



วิทยานิพนธ์

ดัชนีความสด สมบัติการเกิดเจล และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหลังจากผ่าน
การแช่เยือกแข็ง-ละลายน้ำแข็งซ้ำของปลาสวายโหมง (*Pangasius* sp.)

**FRESHNESS INDEX, GELLING PROPERTIES AND QUALITY
CHANGES AFTER FREEZE-THAW CYCLES OF
HYBRID STRIPPED CATFISH (*Pangasius* sp.)**

นางสาวสุญานีพร ตูลยพงศ์รักษ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง)
ปริญญา

ผลิตภัณฑ์ประมง

สาขา

ผลิตภัณฑ์ประมง

ภาควิชา

เรื่อง ดัชนีความสด สมบัติการเกิดเจล และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหลังผ่านการแช่เยือกแข็ง-ละลายน้ำแข็งซ้ำของปลาสร้อยโมง (*Pangasius* sp.)

Freshness Index, Gelling Properties and Quality Changes after Freeze-Thaw Cycles of Hybrid Stripped Catfish (*Pangasius* sp.)

นามผู้วิจัย นางสาวสุญานีพร ตูลยพงษ์ศรีรักษ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปัทมา ระตะนະอาพร, วท.ศ.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์จิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์จิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 30 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2551

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ดัชนีความสด สมบัติการเกิดเจล และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหลังผ่านการแช่เยือกแข็ง-
ละลายน้ำแข็งซ้ำของปลาสวายโม่ง (*Pangasius* sp.)

Freshness Index, Gelling Properties and Quality Changes after Freeze-Thaw Cycles of
Hybrid Stripped Catfish (*Pangasius* sp.)

โดย

นางสาวสุญานีพร ดุลยพงศ์รัศมี

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ผลิตบัณฑิตประจำกรม)

พ.ศ. 2551

สุณานิพร ตูลยพงษ์ศรีภักย์ 2551: คำนวณความสด สมบัติการเกิดเจล และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหลัง
ผ่านการแช่เยือกแข็ง-ละลายน้ำแข็งซ้ำของปลาสวายโมง (*Pangasius* sp.)

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง) สาขาผลิตภัณฑ์ประมง ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปัทมา ระตะนະอาพร, วท.ค. 129 หน้า

ปลาสวายโมงเป็นปลาลูกผสมที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างแม่พันธุ์ปลาสวาย (*Pangasianodon hypophthalmus*) กับพ่อพันธุ์ปลาโมง (*Pangasius boucourti*) ปัจจุบันได้รับการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงและการสนับสนุนให้เป็นปลาเศรษฐกิจชนิดใหม่ของไทย การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาสวายโมงที่เก็บรักษาโดยวิธีแช่เยือกแข็งพบว่า ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่พบแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนในค่าความเป็นกรดเบส, Expressible drip, TVB-N และ ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โดยมีค่าอยู่ในช่วง 6.35 - 6.63, 24.54 - 32%, 8.7 - 11 mg/100 g และ $1.07 - 6.99 \times 10^4$ cfu/g ส่วนค่าสมบัติทางไฟฟ้ามีแนวโน้มลดลง ($P \leq 0.05$) จาก 15 ถึง 9 ขณะที่ K-value มีค่าเพิ่มขึ้น ($P \leq 0.05$) จาก 19.23 ถึง 52.93% ดังนั้นค่าสมบัติทางไฟฟ้า และ K-value สามารถใช้วัดคุณภาพด้านความสดของปลาสวายโมงได้ การศึกษาชนิดของโปรตีนจากปลาสวายโมงพบว่า ในกล้ามเนื้อดำมีปริมาณโปรตีนซาร์โคพลาสมิก โปรตีนสโตรมา และโปรตีนที่ละลายในด่าง มากกว่ากล้ามเนื้อขาว โดยกล้ามเนื้อดำมีปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน โปรตีนซาร์โคพลาสมิก โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ โปรตีนที่ละลายในด่าง และโปรตีนสโตรมา เท่ากับ 3.75, 9.10, 23.71, 2.57 และ 2.38 และในกล้ามเนื้อขาวมี 4.17, 6.18, 26.08, 1.73 และ 2.18 มิลลิกรัมไนโตรเจน/กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ เนื้อปลาสวายโมงบดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำ ให้ความร้อน 1 ระดับที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จะให้ค่าความแข็งแรงของเจลสูงสุดเท่ากับ 721.55 กรัม.เซนติเมตร และค่าความยืดหยุ่นสูงสุดเท่ากับ 0.9 การล้างน้ำจะทำให้เจลมีค่าความขาวสูงกว่าการไม่ล้างน้ำ แต่ความแข็งแรงและความยืดหยุ่นของเจลลดลง การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาสวายโมงที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและละลายน้ำแข็งซ้ำจำนวน 4 รอบพบว่า จำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและละลายน้ำแข็งซ้ำมีผลต่อการลดคุณภาพของปลาสวายโมงแช่แข็ง โดยค่า TBARS, ความเป็นกรดเบส, Expressible drip และร้อยละการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการละลายน้ำแข็งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($P \leq 0.05$) ขณะที่ปริมาณโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือ, ความชื้น, ค่าความแข็งแรงเจล, ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด และคะแนนทางประสาทสัมผัสมีแนวโน้มลดลง ($P \leq 0.05$) เมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและละลายน้ำแข็งซ้ำเพิ่มขึ้น จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อปลาแล้ทั้งในสภาพดิบและสุกในแต่ละรอบพบว่า ผู้ทดสอบไม่ยอมรับตัวอย่างในสภาพดิบตั้งแต่รอบที่ 3 แต่ในสภาพสุกไม่ยอมรับในรอบที่ 4

สุณานิพร ตูลยพงษ์ศรีภักย์
ลายมือชื่อนิติ


ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

26 / 05 / 2551

Suyaneeporn Tulyapongrak 2008: Freshness Index, Gelling Properties and Quality Changes after Freeze-Thaw Cycles of Hybrid Stripped Catfish (*Pangasius* sp.). Master of Science (Fishery Products), Major Field: Fishery Products, Department of Fishery Products. Thesis Advisor: Assistant Professor Pattama Ratana-arporn, Ph.D. 129 pages

Hybrid stripped catfish is a hybrid catfish between *Pangasianodon hypophthalmus* and *Pangasius boucorti*. This fish is currently promoted as new economic fish in Thailand. Quality changes of hybrid stripped catfish during chilled storage were studied. The results showed that the mean range of pH, expressible drip, TVB-N and TBC were found within the ranges of 6.35 - 6.63, 24.54 - 32%, 8.7 - 11 mg/100 g and $1.07 - 6.99 \times 10^4$ cfu/g, respectively with no noticeable trends observed. During storage, electrical properties showed decreasing from 15 to 9 while K-value increased from 19.23 to 52.93%. The results indicated that Torrymeter reading and K-value can be used as index of freshness for this kind of fish. Studying the protein types of fish meat showed that dark muscles had a larger amount of sarcoplasmic proteins, stroma proteins and alkali soluble proteins than white muscle. Dark and white muscle from hybrid stripped catfish had non-protein nitrogenous compound, sarcoplasmic protein, myofibrillar protein, alkali soluble protein and stroma protein as 3.75, 9.10, 23.71, 2.57, 2.38 and 4.17, 6.18, 26.08, 1.73, 2.18 mgN/g respectively. Determination for optimum condition to set hybrid stripped catfish gel found that gel prepared from unwash minced by 1-step heating at 60°C for 20 minutes gave the highest gel strength of 721.55 g.cm. and springiness of 0.9. Washing the mince meat provided gel with a higher whiteness than non-washing one but lowering the gel strength and springiness. Increasing freeze-thaw cycles affect quality of hybrid stripped catfish fillet by increasing the TBARS, pH expressible drip and thaw loss ($p \leq 0.05$) while salt soluble protein, moisture, total bacteria count and sensory scores decreased ($p \leq 0.05$). The results revealed that freeze-thaw cycles affected quality of hybrid stripped catfish muscle. Sensory evaluation of fillets subjected to 1, 2, 3, 4 freeze-thaw cycles were performed both in raw and cooked forms. Panelists unaccepted the samples after passed three cycles when evaluated the raw fillets and after four cycles when evaluated the cook samples.

Suyaneeporn Tulyapongrak
Student's signature

Pattama Ratana-arporn
Thesis Advisor's signature

26 / 05 / 2008

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.ปัทมา ระตะนะอาพร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และผศ.ดร.จิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางการแก้ปัญหา ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น รวมทั้งขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ในภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมงทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำและประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ตลอดจนความคิดอันเป็นระบบให้แก่ข้าพเจ้า

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมงที่อำนวยความสะดวกและให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัย ขอขอบคุณความมีน้ำใจ ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ และกำลังใจของพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ นิสิตปริญญาโทภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณจิรภา หินชุย คุณนงพงา แสงเจริญ คุณสุนันทา บุญช่วย ตลอดจนเพื่อนๆ ทุกคนที่มีได้ระบุ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และทุกๆ คนในครอบครัวที่มอบความห่วงใย กำลังใจ และให้การสนับสนุนในการศึกษาเพื่อข้าพเจ้าตลอดมา

สุญญาพร ดุลยพงศ์รักษ์

พฤษภาคม 2551

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	31
อุปกรณ์	31
วิธีการ	33
ผลและวิจารณ์	44
สรุปผลการทดลอง	81
ข้อเสนอแนะ	82
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	83
ภาคผนวก	94
ภาคผนวก ก แบบทดสอบ	95
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี	99
ภาคผนวก ค วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ	114
ภาคผนวก ง วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา	117
ภาคผนวก จ ตารางวิเคราะห์ผลทางสถิติ	124
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	129

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีของปลาสด	44
2	ปริมาณจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ของปลาสด	51
3	หลักเกณฑ์การให้คะแนนประสิทธิภาพของปลาสดที่เก็บรักษาด้วยน้ำแข็งจำแนกตามลักษณะด้านต่างๆในสภาพดิบ และสุก	53
4	คุณลักษณะของปลาสดระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งเมื่อประเมินในสภาพดิบ	57
5	คุณลักษณะของปลาสดระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งเมื่อประเมินในสภาพสุก	58
6	ปริมาณโปรตีนแต่ละชนิดในเนื้อปลาสด	60
7	ค่าการทดสอบการพับของเจลปลาสดที่การให้ความร้อน 1 ระดับ ณ อุณหภูมิและสภาวะการลี้ยงน้ำต่างๆ	66
8	ค่าการทดสอบการพับของเจลปลาสดที่การให้ความร้อน 2 ระดับ ณ อุณหภูมิและสภาวะการลี้ยงน้ำต่างๆ	67
9	การเปลี่ยนแปลงสีของปลาสดที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ	78
ตารางผนวกที่		
จ1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า TVB-N ค่า K ความเป็นกรดเบส ค่า expressible drip ค่าสมบัติทางไฟฟ้า total plate count ของปลาสดระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง	125
จ2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่น และความขาวของเนื้อปลาสดที่ผ่านการให้ความร้อน 1 ระดับ ณ อุณหภูมิและสภาวะการลี้ยงน้ำต่างๆ	126

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
จ3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่น และความขาวของเนื้อปลาสดวายโม่งที่ผ่านการให้ความร้อน 2 ระดับ ณ อุณหภูมิและสภาวะการลี้ยงน้ำต่างๆ	127
จ4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า TBARS, ปริมาณ โปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือ, ความเป็นกรดเบส, ค่า expressible drip, ความชื้น, ค่า gel strength, total plate count ของเนื้อปลาสดวายโม่งแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง และการละลายน้ำแข็งซ้ำ	128

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ปลาโมง (<i>Pangasius bocourti</i> Sauvage, 1880)	4
2 ปลาสวายโมง (<i>Pangasius</i> sp.)	5
3 กลไกการเกิดเจลไมโอซิน	18
4 ขั้นตอนการสกัดโปรตีนแต่ละชนิด	37
5 ขั้นตอนการเตรียมเจลปลา	39
6 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดเบสของปลาสวายโมงที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง	45
7 การเปลี่ยนแปลงค่า Expressible drip ของปลาสวายโมงที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง	46
8 การเปลี่ยนแปลงค่าสมบัติทางไฟฟ้า ของปลาสวายโมงที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง	47
9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณค่าที่ระเหยได้ทั้งหมด ของปลาสวายโมงที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง	48
10 การเปลี่ยนแปลง K-value ของปลาสวายโมงที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง	49
11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ของปลาสวายโมงที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง	50
12 ความสัมพันธ์ของ K-value และคะแนนทางประสาทสัมผัสของปลาสวายโมงสภาพดิบเก็บรักษาในน้ำแข็ง	52
13 ค่าความแข็งแรงเจลของเนื้อปลาสวายโมงเดิมเกลือร้อยละ 3 ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 83 ที่สภาวะการล้างน้ำ และอุณหภูมิต่างๆ (A) ให้ความร้อน 1 ระดับ (B) ให้ความร้อน 2 ระดับ	65
14 ค่าความยืดหยุ่นของเนื้อปลาสวายโมงเดิมเกลือร้อยละ 3 ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 83 ที่สภาวะการล้างน้ำ และอุณหภูมิต่างๆ (A) ให้ความร้อน 1 ระดับ (B) ให้ความร้อน 2 ระดับ	65
15 ค่าความขาวของเนื้อปลาสวายโมงเดิมเกลือร้อยละ 3 ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 83 ที่สภาวะการล้างน้ำ และอุณหภูมิต่างๆ (A) ให้ความร้อน 1 ระดับ (B) ให้ความร้อน 2 ระดับ	66

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
16 SDS-PAGE ที่ 7.5% acrylamide gel ของเนื้อปลาสาวยโมงที่ไม่ผ่านการล้างน้ำ และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ โดย (A) = ให้ความร้อน 1 ระดับ, (B) = ให้ความร้อน 2 ระดับ, S = โปรตีนมาตรฐาน, MHC = Myosin heavy chain, AC = Actin	67
17 SDS-PAGE ที่ 7.5% acrylamide gel ของเนื้อปลาสาวยโมงที่ผ่านการล้างน้ำ 1 ครั้ง และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ โดย (A) = ให้ความร้อน 1 ระดับ, (B) = ให้ความร้อน 2 ระดับ, S = โปรตีนมาตรฐาน, MHC = Myosin heavy chain, AC = Actin	68
18 SDS-PAGE ที่ 7.5% acrylamide gel ของเนื้อปลาสาวยโมงที่ผ่านการล้างน้ำ 2 ครั้ง และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ โดย (A) = ให้ความร้อน 1 ระดับ, (B) = ให้ความร้อน 2 ระดับ, S = โปรตีนมาตรฐาน, MHC = Myosin heavy chain, AC = Actin	68
19 การเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ของเนื้อปลาสาวยโมงแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ	70
20 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือของเนื้อปลาสาวยโมงแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ	71
21 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดเบสของเนื้อปลาสาวยโมงแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ	72
22 การเปลี่ยนแปลงค่า Expressible drip ของเนื้อปลาสาวยโมงแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ	74
23 การเปลี่ยนแปลงค่าร้อยละการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการละลายน้ำแข็ง ของเนื้อปลาสาวยโมงแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ	75
24 การเปลี่ยนแปลงความชื้น ของเนื้อปลาสาวยโมงแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ	76

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
25	การเปลี่ยนแปลงความแข็งแรงของเจล ของเนื้อปลาสวายโม่งแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ	77
26	การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ของเนื้อปลาสวายโม่งแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ	79
27	การเปลี่ยนแปลงคะแนนทางประสาทสัมผัส ของเนื้อปลาสวายโม่งแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ	80
ภาพผนวกที่		
ก1	แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสในการประเมินการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาสวายโม่งที่เก็บรักษาโดยแช่เย็น	96
ก2	แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสในการประเมินการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาสวายโม่งที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ	98

ดัชนีความสด สมบัติการเกิดเจล และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหลังผ่านการแช่เยือกแข็ง-ละลายน้ำแข็งซ้ำของปลาสวายโฌง (*Pangasius* sp.)

Freshness Index, Gelling Properties and Quality Changes after Freeze-Thaw Cycles of Hybrid Stripped Catfish (*Pangasius* sp.)

คำนำ

ปลาเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศ โดยมีการบริโภคภายในประเทศ อีกทั้งแปรรูปเพื่อการส่งออก ทั้งในรูปปลาแช่แข็ง และเนื้อปลาบดหรือซูริมิ การนำปลามาบริโภคหรือแปรรูปนั้น สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงมากที่สุดคือ ความสด เนื่องจากความสดของวัตถุดิบเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพของสัตว์น้ำ และเป็นคุณลักษณะที่สำคัญของการค้า (นงลักษณ์, 2531) นอกจากความสดแล้วคุณภาพของเนื้อปลาที่ผ่านการแปรรูป ยังขึ้นกับวิธีการแปรรูปและการเก็บรักษาด้วย การแปรรูปเป็นเนื้อปลาแช่แข็งนั้น วิธีการแช่แข็ง การบรรจุ การเก็บรักษาและการละลาย ล้วนมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ทั้งสิ้น ส่วนในผลิตภัณฑ์ประเภทซูริมิและผลิตภัณฑ์นั้น คุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่เป็นลักษณะเด่นคือ สมบัติการเกิดเจล โดยมีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อคุณภาพของเจล เช่น สภาพการล้าง การให้ความร้อน เป็นต้น

ปลาโฌง หรือ ปลาเผาะ (*Pangasius bocourti* Sauvage, 1880) เป็นปลาน้ำจืดที่มีเนื้อสีขาวและรสชาติดี และมีแนวโน้มเป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศเพิ่มขึ้น โดยสหภาพยุโรปต้องการนำเข้าเพื่อทดแทนปลา Halibut ซึ่งมีเนื้อสีขาว ก้างน้อย และไขมันต่ำ ทั้งนี้ความต้องการของตลาดในภาพรวมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่มีผู้ผลิตและจำหน่ายเพียงรายเดียวเท่านั้นคือ ประเทศเวียดนาม โดยมีการส่งออกปลาเผาะในรูปเนื้อปลาแช่ (Fillet) ซึ่งปัจจุบันประเทศเวียดนามได้ประสบปัญหาเรื่องคุณภาพของผลิตภัณฑ์ลดลงและมีปัญหาในด้านการตลาด ด้วยเหตุนี้ทำให้ประเทศไทยหันมาส่งเสริมให้ปลาเผาะเป็นปลาเศรษฐกิจตัวใหม่ของไทยขณะที่ยังมีความต้องการของตลาดอยู่ โดยสถาบันอาหารได้ประสานความร่วมมือกับกรมประมงและสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติจัดทำโครงการพัฒนาปลาเศรษฐกิจตัวใหม่เพื่อการส่งออก : ปลาเผาะ (*Pangasius* sp.) ขึ้น เพื่อสนับสนุนนโยบายของรัฐบาลในการแก้ไขปัญหาและเพิ่มมูลค่าการส่งออกให้กับประเทศ (สถาบันอาหาร, 2549) ปัจจุบันสายพันธุ์ของปลาที่ส่งเสริมการ

เพาะเลี้ยงนี้เป็นปลาที่ผสมข้ามพันธุ์ระหว่างปลาเผาะและปลาสวาย กรมประมงให้เรียกว่า ปลา
สวายโมง เป็นที่คาดว่าปลาชนิดนี้จะมีความสำคัญทางเศรษฐกิจเพิ่มมากขึ้น

จากความสำคัญดังกล่าวจึงควรส่งเสริมงานวิจัยเกี่ยวกับปลาชนิดนี้ให้มากขึ้น ปัจจุบันใน
ประเทศไทยมีงานวิจัยเกี่ยวกับปลาชนิดนี้อยู่บ้างในด้านการเพาะเลี้ยงแต่ในด้านการใช้ประโยชน์
เป็นอาหารยังมีจำนวนน้อย การวิจัยนี้เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงความสดทั้งด้าน
กายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาระหว่างการเก็บรักษาปลาสวายโมงสดแช่เย็น เพื่อกำหนดดัชนีความ
สดที่เหมาะสม สถานะการล้างและสถานะให้ความร้อนต่อคุณภาพของเจลปลาสวายโมง และการ
เปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีกายภาพของปลาหลังผ่านการแช่เยือกแข็ง-ละลายน้ำแข็งซ้ำ

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี จุลชีววิทยา และประสาทสัมผัสของปลาสวาย
โอมระหว่างการรักษาในน้ำแข็ง เพื่อกำหนดดัชนีความสดที่เหมาะสม
2. ศึกษาชนิดของโปรตีนในปลาสวายโอม
3. ศึกษาผลของสภาวะการล้างเนื้อปลาและการให้ความร้อนต่อคุณภาพของเจลจากเนื้อ
ปลาสวายโอม
4. ศึกษาผลของการแช่เยือกแข็ง-การละลายน้ำแข็งซ้ำ (freeze-thaw cycles) ต่อการ
เปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีกายภาพของเนื้อปลาสวายโอม

การตรวจเอกสาร

ปลาโพงและปลาซวยโพง

ปลาโพง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pangasius bocourti* Sauvage, 1880 เป็นปลาน้ำจืดที่อยู่ในตระกูลเดียวกับปลาซวย พบมากในแม่น้ำโขงแถบจังหวัดนครพนม มุกดาหาร เชียงราย ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียกว่า ปลาเผา ส่วนในภาคกลางและภาคเหนือ เรียกว่า ปลาโพง ลักษณะเด่นของปลาโพงที่แสดงถึงความแตกต่างจากปลาชนิดอื่นในตระกูลเดียวกัน นั่นคือ ปลาโพงมีส่วนหัวที่กลมมนกว่า กระเพาะลมแบ่งเป็น 2 ตอน และเป็นปลาที่มีเมือกเหนียวเป็นจำนวนมาก เนื่องจากปลาโพงมีต่อมสร้างเมือก (mucous gland) ซึ่งจะขับเมือกออกมาบริเวณรูโคนครีบทูจำนวน 3 รู ปลาโพงเป็นปลาเนื้อขาว มีรสชาติดี และเป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศโดยเฉพาะสหรัฐอเมริกา และประเทศแถบยุโรป อีกทั้งผู้ผลิตเพื่อการส่งออกยังมีเพียงเวียดนามประเทศเดียวที่เป็นเจ้าของตลาด โดยการส่งออกปลาชนิดนี้ใช้ชื่อเรียกในตลาดการค้าว่า “BASA” ประเทศไทยจึงมีแนวคิดในการส่งเสริมให้ปลาโพงเป็นสินค้าประมงที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดใหม่ แต่อย่างไรก็ตามในการเพาะเลี้ยงปลาโพงของเกษตรกรไทยยังประสบปัญหาเกี่ยวกับการผลิตลูกพันธุ์ เนื่องจากปลาโพงมีการผสมพันธุ์ยาก และระยะเวลาในการให้ไข่ที่สั้นในแต่ละรอบปี อีกทั้งมีอัตราการเจริญเติบโตค่อนข้างช้าจึงมีศักยภาพในการเพาะเลี้ยงค่อนข้างต่ำ จึงได้มีการพัฒนาสายพันธุ์ ได้เป็นปลาพันธุ์ผสม คือ ปลาซวยโพง ซึ่งจะผลิตลูกปลาได้ในจำนวนที่มากกว่า และมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าปลาโพงพันธุ์แท้ (นิรนาม, 2548; จูอะดี และคณะ, 2549)



ภาพที่ 1 ปลาโพง (*Pangasius bocourti* Sauvage, 1880)

ปลาสาวยโมง (*Pangasius* sp.) เป็นปลาน้ำจืด ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างแม่พันธุ์ปลาสาวย (*Pangasianodon hypophthalmus*) กับพ่อพันธุ์ปลาโมง (*Pangasius bocourti*) ปลาสาวยโมง เป็นปลาที่จัดอยู่ในกลุ่ม catfish ซึ่งอยู่ในตระกูลเดียวกับปลาสาวย ลักษณะเด่นของปลาสาวยโมง คือ เป็นปลาเนื้อขาว มีรสชาติดี และมีไขมันต่ำ ทำให้เป็นที่นิยมของผู้บริโภคในประเทศอื่นอีกทั้งสามารถผลิตลูกปลาได้ในจำนวนที่มากกว่า และมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าปลาโมงพันธุ์แท้ ดังนั้นประเทศไทยจึงสนับสนุนให้มีการเลี้ยงปลาสาวยโมงเพื่อการส่งออก และส่งเสริมให้มีการเลี้ยงอย่างแพร่หลายในบริเวณแม่น้ำโขง โดยเฉพาะที่จังหวัดนครพนม ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการเลี้ยงปลาโมงมากที่สุดของประเทศ (จุอะดี และคณะ, 2549)



ภาพที่ 2 ปลาสาวยโมง (*Pangasius* sp.)

คุณภาพของสัตว์น้ำ

การนำสัตว์น้ำมาบริโภคหรือเพื่อการแปรรูปนั้น สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงมากที่สุดคือ ความสด เนื่องจากความสดเป็นคุณสมบัติอย่างหนึ่งที่ชี้บ่งถึงคุณภาพของอาหารหรือวัตถุดิบ สัตว์น้ำหลังตายทันทีถือว่ามีความสดอยู่ในระดับสูงสุด จากนั้นความสดจะลดลงเรื่อยๆ ดังนั้นการลดลงของความสดเป็นการแสดงถึงการเสื่อมคุณภาพของสัตว์น้ำ (นงลักษณ์, 2531)

การเสื่อมคุณภาพของปลา

การเน่าเสียของปลาจะเกิดขึ้นทันทีหลังจากปลาตาย และขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง ตั้งแต่ก่อนปลาตาย จะเกิดขึ้นเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับแหล่งจับสัตว์น้ำ วิธีการจับ และการเก็บรักษา หลังจากการจับ ภายหลังจากปลาตายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของปลา แบ่งออกได้เป็น 3 ระยะด้วยกัน คือ ระยะก่อนการเกร็งตัว (pre-rigor mortis), ระยะเกร็งตัว (rigor mortis) และระยะ

หลังการเกร็งตัว (post-rigor mortis) ในระหว่างการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว ปลาจะเกิดการเสื่อมเสียคุณภาพหรือการเน่าเสียขึ้น โดยมีสาเหตุของการเสื่อมเสียคุณภาพมาจากกระบวนการ 3 อย่างด้วยกัน คือ กระบวนการเสื่อมเสียคุณภาพโดยน้ำย่อย (autolysis) กระบวนการเสื่อมเสียคุณภาพโดยแบคทีเรีย (bacteria reaction) และ กระบวนการเสื่อมเสียคุณภาพด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction)

ในระยะก่อนการเกร็งตัวและระยะเกร็งตัว ปลามีการเปลี่ยนแปลงหรือเน่าเสียโดยการกระทำของน้ำย่อยที่มีอยู่ในตัวปลาเอง แต่เมื่อผ่านเข้าระยะหลังการเกร็งตัว การเน่าเสียส่วนใหญ่เกิดจากการกระทำของจุลินทรีย์ (ประเสริฐ, 2514)

ระยะก่อนการเกร็งตัว (Pre-rigor mortis)

ปลาในระยะนี้มีความสดมาก ลักษณะภายนอกที่สังเกตได้คือ กล้ามเนื้อมีความยืดหยุ่นสูง เมื่อเอานิ้วมือกดบนตัวปลาเนื้อจะคืนสภาพเดิมในเวลาอันรวดเร็ว การเสื่อมเสียคุณภาพที่เกิดขึ้นจะมาจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของปลาเอง เมื่อปลาดายหัวใจหยุดทำงาน การสูบน้ำออกและหายใจหยุดชะงัก ทำให้เนื้อเยื่อขาดออกซิเจนเพื่อใช้ในการหายใจและสันดาป เนื่องจากเซลล์กล้ามเนื้อยังไม่ตาย ดังนั้นจึงยังคงต้องการพลังงาน พลังงานนี้สะสมอยู่ในรูปของ ATP (adenosine triphosphate) โดยถูกสร้างได้จากอาหารเช่น กลูโคส ไกลโคเจน ซึ่งสะสมในเนื้อเยื่อ เมื่อปลาดายแล้วไกลโคเจนไม่สามารถเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำเหมือนสภาพที่ยังมีชีวิตอยู่ แต่ไกลโคเจนยังแตกตัวต่อไปในสภาพที่ปราศจากออกซิเจนโดยการช่วยเหลือของเอนไซม์มีผลให้เกิดกรดแล็กติก และ ATP กระบวนการนี้เรียกว่า ไกลโคไลซิส เมื่อกรดสะสมเพิ่มมากขึ้นมีผลทำให้ pH ลดลง โดยการลดลงมากขึ้นขึ้นอยู่กับปริมาณไกลโคเจน (นงลักษณ์, 2531; วรรณวิบูลย์, 2546; สุทธวัฒน์, 2548)

ระยะเกร็งตัว (Rigor mortis)

ปลาในระยะนี้ยังถือว่ามีความสดอยู่ เมื่อไกลโคเจนในตัวปลาหมดไป ปลาที่จะเปลี่ยนสภาพเข้าไปอยู่ในระยะเกร็งตัว ตัวปลาที่อ่อนนุ่มก็จะแข็ง โดยปกติจะใช้เวลา 3-10 ชั่วโมง หลังปลาดาย แต่ถ้าเก็บรักษาปลาในความเย็น ระยะเกร็งตัวจะเนิ่นนานออกไปเป็น 1-3 วัน ในระยะนี้จะมี การสลายตัวของ ATP, การย่อยสลายสารประกอบโปรตีน และปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนที่

สารประกอบไขมัน ระยะเกร็งตัวของสัตว์น้ำจะสั้นกว่าสัตว์อื่นๆ เนื่องจากสัตว์น้ำมีไกลโคเจนน้อยมาก (ประเสริฐ, 2514)

การเกร็งตัวของกล้ามเนื้อเกิดจากการหดตัวของโปรตีนกล้ามเนื้อ โดยส่วนหัวของไมโอซินในส่วนของฟิลาเมนต์เส้นหนาจับกับส่วนกลางของแอกติน ซึ่งเป็นองค์ประกอบของฟิลาเมนต์เส้นบาง ทำให้เกิดโครงสร้างแข็งแรงที่เกิดจากการเชื่อมต่องดกล่าว การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนควบคุมก่อให้เกิดปฏิกิริยาดังกล่าว การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เกิดจากการเพิ่มขึ้นของ Ca^{2+} ในซาร์โคพลาซึม ภายหลังที่สัตว์น้ำตายปริมาณ ATP ลดลง เนื่องจากการลดลงของครีเอทีนฟอสเฟตหรือไกลโคเจน ทำให้ตัวควบคุมการส่งผ่านแคลเซียมหยุดทำงาน ส่งผลให้ปริมาณ Ca^{2+} ในซาร์โคพลาซึมเพิ่มขึ้น โดยทั่วไปการเกร็งตัวจะเกิดขึ้นเมื่อมีปริมาณ ATP น้อยกว่า 10^{-4} โมลาร์ และ Ca^{2+} มากกว่า 10^{-6} โมลาร์ โดยปกติการหดตัวของกล้ามเนื้อขึ้นกับปริมาณ Ca^{2+} และเอนไซม์ ATPase เมื่อปริมาณ Ca^{2+} มีปริมาณสูงกว่า 10^{-6} โมลาร์ ATPase ซึ่งมีกิจกรรมเพิ่มขึ้นในสถานะที่มี Ca^{2+} ทำหน้าที่สลาย ATP ซึ่งเป็น plasticizer ของกล้ามเนื้อ ส่งผลให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างแอกตินและไมโอซินเพิ่มขึ้น ส่งผลให้กล้ามเนื้อเกร็งตัว (สุทธวัฒน์, 2548)

ระยะหลังการเกร็งตัว (Post-rigor mortis)

ปลาในระยะนี้จะเหลือความสดอยู่น้อยมาก เริ่มเข้าสู่ระยะการเน่าเสีย และเน่าเสียในที่สุดลักษณะภายนอกจะเห็นว่ากล้ามเนื้อปลานุ่มลง เวลากดไม่สามารถคืนตัวในเวลารวดเร็ว อาจมีของเหลวไหลเยิ้มออกจากตัวปลา และมีกลิ่นไม่สด ระยะหลังการเกร็งตัวเอนไซม์จากแบคทีเรียจะเริ่มเข้ามามีบทบาทมากขึ้น โดยการย่อยเนื้อเยื่อต่าง ๆ ผลของการย่อยทำให้เกิดสารเอมีน แอมโมเนีย แอลกอฮอล์ และไนไตรท์ การสะสมของสารเหล่านี้ทำให้เกิดกลิ่นคาวปลา นอกจากนั้นกรดอะมิโนบางตัวเช่น ฮิสติดีนยังทำให้เกิดกลิ่นฉุนในเนื้อปลา (นงลักษณ์, 2531)

ในระยะของการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ น้ำย่อยจากตัวปลาและจุลินทรีย์จะเข้าทำลายเนื้อเยื่อได้ยาก ดังนั้นถ้าสามารถยืดเวลาระยะนี้ให้นานขึ้น จะทำให้รักษาคุณภาพของสัตว์น้ำไว้ได้นานขึ้น โดยทั่วไปปลาและสัตว์น้ำอื่นจะมีช่วงระยะของการเกร็งตัวสั้นกว่าในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม อุณหภูมิชนิด ขนาดของสัตว์น้ำ ปริมาณไกลโคเจนและ ATP ในเนื้อเยื่อเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อระยะเวลาของการเกร็งตัว ดังนั้นปลาซึ่งตายโดยไม่ได้อิ่มนอนมากจะมีระยะของการเกร็งตัวยาวกว่าปลาซึ่งตายด้วยอาการติดเชื้อรุนแรง (วรรณวิบูลย์, 2546)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเสื่อมคุณภาพของสัตว์น้ำ

ปัจจัยก่อนการจับที่มีผลต่อคุณภาพของสัตว์น้ำ (Connell, 1990)

1. ชนิดของสัตว์น้ำหรือสายพันธุ์ ชนิดของสัตว์น้ำมีผลต่อความชอบ และการยอมรับที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ชนิดของสัตว์น้ำมีผลต่ออัตราการเสื่อมเสีย เช่น ปลาที่มีไขมันสูงมีอัตราการเสื่อมเสียสูงกว่าปลาที่มีไขมันต่ำ ปลาที่มีลำตัวกลม (round fish) มีแนวโน้มเสื่อมเสียเร็วกว่าปลาตัวแบน (flat fish) ปลาที่จับในเขตน้ำอุ่นจะเก็บได้นานกว่าจับในเขตน้ำเย็น

2. ขนาดของสัตว์น้ำ สัตว์น้ำขนาดใหญ่มักได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากกว่าสัตว์น้ำที่มีขนาดเล็ก สำหรับผู้ผลิตหรือผู้ประกอบการแปรรูปสัตว์น้ำ มักนิยมสัตว์น้ำขนาดใหญ่ เนื่องจากผลผลิตของเนื้อสูงกว่า และการจัดการสามารถทำได้ง่าย นอกจากนี้ขนาดที่สม่ำเสมอจะทำให้การแปรรูปง่ายขึ้น เช่นการตัดหัวปลา หรือการปอกเปลือกกุ้งด้วยเครื่องปอกเปลือก

3. เพศของสัตว์น้ำ เพศที่เป็นที่ต้องการนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของปลาบางชนิด เช่น ปลาสเตอร์เจียนให้ไข่ที่มีราคาแพง ปลาต่างเพศบางครั้งให้ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแปรรูปซึ่งมีลักษณะคุณภาพต่างกัน

4. สภาวะและองค์ประกอบ สัตว์น้ำในบางสภาวะจะมีองค์ประกอบของเนื้อเปลี่ยนแปลงไปในบางช่วง เช่น ฤดูกลาวางไข่ เนื้อปลาจะมีโปรตีนและไขมันต่ำกว่าปกติเนื่องจากสารอาหารที่สะสมจะถูกนำไปบำรุงไข่ เนื้อปลาจึงมีน้ำสูงและมีลักษณะนุ่มกว่าปกติ ปริมาณไขมันมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์หลังการแปรรูปด้วย การควบคุมคุณภาพปลาจากปัจจัยด้านสภาวะนี้ต้องอาศัยประสบการณ์ของชาวประมงว่าฤดูไหนควรจับปลาชนิดใด

5. พืชธรรมชาติในสัตว์น้ำ ปลาบางชนิดมีสารประกอบที่เป็นพิษอยู่ภายในแม้จะมีชีวิตอยู่ และพิษจะคงอยู่เมื่อถูกบริโภค ทำให้คนเจ็บป่วยหรือตายได้ เช่น ปลาปักเป้า

6. ปรสิต และ สิ่งมีชีวิตอื่นๆ ปรสิต เช่น พยาธิ เป็นปัญหาต่อการยอมรับของผู้บริโภคเมื่อพบเห็น ปรสิตเหล่านี้ถูกทำลายด้วยความร้อน ส่วนใหญ่ปรสิตเหล่านี้มักพบบนผิวหนังของสัตว์น้ำ หัว หรือ อวัยวะภายใน ปรสิตบางชนิดอาจพบในกล้ามเนื้อปลา และเป็นสาเหตุให้ปลามีเอนไซม์

โปรตีนในปริมาณสูง ส่งเสริมการเกิดการย่อยสลายตัวเองของกล้ามเนื้อปลา ทำให้เกิดลักษณะ นิ่ม หรือมีลักษณะคล้ายยาสีฟัน หรือเรียกลักษณะนี้ว่า “milky” ปลาที่มักพบปัญหานี้ ได้แก่ ปลาแซลม หรือ ปลาดาบ การตรวจสอบวิธีที่เป็นที่รู้จักกันคือ การส่องด้วยไฟ (candling) การระบุชนิดของ พยาธิต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญ

7. สารปนเปื้อนจากแหล่งน้ำ มักพบในสัตว์ที่จับจากแหล่งน้ำตื้น ใกล้ชายฝั่ง และปาก แม่น้ำ ซึ่งจะได้รับน้ำเสียและน้ำใช้ที่ปล่อยลงทะเลตลอดปี สารเหล่านี้ได้แก่ โลหะหนัก สารอินทรีย์เคมีจากอุตสาหกรรม น้ำมัน นอกจากนี้ยังรวมถึงสารกัมมันตรังสีต่างๆ

ปัจจัยหลังการจับที่มีผลต่อคุณภาพของสัตว์น้ำ (Connell, 1990)

1. เอนไซม์ คุณภาพของสัตว์น้ำจะลดลงเนื่องจากเอนไซม์ 2 ชนิด คือ เอนไซม์ในอวัยวะ ช่องท้องที่ปล่อยเอนไซม์โปรติเอสมาย่อยผนังท้องให้นุ่ม เอนไซม์ในไตไปทำให้ trimethylamine oxide (TMAO) ที่อยู่ในเนื้อเปลี่ยนเป็น formaldehyde และ dimethylamine ส่วนเอนไซม์อีกกลุ่ม หนึ่งซึ่งอยู่ในส่วนบรีโกลได้ของสัตว์เองจะก่อให้เกิดสารโมเลกุลต่ำและกลืนรสที่ผิดปกติด้วย กลไกปฏิกิริยาที่ซับซ้อน การเปลี่ยนแปลงทั้งสองกรณีเรียกว่า autolysis ซึ่งวิธีการควบคุม คือ ชะลอการเกิดปฏิกิริยาโดยลดอุณหภูมิให้เร็วที่สุด ผ่าท้องเอาอวัยวะภายในออก เป็นต้น

