บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

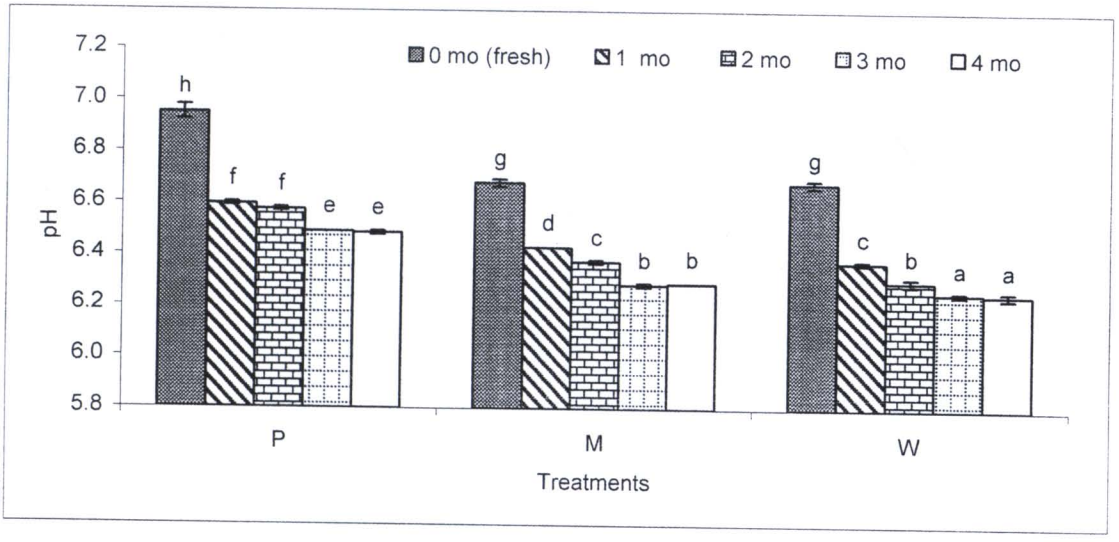
1. ผลของการเก็บรักษาปลานิลทั้งตัวและ/หรือเนื้อปลาบดแช่เยือกแข็งในรูปแบบต่างๆ ต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และคุณภาพของเจลจากเนื้อปลานิล

1.1 การวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ

1.1.1 ค่าความเป็นกรดด่าง (pH)

จากการศึกษาค่าความเป็นกรดด่างพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิลและรูปแบบการเตรียมวัตถุดิบมีอิทธิพลร่วมต่อค่าความเป็นกรดด่างของตัวอย่างเนื้อปลาบด ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 8) โดยพบว่าค่าความเป็นกรดด่างของเนื้อปลานิลที่ได้จากการเตรียมวัตถุดิบ 3 แบบ มีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว ($p \leq 0.05$) ในเดือนที่ 1 (ประมาณ 0.25 – 0.36) จากนั้นจะค่อยๆ ลดลงในเดือนที่ 2 และ 3 (ประมาณ 0.11 - 0.15) และคงที่ในเดือนที่ 4 เนื่องจากตัวอย่างทั้ง 3 เป็นเนื้อปลาบดไม่ล้างน้ำ ดังนั้นจึงอาจมีเกลือ และสารอินทรีย์ เช่นกรดแลกติกจากไกลโคเจนเหลืออยู่มากในเนื้อปลาบด เมื่อน้ำในเนื้อปลาบดเปลี่ยนเป็นน้ำแข็งสารดังกล่าวจะถูกทำให้มีความเข้มข้นมากขึ้นส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างลดลง (สุทธวัฒน์ เบญจกุล 2549) การเติมสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลในตัวอย่าง P ก่อนเก็บแช่เยือกแข็งช่วยเพิ่มค่าความเป็นกรดด่างให้กับเนื้อปลานิลสดบดได้ดีที่สุดและสามารถช่วยชะลอการลดลงของค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งได้ดีกว่าตัวอย่าง M (เนื้อปลาบดแช่เยือกแข็งไม่เติมสาร) และตัวอย่าง W (ปลานิลทั้งตัวแช่เยือกแข็ง) ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าฟอสเฟตสามารถเพิ่มค่าความเป็นกรดด่างและความเข้มข้นของไอออน (ionic strength) ในเนื้อสัตว์ (Knipe and others 1985) นอกจากนี้พบว่าตัวอย่าง W ซึ่งเป็นการเก็บแช่เยือกแข็งปลาทั้งตัวสามารถชะลอการลดลงของค่าความเป็นกรดด่างระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งนาน 4 เดือนได้น้อยกว่าตัวอย่าง M ซึ่งเป็นเนื้อปลาบดแช่เยือกแข็งไม่เติมสารใดๆ อาจเกิดขึ้นเนื่องจากการเก็บแช่เยือกแข็งปลาทั้งตัวไม่มีการทำลายโครงสร้างของกล้ามเนื้อ ดังนั้นอาจมีปริมาณไกลโคเจนที่สะสมไว้ตามกล้ามเนื้อสูงกว่าเนื้อปลาบด เมื่อไกลโคเจนถูกเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกจะส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างของกล้ามเนื้อปลาลดลง และส่งผลกระทบต่อความสามารถในการเกิดเจล เนื่องจากค่าความเป็นกรดด่างที่ลดลงจะเร่งการเสียสภาพของโปรตีนให้เกิดเร็วขึ้น (Park 2000) ดังนั้นการวัดค่าความเป็นกรดด่างจึงมีความสัมพันธ์ทางอ้อมกับการเสียสภาพของโปรตีนและความสามารถในการเกิดเจล

Fukuda and others (1981) พบว่า ค่าความเป็นกรดด่างมีผลต่อการคงสภาพของโปรตีนแอกโตไมโอซินจากปลาแมคเคอเรลระหว่างการเก็บรักษาที่ – 20 °ซ. ถึง – 40 °ซ. แอกโตไมโอซินสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์ ATPase เมื่อค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่า 6.5 การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมีผลโดยตรงต่อการเกิดเจลของโปรตีน ดังนั้นการควบคุมค่าความเป็นกรดด่างระหว่างขั้นตอนการแปรรูปจึงมีความสำคัญต่อการควบคุมคุณภาพเนื้อปลาบดและผลิตภัณฑ์จากเนื้อปลาบด

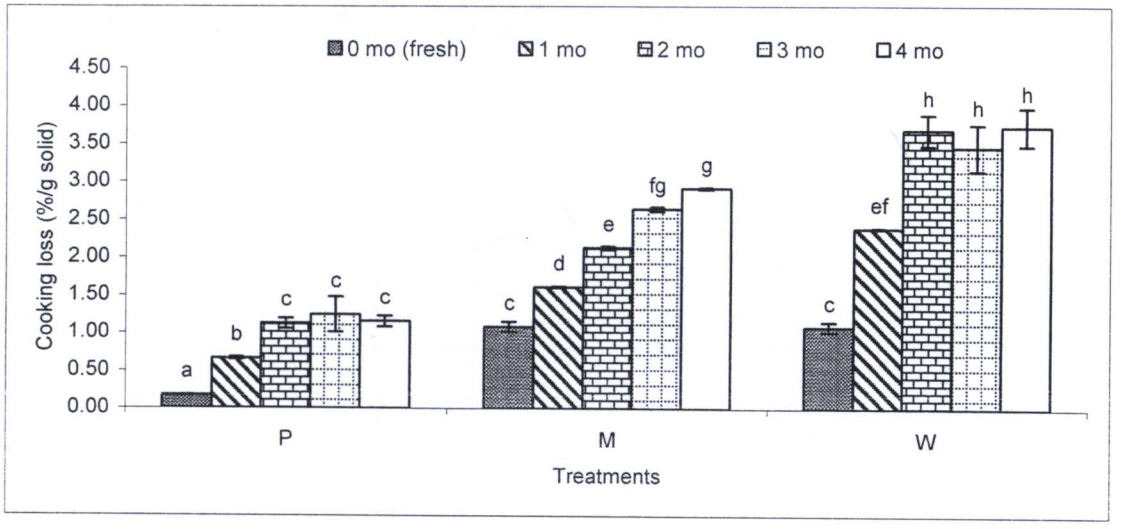


ภาพที่ 8 ค่าความเป็นกรดด่างของเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือน

หมายเหตุ - P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3 ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้)
- a-h: ตัวอักษรที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

1.1.2 การสูญเสียน้ำหนักหลังจากการต้มสุก (cooking loss)

จากการศึกษาการสูญเสียน้ำหนักหลังจากการต้มสุกพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิลและรูปแบบการเตรียมวัตถุดิบมีอิทธิพลร่วมต่อการสูญเสียน้ำหนักหลังจากการต้มสุกของตัวอย่างเนื้อปลาบด ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 9) การสูญเสียน้ำหนักหลังจากการต้มสุกในทุกตัวอย่างมีค่าเพิ่มขึ้น ในระหว่างเก็บแช่เยือกแข็ง 4 เดือน โดยการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลในเนื้อปลาบดสดก่อนเก็บแช่เยือกแข็งช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักหลังจากการต้มสุกได้ดีที่สุด และหลังจากเก็บแช่เยือกแข็ง 4 เดือน รูปแบบดังกล่าวมีการสูญเสียน้ำหนักหลังจากการต้มสุกต่ำกว่ารูปแบบ M และ W ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีสมบัติเพิ่มความสามารถในการจับกับน้ำระหว่างโมเลกุลของโปรตีนจึงสามารถขัดขวางการจับตัวกันของโปรตีนในระหว่างการเก็บรักษาได้ (Han-Ching and Leinot 1993) ซึ่งการสูญเสียน้ำหนักหลังจากการต้มสุกมีค่าต่ำแสดงว่าโปรตีนสามารถจับกับน้ำได้ดี และสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างธรรมชาติของโปรตีนไมโอฟิบริลลาร์ในระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งได้ (Lian and others 2000) ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับผลการวัดค่าความเป็นกรดด่าง นอกจากนี้น้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ซึ่งมีสมบัติในการแทนที่น้ำและมีอันตรกิริยากับฟอสโฟลิปิดของเมมเบรน โดยการเกิดเป็นพันธะไฮโดรเจนกับน้ำ ทำให้เกิดความคงตัวของเมมเบรนของเซลล์ระหว่างการให้ความเย็นและป้องกันการทำลายเมมเบรนได้ (Turner and others 2001) ดังนั้นจึงช่วยรักษาสภาพธรรมชาติของโปรตีนและน้ำให้อยู่ภายในโครงสร้างของเนื้อปลาบดได้ในระหว่างเก็บแช่เยือกแข็ง



ภาพที่ 9 ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังจากการต้มสุกของเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือน

หมายเหตุ - P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3 ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้)
- a-h: ตัวอักษรที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ในขณะเกิดผลึกน้ำแข็งโดยเฉพาะการแช่เยือกแข็งแบบช้า (งานวิจัยนี้เป็นการแช่เยือกแข็งแบบช้า) ส่งผลให้มีการสูญเสียน้ำจากภายในเซลล์ และเมื่อผ่านการทำละลาย น้ำดังกล่าวไม่สามารถกลับเข้าไปในเซลล์ได้ก่อให้เกิดน้ำอิสระไหลเยิ้มบนชิ้นเนื้อ (drip) นอกจากนี้ในขณะที่เกิดผลึกน้ำแข็ง โมเลกุลน้ำจะเคลื่อนที่จากโปรตีน เพื่อใช้ในการเพิ่มขนาดผลึกของน้ำแข็ง ส่งผลให้โมเลกุลของโปรตีนเคลื่อนที่เข้าหากัน และจับเรียงตัวกันระหว่างโมเลกุล (สุทธวัฒน์ เบญจกุล 2549) ดังนั้นตัวอย่าง M และ W ซึ่งเป็นรูปแบบเนื้อปลาบดที่ไม่มีการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพจึงมีการสูญเสียน้ำหนักหลังจากการต้มสุกสูงกว่าตัวอย่างเนื้อปลานิลที่มีการเติมสารดังกล่าว

1.1.3 ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือ (salt extractable protein)

จากการศึกษาปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิลและรูปแบบการเตรียมวัตถุดิบไม่มีอิทธิพลร่วมต่อปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือของตัวอย่างเนื้อปลาบด ($p>0.05$) โดยพบว่าปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือในทุกตัวอย่างมีค่าลดลงระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งนาน 4 เดือน ($p \leq 0.05$) และตัวอย่างที่เติมสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอล (P) มีปริมาณโปรตีนที่สกัดได้สูงกว่าตัวอย่าง M และ W ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 2) และพบว่าตัวอย่าง P มีปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือเหลืออยู่มากกว่าตัวอย่าง M และ W หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งนาน 4 เดือน โดยตัวอย่าง P W และ M มีปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือเหลืออยู่ในเดือนที่ 4 คิดเป็นร้อยละ 86 49 และ 61 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร่วมกับน้ำตาล

ตารางที่ 2 ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือของเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือน

Storage time (months)	Salt extractable protein (%)
0 (fresh)	105.1 ± 8.0^{D}
1	85.6 ± 14.0^{C}
2	79.8 ± 17.2^{BC}
3	72.7 ± 15.5^{AB}
4	65.5 ± 17.4^{A}
Treatment	
P	96.0 ± 12.1^{b}
M	78.2 ± 20.8^{a}
W	71.0 ± 16.4^{a}

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตามระยะเวลาการเก็บ และ/หรือตามทรีตเม้นท์ต่างๆ

- P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้)

- $^{a-b}$: ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันระหว่างทรีตเม้นท์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- $^{A-D}$: ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันระหว่างระยะเวลาการเก็บอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- P เปรียบเทียบกับเนื้อปลาบดไม่เติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพร้อยละ 8.3

ซูโครสและซอร์บิทอลในตัวอย่างก่อนเก็บแช่เยือกแข็งสามารถชะลอการลดลงของปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือในเนื้อปลานิลบดได้ เนื่องจากสารดังกล่าวช่วยรักษาความเป็นกลางซึ่งเป็นสภาพที่โปรตีนมีความคงตัวมากที่สุด (Yagi and others 1985; Kumazawa and others 1990) นอกจากนี้น้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลเป็นสารที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการแปรรูปเนื้อปลาบดและซูริมิ ซึ่งพบว่าสามารถช่วยชะลอการลดลงของปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Herrera and Mackie 2004) และในซูริมิจากเนื้อปลานิล (*Sarotherodon niloticus*) (Zhou and others 2006) ระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็งได้ดีกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพเลย เนื่องจากสารดังกล่าวสามารถป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนโดยเฉพาะโปรตีนไมโอฟิบริลลาร์จากปลาได้ (Lee 1984; Yoon and Lee 1990)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ตารางที่ 3 ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือของเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือน

Storage time (months)	Salt extractable protein (%)		
	P	M	W
0 (fresh)	115.3 ± 3.2	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0
1	96.0 ± 12.4	91.4 ± 1.6	69.3 ± 1.1
2	92.2 ± 0.8	82.8 ± 21.2	64.2 ± 14.5
3	90.1± 6.0	67.7 ± 13.7	60.4 ± 3.5
4	86.1± 9.4	49.2 ± 1.4	61.1 ± 0.9

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำ
- P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3 ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้)
- P เปรียบเทียบกับเนื้อปลาบดไม่เติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพร้อยละ 8.3

การลดลงของปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือเป็นดรรชนีชี้วัดเบื้องต้นของการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนในระหว่างแช่เยือกแข็ง เนื่องจากการฟอร์มพันธะไฮโดรเจน พันธะไฮโดรโฟบิก พันธะไดซัลไฟด์ และ/หรือพันธะไอออนิก ระหว่างโมเลกุลโปรตีนทำให้เกิดการรวมตัวกันของโมเลกุลโปรตีน (aggregation) ซึ่งเป็นการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน (Benjakul and Bauer 2000) การลดลงอย่างรวดเร็วของปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือของเนื้อปลานิลบดรูปแบบที่ไม่มีการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ (M และ W) แสดงให้เห็นว่าการเสียสภาพของโปรตีนถูกชักนำโดยการแช่เยือกแข็ง ซึ่งผลดังกล่าวคล้ายกับระบบกล้ามเนื้อปลาชนิดอื่นที่ไม่มีการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ (Sych and others 1991; Sultanbawa and Li-Chan 1998; Auh and others 1999) จากงานวิจัยของ Benjakul and others (2005) ทำการศึกษาผลของการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งต่อคุณสมบัติทางเคมีของปลาที่อาศัยอยู่ในเขตอ่าวไทย ได้แก่ ปลาทรายแดง ปลาตาหวาน ปลาปากคม และปลาจวด เพื่อนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ซูริมิต่อไป โดยนำปลาทั้งตัว (ไม่ตัดหัวและควักไส้) มาเก็บรักษาที่ -18°ซ. นาน 6 เดือนเมื่อต้องการวิเคราะห์นำปลามาละลายน้ำแข็ง แยกกระดูกออก นำไปบดและล้างน้ำ จากการศึกษาพบว่า ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.6 โมลาร์จากปลาทุกชนิดลดลงอย่างต่อเนื่องตลอดการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 6 เดือน

1.1.4 คุณสมบัติทางเทอร์โมไดนามิกโดยใช้เทคนิค Differential scanning calorimeter (DSC)

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเทอร์โมไดนามิกส์โดยใช้เครื่อง Differential scanning calorimeter (DSC) ใช้ความร้อนช่วง 20-90 °ซ. อัตรา 10 °ซ./นาที ติดตามการเปลี่ยนแปลงการเสียสภาพของโปรตีนด้วยความร้อนของเนื้อปลานิลรูปแบบต่างๆ พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิล และวิธีการเตรียม

วัตถุดิบมีอิทธิพลร่วมกันต่ออุณหภูมิเริ่มต้น (onset denaturation temperature, onset T_d) ของพีคที่ 1 แต่ไม่มีอิทธิพลร่วมต่อ onset T_d ของพีคที่ 2 และมีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณความร้อนที่ใช้ในการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน (ΔH) ทั้งพีคที่ 1 และ 2 ของตัวอย่างเนื้อปลานิล ($p \leq 0.05$)

จากแผนภาพการเปลี่ยนแปลงปริมาณความร้อนและอุณหภูมิของตัวอย่างเนื้อปลานิล (ภาคผนวก ก3) ปรากฏ 2 พีค ที่ชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Herrera and others (2001) ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโปรตีนกล้ามเนื้อจากปลาบูลไวติ้งบด ระหว่างการเก็บแช่เยือกแข็งที่ - 20 °ซ. ด้วยเทคนิค DSC โดยให้ความร้อน 2-90 °ซ. อัตรา 10 °ซ./นาที พบการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 2 ช่วงที่ชัดเจนโดยช่วง 1 พบที่อุณหภูมิ 30-60 °ซ. ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนไมโอซินที่แตกต่างกันหลายโคเมน และ โปรตีนซาร์โคพลาสมิก และการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิช่วงที่ 2 พบที่อุณหภูมิ 65-85 °ซ. ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนเส้นใยชนิดบาง(thin filament) หลักๆ คือแอกติน จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของตัวอย่างเนื้อปลานิล 3 รูปแบบซึ่งทำการวิเคราะห์ที่สภาวะเดียวกันกับ Herrera and others (2001) พบ 2 พีค ที่ปรากฏชัดเจนจึงอาจกล่าวได้ว่าพีคที่ 1 คือ โปรตีนไมโอซิน และโปรตีนซาร์โคพลาสมิก สำหรับ พีคที่ 2 คือโปรตีนแอกติน อย่างไรก็ตามอุณหภูมิเริ่มต้นของการเสียสภาพธรรมชาติ ด้วยความร้อนของทั้งพีค 1 และ 2 มีความแตกต่างจากปลาบูลไวติ้ง Ogawa and others (1993 อ้างถึงในจิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล 2544) รายงานไว้ว่า อุณหภูมิเริ่มต้นของการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติจะแตกต่างขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ และค่าดังกล่าวเป็นตัวบ่งชี้ถึงความคงตัวต่อความร้อนของไมโอซินด้วย เช่น ไมโอซินจากกระต่ายซึ่งเป็นสัตว์เลือดอุ่นเริ่มเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่ 46 °ซ. ในขณะที่ไมโอซินจากปลาจะเริ่มเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในช่วง 25-33 °ซ. ซึ่งขึ้นอยู่กับอุณหภูมิแหล่งที่อยู่ของปลาชนิดนั้นๆ กล่าวคือ ไมโอซินของปลาเทร้าต์ (trout) เริ่มเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่ 25 °ซ. ในขณะที่ไมโอซินจากปลาคาร์พจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่ 33°ซ. ข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ไมโอซินจากปลาสูญเสียโครงสร้างได้ง่ายกว่าไมโอซินจากกระต่ายและไมโอซินของปลาที่อาศัยในแถบน้ำอุ่นจะมีความคงตัวมากกว่าไมโอซินของปลาในแถบน้ำเย็น ในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าไมโอซินของปลานิลซึ่งเป็นปลาที่อาศัยในแถบน้ำอุ่นมีความคงตัวมากกว่าไมโอซินของปลาบลูไวติ้งที่อาศัยในแถบน้ำเย็น Howell and others (1991) รายงานว่า ไมโอซินของปลานิลเขตร้อนมีความคงตัวในระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็งมากกว่าไมโอซินของปลาในเขตน้ำเย็นส่วนการเปลี่ยนแปลงของแอกตินไม่เกิดขึ้นเมื่อเก็บรักษาในน้ำแข็ง หรือการแช่เยือกแข็ง การแช่เยือกแข็งปลาเป็นเวลานานถึง 54 สัปดาห์ที่ – 20 °ซ. มีผลต่อการสลายตัวของไมโอซินอย่างชัดเจนโดยจะสังเกตพบการเปลี่ยนแปลงของพีคจากลักษณะแคบและชันเป็นตื้นและกว้าง (Schubring 1999) Badii and Howell (2002) ทำการศึกษาวิเคราะห์ด้วย micro DSC ของปลาคอดที่ – 30 °ซ. ปรากฏ 3 พีคของไมโอซิน ซาร์โคพลาสมิก และแอกติน โดยที่ไมโอซินประกอบด้วย 3 พีคย่อยของ myosin hinge myosin tail (light meromyosin) และmyosin head region (heavy meromyosin) (Somers 1997)

