



วิทยานิพนธ์

สมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนจากปลานวลจันทร์น้ำจืด

(*Cirrhina microlepis*)

PHYSICOCHEMICAL PROPERTY OF PROTEIN FROM
SMALL SCALE MUD CARP (*Cirrhina microlepis*)

นางสาวนุชนารถ เจริศพรพรรณ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2550



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง)

ปริญญา

ผลิตภัณฑ์ประมง

สาขา

ผลิตภัณฑ์ประมง

ภาควิชา

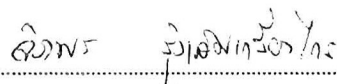
เรื่อง สมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนจากปลานวลจันทร์น้ำจืด (*Cirrhina microlepis*)

Physicochemical Property of Protein from Small Scale Mud Carp (*Cirrhina microlepis*)

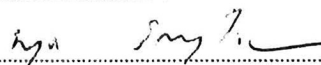
นามผู้วิจัย นางสาวนุชนารถ เพรศพรพรรณ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

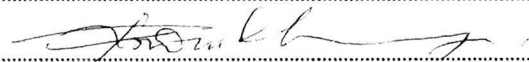
ประธานกรรมการ

( รุ่งเลิศเกรียงไกร, Ph.D.)

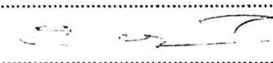
กรรมการ

( รุ่งเลิศเกรียงไกร, Ph.D.)

กรรมการ

( รุ่งเลิศเกรียงไกร, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

( รุ่งเลิศเกรียงไกร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

( รุ่งเลิศเกรียงไกร, Ph.D.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 4 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2550

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

สมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนจากปลานวลจันทร์น้ำจืด (*Cirrhina microlepis*)

Physicochemical Property of Protein from Small Scale Mud Carp (*Cirrhina microlepis*)

โดย

นางสาวนุชนารถ เจริญพรพรรณ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง)

พ.ศ. 2550

นุชนารถ เพรศพรพรรณ 2550: สมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนจากปลานวลจันทร์น้ำจืด (*Cirrhina microlepis*) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง) สาขาผลิตภัณฑ์ประมง ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง ปรธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์จิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร, Ph.D. 94 หน้า

ปลานวลจันทร์น้ำจืด (*Cirrhina microlepis*) เป็นปลาที่มีการนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ยืดหยุ่นเพิ่มมากขึ้น จึงได้ศึกษาผลของความสด สภาพการล้าง และการให้ความร้อนต่อคุณภาพของเจลจากปลานวลจันทร์น้ำจืด พบว่า ในกล้ามเนื้อดำมีปริมาณโปรตีนชาร์โคพลาสติก โปรตีนสโตรมา และโปรตีนที่ละลายในด่างมากกว่ากล้ามเนื้อขาว ขณะที่ในกล้ามเนื้อขาวมีโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์และสารประกอบในโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนมากกว่ากล้ามเนื้อดำ ในกล้ามเนื้อดำมีโปรตีนชาร์โคพลาสติก โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ โปรตีนที่ละลายในด่าง โปรตีนสโตรมา และสารประกอบในโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน เท่ากับ 8.42 ± 0.32 , 13.42 ± 0.32 , 1.48 ± 0.02 , 1.39 ± 0.02 และ 2.32 ± 0.16 และในกล้ามเนื้อขาวมีค่าเท่ากับ 6.42 ± 0.17 , 15.60 ± 0.14 , 0.28 ± 0.04 , 0.40 ± 0.02 และ 4.78 ± 0.13 มิลลิกรัมในโตรเจนต่อกรัมตัวอย่างตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาปลาทั้งตัวในน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลานานขึ้น ค่าความแข็งแรงเจล ความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง ($P \leq 0.01$) ขณะที่ค่า K และ pH เพิ่มขึ้น ($P \leq 0.01$) การล้างเนื้อปลาสดทำให้ความแข็งแรงเจลและความยืดหยุ่นลดลง แต่ค่าความขาวเพิ่มขึ้น ($P \leq 0.01$) การให้ความร้อน 2 ระดับที่ 30-60 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาทีทำให้ค่าความแข็งแรงเจลเพิ่มขึ้น ขณะที่การให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาทีให้ค่าความแข็งแรงเจลลดลง โดยเนื้อปลาสดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำ ให้ความร้อน 2 ระดับที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ให้ค่าความแข็งแรงเจลสูงสุด เท่ากับ 500.66 กรัม.เซนติเมตรและถูกขึ้นปลานวลจันทร์น้ำจืดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำและให้ความร้อนที่สภาวะดังกล่าว ได้รับคะแนนความชอบปานกลางในคุณลักษณะด้านลักษณะปรากฏ, สี, รสชาติ, เนื้อสัมผัส และความชอบรวม ส่วนด้านกลิ่นได้รับคะแนนความชอบ เล็กน้อย และมีค่าความแข็งแรงเจล (กรัม.เซนติเมตร) ความยืดหยุ่น ความขาว (ร้อยละ) และความ สามารถในการอุ้มน้ำ (ร้อยละ) เท่ากับ 629 ± 2.87 , 0.79 ± 0.02 , 65.85 ± 0.36 และ 77.78 ± 4.81 ตามลำดับ และมีความชื้น, โปรตีน, ไขมัน, คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ร้อยละ 76.24 ± 0.78 , 13.87 ± 0.16 , 0.72 ± 0.03 , 7.81 ± 0.90 และ 1.40 ± 0.03 ตามลำดับ

นุชนารถ เพรศพรพรรณ

ลายมือชื่อนิสิต

จิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

28 / 10 / 2550

Nuchanarth Prerdpompan 2007: Physicochemical Property of Protein from Small Scale Mud Carp (*Cirrhina microlepis*). Master of Science (Fishery Products), Major Field: Fishery Products, Department of Fishery Products. Thesis Advisor: Assistant Professor Jiraporn Runglerdkriangkrai, Ph.D. 94 pages.

Utilization of small scale mud carp (*Cirrhina microlepis*) for producing fish jelly products has been increased, therefore, effects of freshness, washing and heating conditions on the gelling properties were studied. It was found that dark muscle contained higher amount of sarcoplasmic, stroma and alkali soluble proteins while white muscle contained higher amount of myofibrilla protein and non-protein nitrogenous compounds. The contents of sarcoplasmic, myofibrilla, alkali soluble, stroma proteins and non-protein nitrogenous compounds in dark muscle were 8.42 ± 0.32 , 13.42 ± 0.32 , 1.48 ± 0.02 , 1.39 ± 0.02 and 2.32 ± 0.16 mgN/g, respectively. For white muscle, they were 6.42 ± 0.17 , 15.60 ± 0.14 , 0.28 ± 0.04 , 0.40 ± 0.02 and 4.78 ± 0.13 mgN/g, respectively. During storage of whole fish in ice at 4°C, it was found that gel strength and water holding capacity of fish meat were significantly decreased ($P \leq 0.01$) while K-value and pH were significantly increased ($P \leq 0.01$). Washing of fish meat decreased gel strength and springiness significantly but significantly increased whiteness. Two-step heating at 30-60 °C for 20 minutes and further heating at 90 °C for 20 minutes increased gel strength while heating at temperature higher than 60 °C for 20 minutes and at 90 °C for 20 minutes decreased gel strength. Unwashed meat, heating by 2-step at 40 °C for 20 minutes and 90 °C for 20 minutes has the highest gel strength of 500.66 g.cm. Sensory evaluation of fish ball made from unwashed meat of small scale mud carp, heated by 40 °C 20 minutes / 90 °C 20 minutes, were like moderately for appearance, color, flavor, texture and overall liking while scores for odor were like slightly. Gel strength, springiness, whiteness and water holding capacity of small scale mud carp fish ball were 629 ± 2.87 g.cm, 0.79 ± 0.02 , 65.85 ± 0.36 % and 77.78 ± 4.81 %, respectively. Proximate compositions of fish ball were 76.24±0.78 % moisture, 13.87±0.16 % protein, 0.72±0.03 % fat, 7.81±0.90 % carbohydrate and 1.40±0.03 % ash.

Nuchanarth Prerdpompan
Student's signature

Jiraporn Runglerdkriangkrai
Thesis Advisor's signature

28 / 05 / 07

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.จิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร ประธานกรรมการที่ปรึกษารศ.ดร.นงนุช รักสกุลไทย กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก รศ.สมบัติ ขอทวีวัฒนา กรรมการที่ปรึกษาวิชาการ ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางการแก้ปัญหา ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.ไพศาล วุฒิจำนงค์ และคณาจารย์ในภาควิชาผลิตภัณฑ์ ประมงทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำและประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ตลอดจนความคิดอันเป็นระบบให้แก่ข้าพเจ้า พร้อมทั้งให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาของการศึกษาและทำวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมงที่อำนวยความสะดวกและให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัย ขอขอบคุณความมีน้ำใจ ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน และกำลังใจของ พี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ นิสิตปริญญาโทสาขาภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณพิมพ์ธวัธ กาไรภูมิ คุณพิเชษฐ์ น่วมทนงค์ คุณวรรณบดี เอกปิยะกุล คุณสวรรณยา สิทธิโอสด คุณรุ่งแสง ศรีจันทร์ คุณนงพางา แสงเจริญ และคุณจิราภรณ์ จิตต์ปรางค์ ตลอดจนเพื่อน ๆ ทุกท่านที่มีได้ระบุ ณ ที่นี้

ท้ายที่สุด ขอระลึกถึงพระคุณของคุณพ่อประเสริฐ คุณแม่ลัดดา เพริศพรพรรณ และทุก ๆ คนในครอบครัวที่มอบความรัก ความห่วงใย กำลังใจ ให้การสนับสนุนในการศึกษาและเสียดสละเพื่อข้าพเจ้าตลอดมา

นุชนารถ เพริศพรพรรณ

เมษายน 2550

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	27
อุปกรณ์	27
วิธีการ	29
ผลและวิจารณ์	39
สรุปผลการทดลอง	61
ข้อเสนอแนะ	63
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	64
ภาคผนวก	72
ภาคผนวก ก แบบสอบถาม	73
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี	75
ภาคผนวก ค วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ	84
ภาคผนวก ง ตารางวิเคราะห์ผลทางสถิติ	87
ภาคผนวก จ ตารางค่า $L^* a^* b^*$	92

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 สูตรลูกชิ้นปลา	37
2 ปริมาณโปรตีนแต่ละชนิดในเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด	40
3 ค่า K ค่าความเป็นกรดเบส ความสามารถในการอุ้มน้ำ และค่าความแข็งแรงเจลของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง	46
4 คุณภาพทางเคมีของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด	47
5 ความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่น และความขาวของปลานวลจันทร์น้ำจืดที่การให้ความร้อน 1 ระดับ ณ อุณหภูมิและสภาวะการลี้ยงน้ำต่าง ๆ	54
6 ความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่น และความขาวของปลานวลจันทร์น้ำจืดที่การให้ความร้อน 2 ระดับ ณ อุณหภูมิและสภาวะการลี้ยงน้ำต่าง ๆ	55
7 คะแนนความชอบเฉลี่ยทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืดที่ผลิตในสภาวะต่าง ๆ	57
8 ความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่น ความขาว และความสามารถในการอุ้มน้ำของลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด	58
9 องค์ประกอบทางเคมีของลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด	59
10 ต้นทุนวัตถุดิบในการผลิตลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด (ราคาในปี 2549)	60

ตารางผนวกที่

ง1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า K ค่าความเป็นกรดเบส ความสามารถในการอุ้มน้ำ และค่าความแข็งแรงเจลของปลานวลจันทร์น้ำจืดในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง	88
ง2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่นและความขาวของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่การให้ความร้อน 1 ระดับ ณ อุณหภูมิและสภาวะการลี้ยงน้ำต่าง ๆ	89

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ง3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่นและความขาวของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่การให้ความร้อน 2 ระดับ ณ อุณหภูมิและสภาวะการลี้ยงน้ำต่าง ๆ	90
ง4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคะแนนความชอบเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้น ปลานวลจันทร์น้ำจืดที่การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยไม่ผ่านการลี้ยงน้ำ, อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยผ่านการลี้ยงน้ำ 1 ครั้ง และอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยผ่านการลี้ยงน้ำ 1 ครั้ง	91
จ1 ค่า $L^* a^* b^*$ ของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่การให้ความร้อน 1 ระดับ ณ อุณหภูมิ และสภาวะการลี้ยงน้ำต่าง ๆ	93
จ2 ค่า $L^* a^* b^*$ ของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่การให้ความร้อน 2 ระดับ ณ อุณหภูมิ และสภาวะการลี้ยงน้ำต่าง ๆ	94

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ปลานวลจันทร์น้ำจืด (<i>Cirrhina microlepis</i>)	3
2	การสลายตัวของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ในกล้ามเนื้อปลา	7
3	แบบจำลองการเปลี่ยนแปลงของโซลซูริมิในระยะต่าง ๆ ขณะให้ความร้อน	14
4	ขั้นตอนการตรวจปริมาณโปรตีนแต่ละชนิด	31
5	ขั้นตอนการเตรียมเจลปลา	35
6	ค่า K ของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดทั้งตัวในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง	42
7	ความสัมพันธ์ระหว่างค่า K กับค่าความแข็งแรงเจล	42
8	ค่าความเป็นกรดเบสของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดทั้งตัวในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง	43
9	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดเบสกับค่าความแข็งแรงเจล	43
10	ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดทั้งตัวในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง	44
11	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความสามารถในการอุ้มน้ำกับค่าความแข็งแรงเจล	45
12	ค่าความแข็งแรงเจลของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดทั้งตัวในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง	46
13	ค่าความแข็งแรงเจลของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดเดิมเกลือร้อยละ 3 ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 85 ที่สภาวะการล้างน้ำ และอุณหภูมิต่าง ๆ a) ให้ความร้อน 1 ระดับ b) ให้ความร้อน 2 ระดับ	51
14	ค่าความยืดหยุ่นของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดเดิมเกลือร้อยละ 3 ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 85 ที่สภาวะการล้างน้ำ และอุณหภูมิต่าง ๆ a) ให้ความร้อน 1 ระดับ b) ให้ความร้อน 2 ระดับ	51
15	ค่าความขาวของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดเดิมเกลือร้อยละ 3 ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 85 ที่สภาวะการล้างน้ำ และอุณหภูมิต่าง ๆ a) ให้ความร้อน 1 ระดับ b) ให้ความร้อน 2 ระดับ	52

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
16	SDS-PAGE ที่ 7% acrylamide gel ของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำ และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดย a) ให้ความร้อน 1 ระดับ, b) ให้ความร้อน 2 ระดับ	52
17	SDS-PAGE ที่ 7% acrylamide gel ของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่ผ่านการล้างน้ำ 1 ครั้งและให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดย a) ให้ความร้อน 1 ระดับ, b) ให้ความร้อน 2 ระดับ	53
18	SDS-PAGE ที่ 7% acrylamide gel ของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่ผ่านการล้างน้ำ 2 ครั้งและให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดย a) ให้ความร้อน 1 ระดับ, b) ให้ความร้อน 2 ระดับ	53
19	ผลผลิตลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด	59

สมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนจากปลานวลจันทร์น้ำจืด (*Cirrhina microlepis*)

Physicochemical Property of Protein from Small Scale Mud Carp (*Cirrhina microlepis*)

คำนำ

ปลานวลจันทร์น้ำจืด (*Cirrhina microlepis*) เป็นสัตว์น้ำที่พบได้ในแม่น้ำเจ้าพระยา และแม่น้ำโขง โดยชาวบ้านนิยมนำมาแปรรูปเป็นปลารมควัน ปลาขย ปลาส้มปัก กุนเชียงปลา เป็นต้น จากสถิติผลผลิตของฟาร์มเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ในปี 2545 พบว่า มีจำนวนปลานวลจันทร์น้ำจืดประมาณ 985.38 ตัน คิดเป็นมูลค่า 28.9 ล้านบาท (สำนักงานสถิติแห่งชาติ, 2545) ปี 2547 มีปริมาณ 1,009 ตัน มูลค่า 29 ล้านบาท (สำนักงานสถิติแห่งชาติ, 2547) และราคาปลานวลจันทร์น้ำจืดพบว่าอยู่ในช่วง 20 ถึง 30 บาทต่อกิโลกรัม (องค์การสะพานปลา, 2549) ในปัจจุบันได้มีการนำปลาน้ำจืดมาใช้ในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ยืดหยุ่นมากขึ้น เช่น ปลาดุก ปลานิล ซึ่งปลานวลจันทร์น้ำจืดเป็นปลาที่ผู้ผลิตรายย่อยได้นำมาใช้ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ยืดหยุ่น เช่น ปลาขย ทอดมัน เป็นต้น

สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน เป็นสมบัติทางกายภาพและเคมีของโปรตีนที่มีผลต่อการใช้ประโยชน์จากโปรตีน นอกเหนือจากคุณค่าทางโภชนาการ เช่น ความสามารถในการละลาย ความสามารถในการอุ้มน้ำ และการเกิดเจล เป็นต้น สมบัติเชิงหน้าที่จึงเป็นสมบัติที่มีผลต่อคุณภาพ และมีบทบาทที่สำคัญในการกำหนดสถานะที่เหมาะสมต่อการใช้ประโยชน์จากปลา โดยทั่วไปในปลาจะประกอบด้วยโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ร้อยละ 40 ถึง 60 โปรตีนซาร์โคพลาสมิกร้อยละ 20 ถึง 30 และโปรตีนสโตรมารร้อยละ 3 ถึง 5 ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของปลา (จักรี, 2544) นอกจากนี้คุณภาพของเจลายังขึ้นอยู่กับการให้ความร้อนที่เหมาะสม โดยความร้อนจะมีผลให้โปรตีนแอคโตไมโอซินเริ่มคลายตัวที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส และการคลายตัวของโปรตีนจะเพิ่มขึ้นตามลำดับเมื่อระบบมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นในช่วง 30 ถึง 50 องศาเซลเซียส ดังนั้นในระหว่างการจับตัวกันของโปรตีนจะเริ่มเกิดขึ้น และจะเกิดขึ้นสูงสุดระหว่างอุณหภูมิ 40 ถึง 60 องศาเซลเซียส (Sano *et al.*, 1994) การศึกษาคูณสมบัติการเกิดเจลของปลาจึงเป็นแนวทางในการคัดเลือกสถานะในการผลิตผลิตภัณฑ์ยืดหยุ่น ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงทำการศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนจากปลานวลจันทร์น้ำจืด ศึกษาผลของความสด และศึกษาสถานะการล้างและการให้ความร้อนต่อคุณภาพของเจลจากปลานวลจันทร์น้ำจืด เพื่อเป็นข้อมูลในการนำไปส่งเสริมการผลิตและปรับปรุงคุณภาพอันเป็นประโยชน์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาชนิดของโปรตีนในปลานวลจันทร์น้ำจืด
2. ศึกษาผลของความสดต่อคุณภาพของโปรตีนในปลานวลจันทร์น้ำจืด
3. ศึกษาผลของการล้างและการให้ความร้อนต่อคุณภาพของเจลปลานวลจันทร์น้ำจืด
4. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ยืดหยุ่นจากปลานวลจันทร์น้ำจืด

การตรวจเอกสาร

ปลานวลจันทร์น้ำจืด

ปลานวลจันทร์น้ำจืด (small scale mud carp) เป็นปลาน้ำจืดที่จัดอยู่ในวงศ์เดียวกับปลาตะเพียน การจัดลำดับอนุกรมวิธานของปลานวลจันทร์น้ำจืด จัดได้ดังนี้ (Nelson, 1994)



ภาพที่ 1 ปลานวลจันทร์น้ำจืด (*Cirrhina microlepis*)

Phylum Chordata

Superclass Gnathostomata

Class Actinopterygii

Subclass Neopterygii

Superorder Ostariophysi

Order Cypriniformes

Family Cyprinidae

Genus *Cirrhina*

Species *microlepis* (Sauvage, 1878)

ปลานวลจันทร์น้ำจืดมีลักษณะลำตัวค่อนข้างกลม ปากเล็ก รูปร่างเพรียวบาง สีของลำตัวมีตั้งแต่สีส้มปนเทาจนถึงน้ำตาลปนสีขาวเงิน ท้องสีขาว ครีบหลังและครีบหางเป็นสีน้ำตาลปนเทา

ลำตัวมีความยาวประมาณ 20-30 เซนติเมตร มีถิ่นอาศัยอยู่ในแม่น้ำเจ้าพระยาตั้งแต่จังหวัดอยุธยา จนถึงนครสวรรค์ ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบในแถบชายแดนติดต่อแม่น้ำโขง มีนิสัยปราศเปรียวว่องไว ไม่ค่อยอยู่นิ่ง อดทน เลี้ยงง่าย ชอบว่ายอยู่บริเวณพื้นน้ำ มักพบอยู่รวมกันเป็นฝูงเล็ก ๆ และหลบซ่อนตัวอาศัยอยู่ตามรากไม้และ โขดหิน (ประวิทย์, 2543)

ความสดของปลาและการตรวจสอบความสด

การเสื่อมคุณภาพของสัตว์น้ำ

พะอบ (2546) กล่าวว่า สัตว์น้ำที่ถูกจับขึ้นมาจากแหล่งน้ำจะเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพทั้งภายนอกและภายใน เมื่อสัตว์น้ำตายช่วงหนึ่งจะเกิดการเกร็งตัว (rigor mortis) หลังจากนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีววิทยา อันมีผลต่อคุณภาพของสัตว์น้ำ การที่สัตว์น้ำเสื่อมคุณภาพหรือการเน่าเสียเกิดขึ้นจากขบวนการ 3 ขบวนการด้วยกัน คือ

1. ขบวนการเสื่อมคุณภาพโดยการย่อย (autolysis)
2. ขบวนการเสื่อมคุณภาพโดยแบคทีเรีย (bacteria reaction)
3. ขบวนการเสื่อมคุณภาพโดยการเติมออกซิเจน (oxidation reaction)

การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของสัตว์น้ำหลังจากสัตว์น้ำตาย แบ่งออกเป็น 3 ระยะด้วยกัน คือ ระยะก่อนการเกร็งตัว (pre-rigor mortis) ระยะเกร็งตัว (rigor mortis) และระยะหลังการเกร็งตัว (post-rigor mortis)

ระยะก่อนการเกร็งตัว (pre-rigor mortis) เมื่อสัตว์น้ำตายจะไม่มีการสร้าง ATP (adenosine triphosphate) จึงนำไกลโคเจนที่สะสมไว้มาใช้ เมื่อสัตว์น้ำตายออกซิเจนจะช่วยให้เกิดการสันดาปโดยสมบูรณ์ ทำให้เกิดกรดแลคติก (lactic acid) แทนที่จะเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ เมื่อไกลโคเจนหมด สัตว์น้ำก็จะเริ่มเข้าสู่ระยะเกร็งตัว

ระยะเกร็งตัว (rigor mortis) เมื่อไกลโคเจนที่สะสมในตัวปลาหมด สัตว์น้ำก็จะเปลี่ยนสภาพเข้าไปอยู่ในระยะเกร็งตัว ตัวปลาที่อ่อนนุ่มก็จะแข็ง ระยะเกร็งตัวของสัตว์น้ำจะสั้นกว่าสัตว์อื่น ๆ เนื่องจากสัตว์น้ำมีไกลโคเจนน้อยมาก

ระยะหลังการเกร็งตัว (post-rigor mortis) เมื่อสัตว์น้ำตาย น้ำย่อยในตัวก็จะเริ่มทำงาน เช่น การที่ปลาหลังเขียวที่มีอาหารอยู่ในกระเพาะและลำไส้มาก ๆ การย่อยตัวเองจะเห็นได้ชัดเจนที่หน้าท้องจะมีสีเขียวดำและบวม ในพวกกุ้งจะเกิดปัญหาจุดดำขึ้นเนื่องจากน้ำย่อยเช่นกัน

การตรวจสอบความสด

ในเชิงอุตสาหกรรมสัตว์น้ำที่มีคุณภาพสูง หมายถึง สัตว์น้ำที่มีราคาแพงและมีขนาดใหญ่ สำหรับผู้บริโภคจะให้ความสนใจสอบถามคุณภาพ เช่น ลักษณะปรากฏ ความสด หรือการเน่าเสีย ในแง่ของรัฐบาลจะเกี่ยวข้องกับความปลอดภัย ดังนั้นสัตว์น้ำที่มีคุณภาพดี จึงหมายถึง สัตว์น้ำที่ปราศจากสารที่มีอันตรายและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (สุทธวัฒน์, 2548)

การตรวจสอบความสดของปลาสามารถตรวจสอบได้หลายวิธี ดังนี้

1. การตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส สุวรรณ (2540) อธิบายการตรวจสอบความสดทางประสาทสัมผัส ดังนี้

1.1 ตา

ปลาสดหรือปลาที่ตายใหม่ ๆ ลูกตาต้องนูนสดใส น้ำรอบ ๆ ลูกตาปลาต้องใสไม่ขุ่น เมื่อปลาเริ่มเสื่อมคุณภาพลูกตาจะแบนราบลงจนจมในเบ้าตา น้ำรอบ ๆ ลูกตาปลาจะขุ่นมัว ไม่สดใส

1.2 เหงือก

ปลาสดเมื่อเปิดกระพุ้งแก้มดูเหงือกจะมีสีแดงสดใส เมื่อความสดลดลงเหงือกจะมีสีแดงจาง ปลาที่คุณภาพไม่ดีแล้ว เหงือกจะมีสีน้ำตาล จนถึงสีน้ำตาลอ่อนหรือจาง เมื่อขยี้เหงือกให้เลือดออกมา แล้วดม ปลาน้ำจืดอาจมีกลิ่นดินหรือกลิ่นโคลน เมื่อความสดลดลงจะมีกลิ่นหืนสาธ จนถึงกลิ่นคาว ถ้าปลาเสียมากจนถึงเน่าจะมีกลิ่นเน่าหรือกลิ่นแอมโมเนียอย่างชัดเจน ปลาสดเมื่อกที่เหงือกจะใส จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นเมือกขุ่น เมื่อความสดลดลง ถ้าเมือกเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือดำ แสดงว่าคุณภาพไม่ดี

1.3 ส่วนผิวของลำตัว

ปลาสดส่วนผิวหนังจะเป็นมันวาวไม่ขุ่นมัว ถ้าปลายังสดจะมีเมือกน้อยเป็นเมือกใสไม่ขุ่น เมื่อคุณภาพเสื่อมลง ผิวหนังปลาจะมัว มีเมือกขุ่นจำนวนมาก และมีกลิ่นเหม็น

1.4 สีของเลือด

ปลาสดเลือดจะมีสีแดงสด เมื่อความสดลดลง สีของเลือดจะเปลี่ยนเป็นสีแดงคล้ำน้ำตาลหรือดำ

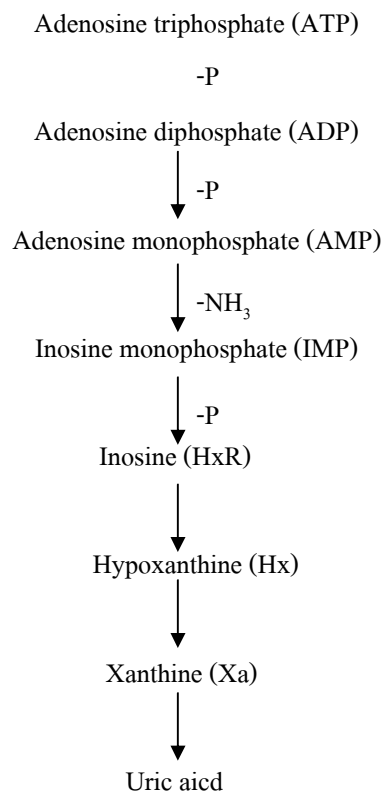
1.5 กลิ่นและการเกิดกลิ่นหืน

การตรวจดูความสดของปลาโดยการดมกลิ่น จะดมกลิ่นจาก 3 จุด จุดแรก คือ เหงือกโดยขยี้เหงือกแล้วดม จุดที่ 2 ช่องท้อง และจุดสุดท้าย เป็นเนื้อตรงจุดต่อระหว่างกระดูกกับครีบต้นของครีบหลัง ลงไปถึงกึ่งกลางของเส้นหลัง ปลาสดจะมีกลิ่นสดของสาหร่ายทะเล ไม่มีกลิ่นเหม็นหรือกลิ่นเน่า

