

บรรณานุกรม

- จักรี ทองเรือง. 2544. ซูริมิ (SURIMI). กรุงเทพฯ: บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด. 325 หน้า.
- จิรวัดน์ ยงสวัสดิกุล. 2549. โครงสร้างของโปรตีน. เอกสารประกอบคำสอนรายวิชา 305 623 โปรตีนอาหาร. 58-62.
- ที เอ็ม บี เพื่อการส่งออก. 2550a. ฐานข้อมูล: ธุรกิจ สินค้า. ค้นได้จาก <http://www.newswit.com/news/2007-09-04>. ค้นคว้าเมื่อ 6 ตุลาคม 2552.
- ที เอ็ม บี เพื่อการส่งออก. 2550b. ฐานข้อมูล: การตลาดปลา. ค้นได้จาก http://www.businesssthai.co.th/bt/content.php?data=406271_SMEs%20Marketing. ค้นคว้าเมื่อ 6 ตุลาคม 2552.
- นิตยา รัตนานนท์. 2549. เคมีอาหาร. กรุงเทพฯ: โอ เอส พริ้นติ้ง เฮ้าส์. 487 หน้า.
- ศูนย์วิจัยกสิกรรมไทย. 2550. ฐานข้อมูล: ปลานิลไทย : ตลาดขยายตัวทั้งในประเทศและส่งออก. ค้นได้จาก: <http://www.positioningmag.com/prnews/prnews.aspx?id=62988>. ค้นคว้าเมื่อ 30 มิถุนายน 2552.
- ศูนย์สารสนเทศ สถาบันอาหาร. 2552a. ฐานข้อมูล: คุณค่าทางโภชนาการของปลาโมง. ค้นได้จาก: <http://www.nfi.or.th/nfi/fish/nutrition.htm>. ค้นคว้าเมื่อ 30 มิถุนายน 2552.
- ศูนย์สารสนเทศ สถาบันอาหาร. 2552b. ฐานข้อมูล: ปลาโมง. ค้นได้จาก: <http://www.nfi.or.th/nfi/fish/intro.htm>. ค้นคว้าเมื่อ 30 มิถุนายน 2552.
- ศูนย์สารสนเทศ สถาบันอาหาร. 2552c. ฐานข้อมูล: สถิติการนำเข้า-ส่งออกเนื้อปลา แซ่เหียน แซ่เยือกแข็ง. ค้นได้จาก: <http://www.nfi.or.th>. ค้นคว้าเมื่อ 25 มิถุนายน 2552.
- สำนักงานที่ปรึกษาการเกษตรต่างประเทศ ประจำสหภาพยุโรป. 2550. ฐานข้อมูล: สถานการณ์ของอุตสาหกรรมส่งออกปลานิลในตลาดโลก. ค้นได้จาก: <http://www.coastalaqua.com/webboard/index.php?topic=169.0>. ค้นคว้าเมื่อ 6 ตุลาคม 2552.
- สุกัญญา สุนทรส, วิเชียร ริมพณิชยกิจ. 2547. ซีวโมเลกุล. กรุงเทพฯ: แอคทีฟ พรินท์. 305 หน้า.
- สุญาณีพร ตุลยพงศ์รักษ์. 2551. ดัชนีความสด สมบัติการเกิดเจล และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหลังผ่านการแช่เยือกแข็ง-ละลายน้ำแข็งซ้ำของปลาสวายโมง (*Pangasius* sp.). ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง). บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 129 หน้า.

- สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2549. ซูริมิ: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเนื้ออบด. กรุงเทพฯ: โอ เอส พริ้นติ้ง เฮ้าส์. 327 หน้า.
- สุวรรณ วิรัชกุล. 2544. โปroteinปลา: ซูริมิและอาหารทะเลจากซูริมิ. ขอนแก่น: หจก. ขอนแก่นการพิมพ์. 249 หน้า.
- สุวรรณ วิรัชกุล, อารยา เซาว์เรืองฤทธิ์, ศุภวรรณ ถาวรชินสมบัติ. 2543. ผลของการเก็บรักษาโดยการแช่แข็งของเนื้อปลานิลสดไม่ล้างน้ำต่อคุณภาพของซูริมิ. วารสารวิจัย มข. 5(1) : 56-65.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2551. ฐานข้อมูล: ข่าวการผลิต การตลาด ผลิตผลการเกษตร: ประมง. ค้นได้จาก: <http://www.ryt9.com>. ค้นคว้าเมื่อ 25 มิถุนายน 2552.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2553. ฐานข้อมูล: ข่าวการผลิต การตลาด ผลิตผลการเกษตร: ประมง. ค้นได้จาก: <http://www.ryt9.com/economy>. ค้นคว้าเมื่อ 20 สิงหาคม 2553.
- [Anonymous]. 2008. An Overview of Actin. Carnegie Mellon University. Available from: http://www.andrew.cmu.edu/user/asurie/03240/page1_files/image005.jpg. Accessed June 25, 2009.
- Alais C, Linden G. 1991. Meat and blood products. In: Food Biochemistry . England: Ellis horwood limited. pp. 174-192
- An H, Peter MY, Seymour TA. 1996. Role of endogenous enzymes in surimi gelation. Trends Food Sci Technol 7:321-327.
- An H, Seymour TA, Wu J, Morrissey MT. 1994. Assay and characterization of Pacific whiting (*Merluccius productus*) proteinase. J Food Sci 59: 277-281.
- An H, Weerasinghe V, Seymour TA, Morrissey MT. 1994. Cathepsin degradation of pacific whiting surimi protein. J Food Sci 59: 1013-1017.
- Bigelow W, Lee CM. 2007. Evaluation of various infused cryoprotective ingredients for their freeze-thaw stabilizing and texture improving properties in frozen Red Hake muscle. J Food Sci 72:56-64.
- Benjakul S, Chantarasuwan C, Visessanguan W. 2003a. Effect of medium temperature setting on gelling characteristics of surimi from tropical fish. Food Chem 82: 567-574.
- Benjakul S, Morrissey MT, Seymour TA, An H. 1997. Recovery of proteinase from Pacific whiting surimi wash water. J Food Biochem 21:431-436.
- Benjakul S, Visessanguan W, Tueksuban J. 2003b. Heat-activated proteolysis in lizardfish (*Saurida tumbil*) muscle. Food Res Int 36:1021-1028.

- Benjakul S, Visessanguan W, Tueksuban J, Tanaka M. 2004. Effect of some protein additives on proteolysis and gel-forming Ability of lizardfish (*Saurida tumbil*). Food Hydrocolloid 18:395-401.
- Boye SW, Lanier TC. 1988. Effects of heat-stable alkaline protease activity of Atlantic menhaden (*Brevoorti tyrannus*) on surimi gels. J Food Sci 53; 1340-1342.
- Cao MJ, Osatomi K, Tachibana K, Izumi T, Ishihara T. 1999. Myofibril-bound serine proteinase (MBP) and its degradation of myofibrillar protein. J Food Sci 64: 644-647.
- Cheng CS, Hamann DD, Webb NB. 1979. Effect of thermal processing on minced fish gel texture. J Food Sci 44:1080-1086.
- Chitpinityo S, James M, Crabbe C. 1998. REVIEW: Chymosin and aspartic proteinases. Food Chem 61; 395-418.
- Connell JJ. 1960. Studies on the proteins of fish skeletal muscle. Biochem 75: 530.
- Damodaran S. 1996. Amino acids, peptides, and proteins. In: Fennema OR, editors. Food chemistry. 3th ed. New York: Marcel Dekker. p 321-430.
- Garcia-Carreno FL. 1996. Proteinase inhibitors. Trends Food Sci Technol 7:197-204.
- Godiksen H, Morzel M, Hylgig G, Jessen F. 2009. Contribution of cathepsin B, L and D to muscle protein profiles correlated with texture in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Food Chem 113: 889-896.
- Greenberg CS, Birckbichler PJ, Rice RH. 1991. Transglutaminase multifunctional cross-linking enzymes that stabilize tissue. J Food Sci 5 : 3071-3077.
- Hashimoto A, Kobayashi A, Arai K. 1982. Thermostability of fish myofibrillar Ca^{2+} -ATPase and adaptation to environmental temperature. Nippon Suisan Gakkaishi 57: 747.
- Hastings RJ, Keay JN, Yong KW. 1990. The properties of surimi and kamaboko gels from nine British species of fish. Int J Food Sci Technol 25: 281-294.
- Hermansson AM. 1978. Physico-chemical aspects of soy protein structure formation. J Text Studies 9: 33.
- Heu MS, Kim HR, Cho DM, Godber JS, Pyeun JH. 1990. Purification and characterization of alkaline proteinases from the viscera of anchovy (*Engraulis japonica*). J Food Sci 15: 51-66.