จากการทดลอง พบความแตกต่างของ ค่า onset T_d ระหว่างตัวอย่างที่มีการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ P และตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารดังกล่าว M และ W ในพีคที่ 1 ดังนี้ ตัวอย่าง P มีค่า onset T_d พีคที่ 1 ประมาณ 53 °ซ. ซึ่งสูงกว่าตัวอย่าง M และ W (onset T_d1 ประมาณ 48 – 51 °ซ.) และไม่พบการเปลี่ยนแปลงระหว่างเก็บแช่เยือกแข็ง ($p > 0.05$) แต่ตัวอย่าง M และ W มีค่า onset T_d พีคที่ 1 เพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4 และ 5) สำหรับ พีคที่ 2 ไม่พบความแตกต่างของค่า onset T_d ระหว่างตัวอย่างที่มีการเติม

สารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ P และตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสาร (M และ W) โดยพบ onset T_d พีคที่ 2 และพบว่าเมื่อเก็บนานขึ้นค่า onset T_d เพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$)

นอกจากนี้พบว่าปริมาณความร้อนที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติโปรตีนด้วยความร้อนของตัวอย่างเนื้อปลานิลรูปแบบต่างๆ ทั้ง พีคที่ 1 ($\Delta H1$) และ 2 ($\Delta H2$) มีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บแช่เยือกแข็งเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 6) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Herrera and others (2001) ซึ่งพบว่าเมื่อระยะเวลาเก็บแช่เยือกแข็งเนื้อปลาบูลไวติ้งบดนานขึ้นปริมาณความร้อนที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติด้วยความร้อนของตัวอย่างลดลง เนื่องจากโปรตีนเกิดการคลายตัว (unfold) หรือเกิดการเสียสภาพธรรมชาติในระหว่างการเก็บแช่เยือกแข็งไปแล้วบางส่วน ดังนั้นปริมาณความร้อนที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติของโปรตีนซึ่งก็คือพลังงานที่ใช้ในการสลายพันธะจะมีค่าลดลง

การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลลงในเนื้อปลาบดสด (ตัวอย่าง P ก่อนแช่เยือกแข็ง) มีผลทำให้ $\Delta H1$ ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อปลาบดสด ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 6) แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงหลังจากการเก็บแช่เยือกแข็ง 4 เดือนอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าไม่แตกต่างจากตัวอย่าง W แต่มีค่าต่ำกว่าตัวอย่าง M อย่างไรก็ตามเมื่อคิดเป็นร้อยละการลดลงของ $\Delta H1$ หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งครบ

ตารางที่ 4 อุณหภูมิเริ่มต้นของการเสียสภาพโปรตีนด้วยความร้อนของเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือน

Storage time	Onset denaturation temperature °C (peak1: onset T_d 1)		
	P	M	W
0 (fresh)	53.61 ± 0.15^{d}	48.67 ± 0.07^{a}	48.67 ± 0.07^{a}
2	53.77 ± 0.11^{d}	50.41 ± 0.64^{b}	50.26 ± 0.33^{b}
4	53.62 ± 0.13^{d}	49.94 ± 0.11^{b}	51.44 ± 0.50^{c}
Storage time	Onset denaturation temperature °C (peak2: onset T_d 2)		
	P	M	W
0 (fresh)	71.98 ± 0.15	72.02 ± 0.42	72.02 ± 0.42
2	71.28 ± 0.69	72.84 ± 0.07	72.47 ± 0.21
4	73.41 ± 0.55	73.03 ± 1.14	72.82 ± 0.60

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำ

- P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้)

- $^{a-d}$: ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4 เดือน พบว่าตัวอย่าง P มีร้อยละการลดลงของ $\Delta H1$ (ร้อยละ 3.3) น้อยกว่า M (ร้อยละ 31.1) และ W (ร้อยละ 38.5) ตามลำดับ สำหรับค่า $\Delta H2$ การเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ P ไม่มีผลต่อค่า $\Delta H2$ และทุกตัวอย่างมีค่า $\Delta H2$ ลดลงหลังจากแช่เยือกแข็งนาน 4 เดือน โดยตัวอย่าง P และ W มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และมากกว่าตัวอย่าง M ที่เป็นเนื้อปลาบดแช่เยือกแข็ง

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3 ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 ในเนื้อปลาบดสดก่อนเก็บแช่เยือกแข็งส่งผลให้ค่า onset T_d1 เพิ่มขึ้น เนื่องจากผลของสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่นซูโครส แสดงสมบัติดังกล่าวเนื่องจากสมบัติที่ทำให้โปรตีนชอบจับกับน้ำได้ดีกว่า (preferentail hydration of protein) ทำให้มีความคงตัวแม้ที่อุณหภูมิเหนืออุณหภูมิแช่เยือกแข็ง และมีความคงตัวต่อการเสียสภาพด้วยความร้อนสูงขึ้น ขณะที่สารพอลิเมอร์โมเลกุลใหญ่ป้องกันโปรตีนโดยใช้ทฤษฎีของการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass trasition theory) ซูโครสมีคุณสมบัติเป็นสาร cryostabilizer และช่วยเพิ่มความคงตัวต่อความร้อนของกล้ามเนื้อปลาบางชนิดได้ทำให้อุณหภูมิการเสียสภาพของโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีการเติมซูโครส Sych and other (1990) รายงานว่า การเติมสารป้องกันโปรตีน

ตารางที่ 5 อุณหภูมิเริ่มต้นของการเสียสภาพโปรตีนด้วยความร้อนของเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือนของพีคที่ 2 (Onset T_d2)

Storage time (month)	Onset T_d2
0 (fresh)	72.00 ± 0.02^{A}
2	72.20 ± 0.81^{A}
4	73.08 ± 0.30^{B}
Treatment	
P	72.22 ± 1.08^{ns}
M	72.63 ± 0.54^{ns}
W	72.44 ± 0.40^{ns}

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตามระยะเวลาการเก็บ และ/หรือตามทรีตเม้นท์ต่างๆ

- P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3 ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้)

- $^{A-B}$: ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันระหว่างระยะเวลาการเก็บอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

- ^{ns}: ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

เสียสภาพในระหว่างแช่เยือกแข็งรวมทั้งซูโครสลงในซูริมิจากปลาคอดมีผลให้อุณหภูมิที่โปรตีนเสียสภาพ T_{max} ของทั้งไมโอซินและแอกตินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ การเติมซูโครส 8 % ลงในเนื้อปลาไวติ้งบดสดมีผลให้ค่า T_{max} ของพีคที่ 1 เพิ่มขึ้นจาก 49.62°ซ. เป็น 50.83 °ซ. ($p \leq 0.05$) และ T_{max} ของพีคที่ 2 เพิ่มขึ้นจาก 76.59 °ซ. เป็น 78.80 °ซ. ($p \leq 0.05$) หลังจากแช่เยือกแข็งที่ -20 °ซ. นาน 16 สัปดาห์ พบการลดลงของ T_{max} ของทั้ง 2 พีค ทั้งในตัวอย่างที่เติมและไม่เติมซูโครส อย่างไรก็ตาม T_{max} ของตัวอย่างที่มีซูโครสสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่มีซูโครสตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (Herrera and others 2001) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการแช่เยือกแข็งไม่มีผลต่อ T_{max} ของแอกตินแต่มีผลทำให้ T_{max} ของไมโอซินของกล้ามเนื้อปลาคอดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (Poulter and others 1985; Davies and others 1994) การที่ค่า $\Delta H1$ ของตัวอย่าง P มีค่าต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อปลาบดสด เนื่องจากโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเมื่อแตกตัวจะได้ไพโรฟอสเฟต ซึ่งมีรายงานว่าสามารถทำให้โปรตีนเชิงซ้อนแยกตัวออกจากกันได้ ซึ่งจะนำไปสู่การปรับปรุงความสามารถในการเกิดเจล (Matsukawa and others 1995) ดังนั้นไพโรฟอสเฟตจึงอาจทำให้โปรตีนแอกโตไมโอซินเชิงซ้อนแยกตัวเป็นโปรตีนไมโอซิน และแอกติน และส่งผลให้โปรตีนไมโอซินในพีคที่ 1 ซึ่งประกอบด้วยหลายโดเมนแยกตัวออกจากกันบางส่วน และหลังจากเก็บแช่เยือกแข็ง

ตารางที่ 6 ปริมาณความร้อนที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติของโปรตีนในเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือน

Storage time (months)	Enthalpy of denaturation (J/g) (Peak1:$\Delta H1$)		
	P	M	W
0 (fresh)	0.90 ± 0.01^{a}	1.48 ± 0.08^{d}	1.48 ± 0.08^{d}
2	0.85 ± 0.01^{a}	1.15 ± 0.06^{c}	1.22 ± 0.07^{c}
4	0.87 ± 0.00^{a}	1.02 ± 0.02^{b}	0.91 ± 0.06^{ab}
Storage time (months)	Enthalpy of denaturation (J/g) (Peak2: $\Delta H2$)		
	P	M	W
0 (fresh)	0.34 ± 0.01^{F}	0.34 ± 0.02^{F}	0.34 ± 0.02^{F}
2	0.26 ± 0.01^{D}	0.23 ± 0.01^{C}	0.29 ± 0.00^{E}
4	0.20 ± 0.01^{B}	0.15 ± 0.02^{A}	0.18 ± 0.00^{AB}

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำ

- P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3 ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว(ตัดหัวและควักไส้)

- $^{a-d}$: ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

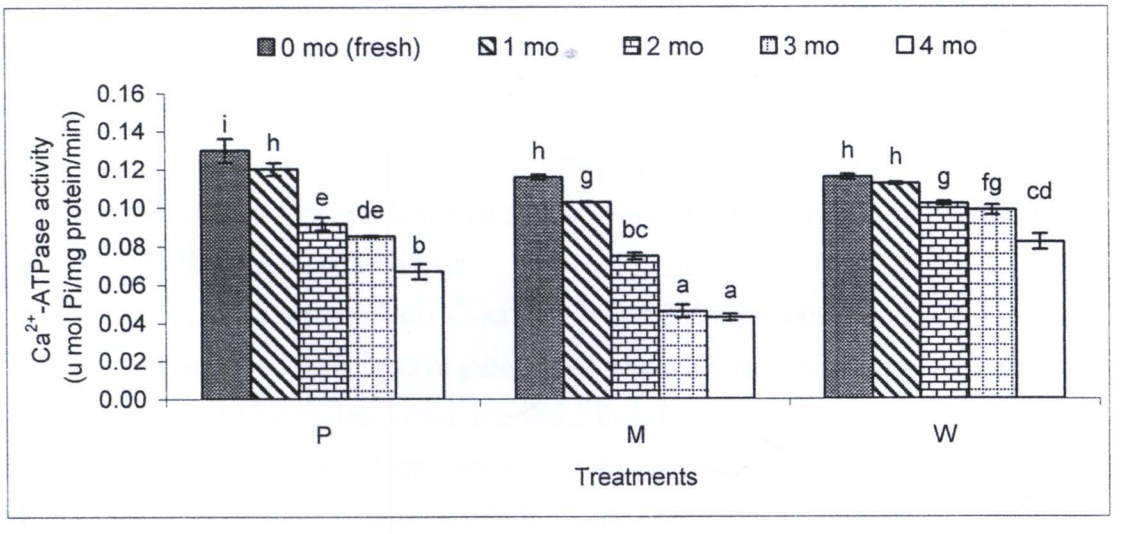
- $^{A-F}$:ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4 เดือน ค่า $\Delta H1$ ของตัวอย่าง P ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีร้อยละการเปลี่ยนแปลงค่า $\Delta H1$ น้อยกว่าตัวอย่างอื่นๆ และมีค่า $\Delta H2$ มากกว่าตัวอย่าง M การเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3 ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 จะช่วยให้โปรตีนมีความคงตัวต่อความร้อนมากกว่าการไม่เติมสารดังกล่าว (W และ M) และสามารถป้องกันการเสียสภาพของโปรตีนระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งได้ดีที่สุด สำหรับตัวอย่าง W ซึ่งเป็นตัวอย่างเก็บแช่เยือกแข็งปลานิลทั้งตัวและตัวอย่าง M ซึ่งเป็นตัวอย่างเนื้อปลานิลบดแช่เยือกแข็งมีอุณหภูมิเริ่มต้นของการสูญเสียสภาพโปรตีนด้วยความร้อนทั้งพีคที่ 1 (onset T_d1) และ 2 (onset T_d2) ไม่แตกต่างกันและส่งผลให้ค่าพลังงานในการสลายพันธะของพีคที่ 1 ($\Delta H1$) และพีคที่ 2 ($\Delta H2$) ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) หลังจากแช่เยือกแข็ง 4 เดือน ดังนั้นการเก็บแช่เยือกแข็งปลาทั้งตัวและการเก็บแช่เยือกแข็งเนื้อปลาบดไม่เติมสารโปรตีนมีความคงตัวต่อความร้อนไม่แตกต่างกัน

1.2 การวิเคราะห์ทางชีวเคมี

1.2.1 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase

จากการศึกษาค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิลและรูปแบบการเตรียมวัตถุดิบมีอิทธิพลร่วมต่อค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากตัวอย่างเนื้อปลานิล ($p\leq0.05$) (ภาพที่ 10) โดยพบว่าการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ (P) ก่อนแช่เยือกแข็งมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากเนื้อปลานิลบดสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสาร



ภาพที่ 10 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือน

หมายเหตุ - P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้)

- a-i: อักษรที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq0.05$)

และค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากตัวอย่างเนื้อปลานิลในทุกตัวอย่างมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บแช่เยือกแข็งเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้พบว่าตัวอย่าง W มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase เหลืออยู่มากกว่าตัวอย่าง P และ M ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 10) หลังจากเก็บแช่เยือกแข็ง 4 เดือน

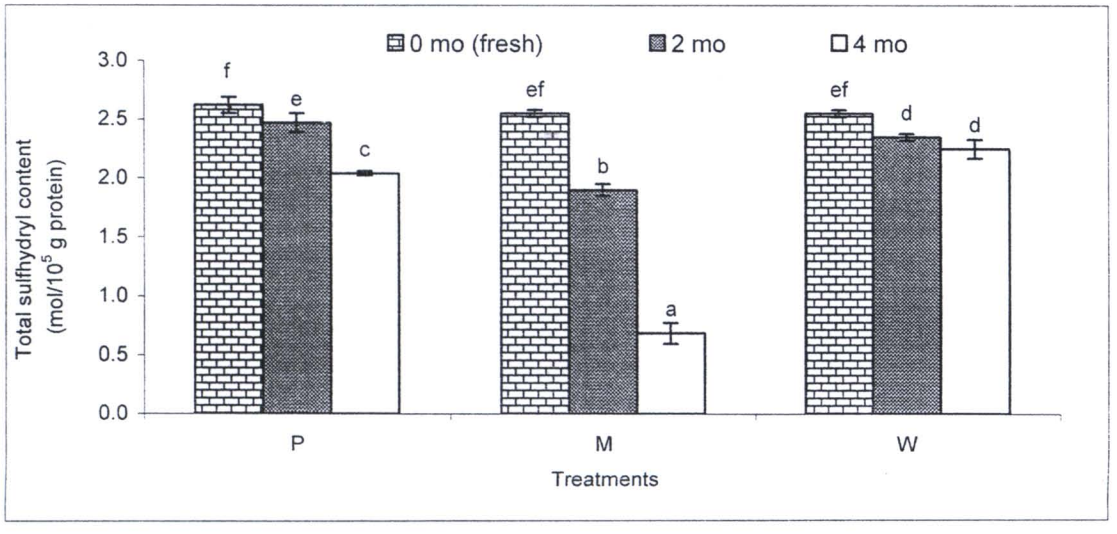
จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเก็บแช่เยือกแข็งปลาทั้งตัว (W) ช่วยชะลอการลดลงของค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase หลังจากเก็บแช่เยือกแข็ง 4 เดือนได้ดีที่สุด อาจเนื่องมาจากการบดตัวอย่างก่อนนำไปแช่เยือกแข็งทำให้โปรตีนไมโอซินบางส่วนถูกทำลาย ส่งผลให้โปรตีนไมโอซินจากตัวอย่าง P และ M ซึ่งเป็นตัวอย่างเนื้อปลานิลที่ถูกบดก่อนนำไปแช่เยือกแข็งมีการเสียสภาพในระหว่างแช่เยือกแข็งได้ง่ายกว่าโปรตีนไมโอซินจากตัวอย่าง W และการตัดหัวควักไส้ปลานิลก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง (W) อาจมีส่วนช่วยชะลอการเสียสภาพโปรตีนในระหว่างแช่เยือกแข็ง Benjakul and others (2002) ศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางเคมี และชีวเคมีของปลาตาหวาน 2 ชนิด คือ ปลาตาหวานหนังหนา (*Priacanthus tayenus*) และปลาตาหวานหนังบาง (*Priacanthus macracanthus*) ระหว่างเก็บรักษาในน้ำแข็ง พบว่า การตัดหัวควักไส้สามารถชะลอการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ได้ อย่างไรก็ตามสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่เติมร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลในตัวอย่าง P ช่วยรักษาความเป็นกลางของโปรตีนซึ่งเป็นสภาพที่โปรตีนมีความคงตัวมากที่สุด (Yagi and others 1985; Kumazawa and others 1990) ดังนั้น โปรตีนจึงมีความคงตัวมากขึ้นเป็นการชะลอการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนไมโอซินส่งผลช่วยชะลอการลดลงของกิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ที่บริเวณส่วนหัวของโปรตีนไมโอซินได้ดีกว่าตัวอย่างเนื้อปลาบดแช่ เยือกแข็ง (M) Saeki 1996 รายงานว่าความสามารถป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนของสารประกอบฟอสเฟตอาจเป็นผลจากฟอสเฟตสามารถจับกับแคลเซียมอิออนที่กระตุ้นให้โปรตีนจับตัวกันในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้การเติมน้ำตาลซูโครส และซอร์บิทอลลงในตัวอย่าง P ก็มีส่วนช่วยชะลอการลดลงของกิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ด้วยเช่นกัน ดังจะเห็นจากงานวิจัยของ Zhou and others (2006) รายงานว่า กิจกรรมของ Ca^{2+}-ATPase ของแอกโตไมโอซินในตัวอย่างซูริมิจากเนื้อปลานิลที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสร่วมกับซอร์บิทอลความเข้มข้นละร้อยละ 4 (w/w) มีอัตราการลดลงของค่ากิจกรรมในระหว่าง 24 สัปดาห์ของการแช่เยือกแข็งที่ – 18 °ซ. ช้ากว่าแอกโตไมโอซินจากตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารดังกล่าวเลย

กิจกรรมของเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase เป็นดรรชนีชี้วัดที่ดีของสภาพที่สมบูรณ์ของโมเลกุลไมโอซิน (Benjakul and others 2003) โดยส่วน globular head ของไมโอซินจะแสดงกิจกรรมการย่อยสลาย ATP (adenosine triphosphate) โดยเอนไซม์ ATPase และเมื่อโปรตีนไมโอซินมีการเสียสภาพธรรมชาติจะทำให้ส่วน globular head ของไมโอซินสูญเสียกิจกรรมดังกล่าว การที่ค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากตัวอย่างเนื้อปลานิลรูปแบบ M (เนื้อปลานิลบดที่ไม่เติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ) ลดลงอย่างรวดเร็วในระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง 4 เดือน ชี้ให้เห็นถึงการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนไมโอซินโดยเฉพาะบริเวณส่วนหัวของไมโอซิน ผลที่คล้ายกันนี้พบในกล้ามเนื้อปลาอื่นๆ ที่ไม่เติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ (Auh and others 1999; Benjakul and others 2003; Ramirez and others 2000) Benjakul and others (2003) รายงานว่ามีการลดลงของกิจกรรม Ca^{2+}-ATPase ในแอกโตไมโอซินที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาไล้ก่อ (lizardfish) ปลาจวด (croaker) ปลาทรายแดง (threadfin bream) และปลาตาโต (bigeye snapper) หลังจาก 24 สัปดาห์ของการแช่เยือกแข็งที่ – 18 °ซ. และการลดลงของกิจกรรมการย่อยสลาย ATP นั้นเป็นผลมาจากการ

เปลี่ยนแปลงโครงสร้างบริเวณ globular head ของโปรตีนไมโอซิน และมีการจับเรียงตัวกันของโปรตีน (aggregation) ที่บริเวณดังกล่าว อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่บริเวณ globular head ของโปรตีนไมโอซิน และการจับเรียงตัวกันของโปรตีน (aggregation) ที่บริเวณดังกล่าวมีสาเหตุมาจากผลึกน้ำแข็ง และความแรงประจุ (ionic strength) ของระบบเพิ่มขึ้น (Benjakul and others 1997, cited in Zhou and others 2006) การจัดเรียงตัวกันใหม่ของโปรตีน (rearrangement) โดยเกิดจากอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน (protein-protein interaction) ทำให้สูญเสียกิจกรรมการย่อยสลาย ATP เช่นกัน นอกจากนี้การเกิดออกซิเดชั่นของหมู่ซัลฟไฮดริลที่บริเวณ active site ของโปรตีนแอกโตไมโอซินก็อาจจะชักนำให้เกิดการลดลงของกิจกรรม Ca^{2+}-ATPase (Benjakul and Bauer 2000)

1.2.2 ปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมด (Total sulfhydryl content)

จากการศึกษาปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมด พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิลและรูปแบบการเตรียมวัตถุดิบมีอิทธิพลร่วมต่อปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากตัวอย่างเนื้อปลานิล ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 11) โดยพบว่าการเติมสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลในตัวอย่าง P ก่อนเก็บแช่เยือกแข็งช่วยเพิ่มปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากเนื้อปลานิลสดบดได้ และปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากตัวอย่างเนื้อปลานิลทั้ง 3 รูปแบบมีค่าลดลง ($p \leq 0.05$) ระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งนาน 4 เดือน และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาครบ 4 เดือน



ภาพที่ 11 ปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือน

หมายเหตุ - P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว(ตัดหัวและควักไส้)
- a-f: อักษรที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

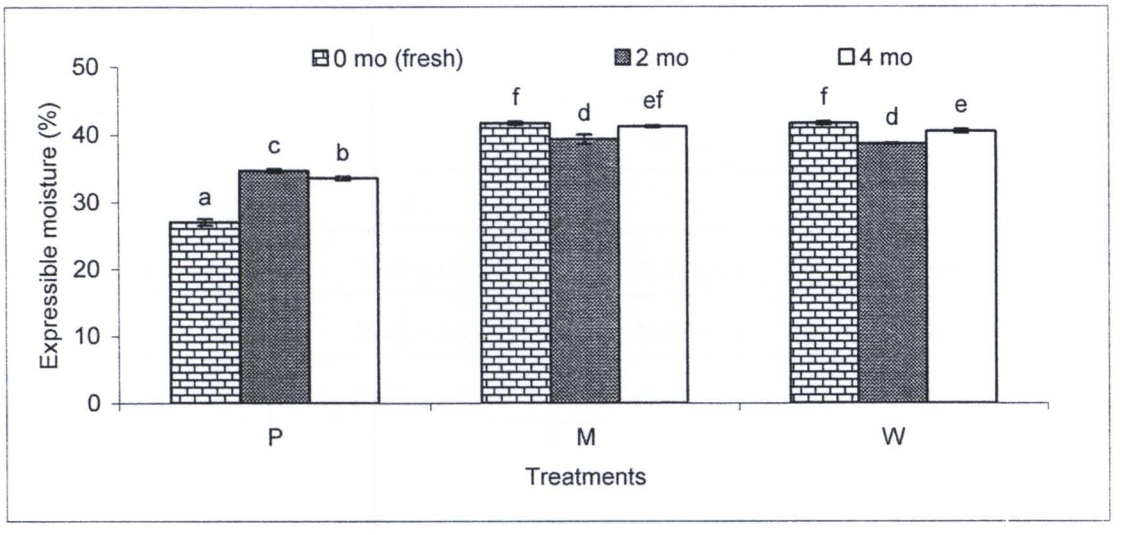
ปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากตัวอย่างเนื้อปลานิลรูปแบบ P M และ W เหลืออยู่ 2.04 0.69 และ 2.25 โมลต่อ10^5 กรัมโปรตีน ตามลำดับ และลดลงคิดเป็นร้อยละเทียบกับค่าเริ่มต้นได้ดังนี้ ร้อยละ 22.14 72.94 และ 11.76 ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าตัวอย่าง W มีปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดของแอกโตไมโอซินเหลืออยู่มากกว่าตัวอย่าง P และ M ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งนาน 4 เดือน

ในสภาพธรรมชาติของโปรตีนหมู่ซัลฟไฮดริล (-SH) ส่วนใหญ่จะฝังตัวอยู่ภายในโมเลกุลด้านในของโปรตีนแอกโตไมโอซิน และเมื่อโปรตีนเกิดการคลายตัว หรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหมู่ซัลฟไฮดริลอิสระ (reactivesulfhydryl group) ก็จะเปิดตัวออกสู่ภายนอก ซึ่งหมู่ซัลฟไฮดริลถูกพิจารณาว่าเป็นหมู่ที่พร้อมที่จะตอบสนองต่อการเกิดคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน (reactive functional groups) (Sultanbawa and Li-Chan 2001) อย่างไรก็ตามหมู่ซัลฟไฮดริลที่อยู่ภายในโปรตีนกล้ามเนื้อปลาจะถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายไปเป็นพันธะไดซัลไฟด์ (S-S) ในระหว่างการเก็บแช่เย็นหรือการเก็บแช่เยือกแข็ง หรือกระบวนการแช่เยือกแข็ง ละลาย ดังนั้นผลก็คือจะทำให้จำนวนหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดลดลง (Benjakul and others 2003; Sultanbawa and Li-Chan 2001) นั่นคือโปรตีนมีการเกิดอันตรกิริยา (interaction) ระหว่างโมเลกุล หรือภายในโมเลกุลเดียวกันเป็นการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน จากผลการทดลองในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการเก็บปลาแช่เยือกแข็งทั้งตัว (W) สามารถชะลอการเกิดออกซิเดชันของหมู่ซัลไฮดริล (-SH) ไปเป็นพันธะไดซัลไฟด์ (S-S) ได้ดีที่สุดในระหว่างการเก็บแช่เยือกแข็ง (ภาพที่ 11) อาจเนื่องมาจากการบดตัวอย่างก่อนนำไปแช่เยือกแข็งทำให้โปรตีนไมโอซินบางส่วนถูกทำลาย ส่งผลให้โปรตีนไมโอซินจากตัวอย่าง P และ M ซึ่งเป็นตัวอย่างเนื้อปลานิลที่ถูกบดก่อนนำไปแช่เยือกแข็งมีการเสียสภาพในระหว่างแช่เยือกแข็งได้ง่ายกว่าโปรตีนไมโอซินจากตัวอย่าง W อย่างไรก็ตามสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่เติมร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลในตัวอย่าง P สามารถจับกับอิออนของโลหะที่มีประจุ +2 ชนิดต่างๆ เช่น Cu^{+2} และ Fe^{+2} ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของการสร้างสะพานเชื่อมไดซัลไฟด์ที่มีผลเพิ่มการจับตัวกันของโมเลกุลโปรตีนในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งเป็นการช่วยรักษาสภาพธรรมชาติของโปรตีน นอกจากนี้น้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลที่เติมลงในตัวอย่าง P สามารถป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนระหว่างแช่เยือกแข็งโดยเฉพาะโปรตีนไมโอฟิบริลลาร์จากปลาได้ (Lee 1984; Yoon and Lee 1990) ดังนั้นจึงส่งผลช่วยรักษาสภาพธรรมชาติของโปรตีนได้ดีกว่าตัวอย่างเนื้อปลานิลบดแช่เยือกแข็งไม่มีการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ (M) ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสัมพันธ์กับผลการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Benjakul and others (2003) พบว่า การลดลงของปริมาณหมู่ซัลไฮดริลของแอกโตไมโอซินที่สกัดมาจากกล้ามเนื้อปลาไล้ก่อ ปลาจวด ปลาทรายแดง และปลาตาโตจะเกิดควบคู่กับการเพิ่มขึ้นของพันธะไดซัลไฟด์ซึ่งจะสัมพันธ์กับการลดลงของค่ากิจกรรม Ca^{2+}-ATPase โปรตีนไมโอซินมีหมู่ซัลไฮดริลอยู่ 42 หมู่อยู่ที่บริเวณส่วนหัวของโปรตีนไมโอซินและโปรตีนไมโอซิน (SH_1 และ SH_2) มีบทบาทที่สำคัญต่อการเกิดกิจกรรมการย่อยสลาย ATP (ATPase activity) และการเกิดออกซิเดชั่นของหมู่ดังกล่าวไปเป็นหมู่ไดซัลไฟด์ส่งผลให้กิจกรรมของ Ca^{2+}-ATPase ลดลง (Benjakul and others 2003) ยิ่งไปกว่านั้นหมู่ซัลฟไฮดริลที่บริเวณอื่นๆ ของไมโอซินก็จะถูกออกซิไดซ์เช่นกันซึ่งส่งผลให้เกิดการสูญเสียกิจกรรมของ Ca^{2+}-ATPase เช่นกัน (Sompongse and others 1996)

1.3 การวิเคราะห์คุณภาพของเจล

1.3.1 การสูญเสียน้ำของเจล (Expressible moisture)

จากการศึกษาการสูญเสียน้ำของเจลพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิลและรูปแบบการเตรียมวัตถุดิบมีอิทธิพลร่วมต่อการสูญเสียน้ำของเจลจากตัวอย่างเนื้อปลานิล ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 12) โดยพบว่าการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพในตัวอย่าง P ก่อนแช่เยือกแข็งช่วยลดการสูญเสียน้ำของเจลจากเนื้อปลานิลสดได้ และช่วยลดการสูญเสียน้ำของเจลที่เตรียมจากตัวอย่างเนื้อปลานิลระหว่างเก็บแช่เยือกแข็ง 4 เดือนได้ดีกว่าเจลที่เตรียมจากตัวอย่าง M และ W ซึ่งไม่มีการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ Offer and Trinick (1983) รายงานว่า การเติมสารประกอบฟอสเฟต โดยเฉพาะไพโรฟอสเฟตและไตรฟอสเฟตช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อสัตว์ เนื่องจากฟอสเฟตทำให้เกิดการพองตัวของไมโอไฟบริลเพิ่มการสกัดไมโอซิน เป็นที่ทราบว่าการเพิ่มขึ้นของความเป็นกรดด่าง มีผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำ เนื่องจากประจุลบของหมู่ฟอสเฟตเกิดพันธะกับประจุบวกบนโมเลกุลของโปรตีนเนื้อสัตว์ จึงไปเพิ่มการผลักกันของประจุในโครงสร้างของโปรตีนทำให้เกิดช่องว่างทำให้น้ำแทรกเข้าไปในโครงร่างตาข่ายมากขึ้น (Knipe and others 1985) นอกจากนี้สารประกอบฟอสเฟตมีหมู่ฟอสเฟต ($-PO_3H_2$) และน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลมีหมู่ไฮดรอกซิล (–OH) ซึ่งสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำได้ (Matsumoto and Noguchi 1992; Turner and others 2001) ดังนั้นตัวอย่าง P จึงมีค่าการสูญเสียน้ำของเจลจากเนื้อปลานิลต่ำกว่ารูปแบบ M และ W ซึ่งเป็นรูปแบบที่ไม่มีการเติมสารป้องกัน



ภาพที่ 12 การสูญเสียน้ำของเจลจากเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือน

หมายเหตุ - P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้)

- a-e: อักษรที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- เจลจากตัวอย่าง M และ W มีการเติมน้ำตาลซูโครสก่อนเซ็ทเจลร้อยละ 8.3 เพื่อทำให้ ปริมาณโปรตีนเท่ากันกับเจลจากตัวอย่าง P

โปรตีนเสียสภาพ ซึ่งผลดังกล่าวสัมพันธ์กับค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังจากการต้มสุก และค่าความเป็นกรดด่างของตัวอย่างเนื้อปลานิลแช่เยือกแข็งทั้ง 3 รูปแบบ

1.3.2 ค่าความขาวของเจล (Whiteness)

จากการศึกษาค่าความขาวของเจลจากตัวอย่างเนื้อปลานิลพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิลและรูปแบบการเตรียมวัตถุดิบไม่มีอิทธิพลร่วมต่อค่าความขาวของเจลจากตัวอย่างเนื้อปลานิล ($p>0.05$) โดยพบว่าค่าความขาวของเจลในทุกตัวอย่างมีค่าความขาวลดลงเมื่อระยะเวลาเก็บแช่เยือกแข็งนานขึ้น ($p\leq0.05$) นอกจากนี้ไม่พบความแตกต่างค่าความขาวของเจลระหว่างตัวอย่างเนื้อปลานิลทั้ง 3 รูปแบบ ($p>0.05$) (ตารางที่ 7 และ 8) จากงานวิจัยของ Saeed and others 1999 รายงานว่า การลดลงของค่าความขาวของเจลที่เตรียมจากเนื้อปลาระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็ง เกิดจากในระหว่างการเก็บแช่เยือกแข็งจะเกิดการออกซิเดชันของไขมันในกล้ามเนื้อชักนำให้เกิดการเชื่อมข้าม (cross-linking) ของโปรตีนเม็ดสีและโปรตีนกล้ามเนื้อ ส่งผลให้โปรตีนเม็ดสีถูกตรึงอยู่กับโปรตีนกล้ามเนื้อประสิทธิภาพในการเคลื่อนที่ของเม็ดสีลดลง และคงเหลืออยู่ในเนื้อปลาบด ดังนั้นค่าความขาวของเจลจึงลดลงในระหว่างเก็บแช่เยือกแข็ง

ตารางที่ 7 ค่าความขาวของเจลจากตัวอย่างเนื้อปลานิลรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือน

Storage times (months)	Whiteness		
	P	M	W
0 (fresh)	76.50 ± 1.0	75.12 ± 0.6	75.12 ± 0.6
1	73.48 ± 2.0	73.09 ± 1.6	74.57 ± 3.4
2	69.91 ± 0.7	69.61 ± 2.1	70.58 ± 1.1
3	70.04 ± 0.0	70.47 ± 0.0	69.74 ± 0.0
4	70.25 ± 0.0	70.49 ± 0.1	70.96 ± 0.0

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำ

- P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3 ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้)
- เจลจากตัวอย่าง M และ W มีการเติมน้ำตาลซูโครสก่อนเซ็ทเจลร้อยละ 8.3 เพื่อทำให้ปริมาณของแข็งเท่ากันกับเจลจากตัวอย่าง P

ตารางที่ 8 ค่าความขาวของเจลจากตัวอย่างเนื้อปลานิลรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือน

Storage time (months)	Whiteness
0 (fresh)	75.6 ± 0.8^{C}
1	73.7 ± 0.8^{B}
2	70.0 ± 0.5^{A}
3	70.1 ± 0.4^{A}
4	70.6 ± 0.4^{A}
Treatment	
P	72.0 ± 2.9^{ns}
M	71.8 ± 2.3^{ns}
W	72.2 ± 2.5^{ns}

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตามระยะเวลาการเก็บ และ/หรือตามทรีตเม้นท์ต่างๆ

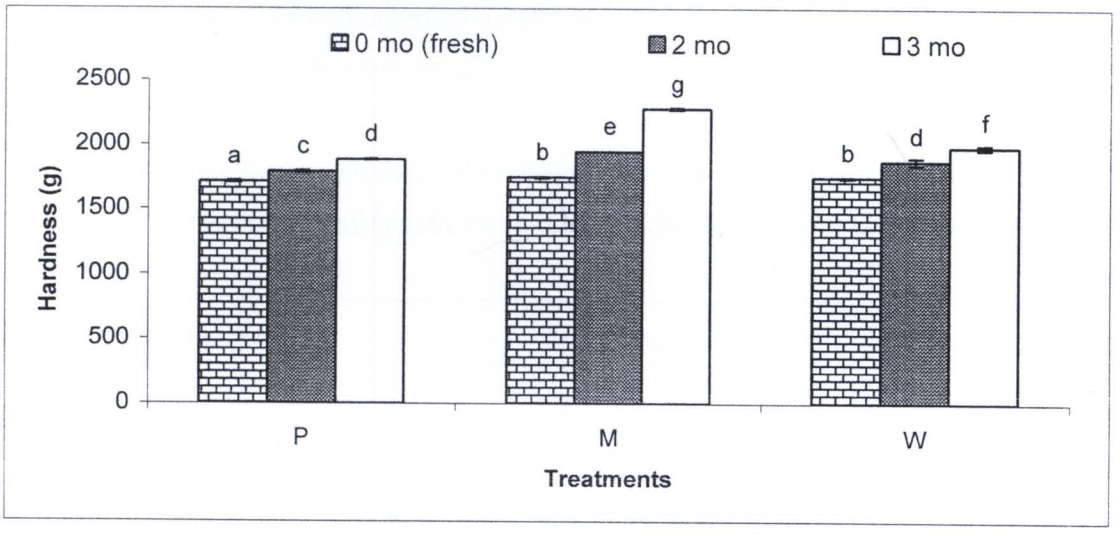
- P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3 ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้)

- $^{A-C}$: ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันระหว่างระยะเวลาการเก็บอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- ^{ns}: ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

1.3.3 คุณสมบัติด้านเนื้อสัมผัส

การศึกษาคุณสมบัติด้านเนื้อสัมผัสของเจลจากตัวอย่างเนื้อปลานิลทั้ง 3 รูปแบบ โดยใช้เทคนิค Texture profile analysis (TPA) ใช้พารามิเตอร์คือ ค่าความแข็ง (Hardness) ค่าความยืดหยุ่น (Springiness) และ ค่าการยึดเกาะ (Cohesiveness) ของเจล จากการศึกษาค่าความแข็งของเจล พบว่า ระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิลและรูปแบบการเตรียมวัตถุดิบมีอิทธิพลร่วมต่อค่าความแข็งของเจล ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 13) โดยพบว่าทุกตัวอย่างมีค่าความแข็งของเจลเพิ่มขึ้น (ประมาณร้อยละ 9.4 – 23.4) หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งนาน 4 เดือน ($p \leq 0.05$) เมื่อระยะเวลาการเก็บแช่เยือกแข็งเพิ่มขึ้นค่าความแข็งของเจลจะเพิ่มขึ้นเนื่องจากโปรตีนไมโอซินซึ่งมีความสำคัญต่อการเกิดโครงสร้างของเจลถูกชักนำให้เกิดการเสียสภาพธรรมชาติโดยการแช่เยือกแข็ง ซึ่งโปรตีนไมโอซินที่มีการเสียสภาพธรรมชาติจะเคลื่อนที่เข้าหากันเกิดการรวมตัวกันของโมเลกุลโปรตีน (aggregation) ด้วยพันธะไดซัลไฟด์ หรือ อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก (สุทธวัฒน์ เบญจกุล 2549) เกิดการฟอร์มพันธะขึ้นมาใหม่ส่งผลให้ค่าความแข็งของเจลเพิ่มขึ้น หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งนาน 4 เดือน พบว่าเจล จากตัวอย่าง P ซึ่งเป็นรูปแบบที่ มีการ



ภาพที่ 13 ค่าความแข็ง (Hardness) ของเจลจากเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือน

หมายเหตุ - P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว(ตัดหัวและควักไส้)

- a-g: อักษรที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- เจลจากตัวอย่าง M และ W มีการเติมน้ำตาลซูโครสก่อนเซ็ทเจลร้อยละ 8.3 เพื่อทำให้ปริมาณของแข็งเท่ากันกับเจลจากตัวอย่าง P

เติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพมีค่าความแข็งของเจลเพิ่มขึ้น (ประมาณร้อยละ 9) น้อยกว่าตัวอย่าง M และ W ซึ่งเป็นรูปแบบที่ไม่มีการเติมสาร (มีค่าความแข็งของเจลเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 12 - 23) หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งนาน 4 เดือน ระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิลเท่านั้นที่มีผลต่อค่า ความยืดหยุ่นของเจล ($p \leq 0.05$) โดยพบว่าค่าความยืดหยุ่นของเจลจากทุกทรีตเม้นท์ลดลง (ประมาณร้อยละ 1 - 6) เมื่อเก็บแช่เยือกแข็งครบ 4 เดือน ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 14 และตารางที่ 9) ในขณะที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิลและวิธีการเตรียมวัตถุดิบไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อค่าการยึดเกาะกันของเจล ($p > 0.05$) ตัวอย่างที่เติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ (P) ส่งผลให้ค่าการยึดเกาะสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสาร (ภาพที่ 15 และตารางที่ 9) โดยพบว่าทุกตัวอย่างมีค่าการยึดเกาะกันของเจลลดลง (ประมาณร้อยละ 2.0-5.5) หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งนาน 4 เดือน และการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ (P) ส่งผลให้ค่าการยึดเกาะกันของเจลลดลง (ประมาณร้อยละ 2.3) น้อยกว่าเจลจากตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสาร (ประมาณร้อยละ 3.4-5.5)

จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเจลจากตัวอย่าง M และ W มีคุณภาพของเจลใกล้เคียงกันโดยมีค่าความยืดหยุ่น และการยึดเกาะกันของเจลลดลงไม่แตกต่างกัน แต่ตัวอย่าง M มีค่าความแข็งเพิ่มขึ้นมากกว่าตัวอย่าง W หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งครบ 4 เดือน เนื่องจากโปรตีนไมโอซินซึ่งมีความสำคัญต่อการเกิดโครงสร้างของเจลถูกชักนำให้เกิดการเสียสภาพธรรมชาติโดยการแช่เยือกแข็ง สำหรับเจลจากตัวอย่างที่มีการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ (P) มีผลทำให้ค่าความแข็งของเจลเพิ่มขึ้นและค่าการยึดเกาะกันของเจลลด

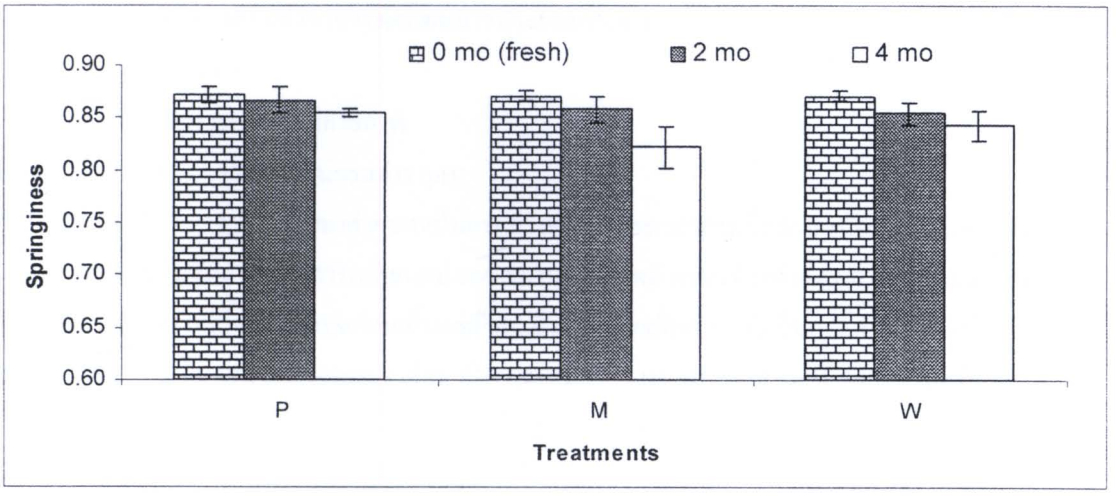
ลงน้อยกว่าตัวอย่างอื่นๆ และช่วยปรับปรุงเนื้อสัมผัสของเจลเมื่อมีการเก็บเนื้อปลานิลแช่เยือกแข็งนาน 4 เดือน ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพของเนื้อปลาบด

ตารางที่ 9 ค่าความยืดหยุ่น (Springiness) และ ค่าการยึดเกาะกัน (Cohesiveness) ของเจลจากเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือน

Storage time (month)	Springiness	Cohesiveness
0 (fresh)	0.87 ± 0.00^{B}	0.67 ± 0.01^{ns}
2	0.86 ± 0.01^{B}	0.67 ± 0.02^{ns}
4	0.84 ± 0.02^{A}	0.65 ± 0.02^{ns}
Treatment		
P	0.86 ± 0.01^{ns}	0.68 ± 0.01^{b}
M	0.85 ± 0.03^{ns}	0.66 ± 0.01^{a}
W	0.86 ± 0.01^{ns}	0.65 ± 0.02^{a}

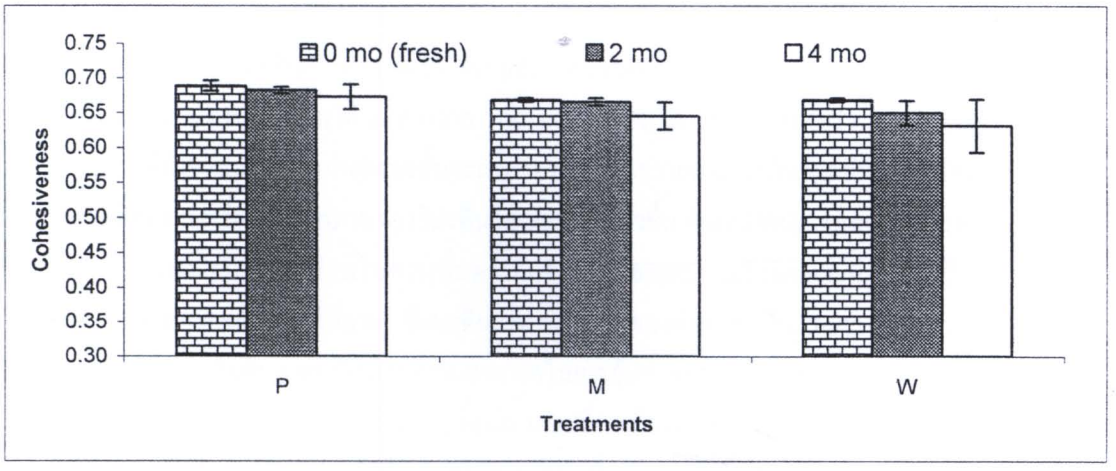
หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตามระยะเวลาการเก็บ และ/หรือตามทรีตเม้นท์ต่างๆ

- P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้)
- $^{a-b}$: ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันระหว่างทรีตเม้นท์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- $^{A-B}$: ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันระหว่างระยะเวลาการเก็บอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- ^{ns}: ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)
- เจลจากตัวอย่าง M และ W มีการเติมน้ำตาลซูโครสก่อนเซ็ทเจลร้อยละ 8.3 เพื่อทำให้ปริมาณของแข็งเท่ากันกับเจลจากตัวอย่าง P



ภาพที่ 14 ค่าความยืดหยุ่น (Springiness) ของเจลจากเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือน

หมายเหตุ - P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3 ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้)
- เจลจากตัวอย่าง M และ W มีการเติมน้ำตาลซูโครสก่อนเซ็ทเจลร้อยละ 8.3 เพื่อทำให้ปริมาณของแข็งเท่ากันกับเจลจากตัวอย่าง P



ภาพที่ 15 ค่าการยึดเกาะกัน (Cohesiveness) ของเจลจากเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็งและระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 4 เดือน

หมายเหตุ - P: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.3ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบด W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้)
- เจลจากตัวอย่าง M และ W มีการเติมน้ำตาลซูโครสก่อนเซ็ทเจลร้อยละ 8.3 เพื่อทำให้ปริมาณโปรตีนเท่ากันกับเจลจากตัวอย่าง P

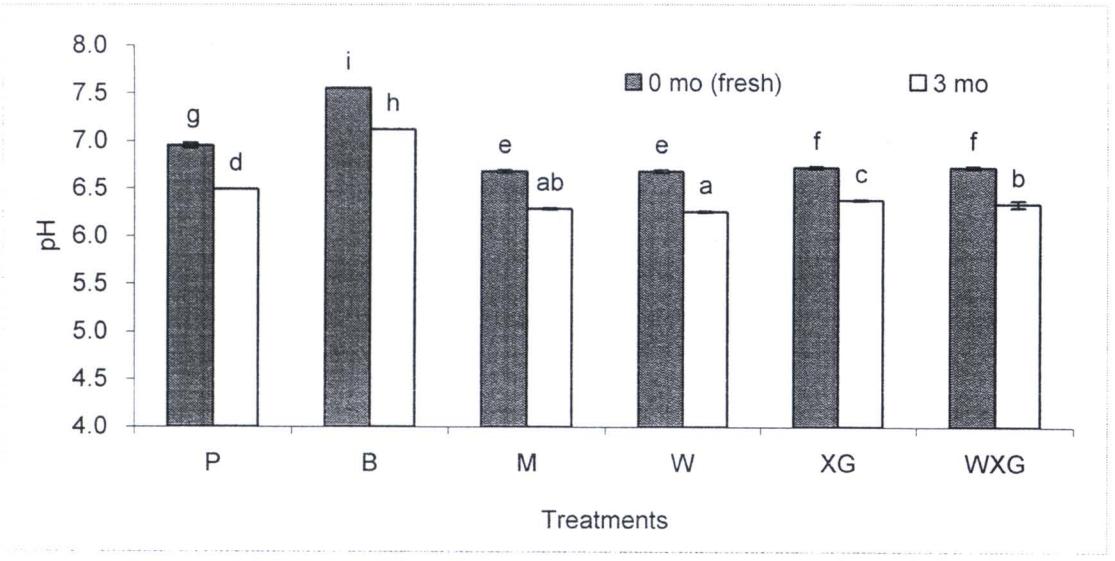
2. ผลของการใช้สารเติมแต่งอาหารทดแทนสารประกอบฟอสเฟตต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และคุณภาพของเจลจากเนื้อปลานิล

2.1 การวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ

2.1.1 ค่าความเป็นกรดด่าง (pH)

จากการศึกษาค่าความเป็นกรดด่างพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิลและรูปแบบการเตรียมวัตถุดิบมีอิทธิพลร่วมต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างของตัวอย่าง ($p \leq 0.05$) โดยพบว่าการเติมสารเติมแต่งอาหารในเนื้อปลานิลบดก่อนเก็บแช่เยือกแข็งมีผลช่วยเพิ่มค่าความเป็นกรดด่างให้กับเนื้อปลานิลบดสดได้ เมื่อนำไปเก็บแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือน ค่าความเป็นกรดด่างของเนื้อปลานิลที่ได้จากการเตรียมวัตถุดิบทั้ง 6 แบบมีค่าลดลง ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 16) และพบว่าเมื่อเก็บแช่เยือกแข็งครบ 3 เดือนตัวอย่างเนื้อปลาบดที่เติมสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอล (B) มีค่าความเป็นกรดด่างสูงสุด (pH 7.12) ในขณะที่ตัวอย่างที่มีการเติมแซนแทนกัมทั้งก่อนและหลังจากการเก็บแช่เยือกแข็งปลาทั้งตัว (XG และ WXG) มีค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่าตัวอย่างที่มีการเติมสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอล (P) แต่มีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารเติมแต่งอาหาร (M และ W) โดยการเติมแซนแทนกัมในเนื้อปลานิลบดหลังจากเก็บแช่เยือกแข็งแบบทั้งตัวนาน 3 เดือน (WXG) มีค่าความเป็นกรดด่างเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างปลานิลแช่เยือกแข็งทั้งตัว (W) อย่างมีนัยสำคัญ แต่มีค่าต่ำกว่าตัวอย่าง XG (ภาพที่ 16) จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเติมสารเติมแต่งอาหารในเนื้อปลานิลบดสดช่วยปรับปรุงค่าความเป็นกรดด่างให้เพิ่มขึ้น และช่วยรักษาความเป็นกรดด่างเมื่อเก็บแช่เยือกแข็งครบ 3 เดือนได้ โดยการเติมสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลช่วยเพิ่มค่าความเป็นกรดด่างให้กับเนื้อปลานิลบดสดได้ดีที่สุด และช่วยรักษาค่าความเป็นกรดด่างของตัวอย่างได้ดีที่สุดหลังจากเก็บแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือน ในขณะที่การเติมแซนแทนกัมช่วยเพิ่มค่าความเป็นกรดด่างให้กับเนื้อปลาบดสดได้เช่นกัน และช่วยเพิ่มค่าความเป็นกรดด่างให้กับเนื้อปลานิลบดหลังจากเก็บแช่เยือกแข็งปลาทั้งตัวได้ แต่ต่ำกว่าการเติมสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอล การที่ค่าความเป็นกรดด่างลดลงนั้นจะส่งผลกระทบต่อความสามารถในการเกิดเจล เนื่องจากค่าความเป็นกรดด่างที่ลดลงจะเร่งการเสียสภาพของโปรตีนให้เสียสภาพเร็วขึ้น (Park 2000) ในขณะที่สารที่เพิ่มค่าความเป็นกรดด่างของเจลซูริมิอาจมีส่วนในการเพิ่มความแข็งแรงของเจล แม้ว่าเฉพาะค่าความเป็นกรดด่างไม่สามารถทำนายคุณภาพของเจลได้ก็ตาม ซึ่งผลดีของการเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรดด่างคือ เพิ่มการเชื่อมข้าม (cross-linking) ของไมโอซินสายหนัก และความสามารถในการอุ้มน้ำของเจล (Bledso and others 2000)

เนื่องจากในขณะที่น้ำในเนื้อปลาบดเปลี่ยนเป็นน้ำแข็ง เกลือ และสารอินทรีย์ที่ละลายน้ำจะถูกทำให้มีความเข้มข้นมากขึ้นส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างในตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสาร (M และ W) ลดลง ในขณะที่แซนแทนกัมมีสมบัติเป็นสารพอลิอิเล็คโตรไลต์ (Garcia-Ochoa and others 2000)โดยสารที่มีสมบัติดังกล่าวเมื่อมีการละลายน้ำจะแตกตัวเป็นอิออนอิสระ ซึ่งแซนแทนกัมนั้นมีหมู่ฟังก์ชั่นที่เมื่อแตกตัวแล้วให้ประจุลบของหมู่คาร์บอกซิล (COO^-) ซึ่งอาจเกิดพันธะอิออนิกกับไฮโดรเจนอิออน (H^+) ในระบบส่งผลให้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออนลดลง ดังนั้นการเติมแซนแทนกัมในตัวอย่าง XG (เนื้อปลานิลบดเติมแซนแทนกัมแล้วนำไปแช่เยือกแข็ง) จึงช่วยชะลอการลดลงของค่าความเป็นกรดด่างในเนื้อปลานิลบดแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือนได้ อย่างไรก็ตามการเติมสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลช่วยรักษาความเป็นกรดด่าง



ภาพที่ 16 ค่าความเป็นกรดด่างของเนื้อปลานิลบดที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็งและเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 3 เดือน

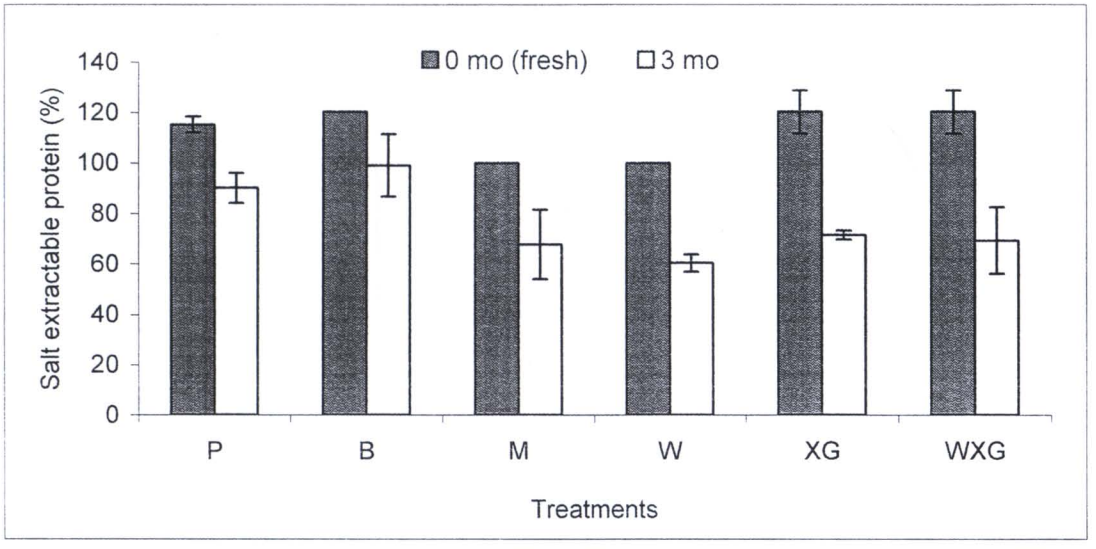
หมายเหตุ - P และ B: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 ตามลำดับร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบดไม่เติมสาร W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้) XG : เนื้อปลานิลบดเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 และ WXG : ปลานิลทั้งตัวเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5

- a-i: ตัวอักษรที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ให้กับเนื้อปลานิลได้ดีที่สุด เนื่องจากสารโซเดียมไบคาร์บอเนตที่เติมลงในตัวอย่าง B มีสมบัติช่วยเพิ่มความเป็นกรดด่างให้กับเนื้อปลาบดได้เช่นเดียวกับสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (จักรี ทองเรือง 2544, Bledsoe and others 2000) จากงานวิจัยของ Kolakowski and others (1994) พบว่าการเติมสารโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25-1 จะช่วยเพิ่มค่าความเป็นกรดด่างให้เนื้อปลาคอดสดบดได้ซึ่งเมื่อความเข้มข้นของสารเพิ่มขึ้นค่าความเป็นกรดด่างของเนื้อปลาบดก็จะเพิ่มขึ้นด้วย การเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 ลงในซูริมิจากปลาพอลล็อคและไวติ้งมีผลทำให้ค่าความเป็นกรดด่างเพิ่มขึ้นจาก 7.70 เป็น 8.68 และ 7.33 เป็น 7.60 ตามลำดับ (Bledsoe and others 2000) อย่างไรก็ตามตัวอย่าง W ซึ่งเป็นรูปแบบที่มีการเก็บแช่เยือกแข็งปลาทั้งตัวสามารถชะลอการลดลงของค่าความเป็นกรดด่างเมื่อเก็บแช่เยือกแข็งครบ 3 เดือนได้ไม่แตกต่างจากตัวอย่าง M ซึ่งเป็นรูปแบบเนื้อปลาบดแช่เยือกแข็งไม่เติมสาร แต่น้อยกว่าตัวอย่างอื่นๆ เนื่องจากการเก็บแช่เยือกแข็งปลาทั้งตัวไม่มีการทำลายโครงสร้างของกล้ามเนื้อ ดังนั้นปริมาณไกลโคเจนที่สะสมไว้ตามกล้ามเนื้อจึงน่าจะมีอยู่สูง และไกลโคเจนจะกลายเป็นกรดแลคติกซึ่งจะส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างของกล้ามเนื้อปลาลดลง

2.1.2 ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือ (Salt extractable protein)

จากการศึกษาปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิล และวิธีการเตรียมวัตถุดิบไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือของตัวอย่าง



ภาพที่ 17 ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือของเนื้อปลานิลบดที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็งและเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 3 เดือน

หมายเหตุ - P และ B: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 ตามลำดับร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบดไม่เติมสาร W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้) XG : เนื้อปลานิลบดเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 และ WXG : ปลานิลทั้งตัวเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5

- P และ B เปรียบเทียบเนื้อปลาบดไม่เติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพร้อยละ 8.3 XG และ WXG เปรียบเทียบกับเนื้อปลาบดไม่เติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5