2. จุลินทรีย์ จุลินทรีย์อยู่ตามระบบทางเดินอาหาร และปนเปื้อนอยู่ตามผิวหนังและเหงือก เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเสื่อมเสีย การเปลี่ยนแปลงช่วงแรกก่อให้เกิดรสเปรี้ยว ต่อมาเกิดรสขมและ กลิ่นซัลไฟด์ สุดท้ายเป็นระยะเน่ามีสารให้กลิ่นแอมโมเนีย

3. การเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพ ที่พบการเปลี่ยนแปลง เช่น ผิวแห้ง กลิ่นหืน เนื้อ เหนียวกระด้าง การเปลี่ยนสี และการเกิด freezer burn เป็นต้น

4. คำหนิหรือรอยบาดแผล การเสื่อมเสียคุณภาพจากปัจจัยทางกายภาพ เช่น รอยคำหนิ การถูกกดทับ ถูกขูดเกี้ยว นอกจากจะทำให้สภาพไม่เป็นที่ยอมรับแล้ว อาจช่วยเร่งปฏิกิริยาทางเคมี และจุลชีววิทยา ทำให้สัตว์น้ำเสื่อมเสียเร็วขึ้นด้วย

ดังนั้นการป้องกันการเสื่อมเสียหลังการจับ สามารถทำได้โดยลดอุณหภูมิในตัวปลาให้ต่ำอย่างรวดเร็ว ดูแลและจัดการการขนส่งให้ถูกต้อง และถูกสุขลักษณะ

การตรวจสอบความสดของปลา

1. การตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การตรวจสอบโดยวิธีประสาทสัมผัส เป็นวิธีที่แพร่หลายเนื่องจากกระทำได้ง่าย และจะให้ผลที่ดีเมื่อใช้ผู้ทดสอบที่มีประสบการณ์และความชำนาญ การตรวจสอบมักประเมินจากลักษณะปรากฏ ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่น อวัยวะภายใน (สุทธวัฒน์, 2548)

วิธีที่ใช้สำหรับการประเมินทางประสาทสัมผัสมีหลายวิธี ตัวอย่างเช่น EEC method วิธีนี้จัดระดับคุณภาพของสัตว์น้ำเป็น 3 ระดับชั้น คือ E (extra), A และ B โดยระดับ E เป็นระดับที่มีคุณภาพสูงสุด นอกจากนี้สามารถตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสได้จากวิธี QIM (The Quality Index Method) ซึ่งเป็นวิธีที่ได้มีการพัฒนาโดย The Tasmanian Food Research Unit QIM เป็นวิธีการประเมินคุณภาพ ซึ่งอาศัยคุณลักษณะต่างๆ หลายประการในการตรวจประเมินคุณภาพ โดยมีการให้คะแนน 0-4 ในแต่ละคุณลักษณะ คะแนนที่ได้จากแต่ละคุณลักษณะจะนำมารวมกันเรียกว่า “Quality index” โดยคะแนนเท่ากับ 0 จะเป็นการบ่งชี้ถึงสัตว์น้ำที่มีความสดมาก และคะแนนที่เพิ่มขึ้นจะบ่งบอกถึงการเสื่อมเสียของสัตว์น้ำ (สุทธวัฒน์, 2548) วิธี QIM สามารถพัฒนาให้เหมาะสมสำหรับการประเมินสัตว์น้ำแต่ละชนิด เช่น Cod (Bonilla *et al.*, 2007) เป็นต้น การตรวจสอบความสดทางประสาทสัมผัสของปลาสามารถประเมินได้ดังนี้ (สุวรรณ, 2540)

1.1 ตา

ปลาสดหรือปลาที่ตายใหม่ๆ ลูกตาต้องนูนใส น้ำรอบๆ ลูกตาต้องใส ไม่ขุ่น เมื่อปลาเริ่มเสื่อมคุณภาพลูกตาจะแบนราบลง จนจมลงในเบ้าตา น้ำรอบๆ ลูกตาจะขุ่นมัวไม่สดใส

1.2 เหงือก

ปลาสดเมื่อเปิดกระพุ้งแก้มดู เหงือกจะมีสีแดงสดใส เมื่อความสดลดลงเหงือกจะมีสีแดงจาง ปลาที่มีคุณภาพไม่ดีแล้ว เหงือกจะมีสีน้ำตาล จนถึงสีน้ำตาลอ่อนหรือจาง เมื่อขยี้เหงือก ให้เลือดออกมาแล้วดมดู ปลาน้ำจืดอาจมีกลิ่นดินหรือกลิ่นโคลนปนมา เมื่อความสดลดลงจะมีกลิ่นหยาบๆ จนถึงกลิ่นคาว ถ้าปลาเสียมากจนถึงเน่าจะมีกลิ่นเน่าหรือกลิ่นแอมโมเนียอย่างชัดเจน ปลาสดเมื่อกที่เหงือกจะต้องใส จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นเมือกขุ่นเมื่อความสดลดลง ถ้าเมือกเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือดำ แสดงว่าคุณภาพไม่ดีแล้ว

1.3 ส่วนผิวของลำตัว

ปลาสดส่วนผิวหนังจะเป็นมันวาวไม่ขุ่นมัว ถ้าปลายังสดจะมีเมือกน้อย เป็นเมือกใสไม่ขุ่น เมื่อคุณภาพเสื่อมลง ผิวหนังจะมัว และมีเมือกขุ่นจำนวนมาก และมีกลิ่นเหม็น

1.4 สีของเลือด

ปลาสดเลือดจะมีสีแดงสด เมื่อความสดลดลง สีของเลือดจะเปลี่ยนเป็นสีแดงคล้ำ น้ำตาล หรือดำ

1.5 กลิ่นและการเกิดกลิ่นหืน

การตรวจดูความสดของปลาโดยการดมกลิ่น จะดมกลิ่นจาก 3 จุด จุดแรกคือเหงือกโดยขยี้เหงือกแล้วดมดู จุดที่ 2 คือช่องท้อง จุดที่ 3 คือผ่าเนื้อตรงจุดต่อระหว่างกระพุ้งแก้มกับครีบต้นของครีบหลังลงไปถึงกึ่งกลางของเส้นหลัง ปลาสดจะมีกลิ่นสดของสาหร่ายทะเล ไม่มีกลิ่นเหม็นหรือกลิ่นเน่า

การเกิดกลิ่นหืนในปลาที่มีไขมันสูง จะเสื่อมคุณภาพโดยการเกิดการเปลี่ยนแปลงของไขมันในตัวปลาอย่างรวดเร็ว โดยจะเกิดจากปฏิกิริยาที่ไม่มีเอนไซม์เข้ามาเกี่ยวข้อง เมื่อออกซิเจนในอากาศรวมตัวกับไขมันในตัวปลา การเกิดออกซิเดชันของไขมันทำให้เกิดกลิ่นหืนขึ้น

1.6 รสชาติ

ปลาแต่ละชนิดจะมีรสชาติแตกต่างกันไป ปลาสดจะมีรสหวาน เมื่อความสดลดลง รสชาติของเนื้อปลาจะลดลงหรือจืดชืด เมื่อปลาเริ่มเน่าเสีย เนื้อปลาจะมีรสขม

2. การตรวจสอบคุณภาพทางเคมี

2.1 ค่า K (K-value)

K-value เป็นตัวชี้วัดคุณภาพด้านความสด โดยเป็นค่าที่แสดงถึงสัดส่วนเป็นร้อยละ ระหว่าง HxR และ HX ต่อปริมาณการแตกตัวของ ATP รวมทั้งสารประกอบที่เกิดจากการสลายตัว การหาค่า K ใช้หลักที่ว่า สารประกอบพวกนิวคลีโอไทด์และสารประกอบที่เกี่ยวข้องมีคุณสมบัติ การดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเลต ช่วงความยาวคลื่น 250-260 นาโนเมตรได้ จากหลักการนี้ทำให้ สามารถหาความเข้มข้นหรือปริมาณสารที่ต้องการ เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงแตกต่างกันไปตาม ความเข้มข้นของสาร (นงลักษณ์, 2531) ดังนั้นค่าการดูดกลืนแสงของนิวคลีโอไทด์ที่แยกจากออก จากเนื้อปลา สามารถนำมาคำนวณดังสมการต่อไปนี้

$$K = \frac{HxR + Hx}{ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx} \times 100$$

เมื่อ	ATP = Adenosine triphosphate	ADP = Adenosine diphosphate
	AMP = Adenosine monophosphate	IMP = Inosinemonophosphate
	HxR = Inosine	Hx = Hypoxanthine

อย่างไรก็ตามปลาแต่ละชนิดจะมีค่า K ที่ใช้เป็นดัชนีความสดที่แตกต่างกัน เช่น ใน ปลาทรายแดง พบว่าค่า K สูงสุดที่ยังยอมรับ เท่ากับ 35% (Yongsawatdigul and Park, 2002) และใน ปลาช่อนเทศที่เก็บในน้ำแข็ง ค่า K ที่เป็นที่ยอมรับก็น้อยกว่า 56% (Mohan *et al.*, 2006)

2.2 ปริมาณค่าที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total volatile basic nitrogen; TVB-N)

TVB-N เป็นปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมดจากการสลายของโปรตีน และสารที่ไม่ใช่โปรตีน ซึ่งเกิดจากเอนไซม์ในสัตว์น้ำหรือเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่ทำให้ปลาเน่าเสีย TVB-N สามารถนำมาใช้เป็นค่าบ่งชี้ความสดของสัตว์น้ำบางชนิดได้ อย่างไรก็ตามสารที่ระเหยได้ทั้งหมดไม่สามารถใช้บ่งบอกการเสื่อมเสียคุณภาพสัตว์น้ำในระยะเริ่มต้น เนื่องจากมักพบปริมาณสารที่ระเหยได้ทั้งหมดอย่างเด่นชัดในช่วงที่เกิดการเน่าเสีย (สุทธวัฒน์, 2548)

Papado-poulos *et al.* (2003) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า TVB-N ของปลา Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) ที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง พบว่าค่า TVB-N ไม่สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงคุณภาพของปลาชนิดนี้ได้ เนื่องจากค่า TVB-N ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อวันที่เก็บรักษาเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามค่า TVB-N ก็สามารถใช้เป็นดัชนีความสดในปลาชนิดต่างๆ ได้เช่น ปลา European eel ที่เก็บรักษาใน 2 สภาวะ คือ เก็บในกล่องที่บรรจุน้ำแข็งและในกล่องที่ไม่บรรจุน้ำแข็ง โดยกล่องทั้งสองถูกนำไปเก็บที่อุณหภูมิ $3 \pm 1^{\circ}\text{C}$ พบว่าการเปลี่ยนแปลงของ TVB-N มีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยปลาที่มีค่า TVB-N มากกว่า 10 mg/100g เป็นปลาที่ผู้ทดสอบไม่ให้การยอมรับ (Ozogul *et al.*, 2005) นอกจากนี้ยังพบว่าในปลา Atlantic cod (Botta *et al.*, 1984), Sea bream (Grigorakis *et al.*, 2003) และ Sardine (Ozogul *et al.*, 2004) สามารถใช้ TVB-N เป็นดัชนีวัดความสดได้

3. การตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพ

3.1 ความเป็นกรด-เบส (pH)

สัตว์น้ำก่อนการเกร็งตัว pH อยู่ใกล้สภาพความเป็นด่าง เนื้อปลามีลักษณะโปร่งใส มันวาว pH เริ่มต้นขึ้นอยู่กับการปัจจัยหลายอย่าง เช่น ปริมาณไกลโคเจน และ buffering power ขณะเริ่มเกร็งตัว (วัดหลังจากตาย 0.5-3 ชม.) pH จะลดลง ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของปลาดังนี้ ปลาดังกลม 6.3-7.0 ปลาดังแบน 6.4-6.6 ปลาน้ำจืด 6.9-7.3 pH จะเปลี่ยนไปตามฤดูกาล และสีของเนื้อปลา ปลาที่มีเนื้อสีอ่อน pH สูงกว่าปลาที่มีสีคล้ำเล็กน้อย เมื่อปลาสิ้นสุดการเกร็งตัว pH จะเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้ง เนื่องจากการระเหยของสารพวกด่างและแอมโมเนีย การวัด pH กระทำได้โดยการใช้ pH มิเตอร์

ซึ่งสามารถวัดโดยตรงในเนื้อสัตว์น้ำ หรือการวัด pH จากสารแขวนลอยของเนื้อสัตว์น้ำในน้ำกลั่น (สุทธวัฒน์, 2548)

3.2 สมบัติในการอุ้มน้ำ

เนื้อสัตว์น้ำที่มีสมบัติการอุ้มน้ำสูงให้ลักษณะเนื้อสัมผัสที่นุ่ม เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค สำหรับเนื้อที่มีการอุ้มน้ำต่ำ จะให้เนื้อที่มีลักษณะกระด้าง การตรวจวัดสามารถทำได้โดยการวางชิ้นตัวอย่างระหว่างกระดาษกรอง แล้วกดด้วยน้ำหนักที่คงที่ลงบนตัวอย่าง วัดปริมาณน้ำที่ถูกดูดซับบนกระดาษกรอง ถ้ามีน้ำถูกดูดซับมาก แสดงว่าตัวอย่างมีสมบัติการอุ้มน้ำต่ำ นอกจากนี้ อาจใช้วิธีการหมุนเหวี่ยงตัวอย่างที่ความเร็วและระยะเวลาที่เหมาะสม ของเหลวจะแยกออกมาอยู่ที่ผิวหน้า เพื่อป้องกันการดูดซับของเหลวกลับเข้าไปในตัวอย่าง จึงมีการวางตัวอย่างบนเมมเบรนที่ทำด้วยพอลิเอสเตอร์ ซึ่งวางบน glass bead ดังนั้นเมื่อผ่านการเหวี่ยง ของเหลวจะไหลผ่านเมมเบรน และกักเก็บระหว่าง glass bead และไม่สามารถไหลกลับเข้าไปยังตัวอย่างได้ ดังนั้นจึงได้ค่าที่น่าเชื่อถือมากขึ้น (สุทธวัฒน์, 2548)

3.3 สมบัติทางไฟฟ้า

การวัดแรงต้านทางไฟฟ้าโดยใช้เครื่อง Torry freshness meter อาศัยหลักการของคุณสมบัติการนำไฟฟ้าของหนังและเนื้อปลาที่เปลี่ยนไปหลังการตาย ซึ่งจะแปรผันกับความสด (Huss, 1988) เครื่องมือชนิดนี้สามารถใช้ได้กับปลาที่ไม่ผ่านการแช่เยือกแข็ง และการทำลาย อีกทั้งต้องเป็นชิ้นปลาที่ยังคงมีหนังอยู่

4. การตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์

แบคทีเรียจะสามารถเจริญอย่างรวดเร็วระหว่างที่ความสดลดลง โดยแสดงอาการภายนอก เช่น กลิ่นคาว เหม็น เกิดเมือกเหนียว และอื่นๆ ออกมาให้เห็น นักวิทยาศาสตร์สามารถใช้แบคทีเรียเป็นตัวตรวจสอบความสดที่ลดลงได้ การตรวจปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โดยตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียเริ่มต้น เปรียบเทียบกับปริมาณแบคทีเรียเมื่อความสดลดลงมาก หรือเริ่มเน่าเสีย แต่วิธีดังกล่าวนี้ใช้เวลานาน 24-48 ชั่วโมงกว่าจะทราบผล (นงลักษณ์, 2531)

Ozugul *et al.* (2005) ศึกษาการประเมินความสดของ European eel ที่เก็บรักษาในกล่องที่บรรจุน้ำแข็งและในกล่องที่ไม่บรรจุน้ำแข็ง ซึ่งกล่องทั้งสองถูกนำไปเก็บที่อุณหภูมิ $3 \pm 1^{\circ}\text{C}$ โดยใช้วิธีการประเมินทางประสาทสัมผัส เคมี และจุลชีววิทยา พบว่า European eel ที่เก็บรักษาในสถานะทั้ง 2 มีค่า Total viable count (TVC) เพิ่มขึ้นตามวันที่เก็บรักษา และค่า TVC มีความสัมพันธ์กับคะแนนทางประสาทสัมผัส

โปรตีนของเนื้อปลา

โปรตีนเป็นองค์ประกอบเคมีที่สำคัญของปลา โดยโปรตีนของเนื้อปลาสามารถแบ่งได้ 3 ชนิด คือ โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ (Myofibrillar proteins) โปรตีนซาร์โคพลาสมิก (Sarcoplasmic proteins) และโปรตีนสโตรมา (Stroma proteins) โดยโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์มีปริมาณสูงถึงร้อยละ 40-60 ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด สำหรับโปรตีนซาร์โคพลาสมิกที่พบมากที่สุดได้แก่ อัลบูมิน (Albumins) ซึ่งมีปริมาณถึงร้อยละ 30 ของโปรตีนทั้งหมด อย่างไรก็ตามโปรตีนซาร์โคพลาสมิกที่พบมากในกล้ามเนื้อแดงอาจได้แก่ ฮีโมโปรตีน (Haemoproteins) ขณะที่โปรตีนสโตรมาซึ่งส่วนใหญ่ได้แก่ คอลลาเจน (Collagen) เป็นโปรตีนที่พบในกล้ามเนื้อปลาน้อยมาก (จักรี, 2544)

โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์

โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ที่พบในปลา คือ ไมโอซิน (Myosin) แอกติน (Actin) โทรโปไมโอซิน (Tropomyosin) และโทรโปนิน (Troponin) ชนิด C, I และ T (Suzuki, 1981) โปรตีนเหล่านี้ละลายได้ในสารละลายเกลือจึงสามารถแยกออกจากเนื้อปลาสดได้โดยการล้างเนื้อปลาสดด้วยสารละลายเกลือที่มีความเป็นกลางและมีความแรงไอออนมากกว่า 300 mM อย่างไรก็ตามได้มีการศึกษาและพบว่าโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ของปลาสามารถละลายได้ในสารละลายที่มีความแรงไอออนต่ำ และในสารละลายที่มีค่า pH ต่ำหรือสูง (Kristinsson and Hultin, 2003) นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อนำโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์มาเชื่อมพันธะกับแอลจินต-โอลิโกแซ็กคาไรด์ ทำให้โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์สามารถละลายได้ด้วยความเข้มข้นของเกลือต่ำ และปรับปรุงคุณสมบัติเชิงหน้าที่อื่นๆ ได้ดีขึ้น (Sato *et al.*, 2003) ไมโอซินเป็นโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ที่พบในปริมาณมากที่สุดคือร้อยละ 50-60 ของปริมาณโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ แอกตินเป็นโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ที่พบรองลงมาด้วยปริมาณร้อยละ 20 ของปริมาณโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ หน่วยย่อยของแอกตินคือ

จีแอคติน (G-actin) ซึ่งจับตัวกันเป็นเส้นใย (F-actin) สำหรับโปรตีนชนิดอื่นๆ ในกลุ่มของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์คือ โทรโปไมโอซิน และโทรโปนินมีอยู่ในปริมาณร้อยละ 10 ของโปรตีนชนิดนี้

โปรตีนชาร์โคพลาสติก

โปรตีนในกลุ่มของโปรตีนชาร์โคพลาสติกได้แก่ ไมโอโกลบิน (Myoglobin) เอนไซม์ (Enzyme) และโปรตีนอัลบูมิน (Albumin) ชนิดต่างๆ คุณสมบัติที่สำคัญของโปรตีนในกลุ่มนี้คือสามารถละลายได้ในน้ำ การจับโปรตีนชนิดนี้ออกจากเนื้อปลาบดจึงทำได้โดยการล้างในน้ำหรือในสารละลายของเกลือที่มีความแรงไอออนต่ำ (จักรี, 2544)

โปรตีนสโตรมา

โปรตีนสโตรมาที่พบในกล้ามเนื้อปลาได้แก่ คอลลาเจน และอีลาสติน (Elastin) ปริมาณของโปรตีนสโตรมาขึ้นอยู่กับชนิดของปลา อาหารที่ปลากิน และระยะการเจริญของปลา โดยทั่วไปปลาประกอบด้วยคอลลาเจน ร้อยละ 0.2-2.2 (Sato *et al.*, 1986) สำหรับในปลาไม่พบว่าปริมาณของคอลลาเจนทำให้เนื้อสัมผัสของปลามีลักษณะเหนียวเช่นเดียวกับในเนื้อกุ้งหรือเนื้อวัว (Mizuta *et al.*, 1999)

เจลของโปรตีนปลา

เจลจัดเป็นวัสดุที่มีลักษณะก้ำกึ่งระหว่างของแข็งและของเหลว ปรากฏการณ์ที่โปรตีนเรียงตัวประสานกันอย่างมีแบบแผน เกิดเป็นโครงสร้างร่างแห 3 มิติ โดยมีโมเลกุลของน้ำระหว่างร่างแหเหล่านั้น เรียกว่า การเกิดเจล (gelation) เจลที่ได้มีความสามารถอุ้มน้ำได้ดี ทำให้เกิดเนื้อสัมผัสที่มีความยืดหยุ่น ความสามารถในการเกิดเจลเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของซูริมิ โดยซูริมิที่ดีควรมีเนื้อสัมผัสที่ยืดหยุ่นสูง กลไกในการเกิดเจลของไมโอซินอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของปลา เนื่องจากเกิดการสูญเสียโครงสร้างดั้งเดิม (denaturation) และการรวมตัวกัน (aggregation) ของไมโอซินและโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ในปลาแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน (Chan *et al.*, 1992a) พันธะที่มีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลคือ แรงดึงดูดไฮโดรโฟบิก เนื่องจากกรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำ (hydrophobic interaction) พันธะไฮโดรเจน และพันธะไดซัลไฟด์ นอกจากนี้การเชื่อม

โยงระหว่างโมเลกุลของ MHC ด้วยพันธะโควาเลนต์ระหว่างกลูตามีนและไลซีน เนื่องจากการเร่งปฏิกิริยาของทรานส์กลูตามิเนส ซึ่งมีผลทำให้ได้เจลที่มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น (จิรวัดน์, 2541)

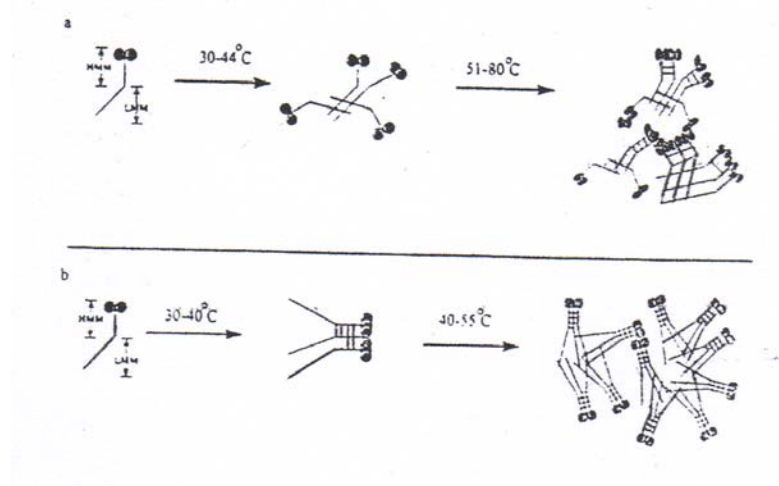
กลไกการเกิดเจล

เจลของโปรตีนเป็นผลจากกระบวนการที่ประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญ 2 ขั้นตอน ในขั้นตอนแรกจะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงโครงร่างโมเลกุลของโปรตีนซึ่งมักจะเป็นผลจากการได้รับความร้อน หรือเกิดจากโปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติไปบางส่วนด้วยปัจจัยอื่น เมื่อการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนเกิดขึ้นจะพบว่าความหนืดของระบบโปรตีนเพิ่มขึ้น เนื่องจากขนาดของโมเลกุลของโปรตีนใหญ่ขึ้นซึ่งเป็นผลจากการคลายตัวของโมเลกุลรวมกับการเริ่มจับตัวกันระหว่างโมเลกุลโปรตีนบางส่วนที่คลายตัวออกมา ต่อจากนั้นในขั้นตอนที่สองโปรตีนซึ่งสูญเสียสภาพธรรมชาติหรือโมเลกุลที่คลายตัวอย่างสมบูรณ์แล้วจะรวมตัวกันหรือจับกันอย่างซ้ำๆ ในระหว่างการจับตัวเพื่อเกิดเป็นโครงร่างตาข่าย ความหนืดของระบบโปรตีนจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และในระยะสุดท้ายระบบของเจลจะมีคุณสมบัติของของแข็งที่มีความยืดหยุ่น (Hermansson, 1978)

อัตราการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในทั้งสองขั้นตอนจะต้องเกิดขึ้นในระดับที่เหมาะสม กล่าวคือ ถ้าการทำให้โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติเกิดขึ้นเร็วกว่าการจับตัวกันของโปรตีน โครงสร้างตาข่าย 3 มิติที่ได้จะไม่มีความสม่ำเสมอ เจลที่ได้จึงมีความแข็งแรงและความยืดหยุ่นต่ำ แต่การทำให้โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติเกิดขึ้นในอัตราที่ไม่สูงมากนัก เจลที่ได้ก็จะมี ความยืดหยุ่นและแข็งแรง ขณะที่การรวมตัวของโปรตีนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติในขั้นตอนที่สองถ้าเกิดอย่างรวดเร็วก็จะมีผลให้โปรตีนจับตัวกันแบบสุ่ม ซึ่งทำให้โครงร่างที่ได้สามารถอุ้มน้ำไว้ได้น้อย (Wong, 1989)

ในองค์ประกอบทั้งหมดของไมโอไฟบริลลาร์โปรตีน ไมโอซินเป็นองค์ประกอบหลักที่สำคัญที่มีผลต่อการเกิดเจล Sano *et al.* (1990 a, b) รายงานว่าไมโอซินจากปลาการ์ปเริ่มจัดเรียงตัวเป็นร่างแหที่อุณหภูมิ 30-45 องศาเซลเซียส โดยเกิดจากส่วนของ LMM เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นถึง 50 องศาเซลเซียส บริเวณ HMM โดยเฉพาะส่วน globular head นั้นจะเกาะตัวรวมกันด้วยแรงดึงดูดไฮโดรโฟบิกเนื่องจากบริเวณดังกล่าวมีกรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำอยู่เป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ Sano *et al.* (1990 b) พบว่า HMM ไม่สามารถเกิดเจลได้ในขณะที่ LMM สามารถเกิดการเรียงตัว

เป็นร่างแห อย่างไรก็ตาม Taguchi *et al.* (1987) ได้เสนอกลไกการเกิดเจลที่แตกต่างออกไปกล่าวคือ การจัดเรียงตัวของ HMM โดยเฉพาะในส่วนของ S-1 เกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นถึง 50 องศาเซลเซียส ส่วนของ LMM เริ่มคลายตัวออกจากกันและจัดเรียงเป็นร่างแห ข้อเสนอดังกล่าวสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Gill and Conway. (1989) ซึ่งรายงานว่า ส่วนหางของไมโอซินซึ่งสกัดจากปลา Cod คลายตัวออกทำให้กรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำ (hydrophobic amino acid) เป็นตัวออกสู่ภายนอกและเกิดแรงดึงดูดไฮโดรโฟบิกระหว่างสายไมโอซินที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Chan *et al.* (1993) พบว่าการจับตัวของไมโอซินจากปลา Cod และ Herring เริ่มต้นที่บริเวณ HMM S-2 ที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส ส่วนของ LMM เริ่มจับตัวเป็นร่างแหที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส ความแตกต่างระหว่างสองกลไกนี้สามารถเปรียบเทียบดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 3 กลไกการเกิดเจลไมโอซิน

ที่มา: (a) Sano *et al.* (1990 a, b) , (b) Chan *et al.* (1993)

ขั้นตอนการเกิดเจลในระหว่างการเตรียมเจล (Lanier *et al.*, 1988)

1. โครงสร้างโมเลกุลกล้ามเนื้อของปลาจะถูกทำลายระหว่างการแยกเนื้อและการบดผสม เมื่อเติมเกลือในเนื้อปลา อีออนของเกลือที่จับโมเลกุลน้ำจะถูกดูดซับบริเวณผิวหน้าของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ส่งผลให้ความสามารถในการจับน้ำเพิ่มขึ้น การละลายของโปรตีนดังกล่าว ส่งผลต่อความหนืดของเนื้อปลา

2. เมื่อเก็บเนื้อปลาสดที่ผสมเกลือแล้วที่อุณหภูมิต่ำ โปรตีนจะคลายตัวเล็กน้อยส่งผลให้การคละมีโนที่ไม่ชอบน้ำสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลข้างเคียง ปฏิกิริยาดังกล่าวก่อให้เกิดเจล ถ้าเซตตัวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และใช้เวลาเพียงพอพันธะไดซัลไฟด์จะเกิดขึ้นโดยเชื่อมระหว่างโมเลกุลซิสเทอีน นอกจากนี้พันธะโควาเลนต์ชนิดอื่นอาจเกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้น การเซตตัวของเจลจึงประกอบด้วยการกระจายตัวของโปรตีน โปรตีนดังกล่าวสามารถจับน้ำได้สูง เจลที่เกิดขึ้นในขั้นตอนนี้ยังคงมีลักษณะคล้ายโซล คือ มีลักษณะขุ่น และค่อนข้างยืดหยุ่น

3. เมื่อเพิ่มอุณหภูมิระหว่างการให้ความร้อน การออกซิเดชันของหมู่ซัลไฮดริลและการเกิดพันธะไดซัลไฟด์จะเพิ่มขึ้น α -helix ของไมโอซินจะคลายตัวส่งผลให้มีหมู่อะมิโนที่ไม่ชอบน้ำที่เป็นอิสระมากขึ้นก่อให้เกิดพันธะไฮโดรโฟบิกเพิ่มขึ้น การรวมตัวของโปรตีนในเมตริกซ์ของเจลมีความสม่ำเสมอเพิ่มขึ้น ดังนั้น ความแข็งแรงของเจลจะเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดและเจลมีความขาวขึ้น

4. การให้ความร้อนกับโปรตีนจากปลาที่อุณหภูมิสูง (80 องศาเซลเซียส) จะให้เจลที่มีความแข็งแรงน้อยกว่าการปล่อยให้เจลเซตตัวที่อุณหภูมิต่ำเป็นระยะเวลาอันสั้นก่อนการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น

5. การทำให้เจลเย็นลงภายหลังการให้ความร้อน ส่งผลให้เกิดพันธะไฮโดรเจนซึ่งจะเพิ่มความแข็งแรงและความเหนียวให้กับผลิตภัณฑ์และโครงสร้างแบบเกลียวแอลฟา (α -helix) อาจเกิดขึ้นใหม่ ขณะเดียวกัน โครงสร้างชนิดเบต้าพ्लीเทดชีต (β -Pleated sheet) จะเกิดขึ้นระหว่างโซ่ของโปรตีน ในขณะที่ให้ความร้อนโมเลกุลของน้ำบางส่วนถูกกักไว้ในโครงข่ายของเจล เจลที่ได้มีสีขาว

ชนิดและพันธะหลักที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเจลของโปรตีน

Park (1995) ได้อธิบายชนิดของพันธะหลักที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเจลของโปรตีน เริ่มจากโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ที่เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติจะมีส่วนของผิวหน้าที่มีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลของโปรตีนที่อยู่ข้างเคียงกันสูงขึ้น เป็นผลให้เกิดพันธะขึ้นระหว่างโมเลกุลของโปรตีน ซึ่งถ้าเกิดพันธะระหว่างโมเลกุลของโปรตีนขึ้นในเวลาเดียวกันมากพอ ก็จะเกิดโครงสร้างหรือร่างแหตาข่ายสามมิติของโปรตีน โมเลกุลขึ้น และเป็นผลให้เกิดเจลของโปรตีนขึ้น

ซึ่งโครงสร้างตาข่ายสามมิติหรือโครงสร้างเจลจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อเกิดพันธะระหว่างโมเลกุลของโปรตีนไม่น้อยกว่า 3 พันธะ พันธะที่สามารถเชื่อมต่อโมเลกุลของโปรตีนเข้าด้วยกัน ได้แก่

1. พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bonds) เป็นพันธะที่อ่อนแอกว่าพันธะชนิดอื่น ๆ และเป็นพันธะที่ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องในการเกิดเจลของโปรตีน แต่เป็นพันธะที่มีความสำคัญที่ช่วยให้ความคงตัวของ bound water ที่อยู่ภายในเจลโปรตีน โดยน้ำส่วนใหญ่จะจับกับกรดอะมิโนที่มีขั้วด้วยพันธะไฮโดรเจน ปริมาณ bound water จะมีความสัมพันธ์กับความยืดหยุ่นของเจล และที่ระดับอุณหภูมิต่ำจะเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของโปรตีนขึ้นมากกว่าที่อุณหภูมิสูง เป็นผลให้เจลที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำมีความคงตัวสูงกว่าเจลที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิสูง (Lanier, 2000) อย่างไรก็ตาม ยังมีปัจจัยอื่น ๆ ของพันธะไฮโดรเจนที่มีต่อความคงตัวของโปรตีน เช่น เมื่อโปรตีนอยู่ในระบบของสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย โมเลกุลของน้ำสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลอื่นได้ เช่น C=O ซึ่งในสภาพปกติแล้ว หมู่ทั้งสองนี้จะเกิดพันธะเปปไทด์ระหว่างกัน ในกรณีนี้น้ำจึงอาจสร้างพันธะไฮโดรเจนกับหมู่อื่น ๆ เป็นผลให้ความคงตัวของโปรตีนลดลง (Damodaran, 1996)

2. พันธะไอออนิก (ionic linkages) พันธะชนิดนี้เกิดจากการรวมตัวของประจุที่แตกต่างกัน คือ หมู่โซ่ข้างที่มีประจุบวกกับหมู่โซ่ข้างที่มีประจุลบบนผิวหน้าของโปรตีน โดยจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อโมเลกุลของโปรตีนเข้าใกล้กันมากพอ จนสามารถสร้างพันธะระหว่างหมู่ที่มีประจุต่างกัน และมีความแข็งแรงพอที่จะสร้างความสมดุลกับแรงผลักระหว่างโมเลกุล อันเนื่องมาจากความแตกต่างระหว่างประจุสุทธิบนโมเลกุลทั้งสอง (Damodaran, 1996) การเติมเกลือมีผลต่อการทำลายพันธะดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตาม แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) สามารถเชื่อมต่อกับโปรตีนที่มีประจุลบ 2 โมเลกุลที่อยู่ใกล้เคียงกันได้ ดังนั้นการเติมแคลเซียมไอออนจึงทำให้เจลของซูรีมมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม พันธะไอออนิกนี้ไม่สามารถทำให้เกิดเจลของซูรีมได้ด้วยตัวของมันเอง

ในโมเลกุลของโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ โปรตีนในซูรีมที่มีความเป็นกรดเบส (pH) ใกล้เป็นกลาง หรือมีค่า pH ประมาณ 6.8 นั้น หมู่คาร์บอกซิล (COO^-) ของกรดกลูตามิก (glutamic acid) และกรดแอสพาร์ติก (aspartic acid) บนสายโซ่โปรตีนจะมีประจุสุทธิเป็นลบ ขณะที่หมู่อะมิโน (NH_2^+) ของกรดอะมิโนอีก 2 ตัวบนสายโซ่โปรตีน คือ ไลซีน (lysine) และอาร์จินีน (arginine) จะมีประจุสุทธิเป็นบวก เพราะฉะนั้นจะเกิดพันธะระหว่างหมู่ที่มีประจุต่างกัน หรือเกิดจากการเชื่อมกันด้วยแรงไอออน คือ หมู่คาร์บอกซิลกับหมู่อะมิโน เป็นผลให้โมเลกุลของโปรตีนไม่โอไฟบริลลาร์แต่ละโมเลกุลเชื่อมติดกันแน่นเป็นโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำ ดังนั้นการที่

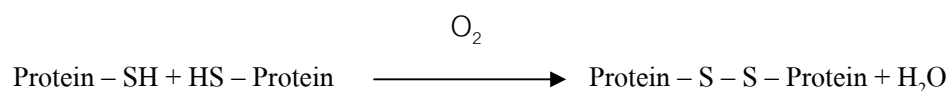
จะทำให้เกิดโครงสร้างเจลได้ ก่อนอื่นจะต้องเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ลงในซุริมิเพื่อให้ไอออนของเกลือคือโซเดียมไอออน (Na^+) และคลอไรด์ไอออน (Cl^-) ไปจับกับไอออนของหมู่อะมิโนที่มีประจุตรงกันข้าม เพื่อให้พันธะไอออนระหว่างโมเลกุลของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ขาดออกจากกัน เป็นผลให้โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ละลายออกมา แล้วทำให้เกิดโครงสร้างเจลด้วยความร้อน (Lanier, 2000)



3. พันธะหรือปฏิกิริยาระหว่างหมู่น้ำไม่ชอบน้ำ (hydrophobic bonds or hydrophobic interactions) ภายในสายโซ่โปรตีนที่ยังไม่คลายตัวหรือยังม้วนพับอยู่ จะมีกรดอะมิโนซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายไขมัน (fatlike) ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้จะไม่รวมตัวกับน้ำหรือแยกหมู่ออกจากโมเลกุลของน้ำเหมือนลิปิด เรียกว่าหมู่น้ำไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ส่วนของสายโปรตีนที่ยังไม่คลายตัวบนผิวหน้าของโปรตีนซึ่งสัมผัสกับน้ำก่อนที่จะเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติจะมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นกรดอะมิโนที่มีคุณสมบัติดูดน้ำและละลายได้ในน้ำ เรียกว่า หมู่ที่ชอบน้ำ (hydrophilic) เมื่อโปรตีนเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติหรือสายโซ่โปรตีนคลายตัวออก แกนของหมู่น้ำไม่ชอบน้ำที่อยู่ภายในโครงสร้างโมเลกุลจะปรากฏออกมาหรือเปิดผิวหน้าสัมผัสกับน้ำ ซึ่งจะทำให้เกิดระบบทางเคมีที่ไม่คงตัว ซึ่งก็เหมือนกับหยดของไขมันหรือหยดน้ำมันในน้ำ คือส่วนของหมู่น้ำไม่ชอบน้ำของโปรตีนพยายามที่จะเชื่อมโมเลกุลกับโมเลกุลอื่น ๆ ที่ไม่ชอบน้ำเช่นกัน เป็นผลให้เกิดการจับตัวของโปรตีนระหว่างหมู่น้ำไม่ชอบน้ำด้วยกัน (hydrophobic binding) ผ่านพันธะไฮโดรโฟบิก ความแข็งแรงของสองพันธะระหว่างหมู่น้ำไม่ชอบน้ำจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นอย่างน้อยที่สุดที่อุณหภูมิสูงขึ้นถึง 60 องศาเซลเซียส ซึ่งตรงกันข้ามกับการเกิดแกนพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของโปรตีนซึ่งจะเกิดพันธะที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิสูง ปัจจุบันเข้าใจว่าการเกิดพันธะระหว่างหมู่น้ำไม่ชอบน้ำระหว่างโมเลกุลของโปรตีน เป็นกลไกเบื้องต้นในการเกิดเจลของโปรตีนร่วมกับการเกิดเจลของโปรตีนด้วยพันธะไดซัลไฟด์ หรือพันธะโควาเลนต์