2. การตรวจสอบคุณภาพทางเคมี

2.1 ค่า K (K-value)

เมื่อปลาดายจะเกิดการย่อยตัวเองโดยเอนไซม์ในตัวปลา ทำให้ความสดลดลงซึ่งความสดของปลาทางเคมีสามารถวัดได้จากค่า K (K-value) ซึ่งเป็นค่าดัชนีความสด ปลาที่จับขึ้นมาจากน้ำใหม่ ๆ คุณภาพของปลาจะอยู่ในขั้นสดมาก หลังจากนั้นจะเกิดการเปลี่ยนแปลงในตัวปลา ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เด่นชัด คือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในกล้ามเนื้อปลา โดยการกระทำของเอนไซม์ในตัวปลา เริ่มจากไกลโคเจนเปลี่ยนเป็นกลูโคส และเปลี่ยนเป็นพลังงานในรูป adenosine triphosphate (ATP) จากนั้นในกล้ามเนื้อเกิดการแตกสลายของ ATP ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 การสลายตัวของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ในกล้ามเนื้อปลา
ที่มา : Gill (1992)

สารประกอบต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการสลายตัวของ ATP ถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของดัชนีวัดความสดของปลาในแง่ความสดทางเคมี การเกิด hypoxanthine จะขึ้นกับชนิดของปลา จึงทำให้นักวิจัยหันมาพิจารณานำเอาสารประกอบทั้งหมดที่เกิดขึ้นระหว่างการสลายตัวของ ATP มาใช้เป็นส่วนประกอบของดัชนีวัดความสด ซึ่งเรียกว่าค่า K ดังแสดงในสมการที่ 1 (Uchiyama, 1976)

$$K (\%) = \frac{HxR + Hx}{ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx} \times 100 \quad \text{สมการที่ 1}$$

มาตรฐานความสดของปลาจากค่า K มีดังนี้ (Uchiyama, 1976)

- | | |
|--------------------------------|---------------------|
| 1. ปลาที่จับขึ้นมาจากน้ำใหม่ ๆ | K น้อยกว่าร้อยละ 10 |
| 2. ปลาที่ถือว่ายังสดอยู่ | K น้อยกว่าร้อยละ 20 |
| 3. ปลาที่ถือว่าเน่าเสีย | K มากกว่าร้อยละ 60 |

2.2 ปริมาณค่าที่ระเหยได้ทั้งหมด (total volatile base nitrogen; TVB-N)

TVB-N เป็นดัชนีวัดความเน่าเสียโดยวัดปริมาณค่าที่ระเหยได้ทั้งหมด ซึ่งเกิดจากเอนไซม์ในสัตว์น้ำหรือเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่ทำให้ปลาเน่าเสีย เกิดเป็นไตรเมทิลเอมีน (trimethylamine; TMA), ไดเมทิลเอมีน (dimethylamine; DMA) และแอมโมเนีย (NH_3) เป็นวิธีการที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในการวัดการเน่าเสียของปลาและสัตว์น้ำบางชนิด โดยทั่วไปปริมาณ TVB-N จะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาสัตว์น้ำเพิ่มขึ้น ค่า TVB-N ในปลาสดควรมีค่าไม่เกิน 12 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ปลาที่ยังบริโภคได้มีค่า TVB-N 12-20 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ปลาที่เริ่มเน่าเสียแต่ยังบริโภคได้มีค่า TVB-N 20-25 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และปลาที่เน่าเสียแล้วมีค่า TVB-N สูงกว่า 25 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Castel, 1946)

3. การตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพ

3.1 การตรวจวัดสมบัติในการอุ้มน้ำ

เนื้อสัตว์น้ำที่มีสมบัติการอุ้มน้ำสูงให้ลักษณะเนื้อสัมผัสที่นุ่ม เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค สำหรับเนื้อที่มีการอุ้มน้ำต่ำ จะให้เนื้อที่ลักษณะกระด้าง การตรวจวัดสามารถทำได้ดังนี้ วางชิ้นตัวอย่างระหว่างกระดาษกรอง แล้ววางก้อนน้ำหนักกดลงบนตัวอย่าง วัดปริมาณน้ำที่ถูกดูดซับบนกระดาษกรอง ถ้าน้ำถูกดูดซับมาก แสดงว่าตัวอย่างมีสมบัติการอุ้มน้ำต่ำ นอกจากนี้ อาจใช้วิธีการหมุนเหวี่ยงตัวอย่างที่ความเร็วและระยะเวลาที่เหมาะสม ของเหลวจะแยกออกมาอยู่ที่ผิวหน้า เพื่อป้องกันการดูดซับของเหลวกลับเข้าไปในตัวอย่าง จึงมีการวางตัวอย่างบนเมมเบรนที่ทำด้วยโพลีเอสเตอร์ ซึ่งวางบน glass bead ดังนั้นเมื่อผ่านการเหวี่ยง ของเหลวจะไหลผ่านเมมเบรนและกักเก็บระหว่าง glass bead และไม่สามารถไหลกลับเข้าไปยังตัวอย่างได้ ดังนั้นจึงได้ค่าที่น่าเชื่อถือมากขึ้น (สุทธวัฒน์, 2548)

3.2 การตรวจวัดค่าความเป็นกรดเบส (pH)

ค่าความเป็นกรดเบสของสัตว์น้ำสามารถให้ข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับสภาวะของสัตว์น้ำ การวัดกระทำได้โดยการใช้เครื่องวัดความเป็นกรดเบส (pH meter) ซึ่งสามารถวัดโดยตรงในเนื้อสัตว์น้ำ หรือการวัดค่าความเป็นกรดเบสจากสารแขวนลอยของเนื้อสัตว์น้ำในน้ำกลั่น

การเกิดเจลของโปรตีนกล้ามเนื้อปลา

กล้ามเนื้อปลาประกอบด้วยกล้ามเนื้อลาย (striated muscle) ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มของเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber) กล้ามเนื้อปลาโดยทั่วไปแบ่งได้เป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่มีสีอ่อน เรียกว่า กล้ามเนื้อขาว (white muscle) และส่วนที่มีสีคล้ำ เรียกว่า กล้ามเนื้อดำ (dark muscle) กล้ามเนื้อดำจะอยู่ตามด้านข้างของลำตัวใต้ผิวหนัง โดยมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันพองรอบ ๆ และมีปริมาณเส้นใยกล้ามเนื้อมากกว่ากล้ามเนื้อขาว เส้นใยกล้ามเนื้อประกอบด้วยไมโอไฟบริล (myofibril) ที่ประกอบด้วยโปรตีน 2 ชนิด คือ ไมโอซิน (myosin) เป็นส่วนประกอบหลักของเส้นใยหนา (thick filament) และแอคติน (actin) เป็นส่วนประกอบหลักของเส้นใยบาง (thin filament) ซึ่งโปรตีนทั้ง 2 ชนิดนี้มีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการหดตัวของกล้ามเนื้อ

ชนิดของโปรตีนในกล้ามเนื้อปลา

โปรตีนจากเนื้อปลาสามารถจำแนกได้หลายกลุ่มตามคุณสมบัติการละลาย ได้ดังนี้ (Belitz *et al.*, 2004)

1. โปรตีนที่ละลายได้ในน้ำ (sarcoplasmic proteins) หรือที่เรียกว่า ไมโอเจน (myogen) มีอยู่ประมาณร้อยละ 10-20 ของโปรตีนทั้งหมด ได้แก่ เอนไซม์ชนิดต่าง ๆ และสารให้สีในเนื้อ เป็นต้น ซึ่งโปรตีนชนิดนี้ทำหน้าที่เป็นสารที่ช่วยในการรวมตัวกับไขมันได้ดีเท่ากับหรือดีกว่าโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์แต่มีลักษณะ (emulsion) ที่จะไม่มีความคงตัวน้อยกว่าโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์
2. โปรตีนที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในเกลือเจือจาง ซึ่งมีค่า ionic strength ประมาณ 0.15 เช่น โปรตีนในเลือด และน้ำย่อยบางชนิด เรียกพวกนี้ว่า globulin-x จากการวิเคราะห์ในปลาพบว่า มีอยู่ร้อยละ 8-22 ของโปรตีนทั้งหมด

3. โปรตีนที่ละลายได้ในเกลือที่มีค่า ionic strength สูงกว่า 0.5 ได้แก่ โปรตีนกล้ามเนื้อ (myofibrillar proteins) เช่น แอคติน (actin) ไมโอซิน (myosin) และแอคโตไมโอซิน (actomyosin) เป็นต้น พวกนี้มีประมาณร้อยละ 67-75 ของโปรตีนทั้งหมด ซึ่งโปรตีนชนิดนี้จะทำหน้าที่ในการเกิดเจล (gelation) การรวมตัวกับน้ำ (water binding) และเป็นตัวเชื่อมโยงโมเลกุลของไขมัน (fat binding ability) เป็นต้น

4. พวกที่ไม่ละลายน้ำหรือสารละลายของเกลือแต่ละลายในกรดและด่างเข้มข้นเรียกว่า โปรตีนสโตรมา (stroma proteins) พวกนี้ได้แก่ โปรตีนที่เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เช่น คอลลาเจน (collagen) อีลาสติน เรคติคูลัม (elastin recticulum) พบอยู่ประมาณร้อยละ 3-10 ของโปรตีนทั้งหมด ไม่ช่วยในการเกิดเจล นอกจากบางส่วนที่อยู่ร่วมกับโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ เมื่อผลิตซูริมิคอลลาเจนจะเปลี่ยนเป็นโปรตีนที่ช่วยในการเกิดเจลได้เมื่อให้ความร้อน โดยโครงสร้างของคอลลาเจนจะละลายเป็นเจลาตินรวมกับโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์

กลไกการเกิดเจล

จิรวัดน์ (2541) กล่าวว่า ปรากฏการณ์ที่โปรตีนเรียงตัวประสานกันอย่างมีแบบแผน เกิดเป็นโครงร่างแห 3 มิติ โดยมีโมเลกุลของน้ำระหว่างร่างแหเหล่านั้น เรียกว่า การเกิดเจล เจลที่ได้มีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ดีทำให้เกิดเนื้อสัมผัสที่ยืดหยุ่นสูง

กลไกการเกิดเจลสามารถจำแนกได้เป็น 2 ขั้นตอน

1. การแตกตัวของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์

การเกิดเจลของโปรตีนกล้ามเนื้อ ซึ่งส่วนใหญ่ประกอบด้วยโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ สามารถเกิดขึ้นได้ในสภาวะที่มีเกลือร้อยละ 2-3 ภายใต้สภาวะดังกล่าวโปรตีนมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง เนื่องจากปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนและอออน (โซเดียมและคลอไรด์อออน) Xiong (1997) กล่าวถึงการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวว่าประกอบด้วย

1.1 การบวม (swelling) ของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ เนื่องจากแรงผลักรังของประจุระหว่างเส้นใยโปรตีน (myofilament)

1.2 การแยก (depolymerization) ของเส้นใยโปรตีน

1.3 การแยกของแอกตินจากไมโอซินหรือการแยกของแอกโตไมโอซินจากโครงสร้างโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์

การเติมเกลือมีผลไปละลายโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ในกล้ามเนื้อกลายเป็นโซล (sol) ซึ่งโซลจะเกิดขึ้นเมื่อสับผสมเกลือร้อยละ 2-3 กับเนื้อปลา (Suzuki, 1981) ทำให้ไมโอซินที่ละลายสามารถรวมตัวกับแอกตินเกิดเป็นแอกโตไมโอซิน ไมโอซินและแอกโตไมโอซินมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดเจล สำหรับโทรโปนินและโทรโปไมโอซินนั้น ไม่มีผลต่อการเกิดเจลของแอกโตไมโอซิน (Samejima *et al.*, 1982) อย่างไรก็ตามไมโอซินจัดเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญที่สุดในการเกิดเจล เมื่อโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์จับกับน้ำจะได้ลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า เพส (paste) เมื่อนำเพสไปให้ความร้อนจึงเกิดการเปลี่ยนสถานะเป็นเจล

เกลือเป็นส่วนผสมที่จำเป็นในการเกิดเจลของซูริมิ ทั้งนี้เนื่องจากองค์ประกอบหลักของซูริมิก็คือ โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ซึ่งสามารถละลายได้ดีในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ (0.6 โมลาร์) นอกจากนี้เกลื่อยังลดเสถียรภาพแรงดึงดูดทางประจุระหว่างโมเลกุลของโปรตีน ไมโอไฟบริลลาร์ลงทำให้โปรตีนแผ่ตัวออกบางส่วน ความเข้มข้นของเกลือที่น้อยที่สุดที่จำเป็นในการสกัดโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์จากกล้ามเนื้อ คือประมาณร้อยละ 2 (0.4 โมลาร์) โดยน้ำหนักของเนื้อปลาที่ pH 7 ถ้า pH ของเนื้อปลาดำกว่านี้ความเข้มข้นของเกลือที่ใช้จะมากขึ้น เช่น ในปลาปากคม มี pH 5.8-7.0 ต้องการโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.4 โมลาร์ ในขณะที่ปลาเนื้อขาว pH 5.5-5.6 ต้องการโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์ (Suzuki, 1981)

2. การเกิดเจล

สุทธวัฒน์ (2543) กล่าวว่า การเกิดเจลของโปรตีนสามารถแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ

2.1 การสูญเสียสภาพของโปรตีน (denaturation) เป็นผลให้โปรตีนคลายตัว เช่น การใช้เกลือผสมในเนื้อปลาลบคี่ผ่านการล้างน้ำทำให้โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ซึ่งเป็นโปรตีนที่ละลายในเกลือและโปรตีนส่วนใหญ่ในเนื้อปลาผ่านการล้างน้ำเกิดการคลายตัว นอกจากนี้การให้ความร้อนกับโปรตีนทำให้เกิดการสูญเสียสภาพเช่นกัน

2.2 การจัดเรียงตัวของโปรตีน (aggregation) การจัดเรียงตัวมีความสำคัญต่อการเกิดโครงสร้าง 3 มิติ โดยอาศัยการจัดเรียงตัวกันของโมเลกุลที่เหมาะสม การเกิดเจลแตกต่างจากขั้นตอนการจับตัวตกตะกอน (coagulation) ซึ่งเป็นกระบวนการที่มีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลแบบสุ่มและไม่เป็นระเบียบ ปัจจัยที่มีผลต่อระดับการจัดเรียงตัว ได้แก่ อัตราการให้ความร้อน (Mulvihill and Kinsella, 1987) ชนิดของโปรตีน ความเข้มข้น และ pH (Stone and Stanley, 1992)

ขั้นตอนการเกิดเจลระหว่างการให้ความร้อน (Lanier *et al.*, 1988)

1. โครงสร้างในโมเลกุลกลั่นเนื้อของปลาจะถูกทำลายระหว่างการแยกเนื้อและการบดผสม เมื่อเติมเกลือในเนื้อปลา อีออนของเกลือที่จับโมเลกุลน้ำจะถูกดูดซับบริเวณผิวหน้าของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ส่งผลให้ความสามารถในการจับน้ำเพิ่มขึ้น การละลายของโปรตีนดังกล่าวส่งผลต่อความหนืดของเนื้อปลา
2. เมื่อเก็บเนื้อปลาบดที่ผสมเกลือแล้วที่อุณหภูมิต่ำ โปรตีนจะคลายตัวเล็กน้อยส่งผลให้กรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลข้างเคียง ปฏิกิริยาดังกล่าวก่อให้เกิดเจล ถ้าเช็ดตัวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และใช้เวลาเพียงพอพันธะไดซัลไฟด์จะเกิดขึ้น โดยเชื่อมระหว่างโมเลกุลซิสเทอีน นอกจากนี้พันธะโควาเลนต์ชนิดอื่นอาจเกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้น การเช็ดตัวของเจลจึงประกอบด้วยการกระจายตัวของโปรตีน โปรตีนดังกล่าวสามารถจับน้ำได้สูง เจลที่เกิดขึ้นในขั้นตอนนี้ยังคงมีลักษณะคล้ายโซล คือ มีลักษณะขุ่น และค่อนข้างยืดหยุ่น
3. เมื่อเพิ่มอุณหภูมิระหว่างการให้ความร้อน การออกซิเดชันของหมู่ซัลไฮดริลและการเกิดพันธะไดซัลไฟด์จะเพิ่มขึ้น α -helix ของไมโอซินจะคลายตัวส่งผลให้หมู่อะมิโนที่ไม่ชอบน้ำที่เป็นอิสระมากขึ้นก่อให้เกิดพันธะไฮโดรเจนเพิ่มขึ้น การรวมตัวของโปรตีนในเมตริกซ์ของเจลมีความสม่ำเสมอเพิ่มขึ้น ดังนั้น ความแข็งแรงของเจลจะเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดและเจลมีความขาวขึ้น
4. การให้ความร้อนกับโปรตีนจากปลาที่อุณหภูมิสูง (80 องศาเซลเซียส) จะให้เจลที่มีความแข็งแรงน้อยกว่าการปล่อยให้เจลเช็ดตัวที่อุณหภูมิต่ำเป็นระยะเวลาอันสั้นก่อนการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น
5. การทำให้เจลเย็นลงภายหลังการให้ความร้อน ส่งผลให้เกิดพันธะไฮโดรเจนซึ่งจะเพิ่มความแข็งแรงและเหนียวให้กับผลิตภัณฑ์และโครงสร้างเกลียว α -helix อาจเกิดขึ้นใหม่

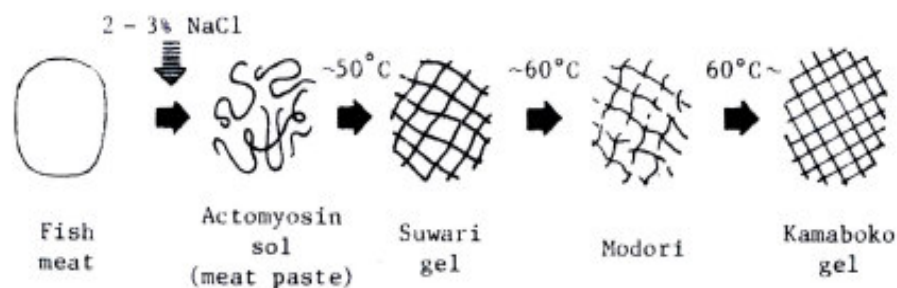
ขณะเดียวกันโครงสร้างชนิด β - pleated sheet จะเกิดขึ้นระหว่างโซ่ของโปรตีน ในขณะที่ให้ความร้อนโมเลกุลของน้ำบางส่วนถูกกักไว้ในโครงข่ายของเจล เจลที่ได้มีสีขาว

เนื้อมีส่วนที่สับผสมกับส่วนต่าง ๆ แล้วจะมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ คือ มีความเหนียวตามอุณหภูมิที่เปลี่ยนไป อุณหภูมิที่มีส่วนสำคัญในการควบคุมความเหนียว อาจแบ่งออกได้เป็น 3 ช่วง (ภาพที่ 3) Suzuki (1981) ได้อธิบายขั้นตอนการเกิดเจล ดังนี้

1. ซูวารี (suwari) หรือการเรียงตัว (gel setting) ที่อุณหภูมิ 5-30 องศาเซลเซียส แอคโตไมโอซินในเนื้อมีส่วนที่จับตัวกับน้ำ และเกิดพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) ระหว่างโมเลกุลของโปรตีน เกิดโครงข่ายตาข่าย (net work) อย่างหลวม ๆ มีการกักน้ำอยู่ภายในร่างแห เมื่อได้รับความร้อนโมเลกุลของโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลง มีการจับตัวกันระหว่างกรดอะมิโนที่ยื่นออกมาทางด้านข้างของโมเลกุลโปรตีนข้างเคียง โดยในช่วงนี้เป็นการจับกันของพันธะไฮโดรเจนและพันธะไฮโดรโฟบิก (hydrophobic bond)

2. โมโดริ (modori) หรือการแตกตัว (disintegration) การให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส จะทำให้เกิดการแตกสลายของโครงสร้างเจลบางส่วน ให้ความความแข็งแรงของเจลลดลง การลดลงนี้อาจเนื่องมาจากเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีเอส (alkaline protease enzyme) ในช่วงนี้ไมโอซินเฮฟวี่เชน (myosin heavy chain) ถูกย่อยสลาย ปริมาณการแตกตัวนี้ขึ้นกับชนิดของปลา

3. อาชิ (ashi) หรือการตรึง (elasticity fixation) การให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิ 80 ถึง 90 องศาเซลเซียส ทำให้เส้นใยโปรตีนเริ่มจับกันมากขึ้น เป็นการรวมกลุ่มแบบการสุ่ม (random network aggregation) พันธะที่เกิดขึ้นในช่วงนี้จะเป็นพันธะไฮโดรโฟบิก และพันธะไดซัลไฟด์เป็นส่วนใหญ่ ทำให้โครงข่ายตาข่ายมีความคงตัวมากขึ้น เจลมีลักษณะที่บดเสถียรมากขึ้น



ภาพที่ 3 แบบจำลองการเปลี่ยนแปลงของโซลของซูริมิในระยะต่าง ๆ ขณะให้ความร้อน
ที่มา : Suzuki (1981)

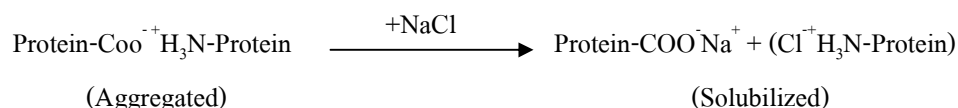
ชนิดและพันธะหลักที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเจลของโปรตีน

Park (1995) ได้อธิบายชนิดของพันธะหลักที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเจลของโปรตีน เริ่มจากโปรตีนโมโนไฟบริลลาร์ที่เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติจะมีส่วนของผิวหน้าที่มีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลของโปรตีนที่อยู่ข้างเคียงกันสูงขึ้น เป็นผลให้เกิดพันธะขึ้นระหว่างโมเลกุลของโปรตีน ซึ่งถ้าเกิดพันธะระหว่างโมเลกุลของโปรตีนขึ้นในเวลาเดียวกันมากพอ ก็จะเกิดโครงสร้างหรือร่างแหตาข่ายสามมิติของโปรตีนโมเลกุลขึ้น และเป็นผลให้เกิดเจลของโปรตีนขึ้น ซึ่งโครงสร้างตาข่ายสามมิติหรือโครงสร้างเจลจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อเกิดพันธะระหว่างโมเลกุลของโปรตีนไม่น้อยกว่า 3 พันธะ พันธะที่สามารถเชื่อมต่อโมเลกุลของโปรตีนเข้าด้วยกัน ได้แก่

1. พันธะไฮโดรเจน เป็นพันธะที่อ่อนแอกว่าพันธะชนิดอื่น ๆ และเป็นพันธะที่ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องในการเกิดเจลของโปรตีน แต่เป็นพันธะที่มีความสำคัญที่ช่วยให้เกิดความคงตัวของ bound water ที่อยู่ภายในเจลโปรตีน โดยน้ำส่วนใหญ่จะจับกับกรดอะมิโนที่มีขั้วด้วยพันธะไฮโดรเจน ปริมาณ bound water จะมีความสัมพันธ์กับความยืดหยุ่นของเจล และที่ระดับอุณหภูมิต่ำจะเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของโปรตีนขึ้นมากกว่าที่อุณหภูมิสูง เป็นผลให้เจลที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำมีความคงตัวสูงกว่าเจลที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิสูง (Lanier, 2000) อย่างไรก็ตามยังมีปัจจัยอื่น 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 อันเนื่องมาจากความแตกต่างระหว่างประจุสุทธิบน โมเลกุลทั้งสอง (Damodaran, 1996) การเติมเกลือมีผลต่อการทำลายพันธะดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตาม แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) สามารถเชื่อมต่อกับโปรตีนที่มีประจุลบ 2 โมเลกุลที่อยู่ใกล้เคียงกันได้ ดังนั้นการเติมแคลเซียม ไอออนจึงทำให้เจลของซูรีมีมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามพันธะไอออนิกนี้ไม่สามารถทำให้เกิดเจลของซูรีมีได้ด้วยตัวของมันเอง

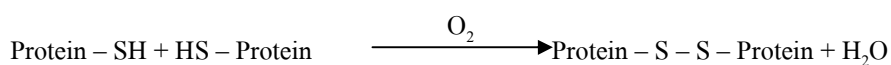
ในโมเลกุลของโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ โปรตีนในซูรีมีที่มีความเป็นกรดเบส (pH) ใกล้เป็นกลาง หรือมีค่า pH ประมาณ 6.8 นั้น หมู่คาร์บอกซิล (COO^-) ของกรดกลูตามิก (glutamic acid) และกรดแอสพาร์ติก (aspartic acid) บนสายโซ่โปรตีนจะมีประจุสุทธิเป็นลบ ขณะที่หมู่อะมิโน (NH_2^+) ของกรดอะมิโนอีก 2 ตัวบนสายโซ่โปรตีน คือ ไลซีน (lysine) และอาร์จินีน (arginine) จะมีประจุสุทธิเป็นบวก เพราะฉะนั้นจะเกิดพันธะระหว่างหมู่ที่มีประจุต่างกันหรือเกิดจากการเชื่อมกันด้วยแรงไอออน คือ หมู่คาร์บอกซิลกับหมู่อะมิโน เป็นผลให้โมเลกุลของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์แต่ละโมเลกุลเชื่อมติดกันแน่นเป็นโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำ ดังนั้นการที่จะทำให้เกิดโครงสร้างเจลได้ ก่อนอื่นจะต้องเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ลงในซูรีมีเพื่อให้ไอออนของเกลือคือโซเดียมไอออน (Na^+) และคลอไรด์ไอออน (Cl^-) ไปจับกับไอออนของหมู่ที่มีประจุตรงกันข้าม เพื่อให้พันธะไอออนระหว่างโมเลกุลของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ขาดออกจากกัน เป็นผลให้โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ละลายออกมา แล้วทำให้เกิดโครงสร้างเจลด้วยความร้อน (Lanier, 2000)



3. พันธะหรือปฏิกิริยาระหว่างหมู่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic bonds or hydrophobic interactions) ภายในสายโซ่โปรตีนที่ยังไม่คลายตัวหรือยังม้วนพับอยู่ จะมีกรดอะมิโนซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายไขมัน (fatlike) ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้จะไม่รวมตัวกับน้ำหรือแยกหมู่่ออกห่างจากโมเลกุลของน้ำเหมือนไขมัน เรียกว่าหมู่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ส่วนของสายโปรตีนที่ยังไม่คลายตัวบนผิวหน้าของโปรตีนซึ่งสัมผัสกับน้ำก่อนที่จะเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติจะมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นกรดอะมิโนที่มีคุณสมบัติคือน้ำและละลายได้ในน้ำ เรียกว่า หมู่ที่ชอบ

