

โปรตีนที่เร่งการเกิดโมโดรีในซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคม:

คุณลักษณะและบทบาทต่อการอ่อนตัวของเจล

Modori Inducing Proteinases in Lizardfish Surimi:

Characteristics and their Role in Gel Softening



จิรวดี เทือกสุบรรณ

Jiravadee Tueksuban

๑

เลขหมู่	QP609.P75 คบ4 2544 ก.2
Bib Key	211258
	26 ส.ย. 2544

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Food Technology

Prince of Songkla University

2544

ชื่อวิทยานิพนธ์ โปรตีนเนสที่เร่งการเกิดโมโครีในซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคม:

คุณลักษณะและบทบาทต่อการอ่อนตัวของเจล

ผู้เขียน นางสาวจิรวดี เทือกสุบรรณ

สาขาวิชา เทคโนโลยีอาหาร

คณะกรรมการที่ปรึกษา

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุทธวัฒน์ เบญจกุล)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุทธวัฒน์ เบญจกุล)

.....กรรมการ

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ไพบุลย์ ธรรมรัตน์วาสัก)

(รองศาสตราจารย์ ไพบุลย์ ธรรมรัตน์วาสัก)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นันทา เขิงเขาว์)

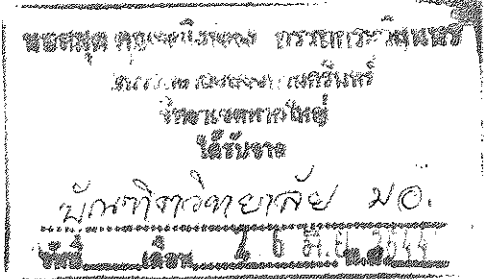
.....กรรมการ

(ดร. ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยรับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชาเทคโนโลยี
อาหาร

(รองศาสตราจารย์ ดร. ปิติ ทฤษฎิกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย



ชื่อวิทยานิพนธ์ โปรตีนเนสที่เร่งการเกิดโมโดรีนในซุริมิที่ผลิตจากปลาปากคม:
คุณลักษณะและบทบาทต่อการอ่อนตัวของเจล
ผู้เขียน นางสาว จิรวดี เทือกสุบรรณ
สาขาวิชา เทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา 2543

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกล้ามเนื้อปลาปากคมระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งต่อคุณสมบัติการเกิดเจลของซุริมิจากปลาปากคม พบว่าไมโอซินเส้นหนักของปลาที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็วตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาในน้ำแข็ง เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่เก็บรักษาแบบตัดหัวควักไส้ แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของแอกติน ส่วนผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยสลายตัวเอง กรดแอลฟาอะมิโนอิสระ สารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด ไตรเมทิลเอมีน และฟอร์มีลดีไฮด์ของกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งนานขึ้น ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างปลาทั้งตัวกับปลาตัดหัวควักไส้ พบว่า ปลาทั้งตัวมีการเปลี่ยนแปลงสูงกว่าปลาตัดหัวควักไส้เมื่อพิจารณากิจกรรมของ ATPase พบว่า กิจกรรมของ Ca^{2+} -ATPase Mg^{2+} - Ca^{2+} -ATPase หรือ Mg^{2+} -ATPase ไม่เปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาในน้ำแข็ง ($P > 0.05$) แต่ Mg^{2+} -EGTA-ATPase มีกิจกรรมเพิ่มขึ้นหลังจากวันที่ 3 ของการเก็บรักษา ($P < 0.05$)

ค่าแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซุริมิที่เตรียมจากปลาทั้งตัวและปลาตัดหัวควักไส้ มีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ($P < 0.05$) เจลซุริมิที่เตรียมโดยการแช่หัวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ก่อนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที มีค่าแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับสถานะในการให้ความร้อนอื่นๆ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบ

ระหว่างปลาทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ ค่าแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาทั้งตัวมีค่าต่ำกว่าปลาตัดหัวควักไส้ ความขาวของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาทั้งตัวและปลาตัดหัวควักไส้มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อระยะเวลาการเก็บปลาในน้ำแข็งนานขึ้น ($P < 0.05$) โดยเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาทั้งตัวให้ความขาวที่ต่ำกว่าเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาตัดหัวควักไส้

เอนไซม์โปรตีนเอสชนิดซาร์โคพลาสติกในกล้ามเนื้อปลาปากคม มีกิจกรรมสูงสุดที่พีเอช 8 และอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส Trans-epoxysuccinyl-L-leucylamido-(4-guanidino)butane (E-64) สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ การเติม dithiothreitol และ β -mercaptoethanol มีผลเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ ส่วนการเติมโซเดียมคลอไรด์และยูเรียมีผลลดกิจกรรมของเอนไซม์ ส่วนเอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริลมีกิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส E-64 และ soybean trypsin inhibitor มีประสิทธิภาพยับยั้งกิจกรรม และโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 3 มีผลลดกิจกรรมเล็กน้อย ดังนั้นโปรตีนเอสส่วนใหญ่ในของเหลวซาร์โคพลาสติกจัดอยู่ในกลุ่มซิสเตอีนโปรตีนเอส โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริลจัดอยู่ในกลุ่มซิสเตอีน และซีรีนโปรตีนเอส

โปรตีนเติมแต่งทั้งสองชนิดคือโปรตีนพลาสมาเลือดวัวและไข่ขาวผง สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในซาร์โคพลาสติก และโปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริลซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญในการย่อยสลายตัวเองของกล้ามเนื้อปลาและซูริมิโปรตีนพลาสมาเลือดวัวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์โปรตีนเอสทั้งสองชนิดสูงกว่าไข่ขาว ($P < 0.05$) ค่าแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิ มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนเติมแต่งเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) เจลซูริมิที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวให้ค่าแรงเจาะทะลุ และระยะทางก่อนเจาะทะลุสูงกว่าเจลที่เติมไข่ขาวผง แต่ความขาวของเจลลดลงเมื่อเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวที่ระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) ดังนั้นโปรตีนพลาสมาเลือดวัวมีผลส่งเสริมความแข็งแรงของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคม อันเกิดจากความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเอสรวมทั้งสารที่ช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจลในพลาสมา

Thesis Title **Modori Inducing Proteinases in Lizardfish Surimi:
Characteristics and their Role in Gel Softening**

Author **Miss. Jiravadee Tueksuban**

Major Program **Food Technology**

Academic Year **2000**

Abstract

The effect of quality changes during iced storage on the gel properties of lizardfish surimi was studied. Myosin heavy chain (MHC) in whole fish was degraded more rapidly throughout iced storage, when compared to those in headed/eviscerated fish, but no changes in actin were observed. Autolytic degradation products, free α -amino acid, total volatile bases (TVB), trimethylamine (TMA) and formaldehyde in whole fish and headed/eviscerated fish increased as the storage time increased ($P < 0.05$). Generally, larger changes were obtained in whole fish, compared to those found in headed/eviscerated fish. No changes in Ca^{2+} -ATPase, Mg^{2+} - Ca^{2+} -ATPase or Mg^{2+} -ATPase activities were observed ($P > 0.05$), but Mg^{2+} -EGTA-ATPase activity gradually increased, particularly after 3 days of storage ($P < 0.05$).

Breaking force and deformation of surimi gels prepared from both whole and headed/eviscerated fish decreased when storage time increased ($P < 0.05$). Gel prepared by setting at 40°C for 30 min, followed by heating at 90°C for 20 min showed the highest breaking force and deformation, compared to those prepared under other heating conditions. Breaking force and deformation of surimi prepared from headed/eviscerated fish were higher than those of surimi produced from whole fish. The storage time directly affected surimi color. Whiteness of surimi gels decreased

when fish were kept for a longer time ($P < 0.05$). Surimi gels prepared from whole fish had a lower whiteness than those prepared from headed/eviscerated fish.

Sarcoplasmic proteinases in lizardfish muscle had the highest activity at pH 8.0 and 65° C. Trans-epoxysuccinyl-L-leucylamido-(4-guanidino)butane (E-64) showed the most efficient inhibition on proteolytic activity. Dithiothreitol and β -mercaptoethanol were found to enhance the activity, while NaCl and urea reduced the activity, particularly at the higher concentration. Myofibril-associated proteinases in lizardfish muscle were also characterized. The optimum temperature was observed at 60° C. E-64 showed an inhibitory effect on proteolytic activity. NaCl at a concentration of 3% was found to slightly decreased the activity. The result indicated that major sarcoplasmic proteinases in lizardfish muscle belonged to cysteine proteinases, whereas myofibril associated proteinases were characterized as both cysteine and serine proteinases.

Both protein additives, beef plasma protein (BPP) and egg white, exhibited the inhibitory activity toward sarcoplasmic proteinases as well as myofibril-associated proteinases, which mainly caused the autolysis of fish muscle and surimi. Generally, BPP showed the stronger inhibition than egg white ($P < 0.05$). Breaking force and deformation of surimi increased as the concentration of protein additives increased ($P < 0.05$). Surimi gels added with BPP had higher force and deformation, compared to those added with egg white. However, whiteness of surimi decreased when higher concentration of BPP was added ($P < 0.05$). BPP contributed to enhance gelation of lizardfish surimi, presumably by inhibition of fish proteinases and also by gel-enhancing factors in the plasma.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุทรวัดน์ เบญจกุล ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำแนะนำในการค้นคว้าวิจัยและการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ไพบุลย์ ธรรมรัตน์วาทิก กรรมการที่ปรึกษาที่ให้คำแนะนำต่างๆ และตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นันทา เจริงเขาว์ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย และ ดร. ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจทานวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาอนุเคราะห์ทุนอุดหนุนการวิจัย ขอกราบขอบพระคุณ คุณแม่ และคุณพ่อ ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการศึกษามาตลอด รวมถึงเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ และเจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตร ที่มีส่วนให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

จิรวดี เทือกสุบรรณ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(10)
รายการรูป	(11)
รายการตารางผนวก	(15)
รายการรูปผนวก	(19)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำขึ้นเรื่อง	1
ตรวจสอบเอกสาร	3
ปลาปากคม	3
ซูริมิ	5
เอนไซม์ย่อยโปรตีน	15
วัตถุประสงค์	25
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	26
วัสดุ	26
อุปกรณ์	26
วิธีการทดลอง	28
1) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อปลาปากคม	28
2) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและการย่อยสลายโปรตีน กล้ามเนื้อปลาปากคมที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ	28
3) ศึกษาการผลิตซูริมิจากปลาปากคมซึ่งเก็บรักษาที่	30

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
ระยะเวลาต่างกัน	
4) ศึกษาชนิดและลักษณะของเอนไซม์โปรตีนเอสในกล้ามเนื้อปลาปากคม	31
5) ศึกษาผลของโปรตีนเติมแต่งต่อกิจกรรมการย่อยสลายตัวเอง	35
6) ศึกษาผลของโปรตีนเติมแต่งต่อความแข็งแรงของเจลซูริมิ	36
3. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	37
1) การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อปลาปากคม	37
2) การย่อยสลายโปรตีนและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกล้ามเนื้อปลาปากคมระหว่างเก็บรักษาในน้ำแข็ง	39
3) การศึกษาการผลิตซูริมิจากปลาปากคมซึ่งเก็บรักษาที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ	54
4) การจำแนกชนิดและศึกษาลักษณะของเอนไซม์โปรตีนเอสในกล้ามเนื้อปลาปากคม	61
5) ผลของโปรตีนเติมแต่งต่อกิจกรรมการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลาสดที่ผ่านการล้างและไม่ล้าง	87
6) ผลของโปรตีนเติมแต่งต่อคุณสมบัติของเจลซูริมิจากปลาปากคม	95
4. สรุปผลการทดลอง	102
เอกสารอ้างอิง	104
ภาคผนวก	127
ประวัติผู้เขียน	168

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1 องค์ประกอบทางเคมีของปลาปากคม	5
2 ผลของความสดของปลา Alaska pollock ต่อความแข็งแรงของเจลซูริมิ	7
3 โปรตีนที่พบในกล้ามเนื้อสัตว์น้ำ	17
4 ชนิดของ MIP ในปลาชนิดต่างๆ	21
5 องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อปลาปากคม	37
6 องค์ประกอบของโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน	38
7 ค่าสีและความขาวของเจลซูริมิที่เตรียมจากปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ	62
8 ค่าสีและความขาวของเจลซูริมิที่เตรียมจากปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบตัดหัวควักไส้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ	63
9 ผลของสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีนชนิดต่างๆต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนในของเหลวซาร์โคพลาสมิกจากกล้ามเนื้อปลาปากคม	67
10 ผลของสารเคมีชนิดต่างๆต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนในของเหลวซาร์โคพลาสมิกจากกล้ามเนื้อปลาปากคม	69
11 ผลของโปรตีนเติมแต่งต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนในของเหลวซาร์โคพลาสมิก	71
12 ผลของอุณหภูมิต่อการย่อยสลายเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้างและไม่ล้าง	75
13 ผลของระยะเวลาต่อการย่อยสลายเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้างและไม่ล้างที่อุณหภูมิ 60 และ 65 องศาเซลเซียส	79
14 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการย่อยสลายเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้าง	84
15 ผลของสารยับยั้งชนิดต่างๆต่อการย่อยสลายเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้าง	86

รายการรูป

รูปที่	หน้า
1 ลักษณะของปลาปากคม	3
2 แบบจำลองการละลายของโปรตีนไมโอไฟบริลในสารละลายเกลือ	9
3 ผลของอุณหภูมิของโซลในระหว่างการสับผสมต่อความแข็งแรงของเจลซูริมี	11
4 กลไกการทำงานของเอกโตเปปติเดสและเอนโดเปปติเดส	16
5 ขั้นตอนการผลิตซูริมี	30
6 รูปแบบการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวในน้ำแข็งเป็นระยะเวลาต่างๆ	42
7 รูปแบบการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบตัดหัวควักไส้ในน้ำแข็งเป็นระยะเวลาต่างๆ	43
8 เปปไทด์ที่ละลายในกรดไตรคลอโรอะซิติกในโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ	44
9 ปริมาณกรดแอลฟา-อะมิโนอิสระของเอกโตไมโอซินจากกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ	47
10 ปริมาณ TVB จากกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ	47
11 ปริมาณ TMA จากกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ	48
12 ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ของกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ	50

รายการรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
13 กิจกรรม ATPase ของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคมซึ่งเก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัวที่ระยะเวลาต่างๆ	52
14 กิจกรรม ATPase ของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคมซึ่งเก็บรักษาในน้ำแข็งแบบตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ	53
15 Ca^{2+} -sensitivity ของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคมซึ่งเก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ	52
16 แรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิที่เตรียมจากปลาปากคมซึ่งเก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัวที่ระยะเวลาต่างๆ	57
17 แรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิที่เตรียมจากปลาปากคมซึ่งเก็บรักษาในน้ำแข็งแบบตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ	58
18 ผลของพีเอชต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิกที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคม	65
19 ผลของอุณหภูมิต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิกที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคม	65
20 ความคงตัวต่อความร้อนของเอนไซม์โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิกที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคม	73
21 ความคงตัวต่อพีเอชของเอนไซม์โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิกที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคม	73
22 รูปแบบการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้างที่อุณหภูมิต่างๆ	76
23 รูปแบบการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ไม่ผ่านการล้าง	77

รายการรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
ที่อุณหภูมิต่างๆ	
24 รูปแบบการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ไม่ผ่านการล้างที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาต่างๆ	80
25 รูปแบบการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้างที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาต่างๆ	81
26 รูปแบบการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้างในสถานะที่มีเกลือ โซเดียมคลอไรด์เข้มข้นต่างกันที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส	83
27 ผลของสารยับยั้งชนิดต่างๆต่อการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้าง ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที	85
28 ผลของโปรตีนพลาสมาเลือดวัวและไข่ขาวผงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆต่อการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้าง ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที	90
29 ผลของโปรตีนพลาสมาเลือดวัวและไข่ขาวผงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆต่อการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้างและเติมเกลือ โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที	91
30 ผลของโปรตีนพลาสมาเลือดวัวและไข่ขาวผงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆต่อการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ไม่ผ่านการล้าง ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที	92

รายการรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
31 ผลของโปรตีนพลาสติกควัวและไข่ขาวผงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆต่อการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ไม่ผ่านการล้างและเติมเกลือ โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที	93
32 ผลของโปรตีนเติมแต่งต่อการย่อยสลายโปรตีนของเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้างและไม่ผ่านการล้าง	94
33 ผลของโปรตีนเติมแต่งต่อแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิจากปลาปากคม	97
34 ผลของโปรตีนเติมแต่งต่อความขาวของเจลซูริมิจากปลาปากคม	98
35 โครงสร้างจุลภาคของเจลซูริมิที่แช่หัตว์ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ตามด้วยการให้ความร้อนอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที	100
36 โครงสร้างจุลภาคของเจลซูริมิที่ไม่แช่หัตว์และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที	100
37 โครงสร้างจุลภาคของเจลซูริมิที่บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ตามด้วยการให้ความร้อนอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที	101

รายการตารางผนวก

ตารางผนวกที่	หน้า
1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการย่อยสลายตัวเองของกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ	153
2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกรดแอลฟา-อะมิโนอิสระของแอคโตไมโอซินที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ	154
3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณค่าที่ระเหยได้ (TVB) ของกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ	154
4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA) ของกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ	155
5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ของกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ	155
6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรม Ca^{2+} -ATPase ของกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ	156
7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรม Mg^{2+} -ATPase ของกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ	156
8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรม Mg^{2+} - Ca^{2+} -ATPase ของกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ	157

รายการตารางผนวก(ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรม Mg^{2+} -EGTA-ATPase ของกล้ามเนื้อปลากอมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักได้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ	157
10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแรงเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลากอมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักได้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และไม่ผ่านการแช่หัตว์	158
11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแรงเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลากอมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักได้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และแช่หัตว์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	158
12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแรงเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลากอมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักได้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และแช่หัตว์ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	159
13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลากอมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักได้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และไม่ผ่านการแช่หัตว์	169
14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลากอมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักได้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และแช่หัตว์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	160
15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลากอมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักได้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และแช่หัตว์ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	160
16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความขาวของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลากอมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักได้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และไม่ผ่านการแช่หัตว์	161

รายการตารางผนวก(ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไว้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และเซ็ทตัวที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	161
18 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไว้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และเซ็ทตัวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	162
19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ β ME ต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิก	162
20 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ DTT ต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิก	163
21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ โซเดียมคลอไรด์ต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิก	163
22 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของยูเรียต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิก	163
23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ โปรตีนพลาสมาเลือดวัวต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิก	164
24 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของไข่ขาวต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิก	164
25 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้าง และบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ	164
26 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลาบดที่ไม่ผ่านการล้าง และบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ	165
27 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้าง และบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลาต่างๆ	165

รายการตารางผนวก(ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
28 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลาบดที่ไม่ผ่านการล้าง และบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสเป็นเวลาต่างๆ	165
29 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของโซเดียมคลอไรด์ต่อการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้าง และบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที	166
30 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารยับยั้งเอนไซม์ชนิดต่างๆต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล	166
31 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแรงเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เติม โปรตีนเติมแต่งและเซ็ทตัวที่อุณหภูมิที่ก่อให้เกิดโมโคริ (60 องศาเซลเซียส) เซ็ทตัวที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียส) และไม่เซ็ทตัว	167
32 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เติม โปรตีนเติมแต่งและเซ็ทตัวที่อุณหภูมิที่ก่อให้เกิดโมโคริ (60 องศาเซลเซียส) เซ็ทตัวที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียส) และไม่เซ็ทตัว	167

รายการรูปผนวก(ต่อ)

รูปผนวกที่	หน้า
1 ก5. การวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีน	133
2 ง2. การเตรียมอนุไซม์โปรตีนที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล	146

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ซูริมิเป็นภาษาญี่ปุ่นที่ใช้เรียกเนื้อปลาสดที่ผ่านการล้าง เพื่อกำจัดโปรตีนที่ละลายได้ รวมทั้ง ไขมัน เลือด สารให้กลิ่นคาวแล้วบีบน้ำ คัดแยกสิ่งปลอมปน หลังจากนั้นเติมสารป้องกันการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนระหว่างแช่แข็งก่อนนำไปแช่แข็ง ซูริมิสามารถใช้เป็นวัตถุดิบที่สำคัญในผลิตภัณฑ์หลายชนิด ที่ให้ลักษณะเจลที่ยืดหยุ่น เช่น คามาโบโกะ ชิกุวา ไส้กรอก ลูกชิ้นรวมถึงปูเทียม ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่นิยมกันอย่างแพร่หลาย (สุทธวัฒน์ เบญจกุล และ วรรณเพ วิเศษสงวน, 2541) ซูริมิสามารถผลิตได้จากปลาหลายชนิด เช่น ปลาปากคม ปลาทรายแดง ปลาทรายขาว และปลาตาโต เป็นต้น ซึ่งปลาแต่ละชนิดจะให้คุณภาพของเจลที่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างขององค์ประกอบ และความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนไมโอไฟบริลที่แตกต่างกัน (An *et al.*, 1996; Lanier, 2000)

ความสามารถในการเกิดเจล จัดเป็นคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญประการหนึ่งของซูริมิ โปรตีนไมโอไฟบริลโดยเฉพาะไมโอซินจัดเป็นองค์ประกอบหลักที่สำคัญที่มีผลต่อการเกิดเจล (Niwa, 1992) ซึ่งทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อสัมผัสหลากหลายชนิดที่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค โดยซูริมิที่มีคุณภาพดีควรมีเนื้อสัมผัสที่มีความยืดหยุ่นสูง มีปริมาณไขมันต่ำ และมีสีขาว ดังนั้นคุณภาพและราคาของซูริมิจึงแบ่งตามคุณสมบัติของเจล

เอนไซม์โปรตีเนส (proteinase) เป็นเอนไซม์ที่พบในกล้ามเนื้อปลา ทำหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีนไมโอไฟบริล ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักที่จำเป็นต่อการเกิดเจล ส่งผลให้เกิดการสูญเสียโครงสร้างของเจล และผลิตภัณฑ์ซูริมิที่ได้มีลักษณะอ่อนตัว (softening) เรียกปรากฏการณ์ดังกล่าวว่า โมโคริ (Hamann *et al.*, 1990; Suwansakornkul *et al.*, 1993b; Alvarez *et al.*, 1999) โดยทั่วไปปรากฏการณ์นี้เกิดขึ้นขณะที่ให้ความร้อน

กับซูริมิที่อุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส โปรตีนที่มีบทบาทต่อการอ่อนตัวของเจลซูริมิ ได้แก่ อัลคาไลน์โปรตีนเอส (alkaline protease) และ คาเทปซิน (cathepsin) (An *et al.*, 1994a; 1996; Wasson *et al.*, 1992; Itoh *et al.*, 1995) โดยชนิดและปริมาณของเอนไซม์โปรตีนเอส มีความแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของปลา ฤดูกาลที่จับ และปัจจัยต่างๆ (Itoh *et al.*, 1995)

ปลาปากคม (lizardfish) จัดเป็นปลาที่ได้รับความนิยมในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์คามาโบ โกะในประเทศญี่ปุ่น เนื่องจากเป็นปลาที่มีความสามารถในการเกิดเจลสูง (Suwansakornkul *et al.*, 1993a; Morrissey and Tan, 2000) สำหรับการใช้อย่างไรก็ตาม ปลาชนิดนี้ในอุตสาหกรรมการผลิตซูริมิของประเทศไทยพบว่ามีข้อจำกัด โดยซูริมิที่ผลิตได้มีความสามารถในการเกิดเจลต่ำ กล่าวคือมีลักษณะอ่อนตัวและขาดความยืดหยุ่น

เนื่องจากปลาปากคมไม่นิยมบริโภคโดยตรง และจัดเป็นปลาเบญจพรรณ ซึ่งติดมากับปลาเศรษฐกิจชนิดอื่น ดังนั้นการจัดการหรือการควบคุมคุณภาพภายหลังการจับ จึงมักไม่ได้รับความสนใจ ส่งผลให้คุณภาพของปลาซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตซูริมิลดลงอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากปลาปากคมประกอบด้วยเอนไซม์โปรตีนเอสปริมาณสูง (Suwansakornkul *et al.*, 1993b) เอนไซม์ดังกล่าวอาจย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อในระหว่างการขนส่งที่ไม่เหมาะสม ส่งผลให้โปรตีนขาดความสมบูรณ์ (integrity) รวมทั้งอาจเร่งการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน ซึ่งเป็นปัจจัยหลักในการเกิดเจล ดังนั้นการใช้เทคโนโลยีหลังการจับที่เหมาะสมเพื่อรักษาคุณภาพของวัตถุดิบ ตลอดจนศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์โปรตีนเอสในกล้ามเนื้อปลาปากคม ซึ่งสามารถใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตซูริมิที่มีศักยภาพอีกชนิดหนึ่ง จึงเป็นแนวทางในการพัฒนาและปรับปรุงคุณภาพของซูริมิจากปลาปากคม ตลอดจนสามารถใช้ทรัพยากรสัตว์น้ำอย่างคุ้มค่าอีกแนวทางหนึ่ง

ตรวจเอกสาร

1. ปลาปากคม

1.1 ลักษณะทั่วไป

ปลาปากคมจัดเป็นปลาทะเลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย มีชื่อที่รู้จักทั่วไปว่า “ปลาปากคม” หรือ “ปลาไต้กอก” ปลาปากคมที่พบโดยทั่วไปในอ่าวไทยมีอยู่หลายชนิด แต่ที่จัดว่ามีคุณค่าทางเศรษฐกิจมีเพียง 2 ชนิด คือ *Saurida undosquamis* และ *Saurida tumbil* ซึ่งเป็นปลาที่จัดอยู่ในครอบครัว (Family) Synodontidae ลักษณะทั่วไป (รูปที่ 1) พบว่าลำตัวยาวค่อนข้างกลม ตากว้างมีเยื่อไขมันคลุม ความยาวของหัวเป็น 5 เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางตา ปากเฉียงเล็กน้อย ฟันเล็กแหลมคมเรียงกันเป็นแถวเหมือนกันทั้งขากรรไกรบนและล่าง ครีบหลังมี 2 อัน ครีบหางเว้าลึก เกือบมีขนาดใหญ่บางและหลุดง่าย ความยาวของลำตัวอยู่ในช่วง 20 ถึง 30 เซนติเมตร (Tau, 1996)



รูปที่ 1 ลักษณะของปลาปากคม

ที่มา : Tau (1996)

1.2 แหล่งที่อยู่อาศัย

ปลาปากคมสามารถพบในทะเลแดง ทะเลเมดิเตอร์เรเนียน มหาสมุทรอินเดีย หมู่เกาะมาเลย์ หมู่เกาะชวา จีน ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย และอ่าวไทย สำหรับในอ่าวไทยนั้นปลาปากคมจะพบได้โดยทั่วไป แต่จะมีชุกชุมในบริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันตกตอนบน ซึ่งได้แก่ อ่าวไทยด้านจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จนถึงจังหวัดสุราษฎร์ธานี ปลาปากคมจัดเป็นปลาหน้าดินชนิดหนึ่ง (demersal fish) โดยอาศัยอยู่บริเวณก้นทะเลที่มีพื้นทราย และอยู่ในระดับความลึกมากกว่า 15 เมตร ดังนั้นจึงไม่ค่อยพบในบริเวณก้นอ่าวไทย ที่มีความลึกน้อยกว่า 8 เมตร (สุนิสา ศิริภควณิช และคณะ, 2535)

ปลาปากคมซึ่งอยู่ในสกุล *Saurida* เป็นปลากินเนื้อ (Carnivorous) โดยมีปากกว้างและฟันแข็งแรงแหลมคม ส่วนใหญ่กินปลาด้วยกันเป็นอาหาร เช่น ปลานู ปลาแป้น ปลาไส้ตัน ปลาทรายแดง ปลาหลังเขียว นอกจากนี้ยังกินปลาหมึก กุ้ง รวมทั้งตัวอ่อนของมันเองด้วย ปลาปากคมจัดว่าเป็นปลาที่สามารถวางไข่ได้มากกว่าหนึ่งครั้งในรอบปี โดยจะทำการวางไข่ระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงเดือนสิงหาคม และเดือนมกราคม (สุนิสา ศิริภควณิช และคณะ, 2535)

1.3 องค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีของปลาและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะคล้ายคลึงกัน ซึ่งมีความแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด (Mackie, 1994) อย่างไรก็ตามแม้ในปลาชนิดเดียวกันพบว่า อายุ เพศ สภาวะแวดล้อมที่ปลาอาศัยอยู่ และฤดูกาล มีผลให้องค์ประกอบทางเคมีของปลาแตกต่างกันไป (Suzuki, 1981; Spinelli and Dassow, 1982; Huidobro and Tejada, 1993) ปลาปากคมจัดเป็นปลาที่มีไขมันต่ำ (น้อยกว่าร้อยละ 4) แต่มีปริมาณโปรตีนสูง (มากกว่าร้อยละ 20) (Spinelli and Dassow, 1982) Suwansakornkul และคณะ (1993a) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลาปากคม 3 สายพันธุ์ คือ *Saurida undosquamis* *Saurida wanieso* และ *Saurida elongata* พบว่ามีปริมาณความชื้น (ร้อยละ 77-82) โปรตีน (ร้อยละ 17-22) และไขมัน (ร้อยละ 0.1-0.8) ช่วงเวลาที่จับมีผลโดยตรงต่อองค์ประกอบทางเคมี โดยโปรตีนและไขมันมีปริมาณต่ำในช่วงที่ปลาวางไข่ (Itoh et al., 1995) องค์ประกอบทางเคมีของปลาปากคมแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของปลาปากคม

ชนิดของปลา	เพศ	วันที่จับ ค/ว/ป	พีเอช	ความชื้น (ร้อยละ)	โปรตีน (ร้อยละ)	ไขมัน (ร้อยละ)
<i>Saurida undosquamis</i> I	เมีย	6/17/91	6.71	78.45	20.44	0.15
<i>Saurida undosquamis</i> II	เมีย	9/12/91	6.70	80.45	18.37	0.10
	ผู้	9/12/91	6.70	81.72	17.12	0.17
<i>Saurida wanieso</i>	เมีย	5/29/91	6.64	77.03	21.88	0.74
<i>Saurida elongata</i>	เมีย	7/10/91	6.53	77.86	21.04	0.13

ที่มา : Suwansakornkul และคณะ (1993a)

1.4 การใช้ประโยชน์

โดยมากไม่นิยมบริโภคปลาปากคมในรูปของปลาสด เนื่องจากมีรูปร่างที่ไม่สวยงามจึงไม่นิยมนำมารับประทาน ปลาปากคมส่วนใหญ่จึงนิยมส่งเข้าโรงงานทำปลาป่น นอกจากนั้นสามารถนำไปแปรรูปเป็นลูกชิ้น ไส้กรอก ตากแห้ง และรมควัน เป็นต้น (สุณิสสา ศิริภควณิช และคณะ, 2535)

2. ชูริมิ

2.1 การผลิตชูริมิ

กระบวนการผลิตชูริมิเริ่มจากการตัดหัวควักไส้ และแยกเนื้อปลาออกจากกระดูก ในลักษณะเนื้อปลาบด แล้วนำเนื้อปลาบดนั้นมาล้างเพื่อกำจัดโปรตีนที่ละลายได้ ไขมัน และสารที่ทำให้เกิดกลิ่นคาว กำจัดน้ำและคัดแยกสิ่งปลอมปน แล้วผสมกับสารป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีนระหว่างการแช่เยือกแข็ง หลังจากนั้น นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปลดอุณหภูมิให้บริเวณจุดกึ่งกลางของผลิตภัณฑ์ ต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส แล้วนำไป

เก็บรักษาโดยควบคุมอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส (ม.อ.ก., 2535; สุทรวัดน์ เบญจกุล, 2536)

ซูริมิสามารถผลิตได้จากปลาหลายชนิด เช่น Alaska pollock, Pacific whiting, arrowtooth flounder, hoki ปลาที่นิยมนำมาใช้ในการผลิตซูริมิควรมีไขมันต่ำ โดยมีไขมันน้อยกว่าร้อยละ 2 (Min *et al.*, 1987; Lanier, 1992; Lee, 1994) Morrissey และ Tan (2000) รายงานชนิดของปลาที่ใช้ผลิตซูริมิในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งได้แก่ ปลาทวายแดง (threadfin bream : *Nemipterus* spp.) ปลาดำโต (bigeye snapper : *Priacanthus* spp.) ปลาครอกเกอร์ (croakers : *Pennahia Johnius* spp.) และ ปลาปากคม (lizardfish : *Saurida* spp.) ซึ่งปลาแต่ละชนิดจะให้ซูริมิที่มีคุณภาพของเจลที่แตกต่างกัน โดยปลาที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นปลาเนื้อขาว สำหรับในประเทศไทยปลาที่นิยมใช้ในการผลิตซูริมิ ได้แก่ ปลาทวายแดง และปลาปากคม (Somboonyarithi, 1990; Kongpun, 1996) สำหรับปลาผิวน้ำขนาดเล็ก เช่น ปลาซาร์ดีน (sardine) และปลาแมกเคอรอล (mackerel) ไม่นิยมใช้ในการผลิตซูริมิ เนื่องจากมีความสามารถในการเกิดเจลต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากปลาเนื้อดำประกอบด้วยโปรตีนซาร์โคพลาสมิกในปริมาณสูง ซึ่งสามารถตกตะกอนและจับกับแอคโตไมโอซินในระหว่างการเกิดเจล ส่งผลต่อการขัดขวางโครงข่ายของเจล (Shimizu *et al.*, 1992; Park *et al.*, 1997) นอกจากนี้ปลาเนื้อดำมีพีเอชที่ลดลงอย่างรวดเร็วภายหลังการตาย เป็นสาเหตุให้เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนกล้ามเนื้อ และส่งผลให้ความสามารถในการเกิดเจลลดลง (Hultin and Kelleher, 2000)

วัตถุดิบมีผลโดยตรงต่อคุณภาพของซูริมิ ความสดเป็นปัจจัยสำคัญของการผลิตซูริมิ ดังนั้นการปฏิบัติต่อวัตถุดิบตั้งแต่หลังการจับ จนกระทั่งก่อนการแยกเนื้อปลาออกจากกระดูก จึงต้องได้รับการดูแลอย่างใกล้ชิด (Lee, 1986; Martinez, 1989) Ishikawa และคณะ (1977) ผลิตคามาโบโกะจากปลาซาร์ดีน ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งบดเป็นระยะเวลา 0, 1 และ 2 วัน พบว่าคามาโบโกะจากปลาสดให้ค่าความแข็งแรงของเจล และให้คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงสุด Kurokawa (1979) รายงานว่าความแข็งแรงของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมลดลงร้อยละ 50 เมื่อใช้ปลาที่ผ่านการคองน้ำแข็งไว้ยาวนาน 3 วันเป็นวัตถุดิบในการผลิตซูริมิ ความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนไมโอไฟบริลลดลง เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาปลาก่อนการผลิตนานขึ้น (Hamann and

MacDonald, 1992; Lin and Park, 1996) นอกจากนี้ Hsu (1989; 1990) รายงานว่า ความสดของปลา มีผลต่อผลผลิตของซูริมิ โดยวัตถุดิบที่มีความสดสูงจะให้ผลผลิตซูริมิสูง Toyoda และคณะ (1992) ได้แสดงให้เห็นว่า ความแข็งแรงของเจลซูริมิซึ่งผลิตจากปลา Alaska pollock ลดลงอย่างเห็นชัด เมื่อความสดของปลาลดลง (ตารางที่ 2) การใช้ปลาทรายแดงที่ผ่านการแช่น้ำแข็งนานกว่า 2 วันสำหรับผลิตซูริมิ เป็นผลให้เจลของซูริมิจึงมีความแข็งแรงต่ำกว่าเจลของซูริมิที่ผลิตจากปลาทรายแดงสด และคุณภาพของเจลไม่เป็นที่ยอมรับ เมื่อใช้ปลาที่ผ่านการเก็บรักษาไว้นานกว่า 4 วัน (Yean, 1993)

ตารางที่ 2 ผลของความสดของปลา Alaska pollock ต่อความแข็งแรงของเจลซูริมิ

	Fish condition (storage at 5°C)			
	Extremely fresh	Very fresh	Fairly fresh	Not fresh
	Gel strength (g. cm)			
Unleached surimi	1100	600	350	150
Leached surimi	1200	850	650	400

ที่มา : คัดแปลงจาก Toyoda และคณะ (1992)

นอกจากนี้วิธีการจับ ฤดูกาลในการจับ และขนาดของปลา มีผลต่อคุณภาพเช่นกัน ปลา cod ที่จับได้ในช่วงฤดูร้อน มีเนวโน้มน้ำสูงสูญเสียสภาพได้เร็วกว่าปลาที่จับได้ในช่วงฤดูใบไม้ผลิ ส่วนคุณภาพของปลา Alaska pollock จะเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลจับ สำหรับปัจจัยทางด้านชีววิทยา เช่น การวางไข่ก็มีผลต่อคุณภาพของซูริมิด้วยเช่นกัน โดยปลาในช่วงวางไข่จะมีความชื้นสูงแต่มีปริมาณไขมันและโปรตีนในเนื้อต่ำ ส่งผลให้คุณภาพเนื้อปลาไม่ดี (Suzuki, 1981) Lee (1986) รายงานว่าการใช้ปลาในระยะหลังวางไข่ (feeding period) ในการผลิตทำให้ได้ซูริมิที่มีคุณภาพดี เนื่องจากปลาในช่วงหลังวางไข่มีปริมาณความชื้นต่ำ ในขณะที่โปรตีนมีปริมาณสูง ซึ่งมีลักษณะตรงกันข้ามกับปลาในระยะวางไข่ นอกจากนี้ฤดูกาลในการจับปลายังมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ในกล้ามเนื้อ

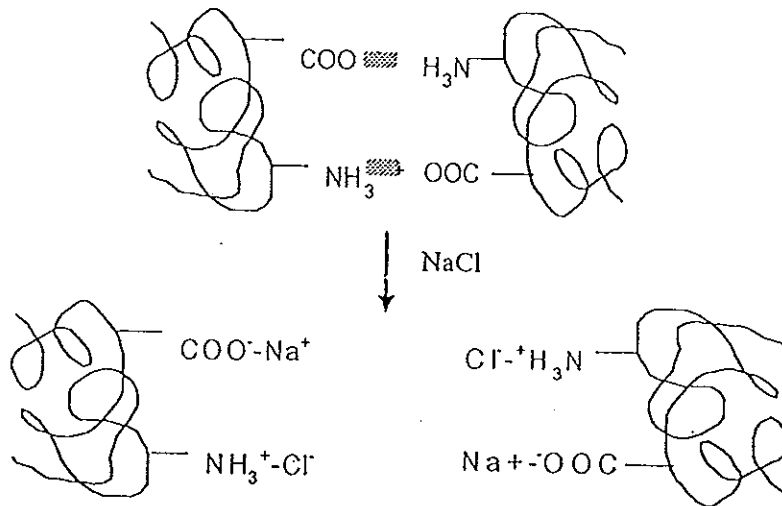
เนื้อปลา เช่น Konakaya (1982) รายงานว่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเนสในกล้ามเนื้อปลา chumi salmon เพิ่มขึ้นเมื่อปลาอยู่ในระยะวางไข่ นอกจากนี้การอ่อนตัวของเจลอันเกิดจากการย่อยสลายตัวเองที่อุณหภูมิประมาณ 40 องศาเซลเซียสแปรผันไปตามฤดูกาล (Itoh *et al.*, 1995)

2.2 การเกิดเจลของซูริมิ

การเกิดเจล (gelation) เป็นปรากฏการณ์ที่โปรตีนเรียงตัวประสานกันอย่างเป็นระเบียบ เกิดเป็นโครงสร้างร่างแห 3 มิติ โดยมีโมเลกุลของน้ำระหว่างโครงข่ายดังกล่าว (Smith, 1991; Ziegler and Foeqeding, 1991; An *et al.*, 1996; Damodaran, 1996) การเกิดเจลประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญ 2 ขั้นตอน ในขั้นตอนแรกเกิดจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน (denaturation) เนื่องจากความร้อนหรือปัจจัยอื่นส่งผลให้โปรตีนเกิดการคลายตัว และทำให้ความหนืดของโปรตีนเพิ่มขึ้น นอกจากนี้โมเลกุลโปรตีนที่คลายตัวออกบางส่วนเริ่มจับตัวกัน ในขั้นตอนที่สองโมเลกุลโปรตีนที่คลายตัวออกอย่างสมบูรณ์จับเรียงตัวอย่างซ้ำๆ ด้วยพันธะชนิดต่างๆ เกิดเป็นโครงร่างตาข่าย 3 มิติที่มีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น (Damodaran, 1996)

เกลือเป็นส่วนผสมที่จำเป็นต่อการเกิดเจลของซูริมิ โดยเกลือจะมีผลละลายโปรตีนไมโอไฟบริลซึ่งเป็นโปรตีนชนิดที่ละลายในเกลือ เกลือสามารถลดเสถียรภาพจากแรงดึงดูดระหว่างประจุของโมเลกุลโปรตีนไมโอไฟบริล ส่งผลให้เกิดการคลายตัวของขดโปรตีน และเกิดเป็นร่างแหของโปรตีน (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2536) อนุมูลของโซเดียมและคลอไรด์ สามารถจับกับตำแหน่งบนผิวหน้าโมเลกุลโปรตีนที่มีประจุตรงข้ามกัน ส่งผลให้พันธะที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลโปรตีนถูกทำลาย โมเลกุลโปรตีนจึงแยกตัวออกจากกัน (รูปที่ 2) ปริมาณเกลือที่เติมลงไปเนื้อปลาบด จะขึ้นอยู่กับชนิดและคุณภาพของปลา โดยทั่วไปปริมาณเกลือที่เหมาะสม จะทำให้เจลที่มีความแข็งแรงอยู่ในช่วงร้อยละ 2-3 (Suzuki, 1981) การใช้เกลือในปริมาณต่ำโปรตีนยังคงจับกันแน่น และมีการละลายบางส่วน ส่งผลให้ความแข็งแรงของเจลลดลง (Gomez-Guillen *et al.*, 1996) นอกจากนั้นความแข็งแรงของเจลสัมพันธ์กับปริมาณเกลือที่ใช้เตรียมโซล เมื่อปริมาณเกลือเพิ่มขึ้นพบว่าความแข็งแรงของเจลจะเพิ่มขึ้น (Ito *et al.*, 1990; Chung *et al.*, 1993;

Alvarez *et al.*, 1995; Chen, 1995) อย่างไรก็ตามการเติมเกลือในปริมาณสูงเกินไปก่อให้เกิดปรากฏการณ์ salting out ทำให้โปรตีนสูญเสียคุณสมบัติการละลายในสารละลายเกลือ ส่งผลให้ความแข็งแรงของเจลลดลง



รูปที่ 2 แบบจำลองการละลายของโปรตีนไมโอไฟบริลในสารละลายเกลือ
ที่มา : ดัดแปลงจาก Niwa (1985)

กล้ามเนื้อประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิด เช่น แอกติน (actin) ไมโอซิน (myosin) ซึ่งรวมตัวกันเรียกว่าแอกโตไมโอซิน (actomyosin) โทรโปนิน (troponin) และโทรโปไมโอซิน (tropomyosin) โดยไมโอซินเป็นองค์ประกอบหลักที่มีปริมาณมากกว่าร้อยละ 50 (Suzuki, 1981; Wu *et al.*, 1985) การเกิดเจลของโปรตีนมีลักษณะแตกต่างกันไปตามชนิดของปลา ทั้งนี้เป็นผลมาจากความแตกต่างของไมโอซินในปลาแต่ละชนิด โดยไมโอซินจัดเป็นองค์ประกอบหลักที่มีความสำคัญต่อการเกิดเจล (Beas *et al.*, 1988; Sano *et al.*, 1990; Niwa, 1992; Chan *et al.*, 1992a; b; 1993; Chen, 1995) ส่วนแอกตินไม่มีคุณสมบัติในการจัดเรียงตัวเป็นโครงร่าง 3 มิติ แต่จะมีผลส่งเสริมความแข็งแรงของเจล สำหรับโทรโปนินและโทรโปไมโอซินไม่มีผลต่อการเกิดเจล ทั้งนี้เนื่องจากเป็นโปรตีนที่ทนความร้อนได้สูง จึงไม่เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติ และไม่เกิดการจัดเรียงตัวเป็นโครงร่างตาข่าย (Samejima *et al.*, 1982) Sano และคณะ (1990) รายงานว่า

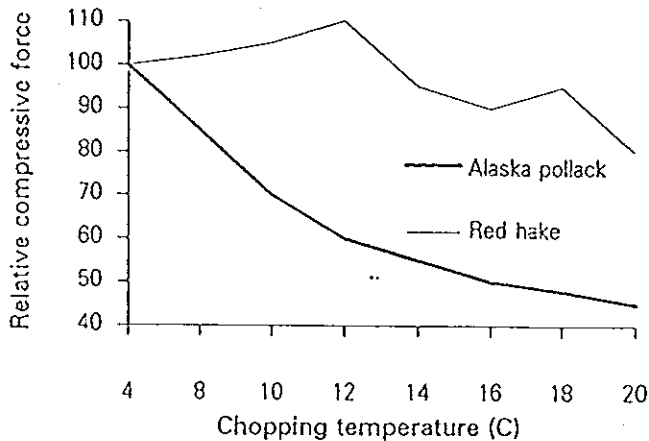
การจัดเรียงตัวเป็นร่างแหของโปรตีนจากปลา carp เกิดขึ้นสองระยะคือ ระยะแรกที่อุณหภูมิระหว่าง 30 ถึง 40 องศาเซลเซียส โดยเกิดจากการจับตัวของส่วนหางของโมเลกุลไมโอซิน ระยะที่สองที่อุณหภูมิระหว่าง 51 ถึง 80 องศาเซลเซียส เกิดจากการจับตัวของโปรตีนบริเวณส่วนหัวของไมโอซิน โดยพันธะไฮโดรโฟบิกของกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ

การสูญเสียสภาพธรรมชาติและ การจัดเรียงตัวของไมโอซิน จะแตกต่างกันตามชนิดของปลา เช่นไมโอซินของปลา trout เกิดการสูญเสียสภาพที่อุณหภูมิ 25 34 และ 40 องศาเซลเซียส ในขณะที่ไมโอซินของ ปลา horse mackerel สูญเสียสภาพที่อุณหภูมิ 44 องศาเซลเซียส (Ogawa *et al.*, 1993) รูปร่างและโครงสร้างของไมโอซิน มีความสำคัญต่อคุณสมบัติการเกิดเจล เจลที่มีคุณภาพสูงไม่สามารถเกิดขึ้นได้ ถ้าไมโอซินเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติ ก่อนขั้นตอนการเตรียมเจล (Ishioroshi *et al.*, 1982; Niwa, 1992)