- Hu Y, Morioka K, Itoh Y. 2007. Hydrolysis of surimi paste from walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) by cysteine proteinase cathepsin L and effect of the proteinase inhibitor (E-64) on gelation. *Food Chem* 104:702-708.
- Huang C, Lai H, Weng Y. 1998. Suitability of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) muscle for gel formation. *Int J Food Sci Technol* 33: 339.
- Jiang ST, Her YH, Lee JJ, Wang JH. 1993. Comparison of the cathepsin D from makerel (*Scomber australasicus*) and milkfish (*Chanos chanos*) muscle. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 57: 571-577.
- Jimenez-Colmenero F, Careche J, Carballo L, Cofrades S. 1994. Influence of thermal treatment on gelation of actomyosin from different myosystems. *J Food Sci* 53(1): 211-215, 220.
- Kim BY. and Park JW. 2000. Rheology and Texture Properties of Surimi Gels. In: Park JW. *Surimi and surimi seafood*. 1st ed. New York: Marcel Dekker, Inc. p. 267-324.
- Kj? rsgård IVH, Jessen F. 2003. Proteome analysis elucidating post-mortem changes in cod (*Gadus morhua*) muscle proteins. *J Agric Food Chem* 51(14): 3985-3991.
- Klomklao S, Kishimura H, Benjakul S. 2008. Endogenous proteinase in true sardine (*Sardinops melanostictus*). *Food Chem* 107: 213-220.
- Klomklao S, Kishimura H, Benjakul S, Simpson BK. 2009. Autolysis and biochemical properties of endogenous proteinase in Japanese sandfish (*Arctoscopus japonicus*). *Int J Food Sci Technol* 44:1344-1350.
- Klomklao S, Kishimura H, Yabe M, Benjakul S. 2007. Purification and characterization of two pepsins from the stomach of pectoral rattail (*Coryphaenoides pectoralis*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 147: 682-689.
- Ko WC, Liou SC. 1994. Thermal gelation properties of milkfish (*Chanos chanos*) cultured in Taiwan. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 41:574-577.
- Ladrat C, Verrez-Bagnis V, N? el J, Fleurence J. 2003. In vitro proteolysis of myofibrillar and sarcoplasmic proteins of white muscle of saw bass (*Dicentrarchus labrax* L.): effect of cathepsin B, D and L. *Food Chem* 81: 517-525.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural of proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- Lanier TC. 1994. Surimi Gelation Chemistry. In: Sikorski ZE, Pan BS, Shahidi F. *Seafood Protein*. 1st ed. New York: Chapman & Hall One Penn Plaza. p237-265.

- Lanier TC, Lin TS, Hamann DD, Thomas FB. 1981. Effect of alkaline protease in minced fish on texture of heat-processed gels. *J Food Sci* 46: 1643-1645.
- Lin CY, Wang JC. 1998. Comparison of the characteristics of surimi-products of dorsal and belly muscle from milkfish. *Food Sci Taiwan* 25(5): 591-600.
- Lin TS, Lanier TC. 1980. Properties of an alkaline protease from the skeletal muscle of Atlantic croaker. *J Food Biochem* 4; 17.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 256-275.
- Mazorra-Manzano MA, Pacheco-Aguilar R, Ramirez-Suarez JC, Garcia-Sanchez G. 2008. Pacific whiting (*Merluccius productus*) underutilization in the Gulf of California: Muscle autolytic activity characterization. *Food Chem* 107: 106-111.
- Makindo Y, Akasaka T, Toyohara H, Ikeda S. 1982. Purification and properties of carp muscle cathepsin D. *J Food Sci* 47:647-652.
- Mikkelsen SR, Corton E. 2004. *Bioanalytical chemistry*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. 361p.
- Morrissey MT, Wu JW, Lin DD, An H. 1993. Effect of food grade proteinase inhibitor on autolysis and gel strength of surimi. *J Food Sci* 58: 1051-1054.
- Mulvihill DM, Kinsella JE. 1987. Gelation characteristics of whey proteins and beta-lactoglobulin. *Food Technol* 41: 102.
- Ogawa M, Tamiya T, Tsuchiya T. 1994. Structural changes of carp myosin during heating. *Fisheries Sci* 60: 723-7.
- Park JW. 1995. Surimi gel colors as affected by moisture content and physical condition. *J Food Sci* 60(1): 15-18.
- Park JW, Lanier TC. 1989. Scanning calorimetric behavior of tilapia myosin and actin due to processing of muscle and protein purification. *J Food Sci* 54: 49-51.
- Rawdkuen S, Benjakul S. 2008. Whey proyein concentrate: Autolysis inhibition and effects on the gel properties of surimi prepared from tropical fish. *Food Chem* 106:1077-1084.
- Rawdkuen S, Benjakul S, Visessagnuan W, Lanier TC. 2007. Effect of cysteine proteinase inhibitor containing fraction from chicken plasma on autolysis and gelation Of Pacific whiting surimi. *Food Hydrocolloid* 21:1209-1216.
- Rodgers ME, Karr T, Biederman K, Ueno H, Harrington WF. 1987. Thermal stability of myosin rod from various species. *Biochem.*26: 8703-8.

