บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัสดุ

1.วัตถุดิบ

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

2. สารเคมี

สารเคมีเกรดวิเคราะห์ต่างๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ชนิดของโปรตีน และคุณภาพของเจล ได้แก่

โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต

โพแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต

โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต

กรดไตรคลอโรอะซิติก

โซเดียมโพแตสเซียมทาร์เตรท

โฟลีนฟีนอล

โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต

โบรโมฟีนอลบลู

โพแทสเซียมคาร์บอเนต

โซเดียมคาร์บอเนต

อุปกรณ์

1. ชุดอิเล็กโตโฟริซิส ยี่ห้อ Bio-Rad รุ่น Mini- Protein II ประเทศสหรัฐอเมริกา

2. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ Hitachi รุ่น U-200 ประเทศญี่ปุ่น

3. เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส ยี่ห้อ Stable Micro Systems รุ่น TA-XT2 ประเทศอังกฤษ

4. เครื่องโฮโมจีไนส์เซอร์ ยี่ห้อ Nissel รุ่น AM-8 ประเทศญี่ปุ่น

5. เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Sorvall รุ่น RC-5B plus ประเทศสหรัฐอเมริกา

6. เครื่องกวนชนิดแม่เหล็ก ยี่ห้อ IKAMG รุ่น R010 power ประเทศเยอรมันนี

7. เครื่องสับผสม ยี่ห้อ National รุ่น MK-K77 ประเทศญี่ปุ่น

8. อ่างควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert รุ่น W 350 ประเทศเยอรมันนี

9. เครื่องแช่เยือกแข็งแบบเพลทสัมผัส ยี่ห้อ Platejunior รุ่น CAJ7-422 ประเทศสหรัฐอเมริกา