Wan และคณะ (1995) พบว่าปริมาณโปรตีนในซุริมีมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดเจลซุริมี เช่น ซุริมีที่ผลิตจากปลา chum salmon ที่มีโปรตีนไมโอซินเส้นหนัก (myosin heavy chain : MHC) ร้อยละ 20 มีความแข็งแรงของเจลต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับซุริมีที่ผลิตจากปลา pollock ซึ่งมีโปรตีนไมโอซินเส้นหนักสูงถึงร้อยละ 30 Lee (1984) รายงานว่าอุณหภูมิของซุริมีในระหว่างสับผสมเป็นปัจจัยสำคัญ เนื่องจากอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในระหว่างสับผสม อาจมีผลให้โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติไปบางส่วน และมีผลทำให้โครงสร้างของเจลไม่แข็งแรง ดังนั้นในระหว่างสับผสม จึงควรควบคุมอุณหภูมิของโซลให้ต่ำกว่าอุณหภูมิที่โปรตีนของปลานั้นเสียสภาพธรรมชาติ

Douglas-Schwarz และ Lee (1988) พบว่าความแข็งแรงของเจลซุริมีจากปลา red hake (*Urophycis chuss*) มีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิของโซลในระหว่างการสับผสมสูงกว่า 12 องศาเซลเซียส (รูปที่ 3) สภาวะในการให้ความร้อนเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อความแข็งแรงของเจล การเตรียมเจลอาจจะทำได้โดยให้ความร้อนแก่โซลที่อุณหภูมิสูงเพียงครั้งเดียว หรือการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำในครั้งแรก ก่อนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงอีกครั้ง เจลที่ผ่านการให้ความร้อนสองครั้งเกิดจากการคลายตัวของโปรตีนอย่างช้าๆและเกิดการรวมตัวกันใหม่อย่างมีระเบียบโดยพันธะชนิดต่างๆ เช่น พันธะไฮโดรโฟบิก พันธะไดซัลไฟด์ และพันธะโควาเลนต์ชนิดที่ไม่ใช่พันธะไดซัลไฟด์ (non-disulfide

covalent bond) ส่งผลให้โครงสร้างของเจลมีความต่อเนื่องเกิดเป็นเจลที่แข็งแรง (Lainer, *et al.*, 1988; 1997)



รูปที่ 3 ผลของอุณหภูมิของโซลในระหว่างการสับผสมต่อความแข็งแรงของเจลซูริมิ
ที่มา : Douglas-Schwarz และ Lee (1988)

Wu และคณะ (1985) และ Kimura (1991) พบว่า การให้ซูริมิแช่ตัวก่อนให้ความร้อนสามารถเพิ่มแรงยึดเกาะ (cohesiveness) และความสามารถในการอุ้มน้ำ (water-holding capacity) ซึ่งการแช่ตัวสามารถกระทำได้ โดยบ่มซูริมิที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิต่ำ (0-40 องศาเซลเซียส) นอกจากนี้การแช่ตัวของเนื้อปลาสด ที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิห้องสามารถเพิ่มการคลายตัวของโปรตีน และเพิ่มอันตรกิริยาระหว่างหมู่ที่ไม่ชอบน้ำของโมเลกุลโปรตีน ส่งผลให้มีโครงสร้างร่างแหของเจลซูริมิที่แข็งแรงกว่าเนื้อปลาสดที่ไม่ได้แช่ตัว Kamath และคณะ (1992) และ Kumazawa และคณะ (1996) รายงานว่าเจลซูริมิที่ผ่านการแช่ตัวประกอบด้วยพันธะโควาเลนต์ชนิดที่ไม่ใช่พันธะไดซัลไฟด์ ซึ่งเกิดขึ้นในระหว่างการแช่ตัวของซูริมิ ส่งผลให้เจลซูริมิที่ผ่านการแช่ตัวก่อนการให้ความร้อน มีค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น พันธะดังกล่าวได้แก่ ϵ -(γ -glutamyl)-lysine ซึ่งเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส (Tsukamasa and

Shimizu, 1990; Ogawa *et al.*, 1993; 1995; Seki *et al.*, 1990; Sakamoto *et al.*, 1994; Seguro *et al.*, 1995; Ramirez *et al.*, 2000) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ในเนื้อปลา (Jiang and Lee, 1992) / พันธะ ϵ -(γ -glutamyl)-lysine เกิดจากการเชื่อมโยงระหว่างหมู่แอมมาคาร์บอกซีเอไมด์ (γ -carboxyamide) ของกลูตามีน และหมู่เอพซิลอนอะมิโน (ϵ -amino) ของไลซีน (lysine) มีบทบาทสำคัญต่อเนื้อสัมผัสของเจลซูริมิ (Kamath *et al.*, 1992) ปริมาณของเอนไซม์มีความแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด (Araki and Seki, 1993) Chan และคณะ (1995) รายงานว่าพันธะโควาเลนต์ชนิดที่ไม่ใช่พันธะไดซัลไฟด์ ที่เกิดขึ้นในพอลิเมอร์ของ MHC ของปลา herring ระหว่างการเซ็ทตัว เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส /

การเชื่อมประสานโปรตีนไมโอซินโดยเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส มีความสัมพันธ์กับความแข็งแรงของเจลซูริมิจากปลา hoki (Kimura *et al.*, 1991) sardine (Funatsu *et al.*, 1993) walley pollack (Funatsu and Arai, 1991) Alaska pollock (Nowasad *et al.*, 1993) Lee และคณะ (1997) พบว่า เมื่อปริมาณพันธะ ϵ -(γ -glutamyl)-lysine เพิ่มขึ้นส่งผลให้ความแข็งแรงของเจลซูริมิเพิ่มขึ้น Gilleland และคณะ (1997) พบว่า เจลซูริมิที่ผลิตจากปลา Alaska pollock ซึ่งเซ็ทตัวที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีปริมาณพันธะ ϵ -(γ - glutamyl)-lysine เพิ่มขึ้น

การเพิ่มพันธะโควาเลนต์ชนิดที่ไม่ใช่พันธะไดซัลไฟด์โดยเฉพาะ ϵ -(γ -glutamyl)-lysine อาจทำได้โดยการเติมพลาสมาเลือดหมู (Benjakul and Visessanguan, 2000) Jiang และ Lee (1992) พบว่า ซูริมิที่ผลิตจากปลา mackerel ซึ่งเติม Factor XIII จากพลาสมาเลือดหมูมีความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 60 เมื่อให้ซูริมิเซ็ทตัวที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที Seymour และคณะ (1997) พบว่า เมื่อเติมพลาสมาเลือดวัวเข้มข้นร้อยละ 1 ในซูริมิที่ผลิตจากปลา Pacific whiting ส่งผลให้เจลซูริมิมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ (microbial transglutaminase) เช่นจาก *Streptoverticillium mobaraense* สามารถเพิ่มความแข็งแรงของเจล (Sakamoto *et al.*, 1995; Seguro *et al.*, 1995; Jiang *et al.*, 2000; Ramirez *et al.*, 2000) Sakamoto และคณะ (1995) พบว่า ค่าความแข็งแรง

ของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลา Alaska pollock เพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 20 เมื่อเติม เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสที่ผลิตจากจุลินทรีย์ในปริมาณ 1 ยูนิต/กรัมโปรตีน และปมที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที

อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมต่อการเซ็ทตัวจะแตกต่างกันขึ้นกับปลาแต่ละชนิด Wan และคณะ (1994) พบว่า เจลซูริมิที่เซ็ทตัวเป็นเวลานานขึ้น ส่งผลให้ความแข็งแรง ของเจลเพิ่มขึ้น Tsukamasa และคณะ (1993) พบว่าเมื่อเวลาในการเซ็ทตัวเพิ่มขึ้น ปริมาณพันธะ ϵ -(γ -glutamyl)-lysine ในระหว่างการเซ็ทตัวของเนื้อปลา sardine บด ที่ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพิ่มสูงขึ้น เจลซูริมิที่ผลิตจากปลา Alaska pollock มีค่าความ แข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น เมื่อให้ซูริมิเซ็ทตัวที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง (Numakura *et al.*, 1985) ในขณะที่เจลซูริมิที่ผลิตจากปลา Atlantic croaker blue whiting และ hoki มีค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นเมื่อเซ็ทตัวที่อุณหภูมิ 40 องศา เซลเซียส (Kamath *et al.*, 1992; MacDonald *et al.*, 1994) Lee และ Park (1998) พบว่า ความแข็งแรงของเจลซูริมิจากปลา Alaska pollock มีค่าสูงสุด เมื่อให้ซูริมิเซ็ทตัวที่ อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง ส่วนความแข็งแรงของเจลซูริมิจากปลา Pacific whiting มีค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น เมื่อเซ็ทตัวที่อุณหภูมิ 25 องศา เซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

2.3 การอ่อนตัวของเจลซูริมิ

การอ่อนตัวของเจลหรือโมโดริ (modori) คือ ปรากฏการณ์ที่เอนไซม์โปรตีนเอส สามารถย่อยสลายโปรตีนไมโอไฟบริลส่งผลให้เกิดการสูญเสียโครงข่ายของเจล และ ผลิตภัณฑ์ซูริมิที่ได้มีลักษณะอ่อนตัว (softening) (Toyohara *et al.*, 1990a; Swansakornkul *et al.*, 1993b; Yongsawatdigul *et al.*, 1997; Alvaez *et al.*, 1999) การ เกิดโมโดริส่งผลให้เจลซูริมิขาดความยืดหยุ่น โดยทั่วไปโมโดริมักเกิดขึ้นระหว่างการให้ความร้อนกับเจลซูริมิที่อุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส (Tsukamasa and Shimizu, 1990; Kimura, 1991; Tsukamasa and Shimizu, 1991; Nomura *et al.*, 1993, 1995) การลดลง ของปริมาณโปรตีนไมโอซินเส้นหนัก มีความสัมพันธ์กับการสูญเสียความยืดหยุ่นของ เจล Morrissey และคณะ (1993) รายงานว่าปริมาณ MHC ลดลงเมื่อให้ความร้อนแก่

ซูริมิจากปลา Pacific whiting (*Merluccius productus*) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที และพบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40,000 ดาลตันเกิดขึ้น ส่วน Saeki และคณะ (1995) พบว่าซูริมิที่ผ่านการให้ความร้อน ในช่วงอุณหภูมิ 20 และ 60 องศาเซลเซียสมีปริมาณของโปรตีน MHC ลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ส่วนปริมาณของโปรตีนอื่นๆ เช่น แอกติน ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

ปรากฏการณ์ไมโครแตกต่างกันไปตามชนิดของปลา สำหรับในปลาชนิดเดียวกัน ระดับความรุนแรงของการเกิดไมโคร จะแตกต่างกันไปตามฤดูกาลที่จับปลา และสภาวะทางชีววิทยาของปลา (Nomura *et al.*, 1993; Itoh *et al.*, 1995) ปลา sardine (*Sardinops melanosticta*) จัดเป็นปลาที่มีอัตราการเกิดไมโครสูง (Shimizu *et al.*, 1981; Tsukamasa and Shimizu, 1989) นอกจากนี้การเก็บรักษาปลาไว้ระยะเวลาหนึ่งก่อนการผลิต มีผลต่อการเกิดไมโครด้วยเช่นกัน ไมโครของปลา Crucian carp เกิดได้มากขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บปลาก่อนนำมาผลิตเป็นเจลนนานขึ้น (Toyohara *et al.*, 1990a) นอกจากนี้ ปลาปากคมจะเกิดไมโครมากขึ้นในช่วงที่ปลาวางไข่เปรียบเทียบกับช่วงก่อนวางไข่ (Shimizu and Wendakoon, 1990) Toyohara และคณะ (1990b) รายงานว่าการนำเลือดออก (bleeding) จากปลา rainbow trout มีผลเร่งการเกิดไมโคร ทั้งนี้อาจเนื่องจากเลือดประกอบด้วยสารยับยั้งไมโคร

นอกจากกลไกการเกิดไมโคร อันมีสาเหตุจากเอนไซม์โปรตีนเอสซึ่งสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูงส่งผลต่อการย่อยสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อแล้ว Niwa (1992) สันนิษฐานว่าการเกิดไมโครอาจมีสาเหตุมาจากการตกตะกอนของโปรตีนไมโอไฟบริลระหว่างการให้ความร้อนโดยการเกิดพันธะไฮโดรโฟบิกระหว่างโปรตีน ทำให้โปรตีนเกิดการหดตัวและปลดปล่อยน้ำออกมา ไมโครจะเกิดขึ้นน้อยเมื่อเติมน้ำตาลซึ่งมีผลต่อการลดการเกิดพันธะไฮโดรโฟบิก

3. เอนไซม์ย่อยโปรตีน

3.1 การจำแนกชนิดของเอนไซม์ย่อยโปรตีน

เอนไซม์ย่อยโปรตีนจัดอยู่ในกลุ่มของเอนไซม์ประเภทที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ โดยทั่วไปมีชื่อเรียกหลายชื่อ เช่น เปปติเดส (peptidase) โปรตีเนส (proteinase) โปรตีเอส (protease) (IUBM, 1992) เอนไซม์ย่อยโปรตีน สามารถย่อยสารตั้งต้นที่ประกอบด้วยพันธะเปปไทด์ที่ต่อกันเป็นโมเลกุลยาว เช่น โปรตีน ให้เป็นสารประกอบที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลง โดยปกติเอนไซม์ย่อยโปรตีนถูกสังเคราะห์ในรูปที่ไม่สามารถดำเนินกิจกรรมได้ และจะสามารถดำเนินกิจกรรมได้เมื่อถูกเร่งปฏิกิริยาโดยโลหะ หรือกระบวนการย่อยตัวเอง (Whitaker, 1994)

Bond และ Butler (1987) จัดจำแนกชนิดของเอนไซม์ย่อยโปรตีนโดยพิจารณาหมู่ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา (catalytic group) ในบริเวณเร่งของเอนไซม์ (active site) ซึ่งสามารถจำแนกได้ 4 ประเภท คือ

1. ซีสเตอีน โปรตีเนส (cystein proteinase) Laecoethic acid + metal chloride
2. ซีรีน โปรตีเนส (serine proteinase)
3. แอซิด โปรตีเนส (acid proteinase)
4. เมทัลโล โปรตีเนส (metallo proteinase) metal + metal salt

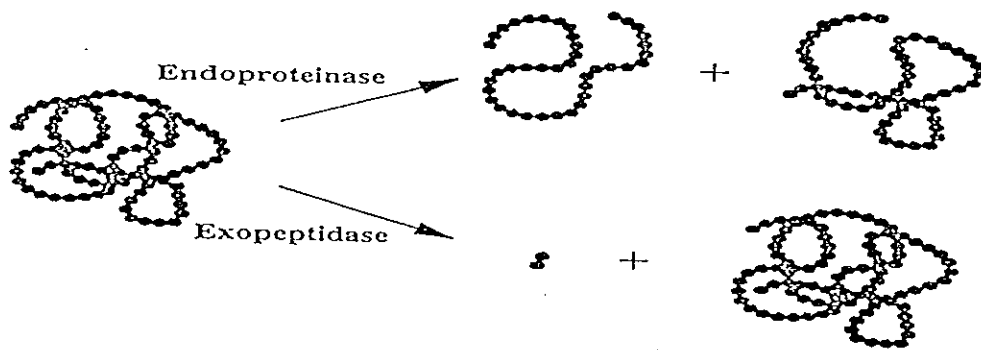
Haard และ Simpson (1994) จัดแบ่งกลุ่มของเอนไซม์ย่อยโปรตีนในสัตว์น้ำหรือสัตว์ทะเลโดยแบ่งตามพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่สามารถทำงานได้ในสภาวะที่เป็นกรด (acid protease) เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่สามารถทำงานได้ในสภาวะที่เป็นกลาง (neutral protease) และ เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่สามารถทำงานได้ในสภาวะที่เป็นด่าง (alkaline protease)

Ward (1983) จัดแบ่งชนิดของเอนไซม์ย่อยโปรตีน ตามตำแหน่งพันธะเปปไทด์ที่เอนไซม์เข้าไปเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลาย โดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ (รูปที่ 4) คือ

- เอกโซเปปติเดส (exopeptidase) เป็นเอนไซม์ที่เร่งการตัดพันธะเปปไทด์ของกรดอะมิโนที่อยู่ตรงบริเวณปลายสายพอลิเปปไทด์ ได้แก่ อะมิโนเปปติเดส

(aminopeptidase) ไดเปปติเดส (dipeptidase) และ คาร์บอกซีเปปติเดส (carboxypeptidase)

- เอนโดเปปติเดส (endopeptidase) หรือบางครั้งเรียกว่าโปรตีเนส (proteinase) เป็นเอนไซม์ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการตัดพันธะเปปไทด์ภายในสายเปปไทด์ เอนไซม์กลุ่มนี้มีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์จากสัตว์น้ำ รวมถึงซูริมิ



รูปที่ 4 กลไกการทำงานของเอกโซเปปติเดสและเอนโดเปปติเดส

ที่มา : An และคณะ (1996)

3.2 เอนไซม์โปรตีเนสที่พบในกล้ามเนื้อสัตว์น้ำ

กล้ามเนื้อของสัตว์น้ำประกอบด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีนหลายชนิด เอนไซม์เหล่านี้มีผลโดยตรงต่อคุณภาพสัตว์น้ำภายหลังการตาย กิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดของสัตว์น้ำ วงจรชีวิต และอาหาร เอนไซม์โปรตีเนสสามารถพบได้ในส่วนของเหลวภายในเซลล์ หรืออาจจับอยู่กับเซลล์ของอวัยวะภายในหรือกล้ามเนื้อของสัตว์น้ำ โปรตีเนสชนิดสำคัญที่พบในกล้ามเนื้อของสัตว์น้ำแสดงในตารางที่ 3 (Kolodziejaska and Sikorski, 1996)

ตารางที่ 3 โปรตีนที่พบในกล้ามเนื้อสัตว์น้ำ

Enzyme		Optimum pH*	Optimum temperature * °C	Effect on muscle proteins
Cysteine protease	Calcium- activated protease	6.9-7.5	30	Cleavage of myofibrillar proteins to TCA soluble fragments, degradation of cytoskeletal proteins
	Cathepsin L	5.0-5.6	40-50	Hydrolysis of most myofibrillar proteins, cleaving of telopeptides from type I collagen
	Cathepsin B	5.7-6.0		Slight hydrolysis of myosin, actin, nebulin and troponin T
Serine protease	Heat-activated cysteine protease	6.0-6.5	55-65	Hydrolysis of myosin
	Heat-activated trypsin-like protease	6.2-8.0	50-60	Hydrolysis of myosin
	Multicatalytic protease	6.0-10.0	60-65	Hydrolysis of myosin
Metallo protease	Other trypsin- like protease	8.0-9.0	37-40	Hydrolysis of isolated myosin, disintegration of the cytoskeletal and contractile elements of intact myofibril
	Neutral protease	7.2	40	
	Heat stable alkaline protease	7.0-8.0	50	Hydrolysis of type I collagen, gelatin and other cytoskeletal matrix proteins

* The range of data regards activity with different proteins and substrates.

ที่มา : Kolodziejska และ Sikorski (1996)

ซีสเทอีนโปรตีนเอส

เอนไซม์ในกลุ่มนี้มีหมู่ซัลไฟไฮดริล (sulfhydryl : -SH) อยู่ในบริเวณเร่ง และอาจมีหมู่ฮิสติดีล (histidyl) รวมอยู่ด้วย เอนไซม์ในกลุ่มนี้ต้องการสารรีดิวซิง (reducing agent) เช่น hydrogen cyanide (HCN) หรือ ซีสเทอีน เป็นตัวกระตุ้นกิจกรรม ฟิเอนท์ที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้อยู่ในช่วงเป็นกลางคือ 6.0-7.5 ทนความร้อนได้ถึง 60-80 องศาเซลเซียส เอนไซม์เหล่านี้ถูกยับยั้งโดยสารที่บล็อกหมู่ซัลไฟไฮดริล เช่น p-chloromercuribenzoate (pCMB) มีผลทำให้อนุมูลที่บริเวณเร่งสูญเสียการทำงาน ในขณะที่ diisopropyl fluorophosphate (DFP) และสารจับโลหะ มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์นี้เพียงเล็กน้อย (Ward, 1983) ซีสเทอีนโปรตีนเอสที่สำคัญในกล้ามเนื้อปลาสามารถจำแนกออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. อัลคาไลน์โปรตีนเอส (alkaline proteinase)

เอนไซม์กลุ่มนี้สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูง และฟิเอนท์เป็นด่าง กิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นโดยสารรีดิวซิงซึ่งประกอบด้วยหมู่ซัลไฟไฮดริล และถูกยับยั้งโดย pCMB (Makinodan *et al.*, 1982) ปริมาณของเอนไซม์กลุ่มนี้ในกล้ามเนื้อจะแตกต่างกันตามชนิดของสัตว์น้ำ เอนไซม์เหล่านี้พบมากในปลา rainbow trout, sardine, white croaker, carp, mackerel (Makinodan *et al.*, 1984) cod, herring (Stoknes *et al.*, 1993) menhaden (Boye and Lanier, 1988) และ Atlantic salmon เอนไซม์เหล่านี้อาจมาจากการปนเปื้อนของหนัง อวัยวะภายใน เช่น ตับ ไต เป็นต้น (Su *et al.*, 1981)

Lin และ Lanier (1980) ได้ศึกษาเอนไซม์ซีสเทอีนโปรตีนเอสจากเนื้อปลา Atlantic croaker พบว่า มีน้ำหนักโมเลกุล 80,000 คาลตัน และ pI เท่ากับ 6 สามารถย่อยสลายแอกโตไมโอซินได้ดีที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปเอนไซม์โปรตีนเอสชนิดนี้มีน้ำหนักโมเลกุลสูง Makinodan และคณะ (1987) รายงานว่าน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีนเอสจากปลา croaker มีค่าประมาณ 430,000 คาลตันโดยประกอบด้วย 4 ยูนิตย่อยที่แตกต่างกัน ($\alpha\beta\gamma\delta_4$) และมีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 45,000 - 75,000 คาลตัน (Makinodan *et al.*, 1987)

Boye และ Lanier (1988) รายงานว่าเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีนเอสที่แยกได้จากปลา Atlantic menhaden มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีนเอส ที่

แยกได้จากปลา white croaker ซึ่งมีพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานเท่ากับ 7.5-8.0 และ 60 องศาเซลเซียสตามลำดับ อย่างไรก็ตามกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีนเอส ไม่สามารถตรวจพบที่อุณหภูมิต่ำกว่า 50 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส เอนไซม์เหล่านี้จะถูกกระตุ้นการทำงานโดยสารที่ก่อให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีน เช่น ยูเรีย กรดไขมัน (Folco *et al.*, 1988)

2. คาเทปซิน (Cathepsin)

เอนไซม์คาเทปซินเป็นเอนไซม์ที่พบมากในไลโซโซม (lysosome) เอนไซม์ชนิดนี้สามารถพบได้ในเนื้อเยื่อ (Kirschke and Barrett, 1987) การปลดปล่อยเอนไซม์คาเทปซินภายหลังการตายของสัตว์ มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อ (Asghar and Bhatti, 1987) โดยทำหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีนในช่วงอุณหภูมิสูง (50-60 องศาเซลเซียส) คาเทปซิน B H และ L พบในเนื้อของปลา Pacific whiting (Seymour *et al.*, 1994; An *et al.*, 1994b) arrowtooth flounder (Wasson *et al.*, 1992) mackerel (Lee *et al.*, 1993) และ chum salmon (Yamashita and Konagaya, 1990a) คาเทปซิน L มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 23,000 ถึง 30,000 ดาลตัน (Kirschke and Barrett, 1987) คาเทปซิน L จากเนื้อปลา Pacific whiting เป็นเปปไทด์สายเดี่ยวที่มีน้ำหนักโมเลกุล 28,800 มี pI เท่ากับ 4.99 และมีกิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และ พีเอช 5.25-5.5 (Seymour *et al.*, 1994; Maski, 1993)

Lee และคณะ (1993) รายงานว่าคาเทปซิน L และคาเทปซินที่คล้ายกับคาเทปซิน L (L-like) จากปลา mackerel มีน้ำหนักโมเลกุล 30,000 และ 58,000 ดาลตัน และมี พีเอชที่เหมาะสมในการทำงานเมื่อใช้ Z-Phe-Arg-MCA เป็นสับสเตรทที่ 5.0 และ 5.5 ตามลำดับ คาเทปซิน L จากเนื้อปลา chum salmon มีน้ำหนักโมเลกุล 28,000 ดาลตัน มี pI เท่ากับ 4.9 และมีกิจกรรมสูงสุดที่พีเอช 5.7 (Yamashita and Konagaya, 1990b)

ซีรีนโปรตีนเอส

ซีรีนโปรตีนเอสเป็นกลุ่มของเอนไซม์ย่อยโปรตีน ที่สามารถพบได้ในกล้ามเนื้อทำงานได้ดีในช่วงพีเอชเป็นกลางถึงด่าง ประกอบด้วยซีรีนอยู่ตรงบริเวณเร่งและสามารถถูกยับยั้งได้ด้วยสารประกอบ DFP และ phenylmethanesulfonyl fluoride (PMSF) (Bond

and Butler, 1987) เอนไซม์เหล่านี้จัดเป็นเอนไซม์จำพวกเอนโดเปปติเดส ทำงานได้ดีที่สุดในช่วงพีเอชมากกว่า 7 (พีเอช 7-11) (Loffler, 1986)

ซีรีนโปรตีนเอสที่พบในกล้ามเนื้อปลาบางประเภท จัดเป็นโปรตีนเอสที่ถูกกระตุ้นโดยความร้อน (heat-activated trypsin-like serine proteinase) เป็นสาเหตุสำคัญของการย่อยสลายโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อ ส่งผลให้เกิดการอ่อนตัว และเป็นสาเหตุของการเกิดโมโดรินในผลิตภัณฑ์ซูริมี บางครั้งเรียกว่าโปรตีนเอสที่เร่งการเกิดโมโดริน (modori-inducing proteinase; MIPs) (Kinoshita *et al.*, 1990) สามารถแบ่งได้เป็น 4 ประเภท ตามคุณสมบัติการสกัด (extractability) และ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานดังนี้ คือ (Kinoshita *et al.*, 1990)

1. MIP ชนิดซาร์โคพลาสมิก ซึ่งทำงานได้ดีที่ 50 องศาเซลเซียส (sarcolemmal 50°C MIP ; Sp-50-MIP)
2. MIP ชนิดซาร์โคพลาสมิก ซึ่งทำงานได้ดีที่ 60 องศาเซลเซียส (sarcolemmal 60°C MIP ; Sp-60-MIP)
3. MIP ชนิดที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล ซึ่งทำงานได้ดีที่ 50 องศาเซลเซียส (myofibril-associated 50°C MIP ; Mf-50-MIP)
4. MIP ชนิดที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล ซึ่งทำงานได้ดีที่ 60 องศาเซลเซียส (myofibril-associated 60°C MIP ; Mf-60-MIP)

ปลาชนิดต่างๆมีองค์ประกอบของ MIP ที่แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 4 ซีรีนโปรตีนเอสสามารถพบได้ในปลาหลายชนิด เช่น threadfinbream (*Nemipterus bathybius*) จัดเป็น MIP ชนิดซาร์โคพลาสมิก สามารถย่อยสลายไมโอซินเส้นหนัก (MHC) ได้สูงสุดที่ 50 องศาเซลเซียส และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 500,000 ดาลตัน (Kinoshita *et al.*, 1990) Folco และคณะ (1989) รายงานว่ากล้ามเนื้อปลา Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*) ประกอบด้วย MIP ชนิดซาร์โคพลาสมิก ซึ่งทำงานได้ดีที่ 60 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 77,000 ดาลตัน สามารถย่อยสลายไมโอซินเส้นหนัก (MHC) ได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ในปลา white croaker ประกอบด้วย MIP ชนิดซาร์โคพลาสมิก ซึ่งทำงานได้ดีที่ 60 องศาเซลเซียส (Yanagihara *et al.*, 1991)

Osatomi และคณะ (1997) รายงานว่าซีรีนโปรตีนเนสชนิดที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล (myofibril-bound serine proteinase; MBP) ของปลา carp มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 300,000 ดาลตันซึ่งทำงานได้ดีที่อุณหภูมิและพีเอชเท่ากับ 55 องศาเซลเซียสและ 8.0 ตามลำดับ

ตารางที่ 4 ชนิดของ MIP ในปลาชนิดต่างๆ

Fish species	Sp-50-MIP ¹	Sp-60-MIP ²	Mf-50-MIP ³	Mf-60-MIP ⁴
Threadfin bream	x	x		
Mud dab		x		
Walleye pollack		x		
Red sea bream		x		
Rainbow trout		x		
Brown croaker		x		
Shortfin lizardfish		x	x*	x*
Nibe croaker		x		x
Tilapia		x		x
File fish		x	X	x
Pacific mackerel			x	x
Crucian carp			x	x

* Showed modori-phenomenon partially

ที่มา : Kinoshita และคณะ 1990

หมายเหตุ 1 : Sarcoplasmic-50°C Modori-inducing proteinase

2 : Sarcoplasmic-60°C Modori-inducing proteinase

3 : Myofibrillar-50°C Modori-inducing proteinase

4 : Myofibrillar-60°C Modori-inducing proteinase

3.3 บทบาทของเอนไซม์โปรตีนเนสต่อการอ่อนตัวของเจลซูริมิ

หลังจากที่ปลาตาย กล้ามเนื้อปลาจะเกิดการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) โดยมีสาเหตุจากเอนไซม์ย่อยโปรตีนในกล้ามเนื้อปลา ซึ่งเป็นผลทำให้เนื้อปลามีลักษณะเนื้อสัมผัสที่เปลี่ยนแปลงไป คือกล้ามเนื้อมีลักษณะอ่อนตัวและนิ่ม นอกจากนี้เอนไซม์เหล่านี้มีบทบาททำให้คุณภาพของเจลซูริมิลดลง เนื่องจากเอนไซม์เหล่านี้ก่อให้เกิดการย่อยสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อ ทำให้ไม่สามารถเกิดโครงสร้างร่างแหของโปรตีน ส่งผลให้ซูริมิที่ผลิตได้มีคุณภาพต่ำ (Boye and Lanier, 1988; Morrissey *et al.*, 1993; An *et al.*, 1996)

Su และคณะ (1981) พบว่า กล้ามเนื้อปลา croaker ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีนเนส ซึ่งอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสม คือ 60 องศาเซลเซียส และ 7.5 ตามลำดับ Boye และ Lanier (1988) รายงานว่าแอคโตไมโอซินในกล้ามเนื้อปลา Atlantic menhaden (*Brevortia tyrannus*) ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีนเนส ซึ่งมีกิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสและที่พีเอช 7.5-8.0 เอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีนเนสในกล้ามเนื้อปลา carp สามารถย่อยสลายโปรตีนไมโอไฟบริลเป็นผลให้เจลซูริมิที่ได้มีลักษณะอ่อนตัว (Makinodan *et al.*, 1987) Stokes และคณะ (1993) พบว่าแอคโตไมโอซินในกล้ามเนื้อปลา cod (*Gadus morhua*) และปลา herring (*Clupea harengus*) ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีนเนสชนิดทนร้อน ซึ่งมีอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมในการทำงาน คือ 62 องศาเซลเซียส และที่พีเอช 8 โดยกิจกรรมลดลงที่อุณหภูมิต่ำกว่า 58 องศาเซลเซียส และสูงกว่า 65 องศาเซลเซียส Stokes และ Rustad (1995) ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเนสในเนื้อปลา Atlantic salmon พบว่าเกิดการย่อยสลายแอคโตไมโอซินโดยเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีนเนส ซึ่งทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียสและที่พีเอช 8

กล้ามเนื้อปลา arrowtooth flounder สามารถถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์คาเธปซิน L และคาเธปซิน D ซึ่งมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน คือ 55-60 องศาเซลเซียส (Greene and Babbitt, 1990) Makinodan และคณะ (1985) พบว่า เมื่อให้ความร้อนแก่เนื้อปลาบดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แอคโตไมโอซินถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์คาเธปซิน D ส่งผลให้เจลที่ได้มีความแข็งแรงต่ำ Yamashita และ Konagaya (1990a)

พบว่า เอนไซม์คาเรปซิน L สามารถย่อยสลายโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อปลา chum salmon ในระหว่างวางไข่ เมื่อเก็บรักษาไว้นาน 7 วันที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่งผลให้เกิดการอ่อนตัวของกล้ามเนื้อปลา Saeki และคณะ (1995) พบว่า เมื่อปมซูริมิ จากปลา chum salmon ที่อุณหภูมิ 20-60 องศาเซลเซียส เป็นผลให้ไมโอซินถูกย่อยสลาย โดยเอนไซม์โปรตีเนส Chang-Lee และคณะ (1990) และ Morrissey และคณะ (1993) พบว่า MHC ถูกย่อยสลายเมื่อปมเนื้อของ Pacific whiting ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ก่อนการให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

Suwansakornkul และคณะ (1993a) ศึกษาการเกิดเจลในปลาปากคม 3 พันธุ์ โดยเปรียบเทียบระหว่างเจลที่เตรียมจากเนื้อปลาสดที่ล้างน้ำและไม่ล้างน้ำ พบว่า เนื้อปลาสดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำเกิดการย่อยสลาย MHC โดยเอนไซม์โปรตีเนส ที่อุณหภูมิ 40, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ในปลาปากคมพันธุ์ tokageeso และที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส สำหรับปลาปากคมพันธุ์ maeso และที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สำหรับปลาปากคมพันธุ์ wanieso ส่วนเนื้อปลาสดที่ล้างน้ำ MHC ถูกย่อยสลายที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในปลาปากคมพันธุ์ tokageeso และที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสในปลาปากคมพันธุ์ maeso ซึ่งมีผลทำให้ความแข็งแรงของเจลลดลง

Jiang และคณะ (1997) พบว่าเอนไซม์คาเรปซิน B และ L สามารถย่อยสลายไมโอซินเส้นหนักที่อุณหภูมิประมาณ 40-55 องศาเซลเซียส และพีเอชประมาณ 6.5-7.5 เป็นผลให้เจลซูริมิที่ผลิตจากปลา mackerel มีลักษณะอ่อนตัว

3.4 การยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสที่ก่อให้เกิดโมโดริในซูริมิ

เนื่องจากมีความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนส และคุณภาพที่ลดลงของเจลซูริมิ การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนส จึงเป็นแนวทางในการปรับปรุงคุณภาพของเจล การใช้สารเติมแต่งที่มีคุณสมบัติยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนส สามารถป้องกันการเกิดโมโดริได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสารเหล่านี้สามารถปรับปรุงลักษณะทางกายภาพของซูริมิ และควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนสชนิดทนความร้อนซึ่งย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อ โปรตีนที่ใช้ในการปรับปรุงคุณภาพเจล ได้แก่ เช่น ไข่ขาวผง ส่วนสกัดจากมันฝรั่ง โปรตีนเวย์เข้มข้น (Whey protein

concentrate : WPC) โปรตีนพลาสมาเลือดวัว (Beef plasma protein : BPP) (Lanier *et al.*, 1981; Chang-Lee *et al.*, 1990; Morrissey *et al.*, 1993) และโปรตีนเลือดหมู (Benjakul and Visessanguan, 2000)

Chang-Lee และคณะ (1989) พบว่า การเติมไข่ขาวผงร้อยละ 3 ในซูริมามีผลปรับปรุงคุณภาพของเจลได้ดี ขณะที่โปรตีนจากแหล่งอื่นๆ เช่น สารสกัดจากถั่วเหลือง และโปรตีนเวย์เข้มข้นไม่มีผลปรับปรุงคุณภาพของเจล Chang-Lee และคณะ (1990) รายงานว่าการเติมสารสกัดจากมันฝรั่งร้อยละ 5 ร่วมกับการใช้ไข่ขาว สามารถเสริมให้เจลซูริมิที่ได้จากปลา Pacific whiting มีความสามารถยืดเกาะ ความแข็งแรงและความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น

Hamann และคณะ (1990) ศึกษาความสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนสโดยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากพลาสมา และไข่ขาว พบว่า สามารถป้องกันการเกิดโมโดริ และเพิ่มความเค้นและความเครียดในเจลซูริมิจากปลา Alaska pollock ที่บ่มที่ 60 องศาเซลเซียส และให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส โดยพบว่าสารที่ทำหน้าที่ยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนส คือ α_2 -macroglobulin ซึ่งเป็นโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในพลาสมา Morrissey และคณะ (1993) ศึกษาความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนส โดย โปรตีนพลาสมาจากเลือดวัว ไข่ขาวผง และส่วนสกัดจากมันฝรั่ง ในเนื้อปลา Pacific whiting บดและซูริมิ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในเนื้อปลาบด อย่างไรก็ตามความสามารถยับยั้งเอนไซม์ในซูริมิจากปลาดังกล่าวมีความแตกต่างกัน โดยโปรตีนพลาสมาจากเลือดวัวสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนสได้สูงสุด รองลงมา คือ ไข่ขาวผงและส่วนสกัดจากมันฝรั่งตามลำดับ โดยปริมาณที่เหมาะสมคือ ร้อยละ 1 Weerasinghe และคณะ (1995) พบว่า โปรตีนพลาสมาจากเลือดวัวสามารถยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน (serine proteinase) ได้สูงสุดรองลงมาคือ ส่วนสกัดจากมันฝรั่ง และโปรตีนเวย์

Barrett และ Starkey (1973) รายงานว่า α_2 -macroglobulin เป็นสารยับยั้งเอนไซม์ซีรีน ซิสเตอีน คาร์บอกซิล และเมทัลโลโปรตีเนส สำหรับไข่ขาวสามารถยับยั้งเอนไซม์ชนิด ซีรีนโปรตีเนส ได้แก่ ทริปซิน (Trypsin) หรือ (Chymotrypsin) (Wasson *et al.*, 1992) การประยุกต์ใช้โปรตีนพลาสมาจากเลือดวัว ไข่ขาว หรือส่วนสกัดจากมันฝรั่ง

ในกระบวนการผลิตซูริมิสามารถกระทำโดยการ เติมลงในซูริมิพร้อมๆกับการเติมน้ำตาลและซอร์บิทอลลงในซูริมิก่อนการแช่เยือกแข็ง อย่างไรก็ตามการใช้สารยับยั้งดังกล่าวใน ซูริมิ มีข้อจำกัดหลายประการ เช่น กลิ่นและรสชาติในผลิตภัณฑ์ที่เปลี่ยนแปลงไป

Reppond และ Babbit (1993) พบว่าการใช้โปรตีนจากไข่ขาวผง โปรตีนเลือดวัวแห้ง และสารสกัดจากมันฝรั่งในปริมาณร้อยละ 2 มีผลให้สีเหลืองของซูริมิจากปลา arrowtooth flounder เพิ่มขึ้น การใช้โปรตีนปลาสมจากเลือดวัวในปริมาณที่สูงกว่าร้อยละ 1 พบว่ามีผลให้เกิดกลิ่นผิดปกติขึ้นในซูริมิ (Akazawa *et al.*, 1993) สำหรับไข่ขาวผงนอกจากมีราคาแพงแล้วพบว่า การใช้ไข่ขาวในปริมาณที่สูงกว่าร้อยละ 3 นั้นมักก่อให้เกิดกลิ่นไขขึ้นในซูริมิ (Chang-Lee, 1990; Porter *et al.*, 1993)

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคม ภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน
2. ศึกษาคุณสมบัติการเกิดเจลของซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมซึ่งเก็บรักษาในสภาวะที่แตกต่างกัน
3. ศึกษาการจำแนกชนิดและลักษณะของเอนไซม์โปรตีเนสในกล้ามเนื้อปลาปากคม
4. ศึกษาการใช้โปรตีนเติมแต่งบางชนิดต่อการปรับปรุงคุณภาพเจลซูริมิจากปลาปากคม

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุ

1. วัตถุดิบ

จัดซื้อปลาปากคม (*Saurida tumbil*) จากชาวประมงที่ทำการประมงในเขตทะเลสาบสงขลาตอนนอก โดยคัดเลือกปลาที่มีความยาวของลำตัวเท่ากับ 25 ± 3 เซนติเมตร และบรรจุในกล่องโฟม โดยวางปลาปากคมสลับกับชั้นของน้ำแข็ง อัตราส่วนปลาต่อน้ำแข็งเท่ากับ 1 ต่อ 2 (นน./นน.) แล้วขนส่งมายังภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร นำมาล้างและตัดแต่งเพื่อใช้ในการวิจัยต่อไป

2. เคมีภัณฑ์

เคมีภัณฑ์เกรดวิเคราะห์ (analytical grade) สำหรับการวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการของเคมีของกล้ามเนื้อปลาปากคม การวิเคราะห์คุณภาพของซูริมิ และการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอส

อุปกรณ์

1. เครื่องโฮโมจิไนส์ ยี่ห้อ NISSEI รุ่น AM-8 ประเทศมาเลเซีย
2. เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบตั้งโต๊ะ ยี่ห้อ EPPENDORF รุ่น 5415C ประเทศเยอรมันนี
3. เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ SORVALL รุ่น RC-B plus ประเทศสหรัฐอเมริกา
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ SARTORIUS รุ่น BP 21005 ประเทศเยอรมันนี และเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ METTLER TOLEDO รุ่น AB 204 ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
5. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น UV-16001 ประเทศญี่ปุ่น

6. เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส ยี่ห้อ STABLEMICRO SYSTEMEM รุ่น TA-XT 2I
ประเทศอังกฤษ
7. เครื่องวัดสี ยี่ห้อ JUKI รุ่น JP 7100F ประเทศไต้หวัน
8. ชุดอิเล็กทรอนิกส์ ยี่ห้อ Bio-Rad รุ่น Mini-PROTEAN II ประเทศสหรัฐอเมริกา
9. เครื่องพีเอชมิเตอร์ ยี่ห้อ DENVER INSTRUMENT รุ่น 15 ประเทศสหรัฐอเมริกา
10. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ MEMMERT รุ่น W 350 ประเทศเยอรมันนี
11. เครื่องสับผสม ยี่ห้อ NATIONAL รุ่น MK-K77 ประเทศญี่ปุ่น
12. เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า ยี่ห้อ KIKA Labortechnik รุ่น RO 10 power ประเทศเยอรมันนี
13. เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบ Basket ยี่ห้อ Grandimpianti ประเทศอิตาลี

วิธีการทดลอง

1. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อปลาปากคม

1.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อปลาปากคม โดยทำการวิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ดังนี้คือ

- ความชื้น (AOAC, 1991) (ภาคผนวก ก1.)
- เถ้า (AOAC, 1991) (ภาคผนวก ก2.)
- ไขมัน (AOAC, 1991) (ภาคผนวก ก3.)
- โปรตีน (AOAC, 1991) (ภาคผนวก ก4.)

1.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีน และสารประกอบไนโตรเจนตามวิธีของ Hashimoto และคณะ (1979) (ภาคผนวก ก5.) ดังนี้คือ

- สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (Non-protein nitrogen)
- โปรตีนซาร์โคพลาสมิก (Sarcoplasmic protein)
- โปรตีนไมโอไฟบริล (Myofibrillar protein)
- โปรตีนที่ละลายในด่าง (Alkali-soluble protein)
- โปรตีนสโตรมา (Stroma protein)

2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ

2.1 การเตรียมปลาปากคมสำหรับการเก็บรักษา

นำปลาปากคมมาล้างทำความสะอาด แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ทำการเก็บรักษาทั้งตัวและส่วนที่ตัดหัวควักไส้ นำมาจัดเรียงในกล่องโฟม โดยจัดเรียงสลับชั้นกับน้ำแข็ง และใช้อัตราส่วนปลาต่อน้ำแข็งเท่ากับ 1 ต่อ 3 (นน./นน.) เก็บกล่องโฟมที่บรรจุปลาไว้ในอุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) และทำการเปลี่ยนน้ำแข็งทุก 2 วัน ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 15 วัน โดยการเก็บตัวอย่างทุก 3 วัน สำหรับตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงคุณภาพกล้ามเนื้อปลาปากคม และคุณสมบัติการเกิดเจล

2.2 การตรวจสอบคุณภาพและรูปแบบของโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคม

ทำการตรวจสอบคุณภาพกล้ามเนื้อปลาปากคม และการย่อยสลายของโปรตีนทุก 3 วันเป็นเวลา 15 วัน โดยทำการวิเคราะห์ดังนี้ คือ

- รูปแบบโปรตีนโดยการใช้ sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) โดยใช้ 10% running gel และ 4% stacking gel ตามวิธีของ Laemmli (1970) (ภาคผนวก ข.)

- การย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ตามวิธีของ Morrissey และคณะ (1993) และ Benjakul และคณะ (1997) (ภาคผนวก ข1.)

- ปริมาณค่าที่ระเหยได้ และไตรเมทิลเอมีน โดยวิธีของ (Ng, 1987) (ภาคผนวก ข2.)

- ปริมาณกรดแอลฟา-อะมิโนอิสระ ตามวิธีของ Benjakul และ Morrissey (1997) (ภาคผนวก ข3.)

- กิจกรรม ATPase ของแอกโตไมโอซิน ตามวิธีของ Benjakul และคณะ (1997) (ภาคผนวก ข4.)

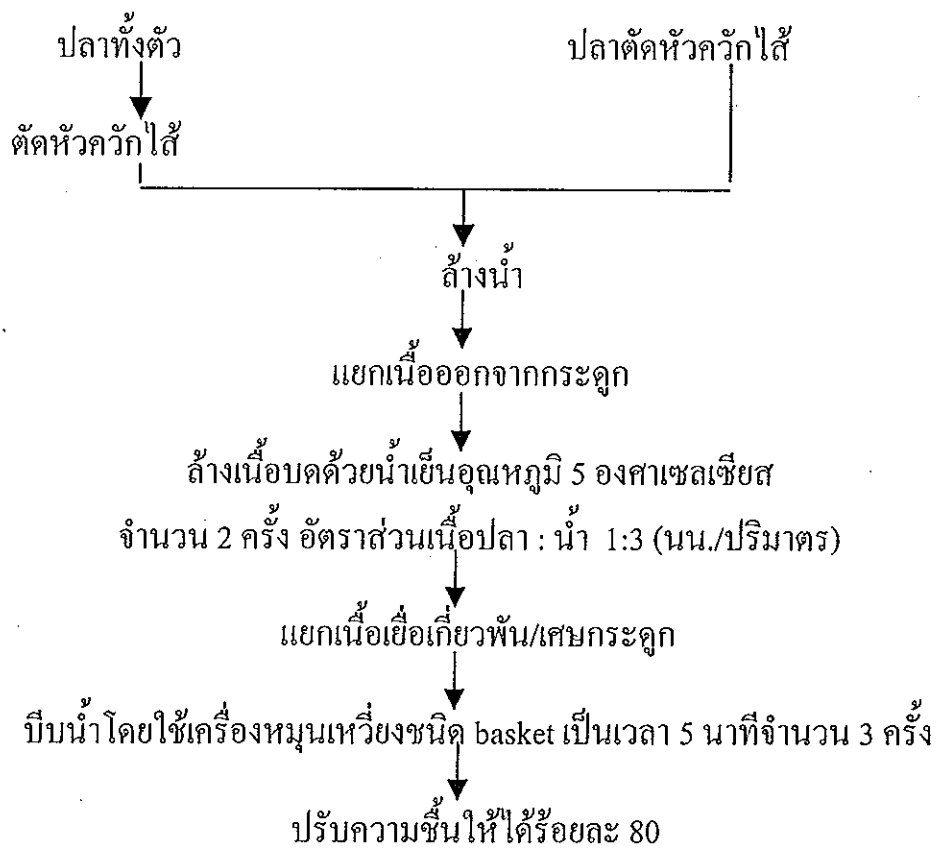
- ปริมาณฟอสฟอรัสไฮดรอกซีตามวิธีของ (Ng, 1987) (ภาคผนวก ข5.)