($p>0.05$) การเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ P และ B ลงในเนื้อปลานิลสดมีผลให้ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือเพิ่มขึ้น ($p\leq0.05$) (ตารางที่ 10 และภาพที่ 17) เมื่อเก็บแช่เยือกแข็งครบ 3 เดือน ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือในทุกตัวอย่างมีค่าลดลง ($p\leq0.05$) การเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ P และ B ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือเหลืออยู่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และมากกว่าตัวอย่าง M และ W ($p\leq0.05$) เนื่องจากสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในตัวอย่าง P ช่วยเพิ่มค่าความเป็นกรดด่างให้กับตัวอย่าง และหมู่ฟอสเฟตซึ่งแตกตัวให้ประจุลบไปเพิ่มประจุลบบนโมเลกุลโปรตีนส่งผลโมเลกุลโปรตีนผลักกันมากขึ้น (Offer and Trinick 1983) ซึ่งจะช่วยให้โปรตีนมีการละลายดีขึ้น และสารดังกล่าวช่วยรักษาความเป็นกลางซึ่งเป็นสภาพที่โปรตีนมีความคงตัวมากที่สุด (Yagi and others 1985; Kumazawa and others 1990) จึงช่วยรักษาปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือให้เหลืออยู่มากกว่าตัวอย่างอื่นๆ สำหรับสารโซเดียมไบคาร์บอเนตมีกลไกการทำหน้าที่คล้ายกับสารประกอบฟอสเฟต จากงานวิจัยของ Kolakowski and others (1994) พบว่าการเติมสารโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 1 จะช่วยชะลอการลดลงของโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือจากเนื้อปลาคอดบดระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือนได้ดีกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารดังกล่าว นอกจากนี้น้ำตาลซูโครส

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

และซอร์บิทอลที่เติมในตัวอย่าง P และ B สามารถป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน โดยเฉพาะโปรตีนไมโอฟิบริลลาร์จากปลาได้ (Lee 1984; Yoon and Lee 1990)

ตารางที่ 10 ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือของเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง และเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 3 เดือน

Storage time (months)	Salt extractable protein (%)
0 (fresh)	112.7 ± 10.3^{B}
3	76.3 ± 15.9^{A}
Treatments	
P	102.7 ± 15.0^{d}
B	109.7 ± 14.2^{d}
M	83.9 ± 20.2^{ab}
W	80.2 ± 23.0^{a}
XG	95.9 ± 28.6^{bc}
WXG	94.8 ± 30.8^{bc}

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตามระยะเวลาการเก็บ และ/หรือตามทรีตเม้นท์ต่างๆ

- P และ B: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 ตามลำดับร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบดไม่เติมสาร W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้) XG : เนื้อปลานิลบดเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 และ WXG : ปลานิลทั้งตัวเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5
- $^{a-d}$: ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้งแสดงความแตกต่างระหว่างทรีตเม้นท์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- $^{A-B}$: ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอนแสดงความแตกต่างระหว่างระยะเวลาการเก็บอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- P และ B เปรียบเทียบเนื้อปลาบดไม่เติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพร้อยละ 8.3 XG และ WXG เปรียบเทียบกับเนื้อปลาบดไม่เติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5

ตัวอย่างที่มีการเติมแซนแทนกัม (XG และ WXG) มีปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือเหลืออยู่ไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่ไม่เติมแซนแทนกัม M (เนื้อปลานิลบดแช่เยือกแข็ง) ($p>0.05$) แต่มีค่ามากกว่า W (ปลานิลแบบทั้งตัวแช่เยือกแข็ง) Ponte and others (1984) พบว่าปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือของเนื้อปลาไวติ้ง (Whiting, *Merlangius merlangus*) บดที่มีการเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 (w/w) หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 18 °ซ. นาน 3 เดือน มีปริมาณเหลืออยู่ไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่ไม่มีการเติม

สารเติมแต่งดังกล่าว อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้พบว่า การเติมแซนแทนกัมลงในเนื้อปลาบดทั้งก่อนหรือหลังแช่แข็งทั้งตัวช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือได้ (ตารางที่ 10) อาจเนื่องมาจากแซนแทนกัมเป็นไฮโดรคอลลอยด์ที่มีประจุเป็นลบ เช่นเดียวกับโปรตีนในสภาวะธรรมชาติซึ่งมีค่าความเป็นกรดด่างสูงกว่าค่าไอโซอิเลคตริก (pH>pI) ดังนั้นโมเลกุลขนาดใหญ่ทั้งของโปรตีนและแซนแทนกัมจึงเกิดการผลักกันและละลายได้ดีขึ้น

2.1.3 คุณสมบัติทางเทอร์โมไดนามิกโดยใช้เทคนิค Differential scanning calorimeter (DSC)

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเทอร์โมไดนามิกส์โดยใช้เครื่อง Differential scanning calorimeter (DSC) ใช้ความร้อนช่วง 20-90 °ซ. อัตราการให้ความร้อน 10 °ซ./นาที ติดตามการเปลี่ยนแปลงการเสียสภาพของโปรตีนด้วยความร้อนของเนื้อปลานิลรูปแบบต่างๆ พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิล และวิธีการเตรียมวัตถุดิบมีอิทธิพลร่วมกันต่ออุณหภูมิเริ่มต้น (onset denaturation temperature, onset T_d) และปริมาณความร้อนที่ใช้ในการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน (ΔH) ($p \leq 0.05$) จากแผนภาพการเปลี่ยนแปลงปริมาณ

ตารางที่ 11 อุณหภูมิเริ่มต้นของการเสียสภาพโปรตีนด้วยความร้อนของเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 3 เดือน

Treatment	Onset denaturation temperature (°C)			
	Peak 1(onset T_d 1)		Peak 2(onset T_d 2)	
	0 month (fresh)	3 months	0 month (fresh)	3 months
P	53.61 ± 0.15^{e}	53.77 ± 0.02^{e}	71.78 ± 1.28^{ns}	71.47 ± 1.74^{ns}
B	53.56 ± 0.24^{e}	53.35 ± 0.43^{e}	72.35 ± 0.26^{ns}	72.27 ± 0.65^{ns}
M	48.67 ± 0.07^{a}	49.89 ± 0.17^{b}	72.02 ± 0.42^{ns}	72.85 ± 0.75^{ns}
W	48.67 ± 0.07^{a}	50.95 ± 0.31^{c}	72.02 ± 0.42^{ns}	72.62 ± 0.10^{ns}
XG	$48.40 + 0.32^{a}$	51.89 ± 0.59^{d}	72.10 ± 0.47^{ns}	70.53 ± 0.37^{ns}
WXG	$48.40 + 0.32^{a}$	48.95 ± 0.51^{a}	72.10 ± 0.47^{ns}	72.24 ± 0.08^{ns}

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำ

- P และ B: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 ตามลำดับ ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบดไม่เติมสาร W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้) XG : เนื้อปลานิลบดเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 และ WXG : ปลานิลทั้งตัวเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5
- $^{a-e}$: ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- ^{ns}: ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ความร้อนและอุณหภูมิของตัวอย่างเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ (ภาคผนวก 3ก) ปรากฏ 2 พีคที่ชัดเจน ซึ่งพีคที่ 1 มีค่า onset T_d ของตัวอย่างประมาณ 48 – 54 °ซ. และพีคที่ 2 มีค่า onset T_d ประมาณ 70 – 73 °ซ. (ตารางที่ 11)

การเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ P และ B ในเนื้อปลานิลสดบดก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง ทำให้ค่า onset T_d1 ของพีค 1 เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อปลาบดสด (M ก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง) แต่ไม่มีผลต่อค่า onset T_d2 ของพีค 2 (แอกติน) และเมื่อเก็บตัวอย่างครบ 3 เดือน ไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่า onset T_d ของพีคที่ 1 และ พีคที่ 2 และการแช่เยือกแข็งตัวอย่างเนื้อปลาบด (M) หรือ ปลาทั้งตัว (W) นาน 3 เดือน ทำให้ค่า onset T_d1 ของพีค 1 เพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อพีค 2 เมื่อเทียบกับเนื้อปลาสด โดย W มีการเพิ่มขึ้นของค่า onset T_d1 สูงกว่า M อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 11) ผลของสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น ซูโครส แสดงสมบัติดังกล่าวเนื่องจากสมบัติที่ทำให้โปรตีนชอบจับกับน้ำได้ดีกว่า (preferentail hydration of protein) ทำให้มีความคงตัวแม้ที่อุณหภูมิเหนืออุณหภูมิแช่เยือกแข็ง และมีความคงตัวต่อการเสียสภาพด้วยความ

ตารางที่ 12 ปริมาณความร้อนที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติของโปรตีนในเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง และเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 3 เดือน

Treatment	Enthalpy of denaturation (ΔH; J/g)			
	Peak 1(ΔH1)		Peak 2 (ΔH2)	
	0 month (fresh)	3 months	0 month (fresh)	3 months
P	0.90 ± 0.01^{bc}	0.88 ± 0.01^{b}	0.34 ± 0.01^{D}	0.25 ± 0.01^{C}
B	1.18 ± 0.03^{d}	0.85 ± 0.03^{b}	0.33 ± 0.01^{D}	0.26 ± 0.02^{C}
M	1.48 ± 0.08^{f}	1.31 ± 0.09^{e}	0.34 ± 0.02^{D}	0.26 ± 0.01^{C}
W	1.48 ± 0.08^{f}	0.95 ± 0.06^{bc}	0.34 ± 0.02^{D}	0.21 ± 0.02^{B}
XG	1.18 ± 0.02^{d}	0.38 ± 0.02^{a}	0.18 ± 0.01^{A}	0.17 ± 0.01^{A}
WXG	1.18 ± 0.02^{d}	1.01 ± 0.00^{c}	0.18 ± 0.01^{A}	0.17 ± 0.01^{A}

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำ

- P และ B: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 ตามลำดับ ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบดไม่เติมสาร W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้) XG : เนื้อปลานิลบดเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 และ WXG : ปลานิลทั้งตัวเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5

- $^{a-d}$: ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- $^{A-D}$: ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ร้อนสูงขึ้น ขณะที่สารโพลีเมอร์โมเลกุลใหญ่ป้องกันโปรตีนโดยใช้ทฤษฎีของการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass trasition theory) ซูโครสมีคุณสมบัติเป็นสาร cryostabilizer และช่วยเพิ่มความคงตัวต่อความร้อนของกล้ามเนื้อปลาบางชนิดได้ทำให้อุณหภูมิการเสียสภาพของโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีการเติมซูโครสดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น การเติมแซนแทนกัมลงในเนื้อปลาบดสด (XG และ WXG) ก่อนการแช่เยือกแข็ง ไม่มีผลต่อค่า onset T_d1 ของพีค 1 ในขณะที่ onset T_d2 (แอกติน) ในทุกตัวอย่างไม่เปลี่ยนแปลง ($p>0.05$) (ตารางที่ 11) ตัวอย่าง XG มีค่า onset T_d1 เพิ่มขึ้นและสูงกว่าตัวอย่าง W M และ WXG ตามลำดับ ($p\leq0.05$) หลังจากเก็บแช่เยือกแข็ง 3 เดือน การเกิดพันธะภายในโครงสร้างของโมเลกุลแซนแทนกัมที่มีขนาดใหญ่ในระหว่างแช่เยือกแข็งละลาย (Giannouli and Morris 2003) อาจเป็นสาเหตุทำให้ค่า Onset T_d เพิ่มสูงขึ้น

การเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลในเนื้อปลานิลสดบดก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง (P) ส่งผลให้ค่า ΔH ของพีคที่ 1 ลดลง (ตารางที่ 12) เช่นเดียวกับการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไบคาร์บอเนตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอล (B) เมื่อเทียบกับตัวอย่างเนื้อปลานิลบดสดก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง (M) อาจเนื่องมาจากแรงจากประจุขององค์ประกอบในสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพแต่ละชนิด เช่น ฟอสเฟต และโซเดียมไบคาร์บอเนต(Na^+ ^-OOOCH) แตกตัวให้ประจุลบ เมื่อไปจับกับโปรตีนแล้วส่งผลให้โปรตีนเกิดการผลักกันและส่งผลให้คลายตัวออกมาบางส่วนทำให้ค่า $\Delta H1$ ของตัวอย่างก่อนเก็บแช่เยือกแข็งลดลง และหลังจากเก็บแช่เยือกแข็งครบ 3 เดือน ค่า $\Delta H1$ ของตัวอย่าง P ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ($p>0.05$) แต่ของตัวอย่าง B มีการลดลงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามทั้ง 2 ตัวอย่างมีค่า $\Delta H1$ น้อยกว่าตัวอย่าง M ($p\leq0.05$) ในขณะที่ค่า $\Delta H2$ ของพีคที่ 2 ลดลง ไม่แตกต่างจากตัวอย่าง M ($p>005$) อาจเนื่องจากตัวอย่าง M ซึ่งเป็นตัวอย่างเนื้อปลาบดแช่เยือกแข็งไม่เติมสารใดๆโปรตีนจะถูกชักนำให้เกิดการเสียสภาพธรรมชาติโดยการแช่เยือกแข็งซึ่งส่งผลให้โปรตีนเกิดการคลายตัวออกมาบางส่วนหมู่ซัลฟ ไฮดริล (-SH) ที่ฝังตัวอยู่ด้านในของโมเลกุลโปรตีนเปิดตัวออกมาภายนอกและถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายไปเป็นพันธะไดซัลไฟด์ (S-S) (Zhou and others 2006) ดังนั้นต้องใช้พลังงานในการสลายพันธะ (ΔH) มากกว่าตัวอย่าง P และ B ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในงานวิจัยนี้ซึ่งพบว่าปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมด (-SH) ของตัวอย่าง M หลังจากแช่เยือกแข็ง 3 เดือน เหลืออยู่น้อยกว่าตัวอย่าง P และ B (ผลการทดลองที่ 2.2.2) ดังนั้นการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ P และ B สามารถรักษาการเสียสภาพธรรมชาติระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งได้ โดยตัวอย่าง P มีค่า $\Delta H1$ ไม่เปลี่ยนแปลง และตัวอย่าง B มีค่า $\Delta H1$ ลดลงเล็กน้อย เนื่องจากสารประกอบฟอสเฟตช่วยรักษาให้เนื้อปลาบดมีความเป็นกลางซึ่งเป็นสภาพที่โปรตีนมีความคงตัวที่สุด (จักรี ทองเรือง 2544) และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตก็ให้ผลเช่นเดียวกัน (Bledsoe and others 2000) นอกจากนี้น้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลเป็นสารที่มีโมเลกุลต่ำ ซึ่งสารดังกล่าวจะเข้าไปสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโครงสร้างของโปรตีนส่งผลให้โปรตีนมีความคงตัวในระหว่างแช่เยือกแข็งโดยโปรตีนจะทนต่อการเสียสภาพด้วยความร้อน (Carpenter and Crowe 1988; Arakawa and others 1990 cited in Herrera and others 2001) อย่างไรก็ตามการเติมสารโซเดียมไบคาร์บอเนต และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตส่งผลให้โปรตีนคลายตัวออกมาบางส่วนในระยะแรกโดยทำให้ค่า $\Delta H1$ ของเนื้อปลานิลบดสดก่อนเก็บแช่เยือกแข็งลดลง

การเติมแซนแทนกัมลงในเนื้อปลาบดสด (XG ก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง) มีผลทำให้ $\Delta H1$ ลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับตัวอย่าง M ก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง และลดลงมากกว่าตัวอย่างอื่นหลังจากการเก็บแช่

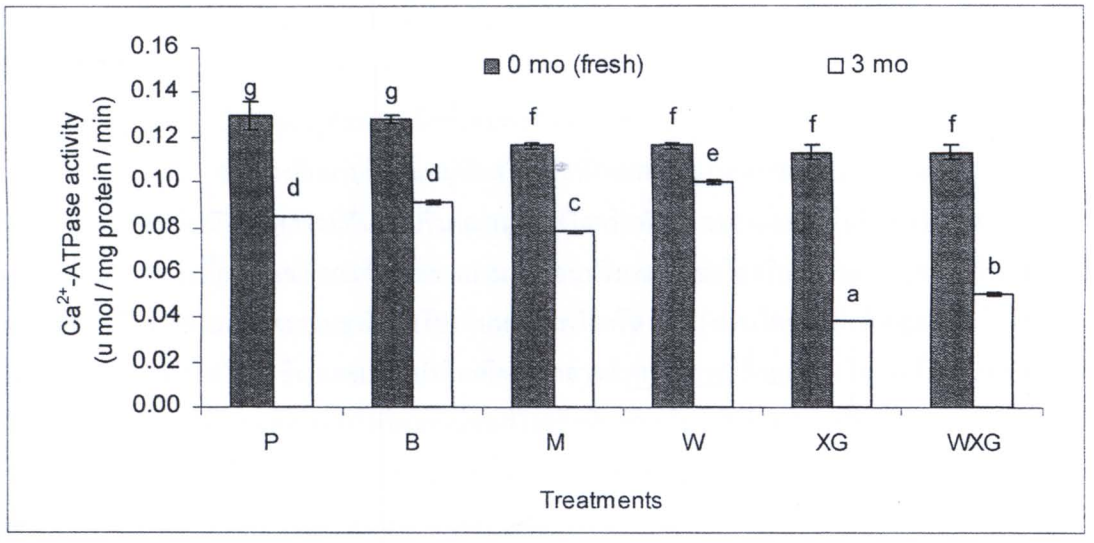
เยือกแข็ง 3 เดือน (ตารางที่ 12) อย่างไรก็ตามการเติมแซนแทนกัมลงในเนื้อปลาบดที่ได้จากการแช่เยือกแข็งปลาทั้งตัว (WXG) มีค่า $\Delta H1$ ไม่แตกต่างจากตัวอย่างปลาทั้งตัวแช่เยือกแข็งที่ไม่เติมแซนแทนกัม (W) ($p>0.05$) ค่า $\Delta H2$ ของตัวอย่างปลาทั้งตัวแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือน ลดลงมากกว่าตัวอย่างเนื้อปลาบดแช่เยือกแข็ง ($p\leq0.05$) การเติมแซนแทนกัมลงในเนื้อปลาบดสดมีผลให้ค่า $\Delta H2$ ลดลงเช่นกัน ส่วนการเติมแซนแทนกัมลงในเนื้อปลาบดก่อนแช่เยือกแข็งหรือหลังจากการแช่เยือกแข็งปลาทั้งตัว (3 เดือน) ไม่พบการเปลี่ยนแปลง $\Delta H2$ ($p \leq 0.05$) โดยภาพรวมแซนแทนกัมไม่สามารถป้องกันการเสียสภาพของโปรตีนจากปลานิลในระหว่างการเก็บแบบแช่เยือกแข็งได้ อาจเป็นผลมาจากการที่แซนแทนกัมมีประจุลบ (anioinc gum) สามารถเกิดอันตรกิริยากับโปรตีนได้ที่ pH < pI ซึ่งโปรตีนมีประจุบวก โดยแรงดึงดูดระหว่างขั้วไฟฟ้า (Electrostatic interaxtion) แต่ในสภาวะธรรมชาติส่วนใหญ่โปรตีนจะมีประจุเป็นลบ (pH>pI) ดังนั้นโมเลกุลขนาดใหญ่ทั้งของโปรตีนและแซนแทนกัมจึงเกิดการผลักกัน โครงสร้างของโปรตีนเกิดการคลายตัวส่งผลให้โปรตีนไม่สามารถรักษาสภาพธรรมชาติได้ (Miller 1994; Ramirez and others 2002) นอกจากนี้แซนแทนกัมเป็นไฮโดรคอลลอยด์ซึ่งมีโมเลกุลใหญ่มีกิ่งก้านสาขามากกว่าสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโมเลกุลต่ำ ดังนั้นจึงไม่สามารถแทรกตัวเข้าไปสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโครงสร้างของโปรตีนเพื่อทำให้โปรตีนมีความคงตัวในระหว่างแช่เยือกแข็งและทนต่อการเสียสภาพด้วยความร้อนได้ดีเท่ากับสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต โซเดียมไบคาร์บอเนต ซูโครส และซอร์บิทอล ซึ่งเป็นสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโมเลกุลต่ำ และแซนแทนยังมีสมบัติในการเกิดอันตรกิริยากับน้ำสูงอาจแย่งกับโมเลกุลโปรตีนในการจับกับน้ำทำให้โครงร่างของโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลง (Lee and Kim 1985) การเติมแซนแทนกัมหลังจากเก็บแช่เยือกแข็งปลาทั้งตัว (WXG) 3 เดือน ไม่สามารถปรับปรุงการเสียสภาพของโปรตีนด้วยความร้อนได้ โดยมีค่า $\Delta H1$ ไม่แตกต่างจากตัวอย่างปลาทั้งตัวแช่เยือกแข็ง (W) ($p>0.05$) และค่า $\Delta H2$ น้อยกว่าตัวอย่างดังกล่าว ($p\leq0.05$) (ตารางที่ 12)

