรือ Air Dry)

7. ฉาบทอง

8. Observe ด้วย SEM

14. การวัดความแข็งแรงของเจลซูริมิ

อุปกรณ์

1. เครื่อง Texture Analyzer รุ่น TA-XT2

2. เครื่องคอมพิวเตอร์

วิธีการ

1. ติดตั้งเครื่องวัดเนื้อสัมผัสเข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์ทำการเปิดเครื่องวัดเนื้อสัมผัสและคอมพิวเตอร์

2. ทำการ Calibrate เครื่องวัดเนื้อสัมผัสโดยใช้ลูกตุ้มหนัก 5 กิโลกรัม

3. ติดหัวเข็มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร แล้วทำการ Calibrate หัวเข็ม

4. ตั้งสภาวะของเครื่องวัดเนื้อสัมผัสสำหรับวัดเจลซูริมิ

5. เตรียมตัวอย่างโดยการตัดให้มีความยาว 2.5 เซนติเมตร วางลงบนฐานวางตัวอย่างและวัดค่าความแข็งแรงโดยใช้หัวเข็มเจาะทะลุตรงจุดกึ่งกลาง

6. ประมวลผลการวัดที่ได้โดยอ่านค่าแรงเจาะทะลุ (Force) และระยะทางก่อนการเจาะทะลุ (Deformation)

15. ปริมาณของเหลวจากบีบอัด

อุปกรณ์

1. ลูกตุ้มน้ำหนัก 5 กิโลกรัม
2. กระดาษกรอง (Whatman No.1)
3. นาฬิกาจับเวลา
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. นำตัวอย่างซูริมิมาตัดให้มีความหนา 0.5 เซนติเมตร
2. นำตัวอย่างมาชั่งน้ำหนัก (A)
3. นำตัวอย่างมาวางบนกระดาษกรองที่ซ้อนทับกัน 3 แผ่นและปิดทับด้วยกระดาษกรองอีก 2 แผ่น
4. วางลูกตุ้มน้ำหนักวางทับเป็นเวลา 30 วินาที
5. นำตัวอย่างมาชั่งน้ำหนัก (B)

การคำนวณ

ของเหลวจากการบีบอัด (ร้อยละ) = (A-B) / A x 100

ข. การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ

ตารางผนวกที่1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	1866.05548	143.54273	637.97**
Freez-thaw (F)	6	1865.93134	310.98855	1382.17**
Sock (S)	1	0.00503	0.00503	<1
F x S	6	0.11911	0.01985	<1
Error	70	15.75001	0.22500	
Total	83	1881.80549		

CV= 9.7%

** = มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณไตรเมทธิลเอมีนของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	26.34899	2.02684	546.67**
Freez-thaw (F)	6	26.34668	4.39111	1184.35**
Sock (S)	1	0.00007	0.00008	<1
F x S	6	0.00225	0.00037	<1
Error	70	0.25953	0.00370	
Total	83	26.60852		

CV= 12.0%

** = มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าพีเอชของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	2.33187	0.17937	43.32**
Freez-thaw (F)	6	2.02829	0.33805	81.65**
Sock (S)	1	0.23625	0.23625	57.06**
F x S	6	0.06733	0.01122	2.71*
Error	28	0.11593		
Total	41	2.44781		

CV= 0.9%

* =มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

ตารางผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	24176.97692	1859.75746	296.40**
Freez-thaw (F)	6	23086.63401	3847.77233	613.24**
Sock (S)	1	715.86724	1715.86724	114.09**
F x S	6	374.47567	62.41261	9.95**
Error	70	493.21150	6.27445	
Total	83	24616.18842		

CV= 4.5%

**=มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

ตารางผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Tmax ของโปรตีนในพีคที่1 (ไมโอซิน)ของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	114.09683	8.77667	20.17**
Freez-thaw (F)	6	102.45222	17.07537	39.25**
Sock (S)	1	4.02381	4.02380	9.25**
F x S	6	7.62079	1.27013	2.92*
Error	28	12.18113	0.43504	
Total	41	126.27796		

CV= 1.3%

* = มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Tmax ของโปรตีนในพีคที่ 2 (แอคติน)ของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	12.81164	0.98551	3.02**
Freez-thaw (F)	6	3.20152	0.53358	1.64 ns
Sock (S)	1	4.98526	4.98525	15.29**
F x S	6	4.62485	0.77080	2.36 ns
Error	28	9.12800	0.32600	
Total	41	21.93964		