จัดชุดการทดลองแบบแฟกทอเรียล (Factorial) วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) แต่ละสิ่งทดลองทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองแบบ DMRT (Duncan's multiple range test) (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2531)

3. ศึกษาการผลิตซูริมิจากปลาปากคมซึ่งเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างกัน

3.1 การผลิตซูริมิจากปลาปากคม

ผลิตซูริมิจากปลาปากคมทั้งตัว และปลาปากคมที่ตัดหัวควักไส้ ซึ่งเก็บในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆกัน (ข้อ 2.1) ดังรูปที่ 5 ดังนี้



รูปที่ 5 ขั้นตอนการผลิตซูริมิ

3.2 การเตรียมเจลซูริมิ

นำซูริมิที่เตรียมจากปลาทั้งตัวและปลาที่ตัดหัวควักไส้ ซึ่งเก็บในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ (ข้อ 3.1) เติมเกลือร้อยละ 2.5 จากนั้นสับผสมด้วยเครื่องสับผสมที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที บรรจุส่วนผสมในไส้พอลิไวนิลคลอไรด์ (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร) แล้วทำการแช่ตัวที่สภาวะต่างๆ ดังนี้

- แช่ตัวที่อุณหภูมิปานกลาง (25 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง)
- แช่ตัวที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที)
- ไม่ผ่านการแช่ตัว

ให้ความร้อนกับเจลที่ผ่านการแช่ตัว และไม่ผ่านการแช่ตัวที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วทำให้เย็นโดยทันทีในน้ำผสมน้ำแข็ง หลังจากนั้นทำการตรวจสอบลักษณะคุณภาพของเจลซูริมิ ดังต่อไปนี้

- ตรวจสอบความแข็งแรงของเจล โดยตรวจสอบแรงเจาะทะลุ (breaking force) และระยะทางก่อนเจาะทะลุ (deformation) ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (ภาคผนวก ก1.)

- ตรวจสอบความขาวของเจล (ภาคผนวก ก2.)

จัดชุดการทดลองแบบแฟกทอเรียล (Factorial) วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) แต่ละสิ่งทดลองทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองแบบ DMRT (Duncan's multiple range test) (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2531)

4. ศึกษาชนิดและลักษณะของเอนไซม์โปรตีนในกล้ามเนื้อปลาปากคม

4.1 การเตรียมเอนไซม์โปรตีน

4.1.1 เตรียมเอนไซม์โปรตีนเนสที่อยู่ในของเหลวซาร์โคพลาสมิก ตามวิธีของ An และคณะ (1994) (ภาคผนวก ง1.)

4.1.2 เตรียมเอนไซม์โปรตีนเนสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล ตามวิธีของ Toyohara และคณะ (1990c) (ภาคผนวก ง2.)

4.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์โปรตีนเอสที่อยู่ในของเหลวซาร์โคพลาสมิก

4.2.1 พีเอชที่เหมาะสม

ตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอส โดยวิธี protein-TCA Lowry method (ภาคผนวก จ.) (An *et al.*, 1994) โดยใช้เคซีน (casein) เป็นสับสเตรท บ่มที่อุณหภูมิ 37, 55 และ 65 องศาเซลเซียส ที่พีเอชต่างๆ (3, 4, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 10, 11 และ 12) โดยใช้ 0.2 M McIlvaine buffer (0.2 M Na-phosphate และ 0.1 M Na-citrate) คัดเลือกพีเอชที่มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

4.2.2 อุณหภูมิที่เหมาะสม

ตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสที่อุณหภูมิต่างๆ 20, 30, 37, 45, 50, 55, 60, 65 และ 70 องศาเซลเซียส ภายใต้พีเอชที่เหมาะสม (ข้อ 4.2.1) โดยวิธี protein-TCA Lowry method (ภาคผนวก จ.) (An *et al.*, 1994)

4.3 ศึกษาการจำแนกกลุ่มของเอนไซม์โปรตีนเอสที่อยู่ในของเหลวซาร์โคพลาสมิก

เติมสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเอสชนิดต่างๆ และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที โดยใช้ระดับความเข้มข้นของสารยับยั้งแต่ละชนิดดังนี้

Pepstatin	ความเข้มข้น	1	mM
Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA)	ความเข้มข้น	2	mM
Iodoacetic Acid	ความเข้มข้น	1	mM
L-trans-epoxysuccinyl-leucylamido (4-quinidino)butane (E-64)	ความเข้มข้น	0.01	mM
Soybean trypsin inhibitor	ความเข้มข้น	0.01	mM
N-Ethylmaleimide (NEM)	ความเข้มข้น	1	mM
5, -5' -Dithiobis-(2-nitrobenzoic Acid) (DTNB)	ความเข้มข้น	1	mM

ตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสที่เหลื่อ โดยวิธี protein-TCA Lowry Method (An *et al.*, 1994) (ภาคผนวก จ.) ภายใต้พีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสม (ข้อ 4.2)

4.4 ศึกษาผลของสารเคมีบางชนิดต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสที่อยู่ในของเหลวซาร์โคพลาสมิก

ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารเร่ง หรือสารยับยั้งต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสโดยเติมสารเร่งหรือสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเอสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆดังนี้

คือ

- สารรีดิวซิ่ง (β -mercaptoethanol, Dithiothreitol) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 5 และ 10 mM

- ยูเรีย ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 5 และ 10 mM

- โซเดียมคลอไรด์ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 mM

บ่มสารสกัดเอนไซม์และสารเคมีที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาทีก่อนตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสโดยวิธี protein-TCA Lowry method (An *et al.*, 1994) (ภาคผนวก จ.) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (ข้อ 4.2)

4.5 ศึกษาผลของโปรตีนเติมแต่งต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสที่อยู่ในของเหลวซาร์โคพลาสมิก

ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของโปรตีนเติมแต่งต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอส เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว (beef plasma protein : BPP) หรือไข่ขาวผง (egg white : EW) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2 และ 3 (นน./ปริมาตร) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที และตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอส เช่นเดียวกับข้อ 4.4

4.6 ศึกษาความคงตัวของเอนไซม์โปรตีนเอส

ศึกษาความคงตัวต่อความร้อน และความคงตัวต่อพีเอชของเอนไซม์โปรตีนเอสที่อยู่ในของเหลวซาร์โคพลาสมิก

4.6.1 ศึกษาความคงตัวต่อความร้อน

นำเอนไซม์ที่สกัดได้ (ข้อ 4.1.1) บ่มที่อุณหภูมิ 25, 40, 50, 60, 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นอย่างรวดเร็วโดยใช้น้ำผสมน้ำแข็ง ตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสที่เหลือ โดยวิธี protein-TCA Lowry method (An *et al.*, 1994) (ภาคผนวก จ.) โดยใช้เคซีนเป็นสับสเตรท ภายใต้พีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสม (ข้อ 4.2)

4.6.2 ศึกษาความคงตัวต่อพีเอช

นำเอนไซม์ที่สกัดได้ (ข้อ 4.1.1) มาผสมกับ McIlvaine buffer (0.2 M Na-phosphate และ 0.1 M Na-citrate) ที่พีเอช 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 และ 12 เป็นเวลา 10 นาที ตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสที่เหลือ โดยวิธี protein-TCA Lowry method (An *et al.*, 1994) (ภาคผนวก จ.) โดยใช้เคซีนเป็นสับสเตรท ภายใต้พีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสม (ข้อ 4.2)

4.7 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล

4.7.1 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม

นำเนื้อปลาปากคมบดที่ผ่านการล้าง (เอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล) (ข้อ 4.1.2) และเนื้อปลาปากคมบดที่ไม่ผ่านการล้างมาอย่างละ 3 กรัม ใสลงในบีกเกอร์ขนาด 150 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 45, 50, 55, 60, 65 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ตรวจสอบเปปไทด์ที่เกิดจากการย่อยสลายตัวเอง ตามวิธีของ Morrissey และคณะ (1993) (ภาคผนวก ข1.) และตรวจรูปแบบโปรตีนโดยใช้ sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) โดยใช้ 10% running gel และ 4% stacking gel ตามวิธีการของ Laemmli (1970) (ภาคผนวก ข.) คัดเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

4.7.2 ศึกษาระยะเวลาในการดำเนินกิจกรรมของเอนไซม์

เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 4.7.1 บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสม (ข้อ 4.7.1) เป็นระยะเวลาต่างๆ กัน ดังนี้คือ 0, 10, 30, 60, 90 และ 120 นาที ตรวจสอบเปปไทด์ที่เกิดจากการย่อยสลายตัวเอง และตรวจรูปแบบโปรตีนเช่นเดียวกับข้อ 4.7.1

4.8 ศึกษาผลของความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่อกิจกรรมของเอนไซม์

นำเนื้อปลาปากคมบดที่ผ่านการล้าง (ข้อ 4.1.2) ผสมกับโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 3 (นน./นน.) ตามลำดับ บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม (ข้อ 4.7.1) เป็นเวลา 120 นาที ตรวจสอบเปปไทด์ที่เกิดจากการย่อยสลายตัวเองและรูปแบบโปรตีนเช่นเดียวกันกับข้อ 4.7.1

4.9 ศึกษาผลของสารยับยั้งเอนไซม์ต่อกิจกรรมของเอนไซม์

นำเนื้อปลาปากคมบดที่ผ่านการล้าง (ข้อ 4.1.2) เติมสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีนชนิดต่างๆ (ข้อ 4.3.1) ผสมให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสม (ข้อ 4.7.1) เป็นเวลา 60 นาที ตรวจสอบเปปไทด์ที่เกิดจากการย่อยสลายตัวเองและรูปแบบโปรตีนเช่นเดียวกันกับข้อ 4.7.1

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) แต่ละสิ่งทดลองทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองแบบ DMRT (Duncan' s multiple range test) (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2531)

5. ศึกษาผลของโปรตีนเติมแต่งต่อกิจกรรมการย่อยสลายตัวเอง

ศึกษาผลของโปรตีนเติมแต่งต่อกิจกรรมการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลาปากคมบดที่ผ่านการล้าง (เอนไซม์โปรตีนที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล) และเนื้อปลาปากคมบดที่ไม่ผ่านการล้างในสถานะที่เติมและไม่เติมเกลือความเข้มข้นร้อยละ 2.5 โดยเติมโปรตีนปลาสดเกลือควัว หรือ ไข่ขาวผง ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน (ร้อยละ 0, 1, 2, และ 3 นน./นน.) ผสมให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสม (ข้อ 4.7.1) เป็นเวลา 60 นาที

ตรวจสอบเปปไทด์ที่เกิดจากการย่อยสลายตัวเองและรูปแบบของโปรตีนเช่นเดียวกับ
ข้อ 4.7.1

6. ศึกษาผลของโปรตีนเคมิต่อความแข็งแรงของเจลซูริมิ

ผลิตซูริมิตามขั้นตอนในข้อ 3.1 แล้วเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว หรือ ไข่ขาวผง
ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2, และ 3 ตามลำดับ สัมผัสกับเกลือความเข้มข้นร้อยละ
2.5 (นน./นน.) โดยปรับความชื้นของเจลเท่ากับร้อยละ 80 สัมผัสประมาณ 5 นาที
ก่อนการบรรจุใส่ และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ ดังนี้

- 40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
- 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

ให้ความร้อนกับเจลที่ผ่านให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส ที่
อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วทำให้เย็นโดยทันทีในน้ำผสมน้ำแข็ง
ทำการตรวจสอบลักษณะคุณภาพของเจลซูริมิ เปรียบเทียบกับเจลที่ให้ความร้อนโดยตรง
(90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที) ดังนี้

- ตรวจสอบความแข็งแรงของเจล โดยตรวจสอบแรงเจาะทะลุ
(breaking force) และระยะทางก่อนเจาะทะลุ (deformation) ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อ
สัมผัส

- ตรวจสอบความขาวของเจล
- ตรวจสอบโครงสร้างจุลภาคโดย Scanning Electron Microscope (SEM)

จัดชุดการทดลองแบบแฟกทอเรียล (Factorial) วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่าง
สมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) แต่ละสิ่งทดลองทำการวิเคราะห์ 3
ซ้ำ ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และความแตกต่างระหว่างชุด
การทดลองแบบ DMRT (Duncan's multiple range test) (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2531)

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อปลาปากคม

1.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อปลาปากคม

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อปลาปากคม (ตารางที่ 5) พบว่า กล้ามเนื้อปลาปากคมมีปริมาณโปรตีนสูง (ร้อยละ 19.36) และมีปริมาณไขมันต่ำ (ร้อยละ 1.09) ซึ่งสอดคล้องกับ Kongpun (1999) ซึ่งรายงานว่าปริมาณโปรตีน ความชื้น ไขมัน และเถ้า ในกล้ามเนื้อปลาปากคมมีค่าเท่ากับร้อยละ 19.55, 78.33, 1.95 และ 1.64 ตามลำดับ

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อปลาปากคม

องค์ประกอบ	ปริมาณ (ร้อยละ โดยน้ำหนักเปียก)*
โปรตีน	19.36 ± 0.41
ความชื้น	78.98 ± 0.23
ไขมัน	1.09 ± 0.02
เถ้า	1.05 ± 0.04

*ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ปลาปากคมจัดเป็นปลาที่มีไขมันต่ำ เนื่องจากพบไขมันในปริมาณน้อยกว่าร้อยละ 2 และมีโปรตีนสูง (Spinelli and Dassow, 1982) Mackie (1994) รายงานว่ากล้ามเนื้อปลามีน้ำและโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งมีความแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด โดยทั่วไปกล้ามเนื้อปลาประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 19.0 และไขมันร้อยละ 1.0 (Stanby, 1963) อย่างไรก็ตามแม้ว่าในปลาชนิดเดียวกัน องค์ประกอบทางเคมีของปลาอาจแตกต่างกัน

ต่างกันตามเพศ อายุ สภาวะแวดล้อมที่ปลาอาศัยอยู่ และฤดูกาล (Suzuki, 1981; Spinnelli and Dassow, 1982; Huidobro and Tejada, 1993) Almas (1981) รายงานว่าปริมาณโปรตีนอาจลดลงในขณะที่ปลาวางไข่

1.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีน และสารประกอบในโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีน และสารประกอบในโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนของกล้ามเนื้อปลาปากคม ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 6 โปรตีนไมโอไฟบรिलเป็นองค์ประกอบหลักของกล้ามเนื้อ (ร้อยละ 60.95) ส่วนโปรตีนซาร์โคพลาสมิก และสารประกอบในโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนมีปริมาณรองลงมาตามลำดับ ส่วนโปรตีน สโตรมาพบในปริมาณที่น้อยมาก (ร้อยละ 1.15)

ตารางที่ 6 องค์ประกอบของโปรตีน และสารประกอบในโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน

องค์ประกอบ	ปริมาณ (mg N/g wet muscle) *
สารประกอบในโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน	3.20 ± 0.06 (10.80)
โปรตีนซาร์โคพลาสมิก	6.00 ± 0.01 (20.25)
โปรตีนไมโอไฟบริล	18.06 ± 0.31 (60.95)
โปรตีนที่ละลายได้ในค่าง	2.03 ± 0.03 (6.85)
โปรตีนสโตรมา	0.34 ± 0.03 (1.15)

*ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

() ค่าเฉลี่ยคิดเป็นร้อยละ

Suzuki (1981) และ Mackie (1994) รายงานว่า โปรตีนหลักที่พบในกล้ามเนื้อปลามี 3 ชนิดคือ โปรตีนไมโอไฟบริล โปรตีนซาร์โคพลาสมิก และโปรตีนสโตรมา โปรตีนไมโอไฟบริลประกอบด้วย ไมโอซิน แอกติน โทรโปนิน และโทรโปไมโอซิน โดยมีปริมาณสูงที่สุดคือ ร้อยละ 66-77 ของโปรตีนทั้งหมด โปรตีนเหล่านี้สามารถ

ละลายได้ในสารละลายเกลือ สำหรับโปรตีนซาร์โคพลาสมิกพบในปริมาณร้อยละ 30 ของโปรตีนทั้งหมด ประกอบด้วยโปรตีนที่ให้สีแก่เนื้อ ได้แก่ ไมโอโกลบิน นอกจากนี้ประกอบด้วยโปรตีนอัลบูมินชนิดต่างๆ รวมทั้งเอนไซม์ ส่วนโปรตีนสโตรมาซึ่งส่วนใหญ่ได้แก่คอลลาเจนเป็นโปรตีนที่พบในเนื้อปลาน้อยมาก สำหรับปริมาณสารประกอบในโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนจะแปรผันขึ้นอยู่กับชนิดของปลา ความสด แหล่งที่จับ สารประกอบเหล่านี้ได้แก่ กรดอะมิโนอิสระ เอมีน ออกไซด์ของเอมีน กัวดิโนน นิวคลีโอไทด์ และ ยูเรีย (Mackie, 1994)

2. การย่อยสลายโปรตีนและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกล้ามเนื้อปลาปากคมระหว่างเก็บรักษาในน้ำแข็ง

จากการศึกษารูปแบบของโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมทั้งตัว ซึ่งเก็บรักษาในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆเป็นเวลา 15 วัน โดย SDS-PAGE (รูปที่ 6) พบว่า ไมโอซินมีปริมาณลดลง เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งนานขึ้น โดยพบการลดลงอย่างเด่นชัด เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 12 และ 15 วัน ซึ่งสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของโปรตีนหรือเปปไทด์ที่มีขนาดเล็กลง การลดลงของไมโอซินอาจเกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์จากกล้ามเนื้อ เครื่องใน รวมทั้งจากจุลินทรีย์ ที่มีบทบาทเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น อย่างไรก็ตามไม่พบการเปลี่ยนแปลงของแอกติน ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน ซึ่งสอดคล้องกับ Benjakul และคณะ (1997) ซึ่งพบว่าปริมาณไมโอซินของกล้ามเนื้อปลา Pacific whiting ลดลงอย่างต่อเนื่องระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 8 วัน โดยมีปริมาณเหลือเพียงร้อยละ 45 เมื่อเก็บเป็นระยะเวลาเวลา 8 วัน แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของแอกติน การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นหลังปลาตายส่วนใหญ่เกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนส โดยทำหน้าที่ย่อยสลายโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของกล้ามเนื้อปลา An และคณะ (1994) รายงานว่าเอนไซม์คาเซปซินจากกล้ามเนื้อปลา Pacific whiting สามารถย่อยสลายไมโอซินเส้นหนัก (MHC) ได้สูงสุด รองลงมา คือ ไทรโปนิน T แอลฟา-ไทรโปนิน และเบต้า-ไทรโปนิน

เมื่อศึกษารูปแบบโปรตีนกล้ามเนื้อของปลาปากคมที่ตัดหัวควักไส้ และเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 15 วัน (รูปที่ 7) พบว่า ไมโอซินมีปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่อง

ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน แต่อัตราการลดลงจะต่ำกว่ากล้ามเนื้อปลาปากคม ทั้งตัวอย่างเด่นชัด (รูปที่ 6) และไม่พบการเปลี่ยนแปลงของแอกตินตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ดังนั้นการเก็บรักษาปลาปากคมที่ตัดหัวและควักไส้ ซึ่งเป็นแหล่งของเอนไซม์โปรตีเนส รวมทั้งจุลินทรีย์ จึงสามารถชะลอการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อของปลาปากคมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

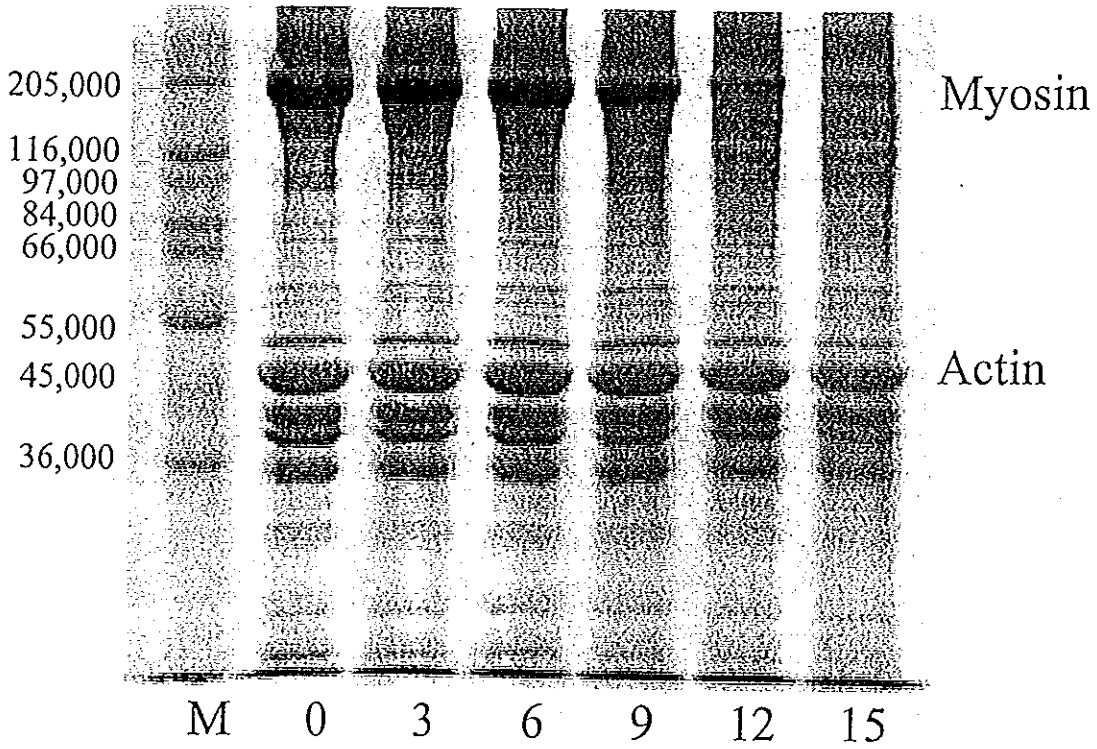
เมื่อเปรียบเทียบกรรมวิธีการเก็บรักษาปลาปากคมในน้ำแข็งระหว่างปลาทั้งตัวและปลาตัดหัวควักไส้ พบว่า ชุดการทดลองที่เก็บรักษาปลาในน้ำแข็งแบบปลาทั้งตัว (รูปที่ 6) มีอัตราการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาสูงกว่า ชุดการทดลองที่เก็บรักษาปลาในน้ำแข็งแบบตัดหัวควักไส้ (รูปที่ 7) เนื่องจากหัวและเครื่องในปลาประกอบด้วยเอนไซม์โปรตีเนสปริมาณสูง (Su *et al.*, 1981) ดังนั้นการตัดหัวและควักไส้ จึงสามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนสได้อีกทางหนึ่ง

จากการศึกษาการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ของกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาปลาในน้ำแข็งเป็นระยะเวลาต่าง ๆ กัน (รูปที่ 8) พบว่า การย่อยสลายตัวเองเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งนานขึ้น ($P < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับ Benjakul และคณะ (1997) ซึ่งพบว่าการย่อยสลายตัวเองของกล้ามเนื้อปลา Pacific whiting มีปริมาณเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาในน้ำแข็งนานขึ้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลองที่เก็บรักษาปลาในน้ำแข็งแบบทั้งตัว และเก็บแบบตัดหัวควักไส้ พบว่า ชุดการทดลองที่เก็บแบบปลาทั้งตัว มีการย่อยสลายโปรตีนเกิดขึ้นสูงกว่า ชุดการทดลองที่เก็บแบบปลาตัดหัวควักไส้ ($P < 0.05$) โดยปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติก ของชุดการทดลองที่เก็บแบบปลาทั้งตัว มีปริมาณเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา ในขณะที่ชุดการทดลองที่เก็บแบบปลาตัดหัวควักไส้ มีปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติก เพิ่มขึ้นหลังจากวันที่ 9 ของการเก็บรักษา และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 15 ของการเก็บรักษา โดยในวันที่ 15 มีปริมาณเปปไทด์ที่ละลายในกรดไตรคลอโรอะซิติก เท่ากับ 3.92 ± 0.41 และ 2.91 ± 0.29 ไมโครโมล/กรัม สำหรับตัวอย่างปลาที่เก็บในน้ำแข็งแบบปลาทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ ตามลำดับ

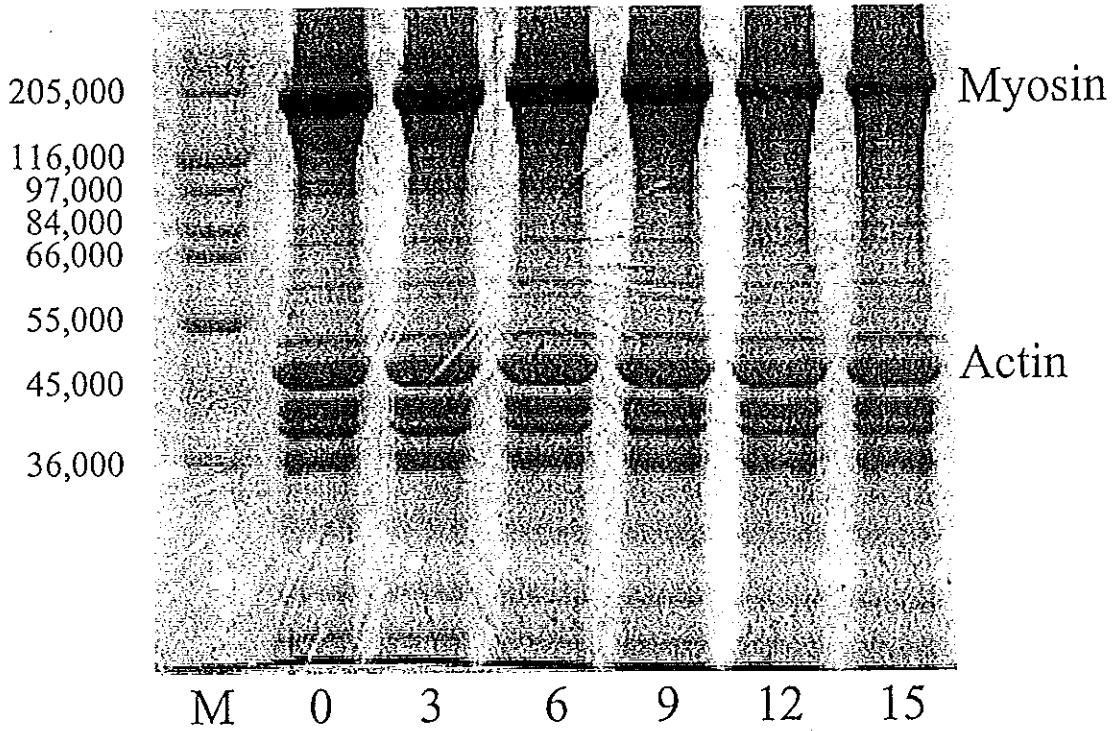
การย่อยสลายตัวเองเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นหลังจากที่ปลาตาย โดยเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่มีอยู่ในตัวปลา ซึ่งสามารถพบในเครื่องใน และจาก

อวัยวะต่างๆ เช่น หัว และกล้ามเนื้อ รวมทั้งเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับส่วนต่างๆ ของตัวปลา กิจกรรมการย่อยสลายจะเพิ่มมากขึ้น เมื่อปลาเกิดการเสื่อมเสียมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์ต่างๆ สามารถใช้เปปไทด์ที่ได้จากการย่อยสลายตัวเอง เป็นแหล่งอาหารสำหรับการเจริญเติบโต และจุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถย่อยสลายโปรตีนได้เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้เพิ่มขึ้น กิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้จะส่งผลให้คุณภาพของเนื้อปลาลดต่ำลงในขณะที่เก็บรักษาปลาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ โดยเป็นสาเหตุที่ทำให้มีลักษณะเนื้อสัมผัสเปลี่ยนแปลงไป คือ มีลักษณะอ่อนตัวและนิ่ม (Oka *et al.*, 1990; Haard *et al.*, 1994; An *et al.*, 1996; Mochizuki and Sato, 1996; Ando *et al.*, 1999) เอนไซม์ที่มีบทบาทต่อการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อได้แก่ คาเซปซิน B หรือ L (Yamashita and Konagaya, 1990ab; Yamashita and Konagaya, 1991) คาเซปซิน D (Jiang *et al.*, 1990) และอัลคาไลน์โปรตีเนส (Wasson, 1992) โดยกิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับ ชนิดของปลา วงจรชีวิต และอาหารที่ปลากิน อย่างไรก็ตาม การปฏิบัติต่อปลาหลังการตาย เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ เนื่องจากเนื้อปลาเกิดการเน่าเสียได้ง่าย ดังนั้นจึงควรเก็บปลาไว้ที่อุณหภูมิต่ำและทำการแปรรูปให้เร็วที่สุด

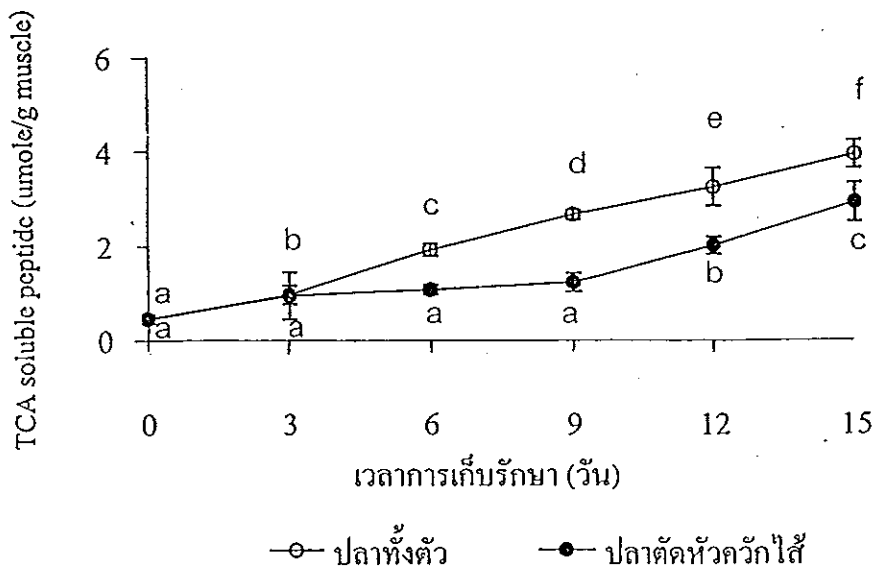
จากผลการทดลองบ่งชี้ได้ว่า กรรมวิธีการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็ง (ปลาทั้งตัว และ ปลาตัดหัวควักไส้) มีผลต่ออัตราการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคม การย่อยสลายโปรตีนเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งนานขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษารูปแบบ โปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมโดย SDS-PAGE (รูปที่ 6 และ 7) ดังนั้นการเก็บรักษาปลาปากคมในน้ำแข็งแบบทั้งตัว โปรตีนกล้ามเนื้อจึงมีโอกาสดูดซับสลายโดยเอนไซม์โปรตีเนสสูงกว่าการเก็บแบบตัดหัวควักไส้



รูปที่ 6 รูปแบบการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวในน้ำ
 แข็งเป็นระยะเวลาต่างๆ M : โปรตีนมาตรฐาน, 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 ป่งบอก
 ระยะเวลาการเก็บรักษาในน้ำแข็ง



รูปที่ 7 รูปแบบการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบตัดหัวควัก
 ใต้ในน้ำแข็งเป็นระยะเวลาต่างๆ M : โปรตีนมาตรฐาน, 0, 3, 6, 9, 12 และ 15
 บ่งบอกระยะเวลาการเก็บรักษาในน้ำแข็ง



รูปที่ 8 เปปไทด์ที่ละลายในกรดไตรคลอโรอะซิติก ในโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัว และตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ
 หมายถึง ตัวอักษร a b c d e และ f ที่แตกต่างกันในทรีตเมนต์เดียวกันบ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการศึกษาปริมาณกรดแอลฟา-อะมิโนอิสระของแอคโตไมโอซินจากกล้ามเนื้อปลาปากคม ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 9 พบว่า ปริมาณกรดแอลฟา-อะมิโนอิสระ มีค่าสูงขึ้นเมื่อเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลองที่เก็บปลาในน้ำแข็งแบบปลาทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ พบว่า ชุดการทดลองที่เก็บแบบทั้งตัวมีปริมาณกรดแอลฟา-อะมิโนอิสระสูงกว่าชุดการทดลองที่เก็บแบบตัดหัวควักไส้ ($P < 0.05$) โดยปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากวันที่ 6 ของการเก็บรักษา การเพิ่มขึ้นดังกล่าวน่าจะมีสาเหตุมาจากเอนไซม์ย่อยโปรตีน ซึ่งสามารถย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อส่งผลให้เกิดเป็นเปปไทด์สายสั้นที่ปลดปล่อยหมู่อะมิโนซึ่งจับกับคาร์บอนตำแหน่งแอลฟามากขึ้น โดยทั่วไปเอนไซม์โปรตีนสามารถดำเนินกิจกรรมได้แม้ว่าเก็บรักษาปลาไว้ในอุณหภูมิต่ำ (Peters *et al.*, 1996)

จากการศึกษาปริมาณค่าที่ระเหยได้ (TVB) และไตรเมทิลเอมีน (TMA) ของกล้ามเนื้อปลาปากคม ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นระยะเวลาต่าง ๆ กัน (รูปที่ 10 และ รูปที่

11) พบว่า ปริมาณ TVB และ TMA เพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ($P < 0.05$) โดยมีปริมาณ TVB และ TMA เริ่มต้น (วันที่ 0 ของการเก็บรักษา) เท่ากับ 10.00 ± 0.28 และ 1.07 ± 0.20 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งปริมาณ TVB มีค่าต่ำกว่า 20 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100กรัม แสดงว่าปลาปากคมยังคงมีคุณภาพสูง (Connell, 1995; Ng, 1987) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลองที่เก็บรักษาปลาในน้ำแข็งทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ พบว่าชุดการทดลองที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวมีปริมาณ TVB และ TMA สูงกว่าชุดการทดลองที่เก็บแบบตัดหัวควักไส้ ($P < 0.05$) โดยปริมาณ TVB และ TMA ของชุดการทดลองที่เก็บแบบปลาทั้งตัว มีปริมาณเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามปริมาณ TVB และ TMA ของชุดการทดลองที่เก็บแบบปลาตัดหัวควักไส้ มีค่าสูงขึ้นหลังจากวันที่ 12 และ 9 ของการเก็บรักษาตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 15 วัน ปริมาณ TVB และ TMA ของชุดการทดลองที่เก็บรักษาแบบปลาทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ มีค่าเท่ากับ 29.57 และ 23.16 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100กรัม ส่วนปริมาณ TMA มีค่าเท่ากับ 9.95 และ 5.55 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100กรัม ตามลำดับ

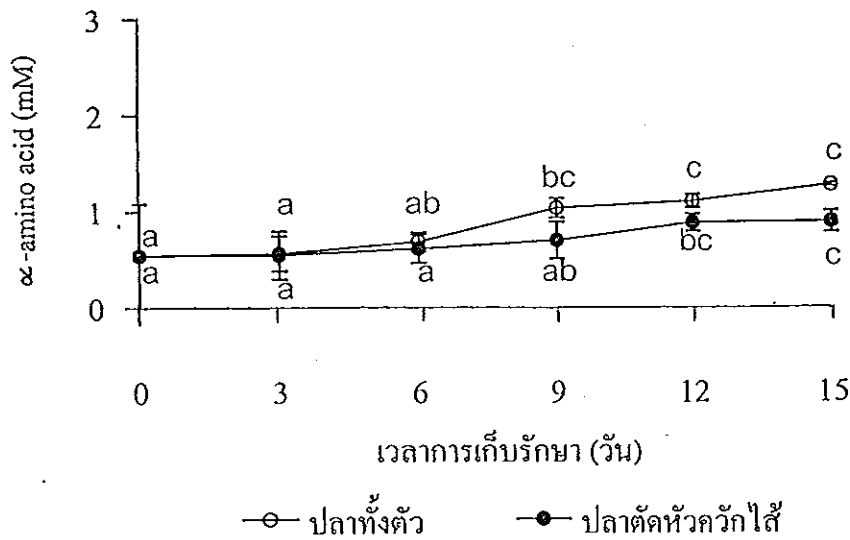
เมื่อระยะเวลาการเก็บปลาในน้ำแข็งนานขึ้น ปริมาณ TVB และ TMA เพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับส่วนต่างๆของตัวปลาสามารถเกิดได้มากขึ้นรวมทั้งกิจกรรมของเอนไซม์ TMAO reductase ซึ่งสามารถเปลี่ยน (TMAO) ไปเป็น TMA ได้เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Magnusson และ Martinsdottir (1995) ซึ่งพบว่า ปริมาณ TVB และ TMA ในกล้ามเนื้อปลา ocean perch และ cod มีค่าเพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาในน้ำแข็งนานขึ้น Bannor และคณะ (1991) พบว่า ปริมาณ TVB ของกล้ามเนื้อปลา mackerel ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งมีค่าเพิ่มขึ้นหลังจากวันที่ 10 ของการเก็บรักษา Kyrana และคณะ (1997) พบว่าปริมาณ TVB และ TMA ของกล้ามเนื้อปลา gilthead sea bream (*Sparus aurata*) ซึ่งเก็บรักษาในน้ำแข็งนาน 24 วัน มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากวันที่ 10 ของการเก็บรักษา โดยมีค่าสูงสุดเท่ากับ 50 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100กรัม Gokodlu และคณะ (1990) พบว่าปริมาณ TMA ของกล้ามเนื้อปลา sardine (*Sardinops pilchardus*) ที่เก็บในน้ำแข็งนาน 15 วัน มีค่าอยู่ในช่วง 1.45-10.10 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม Marrakchi และคณะ (1990) พบว่าปริมาณ TMA ของกล้ามเนื้อปลา sardine (*Sardinops pilchardus*) ที่เก็บในน้ำแข็ง

นาน 18 วัน มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากวันที่ 9 ของการเก็บรักษา ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.8 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม และมีค่าสูงสุดเท่ากับ 10.8 มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัม ในวันที่ 18 ของการเก็บรักษา Reddy และคณะ (1995) พบว่าปริมาณ TVB ของเนื้อปลา pink perch บด มีปริมาณเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งนานขึ้น ($P < 0.05$)

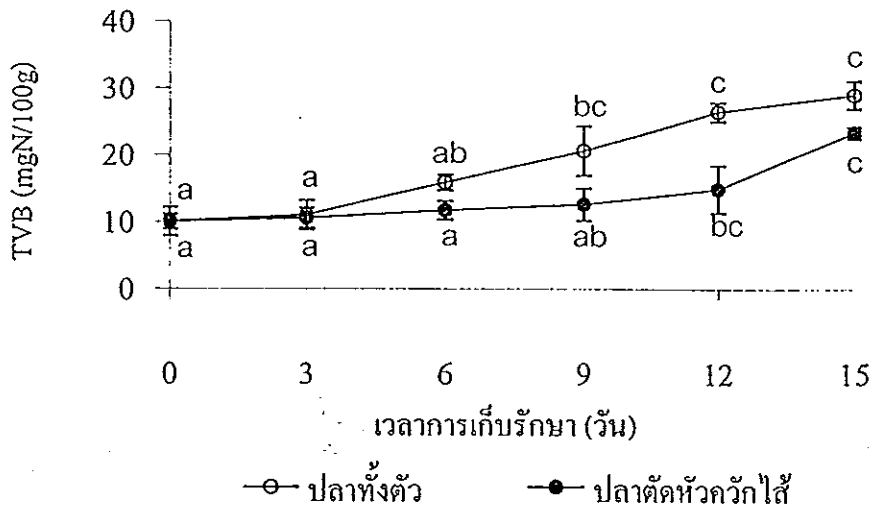
TVB เป็นปริมาณรวมของ TMA, DMA และ แอมโมเนีย (NH_3) เมื่อสัตว์น้ำเริ่มเสื่อมคุณภาพ ปริมาณ TVB สูงขึ้น เนื่องจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ในเนื้อเยื่อและเอนไซม์จากแบคทีเรีย โดยเอนไซม์เหล่านี้จะทำหน้าที่ย่อยสลายโปรตีนระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ทำให้เกิดเป็นสารประกอบที่ระเหยได้ ส่วน TMA พบมากในสัตว์น้ำเค็ม ซึ่งเกิดจากรีดักชันของ TMAO (Hebard *et al.*, 1982)

ค่า TVB สามารถใช้เป็นดัชนีบอกคุณภาพหรือการเน่าเสียของปลาได้ (Perez-Villareal and Pozo, 1990) ปลาที่มีค่า TVB ต่ำกว่า 20 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัม จัดว่ามีความสดมาก ค่า TVB สูงกว่า 30 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัม จะเริ่มไม่สด ถ้ามีค่าถึง 40 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัม จัดว่าไม่สด (Connell, 1995; Ng, 1987) อย่างไรก็ตาม ปริมาณ TVB จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของปลา และอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา (Park *et al.*, 1981) Silva และคณะ (1998) ได้รายงานว่ามีปริมาณ TVB ของกล้ามเนื้อปลา skipjack มีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงกว่า bigeye tuna เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา พบว่าปริมาณ TVB มีค่าสูงสุดเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 22, 10 และ 4 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

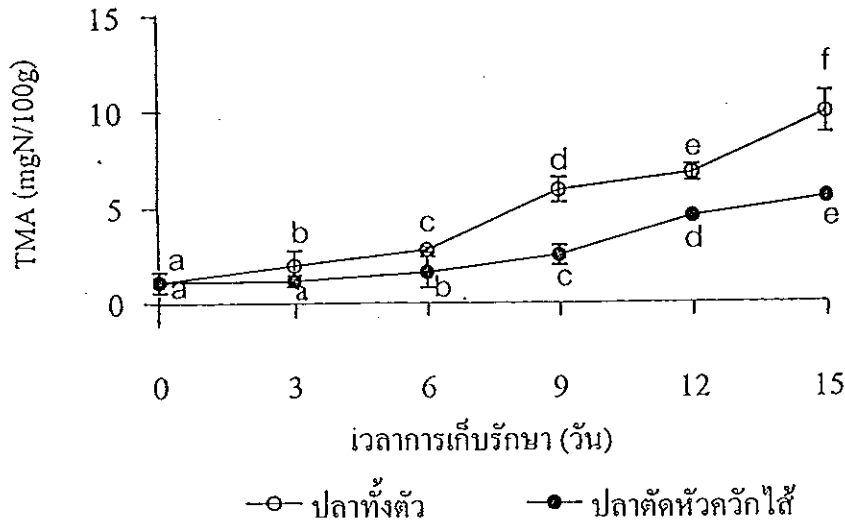
จากผลการทดลองบ่งชี้ได้ว่า การเก็บรักษาปลาปากคมในน้ำแข็งนานขึ้นส่งผลให้เกิดการเน่าเสียได้เพิ่มขึ้น โดยสังเกตจากปริมาณ TVB และ TMA ที่เพิ่มขึ้นตลอดการเก็บรักษา ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการย่อยสลายตัวเองที่เพิ่มขึ้น



รูปที่ 9 ปริมาณกรดแอลฟา-อะมิโนอิสระของแอคติไมโอซิน จากกล้ามเนื้อปลาปากคม ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทิ้งตัว และตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ
 หมายเหตุ ตัวอักษร a ab bc และ c ที่แตกต่างกันในทริตเมนต์เดียวกันบ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 10 ปริมาณ TVB จากกล้ามเนื้อปลาปากคม ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทิ้งตัว และตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ
 หมายเหตุ ตัวอักษร a ab bc และ c ที่แตกต่างกันในทริตเมนต์เดียวกันบ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 11 ปริมาณ TMA จากกล้ามเนื้อปลาปากคม ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัว และ
ตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ
หมายเหตุ ตัวอักษร a b c d e และ f ที่แตกต่างกันในทรีตเมนต์เดียวกันบ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการศึกษาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ของกล้ามเนื้อปลาปากคม ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นระยะเวลาต่างๆกัน (รูปที่ 12) พบว่า ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งนานขึ้น ($P < 0.05$) Connell (1978) พบว่า เมื่อเก็บรักษาปลา cod ที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง ปริมาณของฟอร์มาลดีไฮด์มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น Owusu และ Hultin (1986) พบว่ากล้ามเนื้อปลา hake มีปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์เพิ่มขึ้น เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -7°C ระยะเวลาเป็นระยะเวลานานขึ้น

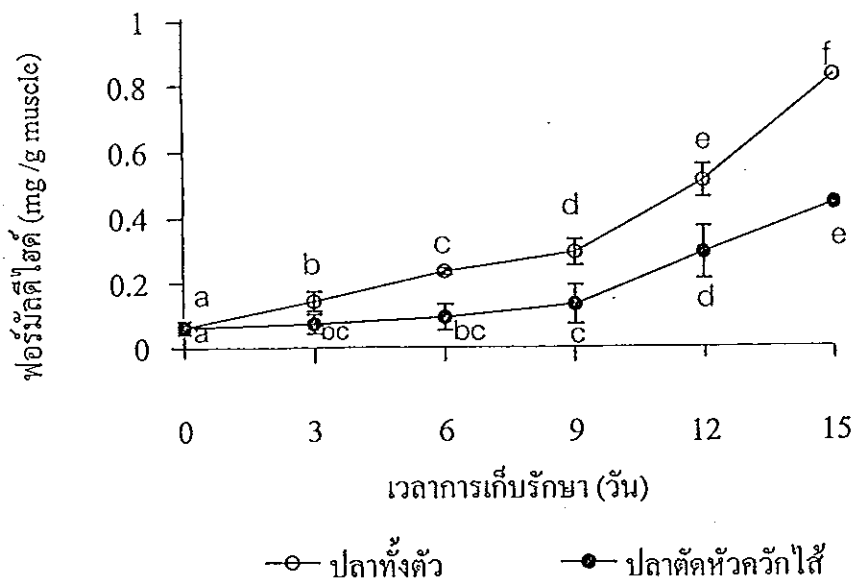
ฟอร์มาลดีไฮด์ (formaldehyde : FA) และไดเมทิลเอมีน (dimethylamine : DMA) เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยสลาย ไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ (trimethylamine oxide : TMAO) โดยเอนไซม์ไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ดีเมทิลเลส (TMAO demethylase : TMAOase) ซึ่งพบอยู่ในเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆของปลา เช่น ตับ ไต นอกจากนั้นพบในเลือด และผิวหนัง โดยปริมาณของเอนไซม์ TMAOase จะพบปริมาณสูงในปลาจำพวก gadoide เช่น whiting, hoki, pollock และ lizardfish ซึ่งมี TMAO เป็นองค์ประกอบอยู่

ปริมาณมาก ดังนั้นปลาในตระกูลนี้ จึงสามารถเกิดการเสื่อมเสียของโปรตีนได้ง่ายกว่าปลาในตระกูลอื่นๆ เนื่องจากเอนไซม์ TMAOase เร่งให้เกิดการย่อยสลายไตรเมทิลเอมีนออกไซด์เป็นฟอร์มาลดีไฮด์ และไดเมทิลเอมีน นอกจากนี้ปริมาณของฟอร์มาลดีไฮด์จะเพิ่มสูงขึ้น เมื่อสัตว์น้ำเน่าเสียมากขึ้น (Grantham, 1981; Ragnarsson and Regenstein, 1989; Hultin, 1992; Lanier, 2000)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลองที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัว และตัดหัวควักไส้ พบว่าชุดการทดลองที่เก็บแบบทั้งตัวมีปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์สูงกว่า ชุดการทดลองที่เก็บแบบปลาตัดหัวควักไส้ ($P < 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการนำหัวและเครื่องในปลาออกสามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ TMAOase ดังนั้นปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ของชุดการทดลองที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบตัดหัวควักไส้ จึงมีค่าต่ำกว่าชุดการทดลองที่เก็บทั้งตัว

ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารที่ก่อให้เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน มีผลทำให้โปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ เช่น ความสามารถในการละลาย และความสามารถในการสกัดของโปรตีนไมโอไฟบริล ส่งผลให้กล้ามเนื้อปลามีลักษณะเนื้อสัมผัสที่เปลี่ยนแปลงไป (Hultin, 1992; Lanier, 2000) Macki (1993) ได้รายงานว่ ฟอร์มาลดีไฮด์สามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีน โดยเร่งให้เกิดการรวมตัวของโปรตีน (cross-linkages) ด้วยพันธะโควาเลนต์ของหมู่เมทิลีน ทำให้น้ำหนักโมเลกุลเพิ่ม ขึ้นกลายเป็นพอลิเมอร์ที่ไม่สามารถละลายในสารละลายที่มีคุณสมบัติทำลายพันธะไฮโดรเจน การทำปฏิกิริยาของฟอร์มาลดีไฮด์กับโปรตีนเกิดได้สูง เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นและระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ส่งผลให้เนื้อสัมผัสมีลักษณะเหนียวเพิ่มขึ้น (Connell, 1975) Ang และ Hultin (1989) พบว่า การเติมฟอร์มาลดีไฮด์ปริมาณเพียงเล็กน้อยในปลา cod ที่เก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส มีผลให้ความสามารถในการละลายของโปรตีน และกิจกรรมของเอนไซม์ ATPase ลดลง Careche และ Li-Chan (1997) ได้ทดลองเติมฟอร์มาลดีไฮด์ในปริมาณต่างๆ คือ 0, 3, 6 และ 12 มิลลิโมลในไมโอซินซึ่งสกัดจากปลา cod แล้วทำการแช่เยือกแข็ง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส พบว่าการเติมฟอร์มาลดีไฮด์ในปริมาณเพียงเล็กน้อย ส่งผลให้ความสามารถในการละลายของโปรตีนลดลง

จากการทดลอง พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งนานขึ้น ปริมาณของฟอร์มาลดีไฮด์เพิ่มขึ้น อาจเนื่องจาก TMAOase สามารถเร่งให้เกิดการเปลี่ยน TMAO เกิดเป็นฟอร์มาลดีไฮด์ได้มากขึ้น โดยเฉพาะปลาปากคมจัดเป็นปลาในกลุ่ม gadoidae ซึ่งมี TMAO อยู่ในปริมาณสูง ดังนั้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งนานขึ้น อาจทำให้โปรตีนเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติได้มากขึ้น



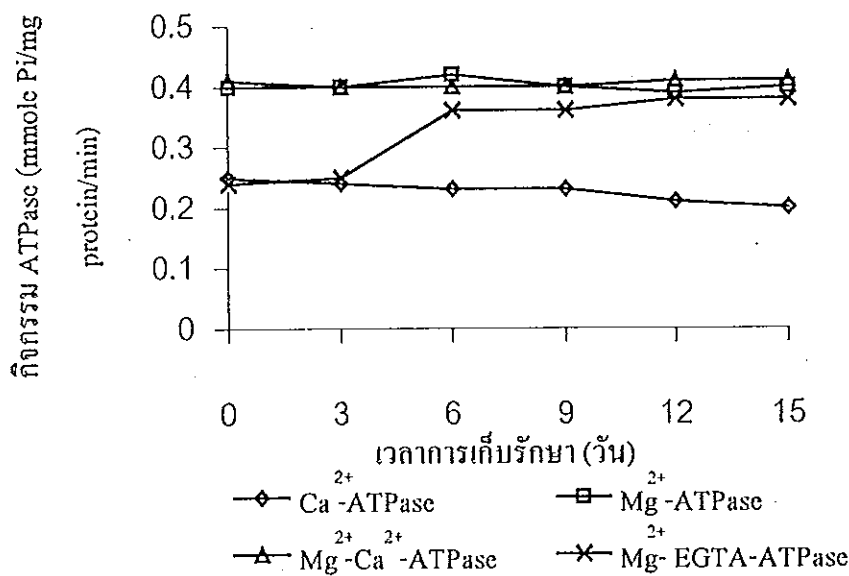
รูปที่ 12 ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ของกล้ามเนื้อปลาปากคม ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัว และตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ
 หมายเหตุ ตัวอักษร a b bc c d e และ f ที่แตกต่างกันในทริตเมนต์เดียวกันบ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการศึกษากิจกรรม ATPase ของแอกโตไมโอซินที่สกัดได้จากกล้ามเนื้อปลาปากคม ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัว ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 13 พบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมของ Ca^{2+} -ATPase, Mg^{2+} -ATPase และ Mg^{2+} - Ca^{2+} -ATPase ($P > 0.05$) แต่เกิดการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมของ Mg^{2+} -EGTA-ATPase โดยกิจกรรมเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา ($P < 0.05$) โดยการเพิ่มขึ้นของกิจกรรม Mg^{2+} -EGTA-ATPase มีความสัมพันธ์กับการลดลงของ Ca^{2+} -sensitivity ระหว่างการเก็บรักษา (รูปที่ 15) การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรม ATPase ของแอกโตไมโอซินที่สกัดได้จากกล้ามเนื้อ

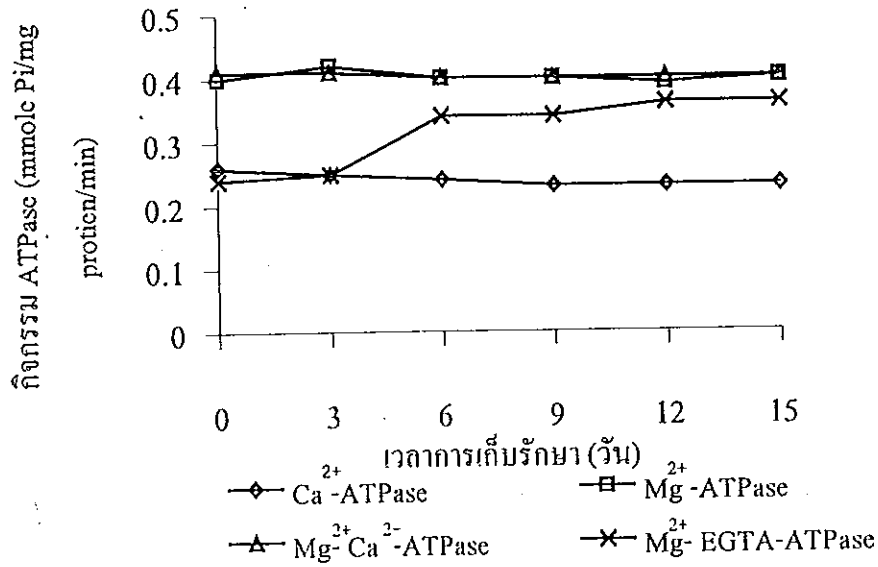
ปลาปากคม ที่เก็บรักษาแบบตัดหัวควักไส้ (รูปที่ 14) ให้ผลเช่นเดียวกันกับปลาที่เก็บแบบทั้งตัว การเพิ่มขึ้นของกิจกรรม Mg^{2+} -EGTA-ATPase ของแอคโตไมโอซินระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง บ่งชี้ถึงการสูญเสียความสมบูรณ์ของสารประกอบโทรโปไมโอซิน-โทรโปนิน (Benjakul *et al.*, 1997) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Benjakul และคณะ (1997) ซึ่งพบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมของ Ca^{2+} -ATPase, Mg^{2+} -ATPase และ Mg^{2+} - Ca^{2+} -ATPase ของแอคโตไมโอซินจากปลา Pacific whiting แต่กิจกรรมของ Mg^{2+} -EGTA-ATPase เพิ่มขึ้น และ Ca^{2+} -sensitivity มีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาปลา Pacific whiting ในน้ำแข็งนานขึ้น การสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนที่เกิดขึ้นอาจมีสาเหตุมาจากเอนไซม์โปรตีเนส ซึ่งสามารถย่อยสลายเปปไทด์ในสายโซ่โปรตีน ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนจากสภาพธรรมชาติ (native)

การตรวจวัดกิจกรรม ATPase สามารถบ่งบอกถึงความสมบูรณ์ของโปรตีนกล้ามเนื้อปลา (Roura and Crupkin, 1995) โดยปกติส่วนหัวของไมโอซินประกอบด้วยกิจกรรมของเอนไซม์ ATPase (E.C.3.6.1.8, ATP pyrophosphohydrolase) ซึ่งมีบทบาทต่อการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ โดยเฉพาะในระยะ postmortem ซึ่งเอนไซม์ ATPase ทำหน้าที่ย่อย ATP (adenosine triphosphate) ส่งผลต่อการเกร็งตัว (Nambudiri and Gopakumar, 1992) กิจกรรมของ Ca^{2+} -ATPase เป็นตัวบ่งชี้ถึงความสมบูรณ์ของไมโอซิน สำหรับกิจกรรมของ Mg^{2+} - Ca^{2+} -ATPase และ Mg^{2+} -ATPase เป็นตัวบ่งชี้ถึงความสมบูรณ์ของ แอคติน-ไมโอซิน ในสภาวะที่มีแคลเซียมไอออนในกล้ามเนื้อ และในสภาวะที่ไม่มีแคลเซียมไอออนตามลำดับ ส่วนกิจกรรมของ Mg^{2+} -EGTA-ATPase เป็นตัวบ่งชี้ถึงความสมบูรณ์ของสารประกอบโทรโปไมโอซิน-โทรโปนิน (tropomyosin-troponin complex) (Ouali and Valin, 1981 ; Watabe *et al.*, 1989) ส่วน Ca^{2+} -sensitivity เป็นดัชนีบ่งชี้ความสามารถในการควบคุมปริมาณแคลเซียมไอออนของโปรตีนไมโอไฟบริล และขึ้นอยู่กับความสามารถในการจับแคลเซียมไอออนของโทรโปนิน การสูญเสียกิจกรรม Ca^{2+} -sensitivity มีสาเหตุจากการย่อยสลายโทรโปนินและโทรโปไมโอซินโดยเอนไซม์โปรตีเนส (Roura and Crupkin, 1995)

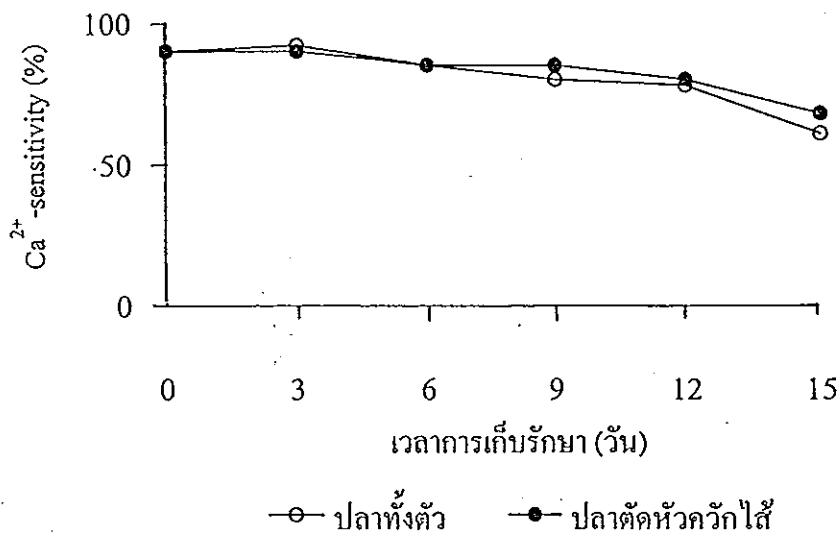
จากการทดลองพบว่า Ca^{2+} -ATPase มีการเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ถึงแม้ว่าจะมีการย่อยสลายไมโอซิน เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งนานขึ้น (รูปที่ 6 และ รูปที่ 7) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการย่อยสลายของโปรตีน อาจเกิดขึ้นใน ส่วนหางหรือแม้แต่ในส่วนหัวของไมโอซิน แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของส่วนหัว ในลักษณะที่ก่อให้เกิดการสูญเสียกิจกรรมของ ATPase ดังนั้นจึงไม่พบการเปลี่ยนแปลงของ Ca^{2+} -ATPase ในขณะที่การย่อยสลายไมโอซินเพิ่มขึ้น



รูปที่ 13 กิจกรรม ATPase ของแอคโตไมโอซินที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคม ซึ่งเก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัวที่ระยะเวลาต่างๆ



รูปที่ 14 กิจกรรม ATPase ของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคม ซึ่งเก็บรักษาในน้ำแข็งแบบตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ



รูปที่ 15 Ca²⁺-sensitivity ของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคม ซึ่งเก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ ที่ระยะเวลาต่างๆ

3. การศึกษาการผลิตซูริมิจากปลาปากคมซึ่งเก็บรักษาในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ

จากการศึกษาการผลิตซูริมิจากปลาปากคม ซึ่งเก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ (0, 3, 6, 9, 12 และ 15 วัน) และเตรียมเจลซูริมิภายใต้สภาวะต่างๆคือ เชื้ทตัวที่อุณหภูมิปานกลาง (25 องศาเซลเซียสนาน 3 ชั่วโมง) เชื้ทตัวที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียสนาน 30 นาที) และไม่ผ่านการเชื้ทตัว หลังจากนั้นให้ความร้อนกับเจลที่ผ่านการเชื้ทตัว และไม่ผ่านการเชื้ทตัวที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสนาน 20 นาที พบว่า เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ค่าแรงเจาะทะลุ และระยะทางก่อนเจาะทะลุ ของเจลซูริมิที่เตรียมจากปลาที่เก็บแบบทั้งตัว (รูปที่ 16) และแบบตัดหัวควักไส้ (รูปที่ 17) มีค่าลดลง ($P < 0.05$) ทุกชุดการทดลอง ทั้งที่ผ่านการเชื้ทตัวและไม่เชื้ทตัว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Toyoda และคณะ (1992) ซึ่งพบว่า ความแข็งแรงของเจลซูริมิลดลง เมื่อความสดของปลาลดลง ส่วน Yean (1993) รายงานว่า ซูริมิที่ผลิตจากปลาทรายแดงซึ่งผ่านการแช่แข็งไว้นานกว่า 2 วัน มีค่าความแข็งแรงของเจลต่ำกว่าเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาทรายแดงสด ความสดของปลาเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อคุณภาพของเจล (Lee, 1986; Martinez, 1989)

Pacheco-Aguilar และคณะ (1998) และ Vazquez-Ortiz และคณะ (1997) รายงานว่า ความสดของปลาลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาปลาก่อนการแปรรูปเพิ่มสูงขึ้น คุณสมบัติการเกิดเจลที่ลดลงอาจมีสาเหตุจากการย่อยสลายโปรตีนไมโอซินซึ่งเป็นโปรตีนหลักในการเกิดโครงข่ายเจลที่แข็งแรง เอนไซม์โปรตีนเอสมีบทบาทสำคัญต่อการย่อยสลายโปรตีนและสามารถดำเนินกิจกรรมได้แม้ขณะเก็บรักษาปลาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (Peters *et al.*, 1996) ส่งผลให้คุณภาพของปลาลดลง Haard และคณะ (1994) รายงานว่า หลังจากทีปลาตายการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อ มีสาเหตุมาจากเอนไซม์ที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อปลา ส่งผลให้คุณภาพของเนื้อปลาลดลงอย่างรวดเร็วในระหว่างการเก็บรักษา และขณะทำการแปรรูป

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเจลซูริมิที่เตรียมจากปลาที่เก็บรักษาแบบทั้งตัว (รูปที่ 16) และแบบตัดหัวควักไส้ (รูปที่ 17) พบว่า ค่าแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุ ของเจลซูริมิที่เตรียมจากปลาที่เก็บรักษาแบบตัดหัวควักไส้ มีค่าสูงกว่าเจลซูริมิที่เตรียมจากปลาที่เก็บรักษาแบบทั้งตัว ($P < 0.05$) โดยมีความแตกต่างกันตั้งแต่วันที่ 3 ของการเก็บ

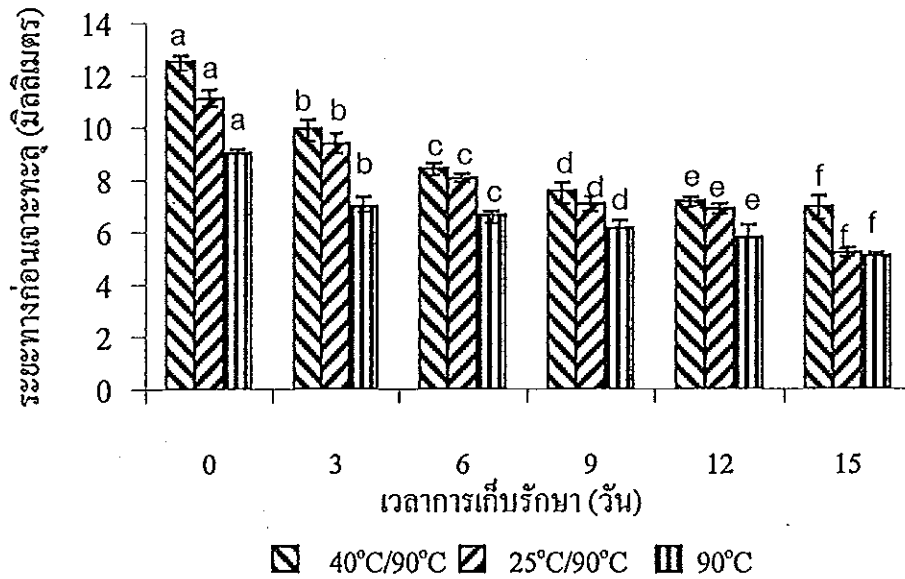
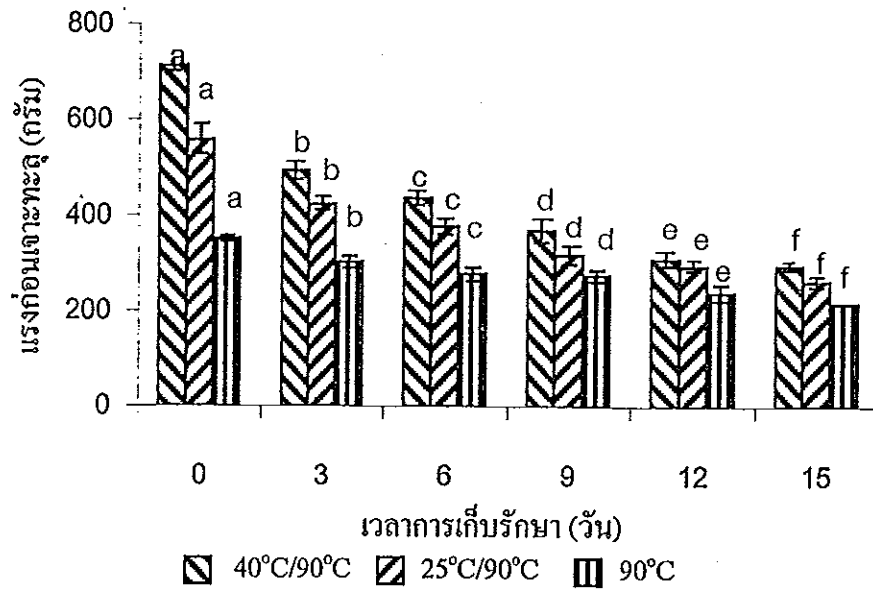
รักษา เมื่อพิจารณาสมบัติของเจลของปลาที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 3 วัน พบว่า เจลซูริมิที่ผ่านการแช่หัตว์ที่อุณหภูมิสูง ซึ่งเตรียมจากปลาที่ตัดหัวควักไส้ มีค่าแรงเกาะทะเลและระยะทางก่อนเกาะทะเล เท่ากับ 641.95 กรัม และ 12.26 มิลลิเมตร ส่วนเจลซูริมิที่ผ่านการแช่หัตว์ที่อุณหภูมิสูง ซึ่งเตรียมจากปลาทั้งตัว มีค่าแรงเกาะทะเลและระยะทางก่อนเกาะทะเล เท่ากับ 435.19 กรัม และ 8.44 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ความแข็งแรงของเจลซูริมิที่ลดลงมีความสัมพันธ์กับความสมบูรณ์และปริมาณของโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อปลา โดยเฉพาะการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อที่เพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ส่งผลโดยตรงต่อการลดความสามารถในการเกิดเจลของซูริมิปลาทั้งตัวมีอัตราการย่อยสลายของไมโอซินสูงกว่า ปลาที่เก็บรักษาแบบตัดหัวควักไส้ (รูปที่ 6 และ 7) ส่งผลให้ความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนไมโอไฟบริลของปลาซึ่งเก็บรักษาแบบตัดหัวควักไส้ สูงกว่าปลาซึ่งเก็บรักษาแบบทั้งตัว เอนไซม์โปรตีนเอสมีบทบาทสำคัญต่อการย่อยสลายโปรตีนไมโอไฟบริล ส่งผลให้ความแข็งแรงของเจลซูริมิลดลง (An *et al.*, 1996) Haard และ Warren (1985) รายงานว่าความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนไมโอไฟบริลลดลง เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาปลาก่อนการผลิตซูริมินานขึ้น Aguilar-Pacheco และคณะ (2000) พบว่า ความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนไมโอไฟบริลจากปลาซาร์ดีนลดต่ำลง เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาในน้ำแข็งนานขึ้น Hamann MacDonald (1992) รายงานว่า การผลิตซูริมิจากปลาที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นระยะเวลานาน ความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนไมโอไฟบริลลดลง ส่งผลต่อความแข็งแรงและแรงยึดเกาะของเจลซูริมิที่ลดลง An และคณะ (1996) และ Lin และ Park (1996) รายงานว่าความสมบูรณ์ของโปรตีนไมโอไฟบริล เป็นปัจจัยที่สำคัญในการผลิตซูริมิ ซูริมิที่ผลิตจากปลาที่มีการสูญเสียสภาพธรรมชาติของไมโอซินมีความแข็งแรงของเจลต่ำ

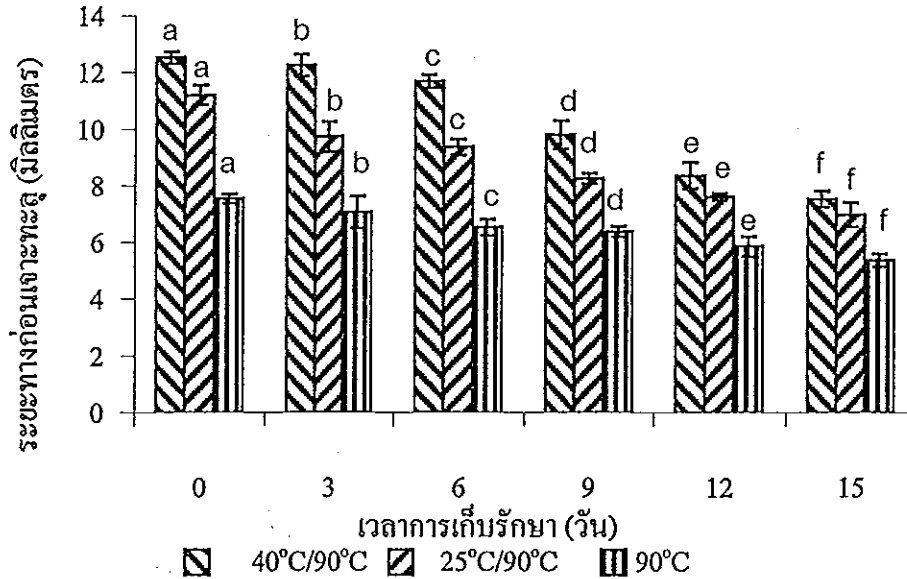
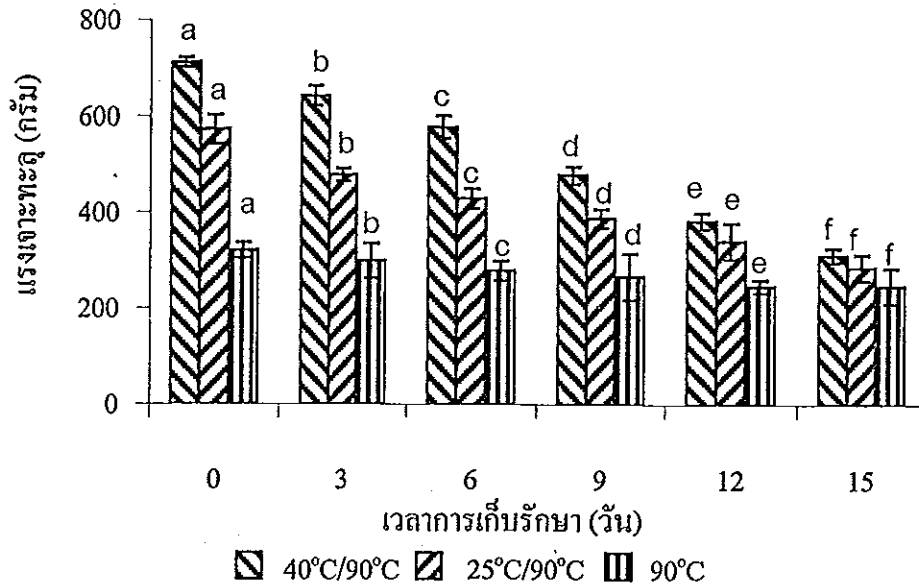
นอกจากนั้น Hsu (1990) รายงานว่าปัจจัยที่มีผลต่อความแข็งแรงของเจลซูริมิ ได้แก่ การตัดหัวควักไส้ การแยกเนื้อปลาออกจากกระดูกในลักษณะเนื้อปลาบด การแช่หัตว์ของโซล และ การให้ความร้อน Bertak และ Karahadian (1995) รายงานว่าระยะเวลาและวิธีการในการให้ความร้อน มีผลต่อความแข็งแรงและความขาวของเจลซูริมิ โดยพบว่า การให้ความร้อนโดยตรงเป็นระยะเวลานาน มีผลลดความแข็งแรงของเจลซูริมิ ทั้งนี้

เนื่องจากสามารถทำลายโครงสร้างตาข่ายของเจลซูริมิ Shie และ Park (1999) พบว่า เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น ความแข็งแรงและความขาวของเจลซูริมิจากปลา Alaska pollock มีค่าลดลง โดยเจลซูริมิมีความแข็งแรงสูงสุด เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส หรือ 85 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

สำหรับผลของการแช่ตัวต่อความแข็งแรงของเจลซูริมิ พบว่า เจลซูริมิที่แช่ตัวที่อุณหภูมิสูงมีค่าแรงเฉาะทะลุ และระยะทางก่อนเฉาะทะลุสูงที่สุด รองลงมาคือ แช่ตัวที่อุณหภูมิต่ำ และไม่ผ่านการแช่ตัว ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองเป็นไปในแนวเดียวกันทั้งเจลซูริมิที่เตรียมจากปลาที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ (รูปที่ 16 และ 17) จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสถานะในการให้ความร้อนในขั้นตอนการเตรียมเจล เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อความแข็งแรงของเจลซูริมิ Kimura (1991) และ Wu และคณะ (1985) พบว่า การแช่ตัวซูริมิโซลก่อนให้ความร้อนสามารถเพิ่มแรงยึดเกาะ (cohesiveness) และความสามารถในการอุ้มน้ำ ซึ่งการแช่ตัวสามารถกระทำได้ โดยบ่มซูริมิที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิต่ำ (0-40 องศาเซลเซียส) Lanier และคณะ (1982) รายงานว่า การเก็บโซลที่อุณหภูมิ 25-40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาหนึ่งก่อนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงมีผลให้เจลที่ได้มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น ขณะแช่ตัวโปรตีนเกิดการคลายตัวอย่างช้าๆ และเกิดการจับรวมตัวกันใหม่อย่างมีระเบียบ โครงสร้างของเจลจึงมีความต่อเนื่อง เกิดเป็นเจลที่มีความคงตัวและแข็งแรง (Foegeding *et al.*, 1986) นอกจากนี้การให้ความร้อนที่สูงอุณหภูมิสูง (90 องศาเซลเซียส) ทำให้เกิดการสูญเสียสภาพของโปรตีนแล้วก่อให้เกิดการจับรวมตัวของโปรตีน (aggregation) โดยพันธะชนิดต่างๆ เช่น พันธะไฮโดรโฟบิก พันธะไดซัลไฟด์ และพันธะชนิดอื่นๆ ส่งผลให้เจลที่ได้มีความแข็งแรงขึ้น (Lanier *et al.*, 1988) นอกจากนี้การแช่ตัวของเจลซูริมียังมีผลต่อพันธะโควาเลนต์ชนิดที่ไม่ใช่พันธะไดซัลไฟด์ ได้แก่ ϵ -(γ -glutamyl)-lysine ซึ่งเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสที่พบในเนื้อปลา เมื่อพันธะ ϵ -(γ -glutamyl)-lysine เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความแข็งแรงของเจลซูริมิเพิ่มขึ้น (Kumazawa *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 1997)



รูปที่ 16 แรงเจาะทะลุ และระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมีที่เตรียมจากปลาปากคม ซึ่งเก็บรักษาแบบทั้งตัว ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ
 หมายถึงตัวอักษร a b c d e และ f ที่แตกต่างกันภายใต้สภาวะการให้ความร้อนเดียวกัน บ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 17 แรงเจาะทะลุ และระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิที่เตรียมจากปลาปากคม ซึ่งเก็บรักษาแบบตัดหัวควักไส้ ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ
 หมายถึง ตัวอักษร a b c d e และ f ที่แตกต่างกันภายใต้สภาวะการให้ความร้อนเดียวกัน บ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษา (0, 3, 6, 9, 12 และ 15 วัน) ต่อค่าสีและความขาวของเจลซูริมิ ที่เตรียมจากปลาปากคมที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ ซึ่งผ่านการแช่ที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) แช่ที่อุณหภูมิต่ำ (25 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง) และไม่ผ่านการแช่ที่ตัวก่อนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส พบว่า เจลซูริมิซึ่งเตรียมจากปลาที่เก็บในน้ำแข็งแบบทั้งตัว และตัดหัวควักไส้ มีความขาวในช่วง 83.56-85.14 ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา (ตารางที่ 7 และ 8)

เมื่อเปรียบเทียบความขาวของเจลซูริมิ ซึ่งผลิตจากปลาปากคมซึ่งเก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ เป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่า ความขาวลดลง เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น ($P < 0.05$) โดยเจลที่ผลิตจากปลาซึ่งเก็บแบบตัดหัวควักไส้ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 15 วัน ในน้ำแข็ง โดยวันที่ 15 ของการเก็บรักษา ความขาวของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาทั้งตัวมีค่าเท่ากับ 50.76-56.27 ส่วนความขาวของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาที่เก็บแบบตัดหัวควักไส้มีค่าเท่ากับ 65.78-70.05 ดังนั้นวิธีการเก็บรักษานอกจากมีผลต่อความแข็งแรงของเจลแล้วยังมีผลต่อความขาวของซูริมิเช่นกัน

การทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pipatsattayanuwong และคณะ (1995) ซึ่งพบว่า ค่า L และความขาวของซูริมิที่ผลิตจากปลา Pacific whiting ซึ่งเก็บรักษาในน้ำแข็ง มีค่าไม่เปลี่ยนแปลงในวันที่ 1-5 แต่จะมีค่าลดลงต่ำสุดในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา โดยความขาวมีค่าเท่ากับ 61.19 Lin และ Morrissey (1995) ศึกษาการผลิตซูริมิจากปลา Northern squawfish (*Ptychocheilus oregonensis*) ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 13 วัน พบว่า ความขาวของซูริมิมียาลดลงตลอดระยะเวลาเวลาการเก็บรักษา โดยมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 55.26 ในวันที่ 13 ของการเก็บรักษา Park (1995) รายงานว่าซูริมิที่ผลิตจากปลา pollack มีความขาวอยู่ในช่วง 65-70

จากการทดลองพบว่า ความขาวที่ลดลงสัมพันธ์กับค่า L (ค่าความสว่าง) ที่ลดลง และค่า b (ค่าสีเหลือง/ถึงสีน้ำเงิน) ที่เพิ่มขึ้น โดยการลดลงของความขาวอาจเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของเม็ดสีในกล้ามเนื้อปลา โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงของไมโอโกลบินไปเป็นเมทไมโอโกลบินเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ส่งผลให้เนื้อไม่มีสี

กล้ามมากขึ้น และเมื่อดีสี่ที่ถูกออกซิไดซ์อาจมีคุณสมบัติในการจับกับโปรตีนกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น และไม่สามารถกำจัดระหว่างการล้าง นอกจากนี้ของเหลวจากเครื่องในและเมื่อดีสี่ของเหงือกในปลาทั้งตัว อาจซึมผ่านเข้าไปในกล้ามเนื้อเพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ส่งผลให้สีของเนื้อปลาที่ได้จากปลาที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวมีสีคล้ำเพิ่มขึ้น และยากในการกำจัดออก ส่งผลต่อการลดลงของความขาวหรือความสว่างของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาดังกล่าว

สีของกล้ามเนื้อปลาเกิดจากฮีโมโปรตีน (hem proteins) ซึ่งพบอยู่ในส่วนของโปรตีนซาร์โคพลาสมิก ฮีโมโปรตีนของเลือดและเซลล์กล้ามเนื้อแดงประกอบด้วยฮีโมโกลบิน (hemoglobin) และ ไมโอโกลบิน (myoglobin) ตามลำดับ (Lanier, 2000) โดยทั่วไปปริมาณของฮีโมโกลบิน และไมโอโกลบิน จะแตกต่างกันตามอายุของสัตว์ และชนิดของสัตว์ Xiong (1994) รายงานว่า ปริมาณของไมโอโกลบิน ในกล้ามเนื้อปลา จะแตกต่างกันตามชนิดของกล้ามเนื้อ กล้ามเนื้อปลาแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ กล้ามเนื้อขาวและกล้ามเนื้อดำ ซึ่งปริมาณของไมโอโกลบินจะมีอยู่สูงในกล้ามเนื้อดำ

การเปลี่ยนสีของเนื้อปลาสด จะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของฮีโมโปรตีน ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของไมโอโกลบิน โดยมีปริมาณร้อยละ 90 ของเมื่อดีสี่ทั้งหมด ส่วนฮีโมโกลบินพบว่ามีผลน้อยมาก เนื่องจากสามารถกำจัดได้ง่ายในระหว่างการล้างน้ำ (Jahncke *et al.*, 1992; Suvanich *et al.*, 2000) การเปลี่ยนสีของไมโอโกลบินในสัตว์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับ สภาพการเกิดออกซิเดชัน และชนิดของตัวเนื้อเยื่อ Peargon และ Dutson (1994) พบว่า เมื่อดีสี่ในกล้ามเนื้อดำสามารถเกิดออกซิเดชัน และเป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของกล้ามเนื้อเป็นสีเหลืองเข้มหรือสีน้ำตาล ในระหว่างเก็บรักษาในน้ำแข็งหรือแช่แข็ง ส่วนสีเขียวที่พบในกล้ามเนื้อสัตว์เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของฮีโม เกิดเป็นอนุพันธ์ของไมโอโกลบินได้ 2 ประเภท คือ choleglobin ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างไมโอโกลบินกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งอาจมาจากปฏิกิริยาของแบคทีเรีย หรือการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอสคอเบต กับโมเลกุลของออกซิเจนในออกซิไมโอโกลบิน (Jenser, 1945) และ sulfmyoglobin ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างไมโอโกลบินกับไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Egan *et al.*, 1980)

การเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ปลาเกิดการเสื่อมเสีย ในระหว่างการเก็บรักษา แบคทีเรียที่มีบทบาทต่อการเสื่อมเสีย ได้แก่ *Alteromonas* และ *Pseudomonas* ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยโปรตีน (Huss, 1988; Sikorski, 1990; Sikorski *et al.*, 1994) นอกจากนี้จุลินทรีย์บางชนิดอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของกล้ามเนื้อปลา โดยเฉพาะ *Pseudomonas* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบและต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต การเจริญเติบโตของ *Pseudomonas* ส่งผลให้เกิดการออกซิเดชันของไมโอโกลบิน และเกิดการเปลี่ยนจากไมโอโกลบินไปเป็นดีออกซิไมโอโกลบินที่ผิวหน้าของเนื้อปลาได้อย่างรวดเร็ว (Govindarajan, 1973)

4. การจำแนกชนิดและศึกษาลักษณะของเอนไซม์โปรตีนเอสในกล้ามเนื้อปลาปากคม

การจำแนกชนิดและศึกษาลักษณะของเอนไซม์โปรตีนเอสในกล้ามเนื้อปลาปากคม จาก 2 แหล่ง ได้แก่ เอนไซม์โปรตีนเอสจากของเหลวซาร์โคพลาสมิก และเอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล ได้ผลดังต่อไปนี้

4.1 เอนไซม์โปรตีนเอสจากของเหลวซาร์โคพลาสมิก

4.1.1 สภาพที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์

จากการศึกษาพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 3 อุณหภูมิ คือ 37, 55 และ 65 องศาเซลเซียส ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 18 พบว่าพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 37, 55 และ 65 องศาเซลเซียส คือพีเอช 8 เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ ณ อุณหภูมิต่างๆ ที่ใช้ทดสอบ พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส มีค่าสูงกว่าที่อุณหภูมิ 55 และ 37 องศาเซลเซียส โดยมีค่าเท่ากับ 70, 39 และ 37 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และที่พีเอชสูงหรือต่ำกว่า 8 กิจกรรมของเอนไซม์จะลดลง ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของเอนไซม์ที่พีเอชเป็นกรดหรือเป็นด่างสูง ดังนั้นเอนไซม์โปรตีนเอสจากของเหลวซาร์โคพลาสมิกในกล้ามเนื้อปลาปากคม สามารถทำงานได้ดีในช่วงที่พีเอชเป็นด่างเล็กน้อย (พีเอช 8) สำหรับการศึกษากิจกรรมที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ ณ พีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ (พีเอช 8) ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 19 พบว่า

ตารางที่ 7 ค่าสีและความขาวของเจลชงูริมิที่เตรียมจากปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวในน้ำแข็ง
ที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลาการ เก็บรักษา (วัน)	ชุดการ ทดลอง	L*	a*	b*	ความขาว
0	T1	84.19±0.62 ^f	-1.77±0.07 ^b	4.15±0.11 ^a	83.56±0.56 ^e
	T2	85.44±0.32 ^f	-1.63±0.02 ^b	3.15±0.06 ^a	85.01±0.31 ^e
	T3	85.84±0.15 ^f	-1.57±0.03 ^b	4.23±0.18 ^a	85.14±0.16 ^e
3	T1	82.60±0.11 ^e	-1.28±0.05 ^a	4.28±0.26 ^b	82.04±0.15 ^d
	T2	84.05±0.12 ^e	-1.37±0.03 ^a	4.42±0.11 ^b	83.39±0.12 ^d
	T3	83.57±0.12 ^e	-1.66±0.07 ^a	4.57±0.11 ^b	82.91±0.12 ^d
6	T1	76.10±0.27 ^d	-1.56±0.02 ^b	6.91±0.03 ^c	73.42±0.88 ^c
	T2	74.85±0.26 ^d	-1.75±0.13 ^b	6.25±0.35 ^c	74.03±0.23 ^c
	T3	76.58±0.50 ^d	-1.49±0.03 ^b	7.14±0.06 ^c	75.51±0.54 ^c
9	T1	74.24±0.30 ^c	-1.80±0.02 ^c	7.36±0.07 ^d	73.17±0.29 ^c
	T2	74.05±0.14 ^c	-1.89±0.02 ^c	7.42±0.36 ^d	72.96±0.05 ^c
	T3	75.36±0.42 ^c	-1.70±0.14 ^c	7.38±0.19 ^d	74.20±0.44 ^c
12	T1	70.76±0.31 ^b	-1.88±0.03 ^c	7.74±0.12 ^e	69.69±0.32 ^b
	T2	70.87±0.36 ^b	-1.86±0.04 ^c	7.79±0.12 ^e	69.41±0.52 ^b
	T3	70.45±0.41 ^b	-1.83±0.10 ^c	8.95±0.12 ^e	69.81±0.44 ^b
15	T1	56.04±0.50 ^a	-1.84±0.28 ^b	9.02±0.07 ^f	50.76±0.63 ^a
	T2	56.26±0.18 ^a	-1.80±0.25 ^b	9.17±0.12 ^f	56.11±0.01 ^a
	T3	56.27±0.35 ^a	-1.85±0.16 ^b	9.18±0.07 ^f	56.27±0.29 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษร a b c d e และ f ที่ต่างกันในสคมภ์เดียวกันบ่งชี้ความแตกต่าง
ทางสถิติ (P<0.05)

T1 : เจลชงูริมิแช่ที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที)

T2 : เจลชงูริมิแช่ที่อุณหภูมิต่ำ (25 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง)

T3 : เจลชงูริมิที่ไม่แช่ที่ตัว

*ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆละ 3 ซ้ำ

ตารางที่ 8 ค่าสีและความขาวของเจลชงูริมิที่เตรียมจากปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบตัดหัวควักใส่ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลาการเก็บรักษา (วัน)	ชุดการทดลอง	L*	a*	b*	ความขาว
0	T1	84.19±0.62 ^d	-1.77±0.07 ^a	4.15±0.11 ^a	83.56±0.56 ^f
	T2	85.44±0.32 ^d	-1.63±0.02 ^a	3.15±0.06 ^a	85.01±0.31 ^f
	T3	85.84±0.15 ^d	-1.57±0.03 ^a	4.23±0.18 ^a	85.14±0.16 ^f
3	T1	83.45±0.20 ^d	-1.09±0.02 ^a	5.40±0.05	82.56±0.21 ^e
	T2	83.93±0.22 ^d	-1.26±0.02 ^a	4.73±0.10 ^b	83.20±0.17 ^e
	T3	85.44±0.09 ^d	-0.93±0.03 ^a	5.18±0.08 ^b	84.52±0.09 ^e
6	T1	82.49±0.13 ^d	-1.23±0.02 ^a	6.20±0.11 ^c	81.38±0.13 ^d
	T2	82.49±0.13 ^d	-1.26±0.05 ^a	5.97±0.24 ^c	81.53±0.08 ^d
	T3	82.89±1.06 ^d	-1.35±0.08 ^a	5.93±0.10 ^c	81.84±1.00 ^d
9	T1	75.40±0.28 ^c	-1.09±0.05 ^a	8.74±0.12 ^d	73.87±0.25 ^c
	T2	74.85±0.80 ^c	-1.32±0.01 ^a	7.71±0.13 ^d	73.72±0.75 ^c
	T3	76.08±0.27 ^c	-1.02±0.04 ^a	8.58±0.04 ^d	74.57±0.28 ^c
12	T1	72.43±0.02 ^b	-1.09±0.05 ^c	8.94±0.04 ^d	71.00±0.03 ^b
	T2	72.14±0.10 ^b	-1.20±0.09 ^c	7.19±0.02 ^d	71.20±0.15 ^b
	T3	73.38±0.11 ^b	-1.03±0.01 ^c	8.79±0.10 ^d	71.95±0.70 ^b
15	T1	71.38±0.70 ^a	-1.00±0.07 ^b	8.95±0.30 ^e	69.78±0.82 ^a
	T2	71.46±0.53 ^a	-1.04±0.10 ^b	9.38±0.16 ^e	69.93±0.47 ^a
	T3	71.56±0.12 ^a	-1.11±0.03 ^b	9.30±0.22 ^e	70.05±0.05 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษร a b c d e และ f ที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันบ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ (P<0.05)

T1 : เจลชงูริมิเซ้ทตัวที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที)

T2 : เจลชงูริมิเซ้ทตัวที่อุณหภูมิต่ำ (25 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง)

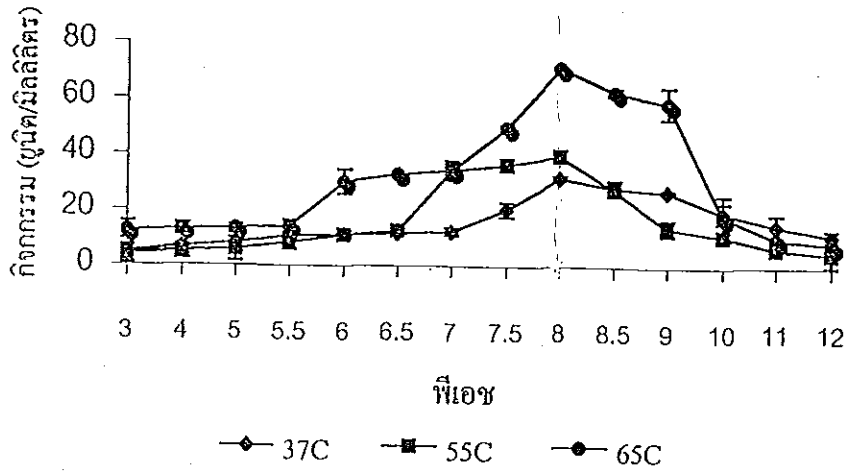
T3 : เจลชงูริมิที่ไม่เซ้ทตัว

*ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆละ 3 ซ้ำ

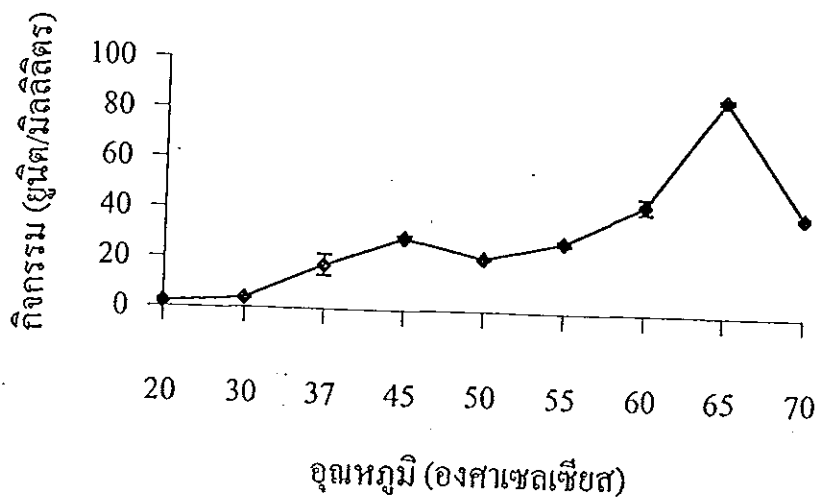
อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ คือ 65 องศาเซลเซียส ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์มีค่าสูงสุด เท่ากับ 86.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และเอนไซม์สูญเสียกิจกรรมอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเอนไซม์สูญเสียสภาพธรรมชาติจากความร้อน ส่งผลให้กิจกรรมการย่อยสลายโปรตีนลดลง