4. พันธะโควาเลนต์ (covalent bonds) เป็นพันธะที่แข็งแรงซึ่งจะเชื่อมต่อระหว่างโพลีเมอร์ พันธะโควาเลนต์ที่มีบทบาทต่อการเกิดเจลคือ พันธะไดซัลไฟด์ เกิดในระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง (สูงกว่า 40 องศาเซลเซียส) ทำให้เกิดการฟอร์มเจลของโปรตีน ซึ่งพันธะ ไดซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นภายในโมเลกุลของโปรตีนเกิดจากการออกซิเดชันของหมู่ซัลไฮดริล (reactive SH groups)

บนโมเลกุลของกรดอะมิโนซิสเทอีน (cysteine) 2 โมเลกุลที่อยู่บนสายโซ่โปรตีนที่อยู่ข้างเคียงกัน ดังสมการ (Opstvedt *et al.*, 1984; Niwa, 1992)



ด้วยเหตุผลนี้เจลของซูริมีจึงมีความแข็งแรงมากขึ้น เมื่อเติมสารเร่งการเกิดออกซิเดชัน เช่น โพแทสเซียมโบรเมต (potassium bromate) ลงในซูริมี (Niwa, 1992)

การที่ซูริมีจากปลาสามารถเกิดเจลได้ที่อุณหภูมิต่ำ เรียกว่าการเกิดการเซ็ตเจล เนื่องจากการเกิดพันธะโควาเลนต์ระหว่างโมเลกุลของโปรตีนด้วยกัน ระหว่างโมเลกุลของกรดอะมิโนกลูตามีน และไลซีน ที่อยู่บนสายโซ่โปรตีนที่อยู่เคียงข้างกันและผลของปฏิกิริยาของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส (transglutaminase) ที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อปลา เอนไซม์นี้มีคุณสมบัติละลายในน้ำและจะถูกล้างออกไปถ้าทำการล้างเนื้อปลานานเกินไป การที่เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสในสัตว์น้ำจะช่วยให้เกิดการเซ็ตเจลของโปรตีนได้จะต้องมีแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) อยู่ด้วย ดังนั้นถ้าจะป้องกันการเกิดเจลของโปรตีนที่อุณหภูมิต่ำจะต้องเติมสารจับอนุมูลโลหะ เช่น โซเดียมซิเตรต (sodium citrate)

พันธะไดซัลไฟด์จะเกิดมากขึ้นที่อุณหภูมิสูง (80 องศาเซลเซียสหรือมากกว่า) เมื่อเทียบกับที่อุณหภูมิต่ำ การออกซิเดชันของหมู่ซัลไฮดริล เป็นพันธะไดซัลไฟด์จะเริ่มขึ้นอย่างช้าๆ ที่อุณหภูมิ 40 ถึง 45 องศาเซลเซียส แต่อย่างไรก็ตาม อาจเกิดพันธะไดซัลไฟด์ที่อุณหภูมิต่ำในปลาบางชนิด เช่น New Zealand hoki และ Southern blue whiting

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดเจลของโปรตีนปลา

คุณสมบัติของเจลมีความสัมพันธ์กับชนิดของปลา ความสดของวัตถุดิบ และเทคโนโลยีที่ใช้ในกระบวนการผลิต นอกจากนี้คุณภาพของเจลที่เตรียมได้จากซูริมีของปลาชนิดใดๆยังขึ้นอยู่กับเทคนิคที่ใช้เตรียมเจล และการใช้ส่วนผสมหรือสารเติมแต่งอาหารอย่างเหมาะสม Shimizu and Shimidu (1985) ได้ศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดเจลของโปรตีนจากปลาชนิดต่างๆ ซึ่งสามารถสรุปได้ดังนี้

1. ชนิดของปลา อัตราการเกิดเจลในปลาแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน นั่นคือ ปลาที่อาศัยในเขตหนาวสามารถเกิดเจลได้เร็วกว่าในปลาเขตร้อน ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยทางด้านความคงตัวของความร้อนของโปรตีนแอคโตไมโอซิน โดยทั่วไปปลาเนื้อแดงจะว่องไวกับปรากฏการณ์โมโคริมากกว่าปลาเนื้อขาว

2. อายุ จากการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างปลาวัยอ่อนและโตเต็มที่ในปลา Mackerel และ Horse mackerel พบว่าอายุของปลาทั้ง 2 ชนิดมีผลต่อศักยภาพการเกิดเจล โดยปลาที่อยู่ในวัยอ่อนจะมีความว่องไวต่อการเกิดโมโคริมากกว่าปลาที่โตเต็มที่

3. ความสดของปลา ความสดมีผลโดยตรงต่อความสามารถในการเกิดเจลของปลา โดยอัตราความสามารถในการเกิดเจลลดลงในปลาที่มีความสดต่ำและแปรผันตามชนิดของปลา ซึ่งสาเหตุอาจเกิดจากความแปรปรวนในความคงตัวของไมโอไฟบริลลาร์ ระดับการเกิดกรดในกล้ามเนื้อ และการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีนในกล้ามเนื้อ แต่ก็ยังไม่เป็นที่ชัดเจน

4. ฤดูกาล ความแปรปรวนของฤดูกาลมีผลต่อคุณภาพของเนื้อปลา จากการศึกษาจากปลา Horse mackerel ในทะเลตะวันออกของจีน พบว่ามีค่าความสามารถในการเกิดเจลต่ำในเดือน มิถุนายน-สิงหาคม และในทะเลแปซิฟิกเหนือ Alaska pollock มีค่าความสามารถในการเกิดเจลต่ำในเดือน พฤษภาคม-สิงหาคม เนื่องจากฤดูนี้เป็นช่วงวางไข่ของปลาเหล่านี้ อย่างไรก็ตามเหตุผลที่แท้จริงก็ยังไม่สามารถตรวจพบได้ อาจเนื่องจากในช่วงฤดูวางไข่ปลาจะมีค่า pH สูงขึ้น ซึ่งส่งผลกระทบต่อความคงตัวของไมโอไฟบริลลาร์

5. แหล่งที่จับปลามีผลต่อความสามารถในการเกิดเจลของปลา โดยปลาที่จับจากแหล่งต่างกันจะมีความสามารถในการเกิดเจล และความว่องไวต่อการเกิดปรากฏการณ์โมโคริต่างกัน โดยปลาที่มีไขมันสูงและ pH ต่ำจะมีความสามารถในการเกิดเจลต่ำ ทั้งนี้ปริมาณไขมันและ pH อาจเกิดจากแหล่งอาหารที่ปลากิน

การถนอมอาหารโดยการแช่เยือกแข็ง

การถนอมอาหาร โดยการแช่เยือกแข็งเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถเก็บรักษาอาหารไว้ได้นาน หากมีการดำเนินการอย่างถูกต้องเหมาะสมจะช่วยรักษาคุณภาพทั้งในรูปกลิ่นรส สี ไร้ได้สูงมาก เมื่อเทียบกับวิธีถนอมอาหารอื่นๆ แต่จะสามารถรักษาลักษณะเนื้อสัมผัสไว้ได้ปานกลางเท่านั้น แม้ว่าการแช่เยือกแข็งจะเป็นวิธีที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีถนอมอาหารอื่นๆ ก็ตาม แต่ก็ยังมีผลในการทำลายผลิตภัณฑ์ที่นำไปแช่เยือกแข็งได้ ความรุนแรงของการทำลายนั้นขึ้นกับลักษณะของ กระบวนการแช่เยือกแข็งและของผลิตภัณฑ์ (ไพบูลย์, 2532; สายสนม, 2546)

การแช่เยือกแข็ง

หลักพื้นฐานในการแช่เยือกแข็งคือ การลดอุณหภูมิของอาหารให้ต่ำลงจนถึงระดับที่ สิ่งมีชีวิตไม่สามารถจะดำเนินปฏิกิริยาทางชีวเคมีต่อไปได้ โดยทั่วไปมักจะเป็นที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า ซึ่งหลักสำคัญคือ การเปลี่ยนสถานะของน้ำในอาหารที่เป็นของเหลวให้เป็นน้ำแข็ง เพื่อมิให้น้ำนั้นสามารถทำหน้าที่ต่างๆ ในปฏิกิริยาเคมี และไม่เป็นสับสเตรทให้กับ จุลินทรีย์ที่ปนมากับอาหารได้ (สายสนม, 2546)

ระหว่างกระบวนการแช่เยือกแข็งจะเกิดผลึกน้ำแข็งขึ้นภายในอาหาร การเปลี่ยนแปลง ขนาดของผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นนี้จะมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารแช่เยือกแข็ง เมื่อนำ ผลิตภัณฑ์ไปละลายน้ำแข็งออก การเพิ่มขนาดของผลึกมักจะเกิดขึ้นในระหว่าง 1 เดือนแรกของการ เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาพแช่เยือกแข็ง ถ้าผลึกน้ำแข็งเริ่มต้นมีขนาดเล็กก็จะมีโอกาสในการขยาย ขนาดของผลึกน้ำแข็งได้น้อยกว่าผลึกน้ำแข็งเริ่มต้นที่มีขนาดใหญ่ (Boast, 1985)

การเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็ง

วิธีการแช่เยือกแข็งที่ดีและเหมาะสมเพียงอย่างเดียวจะไม่ช่วยให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ ผ่านการแช่เยือกแข็งดีที่สุดได้ เพราะผลิตภัณฑ์นั้นจะต้องนำมาเก็บรักษาไว้ก่อนจะส่งจำหน่ายถึง ผู้บริโภค ถ้าเก็บรักษาไว้ในสภาพที่ไม่เหมาะสม คุณภาพของผลิตภัณฑ์จะลดลงมาก โดยทั่วไปการ เก็บรักษาอาหารแช่เยือกแข็งจำเป็นต้องเก็บในห้องที่มีระดับความเย็นเหมาะสม มีฉนวนป้องกันเพื่อ รักษาระดับอุณหภูมิของห้องให้คงที่อยู่ตลอดเวลา และควรจะต้องอยู่ในระดับต่ำที่แน่ใจได้ว่าจุลินทรีย์ที่

ปะปนมาจะหยุดการทำงานโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ เกิดขึ้นกับอาหารอุณหภูมิในการเก็บรักษาควรจะรักษาให้อยู่ในระดับ -18 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า (สายสนม, 2546)

การสูญเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์แช่เยือกแข็งในช่วงการเก็บรักษามักเป็นการสูญเสียคุณภาพในด้านกายภาพและเคมี (Fennema *et al.*, 1973) ได้แก่

1. การตกผลึกใหม่ (recrystallization) เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเนื่องจากผลึกน้ำแข็งมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขนาดขึ้นได้ในช่วงการเก็บรักษา การตกผลึกใหม่ หมายถึง การเปลี่ยนแปลงใดๆ ที่เกี่ยวกับจำนวน ขนาด รูปร่าง และการเรียงตัวของผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นหลังจากที่ได้ผ่านการกลายเป็นผลึกที่สมบูรณ์แล้ว การตกผลึกใหม่ที่เกิดขึ้นในอาหารและสำคัญที่สุดเรียกว่า การตกผลึกใหม่แบบไมเกรทอรี (migratory recrystallization) เป็นลักษณะที่ผลึกขนาดใหญ่ขยายขนาดขึ้นเนื่องจากการใช้ผลึกที่เล็กกว่าเป็นผลให้ขนาดเฉลี่ยของผลึกมีค่าเพิ่มขึ้น แต่จำนวนผลึกจะลดลงและพลังงานผิวหน้าของผลึกก็จะลดลงด้วย ที่อุณหภูมิและความดันคงที่พบว่า การตกผลึกใหม่แบบนี้เป็นผลมาจากความแตกต่างของพลังงานผิวหน้า (surface energy) ระหว่างผลึกขนาดใหญ่และผลึกขนาดเล็ก กล่าวคือ ผลึกที่มีขนาดเล็กจะมีรัศมีส่วนโค้งน้อยกว่า จึงไม่สามารถจับโมเลกุลที่ผิวหน้าได้แน่นหนาเท่ากับผลึกขนาดใหญ่ ดังนั้นผลึกขนาดเล็กจึงมีสมบัติในการละลายสูงกว่าผลึกขนาดใหญ่ การตกผลึกใหม่แบบนี้เกิดขึ้นได้เมื่ออุณหภูมิในช่วงการเก็บรักษาอาหารแช่เยือกแข็งไม่คงที่ เมื่อมีความร้อนเกิดขึ้นเนื่องจากการเปิดประตูหรือมีอากาศร้อนภายนอกเข้าไปสู่อุปกรณ์แช่เยือกแข็ง ผิวหน้าของอาหารที่อยู่ใกล้กับแหล่งความร้อนมากที่สุดจะมีอุณหภูมิสูงขึ้น ผลึกน้ำแข็งบางส่วนจะละลาย ดังนั้นผลึกน้ำแข็งที่มีขนาดใหญ่จะมีขนาดเล็กลงและผลึกที่มีขนาดเล็กที่สุด (น้อยกว่า 2 ไมโครเมตร) จะละลายเป็นน้ำ ผลึกที่กำลังหลอมเหลวนี้นี้จะมีค่าความดันไอน้ำและความชื้นสูงขึ้น จากนั้นโมเลกุลของน้ำจะเคลื่อนไปยังบริเวณที่มีความดันไอน้ำต่ำกว่า ทำให้อาหารที่อยู่ใกล้แหล่งความร้อนเกิดการสูญเสียน้ำ เมื่ออุณหภูมิลดลงอีกครั้งหนึ่งจะไม่เกิดนิวเคลียสใหม่ แต่จะไปรวมตัวกับผลึกน้ำแข็งที่เหลืออยู่ทำให้ขนาดของผลึกเพิ่มขึ้น คุณภาพของอาหารก็จะลดลง เช่นเดียวกับการแช่เยือกแข็งที่มีอัตราการแช่เยือกแข็งแบบช้า (Karel *et al.*, 1975; Fellows, 1990)

2. การสูญเสียน้ำในระหว่างการเก็บรักษา น้ำบริเวณผิวหน้าของอาหารสูญเสียน้ำได้โดยการระเหิดของผลึกน้ำแข็งและการระเหยของน้ำ ทำให้ชิ้นอาหารหดตัวและแข็งขึ้น ผลิตภัณฑ์มีน้ำหนักลดลง การสูญเสียน้ำโดยการระเหยกลายเป็นไอ ทำให้มีการหักเหของแสงแปลกไปจากบริเวณอื่นๆ สีของชิ้นอาหารจึงแปลกไป ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า freezer burn ซึ่งมักเกิดขึ้นกับผลิตภัณฑ์แช่เยือก

แข็งที่มีภาชนะบรรจุไม่เหมาะสม ผิวหน้าของผลิตภัณฑ์จะเป็นรอยแห้งและมีสีน้ำตาลเกิดขึ้น ปรากฏการณ์นี้สามารถควบคุมได้โดยใช้ภาชนะบรรจุที่ป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดี ควบคุมอุณหภูมิในการเก็บรักษาให้คงที่ และควรบรรจุให้อาหารแนบสนิทไปกับภาชนะบรรจุ (Fennema *et al.*, 1973; Karel *et al.*, 1975; Mallett, 1993)

3. การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง เช่น ในระหว่างการเก็บรักษาปลา Cod และ Haddock ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -10 และ -18 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาที่อุณหภูมิเดียวกัน พบว่าค่า pH และความเข้มข้นของเกลือเปลี่ยนแปลงไป โดยค่า pH จะลดลงในช่วงแรกของการเก็บรักษา หลังจากเก็บรักษาต่อไปพบว่าค่า pH จะเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับค่า pH เริ่มต้นก่อนการแช่เยือกแข็ง (van den Berg, 1961)

4. การเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อสัมผัส เช่น ในผลิตภัณฑ์เนื้อปลา Cod บด ที่แช่เยือกแข็งด้วย plate freezer และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10, -20 และ -70 องศาเซลเซียส นาน 4 เดือน พบว่าถ้าเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง (-10 องศาเซลเซียส) ก็ต้องใช้แรงในการตัดตัวอย่างให้ขาดสูงกว่าการเก็บรักษาที่ -70 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นแนวโน้มเดียวกับพลังงานที่ต้องการใช้เพื่อให้ตัวอย่างขาดออกจากกัน (energy to break point) และพบว่าตัวอย่างที่เก็บที่ -10 องศาเซลเซียส นาน 2 เดือน มีลักษณะแห้งและเหนียวกว่าตัวอย่างที่เก็บที่ -20 และ -70 องศาเซลเซียส หลังจากเก็บนาน 4 เดือน ทุกตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ในด้าน dryness, toughness และ fibrousness (Steen and Lambelet, 1997)

5. การเกิดออกซิเดชันของไขมัน การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของเนื้อปลา มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของเนื้อปลา เนื้อปลาตามธรรมชาติมีอยู่สองสีคือ สีขาว (white meat) และสีแดง (red meat) เนื้อสีแดงจะถูกเติมออกซิเจนได้ง่ายกว่าเนื้อสีขาว และสีจะเปลี่ยนจากแดงเป็นเหลือง นอกจากนี้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรสชาติ และกลิ่นในเนื้อปลา เนื่องจากเกิดการหืนของไขมันในเนื้อปลาที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ประเสริฐ, 2514)

6. การสูญเสียความสามารถในการละลายของโปรตีน โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ เป็นกลุ่มโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ โดยเป็นกลุ่มโปรตีนที่พบมากในโปรตีนกล้ามเนื้อปลา ดังนั้นในการศึกษาการสูญเสียสภาพทางธรรมชาติของโปรตีนในระหว่างการเก็บรักษาอาหารแช่เยือกแข็งมักติดตามความสามารถในการละลายของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ Sikorski (1977)

รายงานว่าการสูญเสียความสามารถในการละลายของโปรตีนในระหว่างการแช่เยือกแข็งและการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็งนั้นอาจเกิดเนื่องจากการจับตัวกันของโปรตีน และยังพบว่าในปลาหลายพันธุ์ การละลายได้ของโปรตีนที่ลดลงมักจะมีผลร่วมกับการเสื่อมเสียทางลักษณะเนื้อสัมผัส ได้แก่ มีความเหนียว (toughness), chewiness, rubberiness เพิ่มขึ้น หรือมีลักษณะปรากฏ เช่น แห้งเป็นขุย (cardboardly, crumby, dry) หรือเป็นเส้นใย (fibrous)

การละลายผลิตภัณฑ์น้ำแข็ง

การละลายผลิตภัณฑ์น้ำแข็งเป็นขั้นตอนที่ค่อนข้างซับซ้อนและอาหารมีแนวโน้มที่จะเกิดการเสื่อมเสียเนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ เนื่องจากการละลายน้ำแข็งมีโอกาสดังกล่าวจะได้รับความเสียหายจากสาเหตุต่างๆ มากที่สุด เช่น ความเข้มข้นของของเหลว การเกิดผลึกใหม่ ความเสียหายเชิงกล และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งการละลายน้ำแข็งอย่างรวดเร็วจะลดปัญหาที่เกิดจากความเสียหายดังกล่าวได้ ผลิตภัณฑ์แช่เยือกแข็งที่ผ่านการแช่เยือกแข็งด้วยวิธีที่มีอัตราการแช่เยือกแข็งแบบเร็ว นั้น หากนำมาผ่านขั้นตอนการละลายน้ำแข็งที่ไม่เหมาะสมและไม่มีการควบคุมที่ดีพอก็จะทำให้ผลิตภัณฑ์แช่เยือกแข็งนั้นมีคุณภาพที่ไม่ดีได้ ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าขั้นตอนการละลายผลิตภัณฑ์น้ำแข็งอาจมีผลทำให้เกิดความเสียหายได้ไม่น้อยกว่าในขั้นตอนการแช่เยือกแข็ง (Karel *et al.*, 1975) ภายหลังจากที่ละลายน้ำแข็งออกจะมีปริมาณน้ำที่ไหลออกมาออกเซลล์ (drip) ถ้าใช้วิธีการละลายน้ำแข็งที่ดีจะทำให้ปริมาณน้ำที่ไหลออกมาออกเซลล์น้อย มีการสูญเสียคุณค่าทางอาหารน้อย น้ำหนักของผลิตภัณฑ์ลดลงน้อย คุณภาพของเนื้อสัมผัสตลอดจนรสชาติ และสีไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก (มยุรี, 2527)

วิธีการละลายน้ำแข็งมีอยู่ 2 หลักการ คือ การนำความร้อนจากผิวไปสู่ภายในผลิตภัณฑ์ และการสร้างความร้อนให้เกิดขึ้นภายในผลิตภัณฑ์ หลักการแรกทำได้โดย จัดให้ผิวของผลิตภัณฑ์สัมผัสกับแหล่งให้ความร้อน เช่น แผ่นโลหะร้อน อากาศร้อน น้ำอุ่น หรือไอน้ำภายใต้สุญญากาศ ส่วนหลักการที่สองจะทำให้เกิดความร้อนขึ้นภายในผลิตภัณฑ์โดยใช้วิธี ไดอิเล็กตริก หรือไมโครเวฟ แต่วิธีการละลายน้ำแข็งด้วยการให้ความร้อนที่ผิวของผลิตภัณฑ์ นิยมใช้มากกว่าการทำให้เกิดความร้อนขึ้นภายในผลิตภัณฑ์ (IIR, 1972)

1. การละลายน้ำแข็งด้วยวิธีให้ความร้อนที่ผิวของผลิตภัณฑ์

การละลายน้ำแข็งด้วยวิธีนี้สามารถทำให้เวลาในการละลายน้ำแข็งลดลงได้โดยการลดขนาดของผลิตภัณฑ์ เพิ่มความแตกต่างอุณหภูมิที่ผิวของผลิตภัณฑ์แช่เยือกแข็งและสภาพแวดล้อม หรือเพิ่มการเคลื่อนที่ของตัวกลางในสภาพแวดล้อมให้เร็วกว่าผิวของผลิตภัณฑ์ ในระหว่างการละลายน้ำแข็งด้วยวิธีนี้จะเกิดขึ้นของส่วนที่ไม่เป็นน้ำแข็ง (unfrozen material) ซึ่งมีค่าสภาพนำความร้อนต่ำกว่าน้ำแข็ง ชั้นที่เกิดขึ้นนี้มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นทำให้ความต้านทานการถ่ายเทความร้อนที่ผิวจะสูงขึ้นเรื่อยๆ วิธีนี้จะได้ผลดีต่อเมื่อเกิดความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิที่ผิวของผลิตภัณฑ์และสภาพแวดล้อม โดยต้องควบคุมไม่ให้อุณหภูมิสภาพแวดล้อมสูงจนเกินไป เพราะอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในด้านสี หรือรูปร่างในบางผลิตภัณฑ์ได้ (Fennema *et al.*, 1973)

การละลายน้ำแข็งด้วยวิธีให้ความร้อนที่ผิวของผลิตภัณฑ์นี้ สามารถใช้ตัวกลางในการให้ความร้อนได้หลายแบบ ได้แก่ อากาศนิ่ง (still air) อากาศที่มีการเคลื่อนที่ (moving air) น้ำ ไอน้ำ ภายใต้สุญญากาศ เป็นต้น (ชนกร, 2538; Fennema *et al.*, 1973)

2. การละลายน้ำแข็งด้วยวิธีทำให้เกิดความร้อนภายในผลิตภัณฑ์

วิธีนี้ทำให้เกิดความร้อนภายในผลิตภัณฑ์โดยให้สนามไฟฟ้าเข้าไปในผลิตภัณฑ์ ซึ่งจะก่อให้เกิดการเคลื่อนที่ของประจุไฟฟ้าที่อยู่ภายใน โมเลกุลภายในผลิตภัณฑ์จะเกิดความร้อนและทำให้อาหารมีอุณหภูมิสูงขึ้น ปริมาณความร้อนที่เกิดขึ้นจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสมบัติทางไฟฟ้าของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด และเนื่องจากอาหารไม่ได้เป็นสารเนื้อเดียวกัน ดังนั้นความร้อนที่เกิดขึ้นในแต่ละส่วนย่อมแตกต่างกัน การละลายน้ำแข็งด้วยวิธีนี้สามารถลดเวลาลงเหลือเพียงไม่กี่นาทีเท่านั้น แต่ต้องใช้กับผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน ในระหว่างการละลายน้ำแข็งอัตราการให้ความร้อนจะเพิ่มขึ้นซึ่งอาจจะเป็นปัญหากับผลิตภัณฑ์ได้ ในปัจจุบันนิยมใช้วิธีนี้เพื่อ tempering และให้ความร้อนกับผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง (ชนกร, 2538) การละลายน้ำแข็งด้วยวิธีนี้สามารถทำได้หลายแบบ ได้แก่ การใช้ความต้านทานทางไฟฟ้าโดยผ่านกระแสไฟฟ้าเข้าไปในผลิตภัณฑ์ การใช้ความถี่สูงในช่วง 915-2,450 เมกกะเฮิรตซ์ ซึ่งเป็นช่วงไมโครเวฟ

การละลายน้ำแข็งโดยใช้คลื่นไมโครเวฟนั้นผลิตภัณฑ์ที่นำมาละลายน้ำแข็งควรเป็นเนื้อเดียวกันและมีรูปร่างสม่ำเสมอ ถ้าผลิตภัณฑ์มีรูปร่างไม่สม่ำเสมอจะเกิดความร้อนไม่สม่ำเสมอ เช่น บางส่วนอาจเกิดความร้อนมากเกินไป (Fennema *et al.*, 1973) ความร้อนที่เกิดจากคลื่นไมโครเวฟจะเกิดที่จุดซึ่งอาหารสัมผัสกับไมโครเวฟแล้วจึงค่อยกระจายตัวออกไปยังส่วนอื่น เนื่องจากผลของการเดือดของน้ำโดยการนำความร้อนและเป็นไปอย่างต่อเนื่อง (สายสนม, 2546)

การแช่เยือกแข็ง-การละลายน้ำแข็งซ้ำ (freeze-thaw cycle)

การเก็บรักษาโดยวิธีแช่เยือกแข็ง เป็นวิธีการถนอมรักษาสัตว์น้ำที่มีประสิทธิภาพ โดยสามารถป้องกันการเน่าเสียของสัตว์น้ำ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในผลิตภัณฑ์แช่เยือกแข็งอาจเกิดขึ้นได้ระหว่างการขนส่ง การเก็บรักษา และการวางจำหน่ายในตลาด การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้เกิดการละลายน้ำแข็งและการแช่เยือกแข็งซ้ำ (freeze-thaw cycle) ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์แช่เยือกแข็ง (สุทธวัฒน์, 2548; Jittinandana, 2005)

Hurling and McArthur (1996) พบว่าเนื้อปลา Cod (cod fillet block) ที่ผ่านการละลายน้ำแข็งและแช่เยือกแข็งซ้ำเป็นครั้งที่ 2 จะสูญเสียความสามารถในการละลายของโปรตีนในกลุ่ม myofibrillar protein โดยการละลายจะลดลงอย่างรวดเร็วกว่าปลาที่ผ่านการแช่เยือกแข็งเพียงครั้งเดียว และยังพบว่าค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ก็ลดลงมากเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่าการละลายน้ำแข็งที่ใช้เวลานาน (ประมาณ 30 ชั่วโมง) ก่อนที่จะมีการแช่เยือกแข็งใหม่นั้นจะมีผลทำให้ปลาที่ผ่านการให้ความร้อนมีสีเทา มีกลิ่นรสที่ไม่สด และมีกลิ่นหืนในระหว่างการเก็บรักษา

Sriket *et al.* (2007) พบว่ากระบวนการแช่เยือกแข็ง-การละลายน้ำแข็งซ้ำ มีผลต่อสมบัติทางเคมีกายภาพและโครงสร้างขนาดเล็ก (microstructures) ของกล้ามเนื้อทั้งกล้ามเนื้อดำและกล้ามเนื้อขาว ซึ่งการละลายน้ำแข็งและการแช่เยือกแข็งซ้ำเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน การแตกของเซลล์ และการทำลายโครงสร้างกล้ามเนื้อของกล้ามเนื้อทั้งสองชนิด โดยการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวพบในกล้ามเนื้อขาวสูงกว่ากล้ามเนื้อดำ

ศิรินทรา (2544) พบว่ากระบวนการแช่เยือกแข็ง-การละลายน้ำแข็งซ้ำ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกุ้งกุลาดำ และการเพิ่มจำนวนครั้งของการแช่เยือกแข็ง-การละลายน้ำแข็งซ้ำทำให้ค่า TBA, pH และค่าแรงต้านการตัดขาดในกุ้งที่ละลายน้ำแข็งแล้วมีค่าเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือมีค่าลดลง นอกจากนี้ได้ทำการวิเคราะห์ลักษณะทางเนื้อเยื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและวิธีทาง histology พบว่ากุ้งที่ผ่านจำนวนครั้งของการแช่เยือกแข็ง-การละลายน้ำแข็งซ้ำเพิ่มขึ้นมีระยะห่างระหว่าง muscle fiber เพิ่มขึ้น และ muscle fiber bundle เรียงตัวกันอย่างไม่ต่อเนื่องและขาดออกจากกัน ซึ่งเห็นได้ชัดในกุ้งที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-การละลายน้ำแข็งซ้ำตั้งแต่ 2 ครั้งขึ้นไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

1.1 ปลาสดจากโครงการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงและแปรรูปปลาหมอ จังหวัดนครพนม ขนส่งโดยบรรจุปลาในกล่องโฟม ซึ่งมีการบรรจุน้ำแข็งสลับกับปลาเป็นชั้น ๆ ขนส่งมาทางรถยนต์ใช้เวลาเดินทางมาถึงห้องปฏิบัติการประมาณ 13 ชั่วโมง

1.2 น้ำแข็ง

1.3 เกล็ดป่น

1.4 ถุงพลาสติกพอลิเอทิลีน (polyethylene – PE)

2. อุปกรณ์ในการผลิต

2.1 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง Sartorius 1219 MP

2.2 เครื่องสับผสม (chopper)

2.3 เครื่องบด (grinder)

2.4 ตู้แช่เยือกแข็ง (cryogenic freezer) Minibatch freezer 1000L

2.5 ตู้แช่เยือกแข็ง (freezer) อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

2.6 ตู้แช่เย็น อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส

2.7 เทอร์โมมิเตอร์

2.8 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

2.9 เตาแก๊ส

2.10 กล่องโฟม

3. อุปกรณ์ในการวิเคราะห์คุณภาพ

3.1 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง Precisa 240A

3.2 ชุดอุปกรณ์การวิเคราะห์ TVB-N

3.3 ชุดอุปกรณ์การวิเคราะห์ K-value

3.4 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (hot air oven) Ohaus 6010H

- 3.5 เครื่องย่อยโปรตีน Buchi 435
- 3.6 เครื่องกลั่นโปรตีน (distillation unit) Buchi 323
- 3.7 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไขมัน Soxhlet system Ht 1043
- 3.8 เตาเผาอุณหภูมิสูง (muffle furnace) Phoenix Furnaces Model Beta 5
- 3.9 เครื่องวัดความเป็นกรดเบส (pH meter) Metrohm 744
- 3.10 เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (texture analyzer) Stable Micro System TA – HD
- 3.11 เครื่องวัดสี (chroma meter) MINOLTA CM – 3500d
- 3.12 ชุดอุปกรณ์การประเมินทางประสาทสัมผัส เช่น แก้วน้ำ ช้อน ส้อม ถาดชิม
- 3.13 เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง Hermle ZK 365
- 3.14 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ Shimadzu UV-1700 Pharmaspec
- 3.15 ชุดตรวจสอบรูปแบบของโปรตีน (gel electrophoresis) Mini PROTEAN[®] 3 cell
- 3.16 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) HIRAYAMA 240/300 MIV
- 3.17 ตู้บ่มเชื้อ (incubator) Memmert Model 600

4. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์

- 4.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ TVB-N ได้แก่ trichloroacetic acid 4 %, Mixed indicator, boric solution 1% + indicator, สารละลายอิมตัว K_2CO_3 , 0.02 N HCl
- 4.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ K-value ได้แก่ $HClO_4$ 10 %, $HClO_4$ 5 %, neutralized $HClO_4$, 10 N KOH, 1 N KOH, 0.5 M NH_4OH , solution A (0.001 N HCl), solution B (0.01 N HCl ที่มี 0.6 M NaCl), Anion exchange resin (Activated resin), acetone, 0.1 N NaOH, 0.1 N HCl
- 4.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ได้แก่ selenium mixture, Conc. H_2SO_4 , NaOH 32 %, boric acid 2 %, mixed indicator และ 0.1 N H_2SO_4
- 4.4 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ได้แก่ petroleum ether
- 4.5 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดชนิดของโปรตีน ได้แก่ phosphate buffer pH 7.5 (15.6 mM Na_2HPO_4 + 3.5 mM KH_2PO_4)
- 4.7 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ TBARS ได้แก่ thiobarbituric acid solution (0.375% thiobarbituric acid, 15% trichloroacetic acid และ 0.25 N HCl)
- 4.8 สารเคมีที่ใช้ตรวจสอบรูปแบบของโปรตีน ได้แก่ sodiumdihydrogen orthophosphate, disodiumhydrogen phosphate, sodiumdodecylsulphate, β – mercaptoethanol, urea, 30% acrylamide/ bis, coomassie brilliant blue R-250, methanol, acetic acid, Tris-HCl,

bromophenol blue, glycerol, distilled deionized water, TEMED, ammonium persulfate, Prestained SDS-PAGE Standards (high range)

5. อาหารเลี้ยงเชื้อในการตรวจสอบจุลินทรีย์

5.1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ได้แก่ plate count agar

5.2 *Escherichia coli* ได้แก่ lauryl tryptose broth, EC broth, levine eosin methylene blue agar, nutrient agar slant,

5.3 *Staphylococcus aureus* ได้แก่ baird-parker medium

5.4 *Clostridium perfringens* ได้แก่ cooked meat medium, TSC-EY agar

5.5 *Salmonella* spp. ได้แก่ lactose broth, selenite cystine broth, xylose lysine desoxycholate agar

5.6 *Vibrio cholera* ได้แก่ alkaline peptone water, thiosulfate citrate bile salts sucrose agar

6. อุปกรณ์ที่ใช้ในการประมวลผล

6.1 เครื่องคอมพิวเตอร์

6.2 เครื่องคำนวณ

วิธีการ

1. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาสด

สุ่มตัวอย่างปลาสดมาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาสด ได้แก่ ความชื้น โปรตีน โดยดัดแปลงจากวิธี MFRD (1987) สำหรับไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ดัดแปลงจากวิธี AOAC (2000)

2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี จุลชีววิทยา และประสาทสัมผัสของปลาสาวยโมง ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง

2.1 การเก็บรักษาปลาสาวยโมง

ปลาสาวยโมงที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนักประมาณ 700-800 กรัมต่อตัว เมื่อปลาสาวยโมงมาถึงห้องปฏิบัติการจะถูกนำมาล้างทำความสะอาดในน้ำเย็น จากนั้นนำไปบรรจุในถุงพลาสติกชนิด polyethylene โดยแยกถุงละ 3 ตัว แล้วนำไปบรรจุในกล่องโฟมโดยเรียงสลับปลากับน้ำแข็งเป็นชั้นๆ ในอัตรา ส่วน 1:1 แล้วนำไปเก็บรักษาในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในการทดลองจะทำการสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ทุกวันเว้นวัน จนถึงวันที่คุณภาพไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ โดยสุ่มตัวอย่างครั้งละ 1 ถุง มาประเมินการเปลี่ยนแปลงในด้านต่างๆ โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ

2.2 การตรวจสอบคุณภาพ

2.2.1 การตรวจสอบทางกายภาพ

- 1) ค่าความเป็นกรดเบส (pH) โดยใช้ pH meter
- 2) ค่า Expressible drip ตามวิธีของ MFRD (1987)
- 3) ค่าสมบัติทางไฟฟ้า โดยใช้ Torrymeter

2.2.2 การตรวจสอบทางทางเคมี

- 1) ค่า Total Volatile Base Nitrogen (TVB-N) ตามวิธีของ MFRD (1987)
- 2) ค่า K (K-value) ตามวิธีของ MFRD (1987)

2.2.3 การตรวจสอบทางจุลชีววิทยา

- 1) ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total bacteria count) ดัดแปลงจากวิธี AOAC (2000)

2) ปริมาณแบคทีเรียชนิด *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp. และ *Vibrio cholerae* โดยตรวจเฉพาะในปลาสดซึ่งมีการคัดแปลงจากวิธีของ AOAC (2000)

2.2.4 การตรวจสอบทางประสาทสัมผัส

ตรวจสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของปลาสด ในด้านต่างๆ เช่น ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส ส่วนปลาสุกนำปลามาแล่เป็น Fillet ห่อด้วยกระดาษฟอยล์ และนั่งขณะน้ำเดือดเป็นเวลา 8 นาที ประเมินผลด้าน สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส โดยใช้ผู้ทดสอบที่มีความชำนาญในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสและประเมินการยอมรับจำนวนทั้งหมด 5 คน แล้วนำข้อมูลมากำหนดเกณฑ์คะแนนทางประสาทสัมผัสสำหรับตรวจวัดความสดของปลาสด

3. ศึกษาชนิดของโปรตีนของเนื้อปลาสด

นำเนื้อปลาสดที่แยกเป็น 2 ส่วนได้แก่ ส่วนของกล้ามเนื้อดำ (dark muscle) และกล้ามเนื้อขาว (white muscle) มาสกัดโปรตีนแต่ละชนิด ซึ่งดัดแปลงวิธีการสกัดของ Hashimoto *et al.* (1979) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนแต่ละชนิดโดยวิธี Kjeldhal (MFRD, 1987) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3.1 โปรตีนชาร์โคพลาสติก

นำตัวอย่าง 20 กรัม มาเติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ($15.6 \text{ mM Na}_2\text{HPO}_4 + 3.5 \text{ mM KH}_2\text{PO}_4$) pH 7.5 จำนวน 200 มิลลิลิตร ปั่นผสมให้เข้ากัน นำไปเหวี่ยงที่ 6000 xg ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที แยกส่วนใสเก็บไว้ จากนั้นเติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 200 มิลลิลิตร ลงในส่วนที่เป็นตะกอน ปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเหวี่ยงอีกครั้ง นำส่วนใสทั้งสองครั้งมารวมกัน แล้วเติมกรดไตรคลอโรอะซิติกให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็นร้อยละ 5 แล้วนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง นำส่วนที่อยู่บนกระดาษกรองไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนชาร์โคพลาสติก