- Sano T, Ohno T, Otsuka-Fuchino H, Matsumoto JJ, Tsuchiya T. 1994. Carp natural actomyosin : thermal denaturation mechanism. *J Food Sci* 59 : 1002-1008.
- Schiavone R, Zilli L, Storelli C, Vilella S. 2008. Identification by proteome analysis of muscle proteins in sea bream (*Sparus aurata*). *European Food Research and Technology*. 227(5): 1403-1410.
- Shahidi F, Kamil YVAJ. 2002. Enzyme from fish and aquatic invertebrates and their application in the food industry. *Trends Food Sci Technol* 12: 435-464.
- Shimizu Y, Machida R, Tajenunami S. 1981. Species variation in the gel-forming characteristics of fish meat. *Nippon Suisan Gakkaishi* 47:95-104.
- Sikorski ZE. 1994a. Chemistry of surimi gelation. In: Sikorski ZE, Pan BS, Shahidi F. *Seafood Protein*. 1st ed. New York: Chapman & Hall One Penn Plaza. p 389-427.
- Sikorski ZE. 1994b. The myofibrillar protein in seafood. In: Sikorski ZE, Pan BS, Shahidi F. *Seafood Protein*. 1st ed. New York: Chapman & Hall One Penn Plaza. p40-50.
- Sikorski, Z.E. and Kotakowska, A. (1994). Change in frozen stored fish. In: Sikorski ZE, Pan BS, Shahidi F. *Seafood Protein*. 1st ed. New York: Chapman Hall. p99-112.
- Sirikan P, Raksakulthai N, Yongsawatdikul J. 2006. Autolytic activity and biochemical characteristics of endogenous proteinases in Indian anchovy (*Stolephorus indicus*). *Food Chem* 98: 678-684.
- Stoknes I, Rustad T, Mohr V. 1993. Comparative studies of the proteolytic activity of tissue extracts from cod (*Gadus morhua*) and herring (*Clupea harengus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 166:613-619.
- Stone AP, Stanley DW. 1992. Mechanisms of fish muscle gelation. *Food Res Int* 25:381.
- Suwansakornkul P, Itoh Y, Hara S. 1993. The gel-forming characteristics of lizardfish. *Nippon Suisan Gakkaishi* 59: 1029.
- Suzuki T. 1981. *Fish and Kill Protein Processing Technology*. Applied Science Publisher. London. p 243-260.
- Torigai M, Konno K. 1996. Pyrophosphate-accelerated actin denaturation mechanism in myofibril. *Fisheries Sci* 62: 307-11.
- Toyohara H, Sakata T, Yamashita K, Kinoshita M, Shimizu Y. 1992. Degradation of oval file fish meat gel cause by myofibrillar proteinase(s). *J Food Sci* 55:364-368.
- Visessanguan W, Menirio AR, Kim SM, An H. 2001. Cathepsin L: a predominant heat-activated proteinase in arrowtooth flounder muscle. *J Agric Food Chem* 49:2630-2540.

- Wan J, Kimura I, Satake M. 1995. Causes of inferior gel-forming ability of salmon surimi paste. *Fish Sci* 61: 711-715.
- Wang PA, Vang B, Pedersen AM, Martinez I, Olsen RL. 2011. Post-mortem degradation of myosin heavy chain in intact fish muscle: Effect of pH and enzyme inhibitors. *Food chem* 124: 1090-1095.
- Wang PA, Icair M, Ragnar LO. 2009. Myosin heavy chain degradation during post mortem storage of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Food chem* 155: 1228-1233.
- Weng WY, Hamaguchi PY, Osaka K, Tanaka M. 2007. Effect of endogenous acid proteinases on the properties of edible films prepared from Alaska pollack surimi. *Food Chem* 105: 996-1002.
- Wick M. 2008. Filament Assembly Properties of the Sarcomeric Myosin Heavy Chain. The Ohio State University. Available from: http://ohioline.osu.edu/sc172/images/sc172_42.jpg. Accessed June 25, 2009.
- Worratao A, Yongsawatdigul J. 2002. Cross-linking of actomyosin by crud tilapia (*Oreochromis niloticus*) transglutaminase. *J Food Biochem* 27: 35-51.
- Worratao A, Yongsawatdigul J. 2005. Purification and characterization of transglutaminase from Tropical tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Food Chem* 93: 651-8.
- Wu MC, Lanier TC, Hamann DD. 1985. Rigidity and viscosity changes of croaker actomyosin during thermal gelation. *J Food Sci* 50: 14.
- Xiong YL. 1997. Structure-function relationships of muscle proteins In: Damodaran S, Paraf A, editors. *Food protein and their application*. New York: Marcel Dekker. p 341-92.
- Yamashita M, Konagaya S. 1991. Hydrolytic action of salmon cathepsin B and L muscle softening. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57: 1917-1922.
- Yarnpakdee S, Benjakul S, Visessanguan W, Kijroongrjana K. 2009. Autolysis of goatfish (*Mulloidichthys martinicus*) mince: Characterisation and effect of washing and skin inclusion. *J Food Sci* 114: 1339-1344.
- Yongsawatdikul J, Park JW. 2002. Effect of endogenous transglutaminase on threadfin bream surimi gelation. *J Food Sci* 67(9):432-438.
- Yongsawatdikul J, Park JW, Virulhakul P, Viratchakul S. 2000. Proteolytic Degradation of tropical tilapia surimi. *J Food Sci* 65:129-133.
- Yongsawatdikul J, Piyadhamviboon P. 2004. Inhibition of autolytic activity of lizardfish surimi by proteinase inhibitors. *Food Chem* 87:447-455.