โดยทั่วไปเอนไซม์มีพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานต่างกัน ตามชนิดของเอนไซม์โดยพีเอชและอุณหภูมิ มีผลต่อความคงตัวและกิจกรรมของเอนไซม์ จากการศึกษาของ Su และคณะ (1981) พบว่า กล้ามเนื้อปลา croaker ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีเนส ซึ่งมีอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสม คือ 60 องศาเซลเซียส และ 7.5 ตามลำดับ Boye และ Lanier (1988) พบว่า เอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีเนสที่แยกได้จากปลา Atlantic menhaden มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีเนสที่แยกได้จากปลา white croaker ซึ่งมีพีเอช และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานเท่ากับ 7.5-8.0 และ 60 องศาเซลเซียสตามลำดับ Jiang และคณะ (1997) พบว่า เอนไซม์คาเพปซิน B และ L สามารถย่อยสลายไมโอซินเส้นหนัก (MHC) ที่อุณหภูมิประมาณ 40-55 องศาเซลเซียส และพีเอชประมาณ 6.5-7.5 กล้ามเนื้อปลา arrowtooth flounder สามารถถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ คาเพปซิน L และคาเพปซิน D ซึ่งมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน คือ 55-60 องศาเซลเซียส (Greene and Babbitt, 1990)

จากผลการทดลอง พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์โปรตีเนสในของเหลวซาร์โคพลาสมิกจากกล้ามเนื้อปลาปากคม คือ พีเอช 8 และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูงและพีเอชเป็นด่าง ซึ่งโปรตีนดังกล่าว อาจมีบทบาทสำคัญต่อการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อในซูริมิ ขณะให้ความร้อนสำหรับการเกิดเจล ส่งผลต่อการอ่อนตัวของเจลหรือเรียกว่า “โมโดริ”



รูปที่ 18 ผลของพีเอชต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนสจากของเหลวซาร์โคพลาสมิก
ที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคม



รูปที่ 19 ผลของอุณหภูมิต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนสจากของเหลวซาร์โคพลาสมิก
ที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคม

4.1.2 การจำแนกกลุ่มของเอนไซม์

จากการศึกษาผลของสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีนชนิดต่างๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนในของเหลวซาร์โคพลาสมิกจากกล้ามเนื้อปลาปากคม ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 9 พบว่า L-trans-epoxysuccinyl-leucylamido(4-quinidino)butane (E-64) สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ได้สูงสุดคือร้อยละ 71.96 E-64 เป็นสารยับยั้งที่มีความจำเพาะต่อเอนไซม์ในกลุ่มซิสเตอีนโปรตีนเอส (cysteine proteinases) ส่วน pepstatin ซึ่งมีความจำเพาะต่อเอนไซม์ในกลุ่มแอสปาทิกโปรตีนเอส (Aspartic proteinase) เช่น คาเรปซิน D มีผลในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ร่องลงมา สำหรับ EDTA ซึ่งมีความจำเพาะต่อเอนไซม์ในกลุ่ม เมทัลโลโปรตีนเอส (Metallo proteinases) และ Iodoacetic acid (IAA) ซึ่งมีความจำเพาะต่อเอนไซม์ในกลุ่มซิสเตอีน ซีรีนโปรตีนเอส และเมทัลโลโปรตีนเอส มีผลต่อการยับยั้งกิจกรรมเล็กน้อย สำหรับ Soybean trypsin inhibitor ซึ่งมีความจำเพาะต่อเอนไซม์ในกลุ่มซีรีนโปรตีนเอส (serine proteinases) สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ได้ร้อยละ 23.02 ส่วน NEM และ DTNB ซึ่งเป็นสารที่สามารถดัดแปลงหมู่ซัลไฟไฮดริลในบริเวณเร่งของเอนไซม์ มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์เล็กน้อย

Bonete และคณะ (1984) รายงานว่า pepstatin จัดเป็นสารยับยั้งที่มีความจำเพาะต่อกิจกรรมของเอนไซม์คาเรปซิน D Matsumiya และคณะ (1989) รายงานว่ากิจกรรมของเอนไซม์คาเรปซิน B ที่แยกได้จาก grey mullet ถูกยับยั้งโดย *para*-chloromercuribenzoic acid (pCMB) และ *N*-ethyl-maleimide (NEM) Yamashita และ Konagaya (1992) รายงานว่า เอนไซม์โปรตีนเอสที่พบในกล้ามเนื้อสีขาวของปลา chum salmon สามารถจำแนกได้ 2 ชนิด คือ แอสปาทิกโปรตีนเอส (คาเรปซิน E และ D) ซึ่งถูกยับยั้งโดย pepstatin และซิสเตอีนโปรตีนเอส (คาเรปซิน L-like และ L) ซึ่งสามารถถูกยับยั้งโดย leupeptin, E-64 และ chicken egg cystatin ตามลำดับ

ส่วนเอนไซม์โปรตีนเอสจากปลา Pacific whiting (*Merluccius productus*) ถูกยับยั้งโดยสารยับยั้งเอนไซม์ในกลุ่มซิสเตอีนโปรตีนเอส เช่น E-64 โดยสามารถยับยั้งได้ร้อยละ 97.3 และ cystatin สามารถยับยั้งได้ร้อยละ 92.6 (An *et al.*, 1997) Kinoshita และคณะ (1990b) จำแนกชนิดของเอนไซม์ในกล้ามเนื้อปลาทรายแดง โดยใช้สารยับยั้ง

ชนิดต่างๆ พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ถูกยับยั้งโดย DFP, TLCK และ soybean trypsin inhibitor ซึ่งเป็นสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มซีรีน โปรตีเนส

การใช้สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเนส สามารถจำแนกกลุ่มของเอนไซม์ได้ โดยเอนไซม์แต่ละชนิดมีความจำเพาะต่อสารยับยั้งที่แตกต่างกัน จากการทดลองเอนไซม์โปรตีเนสในของเหลวซาร์โคพลาสมิกส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มซีสเทอีนโปรตีเนส อย่างไรก็ตามของเหลวซาร์โคพลาสมิกยังประกอบด้วยเอนไซม์ชนิดอื่นปะปนอยู่ด้วยเช่นกัน

ตารางที่ 9 ผลของสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสชนิดต่างๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนสจากของเหลวซาร์โคพลาสมิกจากกล้ามเนื้อปลาปากคม

สารยับยั้ง	ความเข้มข้น (มิลลิโมลาร์)	การยับยั้ง* (ร้อยละ)
Pepstatin	1	34.58 ± 1.52
Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)	2	17.37 ± 1.96
Iodoacetic acid	1	14.36 ± 0.37
E-64	0.01	71.96 ± 1.25
Soybean trypsin inhibitor	0.01	29.02 ± 1.84
N-Ethylmaleimide (NEM)	1	26.59 ± 0.72
5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic Acid)(3,3'-6) (DTNB)	1	17.94 ± 0.24

*ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆละ 3 ซ้ำ

4.1.3 ผลของสารเคมีบางชนิดต่อกิจกรรมของเอนไซม์

จากการศึกษาผลของสารเคมีบางชนิด ต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอส จากของเหลวซาร์โคพลาสมิกจากกล้ามเนื้อปลาปากคม ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 10 พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์มีค่าสูงขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารรีดิวซิ่ง (β ME และ DTT) เพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) ส่วนยูเรียและเกลือโซเดียมคลอไรด์ มีผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากยูเรียและเกลือโซเดียมคลอไรด์ อาจมีผลให้เอนไซม์สูญเสียสภาพส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง กิจกรรมของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ β ME และ DTT เพิ่มขึ้น บ่งชี้ว่าเอนไซม์ในของเหลวซาร์โคพลาสมิกจัดอยู่ในกลุ่มของซีสเทอีน โปรตีนเอส การเติมสารรีดิวซิ่งมีผลให้หมู่ซัลฟ์ไฮดริลในบริเวณเร่งของเอนไซม์อยู่ในสภาวะรีดิวซ์ส่งผลให้กิจกรรมเพิ่มขึ้น Simpson (2000) รายงานว่า กิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีนเอสจากปลา carp จะเพิ่มขึ้นในสภาวะที่มีสารรีดิวซิ่ง Jiang และคณะ (1991) พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์คาลเพน II จากกล้ามเนื้อ tilapia มีค่าสูงขึ้น เมื่อความเข้มข้นของ β ME เพิ่มขึ้น

Bonete และคณะ (1984) พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์คาเธปซิน B ที่แยกได้จากกล้ามเนื้อปลา *Mujil auratus* มีค่าสูงขึ้น เมื่อความเข้มข้นของ β ME และ DTT เพิ่มขึ้น Ueno และคณะ (1988) พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์คาเธปซิน L ที่แยกได้จากกล้ามเนื้อสีขาวของปลา mackerel มีค่าสูงขึ้น เมื่อความเข้มข้นของ β ME และ DTT เพิ่มขึ้น ส่วน Matsumiya และคณะ (1989) พบว่า เมื่อความเข้มข้นของ DTT β ME และ cysteine เพิ่มขึ้น มีผลให้กิจกรรมของเอนไซม์คาเธปซิน B ที่แยกได้จากกล้ามเนื้อปลา mackerel เพิ่มขึ้น คาเธปซิน B จัดเป็นเอนไซม์ในกลุ่มซีสเทอีน โปรตีนเอส โดยมีกิจกรรมเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของ β ME เพิ่มขึ้น (Kang and Lanier, 2000) Wang และคณะ 1993 พบว่า เมื่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ หรือ โปแตสเซียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น มีผลให้กิจกรรมของเอนไซม์จากปลา tilapia ลดลง การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเอนไซม์ในสารละลายที่มี ionic strength สูงเป็นการเพิ่มความไม่ชอบน้ำและเร่งการจับรวมตัวกัน (Wang and Jiang, 1991)

ดังนั้นเอนไซม์ส่วนใหญ่ในของเหลวซาร์โคพลาสมิกจากกล้ามเนื้อปลาปากคมประกอบด้วยหมู่ซัลฟ์ไฮดริลในบริเวณเร่งซึ่งต้องการสารรีดิวซิ่งในการกระตุ้น

กิจกรรมของเอนไซม์ แต่เอนไซม์เหล่านั้นจะถูกยับยั้งกิจกรรมบางส่วนโดยโซเดียมคลอไรด์หรือยูเรีย

ตารางที่ 10 ผลของสารเคมีชนิดต่างๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนสจากของเหลวซาร์โคพลาสมิคจากกล้ามเนื้อปลาปากคม

ชนิดของสารเร่งหรือสารยับยั้ง	ความเข้มข้น (มิลลิโมลาร์)	กิจกรรมสัมพัทธ์* (ร้อยละ)
β-mercaptoethanol (βME)	0	100.00 ± 0.00 ^a
	1	112.03 ± 1.84 ^b
	5	115.05 ± 1.08 ^c
	10	117.21 ± 0.84 ^c
Dithiothreitol (DTT)	0	100.00 ± 0.00 ^a
	1	100.00 ± 3.28 ^a
	5	118.73 ± 1.09 ^b
	10	120.80 ± 3.40 ^b
Urea	0	100.00 ± 0.00 ^d
	1	79.52 ± 0.92 ^c
	5	75.38 ± 3.37 ^a
	10	74.23 ± 2.79 ^a
NaCl	0	100.00 ± 0.00 ^d
	50	83.84 ± 0.17 ^c
	100	82.33 ± 0.84 ^b
	200	66.35 ± 1.33 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษร a b c และ d ที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน ภายใต้สภาวะที่เติมสารชนิดเดียวกัน บ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

*ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆ ละ 3 ซ้ำ

4.1.4 ผลของโปรตีนเติมแต่งต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนสในของเหลวซาร์โคพลาสมิก

จากการศึกษาผลของโปรตีนพลาสมาเลือดวัวหรือไข่ขาวผง ต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนสที่อยู่ในของเหลวซาร์โคพลาสมิก ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ร้อยละ 0, 1, 2 และ 3 (นน./ปริมาตร) (ตารางที่ 11) พบว่า การใช้โปรตีนพลาสมาเลือดวัว ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 ($P < 0.05$) และให้ผลใกล้เคียงกับที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยกิจกรรมสัมพัทธ์ของเอนไซม์ที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 3 มีค่าเท่ากับร้อยละ 45.91, 32.88 และ 30.61 ตามลำดับ ส่วนไข่ขาวผง พบว่า เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 3 มีกิจกรรมสัมพัทธ์ร้อยละ 83.11, 75.12 และ 58.16 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ โปรตีนพลาสมาเลือดวัวสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ดีกว่าไข่ขาวผง

จากการศึกษา พบว่า โปรตีนพลาสมาเลือดวัวและไข่ขาวผง สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนสที่อยู่ในของเหลวซาร์โคพลาสมิก โดยโปรตีนพลาสมาเลือดวัวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสในของเหลวซาร์โคพลาสมิกสูงกว่าไข่ขาว พลาสมาเลือดวัวประกอบด้วยสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสที่มีประสิทธิภาพคือ α_2 -macroglobulin ซึ่งสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนสได้ทุกกลุ่ม รวมทั้งประกอบด้วยไคนิโนเจนซึ่งมีความจำเพาะกับชีสเตอินโปรตีเนส (Barrett and Starkey, 1993; Barrett *et al.*, 1986) ส่งผลให้ประสิทธิภาพการยับยั้งสูงกว่าไข่ขาวซึ่งประกอบด้วย โอโวมิวคอยด์ และโอโวอินฮิบิเตอร์ ซึ่งเป็นสารยับยั้งเอนไซม์ซีรีนโปรตีเนส อย่างไรก็ตามไข่ขาวประกอบด้วยโอโวสตาติน ซึ่งมีกลไกการทำงานคล้ายกับ α_2 -macroglobulin (Nagase *et al.*, 1985) ดังนั้นไข่ขาวจึงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสในของเหลวซาร์โคพลาสมิกที่มีชีสเตอินโปรตีเนสเป็นเอนไซม์ส่วนใหญ่ แต่ประสิทธิภาพอาจน้อยกว่าโปรตีนพลาสมาเลือดวัว Weerasinghe และคณะ (1996) รายงานว่าโปรตีนพลาสมาเลือดวัวสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ปาเปน (papain) ได้สูงสุด ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มชีสเตอินโปรตีเนส ส่วนไข่ขาวผงสามารถยับยั้งก

กรรมของเอนไซม์ทริปซิน ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของซีรีนโปรตีนเอส Hamann และคณะ (1990) รายงานว่าสารที่ทำหน้าที่ยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเอส ในโปรตีนพลาสมาเลือดวัว คือ α_2 -macroglobulin ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในพลาสมา

ตารางที่ 11 ผลของโปรตีนเติมแต่งต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในของเหลว
ซาร์โคพลาสมิก

ชนิดของโปรตีนเติมแต่ง	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	กิจกรรมสัมพัทธ์* (ร้อยละ)
โปรตีนพลาสมาเลือดวัว	0	100 ± 0.00 ^b
	1	45.91 ± 5.13 ^a
	2	32.88 ± 3.20 ^a
	3	30.61 ± 0.19 ^a
ไข่ขาวผง	0	100 ± 0.00 ^b
	1	83.11 ± 7.69 ^{ab}
	2	75.12 ± 2.83 ^{ab}
	3	58.16 ± 10.25 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษร a b และ ab ที่แตกต่างกันในสคริปต์เดียวกัน ภายใต้สภาวะที่เติม
สารชนิดเดียวกัน บ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

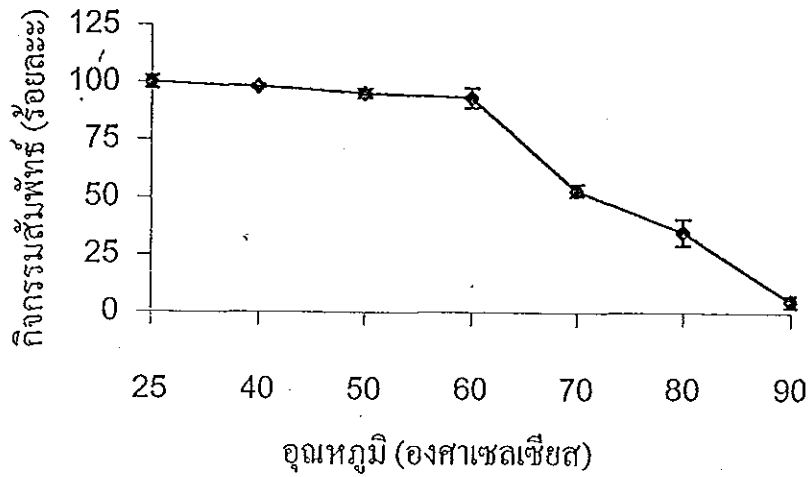
*ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆ ละ 3 ซ้ำ

4.1.5 ความคงตัวของเอนไซม์

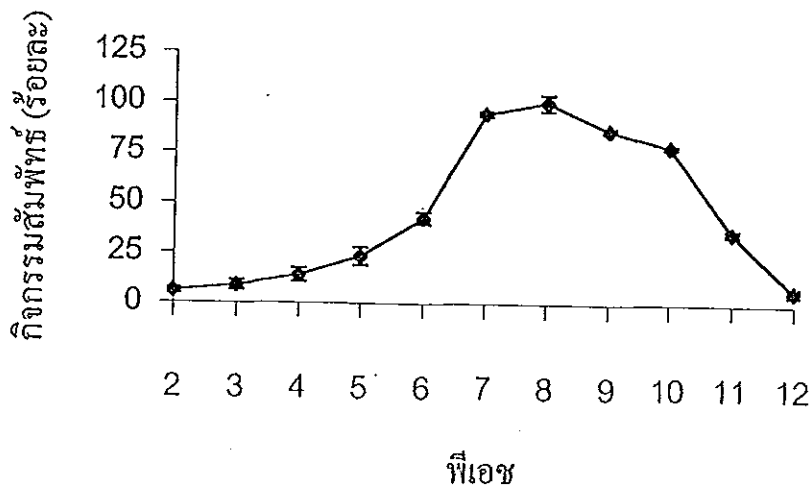
จากการศึกษาความคงตัวของเอนไซม์โปรตีนเอสในส่วน
ของเหลวซาร์โคพลาสมิกจากกล้ามเนื้อปลาปากคม ที่อุณหภูมิต่างๆ คือ (20, 40, 50, 60,
70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 20 นาที ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 20 พบว่า กิจ
กรรมของเอนไซม์ มีค่าลดลงอย่างเด่นชัดเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส Stoknes
และคณะ (1993) พบว่า เอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีนเอสชนิดทนร้อน (heat-stable alkaline

protease) ในกล้ามเนื้อปลา herring (*Clupea harengus*) มีความคงตัวต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส Stoknes และคณะ (1995) รายงานว่า เอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีนเอสที่สกัดได้จากกล้ามเนื้อปลา cod มีความคงตัวต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และกิจกรรมจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส Choi และคณะ (1999) รายงานว่า เอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีนเอสที่สกัดได้จากกล้ามเนื้อปลา Atlantic menhaden มีความคงตัวต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส และกิจกรรมจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส ดังนั้นเอนไซม์โปรตีนเอสในส่วนของเหลวซาร์โคพลาสมิกอาจมีบทบาทสำคัญในช่วงการแช่หัตถ์ โดยเฉพาะการแช่หัตถ์ที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียส) ในเนื้อปลาสด แต่อาจก่อให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนในซุริมิซึ่งมีโปรตีนดังกล่าวเหลืออยู่ภายหลังกระบวนการล้าง อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนที่สูงกับเจลสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าว ดังนั้นการให้ความร้อนแก่เนื้อปลาสดหรือซุริมิอย่างรวดเร็วจนกระทั่งอุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส จึงอาจเป็นแนวทางในการลดกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสซึ่งส่งผลต่อการอ่อนตัวของเจล

จากการศึกษาความคงตัวต่อพีเอชที่ระดับต่างๆ (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 และ 12) ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 21 พบว่า เอนไซม์โปรตีนเอสที่สกัดได้จากส่วนซาร์โคพลาสมิกจากกล้ามเนื้อปลาปากคม มีความคงตัวในช่วงพีเอช 7-8 และสูญเสียกิจกรรมในช่วงพีเอชที่เป็นกรดหรือด่าง ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของเอนไซม์ในช่วงของพีเอชดังกล่าว Wang และคณะ (1993) พบว่า เอนไซม์คาลเพน II จากกล้ามเนื้อปลานิลมีความคงตัวต่อพีเอชในช่วงกว้างคือ 5.0-9.0 Yamashita และ Konagaya (1989; 1990b) พบว่าเอนไซม์คาเรปซิน B ที่สกัดได้จากกล้ามเนื้อขาวของปลา chum salmon มีความคงตัวที่พีเอช 5.5-6.5 และมีกิจกรรมลดลงอย่างรวดเร็วที่พีเอชสูงกว่า 7 เนื่องจากเอนไซม์จากของเหลวซาร์โคพลาสมิกของปลาปากคมมีความคงตัวของช่วงพีเอชเป็นกลาง ซึ่งเป็นช่วงของพีเอชที่พบในเนื้อปลาสดหรือซุริมิ ดังนั้นจึงมีบทบาทสำคัญต่อการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลาสดหรือซุริมิ



รูปที่ 20 ความคงตัวต่อความร้อนของเอนไซม์โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิกที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคม



รูปที่ 21 ความคงตัวต่อพีเอชของเอนไซม์โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิกที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคม

4.2 เอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล

4.2.1 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์

จากการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล โดยการให้ความร้อนแก่เนื้อปลาปากคมบดที่ผ่านการล้าง (เอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล) และเนื้อปลาปากคมบดที่ไม่ผ่านการล้าง ที่อุณหภูมิต่างๆดังนี้ คือ 45, 50, 55, 60, 65 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที พบว่า ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แถบไมโอซินของเนื้อปลาปากคมบดที่ผ่านการล้างมีขนาดเล็กที่สุด (รูปที่ 22) (แถวที่ 5) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งไม่ผ่านการให้ความร้อน (แถวที่ 1) สำหรับเนื้อปลาปากคมบดที่ไม่ผ่านการล้าง (รูปที่ 23) การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส มีผลให้ไมโอซินลดลงได้สูงกว่าช่วงอุณหภูมิอื่น พร้อมกับการเพิ่มของเปปไทด์สายสั้น ซึ่งเป็นผลจากการย่อยสลายไมโอซิน การให้ความร้อนกับเนื้อปลาปากคมบดที่ผ่านการล้างที่อุณหภูมิสูงกว่า 65 องศาเซลเซียส พบว่า แถบของไมโอซินมีขนาดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากการให้ความร้อนสูงกว่า 65 องศาเซลเซียส อาจมีผลทำลายกิจกรรมของเอนไซม์ ส่วนแถบไมโอซินที่มีขนาดใหญ่ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 60 องศาเซลเซียสนั้นเป็นผลมาจากเอนไซม์มีกิจกรรมลดลง

สำหรับเนื้อปลาที่ไม่ผ่านการล้างให้ผลเช่นเดียวกัน (รูปที่ 23) โดยไมโอซินมีการย่อยสลายลดลง นอกช่วงอุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส การย่อยสลายโปรตีนไมโอซินในเนื้อปลาที่ไม่ผ่านการล้างที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส อาจเป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์ที่พบในซาร์โคพลาสมิกซึ่งมีกิจกรรมสูงสุดที่ 65 องศาเซลเซียส ร่วมกับการทำงานของเอนไซม์ที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล แถบไมโอซินที่มีขนาดเล็กลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม สอดคล้องกับปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติกที่เพิ่มขึ้นสูงสุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สำหรับเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้าง (ตารางที่ 12) โดยมีค่าเท่ากับ 5.14 ไมโครโมล/กรัม ส่วนเนื้อปลาปากคมบดที่ไม่ผ่านการล้างนำ มีปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติกสูงสุดที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส โดยมีค่าเท่ากับ 6.69 ไมโครโมล/กรัม ปริมาณเปปไทด์ที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีน ในเนื้อปลาบดที่ไม่ผ่านการล้างมีค่าสูงกว่าเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้าง ทั้งนี้

อาจเป็นผลจากการทำงานร่วมของเอนไซม์ในส่วนซาร์โคพลาสมิกและเอนไซม์ที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล

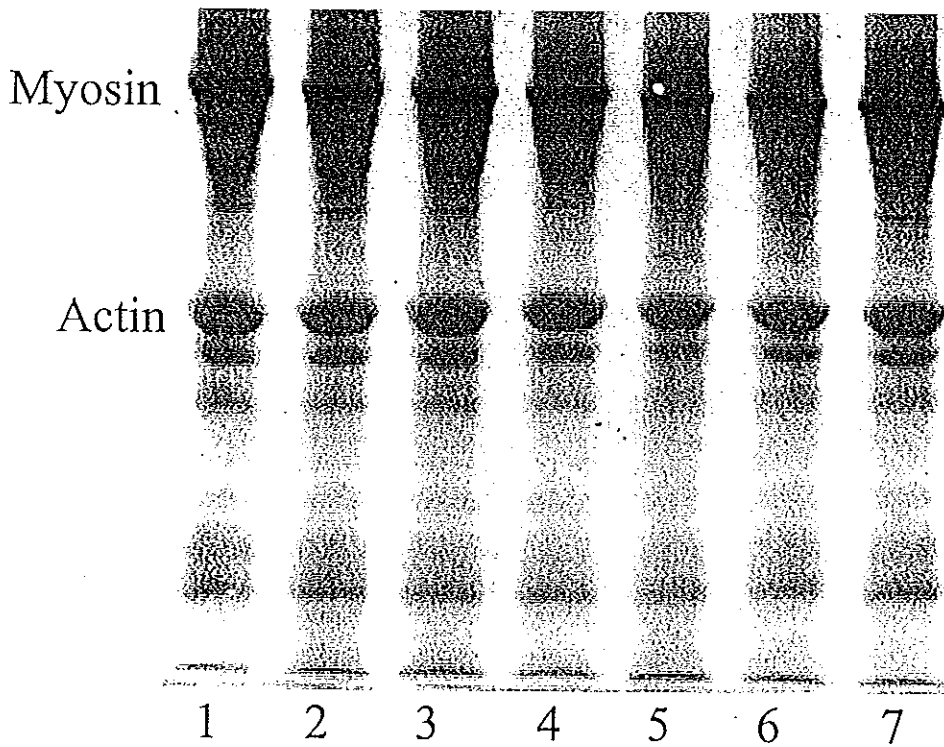
Toyohara และคณะ (1990c) รายงานว่า การย่อยสลายโปรตีนจากกล้ามเนื้อปลา oval-filefish บดที่ผ่านการล้างและไม่ล้าง เกิดจากเอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล โดยเอนไซม์สามารถย่อยสลายโปรตีนไมโอไฟบริลได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และกิจกรรมของเอนไซม์ลดลง ที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส และ 70 องศาเซลเซียส Ogata และคณะ (1998) พบว่า การย่อยสลายของโปรตีนไมโอไฟบริล โดยเอนไซม์คาเรปซิน L จากปลา carp ขึ้นอยู่กับระดับพีเอช โดยกิจกรรมการย่อยสลายไมโอไฟบริลเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อบ่มเอนไซม์กับโปรตีนที่พีเอช 5.0 และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยองค์ประกอบทั้งหมดยกเว้นแอกตินและโทรโปไมโอซินเกิดการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ ดังนั้นเอนไซม์คาเรปซิน L มีความไวในการย่อยสลายไมโอซิน

ตารางที่ 12 ผลของอุณหภูมิต่อการย่อยสลายเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้างและไม่ล้าง

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติก*	
	(ไมโครโมล/กรัม)	
	เนื้อปลาบดที่ผ่านการล้าง	เนื้อปลาบดที่ไม่ล้าง
0	1.37 ± 0.28 ^a	2.42 ± 0.45 ^a
45	2.02 ± 0.45 ^a	4.68 ± 0.07 ^b
50	3.74 ± 0.38 ^b	4.74 ± 0.80 ^b
55	4.52 ± 0.48 ^{bc}	5.51 ± 0.69 ^{bc}
60	5.14 ± 0.22 ^c	5.83 ± 0.67 ^{bc}
65	2.14 ± 0.18 ^a	6.69 ± 0.47 ^d
70	1.28 ± 0.79 ^a	2.60 ± 0.49 ^a

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

*ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆละ 3 ซ้ำ



รูปที่ 22 รูปแบบการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้างที่อุณหภูมิ
ต่างๆ

แถวที่ 1 ชุดควบคุมเนื้อปลาปากคมบดที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน

แถวที่ 2 บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

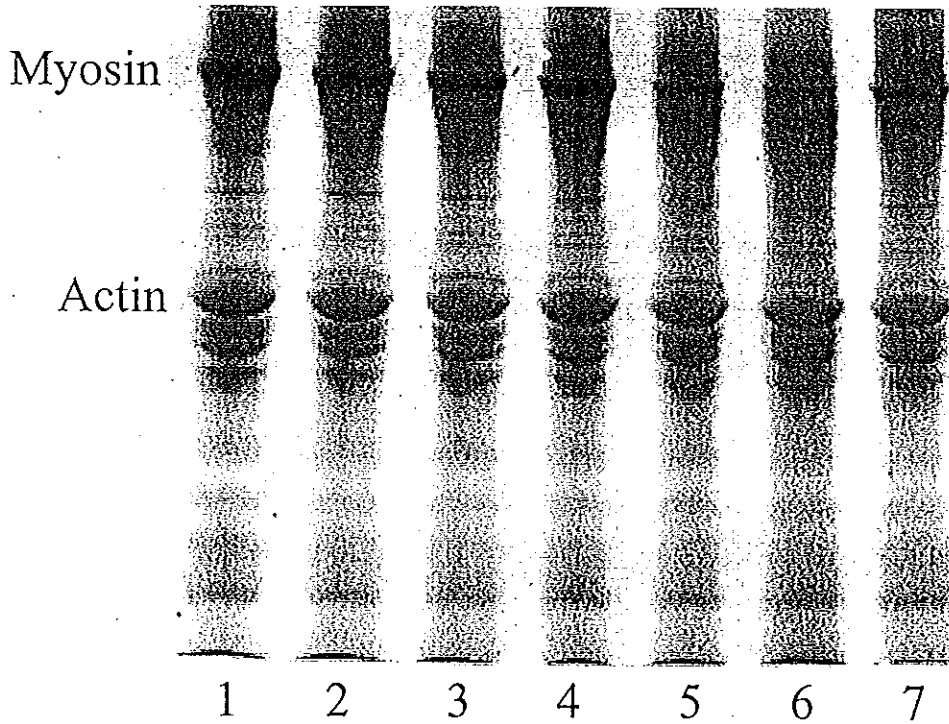
แถวที่ 3 บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

แถวที่ 4 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

แถวที่ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

แถวที่ 6 บ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

แถวที่ 7 บ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



รูปที่ 23 รูปแบบการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ไม่ผ่านการล้างที่อุณหภูมิ
ต่างๆ

- แถวที่ 1 ชุดควบคุมเนื้อปลาปากคมบดที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน
- แถวที่ 2 บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส
- แถวที่ 3 บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
- แถวที่ 4 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส
- แถวที่ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
- แถวที่ 6 บ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส
- แถวที่ 7 บ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

4.2.2 ผลของระยะเวลาการให้ความร้อนต่อการย่อยสลายตัวเอง

จากการศึกษาระยะเวลาต่อการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อของเอนไซม์โปรตีเนสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล โดยการให้ความร้อนแก่เนื้อปลาปากคมบดที่ผ่านการล้าง ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์โปรตีเนสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล และเนื้อปลาปากคมบดที่ไม่ผ่านการล้างซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์โปรตีเนสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริลและเอนไซม์โปรตีเนสที่อยู่ในของเหลวซาร์โคพลาสมิก ที่อุณหภูมิ 60 และ 65 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นเวลาต่างๆกันดังนี้ คือ 0, 10, 30, 60, 90 และ 120 นาที พบว่า เนื้อปลาคมบดที่ไม่ผ่านการล้าง (รูปที่ 24) มีแถบของไมโอซินที่มีขนาดเล็กลง เมื่อเวลาในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น และไม่พบแถบของไมโอซินเมื่อเวลาในการให้ความร้อนเท่ากับ 90 และ 120 นาที (แถวที่ 5 และ 6) เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น เอนไซม์โปรตีเนสทั้งชนิดที่อยู่ในของเหลวซาร์โคพลาสมิก และโปรตีเนสที่จับอยู่กับโปรตีนไมโอไฟบริลสามารถทำงานในการย่อยสลายไมโอซินเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติกที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 13) ปริมาณแอกตินลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในสภาวะที่ไม่มีไมโอซิน นอกจากนี้เอนไซม์โปรตีเนสสามารถย่อยสลายแอกติน โดยเฉพาะเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าไมโอซินเป็นสับสเตรทที่ดีของโปรตีนในกล้ามเนื้อปลาปากคม

สำหรับเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้าง (รูปที่ 25) แถบไมโอซินมีขนาดลดลงเมื่อระยะเวลาในการบ่มนานขึ้น แต่อัตราการลดลงของแถบไมโอซินต่ำกว่าเนื้อปลาปากคมที่ไม่ผ่านการล้าง ดังนั้นขั้นตอนการล้างเนื้อปลาจึงมีบทบาทสำคัญต่อการลดปริมาณเอนไซม์โปรตีเนสโดยเฉพาะโปรตีเนสในส่วนของเหลวซาร์โคพลาสมิก ทำให้อัตราการย่อยสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อลดลง ดังนั้นจึงเป็นแนวทางในการปรับปรุงคุณภาพเจลได้อีกแนวทางหนึ่ง

Yamashita และ Konagaya (1991) รายงานว่า เอนไซม์ในกลุ่มซีสเทอีนโปรตีเนส ได้แก่ คาเปปซิน B และ L ในกล้ามเนื้อปลา salmon สามารถย่อยสลายโปรตีนไมโอไฟบริล ซึ่งเป็นโปรตีนหลักของกล้ามเนื้อปลา โดยเอนไซม์คาเปปซิน L สามารถย่อยสลาย connectin, nebulin, myosin, collagen, α -actinin และ troponin T และ I ส่วนคาเปปซิน B สามารถย่อยสลาย connectin, nebulin และ myosin เมื่อเปรียบเทียบความ

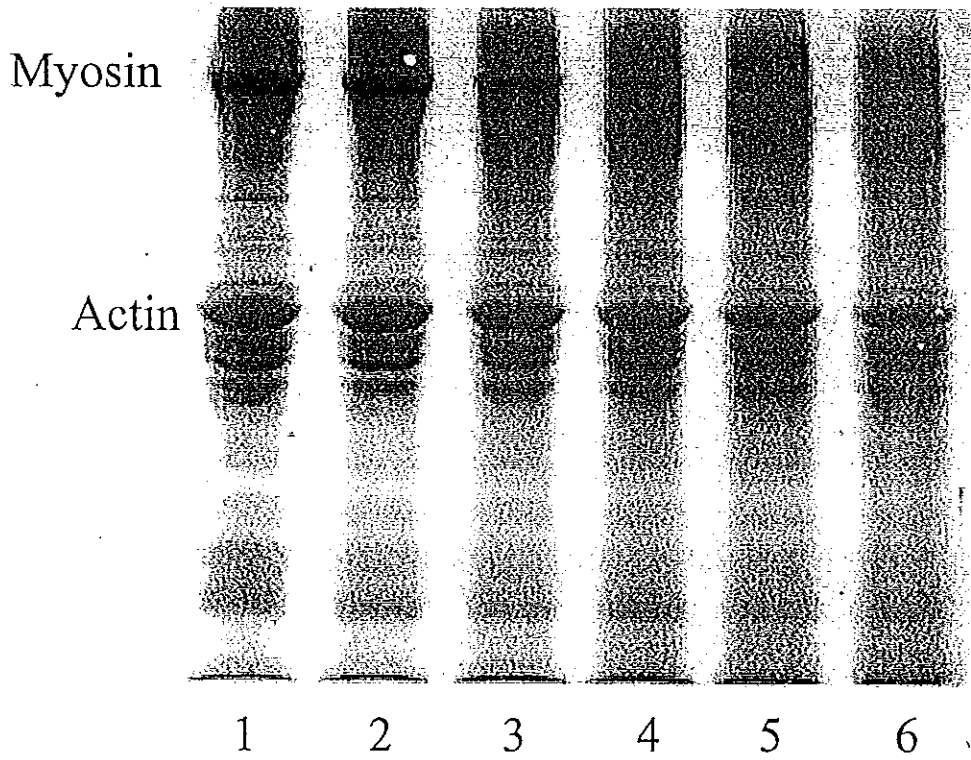
สามารถในการย่อยสลาย พบว่า เอนไซม์คาเทปซิน L มีกิจกรรมในการย่อยสลายสูงกว่าคาเทปซิน B Choi และคณะ (1999) พบว่าเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีนเอสชนิด A และ B ซึ่งแยกได้จากกล้ามเนื้อปลา Atlantic menhaden สามารถย่อยสลายไมโอซินได้เป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ อย่างรวดเร็วที่พีเอช 8.0 และอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นผลให้เกิดการอ่อนตัวของซุริมิเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55-70 องศาเซลเซียส Young และ Graafhuis (1980) และ Matsumoto และ (1983) รายงานว่า เอนไซม์คาเทปซิน D สามารถย่อยสลาย connectin, C-protein, M-protein และ myosin ได้อย่างรวดเร็ว และสามารถย่อยสลาย actin, troponin T/I และ tropomyosin ได้เล็กน้อย Hara และคณะ (1988) รายงานว่า เอนไซม์คาเทปซิน B จากกล้ามเนื้อปลา carp สามารถย่อยสลาย α -actinin และ troponin T

ตารางที่ 13 ผลของระยะเวลาต่อการย่อยสลายเนื้อปลาสดที่ผ่านการล้างและไม่ล้างที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

เวลา (นาที)	ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติก* (ไมโครโมล/กรัม)	
	เนื้อปลาสดที่ผ่านการล้าง	เนื้อปลาสดที่ไม่ล้าง
0	1.77 ± 0.24 ^a	2.41 ± 0.57 ^a
10	2.15 ± 0.75 ^{ab}	3.29 ± 0.33 ^a
30	2.56 ± 0.02 ^{ab}	3.79 ± 0.29 ^{ab}
60	3.05 ± 0.63 ^{ab}	4.51 ± 0.26 ^{bc}
90	3.41 ± 0.47 ^{bc}	4.54 ± 0.65 ^c
120	4.16 ± 0.24 ^c	5.65 ± 0.49 ^c

หมายเหตุ ตัวอักษร a ab bc c และ d ที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน บ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ (P<0.05)

*ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆละ 3 ซ้ำ



รูปที่ 24 รูปแบบการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ไม่ผ่านการล้างที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาต่างๆ

แถวที่ 1 ชุดควบคุมเนื้อปลาปากคมบดที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน

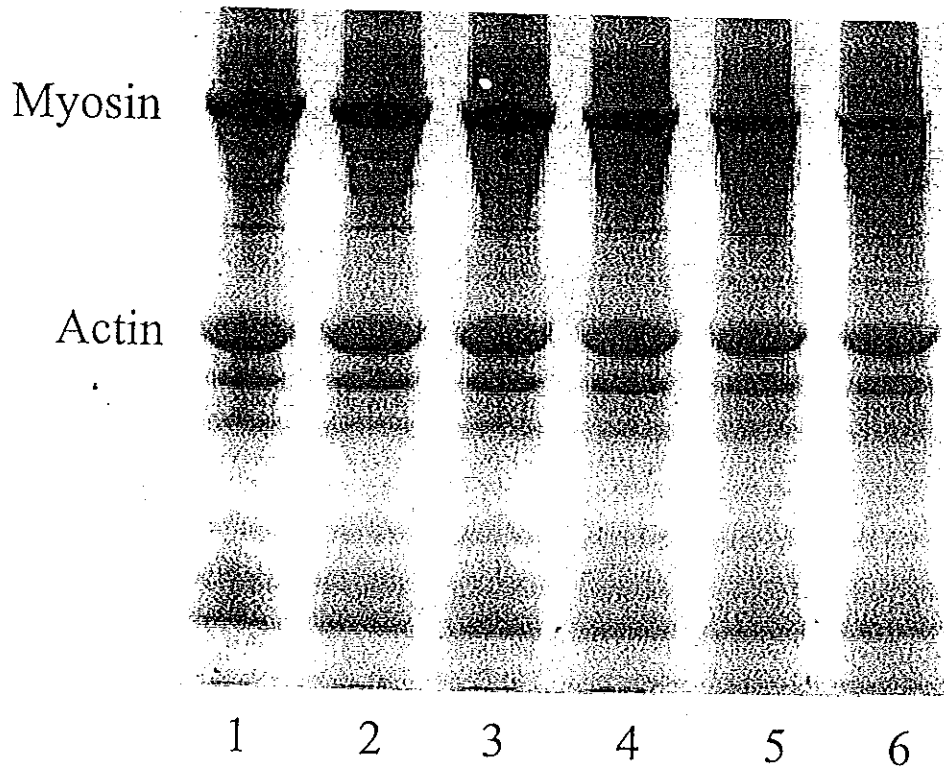
แถวที่ 2 บ่มเป็นระยะเวลา 10 นาที

แถวที่ 3 บ่มเป็นระยะเวลา 30 นาที

แถวที่ 4 บ่มเป็นระยะเวลา 60 นาที

แถวที่ 5 บ่มเป็นระยะเวลา 90 นาที

แถวที่ 6 บ่มเป็นระยะเวลา 120 นาที



รูปที่ 25 รูปแบบการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้างที่อุณหภูมิ 60

องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาต่างๆ

แถวที่ 1 ชุดควบคุมเนื้อปลาปากคมบดที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน

แถวที่ 2 บ่มเป็นระยะเวลา 10 นาที

แถวที่ 3 บ่มเป็นระยะเวลา 30 นาที

แถวที่ 4 บ่มเป็นระยะเวลา 60 นาที

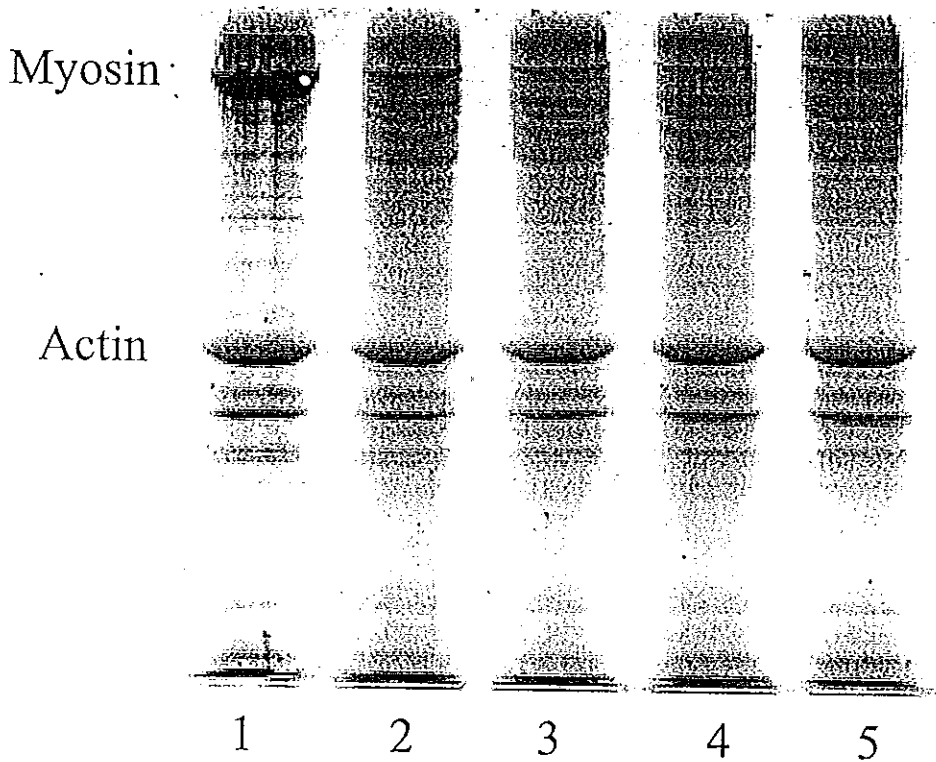
แถวที่ 5 บ่มเป็นระยะเวลา 90 นาที

แถวที่ 6 บ่มเป็นระยะเวลา 120 นาที

4.2.3 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อกิจกรรมของเอนไซม์

จากการศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับไมโอไฟบริล โดยการนำเนื้อปลาปากคมบคี่ผ่านการล้าง ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล เติมโซเดียมคลอไรด์ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2 และ 3 (นน./นน.) และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที พบว่า การเติมเกลือไม่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล (รูปที่ 26) โดยแถบของไมโอซินของตัวอย่างที่เติมเกลือ (แถวที่ 3, 4 และ 5) ใกล้เคียงกับแถบไมโอซินของตัวอย่างที่ไม่เติมเกลือ (แถวที่ 2) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติก (ตารางที่ 14) อย่างไรก็ตาม ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติกมีค่าสูงสุดที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เท่ากับร้อยละ 1

เกลือมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์แต่ละชนิดแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเกลือที่ใช้ เกลืออาจทำให้การละลายของเอนไซม์เพิ่มขึ้นหรือลดลง การเติมเกลือความเข้มข้นสูงๆอาจมีผลขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ Kinoshita และคณะ (1990b, 1991) รายงานว่า เอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล ซึ่งทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และช่วงพีเอชเป็นกลาง สามารถทำงานได้ดีในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2-4 Kinoshita และคณะ (1990c) พบว่าเอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล ซึ่งทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส ต้องการเกลือโซเดียมคลอไรด์มากกว่าร้อยละ 1 แต่กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล ซึ่งทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 50 จะถูกยับยั้งเมื่อความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เพิ่มสูงขึ้น



รูปที่ 26 รูปแบบการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้างในสถานะที่มี
 โซเดียมคลอไรด์เข้มข้นต่างกันที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 120 นาที
 แถวที่ 1 เนื้อปลาปากคมบดไม่ผ่านการให้ความร้อน
 แถวที่ 2 โซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0
 แถวที่ 3 โซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 1
 แถวที่ 4 โซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 2
 แถวที่ 5 โซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 3

ตารางที่ 14 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการย่อยสลายตัวเองของกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้าง

โซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)	ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติก* (ไมโครโมลต่อกรัม)
0	2.76 ± 0.26^a
1	3.01 ± 0.05^c
2	2.91 ± 0.02^{ab}
3	2.75 ± 0.91^{ab}

หมายเหตุ ตัวอักษร a ab และ c ที่แตกต่างกันในสครัมภ์เดียวกันบ่งชี้ความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$)

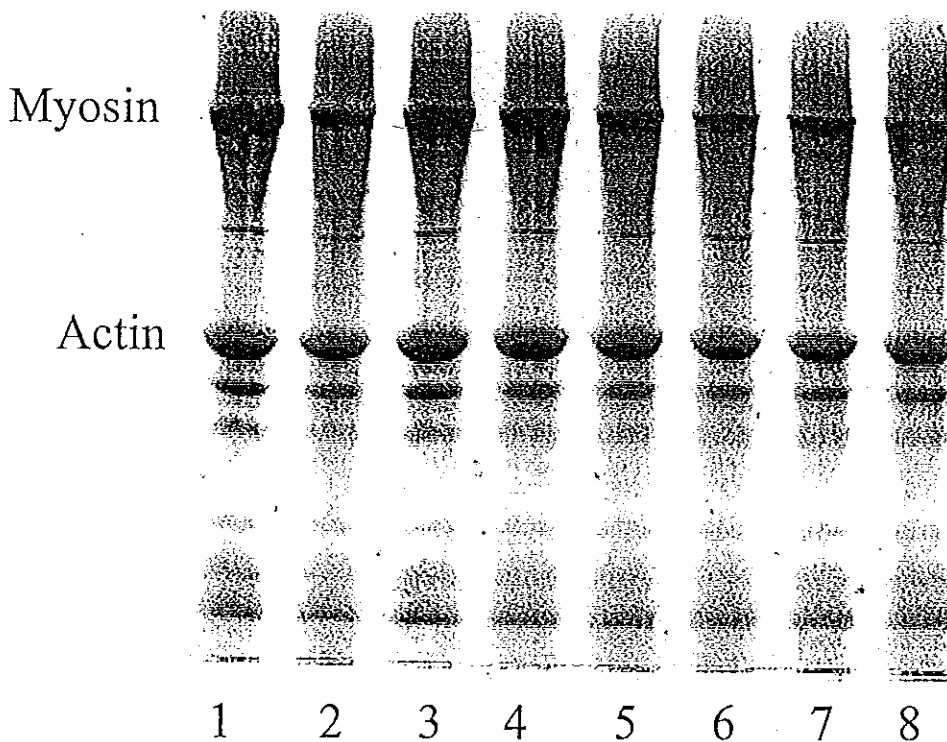
*ค่าเฉลี่ยค่า±เบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆละ 3 ซ้ำ