CV= 0.8%

ns =ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P>0.05)

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง(P <0.01)

ตารางผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าพีเอชของซูริมิที่ผลิตได้จากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	1.05450	0.08111	28.92**
Freez-thaw (F)	6	0.78762	0.13127	46.80**
Sock (S)	1	0.20162	0.20162	71.89**
F x S	6	0.06526	0.01087	3.88**
Error	28	0.07853	0.00280	
Total	41	1.13304		

CV= 0.8%

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือของซูริมิที่ผลิตได้จากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	32367.61076	2489.81621	848.54**
Freez-thaw (F)	6	30248.33487	5041.38915	1718.13**
Soke (S)	1	1319.31440	1319.31440	449.63**
F x S	6	799.96148	133.32691	45.44**
Error	70	205.39617	2.93423	
Total	83	32573.00692		

CV= 2.2%

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแรงเจาะทะลุของซูริมิที่ผลิตจากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	2406541.892	185118.607	924.89**
Freez-thaw (F)	6	2352901.494	392150.249	1959.26**
Sock (S)	1	24746.094	24746.094	123.64**
F x S	6	28894.304	4815.717	24.06**
Error	70	14010.661	200.152	
Total	83	2420552.553		

CV= 2.2%

**=มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะทางก่อนเจาะทะลุของซูริมิที่ผลิตจากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายใน รอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	396.94382	30.53414	591.91**
Freez-thaw (F)	6	390.76060	65.12676	1262.49**
Sock (S)	1	1.92920	1.92920	37.40**
F x S	6	4.25402	0.70900	13.74**
Error	70	3.61101		
Total	83	400.55484		

CV= 2.2%

**=มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Tmax ของโปรตีนในพีคที่ 1 (ไมโอซิน)ของซูริมิที่ผลิตจากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	60.24459	4.63419	11.48**
Freez-thaw (F)	6	59.29555	9.88259	24.48**
Sock (S)	1	0.08595	0.08595	<1
F x S	6	0.86308	0.14384	<1
Error	28	11.30420	0.40372	
Total	41	71.54879		

CV= 1.2%

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Tmax ของโปรตีนในพีคที่ 2 (แอคติน)ของซูริมิที่ผลิตจากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	40.29923	3.09994	1.51 ns
Freez-thaw (F)	6	35.78158	5.96359	2.90*
Sock (S)	1	0.03962	0.03962	<1
F x S	6	4.47802	0.74633	<1
Error	28	57.54693	2.05524	
Total	41	97.84616		

CV= 2.1%

ns= ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P >0.05)

* = มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ตารางผนวกที่ 13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าพีเอชของซูริมิที่เติมสารต่าง ๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	0.30940	0.10313	63.68**
Surimi gel(G)	1	0.19220	0.19220	118.67**
Addition (A)	1	0.04500	0.04500	27.78**
G x A	1	0.07220	0.07220	44.58**
Error	28	0.45350	0.00161	
Total	31	0.35475		

CV= 0.6%

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณของเหลวจากการบีบ-อัดของซูริมิที่เติมสารต่าง ๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	3.93317	1.31105	204.88**
Surimi gel(G)	1	2.23661	2.23661	349.52**
Addition (A)	1	1.53125	1.53125	239.29**
G x A	1	0.16531	0.16531	25.83**
Error	28	0.17917	0.00639	
Total	31	4.11235		

CV= 5.1%

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 15ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแรงเจาะทะลุของซูริมิที่เติมสารต่าง ๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	4742969.609	1580989.870	2887.14**
Surimi gel(G)	1	4645712.299	4645712.299	8483.82**
Addition (A)	1	54709.430	54709.430	99.91**
G x A	1	42547.880	42547.880	77.70**
Error	44	24094.267	547.597	
Total	47	4767063.876		

CV= 4.3%)

**=มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะทางก่อนเจาะทะลุของซูริมิที่เติมสารต่าง ๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	102.06604	34.02201	286.02**
Surimi gel(G)	1	70.32520	70.32520	591.22**
Addition (A)	1	21.54720	21.54720	181.15**
G x A	1	10.19363	10.19363	85.70**
Error	44	5.23375	0.11894	
Total	47	107.29979		

CV= 3.0%

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวกาญจนา จันทะ

วัน เดือน ปีเกิด 29 มกราคม 2519

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร)	สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล คณะเกษตรศาสตร์ นครศรีธรรมราช	2541