3.2 สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน

นำส่วนสไลต์ที่ได้จากการกรองในข้อ 3.1 ไปวิเคราะห์ไนโตรเจน แล้วคำนวณค่าหาปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน

3.3 โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์

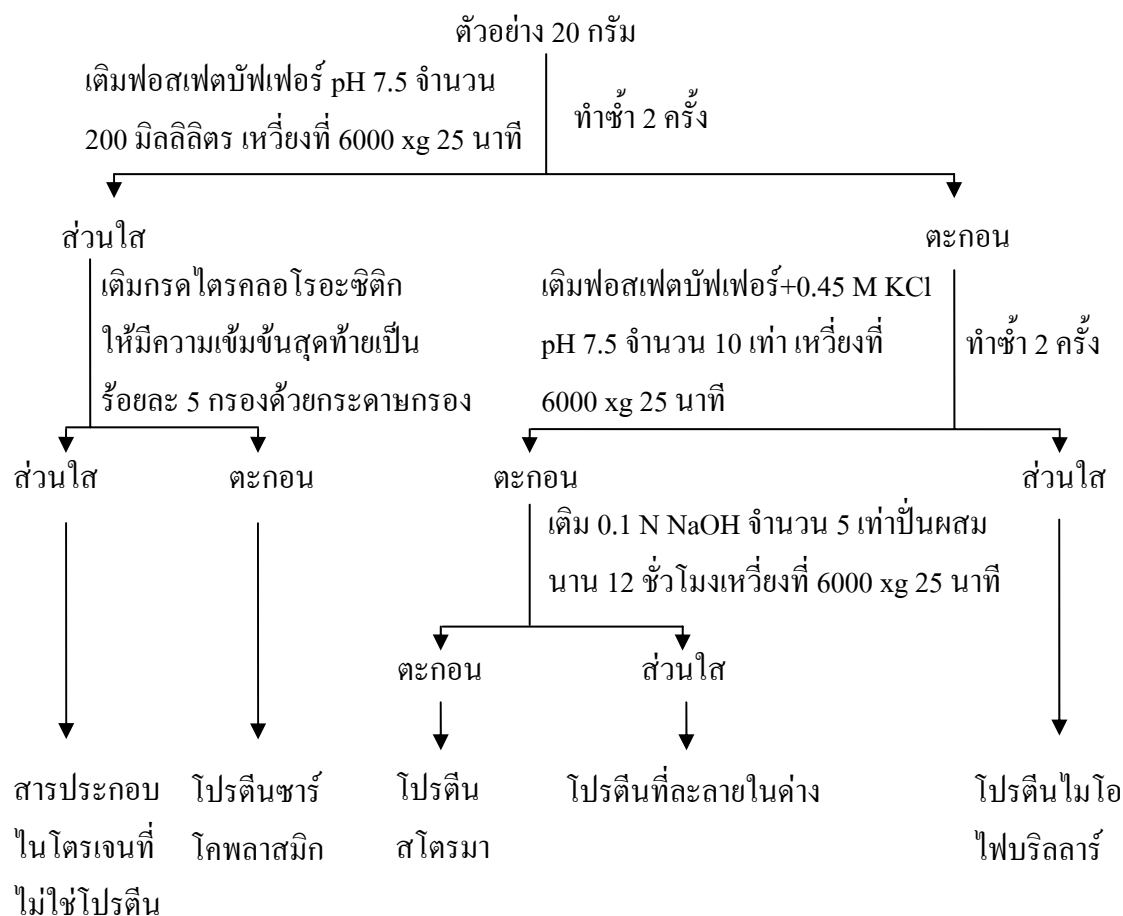
นำตะกอนที่ได้จากการเหวี่ยงในข้อ 3.1 มาเติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ($15.6 \text{ mM Na}_2\text{HPO}_4 + 3.5 \text{ mM KH}_2\text{PO}_4$) ที่ผสม 0.45 โมลาร์ โปตัสเซียมคลอไรด์ pH 7.5 เป็นจำนวน 10 เท่า (w/v) ของตะกอน บั่นผสมให้เข้ากัน นำไปเหวี่ยงที่ 6000 xg ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที นำตะกอนสกัดซ้ำอีกครั้ง แล้วนำสารละลายส่วนสไลต์ที่ได้ทั้งสองครั้งไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์

3.4 โปรตีนสโตรมา

นำตะกอนที่ได้จากการเหวี่ยงในข้อ 3.3 มาเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 นอร์มัล จำนวน 5 เท่า (w/v) และกวนผสมนาน 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปเหวี่ยงที่ 6000 xg ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที นำตะกอนที่ได้จากการเหวี่ยงไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนสโตรมา

3.5 โปรตีนที่ละลายในต่าง

นำส่วนสไลต์ที่ได้จากการกรองในข้อ 3.4 ไปวิเคราะห์ไนโตรเจน แล้วคำนวณค่าหาปริมาณโปรตีนที่ละลายในต่าง



ภาพที่ 4 ขั้นตอนการสกัดโปรตีนแต่ละชนิด

4. ศึกษาผลของการล้างและสถานะให้ความร้อนต่อคุณภาพเจลปลาสาวยโมง

การศึกษาคูณสมบัติการเกิดเจลของปลาสาวยโมง ทำการศึกษาโดยการเปรียบเทียบสถานะการล้างน้ำ (ไม่ล้างน้ำ ล้างน้ำ 1 ครั้ง และล้างน้ำ 2 ครั้ง) และเปรียบเทียบการให้ความร้อนหนึ่งระดับ (single heat) และ 2 ระดับ (double heat) ที่ช่วงอุณหภูมิ 40 ถึง 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทำการทดลอง 2 ขั้ว วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD โดยใช้สภาวะการล้าง และระดับของอุณหภูมิในการให้ความร้อนเป็นปัจจัยในการเปรียบเทียบ โดยทำการศึกษาดังนี้

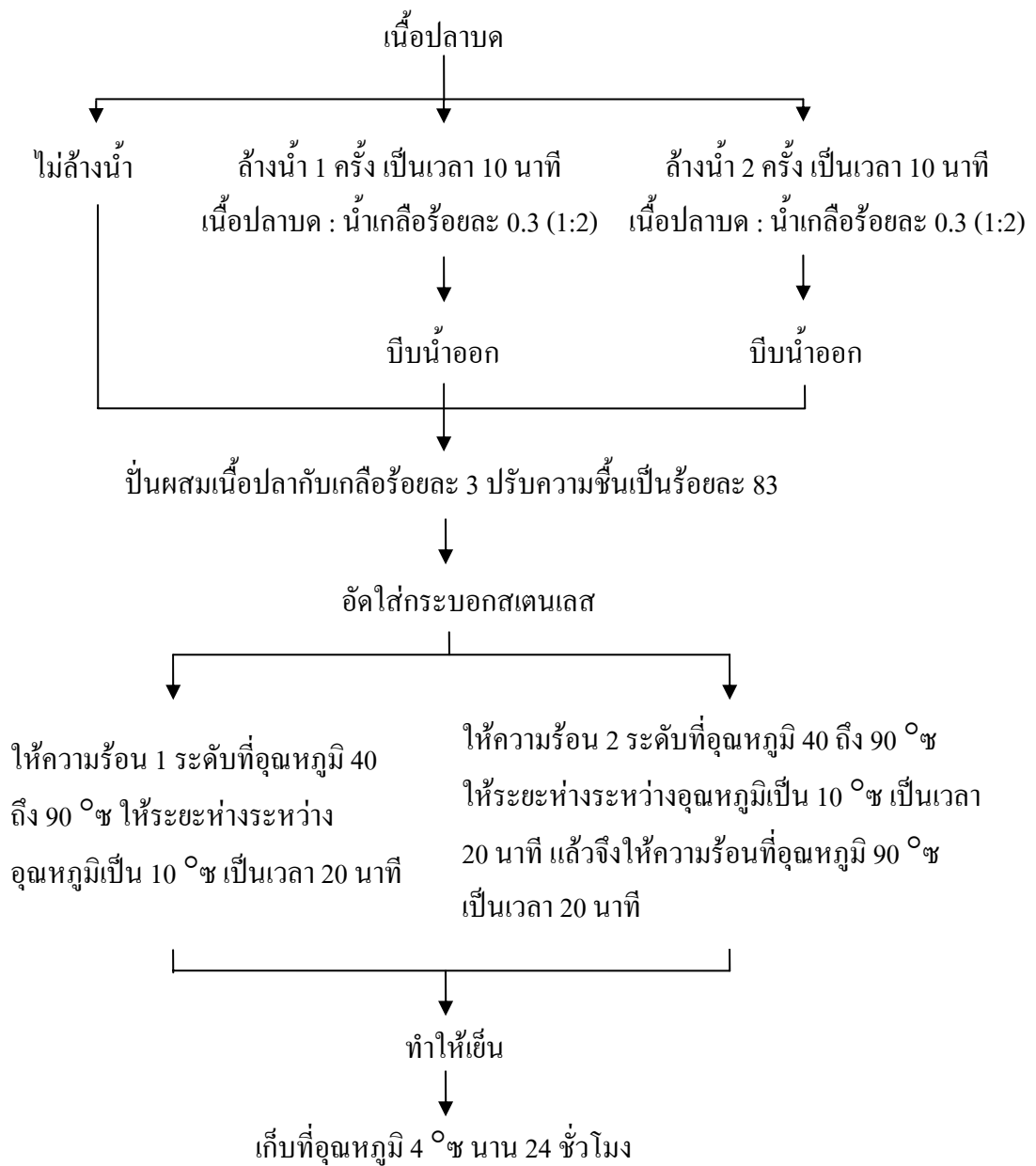
4.1 การเตรียมเจล

นำปลาสดล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเย็น จากนั้นแล่เอาก้างออกแล้วใช้ช้อนชูดเอาแต่กล้ามเนื้อขาว เนื้อปลาที่ชูดได้นำไปเก็บไว้ในภาชนะและรักษาอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเตรียมเนื้อปลาเสร็จ จากนั้นนำเนื้อปลาที่เตรียมไว้มาผ่านเข้าเครื่องบดแล้วแบ่งปลาเป็น 3 ส่วนคือ ส่วนที่ไม่ล้างน้ำ ล้างน้ำ 1 ครั้ง และล้างน้ำ 2 ครั้ง โดยเนื้อปลาที่ล้างน้ำจะล้างด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 0.3 ควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลาครั้งละ 10 นาที ใช้สัดส่วนปลาต่อน้ำ เท่ากับ 1 : 2 (w/v) แล้วบีบน้ำออก ในการเตรียมเจlnำเนื้อปลาที่ผ่านการเตรียมดังกล่าวมาปั่นผสมเนื้อปลากับเกลือร้อยละ 3 เป็นเวลา 10 นาที โดยแบ่งการเติมเกลือเป็น 2 ช่วง คือในการบดช่วง 5 นาทีแรกเติมเกลือเพียงครั้งเดียว ในช่วง 5 นาทีหลังจึงเติมเกลือส่วนที่เหลือ ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 83 ด้วยน้ำเย็น ควบคุมอุณหภูมิที่ใช้ระหว่างปั่นผสมให้ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส บรรจุเนื้อปลาบดใส่แท่งสแตนเลสขนาด 25 x 25 มิลลิเมตร อัดไม่ให้มีฟองอากาศหุ้มด้วยพลาสติก จากนั้นนำไปให้ความร้อนใน water bath ที่อุณหภูมิระดับต่างๆ ดังนี้

ก. ให้ความร้อนหนึ่งระดับ เป็นเวลา 20 นาที โดยทดลองแปรอุณหภูมิที่ให้ความร้อนในช่วง 40 ถึง 90 องศาเซลเซียส โดยเพิ่มช่วงละ 10 องศาเซลเซียส

ข. ให้ความร้อนสองระดับ โดยช่วงแรกให้ความร้อนที่อุณหภูมิในช่วง 40 ถึง 90 องศาเซลเซียส โดยเพิ่มอุณหภูมิช่วงละ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วจึงให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

หลังจากผ่านขั้นตอนการให้ความร้อนใน water bath แล้ว นำมาทำให้เย็นในน้ำผสมน้ำแข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำขึ้นจากน้ำเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ก่อนวิเคราะห์ผล



ภาพที่ 5 ขั้นตอนการเตรียมเจลปลา

4.2 การตรวจสอบคุณภาพ

ตรวจสอบคุณภาพของเจลในด้านต่างๆ ตามวิธีของ MFRD (1987) ซึ่งมีวิธีการดังต่อไปนี้

4.2.1 การวัดความแข็งแรงของเจล (gel strength)

วัดความแข็งแรงของเจลที่ได้จากข้อ 4.1 ด้วยเครื่อง Stable Micro System TA-HD texture analyser โดยเจาะทะลุตัวอย่างขนาด 25 x 25 มิลลิเมตร ด้วยหัวเจาะทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ให้หัวเจาะผ่านตัวอย่างด้วยความเร็วคงที่ 1.0 มิลลิเมตรต่อวินาที โดยกดลงไปในตัวอย่งจนกระทั่งผิวหนังแตก น้ำหนักที่กด (force) จะแสดงค่าเป็น I (g) และความลึกของหัวกดที่กดลงในตัวอย่างจนแตก (deformation) แสดงค่าเป็น h (cm) gel strength จะมีหน่วยเป็น Ixh (g.cm)

4.2.2 การวัดความยืดหยุ่น (springiness)

วัดความยืดหยุ่นของเจลปลาที่ได้จากข้อ 4.1 ด้วยเครื่อง Stable Micro System TA-HD texture analyser ในแต่ละสิ่งทดลอง โดยกดตัวอย่างขนาด 25x25 มิลลิเมตร ด้วยหัวกดทรงกระบอกที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร กดลงไปในตัวอย่งเป็นระยะทางร้อยละ 70 ของความสูง ในรูปแบบของการกดสองครั้ง (two bite) กดด้วยความเร็วคงที่ 1.0 มิลลิเมตรต่อวินาที

4.2.3 การวัดความขาว (whiteness)

การตรวจสอบวัดความขาวของตัวอย่างที่ได้จากข้อ 4.1 โดยใช้ระบบวัดสีแบบ CIELAB นำค่าที่ได้มาคำนวณตามสมการดังนี้

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

4.2.4 การทดสอบด้วยการพับ (folding test)

ตัดตัวอย่างเจลหนา 5 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร ตรวจสอบการแตกของเจลโดยการพับและให้คะแนน ดังนี้

คะแนน	ลักษณะเจล
AA	ไม่แตกเมื่อพับสี่ส่วน
A	แตกเล็กน้อยเมื่อพับสี่ส่วน
B	แตกเล็กน้อยเมื่อพับครึ่ง
C	แตก (แต่ 2 ชิ้นยังติดกัน) เมื่อพับครึ่ง
D	แตกขาดออกจากกันเมื่อพับครึ่ง

4.2.5 ตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนด้วย gel electrophoresis

ตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนปลาด้วย gel electrophoresis ของตัวอย่างที่ได้จากข้อ 4.1 โดยดัดแปลงวิธีของ Weber and Osborn (1969) และ Laemmli (1970)

5. ศึกษาผลของการแช่เยือกแข็ง-การละลายน้ำแข็งซ้ำ (Freeze-thaw cycle) ต่อคุณภาพของเนื้อปลาสวายโมง

5.1 การเตรียมและการเก็บรักษาตัวอย่าง

- นำปลาสวายโมงไปล้างน้ำเย็นที่มีอุณหภูมิไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส
- แกะเนื้อปลาออกจากตัวปลา โดยวิธีการแกะแบบ single fillet
- นำเนื้อปลาไปล้างในน้ำเย็น ควบคุมอุณหภูมิของชิ้นปลาไม่ให้สูงเกิน 10 องศาเซลเซียส
- พักชิ้นปลาในตะแกรง 5 นาที แล้วเก็บชิ้นปลาในถุงพลาสติกเย็น โพลีเอทิลีน
- นำชิ้นปลาที่บรรจุในถุงพลาสติกเย็น โพลีเอทิลีนไปแช่แข็งด้วย cryogenic freezer โดยให้อุณหภูมิภายในตัวเครื่องทำความเย็นเท่ากับ -80 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่จุดศูนย์กลางของเนื้อปลาเท่ากับ -30 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการแช่เยือกแข็งประมาณ 15 นาที

6) นำเนื้อปลาแช่เยือกแข็งเก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นทำการละลายน้ำแข็งโดยให้น้ำ (อุณหภูมิประมาณ 27 องศาเซลเซียส) ไหลผ่านตัวอย่าง โดยใช้เวลาในการละลายขึ้นปลา 20 นาที

7) สุ่มตัวอย่างไปวิเคราะห์คุณภาพ

8) นำตัวอย่างที่เหลือไปแช่เยือกแข็งในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน และทำการละลายน้ำแข็งซ้ำ เก็บตัวอย่างที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง-การละลายน้ำแข็งซ้ำในรอบที่ 0, 1, 2, 3, 4 ไปวิเคราะห์คุณภาพ

5.2 การวิเคราะห์คุณภาพตัวอย่างหลังการละลาย

1) ค่า TBARS ตามวิธีของ Buege and Aust (1978)

2) ตรวจสอบโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือ ตามวิธีของ Benjakul and Bauer (2000) โดยตรวจสอบปริมาณโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือด้วยวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Lowry *et al.* (1951)

3) ค่าความเป็นกรดเบส โดยใช้ pH meter

4) ค่า Expressible drip ตามวิธีของ MFRD (1987)

5) ค่าร้อยละการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการละลายน้ำแข็ง (% Thaw loss) ดัดแปลงวิธีจาก AOAC (2000) โดยชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของผลิตภัณฑ์ก่อนการละลายน้ำแข็ง แล้วจึงนำตัวอย่างไปทำการละลาย จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการละลายไปวางไว้บนตะแกรง เพื่อให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิประมาณ 21-23 องศาเซลเซียส แล้วนำไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของผลิตภัณฑ์หลังการละลายน้ำแข็ง ค่า Thaw loss สามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\% \text{ Thaw loss} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนการละลาย} - \text{น้ำหนักหลังการทำละลาย}}{\text{น้ำหนักก่อนการละลาย}} \times 100$$

6) ค่าความชื้น ตามวิธีของ MFRD (1987)

7) ค่าความแข็งแรงของเจล (gel strength) ตามวิธีของ MFRD (1987) โดยเตรียมเจลตามสถานะของการล้างและการให้ความร้อนที่เหมาะสมที่คัดเลือกได้จากการทดลองในข้อ 4 นั่นคือที่สถานะไม่ล้างน้ำและให้ความร้อน 1 ระดับที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

8) ค่าสี วัดสีของเนื้อปลาแล้ โดยวัดค่า L*, a*, b*

9) ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total bacteria count) ดัดแปลงจากวิธี AOAC (2000)

ในการวิเคราะห์คุณภาพแต่ละวิธี จะทำการทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยใช้จำนวนรอบของการแช่เยือกแข็ง-การละลายน้ำแข็งซ้ำเป็นปัจจัยในการเปรียบเทียบ

10) ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยประเมินคุณภาพเนื้อสัมผัสของปลาทั้งในสภาพดิบและสุก โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนทั้งหมด 5 คน ให้คะแนนการประเมินตามตารางที่แสดงดังภาคผนวก ก2 ซึ่งดัดแปลงตารางการให้คะแนนจากหลักเกณฑ์การให้คะแนนประสาทสัมผัสของปลาสดของกรมประมงที่เก็บรักษาด้วยน้ำแข็งจำแนกตามลักษณะด้านต่างๆ ในสภาพดิบและสุก (ตารางที่ 3)

6. สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

การทดลองครั้งนี้ดำเนินการที่ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2549 จนถึงเดือน ธันวาคม 2550

ผลและวิจารณ์

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลาสาวยโมงสด

จากการสุ่มตัวอย่างในส่วนเนื้อที่บริโภคได้ของปลาสาวยโมงสด มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่า ปริมาณร้อยละของน้ำหนักเปียก (wet basis) ของความชื้น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และ เถ้า มีค่าเท่ากับ 77.29, 15.21, 3.55, 2.56 และ 1.39 ตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 1 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณร้อยละของน้ำหนักเปียกของความชื้น โปรตีน และไขมันของปลาสาวยโมงกับปลาที่อยู่ในตระกูลเดียวกัน พบว่า ปลาสาวยโมงมีความชื้นสูงกว่า ปลาสาวย ซึ่งมีค่าเท่ากับ 62.1 ส่วนโปรตีนที่พบในปลาสาวยโมงมีค่าใกล้เคียงกับโปรตีนในปลาสาวยและปลาบึก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 15.5 และ 16.2 ตามลำดับ สำหรับไขมันในปลาสาวยโมงพบว่า มีปริมาณน้อยกว่าปลาสาวย ซึ่งมีค่าเท่ากับ 21.5 (กรมอนามัย, 2544) ทั้งนี้องค์ประกอบหลักของสัตว์น้ำ เช่น ความชื้น โปรตีน และไขมัน จะแตกต่างกันตามชนิด เพศ ระยะการเจริญเติบโต ฤดูกาล และสภาวะทางโภชนาการของสัตว์น้ำ (นงลักษณ์, 2531; สุทธรวัฒน์, 2548)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของปลาสาวยโมง

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณเฉลี่ย (ร้อยละ) $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ความชื้น	77.29 $\pm$ 0.20
โปรตีน	15.21 $\pm$ 0.38
ไขมัน	3.55 $\pm$ 0.52
คาร์โบไฮเดรต*	2.56 $\pm$ 0.24
เถ้า	1.39 $\pm$ 0.03

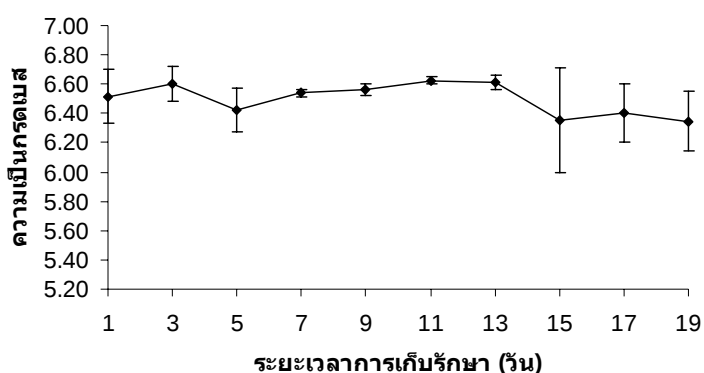
*ได้จากการหักลบ

2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี จุลชีววิทยา และประสาทสัมผัสของปลาสวายโงะระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง

2.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

2.1.1 ค่าความเป็นกรดเบส (pH)

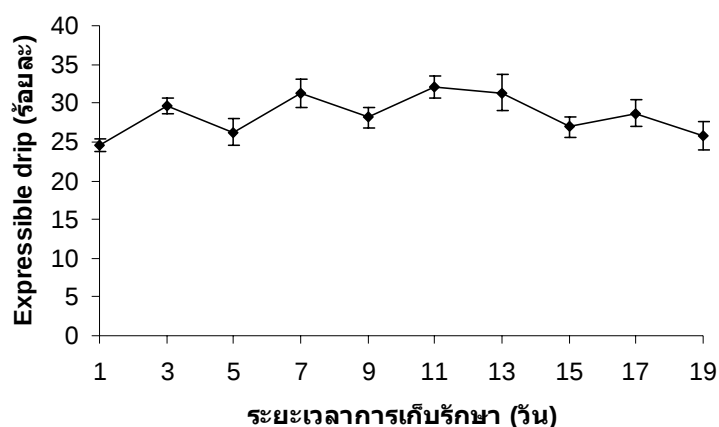
การเปลี่ยนแปลง pH ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 19 วัน แสดงผลดังภาพที่ 6 พบว่า pH ที่พบตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาอยู่ในช่วง 6.35-6.63 ซึ่งจัดว่าเป็นกรดเล็กน้อย ระหว่างการเก็บรักษาค่า pH ไม่แสดงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจน และจากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าค่า pH ระหว่างการเก็บรักษาแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P>0.05$) โดยปกติการเปลี่ยนแปลง pH สามารถเกิดได้จากหลายสาเหตุ นั่นคือ เมื่อสัตว์น้ำตายลง pH มีค่าลดลง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการไกลโคไลซิสซึ่งก่อให้เกิดกรดแลกติก ทั้งนี้ปริมาณกรดแลกติกที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับปริมาณ ไกลโคเจนที่สะสมก่อนตาย รวมทั้งการปฏิบัติต่อสัตว์น้ำ ส่วนการเพิ่มขึ้นของ pH อาจมีสาเหตุมาจากเนื้อปลาเกิดการย่อยสลายตัวเองโดยเอนไซม์ ทำให้โปรตีนเสียสภาพหรือเกิดการแตกตัวของโปรตีน เกิดเป็นสารประกอบไนโตรเจนและสารประกอบเอมีนที่มีฤทธิ์เป็นด่างออกมา อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลง pH ของปลาขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น อุณหภูมิ ลักษณะการจับ ชนิดของปลา และปัจจัยอื่น ๆ (Huss, 1988)



ภาพที่ 6 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดเบสของปลาสวายโงะที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง

2.1.2 ค่า Expressible drip

ผลการวิเคราะห์ค่า Expressible drip ของปลาซวายโมงที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 19 วัน แสดงดังภาพที่ 7 พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า Expressible drip ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยวันแรกของการเก็บรักษาค่า Expressible drip มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 24.54 และวันสุดท้ายของการเก็บรักษามีค่าเฉลี่ยร้อยละ 25.79 ค่า Expressible drip เป็นค่าที่ใช้ในการตรวจวัดความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อปลา โดยเนื้อสัตว์น้ำที่มีการอุ้มน้ำสูงจะมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่นุ่มเมื่อนำไปทดสอบ ผลของ Expressible drip จะพบว่ามีค่าต่ำ สำหรับเนื้อที่มีการอุ้มน้ำต่ำจะสูญเสียได้ง่าย ให้เนื้อที่มีลักษณะกระด้าง ผลของ Expressible drip จะพบว่ามีค่าสูง (สุทธวัฒน์, 2548)

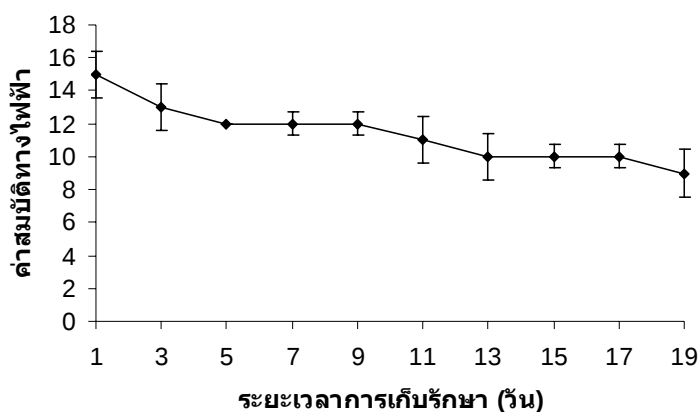


ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงค่า Expressible drip ของปลาซวายโมงที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง

2.1.3 ค่าสมบัติทางไฟฟ้า

ค่าสมบัติทางไฟฟ้า หรือค่า Torrymeter reading ของปลาซวายโมงที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 19 วัน แสดงดังภาพที่ 8 จากผลการทดลองพบว่าค่าสมบัติทางไฟฟ้าแสดงแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยค่าเฉลี่ยเริ่มต้นในวันแรกมีค่าเท่ากับ 15 และลดลงจนวันสุดท้ายของการเก็บรักษามีค่าเท่ากับ 9 จากผลดังกล่าวแสดงว่าความสดของปลามีค่าลดลง เนื่องจากค่าสมบัติทางไฟฟ้าเป็นค่าที่แสดงการเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านไฟฟ้าของหนังและกล้ามเนื้อปลา ซึ่งมีความสัมพันธ์กับอัตราการเสื่อมเสียของปลา สามารถใช้เป็น

ดัชนีแสดงคุณภาพของปลาได้ การตรวจคุณภาพด้วยวิธีนี้จะได้ผลดีกับปลาที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง โดยสามารถใช้ได้กับปลาที่มีหนังอยู่เท่านั้น ซึ่งอาจเป็นปลาทั้งตัว ปลาที่ควักไส้ หรือชิ้นปลาติดหนังก็ได้ (Connell, 1990; Botta, 1995) การทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับรายงานการเก็บรักษาปลา Sea bream ในน้ำแข็งซึ่งพบว่า ค่าสมบัติทางไฟฟ้ามีค่าลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยรายงานว่าค่าสมบัติทางไฟฟ้ามากกว่า 11 แสดงว่าปลาไม่มีความสดมาก ขณะที่ค่าสมบัติทางไฟฟ้าเท่ากับ 6 แสดงถึงปลาที่มีคุณภาพต่ำไม่เป็นที่ยอมรับ (Vladimirov *et al.*, 2003) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าค่าที่ได้จากการวัดสมบัติทางไฟฟ้าอาจเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลที่จับปลา (Botta, 1995)



ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงค่าสมบัติทางไฟฟ้า ของปลาสวายโมงที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง

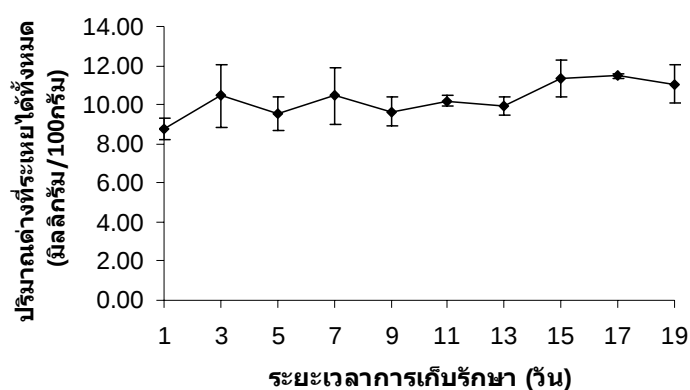
2.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

2.2.1 ปริมาณค่าที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total Volatile Base Nitrogen, TVB-N)

ผลการวิเคราะห์ค่า TVB-N ของปลาสวายโมงที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 19 วัน แสดงดังภาพที่ 9 พบว่าค่า TVB-N มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น วันแรกของการเก็บรักษาปลาสวายโมงในน้ำแข็ง ค่า TVB-N มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.7 mg/100 g และวันสุดท้ายของการเก็บรักษามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 11 mg/100 g ซึ่งค่าในช่วงนี้จัดว่ามีค่าค่อนข้างต่ำ และพบแนวโน้มการเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยไม่ชัดเจน ทั้งนี้ค่า TVB-N เป็นค่าที่แสดงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ระเหยได้ ที่เกิดจากการเสื่อมเสียของปลา โดยมักเกิดจากจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นสาเหตุของการเน่าเสียของสัตว์น้ำ (Botta, 1995) เมื่อพิจารณาผล TVB-N ควบคู่กับค่าปริมาณ

แบคทีเรียทั้งหมด (TBC, ภาพที่ 11) ซึ่งพบว่าค่า TBC ที่พบตลอดระยะเวลาการเก็บรักษามีค่าน้อยกว่า 10^6 CFU/g แสดงว่าการเสื่อมเสียส่วนใหญ่ตลอดช่วงเวลา 19 วันของการเก็บรักษาปลาสาวยโมงด้วยวิธีนี้อาจไม่ได้มีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์โดยตรง

การเปลี่ยนแปลงค่า TVB-N ในปลาสาวยโมงไม่สามารถใช้เป็นดัชนีความสดได้นั้นสอดคล้องกับการศึกษาของ Chytiri *et al.* (2004) ซึ่งได้ทำการทดลองโดยเก็บรักษาปลา Rainbow trout ทั้งตัว และเนื้อปลาแล่น้ำแข็ง พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่า TVB-N ของการเก็บรักษาปลาทั้งสองลักษณะไม่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยการเปลี่ยนแปลงของค่า TVB-N ของปลา Rainbow trout ทั้งตัว และเนื้อปลาแล่น้ำแข็งที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง อยู่ในช่วง 14.11-20.16 mg/100 g และ 18.11-26.06 mg/100 g ตามลำดับ แสงไทย และคณะ (2531) รายงานว่า ค่า TVB-N ของปลากะพงขาวที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 25 วัน ไม่เหมาะสมต่อการนำมาใช้เป็นดัชนีวัดค่าความสด เนื่องจากค่า TVB-N มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยในระหว่างการเก็บรักษา



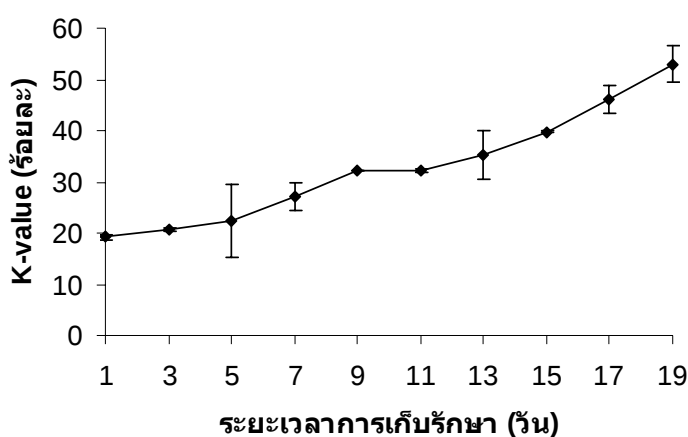
ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณค่า TVB-N ที่ระเหยได้ทั้งหมด ของปลาสาวยโมงที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง

2.2.2 ค่า K (K-value)

ผลการวิเคราะห์ K-value ของปลาสาวยโมงที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 19 วัน แสดงดังภาพที่ 10 จากผลการทดลองพบว่า K-value ของเนื้อปลาสาวยโมงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยเริ่มต้นวันแรกวิเคราะห์ได้ 19.23% เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึง 52.93% ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา แสดงว่า K-value สามารถใช้

เป็นดัชนีประเมินความสดของปลาสดได้ K-value เป็นค่าที่แสดงถึงสัดส่วนเป็นร้อยละระหว่าง inosine และ hypoxanthine ต่อปริมาณการแตกตัวของ ATP รวมทั้งสารประกอบที่เกิดจากการสลายตัว โดยหลังจากปลาตายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของ ATP ไปเป็น IMP ซึ่งมีสาเหตุมาจากเอนไซม์ภายในตัวปลา ส่วนการเปลี่ยนแปลงจาก IMP ไปเป็น hypoxanthine มีสาเหตุจากเอนไซม์ทั้งจากตัวปลาและจากจุลินทรีย์ โดยปกติ K-value ของปลาสดมีค่าต่ำ เมื่อความสดลดลง K-value จะมีค่าสูงขึ้น ดังนั้นการตรวจสอบความเข้มข้นของสารประกอบนิวคลีโอไทด์จึงสามารถบ่งบอกความสดของสัตว์น้ำได้ (นงลักษณ์, 2531; สุทรวัดน์, 2548)

ผลการทดลองที่พบว่า K-value สามารถใช้เป็นดัชนีความสดได้นั้นสอดคล้องกับการศึกษาของ Alasalvar *et al.* (2002) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลา Sea bream ที่มาจากการเลี้ยงและการจับ โดยนำมาเก็บรักษาในน้ำแข็ง พบว่า การเปลี่ยนแปลงของ K-value ของปลาทั้งสองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ซึ่งผู้ทำการทดลองได้สรุปว่า K-value สามารถใช้เป็นดัชนีวัดความสดของปลาชนิดนี้ได้ สุเมธ (2528) รายงานว่า K-value ของปลาสดที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยมีค่าอยู่ในช่วง 10.59-46.97% จากผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า K-value สามารถเป็นดัชนีในการบ่งบอกความสดของปลาสดที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง และเมื่อนำ K-value มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า K-value มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงในทางลบกับคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยมี r^2 เท่ากับ 0.8731 แสดงผลดังภาพที่ 12

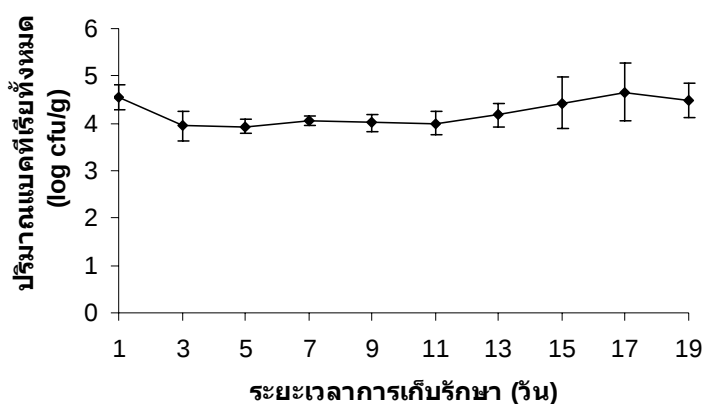


ภาพที่ 10 การเปลี่ยนแปลง K-value ของปลาสดที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง

2.3 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

2.3.1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total Bacteria Count, TBC)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดของปลาซวายโมงที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 19 วัน แสดงดังภาพที่ 11 พบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่า TBC มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P>0.05$) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยค่า TBC ของปลาซวายโมงมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 3.93 - 4.66 log cfu/g ซึ่งปริมาณแบคทีเรียที่พบในการทดลองนี้ยังไม่เกิน 1×10^7 cfu/g (7 log cfu/g) ซึ่งเป็นปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่กำหนดไว้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมพลาสติกหุ้มผิวเยือกแข็ง (มอก. 617-2529) (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2529) แสดงว่าการเสื่อมเสียที่เกิดขึ้นอาจไม่ได้มีสาเหตุจากจุลินทรีย์ เนื่องจากการเก็บรักษาปลาที่อุณหภูมิต่ำสามารถชะลอการเจริญและกิจกรรมของจุลินทรีย์ได้ (Shahidi and Botta, 1994)



ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ของปลาซวายโมงที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง

2.3.2 ปริมาณแบคทีเรียชนิดต่างๆ

ผลการตรวจปริมาณแบคทีเรียชนิดต่างๆ ในปลาซวายโมงสดก่อนเริ่มการเก็บรักษา แสดงดังตารางที่ 2 จากผลการวิเคราะห์พบว่า แบคทีเรียชนิดก่อโรค ได้แก่ *C. perfringens* ไม่พบในตัวอย่างปลา 0.1 กรัม *Salmonella* spp. และ *V. cholerae* ไม่พบในตัวอย่างปลา 25 กรัม

ขณะที่ *S. aureus* มีจำนวนน้อยกว่า 30 โคโลนีต่อกรัม ส่วนจุลินทรีย์ประเภทที่บ่งบอกสุขลักษณะ ได้แก่ *E. coli* มีค่าน้อยกว่า 3 MPN/g ซึ่งถือว่าปลาสดมีความปลอดภัยสำหรับการบริโภค