2.2 การวิเคราะห์ทางชีวเคมี

2.2.1 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase

จากการศึกษากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิล และวิธีการเตรียมวัตถุดิบมีอิทธิพลร่วมกันต่อกิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากตัวอย่าง ($p\leq0.05$) และการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพ P และ B ในเนื้อปลานิลบดสด (ตัวอย่าง P และ B ก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง) ช่วยเพิ่มค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ได้เมื่อเทียบกับตัวอย่าง M ก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง (ภาพที่ 14) และเมื่อเก็บแช่เยือกแข็งครบ 3 เดือน ค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPaseในทุกตัวอย่างมีค่าลดลง ($p\leq0.05$) เนื่องจากโปรตีนไมโอซินมีการเสียสภาพโดยเฉพาะที่ส่วนหัวซึ่งบริเวณดังกล่าวจะแสดงกิจกรรมการย่อยสลาย ATP ด้วยเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ดังนั้นเมื่อโปรตีนไมโอซินเสียสภาพธรรมชาติจะทำให้ส่วนหัวของไมโอซินสูญเสียกิจกรรมดังกล่าวส่งผลให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ลดลง (Benjakul and Bauer 2000) การเก็บรักษาปลานิลทั้งตัวแช่เยือกแข็ง (W) นาน 3 เดือนส่งผลให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase (0.01 ± 0.00 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อนาที) เหลืออยู่มากกว่าตัวอย่าง P และ B ซึ่งมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase เหลืออยู่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และมากกว่าตัวอย่าง M WXG และ XG ตามลำดับ ($p\leq0.05$) (ภาพที่ 18)

จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเก็บแช่เยือกแข็งปลาทั้งตัว (W) ช่วยชะลอการลดลงของค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งครบ 3 เดือนได้ดีที่สุด อาจเนื่องมาจากการบดตัวอย่างก่อนนำไปแช่เยือกแข็งทำให้โปรตีนไมโอซินบางส่วนถูกทำลาย ส่งผลให้โปรตีนไมโอซินจากตัวอย่าง P B M และ XG ซึ่งเป็นตัวอย่างเนื้อปลานิลที่ถูกบดก่อนนำไปแช่เยือกแข็งมีการเสียสภาพในระหว่างแช่เยือกแข็งได้ง่ายกว่าโปรตีนไมโอซินจากตัวอย่างปลาทั้งตัวแช่เยือกแข็งอย่างไรก็ตามการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอล (P) และสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไบคาร์บอเนตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอล (B) ช่วยชะลอการลดลงของค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPaseได้ดีกว่าตัวอย่างเนื้อปลาบดที่ไม่มีการเติมสารดังกล่าว (M) เนื่องจากสารโซเดียมไบคาร์บอเนตในตัวอย่าง B และสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตในตัวอย่าง P ช่วยรักษาความเป็นกลางของโปรตีน ซึ่งเป็นสภาพที่โปรตีนมีความคงตัวมากที่สุด (Yagi and others 1985; Kumazawa and others 1990) ที่ค่าความเป็นกรดด่างสูง การเสียสภาพของโปรตีนด้วยความร้อน (heat denaturation) อาจเกิดขึ้นได้ช้ากว่าและผันกลับได้ (renaturation) มากกว่า Funatsu and Arai (1991) รายงานว่า ภายใต้สภาวะด่าง การเสียสภาพของโปรตีนไมโอไฟบริลในปลาคาร์พเกิดขึ้นอย่างช้าๆ จากการสลายตัวของแอคโตไมโอซิน ในสภาพที่มีโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ ไมโอซินจะอยู่ในรูปโมโนเมอร์ที่สภาวะความเป็นกรด-ด่างสูง และความแรงของอิออนต่ำ



ภาพที่ 18 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากเนื้อปลานิลบดที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็งและเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 3 เดือน

หมายเหตุ - P และ B: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 ตามลำดับร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบดไม่เติมสาร W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้) XG : เนื้อปลานิลบดเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 และ WXG : ปลานิลทั้งตัวเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5

- a-g: ตัวอักษรที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

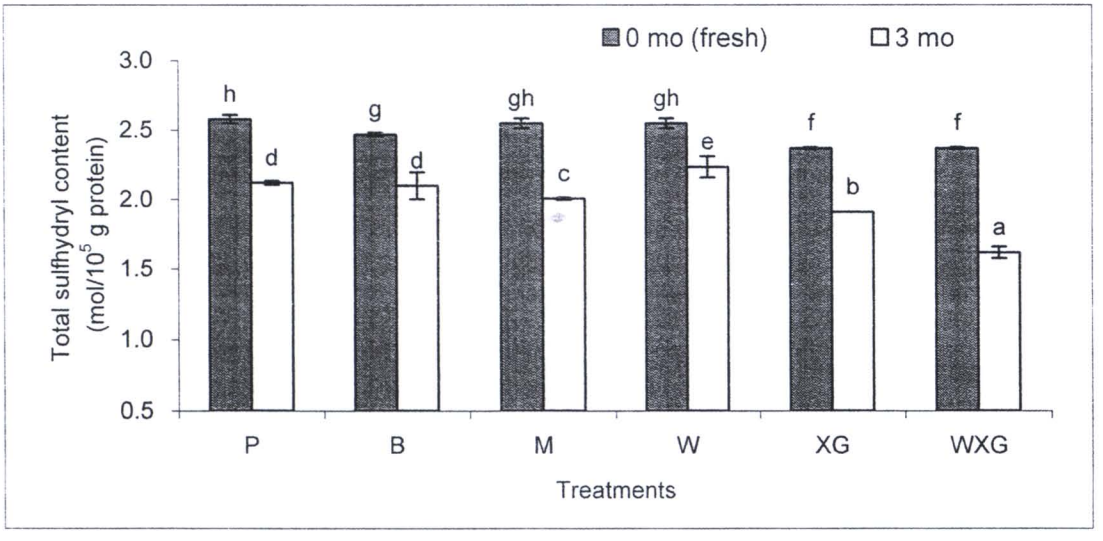
(Samejima and others 1985) ดังนั้นการเติมคาร์บอเนตลงในเนื้อปลาบดโปรตีนเกิดการรวมตัวกัน (aggregation) ได้น้อย Saeki 1996 รายงานว่าความสามารถป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนของสารประกอบฟอสเฟตอาจเป็นผลจากฟอสเฟตสามารถจับกับแคลเซียมอิออนที่ กระตุ้นให้โปรตีนจับตัวกันในระหว่างการเก็บรักษา และปัจจุบันยังไม่ทราบกลไกในการเป็นสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพของโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ชัดเจน แต่อาจเป็นไปได้ว่าการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตให้ผลคล้ายคลึงกับสารประกอบฟอสเฟต การศึกษาเพื่อเข้าใจกลไกของโซเดียมไบคาร์บอเนตในการปรับปรุงคุณภาพของเจลปลา โดยการเติมลงในเนื้อปลาทูน่า และตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและเคมีกายภาพ พบว่า กิจกรรมเอนไซม์ ATPase ของแอกโตไมโอซินจากตัวอย่างที่เติมและไม่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนตมีค่าใกล้เคียงกัน (Hamada and others 2006) นอกจากนี้การเติมน้ำตาลซูโครส และซอร์บิทอลลงในตัวอย่าง P และ B ก็มีส่วนช่วยชะลอการลดลงของกิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ด้วยเช่นกัน ดังจะเห็นจากงานวิจัยของ Zhou and others (2006) รายงานว่า กิจกรรมของเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ของแอกโตไมโอซินในตัวอย่างซูริมิจากเนื้อปลานิลที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสร่วมกับซอร์บิทอล ความเข้มข้นละร้อยละ 4 (w/w) มีอัตราการลดลงของค่ากิจกรรมในระหว่าง 24 สัปดาห์ของการแช่เยือกแข็งที่ – 18 °ซ. ช้ากว่าแอกโตไมโอซินจากตัวอย่างซูริมิที่ไม่มีการเติมสารดังกล่าวเลย การเติมแซนแทนกัมในเนื้อปลานิลบดแล้วนำไปแช่เยือกแข็ง (XG) 3 เดือนไม่สามารถรักษาค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ได้ และการเติมแซนแทนกัมในเนื้อปลานิลบดที่ได้จากการเก็บรักษาปลาทั้งตัวแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือน (WXG) ส่งผลให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ลดลง เมื่อเทียบกับตัวอย่าง W (ปลาทั้งตัวแช่เยือกแข็ง) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ด้านเทอร์โมไดนามิกส์ด้วย DSC

2.2.2 ปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมด (Total sulfhydryl content)

จากการศึกษาปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมด พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิล และวิธีการเตรียมวัตถุดิบมีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากตัวอย่าง ($p\leq0.05$) และพบว่าเมื่อเก็บแช่เยือกแข็งตัวอย่างนาน 3 เดือนปริมาณหมู่ซัลไฮดริลทั้งหมดในทุกตัวอย่างมีค่าลดลง ($p\leq0.05$) เนื่องจากในสภาพธรรมชาติของโปรตีนหมู่ซัลฟไฮดริล (-SH) ส่วนใหญ่จะฝังตัวอยู่ภายในโมเลกุลด้านในของโปรตีนแอกโตไมโอซิน และเมื่อโปรตีนเกิดการคลายตัวหรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหมู่ซัลฟไฮดริลอิสระจะเปิดตัวออกสู่ภายนอก อย่างไรก็ตามหมู่ซัลฟไฮดริลที่อยู่ภายในโปรตีนกล้ามเนื้อปลาจะถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายไปเป็นพันธะไดซัลไฟด์ (S-S) ในระหว่างการเก็บแช่เยือกแข็ง หรือกระบวนการแช่เยือกแข็งละลาย ดังนั้นผลก็คือจะทำให้จำนวนหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดลดลง (Benjakul and others 2003) และพบว่าแอกโตไมโอซินที่สกัดจากตัวอย่าง W มีปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดเหลืออยู่เมื่อเก็บแช่เยือกแข็งครบ 3 เดือนมากกว่าตัวอย่าง P และ B ซึ่งมีปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดเหลืออยู่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และมากกว่าตัวอย่าง M XG และ WXG ตามลำดับ ($p\leq0.05$) (ภาพที่ 19)

จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเก็บปลาแช่เยือกแข็งทั้งตัว (W) ช่วยชะลอการลดลงของปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดของแอกโตไมโอซินได้ดีที่สุด (ภาพที่ 19) ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสัมพันธ์กับผลการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว อย่างไรก็ตามการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (P) หรือโซเดียมไบคาร์บอเนต (B) ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลช่วยชะลอการลดลงของปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดได้ดีกว่าตัวอย่างเนื้อปลาบดที่ไม่มีการเติมสาร

ดังกล่าว (M) เนื่องจากสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่เติมในตัวอย่าง P สามารถจับกับอิออนของโลหะที่มีประจุ +2 ชนิดต่างๆ เช่น Cu^{+2} และ Fe^{+2} ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของการสร้างสะพานเชื่อมไดซัลไฟด์ที่มีผลเพิ่มการจับตัวกันของโมเลกุลโปรตีนในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งเป็นการช่วยรักษาสภาพธรรมชาติของโปรตีน สำหรับสารโซเดียมไบคาร์บอเนตที่เติมในตัวอย่าง B ปัจจุบันยังไม่ทราบกลไกที่ชัดเจนแต่อาจเป็นไปได้ว่าการเติมสารโซเดียมไบคาร์บอเนตให้ผลคล้ายกับสารประกอบฟอสเฟต นอกจากนี้น้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลที่เติมลงในตัวอย่าง P และ B สามารถป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนระหว่างแช่เยือกแข็ง โดยเฉพาะโปรตีนไมโอฟิบริลลาร์จากปลาได้ (Lee 1984; Yoon and Lee 1990) การเติมแซนแทนกัมลงในตัวอย่างเนื้อปลาบดสดมีผลทำให้ปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดลดลงและลดลงมากยิ่งขึ้นหลังจากการแช่เยือกแข็ง 3 เดือน และการเติมแซนแทนกัมในตัวอย่างเนื้อปลานิลเก็บแช่เยือกแข็งแบบทั้งตัวนาน 3 เดือน (WXG) ส่งผลให้ปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดลดลง เมื่อเทียบกับตัวอย่าง W (ปลาทั้งตัวแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือน) อาจอธิบายได้ว่าจากผลของประจุลบของแซนแทนกัมที่ทำให้โมเลกุลโปรตีนเสียสภาพไปบางส่วน (ผลการวิเคราะห์ DSC และกิจกรรมของ Ca^{2+}-ATPase) ทำให้หมู่ซัลฟไฮดริลอิสระเปิดตัวออกสู่ภายนอกและถูกออกซิไดซ์ไปเป็นพันธะไดซัลไฟด์ (S-S) ส่งผลให้ปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดลดลง



ภาพที่ 19 ปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดของแอกโตไมโอซินที่สกัดจากเนื้อปลานิลบดที่เตรียม ด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนเก็บแช่เยือกแข็งและเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 3 เดือน

หมายเหตุ - P และ B: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 ตามลำดับ ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบดไม่เติมสาร W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้) XG : เนื้อปลานิลบดเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 และ WXG : ปลานิลทั้งตัวเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5

- a-h: ตัวอักษรที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

2.3 การวิเคราะห์คุณภาพของเจล

2.3.1 การสูญเสียน้ำของเจล (Expressible moisture)

จากการศึกษาการสูญเสียน้ำของเจลพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิลและรูปแบบการเตรียมวัตถุดิบไม่มีอิทธิพลร่วมต่อการสูญเสียน้ำของเจลจากตัวอย่างเนื้อปลานิล ($p \leq 0.05$) หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งครบ 3 เดือน ทุกตัวอย่างมีค่าการสูญเสียน้ำของเจลเพิ่มขึ้น และไม่พบความแตกต่างของค่าการสูญเสียน้ำระหว่างตัวอย่างที่ไม่เติมแซนแทนกัม (M และ W) และตัวอย่างที่เติมแซนแทนกัม (XG และ WXG) ทั้งก่อนและหลังการแช่เยือกแข็งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 14) การเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไบคาร์บอเนตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลในเนื้อปลานิลบด (B) ช่วยรักษาการสูญเสียน้ำของเจลระหว่างแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือน ได้ดีที่สุด โดยมีร้อยละการเปลี่ยนแปลงค่าการสูญเสียน้ำของเจลต่ำสุด (ร้อยละ3.36) รองลงมาคือเจล จากตัวอย่างเนื้อปลานิลที่เติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอล (P) ซึ่งมีร้อยละการเปลี่ยนแปลงค่าการสูญเสียน้ำของเจล (ร้อยละ 4.63) ต่ำกว่าเจลจากตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสาร (M และ W) และสูงกว่าตัวอย่างเนื้อปลานิลที่มีการเติมแซนแทนกัมทั้งก่อน (XG) และหลังจากการเก็บแช่เยือกแข็งปลาทั้งตัว (WXG) การเติมแซนแทนกัมทั้ง 2 รูปแบบไม่สามารถช่วยรักษาค่าการสูญเสียน้ำของเจลระหว่างแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือนได้ โดยตัวอย่างทั้งสองมีร้อยละการเปลี่ยนแปลงค่าการสูญเสียน้ำของเจลมากกว่าตัวอย่างอื่นๆ (ตารางที่ 13)

Benjakul and others (2005) รายงานว่าการสูญเสียน้ำของเจลเพิ่มขึ้นในขณะที่เวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นชี้ให้เห็นว่าน้ำที่จับอยู่กับช่องว่างภายในโครงตาข่าย 3 มิติ (gel matrix) ของเจล ลดลงเนื่องจากการแช่เยือกแข็งซักนำให้โปรตีนไมโอไฟบริลมีการสูญเสียสภาพธรรมชาติทำให้โปรตีนมีความสามารถในการจับกับน้ำต่ำลงแต่โปรตีนเกิดการจับตัวกันเองมากขึ้น (aggregate) โดยปกตินำภายในเจลจะพบใน 2 สภาวะ น้ำชนิดแรกคือ น้ำผูกพัน (bound water) ซึ่งเป็นน้ำที่มีความคงตัวมาก ไม่สามารถใช้เป็นตัวทำละลายได้และไม่แข็งตัวไม่ว่าจะนำอาหารไปแช่แข็งที่อุณหภูมิใดๆ น้ำชนิดที่สองอยู่ในรูปน้ำอิสระ (free water) สามารถใช้เป็นตัวทำละลายได้และสามารถวิเคราะห์ได้ง่ายๆ โดยการอัดตัวอย่างอาหารไว้ระหว่างกระดาษกรอง หรือใช้เครื่องเหวี่ยง (นิธิยา รัตนาปนนท์) โดยทั่วไปเจลที่มีลักษณะเปราะจะมีปริมาณค่าการสูญเสียน้ำหนักสูงกว่าเจลที่มีความยืดหยุ่น (สุทธวัฒน์ เบญจกุล 2549)

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไบคาร์บอเนตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลช่วยรักษาการสูญเสียน้ำของเจลได้ดีกว่าการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอล และดีกว่าตัวอย่างอื่นๆ การศึกษาเพื่อเข้าใจกลไกของโซเดียมไบคาร์บอเนตในการปรับปรุงคุณภาพของเจลปลา โดยการเติมลงในเนื้อปลาทูน่า และตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและเคมีกายภาพ พบว่า กิจกรรมเอนไซม์ ATPase ของแอกโตไมโอซินจากตัวอย่างที่เติมและไม่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนตมีค่าใกล้เคียงกัน โปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือและความสามารถในการอุ้มน้ำเพิ่มขึ้นเมื่อเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ในขณะที่การเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์หรือน้ำแอมโมเนียให้ผลปรับปรุงความยืดหยุ่นของเพสต์เนื้อปลาทูน่าที่ไม่ผ่านการล้างน้ำ แสดงให้เห็นว่าการที่

ตารางที่ 13 การสูญเสียน้ำของเจลจากเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง และเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 3 เดือน และค่าร้อยละการเปลี่ยนแปลงการสูญเสียน้ำของเจล

Treatments	Expressible moisture (%)		การเปลี่ยนแปลง (%)
	0 month (fresh)	3 months	
P	34.87 ± 0.26	36.56 ± 2.65	4.63^{b}
B	28.90 ± 3.06	29.91 ± 0.96	3.36^{a}
M	23.31 ± 1.02	25.41 ± 0.00	8.27^{d}
W	23.31 ± 1.02	25.29 ± 0.00	7.84^{c}
XG	22.44 ± 3.05	27.90 ± 0.05	19.57^{e}
WXG	22.44 ± 3.05	27.82 ± 2.23	19.35^{e}

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำ

- P และ B: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 ตามลำดับ ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบดไม่เติมสาร W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้) XG : เนื้อปลานิลบดเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 และ WXG : ปลานิลทั้งตัวเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5

- $^{a-e}$: แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ความยืดหยุ่นของเจลดีขึ้นเกิดจากการที่สามารถสกัดโปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือได้มากขึ้น และความสามารถในการอุ้มน้ำเพิ่มขึ้นเนื่องจากโซเดียมไบคาร์บอเนตไปเพิ่มค่าความเป็นกรดด่างของเนื้อปลา (Hamada and others 2006) Kanayama and others (1987) ทำการศึกษาในเนื้อปลาคอดบดผสมซูโครสร้อยละ 6 และอัลคาไลด์คาร์บอเนต หรือไบคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ร้อยละ 0.04 ค่าความเป็นกรดด่าง 7.37 นำไปแช่เยือกแข็งนาน 4 เดือนที่ -30 °ซ. เมื่อนำมาละลายโดยตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องตลอดคืนแล้วฟอร์มเจลไม่พบการสูญเสียน้ำ (dripping) หลังการละลายและเจลมีค่าคะแนนทดสอบชิมสูง Hebbar and Hiremath (1981) ศึกษาประสิทธิภาพของการเติมสารเติมแต่งอาหารชนิดต่างๆ เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำในกุ้ง (prawns) พบว่า การใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 1 สามารถลดการสูญเสียน้ำ (drip loss) และรักษาความสามารถในการอุ้มน้ำไว้ได้ดีที่สุด โดยสามารถเก็บตัวอย่างในสภาวะแช่เยือกแข็งได้นานถึง 6 เดือน มีการใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตเป็นส่วนผสมในการหมักผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (marinating agent) โดยสามารถลดการสูญเสียน้ำ (drip loss) ได้ จึงช่วยเพิ่มผลผลิตของผลิตภัณฑ์ (Kauffman and ohers 1998; Wynveen and others 2001) และสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตมีหมู่ฟอสเฟต ($-PO_3H_2$) ซึ่งสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำได้ (Matsumoto and Noguchi 1992 อ้างถึงในสุทธวัฒน์ เบญจกุล 2549) Offer and Trinick (1983) รายงานว่า การเติมสารประกอบฟอสเฟต โดยเฉพาะไพโรฟอสเฟตและไตรฟอสเฟตช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อสัตว์ เนื่องจากฟอสเฟตทำให้เกิดการพองตัวของไมโอไฟบริลเพิ่มการสกัดไมโอซิน เป็นที่ทราบว่าการเพิ่มขึ้นของความเป็นกรดด่างมีผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำ เนื่องจากการผลักกันของประจุในโครงสร้างของโปรตีน ซึ่งทั้งเกลือฟอสเฟต