Yongsawatdikul J, Piyadhamviboon P, Singchan K. 2006. Gel-forming ability of small scale mud carp (*Cirrhiana microlepis*) unwashed and washed mince as related to endogenous proteinase and transglutaminase activity. *Eur Food Res Technol* 223: 769–774.

Young RE. 2008. Myofilament fine structure. Available from: <http://www.mona.uwi.edu/fpas/courses/physiology/muscles/index.htm>. Accessed June 25, 2009.



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ทางกายภาพ

1. การวิเคราะห์การสูญเสียน้ำหนักของเจล (Expressible moisture) ดัดแปลงจากวิธี Bigelow and Lee (2007)

1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1.1.1 เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ

1.1.2 หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร และฝาปิด

1.1.3 กระดาษกรองยี่ห้อ Whatman เบอร์ 1 (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.0 เซนติเมตร) และ เบอร์ 3 (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร)

1.1.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.2 วิธีการ

1.2.1 หั่นตัวอย่างเจลให้เป็นชิ้นเล็กๆ ประมาณ 0.3 มิลลิเมตรนำตัวอย่างเจลที่หั่นได้มาคละรวมกัน

1.2.2 ชั่งตัวอย่างเจล 1.5 ± 0.3 กรัม (บันทึกน้ำหนักไว้) ใส่บนกระดาษกรองโดยนำกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 3 จำนวน 1 ชั้นและกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จำนวน 2 ชั้น มาซ้อนทับกันโดยให้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 3 อยู่ด้านในสุดห่อเป็นรูปทรงกระบอก

1.2.3 ใส่ในหลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตรปิดฝา แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 1600 xg (4000 rpm) ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง นานเวลา 15 นาที

1.2.4 เอากระดาษกรองที่มีตัวอย่างเจลอยู่ด้านในออกมาจากหลอดหมุนเหวี่ยง แล้วเอาตัวอย่างเจลออกจากกระดาษกรอง นำตัวอย่างเจลไปชั่งน้ำหนักอีกครั้ง แล้วคำนวณหาการสูญเสียน้ำหนักของเจลเป็นร้อยละการสูญเสียน้ำหนักเริ่มต้นของเจล (Expressible moisture)

1.3 สูตรคำนวณ

$$\text{ร้อยละการสูญเสียน้ำหนักของเจล} = \frac{(W_1 - W_2)}{W_1} \times 100$$

โดย W_1 = น้ำหนักตัวอย่างเจลก่อนหมุนเหวี่ยง (กรัม)

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างเจลหลังหมุนเหวี่ยง (กรัม)



2. การวัดเนื้อสัมผัส

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1.1 เครื่อง Texture analyzer

2.1.2 หัววัดทรงกลม (sphere probe) เส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร

2.2 วิธีการ

2.2.1 นำตัวอย่างเจลที่เตรียมไว้ ร่อนกระทั่งเจลมีอนุทงุมเท่ากับอนุทงุมห้อง (25 - 30 องศาเซลเซียส) นำมาตัดเป็นท่อนยาว 2.5 เซนติเมตร เก็บไว้ในถุงพลาสติกเพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ

2.2.2 นำวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยเครื่อง TA-XT2 โดยวัดค่าแรงที่ทำให้เจลแตก (Breaking force) และ ค่าระยะทางก่อนเจลแตก (Deformation) ในการวิเคราะห์ลักษณะทางเนื้อสัมผัส ใช้อัตราเร็วในการกดเป็น 60 มิลลิเมตรต่อนาที โดยใช้หัวเจาะทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร โดยวิเคราะห์ตัวอย่างละ 10 ซ้ำ

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry ตามวิธีของ Lowry and others (1951)

1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1.1.1 หลอดทดลอง
- 1.1.2 บีเปตอัตโนมัติขนาด 1 มิลลิลิตร และ 5 มิลลิลิตร
- 1.1.3 ทิปขนาด 1 มิลลิลิตร และ 5 มิลลิลิตร
- 1.1.4 เครื่อง Vortex mixer
- 1.1.5 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)

1.2 สารเคมี

- 1.2.1 คอปเปอร์ซัลเฟต ($\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
- 1.2.2 โซเดียมซีเตรท ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- 1.2.3 โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)
- 1.2.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
- 1.2.5 โฟลินฟินอล (Folin-Ciocalteu phenol reagent)
- 1.2.6 ไทโรซีน (Tyrosine; Tyr)