ตารางที่ 2 ปริมาณแบคทีเรียชนิดต่างๆ ของปลาสด

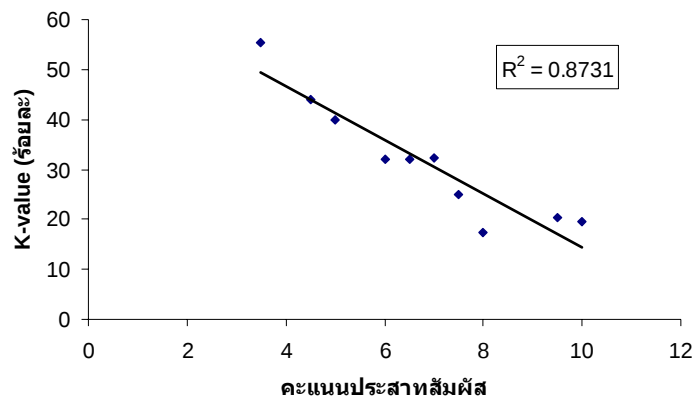
แบคทีเรีย	ผลการวิเคราะห์
<i>E. coli</i> (MPN/g)	< 3
<i>S. aureus</i> (colony/g)	< 30
<i>C. perfringens</i> ในตัวอย่างปลา 0.1 กรัม	ไม่พบ
<i>Salmonella spp.</i> ในตัวอย่างปลา 25 กรัม	ไม่พบ
<i>V. cholerae</i> ในตัวอย่างปลา 25 กรัม	ไม่พบ

2.4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

การประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสของปลาสดจะทำการประเมินทั้งในสภาพดิบและสุก การประเมินปลาในสภาพดิบจะประเมินในด้านต่างๆ ดังนี้ ลักษณะทั่วไปของตา เหงือก ลำตัว ครีบ เนื้อสัมผัสโดยใช้วิธีประเมินด้วยการกดกลางลำตัวปลาเพื่อดูความยืดหยุ่นของกล้ามเนื้อ ลักษณะเนื้อภายในโดยดูความโปร่งแสง สี การคงรูปของกล้ามเนื้อ และอวัยวะภายใน ส่วนการประเมินปลาในสภาพสุกจะประเมินในด้านรสชาติ เนื้อสัมผัส และกลิ่น

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่า ปลาสดในสภาพดิบสามารถเก็บรักษาในน้ำแข็งได้นาน 17 วัน จึงไม่เป็นที่ยอมรับจากการประเมินคุณภาพของผู้ทดสอบ สำหรับเนื้อปลาสุกผู้ทดสอบยังยอมรับจนถึงการเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 19 วัน โดยผลที่ได้จากการประเมินนำมาจำแนกลักษณะการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ของปลาสดแล้วนำลักษณะที่ปรากฏในแต่ละระยะเวลามากำหนดเกณฑ์ระดับคะแนนขึ้น โดยระดับคะแนนสูงหมายถึงปลาที่มีความสดมาก ระดับคะแนนต่ำหมายถึงปลาที่มีความสดน้อย แล้วจัดทำเป็นหลักเกณฑ์การให้คะแนนประสาทสัมผัสของปลาสด ดังแสดงในตารางที่ 3 โดยมีคะแนนเต็มในปลาดิบเป็น 20 และในปลาสุกเป็น 14 จากเกณฑ์อ้างอิงนี้ นำมาประเมินคุณภาพด้วยการให้คะแนนประสาทสัมผัสของปลาสดในในแต่ละวันที่ทำการสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ โดยใช้เกณฑ์ที่กำหนดขึ้น (ตารางที่ 3) แล้วเฉลี่ยค่าโดยให้คะแนนเต็มเป็น 10 จากนั้นนำคะแนนทางประสาทสัมผัสที่ได้นี้มาสัมพันธ์กับดัชนีความสด

ทางเคมี คือ K - value โดยความสัมพันธ์แสดงดังภาพที่ 12 จากความสัมพันธ์ดังกล่าวนำมาสร้างเป็นตารางคุณลักษณะของปลาซวายโงงเก็บรักษาในน้ำแข็งทั้งในสภาพดิบและสุกได้ดังตารางที่ 4 และ 5 โดยสรุปคือ สามารถแบ่งความสดเป็น 5 ระดับคือ สูงมาก สูง ปานกลาง พอใช้ และต่ำ ระยะเวลาการเก็บรักษาปลาซวายโงงใน 3 วันแรก ปลาคงสภาพสดมากมีคะแนนประสาทสัมผัส 8.5-10.0 และ K - value < 13% ระยะเวลา 4-9 วัน ปลามีความสดสูง คะแนนประสาทสัมผัส 7.0-8.4 และ K - value 13-16% ต่อมาในระยะเวลา 10-13 วัน ปลามีความสดปานกลาง คะแนนประสาทสัมผัส 5.5-6.9 และ K - value 17-20% ระยะเวลา 14-17 วัน ความสดพอใช้ คะแนนประสาทสัมผัส 4.5-5.4 และ K - value 21-24% ส่วนระยะเวลาดำท้ายของการเก็บรักษาหลังจาก 17 วัน ปลาจะมีความสดต่ำและไม่เป็นที่ยอมรับแล้ว คือ คะแนนประสาทสัมผัส < 4.5 และ K - value > 24



ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์ของ K-value และคะแนนประสาทสัมผัสของปลาซวายโงงสภาพดิบเก็บรักษาในน้ำแข็ง

ตารางที่ 3 หลักเกณฑ์การให้คะแนนประสาทสัมผัสของปลาสร้อยโหม่งที่เก็บรักษาด้วยน้ำแข็ง
จำแนกตามลักษณะด้านต่างๆในสภาพดิบ และสุก

ปลาสร้อยโหม่ง (ดิบ)

ลักษณะทั่วไป

รายละเอียด	คะแนน
ลูกตาดูนเต่งเต็มเบ้าตา ตาคำใส ตาขาวใส เหงือกเรียบเป็นมัน สีแดงเข้ม มีเมือกใสเล็กน้อย ไม่มีกลิ่นคาว ลำตัวมีสีเทาเงิน เลื่อมมัน มีเมือกใสเล็กน้อย ครีบสีเทาเงิน มีสีแดงที่ปลายครีบ ลักษณะครีบสมบูรณ์	7
ลูกตาเต็มเบ้าตา ตาคำใส นูน สะท้อนแสง ตาขาวใส เหงือกเรียบมัน สีแดง เริ่มมีเมือกขึ้น เหนียวเล็กน้อย ไม่มีกลิ่นคาว ลำตัวมีสีเทาเงิน เลื่อมมัน มีเมือกใสเล็กน้อย ครีบสีเทาเงิน มีสีแดงที่ปลายครีบ ลักษณะครีบสมบูรณ์	6
ลูกตาเรียบเสมอบ้าตา ตาคำใสแต่จมลงเบ้าตาล็กน้อย ตาขาวเริ่มขุ่น เหงือกเรียบมัน สีแดง มีเมือกขึ้นมาก ไม่มีกลิ่นคาว ลำตัวมีสีเทาเงิน เลื่อมมัน มีเมือกใสเล็กน้อย ครีบสีเทาเงิน มีสีแดงที่ปลายครีบ ลักษณะครีบสมบูรณ์	5
ลูกตาเรียบเสมอบ้าตา ตาคำใส แต่จมลงไปในเบ้าตาล็กน้อย ตาขาวเริ่มขุ่นและมีสี แดงรอบตาคำเล็กน้อย เหงือกเรียบมัน สีชมพู มีเมือก ขุ่น เหนียวปานกลาง ไม่มีกลิ่นคาว ลำตัวสีเทาเงิน เลื่อมมัน มีเมือกใสเล็กน้อย ครีบสีเทาเงิน ปลายครีบสีแดง ลักษณะครีบสมบูรณ์	4

ลูกตาเรียบเสมอบ้าตา ตาดำเริ่มขุ่น จมลงไปในบ้าตา ตาขาวเริ่มขุ่นและมีสีแดง รอบตาดำ	3
เหงือกเรียบมัน สีแดง มีเมือกขุ่น ข้น เหนียวปานกลาง มีกลิ่นคาวเล็กน้อย ลำตัวสีเทาเงิน เลื่อมมัน มีเมือกใสปานกลาง ครีบทีเทาเงิน ปลายครีบทีสีแดง ลักษณะครีบทสมบูรณ์	
ลูกตাজมลงในบ้าตา ตาดำขุ่นจมลงในบ้าตา ตาขาวมีสีแดงมาก	2
เหงือกเรียบมัน สีแดงซีด มีเมือกขุ่น ข้น เหนียว ปริมาณมาก มีกลิ่นคาวมาก ลำตัวมีสีเทาเงิน เลื่อมมัน มีเมือกขุ่นมาก ครีบทีเทาเงิน ปลายครีบทีสีแดง ลักษณะครีบทสมบูรณ์	
ลูกตাজมลงในบ้าตา ตาดำขุ่นมากและจมลงในบ้าตา ตาขาวมีสีแดงมาก	1
เหงือกเรียบมัน สีแดงซีด มีเมือก ขุ่น ข้น เหนียวมาก มีกลิ่นคาวมาก ลำตัวสีเทาเงิน เลื่อมมัน มีเมือกขุ่น ข้น เหนียวปริมาณมาก ครีบทีเทาเงิน ปลายครีบทีสีแดง ลักษณะครีบทสมบูรณ์ แต่ครีบทหางแห้งและฉีกขาด	

เนื้อสัมผัส (กดกลางลำตัว)

รายละเอียด	คะแนน
มีความยืดหยุ่นมาก	4
มีความยืดหยุ่นปานกลาง	3
มีความยืดหยุ่นน้อย	2
ไม่มีความยืดหยุ่น	1

ลักษณะเนื้อภายใน

รายละเอียด	คะแนน
เนื้อโปรงแสง สีขาวอมชมพู มัดกลัมนเนื้อคงรูป ติดกันแน่นมาก	5
เนื้อโปรงแสง สีขาว มัดกลัมนเนื้อคงรูป ติดกันแน่นปานกลาง เริ่มหลุดออกได้เล็กน้อย	4
เนื้อเริ่มทึบแสง สีขาว มัดกลัมนเนื้อคงรูป ติดกันแน่นเล็กน้อย เริ่มหลุดออกได้ง่ายปานกลาง	3
เนื้อทึบแสง สีขาว มัดกลัมนเนื้อเริ่มไม่คงรูป หลุดออกได้ง่าย	2
เนื้อทึบแสง สีขาว มัดกลัมนเนื้อไม่คงรูป หลุดออกได้ง่าย	1

อวัยวะภายใน

รายละเอียด	คะแนน
ผนังท้องสะอาด ไม่มีคราบน้ำดี อวัยวะภายในคงรูป ไม่มีกลิ่นคาว	4
ผนังท้องเริ่มมีคราบน้ำดี อวัยวะภายในคงรูป มีกลิ่นคาวเล็กน้อย	3
ผนังท้องมีคราบน้ำดี อวัยวะภายในเริ่มไม่คงรูป มีกลิ่นคาวเล็กน้อย	2
ผนังท้องมีคราบน้ำดี อวัยวะภายในไม่คงรูป มีกลิ่นคาวมาก	1

ปลาสดขโมง (สุก)

รสชาติ

รายละเอียด	คะแนน
หวานเนื้อปลา	4
หวานเล็กน้อย	3
ไม่มีรสชาติ	2
ไม่มีรสชาติ และมีรสแปลกปลอม	1

เนื้อสัมผัส

รายละเอียด	คะแนน
เนื้อนุ่ม แน่นมาก	5
เนื้อนุ่ม แน่นปานกลาง	4
เนื้อนุ่ม แน่นเล็กน้อย	3
เนื้อละเอียดเล็กน้อย	2
เนื้อไม่นุ่ม เปื่อย และ	1

กลิ่น

รายละเอียด	คะแนน
หอมกลิ่นปลาเนื้อมาก	5
หอมกลิ่นปลาเนื้อมีน้อย	4
เริ่มมีกลิ่นคาวเล็กน้อย	3
มีกลิ่นคาวมากและมีกลิ่นอื่นปน	2
มีกลิ่นคาวมาก และมีกลิ่นเน่า	1

ตารางที่ 4 คุณลักษณะของปลาสาวยโงะระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งเมื่อประเมินในสภาพดิบ

คะแนน ประสาท สัมผัส	คุณภาพ ความสด	ระยะเวลา การเก็บใน น้ำแข็ง(วัน)	K-value (%)	ลักษณะกายภาพ
8.5-10.0	สูงมาก	3	<13	ลูกตาดูนูนเต็มเข้า ตาคำใส ตาขาวใส, เหงือกสี แดง มีเมือกใสหรือข้น เหนียวเล็กน้อย, ลำตัว มี เมือกใสเล็กน้อย, เนื้อสัมผัสสดกลางลำตัวมี ความยืดหยุ่นมาก, เนื้อโปร่งแสง มัดกล้ามเนื้อ ติดแน่น, ผนังท้องสะอาด อวัยวะภายในคงรูป
7.0-8.4	สูง	4-9	13-16	ลูกตาแบนราบ ตาคำใสแต่จมลงในเข้าตา เล็กน้อย ตาขาวเริ่มขุ่นหรือมีสีแดงรอบตาคำ เล็กน้อย, เหงือกสีแดงหรือชมพู มีเมือกข้น เหนียวมาก ไม่มีกลิ่นคาว, ลำตัวมีเมือกใส เล็กน้อย, เนื้อสัมผัสสดกลางลำตัวมีความ ยืดหยุ่นปานกลาง, เนื้อโปร่งแสง มัดกล้ามเนื้อ ติดแน่นปานกลาง เริ่มหลุดออกได้, ผนังท้อง สะอาด อวัยวะภายในคงรูป มีกลิ่นคาวจางๆ
5.5-6.9	ปานกลาง	10-13	17-20	ลูกตาแบนราบ ตาคำขุ่นจมลงในเข้าตา ตาขาว ขุ่นและมีสีแดงรอบตาคำ, เหงือกสีแดง มีเมือก ขุ่น ข้น เหนียวปานกลาง มีกลิ่นคาวเล็กน้อย, ลำตัวมีเมือกใสปานกลาง มีกลิ่นคาวเล็กน้อย, เนื้อสัมผัสสดกลางลำตัวมีความยืดหยุ่นปาน กลาง, เนื้อเริ่มทึบแสง มัดกล้ามเนื้อคงรูป ติด แน่นเล็กน้อย หลุดออกง่าย, ผนังท้องมีคราบน้ำดี เล็กน้อย อวัยวะภายในคงรูป มีกลิ่นคาวเล็กน้อย
4.5-5.4	พอใช้	14-17	21-24	ลูกตาขุ่นจมลงไปในการเข้าตา ตาคำขุ่น ตาขาวมีสี แดงมาก, เหงือกสีแดงซีด มีเมือกขุ่นข้น เหนียว ปริมาณมาก มีกลิ่นคาวมาก, ลำตัวมีเมือกขุ่น มาก มีกลิ่นคาวปานกลาง, เนื้อสัมผัสสดกลาง

				ลำตัวมีความยืดหยุ่นเล็กน้อย, เนื้อที่บวม มัด กล้ามเนื้อไม่คงรูป ชูดอกง่าย, พนั้ท้องมีคราบ น้ำดีเล็กน้อย อวัยวะภายในคงรูป มีกลิ่นคาว เล็กน้อย
<4.5	ต่ำ	>17	>24	ลูกตา, เหงือก, ลำตัว ลักษณะเหมือนความสด พอใช้ เหงือกมีกลิ่นฉุน, เนื้อสัมผัสคดกลาง ลำตัวไม่มีความยืดหยุ่น, เนื้อปลาที่บวม มัด กล้ามเนื้อไม่คงรูป ชูดอกง่าย, พนั้ท้องมีคราบ น้ำดีมาก อวัยวะภายในไม่คงรูป มีกลิ่นคาวจัด และฉุน

ตารางที่ 5 คุณลักษณะของปลาสาขโมระหว่างการรักษาในน้ำแข็งเมื่อประเมินในสภาพสุก

คะแนน ประสาท สัมผัส	คุณภาพ ความสด	ระยะเวลา การเก็บใน น้ำแข็ง(วัน)	ลักษณะกายภาพ
8.6-10.0	สูงมาก	3	หอมกลิ่นปลาหนึ่ง เนื้อสัมผัสนุ่ม แน่นมาก รสชาติหวานเนื้อปลา
7.2-8.5	สูง	4-9	หอมกลิ่นปลาหนึ่งเล็กน้อย เนื้อสัมผัสนุ่ม แน่นปานกลาง รสชาติหวานเล็กน้อย
5.8-7.1	ปานกลาง	10-13	หอมกลิ่นปลาหนึ่งเล็กน้อย หรือเริ่มมีกลิ่นคาวจางๆ เนื้อสัมผัสนุ่ม แน่นเล็กน้อย รสชาติหวานเล็กน้อยหรือเริ่มไม่ค่อยมีรสชาติ
4.4-5.7	พอใช้	14-17	มีกลิ่นคาวเล็กน้อย เนื้อสัมผัสและเล็กน้อย รสชาติหวานเล็กน้อยหรือไม่ค่อยมีรสชาติ
<4.4	ต่ำ	>17	มีกลิ่นคาวเล็กน้อย เนื้อสัมผัสไม่นุ่ม เปื่อย และ ไม่มีรสชาติ และมีรสแปลกปลอม

3. ผลการศึกษาชนิดของโปรตีนในเนื้อปลาสาวยโมง

ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนชนิดต่างๆ จะทำการวิเคราะห์โดยนำเนื้อปลาสาวยโมงที่แยกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนของกล้ามเนื้อดำ (dark muscle) โดยสุ่มตัวอย่างจากบริเวณ lateral line และกล้ามเนื้อขาว (white muscle) มาวิเคราะห์ จากผลการวิเคราะห์พบว่าในกล้ามเนื้อดำของเนื้อปลาสาวยโมงมีสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน โปรตีนชาร์โคพลาสมิก โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ โปรตีนที่ละลายในด่าง และโปรตีนสโตรมา เท่ากับ 3.75, 9.10, 23.71, 2.57 และ 2.38 มิลลิกรัมไนโตรเจน/กรัมตัวอย่างตามลำดับ และในกล้ามเนื้อขาวมี 4.17, 6.18, 26.08, 1.73 และ 2.18 มิลลิกรัมไนโตรเจน/กรัมตัวอย่างตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 6 จากผลการทดลองพบว่าโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์มีปริมาณมากที่สุดทั้งในกล้ามเนื้อทั้งสอง โดยในกล้ามเนื้อขาวมีปริมาณมากกว่ากล้ามเนื้อดำ โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์จัดเป็นโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดเจลของกล้ามเนื้อปลา เนื่องจากโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์มีองค์ประกอบหลักคือ ไมโอซินและแอคตินซึ่งเมื่อรวมตัวเป็นสารประกอบแอคโตไมโอซินจะทำให้เนื้อปลามีความเหนียวและเมื่อนำไปให้ความร้อนจะให้เจลที่มีความเหนียวและยืดหยุ่น เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนชนิดต่างๆ ในกล้ามเนื้อทั้งสองชนิด พบว่ากล้ามเนื้อดำมีปริมาณของโปรตีนชาร์โคพลาสมิก โปรตีนที่ละลายในด่าง และโปรตีนสโตรมา สูงกว่าในกล้ามเนื้อขาว โดยโปรตีนชาร์โคพลาสมิกประกอบด้วย ไมโอโกลบิน ฮีโมโกลบิน เอนไซม์ และอัลบูมินชนิดต่างๆ โดยส่งผลทำให้เจลซูริมมีสีเข้ม ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่ดีของเจลซูริม ส่วนโปรตีนสโตรมาจะทำให้ผลทางลบกับการเกิดเจล เพราะโปรตีนสโตรมาทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยา cross-linking ระหว่างโมเลกุลของแอคโตไมโอซินลดลงทำให้ความเหนียวของผลิตภัณฑ์ลดลง (Suzuki, 1981; Haard *et al.*, 1994)

Chaijan *et al.* (2004) ทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนแต่ละชนิด ได้แก่ สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน โปรตีนชาร์โคพลาสมิก โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ โปรตีนที่ละลายในด่าง และโปรตีนสโตรมา ในกล้ามเนื้อของปลาหลังเขียวและปลาลังพบว่า ปลาหลังเขียวมีปริมาณโปรตีนทุกชนิดยกเว้นสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนสูงกว่าในปลาลัง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกล้ามเนื้อดำและกล้ามเนื้อขาวของปลาทั้งสองชนิดพบว่า ในกล้ามเนื้อดำของปลาทั้งสองชนิดมีปริมาณโปรตีนชาร์โคพลาสมิก โปรตีนสโตรมา และโปรตีนที่ละลายในด่างมากกว่าในกล้ามเนื้อขาว

นุชนารถ (2550) ศึกษาปริมาณโปรตีนแต่ละชนิดในปลานวลจันทร์น้ำจืด พบว่าในกล้ามเนื้อดำมีปริมาณโปรตีนซาร์โคพลาสมิก โปรตีนสโตรมา และโปรตีนที่ละลายในด่างมากกว่าในกล้ามเนื้อขาว โดยโปรตีนที่พบมากที่สุดในกล้ามเนื้อทั้งสองคือ โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ โดยปริมาณที่พบในกล้ามเนื้อดำและขาวเท่ากับ 13.42 และ 15.60 มิลลิกรัมในโตรเจน/กรัมตัวอย่าง และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์กับปลาสร้อยโง่งพบว่าปลานวลจันทร์น้ำจืดมีปริมาณต่ำกว่า ทั้งนี้โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์เป็นโปรตีนที่พบมากในกล้ามเนื้อสัตว์และมีบทบาทสำคัญในการเกิดโครงสร้างเจลของโปรตีน

ตารางที่ 6 ปริมาณโปรตีนแต่ละชนิดในเนื้อปลาสร้อยโง่ง

องค์ประกอบของโปรตีน	มก. ในโตรเจน/กรัมตัวอย่าง	
	กล้ามเนื้อดำ	กล้ามเนื้อขาว
สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน	3.75±0.28	4.17±0.08
โปรตีนซาร์โคพลาสมิก	9.10±0.24	6.18±0.06
โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์	23.71±0.42	26.08±0.40
โปรตีนที่ละลายในด่าง	2.57±0.01	1.73±0.30
โปรตีนสโตรมา	2.38±0.11	2.18±0.04

4. ศึกษาผลของการล้างและการให้ความร้อนต่อคุณภาพเจลปลาสวายโมง

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการขึ้นรูปเจลปลาสวายโมง ได้จากการนำโปรตีนปลามาขึ้นรูปโดยแปรปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ การล้างเนื้อปลา การขึ้นรูปด้วยความร้อนแบบระดับเดียวและสองระดับ และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการขึ้นรูป โดยในการทดลองได้นำเนื้อปลาสวายโมงบดที่ผ่านสภาวะการล้างน้ำต่างๆ คือ ล้างน้ำ 2 ครั้ง ล้างน้ำ 1 ครั้ง และไม่ล้างน้ำ มาให้ความร้อน 1 ระดับที่อุณหภูมิตั้งแต่ 40 ถึง 90 องศาเซลเซียส โดยให้ช่วงอุณหภูมิต่างกัน 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และให้ความร้อน 2 ระดับโดยระดับแรกให้อุณหภูมิตั้งแต่ 40 ถึง 90 องศาเซลเซียส โดยให้ช่วงอุณหภูมิต่างกัน 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และในแต่ละอุณหภูมินำมาให้ความร้อนต่อที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำตัวอย่างที่สภาวะต่างๆ มาวัดความแข็งแรงเจล และความยืดหยุ่นของปลาด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส และวัดความขาวด้วยเครื่องวัดสี ผลที่ได้แสดงดังภาพที่ 13-15 และนำมาตรวจรูปแบบของโปรตีนด้วย SDS-PAGE แสดงผลดังภาพที่ 16-18

จากผลการทดลองพบว่า สภาวะการล้างน้ำของเนื้อปลาสวายโมงบดมีผลต่อค่าความแข็งแรงเจล ค่าความยืดหยุ่น และค่าความขาว โดยเนื้อปลาสวายโมงบดที่ผ่านการล้างน้ำจะมีค่าความแข็งแรงเจล และค่าความยืดหยุ่นต่ำกว่าเนื้อปลาสวายโมงบดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ส่วนค่าความขาวของเนื้อปลาสวายโมงบดที่ผ่านการล้างน้ำจะมีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) สาเหตุที่ทำให้เนื้อปลาที่ไม่ผ่านการล้างน้ำมีค่าความแข็งแรงเจลสูงกว่าเนื้อปลาที่ผ่านการล้างน้ำ อาจเป็นเพราะผลของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส ซึ่งไม่ได้ถูกกำจัดไปกับน้ำล้าง เอนไซม์ชนิดนี้จะช่วยในการสร้างพันธะ isopeptide (γ -glutamyl) lysine ซึ่งมีผลทำให้เจลมีความแข็งแรงขึ้น (จิรวัดน์, 2541) นอกจากนี้อาจเนื่องมาจากการล้างน้ำช่วยส่งเสริมการทำงานของ myofibrillar type proteinases ซึ่งเป็นเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีน เอนไซม์ชนิดนี้ไม่สามารถขจัดออกได้โดยการล้างน้ำหรือน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นต่ำ Suwansakornkul *et al.* (1993) พบว่า การล้างน้ำไม่ได้มีส่วนช่วยในการปรับปรุงความแข็งแรงของเจลในปลาปากคม โดยที่การล้างแสดงผลในการส่งเสริมการทำงานของ myofibrillar type proteinases ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ผลการทดลองที่พบว่าเนื้อปลาสวายโมงบดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำมีค่าความแข็งแรงเจลสูงกว่าเนื้อปลาสวายโมงบดที่ผ่านการล้างน้ำ มีผลเช่นเดียวกับการศึกษาของอรรถัย (2544) ซึ่งรายงานว่าเนื้อปลาดุกอุยเทศบดที่ไม่ล้างน้ำและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที มีค่าความแข็งแรงเจลสูงสุดเท่ากับ 374.45 กรัม.เซนติเมตร และยังมีผลเช่นเดียวกับผลการทดลองของนุชนารถ (2550) ที่

รายงานว่เนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดบดที่ไม่ผ่านการล้้งน้ำมีค่าความแข็งแรงเจล และค่าความยืดหยุ่นสูงกว่าเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดบดที่ผ่านการล้้งน้ำ

อย่างไรก็ตามมีการศึกษาที่พบว่า การล้้งน้ำมีผลทำให้ความแข็งแรงเจลเพิ่มขึ้น เช่นการทดลองของอรทัย (2544) ซึ่งพบว่า เนื้อปลานิลบดที่ผ่านการล้้งน้ำและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที มีค่าความแข็งแรงเจลสูงสุดเท่ากับ 583.61 กรัม.เซนติเมตร และ Kongpun (1999) รายงานว่า เนื้อปลานิลที่ผ่านการล้้งน้ำและแช่ตัวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จะให้ค่าความแข็งแรงเจลสูงสุดเท่ากับ 1048 กรัม.เซนติเมตร นอกจากนี้ Macdonald *et al.* (1990) พบว่า เนื้อปลา hoki ที่ผ่านการล้้งน้ำจะให้ค่าความแข็งแรงเจลสูงกว่าเนื้อปลา hoki ที่ไม่ผ่านการล้้งน้ำ การที่เนื้อปลาบดที่ผ่านการล้้งน้ำมีผลทำให้ความแข็งแรงเจลเพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากการล้้งน้ำมีส่วนช่วยในการแยกส่วนประกอบที่ไม่มีคุณสมบัติในการเกิดเจลออกไป เช่น ไขมัน โปรตีน ชาร์โคพลาสติก และโปรตีนเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ส่งผลให้โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการเกิดเจลด้วยความร้อนมีความเข้มข้นสูงขึ้น (Toyoda *et al.*, 1992) นอกจากนั้นการล้้งน้ำยังช่วยขจัด sarcoplasmic type proteinases ออกไป (Benjakul *et al.*, 2003) สำหรับค่าความขาวพบว่าการล้้งน้ำมีผลทำให้เจลมีค่าความขาวสูงกว่า เนื่องจากการล้้งมีผลในการลดสีของเนื้อปลาโดยจะไปกำจัดโปรตีนที่ละลายน้ำและองค์ประกอบที่ไม่ต้องการออกไปเช่น เลือด ไขมัน รวมทั้งเอนไซม์ต่างๆ (สุทธรวัฒน์, 2548) จากผลการทดลองพบว่า การล้้งน้ำ 2 ครั้งให้ค่าความขาวสูงกว่าการล้้งน้ำ 1 ครั้ง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการล้้งน้ำ 2 ครั้งสามารถกำจัดองค์ประกอบที่ไม่ต้องการออกได้มากกว่า

สำหรับอุณหภูมิในการให้ความร้อนพบว่า มีผลต่อค่าความแข็งแรงเจล ค่าความยืดหยุ่น และค่าความขาวอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาผลของการให้ความร้อน 1 ระดับพบว่า เนื้อปลาบดทั้ง 3 สภาวะการล้้งมีค่าความแข็งแรงเจลสูงที่อุณหภูมิ 60-90 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียสจะให้ค่าความแข็งแรงเจลต่ำกว่า ทั้งนี้เป็นผลจากการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ที่อุณหภูมิสูงของเจลโปรตีน ซึ่งเป็นพันธะที่ทำให้เจลมีความแข็งแรง (Niwa, 1992) ส่วนความแข็งแรงเจลที่เกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส อาจเป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสที่มีอยู่ในเนื้อปลา ซึ่งจะช่วยในการสร้างพันธะ isopeptide (γ -glutamyl) lysine โดยเอนไซม์ชนิดนี้ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลของ SDS-PAGE ของเนื้อปลาสาวยโมบดทั้ง 3 สภาวะการล้้ง (ภาพที่ 16-18 A) ซึ่งพบว่า แถบ MHC ที่

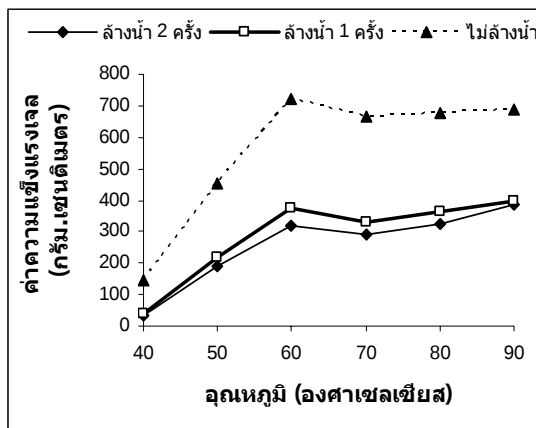
อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส บางกว่าแถบ MHC ที่อุณหภูมิ 60-90 องศาเซลเซียส เนื่องจากการเตรียมตัวอย่างมีการใส่ β -mercaptoethanol เพื่อไปรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ที่เกิดจากการให้ความร้อนกับตัวอย่างมาเป็นหมู่ sulfhydryl แต่ไม่สามารถรีดิวซ์พันธะ isopeptide (γ -glutamyl) lysine ทำให้โพลีเมอร์ของโปรตีน MHC อัดกันหนาแน่นอยู่ด้านบน SDS-PAGE (Seguro *et al.*, 1995) ส่งผลให้แถบ MHC ที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียสลดลง เมื่อพิจารณาค่าความแข็งแรงเจลในแต่ละสภาวะการล้างพบว่า เนื้อปลาคอดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำจะมีค่าความแข็งแรงเจลสูงสุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ส่วนเนื้อปลาคอดล้างน้ำ 1 และ 2 ครั้งมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยค่าความแข็งแรงเจลสูงสุดมีค่าเท่ากับ 721.55, 398.07 และ 388.48 กรัม.เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนค่าความแข็งแรงเจลของเนื้อปลาคอดจะลดลงที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส การลดลงอาจเนื่องมาจากการที่อุณหภูมินี้เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โปรตีเนสของเนื้อปลาสวายโหมง ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้มีบทบาทสำคัญต่อการย่อยสลายโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ เป็นผลให้ค่าความแข็งแรงเจลลดลง (Yongsawatdigul *et al.*, 2000) สำหรับค่าความยืดหยุ่นสูงสุดของเนื้อปลาสวายโหมงบดพบที่สภาวะการไม่ล้างน้ำ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.9 ซึ่งเป็นสภาวะเดียวกับที่ทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลสูงสุด

เมื่อพิจารณาผลของการให้ความร้อน 2 ระดับพบว่า เนื้อปลาคอดไม่ล้างน้ำ ล้างน้ำ 1 และ 2 ครั้งที่ผ่านมาการแช่ตัวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และให้ความร้อนต่อที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จะให้ค่าความแข็งแรงเจลสูงสุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 621.06, 452.74 และ 408.6 กรัม.เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนค่าความแข็งแรงเจลของเนื้อปลาคอดที่ผ่านการแช่ตัวที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และให้ความร้อนต่อที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จะให้ค่าความแข็งแรงเจลต่ำสุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 490.66, 338.26 และ 237.93 กรัม.เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลของ SDS-PAGE (ภาพที่ 16-18 B) พบว่า เมื่อมีการแช่ตัวที่อุณหภูมิสูงขึ้นแถบ MHC จะลดลง การลดลงของค่าความแข็งแรงเจลเมื่ออุณหภูมิในการแช่ตัวสูงขึ้น อาจเนื่องมาจากการแช่ตัวที่อุณหภูมิสูงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติของโปรตีนทำให้สูญเสียความสามารถในการจับกับน้ำ และกรดอะมิโน cysteine และ cystine เกิดการแตกตัวของหมู่ซัลไฮดริล และพันธะไดซัลไฟด์ลดลง (Johnson and Vickery, 1964) สำหรับค่าความยืดหยุ่นสูงสุดของเนื้อปลาคอดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำและล้างน้ำ 1 และ 2 ครั้งพบที่อุณหภูมิในการแช่ตัวเดียวกับที่ทำให้ค่าความแข็งแรงเจลสูงสุด สำหรับค่าความขาวพบว่า เนื้อปลาคอดที่ผ่านการล้างน้ำ 2 ครั้งจะให้ความขาวสูงสุด โดยเนื้อปลาคอดที่ผ่านการล้างน้ำ 2 ครั้งและแช่ตัวที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

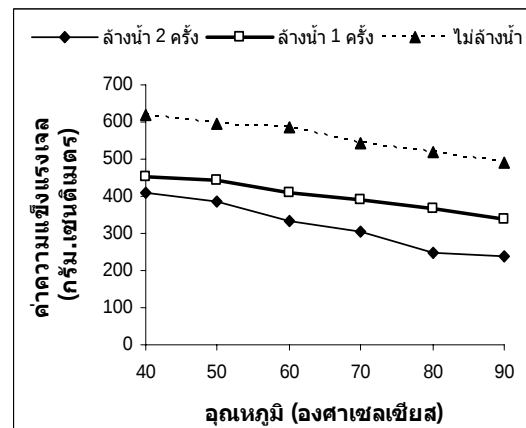
เป็นเวลา 20 นาทีแล้วนำไปให้ความร้อนต่อที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จะให้ค่าความขาวสูงสุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 72.67

สำหรับการทดสอบการพับ (folding test) ของเจลเนือปลาสดขโมงแสดงผลดังตารางที่ 7 และ 8 จากผลการทดลองพบว่า เจลเนือปลาสดขโมงมีค่าการทดสอบการพับที่ระดับ B (เจลแตกเล็กน้อยเมื่อพับครึ่ง), A (เจลแตกเล็กน้อยเมื่อพับสี่ส่วน) และ AA (เจลไม่แตกเมื่อพับสี่ส่วน) เมื่อพิจารณาเฉพาะเนือปลาสดขโมงบดที่ผ่านการให้ความร้อน 1 ระดับพบว่า เนือปลาสดขโมงบดที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสในทุกสภาวะการล้างน้ำ และที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสในสภาวะที่ผ่านการล้างน้ำ มีค่าการทดสอบการพับคือ B โดยมีผลสอดคล้องกับค่าความแข็งแรงเจลของเนือปลาบดที่ผ่านการให้ความร้อน 1 ระดับ ซึ่งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ค่าความแข็งแรงเจลมีค่าต่ำที่สุด และจากการสังเกตลักษณะภายนอกของเจลพบว่าที่อุณหภูมินี้เนือปลายังไม่สุก เจลจึงมีลักษณะขุ่นทึบ ซึ่งอาจมีผลทำให้ความเหนียวของเจลมีค่าต่ำ สำหรับเนือปลาที่ผ่านการให้ความร้อน 2 ระดับพบว่า เนือปลาที่ไม่ผ่านการล้างน้ำจะมีค่าการทดสอบการพับที่ระดับสูงกว่าเนือปลาที่ผ่านการล้างน้ำ โดยมีค่าการทดสอบการพับอยู่ในระดับ AA และให้ผลสอดคล้องกับค่าความแข็งแรงเจลซึ่งพบว่าเนือปลาที่ไม่ผ่านการล้างน้ำจะมีค่าความแข็งแรงเจลสูงกว่าเนือปลาที่ผ่านการล้างน้ำ

จากผลการทดลองสรุปได้ว่า เนือปลาสดขโมงบดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำและให้ความร้อน 1 ระดับที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการขึ้นรูปเจล โดยให้ค่าความแข็งแรงเจลและความยืดหยุ่นสูงสุด แต่ค่าความขาวพบว่าการล้างน้ำ 2 ครั้งจะให้ค่าสูงสุดในทุกอุณหภูมิของการให้ความร้อน ทั้งนี้ในการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมเพื่อนำไปผลิตเป็นซูรุมิหรือผลิตภัณฑ์ที่ให้ความยืดหยุ่น นอกจากจะพิจารณาค่าความแข็งแรงเจล และความยืดหยุ่นแล้ว ควรจะพิจารณาค่าความขาวร่วมด้วย เนื่องจากความขาวเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของซูรุมิและผลิตภัณฑ์ที่ให้ความยืดหยุ่น เช่น ลูกชิ้น ซึ่งในกรณีที่ต้องการล้างเนือปลา สภาวะการให้ความร้อนที่เหมาะสม คือ เช็ดตัวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที แล้วนำไปให้ความร้อนต่อที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

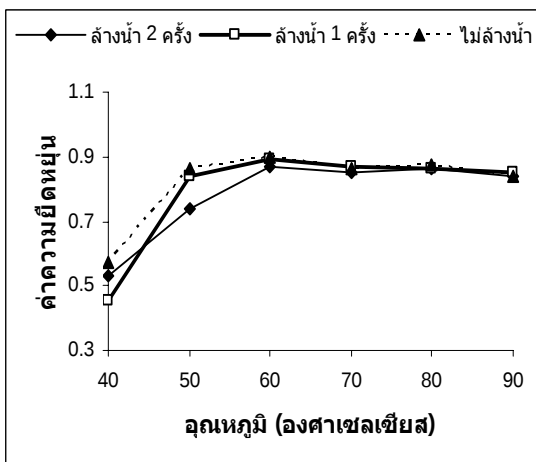


(A)