4.2.4 ผลของสารยับยั้งต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนส

จากการศึกษาผลของสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสชนิดต่างๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อปลาปากคม (รูปที่ 27) พบว่า แอบไมโอซินของตัวอย่างที่เดิม E-64 (แถวที่ 3) มีขนาดใกล้เคียงกับเนื้อปลาปากคมบดที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน (แถวที่ 1) ส่วนการใช้ soybean trypsin ให้ผลใกล้เคียงกับ E-64 (แถวที่ 4) สำหรับ pepstatin และ Iodoacetic acid แสดงผลการยับยั้งการย่อยสลายตัวเองรองลงมา ในขณะที่ EDTA และ DTNB มีผลต่อกิจกรรมการย่อยสลายตัวเองน้อยมาก ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติก (ตารางที่ 15) โดยพบว่า ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติกของตัวอย่างที่เดิม E-64 มีค่าต่ำสุด ($P < 0.05$)

จากการทดลอง พบว่า ซีสเตอีนโปรตีเนสและซีรีนโปรตีเนสเป็นโปรตีนหลักของเอนไซม์โปรตีเนสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล โดยมีแอสปาร์ติกโปรตีเนสเป็นองค์ประกอบรอง เอนไซม์ดังกล่าวสามารถทำงานร่วมกันในการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อ ดังนั้นการยับยั้งการย่อยสลายตัวเองที่มีประสิทธิภาพจึงควรใช้สารยับยั้งที่มี

คุณสมบัติยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์หลายชนิด เช่น α_2 -macroglobulin ซึ่งสามารถยับยั้งซีสเทอีน ซีรีน แอสปาร์ติก และเมทิลโลโปรตีนเนส



รูปที่ 27 ผลของสารยับยั้งชนิดต่างๆต่อการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้าง ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

แถวที่ 1 เนื้อปลาปากคมบดไม่ผ่านการให้ความร้อน

แถวที่ 2 ไม่เติมสารยับยั้ง

แถวที่ 3 เติม E-64 เข้มข้น 0.01 mM

แถวที่ 4 เติม soybean trypsin inhibitor เข้มข้น 0.01 mM

แถวที่ 5 เติม pepstatin เข้มข้น 1 mM

แถวที่ 6 เติม EDTA เข้มข้น 2 mM

แถวที่ 7 เติม DTNB เข้มข้น 1 mM

แถวที่ 8 เติม Iodoacetic acid เข้มข้น 1 mM

ตารางที่ 15 ผลของสารยับยั้งชนิดต่างๆต่อการย่อยสลายตัวเองของกล้ามเนื้อปลาปาก
คมที่ผ่านการล้าง ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

สารยับยั้ง	ความเข้มข้น (มิลลิโมลาร์)	ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรด ไทรคลอโรอะซิติก* (ไมโครโมลต่อกรัม)
ซุคควาบัคม	0	4.24 ± 0.21 ^b
Pepstatin	1	2.76 ± 0.45 ^{bc}
EDTA	2	3.14 ± 0.21 ^{bc}
Iodoacetic acid	1	3.02 ± 0.40 ^{bc}
E-64	0.01	1.79 ± 0.42 ^a
Soybean trypsin inhibitor	0.01	2.69 ± 1.84 ^{bc}
N-Ethylmaleimide (NEM)	1	2.64 ± 0.07 ^{bc}
5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic Acid)(3,3'-6) (DTNB)	1	3.39 ± 0.23 ^{bc}

หมายเหตุ ตัวอักษร a, b และ bc ที่แตกต่างกันในสคริปต์เดียวกันบ่งชี้ความแตกต่างทาง
สถิติ (P<0.05)

*ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ 2 ครั้งๆละ 3 ซ้ำ

5. ผลของโปรตีนเติมแต่งต่อกิจกรรมการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้างและไม่ล้าง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของโปรตีนพลาสมาเลือดวัวและไข่ขาวผงดต่อการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน (ร้อยละ 0, 1, 2 และ 3 นน/นน.) ในสถานะที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และที่ไม่เติมเกลือ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที โดยการตรวจรูปแบบโปรตีนพบว่า โปรตีนพลาสมาเลือดวัวสามารถยับยั้งกิจกรรมการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้าง (รูปที่ 28 และ 29) และเนื้อปลาบดที่ไม่ผ่านการล้าง (รูปที่ 30 และ 31) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสามารถยับยั้งการย่อยสลายไมโอซินได้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 สำหรับชุดควบคุมซึ่งไม่เติมโปรตีนเติมแต่ง มีแถบไมโอซินที่ลดลงอย่างเด่นชัด ดังนั้นโปรตีนพลาสมาจากเลือดวัว สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนจากกล้ามเนื้อปลาปากคมได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการย่อยสลายของกล้ามเนื้อที่ผ่านการล้างและไม่ผ่านการล้าง ทั้งในสถานะที่มีเกลือและไม่มีเกลือ พบว่า โปรตีนพลาสมาเลือดวัวให้ประสิทธิภาพที่สูงกว่าเล็กน้อยในเนื้อปลาที่ผ่านการล้างเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อปลาที่ไม่ผ่านการล้าง สำหรับไข่ขาวผงด พบว่า ให้ผลเช่นเดียวกันกับโปรตีนพลาสมาจากเลือดวัว โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ไข่ขาวผงดสามารถยับยั้งกิจกรรมการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลาบดได้แต่มีประสิทธิภาพน้อยกว่าโปรตีนพลาสมาเลือดวัว ผลการทดลองสอดคล้องกับ Morrissey และคณะ (1993) ซึ่งพบว่า การเติมโปรตีนพลาสมาจากเลือดวัวในซูริมี ซึ่งผลิตจากปลา Pacific whiting ที่ความเข้มข้นเพียงร้อยละ 1 สามารถยับยั้งกิจกรรมการย่อยสลายตัวเองได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เมื่อตรวจวัดการย่อยสลายตัวเอง พบว่า ให้ผลเช่นเดียวกันกับการตรวจรูปแบบโปรตีนโดย SDS-PAGE โดยโปรตีนพลาสมาเลือดวัวสามารถยับยั้งกิจกรรมการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้างและไม่ล้าง ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (รูปที่ 32) เมื่อเปรียบเทียบกับไข่ขาวผงดที่ทุกระดับความเข้มข้น สำหรับเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้าง (รูปที่ 32ก) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1-3 ทั้งในสถานะที่เติมเกลือและไม่เติมเกลือร้อยละ 2.5 โปรตีนพลาสมาจากเลือดวัว ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการย่อยสลายตัวเองในช่วงร้อยละ 50.48-61.72 ส่วนไข่ขาวผงดให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเท่ากับร้อยละ

38.05-54.53 ส่วนเนื้อปลาที่ไม่ผ่านการล้าง (รูปที่ 32ข) พบว่า โปรตีนพลาสมาจากเลือด หัวและไข่ขาวผงที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1-3 ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการย่อยสลายตัวเองเท่ากับร้อยละ 61.54-71.02 และ 53.16-61.46 ในสถานะที่เติมเกลือ และไม่เติมเกลือร้อยละ 2.5 ตามลำดับ

ประสิทธิภาพการยับยั้งการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลาปากคมบดที่ผ่านและไม่ผ่านการล้าง พบว่า มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในสถานะที่มีเกลือ โซเดียมคลอไรด์ ทั้งนี้ อาจเนื่องจากเกลือที่เติมลงในเนื้อปลาบด อาจมีผลให้เอนไซม์โปรตีนเอสซูเลียสภาพธรรมชาติ ดังนั้นการเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเอส จึงน่าจะเกิดจากการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสบางส่วน ในขณะที่สารยับยั้งยังคงมีกิจกรรมเช่นเดิม ส่งผลให้กิจกรรมการยับยั้งโดยรวมเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การเติมเกลืออาจมีผลให้โปรตีนเกิดการคลายตัว ทำให้โปรตีนชนิดที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล มีโอกาสถูกยับยั้งโดยสารยับยั้งมากขึ้น ดังนั้นในสถานะที่มีเกลือสูงขึ้น จึงมีแนวโน้มให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเอสสูงขึ้น (รูปที่ 32)

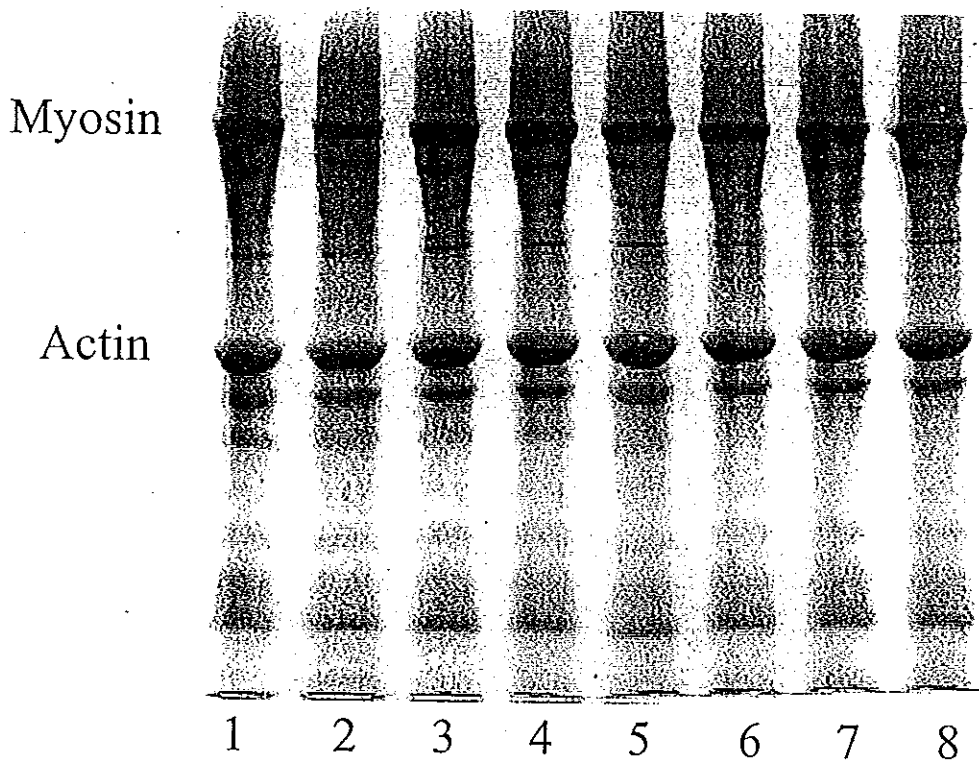
โปรตีนพลาสมาเลือดหัว ไข่ขาวผง และส่วนสกัดจากมันฝรั่ง จัดเป็นสารเติมแต่งอาหารที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตซูริมิ (Lanier, *et al.*, 1981; Hamann, *et al.*, 1990; Weerasinghe, *et al.*, 1996) Chang-Lee และคณะ (1989) พบว่า การเติมไข่ขาวผง ร้อยละ 3 ลงในซูริมิที่ผลิตจากปลา Pacific whiting มีผลปรับปรุงคุณภาพของเจลได้ดี

Hamann และคณะ (1990) ศึกษาความสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอส โดยเติมโปรตีนไฮโดรไลสจากพลาสมา และไข่ขาว ลงในซูริมิที่ผลิตจากปลา Atlantic menhaden พบว่า สามารถป้องกันการเกิดโมโดริ และเพิ่มความเค้นและความเครียด ในเจลซูริมิที่บ่มที่ 60 องศาเซลเซียส และให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส โดยพบว่าสารที่ทำหน้าที่ยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเอส คือ α_2 -macroglobulin ซึ่งเป็นโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในพลาสมา Morrissey และคณะ (1993) ศึกษาความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอส โดย โปรตีนพลาสมาจากเลือดหัว ไข่ขาวผง และสารสกัดจากมันฝรั่ง ในเนื้อปลา Pacific whiting บดและซูริมิพบว่า ประสิทธิภาพการยับยั้งของสารต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันในเนื้อปลาบด แต่ความสามารถยับยั้งเอนไซม์ในซูริมิจากปลาดังกล่าวแตกต่างกัน โดยโปรตีนพลาสมาจากเลือดหัว สามารถ

ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสได้สูงสุด รองลงมาคือ ไช้ขาวผง และสารสกัดจากมันฝรั่ง ตามลำดับ โดยปริมาณที่เหมาะสมคือ ร้อยละ 1

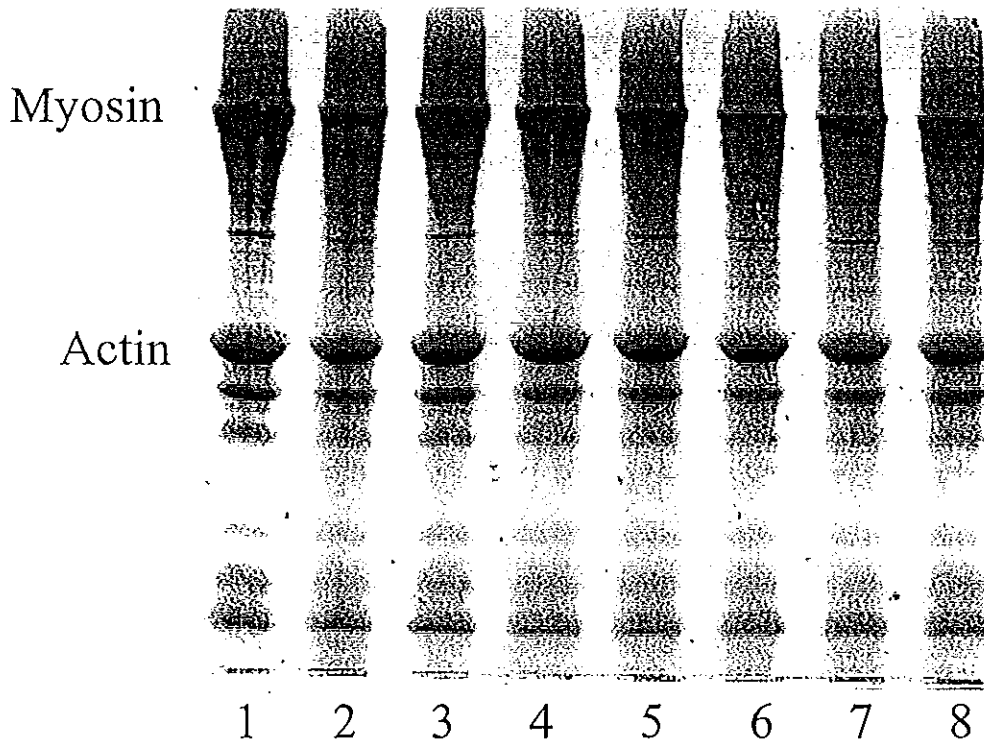
Weerasinghe และคณะ (1996) รายงานว่า โปรตีนพลาสมาเลือดวัวเป็นสารยับยั้งที่มีความจำเพาะต่อเอนไซม์ในกลุ่มซีสเทอีนโปรตีนเอส ส่วนไช้ขาวมีความจำเพาะต่อเอนไซม์ในกลุ่ม ซีรีนโปรตีนเอส อย่างไรก็ตาม Akazawa และคณะ (1993) และ Seymour และคณะ (1997) รายงานว่า โปรตีนพลาสมาจากเลือดวัวเป็นสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเอสที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนพลาสมาจากเลือดวัวจะประกอบด้วย α_2 -macroglobulin และ ไคนิโนเจน โดย α_2 -macroglobulin มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ในกลุ่มของ ซีสเทอีนโปรตีนเอส ซีรีนโปรตีนเอส แอซิดโปรตีนเอส และ เมททลโลโปรตีนเอส ส่วนไคนิโนเจนเป็นสารยับยั้งที่มีความจำเพาะต่อเอนไซม์ในกลุ่มซีสเทอีนโปรตีนเอส ดังนั้นส่งผลให้โปรตีนพลาสมาจากเลือดวัว มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ได้สูง นอกจากนี้โปรตีนพลาสมาจากเลือดวัวยังประกอบด้วยเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส (Factor XIII) ดังนั้นการเติมโปรตีนพลาสมาจากเลือดวัวในซูริมิ นอกจากมีผลในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสแล้ว ยังมีผลในการเพิ่มความแข็งแรงของเจล โดยเพิ่มความสามารถในการจับตัวรวมกันของโปรตีน โดยพันธะ ϵ -(γ - glutamyl)-lysine ซึ่งเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส (Seymour *et al.*, 1997)

จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า โปรตีนพลาสมาเลือดวัวมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเอสสูงกว่าไช้ขาว และความเข้มข้นร้อยละ 1 เพียงพอต่อการยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเอสซึ่งเร่งการเกิดการอ่อนตัวของเจล (โมโคริ)



รูปที่ 28 ผลของโปรตีนพลาสติกควัวและไข่ขาวผงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการย่อยสลายโปรตีนเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้างซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

แถวที่ 1 ไม่ผ่านการให้ความร้อน
 แถวที่ 2 ไม่เติมโปรตีนเติมแต่ง
 แถวที่ 3 BPP ร้อยละ 1
 แถวที่ 4 BPP ร้อยละ 2
 แถวที่ 5 BPP ร้อยละ 3
 แถวที่ 6 EW ร้อยละ 1
 แถวที่ 7 EW ร้อยละ 2
 แถวที่ 8 EW ร้อยละ 3



รูปที่ 29 ผลของโปรตีนพลาสมาเลือดวัวและไข่ขาวผงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆต่อการ
ย่อยสลายโปรตีนเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้าง และเติมเกลือ โซเดียมคลอไรด์
ร้อยละ 2.5 ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

แถวที่ 1 ไม่ผ่านการให้ความร้อน

แถวที่ 2 ไม่เติมโปรตีนเติมแต่ง

แถวที่ 3 BPP ร้อยละ 1

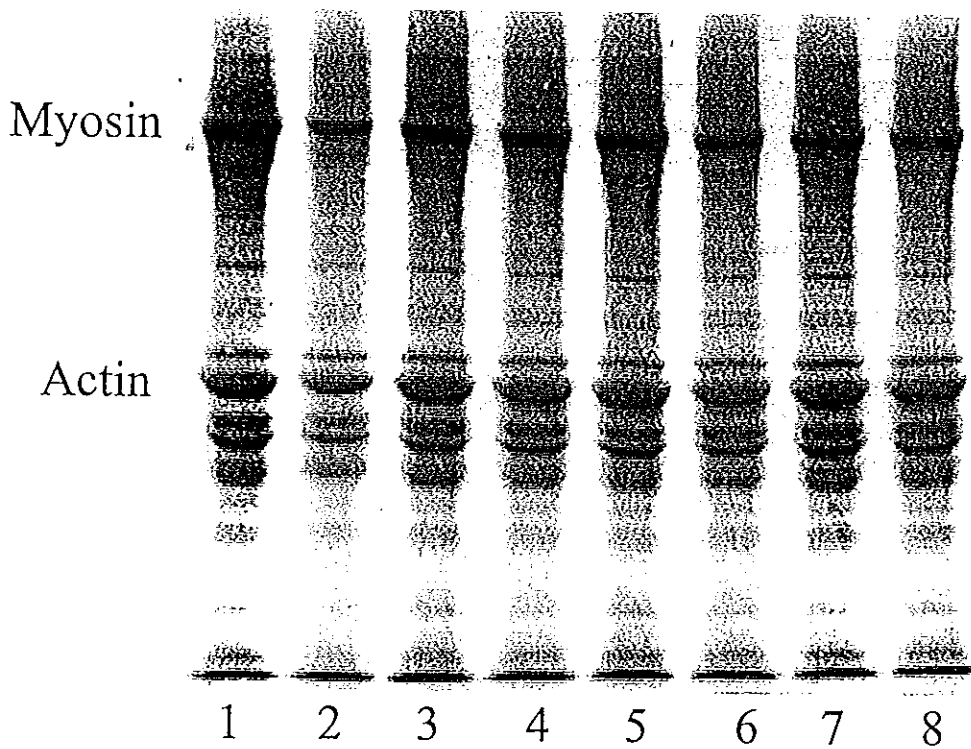
แถวที่ 4 BPP ร้อยละ 2

แถวที่ 5 BPP ร้อยละ 3

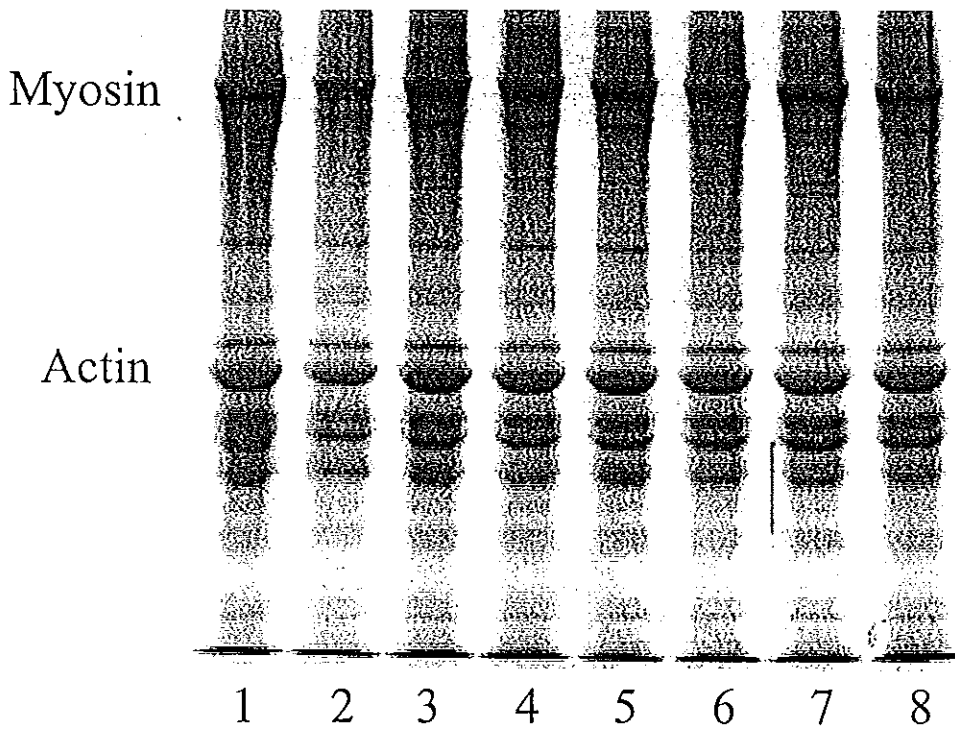
แถวที่ 6 EW ร้อยละ 1

แถวที่ 7 EW ร้อยละ 2

แถวที่ 8 EW ร้อยละ 3



รูปที่ 30 ผลของโปรตีนพลาสติกและไข่ขาวผงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆต่อการ
ย่อยสลายโปรตีนเนื้อปลาปากคมที่ไม่ผ่านการล้าง ซึ่งป๋มที่อุณหภูมิ 65 องศา
เซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที
แถวที่ 1 ไม่ผ่านการให้ความร้อน
แถวที่ 2 ไม่เติมโปรตีนเติมแต่ง
แถวที่ 3 BPP ร้อยละ 1
แถวที่ 4 BPP ร้อยละ 2
แถวที่ 5 BPP ร้อยละ 3
แถวที่ 6 EW ร้อยละ 1
แถวที่ 7 EW ร้อยละ 2
แถวที่ 8 EW ร้อยละ 3



รูปที่ 31 ผลของโปรตีนพลาสมาเลือดวัวและไข่ขาวผงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆต่อการย่อยสลายโปรตีนเนื้อปลาปากคมที่ไม่ผ่านการล้างและเติมเกลือ โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 ซึ่งป่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

แถวที่ 1 ไม่ผ่านการให้ความร้อน

แถวที่ 2 ไม่เติมโปรตีนเติมแต่ง

แถวที่ 3 BPP ร้อยละ 1

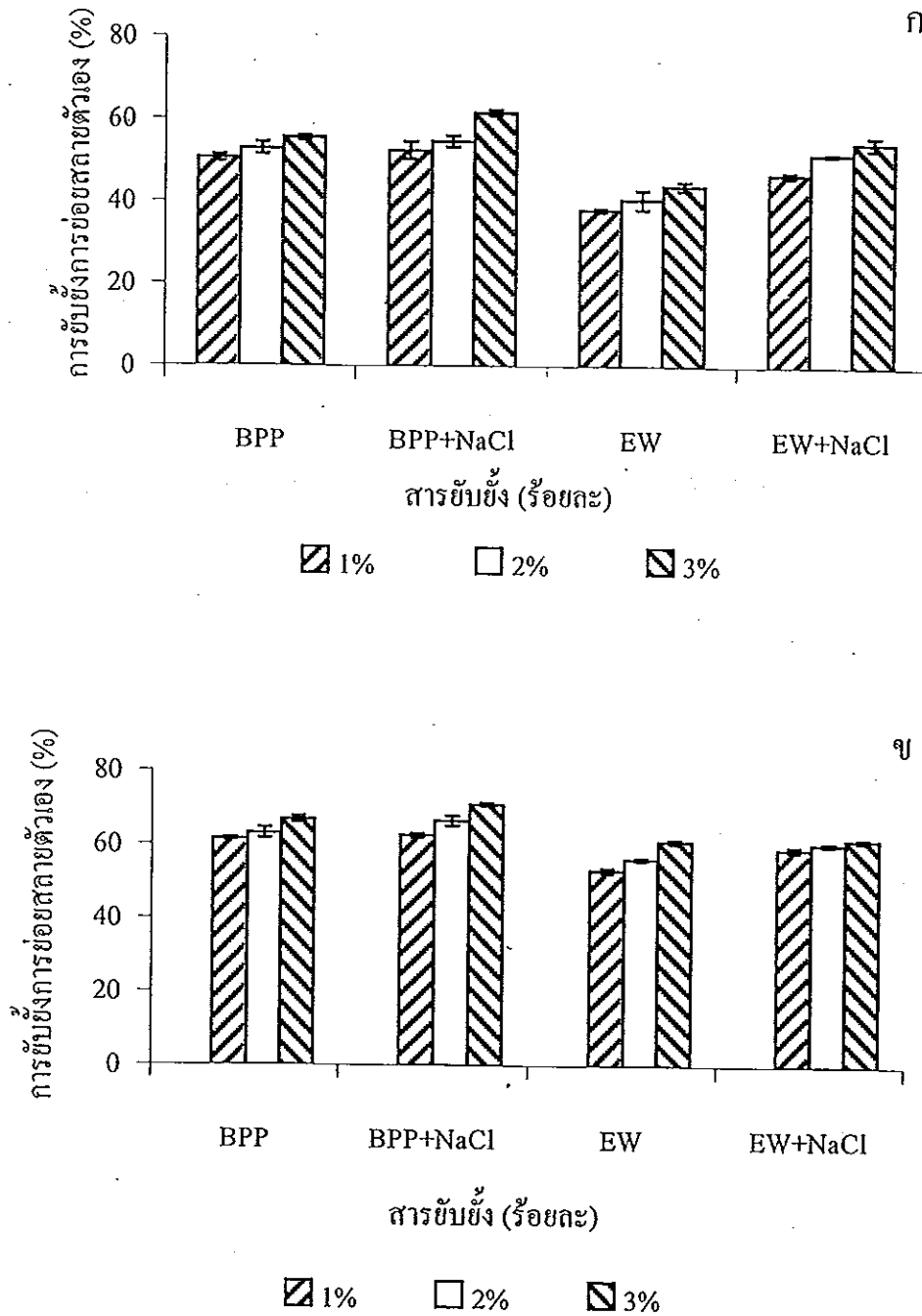
แถวที่ 4 BPP ร้อยละ 2

แถวที่ 5 BPP ร้อยละ 3

แถวที่ 6 EW ร้อยละ 1

แถวที่ 7 EW ร้อยละ 2

แถวที่ 8 EW ร้อยละ 3



รูปที่ 32 ผลของโปรตีนเติมแต่งต่อการย่อยสลายโปรตีนของเนื้อปลาปากคมที่ผ่านการล้าง (ก) และไม่ผ่านการล้าง (ข)

6. ผลของโปรตีนเติมแต่งต่อคุณสมบัติของเจลซูริมิจากปลาปากคม

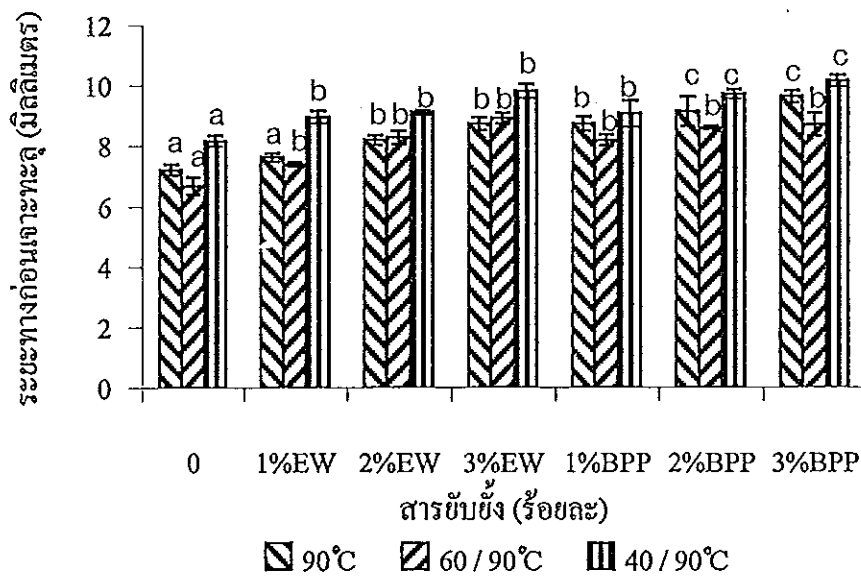
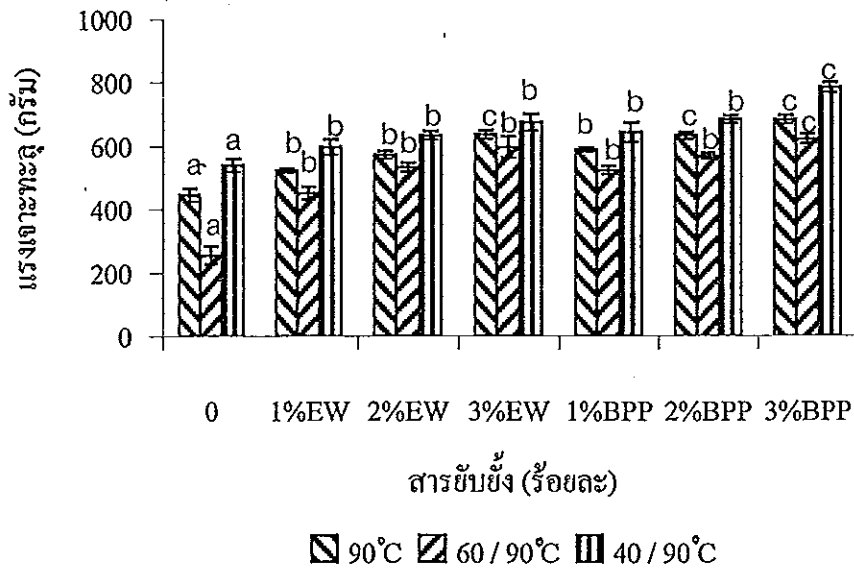
จากการศึกษาผลของโปรตีนเติมแต่ง (โปรตีนปลาสดเกลือคั่ว หรือไข่ขาวผง) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน (ร้อยละ 0, 1, 2 และ 3) ต่อความแข็งแรงของเจลซูริมิ ที่เตรียมโดยให้ความร้อนที่สถานะต่างๆ คือ ซูริมิที่ผ่านการแช่ตัวที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) ซูริมิที่บ่มที่อุณหภูมิซึ่งก่อให้เกิดโมโคริ (60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) และไม่ผ่านการแช่ตัว แล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส พบว่า ค่าแรงเจาะทะลุของเจลซูริมิที่เติมโปรตีนเติมแต่ง มีค่าสูงกว่าเจลซูริมิที่ไม่เติมโปรตีนเติมแต่ง ($P < 0.05$) (รูปที่ 33) การเติมโปรตีนเติมแต่งในปริมาณที่เพิ่มขึ้นมีผลเพิ่มแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุได้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น เจลซูริมิที่ไม่เติมโปรตีนเติมแต่งมีค่าแรงเจาะทะลุเท่ากับ 538.22 กรัม 254.96 กรัม และ 445.10 กรัม สำหรับเจลซูริมิที่ผ่านการแช่ตัวที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) เจลซึ่งบ่มที่อุณหภูมิที่ก่อให้เกิดโมโคริ (60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) และไม่ผ่านการแช่ตัว ตามลำดับ

สำหรับเจลซูริมิที่ผ่านการแช่ตัวที่อุณหภูมิสูงและเติมโปรตีนปลาสดเกลือคั่วที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 1, 2 และ 3 มีค่าแรงเจาะทะลุเพิ่มขึ้นร้อยละ 16.04 26.84 และ 45.00 ตามลำดับ เทียบกับชุดควบคุม และเจลซูริมิที่เติมไข่ขาวผงมีค่าแรงเจาะทะลุเพิ่มขึ้นร้อยละ 10.76 17.56 และ 25.36 ตามลำดับ โดยเจลซูริมิที่เติมโปรตีนปลาสดเกลือคั่วมีค่าแรงเจาะทะลุสูงกว่าเจลที่เติมไข่ขาวทั้งที่ผ่านการแช่และไม่แช่ตัว การเพิ่มของแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุ เห็นได้ชัดเจนในชุดการทดลองที่ผ่านการบ่มที่ 60 องศาเซลเซียสก่อนการให้ความร้อน โดยเจลที่ผ่านการเติมปลาสดเกลือคั่วที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 3 มีค่าแรงเจาะทะลุเพิ่มขึ้นร้อยละ 105.04 122.66 และ 143.88 ตามลำดับ ส่วนเจลที่ผ่านการเติมไข่ขาวผงที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 3 มีค่าแรงเจาะทะลุเพิ่มขึ้นร้อยละ 76.78 108.62 และ 133.86 ตามลำดับ จึงยืนยันได้ว่า โปรตีนปลาสดเกลือคั่วและไข่ขาวผงประกอบด้วยสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสที่มีประสิทธิภาพ

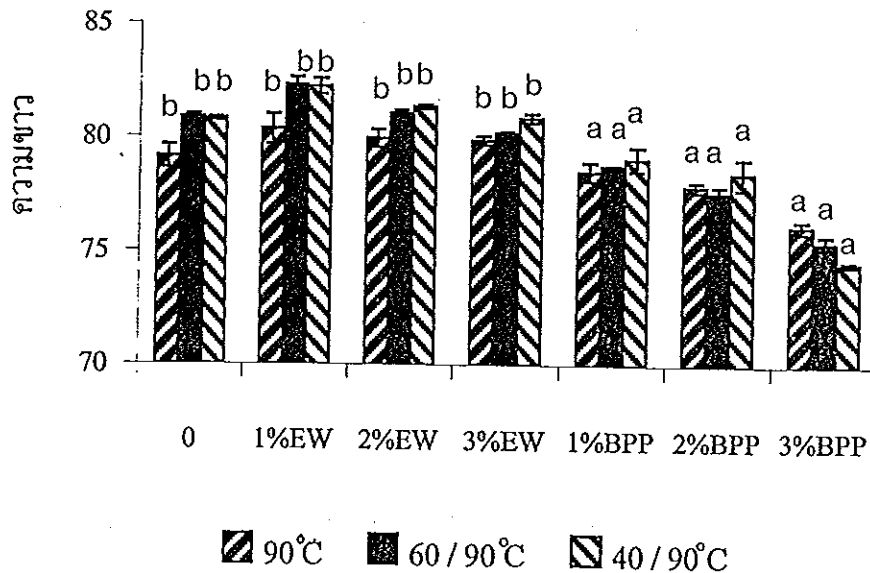
การเพิ่มความแข็งแรงของเจลในชุดการทดลองที่ผ่านการแช่ตัว (40 องศาเซลเซียส) โดยเฉพาะชุดการทดลองที่เติมปลาสดเกลือคั่วที่ระดับร้อยละ 3 อาจเนื่องจากเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากปลาสด (Factor xIII) มีบทบาทในการเชื่อมประสาน

โปรตีนได้เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ทั้งโปรตีนพลาสติกควัวและไข่ขาวผง สามารถทำหน้าที่เป็นสารเติมเต็มในช่องว่างของโครงข่ายเจล มีผลให้เจลมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 การใช้พลาสติกควัวสามารถเพิ่มแรงเฉาะทะลุของเจลที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ได้มากกว่าการใช้ไข่ขาวผง ดังนั้นประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ของโปรตีนพลาสติกควัวสูงกว่าไข่ขาว ซึ่งสอดคล้องกับผลในการยับยั้งการย่อยสลายตัวเอง (รูปที่ 28-32) อย่างไรก็ตามการใช้ความเข้มข้นสูงเกินไปอาจมีผลทำให้ความแข็งแรงของเจลซูริมิลดลง เนื่องจากส่งผลให้ความเข้มข้นของโปรตีนไมโอไฟบริลลดลง นอกจากนี้ความเข้มข้นของสารยับยั้งที่ใช้ในซูริมิจะแตกต่างกันไปในปลาแต่ละชนิด

สำหรับผลของการเติมพลาสติกควัวและไข่ขาวผงต่อค่าสีและความขาวของเจลซูริมิ (รูปที่ 34) พบว่า ความขาวของเจลซูริมิมีกาลดลงเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนพลาสติกมาจากเลือดควัวเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) โดยความขาวมีค่าต่ำสุดเมื่อเติมโปรตีนพลาสติกจากเลือดควัวที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยมีความขาวเท่ากับ 74.50-76.12 ทั้งนี้อาจเป็นผลจากรงควัตถุในพลาสติก นอกจากการเติมพลาสติกซึ่งประกอบด้วยกลูโคส อาจส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยามลลาร์ระหว่างกลูโคสและกรดอะมิโน ทั้งจากโปรตีนกล้ามเนื้อและโปรตีนจากพลาสติก โดยเฉพาะในระหว่างการให้ความร้อนในกระบวนการเกิดเจล ส่งผลให้เจลซูริมิมีความขาวลดลง ส่วนการเติมไข่ขาวที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 พบว่าทำให้เจลซูริมิมีความขาวเพิ่มขึ้นแต่ความขาวจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของไข่ขาวเพิ่มขึ้น (ร้อยละ 2 และ 3) Reppond และ Babbit (1993) พบว่าการใช้โปรตีนจากไข่ขาวผงโปรตีนพลาสติกควัว และส่วนสกัดจากมันฝรั่งในปริมาณร้อยละ 2 มีผลให้สีเหลืองของซูริมิจากปลา arrowtooth flounder เพิ่มขึ้น การใช้โปรตีนพลาสติกควัวในปริมาณที่สูงกว่าร้อยละ 1 พบว่ามีผลให้เกิดกลิ่นผิดปกติขึ้นในซูริมิ (Akazawa *et al.*, 1993) สำหรับไข่ขาวนอกจากมีราคาแพงแล้วพบว่า การใช้ไข่ขาวในปริมาณที่สูงกว่าร้อยละ 3 นั้นมักก่อให้เกิดกลิ่นไข้ขึ้นในซูริมิ (Chang-Lee, 1990; Porter *et al.*, 1993)



รูปที่ 33 ผลของโปรตีนเคมีมต่างต่อแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจล
 ชูริมิจากปลาปากคม
 หมายเหตุ อักษร a b และ c ที่แตกต่างกันภายใต้สภาวะการให้ความร้อนเดียวกันบ่งชี้
 ความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 34 ผลของโปรตีนเติมแต่งต่อความชื้นของเจลซูรีมิจากปลาปากคม
 หมายถึง ตัวอักษร a และ b ที่แตกต่างกันภายใต้สภาวะการให้ความร้อนเดียวกันบ่งชี้
 ความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

โครงสร้างจุลภาคของเจลซูรีมิ

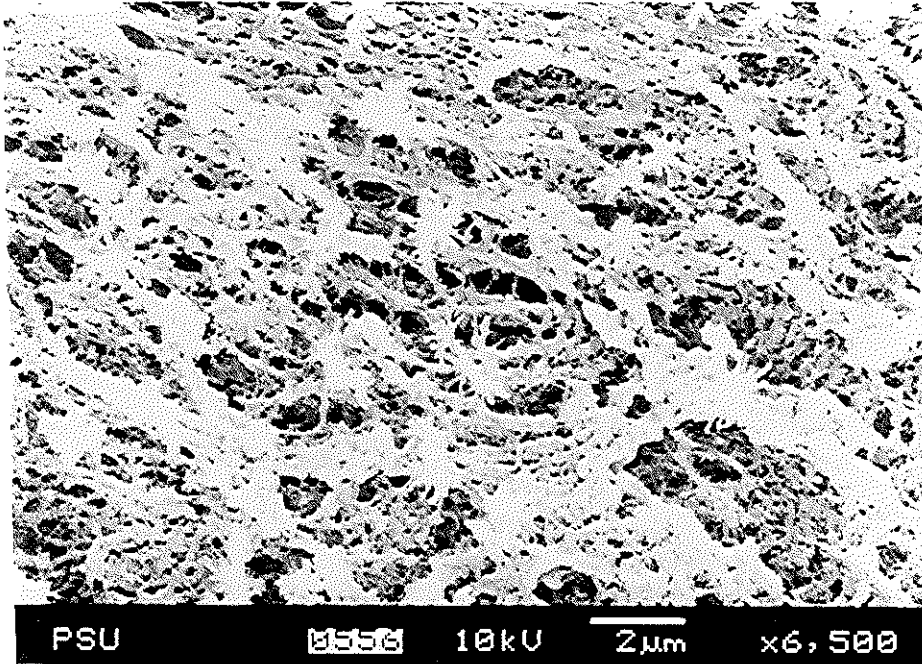
สำหรับการตรวจสอบโครงสร้างจุลภาคของเจลซูรีมิ ซึ่งผ่านการแช่ที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) ซูรีมิที่บ่มที่อุณหภูมิที่ก่อให้เกิดโมโครี (60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) และไม่ผ่านการแช่ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดย Scanning Electron Microscope (SEM) ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 35, 36 และ 37 ตามลำดับ พบว่า เจลซูรีมามีโครงสร้างที่แตกต่างกัน เจลซูรีมิซึ่งแช่ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วตามด้วยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที (รูปที่ 35) มีโครงสร้างของเจลที่มีลักษณะจับเรียงตัวกันอย่างมีระเบียบ ไม่มีช่องว่างขนาดใหญ่ภายในโครงสร้างเจล ทั้งนี้เนื่องจากการแช่ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดการคลายตัวของโปรตีนอย่างช้าๆ และเกิดการรวมตัวกันใหม่ของโปรตีนอย่างเป็นระเบียบ ส่งผลให้มีโครงร่างตาข่ายที่สามารถกักเก็บน้ำไว้ในโมเลกุลได้ นอกจากนี้การแช่ที่อุณหภูมิสูงส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส ทำให้มี

ปริมาณพันธะ ϵ -(γ -glutamyl)-lysine เพิ่มขึ้นในโครงข่ายสามมิติของเจล อันเป็นผลให้โปรตีนสามารถจับรวมตัวกันได้เพิ่มขึ้น ส่งผลให้เจลซูริมีมีความแข็งแรง นอกจากนี้การให้ความร้อนสูงเป็นผลให้โครงสร้าง α -helix ที่บริเวณส่วนหางของไมโอซิน เกิดการคลายตัวได้มากขึ้น และปลดปล่อยกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำออกมา ทำให้เกิดพันธะไฮโดรโฟบิกระหว่างโมเลกุลโปรตีน การจับเรียงตัวของโปรตีนเกิดได้ดีขึ้น นอกจากนี้การออกซิเดชันของหมู่ซัลไฟไฮดริล เกิดเป็นพันธะไดซัลไฟด์เพิ่มขึ้นในช่วงที่มีการเซ็ทตัว ส่งผลให้โครงสร้างตาข่ายของเจลมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น

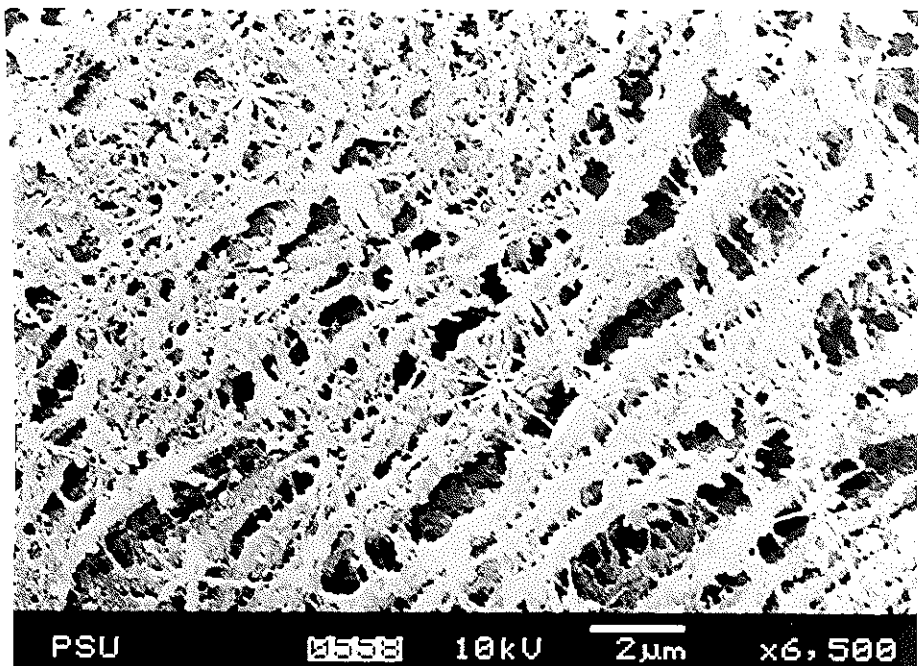
ซูริมีที่ไม่ผ่านการเซ็ทตัวแล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสนาน 20 นาที (รูปที่ 36) มีโครงสร้างของเจลที่มีความเป็นระเบียบน้อยกว่าเจลซูริมีที่ผ่านการเซ็ทตัวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อาจเนื่องจากการจับเรียงกันของโมเลกุลโปรตีนเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว โครงสร้างเจลจึงไม่มีความต่อเนื่อง การรวมตัวของโมเลกุลโปรตีนเกิดจากอันตรกิริยาระหว่างหมู่ไฮโดรโฟบิก ซึ่งถูกปลดปล่อยในขณะที่โปรตีนเกิดการคลายตัวระหว่างการให้ความร้อนสูง โดยทั่วไปเจลซูริมีที่ไม่ผ่านการเซ็ทตัวมีความแข็งแรงต่ำกว่าเจลที่ผ่านการเซ็ทตัว