1.3 วิธีการ

1.3.1 สารเคมี

(1) สารละลาย ก

นำคอปเปอร์ซัลเฟต ($\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 0.5 กรัม ผสมกับโซเดียมซีเตรท ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 1 กรัม จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

(2) สารละลาย ข

นำโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) จำนวน 20 กรัม ผสมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) จำนวน 4 กรัม จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

(3) สารละลาย ค

นำสารละลาย ก ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย ข ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

(4) สารละลาย ง

นำโฟลีนฟินอล (Folin-Ciocalteu phenol reagent) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร

1.3.2 ดูดสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย ค 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex mixer วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 - 10 นาที

1.3.3 เติมสารละลาย ง ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex mixer วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 - 30 นาที

1.3.4 นำสารละลายผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

1.3.5 หาปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณไทโรซีน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

1.4 การเตรียมกราฟมาตรฐานไทโรซีน (Tyrosine; Tyr)

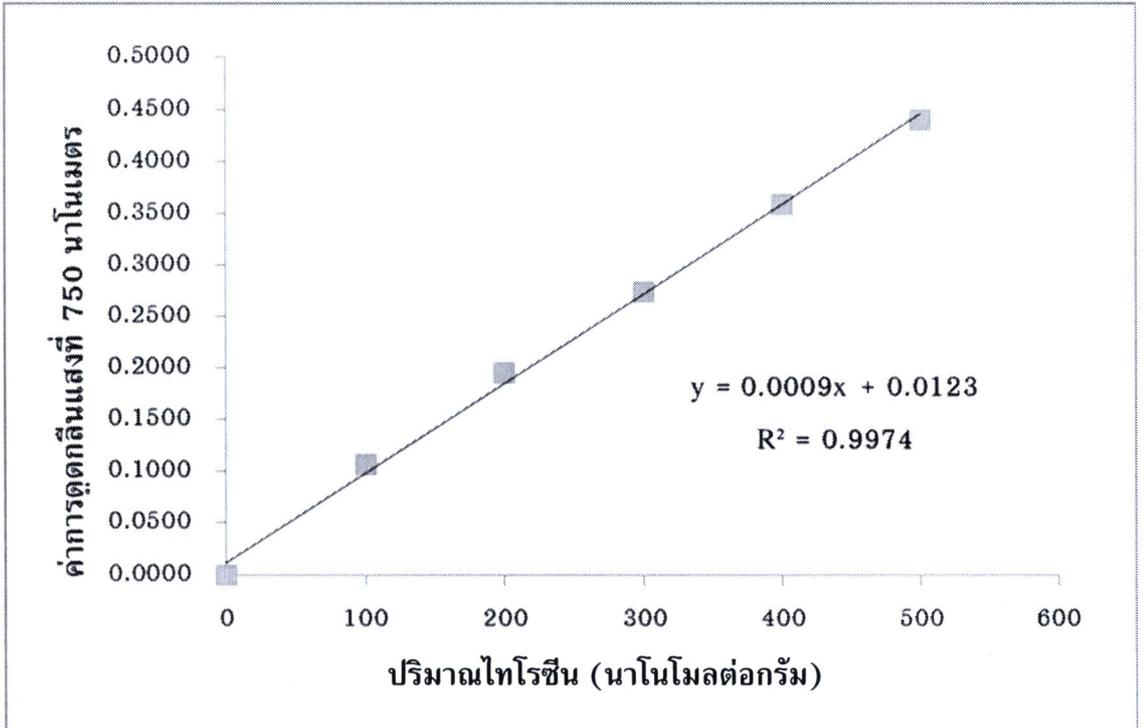
1.4.1 ดูดสารละลายโปรตีนมาตรฐานไทโรซีน (Tyrosine; Tyr) เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 0 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 มิลลิลิตร

1.4.2 เติมสารละลาย ค 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex mixer วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 - 10 นาที

1.4.3 เติมสารละลาย ง ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex mixer วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 - 30 นาที

1.4.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

1.4.5 เขียนกราฟมาตรฐาน และหาสมการการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไทโรซีน กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร (ภาพภาคผนวกที่ 1) ปริมาณโปรตีนคำนวณได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร แทนค่าในสมการของกราฟมาตรฐานไทโรซีน



ภาพภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานไทโรซีน โดยวิธี Lowry ตามวิธีของ Lowry and others (1951)

2. การศึกษารูปแบบของโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE ดัดแปลงจากวิธีของ Chomnawang and others (2007)

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1.1 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ

2.1.2 เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ ยี่ห้อ Ystral[®] รุ่น X10/25