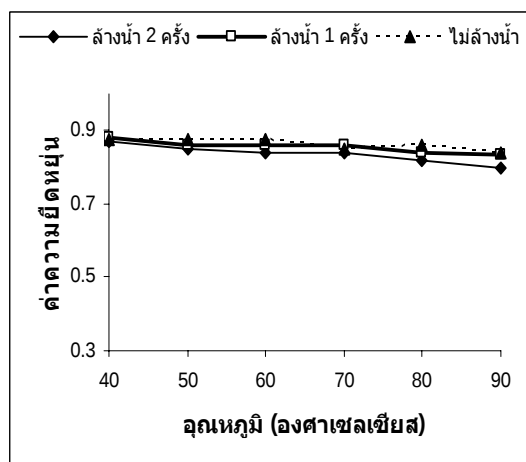


(B)

ภาพที่ 13 ค่าความแข็งแรงแรงเฉือนของเนื้อปลาสาวยโมงเดิมเกลือร้อยละ 3 ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 83 ที่สภาวะการล้างน้ำ และอุณหภูมิต่างๆ (A) ให้ความร้อน 1 ระดับ (B) ให้ความร้อน 2 ระดับ

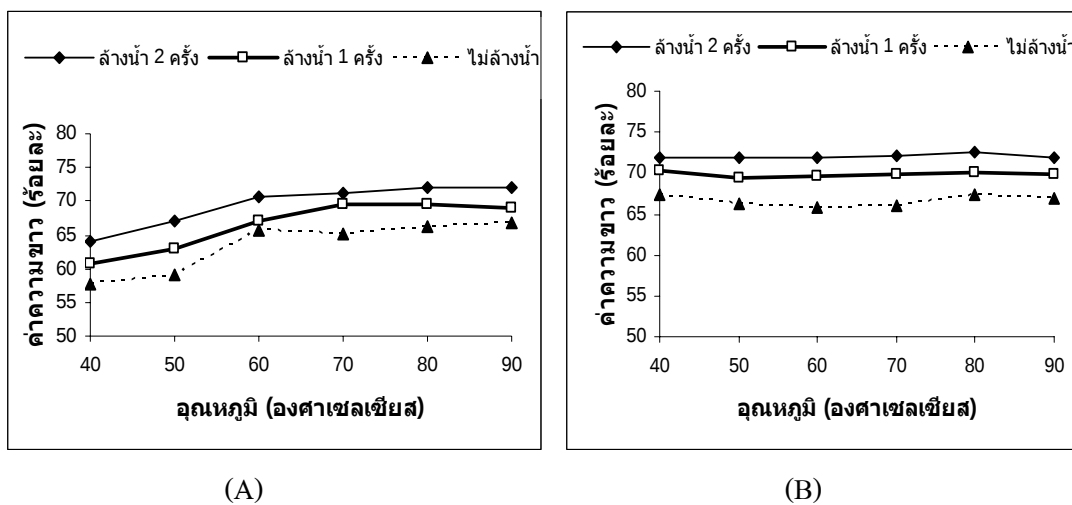


(A)



(B)

ภาพที่ 14 ค่าความยืดหยุ่นของเนื้อปลาสาวยโมงเดิมเกลือร้อยละ 3 ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 83 ที่สภาวะการล้างน้ำ และอุณหภูมิต่างๆ (A) ให้ความร้อน 1 ระดับ (B) ให้ความร้อน 2 ระดับ



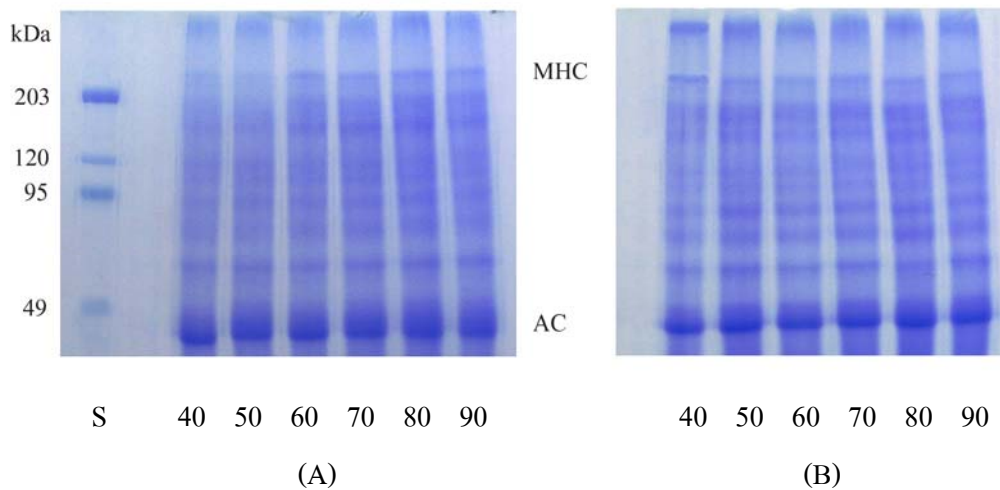
ภาพที่ 15 ค่าความขาวของเนื้อปลาสาวยโมงเดิมเกลือร้อยละ 3 ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 83 ที่สภาวะการล้างน้ำ และอุณหภูมิต่างๆ (A) ให้ความร้อน 1 ระดับ (B) ให้ความร้อน 2 ระดับ

ตารางที่ 7 ค่าการทดสอบการพับของเจลปลาสาวยโมงที่การให้ความร้อน 1 ระดับ ณ อุณหภูมิ และสภาวะการล้างน้ำต่างๆ

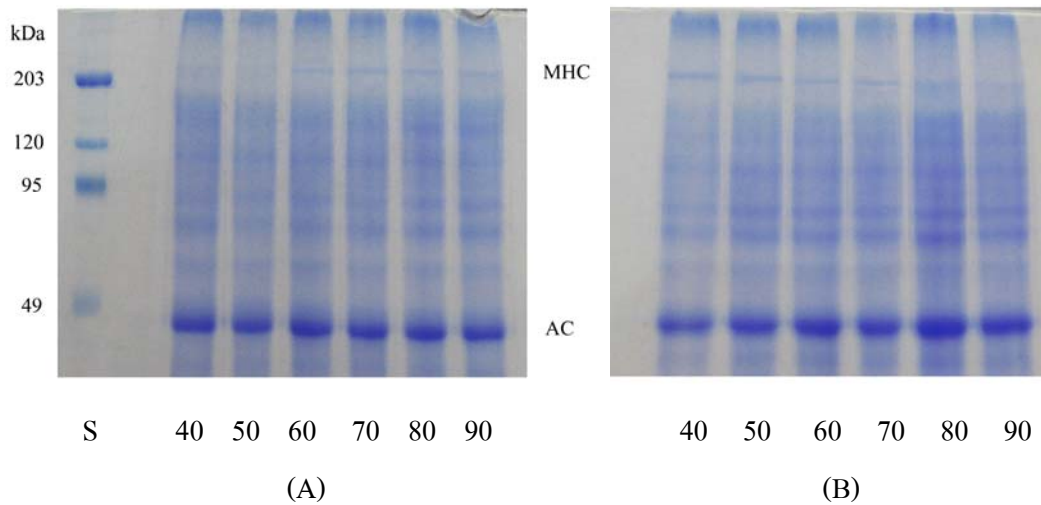
อุณหภูมิในการให้ความร้อน (องศาเซลเซียส)	ค่าการทดสอบการพับ		
	ล้างน้ำ 2 ครั้ง	ล้างน้ำ 1 ครั้ง	ไม่ล้างน้ำ
40	B	B	B
50	B	B	AA
60	AA	AA	AA
70	AA	AA	AA
80	AA	AA	AA
90	AA	AA	AA

ตารางที่ 8 ค่าการทดสอบการพับของเจลปลาสวายโหมงที่การให้ความร้อน 2 ระดับ ณ อุณหภูมิ และสภาวะการล้างน้ำต่างๆ

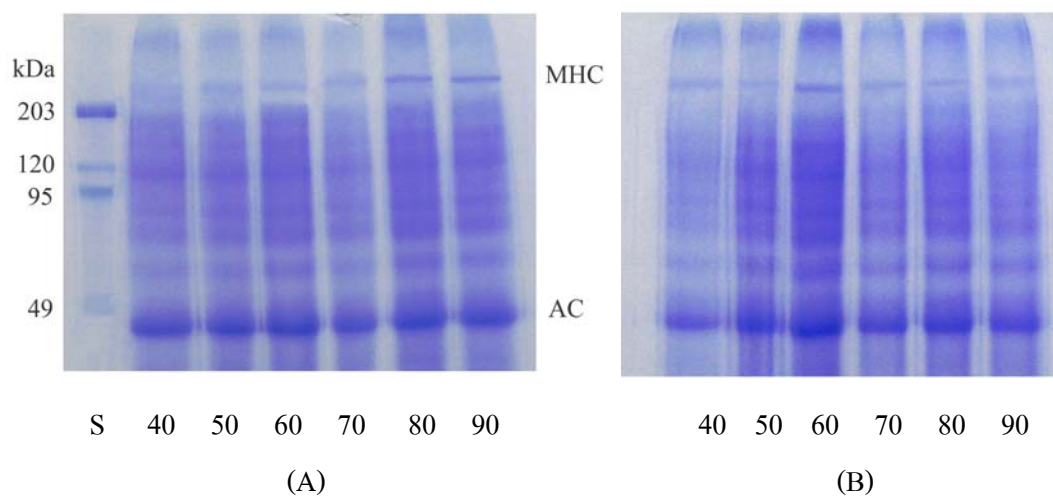
อุณหภูมิในการให้ความร้อน (องศาเซลเซียส)	ค่าการทดสอบการพับ		
	ล้างน้ำ 2 ครั้ง	ล้างน้ำ 1 ครั้ง	ไม่ล้างน้ำ
40/90	AA	AA	AA
50/90	A	A	AA
60/90	A	A	AA
70/90	A	A	AA
80/90	A	A	AA
90/90	A	A	AA



ภาพที่ 16 SDS-PAGE ที่ 7.5% acrylamide gel ของเนื้อปลาสวายโหมงที่ไม่ผ่านการล้างน้ำและให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ โดย (A) = ให้ความร้อน 1 ระดับ, (B) = ให้ความร้อน 2 ระดับ, S = โปรตีนมาตรฐาน, MHC = Myosin heavy chain, AC = Actin



ภาพที่ 17 SDS-PAGE ที่ 7.5% acrylamide gel ของเนื้อปลาสวายโมงที่ผ่านการล้างน้ำ 1 ครั้งและให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ โดย (A) = ให้ความร้อน 1 ระดับ, (B) = ให้ความร้อน 2 ระดับ, S = โปรตีนมาตรฐาน, MHC = Myosin heavy chain, AC = Actin



ภาพที่ 18 SDS-PAGE ที่ 7.5% acrylamide gel ของเนื้อปลาสวายโมงที่ผ่านการล้างน้ำ 2 ครั้งและให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ โดย (A) = ให้ความร้อน 1 ระดับ, (B) = ให้ความร้อน 2 ระดับ, S = โปรตีนมาตรฐาน, MHC = Myosin heavy chain, AC = Actin

5. ศึกษาผลของการแช่เยือกแข็ง-การละลายน้ำแข็งซ้ำ (freeze-thaw cycle) ต่อคุณภาพของเนื้อปลาสาวยโมงแล่

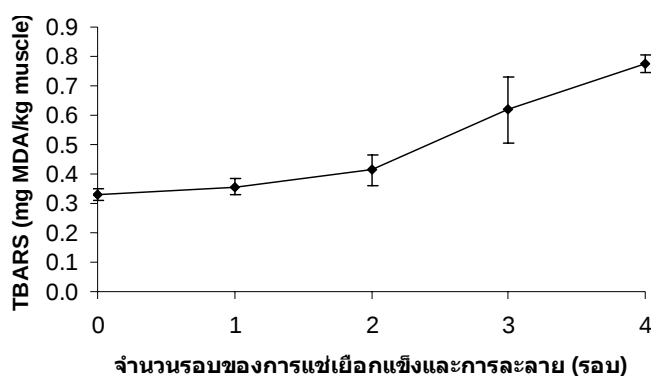
นำเนื้อปลาสาวยโมงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำทั้งหมด 4 รอบ โดยแต่ละรอบศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในด้านต่างๆ ดังนี้ ทางด้านเคมีวิเคราะห์ค่า TBARS ปริมาณโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือ (salt soluble protein) ทางด้านกายภาพทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดเบส (pH) ค่า Expressible drip ค่าร้อยละการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการละลายน้ำแข็ง (thaw loss) ค่าความชื้น (moisture) ค่าความแข็งแรงของเจล (gel strength) ค่าการเปลี่ยนแปลงของสี (color) ทางด้านจุลชีววิทยาวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total bacteria count) และการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

5.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

5.1.1 Thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS)

การเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ของเนื้อปลาสาวยโมงแล่ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำเป็นจำนวนทั้งหมด 4 รอบแสดงผลดังภาพที่ 19 พบว่าเนื้อปลาสาวยโมงแล่ (รอบที่ 0) มีค่า TBARS เท่ากับ 0.33 mg MDA/kg muscle ส่วนเนื้อปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำพบว่าค่า TBARS มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำเพิ่มขึ้น โดยในรอบที่ 4 มีค่าเท่ากับ 0.77 mg MDA/kg muscle จากผลการทดลองแสดงว่าจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำมีผลต่อค่า TBARS ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงการเสื่อมเสียของไขมันที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยน่าจะมีสาเหตุจากการที่เซลล์ของเนื้อปลาถูกทำลายโดยผลึกน้ำแข็งที่มีขนาดต่างๆ กันซึ่งเกิดจากการแช่แข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ เมื่อเซลล์ถูกทำลายก็จะเกิดการปลดปล่อยของเหลวภายในเซลล์ออกมา และรวมถึง Pro-oxidants ซึ่งตัวที่สำคัญคือ เหล็กอิสระ โดยจะทำหน้าที่เป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Benjakul and Bauer, 2001) เหล็กอิสระจะทำปฏิกิริยากับ Hydrogen peroxide และเหนี่ยวนำให้เกิด superoxide anion ซึ่งเกิดจาก hydroxyl radicals ปฏิกิริยาเหล่านี้จะไม่เกิดขึ้นกับเหล็กที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีน (Harris and Tall, 1994)

Benjakul and Bauer (2001) รายงานว่าค่า TBARS ของเนื้อปลาสดที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำในรอบที่ 0, 1, 3, 5 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ทั้งนี้พบว่าการเพิ่มขึ้นของค่า TBARS มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของปริมาณเหล็กที่ไม่ได้เป็นองค์ประกอบของฮีโมโกลบิน การที่เหล็กถูกปลดปล่อยออกจากโครงสร้างของฮีโมโกลบิน เกิดจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของฮีโมโกลบินและไมโอโกลบินซึ่งมีสาเหตุมาจากการทำลายของผลึกน้ำแข็ง นอกจากนี้ Benjakul and Bauer (2001) สันนิษฐานว่าการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำสามารถเพิ่มปฏิกิริยาออกซิเดชันได้จากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของ antioxidant enzymes บางชนิดเช่น superoxide dismutase



ภาพที่ 19 การเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ของเนื้อปลาสดที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ

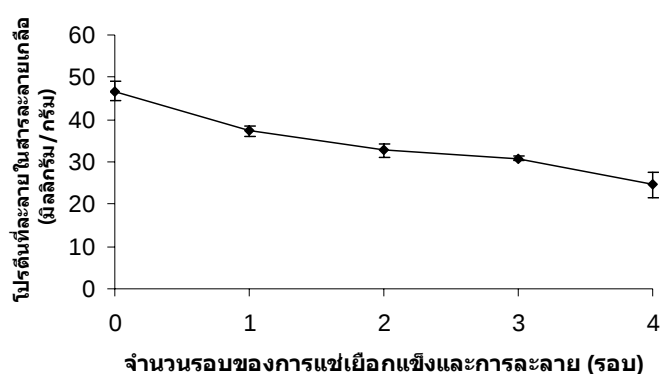
5.1.2 ปริมาณโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือ (salt soluble protein)

ความสามารถในการละลายของโปรตีนจากเนื้อปลาสวายโม่งแก่ วิเคราะห์จากปริมาณโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือโพแทสเซียมคลอไรด์ เข้มข้น 0.6 M จากผลการทดลองพบว่าจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำมีผลต่อปริมาณโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลืออย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) แสดงผลดังภาพที่ 20 โดยเนื้อปลาสวายโม่งแก่ในรอบที่ 0 มีปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือเท่ากับ 46.72 mg/g และมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึง 24.59 mg/g ในรอบที่ 4 โดยน่าจะมีสาเหตุจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนในระหว่างกระบวนการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็ง ซึ่งเกิดจากหลายปฏิกิริยาดังกล่าว เช่น เกิดจากการสร้างพันธะไดซัลไฟด์ พันธะไฮโดรเจน และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกของโมเลกุล

โปรตีน ส่งผลให้เกิดการรวมตัวและสูญเสียสภาพของโปรตีน (Jiang *et al.*, 1988) นอกจากนี้ในกล้ามเนื้อปลาบางชนิด ประกอบด้วยสารประกอบไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ ซึ่งสามารถเปลี่ยนไปเป็นไดเมทิลเอมีนและฟอร์มาลดีไฮด์ โดยการทำงานของเอนไซม์ภายในกล้ามเนื้อปลา ฟอร์มาลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นสามารถจับกับโปรตีนและเหนียวทำให้เกิดการจับรวมตัวของโปรตีนเพิ่มขึ้น (สุทธวัฒน์, 2548)

Sikorski (1977) รายงานว่าการสูญเสียความสามารถในการละลายของโปรตีนในระหว่างการแช่เยือกแข็งและการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็งนั้นอาจเกิดเนื่องจากการจับตัวกันของโปรตีน และยังพบว่า การละลายได้ของโปรตีนที่ลดลงในปลาหลายชนิดมักจะมีผลร่วมกับการเสื่อมเสียทางลักษณะเนื้อสัมผัส ได้แก่ มีความเหนียว (toughness), chewiness, rubberiness เพิ่มขึ้น หรือมีลักษณะปรากฏ เช่น แห้งเป็นขุย (cardboardly, crumby, dry) หรือเป็นเส้นใย (fibrous)

Benjakul and Bauer (2000) รายงานว่าการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ มีผลต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนจากเนื้อปลา cod ซึ่งมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยความสามารถในการละลายของโปรตีนจะลดลงประมาณ 60% หลังจากผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำในรอบที่ 5



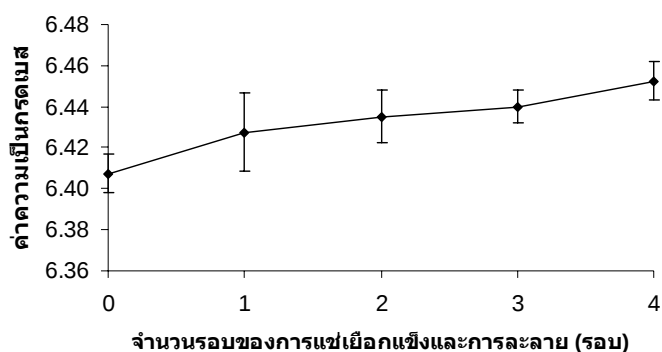
ภาพที่ 20 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือของเนื้อปลาสวายโม่งแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ

5.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

5.2.1 ค่าความเป็นกรดเบส (pH)

ผลการวิเคราะห์ความเป็นกรดเบสของปลาสาวยโม่งที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำเป็นจำนวนทั้งหมด 4 รอบ พบว่าจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำมีผลต่อความเป็นกรดเบส ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) แสดงผลดังภาพที่ 21 โดยเพิ่มขึ้นจาก 6.41 ในรอบที่ 0 เป็น 6.45 ในรอบที่ 4 ศิริรินทร์ (2544) รายงานว่าค่าความเป็นกรดเบสของกุ้งกุลาดำมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณค่าทั้งหมดที่ระเหยได้

van den Berg (1961) รายงานว่าในระหว่างการเก็บรักษาปลา Cod และ Haddock ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -10 และ -18 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาที่อุณหภูมิเดียวกัน พบว่าค่า pH และความเข้มข้นของเกลือเปลี่ยนแปลงไป โดยค่า pH จะลดลงในช่วงแรกของการเก็บรักษา หลังจากเก็บรักษาต่อไปพบว่าค่า pH จะเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับค่า pH เริ่มต้นก่อนการแช่เยือกแข็ง โดยการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารขึ้นอยู่กับปัจจัยทางเคมีกายภาพเช่น ประสิทธิภาพของบัฟเฟอร์ องค์ประกอบที่เป็นสารไอออนิก เป็นต้น



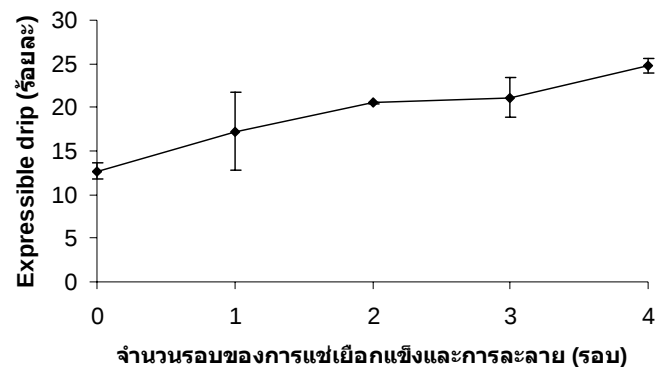
ภาพที่ 21 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดเบสของเนื้อปลาสาวยโม่งเล่าที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ

5.2.2 ค่า Expressible drip

ผลการวิเคราะห์ค่า Expressible drip พบว่า จำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำมีผลต่อค่า Expressible drip ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) แสดงผลดังภาพที่ 22 โดยเนื้อปลาสวายโม่งแช่ในรอบที่ 0 มีค่า Expressible drip เท่ากับ 12.68% และเพิ่มขึ้นจนถึง 24.82% ในรอบที่ 4 จากผลการทดลองพบว่าการเพิ่มขึ้นของค่า Expressible drip มีความสัมพันธ์กับการลดลงของปริมาณโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือ เนื่องจากการแช่แข็งทำให้เกิดการสร้างผลึกน้ำแข็งซึ่งมีผลต่อการทำลายเซลล์กล้ามเนื้อและก่อให้เกิดการปลดปล่อยของเหลวภายในเซลล์ออกมา เป็นผลให้เกิดการสูญเสียความสามารถในการละลายของโปรตีน และการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนอย่างต่อเนื่องจะก่อให้เกิดการสูญเสียความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีน (Erickson and Hung, 1997; Benjakul *et al.*, 2003)

Hurling and McArthur (1996) พบว่าเนื้อปลา Cod (cod fillet block) ที่ผ่านการละลายน้ำแข็งและแช่เยือกแข็งซ้ำเป็นครั้งที่ 2 จะสูญเสียความสามารถในการละลายของโปรตีนในกลุ่ม myofibrillar protein โดยการละลายจะลดลงอย่างรวดเร็วกว่าปลาที่ผ่านการแช่เยือกแข็งเพียงครั้งเดียว และยังพบว่าค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ก็ลดลงมากเช่นกัน

Benjakul *et al.* (2003) รายงานว่าปลาจวด ปลาปากคม ปลาตาหวาน ปลาทรายแดงที่เก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 24 สัปดาห์ พบว่าค่า Expressible drip ของปลาทั้ง 4 ชนิดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา อัตราการเพิ่มขึ้นจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของปลา โดยปลาปากคมจะมีค่า Expressible drip เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 2 สัปดาห์แรกของการเก็บรักษา ทั้งนี้อาจเกี่ยวข้องกับการสร้างฟอร์มัลดีไฮด์ เนื่องจากฟอร์มัลดีไฮด์สามารถจับกับโปรตีนและเหนียวทำให้เกิดการจับรวมตัวของโปรตีน จึงทำให้เกิดการสูญเสียความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีน

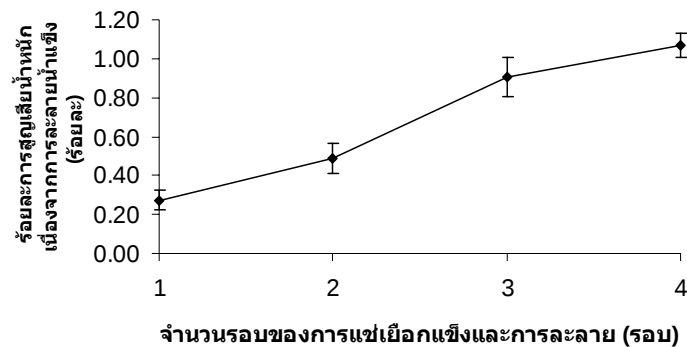


ภาพที่ 22 การเปลี่ยนแปลงค่า Expressible drip ของเนื้อปลาสาวยโมงแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ

5.2.3 ค่าร้อยละการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการละลายน้ำแข็ง (thaw loss)

ผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการละลายน้ำแข็ง (thaw loss) ของเนื้อปลาสาวยโมงแล้ พบว่าจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำมีผลต่อ thaw loss ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) แสดงผลดังภาพที่ 23 โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.27% ในรอบที่ 1 จนถึง 1.07% ในรอบที่ 4 การที่ค่า thaw loss เพิ่มขึ้นเนื่องจากการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำทำให้เนื้อเยื่อเกิดการเสื่อมสลายทางกล จึงไม่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้มาก และเป็นผลร่วมกับการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำลดลงจึงสูญเสียน้ำหนักจากเซลล์มากเมื่อนำไปละลายน้ำแข็ง (Srinivasan *et al.*, 1997)

ศิรินทรา (2544) รายงานว่าค่า thaw loss ของกุ้งกุลาดำมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Benjakul and Bauer (2000, 2001) ที่พบว่าปริมาณของเหลวที่ไหลออกจากเซลล์มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการถูกทำลายโครงสร้างของเนื้อเยื่อของเซลล์และการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนที่เพิ่มขึ้น

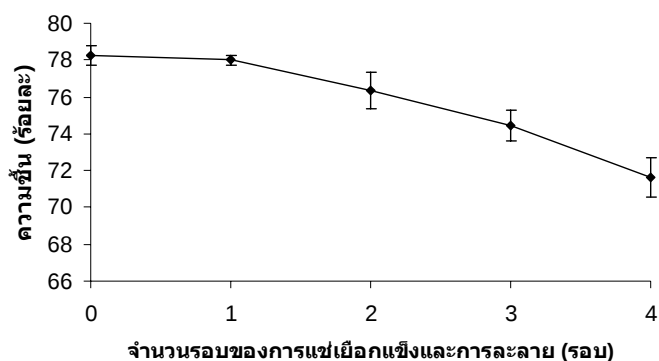


ภาพที่ 23 การเปลี่ยนแปลงค่าร้อยละการสูญเสียเนื้อน้ำแข็งเนื่องจากการละลายน้ำแข็ง ของเนื้อปลา
สวายโมงแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ

5.2.4 ค่าความชื้น

ผลการวิเคราะห์ความชื้นในเนื้อปลาพบว่า จำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำมีผลต่อความชื้น ซึ่งมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) แสดงผลดังภาพที่ 24 โดยในรอบที่ 0 มีความชื้นเท่ากับ 78.26% หลังจากนั้นความชื้นมีค่าลดลงจนถึง 71.63% ในรอบที่ 4 จากผลการทดลองพบว่า ค่าความชื้นที่ลดลงมีผลสอดคล้องกับค่าร้อยละการสูญเสียเนื้อน้ำแข็งเนื่องจากการละลายน้ำแข็งที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการแช่เยือกแข็ง การเก็บรักษา และการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่ขึ้นๆ ลงๆ ในระหว่างการเก็บรักษาจะก่อให้เกิดการสูญเสียของผลิตภัณฑ์แช่เยือกแข็ง ซึ่งน้ำบริเวณผิวหน้าของอาหารสูญเสียได้โดยการระเหิดของผลึกน้ำแข็งและการระเหยของน้ำ ทำให้ชิ้นอาหารหดตัวและแข็งขึ้น ผลิตภัณฑ์มีน้ำหนักลดลง การสูญเสียน้ำโดยการระเหยกลายเป็นไอ ทำให้มีการหักเหของแสงแปลกไปจากบริเวณอื่นๆ สีของชิ้นอาหารจึงแปลกไป ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า freezer burn ผิวหน้าของผลิตภัณฑ์จะเป็นรอยแห้งและมีสีน้ำตาลเกิดขึ้น (Fennema *et al.*, 1973; Karel *et al.*, 1975; Mallett, 1993; Keizer, 1995)

Jittinandana *et al.* (2005) รายงานว่าความชื้นของปลา Trout ที่ไม่มีการเติม cryoprotectant มีค่าลดลงระหว่างการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำในรอบที่ 1 และ 5 หลังจากนั้นปริมาณความชื้นจะคงที่จนถึงรอบที่ 15 โดยกล่าวว่า การลดลงของความชื้นอาจมีสาเหตุมาจากการละลายและการสร้างผลึกน้ำแข็งซ้ำ ซึ่งจะมีผลต่อการทำลายเซลล์กล้ามเนื้อทำให้เกิดการปลดปล่อยของเหลวภายในเซลล์ออกมา



ภาพที่ 24 การเปลี่ยนแปลงความชื้น ของเนื้อปลาสาวยโมงแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลาย น้ำแข็งซ้ำ

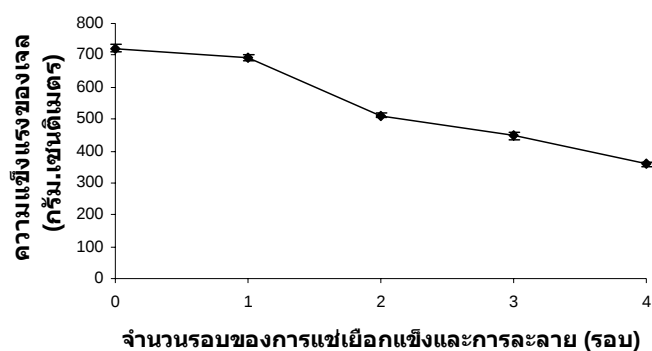
5.2.5 ค่าความแข็งแรงเจล (gel strength)

ผลการวิเคราะห์ความแข็งแรงเจลของเนื้อปลาที่ไม่ผ่านการล้างน้ำและให้ความร้อน 1 ระดับที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสพบว่า จำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลาย น้ำแข็งซ้ำมีผลต่อความแข็งแรงเจล ซึ่งมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) แสดงผลดังภาพที่ 25 โดยมีค่าลดลงจาก 721.55 กรัม.เซนติเมตร ในรอบที่ 0 ถึง 359.02 กรัม.เซนติเมตร ในรอบที่ 4 ความสามารถในการเกิดเจลเป็นสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญของโปรตีนกล้ามเนื้อ เนื่องจากไมโอไฟบริลลาร์ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบมากในกล้ามเนื้อ เป็นกลุ่มโปรตีนที่ก่อให้เกิดเจล ในระหว่างการแช่เยือกแข็งจะทำให้เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติและการจับตัวกันของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ส่งผลให้เกิดการสูญเสียความสามารถในการละลายของโปรตีนและการเกิดเจลของเนื้อปลา (Suzuki, 1981) จากผลการทดลองพบว่าค่าความแข็งแรงของเจลที่ลดลงมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ลดลงเช่นเดียวกัน

Ganesh *et al.* (2006) รายงานว่า ค่าความแข็งแรงเจลของปลา Carp ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการเก็บรักษาโดยการแช่แข็งเป็นเวลา 180 วัน มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) ในวันที่ 0 ค่าความแข็งแรงเจลเท่ากับ 1027 กรัม.เซนติเมตร และลดลงถึง 412 กรัม.เซนติเมตร ในวันที่ 180 ของการเก็บรักษา จากผลการทดลองพบว่าการลดลงของค่าความแข็งแรงเจลมีความสัมพันธ์กับการลดลงของความสามารถในการละลายของโปรตีน และการเพิ่มขึ้นของ

drip loss ซึ่งเป็นผลมาจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนในระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่แข็ง

วรรณวิบูลย์ (2534) ได้ทำการศึกษาผลของการแช่แข็งวัตถุดิบต่อคุณภาพในการเกิดเจลของซูริมิจากปลาทรายแดง พบว่าซูริมิที่ผลิตจากปลาแช่เยือกแข็งมีค่าความแข็งแรงเจลลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยยิ่งเพิ่มระยะเวลาของการเก็บปลาแช่เยือกแข็งจะยิ่งทำให้ค่าความแข็งแรงเจลลดลง จากผลการทดลองสรุปได้ว่าปลาทรายแดงที่มีความสดอยู่ในระดับปานกลาง นำมาแช่เยือกแข็งโดยมีอุณหภูมิใจกลางปลาเท่ากับ -18°C สามารถเก็บได้ไม่เกิน 20 วัน และเมื่อนำปลาแช่เยือกแข็งมาผลิตเป็นซูริมิกวนนำไปทำผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปเช่นลูกชิ้น คามาโบโกะ ทันที จึงจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพในการเกิดเจลที่ดี



ภาพที่ 25 การเปลี่ยนแปลงความแข็งแรงของเจล ของเนื้อปลาสาวยโมงแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ

5.2.6 ค่าการเปลี่ยนแปลงของสี (color)

การเปลี่ยนแปลงสีของปลาสาวยโมงที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำเป็นจำนวนทั้งหมด 4 รอบ แสดงผลดังตารางที่ 9 พบว่าเมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำเพิ่มขึ้นค่า L^* (ค่าความสว่าง) มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ส่วนค่า a^* (ค่าสีแดง-สีเขียว) และ b^* (ค่าสีเหลือง-สีน้ำเงิน) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น การเพิ่มขึ้นของค่า a^* และ b^* แสดงว่าเนื้อปลามีค่าความเป็นสีแดงและสีเหลืองเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ

เพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงของสีในผลิตภัณฑ์แช่เยือกแข็งอาจเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดจากน้ำตาลรีดิวซ์และกรดอะมิโน โดยในระหว่างการเก็บรักษาตัวน้ำในสถานะแช่แข็ง กระบวนการไกลโคไลซิสยังคงดำเนินอยู่แม้ที่อุณหภูมิต่ำ ปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์และกรดอะมิโนเกิดเป็นสารตัวกลางที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสี นอกจากนี้ระหว่างการแช่เยือกแข็งและละลายน้ำแข็งซ้ำ สารที่มีหมู่คาร์บอนิลซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน เช่นมาโลนไดแอลดีไฮด์ สามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนก่อให้เกิดการเรืองแสงสีเหลืองในเนื้อปลา นอกจากนี้การเกิดสีน้ำตาลสามารถเกิดได้จากปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนและไขมัน เนื่องจากสัณฐานน้ำประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่าย โดยสีน้ำตาลที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนและไขมัน มักเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างผลิตภัณฑ์จากการสลายตัวของเพอร์ออกไซด์ และโปรตีน (สุทธวัฒน์, 2548)

ตารางที่ 9 การเปลี่ยนแปลงสีของปลาสาวยโมงที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ

จำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลาย	L* value ^{ns}	a* value	b* value
0	45.24 ± 1.80	-1.95 ^c ± 0.19	3.83 ^c ± 1.36
1	43.51 ± 1.04	-1.08 ^b ± 0.53	5.88 ^b ± 0.77
2	42.21 ± 1.65	-1.06 ^{ba} ± 0.48	5.72 ^b ± 0.76
3	41.47 ± 1.44	-0.5 ^{ba} ± 0.33	7.48 ^a ± 0.97
4	41.71 ± 2.39	-0.4 ^a ± 0.54	7.79 ^a ± 0.51

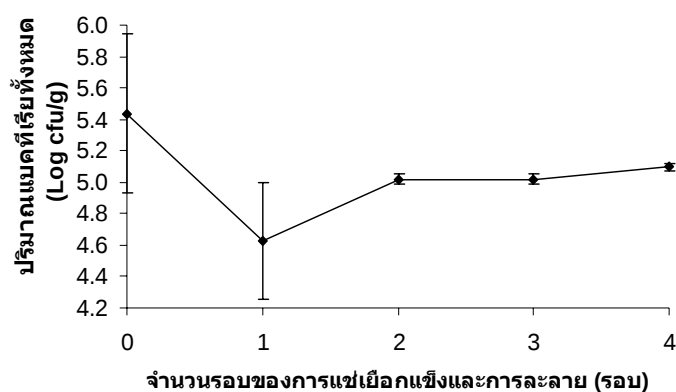
a, b, c ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรพิมพ์เล็กต่างกันในแนวดิ่ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P ≤ 0.05)

5.3 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

5.3.1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total Bacteria Count, TBC)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดของปลาสาวยโมงที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ (P > 0.05) เมื่อจำนวนรอบ

ของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำเพิ่มขึ้นแสดงผลดังภาพที่ 26 โดยในรอบที่ 0 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 5.44 log cfu/g จากนั้นมีค่าลดลงเท่ากับ 4.63 log cfu/g ในรอบที่ 1 แล้วจึงเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจนถึง 5.1 log cfu/g ในรอบที่ 4 ทั้งนี้ปริมาณแบคทีเรียที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำมีค่าต่ำกว่าปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น เนื่องจากการแช่เยือกแข็งมีผลในการลดปริมาณจุลินทรีย์ในอาหาร โดยการแช่แข็งจะไปทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์ อีกทั้งยังทำให้อาหารอยู่ในสภาพแข็งตัว จุลินทรีย์จึงไม่สามารถย่อยสลายสารอาหาร จึงช่วยให้เก็บรักษาอาหารได้เป็นเวลานาน (มัทนา, 2538)

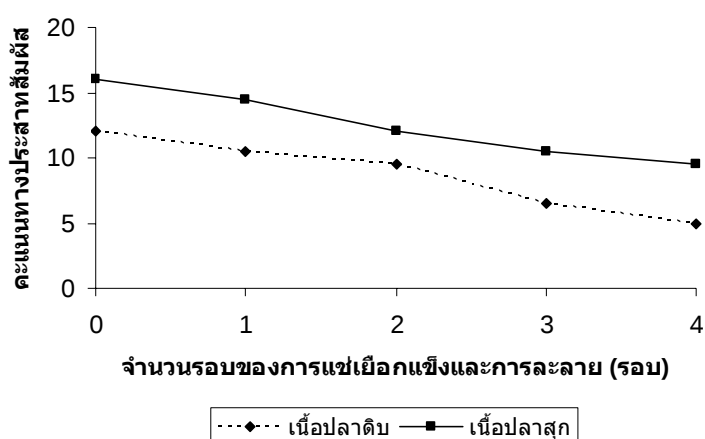


ภาพที่ 26 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ของเนื้อปลาสาวยโมงแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ

5.4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อปลาสาวยโมง จะทำการประเมินคุณภาพของเนื้อปลาดิบ และสุก โดยผู้ทดสอบจะประเมินคุณภาพและให้คะแนนจากแบบทดสอบที่พัฒนามาจากหลักเกณฑ์การให้คะแนนประสาทสัมผัสของปลาสาวยโมงที่เก็บรักษาด้วยน้ำแข็ง จำแนกตามลักษณะด้านต่างๆ ในสภาพดิบและสุก (ตารางที่ 3) คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงผลดังภาพที่ 27 โดยเนื้อปลาดิบจะประเมินคุณภาพในด้านสี ลักษณะเนื้อสัมผัส และกลิ่น ซึ่งมีคะแนนรวมทั้งหมดเท่ากับ 12 คะแนน สำหรับเนื้อปลาสุกจะประเมินคุณภาพในด้านสี เนื้อสัมผัส กลิ่น และรสชาติ โดยมีคะแนนรวมทั้งหมดเท่ากับ 16 คะแนน จากการทดสอบพบว่าคะแนนทางประสาทสัมผัสของเนื้อปลาดิบและปลาสุกมีแนวโน้มลดลง เมื่อจำนวนรอบของการ

แช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำเพิ่มขึ้น โดยคะแนนของเนื้อปลาดิบในรอบที่ 0 มีค่าเท่ากับ 12 และลดลงจนถึง 5 ในรอบที่ 4 โดยเนื้อปลาในรอบที่ 0 มีลักษณะสีโปรงแสง มัดกล้ามเนื้อติดกันแน่น มีความยืดหยุ่น และไม่มิกลิ้นขาว ส่วนในรอบที่ 4 เนื้อปลามีลักษณะทึบแสง กล้ามเนื้อไม่แน่น ไม่มีความยืดหยุ่น เนื้อชูดออกได้ง่าย มิกลิ้นขาว และเริ่มมิกลิ้นอื่นปน สำหรับคะแนนของปลาสุกในรอบที่ 0 มีค่าเท่ากับ 16 และลดลงจนถึง 9.5 ในรอบที่ 4 โดยเนื้อปลาในรอบที่ 0 มีสีขาวสว่างตามธรรมชาติของเนื้อปลา เนื้อนุ่ม แน่นมาก หอมกลิ่นปลานึ่ง และหวานเนื้อปลา ส่วนในรอบที่ 4 เนื้อปลามีสีขาวทึบ เนื้อเปื่อยยุ่ย มิกลิ้นขาวร่วมกับมิกลิ้นอื่นปน และไม่ค่อยมีรสชาติ จากการประเมินพบว่า ผู้ทดสอบไม่ยอมรับคุณภาพของเนื้อปลาดิบที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำในรอบที่ 3 โดยผู้ทดสอบไม่ยอมรับคุณภาพเพราะเนื้อปลามีกลิ่นขาวและเริ่มมิกลิ้นอื่นปน สำหรับเนื้อปลาสุก ผู้ทดสอบไม่ยอมรับคุณภาพของเนื้อปลาที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำในรอบที่ 4 จากผลการทดลองสรุปได้ว่า เมื่อจำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำเพิ่มขึ้น จะทำให้ลักษณะทางประสาทสัมผัสของเนื้อปลาดิบและสุกมีคุณภาพลดลง เนื่องจากการ แช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำจะก่อให้เกิดผลึกน้ำแข็งที่มีขนาดแตกต่างกัน ทำให้เซลล์เนื้อเยื่อถูกทำลาย และเกิดการปลดปล่อยของเหลวภายในเซลล์ออกมา เช่น เอนไซม์ และ Pro-oxidants เป็นต้น ซึ่งมีผลทำให้เนื้อปลาเกิดการเสื่อมเสียคุณภาพทั้งการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน การเกิดปฏิกิริยาเคมีและชีวเคมีต่างๆ เช่น การเกิดการหืนของไขมัน การเกิดสีน้ำตาล เป็นต้น อีกทั้งยังเกิดการสูญเสียความชื้นของเนื้อปลา ซึ่งการเสื่อมเสียต่างๆ จะมีผลโดยตรงต่อคะแนนประเมินลักษณะประสาทสัมผัสของเนื้อปลา



ภาพที่ 27 การเปลี่ยนแปลงคะแนนทางประสาทสัมผัส ของเนื้อปลาสาวยโมงแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ

สรุปผลการทดลอง

1. องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาสาวยโมงในส่วน of เนื้อที่บริโภคได้พบว่า มีปริมาณร้อยละของน้ำหนักเปียก (wet basis) ของ ความชื้น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และ เถ้า มีค่าเท่ากับ 77.29, 15.21, 3.55, 2.56 และ 1.39 ตามลำดับ
2. ปลาสาวยโมงสามารถเก็บรักษาในน้ำแข็งได้เป็นเวลา 17 วัน โดยพบว่าดัชนีที่สามารถใช้วัดความสดได้คือ K-value และค่าสมบัติทางไฟฟ้า โดย K-value มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($P \leq 0.05$) ขณะที่ค่าสมบัติทางไฟฟ้ามีแนวโน้มลดลง ($P \leq 0.05$) เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น
3. ในกล้ามเนื้อดำมีปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน โปรตีนชาร์โคพลาส-มิก โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ โปรตีนที่ละลายในด่าง และโปรตีนสโตรมา เท่ากับ 3.75, 9.10, 23.71, 2.57 และ 2.38 และในกล้ามเนื้อขาวมี 4.17, 6.18, 26.08, 1.73 และ 2.18 มิลลิกรัมไนโตรเจน/กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ
4. การล้างเนื้อปลาสาวยโมงบดทำให้ค่าความแข็งแรงเจล ค่าความยืดหยุ่นลดลง แต่ค่าความขาวเพิ่มขึ้น ($P \leq 0.05$) โดยสภาวะที่เหมาะสมในการขึ้นรูปเจลปลาสาวยโมง คือไม่ล้างน้ำและให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ที่สภาวะนี้จะให้ค่าความแข็งแรงเจลและค่าความยืดหยุ่นสูงสุดคือ 721.55 กรัม.เซนติเมตร และ 0.9 ตามลำดับ
5. จำนวนรอบของการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำที่เพิ่มขึ้น มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลาสาวยโมงแช่เยือกแข็ง โดยค่า TBARS ความเป็นกรดเบส Expressible drip และร้อยละการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการละลายน้ำแข็งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($P \leq 0.05$) ขณะที่ปริมาณโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือ ความชื้น ค่าความแข็งแรงเจล และคะแนนทางประสาทสัมผัสมีแนวโน้มลดลง ($P \leq 0.05$)

ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาสภาวะการขึ้นรูปเจลที่เหมาะสมสามารถนำผลที่ได้ไปใช้พัฒนาผลิตภัณฑ์ยืดหยุ่นต่างๆ ของปลาสวายโมง เช่น ลูกชิ้นปลา ไส้กรอก เพื่อเพิ่มความหลากหลายให้กับผลิตภัณฑ์และเพิ่มมูลค่าให้กับปลาสวายโมง
2. ควรมีการศึกษาวิธีและสภาวะการแช่เยือกแข็งที่เหมาะสม วิธีการยืดอายุการเก็บรักษาและอายุการเก็บรักษาปลาสวายโมงเพิ่มเติม เนื่องจากปลาสวายโมงนิยมส่งออกในรูปแบบปลาแล่แช่เยือกแข็ง

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2544. ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการของไทย. กระทรวงสาธารณสุข, นนทบุรี.
- จักรี ทองเรือง. 2544. ชูริมิ. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- จิรวัดน์ ขงสวัสดิกุล. 2541. การเกิดเจลของโปรตีนกล้ามเนื้อปลา. อาหาร. 28(4): 245-254.
- จูอะดี พงศ์มณีรัตน์, โยธิน เทิดวงศ์วรกุล, อรรณพ อิมศิริปี่ และ สมบัติ สิงห์สี. 2549. การเพาะเลี้ยงปลาโพง (เพาะ). สวัสดิ์สัตว์น้ำไทย. 7: 28-32.
- ชนกร โรจนกร. 2538. เอกสารประกอบการสอน เรื่อง การถนอมอาหารโดยวิธีแช่เยือกแข็ง. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.
- นงลักษณ์ สุทธิวิช. 2531. คุณภาพสัตว์น้ำ. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.
- นิรนาม. 2548. กรมประมงตั้งเป้าหมายผลิตลูกปลาเพาะ 1.17 ล้านตัวเพื่อเลี้ยงเชิงพาณิชย์. สัตว์น้ำ. 197: 154-155.
- นุชนารถ เจริญพรพรรณ. 2550. สมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนจากปลานวลจันทร์น้ำจืด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ประเสริฐ สายสิทธิ์. 2514. ผลิตภัณฑ์ประมงและหลักการถนอม. คณะเกษตร, กรุงเทพฯ.
- ไพบุลย์ ธรรมรัตน์วาศิก. 2532. กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2538. จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ประมง. สำนักพิมพ์ริ้วเขียว, นนทบุรี.

มยุรี จัยวัฒน์. 2527. การให้ความเย็นผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วรรณวิบูลย์ กาญจนกุญชร. 2534. รายงานผลการวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 10 น.

_____. 2546. สัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์, น. 334-346 ใน คณะจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, บรรณาธิการ. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สถาบันอาหาร. 2549. โครงการพัฒนาสัตว์น้ำเศรษฐกิจ. แหล่งที่มา: <http://www.nfi.or.th/nfi/fish/history.htm>. 1 กรกฎาคม 2550.

สายสนม ประดิษฐ์ดวง. 2546. กระบวนการแช่เยือกแข็งอาหาร, น. 154-186. ใน คณะจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, บรรณาธิการ. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2548. เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

สุวรรณ วิรัชกุล. 2540. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาภายหลังการจับ. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

สุเมธ สุพิชญางกูร. 2528. การตรวจวัดความสดของปลาสดทางประสาทสัมผัสและเคมี (เค วาลู), น. 232-238. ใน รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2528 กรมประมง. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

แสงไทย พจน์สมพงศ์, สุเมธ สุพิชญางกูร และจิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร. 2531. การทดลองขนส่งปลากระพงขาว 1 การเปลี่ยนแปลงสภาพและการตรวจวัดความสดของปลากระพงขาว, น. 31-48. ใน รายงานประจำปี 2530-2531 กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง. กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2529. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมปลาสดทั้งตัวเยือกแข็ง. มอก. 617-2529.

ศิรินทรา บุญสำเร็จ. 2544. ผลของกระบวนการแช่เยือกแข็งต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งด้วยวิธีแบบลมพ่นและแบบไครโอ-จีนิก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อรทัย เปี่ยมปรีดา. 2544. การผลิตลูกขึ้นปลาจากเนื้อปลาสองชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Alasalvar, C., K.D.A. Taylor and F. Shahidi. 2002. Comparative quality assessment of cultured and wild sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. **J. Agric. Food Chem.** 50: 2039-2045.

AOAC. 2000. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 27th ed. The Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.

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

_____ and _____. 2001. Biochemical and physicochemical changes in catfish (*Silurus glanis* Linne) muscle as influenced by different freeze-thaw cycles. **Food Chemistry**. 72: 207-217.

- _____, W. Visessanguan, C. Thongkaew and M. Tanaka. 2003. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage. **Food Research International**. 36: 787-795.
- _____, _____ and J. Tueksuban. 2003. Heat-activated proteolysis in lizardfish (*Saurida tumbil*) muscle. **Food Research International**. 36: 1021-1028.
- Boast, M.F.G. 1985. The technology of freezing, pp. 6-7. In R.K. Robinson, ed. **Microbiology of Frozen Food**. Elsevier Applied Science Publishers, New York.
- Bonilla, A.C., K. Sveinsdottir and E. Martinsdottir. 2007. Development of quality index method (QIM) scheme for fresh cod (*Gadus morhua*) fillets and application in shelf life study. **Food Control**. 18(4): 352-358.
- Botta, J.R, J.T. Lauder and M.A. Jewer. 1984. Effect of methodology on the total volatile basic nitrogen (TVB-N) determination as an index of quality of fresh Atlantic cod (*Gadus morhua*). **J. Food Sci.** 49: 734-736.
- _____. 1995. **Evaluation of seafood freshness quality**. VHC Publishers, New York.
- Buege, J.A. and S.D. Aust. 1978. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**. 52: 32-34.
- Chaijan, M., S. Benjakul, W. Visessanguan and C. Faustman. 2004. Characteristics and gel properties of muscle from sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) caught in Thailand. **Food Research International**. 37: 1021-1030.
- Chan, J.K., T.A. Gill and A.T. Paulson. 1992a. Cross-linking of myosin heavy chains from cod herring and silver hake during thermal setting. **J. Food Sci.** 57: 906-912.

- _____, _____ and _____. 1993. Thermal aggregation of myosin subfragment from cod and herring. **J. Food Sci.** 58: 1057-1061, 1069.
- Chytiri, S., I. Chouliara., I.N. Savvaidis and M.G. Kontominas. 2004. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. **Food Microbiology.** 21(2): 157-165.
- Connell, J.J. 1990. **Control of Fish Quality.** 3rd ed. Fishing News Books, Great Britain.
- Damodaran, S. 1996. Amino acids, peptides and proteins, *In* O.R. Fennema, ed. **Food Chemistry.** Marcel Dekker, Inc., New York.
- Erickson, M.C. and Y.C. Hung. 1997. **Quality in Frozen Food.** Chapman & Hall, New York.
- Fellows, P.J. 1990. **Food Processing Technology: Principle and Practice.** Ellis Horwood, England.
- Fennema, O.R., W.D. Powrie and E.H. Marth. 1973. **Low-Temperature Preservation of Food and Living Matter.** Marcel Dekker, Inc., New York.
- Ganesh, A., A.O. Dileep, B.A. Shamasundar and U. Singh. 2006. Gel-forming ability of common carp fish (*Cyprinus carpio*) meat: effect of freezing and frozen storage. **J. of food Biochemistry.** 30: 342-361.
- Gill, T.A. and J.T. Conway. 1989. Thermal aggregation of cod muscle proteins using 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodimide as a zero-length cross-linker. **Agric. Biol Chem.** 53: 2553-2562.
- Grigorakis, K., K.D.A. Taylor and M.N. Alexis. 2003. Seasonal patterns of spoilage of ice-stored cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Food Chemistry.** 81: 263-268.

- Haard, N.F., B.K. Simpon and B.S. Pan. 1994. Sarcoplasmic proteins and other nitrogenous compounds, pp. 13-39. *In* Z.E. Sikorski, B.S. Pan and F. Shahidi, eds. **Seafood Protein**. Chapman and Hill, Inc., New York.
- Harris, P. and J. Tall. 1994. Rancidity in fish, pp. 256-272. *In* J.C. Allen and R.J. Hamilton, eds. **Rancidity in Foods**. Chapman & Hall, London.
- Hashimoto, K., S. Watabe, M. Kono and K. Shiro. 1979. Muscle protein composition of sardine and mackerel. **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.** 45: 1435-1441.
- Hermansson, A.M. 1978. Physico-chemical aspects of soy protein structure formation. **J. Text. Studies.** 9: 33.
- Hurling, R and H. McArthur. 1996. Thawing, refreezing and frozen storage effects on muscle functionality and sensory attributes of frozen cod (*Gadus morhua*). **J. Food Sci.** 61(6): 1289-1296.
- Huss, H.H. 1988. **Fresh Fish-Quality and Quality Changes**. FAO Fisheries Series No. 29. Rome, Italy.
- IIR.(International Institute of Refrigeration). 1972. **Recommendations for the Processing and Handling of Frozen Foods**. International Institute of Refrigeration, Paris.
- Jiang S.T., D.C. Hwang and C.S. Chen. 1988. Effect of storage temperature on the formation of disulfides and denaturation of milkfish actomyosin (*Chanos chanos*). **J. Food Sci.** 53: 1333-1335.
- Jittinandana, S., P.B. Kenney and S.D. Slider. 2005. Cryoprotectants preserve quality of restructured trout products following freeze-thaw cycling. **J. Muscle Food.** 16: 354-378.

- Johnson, E.R. and J.R. Vickery. 1964. Factors influencing the production of hydrogen sulfide from meat during heating. **J. Sci. Food Agric.** 15: 659-701.
- Karel, M., O.R. Fennema and D.B. Lund. 1975. **Principle of Food Science Part II Physical Principles of Food Preservation.** Marcel Dekker, Inc., New York.
- Keizer, C. 1995. Freezing and Chilling of fish, pp. 287-213. In A. Ruiter, ed. **Fish and Fishery products: Composition, Nutritive Properties and Stability.** CAB International, UK.
- Kongpun, O. 1999. The gel forming ability of washed and unwashed fish meat (Lizardfish and Nile tilapia). **Kasetsart J. (Nat. Sci.).** 33: 258-269.
- Kristinsson, G.H. and H.O. Hultin. 2003. Effect of low and high pH treatment on the functional properties of cod muscle proteins. **J. Agric. Food Chem.** 51: 5103-5110.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. **Nature.** 227: 680-685.
- Lanier, T.C., G.M. MacDonald and D.N. Scott. 1988. **Surimi technology workshop note.** Nelson, New Zealand.
- . 2000. Surimi gelation chemistry, pp. 237-265. In J.W. Park, ed. **Surimi and Surimi Seafood.** Marcel Dekker, Inc., New York.
- Lowry, Q.H., N.J. Rosebrough, L.A. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. of Biological Chemistry.** 193: 256-275.
- Macdonald, G.A., J. LeLievre and N.D.C. Wilson. 1990. strength of gels prepared from washed and unwashed minces of hoki (*Macruronus novaezelandiae*) stored in ice. **J. Food Sci.** 55(4): 976-978.

- Mallett, C.P. 1993. **Frozen Food Technology**. Blackie Academic & Professional, New York.
- MFRD. 1987. **Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish Products**. Marine Fisheries Research Development. SEAFDEC, Singapore.
- Mizuta, S., Y. Yamada, T. Miyagi and R. Yoshinaka. 1999. Histological changes in collagen related to textural development of prawn meat during heat processing. **J. Food Sci.** 64 (6): 991-995.
- Mohan, M., D. Ramachandran and T.V. Sankar. 2006. Functional properties of Rohu (*Labeo rohita*) proteins during iced storage. **Food Research International**. 39: 847-854.
- Niwa, E. 1992. Chemistry of surimi gelation, pp. 389-427. *In* T.C. Lanier and C.M. Lee, eds. **Surimi Technology**. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Opstvedt, J., R. Miller, R.W. Hardy and J. Spinelli. 1984. Heat-induced changes in sulfhydryl groups and disulfide bonds in fish protein and their effect on protein and amino acid digestibility in Rainbow trout. **J. Food Chem.** 32: 929-935.
- Ozogul, F., A. Polat and Y. Ozogul. 2004. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). **Food Chemistry**. 85: 49-57.
- Ozogul, Y., G. Ozyurt., F. Ozogul., E. Kuley and A. Polat. 2005. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. **Food Chemistry**. 92: 745-751.
- Papado-poulos, V., I. Chouliara, A. Badeka, I.N. Savvaidis and M.G. Kontominas. 2003. Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. **Food Microbiology**. 20(4): 411-420.

- Park, J.W. 1995. Effect of salt, surimi and/or starch content of fracture properties of gel at various test temperature. **J. of Aquatic Food Product Tech.** 4(2): 75-84.
- Sano, T., S.F. Noguchi., J.J. Matsumoto and T. Tsuchiya. 1990a. Effect of ionic strength dynamic viscoelastic behavior of myosin during thermal gelation. **J. Food Sci.** 55: 51-54, 70.
- _____, _____, _____ and _____. 1990b. Thermal gelation characteristics of myosin subfragments. **J. Food Sci.** 55: 55-58, 70.
- Sato, K., R. Yoshinaka, M. Sato and Y. Shimizu. 1986. Collagen content in the muscle of fishes in association with their swimming movement and meat texture. **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.** 52: 1595-1598.
- Sato, R., S. Katayama, T. Sawabe and H. Saeki. 2003. Stability and emulsion-forming ability of water-soluble fish myofibrillar protein prepared by conjugation with alginate oligosaccharide. **J. Agric. Food Chem.** 51: 4376-4381.
- Seguro, K., Y. Kumazawa, T. Ohtsuka, S. Toiguchi and M. Motoki. 1995. Microbial transglutaminase and ϵ -(γ -glutamyl) lysine crosslink effects on elastic properties of kamaboko gel. **J. Food Sci.** 60: 305-311.
- Shahidi, F. and J.R. Botta. 1994. **Seafoods Chemistry, Processing Technology and Quality.** Chapman & Hall, London.
- Shimizu, Y. and W. Shimidu. 1985. Ashi of kamaboka evaluation of ashi. **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.** 26: 911-916.
- Sikorski, Z.E. 1977. **Protein Changes in Muscle Foods Due To Freezing and Frozen Storage.** I.I.R. Commissions C1 and C2, Ettlingen, Germany.

- Sriket, P., S. Benjakul., W. Visessanguan and K. Kijroongrojana. 2007. Comparative studies on the effect of the freeze-thawing process on the physicochemical properties and microstructures of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) muscle. **Food chemistry**. 104: 113-121.
- Srinivasan, S., Y.L. Xiong, S.P. Blanchard and J.H. Tidwell. 1997. Physicochemical changes in prawns (*Macrobrachium rosenbergii*) subjected to multiple freeze-thaw cycles. **J. Food Sci.** 62(1): 123-127.
- Steen, C. and P. Lambelet. 1997. Texture changes in frozen cod mince measured by low-field nuclear magnetic resonance spectroscopy. **J. Sci Food Agric.** 75: 268-272.
- Suwansakornkul, P., Y. Itoh, S. Hara and A. Obatake. 1993. **The gel-forming characteristics of lizardfish**. Nippon Suisan Gakkaishi. 59: 1029-1037.
- Suzuki, T. 1981. **Fish and Krill protein : Processing Technology**. Applied Science Publishers, London.
- Toyoda, K., I. Kimura, T. Fujita, S.F. Noguchi and C.M. Lee. 1992. The surimi manufacturing process, pp. 41-76. In T.C. Lanier and C.M. Lee, eds. **Surimi Technology**. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Taguchi, T., M. Ishizaka, M. Tanaka, Y. Nakashima and K. Amano. 1987. Protein-Protein interaction of fish myosin fragment. **J. Food Sci.** 52: 1103-1104.
- van den Berg, L. 1961. Changes in pH of some frozen foods during storage. **Food Technology**. 10: 434-437.

- Vladimirov, P.L., R.K. Eustratios and R.K. Vasiliki. 2003. Comparison of selected methods of assessing freshness quality and remaining storage life of iced gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Food Research International**. 36: 551–560.
- Weber, K. and M. Osborn. 1969. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. **J. Bio Chem.** 244: 4406-4412.
- Wong, D.W.S. 1989. **Mechanism and Theory in Food Chemistry**. An AVI Book, New York.
- Yongsawatdigul, J., J.W. Park, P. Virulhakul and S. Viratchakul. 2000. Proteolytic degradation of tropical tilapia surimi. **J. Food Sci.** 65: 129-133.
- _____ and _____. 2002. Biochemical and conformation changes of actomyosin from threadfin bream stored in ice. **J. Food Sci.** 67(3): 985-990.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
แบบทดสอบ

ภาพผนวกที่ ก1 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสในการประเมินการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาสดที่เก็บรักษาโดยแช่เย็น

การเปลี่ยนแปลงสภาพของปลาสดจากการประเมินทางประสาทสัมผัส

ชื่อผู้ประเมิน.....

วันที่.....วิธีเก็บรักษา.....ขนาด.....อายุการเก็บรักษา.....

ปลาดิบ		ปลาสุก	
คุณลักษณะ	รายละเอียด	คุณลักษณะ	รายละเอียด
1. ลูกตา		1. กลิ่น	คล้าย.....
- ตาดำ (ปกติ/ขุ่น, จม/ไม่จม, สี)		2. รสชาติ	☐ หวานเนื้อปลา
- ตาขาว			☐ หวานเล็กน้อย
- เชื้อหุ้มตา			☐ ไม่ค่อยมีรสชาติ
2. เหงือก			☐ มีรสแปลกปลอม
- ลักษณะทั่วไป (เรียบ, มั่น)			☐ อื่นๆ.....
- สี		3. เนื้อสัมผัส	
- เมื่อก			☐ ความนุ่ม
- กลิ่น			☐ กระด้าง
3. ลำตัว			☐ เปื่อยยุ่ย
- สี			☐ อื่นๆ
- ความเลื่อมมัน		4. สีเนื้อ	
- ลักษณะทั่วไป (ดำหนึ่, รอยแผล)		5. การยอมรับ	☐ ขอมรับ / ☐ ไม่ขอมรับ

ภาพผนวกที่ ก1 (ต่อ)

ปลาดิบ		ปลาสุก	
คุณลักษณะ	รายละเอียด	คุณลักษณะ	รายละเอียด
- เมื่อก			
- ความยืดหยุ่น(กดกลางลำตัว)			
- กลิ่น			
- อื่นๆ			
4.ครีป			
- สีครีป			
- ความสมบูรณ์ของครีป			
5.ลักษณะเนื้อภายใน			
- สีและความโปร่งแสง			
- กลิ่น			
-ความยืดหยุ่นของเนื้อ			
- ลักษณะมัดกล้ามเนื้อ			
6. อวัยวะภายใน			
- ผนังท้อง(สี, คราบน้ำดี, น้ำย่อย)			
- ความคงรูปของอวัยวะภายใน			
- กลิ่น			
7. การยอมรับ	☐ ขอมรับ / ☐ ไม่ยอมรับ		

ภาพผนวกที่ ก2 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสในการประเมินการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาสดจากการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ

การเปลี่ยนแปลงสภาพของปลาสดจากการประเมินทางประสาทสัมผัส

ชื่อผู้ประเมิน.....วันที่..... จำนวนรอบที่ผ่านการแช่แข็ง-การละลาย.....

ปลาดิบ		ปลาสุก	
คุณลักษณะ	รายละเอียด	คุณลักษณะ	รายละเอียด
1. สี	☐ 4 สีโปร่งแสงมากตามธรรมชาติของเนื้อปลาสด	1. สี	☐ 4 ขาวสว่างตามธรรมชาติของเนื้อปลา
	☐ 3 โปร่งแสงเล็กน้อย		☐ 3 ขาวทึบแต่ไม่มีสีที่ผิดปกติเนื้อปลา
	☐ 2 เริ่มทึบแสง		☐ 2 เริ่มเป็นสีขาวคล้ำหรือมีสีผิดปกติเนื้อปลา
	☐ 1 ทึบแสง		☐ 1 ขาวคล้ำมีสีผิดปกติเนื้อปลาชัดเจน
2. เนื้อสัมผัส	☐ 4 มัดกล้ามเนื้อติดกันแน่นมาก มีความยืดหยุ่น	2. เนื้อสัมผัส	☐ 4 เนื้อนุ่ม แน่น มาก
	☐ 3 มัดกล้ามเนื้อติดกันแน่น มีความยืดหยุ่นเล็กน้อย		☐ 3 เนื้อนุ่ม แน่นเล็กน้อย
	☐ 2 มัดกล้ามเนื้อคงรูป ติดกันแน่นเล็กน้อย มีความยืดหยุ่นน้อย เนื้อเริ่มหลุดออกได้ง่าย		☐ 2 เนื้อเปื่อยยุ่ย
	☐ 1 กล้ามเนื้อไม่เป็นมัด ไม่มีความยืดหยุ่น และ หลุดออกง่าย		☐ 1 เนื้อเละมาก
3. กลิ่น	☐ 4 ไม่มีกลิ่นคาว	3. กลิ่น	☐ 4 หอมกลิ่นปลานึ่ง
	☐ 3 มีกลิ่นคาวเล็กน้อย		☐ 3 หอมกลิ่นปลานึ่งเล็กน้อย
	☐ 2 มีกลิ่นคาวและเริ่มมีกลิ่นอื่นปน		☐ 2 มีกลิ่นคาวและมีกลิ่นอื่นปน
	☐ 1 มีกลิ่นคาวมากและมีกลิ่นเน่า		☐ 1 มีกลิ่นคาวมากและมีกลิ่นเน่า
4. การยอมรับ	☐ ยอมรับ	4. รส	☐ 4 หวานเนื้อปลา
	☐ ไม่ยอมรับ		☐ 3 หวานเล็กน้อย
			☐ 2 ไม่ค่อยมีรสชาติ
			☐ 1 มีรสแปลกปลอม
		5. การยอมรับ	☐ ยอมรับ / ☐ ไม่ยอมรับ

ภาคผนวก ข
วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

ภาคผนวก ข1 การวิเคราะห์ปริมาณค่าที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) โดยวิธี Conway's micro diffusion (MFRD,1987)

การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างเนื้อปลาสด 2 กรัม (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน) โดยเลือกเนื้อบริเวณ dorsal และ เป็นส่วนของกล้ามเนื้อขาว (white muscle) ระวังอย่าให้มีกล้ามเนื้อแดง เส้นใยเกี่ยวพัน (เอ็น) และ ผิวหนัง

สารเคมี

1. 4% Trichloroacetic acid (TCA): ละลาย TCA 40 กรัม ในน้ำกลั่น 960 มิลลิลิตร
2. สารละลาย mixed indicator: ละลาย bromocresol green (BCG) 0.01 กรัม และ methyl red (MR) 0.02 กรัม ในเอทานอล 10 มิลลิลิตร
3. สารละลาย Inner ring (1% boric solution + indicator): ชั่ง boric acid 10 กรัมใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร เติมเอทานอล 200 มิลลิลิตร หลังจากกรดบอริกละลายเติม mixed indicator 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น
4. สารละลายอิมมัต Potassium carbonate (K_2CO_3): ละลาย K_2CO_3 60 กรัมในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดเล็กน้อย 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองผ่านกระดาษกรอง
5. 0.02 N Hydrochloric acid: เจือจางสารละลายมาตรฐาน 1N HCl 20 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร
6. Sealing agent: paraffin wax

วิธีทำ

1. นำตัวอย่าง 2 กรัมมาเติม 4% TCA จำนวน 8 มิลลิลิตร
2. บดตัวอย่างในโกร่ง ทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
3. นำสารผสมกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1
4. นำสารละลายตัวอย่างและสารละลายต่างๆ เติมลงใน Conway ตามลำดับดังนี้
 - 1) Sealing agent

- 2) Inner ring – 1% boric acid with indicator 1 มิลลิลิตร
- 3) Outer ring – สารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร (กรณีที่เป็น blank test ใช้ 4% TCA 1 มิลลิลิตรแทน)
- 4) Outer ring - สารละลายอิมตัว K_2CO_3 1 มิลลิลิตร
5. หลังจากเติมสารทั้งหมดลงไปแล้ว ควรรีบปิดฝา Conway ทันที และหนีบด้วย clip จากนั้นผสมสารละลายที่อยู่ใน outer ring โดยหมุนเบาๆ
6. วาง Conway ตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที หรืออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 100 นาที หรืออุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง
7. ไตเตรตสารละลาย inner ring ด้วย 0.02 N HCl จนสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีชมพู
8. คำนวณค่า TVB-N จากสูตรดังต่อไปนี้

การคำนวณ

$$TVB-N = \frac{(V_S - V_B) \times N_{HCl} \times A_N \times [(W_S \times M/100) + V_E] \times 100}{W_S}$$

- เมื่อ
- V_S = มล.ของ 0.02 HCl ที่ใช้ไตเตรตกับสารละลายตัวอย่างที่สกัด
 - V_B = มล.ของ HCl ที่ใช้ไตเตรตกับ blank
 - N_{HCl} = Normality ของ HCl (= 0.02 N x factor ของ HCl)
 - A_N = Atomic weight ของไนโตรเจน (14.00)
 - W_S = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)
 - M = ร้อยละของความชื้นของตัวอย่าง
 - V_E = ปริมาตรของ 4 % TCA ที่ใช้ในการสกัด

ภาคผนวก ข2 การวิเคราะห์ค่า K (K-value) โดยใช้หลักการ Ion exchange chromatography
(MFRD, 1987)

การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างเนื้อปลา 1 กรัม (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน) สุ่มตัวอย่างเนื้อปลาวิเคราะห์
เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ค่า TVB-N

สารเคมี

1. สำหรับเตรียมตัวอย่าง

สารเคมีที่เตรียมแล้วจะต้องเก็บไว้ในที่อุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส

1.1. 10% Perchloric acid (PCA): ละลาย PCA (60-70%, HClO_4) 10 มิลลิลิตร ในน้ำ
กลั่น 90 มิลลิลิตร

1.2. 5% PCA: ละลาย PCA 10 กรัมในน้ำกลั่น 190 มิลลิลิตร

1.3. Neutralized PCA: นำสารละลาย PCA 5% จำนวน 100 มิลลิลิตร มาทำให้เป็นกลาง
ด้วย 10 N KOH ให้มี pH 6.4 ทำให้สารละลายเย็นที่ 5 องศาเซลเซียส แล้วกรองตะกอน (KClO_4) ที่
เกิดขึ้นด้วยกระดาษกรอง

1.4. 10 N KOH: ละลาย KOH 56 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับให้เป็น 100 มิลลิลิตร

1.5. 1 N KOH: ละลาย KOH 5.6 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับให้เป็น 100 มิลลิลิตร

2. สำหรับขั้นตอนของ ion-exchange chromatography

2.1. สารละลาย 0.5 M NH_4OH : เจือจาง NH_4OH 25% จำนวน 4 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
96 มิลลิลิตร

2.2. สารละลาย A (0.001 N HCl): เจือจางสารละลายมาตรฐาน 1 N HCl จำนวน 1
มิลลิลิตร ให้เป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.3. สารละลาย B (0.01 N HCl ที่มี 0.6 M NaCl): ละลาย NaCl 35.07 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วเติมน้ำกลั่นในสารละลาย 1 N HCl จำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.4. Anion exchange resin

3. สำหรับการล้าง ion-exchange resin

3.1. Acetone

3.2. 0.1 N NaOH

3.3. 0.1 N HCl

วิธีทำ

1. การเตรียม ion-exchange resin

1.1. นำ Anion exchange resin มาประมาณ 100 กรัมเติม acetone 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที พร้อมกับคนเป็นครั้งคราว กรองผ่าน Buchner funnel

1.2. เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน 1 ลิตร พร้อมกับคน นำไปกรองผ่าน Buchner funnel

1.3. เติม 0.1 N NaOH ประมาณ 500 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที พร้อมกับคนเป็นครั้งคราว กรองผ่าน Buchner funnel

1.4. เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน 1 ลิตร พร้อมกับคน นำไปกรองผ่าน Buchner funnel

1.5. เติม 0.1 N HCl ประมาณ 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที พร้อมกับคนเป็นครั้งคราว กรองผ่าน Buchner funnel

1.6. เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน 1 ลิตร พร้อมกับคน นำไปกรองผ่าน Buchner funnel จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นจนกว่า filtrate เป็นกลาง ทดสอบโดยใช้กระดาษวัด pH แล้วเก็บ activated resin นี้ไว้ในขวดที่มีน้ำกลั่นปราศจากไอออน เก็บไว้ที่ 5 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมตัวอย่าง

2.1. นำเนื้อปลาสมา 1 กรัม เติม 10% PCA (แช่เย็น) จำนวน 2 มิลลิลิตร บดให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำไปเซนตริฟิวจ์ที่ 5000 rpm นาน 3 นาที

2.2. แยกส่วนใสเก็บไว้ นำกากที่เหลือมาเติม 5% PCA (แช่เย็น) จำนวน 2 มิลลิลิตร บดให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำไปเซนตริฟิวจ์ที่ 5000 rpm นาน 3 นาที

2.3. แยกส่วนใสเก็บไว้ นำกากที่เหลือมาเติม 5% PCA (แช่เย็น) จำนวน 2 มิลลิลิตร บดให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำไปเซนตริฟิวจ์ที่ 5000 rpm นาน 3 นาที จากนั้นนำส่วนใสที่สกัดได้รวมกัน ประมาณ 6 มิลลิลิตร ทำให้เป็นกรดด้วย 10 N KOH (~6-8 หยด) จนมี pH 3 ทดสอบด้วย thymol blue paper

2.4. ทำให้เป็นกลางด้วย 1 N KOH (~4 หยด) จนมี pH 6.5-6.8 ทดสอบด้วย bromothymol blue paper แล้วนำไปเซนตริฟิวจ์ที่ 5000 rpm นาน 3 นาที

2.5. แยกส่วนใสเก็บในขวด volumetric ขนาด 10 มิลลิลิตร นำกากที่เหลือมาเติม neutralized PCA (pH 6.4 แช่เย็น) จำนวน 2 มิลลิลิตร บดให้เข้ากันแล้วนำไปเซนตริฟิวจ์ที่ 5000 rpm นาน 3 นาที แยกส่วนใสเก็บไว้ ทิ้งตะกอน KClO_4

2.6. นำส่วนใสทั้งหมดมารวมกัน ปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร ด้วย neutralized PCA (pH 6.4 แช่เย็น) เทใส่หลอดปิดจุก แช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียสถ้าจำเป็นต้องเก็บไว้ นำมาทดสอบใน ion exchange column

3. การหาค่า K

3.1. นำตัวอย่างที่สกัดไว้แล้ว 2 มิลลิลิตร มาปรับ pH เป็น 9.4 ด้วย 0.5 N NH_4OH (ใช้ pH paper)

3.2. นำตัวอย่างใส่เข้าไปใน column ที่เตรียมไว้ rinse ด้วยน้ำเล็กน้อย ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ไม่มีไอออน 20 มิลลิลิตร

3.3. Elute ด้วย solution A จำนวน 45 มิลลิลิตร ส่วนที่ได้จะเป็น HxR, Hx ใส่ใน volumetric flask 50 มิลลิลิตร ปรับให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ด้วย solution A วัด O.D. ที่ 250 nm

3.4. Elute ด้วย solution B จำนวน 45 มิลลิลิตร ส่วนที่ได้จะเป็น ATP, ADP, AMP และ IMP ใส่ใน volumetric flask 50 มิลลิลิตร ปรับให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ด้วย solution B วัด O.D. ที่ 250 nm

การคำนวณ

$$K(\%) = \left[\frac{OD_{250nm}A}{OD_{250nm}A + OD_{250nm}B} \right] \times 100$$

เมื่อ :

$OD_{250nm}A$ = [Absorbance ที่ 250 nm ของสารละลาย A-elute] – [Absorbance ที่ 250 nm ของสารละลาย A]

$OD_{250nm}B$ = [Absorbance ที่ 250 nm ของสารละลาย B-elute] – [Absorbance ที่ 250 nm ของสารละลาย B]

ภาคผนวก ข3 การวิเคราะห์ค่า TBARS (Buege and Aust, 1978)

สารเคมี

- TBARS solution ประกอบด้วย 0.375% thiobarbituric acid, 15% trichloroacetic acid และ 0.25N HCl

วิธีทำ

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อปลาลบค 0.5 กรัม นำมาเติม TBARS solution 2.5 มิลลิลิตร (blank ทำเหมือนกันแต่ไม่มีตัวอย่าง)
2. นำของผสมไปให้ความร้อนในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำให้เย็นโดยให้น้ำไหลผ่าน
3. นำของผสมไปเซนตริฟิวส์ที่ 6000 rpm เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
4. วัดค่า absorbance ของส่วนใสที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร หาปริมาณโดยเทียบกับ standard curve (standard curve เตรียมจาก malondialdehyde (MDA) ที่มีความเข้มข้นในช่วง 0-5 ppm)
5. ค่า TBARS รายงานค่าในหน่วย mg MDA/kg sample