น้ำ (hydrophilic) เมื่อโปรตีนเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติหรือสายโซ่โปรตีนคลายตัวออก แกนของหมู่ที่ไม่ชอบน้ำที่อยู่ภายในโครงสร้างโมเลกุลจะปรากฏออกมาหรือเปิดผิวหน้าสัมผัสกับน้ำ ซึ่งจะทำให้เกิดระบบทางเคมีที่ไม่คงตัว ซึ่งก็เหมือนกันหยดของไขมันหรือหยดน้ำมันในน้ำ คือ ส่วนของหมู่ไม่ชอบน้ำของโปรตีนพยายามที่จะเชื่อมโมเลกุลกับโมเลกุลอื่น ๆ ที่ไม่ชอบน้ำเช่นกัน เป็นผลให้เกิดการจับตัวของโปรตีนระหว่างหมู่ไม่ชอบน้ำด้วยกัน (hydrophobic binding) ผ่านพันธะไฮโดรโฟบิก ความแข็งแรงของสองพันธะระหว่างหมู่ไม่ชอบน้ำจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น อย่างน้อยที่สุดที่อุณหภูมิสูงขึ้นถึง 60 องศาเซลเซียส ซึ่งตรงกันข้ามกับการเกิดแขนพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของโปรตีนซึ่งจะเกิดพันธะที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิสูง ปัจจุบันเข้าใจว่าการเกิดพันธะระหว่างหมู่ไม่ชอบน้ำระหว่างโมเลกุลของโปรตีน เป็นกลไกเบื้องต้นในการเกิดเจลของโปรตีนร่วมกับการเกิดเจล ของโปรตีนด้วยพันธะไดซัลไฟด์ หรือพันธะโควาเลนต์

4. พันธะโควาเลนต์ (covalent bonds) เป็นพันธะที่แข็งแรงซึ่งจะเชื่อมต่อระหว่างโพลีเมอร์ พันธะโควาเลนต์ที่มีบทบาทต่อการเกิดเจลคือ พันธะไดซัลไฟด์ เกิดในระหว่างการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง (สูงกว่า 40 องศาเซลเซียส) ทำให้เกิดการฟอร์มเจลของโปรตีน ซึ่งพันธะไดซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นภายในโมเลกุลของโปรตีนเกิดจากการออกซิเดชันของหมู่ซัลไฮดริล (reactive SH groups) บนโมเลกุลของกรดอะมิโนซิสเทอีน (cysteine) 2 โมเลกุลที่อยู่บนสายโซ่โปรตีนที่อยู่ข้างเคียงกัน ดังสมการ (Opstvedt *et al.*, 1984; Niwa, 1992)



ด้วยเหตุผลนี้เจลของซูริมิจึงมีความแข็งแรงมากขึ้น เมื่อเติมสารเร่งการเกิดออกซิเดชัน เช่น โพแทสเซียมโบรเมต (potassium bromate) ลงในซูริมิ (Niwa, 1992)

การที่ซูริมิจากปลาสามารถเกิดเจลได้ที่อุณหภูมิต่ำ เรียกว่าการเกิดการเซตเจล เนื่องจากการเกิดพันธะโควาเลนต์ระหว่างโมเลกุลของโปรตีนด้วยกันระหว่างโมเลกุลของกรดอะมิโนกลูตามีน และไลซีน ที่อยู่บนสายโซ่โปรตีนที่อยู่เคียงข้างกันและผลของปฏิกิริยาของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส (transglutaminase) ที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อปลา เอนไซม์นี้มีคุณสมบัติละลายในน้ำ และจะถูกล้างออกไปถ้าทำการล้างเนื้อปลานานเกินไป การที่เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสในสัตว์น้ำจะช่วยให้เกิดการเซตเจลของโปรตีนได้จะต้องมีแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) อยู่ด้วย ดังนั้นถ้าจะป้องกันการเกิดเจล ของโปรตีนที่อุณหภูมิต่ำจะต้องเติมสารจับอนุมูลโลหะ เช่น โซเดียมซิเตรท (sodium citrate)

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

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดเจล

1. ชนิดของปลา (species) อัตราการเกิดเจลแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด ปลาน้ำเย็น เช่น Alaska pollock , sardine , hoki และ nibe เกิดเจลได้เร็ว ขณะที่ปลาเขตร้อน เช่น ปลานิล ปลาที่อพยพจากหมู่เกาะทางใต้ของมหาสมุทรแปซิฟิก เช่น tuna และ marlin จะเกิดเจลได้ช้ากว่า ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยทางด้านความคงตัวของโปรตีนแอคโตไมโอซิน โดยทั่วไปปลาเนื้อแดงจะว่องไวกับปรากฏการณ์โมโคริมมากกว่าปลาเนื้อขาว (Shimizu and Shimidu, 1985)

2. อายุ จากการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างปลาวัยอ่อนและโตเต็มที่ พบว่ามีผลต่อศักยภาพการเกิดเจล จากการศึกษาของ Shimizu and Shimidu (1985) ในปลา mackerel และ horse mackerel พบว่าปลาทั้ง 2 ชนิด ปลาที่อยู่ในวัยอ่อนจะมีความว่องไวต่อการเกิดโมโคริมมากกว่าปลาที่โตเต็มที่แล้ว

3. ฤดูกาล ความแปรปรวนของฤดูกาลมีผลต่อคุณภาพของเนื้อปลา จากการศึกษาของ Shimizu and Shimidu (1985) พบว่า horse mackerel ในทะเลตะวันออกของจีน มีค่าความสามารถในการเกิดเจลต่ำในเดือนมิถุนายน-สิงหาคม และในทะเลแปซิฟิกเหนือ Alaska pollock มีค่าความสามารถในการเกิดเจลต่ำในเดือนพฤษภาคม-สิงหาคม เนื่องจากฤดูนี้เป็นช่วงวางไข่ของปลาเหล่านี้ อย่างไรก็ตามเหตุผลที่แท้จริงก็ยังไม่สามารถตรวจพบได้ อาจเนื่องจากในช่วงฤดูวางไข่ปลาจะมีค่า pH สูงขึ้น ซึ่งส่งผลกระทบต่อความคงตัวของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์

4. แหล่งที่จับปลามีผลต่อความสามารถในการเกิดเจลของปลา จากการศึกษาของ Shimizu and Shimidu (1985) พบว่าปลาที่จับจากแหล่งต่างกันจะมีความสามารถในการเกิดเจล และความว่องไวต่อการเกิดปรากฏการณ์โมโคริมต่างกัน โดยปลาที่มีไขมันสูงและ pH ต่ำจะมีความสามารถในการเกิดเจลต่ำ ทั้งนี้ปริมาณไขมันและ pH อาจเกิดจากแหล่งอาหารที่ปลากิน

5. ความสด ค่าความสามารถในการเกิดเจลของปลาจะแปรผันโดยตรงกับความสด (Shimizu and Shimidu, 1985) โดยที่อัตราความสามารถในการเกิดเจลลดลงในปลาที่มีความสดต่ำ และแปรผันตามชนิดของปลา ซึ่งสาเหตุอาจเกิดจากความแปรปรวนในความคงตัวของไมโอไฟบริลลาร์ ระดับการเกิดกรดในกล้ามเนื้อ และการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีนในกล้ามเนื้อ แต่ก็ยังไม่เป็นที่ชัดเจน

6. ความชื้น เนื่องจากโครงสร้างของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์มีผลต่อการยึดเกาะ (cohesiveness) และความแข็งแรง (strength) ของเจล ถ้ามีความชื้นสูงผลิตภัณฑ์จะมีอัตราส่วนของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ลดลง ส่งผลให้การยึดเกาะและความแข็งแรงของเจลลดลง โดยทั่วไป ความแข็งแรงของเจลจะเป็นสัดส่วนผกผันกับความชื้น (ในช่วงความชื้นร้อยละ 72-82) (สุทธวัฒน์, 2536)

7. ค่าความเป็นกรดเบส (pH) การวัดความเหนียวของเจลสามารถตรวจสอบได้ในกล้ามเนื้อปลาที่มีค่าความเป็นกรดเบสอยู่ในช่วง 6 ถึง 8 เนื่องจากโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์จะไม่เสถียรในสภาวะกรด (Shimizu, 1975) Funatsu and Arai (1991) ศึกษาการเกิดเจลของปลา walleye pollock ระหว่างการเปลี่ยนแปลง pH พบว่า ชูริมิจากปลาที่มี pH 7.35 มีเจลแข็งแรงสูงสุด โดยใช้เกลือร้อยละ 2.5 Okada (1985) ศึกษาผลของการใช้สารเคมีต่อเนื้อสัมผัสของเจล พบว่าฟอสเฟตสามารถเพิ่มความแข็งแรงของเจลได้โดยทำให้มีการละลายของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ก็เพราะว่ามีการเพิ่มขึ้นของค่า pH และค่า ionic strength ความสามารถในการละลายของโปรตีนจะมีค่าต่ำสุดในช่วง isoelectric zone คือที่ช่วง pH 5 ถึง 6 และเมื่อค่า pH สูงขึ้น ค่าความแข็งแรงของเจลจะเพิ่มขึ้น แต่เมื่อค่า pH เพิ่มขึ้นสูงกว่า 8 จะทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลต่ำลงและค่าความสามารถในการเกาะตัวลดลง ค่า pH ที่เหมาะสม (optimum pH) ของชูริมิที่สับผสมแล้ว (surimi batter) ก่อนที่จะนำไปให้ความร้อนควรอยู่ในช่วง 6.5 ถึง 7.5

8. โปรตีนกล้ามเนื้อ โปรตีนชาร์โคพลาสติกซึ่งเป็นโปรตีนชนิดละลายน้ำ จะมีผลขัดขวางการเกิดเจล เนื่องจากในขณะที่ยกเอาไขมันออกโดยวิธีแยกไขมันออกจากเนื้อปลา โปรตีนชาร์โคพลาสติกจะตกตะกอนและจับกับไขมันออก โดยไขมันและตกตะกอน ปลาผิวน้ำซึ่งมีกล้ามเนื้อแดงสูงกว่าปลาพื้นดินจะมีปริมาณชาร์โคพลาสติกซึ่งตกตะกอนด้วยความร้อนสูงกว่าปลาเนื้อขาว ดังนั้นจึงนิยมใช้ปลาเนื้อขาวในการผลิตชูริมิมากกว่าปลาเนื้อแดง โปรตีนที่ก่อให้เกิดเจลที่มีคุณภาพดีคือ แอคโนไมโอซิน อย่างไรก็ตามไมโอซินก็สามารถเกิดเจลได้ และมีลักษณะโครงสร้างคล้ายกับแอคโนไมโอซิน แต่แอคโนไมโอซินเพียงชนิดเดียวไม่สามารถเกิดเจลได้ อัตราส่วนของแอคโน

และไมโอซินผลต่อการเปลี่ยนแปลงความ สามารถในการเกิดเจลของไมโอซิน การเพิ่มปริมาณ แอคตินมีผลทำให้ rigidity ของเจลลดลง (สุทธรวัฒน์, 2536)

9. เอนไซม์ ปลาส่วนใหญ่จะมีเอนไซม์ย่อยโปรตีน โดยแหล่ง ชนิด และปริมาณของ เอนไซม์ ขึ้นกับชนิดของปลา เอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนก่อให้เกิดการแตกสลายโครงสร้างตาข่าย โปรตีนทำให้ได้ลักษณะเนื้อสัมผัสที่นุ่ม นอกจากนี้ ยังพบว่าเมื่อนำเจลที่ถูกทำลายโครงสร้างไป วิเคราะห์รูปแบบการกระจายตัวของโปรตีนด้วย SDS-PAGE พบว่าเกิดการหายไปของ myosin heavy chain (MHC) เอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนนี้มักทำปฏิกิริยาในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 50-70 องศาเซลเซียส ปลาหลายชนิดมีแหล่งของเอนไซม์ที่อยู่ในลำไส้ (บางส่วนของไตและกระเพาะ อาหาร) ดังนั้นการควักไส้และทำความสะอาดก่อนการแปรรูปจึงสามารถช่วยลดการทำงานของ เอนไซม์ในเนื้อปลา และยังลดการเคลื่อนที่ของเอนไซม์จากลำไส้เข้าสู่กล้ามเนื้อปลา ถึงแม้ว่า เอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนจะสามารถละลายได้ในน้ำในขั้นตอนการล้างน้ำ แต่ก็พบว่ายังคงมีการ ทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้ อาจเนื่องจากเอนไซม์จับตัวกับโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ และหรือบาง กรณีอาจเกิดจากเอนไซม์ชนิดนี้มีส่วนเกี่ยวข้องกับไมโอไฟบริลลาร์ จึงไม่สามารถกำจัดเอนไซม์ ชนิดนี้ได้ด้วยการล้างน้ำ (Lanier, 2000) จากการรายงานของ Suwansakornkul *et al.* (1993) พบว่า การล้างน้ำไม่ได้มีส่วนช่วยในการปรับปรุงความแข็งแรงของเจลในปลาปากคม โดยที่การล้าง แสดงผลในการส่งเสริมการทำงานของ myofibrillar type proteinase ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ในปลานอกจากจะมีเอนไซม์ที่สามารถกระตุ้นให้เกิดการแตกสลายโครงสร้างตาข่าย โปรตีนในการสร้างเจลแล้ว ยังพบว่ามีเอนไซม์ที่สามารถปรับปรุงคุณภาพเจลให้ดีขึ้นด้วย เอนไซม์ชนิดนั้นคือ transglutaminase (TGase) โดยเอนไซม์ชนิดนี้มีบทบาทต่อการเกิดการเรียงตัว ของเจลที่อุณหภูมิต่ำ (สภาวะชวารี) โดยเอนไซม์นี้สามารถกระตุ้นให้เอมีนปฏิกิริยากับ โปรตีนหรือ โพลีเปปไทด์ (polypeptide) รวมตัวกันผ่านปฏิกิริยาแทนที่ (replacement reaction) แล้วมีผลให้เกิด พันธะโควาเลนต์ isopeptide (γ - glutamyl) lysine ขึ้น (Kumazawa *et al.*, 1996) ซึ่งพันธะนี้ไม่สามารถฉีกขาดได้ด้วยสารละลายที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์รูปแบบการกระจายตัว ของโปรตีนด้วย SDS-PAGE อันได้แก่ β - mercaptoethanol, urea และ sodiumdodecylsulphate ดังนั้นผลของรูปแบบการกระจายตัวของโปรตีนด้วย SDS-PAGE จึงพบว่า ปริมาณของ MHC ลดลง ในขณะที่ crossed myosin heavy chain (CMHC) เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการเก็บโซลไว้ (Kimura *et al.*, 1991) จากรายงานของ Nowsad *et al.* (1994) พบว่า TGase นี้สามารถละลายได้ใน น้ำ ดังนั้นการล้างเนื้อปลาจึงอาจลดบทบาทการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้ลงไปได้

10. สารเติมแต่ง

10.1 แป้ง

แป้งจะทำหน้าที่ปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสผลิตภัณฑ์สุดท้าย โดยมีบทบาทสำคัญต่อการพัฒนาความแข็งแรงของเจล สัดส่วนของแป้งและน้ำมีความสำคัญต่อลักษณะเนื้อสัมผัส การใช้แป้งในปริมาณสูงเกินไปเป็นสาเหตุทำให้ผลิตภัณฑ์เปราะและแตกหักได้ง่าย ปกติปริมาณแป้งจะอยู่ใน ช่วงร้อยละ 5 ถึง 8 (Lee *et al.*, 1992) ในระหว่างการให้ความร้อน แป้งจะดูดซับน้ำจากเนื้อปลาสดและเกิดเจลาคินในชั้นบางส่วน และจะไปแทรกตามช่องว่างของโครงสร้างโปรตีนมีผลให้โครงสร้างแข็งแรงเพิ่มขึ้น นอกจากนี้แป้งจะทำหน้าที่เป็นสารดูดความชื้น และเพิ่มความคงตัวของเนื้อปลาสด

10.2 เกลือแกง

เกลือแกงเป็นตัวช่วยในการสกัดโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ซึ่งเป็นโปรตีนที่สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือโดยการสับผสมเนื้อปลากับเกลือ เมื่อโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ถูกสกัดออกมาในระหว่างการสับผสม เนื้อปลาจะมีลักษณะที่ขึ้นหืนและเมื่อนำไปให้ความร้อนจึงจะได้เจลที่ยืดหยุ่น ความเข้มข้นของเกลือที่ใช้ในการสกัดโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 2-3 ของน้ำหนักเนื้อปลาสด (Okada, 1985)

Okada (1985) รายงานระดับความเข้มข้นของเกลือที่ใช้เพื่อสกัดโปรตีนในทางการค้าคือ ประมาณร้อยละ 2.5 ซึ่งเกือบจะเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่ต้องการใช้ในการสกัดโปรตีน ทั้งนี้การเติมเกลือที่มีความเข้มข้นสูงๆ เพื่อสกัดโปรตีนให้ได้มากที่สุดอาจทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสเค็มเกินไป ดังนั้นระดับความเข้มข้นของเกลือที่ใช้จึงขึ้นอยู่กับรสชาติที่ต้องการ นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือสูงเกินกว่าร้อยละ 7 จะทำให้เกิดการ “salting out” ของโปรตีนโดยเกลือจะจับกับโมเลกุลของน้ำส่งผลให้โปรตีนตกตะกอน ทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลลดลง

10.3 ฟอสเฟต

การใช้โพลิฟอสเฟตทำให้มีการละลายของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มของค่า pH และค่า ionic strength ความสามารถในการละลายของ

โปรตีนจะมีค่าต่ำสุดในช่วง Isoelectric zone คือช่วง pH 5 ถึง 6 นอกจากนี้การใช้ฟอสเฟตร้อยละ 0.2 ถึง 0.3 ในผลิตภัณฑ์จะเพิ่มความแข็งแรงและความสามารถในการเก็บกักน้ำของเจล (Okada, 1985)

10.4 สารยับยั้งเอนไซม์

10.4.1 ไข่ขาว

ไข่ขาวที่ใช้มีทั้งในรูปสดและไข่ผง การใช้ไข่ขาวในผลิตภัณฑ์ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นขณะเดียวกันจะช่วยเพิ่มความเลื่อมมัน การเพิ่มขึ้นของความแข็งแรงของเจลจะแปรตามอัตราการดูดซึมน้ำของไข่ขาว และประสิทธิภาพของไข่ขาวจะมากขึ้น เมื่อมีการปรับอุณหภูมิในช่วงของการเกิดเจลอย่างเหมาะสม เช่น ช่วงแรกเก็บที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส 21 ชั่วโมง หรือ 40 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงจะนำมาต้มที่ 90 องศาเซลเซียส (Okada, 1985)

Benjakul *et al.* (2004b) ศึกษาผลของไข่ขาวต่อการย่อยสลายของโปรตีนและความสามารถในการเกิดเจลของปลาปากคม พบว่า ไข่ขาวสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีนเอส (proteinases) อีกทั้งยังช่วยในการปรับปรุงความสามารถในการเกิดเจลของซูริมิที่ผลิตจากปลาปากคมได้ โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของไข่ขาวที่ใช้ในการปรับปรุงคุณภาพเจลของปลาปากคมคือ ร้อยละ 3

10.4.2 โพแทสเซียมโบรเมต (potassium bromate)

โพแทสเซียมโบรเมต (potassium bromate) ช่วยสร้างและเพิ่มความแข็งแรงของเจลโดยจะเป็นตัวเหนี่ยวนำให้เกิดออกซิเดชันของหมู่ซัลไฮดริลในโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ การเติมโพแทสเซียมโบรเมตจะทำให้ความแข็งแรงของเจลซูริมิเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างพันธะไดซัลไฟด์ระหว่างโมเลกุลโปรตีน ทำให้ความสามารถในการเกิดเจลของซูริมิเพิ่มขึ้น และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอสในซูริมิทำให้ความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น (Lanier *et al.*, 1988)

Jiang *et al.* (1986) รายงานว่า โปแตสเซียมโบรเมตจะเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างพันธะไดซัลไฟด์ดีขึ้น โดยทดลองในซูริมิที่ผลิตจากปลา cod และปลา mackerel พบว่าการใช้โปแตสเซียมโบรเมตก่อนนำไปทำผลิตภัณฑ์จะมีผลเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างพันธะไดซัลไฟด์ดีขึ้นในช่วงที่มีการให้ความร้อนเพื่อให้โปรตีนคงตัว พันธะไดซัลไฟด์และพันธะไฮโดรโฟบิก ถูกสร้างขึ้นอย่างช้า ๆ และโมเลกุลของโปรตีนเกิดการแพร่กระจาย และรวมตัวกันเป็นโครงสร้างร่างแห ในขณะที่เดียวกันโมเลกุลน้ำจะถูกกักอยู่ในโครงสร้างร่างแหของโปรตีน เมื่อให้ความร้อนสูงขึ้นพันธะไดซัลไฟด์ถูกสร้างเพิ่มขึ้นและและรวมตัวกันอย่างช้า ๆ จำนวนน้ำที่บีบเคาะกับโมเลกุลลดลงช้า ๆ แต่ความยืดหยุ่นของซูริมิเจลจะไม่ลดลง

สุพรรณพันธ์ (2539) ศึกษาการใช้โปแตสเซียมโบรเมต เพื่อปรับปรุงความสามารถในการเกิดเจลในซูริมิปลาทรายแดงและปลาเบญจพรรณ พบว่าการใช้โปแตสเซียมโบรเมตสามารถเพิ่มความเหนียวของเจลซูริมิ โดยปริมาณการใช้โปแตสเซียมโบรเมตที่เหมาะสมในซูริมิปลาทรายแดงคือที่ระดับร้อยละ 0.2 ส่วนซูริมิปลาเบญจพรรณ มีปริมาณการใช้ที่เหมาะสมอยู่ในระดับร้อยละ 0.25

กระบวนการผลิตลูกชิ้นปลา

วัตถุดิบที่ใช้ผลิตลูกชิ้นปลาในประเทศไทย คือปลาที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ เช่น ปลาดำโต ปลาดาบเงิน ปลาดาบขาว ปลาข้างเหลือง ปลาลิ้นหมา และปลาน้ำดอกไม้ เป็นต้น พิมลวรรณ (2535) อธิบายขั้นตอนการผลิตลูกชิ้นปลาดังนี้

1. การบด (grinding) เมื่อใช้เนื้อปลาแล้วเป็นวัตถุดิบโดยตรง ขั้นตอนแรกบดเนื้อปลาโดยใช้เครื่องบด ขณะบดเติมน้ำแข็งเพื่อควบคุมอุณหภูมิไม่ให้สูงเกิน 10 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงเริ่มนวดเนื้อปลาโดยในช่วงแรกนวดเนื้อปลาเพียงอย่างเดียว เพื่อให้เซลล์ของเนื้อเยื่อแตกตัวซึ่งจะทำให้สะดวกต่อการที่เกลือจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับโปรตีน

2. การเติมเกลือ (salting) เติมเกลือร้อยละ 3 ของน้ำหนักเนื้อปลา เพื่อสกัดโปรตีนที่ละลายในเกลือ และเพิ่มรสชาติให้กับผลิตภัณฑ์ การควบคุมอุณหภูมิมีความสำคัญต่อความยืดหยุ่นและความเหนียวของเนื้อปลาบด และหากบดเนื้อปลากับเกลือทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่มีการให้ความร้อนเนื้อปลานั้นจะยืดหยุ่นแต่ไม่เหนียว ช่วงเวลานวดเนื้อปลากับเกลือและเครื่องปรุงต่าง ๆ ใช้เวลา 10-20 นาที ขณะนวดเติมน้ำแข็งเพื่อควบคุมอุณหภูมิ ปริมาณน้ำแข็งที่ใช้สมควรเป็นร้อยละ

ละ 10-15 ของน้ำหนักเนื้อปลาสดเพราะจะให้ลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดี เครื่องมือที่ใช้ขนาดมีลักษณะเป็นถังมีแกน 2 อันอยู่ตรงกลาง เพื่อเป็นตัวตีเนื้อปลาขณะนวด ปริมาณเกลือในผลิตภัณฑ์จะลดลงภายหลังการแช่ตัวในน้ำหรือระหว่างการให้ความร้อน (จิราวรรณ, 2530)

จิราวรรณ และคณะ (2523) ศึกษาปริมาณเกลือที่ใช้ในการผลิตลูกชิ้นปลาจากปลาทรายแดง พบว่า การใช้เกลือร้อยละ 5 จะให้ลูกชิ้นที่เหนียวกว่าร้อยละ 3 แต่จะมีรสเค็มกว่า ดังนั้น ปริมาณเกลือที่เหมาะสมในการผลิตคือ ร้อยละ 3

3. การขึ้นรูป (forming) เนื้อปลาที่ผ่านการนวดจนได้ที่แล้วจะนำมาปั้นเป็นรูปทรงต่าง ๆ โดยใช้เครื่องขึ้นรูปหรือมือ แล้วจึงนำไปแช่ตัว ควรจะขึ้นรูปผลิตภัณฑ์ให้เร็วที่สุดก่อนการแช่ตัว

4. การแช่ตัว (setting) การแช่ตัวสามารถทำได้ที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-30 นาที ขึ้นกับชนิดของเนื้อปลา โดยอุณหภูมิที่ใช้ควรต่ำกว่า 60-70 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการอ่อนตัวของเจล

5. การให้ความร้อน (heating) ภายหลังการแช่ตัว ผลิตภัณฑ์จะนำมาผ่านการให้ความร้อน โดยการต้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส การต้มในน้ำเดือดมีผลให้ผิวหน้าผลิตภัณฑ์หยาบ เนื่องจากการระเหยน้ำจากภายใน อุณหภูมิที่จุดศูนย์กลางของผลิตภัณฑ์ควรมีค่าน้อย 80 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขึ้นกับขนาดของผลิตภัณฑ์แต่ควรนานเพียงพอสำหรับการทำลายแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค โดยทั่วไปจะให้ความร้อนกับลูกชิ้นที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที (อารยา, 2542) และทำให้เย็นโดยใช้น้ำเย็น น้ำแข็ง หรือพัดลมเป่า

การตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนด้วยเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (gel electrophoresis)

อิเล็กโตรโฟรีซิส (electrophoresis) เป็นวิธีการแยกโปรตีนให้บริสุทธิ์ที่ง่าย มีความไวสูง ซึ่งมีความสำคัญต่อการติดตามรูปแบบของโปรตีน เช่น ติดตามรูปแบบโปรตีนแอคตินและไมโอซิน ด้วยพันธุชนิดต่าง ๆ เมื่อเจลได้รับความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนที่ระดับต่าง ๆ อากัสรา (2537) อธิบายเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสว่าเป็นวิธีการแยกและวิเคราะห์ชีวโมเลกุลโดยอาศัยหลักที่ว่า ชีวโมเลกุลที่มีประจุต่างกันย่อมมีแรงเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าต่างกัน โดยอัตราเร็วของการเคลื่อนที่จะขึ้นอยู่กับประจุรวมทั้งหมดที่อยู่บนโมเลกุลสาร โปรตีนมีประจุได้เนื่องจากการแตกตัวของหมู่เอมิโน หมู่คาร์บอกซิล และหมู่อื่น ๆ ของกรดอะมิโนที่เป็น side

chain ของโปรตีน ซึ่งในสภาพที่มีค่าความเป็นกรดเบสหนึ่ง ๆ โปรตีนแต่ละชนิดจะมีประจุสุทธิแตกต่างกันออกไป

สำหรับตัวกลางที่เป็นที่รองรับให้โปรตีนเคลื่อนผ่านไปนั้นต้องมีคุณสมบัติเฉื่อย ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการแยก เช่น starch gel, polyacrylamide, agar และ agarose ที่ใช้กันมาก สำหรับอิเล็กโตรโฟรีซิสของโปรตีนคือ polyacrylamide เตรียมได้จากการ polymerization ของ acrylamide monomer โดยมี N,N'-ammonium persulfate และ TEMED (N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เจลที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นตาข่ายสามมิติที่มีรูพรุนของเจลขึ้นอยู่กับสัดส่วนของ acrylamide monomer และตัวเชื่อม คือ BIS (bisacrylamide) คือแสดงเป็น % T และ % C กล่าวคือ % T เป็นร้อยละโดยน้ำหนักของโมโนเมอร์ (monomer) ทั้งหมด (acrylamide และ bisacrylamide) ขนาดของรูพรุนจะลดลงเมื่อ % T เพิ่มขึ้นโดยทั่วไป % T จะมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 10 ถึง 20 ขึ้นอยู่กับขนาดของโปรตีนที่ต้องการ % C เป็นอัตราส่วนของสาร crosslink โดยทั่วไป % C จะมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 3 ถึง 10

การแยกโปรตีนโดยเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส กระทำได้โดยโปรตีนที่มีประจุจะถูกบังคับให้เคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าไปยังขั้วไฟฟ้าที่มีประจุตรงข้าม การเคลื่อนที่นี้จะถูกต้านโดยปฏิกิริยาระหว่างสารกับร่างแหของเจล ซึ่งทำหน้าที่เป็น molecular sieve ดังนั้นการเคลื่อนที่ของโปรตีนจึงขึ้นอยู่กับ 3 ปัจจัยคือ ความแตกต่างระหว่างชนิดและปริมาณของประจุ ขนาดและน้ำหนักโมเลกุล และรูปร่างของสาร

ระบบที่ใช้ในการทำอิเล็กโตรโฟรีซิส

นวลพรรณ (2540) อธิบายระบบที่ใช้ในการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสว่า โดยทั่วไปแบ่งเป็น 2 ระบบคือ

1. non-denaturing gel electrophoresis ระบบนี้จะเป็นการแยกโปรตีนในสภาพธรรมชาติ โปรตีนจะเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าโดยอาศัยทั้งขนาดโมเลกุลและประจุ จึงอาจทำให้โปรตีนที่มีขนาดต่างกันเคลื่อนที่ได้ในระยะทางเท่ากัน ดังนั้นวิธีนี้จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการแยกโปรตีนชนิดต่าง ๆ ออกจากกัน

2. denaturing gel electrophoresis การทำอิเล็กโตรโฟรีซิสระบบนี้ โปรตีนจะเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าโดยอาศัยความแตกต่างของขนาดโมเลกุลเพียงอย่างเดียว เนื่องจากการเติม denaturing agent คือ sodium dodecylsulfate (SDS) ซึ่งนอกจากจะทำให้โปรตีนเสียสภาพแล้ว ยังมีผลทำให้โปรตีนทุกชนิดประจุเท่ากันหมด เนื่องจาก SDS จับกับโมเลกุลของโปรตีนในอัตราส่วนคงที่ ดังนั้นอิเล็กโตรโฟรีซิสในระบบนี้จึงใช้ในการหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่เราสนใจได้ โดยเปรียบเทียบกับแถบโปรตีนมาตรฐานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุลแล้ว

ระบบ denaturing gel electrophoresis แบบ SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) มีหลักการคือ SDS (sodium dodecylsulfate) ซึ่งเป็น detergent ที่มีประจุเป็นลบจะไปเกาะกับโปรตีนอย่างแน่นมากทำให้โปรตีนทั้งหมดมีประจุเป็นลบ นอกจากนี้ SDS ยังทำให้โปรตีนเสียสภาพ เปลี่ยนสภาพจากรูปทรงกลมไปอยู่ในสภาพที่เหยียดตรง ฉะนั้นการเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าของโปรตีนทุกตัวในกรณีนี้ จึงเป็นการเคลื่อนที่โดยอาศัยความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลเพียงอย่างเดียว โดยจะเป็นการเคลื่อนที่ไปสู่ขั้วไฟฟ้าบวกในอัตราส่วนผกผันกับค่า log ของน้ำหนักโมเลกุล ซึ่งหมายความว่าสามารถหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนได้จากการเทียบค่าระยะการเคลื่อนที่ของโปรตีนที่ต้องการทราบน้ำหนักโมเลกุลกับโปรตีนมาตรฐานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุลแล้ว

ในสารละลายตัวอย่าง β - mercaptoethanol ที่เติมลงในสารละลายจะไปสลายพันธะไดซัลไฟด์ ส่วนยูเรียที่ความเข้มข้นสูงประมาณ 8 M สามารถสลายพันธะอ่อน เช่น พันธะไฮโดรเจนในโมเลกุลของโปรตีน ดังนั้นโปรตีนที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยหลายหน่วยเกาะกันอยู่ก็จะแยกออกเป็นแต่ละหน่วยย่อย

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อรรถัย (2544) ศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาต่อความสามารถในการเกิดเจลของปลา 4 ชนิด ได้แก่ ปลานิล ปลาดุกอุยเทศ ปลาลิ้นหมา และปลาซิว ที่อุณหภูมิ 30 ถึง 90 องศาเซลเซียส โดยมีระยะห่างระหว่างอุณหภูมิเป็น 10 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนคือ 20 นาที และ 2 ชั่วโมง พบว่า ปลาแต่ละชนิดมีความสามารถในการเกิดเจลแตกต่างกัน โดยปลาที่ให้ความแข็งแรงของเจลเรียงลำดับจากสูงสุดไปต่ำสุด คือ ปลานิล ปลาดุกอุยเทศ ปลาลิ้นหมา และปลาซิว ตามลำดับ ส่วนสภาวะการลี้ยงน้ำมีผลต่อความสามารถในการเกิดเจลปลา โดยปลานิลที่ผ่านการลี้ยงน้ำและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสให้ค่าความแข็งแรงเจลสูงสุด แต่ใน

เนื้อปลาที่ไม่ผ่านการล้างน้ำที่อุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนเดียวกันค่าความแข็งแรงของ
เจลลดลง

ในกรณีปลาสวาย อรทัย (2544) พบว่า ค่าความแข็งแรงของเจลเริ่มมีค่าสูงที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสขึ้นไป โดยมีค่าสูงสุดที่ 80 องศาเซลเซียส ให้ความร้อนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยปลาที่ผ่านการล้างน้ำและไม่ผ่านการล้างน้ำให้ค่าความแข็งแรงของเจลไม่ต่างกัน และพบว่าระยะเวลาในการให้ความร้อนไม่มีผลต่อความแข็งแรงของเจลปลาสวาย เนื่องจากที่ 80 องศาเซลเซียสเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนจาก 20 นาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เจลที่ได้ให้ค่าความแข็งแรงของเจลไม่แตกต่างกัน

Benjakul *et al.* (2004a) ศึกษาผลของระดับการให้ความร้อนและระยะเวลาในการให้ความร้อนที่มีต่อคุณสมบัติของเจลของซูริมิจากปลาทรายแดง ปลาดาทหวาน ปลาน้ำดอกไม้ และปลาจวด พบว่า การให้ความร้อน 2 ระดับจะให้ค่าความแข็งแรงของเจลสูงกว่าการให้ความร้อน 1 ระดับ โดยระยะเวลาในการแช่ตัวที่เหมาะสม ณ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสของปลาทรายแดง ปลาน้ำดอกไม้ ปลาดาทหวาน และปลาจวด เท่ากับ 1, 1.5, 2 และ 3 ชั่วโมง การใช้เวลาในการแช่ตัวนานเกินไปมีผลต่อคุณภาพของเจลโดยทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลลดลง ดังนั้นระยะเวลาในการแช่ตัวจึงควรมีเวลาที่เพียงพอต่อการทำงานของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส แต่ไม่ควรนานเกินไปเพื่อป้องกันการทำงานของเอนไซม์โปรติเนสในการย่อยสลายโปรตีน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

- 1.1 ปลาเนื้อขาวน้ำจืด
- 1.2 เกลือป่น
- 1.3 น้ำแข็ง

2. อุปกรณ์ในการผลิต

- 2.1 เครื่องสับผสม (chopper)
- 2.2 เครื่องบด (grinder)
- 2.3 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง Sartorius 1219 MP
- 2.4 เทอร์โมมิเตอร์
- 2.5 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
- 2.6 ถังกรองฟอง

3. อุปกรณ์ในการวิเคราะห์คุณภาพ

- 3.1 เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (texture analyser) Stable Micro System TA – HD
- 3.2 เครื่องวัดสี (chroma meter) MINOLTA Spectrophotometer CM – 3500d
- 3.3 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (hot air oven) Ohaus 6010H
- 3.4 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Kjeldahl nitrogen apparatus) Buchi 323
- 3.5 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไขมัน Soxhlet system Ht 1043
- 3.6 เครื่องวัดความเป็นกรดเบส (pH meter) CyberScan 1000
- 3.7 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง Precisa 240A
- 3.8 เตาเผาอุณหภูมิสูง (muffle furnace) Phoenix Furnaces Model Beta 5

3.9 ชุดตรวจสอบรูปแบบการกระจายตัวของโปรตีน (gel electrophoresis)

3.10 ชุดอุปกรณ์การประเมินทางประสาทสัมผัส เช่น แก้วน้ำ ช้อน ส้อม ถาดชิม

4. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์

4.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนได้แก่ selenium mixture, conc. H_2SO_4 , NaOH 32.0 %, boric acid 2.0 %, mixed indicator และ 0.1 N H_2SO_4

4.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไขมันได้แก่ petroleum ether

4.3 สารเคมีที่ใช้ตรวจสอบรูปแบบการกระจายตัวของโปรตีน (Gel electrophoresis) ได้แก่ Acrylamide จากบริษัท Fluka, Methylene-bis-acrylamide จากบริษัท Pharmacia Biotech, Sodiumdihydrogen orthophosphate จากบริษัท Ajax Finechem, Disodiumhydrogen phosphate จากบริษัท Merck, Sodiumdodecylsulphate จากบริษัท Merck, Urea จากบริษัท Merck, Coomassie brilliant blue R – 250 จากบริษัท Bio-Rad, Methanol จากบริษัท Merck, Acetic acid จากบริษัท Merck, Bromophenol blue indicator จากบริษัท Fluka, Glycerol จากบริษัท Merck, β - Mercaptoethanol จากบริษัท Acros Organics, *N, N, N', N'* – tetramethylethylenediamine (TEMED) จากบริษัท Plus one, Ammonium persulphate จากบริษัท Merck, โปรตีนมาตรฐาน (Broad Range) จากบริษัท Bio-Rad

5. อุปกรณ์ที่ใช้ในการประมวลผล

5.1 เครื่องคอมพิวเตอร์

5.2 เครื่องคำนวณ

วิธีการ

1. วัตถุดิบและการเตรียมวัตถุดิบ

นำปลานวลจันทร์น้ำจืด ขนาดความยาวจากหัวถึงหาง 35 ถึง 45 เซนติเมตรจากตลาดยิ่งเจริญ ใส่ในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็ง ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการภายในเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำปลานวลจันทร์น้ำจืด มาล้างทำความสะอาด ตัดหัว ควักไส้ และล้างด้วยน้ำสะอาดอีกครั้ง แล่เป็นชิ้นและชุบแยกกล้ามเนื้อดำและกล้ามเนื้อขาว แล้วนำไปเข้าเครื่องบดที่มีตะแกรงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร นำเนื้อปลาที่ผ่านการบดเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่เกิน 1 ชั่วโมง และนำมาใช้ในการศึกษาชนิดของโปรตีนและคุณสมบัติเจลต่อไป

2. ศึกษาชนิดของโปรตีนของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด

นำเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดบดที่ได้จากการเตรียมในข้อ 1 มาตรวจปริมาณโปรตีนแต่ละชนิด (Hashimoto *et al.*, 1979) ดังแสดงในภาพที่ 4 ซึ่งมีรายละเอียด ดังนี้

2.1 โปรตีนชาร์โคทาสมิก

นำตัวอย่าง 20 กรัม เติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ($15.6 \text{ mM Na}_2\text{HPO}_4 + 3.5 \text{ mM KH}_2\text{PO}_4$) pH 7.5 จำนวน 200 มิลลิลิตร บดผสมให้เข้ากัน นำไปเหวี่ยงที่ 5000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แยกส่วนใสเก็บไว้ จากนั้นเติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 200 มิลลิลิตร ลงในส่วนที่เป็นตะกอน บดผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเหวี่ยงอีกครั้ง นำส่วนใสทั้งสองครั้งมารวมกัน แล้วเติมกรดไตรคลอโรอะซิติกให้มีความเข้มข้นสุดท้ายร้อยละ 5 แล้วนำไปกรอง นำส่วนที่อยู่ในกระดาษกรองไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนชาร์โคทาสมิก

2.2 สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน

นำส่วนใสที่ได้จากการกรองในข้อ 2.1 ไปวิเคราะห์ไนโตรเจนแล้วคำนวณค่าหาปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน

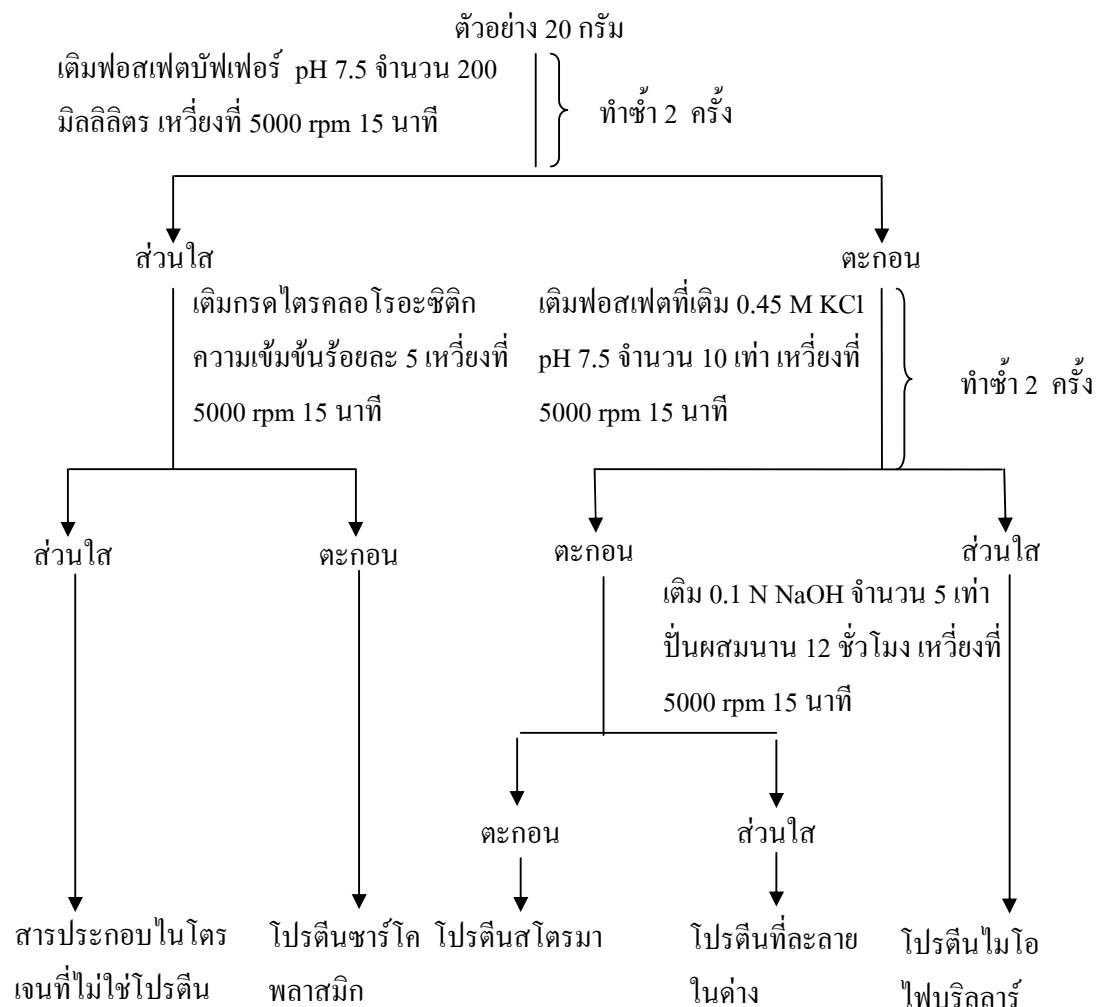
2.3 โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์

นำตะกอนที่ได้จากการเหวี่ยงในข้อ 2.1 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 จำนวน 10 เท่า ปั่นผสมให้เข้ากัน นำไปเหวี่ยงที่ 5000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทำซ้ำอีกครั้ง นำสารละลายส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์

2.4 โปรตีนสโตรมาและโปรตีนที่ละลายในต่าง

นำตะกอนที่ได้จากการเหวี่ยงในข้อ 2.3 มาเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มัล จำนวน 5 เท่า และปั่นผสมนาน 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปเหวี่ยงที่ 5000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่ละลายในต่าง และนำตะกอนที่ได้จากการเหวี่ยงไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนสโตรมา

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนแต่ละชนิดด้วยวิธี Kjeldahl (A.O.A.C., 2000) รายงานผลเป็นปริมาณไนโตรเจน



ภาพที่ 4 ขั้นตอนการตรวจปริมาณโปรตีนแต่ละชนิด

3. ศึกษาผลของความสดต่อคุณภาพในปลานวลจันทร์น้ำจืด

นำปลานวลจันทร์สดจากตลาดยิ่งเจริญ มาล้างในน้ำเย็นและบรรจุลงถุงพลาสติกถุงละตัว ใส่ในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งโดยใช้สัดส่วนปลาต่อน้ำแข็งเป็น 1 ต่อ 2 และขนส่งมายังห้องปฏิบัติการภายในเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อทำการทดลองในวันแรก และทุก ๆ 2 วันจนถึงวันที่คุณภาพไม่เป็นที่ยอมรับ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยตรวจสอบคุณภาพดังนี้

3.1 ตรวจสอบคุณภาพทางเคมี

3.1.1 ตรวจสอบค่า K (K-value)

นำปลานวลจันทร์น้ำจืดที่เตรียมไว้ มาวิเคราะห์หาค่า K ตามวิธีการของ MFRD (1992) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยทำการวิเคราะห์หาค่าความสดทุก ๆ 2 วัน จนกว่าค่าที่วิเคราะห์ได้ จะไม่เป็นที่ยอมรับ คือมากกว่าร้อยละ 60 (Uchiyama, 1976)

3.2 ตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพ

3.2.1 ตรวจสอบค่าความเป็นกรดเบส (pH)

นำเนื้อปลาสด 5 กรัม เติมน้ำกลั่น 45 มิลลิลิตร ปั่นผสมให้เข้ากัน แล้ววัดค่าความเป็นกรดเบสด้วยเครื่องวัดความเป็นกรดเบส (pH meter) ตามวิธีการของ A.O.A.C., 2000

3.2.2 ตรวจวัดคุณสมบัติการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ตามวิธีของ Motohiro (1981)

3.2.3 ตรวจวัดความแข็งแรงของเจล

นำตัวอย่างเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดมาผ่านเข้าเครื่องบด แล้วปั่นผสมกับเกลือ ร้อยละ 3 เป็นเวลา 15 นาที ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 85 โดยควบคุมอุณหภูมิระหว่างปั่นให้ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส บรรจุเนื้อปลาบดใส่กระบอกสแตนเลสขนาด 25 x 25 มิลลิเมตร จากนั้นให้ความร้อนที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที วัดความแข็งแรงของเจลปลาด้วยเครื่อง Stable Micro System TA-HD texture analyzer ในแต่ละสิ่งทดลองด้วยหัวเจาะทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ให้หัวเจาะผ่านตัวอย่างด้วยความเร็วคงที่ 1.0 มิลลิเมตรต่อวินาที โดยกดลงไปในตัวอย่างเป็นระยะทางร้อยละ 70 ของความสูง นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า gel strength

$$\text{gel strength (g.cm)} = \text{yield strength (g)} \times \text{yield deformation (cm.)}$$

4. ศึกษาคุณสมบัติการเกิดเจลของปลานวลจันทร์น้ำจืด

ศึกษาคุณสมบัติการเกิดเจลของปลานวลจันทร์น้ำจืด เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการคัดเลือกสถานะการให้ความร้อนในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ โดยศึกษาเปรียบเทียบสถานะการลี้ยงน้ำ (ไม่ลี้ยงน้ำ ลี้ยงน้ำ 1 ครั้ง และ 2 ครั้ง) การให้ความร้อน 1 ระดับ (1-step heating) และ 2 ระดับ (2-step heating) ที่ช่วงอุณหภูมิ 30 ถึง 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ดังแสดงในภาพที่ 5 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ในแต่ละระดับของการให้ความร้อน วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD โดยใช้สถานะการลี้ยง และระดับอุณหภูมิในการให้ความร้อนเป็นปัจจัยในการเปรียบเทียบ มีขั้นตอนในการศึกษาดังนี้

4.1 การวิเคราะห์เนื้อปลา

นำเนื้อปลาที่ได้จากข้อ 1 มาวิเคราะห์หาค่าดังต่อไปนี้

4.1.1 ค่าความเป็นกรดเบส ตามวิธีการในข้อ 3.2.1

4.1.2 ค่า K ตามวิธีการของ MFRD (1992)

4.1.3 ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า (A.O.A.C., 2000)

4.2 การเตรียมเจล

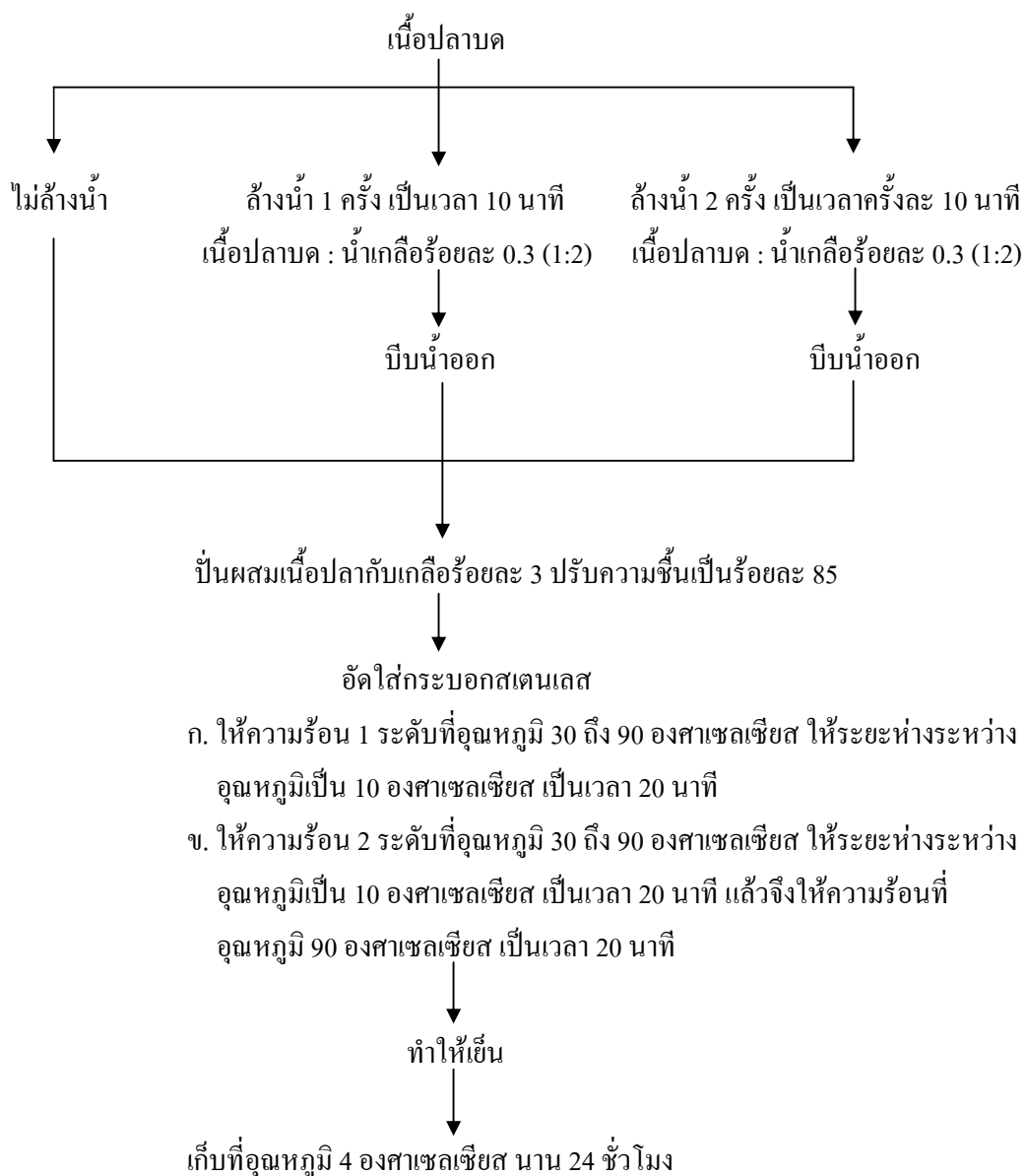
เตรียมเจลจากเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด (ภาพที่ 5) โดยนำปลาที่เตรียมไว้ในข้อ 1 มาแบ่งเป็น 3 ส่วนคือ ส่วนที่ลี้ยงน้ำ 2 ครั้ง ลี้ยงน้ำ 1 ครั้ง และไม่ลี้ยงน้ำ โดยเนื้อปลาที่ลี้ยงน้ำ ล้างด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 0.3 ควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลาครั้งละ 10 นาที ใช้สัดส่วนปลาต่อน้ำ เท่ากับ 1 ต่อ 2 แล้วเหวี่ยงและบีบน้ำออก นำเนื้อปลามาปั่นผสมเนื้อปลากับเกลือร้อยละ 3 เป็นเวลา 15 นาที โดยแบ่งการเติมเกลือเป็น 2 ช่วง คือที่ 5 นาทีแรก เติมเกลือเพียงครึ่งเดียว บดต่ออีก 5 นาที จึงเติมเกลือส่วนที่เหลือ ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 85 ควบคุมอุณหภูมิที่ใช้ระหว่างปั่นผสมให้ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส บรรจุเนื้อปลาบดใส่กระบอกสแตนเลสขนาด 25 x 25 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปให้ความร้อน ดังนี้

ก. ให้ความร้อนหนึ่งระดับ ที่อุณหภูมิ 30 ถึง 90 องศาเซลเซียส โดยให้ระยะห่างระหว่างอุณหภูมิเป็น 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

ข. ให้ความร้อนสองระดับ โดยช่วงแรกให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 30 ถึง 90 องศาเซลเซียส โดยให้ระยะห่างระหว่างอุณหภูมิเป็น 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วจึงให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

จากนั้นทำให้เย็นในน้ำเย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำขึ้นจากน้ำ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

ขั้นตอนการเตรียมเจล



ภาพที่ 5 ขั้นตอนการเตรียมเจลปลา

4.3 การวัดความแข็งแรงของเจลปลา

วัดความแข็งแรงของเจลปลาที่ได้จากข้อ 4.2 ตามวิธีการในข้อ 3.3.3 ศึกษาเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิและระดับการให้ความร้อน วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

4.4 การวัดความยืดหยุ่น (springiness)

วัดความยืดหยุ่นของเจลปลาที่เตรียมจากข้อ 4.2 ด้วยเครื่อง stable micro system TA-HD texture analyser ในแต่ละสิ่งทดลอง โดยวัดตัวอย่างขนาด 25x25 มิลลิเมตร ด้วยหัวกดทรงกระบอกที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร โดยกดลงไปในตัวอย่างเป็นระยะทางร้อยละ 70 ของความสูง ในรูปแบบของการกดสองครั้ง (two bite) กดด้วยความเร็วคงที่ 1.0 มิลลิเมตรต่อวินาที

4.5 การวัดความขาว (Whiteness)

การตรวจสอบวัดความขาวของตัวอย่างที่ได้จากข้อ 4.2 โดยใช้ระบบวัดสีแบบ CIELAB ตามวิธีของ Lanier and Lee (1992) นำค่าที่ได้มาคำนวณตามสมการดังนี้

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

ค่า L^* = ค่าความสว่างมีค่าระหว่าง 0-100 หรือสีดำถึงสีขาว

ค่า a^* = ค่าบวก (+) แสดงค่าสีแดง ค่าลบ (-) แสดงค่าสีเขียว

ค่า b^* = ค่าบวก (+) แสดงค่าสีเหลือง ค่าลบ (-) แสดงค่าสีน้ำเงิน

ศึกษาเปรียบเทียบระหว่างสภาวะการล้างและอุณหภูมิที่ระดับต่าง ๆ วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