2.1.3 หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร และฝาปิด

2.1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับวิเคราะห์รูปแบบโปรตีน Mini-

PROTEAN[®] Tetra Cell ยี่ห้อ BIO-RAD ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.1.5 เครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BP210S ประเทศเยอรมัน

2.1.6 อ่างควบคุมอุณหภูมิ

2.1.7 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับวิเคราะห์ทางเคมี

2.2 สารเคมี

2.2.1 สารละลายโซเดียม โทเดคซิล ซัลเฟต ($C_{12}H_{25}NaO_4S$) เข้มข้น 5% (w/v)

2.2.2 สารละลายโซเดียม โทเดคซิล ซัลเฟต ($C_{12}H_{25}NaO_4S$) เข้มข้น 10% (w/v)

2.2.3 สารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 6N

2.2.4 สารละลาย Tris-HCL เข้มข้น 1.5 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดต่าง 8.8

2.2.5 สารละลาย Tris-HCL เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดต่าง 6.8

2.2.6 สารละลายแอมโมเนียมซัลเฟต ($N_2H_8S_2O_8$) เข้มข้น 10%(w/v)

2.2.7 สารละลายโบโมฟีนอลบลู ($C_{19}H_{10}Br_4O_5S$) 0.5% (w/v)

2.2.8 สารละลายอะคริลาไมด์/บิส อะคริลาไมด์

ซึ่ง อะคริลาไมด์ (C_3H_5NO) 29.2 กรัม บิส อะคริลาไมด์ ($C_7H_{10}N_2O_2$) 0.8 กรัม จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นกำจัดไอออน จากนั้นนำไปกรองเก็บในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ก่อนใช้ต้องเอาเอาการออก (degas) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที)

2.2.9 Electrode buffer

ซึ่ง Tris-HCL 30.3 กรัม ไกลซีน ($C_2H_5NO_2$) 144 กรัม และ โซเดียม โทเดคซิล ซัลเฟต ($C_{12}H_{25}NaO_4S$) 10 กรัม จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นกำจัดไอออน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.2.10 Sample buffer

สารละลาย Tris-HCL เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดต่าง 6.8 ปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร กลีเซอรอล ($C_3H_8O_3$) 2.50 มิลลิลิตร สารละลายโซเดียม โทเดคซิล ซัลเฟต ($C_{12}H_{25}NaO_4S$) เข้มข้น 10% (w/v) 2.00 มิลลิลิตร สารละลายโบโมฟีนอลบลู ($C_{19}H_{10}Br_4O_5S$) 0.5% (w/v) 0.20 มิลลิลิตร เบต้า เมอร์แคปโตเอทานอล ($HS-CH_2CH_2OH$) 5 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นกำจัดไอออน 3.55 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

2.2.11 สีย้อมแถบโปรตีน

ซึ่งคูแมสซี บริลเลียนท์บลู R-250 ($C_{45}H_{44}N_3NaO_7S_2$) 1.0 กรัม ละลายใน เมทานอล (CH_3OH) 450 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร และ กรดอะซิติก (CH_3COOH) 100 มิลลิลิตร

2.2.12 สารชะล้างสีย้อมแถบโปรตีน

เมทานอล (CH_3OH) 100 มิลลิลิตร กรดอะซิติก (CH_3COOH) 100 มิลลิลิตร และ น้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร

2.3 วิธีการ

2.3.1 นำส่วนที่เป็นของเหลวใส่ไปเจือจางด้วยสารละลายโซเดียม โดเดคซิล ซัลเฟต ($C_{12}H_{25}NaO_4S$) เข้มข้น 5% (w/v) เพื่อปรับความเข้มข้นของโปรตีนให้เท่ากันในทุก ๆ ตัวอย่าง

2.3.2 ผสมสารละลายตัวอย่างกับ Sample buffer ในอัตราส่วน 1:2 ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของโปรตีนในสารละลายตัวอย่างเท่ากับ 30 ไมโครโมลต่อ 10 ไมโครลิตร

2.3.3 นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE โดยโหลดตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร ความเข้มข้นของเจลอะคริลาไมด์สำหรับการแยก (running gel) ที่ 12% และความเข้มข้นของเจลสำหรับการทำให้โปรตีนในตัวอย่างเข้มข้นขึ้น (stacking gel) ที่ 4% ใช้ไฟฟ้าที่มีความต้านทานคงที่ 120 โวลต์ โดยสามารถเตรียมเจลได้ตาม ตารางที่ 6

2.3.4 นำไปหยุดการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีน (fixed และย้อมสีสีย้อมแถบโปรตีน)

2.3.5 ล้างสีย้อมด้วยสารชะล้างสีย้อมแถบโปรตีน

ตารางที่ 6 ปริมาณสารในการเตรียมเจล(สำหรับเจลหนา 1 มิลลิเมตร จำนวน 2 แผ่น)