และไบคาร์บอเนตช่วยปรับปรุงความสามารถในการอุ้มน้ำของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ (Kauffman and ohers 1998; Wynveen and others 2001) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบระหว่างเกลือทั้งสองชนิดนี้โซเดียมไบคาร์บอเนตมีค่าการสูญเสียน้ำของเจลต่ำกว่าเกลือฟอสเฟตอาจเกิดจากฟอสเฟตทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพสูงกว่าโดยการไปสลายสารเชิงซ้อนของแอกโตไมโอซินในโปรตีน (Bertram and others 2008) นอกจากนี้น้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลมีหมู่ไฮดรอกซิล (–OH) ซึ่งสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำได้เช่นกัน ในการทดลองนี้การเติมแซนแทนกัมทั้ง 2 รูปแบบไม่สามารถช่วยรักษาค่าการสูญเสียน้ำของเจลระหว่างแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือนได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Montero and others (2000) ซึ่งรายงานว่า ไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่าการอุ้มน้ำของเจลเนื้อปลาบลูไวติ้งบดที่มีการเติมแซนแทนกัม และอธิบายว่าการเติมแซนแทนกัมในรูปผง ปริมาณน้ำในเจลส่วนใหญ่ถูกกักเก็บไว้โดยโปรตีนไมโอฟิบริลลาร์ และไฮโดรคอลลอยด์ที่เติมลงไปจะเก็บกักน้ำที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากโปรตีนเท่านั้น ดังนั้นแซนแทนกัมจึงไม่มีผลต่อค่าการอุ้มน้ำของเจล

ตารางที่ 14 การสูญเสียน้ำ ค่าความขาว และ ความยืดหยุ่น (Springiness) ของเจลเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 3 เดือน

Storage time (months)	Expressible moisture (%)	Whiteness	Springiness
0 (fresh)	25.88 ± 5.04^{A}	74.88 ± 1.11^{B}	0.866 ± 0.014^{B}
3	28.81 ± 4.17^{B}	69.44 ± 0.55^{A}	0.854 ± 0.020^{A}
Treatments			
P	35.72 ± 1.20^{c}	73.27 ± 4.57^{ns}	0.855 ± 0.005^{a}
B	29.40 ± 0.71^{b}	72.54 ± 5.00^{ns}	0.852 ± 0.005^{a}
M	24.36 ± 1.49^{a}	71.75 ± 3.66^{ns}	0.880 ± 0.005^{b}
W	24.30 ± 1.40^{a}	71.53 ± 3.96^{ns}	0.880 ± 0.006^{b}
XG	25.17 ± 3.86^{a}	72.01 ± 2.85^{ns}	0.853 ± 0.007^{a}
WXG	25.13 ± 3.81^{a}	71.86 ± 3.05^{ns}	0.840 ± 0.025^{a}

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตามระยะเวลาการเก็บ และ/หรือตามทรีตเม้นท์ต่างๆ

- P และ B: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 ตามลำดับ ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบดไม่เติมสาร W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้) XG : เนื้อปลานิลบดเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 และ WXG : ปลานิลทั้งตัวเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5

- $^{a-c}$: อักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างทรีตเม้นท์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- $^{A-B}$: อักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างระยะเวลาการเก็บอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- ^{ns}: ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

2.3.2 ค่าความขาวของเจล (Whiteness)

จากการศึกษาค่าความขาวของเจลพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิล และวิธีการเตรียมวัตถุดิบไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อค่าความขาวของเจลจากตัวอย่าง ($p>0.05$) และเมื่อเก็บแช่เยือกแข็งตัวอย่างนาน 3 เดือน พบว่าค่าความขาวของเจลในทุกตัวอย่างมีค่าลดลง ($p\leq0.05$) (ตารางที่ 14 และ 15) เนื่องจากในระหว่างการเก็บแช่เยือกแข็งจะเกิดการออกซิเดชันของไขมันในกล้ามเนื้อชักนำให้เกิดการเชื่อมข้าม (cross-linking) ของโปรตีนเม็ดสีและโปรตีนกล้ามเนื้อ ส่งผลให้โปรตีนเม็ดสีถูกตรึงอยู่กับโปรตีนกล้ามเนื้อ ประสิทธิภาพในการเคลื่อนที่ของเม็ดสีลดลงและคงเหลืออยู่ในเนื้อปลาบด ดังนั้นค่าความขาวของเจลจึงลดลงในระหว่างเก็บแช่เยือกแข็ง (Saeed and others 1999) นอกจากนี้พบว่าทุกตัวอย่าง มีค่าความขาวของเจลไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ทั้งในตัวอย่างก่อนแช่เยือกแข็ง และ ตัวอย่างที่ผ่านการแช่เยือกแข็งครบ 3 เดือน จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอล การเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไบคาร์บอเนตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอล และการเติมแซนแทนกัมไม่สามารถปรับปรุงความขาวของเจลได้ Montero and other (2000) พบว่า การเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 ลงในเนื้อปลาบลูไวติ้งไม่มีผลต่อค่าความขาวของเจล Bledsoe and others (2000) รายงานว่าค่าความสว่าง (L*) และค่าสีเหลือง (b*) ของเจลจากซูริมิปลาพอลล็อคลดลงเมื่อเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 ผลการทดลองที่ได้แตกต่างกันอาจเนื่องมาจากงานวิจัยของ Bledsoe and others เป็นซูริมิที่ผ่านการล้างน้ำมีความเข้มข้นของโปรตีนสูง มีการเติมน้ำตาล และมีค่าความเป็นกรดด่างสูง (8.68) ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลอาจเกิดขึ้นในระหว่างการให้ความร้อนแก่เจล

ตารางที่ 15 ค่าความขาวของเจลจากตัวอย่างเนื้อปลานิลรูปแบบต่างๆ ก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง และเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 3 เดือน

Treatments	Whiteness	
	0 month (fresh)	3 months
P	76.50 ± 1.02	70.04 ± 0.00
B	76.07 ± 1.12	69.00 ± 0.04
M	74.33 ± 0.61	69.16 ± 0.57
W	74.33 ± 0.61	68.73 ± 0.68
XG	74.02 ± 1.33	69.99 ± 1.81
WXG	74.02 ± 1.33	69.70 ± 2.03

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำ

- P และ B: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 ตามลำดับ ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบดไม่เติมสาร W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้) XG : เนื้อปลานิลบดเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 และ WXG : ปลานิลทั้งตัวเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5

2.3.3 คุณสมบัติด้านเนื้อสัมผัส

การศึกษาคุณสมบัติด้านเนื้อสัมผัสของเจลจากตัวอย่างเนื้อปลานิลทั้ง 6 รูปแบบ โดยใช้เทคนิค Texture profile analysis (TPA) ใช้พารามิเตอร์คือ ค่าความแข็ง (Hardness) ค่าความยืดหยุ่น (Springiness) และ ค่าการยึดเกาะ (Cohesiveness) ของเจล จากการศึกษาค่าความแข็งของเจล พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิลและรูปแบบการเตรียมวัตถุดิบมีอิทธิพลร่วมต่อค่าความแข็งของเจล ($p<0.05$) (ตารางที่ 16) หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งครบ 3 เดือนตัวอย่าง P และ B มีค่าความแข็งของเจลเพิ่มขึ้น ร้อยละ 7.39 และ 8.54 ตามลำดับ อาจเนื่องมาจากโปรตีนเกิดการเสียสภาพบางส่วนและเกิดการฟอร์มพันธะต่างๆ ขึ้นใหม่ส่งผลให้ค่าความแข็งของเจลเพิ่มขึ้น ในขณะที่ตัวอย่าง M W XG และ WXG ไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่าความแข็งของเจลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 16) โดยการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต หรือ โซเดียมไบคาร์บอเนต (ร้อยละ 0.3) ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอล (ร้อยละ 8) ในเนื้อปลาบดสดก่อนแช่เยือกแข็งทำให้ค่าความแข็งของเจลต่ำกว่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารดังกล่าว (M W XG และ WXG) เนื่องจากปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง P และ B มีค่าต่ำกว่าตัวอย่างอื่นๆ ส่วนการเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 ลงในเนื้อปลาบดทั้ง 2 รูปแบบส่งผลให้ความแข็งของเจลสูงกว่าตัวอย่าง M และ W ($p\leq0.05$)

ตารางที่ 16 ค่าความแข็ง (Hardness) ของเจลจากตัวอย่างเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง และเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 3 เดือน และค่าร้อยละการเปลี่ยนแปลงค่าความแข็งของเจล

Treatments	Hardness (g)		
	0 month (fresh)	3 months	การเปลี่ยนแปลง(%)
P	1709.72 ± 7.06^{a}	1846.12 ± 12.11^{c}	7.39^{b}
B	1773.14 ± 2.55^{b}	1938.80 ± 23.98^{d}	8.54^{b}
M	3545.06 ± 44.71^{e}	3515.45 ± 6.43^{e}	-0.84^{a}
W	3545.06 ± 44.71^{e}	3525.42 ± 5.02^{e}	-0.56^{a}
XG	3852.64 ± 10.48^{f}	3837.11 ± 69.64^{f}	-0.40^{a}
WXG	3852.64 ± 10.48^{f}	3839.72 ± 198.46^{f}	-0.34^{a}

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำ

- P และ B: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 ตามลำดับร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบดไม่เติมสาร W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้) XG : เนื้อปลานิลบดเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 และ WXG : ปลานิลทั้งตัวเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5

- $^{a-f}$: ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

จากการศึกษาค่าความยืดหยุ่นของเจล พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิลและรูปแบบการเตรียมวัตถุดิบไม่มีอิทธิพลร่วมต่อค่าความยืดหยุ่นของเจล ($p>0.05$) (ตารางที่ 14) หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งครบ 3 เดือน ค่าความยืดหยุ่นของเจลลดลง ($p\leq0.05$) โดยการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลในเนื้อปลาบด (P) และการเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพโซเดียมไบคาร์บอเนตร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลในเนื้อปลานิลบด (B) ช่วยรักษาการสูญเสียค่าความยืดหยุ่นของเจลได้ดีกว่าการเติมแซนแทนกัมในตัวอย่างเนื้อปลานิลบดก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง (XG) โดยตัวอย่าง P และ B มีร้อยละการเปลี่ยนแปลงค่าความยืดหยุ่น (ร้อยละ -0.86 และ -0.85 ตามลำดับ) ต่ำกว่าตัวอย่าง XG (ร้อยละ -1.10) (ตารางที่ 17) อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างระหว่างทรีตเม้นท์ P และ B อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 14) และร้อยละการเปลี่ยนแปลงค่าความยืดหยุ่นระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือนไม่แตกต่างจากตัวอย่าง M (ร้อยละ -0.86) และต่ำกว่าตัวอย่าง W (ร้อยละ -0.96) ($p\leq0.05$) การเติมแซนแทนกัมในเนื้อปลานิลบดก่อนเก็บแช่เยือกแข็งตัวอย่างไม่สามารถรักษาค่าความยืดหยุ่นระหว่างเก็บแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือนได้ และไม่สามารถปรับปรุงความยืดหยุ่นหลังจากเก็บแช่เยือกแข็งปลาทั้งตัวนาน 3 เดือนได้ โดยมีร้อยละการเปลี่ยนแปลงค่าความยืดหยุ่น (ร้อยละ -1.10 และ -4.29) สูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(ตารางที่ 17)

ตารางที่ 17 ค่าความยืดหยุ่น (Springiness) ของเจลจากตัวอย่างเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง และเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 3 เดือน และร้อยละการเปลี่ยนแปลงค่าความยืดหยุ่นของเจล

Treatments	Springiness		
	0 month (fresh)	3 months	การเปลี่ยนแปลง(%)
P	0.858 ± 0.011	0.851 ± 0.002	-0.86[d]
B	0.856 ± 0.002	0.849 ± 0.030	-0.85[d]
M	0.884 ± 0.002	0.877 ± 0.002	-0.86[d]
W	0.884 ± 0.002	0.876 ± 0.003	-0.96[c]
XG	0.858 ± 0.003	0.849 ± 0.016	-1.10[b]
WXG	0.858 ± 0.003	0.823 ± 0.014	-4.29[a]

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำ

- P และ B: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 ตามลำดับร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบดไม่เติมสาร W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้) XG : เนื้อปลานิลบดเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 และ WXG : ปลานิลทั้งตัวเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5

- $^{a-d}$: ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

จากการศึกษาค่าการยึดเกาะตัวกันของเจล พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อปลานิลและรูปแบบการเตรียมวัตถุดิบมีอิทธิพลร่วมต่อค่าการยึดเกาะตัวกันของเจล ($p \leq 0.05$) โดยไม่พบความแตกต่างระหว่างทรีตเม้นท์ P B M และ W อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และหลังจากเก็บแช่เยือกแข็งครบ 3 เดือนไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่าการยึดเกาะตัวกันของเจลในตัวอย่างดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) นอกจากนี้พบว่าเจลจากตัวอย่าง XG และ WXG มีค่าการยึดเกาะตัวกันของเจลลดลง ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 18) หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งครบ 3 เดือน และมีร้อยละการเปลี่ยนแปลงค่าการยึดเกาะตัวกันของเจลจากตัวอย่าง XG (ร้อยละ -14.53) และ ตัวอย่าง WXG(ร้อยละ -28.33) มากกว่าเจลจากตัวอย่างอื่นๆ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 18)

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเติมสารป้องกันการเสียสภาพของโปรตีนโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตหรือโซเดียมไบคาร์บอเนต (ร้อยละ 0.3) ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอล (ร้อยละ 8) ในตัวอย่างเนื้อปลานิลช่วยรักษาลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลได้ หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งครบ 3 เดือน (ตารางที่ 17 และ 18) ผลของการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ร้อยละ 1.5 ลงในเนื้อปลาบด (Spearfish, *Tetrapurus audax*) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไม่เหมาะจะนำมาฟอร์มเจล หลังจากเก็บแช่เยือกแข็งที่ – 25 °ซ. นานกว่า 1 ปี เมื่อนำมาฟอร์มเจลโดยเติมเกลือร้อยละ 3 พบว่าค่าความเป็นกรดด่างของเจลเพิ่มขึ้นจาก 5.9-6.5 เป็น 7.2 และปรับปรุงคุณภาพของเจลให้ดีขึ้น (Hamada and others 2004) การเติมสารผสม NaCl-$NaHCO_3$ อัตราส่วน 4 ต่อ 2 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3.0 ลงในซูริมิจากปลา อลาสก้าพอลล็อคเพื่อฟอร์มเจลพบว่า สามารถปรับปรุงความแข็งแรงของเจลได้ โดยเพิ่มค่าแรงและระยะทางที่ทำให้เจลแตก (breaking force and deformation) จาก 1,041 กรัม และ 11.9 เซนติเมตร (ค่าความเป็นกรดด่าง 7.04) เป็น 1,464 กรัม และ 15 เซนติเมตร (ค่าความเป็นกรดด่าง 8.12) ตามลำดับ และเมื่อทำการศึกษาในเนื้อปลาอลาสก้าพอลล็อคบดแช่เยือกแข็งที่ไม่เติมฟอสเฟต พบว่า เมื่อเติมเกลือร้อยละ 2.5 และ $NaHCO_3$ ร้อยละ 0.5 (อัตราส่วน 5 ต่อ 1) ค่าแรงและระยะทางที่ทำให้เจลแตกเพิ่มขึ้นจาก 473 กรัม และ 7.8 เซนติเมตร (ค่าความเป็น กรดด่าง 6.98) เป็น 694 กรัม และ 12.5 เซนติเมตร (ค่าความเป็นกรดด่าง 8.03) ตามลำดับ (Nozaki and Nakamura 2004) Julavittayanukul and others (2006) ศึกษาคุณสมบัติของเจลจากซูริมิปลาตาโต (Bigeye snaper, *Priacanthus tayenus*) เติมสารประกอบฟอสเฟต ได้แก่ โซเดียมไพโรฟอสเฟต โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และโซเดียมเฮกซะเมตะฟอสเฟต ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.05, 0.1, 0.3 และ 0.5 (w/w) และให้ความร้อนภายใต้สภาวะที่ต่างกัน (เจลที่ได้รับความร้อนโดยตรง เจลคามาโบโกะ และเจลซูวาริ) พบว่าคามาโบโกะ และเจลที่ได้รับความร้อนโดยตรงที่เติมโซเดียมไพโรฟอสเฟตร้อยละ 0.05 มีค่าแรงและระยะทางที่ทำให้เจลแตก เพิ่มขึ้นร้อยละ 17.35 และ 11.52 และ ร้อยละ 13.54 และ 3.53 ตามลำดับเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารไพโรฟอสเฟต ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (ร้อยละ 0.05) โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตไม่มีอิทธิพล แต่โซเดียมเฮกซะเมตะฟอสเฟตส่งผลเสียต่อเจลคามาโบโกะ การเติมโซเดียมไพโรฟอสเฟต ร้อยละ 0.025 ร่วมกับแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อกิโลกรัม ช่วยเพิ่มค่าแรงที่ทำให้เจลแตกร้อยละ 38.68 เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารใดๆ แสดงให้เห็นว่าปริมาณแคลเซียมคลอไรด์ที่เพียงพอสามารถเพิ่มความสามารถในการเซ็ทตัวของเจลได้เนื่องจากเอนไซม์ TGase (endogenous transglutaminase) ซึ่งชักนำให้เกิดการเชื่อมข้าม (cross-linking) ระหว่างไมโอซินสายหนักในระหว่างการเซ็ทตัวของเจลต้องการไอออน Ca^{2+} (chelating calcium ion) เพื่อทำให้เกิดการทำงานของเอนไซม์ในขณะที่เจลเกิดการเซ็ทตัว และเมื่อเติมสารประกอบฟอสเฟตเข้มข้นมากเกินไปส่งผลให้เจลมีค่าแรงที่ทำให้เจลแตกลดลงและการสูญเสียน้ำของเจล

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

เพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) จากการศึกษาโครงสร้างระดับไมโครของเจลพบว่าเจลที่เติมสารไพโรฟอสเฟตมีการฟอร์มโครงตาข่ายที่ละเอียด ดังนั้นการเติมสารไพโรฟอสเฟตร่วมกับแคลเซียมคลอไรด์สามารถเพิ่มความแข็งแรงเช่นเดียวกับความสามารถในการอุ้มน้ำของซูริมิเจล

การเติมแซนแทนกัมในเนื้อปลาบดก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง (XG) ไม่สามารถรักษาลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลได้ โดยมีร้อยละการเปลี่ยนแปลงค่าความยืดหยุ่น (ร้อยละ -1.10) และการยึดเกาะตัวกันของเจล (ร้อยละ – 14.53) ลดลงต่ำกว่าเจลจากตัวอย่างอื่นๆ (ตารางที่ 17 และ 18) และไม่ช่วยปรับปรุงเนื้อสัมผัสของเจลจากเนื้อปลาทั้งตัวแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือน (WXG) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ทางชีวเคมี มีการศึกษาพบว่าการเติมแซนแทนกัมมีผลเสียต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ไขมันต่ำ (Mittal and Barbut 1994; Hachmeister and Herald 1998) รวมทั้งเจลจากซูริมิปลา silver carp (Ramirez and others 2002) และเจลจากเนื้อปลาบดอูไวติ้ง Montero and others (2000) ยังได้ศึกษาคุณลักษณะการเกิดเจลของโปรตีนร่วมกับแซนแทนกัมซึ่งเป็นสารไฮโดรคอลลอยด์ที่มีประจุลบพบว่า แซนแทนกัมสามารถผสมเข้าได้ดีกับแมทริกซ์ของโปรตีนโดยอาจเกิดอันตรกิริยากับโปรตีนไมโอฟิบริลลาร์และฟอร์มร่างแหในช่องว่างของเจลที่มีขนาดต่างกันและไม่สม่ำเสมอ การเติมแซนแทนกัมทำให้ความสามารถในการฟอร์มเจลของโปรตีนไมโอฟิบริลลาร์ลดลงส่งผลให้คุณภาพของเจลลดลง อาจเกิดจากการมีกัมอยู่ในช่องว่างของเจลซึ่งมีโมเลกุลขนาดใหญ่ไปขัดขวางการฟอร์มโครงสร้างร่างแหของโปรตีน นอกจากนี้การเติมแซนแทนกัมในรูปแบบผงอาจเกิดการรวมตัวเป็นกลุ่มก้อนจึงมีผลต่อโครงสร้างโปรตีนด้วย