ส่วนเจลซูริมีซึ่งบ่มที่อุณหภูมิที่ก่อให้เกิดโมโครี (60 องศาเซลเซียส) (รูปที่ 37) มีโครงสร้างของเจลที่มีลักษณะเป็นช่องว่างขนาดใหญ่และไม่สม่ำเสมอ การจัดเรียงตัวของโปรตีนไม่เป็นระเบียบ เนื่องจากที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เอนไซม์โปรตีนเอสที่พบอยู่ในกล้ามเนื้อปลา สามารถการย่อยสลายโปรตีนไมโอซินซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในการเกิดเจล ส่งผลให้การจัดเรียงตัวเป็นโครงข่ายตาข่ายเกิดขึ้นได้น้อยลง รวมทั้งมีผลในการกักเก็บน้ำในโครงข่ายลดลง

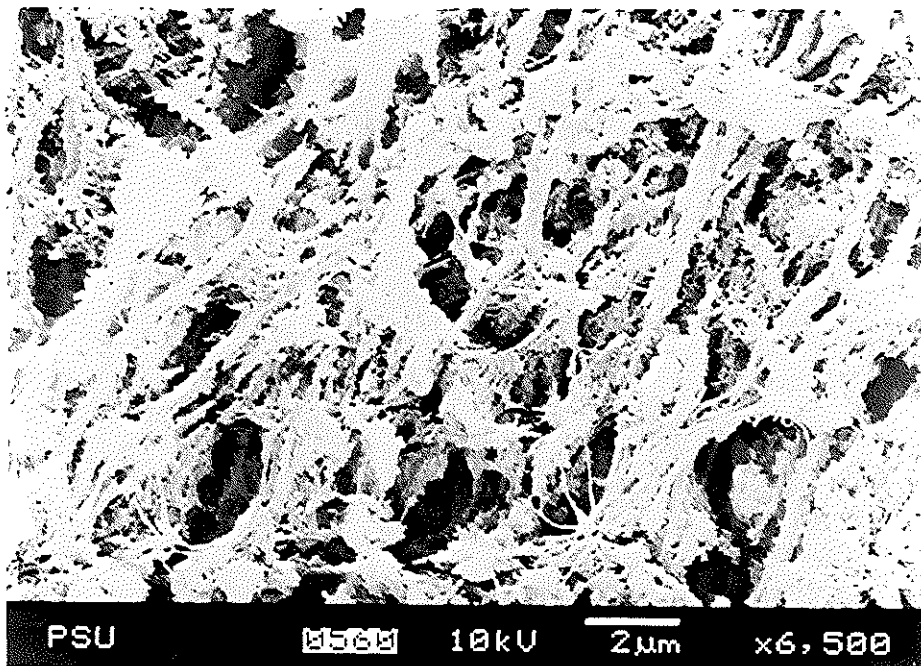
ดังนั้นความแข็งแรงของเจลซูริมี ขึ้นอยู่กับสถานะในการให้ความร้อน ซูริมีที่มีการเซ็ทตัวก่อนการให้ความร้อนส่งผลให้เจลมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น และควรหลีกเลี่ยงการให้ความร้อนแก่เจลซูริมีในช่วงอุณหภูมิที่ก่อให้เกิดโมโครี ซึ่งมีผลให้เจลมีความแข็งแรงลดลง



รูปที่ 35 โครงสร้างจุลภาคของเจลซูริมิที่เซ็ดตัวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ตามด้วยการให้ความร้อนอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที



รูปที่ 36 โครงสร้างจุลภาคของเจลซูริมิที่ไม่เซ็ดตัวและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศา



รูปที่ 37 โครงสร้างจุลภาคของเจลซูริมิที่ป่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
ตามด้วยการให้ความร้อนอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

1. กล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัว มีการเสื่อมเสียสูงกว่าปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบตัดหัวควักไส้ ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 15 วัน เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัว มีปริมาณกรดแอลฟาอะมิโนอิสระ ปริมาณค่าที่ระเหยได้ ไตรเมทิลเอมีน และฟอร์มาลดีไฮด์ เพิ่มในอัตราที่สูงกว่าปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบตัดหัวควักไส้ ไมโอซินของกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัว เกิดการย่อยสลายสูงกว่ากล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบตัดหัวควักไส้ แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของ Ca^{2+} -ATPase Mg^{2+} - Ca^{2+} -ATPase หรือ Mg^{2+} -ATPase ส่วน Mg^{2+} -EGTA-ATPase มีกิจกรรมเพิ่มขึ้นซึ่งบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงของโทรโปนิน-โทรโปไมโอซินในกล้ามเนื้อ

2. ค่าแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุ รวมทั้งความขาวของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 15 วัน มีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเจลซูริมิที่เตรียมจากปลาที่เก็บรักษาแบบทั้งตัว และแบบตัดหัวควักไส้ ค่าแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิที่เตรียมจากปลาที่เก็บรักษาแบบตัดหัวควักไส้มีค่าสูงกว่าเจลซูริมิที่เตรียมจากปลาที่เก็บรักษาแบบทั้งตัว

3. เอนไซม์โปรตีนเนสส่วนใหญ่ในของเหลวซาร์โคพลาสมิก จัดเป็นซีสเตอีนโปรตีนเนส ซึ่งมีพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงาน เท่ากับ 8 และ 65 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เอนไซม์มีความคงตัวต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส และที่พีเอช 7 - 8 เอนไซม์โปรตีนเนสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริลจัดเป็นซีสเตอีนและซีรีนโปรตีนเนส สามารถย่อยสลายโปรตีนได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

4. โพรตีนพลาสติกจากเลือดวัวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเนสในเนื้อปลาปากคมบดที่ผ่านการล้างและไม่ล้างสูงกว่าไข่ขาวผง โดยเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นประสิทธิภาพในการยับยั้งเพิ่มขึ้น โพรตีนพลาสติกจากเลือดวัวและไข่ขาวผงสามารถเพิ่มความแข็งแรงของเจลซูริมี โดยสามารถลดการย่อยสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อ การเติมโปรตีนพลาสติกจากเลือดวัวให้คุณสมบัติของเจลที่สูงกว่าการใช้ไข่ขาว ทั้งนี้อาจเป็นผลจากประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเนสที่สูงกว่า รวมทั้งความสามารถในการเชื่อมโยงโปรตีนของเอนไซม์ ทรานส์กลูตามิเนสในพลาสติก แต่การเติมโปรตีนเติมแต่งทั้งสองชนิดมีผลให้ความขาวของเจลลดลง

เอกสารอ้างอิง

- ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2537. สถิติสำหรับการวิจัยทางเกษตร. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา. 278 หน้า.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2533. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เนื้อปลาบด (ซูริมิ) เข็อกแข็ง ม.อ.ก. 935-2533.
- สุนิสา สิริภควนิช, มณฑล เอี่ยมสะอาด และ ปรีชา สมมณี. 2535. การเจริญเติบโตของ ปลาปากคมจุด ; (*Saurida undosquamis*) บริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันตกตอนบน. ว. การประมง 26 : 133-137.
- สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2536. ซูริมิและผลิตภัณฑ์จากซูริมิ. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 147 หน้า.
- สุทธวัฒน์ เบญจกุล และ วรรณพ วิเศษสงวน. 2541. บทบาทของเอนไซม์ในซูริมิ: โมโครี. อาหาร. 28 : 236-244.
- Aguilar-Pacheco, R., Sanchez-Lugo, M.E. and Robles-Burgueno, M.R. 2000. Postmortem biochemical and functional characteristic of monterey sardine muscle store at 0°C. J. Food Sci. 65 : 45-47.
- Akazawa, H., Miyauchi, Y., Sakurada, K., Wasson, K.H. and Reppond, K.D. 1993. Evaluation of protease inhibitors in Pacific whiting surimi. J. Aquat. Food Prod. Technol. 2 (3) : 79-95.
- Alvarez, C., Couso, I., and Tejada, M. 1995. Sardine surimi gels as affected by salt concentration, blending, heat treatment and moisture. J. Food Sci. 60 : 622-626.
- Alvarez, C., Couso, I. and Tejada, M. 1999. Thermal gel degradation (modori) in sardine surimi gels. J. Food Sci. 64 : 633-637.
- Almas, K.A. 1981. Chemistry and Microbiology of Fish Proceeding. Dept. of Biochemistry, Norwegian Inst. of Technol. Univ. of Trondheim. Norway.
- An, H., Peters, M.Y. and Seymour, T.A. 1996. Role of endogenous enzymes on surimi gelation. Trends Food Sci. Technol. 7 : 321-327.

- An, H., Seymour, T.A., Wu, J.W. and Morrissey, M.T. 1994a. Assay systems and characterization of Pacific whiting (*Merluccius productus*) protease. *J. Food Sci.* 59 : 277-281.
- An, H., Weerasinghe, V., Seymour, T.A. and Morrissey, M.T. 1994b. Cathepsin degradation of Pacific whiting surimi proteins. *J. Food Sci.* 59 : 1013-1017.
- Ando, M., Nishiyabu, A., Tsukamasa, Y. and Makinodan, Y. 1999. Post-mortem softening of fish muscle during chilled storage as affected by bleeding. *J. Food Sci.* 64 : 423-428.
- Ang, J.W. and Hultin, H.O. 1989. Denaturation of cod myosin during freezing after modification with formaldehyde. *J. Food Sci.* 54 : 814-818.
- A.O.A.C. 1991. Official Method of Analysis 14th ed. Association of Agricultural Chemists. Washington DC.
- Araki, H. and Seki, N. 1993. Comparison of reactivity of transglutaminase to various fish actomyosins. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 95 : 711-716.
- Barrett, A.J. and Starkey, P.M. 1973. The interaction of α_2 -macroglobulin with proteinase. *Biochem. J.* 133 : 709-724.
- Barrett, A.J., Rawlings, N.D., Davies, M.E., Machleidt, W., Salvesen, G. and Turk, V. 1986. Cysteine Proteinase Inhibitors of the Cystatin Superfamily. *In* Proteinase Inhibitors. (Barrett, A.J. and Salvesen, G. eds.). p. 515. Elsevier Science Publishers B.V. (Biochemical Division). Amsterdam.
- Barrett, A.J. 1987. The cystatins : a new class of peptidase inhibitors. *Trends Biochem. Sci.* 12 : 193-196
- Beas, V.E., Crupkin, M. and Trucco, R.E. 1988. Gelling properties of actomyosin from pre-and post-spawning hake. *J. Food Sci.* 53 : 1322-1326.
- Benjakul, S. and Morrissey, M.T. 1997. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. *J. Agric. Food Chem.* 45 : 3423-3430.

- Benjakul, S., Seymour, T.A., Morrissey, M.T. and An, H. 1997. Physicochemical changes in Pacific whiting muscle proteins during iced storage. *J. Food Sci.* 62 : 729-733.
- Benjakul, S. and Visessanguan, W. 2000. Pig plasma protein : potential use as proteinase for surimi manufacture : inhibitory activity and the active component. *J. Sci. Food Agric.* 80 : 1315-1356.
- Bertak, J.A. and Karahadian, C. 1995. Surimi-based imitation crab characteristic affected by heating method and end point temperature. *J. Food Sci.* 60 : 292-296.
- Bonete, M.J., Manjon, A., Llorca, R. and Iborra, J.L. 1984. Acid proteinase activity in fish II purification and characterization of cathepsins B and D from *Mujil auratus* muscle. *Comp. Biochem. Physiol.* 78 : 207-213.
- Bound, S. and Butler, P.E. 1987. Intracellular Proteinases in Lysosomes : their Role *In* Protein Breakdown (Glaumann, H. and Ballard, F.J. eds.). p. 333-364. Academic Press. New York.
- Boye, S.W. and Lanier, T.C. 1988. Effects of heat-stable alkaline protease activity of Atlantic menhaden (*Brevoortia tyrannus*) on surimi gels. *J. Food Sci.* 53 : 1340-1342.
- Careche, M. and Li-Chan E.C.Y. 1997. Structural changes in cod myosin after modification with formaldehyde or frozen storage. *J. Food Sci.* 57 : 906-912.
- Chan, J.K., Gill, T.A. and Paulson, A.T. 1992a. Cross-linking of myosin heavy chains from cod herring and silver hake during thermal setting. *J. Food Sci.* 62 : 717-723.
- Chan, J.K., Gill, T.A. and Paulson, A.T. 1992b. The dynamic of thermal denaturation of fish myosin. *Food Res. Inter.* 25 : 117-123.
- Chan, J.K., Gill, T.A. and Paulson, A.T. 1993. Thermal aggregation of myosin subfragments from cod and herring. *J. Food Sci.* 58 : 1057-1061.

- 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., Pacheco-Aguilar, Lampila L.E. and Crawford, D.L. 1989. Proteolytic activity of surimi from Pacific whiting (*Merluccius productus*) and heat set gel texture. *J. Food Sci.* 54 : 1116-1119.
- 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.
- Chung, Y.C., Richardson, L. and Morrissey, M.T. 1993. Effect of pH and NaCl on gel strength of Pacific whiting surimi. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 2 (3) : 19-35.
- Chen, H.H. 1995. Thermal stability and gel-forming ability of shark muscle as related to ionic strength. *J. Food Sci.* 60 : 1237-1240.
- Chen, 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.
- Choi, Y.J., Lanier, T.C., Lee, H.G. and Cho, Y.J. 1999. Purification and characterization of alkaline proteinase from Atlantic menhaden muscle. *Food Technol.* 64 (4) : 768-771.
- Connell, J.J. 1975. *Control of Fish Quality*. Fishing News Books, Ltd. Surrey. 783 p.
- Connell, J.J., Laird, W.M., Mackie, I.M. and Ritchie, A.H. 1978. Changes in proteins during frozen storage of cod as detected by SDS-electrophoresis. *Proc. : V Int. Congress Food Sci. Technol.*
- Connell, J.J. 1990. *Control of Fish Quality*. 3rd ed. Fishing News Books, Ltd. London. 179 p.

- Connell, J.J. 1995. Control of Fish Quality. 4th ed. Fishing News Books, Ltd. UK.
65 p.
- Damodarn, S. 1996. Amino Acids Peptides and Proteins. *In* Food Chemistry (Fennema, O.R., ed.). p. 321-430. Marcel Dekker. New York.
- Douglas-Schwarz, 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.
- Foegeding, E.A., Lanier, T.C. and Hultin, H.O. 1986. Characteristics of Edible Muscle Tissue. *In* Food Chemistry (ed. O.R. Fennema) pp. 879-942. Marcel Dekker. New York.
- Folco, E.J., Busconi, L., Martone, C.B., Trucco, R.E. and Sanchez, J.J. 1988. Fish skeletal muscle contains a novel serine proteinase with an unusual subunit composition. *J. Biochem.* 263 : 471-475.
- Funatsu, Y. and Aria, K. 1991. The pH-dependence of changes in gel forming ability and myosin heavy chain of salt-ground meat from walleye pollack. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 59 : 1599-1607.
- Funatsu, Y. Hosokawa, H., Nanbu, S. and Aria, K. 1993. Effect of sorbitol on gelation and cross-linking of myosin heavy chain of salt-ground meat from walleye pollack. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 59 : 1599-1607.
- Gilleland, G.M., Lanier, T.C. and Hamann, D.D. 1997. Covalent bonding in pressure-induced fish protein gels. *J. Food Sci.* 62 : 713-716.
- Gokodlu N., Ozden, O. and Erkan, N. 1988. Physical chemical and sensory analyses of freshly harvested sardines (*Sardina pilchardus*) stored at 4°C. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 7 (4) : 5-15.
- Gomez-Guillen, M.C., Borderias A.J. and Montero P. 1996. Rheological properties of gels made from high- and low-quality sardine (*Sardine pilchardus*) mince with added nonmuscle proteins. *J. Agric. Food Chem.* 44 : 746-750.

- Govindarajan, S., Hultin, H.O. and Kotula, A.W. 1977. Myoglobin oxidation in ground beef : mechanistic studies. *J. Food Sci.* 42 : 571-575.
- Grantham, G.J. 1981. Minced Fish Technology. A review. No. 216. FAO Fisheries Tech. FAO United Nations. Rome.
- Green, D.H. and Babitt, J.K. 1990. Control of muscle softening and protease-parasite interaction in arrowtooth flounder (*Atheresinghe stomaias*) *J. Food Sci.* 55 : 579-580.
- Haard, N.F., Simpson, B.K. and Sikorski, Z.E. 1994. Biotechnological Applications of Seafood Protein and other Nitrogenous Compounds. *In* Seafood Protein. (Sikorski, Z.E., Pan B.S., and Shihidi, F. eds.). p. 194-216. Chapman&Hall. New York.
- Haard, N.F. and Simpson, B.K. 1994. Fisheries Processing. *In* Biotechnology Applications. Chapman&Hall Publishing. London.
- Haard, N.F. and Warren, J.F. 1985. Influence of Holding Fillets From Undersize Atlantic cod (*Gadus morhua*) at 0°C or -3°C on the Yield and Quality of Surimi. *In* Processing of the International Symposium on Engineered Seafood Including Surimi. (Martin, R.E. and Collette, R.L. eds.). p.92. National Fisheries Institute. Washigton, D.C.
- Hamann, D.D., Amato, P.M., Wu, M.X. and Foegeding, E.A. 1990. Inhibition of modori (gel weakening) in surimi by plasma hydrolysate and egg white. *J. Food Sci.* 55 : 665-669.
- Hamann, D.D. and MacDonald, G.A. 1992. Rheology and Texture Properties of Surimi and Surimi-based Foods. *In* Surimi Technology (Lanier, T. C. and Lee, C.M. eds.). p. 429-500. Marcel Dekker. New York.
- Hashimoto, K., Watabe, S., Kono, M. and Shiro, K. 1979. Muscle protein composition of sardine and mackerel. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 45 : 1435-1441.

- Hara, K., Suzumatsu A. and Ishihara T. Purification and characterization of cathepsin B from carp ordinary muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 54 : 1243-1252.
- Hebard, C.E., Flick, G.J. and Martin, R.E. 1982. Occurrence and significance of Trimethylamine Oxide and its Derivatives in Fish and Shellfish. *In* Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products. (Martin, R.E., Flick, G.J., Hebard, C.E. and Ward, D.R. eds.). p. 149-304. AVI Publishing Company. Westport .
- Hsu, S.Y. 1989. Optimization of surimi processing systems : effect of major unit operations. *J. Food Eng.* 103-108.
- Hsu, S.Y. 1990. Effect of frozen storage and other processing factors on the quality of surimi. *J. Food Sci.* 55 : 661-664.
- Huidobro, A. and Tejada, M. 1993. Emulsifying capacity of fish mince from several species during frozen storage. *J. Sci. Food Agric.* 61 : 333-338.
- Hultin, H.O. 1992. Trimethylamine-N-Oxide (TMAO) demethylation and Protein Denaturation in Fish Muscle. *In* Advances in Seafood Biochemistry Composition and Quality. (Flick, G.J. and Martin, M.E. eds.). p. 25-42. Technomic Publishing Co: Lancaster-Basel.
- Hultin, H.O. and Kelleher, S.D. 2000. Surimi Processing from Dark Muscle Fish. *In* Surimi and Surimi Seafood. (Park, J.W., ed.). p. 55-77. Marcel Dekker. New York.
- Huss, H.H. 1988. Fresh Fish-quality and Quality Changes. FAO. Fisheries Series. FAO. Rome.
- International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBM), Nomenclature Committee. 1992. Hydrolases. *In* Enzyme Nomenclature. p. 371-421. Academic Press. London.

- Ishikawa, N., Nakamura, H., and Fujii, Y. 1997. Characteristics of Fish Meat and Fish Protein. *In* Fish and Krill Protein : Processing Technogy. (Suzuki, T., ed.). p. 1-56. Applied Science. London.
- Ishioroshi, M., Şamejima, K. and Yasui, T. 1982. Further studies on roles of the head and tail regions of the myosin molecule in heat-induced gelation. *J. Food Sci.* 47 : 114-120.
- Itoh, T., Kidata, N., Yamada, N., Seki, N. and Arai, K. 1990. Biochemical changes of Alaska pollock caused by soaking in NaCl solution. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 56 : 687-693.
- Itoh, Y., Maekawa, T., Suwansakornkul, P. and Obatake, A. 1995. Seasonal variation of gel forming characteristics of three lizardfish species. *Fish. Sci.* 61 : 942-947.
- Jahncke, M., Baker, R.C. and Regenstein, J.M. 1992. Frozen storage of unwashed cod (*Gadus morhua*) frame mince with and without kidney tissue. *J. Food Sci.* 55 : 575-580.
- Jiang, S.T., Wang, Y.T., Gau, B.S. and Chen, C.S. 1990. Role of pepstatin sensitive proteases on the postmortem changes of tilapia (*Tilapia nilotica x Tilapia aurea*) muscle myofibrils. *J. Agric. Food Chem.* 38 : 1416-1468.
- Jiang, S.T. and Lee, J.J. 1992. Purification, characterization, and utilization of pig plasma factor XIIIa. *J. Agric. Food. Chem.* 40 : 1101-1107.
- Jiang, S.T., Lee, B.L. Tsao, C.Y. and Lee, J.J. 1997. Mackerel cathepsins B and L effect on thermal degradation of surimi. *J. Food Sci.* 62 : 310-315.
- Jiang, S.T., Hsieh, J.F., Ho, M.L. and Chung, Y.C. 2000. Microbial transglutaminase affects gel properties of golden threadfin-bream and pollack surimi. *J. Food Sci.* 65 : 694-699.
- Jensen, L.B. 1945. *Microbiology of meat.* 2nd Ed. Garrard Press, Champaign.

- Kamath, G.G., Lanier, T.C., Foegeding, E.A. and Hamann, D.D. 1992. Nondisulfide covalent cross-linking of myosin heavy chain in "setting" of Alaska pollock and Atlantic croaker surimi. *J. Food Biochem.* 16 : 151-172.
- Kang, Ik-Soon, K. and Lanier, T.C. 2000. Heat-induced softening of surimi gels by proteinases. *In Surimi and Surimi Seafood*, (Park, J. W. ed.). p. 343-392. Marcel Dekker. New York.
- Kimura, I., Sugimoto, M., Toyoda, K., Seki, N., Arai, K.I. and Fugita, T. 1991. A study on the cross-linking reaction of myosin in kamaboko "suwari" gels. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 57 : 1389-1396.
- Kinoskita, M., Toyohara, H. and Shimizu, Y. 1990a. Diverse distribution of four distinct types of modori (gel degradation) inducing proteinase among fish species. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 56 : 1485-1492.
- Kinoskita, M., Toyohara, H. and Shimizu, Y. 1990b. Purification and properties of a novel latent proteinase showing myosin heavy chain degradation activity from theradfin-bream muscle. *J. Biochem.* 107 : 587-591.
- Kinoskita, M., Toyohara, H. and Shimizu, Y. 1990c. Characterization of two distinct latent proteinases associated with myofibrils of crucian carp (*Carassius auratus Cuvieri*). *Comp. Biochem. Physiol.* 97 : 315-319.
- Kinoskita, M., Toyohara, H. and Shimizu, Y. 1991. Modori-phenomenon (thermal gel degradation) by a latent serine proteinase. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 57 : 1935-1938.
- Kirschke, H. and Barrett, A.J. 1987. Chemistry of Lysosomal Proteinase. *In Lysosome : Their Role in Protein Breakdown.*(Glaumann, H. and Ballard, F.J. eds.). Academic Press. New York.
- Kolodziejaska, I. and Sikorski, Z.E. 1996. Neutral and alkaline muscle proteinase of marine fish and invertebrates : a review. *J. Food Biochem.* 22 : 349-363.

- Konakaya, S. 1982. Enhanced protease activity in muscle of chum salmon (*Onchorhynchus keta*) during spawning migration. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 48 : 1503-1510.
- Kongpun, O. 1996. Yield and quality of surimi from hybrid clarias catfish (*Clarias macrocephalus x C. gariepinus*) and the effect of additives on gel forming ability. *Thai Fisheries Gazette*. 49 : 48-54.
- Kongpun, O. 1999. The gel forming ability of washed and unwashed fish meat (Lizardfish and *Nile tilapia*). *J. Nat. Sci.* 33 : 258-269.
- Kumazawa, Y., Nakanishi, K., Yasueda, H., Motoki, M. 1996. Purification and characterization of transglutaminase from walleye pollack liver. *Fish. Sci.* 62 : 959-964.
- Kurokawa, T. 1979. Kamaboko-forming ability of frozen and ice storage lizardfish. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 45 : 1551-1555.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structure proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *Nature*. 227 : 65-69.
- Lanier, T.C., Lin, T. S., Hamann, D.D. and Thomas, F.B. 1981. Effects of alkaline protease in mince fish on texture of heat-processed gels. *J. Food Sci.* 47 : 1643-1649.
- 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., MacDonald, G.A. and Scott, D.N. 1988. Surimi technology workshop notes. Nelson New Zealand. July 19-21, 1988. p. 131.
- Lanier, T. C. 1997. The Science of Surimi. *In Surimi and Surimi Seafood*. 25-27 March 1997. p. 254-283. Oregon State Univ.

- Lanier, T. C. 1992. Measurement of Surimi Composition and Functional Properties. *In* Surimi Technology. (Lanier, T. C. and Lee, C.M. eds.). p. 123-163. Marcel Dekker. New York.
- Lanier, T.C. 2000. Surimi gelation chemistry. *In* Surimi and Surimi Seafood, (Park, J. W. ed.). p. 343-392. Marcel Dekker. New York.
- Lee, C.M. 1984. Surimi processing technology. *Food Technol.* 38 (11) : 69-73.
- Lee, C.M. 1986. Surimi manufacturing and fabrication of surimi-based products. *Food Technol.* 40 (3) : 115-124.
- Lee, C.M. 1994. Surimi Processing from Lean Fish. *In* Seafood : Chemistry Processing Technology and Quality. (Shahidi, F. and Botta J.K. eds.). p. 263-287. Blackie Academic. New York.
- Lee, H.G., Lanier, T.C., Hamann, D.D. and Knopp, J.A. 1997. Transglutaminase effects on low temperature gelation of fish protein sols. *J. Food Sci.* 62 : 20-24.
- Lee, J.J., Chen, H.C. and Jiang, S.T. 1993. Purification and characterization of proteinase identified as cathepsin L and L-like (58Lda) proteinase from mackerel (*Scomber australis*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 57 : 1470-1476.
- Lee, N. and Park, J.W. 1998. Calcium compounds to improve gel functionality of Pacific whiting and Alaska pollock surimi. *J. Food Sci.* 63 : 969-974.
- Lin, T.S. and Lanier, T.C. 1980. Properties of an alkaline protease from the skeletal muscle of Atlantic croaker. *J. Food Sci.* 4 : 17-28.
- Lin, D. and Morrissey, M.T. 1995. Northern squawfish (*Ptychocheilus oregonensis*) for surimi production. *J. Food Sci.* 60 : 1245-1247.
- Lin, T.M. and Park, J.W. 1996. Protein solubility in Pacific whiting affected by proteolysis during storage. *J. Food Sci.* 61 : 536-539.
- Loffler, A. 1986. Proteolytic enzymes sources and application. *Food Technol.* 40 (3) : 63-70.

- 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., Stevens, J. and Lanier, T.C. 1994. Characterization of New Zealand hoki and Southern blue whiting surimi compared to Alaska pollock surimi. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 3 :19-38.
- Mackie, I.M. 1994. Fish Protein. *In* New and Developing Sources of Food Proteins. (Hudson, B.F.J., ed.). p. 95-143. Chapman & Hall. London.
- Magnusson, H. and Martinsdottir, E. 1995. Storage quality of fresh and frozen-thawed fish in ice. *J. Food Sci.* 60 : 273-278.
- Makinodan, Y., Kyaw, N.N. and Ikeda, S. 1982. Classification of carp muscle alkaline proteinase and its action against intracellular proteins. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 48 : 479-484
- Makinodan, Y., Toyohara, H. and Ikeda, S. 1984. Comparison of muscle proteinase activity among fish species. *Comp. Biochem. Physiol.* 79 : 129-134.
- Makinodan, Y., Toyohara, H. and Niwa, E. 1985. Implication of muscle alkaline proteinase in textural degradation of fish meat gel. *J. Food Sci.* 50 : 1315-1355.
- Makinodan, Y., Yokoyama, Y., Kinoshita, M. and Toyohara, H. 1987. Characterization of an alkaline proteinases of fish muscle. *Comp. Biochem. Physiol.* 87 : 1041-104634.
- Martinez, I. 1989. Water retention properties and solubility of the gel strength in cod surimi by a multivariate data analysis. *J. Sci. Food Agric.* 48 : 469-479.
- Matsumiya, M., Mochizuki, A. and Otake, S. 1989. Purification and characterization of cathepsin B from ordinary muscle of common mackerel *Scomber japonicus*. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 52 : 2185-2190.
- Matsumoto, T., Okitani A., Kitamura Y. and Kato H. 1983. Mode of degradation of myofibrillar proteins by rabbit muscle cathepsin D. *Biochem. Biophys. Acta.* 755 : 76-80.

- Maski, T. 1993. Isolation and characterization of the proteinases responsible for jellification of Pacific whiting hake muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 59 : 638-690.
- 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.
- Mochizuki, S. and Sato, A. 1996. Effects of various killing procedures on post-mortem changes in the muscle of chum mackerel and round scad. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 62 : 453-457.
- Morrissey, M.T., Wu, J.W., Lin, D. and An, H. 1993. Protease inhibitor effects on torsion measurements and autolysis of Pacific whiting surimi. *J. Food Sci.* 58 : 1050-1054.
- Morrissey, M.T. and Tan, S.M. 2000. World Resources for Surimi. *In* Surimi and Surimi Seafood. (Park, J.W., ed.). p. 1-21. Marcel Dekker. New York.
- Nagase, H., Brew, K., and Harris, E.D. Jr. 1985. Ovosatin : a proteinase inhibitor in egg white that is homologous to α_2 -macroglobulin. *In* Intracellular Protein Catabolism. p. 283-285. Alan R. Liss, Inc. New York.
- Nambodiri, D.D. and Gopakumar, K. 1992. ATPase and lactate dehydrogenase activities in frozen stored fish muscle as indices of cold storage deterioration. *J. Food Sci.* 57 : 72-76.
- Ng, C.S. 1987. Determination of formaldehyde in fish meat using Nash's reagent. *In* Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish Protein. (Hasegawa, H. ed.). p. B5. 1-5.4. Marine Fisheries Research Department. SEAFDEC. Singapore.
- Ng, C.S. 1987. Determination of trimethylamine oxide (TMAO-N), trimethylamine (TMA-N), total volatile basis nitrogen (TVB-N) by Conway's method. *In* Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish

- Protein. (Hasegawa, H. ed.). p. B3. 1-3.8. Marine Fisheries Research Department. SEAFDEC. Singapore.
- Niwa, E. 1985. Functional aspect of surimi. *In* Proceeding of the International Symposium on Engineered Seafood Including Surimi. National Fisheries Institute, Washington, D.C.
- Niwa, E. 1992. Chemistry of surimi gelation. *In* Surimi Technology. (Lanier, T.C. and Lee, C.M. eds.). p. 389-428. Academic Press. New York.
- Nomura, A., Itoh, Y., Soen, T. and Obatake, A. 1993. Effects of washing the meat on the appearance of modori-phenomena (disintegration of gel) of fish species caught in Tosa Bay. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 59 : 857-864.
- Nomura, A., Itoh, Y., Toyoda, H. and Obatake, A. 1995. Inhibitory effect of sarcoplasmic protein fraction of fish meat upon modori-phenomena induced at about 40 degree by washing meat. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 61 : 744-749.
- Nowsad, A.AKM., Katoh, E., Kanoh, S. and Niwa, E. 1993. Electrophoretic behavior of cross-linked myosin heavy chain in suwari gel. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 59 : 667-671.
- Numakura, T., Seki, N., Kimura, I., Toyoda, K., Fujita, T., Takama, K. and Arai, K. 1985. Crosslinking reaction of myosin in the fish paste during setting (suwari). *Nippon Suisan Gakkaishi*. 51 : 1559-1565.
- Ogata, H., Aranish, F., Hara, K., Osami, K. and Ishihare, T. 1998. Proteolytic degradation of myofibrillar components by carp cathepsin L. *J. Sci. Food Agric*. 76 : 499-504.
- Ogawa, M., Ehara, T.T., Amiya, T. and Tsochiya, T. 1993. Thermal stability of fish myosin. *Comp. Biochem. Physiol*. 106 : 517-521.
- Ogawa, M., Kanamaru, J., Miyashita, H. Tamiya, T. and Tsochiya, T. 1995. Alpha-helical structure of fish actomyosin : changes during setting. *J. Food Sci*. 60 : 297-299.

- Oka, H., Ohno, K. and Ninomiya, J. 1990. Changes in texture during cold storage of cultured yellowtail meat prepared by different killing methods. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 56 : 1673-1678.
- Osatomi, K., Sasai, H., Cao, M., Hara, K. and Ishihara, T. 1997. Purification and characterization of myofibril-bound serine proteinase from carp (*Cyprinus carpio*) ordinary muscle. *Comp. Biochem. Physiol.* 116 : 183-190.
- Ouali, A. and Valin, C. 1981. Effect of muscle lysosomal enzyme and calcium activated neutral proteinase on myofibrillar ATPase activity with aging change. *Meat Sci.* 5 : 233-245.
- Pacheco-Aguilar, R. Lugo-Sanchez M.E., Villegas-Osuna, R.E. and Robies-Burgueno, R. 1998. Histamine formation in muscle of sardine and its quantification in canned products. *J. Food Comp. Anal.* 11: 188-195.
- Park, Y.H., Chai, S.A., Ahn, C.W. and Yang Y.K. 1981. Changes in contents of amines in the dark fleshed fish meat during processing and storage. *Bull. Korean Fish. Soc.* 14 : 7-14.
- Park, J. W. 1995. Surimi gel color as affected by moisture content and physical conditions. *J. Food Sci.* 60 : 15-18.
- Park, J. W., Lin, T.M. and Yongsawatdigul, J. 1997. New developments in manufacturing of surimi and surimi seafood. *Food Res. Intl.* 13 : 577-610.
- Park, J. W. 2000. Ingredient technology and formulation development. *In* Surimi and surimi seafood, (Park, J. W. ed.) p.343-392. Marcel Dekker. New York.
- Pearson, A.M. and Dutson, T.R. 1994. Quality attributes and their measurement. *In* Meat Poultry and Fish Products. Blackie Academic&Professional. Glasgow.
- Perez-Villarreal, B. and Pozo, R. 1990. Chemical composition and ice spoilage of albacore (*Thunnus alalunga*). *J. Food Sci.* 55 : 678-682.

- Peters, G., Morrissey, M.T., Sylvia, G. and Bolte, J. 1996. Linear, neural network and induction analysis to determine harvesting and processing effects on surimi quality. *J. Food Sci.* 61 : 876-880.
- Pipatsattayanuwong, S., Park J.W. and Morrissey, M.T. 1995. Functional properties and shelf life of fresh surimi from Pacific whiting. *J. Food Sci.* 60 : 1241-1244.
- Porter, R., Koury, B., and Kudo, G. 1993. Inhibition of protease activity in muscle extracts and surimi from Pacific whiting, *Merluccius productus*, and arrowtooth flounder, *Atheresthes stomias*. *Mar. Fish. Rev.* 55 : 10-15.
- Ragnarsson, K. and Regnstein, J.M. 1989. Changes in electrophoretic patterns of gadoids and nongadoids fish muscle during frozen storage. *J. Food Sci.* 54 : 819-823.
- Ramirez, A. J., Rodriguez-sosa, R. Morales, O.G. and Vazquez, M. 2000. Surimi gels from striped mullet (*mugil cephalus*) employing microbial transglutaminase. *Food Chem.* 70 : 443-449.
- Reddy, G.V.S., Srikar, L.N., Khuntia, B.K. and Vinaykumar, N. 1995. Effect of pre-process storage in ice on the chemical characteristics of fish mince. *J. Food Sci. Technol.* 32 : 315-319.
- Reppond, K.D. and Babbit, J.K. 1993. Protease inhibitors affect physical properties of arrowtooth flounder and walleye pollock surimi. *J. Food Sci.* 58 : 96-98.
- Roura, S.I. and Crupkin, M. 1995. Biochemical and functional properties of myofibrils from pre- and post-spawned hake (*Merluccius hubbsi Marini*) stored in ice. *J. Food Sci.* 60 : 269-272.
- Roussel, H. and Cheftel, J.C. 1990. Mechanism of gelation of sardine protein: Influence of thermal processing and various additives on the texture and protein solubility of kamaboko gel. *Int. J. Food Sci. Technol.* 25 : 260-280.

- Saeki, H., Iseya, Z., Sugiura, S. and Seki, N. 1995. Gel-forming characteristics of frozen surimi from chum salmon in the presence of protease inhibitors. *J. Food Sci.* 60 : 917-921.
- Sakamoto, H., Kumazawa, Y. and Motoki, M. 1994. Strength of protein gels prepared with microbial transglutaminase as related to reaction condition. *J. Food Sci.* 59 : 866-871.
- Sakamoto, H., Kumazawa, Y., Toiguchi, S., Seguro, K., Soeda, T. and Motoki, M. 1995. Gel strength enhancement by addition of microbial transglutaminase during onshore surimi manufacture. *J. Food Sci.* 60: 300-304.
- Samejima, K., Ishioroshi, M. and Yasui, T. 1981. Relative role of the head and the tail portions of the molecule in heat – induced gelation of myosin. *J. Food Sci.* 46 : 1412–1418.
- Samejima, K., Ishioroshi, M. and Yasui, T. 1982. Heat induced gelling properties of actomyosin : effect of tropomyosin and troponin. *Agric. Biol Chem.* 46 : 353-540.
- Sano, T., Noguchi, S.F., Tsuchiya, T. and Matsumoto, J.J. 1990. Thermal gelation characteristics of myosin subfragments. *J. Food Sci.* 55 : 55-57.
- Seguro, K., Kumazawa, Y., Ohtsuka, T., Toiguchi, S. and Motoki, M. 1995. Microbial transglutaminase and ϵ -(- γ -Glutamyl)lysine crosslink effects on elastic properties of kamaboko gels. *J. Food Sci.* 60 : 305-310.
- Seki, N., Nakahara, C., Takeda H., Maruyama N. and Nozawa, H. 1998. Dimerization site of carp myosin heavy chains by the endogenous transglutaminase. 64 : 314-319.
- Seki, N., Uno, H., Lee, N., Kimura, I., Toyoda, K., Fujita, T. and Arai, K. 1990. Transglutaminase activity in Alaska pollack muscle and surimi and its reaction with myosin B. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 56 : 126-128.
- Seymour, T. A., Morissey, M. T., Peter, M. Y. and An, H. 1994. Purification and characterization of Pacific whiting protease. *J. Agric. Food Chem.* 42 : 2421-2427.

- Seymour, T. A., Morissey, M. T., Peter, M. Y. and An, H. 1997. Surimi gel enhancement by bovine plasma proteins. *J. Agric. Food Chem.* 45 : 2919-2913.
- Shen, L. and Lorand, L. 1983. Contribution of fibrin stabilization to clot strength. *J. Clin. Invest.* 71 : 1336-1341.
- Shie, J.S. and Park, J.W. 1999. Physical characteristics of surimi seafood as affected by thermal processing conditions. *J. Food Sci.* 64 : 287-290.
- Shimizu, Y., Machida, R. and Takenami, S. 1981. Species variations in the gel-forming characteristics of fish meat paste. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 47 : 95-104.
- Shimizu, Y., Toyohara, H. and Lanier, T.C. 1992. Surimi Production from Fatty and Dark-flesh Species. *In Surimi Technology.* (Lanier, T.C. and Lee, C.M. eds.). p. 181-207. Marcel Dekker. New York.
- Shimizu, Y. and Wendakoon, C.N. 1990. Effect of maturation and spawning on the gel-forming ability of lizardfish (*Saurida elongata*) muscle tissues. *J. Sci. Food Agric.* 52 : 331-338.
- Sikorski, Z.E. 1990. Seafood: Resources. *In Nutritional Composition and Preservation.* Boca Raton. CRC Press Inc. p. 248.
- Sikorski, Z.E., Pan, B.S. and Shahidi, F. 1994. Seafood Proteins. Champ&Hall. New York. p. 234.
- Silva, C.C.G. Ponte, D.A. and Dapkevicius, M.E. 1998. Storage temperature effect on histamine formation in big eye tuna and skipjack. *J. Food Sci.* 63 : 644-647.
- Smith, D.M. 1991. Factor influencing heat induce gelation of muscle proteins. *In Interactions of food protein.* (ACS Symposium series No. 454) (eds. N. Parris and R. Bar ford) pp.243-256. American Chemical Society. Washington, DC.

- Somboonyarithi, V. 1990. Effect of iced and frozen storage on quality of surimi produced from Tilapia (*Tilapia nilotica*). ASEAN Food J. 5 : 158-164.
- Spinelli, J. and Dassow, J. 1982. Fish Protein : Their Modification and Protein Uses in the Food Industry. *In* Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products. (Hebard, C.E. and Ward, D.R. eds.). p. 13-25. AVI Publishing. New York.
- Stanby, M.E. 1963. Proximate Composition of Fish. FAO symp. *In* Fish in Nutrition. Fishing News. London.
- Stone, A.P. and Stanley, D.W. 1992. Mechanisms of fish muscle gelation. Food Res. Int. 25 : 381-388.
- Stone, I., Rustad, R. and Mohr, V. 1993. Comparative studies of the proteolytic activity of tissue extracts from cod (*Gadus morhua*) and herring (*Clupea harengus*). Comp. Biochem. Physiol. 106 : 612-613.
- Stone, I. and Rustad, R. 1995. Proteolytic activity in muscle from Atlantic salmon (*Salmo salar*). J. Food Sci. 60 : 711-714.
- Su, H., Lin, T.H. and Lanier, T.C. 1981. Investigation into potential sources of heat-stable alkaline protease in mechanically separated Atlantic croaker (*Micropogon undulatus*). J. Food Sci. 46 : 1654-1656.
- Suwansakornkul, P., Itoh, Y., Hara, S. and Obatake, A. 1993a. The gel-forming characteristics of lizard fish. Nippon Suisan Gakkaishi. 59 : 1029-1037.
- Suwansakornkul, P., Itoh, Y., Hara, S. and Obatake, A. 1993b. Identification of proteolytic activities of gel-degrading factors in three lizardfish species. Nippon Suisan Gakkaishi. 59 : 1039-1045.
- Suvanich, V., Marshall, D.L. and Jahncke, M.L. 2000. Microbiological and color quality changes of channel catfish frame mince during chilled and frozen storage. J. Food Sci. 65 : 151-154.
- Suzuki, T. 1981. Fish and Kill Protein : Processing Technology. Applied Science. London.

- Tau, D.M. 1996. A Colour Guide to the Fishes of the South China Sea and the Andaman Sea. Marine Fisheries Research Department. Singapore.
- Toyoda, K., Kimura, I., Fujita, I., Noguchi, S.F. and Lee, C.M. 1992. The surimi manufacturing process. *In* Surimi Technology. (Lanier, T.C. and Lee C.M. eds.), p. 79-112. Marcel Dekker. New York.
- Toyohara, H., Kinoshita, M., Sasaki, K. and Shimizu, Y. 1990a. Change of the myofibril-associated type of the modori-phenomenon after death. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 56 : 1251-1253.
- Toyohara, H., Kinoshita, M., Sasaki, K. and Shimizu, Y. 1990b. Effect of bleeding on modori phenomenon and possible existence of some modori-inhibitor(s) in serum. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 56 : 1245-1249.
- Toyohara, H., Kinoshita, M., Sasaki, K. and Shimizu, Y. 1990c. Degradation of oval-filefish meat gel caused by myofibrillar proteinases. *J. Food Sci.* 55 : 364-368.
- Tsukamasa, Y. and Shimizu, Y. 1989. The gel forming properties of the dorsal muscle from *Clupeiformes* and *Salmonoidei*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 55 : 529-534.
- Tsukamasa, Y. and Shimizu, Y. 1990. Setting property of sardine and Pacific mackerel meat. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 56 : 1105-1112.
- Tsukamasa, Y. and Shimizu, Y. 1991. Another type of proteinase independent modori (thermal gel degradation) phenomenon found in sardine meat. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 57 : 1767-1771.
- Tsukamasa, Y., Sato, K., Shimizu, Y., Imai, C., Sugiyama, M., Minegishi, Y. and Kaqabata, M. 1993. ϵ -(γ -glutamyl)lysine crosslink formation in sardine myofibril sol during setting at 25°C. *J. Food Sci.* 59 : 785-787.
- Ueno, R., Sakanaka, K., Ikeda, S. and Horguchi, Y. 1988. Characterization of pepstatin insensitive protease in mackerel white muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 54 : 699-707.

- Vazquez-Ortiz, F.A., Pacheco-Aguilar, R. Lugo-Sanchez, M.E. and Villegas-Ozuna, R.E. 1997. Application of the freshness index (K value) for fresh fish to canned sardine from Northwestern Mexico. *J. Food Comp. Anal.* 10 : 158-165.
- Visessanguan, W. and An, H. 2000. Effects of proteolysis and mechanism of gel weakening in heat-induced gelation of fish myosin. *J. Agric. Food Chem.* 48 : 1024-1032.
- Visessanguan, W., Ogawa M., Nakai S. and An H. 2000. Physicochemical changes and mechanism of heat-induced gelation of arrowtooth flounder myosin. *J. Agric. Food Chem.* 48 : 1016-1023.
- Wan, J., Kimura, I., Satake, M., and Seki, N. 1994. Effect of calcium ion concentration on the gelling properties and transglutaminase activity of Welleye pollack surimi paste. *Fish. Sci.* 60 : 107-114.
- Wan, J., Kimura, I., Satake, M. and Seki, N. 1995. Causes of inferior gel forming ability of salmon surimi paste. *Fish. Sci.* 61 : 711-715.
- Wang, J.H. and Jiang, S.T. 1991. Properties of calpain II from tilapia muscle (*Tilapia nilotica x Tilapia aurea*). *J. Agric. Food. Chem.* 55 : 339-345.
- Wang, J.H., Ma, W.C., Su, J.C., Chen, C.S. and Jiang, S.T. 1993. Comparison of properties of m-calpain from tilapia and shrimp muscle. *J. Agric. Food Chem.* 41 : 1379-1384.
- Ward, O.P. 1983. Proteinase. *In* *Microbial Enzymes and Biotechnology*. (Fogarty, W.M., ed.), p. 251-317. Applied Science Publishers. London.
- Watabe, S., Ushino, H., Iwamoto, M., Yamanako, H. and Hashimoto, K. 1989. Temperature-dependency of rigor-mortis of fish muscle : myofibrillar Mg^{2+} -ATPase activity and Ca^{2+} -ATPase uptake by sarcoplasmic reticulum. *J. Food Sci.* 54 : 1107-1115.