ชนิดของสาร	ปริมาตรที่ใช้	
	Separating gel (12%)	Stacking gel (4%)
สารละลายอะคริลาไมด์/บิส อะคริลาไมด์	4.0 มิลลิตร	1.3 มิลลิตร
สารละลาย Tris-HCL เข้มข้น 1.5 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดต่าง 8.8	2.5 มิลลิตร	-
สารละลาย Tris-HCL เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดต่าง 6.8	-	2.5 มิลลิตร
สารละลายโซเดียม โดเดคซิล ซัลเฟต ($C_{12}H_{25}NaO_4S$) เข้มข้น 10% (w/v)	0.1 มิลลิตร	0.1 มิลลิตร
สารละลายแอมโมเนียมซัลเฟต ($N_2H_8S_2O_8$) เข้มข้น 10%(w/v)	50 ไมโครลิตร	50 ไมโครลิตร
TEMED(N,N,N',N' -tetramethylene- ethylenediamine) ($C_6H_{16}N_2$)	5 ไมโครลิตร	10 ไมโครลิตร
น้ำกลั่นกำจัดไอออน	3.4 มิลลิตร	6.1 มิลลิตร

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ



ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกของเนื้อปลาโมงบดที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 90 นาที

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
อุณหภูมิ	120901.320	4	30225.330	17.031	.004*
Error	8873.368	5	1774.674		
Total	7442538.604	10			

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกของเนื้อปลาโมงบดที่ผ่านการบ่มที่ pH 2 - 12 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pH	15638535.261	10	1563853.526	25.795	.000*
Error	666881.235	11	60625.567		
Total	125961530.204	22			

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกของเนื้อปลาโมงบดผสมสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีนชนิดต่างๆ ที่ผ่านการบ่มที่ pH 4.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Inhibitors pH 4.0	3795713.642	4	948928.410	137.103	.000*
Error	34606.363	5	6921.273		
Total	43230386.535	10			

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกของเนื้อปลาโมงบดผสมสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีนชนิดต่างๆ ที่ผ่านการบ่มที่ pH 9.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Inhibitor pH 9.0	7924617.333	4	1981154.333	804.496	.000*
Error	12313.015	5	2462.603		
Total	35211882.240	10			

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์โปรตีนที่ pH 4.0

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Inhibition pH 4.0	5933.363	4	1483.341	2122.667	.000*
Error	3.494	5	.699		
Total	10556.348	10			

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์โปรตีนที่ pH 9.0

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Inhibition pH 9.0	13618.171	4	3404.543	3614.702	.000*
Error	4.709	5	.942		
Total	23564.290	10			

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าแรงที่ทำให้เจลแตกของเจลจากเนื้อปลาโมงที่เซตเจลด้วยอุณหภูมิต่างๆ

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
อุณหภูมิเซตเจล	169022.408	6	28170.401	41.433	.000*
Error	23796.512	35	679.900		
Total	3847148.566	42			

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าระยะทางก่อนเจลแตกของเจลจากเนื้อปลาโมงที่เซตเจลด้วยอุณหภูมิต่างๆ

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
อุณหภูมิเซตเจล	35.923	6	5.987	177.065	.000*
Error	1.183	35	.034		
Total	4886.132	42			

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน Expressible moisture ของเจลเนื้อปลาโมงที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
อุณหภูมิเซตเจล	32.402	6	5.400	2.222	.064
Error	85.070	35	2.431		
Total	38187.954	42			

ตารางภาคผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ใน สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกของเจลจากเนื้อปลาโมงที่ผ่านการแช่เจลที่อุณหภูมิต่างๆ

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
อุณหภูมิแช่เจล	1049176.625	6	174862.771	341.421	.000*
Error	3585.128	7	512.161		
Total	34258580.642	14			

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95



ประวัติผู้เขียน

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ : นางสาวนิสากร ศรีธัญรัตน์
เกิด : วันเสาร์ ที่ 28 กุมภาพันธ์ 2524
E-mail address : pa_j_ro@hotmail.com
nisakorn22@gmail.com

ประวัติการศึกษา

ระดับปริญญาตรี

: วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ สำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ.2547

ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย

: โรงเรียนเบ็ญจะมะมหาราช จังหวัดอุบลราชธานี ในปี พ.ศ.2543

ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น

: โรงเรียนนารีนุกูล จังหวัดอุบลราชธานี ในปี พ.ศ.2540

ประวัติการทำงาน

: เจ้าหน้าที่ฝ่ายวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ (ไส้กรอก)
บริษัท ซีพี อินเทอร์เน็ต จำกัด กรุงเทพมหานคร เป็นเวลา 3 ปี

เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยขอนแก่นในปี พ.ศ.2550