ตารางที่ 18 ค่าการยึดเกาะตัวกัน (Cohesiveness) ของเจลจากตัวอย่างเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนเก็บแช่เยือกแข็ง และเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 3 เดือน และร้อยละการเปลี่ยนแปลงค่าการยึดเกาะตัวกันของเจล

Treatments	Cohesiveness		
	0 month (fresh)	months 3	การเปลี่ยนแปลง(%)
P	0.702 ± 0.026^{cd}	0.690 ± 0.003^{cd}	-1.75^{b}
B	0.703 ± 0.011^{cd}	0.698 ± 0.002^{cd}	-0.72^{b}
M	0.663 ± 0.000^{bc}	0.663 ± 0.000^{bc}	-0.07^{b}
W	0.663 ± 0.000^{bc}	0.662 ± 0.000^{bc}	-0.13^{b}
XG	0.722 ± 0.003^{d}	0.630 ± 0.043^{b}	-14.53^{a}
WXG	0.722 ± 0.003^{d}	0.562 ± 0.049^{a}	-28.33^{a}

หมายเหตุ - ค่าที่แสดงในตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำ

- P และ B: เนื้อปลานิลบดเติมสารป้องกันโปรตีนเสียสภาพที่มีโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และสารโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.3 ตามลำดับร่วมกับน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลร้อยละ 8 M: เนื้อปลานิลบดไม่เติมสาร W: ปลานิลทั้งตัว (ตัดหัวและควักไส้) XG : เนื้อปลานิลบดเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5 และ WXG : ปลานิลทั้งตัวเติมแซนแทนกัมร้อยละ 0.5

- $^{a-b}$: ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

2.4 การนำเทคนิคองค์ประกอบหลัก (Principle components; PCA) มาใช้เพื่อเปรียบเทียบหาสารที่สามารถทดแทนสารประกอบฟอสเฟตได้

เมื่อนำเอาข้อมูลรวมจากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมีกายภาพ และชีวเคมีของเนื้อปลานิลบด และคุณภาพของเจลเนื้อปลานิลทั้ง 13 การวิเคราะห์ มาทำการวิเคราะห์ตัวแปร โดยใช้การวิเคราะห์องค์ประกอบหลักเพื่อจัดกลุ่มตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กันไว้ในกลุ่มเดียวกัน โดยทำการสกัดองค์ประกอบหลัก (Principle components; PCA) และมีการหมุนแกนของแกนองค์ประกอบหลักซึ่งมีค่า Eigenvalue เท่ากับหรือไม่ต่ำกว่า 1 ด้วยวิธี Varimax Rotation ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 19

ตารางที่ 19 องค์ประกอบหลัก (Principle components) ของการวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ ชีวเคมีของเนื้อปลานิลบด และคุณภาพของเจลเนื้อปลานิลและความสัมพันธ์ของแต่ละองค์ประกอบหลักกับการวิเคราะห์ดังกล่าว

ลักษณะทางกายภาพ ชีวเคมีของเนื้อปลานิลบด และคุณภาพของเจลเนื้อปลานิล	องค์ประกอบหลัก (Principle components)		
	1	2	3
ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือ	0.970	-	-
ค่าความขาวของเจล	0.891	-	-
ปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมด	0.820	-	-
กิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase	0.802	-	-
ค่าการยึดเกาะตัวกันของเจล	0.766	-	-
ค่าความเป็นกรดด่าง	0.763	-	-
Onset T_d1	-	0.957	
ค่าความแข็งของเจล	-	- 0.938	
การสูญเสียน้ำของเจล	-	0.903	
$\Delta H1$	-	-	0.787
ค่าความยืดหยุ่นของเจล	-	-	0.772
Onset T_d2	-	-	0.736
$\Delta H2$	-	-	0.656
Eigenvalue	4.629	3.224	2.842
ร้อยละของความแปรปรวน (Proportion of Variance)	35.611	24.804	21.860
ความแปรปรวนสะสมเป็นร้อยละของความแปรปรวนทั้งหมด (Cumulative Percentage of Variance)	35.611	60.415	82.276

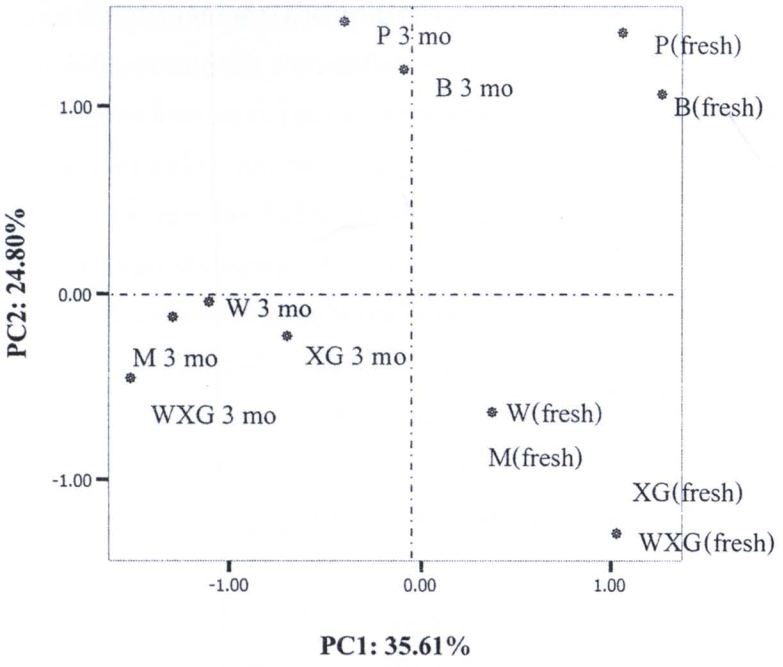
จากการวิเคราะห์ตัวแปรโดยใช้ correlation matrix สามารถจำแนกตัวแปร (จากข้อมูล 13 การวิเคราะห์ของตัวอย่าง 12 หน่วยทดลอง) ได้เป็น 3 องค์ประกอบหลัก (Principle components) ตารางที่ 19 แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้องค์ประกอบหลัก (Principle components) 3 องค์ประกอบแทนการวิเคราะห์ทางกายภาพ ชีวเคมีของเนื้อปลานิลบด และคุณภาพของเจลเนื้อปลานิลทั้ง 13 การวิเคราะห์ได้ค่อนข้างดีเพราะทั้ง 3 องค์ประกอบรวมกันสามารถอธิบายความแปรปรวนในชุดข้อมูลได้ประมาณร้อยละ 82.28 ตัวแปรที่อยู่ในองค์ประกอบเดียวกันจะมีความสัมพันธ์กันมากโดยความสัมพันธ์นั้นอาจจะเป็นไปในทิศทางเดียวกันหรือตรงกันข้ามก็ได้ ส่วนตัวแปรที่ไม่อยู่ในองค์ประกอบเดียวกันมีแนวโน้มที่จะแสดงความสัมพันธ์กันน้อยกว่า

องค์ประกอบที่ 1 (PC1) สามารถอธิบายความแปรปรวนในชุดข้อมูลทั้งหมดได้เป็นสัดส่วนที่สูงที่สุด คือ ประมาณร้อยละ 35.61 และเป็นองค์ประกอบที่มีความสัมพันธ์อย่างดีกับปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือ (correlation coefficient = 0.970) ค่าความขาวของเจล (correlation coefficient = 0.891) ปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมด (correlation coefficient = 0.820) กิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase (correlation coefficient = 0.802) ค่าการยึดเกาะตัวกันของเจล (correlation coefficient = 0.766) และค่าความเป็นกรดด่าง (correlation coefficient = 0.763) อาจเรียกองค์ประกอบนี้ว่า PC1 จะเห็นได้ว่าลักษณะทั้งหมดนี้มีความสัมพันธ์ (correlated) กันในเชิงบวก กล่าวคือเมื่อตัวอย่างมีค่าจากการวิเคราะห์หนึ่งเพิ่มขึ้นหรือลดลง ค่าอื่นๆ ก็จะเพิ่มขึ้นหรือลดลงตามด้วย และค่าที่มากขึ้นบน PC1 แสดงถึงความมากขึ้นของค่าจากการวิเคราะห์ดังกล่าวข้างต้นซึ่งส่วนใหญ่เป็นข้อมูลการวิเคราะห์ทางชีวเคมีที่แสดงความสัมพันธ์กับลักษณะทางกายภาพของเจล คือ ค่าการยึดเกาะกัน และความขาว

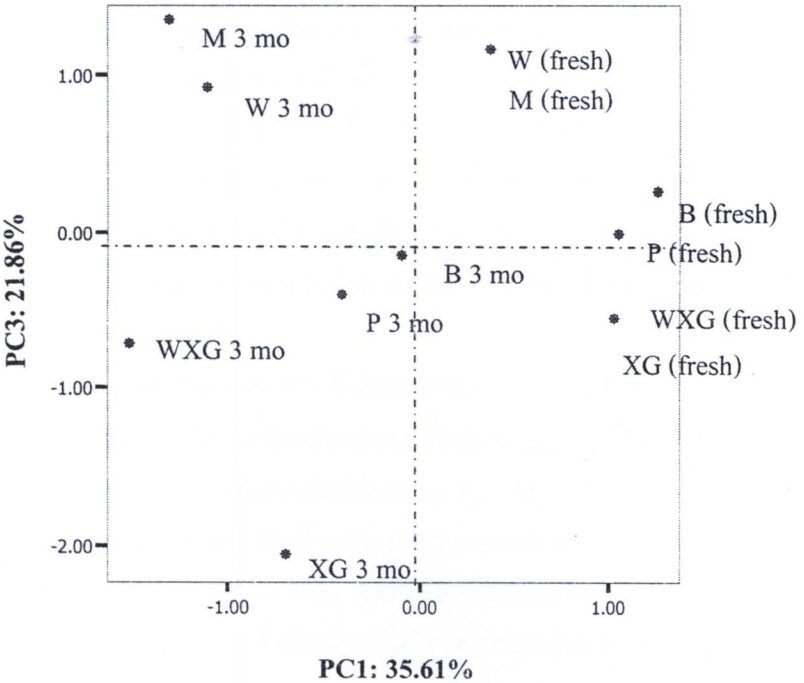
องค์ประกอบที่ 2 (PC2) สามารถอธิบายความแปรปรวนที่เหลือในชุดข้อมูลทั้งหมดได้อีก ประมาณร้อยละ 24.80 และเป็นองค์ประกอบที่มีความสัมพันธ์อย่างดีกับ Onset T_d1 (correlation coefficient = 0.957) ค่าความแข็งของเจล (correlation coefficient = -0.938) และค่าการสูญเสียน้ำของเจล (correlation coefficient = 0.903) อาจเรียกองค์ประกอบนี้ว่า PC2 จะเห็นได้ว่าบางตัวแปรมีความสัมพันธ์กันในเชิงลบ กล่าวคือเมื่อตัวอย่างมีค่าจากการวิเคราะห์หนึ่งเพิ่มขึ้นหรือลดลง ค่าอื่นๆ ก็จะลดลงหรือเพิ่มขึ้นตามด้วย ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามโดยพบว่าอุณหภูมิการเสียสภาพของโปรตีนไมโอซินและการสูญเสียน้ำของเจลมีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามกับค่าความแข็งของเจล นั่นคือ ถ้าโปรตีนไมโอซินเกิดการสลายตัวด้วยความร้อนที่อุณหภูมิสูง (Onset T_d1 มีค่าสูง) เจลมีค่าการอุ้มน้ำต่ำ (ค่าการสูญเสียน้ำของเจลสูง) และเจลมีความแข็งต่ำ

องค์ประกอบที่ 3 (PC3) สามารถอธิบายความแปรปรวนที่เหลือในชุดข้อมูลทั้งหมดได้อีก ประมาณร้อยละ 21.86 และเป็นองค์ประกอบที่มีความสัมพันธ์อย่างดีกับ $\Delta H1$ (correlation coefficient = 0.787) ค่าความยืดหยุ่นของเจล (correlation coefficient = 0.772) Onset T_d2 (correlation coefficient = 0.736) และ $\Delta H2$ (correlation coefficient = 0.656) อาจเรียกองค์ประกอบนี้ว่า PC3 จะเห็นได้ว่าลักษณะทั้งหมดนี้มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก โดยพบว่าค่าส่วนใหญ่ที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเทอร์โมไดนามิกส์มีความสัมพันธ์กับลักษณะทางกายภาพของเจล คือ ค่าความยืดหยุ่น

เมื่อนำค่า Factor score เฉลี่ยของแต่ละตัวอย่าง หรือ ค่า co-ordinates ของแต่ละตัวอย่างบน PC1 PC2 และ PC3 มาพล็อตบนพื้นที่ที่ถูกกำหนดโดย PCs คู่ใดคู่หนึ่งจะได้ภาพแสดงตำแหน่งเชิงเปรียบเทียบของแต่ละตัวอย่างบน PCs คู่นั้นๆ ดังภาพที่ 20 แสดงตำแหน่งเชิงเปรียบเทียบของแต่ละตัวอย่างบน PC1 และ PC2 ส่วนภาพ



ภาพที่ 20 ตำแหน่งเชิงเปรียบเทียบของตัวอย่างเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 3 เดือน บนองค์ประกอบหลักที่ 1 และองค์ประกอบหลักที่ 2



ภาพที่ 21 ตำแหน่งเชิงเปรียบเทียบของตัวอย่างเนื้อปลานิลที่เตรียมด้วยรูปแบบต่างๆ ก่อนแช่เยือกแข็ง และเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่ – 20 °ซ. นาน 3 เดือน บนองค์ประกอบหลักที่ 1 และองค์ประกอบหลักที่ 3

ที่ 21 แสดงตำแหน่งเชิงเปรียบเทียบของแต่ละตัวอย่างบน PC1 และ PC3 จากภาพที่ 20 เมื่อพิจารณาแกน PC1 ซึ่งมีค่าการวิเคราะห์ในองค์ประกอบหลักคือ ค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือ ปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมด กิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+}-ATPase ของตัวอย่างเนื้อปลานิลบด ค่าความขาว และค่าการยึดเกาะตัวกันของเจลเนื้อปลานิล อาจแบ่งตัวอย่างเนื้อปลานิลได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่โดยประมาณ คือกลุ่มที่ 1 ตัวอย่างเนื้อปลานิลมีค่าดังกล่าวมากที่สุด ซึ่งเป็นกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ผ่านการแช่เยือกแข็ง ได้แก่ B(fresh) P(fresh) WXG(fresh) XG(fresh) W(fresh) และ M(fresh) ส่วนกลุ่มที่ 2 ตัวอย่างมีค่าดังกล่าวมากเป็นลำดับรองลงมา ได้แก่ ตัวอย่างที่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต หรือโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต แช่เยือกแข็งนาน 3 เดือน (B 3 mo และ P 3 mo) ส่วนกลุ่มที่ 3 มีค่าดังกล่าวมากเป็นลำดับ 3 ได้แก่ ตัวอย่างที่เติมและไม่เติมแซนแทนกัม แช่เยือกแข็งนาน 3 เดือน (XG 3 mo W 3 mo M 3 mo และ WXG 3 mo) จากที่ตัวอย่างในกลุ่มที่ 1 ทั้งหมดเป็นตัวอย่างสด ส่วนกลุ่มที่ 2 และ3 เป็นตัวอย่างแช่เยือกแข็ง 3 เดือน แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างทั้งหมดมีค่าในแกน PC1 ลดลงเมื่อเก็บแช่เยือกแข็ง 3 เดือน และตัวอย่าง B และ P (ผ่านหรือไม่ผ่านการแช่เยือกแข็ง) มีคุณภาพต่างๆ ในแกน PC1 ใกล้เคียงกัน จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

เมื่อพิจารณาแกน PC2 ซึ่งมีค่าการวิเคราะห์ในองค์ประกอบหลักคือ Onset T_d1 ของตัวอย่างเนื้อปลานิล (ภาพที่ 20) ค่าความแข็ง และการสูญเสียน้ำของเจลเนื้อปลานิล อาจแบ่งตัวอย่างเนื้อปลานิลบดได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่โดยประมาณ คือกลุ่มที่ 1 ตัวอย่างเนื้อปลานิลมีค่า Onset T_d1 ของตัวอย่างเนื้อปลานิล และค่าการสูญเสียน้ำของเจลเนื้อปลานิลมากที่สุด ได้แก่ P 3 mo P(fresh) B 3 mo และ B(fresh) ส่วนกลุ่มที่ 2 มีค่าดังกล่าวมากรองลงมา ได้แก่ W 3 mo M 3 mo XG 3 mo และWXG 3 mo ส่วนกลุ่มที่ 3 มีค่าดังกล่าวมากเป็นลำดับ 3 ได้แก่ W(fresh) M(fresh) XG(fresh) และ WXG(fresh) สำหรับค่าความแข็งของเจลแปรผกผันกับค่าอื่นๆ ในแกน PC2 จะเห็นว่าตัวอย่าง P และ B แบบสด และแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือนจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันคือกลุ่มที่ 1 แสดงให้เห็นว่าเมื่อเก็บแช่เยือกแข็งตัวอย่าง P และ B นาน 3 เดือนจะมีค่า Onset T_d1 ของเนื้อปลาบด ค่าการสูญเสียน้ำ และค่าความแข็งของเจลเนื้อปลานิลเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ซึ่งต่างจากตัวอย่าง W M XG และ WXG แบบสดและแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือนจัดอยู่ต่างกลุ่มกันแสดงให้เห็นว่าเมื่อเก็บแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือน ตัวอย่างดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงค่า Onset T_d1 ของเนื้อปลาบด ค่าการสูญเสียน้ำ และค่าความแข็งของเจลเนื้อปลานิลมากกว่าตัวอย่าง B และ P และเมื่อเก็บแช่เยือกแข็งตัวอย่างนาน 3 เดือน ค่า Onset T_d1 ของเนื้อปลาบด ค่าการสูญเสียน้ำของเจลมีค่าเพิ่มขึ้น แต่ค่าความแข็งลดลง

จากภาพที่ 21 เมื่อพิจารณาแกน PC3 ซึ่งมีค่าการวิเคราะห์ในองค์ประกอบหลักคือ Onset T_d2 $\Delta H2$ $\Delta H1$ ของตัวอย่างเนื้อปลาบด และค่าความยืดหยุ่นของเจลเนื้อปลานิล อาจแบ่งตัวอย่างเนื้อปลานิลได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่โดยประมาณ คือกลุ่มที่ 1 ตัวอย่างเนื้อปลานิลมีค่า Onset T_d2 $\Delta H2$ $\Delta H1$ ของตัวอย่างเนื้อปลาบด และค่าความยืดหยุ่นของเจลเนื้อปลานิลมากที่สุด ได้แก่ M 3 mo W(fresh) M(fresh) W 3 mo ส่วนกลุ่มที่สองมีค่าดังกล่าวรองลงมา ได้แก่ B(fresh) P(fresh) B 3 mo P 3 mo WXG(fresh) XG(fresh) และ WXG 3 mo ส่วนกลุ่มที่ 3 มีค่าดังกล่าวมากเป็นลำดับ 3 ได้แก่ XG 3 mo ซึ่งเป็นตัวอย่างเนื้อปลานิลบดเติมแซนแทนกัมแช่เยือกแข็ง 3 เดือนมีค่า Onset T_d2 $\Delta H2$ $\Delta H1$ ของตัวอย่างเนื้อปลาบด และค่าความยืดหยุ่นของเจลเนื้อปลานิลน้อยที่สุด โดยตัวอย่าง B และ P ทั้งสดและแช่เยือกแข็ง 3 เดือนจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันจากองค์ประกอบหลักทั้ง 3 องค์ประกอบ (PCs) (ภาพที่ 20 และ 21) แสดงให้เห็นว่าตำแหน่งของตัวอย่าง B ทั้งแบบสดและแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือนมีตำแหน่งเชิง

เปรียบเทียบบนองค์ประกอบหลักทั้ง 3 องค์ประกอบใกล้เคียงกับตัวอย่าง P ทั้งแบบสด และแช่เยือกแข็งนาน 3 เดือน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าตัวอย่างทั้งสองมีคุณสมบัติทางกายภาพ ชีวเคมี และคุณภาพของเจลใกล้เคียงกัน ซึ่งตัวอย่าง B เป็นตัวอย่างเนื้อปลานิลบดที่มีการเติมสารโซเดียมไบคาร์บอเนต และตัวอย่าง P เป็นตัวอย่างที่มีการเติมสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต ซึ่งทั้งสองตัวอย่างมีการเติมน้ำตาลซูโครสและซอร์บิทอลเหมือนกัน ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าสารโซเดียมไบคาร์บอเนตสามารถใช้เป็นสารทดแทนสารประกอบฟอสเฟตได้