- Wasson, D., Babbitt, J.K. and French, J.S. 1992. Characterization of a heat-stable proteases from arrowtooth flounder (*Atherestes stomias*). J. Aquat. Food Prod. Technol. 1 : 167-182.
- Weerasinghe, V.C., Morrissey, M.T. and An, H. 1995. Characterization of active components in food-grade protease inhibitor for surimi manufacture. J. Agric. Food Chem. 44 : 2584-2590.
- Weerasinghe, V.C., Morrissey, M.T., Chung, C.Y. and An, H. 1996. Whey protein concentrate as a proteinase inhibitor in Pacific whiting surimi. J. Food Sci. 61 : 367-371.
- Whitaker, J.R. 1994. Principle of Enzymology for the Food Sciences. 2nd Ed. 472-475. Marcel Dekker. New York.
- Wu, M.C., Hamann, D.D. and Lanier, T.C. 1985. Rheological and calorimetric investigations of starch-fish protein systems during thermal processing. J. Text. Stud. 16 : 53-74.
- Xiong, Y.L. 1994. Myofibrillar protein from different muscle fiber types: implications of biochemical and functional properties in meat processing. Crit Rev. Food Sci. Nutr. 34 (3) : 292-320.
- Yamashita, M. and Konagaya, S. 1990a. High activities of cathepsin B, D, H and L in the white muscle of chum salmon in spawning migration. Comp. Biochem. Physiol. 95 : 149-152.
- Yamashita, M. and Konagaya, S. 1990b. Purification and characterization of cathepsin B from the white muscle of chum salmon. Comp. Biochem. Physiol. 96 : 733-737.
- Yamashita, M. and Konagaya, S. 1991. Hydrolytic action of salmon cathepsins B and L to muscle structural proteins in respect of muscle softening. Nippon Suisan Gakkaishi. 57 : 1917-1922.

- Yamashita, M. and Konagaya, S. 1992. Differentiation and localization of catheptic proteinases responsible for extensive autolysis of mayure chum salmon muscle (*Oncorhynchus keta*). *Comp. Biochem. Physiol.* 103 : 999-1003.
- Yanagihara, S., Nakaoka, H., Hara, K. and Ishihara, T. 1991. Purification and characterization of serine proteinase from white croaker skeletal muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 57 : 136-142.
- Yean, Y.S. 1993. The quality of surimi made from threafin bream stored on ice for different periods. *Inter. J. Food Sci. Tropic.* 28 : 343-346.
- Yongsawatdigul, J., Park, J.W. and Kolbe, E. 1997. Degradation kinetics of myosin heavy chain on Pacific whiting surimi. *J. Food Sci.* 62 : 724-728.
- Young, O.A., Graafhuis, A.E. and Davey, L.C. 1980. Post-mortem changes in cytoskeletal protein of muscle. *Meat Sci.* 5 : 41-55.
- Ziegler, G.R. and Foegeding, A. 1991. The gelation of proteins. *In Advances in Food and Nutrition Research* (Kinsellar, J. E. K. ed.) vol. 34 p. 1243-256. Academic Press. New York.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. การวิเคราะห์ห้องค้ประกอบทางเคมี

ก1. การวิเคราะห์ความชื้น (AOAC, 1991)

อุปกรณ์

1. ตู้อบไฟฟ้า
2. ภาชนะหาคความชื้น (จานอลูมิเนียม พร้อมฝา)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาคความชื้นในตู้อบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้ถึงไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
2. กระทำเช่นข้อ 1 ช้าจนได้ผลแตกต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการหาคความชื้นให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1-3 มิลลิกรัม ใส่ลงในภาชนะหาคความชื้น ซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่างนั้น จากนั้นนำกลับไปเข้าตู้อบอีก และกระทำซ้ำเช่นเดิมจนได้ผลแตกต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

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

ก2. การวิเคราะห์ปริมาณแฉ่ำ (AOAC, 1991)

อุปกรณ์

1. เตาเผา (muffle furnace)
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. เเผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ปิดสวิตซ์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 ชั่วโมง เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาตกลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
2. เเผาซ้ำอีกครั้งครั้งละประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้ง ติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส และกระทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 1-2

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณแฉ่ำ (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

ก3. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 1991)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (soxhlet apparatus) ประกอบด้วยขวดกลม สำหรับใส่ตัวทำละลาย ซอกเลต (soxhlet) เครื่องควบแน่น (condenser) และเตาให้ความร้อน (heating mantle)
2. หลอดใส่ตัวอย่าง (extraction thimble)
3. สำลี
4. ตู้อบไฟฟ้า
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
6. โถดูดความชื้น

วิธีการ

1. อบขวดกลมสำหรับหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้าทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก ประมาณ 1-2 มิลลิกรัม ห่อให้มีคิซิดแล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง กลุ่มด้วยสำลีเพื่อให้สารทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ
3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซอกเลต
4. เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียม อีเทอร์ ลงในขวดหาไขมันปริมาณ 105 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตาให้ความร้อน
5. ทำการสกัดไขมันเป็นเวลา 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่น ด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที
6. เมื่อครบ 14 ชั่วโมง นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอกเลต และกลั่นกับสารทำละลายจนเหลือสารละลายในขวดกลมเพียงเล็กน้อยด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลาย
7. นำขวดหาไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส จนแห้ง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

8. ชั่งน้ำหนัก แล้วอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนัก 2 ครั้ง ติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

ก4. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (AOAC, 1991)

อุปกรณ์

1. ขวดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask) ขนาด 250 – 300 มิลลิลิตร
2. ชุดกลั่นโปรตีน
3. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
4. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร
5. ปิเปตขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
6. บิวเรต ขนาด 25 มิลลิลิตร
7. ลูกแก้ว
8. กระจกกรอง

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารเร่งปฏิกิริยา ใช้คอปเปอร์ซัลเฟต (Cu_2SO_4) 1 ส่วนต่อ โปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 9 ส่วน
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้นร้อยละ 40 ชั่งสาร โซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
4. สารละลายกรดบอริก (H_3BO_3) เข้มข้นร้อยละ 4 ละลายกรดบอริก 40 กรัม

ด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

5. สารละลายกรดเกลือ เข้มข้น 0.02 นอร์มอล

6. อินดิเคเตอร์ ใช้ fashiro indicator เตรียมเป็น stock solution (ซังเมทธิลีนบลู (Methylene blue) 0.2 กรัม ละลายในเอทานอล (ethanol) 200 มิลลิลิตร และซังเมทธิลเรด (Methyl red) 0.05 กรัม ละลายในเอทานอล 50 มิลลิลิตร) เวลาใช้นำมาผสมในอัตราส่วน Stock solution 1 ส่วนต่อ เอทานอล 1 ส่วน ต่อน้ำกลั่น 2 ส่วน

วิธีการ

1. ซังตัวอย่างอาหารบนกระดาษกรองให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มีซิคลใส่ลงในขวดย่อยโปรตีน
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 5 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร
3. ใส่ลูกแก้ว 2 เม็ด นำไปย่อยบนเตาไฟในตู้ควั่นจนกระทั่งได้สารละลายใส ปล่อยให้เย็น
4. เติมน้ำกลั่นร้อนลงไปล้างบริเวณคอขวดให้ทั่ว และให้ความร้อนต่อไปจนเกิดควันของกรดซัลฟูริก ปล่อยให้เย็น
5. นำมาถ่ายลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นล้างขวดย่อยโปรตีนให้หมดสารละลายตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
6. จัดอุปกรณ์กลั่น
7. นำขวดชมพูขนาด 50 มิลลิลิตร เติมกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ลงไป 5 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และเติมอินดิเคเตอร์เรียบร้อยแล้วไปรองรับของเหลวที่จะกลั่น โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดนี้
8. ดูดสารละลายตัวอย่างด้วยปิเปตขนาด 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในช่องใส่ตัวอย่าง แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 20 มิลลิลิตร
9. กลั่นประมาณ 10 นาที ล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ ไตรเอทิลเอทิลที่กลั่นได้กับสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.02 นอร์มอลจะได้จุดยุติ เข้มสีม่วง
10. ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกันตั้งแต่ข้อ 2-10

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(a-b) \times N \times 1.4007 \times 6.25}{W}$$

โดยที่ a = ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้เป็นมิลลิลิตร

b = ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้กับ blank เป็นมิลลิลิตร

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือเป็นนอร์มอล

W = น้ำหนักตัวอย่างเป็นกรัม

14.007 = น้ำหนักสมมูลของไนโตรเจน

6.25 = ตัวเลขที่เหมาะสม

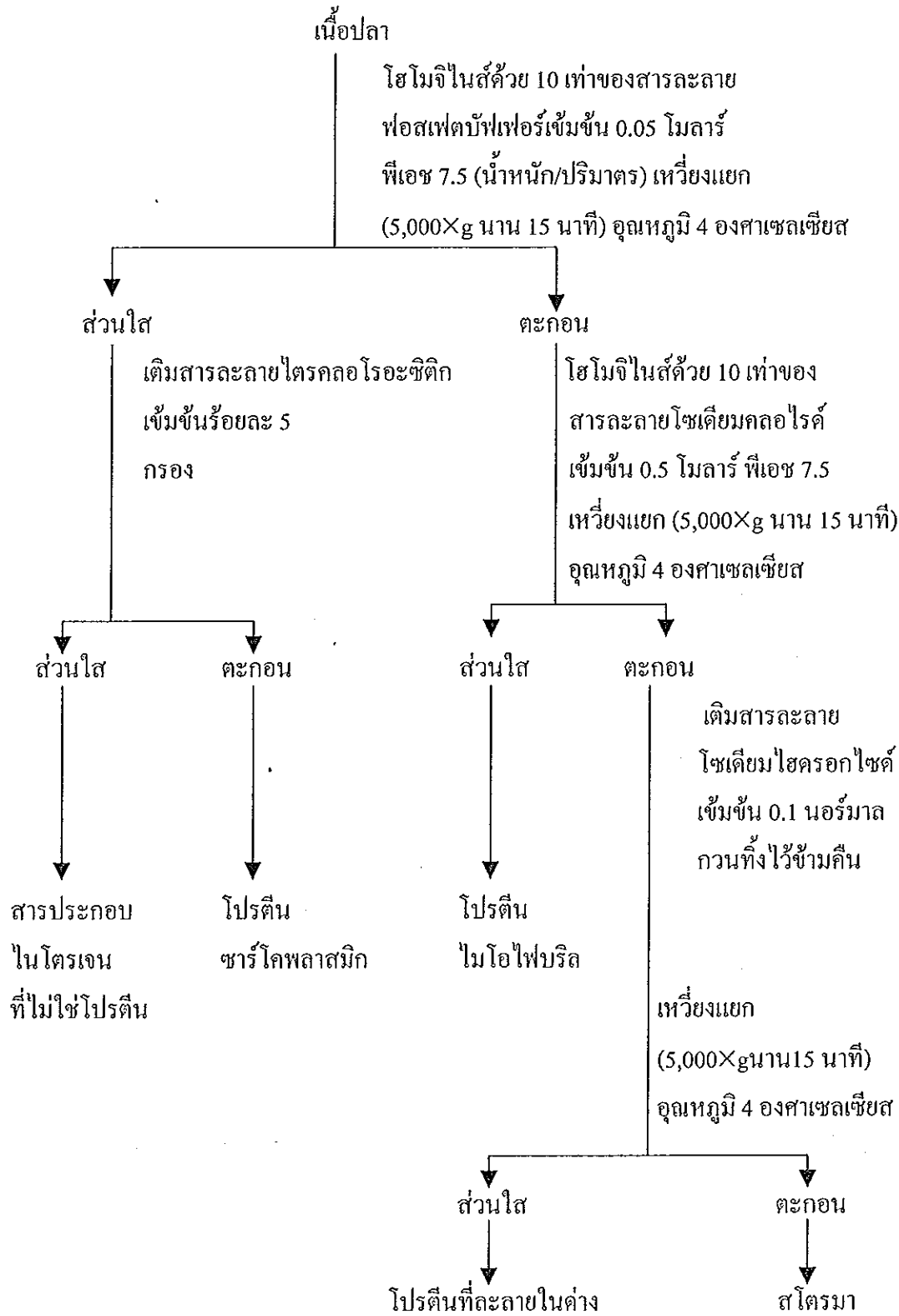
ก5. การวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีน (Hashimoto *et al.*, 1979)

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ
3. กระจกตวง
4. เครื่องโฮโมจิไนส์
5. เครื่องกวนชนิดแม่เหล็กไฟฟ้า และ แท่งกวนแม่เหล็ก

สารเคมี

1. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 7.5
2. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.5 โมลาร์ พีเอช 7.5
3. สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้น ร้อยละ 5
4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล



รูปภาคผนวก ก5. การวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีน
ที่มา : Hashimoto (1979)

ภาคผนวก ข. การตรวจสอบคุณภาพและโปรตีนกล้ามเนื้อปลาปากคม

ข1. การวัดการย่อยสลายตัวเอง (Morrissey *et al.*, 1993; Benjakul *et al.*, 1997)

อุปกรณ์

1. เครื่องโฮโมจิไนส์
2. เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบตั้งโต๊ะ
3. นาฬิกาจับเวลา
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
5. ไมโครปิเปต
6. บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
7. Vertex Mixer
8. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

สารเคมี

1. สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้น ร้อยละ 5

วิธีการ

1. นำเนื้อปลาปากคมมา 3 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้น ร้อยละ 5 จำนวน 27 มิลลิลิตร
2. โฮโมจิไนส์ เป็นเวลา 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ในน้ำแข็งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
3. เหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ $5,000 \times g$ นาน 5 นาที
4. นำส่วนใสมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry method (ภาคผนวก จ) -

ข2. การวิเคราะห์หาปริมาณค่าที่ระเหยได้ (TVB-N) และไตรเมทิลเอมีน (TMA-N)
โดยวิธี Conway unit (Ng, 1987)

อุปกรณ์

1. จานคอนเวย์
2. Volumetric pipette
3. Microburette
4. เครื่องไฮโมจิไนส์
5. กระจกทรง
6. กรวยทรง
7. ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. Mixed indicator : ละลาย 0.01 กรัมของ Bromocresol green และ 0.02 กรัม Methyl red ด้วย ethanol แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร
2. Inner ring solution : ละลาย 10 กรัม Boric acid ใน 200 มิลลิลิตร ethanol แล้วเติม 10 มิลลิลิตร mixed indicator (จากข้อ 1) ปรับปริมาตรจนได้ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น
3. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.02 นอร์มอล
4. Saturated K_2CO_3 solution : ละลาย 60 กรัม K_2CO_3 ด้วย 50 มิลลิลิตรน้ำกลั่นต้มนาน 10 นาที ทำให้เย็นแล้วกรองผ่านกระจกทรง
5. สารละลายกรดไตรคลอโรอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 4 : ละลาย 40 กรัม ของกรดไตรคลอโรอะซีติก (CCl_3COOH) ในน้ำกลั่น 960 มิลลิลิตร
6. 10% Formaldehyde solution : เติม 10 กรัม $MgCO_3$ ลงใน 100 มิลลิลิตร Formalin (35% Formaldehyde solution) เขย่าให้เข้ากันแล้วกรองผ่านกระจกทรงทำให้เจือจาง 3 เท่าด้วยน้ำกลั่น
7. วาสลิน

การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม เติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาณ 8 มิลลิลิตร โยโมจิโนสให้ละเอียด ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษเบอร์ 41 ปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร (เก็บตัวอย่างในน้ำแข็งจนจะใช้)

การหาค่า (TVB-N)

1. ทาวาสลินที่ขอบฝาจานคอนเวย์
2. จุดสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงในวงกลมชั้นนอกของจานคอนเวย์
3. จุด Inner ring solution 1 มิลลิลิตร ลงในวงกลมชั้นในของจานคอนเวย์
4. จุด Saturated K_2CO_3 1 มิลลิลิตร ใส่ชั้นนอก แต่ให้อยู่คนละด้านกับสารละลายตัวอย่างที่ใส่ในข้อ 2
5. ปิดฝาจานคอนเวย์ให้สนิท
6. เอียงหรือหมุนจานคอนเวย์เบา ๆ ให้ K_2CO_3 ผสมกับสารละลายตัวอย่างระวังอย่าให้เกิดการผสมกับ Indicator ที่วงกลมชั้นในเป็นอันขาด
7. บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 45 – 60 นาที หรือทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 ชั่วโมง
8. เปิดฝาจานคอนเวย์แล้วไต่เตรท ที่วงกลมชั้นในด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 นอร์มอล จนกระทั่งสีเขียวจางหายไป จดปริมาตรกรดไว้คำนวณ
9. ทำ Blank โดยใช้สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 1 มิลลิลิตร แทนตัวอย่าง

การคำนวณ TVB-N

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

- เมื่อ N คือ Normality ของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรท
 A คือ มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง
 B คือ มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรท Blank
 V คือ ปริมาตรรวมของตัวอย่างและสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก ที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง

การหาค่า TMA-N

1. ทำเช่นเดียวกับการหา TVB-N ข้อ 1-3
2. เติม 10% Formaldehyde solution 1 มิลลิลิตร ผสมกับตัวอย่าง
3. ปิดฝาทันที แล้วค่อย ๆ เขียงหรือหมุนเบา ๆ ให้สารละลายชั้นนอกผสมกัน
4. ดูด Saturated K_2CO_3 1 มิลลิลิตร ใส่ชั้นนอกปิดฝาแล้วค่อย ๆ หมุน
5. บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง
6. ไตเตรทที่วางชั้นในด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.02 นอร์มอลจนกระทั่งสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีชมพู จดปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกไว้คำนวณ
7. ทำ Blank โดยใช้สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 1 มิลลิลิตร ทำเช่นเดียวกับตัวอย่าง

การคำนวณหา TMA-N

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

เมื่อ N คือ Normality ของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรท

C คือ มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

B คือ มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรท Blank

V คือ ปริมาตรรวมของตัวอย่างและสารละลายกรดไฮโดรคลอริกโรอะซิดิก ที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง

ข3. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอลฟา-อะมิโนอิสระ (Benjakul and Morrissey, 1997)

อุปกรณ์

1. อ่างควบคุมอุณหภูมิ
2. หลอดทดลอง
3. ไมโครปิเปต
4. นาฬิกาจับเวลา

สารเคมี

1. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2125 โมลาร์ พีเอช 8.2
2. สารละลาย TNBS (2,4,6-Trinitrobenzenesulfonic acid) เข้มข้นร้อยละ 0.01
3. สารละลายโซเดียมซัลไฟด์ เข้มข้น 0.1 โมลาร์
4. L-leucine

วิธีการ

1. นำตัวอย่างจำนวน 125 ไมโครลิตร ผสมกับ 2.0 มิลลิลิตร ของสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2125 โมลาร์ พีเอช 8.2
2. เติม 1.0 มิลลิลิตรของสารละลาย TNBS เข้มข้นร้อยละ 0.01
3. บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส 30 นาที (ในที่มืด)
4. หยุดปฏิกิริยาโดยเติม 2.0 มิลลิลิตร ของโซเดียมซัลไฟด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์
5. ตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร แสดงผลในรูปของ L-leucine

ข4. การวิเคราะห์กิจกรรม ATPase ของแอกโตไมโอซิน (BenjaKul *et al*, 1997)

การสกัดแอกโตไมโอซิน

สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์ พีเอช 7.0
2. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.2 โมลาร์ พีเอช 7.0

วิธีการ

1. นำเนื้อปลา 4 กรัมมาเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์ พีเอช 7.0 (4 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 40 มิลลิลิตร
2. โสโมจิโนสั่นาน 4 นาที และเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 5,000 x g นาน 30 นาที (0 องศาเซลเซียส)
3. ตะกอนที่ได้เติมน้ำกลั่น (4 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 3 เท่า โสโมจิโนสั่นาน นาที และเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 5,000 x g นาน 20 นาที (0 องศาเซลเซียส)
4. ตะกอนที่ได้เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.2 โมลาร์ พีเอช

7.0 ปริมาตร 1 เท่า กวนเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 5,000 x g นาน 20 นาที (0 องศาเซลเซียส)

5. ตะกอนที่ได้ใช้เป็นแหล่งของแอคโตไมโอซิน

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปต
2. หลอดทดลอง
3. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
4. นาฬิกาจับเวลา

สารเคมี

1. สารละลาย EDAT เข้มข้น 0.01 โมลาร์
2. สารละลายแมกนีเซียมคลอไรด์ เข้มข้น 0.1 โมลาร์
3. สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เข้มข้น 0.1 โมลาร์
4. สารละลาย Tris maleate เข้มข้น 0.5 โมลาร์
5. สารละลาย ATP เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์
6. สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก เข้มข้นร้อยละ 15

วิธีการ

1. ทำการเจือจางสารสกัดแอคโตไมโอซินด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์ พีเอช 7.0 ให้มีความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 2.5.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. ดูดสารละลายแอคโตไมโอซินจากข้อ 1 มา 1 มิลลิลิตร เติม 0.5 M Tris-maleate พีเอช 7.0 ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร

3. เติมสารละลายต่างๆจนได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 9.5 mL เพื่อตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์ ATPase ดังนี้

- สารละลาย CaCl_2 เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ สำหรับการตรวจวัดกิจกรรม Ca^{2+} - ATPase
 - สารละลาย MgCl_2 เข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ สำหรับการตรวจวัดกิจกรรม Mg^{2+} - ATPase
 - สารละลาย MgCl_2 เข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย CaCl_2 เข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ สำหรับการตรวจวัดกิจกรรม Mg^{2+} - Ca^{2+} - ATPase
 - สารละลาย MgCl_2 เข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย EGTA เข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ สำหรับการตรวจวัดกิจกรรม Mg^{2+} - EGTA - ATPase
4. เติมสารละลาย ATP เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ 0.5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที
 5. เติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 15 (นน./ปริมาตร) 5 มิลลิลิตร
 6. ทำการหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 3,500 x g นาน 5 นาที ส่วนใสที่ได้นำไปตรวจวัดปริมาณ inorganic phosphate (Pi)

ข5. การตรวจวัดปริมาณฟอสฟอรัส (Ng, 1987)

อุปกรณ์

1. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
2. พีเอชมิเตอร์
3. บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
4. หลอดทดลอง
5. บิวเรตขนาด 25 มิลลิลิตร
6. Pipetman micropipette (max vol. = 1 mL)
7. กระดาษกรองเบอร์ 41 (Whatman)

สารเคมี

1. Acetylacetone reagent (Nash's reagent) : ละลายส่วนผสมระหว่าง ammonium acetate 150 กรัม, acetic acid 3 มิลลิลิตร และ acetylacetone 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ 1 ลิตร
2. Formaldehyd standard stock solution : ปิเปต 35% formaldehyd มา 0.3 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรได้ 100 มิลลิลิตร จะให้ความเข้มข้นประมาณ 1000 ppm สารละลายชนิดนี้สามารถเก็บไว้ได้หลายเดือน
3. Formaldehyd standard : เจือจาง stock solution 100 เท่าดังนี้ ปิเปต 10 มิลลิลิตร ของ stock solution (ความเข้มข้นประมาณ 1000 ppm) ปิเปต 10 มิลลิลิตร ของ 100 ppm stock solution ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะให้ความเข้มข้นสุดท้ายของ stock solution เท่ากับ 10 ppm
4. 0.1 N Sodium thiosulfate standard solution : ละลาย 25 กรัม ของ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ในน้ำกลั่นที่ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วหลังจากการต้ม แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1 ถึง 2 วัน แล้วทำการหาความเข้มข้นที่แน่นอน
5. 0.1 N Sodium bisulfite solution : ละลาย 5.2 กรัม ของ NaHSO_3 ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร
6. 0.1 N Iodine solution : ละลาย 12.7 กรัม ของ I_2 และ 40 กรัม ของ KI ใน 25 มิลลิลิตร ของน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร
7. 15% Starch solution : ชั่ง 1.5 กรัม ของแป้งแล้วเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปต้มเดือดนาน 30 วินาที

วิธีการ

ก. การเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่บดละเอียด 5 กรัม (จุดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. เติมกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปปั่นผสมรวมกันด้วยเครื่องโฮโมจีไนส์

3. ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที
4. กรองเอาส่วนใสโดยใช้กระดาษกรอง Whatman No. 41
5. เติมกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 5 10 มิลลิลิตร ลงในตะกอน
นำไปปั่นผสมรวมกันอีกครั้งแล้วกรอง
6. นำส่วนใสทั้ง 2 ครั้ง มารวมกันปรับพีเอช ให้ได้ประมาณ 6.0-6.5 โดยใช้
pH-meter ด้วย 0.1 N KOH แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

ข. การตรวจหาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์

1. นำส่วนใสที่ปรับพีเอช แล้วมา 3 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง แล้ว
เติม Nash's reagent ผสมให้เข้ากันดี
2. ทิ้งไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (60 องศาเซลเซียส) นาน 15 นาที
3. ทิ้งไว้ให้เย็นแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงของสารและ blank ที่ 412 นาโน
เมตร (blank ใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง)

การคำนวณปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์

$$\text{Formaldehyde (ug/g)} = \frac{A}{(\text{Vol. of filtrate used})} \times \frac{(\text{Total make up vol. of filtrate}) \times F}{(\text{Weight of sample})}$$

A = ค่าที่อ่านได้จากกราฟ (ug)

F = factor ของ formaldehyde of standard solution

ภาคผนวก ค. การตรวจสอบคุณภาพของเจลซูริมิ

ค1. การวัดความแข็งแรงของเจลซูริมิ

อุปกรณ์

1. เครื่อง Texture Analyzer ยี่ห้อ STABLE MICRO SYSTEM รุ่น TA-XT2
2. เครื่องคอมพิวเตอร์

วิธีการ

1. ติดตั้งเครื่องวัดเนื้อสัมผัสเข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์ และทำการเปิดเครื่องคอมพิวเตอร์ และเครื่องวัดเนื้อสัมผัส
2. ทำการคาลิเบรตเครื่องวัดเนื้อสัมผัสโดยใช้ลูกตุ้มหนัก 5 กิโลกรัม
3. ติดหัวเข็มขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร แล้วทำการคาลิเบรตหัวเข็ม
4. ตั้งสถานะของเครื่องวัดของเนื้อสัมผัสสำหรับวัดเจลซูริมิ

Pre – Test Spcel : 1.5 mm/s

Test Speed : 1.5 mm/s

Post – test Speed : 10.0 mm/s

Distance : 30 mm

Trigger Type Auto – 40g

Data Acquisition Rate : 200 pps

5. เตรียมตัวอย่างโดยการตัดให้มีความยาว 2.5 เซนติเมตร วางลงบนฐานวางตัวอย่างและวัดค่าความแข็งแรงโดยให้หัวเข็มเจาะทะลุตรงกลาง

6. ประมวลผลการวัดที่ได้ โดยอ่านค่าแรงเจาะทะลุ (Breaking force) และระยะทางก่อนเจาะทะลุ (Deformation)

ก2. การวัดค่าสี

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดสียี่ห้อ JUKI รุ่น GP 7100F

วิธีการ

1. เปิดเครื่องวัดสีและเครื่องคอมพิวเตอร์ เพื่อทำการวัดสีในระบบ Hunter
2. ทำการคาลิเบรตเครื่องการใช้แผ่นคาลิเบรตสำหรับของแข็ง
3. วัดค่าสีตัวอย่าง โดยระบบ Hunter color scale ซึ่งให้ค่าสีคือ L a และ b
เมื่อ L แสดงถึงความสว่าง (lightness) มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 100
a แสดงถึงสีแดง (+) หรือสีเขียว (-)
b แสดงถึงสีเหลือง (+) หรือสีน้ำเงิน (-)
4. นำค่าที่ได้มาคำนวณ ความขาว (Whiteness) โดยสามารถคำนวณได้จากสูตร
(Laniar and Lee, 1992)

$$\text{ความขาว} = 100 - [(100 - L)^2 + a^2 + b^2]^{1/2}$$

ภาคผนวก ง. การสกัดเอนไซม์

ง1. การเตรียมเอนไซม์โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิก (An *et al.*, 1994)

อุปกรณ์

1. เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ

วิธีการ

1. นำปลาปากคมมาแล้วเอาแต่เฉพาะส่วนของเนื้อและสับให้ละเอียด
2. นำไปเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ $3,000 \times g$ นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสแยกส่วนใสเพื่อใช้เป็นแหล่งของเอนไซม์

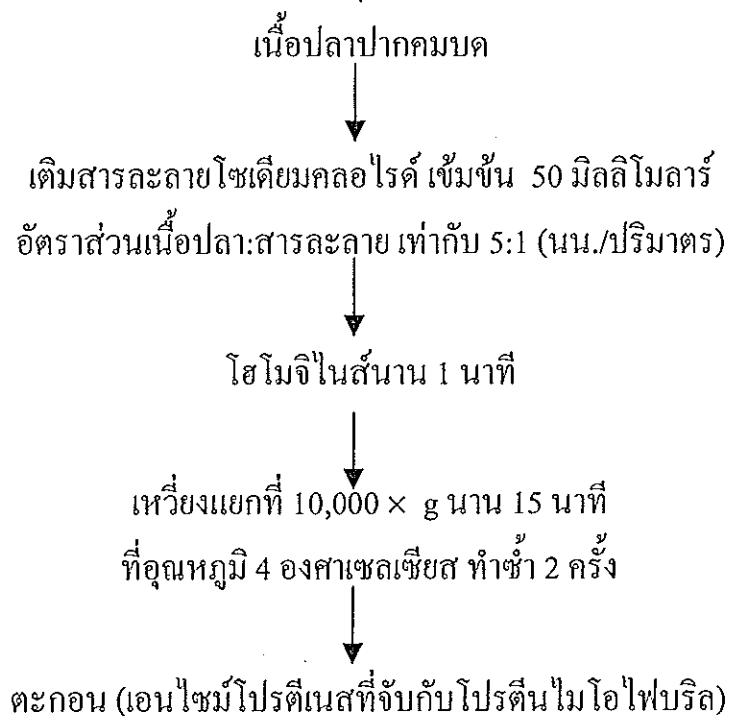
ง2. การเตรียมแอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล (Toyohara *et al.*, 1990c)

อุปกรณ์

1. เครื่องขึงไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ
3. กระบอกตวง
4. เครื่องโฮโมจิไนส์

สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์



รูปภาพผนวก ง2. การเตรียมแอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล

ที่มา : Toyohara และคณะ (1990c)

ภาคผนวก จ. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน โดยวิธี proteins-TCA Lowry method

(An *et al.*, 1994)

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. ไมโครปิเปต
3. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
4. Vertex mixer
5. เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบตั้งโต๊ะ
6. อ่างควบคุมอุณหภูมิ
7. นาฬิกาจับเวลา

สารเคมี

1. สารละลายเคซีนเข้มข้นร้อยละ 2
2. สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 50 (4 องศาเซลเซียสก่อนใช้)
3. 0.2 M McIlvaine Buffer : 0.2 M di - Sodium Hydrogen phosphate dodecahydrate ผสมกับ 0.1 M Sodium citrate

วิธีการ

1. นำสารละลาย cocktail (0.2 M McIlvaine Buffer 625 ไมโครลิตร สารละลายเคซีนเข้มข้นร้อยละ 2 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 200 ไมโครลิตร)
2. เติมแอนไซม์ที่สกัดได้ 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันบ่มต่อเป็นเวลา 20 นาทีหยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 50 จำนวน 200 ไมโครลิตร นำไปเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 6500 x g นาน 5 นาที นำสารละลายส่วนใสมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Lowry เปรียบเทียบ กับกราฟมาตรฐานของไทโรซิน

3. การทำ Blank โดยการเติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 50 ก่อนการเติมเอนไซม์

ภาคผนวก ฉ. การวิเคราะห์โปรตีน

ฉ1. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรท

อุปกรณ์

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

สารเคมี

1. สารละลายโปรตีนมาตรฐาน BSA 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2. สารละลายไบยูเรท : ชั่ง $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1.5 กรัม โซเดียมโพแทสเซียมทาทาเตรท 6.0 กรัม เติมน้ำกรัมนามีปริมาตร 500 มิลลิลิตร กวนจนเป็นเนื้อเดียวกัน เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 10 จำนวน 300 มิลลิลิตร ในขณะที่กวน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ดูดสารละลายโปรตีน 500 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดลอง
2. เติมสารละลายไบยูเรท 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Vertex mixer วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน BSA

การเตรียมโปรตีนมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA)

ดูดสารละลาย BSA เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 100, 200, 300, 400 และ 500 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 ไมโครลิตร เติมสารละลายไบยูเรท 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Vertex mixer วางทิ้งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

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

อุปกรณ์

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

สารเคมี

1. สารละลาย A : โซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 2 ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล
2. สารละลาย B : $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ร้อยละ 0.5 ในสารละลายโซเดียมซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1
3. สารละลาย C : นำสารละลายฟอสฟีนีนอล 2 นอร์มอล มาทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่น (1ต่อ1) ก่อนใช้
4. สารละลาย D : นำสารละลาย B จำนวน 1 มิลลิลิตร + สารละลาย A จำนวน 50 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. นำสารละลายโปรตีนตัวอย่าง 200 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เดิมสารละลาย D จำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex mixer ตั้งทิ้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที.
2. เดิมสารละลาย C 200 ไมโครลิตร ลงไปในของผสมข้อ 1 ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex mixer ตั้งทิ้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
2. นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานไทโรซีน

การเตรียมกราฟมาตรฐาน

1. เตรียมกสารละลายไทโรซีน 1 มิลลิโมลาร์
2. ดูดละลายไทโรซีน 0, 20, 40, 60, 100, 140. และ 200 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 200 ไมโครลิตร
3. นำสารละลายไทโรซีนจากข้อ 2 ที่ความเข้มข้นต่างๆ มาหาปริมาณโปรตีนเช่นเดียวกับตัวอย่าง
4. เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไทโรซีนกับค่าการดูดกลืนแสง

ภาคผนวก ข. การทำเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสตามวิธีของ Laemmli (1970)

อุปกรณ์

1. ชุดอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบมินิเจล

สารเคมี

1. Acrylamide/bisacrylamide เตรียมโดยละลาย Acrylamide 29.2 กรัม และ bisacrylamide 0.8 กรัม ในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ใช้ได้ประมาณ 1 เดือน หลังจากการเตรียม

2. สารละลายทริส – ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์เข้มข้น 1.5 โมลาร์ พีเอช 8.8
3. สารละลายทริส – ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์เข้มข้น 0.5 โมลาร์ พีเอช 6.8
4. โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 10 (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
เบต้า-เมอแคปโตเอทานอล	0.4 มิลลิลิตร
1% โบรโมไฟโนลบลู	0.4 มิลลิลิตร

6. 5x electrode (running) buffer, pH 8.3

Tris base	9 กรัม
ไกลซีน	43.2 กรัม
SDS	3 กรัม

ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

7. Catalyst ประกอบด้วย

2% Ammonium persulfate เตรียมก่อนที่จะใช้

TEMED (N,N,N, N-tetramethyl ethylenedismine)

8. โปรตีนมาตรฐานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุล High Molecular Weight (Sigma) ประกอบด้วย myosin, B-Galactosidase, phosphorylase b, fructose-6-phosphate kinase, albumin, glutamic dehydrogenase, ovalbumin, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase มีน้ำหนักโมเลกุล 250,000 116,000 67,000 84,000 66,000, 55,000 45,000 36,000 คาลตัน ตามลำดับ

9. สีย้อมโปรตีน Coomassie Brilliant Blue R-250

10 Staining Solution : ละลาย Coomassie Brilliant Blue R-250 0.04 กรัม ในเมทานอล 100 มิลลิลิตร, คนจนละลายหมด (20 นาที) แล้วเติม Glacial Acetic acid 15 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 85 มิลลิลิตร

Destaining Solution 1 : ผสมเมธานอล 200 มิลลิลิตร กรดอะซิติก 30 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 170 มิลลิลิตร

Destaining Solution 2 : ผสมเมธานอล 50 มิลลิลิตร กรดอะซิติก 75 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 875 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่าง 3 กรัม ผสมกับ 5% SDS 27 มิลลิลิตร โยโมจิเนส 1 นาที บ่มที่ 85 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำสารละลายมาเหวี่ยงแยก 10,000 เป็นเวลา 30 นาที นำส่วนใสที่ได้มาผสมกับ Sample buffer (อัตราส่วน 1:1) ให้มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 15 ไมโครกรัมต่อ 10 ไมโครลิตร ต้มสารผสมเป็นเวลา 4 นาที

2. การเตรียม running gel

สารเคมี	10% gel
30% Acrylamide/bis	1.167 ml
1.5M Tris-HCl buffer pH 8.8	0.875 ml
1% SDS	0.35 ml
TEMED	5 μ l

3. การเตรียม stacking gel

30% Acrylamide/bis	0.4 ml
0.5 M Tris-HCl buffer pH6.8	1.0 ml
1% SDS	0.3 ml
น้ำกลั่น	1.1 ml
0.1 M EDTA	0.8 ml
2% Ammonium persulfate	0.4 ml
TEMED	6 μ l

4. การแยกโปรตีนโดยเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส

ประกอบชุดเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส จากนั้นเติม electrod buffer ให้เต็ม chamber จากนั้น load ตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 1 จำนวน 10 ไมโครลิตร ต่อชุดอิเล็กโตรโฟรีซิส เข้ากับ power supply เปิดกระแสไฟฟ้า 50 volt จนสีของโบรโมฟีนอลบลู เคลื่อนถึง running gel (ประมาณ 30 นาที) เปลี่ยนกระแสไฟฟ้าเป็น 150 volt จนสีของโบรโมฟีนอลบลูเคลื่อนจนเกือบสุดปลายกระจก จึงหยุดการให้กระแสไฟฟ้า

5. การย้อมสีโปรตีนในเจล โดยย้อมใน staining solution 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาแช่ด้วย Destaining solution 1 เป็นเวลา 30 นาที แล้วแช่ใน Destaining solution 2

ภาคผนวก ข. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการย่อยสลายตัวเองของกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ที่ระยะเวลาต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	43.758	3.978	97.268*
Time (T)	5	5.018	7.202	122.688*
Treat (M)	1	36.011	5.018	176.107*
T×M	5	2.729	0.546	13.345*
Error	24	0.982	4.120	
Total	35	44.739		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกรดแอลฟา-อะมิโนอิสระของ
แอกโตไมโอซินที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัว
และตัดหัวควักใส่น้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	1.995	0.181	7.392 *
Time (T)	5	1.530	0.306	12.472 *
Treat (M)	1	0.260	0.260	10.601 *
T× M	5	0.205	4.096	1.669 *
Error	24	0.589	2.454	
Total	35	2.584		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณค่าที่ระเหยได้ (TVB)
ของกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักใส่น้ำ
แข็งที่ระยะเวลาต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	1547.476	140.680	1712.125 *
Time (T)	5	1180.522	236.104	2873.481 *
Treat (M)	1	218.153	218.153	2655.005 *
T× M	5	148.801	29.760	362.193 *
Error	24	1.972	8.217	
Total	35	1549.448		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA) ของกล้ามเนื้อปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักใส่ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	264.860	24.078	865.776*
Time (T)	5	207.317	41.463	1490.890*
Treat (M)	1	36.401	36.401	1308.869*
T×M	5	21.143	4.229	152.004*
Error	24	0.667	2.781	
Total	35	265.528		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ของกล้ามเนื้อปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักใส่ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	1.745	0.159	193.604*
Time (T)	5	1.388	0.278	338.739*
Treat (M)	1	0.237	0.237	289.301*
T×M	5	0.120	2.402	29.383*
Error	24	2.002	8.204	
Total	35	1.765		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรม Ca^{2+} -ATPase ของ
กล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ใน
น้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	1.503	1.404	865.776 ^{ns}
Time (T)	5	7.804	1.604	1490.890 ^{ns}
Treat (M)	1	4.704	4.704	1308.869 ^{ns}
T× M	5	2.504	4.905	152.004 ^{ns}
Error	24	6.704	2.805	
Total	35	2.203		

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรม Mg^{2+} -ATPase ของ
กล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ใน
น้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	7.302	6.603	0.935 ^{ns}
Time (T)	5	3.002	5.903	0.834 ^{ns}
Treat (M)	1	7.503	7.503	1.057 ^{ns}
T× M	5	3.602	7.203	1.011 ^{ns}
Error	24	0.171	7.103	
Total	35	0.244		

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรม Mg^{2+} - Ca^{2+} -ATPase ของ
กล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ใน
น้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	9.604	8.805	1.285 ^{ns}
Time (T)	5	7.804	1.604	1.367 ^{ns}
Treat (M)	1	2.505	2.505	1.500 ^{ns}
T×M	5	1.604	3.205	1.900 ^{ns}
Error	24	4.004	1.705	
Total	35	1.403		

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรม Mg^{2+} -EGTA-ATPase
ของกล้ามเนื้อปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ใน
น้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	0.117	1.102	425.081 [*]
Time (T)	5	0.114	2.302	913.178 [*]
Treat (M)	1	1.703	1.703	69.444 [*]
T×M	5	1.003	2.004	8.111 [*]
Error	24	6.004	2.505	
Total	35	0.117		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแรงเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบหึ่งตัวและตัดหัวควักใส่น้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และไม่ผ่านการแช่หึ่งตัว

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	1279748	116341	535.979*
Time (T)	5	1140125	228025	1050.506*
Treat (M)	1	94430.5	94430.5	435.039*
T×M	5	45193.3	9038.658	41.641*
Error	48	10419.0	217.062	
Total	59	1290167		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแรงเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบหึ่งตัวและตัดหัวควักใส่น้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และแช่หึ่งตัวที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	617957	56177.9	293.543*
Time (T)	5	583278	116656	609.552*
Treat (M)	1	26560.1	26065.1	138.782*
T×M	5	8119.139	1623.828	8.485*
Error	48	9186.197	191.379	
Total	59	627143		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแรงเจาะทะลุของเจลชงูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไว้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และเซ็ทตัวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	1279748	116341	535.973*
Time (T)	5	1140125	228025	1050.506*
Treat (M)	1	94430.5	94430.5	435.039*
T×M	5	45139.3	9038.658	41.641*
Error	48	10419.0	217.062	
Total	59	1290167		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลชงูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไว้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และไม่ผ่านการเซ็ทตัว

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	37.499	3.409	83.690*
Time (T)	5	37.143	7.424	182.327*
Treat (M)	1	0.108	0.108	2.661*
T×M	5	0.256	5.102	1.259*
Error	48	1.955	4.102	
Total	59	39.454		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะทางก่อนเจาะทะเลของเจล
ซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักได้
ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และเซ็ทตัวที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	167.445	15.222	62.914*
Time (T)	5	151.036	30.207	609.552*
Treat (M)	1	10.106	10.160	138.782*
T×M	5	6.249	1.250	8.485*
Error	48	11.614	0.242	
Total	59	179.059		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะทางก่อนเจาะทะเลของเจล
ซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักได้
ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และเซ็ทตัวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	263.897	23.991	535.973*
Time (T)	5	207.706	41.552	1050.506*
Treat (M)	1	37.683	37.683	435.039*
T×M	5	18.454	3.691	41.641*
Error	48	3.703	7.702	
Total	59	267.600		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักได้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และไม่ผ่านการแช่หั่ว

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	1641.265	149.206	807.112*
Time (T)	5	1521.973	304.395	182.327*
Treat (M)	1	66.667	66.667	1646.588*
T× M	5	52.625	10.525	56.934*
Error	24	4.434	0.185	
Total	35	1645.702		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักได้ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และแช่หั่วที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	1628.915	148.083	1378.231*
Time (T)	5	1502.299	300.460	2796.420*
Treat (M)	1	53.193	53.193	495.072*
T× M	5	73.423	14.685	136.672*
Error	24	2.579	0.107	
Total	35	1631.494		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 18 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เก็บรักษาแบบทั้งตัวและตัดหัวควักไส้ ในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ และแช่ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	11	1485.813	135.074	161.249*
Time (T)	5	1327.219	265.458	1050.506*
Treat (M)	1	70.588	70.588	84.267*
T×M	5	87.934	17.587	20.995*
Error	24	20.104	0.838	
Total	35	1505.917		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ β ME ต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเนสในของเหลวซาร์โคพลาสมิก

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	736.442	245.481	97.819*
Error	8	20.076	2.510	
Total	11	756.519		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 20 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ DTT ต่อกิจกรรมของเอนไซม์
โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิก

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	2004.695	668.232	97.698*
Error	8	54.718	6.840	
Total	11	2059.413		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของโซเดียมคลอไรด์ต่อกิจกรรมของ
เอนไซม์โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิก

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	3670.452	1223.484	1072.612*
Error	8	9.125	1.141	
Total	11	3679.578		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 22 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของยูเรียต่อกิจกรรมของเอนไซม์
โปรตีนเอสในของเหลวซาร์โคพลาสมิก

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	2569.440	856.480	168.678*
Error	8	40.621	5.078	
Total	11	2610.061		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของโปรตีนพลาสมาเลือดวัวต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนสในของเหลวซาร์โคพลาสมิก

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	8876.423	2958.808	103.833*
Error	8	113.984	28.496	
Total	11	8990.407		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 24 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของไข่ขาวต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนสในของเหลวซาร์โคพลาสมิก

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	2545.221	848.407	17.095*
Error	8	198.519	49.630	
Total	11	2743.740		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 25 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลาคอดที่ผ่านการล้าง และบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	29.342	4.890	25.156*
Error	8	1.361	0.194	
Total	11	30.703		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 26 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลา
บดที่ไม่ผ่านการล้าง และบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	30.887	5.148	20.343*
Error	8	1.771	0.253	
Total	11	32.659		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 27 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลา
บดที่ผ่านการล้าง และบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลาต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	10.416	2.083	8.579*
Error	8	1.457	0.243	
Total	11	11.873		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 28 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลา
บดที่ไม่ผ่านการล้าง และบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสเป็นเวลา
ต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	10.197	2.039	11.140*
Error	8	1.098	0.183	
Total	11	11.259		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 29 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของไซเคียมคลอไรด์ต่อการย่อย
 สลายตัวของเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้าง และปรมที่อุณหภูมิ 60 องศา
 เซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	2.522	0.841	3.908 ^{ns}
Error	8	0.845	0.211	
Total	11	3.367		

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางผนวกที่ 30 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารยับยั้งเอนไซม์ชนิดต่างๆต่อ
 กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริล

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	7.044	1.174	12.615 [*]
Error	8	0.651	9.302	
Total	11	7.695		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 31 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแรงเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เติมโปรตีนเต็มแต่งและเชื้อตัวที่อุณหภูมิที่ก่อให้เกิดโมโครี (60 องศาเซลเซียส) เชื้อตัวที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียส) และไม่เชื้อตัว

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	20	1145988	57299.4	177.165 *
Time (T)	2	349483	174741	540.286 *
Treat (C)	6	721653	120275	371.882 *
T×C	12	74851.9	6237.658	8.485 *
Error	84	27167.6	323.424	
Total	104	1173155		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางผนวกที่ 32 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมที่เติมโปรตีนเต็มแต่งและเชื้อตัวที่อุณหภูมิที่ก่อให้เกิดโมโครี (60 องศาเซลเซียส) เชื้อตัวที่อุณหภูมิสูง (40 องศาเซลเซียส) และไม่เชื้อตัว

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	20	74.036	3.702	29.407 *
Time (T)	2	21.584	10.792	85.912 *
Treat (C)	6	47.044	7.841	62.418 *
T×C	12	5.409	0.451	3.588 *
Error	84	10.552	0.126	
Total	104	84.587		

* = มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวจิรวดี เทือกสุบรรณ	
วัน เดือน ปีเกิด .	21 มกราคม 2518	
วุฒิการศึกษา		
วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีอาหาร)	สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล คณะเกษตรศาสตร์ นครศรีฯ	2541