10. ห้องเก็บแช่เยือกแข็ง –20 องศาเซลเซียส

11. เครื่องพีเอชมิเตอร์ ยี่ห้อ Denver instrument รุ่น 15 ประเทศสหรัฐอเมริกา

วิธีการทดลอง

1. วิเคราะห์องค์ประกอบโปรตีนและสมบัติของโปรตีนกล้ามเนื้อปลาทรายแดง

1.1 คุณภาพ และองค์ประกอบทางเคมี ของกล้ามเนื้อปลาทรายแดง

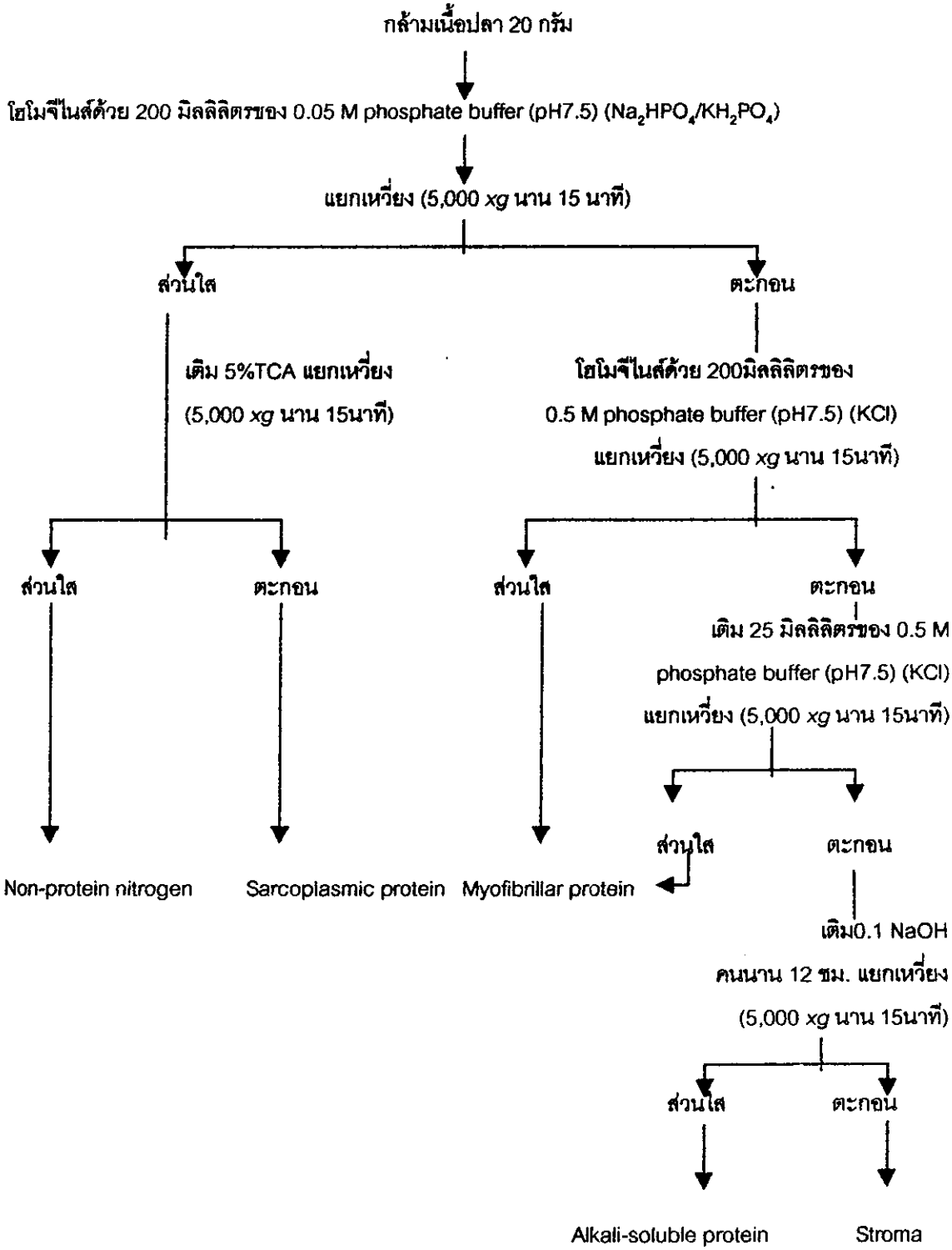
1.1.1 วิเคราะห์องค์ประกอบกล้ามเนื้อปลาทรายแดงได้แก่ โปรตีน ความชื้น ไขมัน และเถ้า ด้วยวิธี A.O.A.C. (1995)

1.1.2 ตรวจสอบปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด และปริมาณไตรเมทธิลเอมีนด้วยวิธี Conway (Hasegawa, 1987)

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

1.2 ตรวจสอบชนิดของโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน

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



รูปที่ 6. ขั้นตอนการแยกส่วนโปรตีนจากกล้ามเนื้อปลา

ที่มา : ดัดแปลงจาก Hashimoto และคณะ (1979)

2. **ศึกษาผลของไตรพอลิฟอสเฟตต่อคุณสมบัติของโปรตีนในปลาแล่และซูริมิ**

นำปลาทรายแดงมาแล่และแบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลอง

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

ชุดที่ 2. เป็นชุดควบคุม นำเนื้อปลาแช่ในน้ำเป็นเวลาเท่ากับชุดการทดลองที่ 1

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

2.1 ส่วนแรกนำมาวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

2.1.1 ตรวจสอบปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด และปริมาณไตรเมท-ธิลเอมีนด้วยวิธี Conway (Hasegawa, 1987)

2.1.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ตามวิธีของ Chang และ Regenstein (1997)

2.1.3 ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือตามวิธีการของ Sych และคณะ (1990)

2.1.4 ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนตามวิธีการของ Hasegawa (1987)

ฝ่ายหอสมุด
คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร

2.1.5 ค่า Tmax ของโปรตีนในเนื้อปลาแล่ ตามวิธีการของ Kim และคณะ (1986)

2.1.6 องค์ประกอบโปรตีนในเนื้อปลาแล่โดยใช้ SDS-PAGE ตามวิธีการของ Leammli (1970)

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

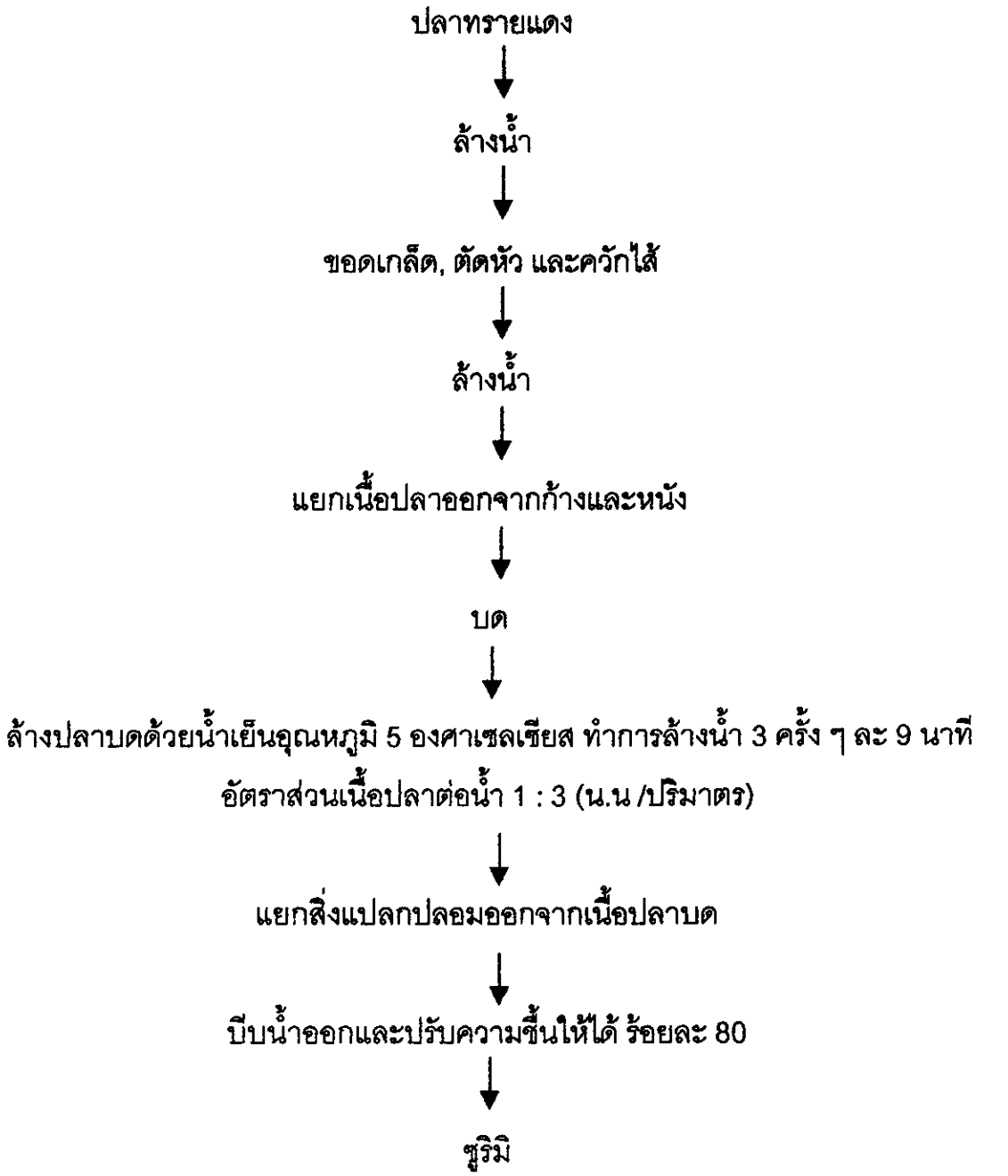
2.2.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ตามวิธีของ Chang และ Regenstein (1997)

2.2.2 ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือตามวิธีการของ Sych และคณะ (1990)

2.2.3 ค่า Tmax ของโปรตีนในซูริมิตามวิธีการของ Kim และคณะ (1986)

2.2.4 องค์ประกอบโปรตีนในซูริมิโดยใช้ SDS-PAGE ตามวิธีการของ Leammli (1970)

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



รูปที่ 7 . กระบวนการผลิตซูริมิ

ที่มา : ดัดแปลงจาก Lee (1984)

3. บทบาทของโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตต่อการเกิดเจลของซูริมิ

3.1 ผลของโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตต่อการเกิดเจลซูวาริ

นำซูริมิมาเตรียมเจลจำนวน 2 ชุด โดยสับผสมกับสารเติมแต่งดังต่อไปนี้

ชุดที่ 1. เกลือร้อยละ 3

ชุดที่ 2. สารผสมระหว่างเกลือร้อยละ 3 และโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตร้อยละ 0.2 (ดังรูปที่ 8)

จากนั้นนำเจลที่ได้จากการเตรียมมาวิเคราะห์ค่าต่อไปนี้

3.1.1 ค่า Tmax ของโปรตีนในซูริมิหลังการเกิดเจลตามวิธีการของ Kim และคณะ (1986)

3.1.2 ตรวจสอบความแข็งแรงของเจลโดยเครื่อง Texture analyzer โดยตรวจสอบค่า breaking force และ deformation

3.1.3 ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือตามวิธีการของ Sych และคณะ (1990)

3.1.4 ความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลตามวิธีการของ Hasegawa (1987)

3.1.5 ค่าพีเอชตามวิธีการของ Chang และ Regenstein (1997)

3.2 ผลของสารประกอบฟอสเฟตต่อคุณภาพเจลคามาโบโกะ

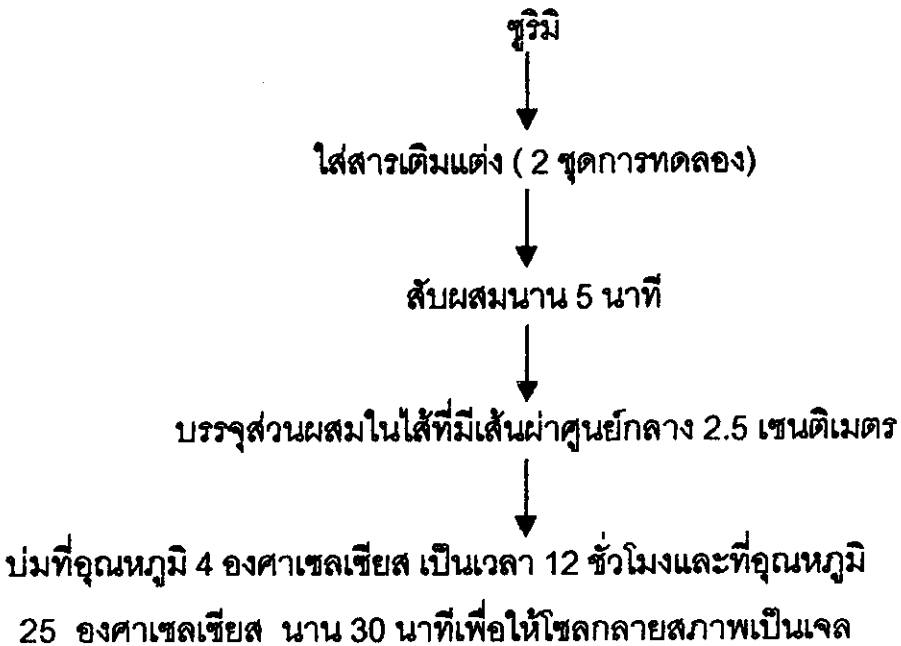
เตรียมเจลซูวาริตามวิธีการในข้อที่ 3.1 จากนั้นนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ลดอุณหภูมิจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วนำเจลมาวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ต่อไปนี้

3.2.1 ความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลตามวิธีของ Hasegawa (1987)

3.2.2 ตรวจสอบความแข็งแรงของเจลโดยตรวจสอบค่า breaking force และ deformation

3.2.3 ค่าพีเอชตามวิธีการของ Chang และ Regenstein (1997)

3.2.4 โครงสร้างของจุลภาคของเจลโดยใช้ SEM



รูปที่ 8 . กระบวนการเตรียมเจลซูวาริ

ที่มา : ดัดแปลงจาก Scott และคณะ (1988)