4.6 ตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนด้วย gel electrophoresis

ตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนปลาของตัวอย่างที่ได้จากข้อ 4.2 ในแต่ละสิ่งทดลอง ด้วย SDS-PAGE (Weber and Osborn, 1969)

5. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ยืดหยุ่น

จากการศึกษาคุณสมบัติในการเกิดเจลในข้อ 4 คัดเลือกสถานะที่เหมาะสมในการให้ความร้อนมาใช้ในการผลิตลูกชิ้น คัดแปลงสูตรจากปวีณา (2539) แสดงดังตารางที่ 1 โดยนำเนื้อปลามาปั่นผสมกับเกลือ เป็นเวลา 15 นาที โดยแบ่งการเค็มเกลือเป็น 2 ช่วง คือที่ 5 นาทีแรก เค็มเกลือเพียงครึ่งเดียว บดต่ออีก 5 นาที จึงเค็มเกลือส่วนที่เหลือ แล้วจึงใส่ส่วนผสมอื่น ๆ ควบคุมอุณหภูมิที่ใช้ระหว่างปั่นผสมให้ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส นำผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

ตารางที่ 1 สูตรลูกชิ้นปลา

ส่วนประกอบ	ปริมาณการใช้ (ร้อยละ)
เนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด	77.52
เกลือ	2.7
น้ำตาลทราย	3.49
กระเทียมผง	0.31
พริกไทย	0.47
น้ำมันพืช	1.55
ซีอิ๊วขาว	2.33
แป้งมันสำปะหลัง	3.88
น้ำ	7.75

ที่มา : คัดแปลงสูตรจากปวีณา (2539)

5.1 ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

สุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์มาประเมินความชอบในด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบรวม โดยใช้การให้คะแนนแบบ 9-points hedonic scale เมื่อ 9 คือ ชอบมากที่สุด และ 1 คือ ไม่ชอบมากที่สุด ใช้ผู้ทดสอบทั่วไป 20 คน วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อก (RCBD) วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยวิธีผลต่างของ Duncan's new multiple range test (DMRT) และนำตัวอย่างที่ได้รับคะแนนความชอบมากที่สุดไปทำการวิเคราะห์คุณภาพในด้านเคมีและกายภาพ

5.2 การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี

5.2.1 องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า (A.O.A.C., 2000)

5.3 ประเมินคุณภาพด้านกายภาพ

5.3.1 วัดความแข็งแรงเจล ตามวิธีการในข้อ 3.2.3

5.3.2 วัดความยืดหยุ่น ตามวิธีการในข้อ 4.4

5.3.3 วัดความขาว ตามวิธีการในข้อ 4.5

5.3.4 วัดความสามารถในการอุ้มน้ำ ตามวิธีการในข้อ 3.2.2

ผลและวิจารณ์

1. ผลการวิเคราะห์ชนิดของโปรตีนในเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด

ปลานวลจันทร์น้ำจืดที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 397.17 ± 8.05 กรัม จากการสุ่มตัวอย่างปลานวลจันทร์น้ำจืดในส่วนเนื้อที่ไม่รวมหนัง โดยแยกเป็นส่วนของกล้ามเนื้อดำ (dark muscle) และกล้ามเนื้อขาว (white muscle) มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนชนิดต่าง ๆ พบว่า ในกล้ามเนื้อดำของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดมีโปรตีนชาร์โคพลาสติก โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ โปรตีนที่ละลายในด่าง โปรตีนสโตรมา และสารประกอบที่ไม่ใช่โปรตีน เท่ากับ 8.42, 13.42, 1.48, 1.39 และ 2.32 และในกล้ามเนื้อขาวมี 6.42, 15.60, 0.28, 0.40 และ 4.78 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 2 ซึ่งโปรตีนแต่ละชนิดจะมีบทบาทต่อความสามารถในการเกิดเจลแตกต่างกันไป โดยโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์มีแอกตินและไมโอซินเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งเมื่อรวมตัวเป็นสารประกอบแอคโตไมโอซินจะทำให้เนื้อปลามีความเหนียวและเมื่อนำไปให้ความร้อนจะให้เจลที่มีความเหนียวและยืดหยุ่น เมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนแต่ละชนิดระหว่างกล้ามเนื้อดำและกล้ามเนื้อขาว พบว่า กล้ามเนื้อดำจะมีปริมาณของโปรตีนชาร์โคพลาสติก โปรตีนสโตรมา และโปรตีนที่ละลายในด่างมากกว่าในกล้ามเนื้อขาว ซึ่งโปรตีนสโตรมาจะให้ผลทางลบกับการเกิดเจล เพราะโปรตีนสโตรมาทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเกี่ยวพันข้ามพันธะ (cross – linking) ระหว่างโมเลกุลของแอคโตไมโอซินลดลงทำให้ความเหนียวของผลิตภัณฑ์ลดลง (Suzuki, 1981) Haard *et al.* (1994) ได้อธิบายว่า โปรตีนชาร์โคพลาสติกซึ่งมีไมโอโกลบิน (myoglobin) ฮีโมโกลบิน (haemoglobin) เอนไซม์ และอัลบูมิน (albumin) เป็นองค์ประกอบนั้นจะพบได้มากในปลาผิวน้ำ และการที่กล้ามเนื้อดำมีปริมาณโปรตีนสโตรมา มากกว่ากล้ามเนื้อขาว เนื่องจากหน้าที่และการทำงานของกล้ามเนื้อดำ ซึ่งเป็นกล้ามเนื้อที่ใช้ในการเคลื่อนไหวของปลา ส่วนในกล้ามเนื้อขาวจะมีปริมาณโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์และสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนมากกว่ากล้ามเนื้อดำ

Chaijan *et al.* (2004) ศึกษาปริมาณโปรตีนแต่ละชนิดในกล้ามเนื้อของปลาหลังเขียว และปลาลัง พบว่า ในกล้ามเนื้อดำของปลาทั้งสองชนิดมีปริมาณโปรตีนชาร์โคพลาสติก โปรตีนสโตรมา และโปรตีนที่ละลายในด่างมากกว่าในกล้ามเนื้อขาว ในกล้ามเนื้อของปลาลังมีปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนสูงกว่าปลาหลังเขียว เนื่องจากปลาลังมีปริมาณของกรดอะมิโนไลเปปไทด์ นิวคลีโอไทด์ ไตรเมทิลเอมีน และยูเรียสูงกว่าปลาหลังเขียว และเมื่อเปรียบเทียบ

ในกล้ามเนื้อดำและกล้ามเนื้อขาวของปลาลัง พบว่า ในกล้ามเนื้อดำมีปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนต่ำกว่ากล้ามเนื้อขาว

ตารางที่ 2 ปริมาณโปรตีนแต่ละชนิดในเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด

องค์ประกอบของโปรตีน	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มก.ไนโตรเจน/กรัมตัวอย่าง)	
	กล้ามเนื้อดำ	กล้ามเนื้อขาว
โปรตีนซาร์โคพลาสมิก	8.42 $\pm$ 0.32	6.42 $\pm$ 0.17
โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์	13.42 $\pm$ 0.32	15.60 $\pm$ 0.14
โปรตีนที่ละลายในด่าง	1.48 $\pm$ 0.02	0.28 $\pm$ 0.04
โปรตีนสโตรมา	1.39 $\pm$ 0.02	0.40 $\pm$ 0.02
สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน	2.32 $\pm$ 0.16	4.78 $\pm$ 0.13

2. ผลของความสดต่อคุณภาพเจลของปลานวลจันทร์น้ำจืด

นำปลานวลจันทร์น้ำจืดทั้งตัวที่เก็บรักษาในน้ำแข็งมาทำการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ค่า K และคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าความเป็นกรดเบส ความสามารถในการอุ้มน้ำ และความแข็งแรงเจล ผลการทดลองแสดงผลดังตารางที่ 3 (ตารางผนวก ง1) และภาพที่ 6 ถึง 12

2.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

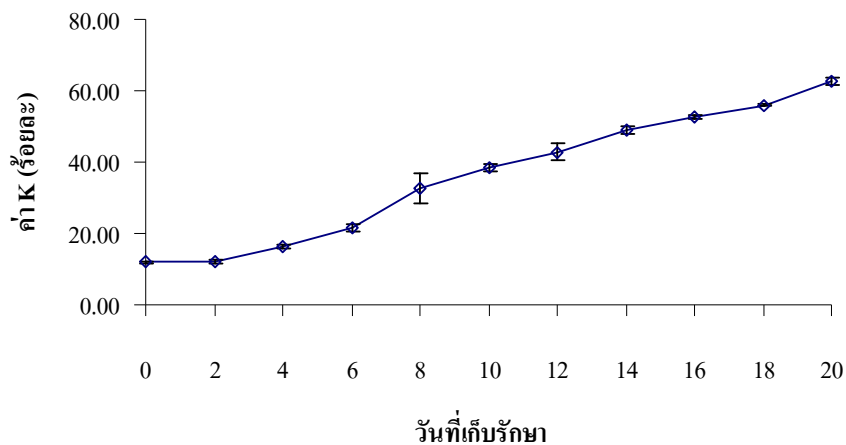
ระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อค่า K ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$) แสดงผลดังภาพที่ 6 เมื่อใช้ค่า K เป็นดัชนีในการชี้วัดคุณภาพ คือค่า K มากกว่าร้อยละ 60 ถือว่าไม่เป็นที่ยอมรับ โดยทำการวิเคราะห์คุณภาพทุก ๆ 2 วัน พบว่า ปลานวลจันทร์น้ำจืดทั้งตัวสามารถเก็บรักษาในน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสได้เป็นเวลา 18 วัน โดยมีค่า K ในวันที่ 0 เท่ากับร้อยละ 11.91 $\pm$ 0.29 และเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 56.04 $\pm$ 0.07 ของการเก็บรักษาในวันที่ 18 ค่า K ที่เพิ่มขึ้นแสดงว่าปลานวลจันทร์น้ำจืดมีความสดลดลง อย่างไรก็ตาม การเพิ่มขึ้นของความสดยังขึ้นอยู่กับชนิดของปลาด้วย จากการสังเกตลักษณะปรากฏทางประสาทสัมผัสของปลานวลจันทร์น้ำจืดสด พบว่า ในวันแรกลำตัวปลามีสีเทาเงิน เงามัน ดาใส เหงือกแดง ลักษณะลำไส้ไม่แตกและเนื้อมีความยืดหยุ่น หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 8 วัน ดาเริ่มขุ่น ข้ำเลือดเล็กน้อย เหงือกเป็นสีแดง

คล้ำ เริ่มพบเมื่อขอบบริเวณลำตัวเล็กน้อย เนื้อเริ่มนิ่ม แต่ยังมีคามยืดหยุ่นเล็กน้อย และเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน พบว่า ตาขุ่น ขี้เกลือ เหนืออกสีแดงจนถึงสีน้ำตาล ลำไส้และ เนื้อนิ่มและ วราทิพย์ (2531) รายงานว่า คุณภาพปลานิลสดที่ผ่านการเก็บรักษาในน้ำแข็ง (0 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 1, 4 และ 6 วัน มีค่า K เท่ากับร้อยละ 60.64, 83.80 และ 85.72 ตามลำดับ

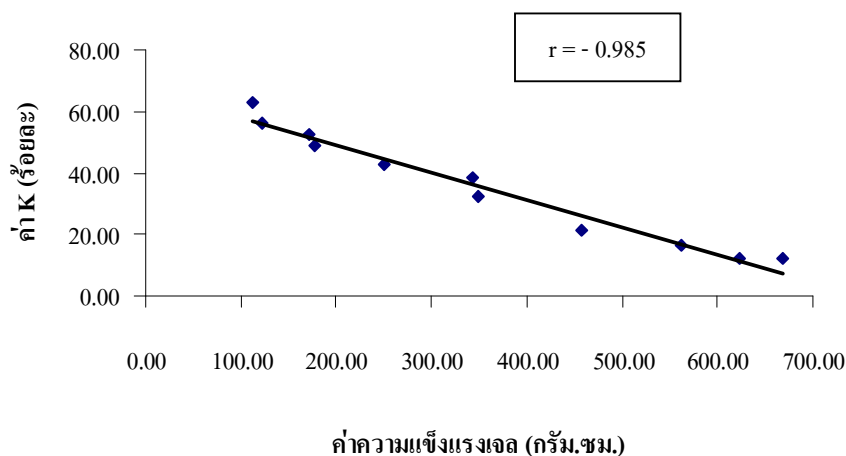
จิรวัดน์ (2544) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่า K ในปลาทรายแดงระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 12 วัน พบว่า ในวันแรกปลาทรายแดงมีค่า K มีค่าร้อยละ 9 และเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 39 ในการเก็บรักษาวันที่ 12 Gopakumar (2000) รายงานว่า ค่า K เป็นดัชนีบ่งบอกความสดของปลาที่ดี โดยปลาสดจะมีค่า K ประมาณร้อยละ 3 ถึง 5 ส่วนปลาที่เน่าเสียจะมีค่า K มากกว่าร้อยละ 50 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของปลา

Ablett *et al.* (1991) รายงานว่าปลา white hake ควรนำมาแปรรูปเป็นซูริมิภายใน 2 วัน เมื่อเก็บปลาในน้ำแข็ง ในขณะที่คุณภาพของซูริมิจากปลา hoki ยังสามารถยอมรับได้เมื่อเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 10 วัน (Macdonald *et al.*, 1992) ส่วนปลาไส้ก้อสามารถเก็บรักษาในน้ำแข็งได้ไม่เกิน 3 วัน ก่อนนำมาผลิตซูริมิ (Kurokawa, 1979)

เมื่อทำการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างค่าความสดและค่าความแข็งแรงเจล พบว่า ค่า K มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงในทางลบกับค่าความแข็งแรงเจล โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ -0.985 แสดงผลดังภาพที่ 7 Benjakul *et al.* (2003b) ศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงของความสดต่อคุณสมบัติของเจลในปลาปากคม พบว่า ค่าความสดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นและค่าความแข็งแรงของเจลนั้นลดลง เนื่องจากโปรตีนเกิดการเสื่อมสภาพอันเป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีน



ภาพที่ 6 ค่า K ของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดทั้งตัวในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง



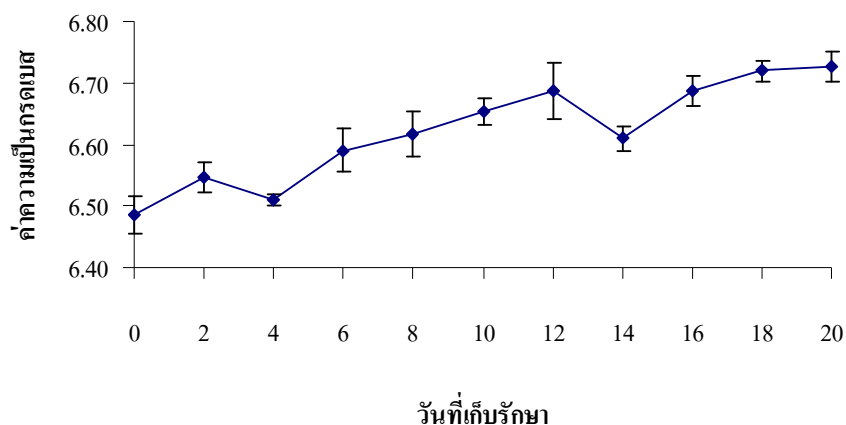
ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า K กับค่าความแข็งแรงเจล

2.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

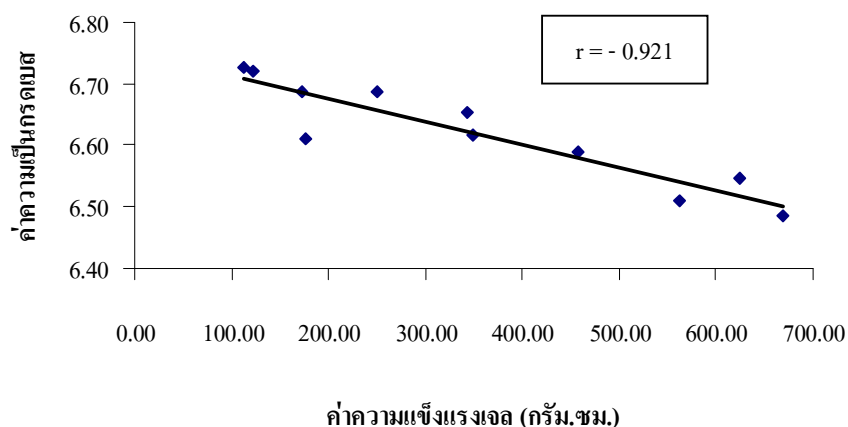
ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ความเป็นกรดเบส ความสามารถในการอุ้มน้ำและความแข็งแรงเจล

ผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดเบส พบว่า ระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อความเป็นกรดเบสซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$) แสดงผลดังภาพที่ 8 โดยมีค่า pH ใน

วันที่ 0 เท่ากับ 6.49 ± 0.03 และเพิ่มขึ้นเป็น 6.72 ± 0.02 ในวันที่ 18 ของการเก็บรักษา จีรวัดน์ (2544) พบว่า ค่า pH ของปลาทรายแดงที่เก็บรักษาในน้ำจืดมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 6.5 ในวันแรก เป็น 6.74 ในวันที่ 12 เมื่อทำการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดเบสและค่าความแข็งแรงเจล ค่าความเป็นกรดเบสมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงในทางลบกับค่าความแข็งแรงเจล เช่นเดียวกับค่า K โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ -0.921 แสดงผลดังภาพที่ 9

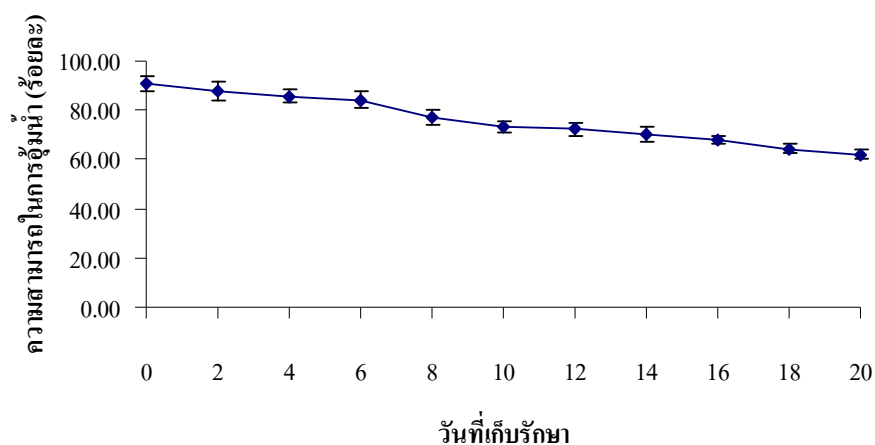


ภาพที่ 8 ค่าความเป็นกรดเบสของเนื้อปลานิลจันทน์น้ำจืดทั้งตัวในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำจืด

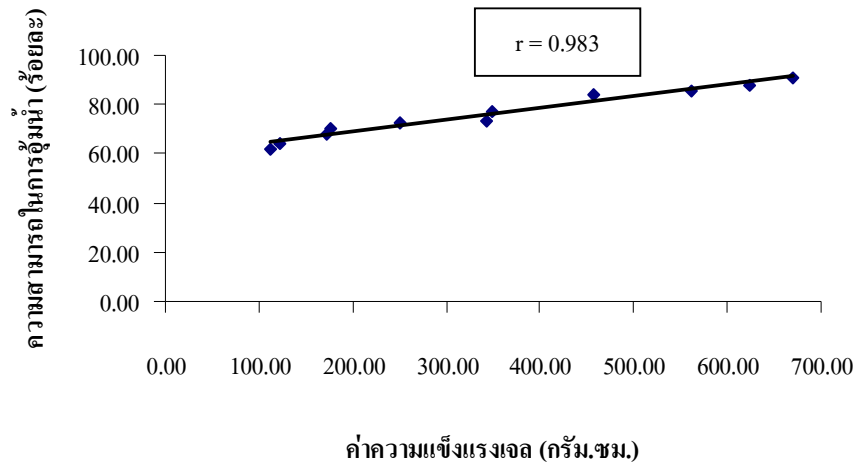


ภาพที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดเบสกับค่าความแข็งแรงเจล

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำ พบว่า ระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำซึ่งมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$) แสดงผลดังภาพที่ 10 โดยลดลงจากร้อยละ 91.05 $\pm$ 3.14 ในวันที่ 0 เป็นร้อยละ 64.35 $\pm$ 2.06 ในวันที่ 18 เมื่อทำการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างค่าความสามารถในการอุ้มน้ำและค่าความแข็งแรงเจล พบว่า ค่าความสามารถ ในการอุ้มน้ำมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงในทางบวกกับค่าความแข็งแรงเจล โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.983 แสดงผลดังภาพที่ 11 นั่นคือ ปลาที่มีความสดลดลงจะมีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำและค่าความแข็งแรงเจลต่ำ โดยในเนื้อสัตว์น้ำที่มีสมบัติการอุ้มน้ำสูงจะให้ลักษณะเนื้อสัมผัสที่นุ่ม สำหรับเนื้อที่มีการอุ้มน้ำต่ำจะให้เนื้อสัมผัสที่กระด้าง (สุทธวัฒน์, 2548)

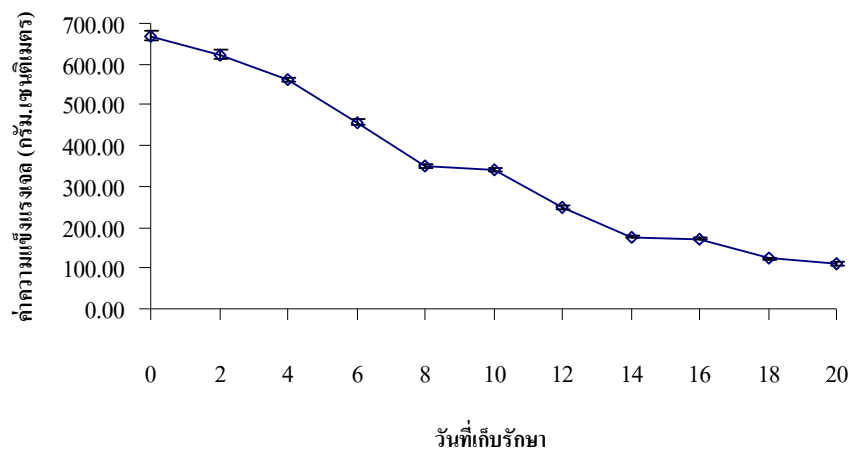


ภาพที่ 10 ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดทั้งตัวในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง



ภาพที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความสามารถในการอุ้มน้ำกับค่าความแข็งแรงเจล

ผลการวิเคราะห์ความแข็งแรงเจล พบว่า ระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อค่าความแข็งแรงเจล ซึ่งมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$) แสดงผลดังภาพที่ 12 โดยมีค่าความแข็งแรงเจลสูงสุดในวันที่ 0 เท่ากับ 668.94 กรัม.เซนติเมตร และมีค่าต่ำที่สุดในวันที่ 20 ของการเก็บรักษา เท่ากับ 111.79 กรัม.เซนติเมตร Benjakul *et al.* (2003) ได้ศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของความสามารถในการเกิดเจลของปลาปากคมที่ทำการเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 15 วัน พบว่า ค่าความแข็งแรงเจลของปลาปากคมลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของฟอรั่มัลดีไฮด์, TCA-soluble peptides และ α - amino acids เป็นสาเหตุให้ปริมาณของไมโอซินซึ่งมีบทบาทสำคัญในการเกิดเจลลดลง โดยการเสื่อมสภาพของไมโอซินส่งผลไปถึงการเกิดโครงร่างตาข่ายของเจลโดยทำให้เจลมีความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง จึงทำให้ความแข็งแรงของเจลลดลง



ภาพที่ 12 ค่าความแข็งแรงของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดทั้งตัวในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง

ตารางที่ 3 ค่า K ค่าความเป็นกรดเบส ความสามารถในการอุ้มน้ำ และค่าความแข็งแรงของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง

วันที่ทำการเก็บรักษา	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	ค่า K (ร้อยละ)	ค่าความเป็นกรดเบส	ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (ร้อยละ)	ค่าความแข็งแรงของเนื้อ (กรัม, ซม.)
0	11.91 ⁱ $\pm$ 0.29	6.49 ^g $\pm$ 0.03	91.05 ^a $\pm$ 3.14	668.94 ^a $\pm$ 12.17
2	12.17 ⁱ $\pm$ 0.53	6.55 ^{ef} $\pm$ 0.03	87.87 ^{ab} $\pm$ 3.98	623.94 ^b $\pm$ 10.66
4	16.30 ⁱ $\pm$ 0.54	6.51 ^{fg} $\pm$ 0.01	85.74 ^b $\pm$ 2.85	562.28 ^c $\pm$ 3.67
6	21.54 ^h $\pm$ 1.13	6.59 ^{de} $\pm$ 0.03	84.28 ^b $\pm$ 3.70	457.12 ^d $\pm$ 6.11
8	32.62 ^g $\pm$ 4.03	6.62 ^{cd} $\pm$ 0.04	77.22 ^c $\pm$ 2.91	349.87 ^e $\pm$ 4.04
10	38.34 ^f $\pm$ 1.00	6.65 ^{bc} $\pm$ 0.02	73.51 ^{cd} $\pm$ 2.33	342.63 ^e $\pm$ 4.87
12	42.82 ^e $\pm$ 2.43	6.69 ^{ab} $\pm$ 0.05	72.43 ^{cde} $\pm$ 2.73	250.07 ^f $\pm$ 3.77
14	48.81 ^d $\pm$ 1.03	6.61 ^{cd} $\pm$ 0.02	70.08 ^{de} $\pm$ 3.10	176.69 ^g $\pm$ 3.41
16	52.43 ^c $\pm$ 0.47	6.69 ^{ab} $\pm$ 0.03	68.08 ^{ef} $\pm$ 1.45	172.14 ^h $\pm$ 3.37
18	56.04 ^b $\pm$ 0.07	6.72 ^a $\pm$ 0.02	64.35 ^{fg} $\pm$ 2.06	122.80 ⁱ $\pm$ 2.86
20	62.62 ^a $\pm$ 1.06	6.73 ^a $\pm$ 0.03	62.05 ^g $\pm$ 1.86	111.79 ^j $\pm$ 5.48

^{ij} ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรพิมพ์เล็กต่างกันในแนวดิ่ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$)

เมื่อเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นค่าความแข็งแรงเจล ความสามารถในการอุ้มน้ำมีแนวโน้มลดลง ($P \leq 0.01$) ขณะที่ค่า K และ pH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($P \leq 0.01$) โดยปลานวลจันทร์น้ำจืดที่เก็บในน้ำแข็งเป็นเวลา 14 วัน เริ่มมีลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ไม่เป็นที่ยอมรับโดยมีค่า K ค่าความ สามารถในการอุ้มน้ำคิดเป็นร้อยละ 48.81 และ 70.08 ตามลำดับ ค่า pH 6.61 และค่าความแข็งแรงเจล 176.69 กรัม.เซนติเมตร

3. ผลของการล้างและการให้ความร้อนต่อคุณภาพของเจลของปลานวลจันทร์น้ำจืด

3.1 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของปลานวลจันทร์น้ำจืด

จากการสุ่มตัวอย่างปลานวลจันทร์น้ำจืดที่ผ่านการเตรียมมาวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีพบว่า เนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดมีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้าร้อยละ 78.95, 17.15, 0.30, 2.49 และ 1.12 ตามลำดับ มีค่า K ร้อยละ 17.83 และค่า pH เท่ากับ 6.55 แสดงผลดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 คุณภาพทางเคมีของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด

ปัจจัยคุณภาพ	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ความชื้น (ร้อยละ)	78.95 $\pm$ 0.94
โปรตีน (ร้อยละ)	17.15 $\pm$ 0.49
ไขมัน (ร้อยละ)	0.30 $\pm$ 0.40
คาร์โบไฮเดรต* (ร้อยละ)	2.49 $\pm$ 0.44
เถ้า (ร้อยละ)	1.12 $\pm$ 0.44
ค่า K (ร้อยละ)	17.83 $\pm$ 0.05
ค่าความเป็นกรดเบส	6.55 $\pm$ 0.01

* ได้จากการหักลบ

3.2 ผลของสภาวะการล้างน้ำ อุณหภูมิ และระดับการให้ความร้อนที่มีต่อค่าความแข็งแรง เจล ค่าความยืดหยุ่น และค่าความขาวของปลานวลจันทร์น้ำจืด

จากการให้ความร้อน 1 ระดับ (อุณหภูมิ 30 ถึง 90 องศาเซลเซียส โดยให้ช่วงอุณหภูมิ ห่างกัน 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที) และให้ความร้อนที่ 2 ระดับ (อุณหภูมิ 30 ถึง 90 องศาเซลเซียส โดยให้ช่วงอุณหภูมิห่างกัน 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที) กับเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดบดที่สภาวะการล้างน้ำต่างกันแล้วนำมาวัดความแข็งแรงเจล และค่าความยืดหยุ่นของปลาด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (texture analyser) และวัดความขาวด้วยเครื่องวัดสี (chroma meter) แสดงผลดังภาพที่ 13 ถึง 15 และนำมาตรวจรูปแบบการกระจายตัวของโปรตีนด้วย SDS-PAGE แสดงผลดังภาพที่ 16 ถึง 18

จากผลการทดลอง พบว่า สภาวะการล้างน้ำมีผลต่อความสามารถในการเกิดเจลของ ปลานวลจันทร์น้ำจืด โดยเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้างน้ำจะมีค่าความแข็งแรงเจล ค่าความยืดหยุ่น ลดลงในทุกอุณหภูมิและสภาวะการให้ความร้อนอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$) ส่วนค่าความขาวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$) แสดงผลดังตารางที่ 5 และ 6 (ตารางผนวก ง2 ถึง ง3 และ จ1 และ จ2) เนื้อปลาบดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำในทุกสภาวะการให้ความร้อนให้ค่าความแข็งแรงเจลและค่าความยืดหยุ่นสูงสุด ทั้งนี้สาเหตุอาจเนื่องมาจากการทำงานของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสซึ่งไม่ได้ถูกกำจัดไปกับน้ำล้าง ช่วยในการสร้างพันธะ isopeptide (Y – glutamyl) lysine ซึ่งทำให้เจลมีความแข็งแรงขึ้น นอกจากนี้อาจเกิดจากการทำงานของ myofibrillar type proteinases ในการย่อยสลายโปรตีนซึ่งเอนไซม์นี้ไม่สามารถขจัดออกได้โดยการล้างน้ำเหลือที่ความเข้มข้น 0.3

Suwansakornkul *et al.* (1993) พบว่า การล้างน้ำไม่ได้มีส่วนช่วยในการปรับปรุงความแข็งแรงเจลในปลาปากคม โดยที่การล้างแสดงผลในการส่งเสริมการทำงานของ myofibrillar type proteinases ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อรทัย (2544) พบว่า เนื้อปลาคูอุยเทศที่ไม่ผ่านการล้างน้ำและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาทีนั้นให้ค่าความแข็งแรงเจลสูงกว่าเนื้อปลาคูอุยเทศที่ผ่านการล้างน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับผล SDS-PAGE ของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด (ภาพที่ 16 ถึง 18) เมื่อเปรียบเทียบสภาวะการล้างน้ำของเนื้อปลาที่ผ่านการให้ความร้อน 2 ระดับ คือที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จะเห็นได้ว่าแถบ MHC ของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่ผ่านการล้างน้ำนั้นลดลง อาจมีผลทำให้ปลานวลจันทร์น้ำจืดเมื่อผ่านการล้างน้ำมีค่าความแข็งแรงของเจลลดลง แต่สภาวะการล้างน้ำจะส่งผลถึงค่าความขาวโดยเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้างน้ำ 2 ครั้งจะให้ค่าความขาวสูงสุดในทุกสภาวะการให้ความร้อน ณ อุณหภูมิเดียวกัน

สำหรับอุณหภูมิในการให้ความร้อน พบว่า มีผลต่อค่าความแข็งแรงเจล ค่าความยืดหยุ่น และค่าความขาวอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$) โดยเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่ผ่านการให้ความร้อน 1 ระดับ คือที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และที่ผ่านการให้ความร้อน 2 ระดับ คือที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นั้น ให้ค่าความแข็งแรงเจลสูงสุด เท่ากับ 466.98 และ 500.66 กรัม.เซนติเมตร ตามลำดับ โดยที่การให้ความร้อน 1 ระดับจะเห็นได้ว่า ค่าความแข็งแรงเจลของเนื้อปลาสดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำจะเริ่มลดลงที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ขณะที่ที่สภาวะการล้างน้ำค่าความแข็งแรงเจลจะลดลงที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส เนื่องมาจากการทำงานของ myofibrillar type proteinases จะถูกเร่งที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับผล SDS-PAGE ที่ปรากฏ แถบของ MHC นั้นลดลง ที่การให้ความร้อน 2 ระดับ ค่าความแข็งแรงเจลจะลดลงที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส เนื่องจากเป็นช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์โปรตีนเอสที่มีอยู่ในเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด จึงทำให้เกิดการย่อยสลายของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ทำให้ค่าความแข็งแรงเจลที่อุณหภูมินี้ลดลง สำหรับค่าความยืดหยุ่นที่การให้ความร้อน 2 ระดับกับเนื้อปลาสดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาทีนั้น มีค่าความยืดหยุ่นสูงสุด คือ 0.77 และจะมีค่าลดลงที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับค่าความแข็งแรงเจล อร์ทัย (2544) พบว่า เนื้อปลาลิ้นหมา และปลานิลจะเกิดการเสื่อมสภาพของเจลในช่วงอุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส และเนื้อปลาดุกอุยเศษจะเกิดการเสื่อมสภาพของเจลที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ค่าความแข็งแรงเจลของเนื้อปลานิลที่ผ่านการล้างน้ำ เมื่อเพิ่มเวลาในการให้ความร้อนจาก 20 นาที เป็น 2 ชั่วโมง จะส่งผลให้ค่าความแข็งแรงเจลลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

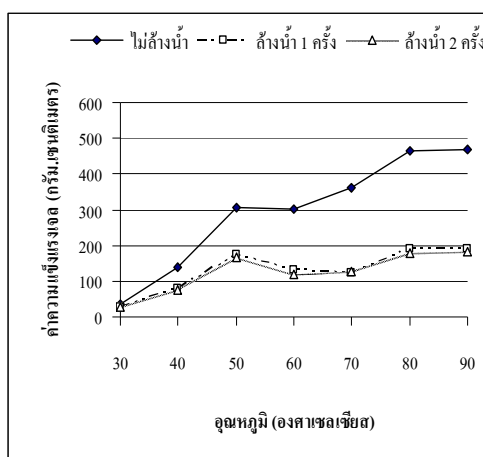
ผลของระดับการให้ความร้อนที่มีต่อคุณสมบัติการเกิดเจลของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด พบว่า ระดับความร้อนมีผลต่อค่าความแข็งแรงเจล ค่าความยืดหยุ่น และค่าความขาวอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$) โดยที่การให้ความร้อน 1 ระดับกับเนื้อปลาสดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำ ผ่านการล้างน้ำ 1 ครั้ง และ 2 ครั้ง ให้ค่าความแข็งแรงเจลสูงสุดที่การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที มีค่าความแข็งแรงเจลเท่ากับ 463.64-466.98, 189.35-189.58 และ 181.11-181.60 กรัม.เซนติเมตร ตามลำดับ และที่การให้ความร้อน 2 ระดับจะให้ค่าความแข็งแรงเจลสูงกว่าที่การให้ความร้อน 1 ระดับ ในช่วงอุณหภูมิ 30-60 องศาเซลเซียส พบว่า ในเนื้อปลาสดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำ และผ่านการล้างน้ำ 1 ครั้ง ให้ค่าความแข็งแรงเจลสูงสุดที่การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยให้ค่าความแข็งแรงเท่ากับ 500.66 และ 245.75 กรัม.เซนติเมตร ตามลำดับ และเนื้อปลาสดที่ผ่านการล้าง

น้ำ 2 ครั้งให้ค่าความแข็งแรงเจลสูงสุดที่การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยให้ค่าความแข็งแรงเจลเท่ากับ 235.78 กรัม. เซนติเมตร จากภาพที่ 13 พบว่า เนื้อปลาบดในทุกสภาวะการล้างน้ำที่ผ่านการแช่ตัวที่อุณหภูมิ 80 และ 90 องศาเซลเซียส จะมีค่าความแข็งแรงเจลลดลง เนื่องจากความร้อนสูงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติของโปรตีนทำให้สูญเสียความสามารถในการจับกับน้ำ และกรดอะมิโน cysteine และ cystine เกิดการแตกตัวของหมู่ซัลไฟด์ไฮดริล (sulfhydryl group) และพันธะไดซัลไฟด์ (S-S bond) ลดลง (Johnson and Vickrey, 1964)

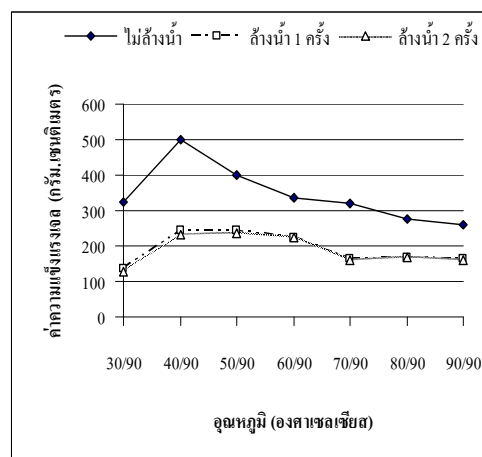
Suzuki (1981) อธิบายว่า การแช่ตัวที่อุณหภูมิ 40 ถึง 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ถึง 30 นาที จะให้เจลที่มีความแข็งแรงมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านการจัดเรียงตัว เนื่องจากที่อุณหภูมิ 5 ถึง 50 องศาเซลเซียส หรือเรียกว่า ซูวารี แอคโตโมไอซินในเนื้อปลาจะจับตัวกับน้ำ เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของโปรตีน เกิดโครงร่างตาข่าย มีการกักน้ำอยู่ภายในร่างแห เมื่อได้รับความร้อนโมเลกุลของโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงมีการจับตัวกันระหว่างกรดอะมิโนของโมเลกุลโปรตีนข้างเคียง ทำให้เจลที่ได้มีลักษณะค่อนข้างยืดหยุ่น

Lanier *et al.* (1982) พบว่า การให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำเป็นระยะเวลาหนึ่งก่อนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงจะมีผลให้เจลที่ได้มีความคงตัวและความแข็งแรงที่ดี ในขณะที่การให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงโดยไม่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำมาก่อนนั้น ทำให้พันธะไดซัลไฟด์ และอันตรกิริยาระหว่างหมู่ไม่ชอบน้ำโมเลกุลของโปรตีนเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว และขัดขวางการจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างร่างแห 3 มิติของโมเลกุลโปรตีน

Benjakul *et al.* (2003a) ศึกษาผลของระดับการให้ความร้อนที่มีต่อค่าความแข็งแรงเจลของซุริมิจากปลาทรายแดง ปลาดาทหวาน ปลาน้ำดอกไม้ และปลาจวด ที่ผ่านการให้ความร้อน 1 ระดับ (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 ถึง 8 ชั่วโมง) และการให้ความร้อน 2 ระดับ โดยนำตัวอย่างไปให้ความร้อนต่อที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที พบว่า ทุกตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อน 2 ระดับมีค่าความแข็งแรงเจลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

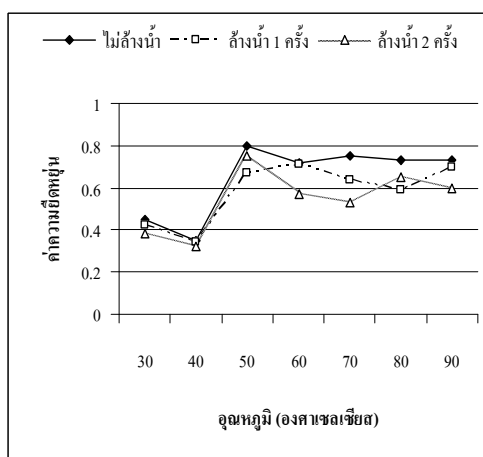


a)

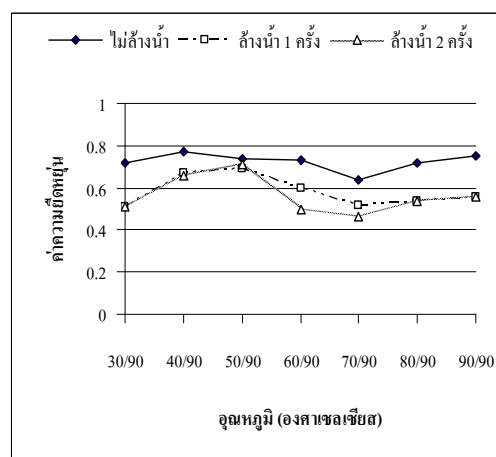


b)

ภาพที่ 13 ค่าความแข็งแรงเจลของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดเค็มเกลือร้อยละ 3 ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 85 ที่สภาวะการล้างน้ำ และอุณหภูมิต่าง ๆ a) ให้ความร้อน 1 ระดับ b) ให้ความร้อน 2 ระดับ

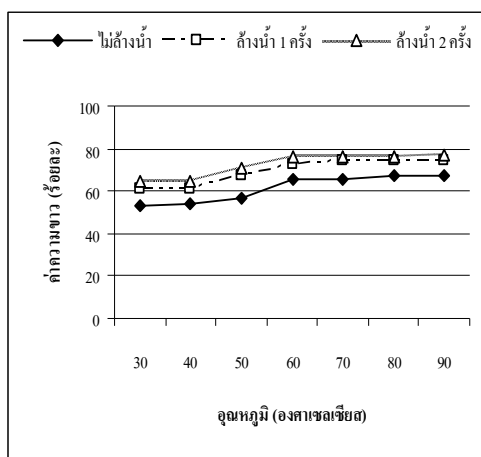


a)

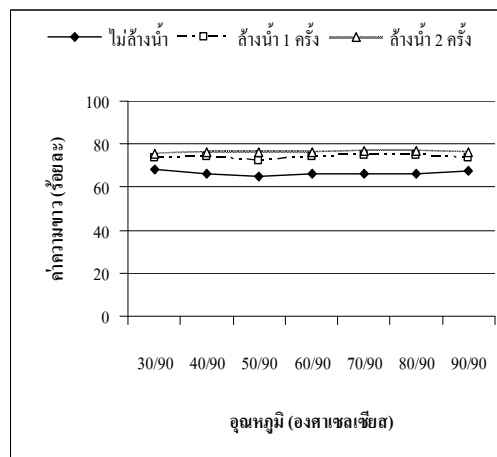


b)

ภาพที่ 14 ค่าความยืดหยุ่นของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดเค็มเกลือร้อยละ 3 ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 85 ที่สภาวะการล้างน้ำ และอุณหภูมิต่าง ๆ a) ให้ความร้อน 1 ระดับ b) ให้ความร้อน 2 ระดับ

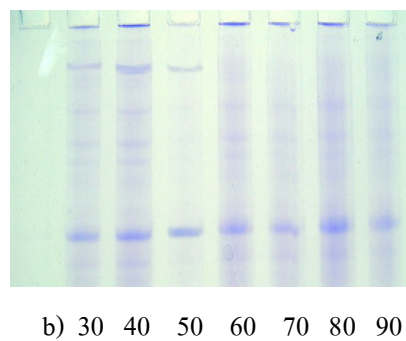
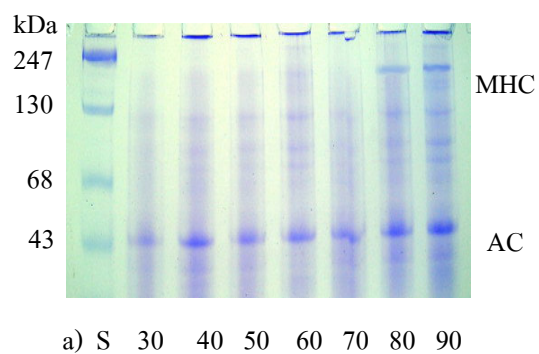


a)

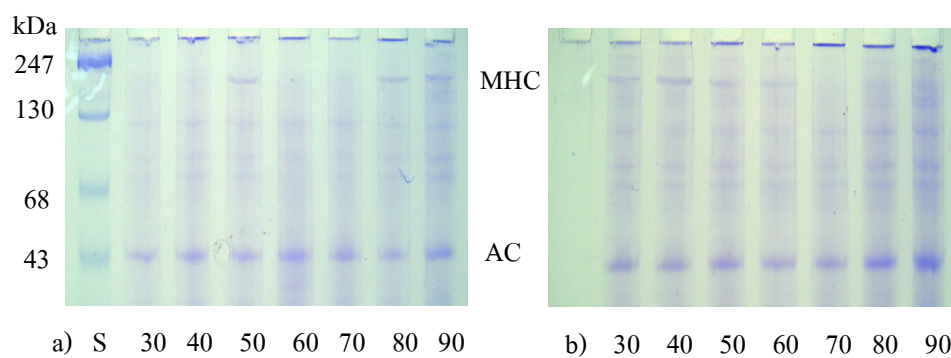


b)

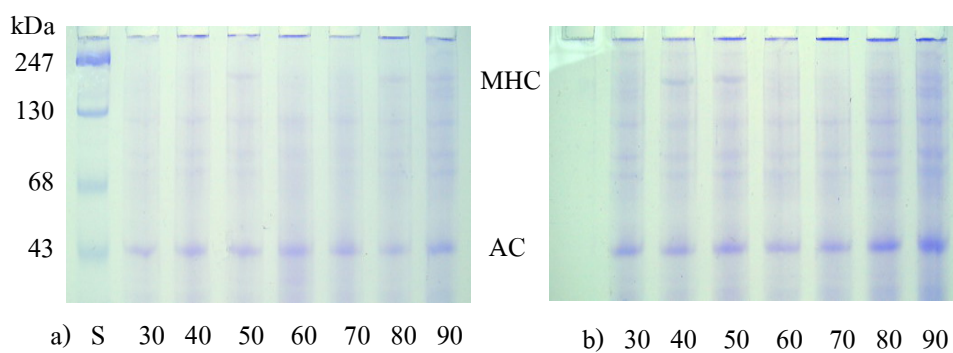
ภาพที่ 15 ค่าความยาวของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดเต็มเกลื้อร้อยละ 3 ปรับความชื้นเป็นร้อยละ 85 ที่สภาวะการให้น้ำ และอุณหภูมิต่าง ๆ a) ให้ความร้อน 1 ระดับ b) ให้ความร้อน 2 ระดับ



ภาพที่ 16 SDS-PAGE ที่ 7% acrylamide gel ของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่ไม่ผ่านการให้น้ำ และ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดย a) ให้ความร้อน 1 ระดับ, b) ให้ความร้อน 2 ระดับ



ภาพที่ 17 SDS-PAGE ที่ 7% acrylamide gel ของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่ผ่านการล้างน้ำ 1 ครั้ง และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดย a) ให้ความร้อน 1 ระดับ, b) ให้ความร้อน 2 ระดับ



ภาพที่ 18 SDS-PAGE ที่ 7% acrylamide gel ของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่ผ่านการล้างน้ำ 2 ครั้ง และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดย a) ให้ความร้อน 1 ระดับ, b) ให้ความร้อน 2 ระดับ

ตารางที่ 5 ความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่น และความขาวของปลานวลจันทร์น้ำจืดที่การให้ความร้อน 1 ระดับ ณ อุณหภูมิและสภาวะการล้างน้ำต่าง ๆ

ลักษณะที่ทดสอบ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
		ไม่ล้างน้ำ	ล้างน้ำ 1 ครั้ง	ล้างน้ำ 2 ครั้ง
ความแข็งแรงเจล (กรัม,เซนติเมตร)	30	$_{A}34.32^c \pm 0.93$	$_{B}29.11^f \pm 2.64$	$_{C}27.24^f \pm 1.29$
	40	$_{A}140.22^d \pm 2.19$	$_{B}79.26^c \pm 4.78$	$_{B}75.39^c \pm 2.19$
	50	$_{A}307.81^c \pm 11.22$	$_{B}175.68^b \pm 1.58$	$_{B}167.2^b \pm 1.9$
	60	$_{A}301.81^c \pm 2.17$	$_{B}131.19^c \pm 2.04$	$_{C}119.61^d \pm 3.34$
	70	$_{A}360.06^b \pm 6.02$	$_{B}124.23^d \pm 2.53$	$_{B}127.49^c \pm 3.87$
	80	$_{A}463.64^a \pm 1.7$	$_{B}189.58^a \pm 4.49$	$_{C}180.6^a \pm 1.31$
	90	$_{A}466.98^a \pm 9.35$	$_{B}189.35^a \pm 2.84$	$_{C}181.11^a \pm 1.66$
ความยืดหยุ่น	30	$_{A}0.45^c \pm 0.03$	$_{AB}0.42^c \pm 0.04$	$_{B}0.38^c \pm 0.02$
	40	$_{A}0.35^d \pm 0.02$	$_{AB}0.34^d \pm 0.06$	$_{B}0.31^f \pm 0.04$
	50	$_{A}0.8^a \pm 0.01$	$_{B}0.67^a \pm 0.07$	$_{AB}0.75^a \pm 0.02$
	60	$_{A}0.73^b \pm 0.04$	$_{A}0.71^a \pm 0.01$	$_{B}0.57^{cd} \pm 0.05$
	70	$_{A}0.75^b \pm 0.01$	$_{B}0.64^{ab} \pm 0.03$	$_{C}0.53^d \pm 0.01$
	80	$_{A}0.75^b \pm 0.01$	$_{C}0.59^b \pm 0.01$	$_{B}0.65^b \pm 0.04$
	90	$_{A}0.73^b \pm 0.03$	$_{A}0.7^a \pm 0.02$	$_{B}0.6^{bc} \pm 0.02$
ความขาว	30	$_{C}52.71^c \pm 0.6$	$_{B}61.08^c \pm 0.93$	$_{A}64.34^c \pm 2.57$
	40	$_{C}53.82^c \pm 0.32$	$_{B}61.31^c \pm 0.65$	$_{A}64.93^c \pm 1.48$
	50	$_{C}56.86^d \pm 0.39$	$_{B}67.22^b \pm 0.80$	$_{A}70.42^b \pm 0.88$
	60	$_{C}65.13^c \pm 0.42$	$_{B}72.93^a \pm 0.05$	$_{A}75.67^a \pm 0.09$
	70	$_{B}65.60^{bc} \pm 2.16$	$_{A}73.95^a \pm 1.73$	$_{A}76.35^a \pm 0.64$
	80	$_{B}67.18^{ab} \pm 1.35$	$_{A}74.64^a \pm 1.24$	$_{A}76.15^a \pm 0.17$
	90	$_{C}67.57^a \pm 0.32$	$_{B}74.28^a \pm 1.28$	$_{A}76.83^a \pm 1.30$

^{ac} ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรพิมพ์ใหญ่ต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$)

^{af} ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรพิมพ์เล็กต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$)

ตารางที่ 6 ความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่น และความขาวของปลานวลจันทร์น้ำจืดที่การให้ความร้อน 2 ระดับ ณ อุณหภูมิและสภาวะการล้างน้ำต่าง ๆ

ลักษณะที่ทดสอบ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
		ไม่ล้างน้ำ	ล้างน้ำ 1 ครั้ง	ล้างน้ำ 2 ครั้ง
ความแข็งแรงเจล (กรัม,เซนติเมตร)	30/90	$_{A}324.64^d \pm 1.98$	$_{B}135.25^c \pm 2.24$	$_{C}126.65^c \pm 1.57$
	40/90	$_{A}500.66^a \pm 5.99$	$_{B}245.75^a \pm 2.09$	$_{C}232.37^a \pm 5.89$
	50/90	$_{A}400.87^b \pm 7.8$	$_{B}242.51^a \pm 1.49$	$_{B}235.78^a \pm 3.48$
	60/90	$_{A}334.69^c \pm 3.52$	$_{B}225.86^b \pm 1.74$	$_{B}223.03^b \pm 2.84$
	70/90	$_{A}319.67^d \pm 5.52$	$_{B}165.41^{cd} \pm 2.15$	$_{B}159.22^d \pm 1.32$
	80/90	$_{A}277.61^c \pm 2.74$	$_{B}168.37^c \pm 2.99$	$_{B}167.55^c \pm 2.66$
	90/90	$_{A}258.63^f \pm 1.57$	$_{B}164.27^d \pm 1.97$	$_{B}161.18^d \pm 1.15$
ความยืดหยุ่น	30/90	$_{A}0.72^b \pm 0.02$	$_{B}0.51^c \pm 0.03$	$_{B}0.51^{bcd} \pm 0.02$
	40/90	$_{A}0.77^a \pm 0.02$	$_{B}0.67^a \pm 0.02$	$_{B}0.66^a \pm 0.03$
	50/90	$_{A}0.74^{ab} \pm 0.01$	$_{B}0.69^a \pm 0.02$	$_{AB}0.71^a \pm 0.02$
	60/90	$_{A}0.73^{ab} \pm 0.01$	$_{B}0.61^b \pm 0.04$	$_{C}0.50^{cd} \pm 0.05$
	70/90	$_{A}0.64^c \pm 0.04$	$_{B}0.52^c \pm 0.01$	$_{C}0.46^d \pm 0.02$
	80/90	$_{A}0.72^b \pm 0.01$	$_{B}0.54^c \pm 0.03$	$_{B}0.54^{bc} \pm 0.03$
	90/90	$_{A}0.75^{ab} \pm 0.05$	$_{B}0.56^{bc} \pm 0.05$	$_{B}0.56^b \pm 0.03$
ความขาว	30/90	$_{B}68.42^a \pm 0.51$	$_{A}73.77^a \pm 0.61$	$_{A}75.19^b \pm 2.16$
	40/90	$_{B}66.52^{ab} \pm 1.54$	$_{A}74.36^a \pm 1.57$	$_{A}76.07^a \pm 0.78$
	50/90	$_{C}64.64^b \pm 1.95$	$_{B}72.49^b \pm 0.63$	$_{A}75.88^a \pm 0.65$
	60/90	$_{B}66.48^{ab} \pm 1.55$	$_{A}74.44^a \pm 1.44$	$_{A}76.23^a \pm 0.58$
	70/90	$_{B}66.15^{ab} \pm 2.11$	$_{A}74.63^a \pm 1.86$	$_{A}76.52^a \pm 0.59$
	80/90	$_{B}66.52^{ab} \pm 1.24$	$_{A}74.71^a \pm 1.59$	$_{A}76.78^a \pm 0.47$
	90/90	$_{C}67.45^{ab} \pm 0.28$	$_{B}73.70^a \pm 1.00$	$_{A}76.43^a \pm 0.29$

^{ac} ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรพิมพ์ใหญ่ต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$)

^{af} ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรพิมพ์เล็กต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$)

จากผลการทดลองสรุปได้ว่า การล้างเนื้อปลาสดจากปลานวลจันทร์น้ำจืดทำให้ความแข็งแรงและความยืดหยุ่นลดลง แต่ค่าความขาวเพิ่มขึ้น ($P \leq 0.01$) การให้ความร้อน 2 ระดับทำให้ค่าความแข็งแรงเจลเพิ่มขึ้นในช่วงอุณหภูมิ 30 ถึง 60 องศาเซลเซียส ขณะที่การให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส ให้ค่าความแข็งแรงเจลลดลง โดยเนื้อปลาสดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำ ให้ความร้อน 2 ระดับที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ให้ค่าความแข็งแรงเจล เท่ากับ 500.66 กรัม.เซนติเมตร จึงทำการคัดเลือกสภาวะนี้ไปทำการผลิตลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด และได้ทำการคัดเลือกอีก 2 สภาวะ คือ ให้ความร้อนอุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาทีและ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เนื่องจากทั้ง 2 สภาวะนี้ให้ค่าความขาวมากกว่าสภาวะแรก แต่ให้ค่าความแข็งแรงเจลต่ำกว่า โดยในส่วนผสมของลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืดนั้นมีส่วนผสมของแป้ง ซึ่งสามารถช่วยในการปรับปรุงคุณภาพของเจลได้

4. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ยืดหยุ่น

จากการพิจารณาผลของการล้างน้ำ ระดับการให้ความร้อน และอุณหภูมิที่มีต่อความสามารถในการเกิดเจลของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการให้ความร้อนในการผลิตลูกชิ้น จึงเลือกสภาวะในการให้ความร้อน 2 ระดับ มา 3 สภาวะคือ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยไม่ผ่านการล้างน้ำ, อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ผ่านการล้างน้ำ 1 ครั้ง จากนั้นนำมาทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยทดสอบความชอบ และนำตัวอย่างที่ได้รับคะแนนความชอบสูงสุดมาทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่น ความขาว และความสามารถในการอุ้มน้ำ องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น ไขมัน โปรตีน และเถ้า

4.1 ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืดโดยการทดสอบความชอบ

นำลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืดที่ผลิตมาทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส แสดงผลดังตารางที่ 7 (ตารางผนวก 4) พบว่าสภาวะการผลิตมีผลต่อคะแนนความชอบในทุกคุณลักษณะ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบรวมอย่างมีนัยสำคัญ

($P \leq 0.01$) โดยที่สภาวะการผลิตที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยไม่ผ่านการล้างน้ำได้รับคะแนนความชอบในทุกคุณลักษณะสูงสุด ยกเว้นกลิ่น โดยมีคะแนนความชอบปานกลาง แต่คะแนนกลิ่นยังอยู่ในระดับชอบเล็กน้อย ดังนั้นจึงนำลูกชิ้นที่ผลิตจากสภาวะนี้ไปทำการประเมินคุณภาพทางกายภาพ และองค์ประกอบทางเคมีต่อไป

ตารางที่ 7 คะแนนความชอบเฉลี่ยทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืดที่ผลิตในสภาวะต่าง ๆ

คุณลักษณะ	สภาวะการผลิต	คะแนนเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ลักษณะปรากฏ	ไม่ล้างน้ำ ให้ความร้อนที่ 40/90	7.56 ^a $\pm$ 0.76
	ล้างน้ำ 1 ครั้ง ให้ความร้อนที่ 40/90	7.08 ^b $\pm$ 0.34
	ล้างน้ำ 1 ครั้ง ให้ความร้อนที่ 50/90	6.93 ^b $\pm$ 0.73
สี	ไม่ล้างน้ำ ให้ความร้อนที่ 40/90	7.38 ^a $\pm$ 0.99
	ล้างน้ำ 1 ครั้ง ให้ความร้อนที่ 40/90	6.90 ^b $\pm$ 0.72
	ล้างน้ำ 1 ครั้ง ให้ความร้อนที่ 50/90	6.78 ^b $\pm$ 0.83
กลิ่น	ไม่ล้างน้ำ ให้ความร้อนที่ 40/90	6.70 ^b $\pm$ 0.47
	ล้างน้ำ 1 ครั้ง ให้ความร้อนที่ 40/90	7.20 ^a $\pm$ 0.62
	ล้างน้ำ 1 ครั้ง ให้ความร้อนที่ 50/90	6.40 ^b $\pm$ 0.50
รสชาติ	ไม่ล้างน้ำ ให้ความร้อนที่ 40/90	7.35 ^a $\pm$ 0.67
	ล้างน้ำ 1 ครั้ง ให้ความร้อนที่ 40/90	6.95 ^b $\pm$ 0.69
	ล้างน้ำ 1 ครั้ง ให้ความร้อนที่ 50/90	6.45 ^c $\pm$ 0.51
เนื้อสัมผัส	ไม่ล้างน้ำ ให้ความร้อนที่ 40/90	7.95 ^a $\pm$ 0.87
	ล้างน้ำ 1 ครั้ง ให้ความร้อนที่ 40/90	6.70 ^b $\pm$ 1.17
	ล้างน้ำ 1 ครั้ง ให้ความร้อนที่ 50/90	5.75 ^c $\pm$ 0.91
ความชอบรวม	ไม่ล้างน้ำ ให้ความร้อนที่ 40/90	7.65 ^a $\pm$ 0.67
	ล้างน้ำ 1 ครั้ง ให้ความร้อนที่ 40/90	6.78 ^b $\pm$ 0.68
	ล้างน้ำ 1 ครั้ง ให้ความร้อนที่ 50/90	5.78 ^c $\pm$ 0.97

^{ac} ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรพิมพ์เล็กต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$)

4.2 ผลการประเมินคุณภาพทางกายภาพของลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด

จากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยการทดสอบความชอบ พบว่า ลูกชิ้นที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยไม่ผ่านการล้างน้ำได้รับคะแนนความชอบสูงสุด จึงนำมาทำการประเมินคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่น ความขาว และความสามารถในการอุ้มน้ำ (ตารางที่ 8) พบว่า ลูกชิ้น ปลานวลจันทร์น้ำจืดมีค่าความแข็งแรงเจล 629.87 กรัม. เซนติเมตร ค่าความยืดหยุ่น 0.79 ค่าความขาวร้อยละ 65.85 และความสามารถในการอุ้มน้ำร้อยละ 77.78

ตารางที่ 8 ความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่น ความขาว และความสามารถในการอุ้มน้ำของ ลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด

คุณลักษณะ	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ความแข็งแรงเจล (กรัม.เซนติเมตร)	629.87 $\pm$ 2.87
ความยืดหยุ่น	0.79 $\pm$ 0.02
ความขาว (ร้อยละ)	65.85 $\pm$ 0.36
ความสามารถในการอุ้มน้ำ (ร้อยละ)	77.78 $\pm$ 4.81

4.3 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด แสดงผลดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 องค์ประกอบทางเคมีของลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด

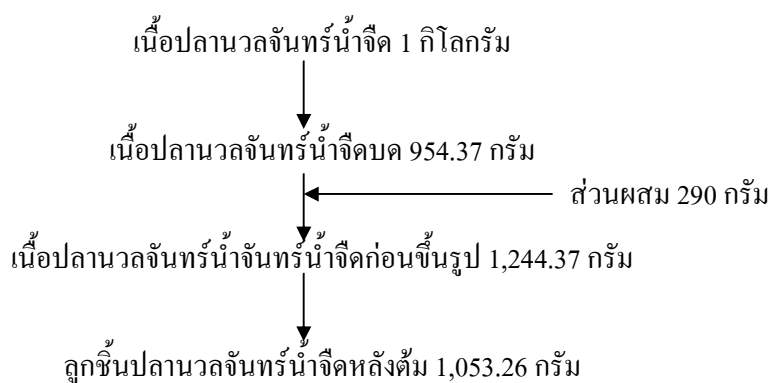
องค์ประกอบ	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ร้อยละของน้ำหนักเปียก)
ความชื้น	76.24 $\pm$ 0.78
โปรตีน	13.87 $\pm$ 0.16
ไขมัน	0.72 $\pm$ 0.03
คาร์โบไฮเดรต*	7.81 $\pm$ 0.90
เถ้า	1.40 $\pm$ 0.03

* ได้จากการหักลบ

5. การคำนวณต้นทุนวัตถุดิบในการผลิตลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด

5.1 การคำนวณสมดุลมวลสาร (Material balance)

ผลจากการคำนวณสมดุลมวลสารจากระบวนการผลิตลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด แสดงดังภาพที่ 19 พบว่า ผลผลิตเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดจากปลานวลจันทร์น้ำจืดทั้งตัว 1 กิโลกรัมมีค่าเท่ากับ 467.63 กรัม และผลผลิตลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืดจากเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด 1 กิโลกรัมได้ลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืดเท่ากับ 1,053.26 กรัม



ภาพที่ 19 ผลผลิตลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด

5.2 การคำนวณต้นทุนวัตถุดิบในการผลิตลูกชิ้นปลาน้ำจืด

นำผลจากการคำนวณสมมูลมวลสารของผลผลิตเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด (ภาพที่ 19) มาคำนวณต้นทุนราคาเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด พบว่าต้นทุนราคาเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด 1 กิโลกรัม เท่ากับ 64 บาท โดยคำนวณจากปลานวลจันทร์น้ำจืดทั้งตัวราคา กิโลกรัมละ 30 บาท

เมื่อกำหนดต้นทุนวัตถุดิบในการผลิตลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืดในปี 2549 พบว่าการผลิตลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด 1 สูตร ที่ใช้เนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดเริ่มต้น 1 กิโลกรัม ได้ผลผลิตลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด 1,053.26 กรัม มีต้นทุนเท่ากับ 72.82 บาท ดังนั้น ต้นทุนลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด 1 กิโลกรัม เท่ากับ 69.14 บาท

ตารางที่ 10 ต้นทุนวัตถุดิบในการผลิตลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืด (ราคาในปี 2549)

วัตถุดิบ	ราคา (บาท/กิโลกรัม)	ปริมาณการใช้ (ร้อยละ)	ปริมาณการใช้ต่อ 1 สูตร (กรัม)	ราคา (บาท)
เนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืด	64	77.52	1,000	64.00
เกลือ	10	2.7	35	0.35
น้ำตาลทราย	17	3.49	45	0.77
กระเทียมผง	400	0.31	4	1.60
พริกไทย	460	0.47	6	2.76
น้ำมันพืช	32	1.55	20	0.64
ซีอิ๊วขาว	40	2.33	30	1.20
แป้งมันสำปะหลัง	24	3.88	50	1.20
น้ำ	3	7.75	100	0.30
รวมราคาวัตถุดิบ			1,291	72.82

สรุปผลการทดลอง

1. ในกลัมน้ำของปลานวลจันทร์น้ำจืดมีปริมาณโปรตีนซาร์โคพลาสมิก โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ โปรตีนที่ละลายในด่าง โปรตีนสโตรมา และสารประกอบในโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน เท่ากับ 8.42 ± 0.32 , 13.42 ± 0.32 , 1.48 ± 0.02 , 1.39 ± 0.02 และ 2.32 ± 0.16 และในกลัมน้ำขาว 6.42 ± 0.17 , 15.60 ± 0.14 , 0.28 ± 0.04 , 0.40 ± 0.02 และ 4.78 ± 0.13 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกรัมตัวอย่างตามลำดับ

2. เมื่อเก็บรักษาปลานวลจันทร์น้ำจืดนานขึ้นค่าความแข็งแรงเจล ความสามารถในการอุ้มน้ำมีแนวโน้มลดลง ($P \leq 0.01$) ขณะที่ค่า K และ pH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($P \leq 0.01$) โดยปลานวลจันทร์น้ำจืดที่เก็บในน้ำแข็งเป็นเวลา 14 วัน เริ่มมีลักษณะทางประสาทสัมผัสไม่เป็นที่ยอมรับ โดยมีค่าความแข็งแรงเจลเท่ากับ 176.69 ± 3.41 กรัม.เซนติเมตร ค่า pH 6.61 ค่า K และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำคิดเป็นร้อยละ 48.81 และ 70.08 ตามลำดับ

3. การล้างเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดบดทำให้ค่าความแข็งแรงเจลและความยืดหยุ่นลดลง แต่ค่าความขาวเพิ่มขึ้น ($P \leq 0.01$) การให้ความร้อน 2 ระดับทำให้ค่าความแข็งแรงเจลเพิ่มขึ้นในช่วงอุณหภูมิ 30 ถึง 60 องศาเซลเซียส ขณะที่การให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียสให้ค่าความแข็งแรงเจลลดลง โดยเนื้อปลาบดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำ ให้ความร้อน 2 ระดับที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส 20 นาที ให้ค่าความแข็งแรงเจลสูงสุด เท่ากับ 500.66 กรัม.เซนติเมตร

4. ลูกชิ้นปลานวลจันทร์น้ำจืดจากเนื้อปลาบดที่ไม่ผ่านการล้างน้ำ และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ได้รับคะแนนความชอบปานกลางในคุณลักษณะด้านลักษณะปรากฏ, สี, รสชาติ, เนื้อสัมผัส และความชอบรวม ส่วนคุณลักษณะด้านกลิ่นได้รับคะแนนอยู่ในระดับชอบเล็กน้อย และมีค่าความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่น ความขาว และความสามารถในการอุ้มน้ำเท่ากับ 629 ± 2.87 กรัม.เซนติเมตร, 0.79 ± 0.02 , ร้อยละ 65.85 $\pm$ 0.36 และร้อยละ 77.78 $\pm$ 4.81 ตามลำดับ และมีความชื้น, โปรตีน, ไขมัน, คาร์โบไฮเดรต และเถ้าร้อยละ 76.24 $\pm$ 0.78, 13.87 $\pm$ 0.16, 0.72 $\pm$ 0.03, 7.81 $\pm$ 0.90 และ 1.40 $\pm$ 0.03 ตามลำดับ

5. ต้นทุนวัตถุดิบลูกชิ้นปลาขนาดจันทน์น้ำจืดต่อ 1 กิโลกรัม ในปี 2549 เท่ากับ 69.14 บาท

ข้อเสนอแนะ

1. จากผลของสภาวะการเลี้ยงน้ำ อุณหภูมิ และระดับการให้ความร้อน ควรนำผลไปใช้ในการศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์ยืดหยุ่นชนิดอื่น ๆ จากปลานวลจันทร์น้ำจืด เช่น "ไส้กรอกปลา" เพื่อเพิ่มความหลากหลายของผลิตภัณฑ์

2. ควรมีศึกษาการพัฒนาสูตรในการผลิตลูกชิ้นจากปลานวลจันทร์น้ำจืด โดยอาจมีการใช้วัตถุเจือปนอาหาร เช่น การใช้แป้งถั่วเหลืองปั่นผสมกับน้ำและน้ำมัน เพื่อช่วยเพิ่มคุณลักษณะที่ดีให้แก่ผลิตภัณฑ์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

จักรี ทองเรือง. 2544. ชูริมิ. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

จิรวัดน์ ยงสวัสดิกุล. 2541. การเกิดเจลของโปรตีนกล้ามเนื้อปลา. วารสารอาหาร. 28(4): 245-254.

_____. 2544. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการ ผลกระทบของคุณภาพความสดและการสูญเสียสภาพธรรมชาติของแอคโตมัยโอซินต่อความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนกล้ามเนื้อจากปลาทรายแดง (*Nemipterus spp.*) PDF 43/2542.

จิราวรรณ แยมประยูร. 2530. การเก็บรักษาและการใช้เนื้อปลาที่แยกกระดูกแล้วด้วยเครื่องในการผลิตลูกชิ้น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

_____, พรหมทิพย์ สุวรรณสาครกุล และปัทมีย์ เกียรติกังวาล. 2523. ศึกษาเทคนิคการผลิตลูกชิ้นปลา, น.64-68. ในรายงานวิชาการและการทดลองประจำปี 2523. กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

นวลพรรณ ฉะนอง. 2540. ปฏิบัติการเอนไซม์วิทยา. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

ประวิทย์ สุรนิรนาถ. 2543. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ปลาน้ำจืดของไทย. แหล่งที่มา : <http://www.ku.ac.th/AgrInfo/thaifish/fresh/fwf166.html>

ปวีณา น้อยทัพ. 2539. การพัฒนาการผลิตลูกชิ้นปลาผสมปลาหมึกและการเก็บรักษา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พะอบ ใจเย็น. 2546. การดูแลรักษาคุณภาพสัตว์น้ำในเรือประมง. กรมประมง, กรุงเทพฯ.

พิมลวรรณ อันไพศาล. 2535. การปรับปรุงคุณภาพลูกชิ้นปลาแช่เยือกแข็ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วราทิพย์ สมบุญญฤทธิ์. 2531. คุณภาพเนื้อปลาสดแบบสุริมิจากปลาหลังเขียวและปลานิลสดและแช่เยือกแข็ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2536. สุริมิและผลิตภัณฑ์จากสุริมิ. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

_____. 2543. สุริมิและผลิตภัณฑ์จากสุริมิ. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

_____. 2548. เคมี่และคุณภาพสัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานสถิติแห่งชาติ. กระทรวงเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. 2545. ผลผลิตของฟาร์มเลี้ยงสัตว์น้ำจืดจำแนกตามประเภทการเลี้ยงและชนิดสัตว์น้ำที่ผลิตได้. แหล่งที่มา : http://service.nso.go.th/nso/nso_center/project/table/files/0700500/2545/000/00_0700500_2545_000_000000_00300.xls

สำนักงานสถิติแห่งชาติ. กระทรวงเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. 2547. ผลผลิตของฟาร์มเลี้ยงสัตว์น้ำจืดจำแนกตามประเภทการเลี้ยงและชนิดสัตว์น้ำที่ผลิตได้. แหล่งที่มา : http://service.nso.go.th/nso/nso_center/project/table/files/0700500/2547/000/00_0700500_2547_000_000000_00300.xls

สุพรรณพันธ์ ชุมเรียง. 2539. ผลของโปแตสเซียมโบรเมตและไข่ขาวต่อความสามารถในการเกิดเจลของสุริมิ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

อากัสรา ชมิดท์. 2537. **เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส**. คณะสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
กรุงเทพฯ.

องค์การสะพานปลา. 27 กรกฎาคม 2549. **ราคาสัตว์น้ำ**. แหล่งที่มา :
<http://www.fishmarket.co.th/price.php>

อรทัย เปี่ยมปรีดา. 2544. **การผลิตลูกชิ้นปลาจากเนื้อปลาสองชนิด**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Ablett, R.F., E.G. Bligh and K. Spencer. 1991. Influence of freshness on quality of white hake
(*Urophycis tenuis*) surimi. **Can. Inst. Food Sci. Technol. J.** 24: 36-41.

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

Belitz, H.D., W. Grosch and P. Schieberle. 2004. **Food Chemistry**. 3rd rev. ed. Springer
Verlag, New York.

Benjakul, S., W. Visessanguan and C. Chantarasuwan. 2003a. Effect of medium-temperature
setting on gelling characteristic of surimi from some tropical fish. **Food Chemistry**.
82: 567-574.

_____. and J. Tueksuban. 2003b. Changes in physio-chemical
properties and gel-forming ability of lizardfish (*Saurida tumbil*) during post-mortem
storage in ice. **Food Chemistry**. 80: 535-544.

_____. and C. Chantarasuwan. 2004a. Effect of high-temperature
setting on gelling characteristic of surimi from some tropical fish. **J. Food Sci.** 39:
671-680.

-
- _____, J. Tueksuban and M. Tanaka. 2004b. Effect of some protein additives on proteolysis and gel-forming ability of lizardfish (*Saurida tumbil*). **Food Hydrocolloid**. 18: 396-401.
- Castel, C.H. 1946. The effect of trimethylamine oxide on the growth of bacteria. **J. Fish. Res. Board Canada**. 6 : 491-497.
- 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.
- Damodaran, S. 1996. Amino acids, peptides, and proteins, *In* O.R. Fennema, ed. **Food Chemistry**. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Funatsu, Y. and K. Arai. 1991. The pH-dependence of changes in gel forming ability and myosin heavy chain of salt-ground meat from walleye pollock. **Nippon Suisan Gakkaishi**. 57: 1978-1980.
- Gill, T.A. 1992. Biochemical and chemical indices of seafood quality, pp. 377-388. *In* H.H. Huss, M. Jacobsen and J. Liston, eds. **Proceeding of An International Conference**. Elsevier, Amsterdam.
- Gopakumar, K. 2000. Enzymes and enzyme products as quality indices, *In* Haard, N.F. and B.K. Simpson, eds. **Seafood Enzymes Utilization and Influence on Postharvest Seafood Quality**. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Haard, N.F., B.K. Simpson 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.

- 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.
- Jiang, S.T., C.C. Lan and C.Y. Tsao. 1986. New approach to improve the quality of minced fish products from freeze-thawed cod and mackerel. **J. Food Sci.** 51: 310-312.
- 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.
- Kimura, I., M. Sugimoto, K. Toyoda, N. Seki, K. Arai and T. Fujita. 1991. A study of the cross-linking reaction of myosin in kamaboko “suwari” gels. **Nippon Suisan Gakkaishi.** 57: 1389-1396.
- Kumazama, Y., K. Nakanishi, H. Yasueda and M. Motiki. 1996. Purification and characterization of transglutaminase from Alaska pollack liver. **Fisheries Sci.** 62: 959-964.
- Kurokawa, T. 1979. Kamaboko-forming ability of frozen and ice stored lizardfish. **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.** 45 : 1551-1555.
- Lanier, T.C., G.M. MacDonald and D.N. Scott. 1988. **Surimi technology workshop note.** Nelson, New Zealand.
- _____. and C.M. Lee. 1992. **Surimi Technology.** Marcel Dekker, Inc., New York.
- _____. 2000. Surimi gelation chemistry, *In* J.W. Park, ed. **Surimi and Surimi Seafood.** Marcel Dekker, Inc., New York.
- Lee, H.G., C.M. Lee and S.A. Lavery. 1992. Sodium ascorbate affects surimi gel – forming properties. **J. Food Sci.** 57: 1343-1347.

- Macdonald, G.A., J. Lelievre and N.D.C. Wilson. 1992. Effect of frozen storage on the gel-forming properties of hoki (*Macruronus novaezelanddiae*). **J. Food Sci.** 57(1): 69-71.
- MFRD. 1987. **Handbook on Processing of Frozen Surimi and Fish Jelly Products in Southeast Asia.** SEAFDEC, Singapore.
- _____. 1992. **Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish Products.** SEAFDEC, Singapore.
- Motohiro, T. 1981. General aspect of processing marine food, *In* T. Motohiro., H. Kadota., K. Hashimoto., M. Kayama and T. Tokunaga, eds. **Science of Processing Marine Food Products vol. II.** Kanagawa International Fisheries Training Center, Japan International Cooperation Agency, Japan.
- Mulvihill, D.M. and J.E. Kinsella. 1987. Gelation characteristics of whey proteins and beta-lactoglobulin. **Food Technol.** 41(11): 102.
- Nelson, J.S. 1994. **Fishes of the World.** 3rd ed., John Wiley and Sons, Inc., New York.
- 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.
- Nowsad, A.A., S. Kanoh and E. Niwa. 1994. Setting of transglutaminase-free actomyosin paste prepared from Alaska pollack surimi. **Fisheries Sci.** 60: 295-297
- Okada, M. 1985. Ingredients on gel texture, pp. 515-528. *In* R.E. Martin and R.L. Coll, eds. **Proceedings of the International Symposium on Engineered Seafood Including Surimi.** National Fisheries Institute, Washington, D.C.

- 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.
- 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.
- Samejima, K., M. Ishioroshi and T. Yasui. 1981. Relative roles of the head and tail portions of the molecule in the heat-induced gelation of myosin. **J. Food Sci.** 46: 1412-1416.
- Sano, T., T. Ohn, H. Otsuka-Fuchino, J.J. Matsumoto and T. Tsuchiya. 1994. Carp natural actomyosin: thermal denaturation mechanism. **J. Food Sci.** 59: 1002-1008.
- Shimizu, Y. 1975. **Technology of kamaboko. Science of Cookery.** 8: 184.
- _____. and W. Shimidu. 1985. Ashi of kamaboka evaluation of ashi. **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.** 26: 911-916.
- Stone, A.P. and D.W. Stanley. 1992. Mechanisms of fish muscle gelation. **Food Res. Int.** 25: 381-388.
- Suwansakormkul, 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 Pub, London.
- Uchiyama, H. 1976. **Analytical method for estimating freshness of fish.** SEAFDEC. Bangkok.

Weber, K. and M. Osborn. 1969. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. **J. Bio Chem.** 244: 4406-4412.

Xiong, Y.L. 1997. Structure-function relationships of muscle proteins, pp. 341-392. *In* S. Damodaran and A. Paraf, eds. **Food Proteins and their Applications.** Marcel Dekker, Inc., New York.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

แบบทดสอบ

ภาคผนวก ก1 แบบทดสอบความชอบ โดยวิธี 9-points hedonic scale

ตัวอย่าง : ลูกชิ้นปลา

ผลิตภัณฑ์.....ชุดที่.....

ชื่อผู้ทดสอบชิม.....วันที่.....เวลา.....

คำแนะนำ กรุณาชิมตัวอย่างจากซ้ายไปขวาแล้วให้คะแนนความชอบตัวอย่างในแต่ละปัจจัยที่ใกล้เคียงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด

9 = ชอบมากที่สุด	6 = ชอบเล็กน้อย	3 = ไม่ชอบปานกลาง
8 = ชอบมาก	5 = เฉยๆ	2 = ไม่ชอบมาก
7 = ชอบปานกลาง	4 = ไม่ชอบเล็กน้อย	1 = ไม่ชอบมากที่สุด

ปัจจัย	คะแนนความชอบ			
ลักษณะปรากฏ				
สี				
กลิ่น				
รสชาติ				
ลักษณะเนื้อสัมผัส				
ความชอบรวม				

ข้อเสนอแนะ.....

.....

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

ภาคผนวก ข1 การวัดค่า K (K – Value) (MFRD, 1992)

1. สารเคมี

1.1 สำหรับการเตรียมตัวอย่าง สารเคมีที่เตรียมแล้วจะต้องเก็บไว้ในที่อุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส

1.1.1 10% perchloric acid (PCA) : ละลาย PCA (60-70%, HClO_4) 10 มิลลิลิตร ใน น้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร

1.1.2 5% PCA : ละลาย PCA 10 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 190 มิลลิลิตร

1.1.3 neutralized PCA : นำสารละลาย PCA 5% จำนวน 100 มิลลิลิตร มาทำให้ เป็นกลางด้วย 10 N KOH ให้มี pH 6.4 ทำให้สารละลายเป็นที่ 5 องศาเซลเซียส แล้วกรองตะกอน (KClO_4) ที่เกิดขึ้นด้วยกระดาษกรอง

1.1.4 10 N KOH : ละลาย KOH 56 กรัมด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับให้เป็น 100 มิลลิลิตร

1.1.5 1 N KOH : ละลาย KOH 5.6 กรัมด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับให้เป็น 100 มิลลิลิตร

1.2 สำหรับการเตรียม ion-exchange chromatography

1.2.1 สารละลาย 0.5 M NH_4OH : เจือจาง NH_4OH 25% จำนวน 4 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ กลั่น 96 มิลลิลิตร

1.2.2 สารละลาย A (0.001 N HCl) : เจือจางสารละลายมาตรฐาน 1 N HCl จำนวน 1 มิลลิลิตร ให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

1.2.3 สารละลาย B (0.01 N HCl ที่มี 0.6 M NaCl) : ละลาย NaCl 35.07 กรัม ด้วย น้ำกลั่นแล้วเติมสารนี้ลงในสารละลาย 1 N HCl จำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

1.2.4 anion exchange resin : AG® – x4, 100-200 mesh chloride form (Bio-rad Co.) [ใน lab ใช้ 1x4 200-400 mesh Cl^- form (Dowex)]

1.3 สำหรับการเตรียม ion-exchange resin

1.3.1 acetone

1.3.2 0.1 N NaOH

1.3.3 0.1 HCl

2. วิธีการวิเคราะห์

2.1 การเตรียม ion-exchange resin

2.1.1 นำ anion exchange resin มาประมาณ 100 กรัม เติม acetone 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที พร้อมกับคนเป็นครั้งคราว กรองผ่าน Bucher funnel

2.1.2 เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน 1 ลิตร พร้อมกับคน นำไปกรองผ่าน Bucher funnel

2.1.3 เติม 0.1 N NaOH ประมาณ 500 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที พร้อมกับคนเป็นครั้งคราว กรองผ่าน Bucher funnel

2.1.4 ดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 2

2.1.5 เติม 0.1 N HCl ประมาณ 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที พร้อมกับคนเป็นครั้งคราว กรองผ่าน Bucher funnel

2.1.6 ดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 2 แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นจนกว่า filtrate เป็นกลาง ทดสอบด้วยกระดาษวัด pH แล้วเก็บ resin นี้ไว้ใช้ในขวดที่มีน้ำกลั่นปราศจากไอออน เก็บไว้ที่ 5 องศาเซลเซียส

2.2 การเตรียมตัวอย่าง

2.2.1 นำตัวอย่างมาบดละเอียดด้วยเครื่องปั่นสแตนเลส นำตัวอย่างมา 1 กรัม เติม 10% PCA (แช่เย็น) จำนวน 2 มิลลิลิตร บดให้เข้ากันด้วยโกร่งบด หลังจากนั้นนำไป centrifuge ที่ 3000 rpm นาน 3 นาที

2.2.2 แยกส่วนใสเก็บไว้ นำกากที่เหลือมาเติม 5% PCA (แช่เย็น) จำนวน 2 มิลลิลิตร บดให้เข้ากันด้วยโกร่งบด หลังจากนั้น นำไป centrifuge ที่ 3000 rpm นาน 3 นาที

2.2.3 แยกส่วนใสเก็บไว้ ดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 2 อีกครั้ง นำส่วนใสที่สกัดได้ รวมกันประมาณ 6 มิลลิลิตร ทำให้เป็นกรดด้วย 10 N KOH (ประมาณ 6-8 หยด) จนมี pH 3 ทดสอบด้วย TB paper (TB = thymol blue)

2.2.4 ทำให้เป็นกลางด้วย 1 N KOH (ประมาณ 4 หยด) จนมี pH 6.5 ถึง 6.8 ทดสอบด้วย BTB paper (bromothymol blue) นำไป centrifuge ที่ 3000 rpm นาน 3 นาที

2.2.5 แยกส่วนใสเก็บไว้ในขวด volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร นำกากที่เหลือมาเติม neutralized PCA (pH 6.4 แช่เย็น) จำนวน 2 มิลลิลิตร บดให้เข้ากัน นำไป centrifuge ที่ 3000 rpm นาน 3 นาที แยกส่วนใส ทิ้งตะกอน KClO_4

2.2.6 นำส่วนใส่ทั้งหมดมารวมกัน ปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร ด้วย neutralized PCA (pH 6.4 แซ่เย็น) เทใส่หลอด ปิดจุก แซ่แข็งที่ - 20 องศาเซลเซียส (ถ้าจำเป็น) นำมาทดสอบใน ion exchange column

2.3 การหาค่า K

2.3.1 นำตัวอย่างที่สกัดไว้แล้ว 2 มิลลิลิตร มาปรับ pH เป็น 9.4 ด้วย 0.5 NH₄OH (ใช้ pH paper)

2.3.2 นำตัวอย่างใส่เข้าไปใน column ที่เตรียมไว้ rinse ด้วยน้ำเล็กน้อย ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ไม่มีไอออน 20 มิลลิลิตร

2.3.3 elute ด้วย solution A จำนวน 45 ถึง 50 มิลลิลิตร ส่วนที่ได้จะเป็น HxR, Hx ใส่ใน volumetric flask 50 มิลลิลิตร ปรับให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ด้วย solution A วัด OD ที่ 250 นาโนเมตร

2.3.4 elute ด้วย solution B จำนวน 45 ถึง 50 มิลลิลิตร ส่วนที่ได้จะเป็น ATP, ADP, AMP และ IMP ใส่ใน volumetric flask 50 มิลลิลิตร ปรับให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ด้วย solution B วัด OD ที่ 250 นาโนเมตร

การคำนวณ

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

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 ข2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (A.O.A.C., 2000)

1. ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม และ selenium reagent mixture ประมาณ 1 กรัมใส่ในขวดย่อย (Kjeldahl flask)

2. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร นำไปย่อยโดยให้ความร้อนอ่อน ๆ ในระยะแรก แล้วค่อยเพิ่มความร้อนให้สูงขึ้น ย่อยจนได้สารละลายใสย่อยต่อไปอีก 30 นาทีจึงยุติ

3. ปล่อยให้เย็นลงหรือพอร้อนๆ เติมน้ำกลั่นลงไปประมาณ 30 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 32 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 จนกระทั่งถึงจุดยุติจะเปลี่ยน เป็นสีชมพู
6. ทำ blank โดยใช้ภาวะเดียวกันกับตัวอย่าง
7. นำปริมาณกรดกำมะถันที่ใช้ในการไตเตรทไปใช้ในการคำนวณปริมาณไนโตรเจน

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

A = ความเข้มข้นของกรดกำมะถัน

B = ปริมาณกรดกำมะถันที่ใช้ในการไตเตรทกับตัวอย่าง

C = ปริมาณกรดกำมะถันที่ใช้ในการไตเตรทกับ blank

8. การคำนวณปริมาณโปรตีน

$$\text{ร้อยละของโปรตีน} = \text{ร้อยละไนโตรเจน} \times 6.25$$

ภาคผนวก ข3 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (A.O.A.C., 2000)

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอน (ตัวอย่างสด 5-10 กรัม ตัวอย่างแห้งประมาณ 2 กรัม) ใส่กระดาดกรอง นำไปอบให้แห้งแล้วพับใส่ใน thimble
2. อบและชั่งน้ำหนักของถ้วยสกัด (cup) ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน
3. เติมห่วงทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในถ้วยสกัด 50 มิลลิลิตร แล้วต่อเข้ากับเครื่องสกัด จากนั้นทำการสกัดไขมัน ประมาณ 15 นาที
4. ออกและนำถ้วยสกัดที่มีไขมันและตัวทำละลายที่ติดมาเล็กน้อยไปประเหยตัวทำละลายออกให้หมด โดยใช้อุณหภูมิต่ำ ๆ จากนั้นปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) แล้วนำไปชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักคงที่

5. การคำนวณปริมาณไขมัน

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

ภาคผนวก ข 4 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2000)

1. อบ aluminium dish ที่อุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) แล้วชั่งน้ำหนัก นำไปอบต่ออีก 30 นาที ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนักเพื่อให้ได้น้ำหนักคงที่ ถ้าไม่คงที่ให้อบซ้ำอีกครั้ง

2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 2-10 กรัม ลงใน aluminium dish แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 – 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก

3. นำไปอบอีกครั้งที่สภาวะเดิม ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกว่าน้ำหนักจะคงที่

4. การคำนวณปริมาณความชื้น

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

ภาคผนวก ข 5 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (A.O.A.C., 2000)

1. เเผ crucible ในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500-550 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง นำออกจากเตา ทิ้งไว้สักครู่ นำเข้าโถดูดความชื้น (desiccator) ปล่อยให้เย็น ชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกว่าน้ำหนักจะคงที่

2. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (ตัวอย่างแห้งประมาณ 2 กรัม ตัวอย่างสด 8-12 กรัม) ใส่ใน crucible ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน

3. เเผ crucible จนกระทั่งหมดควัน จึงนำเข้าเตาเผา เเผที่อุณหภูมิ 500-550 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง นำออกจากเตาทิ้งไว้สักครู่ นำเข้าโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็น ชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่

4. การคำนวณปริมาณเก่า

$$\text{ร้อยละของเก่า} = \frac{\text{น้ำหนักเก่า}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

ภาคผนวก ข6 วิธีตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนด้วย gel electrophoresis (Weber and Osborn, 1969)

1. สารเคมี

1.1 ammonium persulphate

1.2 stock I : acrylamide solution (ละลาย acrylamide 22.2 กรัม และ methylene-bis-acrylamide 0.6 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร)

1.3 stock II : 0.5 M sodium phosphate buffer pH 7.2 (ละลาย $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 15.907 กรัม และ NaH_2PO_4 56.5306 กรัม ในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 7.2 จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เป็น 1 ลิตร)

1.4 stock III : 10% sodium dodecylsulphate (SDS) (ละลาย SDS 10 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เป็น 100 มิลลิลิตร)

1.5 solubilized solution : 8 M urea-2% SDS-0.05 M sodium phosphate pH 6.8 (ชั่ง urea 480.48 กรัม, SDS 2 กรัม และ 0.5 M phosphate buffer 100 มิลลิลิตร เติมน้ำ 300 มิลลิลิตร แช่ในน้ำอุ่นให้ละลาย ปรับ pH 6.8 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร)

1.6 electrophoresis running (ใช้ stock II 100 มิลลิลิตร และ stock III 5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร)

1.7 staining solution (ใช้ coomassie brilliant blue R250 0.6 กรัม ละลายในเมทานอล 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติม acetic acid 46 มิลลิลิตร และ น้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ละลายให้เข้ากัน)

1.8 destaining solution I ใช้อัตราส่วนระหว่าง acetic acid : methanol : H_2O เป็น 50:600:1250

1.9 destaining solution II ใช้อัตราส่วนระหว่าง acetic acid : methanol : H_2O เป็น 150:100:1750

1.10 7% acetic acid ใช้เก็บ Gel ที่ล้างด้วย destaining solution จนใสแล้ว marker BPB (bromphenol blue 0.05% ผสมกับ glycerol 2.5% ในน้ำกลั่น)

2. การเตรียมตัวอย่าง

2.1 ชั่งตัวอย่างเนื้อปลาหรือซูริมิ 0.25 กรัม ใส่หลอดแก้วแช่น้ำแข็ง

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

2.3 กวนสารละลายบน magnetic stirrer 24 ชั่วโมงและ/หรือละลายตัวอย่างใน glass tube Teflon homogenizer ให้ grinder จุ่มในสารละลายเพื่อไม่ให้เกิดฟอง จับหลอดแก้วเลื่อนขึ้นลงจนไม่มีชิ้นเนื้อปลาและสารละลายใสมากประมาณ 30-45 นาที

2.4 ต้มตัวอย่างที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที แช่น้ำเย็นเก็บตัวอย่างในตู้เย็น -20 องศาเซลเซียส

3. การเตรียมเจล (7% acrylamide gel)

3.1 เตรียมอุปกรณ์ เพื่อทำ slab gel

3.2 ชั่ง ammonium persulphate 0.0113 กรัม เติมน้ำกลั่น 7.14 มิลลิลิตร (รับชั่งเนื่องจากอากาศจะ oxidise)

3.3 เติม stock solution I II III (ถ้าอุณหภูมิต่ำ stock solution II III อาจตกตะกอนใช้วิธีแช่น้ำอุ่นก่อนจนละลาย แล้วเขย่าให้เข้ากันก่อนปิเปต)

3.4 หลังจากเติม stock solution I II III เขย่าให้เข้ากัน นำเอาไปใส่ในอ่างอากาศ (ถ้าใช้ ultrasonic bath ประมาณ 5-10 นาที)

3.5 นำขวดเหลือ flask ที่จะใช้ผสมแช่น้ำผสมน้ำแข็ง วางไว้ในห้องเย็นประมาณ 8 นาที

3.6 ดูด TEMED เติมลงไป เขย่าเบาๆ แล้วใช้ dropper ดูดใส่แผ่น slab

3.7 ใส่น้ำลงไปบนผิวหน้า gel วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อให้เซตตัว

4. วิธีใส่ตัวอย่างลงบน gel

4.1 นำ slab gel ที่เตรียมไว้มาสะบัดเอาน้ำที่ผิวหน้าออกไป

4.2 นำไปติดตั้งกับอุปกรณ์สำหรับ gel electrophoresis

4.3 กำหนดช่องที่จะใส่ตัวอย่าง และบันทึกไว้

4.4 ใช้ syringe ดูด marker ใส่น้ำลงไป 2 ไมโครลิตร

4.5 ใช้ syringe ดูด ตัวอย่าง ใส่ลงไป 3 ไมโครลิตร

4.6 ใส่ running buffer ลงไปในช่องด้านใน จนระดับของ buffer สูงเกินขอบ gel

4.7 ใส่ running buffer ลงไปในช่องด้านนอก จนระดับของ buffer สูงเกินขอบ gel

ด้านล่าง

4.8 เสียบไฟฟ้าผ่าน gel ใช้ 60 volt

4.9 ปิดกระแสไฟฟ้า เมื่อระดับของ marker เลื่อนลงมาถึงเส้นลวด

4.10 เอา gel ออกจากแผ่นกระจก ระวังอย่าให้ gel นึกขาด ใส่ใน petridish หรือกล่อง
พลาสติกใส ใส่ staining solution ให้ท่วมแผ่น gel ประมาณ 1-2 ชั่วโมง

4.11 แช่ต่อใน destaining solution I ค่ำน

4.12 แช่ต่อใน destaining solution II จน gel ใส

4.13 เก็บ gel ใน 7% acetic acid

ภาคผนวก ค

วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

ภาคผนวก ค1 การวัดค่าความแข็งแรงเจล (ดัดแปลงจาก MFRD, 1987)

ตัดชิ้นตัวอย่างที่บรรจุในกระบอกสแตนเลส ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาตามกำหนดแล้ว ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร ส่วนสูง 25 มิลลิเมตร นำตัวอย่างออกจากแท่งสแตนเลส วางบนเครื่อง stable micro system TA-HD ซึ่งประกอบด้วยหัวเจาะทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ให้หัวเจาะผ่านตัวอย่างด้วยความเร็วคงที่ 1.0 มิลลิเมตรต่อวินาที วัดค่าของแรงที่ใช้ในการเจาะ (กรัม) และระยะทางที่เข็มกดก่อนทะลุ (เซนติเมตร) รายงานค่าความแข็งแรงของเจล (กรัม.เซนติเมตร.)

การคำนวณค่า gel strength

$$\text{gel strength} = \text{yield deformation} \times \text{yield strength}$$

ภาคผนวก ค2 การวัดสี หรือ ความขาว (Lanier and Lee, 1992)

ตัดตัวอย่างให้ได้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตรหนา 5 มิลลิเมตร แล้วนำไปวัดค่า $L^* a^* b^*$ Color system โดยเครื่อง Chroma meter ซึ่ง L^* คือค่าความสว่างมีค่าระหว่าง 0-100 หรือสีดำถึงสีขาว a^* แสดงค่า (+) สีแดง หรือ (-) สีเขียว และ b^* แสดงค่า (+) สีเหลือง หรือ (-) สีน้ำเงิน นำค่า $L^* a^* b^*$ ที่ได้มาคำนวณค่าความขาว (whiteness) จากสูตรต่อไปนี้

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

ภาคผนวก ค3 การวัดความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity, WHC) (Motohiro, 1981)

ตัดตัวอย่างเป็นรูปลูกบาศก์ขนาด 15x15x15 มิลลิเมตร วางตัวอย่างระหว่างกระดาษกรอง 2 แผ่น บีบด้วยแรงคงที่ 10 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร นาน 2 นาที ชั่งน้ำหนักตัวอย่างก่อนและหลังการบีบ นำค่าน้ำหนักก่อนบีบลบด้วยน้ำหนักหลังบีบ จะได้น้ำหนักน้ำที่ซึมอยู่บนกระดาษกรองแล้วนำไปคำนวณค่า water holding capacity ตามสูตรต่อไปนี้

$$\text{WHC (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น} \times (\text{ปริมาณความชื้น} - \text{น้ำหนักน้ำที่ซึมในกระดวยกรอง}) \times 100}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น} \times \text{ปริมาณความชื้น}}$$

ภาคผนวก ง

ตารางวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางผนวก ง1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า K ความเป็นกรดเบส ความสามารถในการอุ้มน้ำ และความแข็งแรงเจลของปลานวลจันทร์น้ำจืดในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง

ลักษณะที่ทดสอบ	SOV	df	SS	MS	F
ค่า K	ระยะเวลาการเก็บรักษา	10	10057.827	1005.783	403.385**
	Error	22	54.854	2.493	
ความสามารถในการอุ้มน้ำ	ระยะเวลาการเก็บรักษา	10	2938.384	293.838	36.599**
	Error	22	176.627	8.029	
ความเป็นกรดเบส	ระยะเวลาการเก็บรักษา	10	0.203	2.029E-02	25.554**
	Error	22	1.747E-02	7.939E-04	
ความแข็งแรงเจล	ระยะเวลาการเก็บรักษา	10	1240096.967	124009.697	3187.421**
	Error	22	855.931	38.906	

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$)

ตารางผนวก ๖2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่นและความขาวของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่การให้ความร้อน 1 ระดับ ณ อุณหภูมิและสภาวะการเลี้ยงน้ำต่าง ๆ

ลักษณะที่ทดสอบ	SOV	df	SS	MS	F
ความแข็งแรงเจล	อุณหภูมิ (A)	6	453126.82	75521.05	5486.38 ^{**}
	สภาวะการเลี้ยงน้ำ (B)	2	395687.36	197843.68	14372.74 ^{**}
	A x B	12	135952.10	11329.34	823.04 ^{**}
	Error	42	578.138	123.77	
ความยืดหยุ่น	อุณหภูมิ (A)	6	1.26	0.21	200.42 ^{**}
	สภาวะการเลี้ยงน้ำ (B)	2	0.12	6.07E-02	57.79 ^{**}
	A x B	12	8.89E-02	7.41E-03	7.05 ^{**}
	Error	42	4.41E-02	1.05E-03	
ความขาว	อุณหภูมิ (A)	6	1968.79	328.13	253.22 ^{**}
	สภาวะการเลี้ยงน้ำ (B)	2	1331.24	665.62	513.67 ^{**}
	A x B	12	25.126	2.09	1.62 ^{ns}
	Error	42	54.42	1.296	

^{ns} มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.01$)

ตารางผนวก 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความแข็งแรงเจล ความยืดหยุ่นและความขาวของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่การให้ความร้อน 2 ระดับ ณ อุณหภูมิและสภาวะการเลี้ยงน้ำต่าง ๆ

ลักษณะที่ทดสอบ	SOV	df	SS	MS	F
ความแข็งแรงเจล	อุณหภูมิ (A)	6	149562.92	24927.15	2068.57 ^{**}
	สภาวะการเลี้ยงน้ำ (B)	2	339934.21	169967.11	14104.63 ^{**}
	A x B	12	41077.84	3423.15	284.07 ^{**}
	Error	42	506.12	12.05	
ความยืดหยุ่น	อุณหภูมิ (A)	6	0.21	3.48E-02	41.40 ^{**}
	สภาวะการเลี้ยงน้ำ (B)	2	0.33	0.16	194.47 ^{**}
	A x B	12	5.80E-02	4.83E-03	5.76 ^{**}
	Error	42	3.53E-02	8.40E-04	
ความขาว	อุณหภูมิ (A)	6	16.99	2.83	1.75 ^{ns}
	สภาวะการเลี้ยงน้ำ (B)	2	1054.79	527.39	326.83 ^{**}
	A x B	12	23.02	1.92	1.19 ^{ns}
	Error	42	67.77	1.64	

^{ns} มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.01$)

ตารางผนวก 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคะแนนความชอบเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์ ลูกชิ้น ปลาฉวีพันธุ์น้ำจืดที่การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยไม่ผ่านการล้างน้ำ, อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยผ่านการล้างน้ำ 1 ครั้ง และอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยผ่านการล้างน้ำ 1 ครั้ง

ลักษณะที่ทดสอบ	SOV	df	SS	MS	F
ลักษณะปรากฏ	ผู้ทดสอบ	19	7.817	0.411	1.015 ^{ns}
	ปัจจัย	2	4.258	2.129	5.251 [*]
	Error	38	15.408	0.405	
สี	ผู้ทดสอบ	19	10.817	0.569	0.706 ^{ns}
	ปัจจัย	2	4.008	2.004	2.484 [*]
	Error	38	30.658	0.807	
กลิ่น	ผู้ทดสอบ	19	4.733	0.249	0.826 ^{ns}
	ปัจจัย	2	6.533	3.267	10.826 ^{**}
	Error	38	11.467	0.302	
รสชาติ	ผู้ทดสอบ	19	10.583	0.557	1.784 ^{ns}
	ปัจจัย	2	8.133	4.067	13.022 ^{**}
	Error	38	11.8670	0.312	
เนื้อสัมผัส	ผู้ทดสอบ	19	23.676	1.251	1.457 ^{ns}
	ปัจจัย	2	48.700	24.350	28.358 ^{**}
	Error	38	32.633	0.859	
ความชอบรวม	ผู้ทดสอบ	19	15.400	0.811	1.569 ^{ns}
	ปัจจัย	2	35.208	17.604	34.087 ^{**}
	Error	38	19.625	0.516	

^{ns} มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

^{*} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$)

^{**} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.01$)

ภาคผนวก จ

ตารางค่า $L^* a^* b^*$

ตารางผนวก จ1 ค่า L^* a^* b^* ของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่การให้ความร้อน 1 ระดับ ณ อุณหภูมิ และสภาวะการล้างน้ำต่าง ๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	สภาวะการล้าง น้ำ	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
		L^*	a^*	b^*
30	ไม่ล้างน้ำ	54.10 $\pm$ 0.18	1.20 $\pm$ 0.05	11.26 $\pm$ 1.82
	ล้าง 1 ครั้ง	61.94 $\pm$ 1.23	-2.04 $\pm$ 0.42	7.79 $\pm$ 1.36
	ล้าง 2 ครั้ง	64.92 $\pm$ 2.56	-3.12 $\pm$ 0.03	5.10 $\pm$ 1.76
40	ไม่ล้างน้ำ	56.77 $\pm$ 0.84	2.25 $\pm$ 0.21	15.36 $\pm$ 0.80
	ล้าง 1 ครั้ง	62.04 $\pm$ 0.75	-2.28 $\pm$ 0.62	6.61 $\pm$ 3.07
	ล้าง 2 ครั้ง	65.49 $\pm$ 1.59	-2.50 $\pm$ 0.24	5.65 $\pm$ 1.08
50	ไม่ล้างน้ำ	59.42 $\pm$ 0.41	1.60 $\pm$ 0.67	14.54 $\pm$ 0.54
	ล้าง 1 ครั้ง	68.43 $\pm$ 1.03	-2.17 $\pm$ 0.87	8.48 $\pm$ 0.83
	ล้าง 2 ครั้ง	71.09 $\pm$ 1.30	-1.78 $\pm$ 1.21	6.41 $\pm$ 1.01
60	ไม่ล้างน้ำ	68.14 $\pm$ 0.45	0.93 $\pm$ 0.17	14.13 $\pm$ 0.45
	ล้าง 1 ครั้ง	75.24 $\pm$ 0.25	-1.65 $\pm$ 0.54	10.78 $\pm$ 0.54
	ล้าง 2 ครั้ง	77.22 $\pm$ 0.05	-2.32 $\pm$ 0.48	8.25 $\pm$ 0.14
70	ไม่ล้างน้ำ	67.97 $\pm$ 2.13	0.74 $\pm$ 0.42	12.00 $\pm$ 4.07
	ล้าง 1 ครั้ง	75.79 $\pm$ 1.62	-1.57 $\pm$ 0.39	9.33 $\pm$ 2.20
	ล้าง 2 ครั้ง	77.93 $\pm$ 0.57	-2.14 $\pm$ 0.70	8.17 $\pm$ 0.65
80	ไม่ล้างน้ำ	70.23 $\pm$ 1.52	0.44 $\pm$ 0.22	14.15 $\pm$ 0.55
	ล้าง 1 ครั้ง	76.95 $\pm$ 1.09	-1.46 $\pm$ 0.47	10.47 $\pm$ 0.67
	ล้าง 2 ครั้ง	77.63 $\pm$ 0.29	-2.17 $\pm$ 0.72	7.92 $\pm$ 1.11
90	ไม่ล้างน้ำ	70.87 $\pm$ 0.16	-0.12 $\pm$ 0.16	14.25 $\pm$ 0.47
	ล้าง 1 ครั้ง	75.90 $\pm$ 0.29	-1.46 $\pm$ 0.65	8.55 $\pm$ 3.00
	ล้าง 2 ครั้ง	77.40 $\pm$ 1.01	-1.92 $\pm$ -.62	4.58 $\pm$ 1.37

ตารางผนวก จ2 ค่า L^* a^* b^* ของเนื้อปลานวลจันทร์น้ำจืดที่การให้ความร้อน 2 ระดับ ณ อุณหภูมิ และสภาวะการล้างน้ำต่าง ๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	สภาวะการล้าง น้ำ	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
		L^*	a^*	b^*
30/90	ไม่ล้างน้ำ	71.38 $\pm$ 0.53	-0.08 $\pm$ 0.04	12.92 $\pm$ 0.94
	ล้าง 1 ครั้ง	76.34 $\pm$ 0.72	-1.60 $\pm$ 0.29	10.51 $\pm$ 1.13
	ล้าง 2 ครั้ง	76.44 $\pm$ 2.87	-2.54 $\pm$ 0.05	6.76 $\pm$ 3.03
40/90	ไม่ล้างน้ำ	69.62 $\pm$ 1.07	0.13 $\pm$ 0.42	14.05 $\pm$ 1.38
	ล้าง 1 ครั้ง	76.74 $\pm$ 1.33	-1.09 $\pm$ 0.38	10.77 $\pm$ 0.87
	ล้าง 2 ครั้ง	77.57 $\pm$ 1.28	-1.87 $\pm$ 0.74	7.96 $\pm$ 1.62
50/90	ไม่ล้างน้ำ	66.79 $\pm$ 2.72	0.31 $\pm$ 0.37	11.96 $\pm$ 1.87
	ล้าง 1 ครั้ง	74.62 $\pm$ 0.41	-1.32 $\pm$ 0.42	10.52 $\pm$ 0.70
	ล้าง 2 ครั้ง	77.43 $\pm$ 0.43	-1.61 $\pm$ 0.52	8.12 $\pm$ 1.73
60/90	ไม่ล้างน้ำ	69.76 $\pm$ 1.06	0.55 $\pm$ 0.33	14.43 $\pm$ 1.43
	ล้าง 1 ครั้ง	76.65 $\pm$ 1.01	-0.81 $\pm$ 0.66	10.29 $\pm$ 1.77
	ล้าง 2 ครั้ง	77.65 $\pm$ 0.08	-1.97 $\pm$ 0.55	7.72 $\pm$ 1.71
70/90	ไม่ล้างน้ำ	69.40 $\pm$ 1.61	0.15 $\pm$ 0.48	14.34 $\pm$ 1.33
	ล้าง 1 ครั้ง	76.76 $\pm$ 1.40	-1.12 $\pm$ 0.45	10.06 $\pm$ 1.73
	ล้าง 2 ครั้ง	78.21 $\pm$ 0.17	-1.59 $\pm$ 0.58	8.55 $\pm$ 1.31
80/90	ไม่ล้างน้ำ	70.38 $\pm$ 1.11	0.30 $\pm$ 0.46	15.59 $\pm$ 1.13
	ล้าง 1 ครั้ง	77.02 $\pm$ 1.09	-1.41 $\pm$ 0.69	10.43 $\pm$ 1.49
	ล้าง 2 ครั้ง	78.63 $\pm$ 0.33	-1.27 $\pm$ 0.75	8.42 $\pm$ 0.93
90/90	ไม่ล้างน้ำ	71.16 $\pm$ 0.12	0.27 $\pm$ 0.07	15.06 $\pm$ 0.78
	ล้าง 1 ครั้ง	76.00 $\pm$ 0.90	-1.12 $\pm$ 0.41	10.63 $\pm$ 1.48
	ล้าง 2 ครั้ง	77.52 $\pm$ 0.12	-1.83 $\pm$ 0.09	7.13 $\pm$ 0.62