ภาคผนวก ข4 การวิเคราะห์ความสามารถในการละลายของโปรตีนใน 0.6 M KCl (Benjakul and Bauer, 2000)

สารเคมี

1. 0.6 M KCl
2. 50% Trichloroacetic acid
3. 10% Trichloroacetic acid
4. 0.5 M NaOH

วิธีทำ

1. ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม นำมาเติม 0.6 M KCl จำนวน 40 มิลลิลิตร แล้วโฮโมจีไนซ์นาน 30 วินาที
2. กวนสารที่เป็นเนื้อเดียวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเซนตริฟิวจ์ที่ 9000 xg นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
3. นำส่วนใส 10 มิลลิลิตร มาเติมด้วย 50% Trichloroacetic acid จำนวน 2.5 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 10%
4. ล้างตะกอนที่เกิดขึ้นจากการผสมระหว่างส่วนใสกับ 50% Trichloroacetic ด้วย 10% Trichloroacetic จากนั้นละลายตะกอนจนหมดด้วย 0.5 M NaOH
5. นำโปรตีนที่ได้ไปวัดปริมาณด้วยวิธีของ Lowry *et al.* (1951)

ภาคผนวก ข5 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน คัดแปลงจากวิธีของ Lowry *et al.* (1951)

สารเคมี

1. สารละลาย A ได้จาก 2% Na_2CO_3 /0.1 N NaOH; ชั่ง Na_2CO_3 2 กรัมละลายใน 0.1 N NaOH 100 มิลลิลิตร
2. สารละลาย B ได้จาก 0.5% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ /1% Na-citrate solution; ชั่ง $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.5 กรัมผสมกับ Na-citrate 1 กรัมแล้วนำมาละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

3. สารละลาย C ได้จาก 1 N Folin Phenol reagent (เตรียมแล้วใช้ทันที)
4. สารละลาย D ได้จากนำสารละลาย A ผสมกับสารละลาย B ในอัตราส่วน 50 : 1 (เตรียมแล้วใช้ใน 1 วัน)

วิธีทำ

1. ปิเปตตัวอย่างมา 300 ไมโครลิตร
2. เติม reagent D ลงไป 3 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง
3. เติม reagent C ลงไป 0.3 ไมโครลิตร แล้วผสมให้เข้ากันด้วย vortex ทันที ตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง
4. วัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร หาปริมาณโปรตีนโดยเทียบกับ protein standard curve (standard curve เตรียมจาก bovine serum albumin (BSA) ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1 mg/ml)

ภาคผนวก ข6 การวิเคราะห์ความชื้น (MFRD, 1987)

วิธีทำ

1. อบ Aluminium dish ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น (Desiccator) แล้วชั่งน้ำหนัก นำไปอบต่ออีก 60 นาที ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักเพื่อให้น้ำหนักคงที่ ถ้าไม่คงที่ให้อบซ้ำอีกครั้ง
2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 2-10 กรัม ลงใน Aluminium dish แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก
3. นำไปอบอีกครั้งที่สภาวะเดิม ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกว่าน้ำหนักจะคงที่

$$\text{ร้อยละของความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

ภาคผนวก ข7 การวิเคราะห์โปรตีน (MFRD, 1987)

สารเคมี

1. conc. H_2SO_4
2. Selenium reagent mixture
3. 2% Boric acid
4. 40% NaOH
4. 0.1 N H_2SO_4

วิธีทำ

1. ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม และ Selenium reagent mixture ประมาณ 1 กรัมใส่ในขวดย่อย (Kjeldahl flask)
2. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร นำไปย่อยโดยให้ความร้อนอ่อนๆ ในระยะแรก แล้วค่อยเพิ่มความร้อนให้สูงขึ้น ย่อยจนได้สารละลายใสแล้วย่อยต่อไปอีก 30 นาที จึงยุติการย่อย
3. ปล่อยให้เย็นลงหรือพออุ่นๆ เติมน้ำกลั่นลงไปประมาณ 30 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
4. นำไปกลั่นโดยใช้เครื่อง Buchi 323 และใช้สารละลายกรดบอริกร้อยละ 2 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่เติมอินดิเคเตอร์ผสม 2-3 หยด เป็นสารที่ใช้จับแอมโมเนียที่กลั่นได้ จนกระทั่งมีปริมาตรประมาณ 200 มิลลิลิตร
5. นำไปไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.1 N จนกระทั่งถึงจุดยุติ จะเปลี่ยนเป็นสีชมพู
6. ทำ Blank โดยใช้ภาวะเดียวกันกับตัวอย่าง
7. นำปริมาณกรดกำมะถันที่ใช้ในการไตเตรทไปใช้ในการคำนวณปริมาณไนโตรเจน

$$\text{ร้อยละของโปรตีน} = \frac{(B-C) \times A \times 0.014 \times 100 \times 6.25}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

ภาคผนวก ข8 การวิเคราะห์ไขมัน (AOAC, 2000)

สารเคมี

1. Petroleum ether

วิธีทำ

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอน (ตัวอย่างสด 5 กรัม) ใส่กระดาษกรอง นำไปอบให้แห้ง แล้วพับใส่ใน Thimble
2. อบและชั่งน้ำหนักของถ้วยสกัด (Cup) ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน
3. เติมตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในถ้วยสกัด 50 มิลลิลิตร แล้วต่อเข้ากับเครื่องสกัด จากนั้นทำการสกัดไขมัน ประมาณ 15 นาที
4. นำถ้วยสกัดที่มีไขมันและตัวทำละลายที่ติดมาเล็กน้อยไปประเหยตัวทำละลายออกให้หมด โดยใช้อุณหภูมิต่ำ ๆ จากนั้นปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น (Desiccator) แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก จนได้น้ำหนักคงที่

$$\text{ร้อยละของไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักของไขมัน}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

ภาคผนวก ข9 การวิเคราะห์เถ้า (AOAC, 2000)

วิธีทำ

1. เตา Crucible ในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500-550 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง นำออกจากเตาทิ้งไว้สักครู่ นำเข้าโถดูดความชื้น (Desiccator) ปล่อยให้เย็น ชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกว่าน้ำหนักจะคงที่
2. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (ตัวอย่างสด 8-12 กรัม) ใส่ใน Crucible ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน

3. เตา Crucible จนกระทั่งหมดควัน จึงนำเข้าเตาเผา เตาที่อุณหภูมิ 500-550 องศาเซลเซียสประมาณ 2 ชั่วโมง นำออกจากเตาทิ้งไว้สักครู่ นำเข้าโถดูความชื้น ปล่อยให้เย็น ชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่

$$\text{ร้อยละของเถ้า} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

ภาคผนวก ข10 วิธีตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนด้วย gel electrophoresis (Weber and Osborn, 1969) และ (Laemmli, 1970)

สารเคมี

1. สำหรับเตรียมตัวอย่าง

1.1 solubilized solution : 8 M urea-2% SDS-0.05 M sodium phosphate pH 6.8

ซึ่ง urea 480.48 กรัม, SDS 2 กรัม และ 0.5 M phosphate buffer 100 มิลลิลิตร เติมน้ำ 300 มิลลิลิตร แช่น้ำอุ่นให้ละลาย ปรับ pH 6.8 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

1.2 mercaptoethanol

2. สำหรับการเตรียมเจล

2.1 สารละลาย Stock Sample buffer ประกอบด้วย

Distilled deionized water	4.8	ml
0.5 M Tris-HCl, pH 6.8	1.2	ml
10% Sodium Dodecyl Sulfate	2.0	ml
Glycerol	1.0	ml
0.5% Bromophenol Blue	0.5	ml

ผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน สารละลาย Stock Sample buffer ที่เตรียมได้ให้เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการตรวจวัดด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟเรซิส โดยการผสมสารละลายตัวอย่างกับ Stock Sample buffer ในอัตราส่วน 1:1

2.2 สารละลายบัฟเฟอร์ทรืศความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ pH 6.8

ละลายทรืศ 6.06 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 6.8 ด้วยสารละลายไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 โมลาร์ แล้วจึงปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C

2.3 สารละลายบัฟเฟอร์ทรืศความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ pH 8.8

ละลายทรืศ 18.17 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 8.8 ด้วยสารละลายไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 โมลาร์ แล้วจึงปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C

2.4 สารละลาย 10% SDS

ละลายโซเดียมโดคิลซัลเฟต (Sodium docecyl sulfate, SDS) 10 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร

2.5 สารละลาย Electrode buffer, pH 8.3

ละลายทรืศ 3.03 กรัม และไกลซีน 14.4 กรัม ในน้ำ 900 มิลลิลิตร จึงเติม 10% SDS 10 มิลลิลิตร แล้วจึงปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ไม่ต้องวัด pH เนื่องจากสารละลายที่ได้จะมี pH 8.3 โดยประมาณ

2.6 สารละลาย Dye stain

ละลาย Coomassie Brilliant Blue R-250 0.1 กรัม ในเมทานอล 400 มิลลิลิตร แล้วจึงผสมกับ กรดอะซีติก 100 มิลลิลิตร และน้ำ 500 มิลลิลิตร

2.7 สารละลาย Destain

ผสมเมทานอล 400 มิลลิลิตร กับ กรดอะซีติก 100 มิลลิลิตร และน้ำ 500 มิลลิลิตร

วิธีทำ

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 ชั่งตัวอย่างเนื้อปลาหรือซูริมิ 0.5 กรัม ใส่หลอดแก้วแช่ในน้ำแข็ง

1.2 เติม solubilized solution 9 มิลลิลิตร และ mercaptoethanol 1 มิลลิลิตร (reduced sample)

1.3 บดตัวอย่างใน glass tube Teflon homogenizer ให้ grinder จุ่มในสารละลายเพื่อไม่ให้เกิดฟอง จับหลอดแก้วเลื่อนขึ้นลงจนไม่มีชิ้นเนื้อปลาและสารละลายใสประมาณ 30 นาที

1.4 ต้มตัวอย่างที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที แช่ในน้ำเย็น เก็บตัวอย่างในตู้เย็น -20 องศาเซลเซียส

2. การทำอิเล็กโตรโฟรีซิส

ตารางที่ 1 ส่วนผสมของแผ่นเจลแต่ละชั้นที่ใช้ในการตรวจวัด

Stock solution	Final acrylamide concentration	
	Separating gel (7.5%)	Stacking gel (4%)
30% Acrylamide/ Bis	2.5 ml	0.33 ml
0.5 M Tris-HCl, pH 6.8	-	0.63 ml
1.5 M Tris-HCl, pH 8.8	2.5 ml	-
10% Sodium Dodecyl Sulfate	100 μ l	25 μ l
Distilled Deionized Water	4.85 ml	1.5 ml
10% Ammonium Persulfate	50 μ l	25 μ l
TEMED	10 μ l	10 μ l

2.1 ประกอบชุดกระจกของชุดอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยให้กระจกทั้งสองแผ่นอยู่ห่างกัน 1 มิลลิเมตร จึงได้เจลมีความหนา 1 มิลลิเมตร

2.2 บรรจุสารละลายผสมของ Separating gel ดังตารางที่ 1 ในชุดกระจกของชุดอิเล็กโตรโฟรีซิส ให้ผิวหน้าเจลอยู่ต่ำกว่าขอบกระจกประมาณ 1 เซนติเมตร (ประมาณ 4.2 มิลลิเมตร) เททับหน้าเจลด้วยน้ำกลั่นเพื่อช่วยให้ผิวหน้าเรียบ รอจนเจลแข็งตัวใช้เวลาประมาณ 20 นาที แล้วจึงเทน้ำออกให้หมด

2.3 วาง comb ลงไประหว่างแผ่นกระจก และให้คิง comb ขึ้นมาเล็กน้อยเพื่อให้สะดวกต่อการบรรจุเจล บรรจุสารละลายผสมของ Stacking gel ดังตารางที่ 1 ลงบนชั้นของ Separating gel (ประมาณ 0.75 มิลลิเมตร) เมื่อบรรจุเจลลงไปแล้วจึงจัด comb ให้วางให้เรียบร้อยอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเจลจะแข็งตัวเร็วมาก การวาง comb จะต้องวางให้ชั้นของ Separating gel อยู่ห่างจากปลาย comb อย่างน้อย 1 มิลลิเมตร เพื่อให้มีพื้นที่ให้เจลทั้งสองชั้นติดกัน

2.4 นำชุดกระจกที่มีเจลที่แข็งตัวแล้วมาประกอบกับชุดอิเล็กโตรโฟรีซิสแล้ววางลงในอ่างบัฟเฟอร์ เทสารละลาย Electrode buffer ลงไปในอ่างบัฟเฟอร์ให้ท่วมแผ่นกระจกทั้งภายในและ

ภายนอกระหว่างแผ่นกระจกทั้งสอง โดยจะใช้สารละลาย Electrode buffer ครั้งละประมาณ 1,000 มิลลิเมตร

2.5 ค้าง comb ออก แล้วจึงบรรจุสารมาตรฐานและตัวอย่างสำหรับการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสลงในช่อง (well) ช่องละ 7 และ 14 ไมโครลิตร ตามลำดับ

2.6 นำชุดอิเล็กโตรโฟรีซิสมาประกอบกับชุดกระแสไฟ และให้ทำงานที่ 70 โวลต์ เป็นเวลาประมาณ 25 นาที และตามด้วย 170 โวลต์ เป็นเวลาประมาณ 60 นาทีจนกระทั่งสีน้ำเงินของ Bromophenol Blue เคลื่อนที่ผ่านกระจกจนหมด จึงหยุดการทำงาน

2.7 นำแผ่นเจลออกมาจากแผ่นกระจกและย้อมในสารละลาย Dye stain หมั่นเขย่าในแนวนอนเบาๆ เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง แล้วจึงล้างด้วย สารละลาย Destain โดยแช่แผ่นเจลในสารละลาย 2 ครั้งๆ 30 นาที หมั่นเขย่าในแนวนอนเบาๆ จนกระทั่งแผ่นเจลใสและเห็นแถบโปรตีนชัดเจน จึงล้างแผ่นเจลด้วยน้ำประปา 4 – 5 ครั้ง เพื่อหยุดปฏิกิริยา แล้วทำเจลให้แห้ง เพื่อเก็บไว้ได้นาน

ภาคผนวก ค

วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

ภาคผนวก ค1 การวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรดเบส

ชั่งตัวอย่างบดละเอียด 5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ แล้วเติมน้ำกลั่นที่ต้มไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แล้ว 45 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าความเป็นกรดเบส ด้วยเครื่องวัด pH (pH meter)

ภาคผนวก ค2 การวิเคราะห์หาค่า Expressible drip (MFRD, 1987)

ตัดตัวอย่างปลาให้ได้ขนาด $15 \times 15 \times 5$ มิลลิเมตร³ ชั่งน้ำหนักตัวอย่างก่อนกด จากนั้นนำไปวางระหว่างกระดาษกรอง 5 แผ่น โดยรองด้านล่าง 2 แผ่น ด้านบน 3 แผ่น กดด้วยแรงคงที่ 10 กก./ซม.² นาน 2 นาที ชั่งน้ำหนักตัวอย่างหลังจากกด จากนั้นนำน้ำหนักตัวอย่างก่อนกดและหลังกดมาคำนวณตามสูตรดังต่อไปนี้

การคำนวณ

$$\text{Expressible drip(\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนกด} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังกด}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนกด}} \times 100$$

ภาคผนวก ค3 การวัดค่าสมบัติไฟฟ้าโดยใช้เครื่อง Torry freshness meter

นำเครื่อง Torry freshness meter วางทาบบนตัวปลาบริเวณตอนบนที่อยู่เหนือครีบออก แล้วอ่านค่าที่วัดได้จากหน้าปัดของเครื่อง ในการวัดแต่ละครั้งปลาต้องอยู่ในสภาพชื้นและมีอุณหภูมิต่ำ

ภาคผนวก ค4 การวัดความแข็งแรงเจล (gel strength) (MFRD, 1987)

วัดความแข็งแรงของเจลด้วยเครื่อง Stable Micro System TA-HD texture analyzer ในแต่ละสิ่งทดลอง โดยวัดตัวอย่างที่ตัดออกมาจากแท่งสเตนเลส ซึ่งมีขนาด 25×25 มิลลิเมตร ด้วยหัวเจาะทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ให้หัวเจาะผ่านตัวอย่างด้วยความเร็วคงที่ 1.0 มิลลิเมตรต่อวินาที โดยกดลงไปในตัวอย่างจนกระทั่งผิวหน้าแตก น้ำหนักที่กด (Force) จะแสดงค่า

เป็น 1 (กรัม) และความลึกของหัวกดที่กดลงในตัวอย่างจนแตก (Deformation) แสดงค่าเป็น h (เซนติเมตร) gel strength คำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

การคำนวณ

$$\text{gel strength (กรัม.เซนติเมตร)} = l \times h$$

ภาคผนวก ค5 การวัดความยืดหยุ่นเจล (springiness) (MFRD, 1987)

วัดความยืดหยุ่นเจล ด้วยเครื่อง Stable Micro System TA-HD texture analyser ในแต่ละสิ่งทดลอง โดยวัดตัวอย่างที่ตัดออกมาจากแท่งสแตนเลส ซึ่งมีขนาด 25 x 25 มิลลิเมตร ด้วยหัวกดทรงกระบอกที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร โดยกดลงไปในตัวอย่างเป็นระยะทางร้อยละ 70 ของความสูง ในรูปแบบของการกดสองครั้ง (two bite) กดด้วยความเร็วคงที่ 1.0 มิลลิเมตรต่อวินาที ซึ่งค่าความยืดหยุ่นนี้เป็นค่าระยะทาง ที่เนื้อที่ของตัวอย่างคืนตัวกลับหลังจากการกดอัดครั้งแรก

ภาคผนวก ค6 การวัดความขาว (Whiteness)

นำตัวอย่างที่มีขนาด 25 x 25 มิลลิเมตร ไปวัดค่า L^* a^* b^* Color system โดยเครื่อง Chroma meter จากนั้นนำค่า L^* a^* b^* ที่ได้มาคำนวณค่าความขาวตามสูตรดังนี้

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

ภาคผนวก ง

วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางจิตชีววิทยา

ภาคผนวก ง1 การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (AOAC, 2000)

1. การเตรียมตัวอย่าง ทำโดย ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม โดยวิธีปราศจากเชื้อ (aseptic technique) แล้วเติมสารละลายเชื้อจากโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.85 ที่นิ่งมาเชื้อแล้ว ลงไป 225 มิลลิลิตร ปั่นตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง (stomacher) จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 1:10 จากนั้นทำการเจือจางลงครั้งละ 10 เท่า จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม

2. ใช้วิธี Pour plate technique โดยปิเปิดตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆ กัน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเลี้ยงที่อบมาเชื้อแล้ว ค่อยๆ รินอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar ลงไป ให้มีปริมาตรประมาณ 18-20 มิลลิลิตร ค่อยๆ เขย่าให้อาหารเลี้ยงเชื้อผสมกัน ทำซ้ำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง

3. คัดเลือกจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี อยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี นับจำนวนด้วยเครื่องนับโคโลนี (colony counter)

4. หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้แต่ละระดับความเจือจาง คูณด้วยค่า dilution factor คำนวณเป็นโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง (CFU/g)

ภาคผนวก ง2 การวิเคราะห์ปริมาณ *Escherichia coli* (AOAC, 2000)

การตรวจสอบ *E. coli* วิเคราะห์ตาม Most Probable Number (MPN)

1. ปิเปิดสารละลายตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางต่างๆ กัน ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Sulfate Tryptose Broth (LSTB) ที่มีหลอดดักก๊าซอยู่ด้วย โดยใส่ความเจือจางละ 3 หลอดๆ ละ 1 มิลลิลิตร ทำอย่างน้อย 3 ความเจือจางต่อเนื่องกัน

2. นำหลอด LSTB ไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง แล้วอ่านผลโดยสังเกตก๊าซที่เกิดขึ้นภายในหลอดดักก๊าซ หลอดที่มีก๊าซบันทึกผลเป็นบวก

3. ใช้ loop ถ่ายเชื้อจาก LSTB ที่ให้ผลบวก จำนวน 1 loopful ใส่ลงใน EC broth ที่มีหลอดดักก๊าซอยู่ด้วย บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ใน water bath นาน 48 ชั่วโมง สังเกตก๊าซที่เกิดขึ้นในหลอดดักก๊าซ หลอดที่มีก๊าซบันทึกผลเป็นบวก

4. ใช้ loop ถ่ายเชื้อจาก EC broth มา streak ลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ L-EMB agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง โดย *E. coli* บน L-EMB agar จะมีโคโลนีสีม่วงดำเป็นมันวาวปนเขียว (metallic sheen) หรือโคโลนีสีม่วงดำ

5. คัดเลือกโคโลนีที่สงสัยว่าจะเป็น *E. coli* บน L-EMB agar มาเพาะเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar slant บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 16-18 ชั่วโมง แล้วนำมาทดสอบ IMVIC test ซึ่งประกอบด้วย

- ความสามารถในการสร้างอินโดล (I) โดยการเพาะเชื้อแบคทีเรียลงในอาหารเหลว tryptone broth บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ตรวจสอบโดยการหยด Kovacs' reagent ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 2-3 หยด เขย่าให้ผสมกัน ถ้าเกิดสีชมพูแดงในชั้นของ reagent (เดิมสีเหลือง) ให้บันทึกผลเป็นบวก ถ้าเป็นสีเหลืองเหมือนเดิมให้บันทึกผลเป็นลบ
- ความสามารถในการสร้างกรด จากการใช้น้ำตาลกลูโคส (M) โดยเพาะเชื้อแบคทีเรียลงในอาหารเหลว MR-VP ปริมาตร 1-2 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ตรวจสอบทุก 48 ชั่วโมง แต่ไม่เกิน 96 ชั่วโมง โดยการเติมสารละลาย methyl red ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ 3-5 หยด ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีแดง บันทึกผลเป็นบวก ถ้าเกิดสีเหลืองบันทึกผลเป็นลบ
- ความสามารถในการสร้าง acetylmethylcarbinol จากการใช้น้ำตาลกลูโคส (Vi) โดยเพาะเชื้อแบคทีเรียลงในอาหารเหลว MR-VP 1 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาเติมสารละลาย 5% ของ alpha-naphthol ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร และ 40% ของ potassium hydroxide ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วปล่อยให้ตั้งไว้ประมาณ 2 ชั่วโมง ถ้าอาหารมีสีชมพูเกิดขึ้นบันทึกผลเป็นบวก ส่วนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เปลี่ยนสีให้ตั้งทิ้งไว้เพื่อตรวจสอบภายใน 24 ชั่วโมง ถ้าไม่เปลี่ยนสีเป็นสีชมพูบันทึกผลเป็นลบ
- ความสามารถในการใช้ซิเตรต (C) โดยเพาะเชื้อแบคทีเรียลงบนผิวหน้าอาหาร Simmons citrate agar slant บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นดูการเจริญและการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยถ้ามีการเจริญและอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงินแสดงว่า แบคทีเรียสามารถใช้ซิเตรตเป็นแหล่งของคาร์บอนได้ ถ้าไม่มีการเจริญและอาหารมีสีเขียวเหมือนเดิม แสดงว่าแบคทีเรียไม่สามารถใช้ซิเตรตได้ โดย *E. coli* จะให้ผลปฏิกิริยา IMVIC เป็น ++- หรือ ---

6. รายงานผล โดยนับจำนวนหลอดของอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth แต่ละความเจือจางที่ให้ผลของการทดสอบ *E. coli* เป็นบวกไปเปรียบเทียบกับตาราง MPN ที่กำหนดจะได้ค่าซึ่งคำนวณเป็น MPN ของ *E. coli* ต่อตัวอย่าง 1 กรัม

ภาคผนวก ง3 การวิเคราะห์ปริมาณ *Staphylococcus aureus* (AOAC, 2000)

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างจากความเจือจางที่ 10^{-1} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงบนผิวหน้า ที่แห้งของอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker medium ใช้แท่งแก้ว L-shape ที่ฆ่าเชื้อแล้วเกลี่ย (spread) ให้ทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยทำความเจือจางละ 2 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

2. การอ่านผล สังเกตลักษณะโคโลนีของ *S. aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker medium จะมีลักษณะโคโลนีกลม ขอบเรียบ ขนาด 2-3 มิลลิเมตร สีเทาหรือสีเทาดำ โดยสีที่ขอบโคโลนีจะอ่อนกว่าที่ตรงกลางโคโลนี รอบๆ โคโลนีมีโซนทึบแสงที่ล้อมรอบด้วยโซนใสอีกชั้นหนึ่ง เมื่อแตะโคโลนีด้วยเข็มเย็บเชื้อ จะมีลักษณะเป็นเมือกเหนียว เลือกโคโลนีที่มีลักษณะดังกล่าวไปทดสอบ coagulase test

3. การทดสอบ coagulase test โดยนำโคโลนีที่สงสัยว่าจะเป็น *S. aureus* มาเลี้ยงใน brain heart infusion broth (BHI) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติม rabbit plasma with EDTA ลงไปอีก 0.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มต่ออีก 4-6 ชั่วโมง นำมาตรวจดูการแข็งตัว (clot) ของ rabbit plasma ทุกๆ 1 ชั่วโมง โดยต้องเกิดการแข็งตัวภายใน 4-6 ชั่วโมง จึงจะถือว่าให้ผลบวก

4. คำนวณและรายงานผล จำนวนของ *S. aureus* ในตัวอย่างอาหาร 1 กรัม

ภาคผนวก ง4. การวิเคราะห์ปริมาณ *Clostridium perfringens* (AOAC, 2000)

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ความเจือจาง 10^{-1} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ cooked meat medium (ในหลอด screw cap tube) ที่ต้มไล่อากาศและทิ้งให้เย็นลงแล้ว โดยทำตัวอย่างละ 2 ซ้ำ ปิดฝาให้แน่นเพื่อป้องกันอากาศผ่านลงในหลอด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

2. ใช้ loop ถ่ายเชื้อจาก cooked meat medium แต่ละหลอดมา streak ลงบน TSC-EY agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน ซึ่งลักษณะโคโลนีของ *C. perfringens* บน TSC-EY agar จะมีลักษณะโคโลนีสีดำ มีบริเวณทึบแสงสีขาว (opaque white zone) ขนาด 2-4 มิลลิเมตร รอบโคโลนีในชั้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ

3. คัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะของ *C. perfringens* มาทดสอบทางชีวเคมีเพื่อการยืนยัน ดังนี้

การทดสอบการเคลื่อนที่และการรีดิวส์ไนเตรต โดยใช้ loop ถ่ายเชื้อจาก TSC agar plate ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ motility nitrate medium นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ซึ่ง *C. perfringens* จะไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ โดยจะพบการเจริญเฉพาะในแนวรอย stab ถ้าเป็นเชื้อที่สามารถเคลื่อนที่ได้จะพบการเจริญออกนอกแนวรอย stab และกระจายทั่วในอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนการทดสอบการรีดิวส์ไนเตรต ทำได้โดยหลังจากอ่านผลการเคลื่อนที่แล้ว ให้หยด

สารละลาย N-1-naphthyl-ethylenediamine ลงไป 0.2 มิลลิลิตร และสารละลาย sulfanilic acid ลงไป 0.5 มิลลิลิตร เขย่าหลอดทดลองเล็กน้อย ซึ่งถ้าเกิดสีม่วงหรือสีม่วงแดงภายใน 5 นาที แสดงว่ามีไนไตรต์เกิดขึ้นจากการรีดิวส์ไนเตรต แต่ถ้าไม่มีสีม่วงหรือม่วงแดงเกิดขึ้น ให้เติมผงสังกะสีลงไปเล็กน้อย ตั้งทิ้งไว้ 2-3 นาที ถ้ายังไม่มีสีม่วงหรือม่วงแดงเกิดขึ้นอีกแสดงว่าไนเตรดถูกรีดิวส์ไปเป็นไนไตรต์และกลายไปเป็นก๊าซไนโตรเจนจนหมดแล้ว แต่ถ้ามีสีม่วงหรือสีม่วงแดงเกิดขึ้น แสดงว่าไนเตรตไม่สามารถถูกรีดิวส์ไปเป็นไนไตรต์ โดย *C. perfringens* จะสามารถรีดิวส์ไนเตรตไปเป็นไนไตรต์ได้

การทดสอบการใช้น้ำตาลแลคโตสและการย่อยสลายเจลาติน โดยใช้ loop ถ่ายเชื้อจาก TSC agar ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ lactose gelatin medium นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง โดย *C. perfringens* สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสแล้วให้กรดกับก๊าซ จึงพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง และมีฟองอากาศเกิดขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถย่อยสลายเจลาตินได้ ซึ่งทดสอบโดยการนำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง จะพบว่าเจลาตินไม่สามารถกลับกลายเป็นของแข็งได้ ถ้าพบว่าเจลาตินยังสามารถกลาย เป็นของแข็งได้ให้นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ต่ออีก 24 ชั่วโมง แล้วนำมาแช่เย็นอีกครั้ง ถ้าพบว่าเจลาตินยังสามารถกลาย เป็นของแข็งได้อีก แสดงว่าเชื้อที่นำมาทดสอบไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ จึงไม่ใช่ *C. perfringens* แต่อาจเป็น *C. baratii* หรือ *C. paraperfringens* ซึ่งไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้

4. รายงานผลว่าพบหรือไม่พบ *C. perfringens* ในตัวอย่างอาหาร 0.1 กรัม

ภาคผนวก 5 การวิเคราะห์ปริมาณ *Salmonella* spp. (AOAC, 2000)

1. ใช้ตัวอย่างประมาณ 25 กรัม ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ lactose broth (LB) 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง
2. ใช้ปิเปตถ่ายเชื้อจาก LB มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ selenite cystine broth (SC) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง
3. ใช้ loop ถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ SC มา streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose Lysine Desoxycholate agar (XLD) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง
4. การอ่านผล โดยดูลักษณะโคโลนีของ *Salmonella* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD ซึ่งโคโลนีมีลักษณะใสขอบโคโลนีเรียบ อาจมีหรือไม่มีจุดดำของเหล็กซัลไฟด์ตรงกลางโคโลนี อาหารเลี้ยงเชื้อรอบๆ โคโลนีมีสีแดงหรือสีชมพูแดง (อาหารไม่เปลี่ยนสี)
5. คัดเลือกตัวแทนของโคโลนีที่มีลักษณะของ *Salmonella* spp. ไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีคือ การทดสอบการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ Triple Sugar Iron agar (TSI) และ Motility Indole Lysine medium (MIL) โดยถ่ายเชื้อจากโคโลนีที่สงสัยด้วย needle ปลุกลงใน TSI และ MIL นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง *Salmonella* spp. บน TSI จะให้ผล slant เป็นค้าง(สีแดง)และ butt เป็นกรด(สีเหลือง) [K/A] อาจพบหรือไม่พบการสร้างก๊าซ และสีดำจากเหล็กซัลไฟด์ ส่วนบน MIL พบว่า motility ส่วนใหญ่ให้ผลบวก (มีการเจริญนอกแนวที่ปลุกเชื้อ), indole ให้ผลลบ (ไม่เกิดสีชมพูในชั้นของ Kovacs' reagent), lysine decarboxylase ส่วนใหญ่ให้ผลบวก (อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีม่วงเหมือนเดิม) ยกเว้น *S. gallinarum*, *S. pullorum* ที่ให้ผล motility เป็นลบ
6. รายงานผลว่าพบหรือไม่พบ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างอาหาร 25 กรัม

ภาคผนวก 6 การวิเคราะห์ปริมาณ *Vibrio cholerae* (AOAC, 2000)

1. ใช้ตัวอย่างจากเนื้อปลาโดยตรง โดยตัดตัวอย่างเนื้อปลาให้มีชิ้นเล็กๆ ปริมาณ 25 กรัม ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ alkaline peptone water (APW) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เจือจางตัวอย่างด้วย alkaline peptone water เป็น 10^{-2} - 10^{-3}
2. บ่มตัวอย่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ APW ทั้ง 3 ความเจือจางที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 6-8 ชั่วโมง

3. ใช้ loop ถ้ายเชื้อจากบริเวณผิวหนังของอาหารเลี้ยงเชื้อ APW มา streak ลงบนผิวหนังที่แห้งของอาหารเลี้ยงเชื้อ thiosulfate citrate bile salts sucrose agar (TCBS) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

4. การอ่านผล *V. cholerae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS จะมีโคโลนีสีเหลืองใส ตรงกลางโคโลนีขนาดเล็กน้อย ลักษณะโคโลนีค่อนข้างแบนเรียบ ขอบโคโลนีเรียบ ขนาดค่อนข้างใหญ่

5. นำโคโลนีที่สงสัยว่าจะเป็น *V. cholerae* มาทดสอบทางชีวเคมี คือ การทดสอบการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ triple sugar iron agar (TSI) และ motility indole lysine medium (MIL) โดยถ้ายเชื้อจากโคโลนีที่สงสัยด้วย needle ปลุกลงใน TSI และ MIL นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง *V. cholerae* บน TSI จะให้ผล slant และ butt เป็นกรด (สีเหลือง) [A/A] ไม่พบการสร้างก๊าซและไม่พบสีดำจากเหล็กซัลไฟด์ ส่วนบน MIL พบว่า motility ให้ผลบวก (มีการเจริญนอกแนวที่ปลุกเชื้อ), indole ให้ผลบวก (เกิดสีชมพูในชั้นของ Kovacs' reagent), lysine decarboxylase ให้ผลบวก (อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีม่วงเหมือนเดิม)

6. รายงานผลว่าพบหรือไม่พบ *V. cholerae* ในตัวอย่างอาหาร 25 กรัม

ภาคผนวก จ
ตารางวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางผนวกที่ จ1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า TVB-N ค่า K ความเป็นกรดเบส ค่า expressible drip ค่าสมบัติทางไฟฟ้า total plate count ของปลาสดในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง

ลักษณะที่ทดสอบ	SOV	df	SS	MS	F
ค่า TVB-N	ระยะเวลาการเก็บรักษา	9	13.196	1.466	1.770 ^{ns}
	Error	10	8.285	0.829	
ค่า K	ระยะเวลาการเก็บรักษา	9	2224.417	247.157	24.172 [*]
	Error	10	102.248	10.225	
ความเป็นกรดเบส	ระยะเวลาการเก็บรักษา	9	0.215	0.024	0.830 ^{ns}
	Error	10	0.287	0.029	
ค่า expressible drip	ระยะเวลาการเก็บรักษา	9	119.9	13.322	5.281 [*]
	Error	10	25.228	2.523	
ค่าสมบัติทางไฟฟ้า	ระยะเวลาการเก็บรักษา	9	54.062	6.007	68.651 [*]
	Error	10	0.875	0.088	
total plate count	ระยะเวลาการเก็บรักษา	9	1.370	0.152	1.332 ^{ns}
	Error	10	1.143	0.114	

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ns มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางผนวกที่ จ2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่นและความ
ขาวของเนื้อปลาสาวยำโง่งที่ผ่านการให้ความร้อน 1 ระดับ ณ อุณหภูมิและ
สภาวะการเลี้ยงน้ำต่างๆ

ลักษณะที่ทดสอบ	SOV	df	SS	MS	F
ความแข็งแรงเจล	อุณหภูมิ (A)	5	784891.986	156978.397	5060.312 [*]
	สภาวะการเลี้ยงน้ำ(B)	2	661406.600	330703.300	10660.46 [*]
	A×B	10	64847.850	6484.785	209.042 [*]
	Error	18	558.387	31.021	
ความยืดหยุ่น	อุณหภูมิ (A)	5	0.590	0.118	188.207 [*]
	สภาวะการเลี้ยงน้ำ(B)	2	0.010	0.005	7.864 [*]
	A×B	10	0.024	0.002	3.893 [*]
	Error	18	0.011	0.001	
ความขาว	อุณหภูมิ (A)	5	401.294	80.259	2022.058 [*]
	สภาวะการเลี้ยงน้ำ(B)	2	219.514	109.757	2765.241 [*]
	A×B	10	11.184	1.118	28.177 [*]
	Error	18	0.714	0.040	

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ จ3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่นและความ
ขาวของเนื้อปลาสาวยำโง่งที่ผ่านการให้ความร้อน 2 ระดับ ณ อุณหภูมิและ
สภาวะการล้างน้ำต่างๆ

ลักษณะที่ทดสอบ	SOV	df	SS	MS	F
ความแข็งแรงเจล	อุณหภูมิ (A)	5	88862.762	17772.552	654.722 [*]
	สภาวะการล้างน้ำ(B)	2	356579.663	178289.832	6568.011 [*]
	A×B	10	5045.035	504.503	18.585 [*]
	Error	18	488.613	27.145	
ความยืดหยุ่น	อุณหภูมิ (A)	5	0.009	0.002	4.083 [*]
	สภาวะการล้างน้ำ(B)	2	0.004	0.002	4.890 [*]
	A×B	10	0.002	0.000	0.404 ^{ns}
	Error	36	0.008	0.000	
ความขาว	อุณหภูมิ (A)	5	4.534	0.907	92.085 [*]
	สภาวะการล้างน้ำ(B)	2	178.627	89.314	9069.940 [*]
	A×B	10	2.786	0.279	28.295 [*]
	Error	18	0.177	0.010	

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ns มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๑4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า TBARS, ปริมาณโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือ, ความเป็นกรดเบส, ค่า expressible drip, ความชื้น, ค่า gel strength, total plate count ของเนื้อปลาสาวยโม่งแล้ที่ผ่านการแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็งซ้ำ

ลักษณะที่ทดสอบ	SOV	df	SS	MS	F
ค่า TBARS	ระยะเวลาการเก็บรักษา	4	0.291	0.073	18.559 [*]
	Error	5	0.020	0.004	
ปริมาณโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือ	ระยะเวลาการเก็บรักษา	4	544.567	136.142	55.664 [*]
	Error	5	12.229	2.446	
ความเป็นกรดเบส	ระยะเวลาการเก็บรักษา	4	0.001	0.001	8.214 [*]
	Error	5	0.000	7.000E-05	
ค่า expressible drip	ระยะเวลาการเก็บรักษา	4	166.479	41.620	5.792 [*]
	Error	5	35.929	7.186	
ความชื้น	ระยะเวลาการเก็บรักษา	4	60.881	15.220	28.851 [*]
	Error	5	2.638	0.528	
ค่า gel strength	ระยะเวลาการเก็บรักษา	4	195446.225	48861.556	501.831 [*]
	Error	5	486.833	97.367	
total plate count	ระยะเวลาการเก็บรักษา	4	0.663	0.166	2.084 ^{ns}
	Error	5	0.397	0.079	

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ns มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	สุญานีพร ตุลยพงษ์ศรีรักษ์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	13 มิถุนายน 2527
สถานที่เกิด	อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (ประมง) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	นิสิตปริญญาโท ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนสนับสนุนคุณภาพงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา