สมบัติของเจลโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เตรียมโดยแทรนส์กลูทามิเนสและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลา

นางสาวสุนันทา หรงกัลยาณวัตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PROPERTIES OF SOY PROTEIN ISOLATE GEL PREPARED BY USING TRANSGLUTAMINASE AND ITS APPLICATION IN FISH BALL PRODUCTS

Miss Sunanta Songkanlayanawat

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2007

Copyright of Chulalongkorn University

501706

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สมบัติของเจลโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เตรียมโดยแทรนส์กลูทามิเนสและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลา
โดย	นางสาวสุนันทา ทรงกัลยาณวัตร
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล)

.... อาจารย์ที่ปรึกษา

(อาจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช)

.... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(อาจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์)

.... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. วรางคณา สมพงษ์)

.... กรรมการ

(อาจารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สุนันทา ทรงกัลยาณวัตร: สมบัติของเจลโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เตรียมโดยแทรนส์กลูทามิเนสและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลา. (PROPERTIES OF SOY PROTEIN ISOLATE GEL PREPARED BY USING TRANSGLUTAMINASE AND ITS APPLICATION IN FISH BALL PRODUCTS) อ. ที่ปรึกษา : อ. ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช, อ. ที่ปรึกษาร่วม : อ. ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์, 137 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้แทรนส์กลูทามิเนสจากจุลินทรีย์ (microbial transglutaminase, MTGase) ต่อการเกิดเจลของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate, SPI) และการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลา ในการศึกษาผลของกระบวนการให้ความร้อนต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase แปรความเข้มข้นของสารแขวนลอย SPI เป็น 2 ระดับคือ 12 และ 14% (w/w) และแปรความเข้มข้นของ ACTIVA™ TG-AK ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ MTGase ของบริษัท อายิโนะโมะโต๊ะ จำกัด เป็น 3 ระดับคือ 0.2, 0.4 และ 0.6% (w/w) โดยกระบวนการให้ความร้อน 2 วิธีคือ วิธีที่ 1 นำสารแขวนลอย SPI ไปให้ความร้อนที่ 50 °C จากนั้นเติม MTGase และควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ต่อไปอีกเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 92 °C แล้วรักษาไว้ที่อุณหภูมินั้นเป็นเวลา 30 นาที วิธีที่ 2 นำสารแขวนลอย SPI ไปให้ความร้อนที่ 92 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิลงเป็น 50 °C เติม MTGase แล้วควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ต่อไปเป็นเวลา 30 นาที พบว่าการให้ความร้อนวิธีที่ 1 ให้เจล SPI ที่มีค่า springiness และ water holding capacity (WHC) สูงกว่าวิธีที่ 2 ในขณะที่ค่า gel strength, hardness และ cohesiveness ของเจล SPI ที่ผลิตโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนทั้งสองวิธีมีค่าใกล้เคียงกัน จึงเลือกการให้ความร้อนวิธีที่ 1 มาใช้ในการศึกษาลูกชิ้นปลาต่อไป ในการศึกษาการใช้ SPI และ MTGase ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลาที่ใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25 และ 1.50% (w/w) เปรียบเทียบตัวอย่างลูกชิ้นปลาที่เตรียมโดยทดแทนเนื้อปลาด้วยสารเชื่อมชนิดต่างๆ ได้แก่ แป้งสาลี, SPI และแป้งสาลีผสม SPI ระดับการทดแทนเนื้อปลาด้วยสารเชื่อมเท่ากับ 2% โดยมีการใช้ MTGase เข้มข้น 0.6% (w/w) หรือไม่ใช้ MTGase พบว่าการใช้ SPI ช่วยปรับปรุงคุณภาพด้าน gel strength, hardness และ WHC ของลูกชิ้นปลา ส่วนการใช้ MTGase ช่วยปรับปรุงคุณภาพด้าน gel strength, hardness, cohesiveness, springiness และ WHC ของลูกชิ้นปลา และการใช้ SPI และ/หรือแป้งสาลีร่วมกับ MTGase ช่วยปรับปรุงคุณภาพด้าน gel strength ในขณะที่การใช้สารเชื่อมหรือ MTGase ไม่มีผลต่อค่าความขาวของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลา จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนค่า hardness, cohesiveness และ springiness สูงขึ้นในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลาที่มีการใช้ SPI และ MTGase ในขณะที่คะแนน fishy flavor, beany flavor, whiteness, gloss, smoothness และ saltiness ของลูกชิ้นทุกตัวอย่างไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เมื่อนำตัวอย่างลูกชิ้นปลาที่ใช้ SPI และ MTGase มาศึกษาคุณภาพการเก็บรักษาที่ 4 °C พบว่าคุณภาพด้านเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นปลามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อประมาณวันที่ 7-9 ของการเก็บรักษา ส่วนคุณภาพด้านจุลินทรีย์พบว่าตัวอย่างลูกชิ้นปลามีอายุการเก็บรักษาได้นาน 17- 19 วัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ	ลายมือชื่อนิสิต สุนันทา ทรงกัลยาณวัตร
ปีการศึกษา 2550	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ธนจันทร์ มหาวนิช
	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์

4872519123 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD: SOY PROTEIN ISOLATE / MICROBIAL TRANSGLUTAMINASE / FISH BALL

SUNANTA SONGKANLAYANAWAT: PROPERTIES OF SOY PROTEIN ISOLATE GEL PREPARED BY USING TRANSGLUTAMINASE AND ITS APPLICATION IN FISH BALL PRODUCTS. THESIS ADVISOR: THANACHAN MAHAWANICH, Ph.D. THESIS COADVISOR : KIATTISAK DUANGMAL, Ph.D., 137 pp.

The objectives of this study were to examine the properties of soy protein isolate (SPI) gel prepared using microbial transglutaminase (MTGase) and application of SPI and MTGase in fish ball products. To study the effect of heating method on the quality of SPI, gel samples were prepared using two levels of SPI (12 and 14%, w/w) and three levels of ACTIVA™ TG-AK (an Ajinomoto's MTGase product) (0.2, 0.4 and 0.6%, w/w). Two different heating methods were used in this study. In heating method 1, SPI suspension was heated until the temperature reached 50 °C. MTGase was then added and the temperature was kept constant at 50 °C for 30 more minutes. After that, the temperature was raised to 92 °C and kept constant for 30 minutes. In heating method 2, SPI suspension was heated at 92 °C for 30 minutes. The suspension was then cooled down to 50 °C, added with MTGase and kept constant at that temperature for 30 minutes. It was found that heating method 1 produced SPI gel higher in springiness and water holding capacity (WHC) than heating method 2. Meanwhile, the gel strength, hardness and cohesiveness of gels prepared by both methods were similar. Therefore, heating method 1 was selected to be used in future study. In the study of the effect of adding SPI and MTGase addition to fish ball products containing 1.25 or 1.50% (w/w) sodium chloride, 2% minced fish meat in the formula was substituted with binding agent (wheat flour, SPI or wheat flour-SPI mix) and with or without using 0.6% MTGase. SPI was found to help improve gel strength, hardness and WHC of the fish balls. On the other hand, MTGase helped improve gel strength, hardness, cohesiveness, springiness and WHC of the product. Using SPI and/or wheat flour together with MTGase produced fish balls with increased gel strength. Binding agent and MTGase were found to have no effect on the whiteness of the fish balls. From sensory study, the sample with added SPI and MTGase had higher score in hardness, cohesiveness and springiness while fishy flavor, beany flavor, whiteness, gloss, smoothness and saltiness were not significantly different among the samples (p>0.05). Finally, the fish ball samples with added SPI and MTGase were studied for quality while being kept at 4 °C. It was found that texture of the fish ball was changed significantly at Day 7-9 of storage. Based on microbiological quality, the fish ball samples had shelf-life up to 17-19 days.

Field of study Biotechnology — Student's signature..............................

Academic year 2007 — Advisor's signature..............................

Co-advisor's signature..............................

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิต ของบัณฑิตวิทยาลัย และสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยได้รับคำปรึกษา ข้อเสนอแนะ กำลังใจ ตลอดจนความช่วยเหลือต่างๆ ในการดำเนินการวิจัยจาก อ. ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช และ อ. ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์ อาจารย์ที่ปรึกษา ขอขอบคุณบริษัท อายิโนะโมะโต๊ะ จำกัด ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างเอนไซม์ ACTIVA™ TG-AK ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ และคุณวิรงรอง ชัยมงคล สำหรับคำชี้แนะที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับการใช้งาน ACTIVA™ TG-AK เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ทั้งในหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพและภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่าน บิดามารดาของข้าพเจ้าที่เป็นกำลังใจให้ความช่วยเหลือสนับสนุน และคำแนะนำที่ดีมาโดยตลอด

ข้าพเจ้าจึงขอขอบพระคุณทุกๆ ท่านเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		จ
กิตติกรรมประกาศ		ฉ
สารบัญ		ช
สารบัญตาราง		ฌ
สารบัญรูป		ณ
บทที่		
1.	บทนำ	1
2.	วารสารปริทัศน์	3
	2.1 ถั่วเหลือง	3
	2.2 เนื้อปลา	10
	2.3 การเกิดเจลของโปรตีน	20
	2.4 เอนไซม์แทรนส์กลูทามิเนส (transglutaminase, TGase)	23
3.	อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย	28
	3.1 วัตถุดิบและสารเคมี	28
	3.2 อุปกรณ์	30
	3.3 ขั้นตอนดำเนินงานวิจัย	31
4.	ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	46
	4.1 สมบัติของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate, SPI) และเนื้อปลายี่สกสดบด	46
	4.2 ผลของกระบวนการให้ความร้อนต่อการเกิดเจลของ SPI ที่เตรียมโดยใช้แทรนส์กลูทามิเนสจากจุลินทรีย์ (MTGase)	48
	4.3 การใช้ SPI และ MTGase ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลา	63
	4.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นปลา	75
	4.5 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของลูกชิ้นปลาขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C	77
5.	สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ	81

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หน้า

รายการอ้างอิง.. 84
ภาคผนวก.. 99
ภาคผนวก ก.. 100
ภาคผนวก ข.. 112
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์... 137

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	สูตรการผลิตลูกชิ้นปลาที่ใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w (สูตร A)............	40
3.2	สูตรการผลิตลูกชิ้นปลาที่ใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w (สูตร B)..........	40
4.1	องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (SPI)................................	45
4.2	องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลายี่สกสดบด..	48
4.3	ค่า gel strength ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน สองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ............	50
4.4	ลักษณะเนื้อสัมผัสของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ............	53
4.5	ความสามารถในการอุ้มน้ำ (แสดงในรูป expressible water) ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ............	56
4.6	Total plate count ของลูกชิ้นปลาสูตร A7 และ B7 ที่เก็บรักษาในภาวะแช่เย็น (4 °C)............	80
ข.1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า gel strength ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ	112
ข.2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า force ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ	112
ข.3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า distance ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ	112
ข.4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ	112
ข.5	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ	113

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่		หน้า

ข.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springiness ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ 113

ข.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (แสดงในรูป expressible water) ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ 113

ข.8 Gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้นต่างๆ 113

ข.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้นต่างๆ 113

ข.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า force ของลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้นต่างๆ 114

ข.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า distance ของลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้นต่างๆ........ 114

ข.12 Gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w........ 114

ข.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w........ 114

ข.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า force ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w........ 115

ข.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า distance ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w........ 115

ข.16 Hardness, cohesiveness และ springiness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w........ 115

ข.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w........ 115

ข.18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w........ 115

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่		หน้า
ข.19	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springiness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w	116
ข.20	ค่า % Expressible water ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w	116
ข.21	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า % expressible water ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w	116
ข.22	Gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w	117
ข.23	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w	117
ข.24	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า force ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w	117
ข.25	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า distance ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w	117
ข.26	Hardness, cohesiveness และ springiness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w	118
ข.27	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w	118
ข.28	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w	118
ข.29	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w	118
ข.30	ค่า % expressible water ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w	119
ข.31	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า % expressible water ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w	119
ข.32	ค่าสี L*, a*, b* และค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w	119

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่		หน้า

ข.33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี L* ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w.......... 119

ข.34 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี a* ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w.......... 120

ข.35 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี b* ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w.......... 120

ข.36 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w.......... 120

ข.37 ค่าสี L*, a*, b* และค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w.......... 120

ข.38 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี L* ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w.......... 121

ข.39 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี a* ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w.......... 121

ข.40 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี b* ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w.......... 121

ข.41 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w.......... 121

ข.42 Gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25 และ 1.50% w/w.......... 122

ข.43 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w.......... 122

ข.44 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า force ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w.......... 122

ข.45 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า distance ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w.......... 122

ข.46 Hardness, cohesiveness และ springiness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25 และ 1.50% w/w.......... 123

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่		หน้า
ข.47	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w	123
ข.48	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w	123
ข.49	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springiness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w	123
ข.50	ค่า % expressible water และค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25 และ 1.50% w/w	124
ข.51	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า %expressible water ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w	124
ข.52	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w	124
ข.53	ผลการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสในลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้ปริมาณเกลือ 1.25% w/w	125
ข.54	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกลิ่นคาวปลาของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w	126
ข.55	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกลิ่นถั่วของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w	126
ข.56	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w	126
ข.57	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความมันเงาของผิวนอกของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w	127
ข.58	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความเนียนของเนื้อผลิตภัณฑ์ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w	127
ข.59	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springiness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w	127
ข.60	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w	128

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่		หน้า

ข.61 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w 128

ข.62 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของรสเค็มของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w 128

ข.63 ผลการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสในลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้ปริมาณเกลือ 1.50% w/w 129

ข.64 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกลิ่นคาวปลาของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50%........ 130

ข.65 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกลิ่นถั่วของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w........ 130

ข.66 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w........ 130

ข.67 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความมันเงาของผิวนอกของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w........ 131

ข.68 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความเนียนของเนื้อผลิตภัณฑ์ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w........ 131

ข.69 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springiness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w........ 131

ข.70 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w........ 132

ข.71 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w........ 132

ข.72 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของรสเค็มของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w........ 132

ข.73 Gel strength, force และ distance ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w........ 133

ข.74 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า gel strength ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w........ 133

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่		หน้า
ข.75	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า force ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w................................	133
ข.76	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า distance ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w................................	133
ข.77	Hardness, cohesiveness และ springiness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w................................	134
ข.78	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w................................	134
ข.79	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w.................	134
ข.80	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springiness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w.................	134
ข.81	Gel strength, force และ distance ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w...	135
ข.82	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า gel strength ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w.................	135
ข.83	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า force ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w................................	135
ข.84	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า distance ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w................................	135
ข.85	Hardness, cohesiveness และ springiness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w................................	136
ข.86	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w.................	136
ข.87	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w.................	136
ข.88	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springiness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w.................	136

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แบบจำลองของโมเลกุลไกลซินินและโครงสร้างเชิงซ้อนของไกลซินิน ขีดเส้นตรงเชื่อมระหว่าง A และ B แสดงพันธะไดซัลไฟด์ และแบบจำลองของโมเลกุลเบต้า-คอนไกลซินินชนิด βαα	5
2.2	ขั้นตอนการผลิต soy protein isolate (SPI)........	8
2.3	ขั้นตอนการผลิตลูกชิ้นปลา........	12
2.4	ผลของ pH และค่าความแรงของอิออนต่อโครงสร้างและความแข็งแรงของเจล........	21
2.5	ปฏิกิริยาที่เร่งโดยเอนไซม์ Transglutaminase........	23
3.1a	ขั้นตอนเตรียมเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase และใช้กระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1........	33
3.1b	ขั้นตอนเตรียมเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase และใช้กระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 2........	34
3.2	ผลการวัดค่า gel strength โดย Instron Universal Materials Testing Machine........	35
3.3	กราฟแสดงผลการวัดค่า TPA โดย Instron Universal Materials Testing Machine........	36
3.4	กระบวนการผลิตลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่างๆ........	39
3.5	กระบวนการผลิตลูกชิ้นปลาที่เตรียมโดยใช้แป้งสาลีและ/หรือ SPI และใช้หรือไม่ใช้ MTGase........	41
4.1	DSC thermogram ของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (SPI)........	47
4.2	การเปลี่ยนแปลงค่าแสงส่องผ่านของสารละลาย SPI ความเข้มข้น 0.001% w/w ซึ่งมี MTGase 0.6% w/w ที่ความยาวคลื่น 600 nm โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2........	57
4.3	ลักษณะเจลที่ใช้ SPI เข้มข้น 14% w/w และ MTGase เข้มข้น 0.6% w/w ซึ่งเตรียมโดยกระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2........	58
4.4	รูปแบบแถบโปรตีนของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 ความเข้มข้นของ SPI และ MTGase แสดงในหน่วย % w/w........	61

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่		หน้า
4.5	Gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้นต่างๆ........	64
4.6	Gel strength, force และ distance ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w	65
4.7	Hardness, cohesiveness และ springiness ของลูกชิ้นปลาที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w	67
4.8	ค่า % Expressible water ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w	69
4.9	ค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w	70
4.10	โครงสร้างจุลภาคของเจลลูกชิ้นปลาสูตร A1, A2, A4 และ A7 ที่ศึกษาโดยใช้ cryo-SEM	72
4.11	รูปแบบแถบโปรตีนของลูกชิ้นปลาสูตร A (โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w) และลูกชิ้นปลาสูตร B (โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w)	74
4.12	ผลการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสในลูกชิ้นปลาสูตร A........	76
4.13	ผลการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสในลูกชิ้นปลาสูตร B........	76
4.14	ค่า gel strength ของเจลลูกชิ้นปลาสูตร A และ B7 ขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 11 วัน........	77
4.15	ค่า hardness, cohesiveness และ springiness ของเจลลูกชิ้นปลาสูตร A7 และ B7 ขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 11 วัน........	78
ก.1	เอกสารประกอบลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ของ ACTIVA™ TG-AK	110
ก.2	แบบประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นปลา........	111

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate, SPI) เป็นโปรตีนที่แยกจากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกแล้ว มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบประมาณ 90-92% โดยน้ำหนักแห้ง (Matthews, 1989) ปัจจุบันได้มีการนำ SPI มาใช้เพื่อช่วยปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเนื้อสัตว์ โดยเน้นในการช่วยปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสเป็นหลัก (Endres, 2001) เจลของโปรตีนถั่วเหลืองจะเกิดขึ้นได้ต้องอาศัยปัจจัยพื้นฐานหลายอย่าง ได้แก่ อุณหภูมิการให้ความร้อน pH และความแรงของอิออน โดยความแรงของอิออน ถือเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเกิดเป็นเจลของโปรตีนถั่วเหลือง การเกิดเจลด้วยความร้อนของโปรตีนถั่วเหลืองเป็นกระบวนการที่ประกอบด้วยสองขั้นตอน คือการสูญเสียโครงสร้างจตุรภูมิด้วยความร้อน ซึ่งจะได้ progel จากนั้นจะเริ่มสร้างเจลในภาวะที่อุณหภูมิต่ำลง (cooling) โปรตีนจะเรียงตัวเข้าหากันเป็นโครงสร้างสามมิติและมีการกักเก็บน้ำและสารละลายบางส่วนไว้ภายในโครงสร้าง การใช้งานของโปรตีนถั่วเหลืองในอาหารโดยอาศัยกลไกการเกิดเจล สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับอาหารประเภทที่มีแคลเซียมอิออนอยู่ในระบบ เช่น ผลิตภัณฑ์นม ซึ่งแคลเซียมอิออนจะช่วยให้เกิดพันธะเชื่อมข้าม (cross-link) ระหว่างสายโปรตีนเกิดเป็นโครงสร้างของเจลได้ แต่หากต้องการใช้โปรตีนถั่วเหลืองในผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีแคลเซียมอิออนอยู่ในระบบ เช่น ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ หรือผลิตภัณฑ์จากพืชอาจประสบปัญหาในการเกิดเจลได้ยาก ดังนั้นจึงมีแนวทางที่จะใช้แทรนส์กลูทามิเนสจากจุลินทรีย์ (microbial transglutaminase, MTGase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถก่อให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนได้โดยไม่ต้องการแคลเซียมอิออนมาใช้ในการแก้ปัญหาดังกล่าว เนื่องจาก MTGase เป็นเอนไซม์ที่มีความสามารถเร่งให้เกิดพันธะโควาเลนต์ระหว่างโมเลกุลของโปรตีนโดยการเคลื่อนย้ายหมู่ acyl ของหน่วยย่อยกลูตามีน ให้รวมตัวเข้ากับหมู่ ε–amino ของหน่วยย่อยไลซีนเกิดเป็น ε-(γ-glutamyl) lysine isopeptide bond ขึ้นระหว่างโมเลกุล (Walsh et al., 2003) ส่งผลให้โปรตีนถั่วเหลืองสามารถเกิดเป็นเจลได้โดยไม่ต้องอาศัยแคลเซียมอิออน ดังนั้นจึงสามารถนำ MTGase มาใช้การปรับปรุงการเกิดเจลของโปรตีนถั่วเหลืองได้

ปัจจุบันปลายี่สกที่รับความนิยมเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตลูกชิ้นปลามากขึ้น เนื่องจากเป็นพันธุ์ปลาที่กรมประมงส่งเสริมให้เพาะเลี้ยงและให้เป็นปลาเศรษฐกิจ จึงเป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่าย มีราคาถูก สามารถใช้ทดแทนวัตถุดิบที่มีราคาแพงได้ แต่มีความสามารถในการเกิดเจลไม่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่มีราคาแพง

งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาถึงผลของการใช้ MTGase ต่อการเกิดเจลของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการประยุกต์ใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลายี่สก และ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความเป็นไปได้ในการผลิตลูกชิ้นปลายี่สกโดยใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองทดแทนแป้งสาลีในสูตรลูกชิ้นปลา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 ถั่วเหลือง

ถั่วเหลือง (*Glycine max*) มีองค์ประกอบหลักเป็นโปรตีนประมาณ 40% และไขมันประมาณ 20% โดยน้ำหนักแห้ง (Piper and Morse, 1923) ส่วนประกอบอื่นๆ ได้แก่ แร่ธาตุ (5%) และคาร์โบไฮเดรต (35%) ในส่วนของคาร์โบไฮเดรต ประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส สตาคีโอส แรฟฟิโนส ซูโครส และน้ำตาลอื่นๆ โดยถั่วเหลืองไม่มีสตาร์ชอยู่เลย นับได้ว่าถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญเนื่องจากถั่วเหลืองมีปริมาณโปรตีนสูง และมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่สมดุล สามารถทดแทนโปรตีนจากเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์นมได้ ในปัจจุบันถั่วเหลืองที่นำมาใช้บริโภคเป็นอาหารมนุษย์เป็นปริมาณเพียง 1% ของถั่วเหลืองที่ผลิตได้ทั้งหมด ถั่วเหลื องส่วนใหญ่นำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ จึงมีความพยายามในการนำถั่วเหลืองมาใช้ประโยชน์เพิ่มมากขึ้น โดยสามารถใช้ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนเพื่อรองรับจำนวนประชากรโลกที่เพิ่มขึ้น Renkema, Knabben และ van Vliet (2001) รวบรวมรายงานที่แสดงว่าถั่วเหลืองสามารถลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดได้ แต่ในทางกลับกันก็มีงานวิจัยที่แสดงถึงผลเสียด้านสุขภาพเช่นกัน ถั่วเหลืองสามารถนำมาใช้งานได้หลายรูปแบบ โดยพิจารณาจากความเหมาะสมของการใช้งานและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเหลือง

2.1.1 การผลิตถั่วเหลือง

เชื่อกันว่าถั่วเหลืองมีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศจีน โดยมีการเพาะปลูกมาตั้งแต่ 4,000-5,000 ปีก่อนคริสตกาล ถั่วเหลืองได้ถูกนำมายังทวีปยุโรปในคริสตศตวรรษที่ 17 แต่เนื่องจากสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นถั่วเหลือง จึงทำให้การเพาะปลูกในขณะนั้นยังค่อนข้างจำกัด (Liu, 1997) ในคริสตศตวรรษที่ 18 มีผู้นำถั่วเหลืองเข้าไปเพาะปลูกในทวีปอเมริกาเหนือ แต่ยังไม่มีคำแนะนำจากทางการให้ปลูกกันอย่างแพร่หลาย ในคริสตศตวรรษที่ 19 จึงได้มีการนำความรู้และความก้าวหน้าทางการเกษตรมาใช้ในการพัฒนาการเพาะปลูกถั่วเหลืองจนในที่สุดได้มีการเพาะปลูกถั่วเหลืองกันอย่างกว้างขวางในทวีปอเมริกาเหนือ (Liu, 1997) ในปัจจุบันสหรัฐอเมริกาเป็นผู้ผลิตถั่วเหลืองรายใหญ่ที่สุดของโลก ซึ่งประมาณ 4% ของถั่วเหลืองที่ผลิตได้จะถูกส่งออกไปขายยังตลาดโลกโดยคิดเป็นประมาณ 45 % ของปริมาณถั่วเหลืองทั้งหมดที่ส่งออกไปยังตลาดโลก ประเทศผู้ผลิตถั่วเหลืองรายใหญ่ลำดับรองลงมา ได้แก่ บราซิล อาร์เจนตินา และจีน ซึ่งมีปริมาณการส่งออกไปขายยังตลาดโลกประมาณ 21, 15 และ 9% ตามลำดับ (American Soybean Association, 2001)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถั่วเหลืองส่วนใหญ่ปลูกเพื่อเก็บเอาเมล็ด โดยในประเทศทางภูมิภาคเอเชียตะวันออกได้นำถั่วเหลืองมาแปรรูปเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์อาหารพื้นเมืองหลากหลายชนิด เช่น เต้าหู้ของประเทศจีน เทมเป้ของประเทศอินโดนีเซีย นัตโตะของประเทศญี่ปุ่น รวมไปถึงนมถั่วเหลือง ส่วนใหญ่ในประเทศตะวันตก ได้นำถั่วเหลืองมาสกัดน้ำมันได้ผลผลิตเป็นน้ำมันถั่วเหลืองและกากถั่วเหลือง นอกจากนี้ยังสามารถนำถั่วเหลืองมาแปรรูปเป็น soy flour, soy protein concentrate, soy protein isolate และผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเหลืองอื่นๆ โดยให้สมบัติเชิงหน้าที่ต่างๆ ในผลิตภัณฑ์อาหาร ได้แก่ การเป็นอิมัลซิฟายเออร์ สารช่วยให้เกิดโฟม สารปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัส รวมไปถึงให้คุณค่าทางอาหาร เป็นต้น

2.1.2 องค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองประกอบด้วยโปรตีนประมาณ 40% โดยน้ำหนักแห้ง สามารถจำแนกโปรตีนถั่วเหลืองได้เป็น 2 ชนิด คือ กลอบบูลิน ซึ่งสามารถละลายในสารละลายเกลือเจือจาง มีปริมาณมากถึง 90% ของโปรตีนทั้งหมด ที่เหลืออีก 10% คือ อัลบูมิน ซึ่งสามารถละลายน้ำ (Fukushima, 1991) กลอบบูลินในถั่วเหลืองประกอบด้วย 4 ส่วน คือ 2S, 7S, 11S และ 15S โดยมีปริมาณเป็น 15, 34, 42 และ 9% ของกลอบบูลินทั้งหมดตามลำดับ (Koshiyama, 1969) กลอบบูลินชนิด 11S และ 15S เป็นโปรตีนบริสุทธิ์ คือ ไกลซินิน และ พอลิเมอร์ของไกลซินิน ตามลำดับ (Wolf, 1970) ส่วนกลอบบูลินชนิด 7S ประกอบด้วยเบต้า-คอนไกลซินินเป็นองค์ประกอบหลัก นอกจากนี้ยังมีอัลฟา-คอนไกลซินิน ไลพอกซีจีเนส อัลฟา-อะไมเลส และเลคทิน (Nielson, 1985) ในส่วนของกลอบบูลินชนิด 2S ประกอบด้วย ทริปซินอินฮิบิเตอร์ ไซโตโครม-ซี และ แกมมา-คอนไกลซินิน (Catsimpoolas and Ekenstam, 1969; Wolf, 1970)

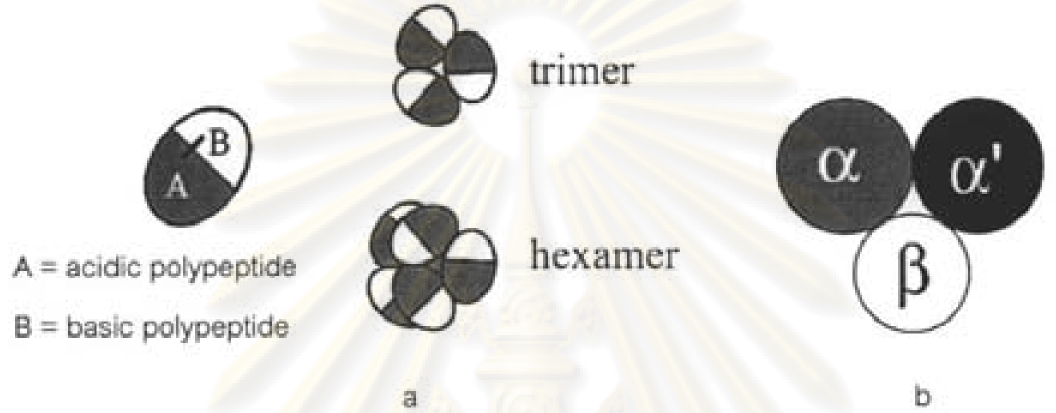
ไกลซินินและเบต้า-คอนไกลซินินเป็นโปรตีนที่มีปริมาณมากที่สุดในถั่วเหลือง อัลฟา-คอนไกลซินินและแกมมา-คอนไกลซินินเป็นโปรตีนสะสมซึ่งจำเป็นต่อการงอกของเมล็ด ส่วนโปรตีนชนิดอื่นๆ มีสมบัติด้านเมแทบอลิก (metabolic) เมล็ดถั่วเหลืองดิบประกอบด้วยสารหลายชนิดที่มีผลในเชิงลบต่อคุณค่าทางอาหาร (anti-nutritional factor) และอาจเป็นข้อจำกัดของการนำมาใช้ประโยชน์ สารเหล่านี้ได้แก่ ทริปซิน-อินฮิบิเตอร์ เฮมแอกกลูตินิน กอยโทรเจน และเอนไซม์ยูรีเอส อย่างไรก็ตามสารเหล่านี้ถูกทำลายได้ด้วยความร้อน

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ไกลซินิน

ไกลซินินประกอบด้วย acidic polypeptide และ basic polypeptide อย่างละหนึ่งหน่วยเชื่อมต่อกันอยู่ด้วยพันธะไดซัลไฟด์ ยกเว้น acidic polypeptide ชนิด A_4 (Staswick, Hermodson and Nielson, 1984) ไกลซินินมี acidic polypeptide อยู่อย่างน้อย 6 ชนิด คือ A_{1a}, A_{2a}, A_2, A_3,

A_4 และ A_5 และมี basic polypeptide 5 ชนิด คือ B_{1a}, B_{2a}, B_3, B_4 และ B_5 (Nielson, 1984) ที่อุณหภูมิห้องและ pH 7.6 ไกลซินินจะอยู่ในรูปเฮกซะเมอร์ (11S) ในขณะที่ที่ pH 3.8 ไกลซินินจะอยู่ในรูปไตรเมอร์ (7S) การลดค่าความแรงของอิออนจาก 0.5 M ไปเป็นค่าที่น้อยกว่า 0.1 M จะทำให้ไกลซินิน 11S แตกตัวเป็น 7S (Wolf et al., 1958; Lakemond et al., 2000) จุดไอโซอิเล็กทริกของไกลซินินคือ 4.90 (Koshiyama, 1983) รูปที่ 2.1 (a) แสดงแบบจำลองของโมเลกุลไกลซินินและโครงสร้างเชิงซ้อนของไกลซินิน



รูปที่ 2.1 (a) แบบจำลองของโมเลกุลไกลซินินและโครงสร้างเชิงซ้อนของไกลซินิน เส้นตรงเชื่อมระหว่าง A และ B แสดงพันธะไดซัลไฟด์ และ (b) แบบจำลองของโมเลกุลเบต้า-คอนไกลซินินชนิด βαα' (Renkema et al., 2001)

เบต้า-คอนไกลซินิน

เบต้า-คอนไกลซินินเป็นไกลโคโปรตีนซึ่งประกอบด้วยหน่วยย่อย 3 หน่วย (trimeric glycoprotein) หน่วยย่อยทั้ง 3 หน่วยได้แก่ α' (57-72 kDa), α (57-68 kDa) และ β (45-52 kDa) (Yamauchi, Yamagishi and Iwabuchi, 1991) ซึ่งจะมีรูปแบบการจัดเรียงตัวที่ต่างกัน คือ βββ, ββα', ββα, βαα', βαα, ααα', ααα (Sykes and Gayler, 1981; Yamauchi et al., 1981) รูปที่ 2.1 (b) แสดงแบบจำลองของโมเลกุลเบต้า-คอนไกลซินินชนิด βαα' หน่วยย่อยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจนและอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกโดยไม่มีพันธะไดซัลไฟด์ (Thanh and Shibasaki, 1978) ที่ pH สูงกว่าหรือเท่ากับ 5.0 เบต้า-คอนไกลซินินจะอยู่ในรูปของไตรเมอร์ (7S) เมื่อค่าความแรงของอิออนเท่ากับ 0.5 M แต่ถ้าค่าความแรงของอิออนต่ำกว่า 0.1 M เบต้า-คอนไกลซินินจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปเฮกซะเมอร์ (9S) ที่ pH 2-5 เบต้า-คอนไกลซินิน เปลี่ยนรูปกลับไปมาได้เป็น 2-3S และ 5-6S ที่ค่าความแรงของอิออนต่ำกว่า 0.1 M (Wolf, 1972) จุดไอโซอิเล็กทริกของเบต้า-คอนไกลซินิน คือ 4.46 (Koshiyama, 1983)

2.1.3 ผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองนับว่าเป็นพืชตระกูลถั่วที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง สามารถนำมาสกัดเป็นน้ำมันถั่วเหลืองซึ่งมีปริมาณการผลิตคิดเป็นสัดส่วนถึง 52% ของการผลิตน้ำมันพืชทั่วโลก (Yada, 2004) นอกจากการสกัดน้ำมันแล้ว ถั่วเหลืองยังสามารถนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีโปรตีนสูงและราคาถูก เช่น soy flour, textured soy protein, soy protein concentrate และ soy protein isolate ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีกระบวนการผลิตที่แตกต่างกัน อาจมีการใช้ความร้อนปานกลางจนถึงสูงเพื่อที่จะลดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์หรือเพื่อทำลายกิจกรรมของเอนไซม์ และช่วยปรับปรุงกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ให้ดีขึ้น (Egbert, 2004)

Full-fat soy flour ผลิตจากถั่วเหลืองทั้งเมล็ดที่ลอกเปลือกออกแล้ว มีโปรตีนประมาณ 40% ส่วน defatted soy flour ได้จากการบดถั่วเหลืองที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกไปแล้ว มีโปรตีนประมาณ 50% soy flour มักขายในรูปของ fine powder หรือ grits โดยทั่วไปนิยมใช้ soy flour ในรูป grits เพื่อเป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ขนมอบ

Textured soy protein หรือ restructured soy protein เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้จาก soy flour, soy protein concentrate หรือ soy protein isolate นำมาผ่านกระ บวนการ extrusion cooking สำหรับ TVP™ ซึ่งเป็นชื่อการค้าของ textured soy protein ที่ผลิตโดย Archer Daniels Midland (Decatur, Illinois) ใช้กระบวนการผลิตแบบ thermoplastic extrusion ภายใต้ภาวะที่ใช้ความดันและความร้อนชื้นสูงโดยใช้ soy flour เป็นวัตถุดิบ มีโปรตีนประมาณ 50% มีรูปร่าง ขนาด และสีหลากหลาย นอกจากนี้ textured soy protein อาจผลิตโดยใช้โปรตีนถั่วเหลืองผสมกับกลูเต็นข้าวสาลีหรือโปรตีนจากแหล่งคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ textured soy protein นิยมนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อขึ้นรูป และอาหารมังสวิรัติ เป็นต้น (วิไลรัตน์ มณีเสถียรรัตนา, 2535)

Soy protein concentrate (SPC) มีโปรตีนประมาณ 70% ในกระบวนการผลิตจะมีการใช้ aqueous alcohol เพื่อกำจัดน้ำตาลออกจาก defatted soy flake แล้วตกตะกอนโปรตีนด้วยสารละลายกรดเจือจางที่ pH 4.5 หลังจากนั้นแยกตะกอนโปรตีนออก ทำให้เป็นกลางแล้วทำให้แห้ง สำหรับ SPC มีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารประเภทเนื้อสัตว์อย่างแพร่หลายเพื่อช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำและเป็นอิมัลซิฟายเออร์ นอกจากนี้ SPC ยังใช้ในการเพิ่มความเสถียรของอาหารประเภทซุปที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบหลักและซอสต่างๆ อีกด้วย (วิไลรัตน์ มณีเสถียรรัตนา, 2535)

Soy protein isolate (SPI) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกหมดแล้ว และผ่านกระบวนการแยกโปรตีนถั่วเหลืองออกจากส่วนที่เป็นคาร์โบไฮเดรตทั้งที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ จนได้ผลิตภัณฑ์ที่มีโปรตีนสูงถึง 90% มีสีและกลิ่นเฉพาะตัว ไม่มีกลิ่นรสของถั่วเหลือง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(beany flavor) รวมทั้งยังมีกรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วนเช่นเดียวกับโปรตีนจากเนื้อสัตว์หรือไข่ มีปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตต่ำ (United Soybean Board, 2004) SPI เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความสามารถเชิงหน้าที่หลากหลายจึงมาใช้ในอาหารหลายชนิด สำหรับสมบัติเชิงหน้าที่ที่โดดเด่นของ SPI คือ การเกิดเจลในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก การเกิดโฟมในผลิตภัณฑ์ขนมอบ การเป็นอิมัลซิฟายเออร์ในผลิตภัณฑ์ซุปต่างๆ และการเพิ่มความหนืดให้กับผลิตภัณฑ์อาหารเช่นเครื่องดื่ม นอกจากนี้ยังมีการใช้ SPI ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อเพิ่มพลังงานและสารอาหารอีกด้วย

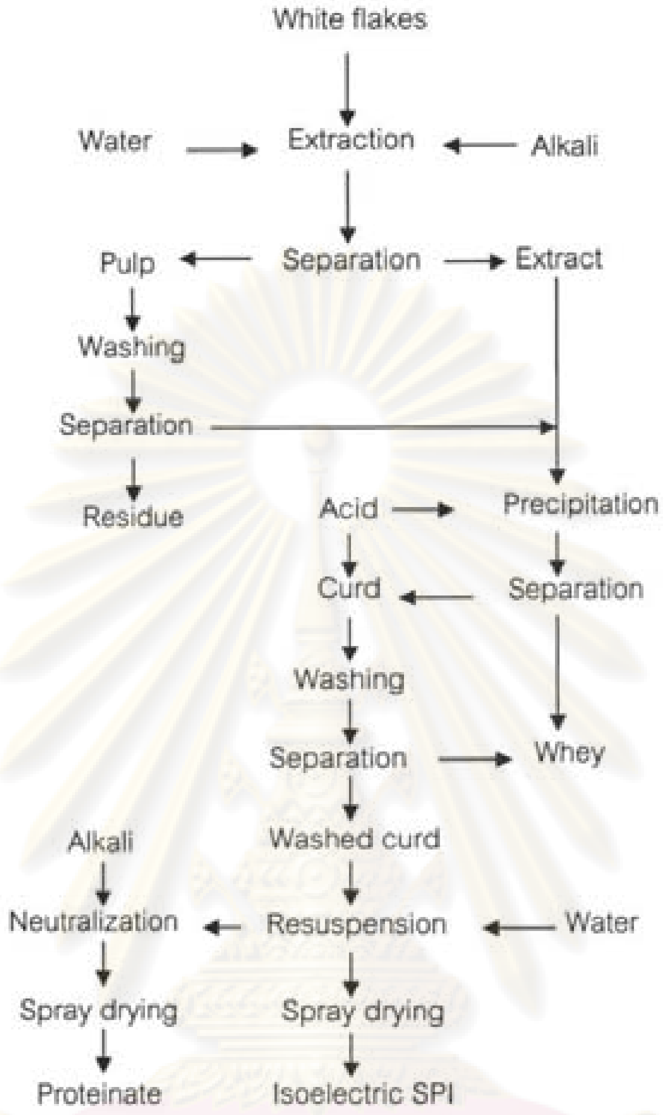
2.1.4 กระบวนการผลิต SPI

SPI ได้จากการนำ defatted soy flour มาละลายน้ำ แล้วปรับ pH ให้เป็นด่างที่ pH 8.0-8.5 ด้วยสารละลายด่างเจือจาง จากนั้นให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิประมาณ 50-55 ^{o}C แยกส่วนที่ไม่ละลายน้ำซึ่งได้แก่ พอลิแซกคาไรด์และบางส่วนของโปรตีนออก นำส่วนที่กรองได้มาปรับ pH ให้เป็นกรดที่ pH 4.5 อีกครั้ง ซึ่งทำให้โปรตีนส่วนใหญ่ตกตะกอน กรองตะกอนออก แล้วล้างด้วยน้ำ หากนำตะกอนไปอบแห้งทันทีจะได้ isoelectric protein แต่หากนำมาปรับสภาพให้เป็นกลางก่อนอบแห้งจะได้ proteinate ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ละลายน้ำได้ดีกว่าและง่ายต่อการนำไปใช้ในอาหาร (Wolf, 1997) โปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ได้มีโปรตีนมากกว่า 90% โดยแผนภูมิการผลิต SPI แสดงดังรูปที่ 2.2

2.1.5 องค์ประกอบและการเกิดเจลของ SPI

มีการใช้ SPI ในอาหารหลายชนิดเพื่อปรับปรุงสมบัติด้านเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญที่สุดประการหนึ่งของ SPI คือความสามารถในการเกิดเจล ซึ่งช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์มีการอุ้มน้ำที่ดี นอกจากนี้ยังมีการคาดการณ์ว่าในอนาคต SPI จะมีบทบาทในการนำมาแทนที่เนื้อสัตว์ เนื่องจาก SPI เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง อย่างไรก็ตามแม้ว่า SPI จะมีความสำคัญกับอุตสาหกรรมอาหารเป็นอย่างมากและได้มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ SPI อย่างมากมาย แต่ในปัจจุบันโครงสร้างของเจลของ SPI ยังไม่มีความชัดเจนนัก (Renkema and van Vliet, 2002)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.2 ขั้นตอนการผลิต soy protein isolate (SPI) (Berk,1992)

องค์ประกอบของ SPI

SPI ประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 2 ชนิดคือ เบต้า-คอนไกลซินิน และ ไกลซินิน หรือ กลอบบูลินชนิด 7S และ 11S ตามลำดับ สำหรับเบต้า-คอนไกลซินินสามารถทนความร้อนได้น้อยกว่าไกลซินิน โดยจะเสียสภาพธรรมชาติที่อุณหภูมิประมาณ 70 °C ส่วนไกลซินินจะเสียสภาพธรรมชาติที่อุณหภูมิประมาณ 80 °C เมื่ออยู่ในภาวะที่เป็นกลางและไม่มีเกลือ (Hermansson, 1978; Utsumi, Matsumura and Mori, 1997) การเสียสภาพธรรมชาติดังกล่าวเชื่อว่าเป็นสิ่งสำคัญอันดับแรกในการเกิดเจลของ SPI โดยการให้ความร้อน (Renkema and van Vliet, 2002) ดังนั้นเบต้า-คอนไกลซินินบริสุทธิ์จึงมีอุณหภูมิในการเกิดเจลที่ต่ำกว่าไกลซินินบริสุทธิ์ (Nagano, Akasaka and Nishinari, 1994)

การเกิดเจลของ SPI

ผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเหลืองชนิดต่างๆ สามารถนำมาประยุกต์กับอาหารหลายประเภท เช่น ขนมอบ นม เนื้อสัตว์ ธัญพืชอาหารเช้า เครื่องดื่ม และผลิตภัณฑ์ที่ดัดแปลงจากที่กล่าวมาข้างต้น มีการใช้โปรตีนถั่วเหลืองเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนในอาหารหรือเพื่อให้สมบัติเชิงหน้าที่ตามที่ต้องการในแต่ละผลิตภัณฑ์ สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเหลืองที่สำคัญ ได้แก่ การเกิดเจล การเกิดเป็นอิมัลซิฟายเออร์ การอุ้มน้ำ การดูดซับไขมันหรือน้ำมัน (Liu, 2000)

เจล คือโครงสร้างสามมิติที่มีการกักน้ำหรือของเหลวไว้ในโครงสร้าง ในผลิตภัณฑ์อาหารเจลช่วยให้เกิดโครงสร้างและความคงตัว นอกจากนี้โครงสร้างของเจลยังมีโมเลกุลอื่นซึ่งนอกเหนือจากน้ำรวมอยู่ด้วย เช่น น้ำตาล สารแต่งกลิ่นรส น้ำมัน เจลที่เกิดขึ้นในอาหารมีความยืดหยุ่น ตัวอย่างของการเกิดเจลในอาหาร เช่น เนยแข็ง ไข่ต้ม เยลลี่ พุดดิ้ง เต้าหู้ เจลในอาหารนั้นสามารถเกิดได้จากพอลิเมอร์ชนิดอื่นนอกเหนือจากโปรตีน เช่น แป้ง คาราจีแนน เพกติน อัลจิเนท เป็นต้น

เจลโปรตีนสามารถแบ่งตามชนิดของโปรตีนที่เกิดเจลได้เป็น 2 ประเภท คือ เจลของ protein aggregate และเจลของ cross-linked flexible protein เช่น เจลาติน เคราติน ซึ่งเกิดจากพวก globular protein (เช่นโอวัลบูมิน เวย์โปรตีน โปรตีนถั่วเหลือง) หรือพวก low-structured protein (เช่น เคซีน)

การเกิดเจลของ SPI เป็นการเกิดเจลที่มีเบต้า-คอนไกลซินินและไกลซินินอยู่ร่วมกัน ซึ่งเบต้า-คอนไกลซินินและไกลซินินมีโครงสร้างและสมบัติที่แตกต่างกันซึ่งจะส่งผลต่อการเกิดเจลที่แตกต่างกัน ดังนั้นพฤติกรรมการเกิดเจลของ SPI จะขึ้นอยู่กับการเกิดอันตรกิริยาร่วมกันของโปรตีนทั้งสองชนิด จากการศึกษาสารละลายของ SPI ที่มีค่าความแรงของอิออนเท่ากับ 0.5 M และให้ความร้อนที่ 100 °C พบว่าในการเกิดเจลร่วมกันผลของไกลซินินจะถูกบดบังโดยเบต้า-คอนไกลซินิน ตัวอย่างเช่นความเข้มข้นของโปรตีนแต่ละชนิดในปริมาณต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้ คือ ไกลซินิน 2.5% และเบต้า-คอนไกลซินิน 7.5% แต่เมื่อโปรตีนทั้งสองชนิดนำมาผสมในอัตราส่วน 1:1 พบว่าความเข้มข้นของไกลซินินในของผสมจะต้องมีค่าอย่างต่ำ 7.5% จึงจะสามารถเกิดเจลได้ (Utsumi et al., 1997)

Renkema และคณะ (2000) ศึกษาผลของ pH ต่อการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนถั่วเหลืองด้วยความร้อนและสมบัติของเจลไกลซินินและ SPI ที่ pH 3.8 และ 7.6 เมื่อศึกษาการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนถั่วเหลืองด้วยความร้อนด้วยวิธี Differential Scanning Calorimetry (DSC) พบว่าที่ pH 7.6 ไกลซินินบริสุทธิ์มีการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดความร้อน (endothermic transition) ที่อุณหภูมิประมาณ 88 °C จนโปรตีนเกิดการเสียสภาพอย่างสมบูรณ์ ส่วนที่ pH 3.8 ไกลซินินมีการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดความร้อน 2 ช่วงคือ ที่อุณหภูมิประมาณ 68 °C และ 82 °C ทั้งนี้เนื่องจากไกลซินินประกอบด้วยโปรตีนชนิด 11S (hexameric form) และ

7S (trimeric form) โดยที่โปรตีนชนิด 11S จะคลายเกลียวของสายโปรตีนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 7S ในขณะที่ SPI พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดความร้อน 2 ช่วงทั้งที่ pH 3.8 และ 7.6 เนื่องจาก SPI ประกอบด้วยเบต้า-คอนไกลซินินและไกลซินิน ซึ่งเบต้า-คอนไกลซินินเสียสภาพที่อุณหภูมิต่ำกว่าไกลซินิน โดยที่ pH 3.8 มีการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่าที่ pH 7.6 ทั้งนี้เนื่องมาจากรูปแบบการกระจายตัวของประจุ (charge distribution) ของโปรตีนที่ pH 3.8 และ 7.6 แตกต่างกัน ซึ่งส่งผลต่ อโครงสร้างจตุรภูมิและเสถียรภาพของโปรตีน เมื่อศึกษาผลของ pH ต่อโครงสร้างของเจลพบว่าเบต้า-คอนไกลซินินมีความสำคัญต่อการเกิดโครงสร้างของเจลใน SPI ที่ pH ต่ำและจะลดบทบาทลงเมื่อ pH สูงขึ้น โครงสร้างของเจลไกลซินินและ SPI ที่ pH 7.6 โปรตีนมีการจัดเรียงตัวแบบ fine-stranded network เจลที่ได้มีลักษณะขุ่นเล็กน้อย เนื้อเจลเนียนละเอียด ในขณะที่ที่ pH 3.8 โปรตีนมีการจัดเรียงตัวแบบ coarse aggregated network เจลที่ได้มีลักษณะขุ่น เนื้อเจลแข็งกระด้าง ไม่เนียนละเอียด โดยความแข็งของเจลที่แตกต่างกันอาจเนื่องจากที่ pH 3.8 เจลของไกลซินินและ SPI จะเริ่มเกิดเป็นเจลได้เร็วเกินไป อย่างไรก็ตามมีความเป็นไปได้ที่ความแข็งของเจลที่แตกต่างกันนี้เกิดจากการสร้างโครงร่างตาข่ายที่แตกต่างกัน ซึ่งมีผลต่อสมบัติการไหลของเจล

2.2 เนื้อปลา

2.2.1 โปรตีนปลา

โปรตีนกล้ามเนื้อปลาแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิดคือ โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ซึ่งมีปริมาณ 40-60% ของโปรตีนทั้งหมด โปรตีนซาร์โคพลาสมิกมีปริมาณ 30% ของโปรตีนทั้งหมด และที่เหลือคือโปรตีนสโตรมา

โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือหรือสารละลายที่มีค่าความแรงของอิออนประมาณ 0.5 M โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ในกล้ามเนื้อปลา ได้แก่ ไมโอซิน แอกตินโทรโปไมโอซิน และโทรโปนิน (Suzuki, 1981) โดยไมโอซินเป็นโปรตีนที่มีมากที่สุด มีปริมาณ 50-60% ของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ทั้งหมด โปรตีนที่มีมากรองลงมาได้แก่แอกติน มีปริมาณ 20% ของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ทั้งหมด (จักรี ทองเรือง, 2544)

โปรตีนซาร์โคพลาสมิกละลายได้น้ำหรือสารละลายที่มีค่าความแรงของอิออนต่ำกว่า 0.15 M โปรตีนในกลุ่มนี้ ได้แก่ ไมโอโกลบิน เอนไซม์ และอัลบูมิน โปรตีนซาร์โคพลาสมิกมักพบในปริมาณสูงในพวกปลาผิวน้ำ เช่น แมคเคอเรล ซึ่งมีโปรตีนซาร์โคพลาสมิกในปริมาณมากจะเป็นผลเสียต่อการเกิดเจลของโปรตีนกล้ามเนื้อปลา เนื่องจากโปรตีนซาร์โคพลาสมิกจะไปขัดขวางการเชื่อมข้าม (cross-linking) ระหว่างโมเลกุลของ แอกโตไมโอซินทำให้ความแข็งแรงของเจลลดต่ำลง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โปรตีนสโตรมาเป็นโปรตีนที่พบในกล้ามเนื้อปลาในปริมาณน้อย โปรตีนสโตรมาในกล้ามเนื้อปลา ได้แก่ คอลลาเจน และอิลาสติน โดยทั่วไปกล้ามเนื้อปลาประกอบด้วยคอลลาเจน ในปริมาณ 0.2-2.2% (จักรี ทองเรือง, 2544)

2.2.2 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา

องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา ขึ้นกับขนาด อายุ และเวลาที่ปลาถูกจับ กล่าวคือ ระยะก่อนหรือหลังการวางไข่ โดยทั่วไปปลามีส่วนที่บริโภคได้ประมาณ 40-45% ของน้ำหนักปลาทั้งตัว องค์ประกอบที่สำคัญของเนื้อปลาประกอบด้วยโปรตีน 15-24% ไขมัน 0.1-2.2% คาร์โบไฮเดรต 1.3% สารอินทรีย์อื่นๆ 0-2% และน้ำ 66-84% องค์ประกอบเหล่านี้เป็นปัจจัยซึ่งกำหนดคุณภาพของเนื้อปลา เช่น ไขมันอาจทำให้เกิดกลิ่นหืน (rancidity) เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้เมื่อเก็บปลาไว้เป็นเวลานาน ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำเกลือมีความสำคัญต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์จากเนื้อปลา (Suzuki, 1981)

2.2.3 ปลายี่สก

มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Probarbus jullieni* Sauvage ชื่อภาษาอังกฤษ คือ Jullien's golden carp หรือ Isok barb สำหรับในประเทศไทยชื่อที่ใช้เรียกปลายี่สกแตกต่างกันออกไปตามถิ่นที่อยู่อาศัย เช่น ที่แม่น้ำโขงจังหวัดหนองคายเรียกปลาเอินหรือปลาเอนคางหมู ในท้องที่บางแห่งเรียกปลาชนิดนี้ว่าปลายี่สกทอง กะสก หรืออีสก บริเวณแม่น้ำน่านเรียกปลาชะเอิน

เนื้อปลายี่สกมีรสชาติดี ปลายี่สกมีหนังหนา เนื้อสีขาวอมเหลือง ละเอียดอ่อน นิ่ม สามารถนำมาประกอบอาหารได้หลายชนิด (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2549) ปัจจุบันปลายี่สกที่รับความนิยมนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตลูกชิ้นปลามากขึ้น เนื่องจากมีราคาถูก จึงใช้ทดแทนวัตถุดิบที่มีราคาแพง แต่มีความสามารถในการเกิดเจลไม่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่มีราคาแพง

2.2.4 ลูกชิ้นปลา

ลูกชิ้นปลาเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งจากเนื้อปลาบด มีสีขาวนวล ไม่มีกลิ่นคาวปลามาก ผิวนอกมันเงา เนื้อสัมผัสแน่นและเหนียว ลูกชิ้นปลาที่ผลิตในประเทศไทยมักผลิตในระดับอุตสาหกรรมขนาดย่อม ปลาที่ใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตลูกชิ้นปลาแบ่งได้ 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ ปลาที่มีราคาถูก เช่น ปลาไหลทะเล ปลาฉลาม ปลาแดงตาโต ปลาน้ำดอกไม้ ปลาข้างเหลือง ปลาทรายแดง ปลาทรายขาวและปลาปากคม และปลาที่มีราคาแพง เช่น ปลาอินทรีย์ ปลาตาบลาว ปลาหางเหลือง ปลากราย หลาสลาด (กรมประมง, 2550) กรรมวิธีการผลิตลูกชิ้นปลาแสดงในรูปที่ 2.3

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 2.3 ขั้นตอนการผลิตลูกชิ้นปลา (ดัดแปลงจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะประมง, 2545)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กรรมวิธีการผลิตลูกชิ้นปลาในประเทศไทยแบ่งออกเป็นขั้นตอนใหญ่ๆ ได้ดังนี้ ขั้นแรกบดเนื้อปลา (mincing) ในกรณีที่ใช้เนื้อปลาแล่เป็นวัตถุดิบต้องบดเนื้อปลาโดยใช้เครื่องบด 3-6 ครั้ง ขณะบดเติมน้ำแข็งเพื่อควบคุมอุณหภูมิไม่ให้สูงกว่า 10 °C จากนั้นจึงนวดผสม (kneading) ขั้นตอนนี้มีการเติมเกลือและเครื่องปรุงต่างๆ มักจะนวดผสมเป็นเวลา 10-20 นาที ขณะนวดผสมเติมน้ำแข็งเพื่อควบคุมอุณหภูมิ เครื่องมือที่ใช้นวดผสมมีลักษณะเป็นถังมีแกน 2 อันอยู่ตรงกลางเพื่อเป็นตัวตีเนื้อปลา หลังจากนั้นเป็นการขึ้นรูป (molding) เนื้อปลาที่นวดผสมจนได้ที่แล้วจะนำมาขึ้นรูปเป็นรูปทรงต่างๆ โดยใช้มือหรือเครื่องขึ้นรูปแล้วจึงทำให้เจลแข็งตัว (setting) โดยการ

ให้ความร้อนแก่ลูกชิ้นในน้ำอุณหภูมิ 40-45 °C จนกระทั่งแข็งตัวซึ่งมักใช้เวลาประมาณ 20-30 นาที ขึ้นกับชนิดของปลา จากนั้นจึงต้ม (cooking) ในน้ำร้อน 90 °C ประมาณ 5-10 นาที แล้วทำให้เย็น (cooling) โดยใช้น้ำ น้ำแข็งหรือพัดลมเป่า ในประเทศสิงคโปร์มีการผลิตลูกชิ้นกันมาก ซึ่งกรรมวิธีการผลิตก็คล้ายคลึงกับในประเทศไทย แต่มักใช้เนื้อปลาบดล้างน้ำเกลือหรือซูริมิเป็นวัตถุดิบ (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะประมง, 2545)

ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของลูกชิ้นปลา

1. ความสดของปลา

ปริมาณของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ที่สกัดได้จากเนื้อปลาจะลดลง เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการเสียสภาพของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ (จิรชัย เลขาวิจิตร, 2547) โดยโมเลกุลของโปรตีนที่คลายตัวและอยู่ใกล้กัน เกิดอันตรกิริยากันด้วยพันธะไดซัลไฟด์และพันธะโควาเลนต์ ซึ่งมีผลต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำเกลือ ความสามารถในการเกิดเจล และความสามารถในการอุ้มน้ำของเจล (Haad, 1992)

2. ชนิดของปลา

ปลาที่มีไขมันมาก (ปริมาณไขมันสูงกว่า 5%) และปลาที่มีไขมันน้อย (ปริมาณต่ำกว่า 2%) จะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความแข็งแรงแตกต่างกัน (จักรี ทองเรือง, 2544) เนื่องจากเมื่อเกิดโครงร่างตาข่ายของเจลไขมันในปลาจะแทรกอยู่ระหว่างโมเลกุลโปรตีนทำให้โครงสร้างเจลแตกออกได้ง่าย (Tanikawa, 1985) นอกจากนี้ Bayliss (1996) ยังกล่าวว่าปลาผิวน้ำมีไขมันเป็นองค์ประกอบสูง เช่นปลาแมคเคอเรลมีไขมันเป็นองค์ประกอบมากกว่า 35% ในขณะที่ปลาหน้าดินมีไขมันเป็นองค์ประกอบเพียง 2%

3. การล้าง (leaching)

เนื้อปลาที่ได้อาจมีส่วนของไตหรืออวัยวะภายในติดมาด้วย ซึ่งอวัยวะเหล่านี้จะผลิตสาร formaldehyde และ dimethylamine formaldehyde เป็นสารซึ่งเร่งปฏิกิริยาในการเสื่อมสลายของโปรตีน (Laird, Mackie and Hattula, 1980) การล้างเป็นการกำจัดเลือดและสิ่งปนเปื้อนในเนื้อปลาและช่วยให้เจลโปรตีนที่ได้มีความแข็งแรงของเจลสูงขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยกำจัดกลิ่นที่ไม่ต้องการหากเนื้อปลาไม่สด อย่างไรก็ตามการล้างเนื้อปลามีข้อจำกัดคือการสูญเสียโปรตีนที่ละลายน้ำ วิตามิน เกลือแร่ และทำให้ปริมาณผลผลิตลดต่ำลง (Lee, 1987)

4. การนวดผสม (kneading)

การนวดผสมเนื้อปลามีขั้นตอนดังนี้ ขั้นแรกเริ่มนวดผสมเนื้อปลาเพียงอย่างเดียวก่อน เพื่อทำให้เซลล์ของเนื้อเยื่อแยกตัว ซึ่งจะทำให้สะดวกต่อการที่เกลือเข้าไปทำอันตรกิริยากับโปรตีน ขั้นต่อไปเติมเกลือเพื่อสกัดโปรตีนที่ละลายในน้ำเกลือจากเนื้อปลา โปรตีนที่ละลายออกมาจะมี

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลักษณะเหนียวข้นซึ่งทำให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ดี ขั้นสุดท้ายเติมสารปรุงแต่งกลิ่นรส เช่น น้ำตาล และสารแต่งกลิ่นรสอื่นๆ นวดผสมให้เข้ากัน อาจเติมแป้งเพื่อเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์และปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสในขั้นตอนนี้ด้วย (Lee, 1987)

5. ภาวะทางเคมีของโปรตีนในเนื้อปลาบด

โปรตีนในเนื้อปลาประกอบด้วย โปรตีนซาร์โคพลาสมิก และโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ซึ่งโปรตีนซาร์โคพลาสมิก ประกอบด้วยโปรตีนที่ละลายน้ำได้ (water soluble protein) และ โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ประกอบด้วยโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำเกลือ (salt soluble protein) ซึ่งมีปริมาณแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด โดยทั่วไปปลาผิวน้ำจะมีปริมาณโปรตีนซาร์โคพลาสมิกสูงกว่าในปลาหน้าดิน โดยเฉพาะปริมาณของฮีโมโกลบินและไซโตโครมซีในกล้ามเนื้อแดง จึงทำให้ปลาผิวน้ำไม่เหมาะต่อการนำมาใช้ผลิตซูริมิ (จักรี ทองเรือง, 2544) นอกจากนี้การละลายของโปรตีนยังขึ้นอยู่กับ pH ของเนื้อปลาและปริมาณความชื้น ดังรายงานของ Cofrades, Careche และ Colmenero (1997) พบว่า pH ของเนื้อปลาที่ให้ค่า gel strength สูงที่สุดอยู่ในช่วง pH 6.3 และ 6.0 สำหรับปลาคาร์ปและปลาคอด ตามลำดับ และปริมาณความชื้นสูงจะทำให้ความเข้มข้นของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์เจือจางลงได้ โดยทั่วไปค่า gel strength ที่ดีมาจากเจลที่มีความชื้นอยู่ในช่วง 72-82% เมื่อค่าความชื้นเพิ่มขึ้น ค่า gel strength จะลดลง ในขณะที่ค่า expressible water จะเพิ่มมากขึ้น (Ofstad, Grahl-Madsen and Solberg, 1992)

6. โซเดียมคลอไรด์

ปริมาณเกลือที่เติมมีผลต่อการเกิดเจลและคุณภาพของเจล โดยเกลือช่วยในการสกัดโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ซึ่งเป็นโปรตีนที่สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือเจือจางให้ออกมาจากเนื้อปลาแล้วรวมตัวกันเป็นแอกโตไมโอซิน ทำให้เนื้อปลามีสภาพเหนียวและเกิดเป็นเจลได้ (Shimizu, Shimidu and Ikeuchi, 1954) โดยโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์เกิดโครงสร้างเจลได้ที่ความเข้มข้นเกลือต่ำๆ เช่น 0.5% แต่โครงร่างตาข่ายนี้จะมีความแข็งแรงต่ำ ปริมาณเกลือที่เหมาะสมที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความเหนียวมากที่สุดนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยบางประการ (จักรี ทองเรือง, 2544) ดังการศึกษาของพรรณวดี อภิศุภะโชค, สุธาวัลย์ หลงเจริญ และสุภารัตน์ ธาราสายทอง (2545) ซึ่งพัฒนาผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลาจากปลาดุกอุยเทศ พบว่าปริมาณของโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสมคือ 4% ของน้ำหนักเนื้อปลา และการผลิตซูริมิจากปลาซาร์ดีนของ Alvarez, Couso และ Tejada (1995) พบว่าเจลจะมีค่า gel strength สูงสุดเมื่อใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 2.44-2.80% อย่างไรก็ตามการเติมโซเดียมคลอไรด์ในปริมาณที่สูงเกินไปจะเกิด salting out คือโปรตีนตกตะกอนออกมาเนื่องจากเกลือไปแย่งจับน้ำซึ่งละลายโปรตีนอยู่ ทำให้โปรตีนละลายได้น้อยลงและไม่เกิดเป็นเจล (Price et al., 1975)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7. อุณหภูมิ

อุณหภูมิของเนื้อปลาขณะที่นวดผสมในการเตรียมลูกชิ้นต้องต่ำพอจึงจะเกิดเจลได้ดี โดยควรจะต่ำกว่า 10 °C เพื่อป้องกันการเสียสภาพของโปรตีนอันเนื่องมาจากแรงเสียดทานในระหว่างการนวดผสม (Mrak and Steward, 1954)

หน้าที่ของส่วนผสมที่ใช้ในการทำลูกชิ้น

1. **โซเดียมคลอไรด์**

ช่วยในการสกัดโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ซึ่งเป็นโปรตีนที่สามารถละลายได้ในน้ำเกลือเจือจางให้ออกมาจากเนื้อปลาแล้วรวมตัวกันเป็นแอกโตไมโอซิน ทำให้เนื้อปลามีสภาพเหนียวและเกิดเป็นเจลได้ (Shimizu et al., 1954) นอกจากนี้เกลือยังทำหน้าที่ช่วยป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์โดยเปลี่ยนแปลงความดันออสโมติก แต่การใช้เกลืออย่างเดียวจะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะที่แห้งและมีรสเค็มมากเกินไปจึงมักใช้น้ำตาลร่วมด้วย เกลือที่ใช้ต้องไม่ทำให้เกิดปัญหาทางด้านรสชาติหรือสี นอกจากนี้ยังช่วยปรับความแรงของอิออนให้เหมาะสมเพื่อให้โปรตีนที่ละลายในเกลือละลายออกมา (Price et al., 1975)

2. Alkaline polyphosphate

ช่วยปรับ pH ให้สูงขึ้น ลูกชิ้นที่ได้จะมีความสามารถในการอุ้มน้ำดีขึ้น โดยเพิ่มจำนวนหมู่ที่จะจับกับน้ำได้ โดยจะใช้เฉพาะ alkaline polyphosphate เนื่องจาก acid phosphate จะทำให้ pH ต่ำและผลิตภัณฑ์หดตัว ปริมาณที่ควบคุมในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นคือ ไม่เกิน 0.05% ของน้ำหนักผลิตภัณฑ์ (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2533)

3. **แป้ง**

ช่วยให้เสถียรภาพของอิมัลชั่นดีขึ้น โดยเพิ่มความหนืด ทำให้การสูญเสียน้ำหนักลดลง ช่วยลดต้นทุนการผลิต ทำให้รสชาติดีขึ้น และทำหน้าที่เป็นสารเชื่อม (binding agent)

4. **น้ำแข็ง**

ในการทำลูกชิ้นมักมีการเพิ่มปริมาณความชื้นเพื่อป้องกันไม่ให้ผลิตภัณฑ์แข็งและแห้งเกินไป โดยมากมักเติมน้ำในรูปน้ำเย็นหรือน้ำแข็งที่สับละเอียด เพื่อลดอุณหภูมิในขณะบดและนวดผสม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2.5 ลักษณะการเกิดเจลและพันธะที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเจลของโปรตีนในเนื้อปลาโดยการให้ความร้อน

กล้ามเนื้อปลาประกอบด้วยโปรตีน 3 ชนิด คือ โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ โปรตีนซาร์โค-พลาสมิก และโปรตีนสโตรมา ในการผลิตซูริมิมีขั้นตอนต่างๆ เพื่อกำจัดเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและโปรตีนซาร์โคพลาสมิกออก ได้แก่ขั้นตอนการแล่เนื้อปลาและล้างเนื้อปลาบด การที่จำเป็นต้องกำจัด

โปรตีนเหล่านี้ เนื่องจากโปรตีนเหล่านี้ไม่มีสมบัติในการเกิดเจล นอกจากนี้องค์ประกอบอื่นๆ เช่น เลือด เอนไซม์ และไขมันซึ่งอาจขัดขวางการเกิดเจลก็ถูกกำจัดออกไปด้วย ทำให้ซูริมิที่ได้ประกอบด้วยโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์เป็นส่วนใหญ่ โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ที่มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดเจลคือ ไมโอซินและแอกติน โปรตีนทั้งสองนี้จะรวมตัวกันเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เรียกว่าแอกโตไมโอซิน โดยเกิดขึ้นในช่วงที่มีการบดเนื้อปลาผสมกับเกลือ 2-3% โดยน้ำหนัก (Shahidi, 1994) An, Peter และ Seymour (1996) รายงานว่า ไมโอซินเป็นโปรตีนที่มีบทบาทต่อการเกิดเจลมากที่สุด โดยไมโอซินประกอบด้วยกรดอะมิโนที่เป็นไฮโดรฟิลิกเป็นส่วนใหญ่ และประมาณ 80% ของกรดอะมิโนเป็น acidic amino acid และ basic amino acid ที่ pH ปกติของซูริมิ (pH ประมาณ 6.5-7.0) โมเลกุลโปรตีนจะมีกรดอะมิโนที่มีประจุรวมเป็นบวกหรือลบที่บริเวณผิวหน้าโมเลกุลของโปรตีน โดยหมู่คาร์บอกซิลในกรดกลูตามิกและกรดแอสปาร์ติกมีประจุลบ (COO^-) ในขณะที่หมู่อะมิโนของไลซีนและอาร์จินีนจะมีประจุบวก (NH_3^+) ทำให้เกิดแรงดึงดูดระหว่างประจุที่แตกต่างกัน เกิดเป็นแรงยึดเหนี่ยวที่เรียกว่า แรงดึงดูดทางประจุ (intermolecular salt-linkage หรือ ionic linkage) ขึ้น มีผลทำให้โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์รวมตัวกัน (aggregation) ในลักษณะที่เกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน จากภาวะดังกล่าวทำให้ซูริมิไม่สามารถละลายน้ำได้ (Niwa, 1992; Lanier, 2000) แต่เป็นที่ทราบกันดีว่าโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์สามารถละลายได้ดีในสารละลายเกลือ ดังนั้นการเติมเกลือในขั้นตอนการเตรียมเจลซูริมิทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่าความแรงของอิออน ลดเสถียรภาพของแรงดึงดูดทางประจุระหว่างโมเลกุลของโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ลง ทำให้ M-line และ Z-line ในโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์แยกออกจากกัน ทำให้โปรตีนคลายตัวออก หมุนหมู่ที่สามารถเกิดอันตรกิริยาได้ให้ปรากฏขึ้นบนผิวหน้าของโมเลกุลโปรตีน เกิดเป็นโครงสร้างตาข่ายของแอกโตไมโอซินที่มีการจัดเรียงตัวของสายโซ่เปปไทด์แบบสุ่มเรียกว่า viscous sol (Pan 1990; Pigott and Tucker, 1990; Lee, 1994)

การให้ความร้อนแก่ sol ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการจัดเรียงตัวของสายโซ่เปปไทด์แบบผันกลับไม่ได้ (irreversible transition) เป็นสถานะที่มีการจัดเรียงตัวที่เป็นระเบียบ (ordered state) เรียกกลไกนี้ว่า setting การ setting มีขั้นตอนที่แตกต่างกัน 3 แบบ คือ cold setting เกิดที่อุณหภูมิต่ำ (0-4 °C) หรืออุณหภูมิห้อง (22-25 °C) เนื่องจากไม่มีความร้อนมาเกี่ยวข้อง ดังนั้นจึงต้องการเวลาในการ setting ที่นาน การ setting แบบนี้ไม่มีการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน ค่าความแข็งแรงของเจลที่ได้จึงขึ้นอยู่กับเวลาและชนิดของแรงยึดเหนี่ยวที่เกี่ยวข้องในโครงร่าง ซึ่งแรงยึดเหนี่ยวที่กล่าวถึงส่วนใหญ่คือพันธะไฮโดรเจน ส่งผลให้ลักษณะเจลที่ได้มีลักษณะมันวาว (glossy) และโปร่งแสง (translucent) เอนไซม์ transglutaminase (TGase) มีบทบาทมากต่อการ setting ประเภทนี้ สำหรับ partial-heat setting เกิดที่ช่วงอุณหภูมิ 40-50 °C โดยเกิดการเสียสภาพของโปรตีนบางส่วน ดังนั้นการ setting จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและเวลาในกระบวนการผลิต

แรงยึดเหนี่ยวที่เกี่ยวข้องได้แก่ อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก นอกจากนี้ยังมีพันธะไดซัลไฟด์และพันธะไฮโดรเจน เจลที่ได้จะมีลักษณะขุ่น (turbid) และทึบแสง (opaque) ส่วน full-heat setting เกิดขึ้นเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80-90 °C เป็นเวลา 20-40 นาที ในขั้นตอนนี้โปรตีนจะเสียสภาพธรรมชาติอย่างสมบูรณ์ แรงยึดเหนี่ยวที่เกี่ยวข้องคือ อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกและพันธะไดซัลไฟด์ Luo และคณะ (2001) รายงานว่าเวลาที่ใช้สำหรับ full-heat setting ไม่ใช่ปัจจัยหลักที่มีผลต่อค่าความแข็งแรงของซูริมิจากปลาคาร์ป กล่าวคือการให้ความร้อนในช่วง 70-90 °C นาน 15-45 นาที ให้ค่าความแข็งแรงของเจลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Lee, 1994)

อย่างไรก็ตาม การเตรียมเจลโดยไม่ผ่านขั้นตอนที่มีการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำก่อน (setting step) ส่งผลให้เจลมีความแข็งแรงต่ำ กล่าวคือ เจลที่ผ่านการให้ความร้อนแบบ full-heat setting หรือการให้ความร้อนแก่เจลที่อุณหภูมิสูงโดยทันที ทำให้เกิดการรวมตัวกันตกตะกอนของโมเลกุลโปรตีนที่เร็วกว่าการเสียสภาพธรรมชาติและการคลายตัวของโมเลกุลโปรตีน ส่งผลให้เกิดการจัดเรียงตัวของโมเลกุลโปรตีนแบบสุ่ม (random network) ให้ลักษณะเจลที่เป็น coagulum เจลมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำและเมื่อเก็บเจลไว้จะเกิดปรากฏการณ์การซึมน้ำ (syneresis) ส่งผลให้คุณภาพของเจลที่ได้ต่ำ ดังนั้นเพื่อให้เจลมีค่าความแข็งแรงของเจลและความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น จึงนิยมให้ความร้อนแบบ partial-heat setting ในขั้นตอนแรก (setting step) และแบบ full-heat setting ในขั้นตอนที่สอง (heating step) เรียกการให้ความร้อนแบบนี้ว่าการให้ความร้อนแบบ 2 ขั้นตอน (2-step heating) การเตรียมเจลโดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำในครั้งแรก (ประมาณ 25-50 °C) เพื่อให้เกิดโครงสร้างที่เป็นระเบียบ (ordered network) ก่อนนำไปให้ความร้อนครั้งที่สอง เพื่อทำให้โปรตีนเกิดการรวมตัวกันอย่างช้าๆ เมื่อเทียบกับการเกิดการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน เจลที่ได้จะมีโครงสร้างที่เป็นระเบียบมากขึ้น (Luo et al., 2001; de Jong and Koppelman, 2002) ซึ่งมีการใช้กระบวนการนี้ในการผลิตเจลซูริมิจากปลา Alaska pollock (Fukuda et al., 2001) ปลาคาร์ป (Luo et al., 2001) และปลาปากคมปีกสั้น (lizardfish) (Benjakul, Visessanguan and Tueksuban, 2003)

ดังนั้นสามารถกล่าวได้ว่าการเกิดเจลโปรตีนประกอบด้วยกลไกสำคัญ 2 ขั้นตอนคือ การเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน และการรวมตัวกันตกตะกอน (Stone and Stanley, 1992; Matsumura and Mori, 1997) โดยการเสียสภาพธรรมชาติ เป็นขั้นตอนที่มีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างของโปรตีนจากการได้รับความร้อน โมเลกุลของโปรตีนจะเสียสภาพธรรมชาติไปบางส่วน (partial denaturation) ในขั้นตอนนี้แอกโตไมโอซินซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดเจลเกิดการคลายตัว การคลายตัวของแอกโตไมโอซินเกิดที่ช่วงอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของปลา (Ogawa et al., 1995)

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเหนี่ยวนำให้เกิดเจลโดยการให้ความร้อนที่ช่วงอุณหภูมิต่ำประมาณ 25-50 °C ทำให้แอกโตไมโอซินหรือไมโอซินเริ่มคลายตัวออก และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นไมโอซินจะคลายเกลียวอย่างสมบูรณ์ ทำให้หมู่ไม่ชอบน้ำที่อยู่ด้านในโครงสร้างของโมเลกุลโปรตีนปรากฏขึ้นบริเวณผิวหน้าของโมเลกุลโปรตีนเกิดแรงยึดเหนี่ยวประเภทอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกและพันธะไดซัลไฟด์ให้โมเลกุลโปรตีนรวมตัวกันอย่างช้าๆ เกิดเป็นโครงร่างตาข่ายสามมิติอย่างเป็นระเบียบ (Nakai and Li-Chan, 1989) จากรายงานพบว่าการเกิดเจลที่อุณหภูมิต่ำ (40-50 °C) เกิดจากอันตรกิริยาที่ส่วนหางของโมเลกุลไมโอซิน ซึ่งมีเอนไซม์ endogenous transglutaminase มาเกี่ยวข้อง แรงยึดเหนี่ยวที่พบคือ พันธะไดซัลไฟด์และพันธะโควาเลนต์ เมื่ออุณหภูมิสูงเกินกว่า 40 °C จะเกิดอันตรกิริยาระหว่างกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic amino acid) เนื่องจากการที่เกิดการคลายตัวของโปรตีนที่ส่วนหัวของไมโอซินทำให้เกิดเป็นเจลขึ้น การเกิดเจลในขั้นตอนที่สองเกี่ยวข้องกับอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกระหว่างส่วนหัวของโมเลกุลไมโอซิน ทั้งนี้เนื่องจากการเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงร่างของโปรตีนอันเนื่องมาจากความร้อน ซึ่งทำให้กรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำซึ่งพบมากในส่วนหัวของโมเลกุลไมโอซินปรากฏอยู่ที่ผิวหน้าของโมเลกุลโปรตีน (An et al., 1996) Niwa (1992) รายงานว่าทั้งส่วนหัวและหางของไมโอซิน สามารถเกิดอันตรกิริยาที่ไม่ใช่โควาเลนต์และพันธะเชื่อมข้ามระหว่างไมโอซินจนรวมกลุ่มกันด้วยอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก ในขณะที่พันธะไดซัลไฟด์ระหว่างโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ปรากฏเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 70 °C ทำให้โครงสร้างเจลแข็งแรงมากขึ้น

พันธะที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเจลของซูริมิ

พันธะหลักที่เกี่ยวข้องกับกลไกการเกิดเจลในซูริมิได้แก่ พันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก และพันธะไดซัลไฟด์ (Zayas, 1997) พันธะไฮโดรเจน มีความสำคัญในการยึดจับกับน้ำภายในเจล โดยโมเลกุลของน้ำภายในเจลเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโนที่มีขั้ว (polar amino acid) ซึ่งอยู่ที่บริเวณผิวหน้าของโมเลกุลโปรตีนในระหว่างการให้ความร้อน สำหรับอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกเกิดจากแรงดึงดูดระหว่างกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำจะเกิดได้ดีเมื่ออยู่ในภาวะที่มีอุณหภูมิสูง ทั้งนี้เนื่องจากเป็นปฏิกิริยาแบบดูดความร้อน โดยมีรายงานว่าในโปรตีนที่มีกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำมากกว่า 31.5% จะเกิดอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกซึ่งเกี่ยวข้องโดยตรงกับการเกิดเจลชนิด coagulum (Shimada and Matsushita, 1980) พันธะไดซัลไฟด์เป็นพันธะโควาเลนต์ชนิดหนึ่ง มีความแข็งแรงมากกว่าอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก เกิดได้ดีเมื่อให้ความร้อนมากกว่า 40 °C โดยพันธะไดซัลไฟด์มีความสำคัญต่อการเกิดเจลของโปรตีน กรดอะมิโนที่สามารถเกิดพันธะนี้คือกรดอะมิโนที่มีหมู่ซัลฟ์ไฮดริล เช่น ซิสเตอีน ดังนั้นอาจสรุปความสัมพันธ์ระหว่างอันตรกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเจล ภาวะการให้ความร้อนทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน

และเกิดการคลายตัวของโครงสร้างโปรตีนตามธรรมชาติ จนในที่สุดเกิดการจัดเรียงตัวใหม่กลายเป็นเจล โดยสามารถแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ขั้นแรกคือการเกิด spherical aggregate โดยเกิดอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก ทำให้โปรตีนมีลักษณะขุ่น ต่อมาเจลมีความแข็งแรงมากขึ้น (stiffening) โดยพันธะไดซัลไฟด์ ขั้นตอนสุดท้ายคือการที่เจลมีความยืดหยุ่นสูงขึ้นโดยการเกิดพันธะไฮโดรเจนเมื่อทำให้เย็นตัวลง (Mine, 1995)

2.2.6 อายุการเก็บของลูกชิ้นปลา และผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้อง

ลูกชิ้นปลามีอายุการเก็บที่สั้นเนื่องจากเกิดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ได้ง่าย โดยอาจปนเปื้อนจากวัตถุดิบคือ เนื้อปลา แป้ง และเครื่องปรุงอื่นๆ หรือปนเปื้อนมาระหว่างกระบวนการผลิต รวมทั้งยังเกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านกลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์ จากรายงานการวิจัยของสุภาพร โชคคณาโรจน์วงศ์ (2537) พบว่าผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาอิมัลชันจากปลาสวายและปลานิลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C ภายใต้ภาวะสุญญากาศในถุง high density polyethylene มีอายุการเก็บรักษานาน 18 วัน ปวีณา น้อยทัพ และนงนุช รักสกุลไทย (2539) ทดลองการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลาผสมปลาหมึกในภาวะต่างๆ พบว่าการเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4-6 °C โดยบรรจุในภาวะบรรยากาศปกติและในภาวะสุญญากาศ มีอายุการเก็บได้ 7 วัน ส่วนผลิตภัณฑ์ที่เก็บในภาวะปรับบรรยากาศ (60% CO_2/40% N_2) มีอายุการเก็บ 11 วัน ปราณิศา เชื้อโพธิ์หัก, นงนุช รักสกุลไทย และวันชัย วรวัฒนเมธีกุล (2543) ศึกษาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาพบว่าการเก็บที่ 4-6 °C ภายใต้ภาวะปรับบรรยากาศโดยใช้ก๊าซไนโตรเจน 100% เป็นเวลา 12 วัน พบว่าปริมาณจุลินทรีย์รวมอยู่ในระดับที่ปลอดภัยกว่าการเก็บรักษาในภาวะบรรยากาศปกติหรือสุญญากาศ พรรณวดี อภิศุภะโชค และคณะ (2545) ศึกษาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลาดุกอุยเทศที่อุณหภูมิ 4 °C ในถุง polyethylene พบว่าสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ได้นาน 11 วัน

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมลูกชิ้นเนื้อวัว ลูกชิ้นหมู และลูกชิ้นไก่ (มอก.1009-2533) (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2533) กำหนดมาตรฐานคุณภาพด้านจุลชีววิทยาไว้ดังนี้ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบไม่เกิน $1X10^6$ โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม *Escherichia coli* เมื่อทดสอบด้วยวิธี MPN ต้องมีน้อยกว่า 3 ในตัวอย่าง 1 กรัม และต้องไม่พบ *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Clostridium perfringens* ในตัวอย่าง 25, 0.1 และ 0.01 กรัมตามลำดับ ทั้งนี้ในปัจจุบันประเทศไทยยังไม่มีมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมลูกชิ้นปลา

2.3 การเกิดเจลของโปรตีน

การเกิดเจลเป็นสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญอย่างหนึ่งของโปรตีนในการก่อให้เกิดลักษณะเฉพาะตัวของผลิตภัณฑ์อาหารนั้นๆ สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน หมายถึง สมบัติทางกายภาพและเคมีที่มีผลต่อพฤติกรรมของโปรตีนในอาหาร สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเป็นตัวบ่งชี้ถึงพฤติกรรมของโปรตีนในอาหาร ในระหว่างกระบวนการผลิต การเก็บรักษา รวมถึงขั้นตอนต่างๆ ในการแปรรูปอาหาร ได้แก่ สมบัติทางประสาทสัมผัส เช่น สี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส สมบัติที่เกี่ยวกับการกระจายตัว การละลาย และการพองตัว เช่น การจับน้ำ สมบัติด้าน surface activity เช่น การเกิดอิมัลชัน การเกิดโฟม สมบัติด้านการไหล เช่น การเกิดเจล และสมบัติอื่นๆ เช่น การเกิดใต

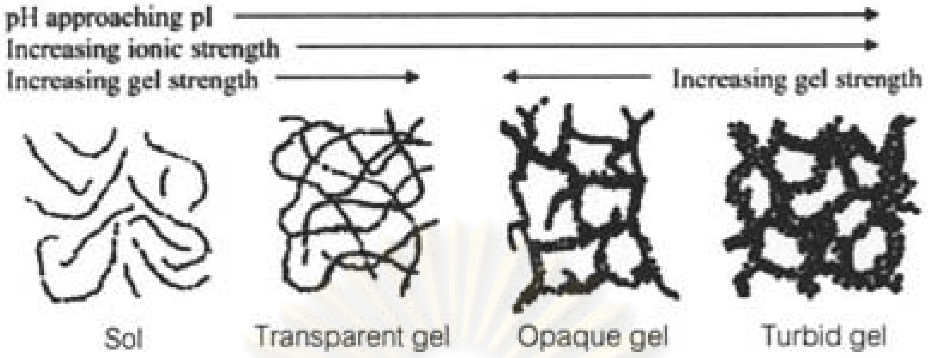
สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในอาหารแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างของสัดส่วนของกรดอะมิโน ขนาดโมเลกุลของโปรตีน โครงสร้างโปรตีน และจุดไอโซอิเล็กทริก นอกจากนี้ ภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกันก็ส่งผลให้สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนแตกต่างไปด้วย เช่น การละลาย ความหนืด การเกิดเจล การเกิดโฟม การเกิดอิมัลชัน เป็นต้น (Barbut, 1996)

2.3.1 โครงสร้างของเจลโปรตีน

โปรตีนต่างชนิดกันมีความสามารถในการเกิดเจลที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ลักษณะของโครงสร้างเจลที่เกิดขึ้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ อุณหภูมิในการเตรียมเจล pH ปริมาณของเกลือและอิออนอิสระ ลักษณะเจลที่เกิดขึ้นสามารถแบ่งได้ 2 ประเภทคือ fine-stranded gel และ coarse-aggregated gel (Hermansson, 1994) โดยเจลแบบ fine-stranded gel จะมีลักษณะใส และประกอบด้วยสายโปรตีนที่มีขนาดใกล้เคียงกับโมเลกุลโปรตีนเดี่ยวๆ ส่วน coarse-aggregated gel ประกอบด้วยอนุภาคขนาดใหญ่กว่าโมเลกุลโปรตีนเดี่ยวๆ ถึง 100-1000 เท่า เจลมีลักษณะทึบแสง ตัวอย่างของเจล coarse-aggregated gel ได้แก่ เจลนมและเจลที่เกิดในผลิตภัณฑ์ที่ใช้ไข่ (Zayas, 1997) นอกจากนี้ยังสามารถพบเจลที่มีโครงสร้างระหว่างโครงสร้างของ fine-stranded gel และ coarse-aggregated gel ได้เช่นกัน ชนิดของเจลขึ้นอยู่กับภาวะระหว่างการเกิดเจล โดยปกติแล้วโครงสร้างของเจลหยาบขึ้นเมื่อค่าความแรงของอิออนเพิ่มขึ้น และ pH เข้าใกล้จุดไอโซอิเล็กทริก (Doi, 1993) (รูปที่ 2.4)

โครงสร้างของเจลส่งผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำ การยอมให้สารแพร่ผ่าน และสมบัติด้านการไหล เช่น stiffness, fracture strain และ fracture stress ทั้งนี้ความสามารถในการยอมให้สารแพร่ผ่านของเจลและความสามารถในการอุ้มน้ำจะมีค่าลดลงเมื่อเจลมีโครงสร้างแบบหยาบ อย่างไรก็ตามพบว่าไม่มีความสัมพันธ์โดยตรงระหว่างความหยาบของเจลกับสมบัติด้านการไหล (Stading and Hermansson, 1991)

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.4 ผลของ pH และค่าความแรงของอิออนต่อโครงสร้างและความแข็งแรงของเจล (Doi, 1993)

2.3.2 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนที่เกิดการรวมตัวกัน

ในการรวมตัวกันของอนุภาคโปรตีน ไม่ว่าจะระหว่างหรือหลังจากเกิดการรวมตัวกัน อาจเกิดการเรียงตัวใหม่ของโปรตีนขึ้น ซึ่งอนุภาคโปรตีนอาจมีการเปลี่ยนตำแหน่งกัน เช่น อาจมีการเคลื่อนที่จนกระทั่งอนุภาคโปรตีนส่วนใหญ่เกิดพันธะกับอนุภาคข้างเคียง 2 อนุภาคหรือมากกว่า กระบวนการนี้อาจทำให้กลุ่มก้อนของโปรตีนมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นและมีขนาดใหญ่ขึ้นได้ ซึ่งอาจเกิดการรวมตัวกันมากขึ้นจนเกิดโครงสร้างเจลได้ แต่หากเกิดการเรียงตัวใหม่ขึ้นมากอาจส่งผลทำให้เกิดการตกตะกอนโปรตีนแทนการเกิดเจลได้ (Bremer, Walstra and van Vliet, 1995) หรืออาจทำให้เกิดโครงสร้างที่มีลักษณะหยาบขึ้นได้ (van Vliet et al., 1997)

หลังจากที่เกิดเป็นเจลแล้ว การเรียงตัวใหม่ของโครงร่างตาข่ายอาจเกิดขึ้นได้ขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิ pH ความร้อน การมีเกลือหรืออิออนบางชนิด อนุภาคโปรตีนอาจมารวมตัวกันจนเกิดเป็นสายที่มีความหนาแน่นมากขึ้น เนื่องจากมีอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีนเพิ่มขึ้นทำให้เกิดการเรียงตัวใหม่ขึ้นในระดับสายโซ่ของโปรตีน โดยเกิดการแตกหรืองอกของสายโซ่ ทำให้เกิดเป็นบริเวณที่มีความหนาแน่นสูงและความหนาแน่นต่ำ การแตกออกนี้อาจเกิดได้ในสายโซ่ที่บางหรือเมื่ออายุโดยเฉลี่ยของอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีนสั้น (van Vliet et al., 1991; van Vliet et al., 1997; van Vliet et al., 2000) การเรียงตัวใหม่เหล่านี้มีผลทำให้เกิดเป็นเจลที่มีลักษณะหยาบ มีรูพรุนขนาดใหญ่ และมีความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง ในขณะที่ ความสามารถในการแพร่ของสารอื่นแพร่ผ่านเจลสูงขึ้นและเจลเกิดการขับน้ำ (syneresis) ได้ง่ายขึ้น (van Vliet et al., 1997)

2.3.3 การอุ้มน้ำของโปรตีน

โปรตีนมีสมบัติพิเศษคือสามารถจับกับน้ำได้ เนื่องจากโมเลกุลของโปรตีนมีอะตอมไนโตรเจน และออกซิเจนที่มีอิเล็กตรอนคู่อิสระเหลืออยู่ทั้งที่ตำแหน่งของหมู่อะมิโนและหมู่ –NH- ในพันธะเปปไทด์ จึงสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับอะตอมไฮโดรเจนของโมเลกุลน้ำได้ ทำให้โปรตีนสามารถอุ้มน้ำได้ดี (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549)

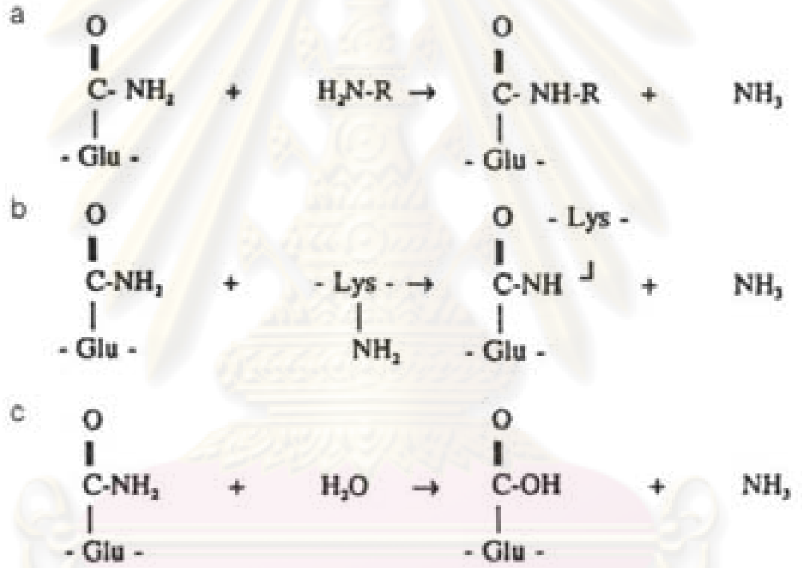
ความสามารถในการอุ้มน้ำหรือความสามารถในการจับน้ำ [water holding capacity (WHC) หรือ water binding capacity (WBC)] ของโปรตีน หมายถึง ปริมาณน้ำที่โปรตีนสามารถจับไว้ได้โดยหมู่ต่างๆ บนโมเลกุลของโปรตีน ซึ่งขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่มีขั้วและหมู่ไม่มีขั้วของโปรตีน ดังนั้นความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนจึงขึ้นอยู่กับชนิดและจำนวนของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของโปรตีน

นอกจากค่า WHC ที่เป็นค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถของโปรตีนในการจับน้ำแล้ว ยังมีอีกค่าหนึ่งที่สามารถแสดงความสามารถของโปรตีนในการจับน้ำได้เช่นกัน คือ expressible water หมายถึงปริมาณน้ำที่สามารถซับออกมาจากเจลหรือปริมาณน้ำที่ไม่ได้ถูกจับไว้โดยโปรตีน มักใช้ในการตรวจสอบสมบัติของเจลโปรตีน ถ้ามีค่ามากแสดงว่าโปรตีนของเจลนั้นจับน้ำได้ไม่ดีพอ (Uresti et al., 2004)

Jarmoluk และ Pietrasik (2002) ทดสอบสมบัติเชิงหน้าที่ในด้านความสามารถในการอุ้มน้ำ ลักษณะเนื้อสัมผัส และค่าสีของเจลจากเนื้อหมูบดโดยใช้ blood plasma (BP), microbial transglutaminase (MTGase) และ κ-carrageenan (CGN) ที่ความเข้มข้น BP เท่ากับ 0, 1 และ 2% w/w MTGase เท่ากับ 0, 0.3 และ 0.6% w/w และ CGN เท่ากับ 0, 0.4 และ 0.8% w/w จากการศึกษาสมบัติทางด้านเนื้อสัมผัสของเจลเนื้อหมูโดยวิธี Texture Profile Analysis (TPA) พบว่าการใช้ BP และ CGN มีประสิทธิภาพในการลดการสูญเสียระหว่างการปรุง (cooking loss) ของเจลลง และประสิทธิภาพในการลดการสูญเสียระหว่างการปรุงจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อใช้ BP และ CGN ร่วมกัน แต่การใช้ BP และ CGN ไม่สามารถช่วยปรับปรุงสมบัติของเจลด้าน cohesiveness และ springiness อีกทั้งยังทำให้เจลที่ได้มีลักษณะเปราะอีกด้วย สำหรับการใช้ MTGase นั้นพบว่าเมื่อใช้ MTGase ในภาวะที่มี BP อยู่ด้วย MTGase จะมีส่วนช่วยในการปรับปรุงสมบัติด้าน cohesiveness, springiness และ chewiness เจลจากเนื้อหมูบดได้ สำหรับค่าสีของเจลพบว่าการใช้ MTGase จะส่งผลเพียงเล็กน้อย โดยลดค่าความขาวและเพิ่มสีแดงของเจลขึ้น การใช้ BP จะมีส่วนช่วยในการเพิ่มค่าความขาวให้กับเจลและลดสีแดงของเจลลงได้ ในขณะที่การใช้ CGN จะมีผลให้ค่าความขาวและสีแดงของเจลลดลง

2.4 เอนไซม์แทรนส์กลูทามิเนส (transglutaminase, TGase)

แทรนส์กลูทามิเนส (EC 2.3.2.13, protein-glutamine γ-glutamyltransferase) จัดอยู่ในกลุ่มของเอนไซม์ transferase ทำหน้าที่เร่งการย้ายหมู่ acyl ของ γ-carboxyamide group ของหน่วยย่อยกลูตามีนไปยัง primary amine ได้โปรตีนที่มีสายยาวขึ้น (polymerization) ดังรูปที่ 2.5 (a) หาก primary amine เป็น ε-amino group ของหน่วยย่อยไลซีน จะเกิดการเชื่อมข้ามระหว่างหน่วยย่อยกลูตามีนและไลซีนด้วยพันธะโควาเลนต์ที่เรียกว่า ε-(γ-glutamyl) lysine isopeptide bond (Ha and Luchi, 2003) ดังแสดงในรูป 2.5 (b) สำหรับในภาวะที่ไม่มีสารประกอบเอมีน TGase จะเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของหมู่ γ-carboxyamine group ของกลูตามีนได้เป็นอนุมูลของกรด กลูตามิคและแอมโมเนีย เรียกปฏิกิริยานี้ว่า deamination ดังแสดงในรูปที่ 2.5 (c) (Seguro, Nio and Motogi, 1996)



รูปที่ 2.5 ปฏิกิริยาที่เร่งโดยเอนไซม์ transglutaminase (a) acyl-transferase reaction (b) crosslinking reaction และ (c) deamination (Seguro et al.,1996)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในอุตสาหกรรมอาหารมีการนำเอนไซม์ TGase มาใช้งานอย่างกว้างขวาง เนื่องจาก TGase ช่วยเร่งการเกิดปฏิกิริยาการเชื่อมข้ามระหว่างกลูตามีนและไลซีนในโมเลกุลโปรตีนในอาหารหลายชนิด ทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่ดีขึ้น มีการใช้ TGase เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน เช่น การเกิดเจล การเกิดอิมัลชัน ความหนืด ความเสถียรต่อความร้อน และความสามารถในการอุ้มน้ำ เป็นต้น ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารโปรตีนทั้งในด้านเนื้อสัมผัส กลิ่น รส และลักษณะปรากฏ นอกจากนี้ยังช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหารให้ยาวนานขึ้น (Zhu et al., 1995)

TGase พบได้ทั่วไปในเนื้อเยื่อและของเหลวในร่างกายของสัตว์ชั้นสูง เช่น ตับหมู เลือดหมูหรือวัว และเนื้อปลา ซึ่งทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับระบบต่างๆ ในร่างกาย เช่น การควบคุมการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนเซลล์ ได้มีความพยายามหาแหล่งของเอนไซม์เพื่อผลิตให้ได้ในปริมาณมาก การผลิต TGase จากจุลินทรีย์เป็นแนวทางที่มีศักยภาพสูง เนื่องจากใช้เทคโนโลยีที่ไม่ยุ่งยากและสามารถผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณมาก โดยเรียก TGase ที่ได้จากการผลิตของจุลินทรีย์ว่า microbial transglutaminase (MTGase) (Seguro et al., 1996)

MTGase ในทางการค้าส่วนใหญ่ผลิตโดย *Streptovercillium mobaraense* ซึ่งจุลินทรีย์ชนิดนี้จะผลิตเอนไซม์ออกสู่ภายนอกเซลล์และมีปริมาณสูงเมื่อเทียบกับการสกัด TGase จากแหล่งอื่น MTGase นี้ประกอบด้วยกรดอะมิโน 331 หน่วย มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40 kDa และเป็นเอนไซม์ที่มีเพียงหนึ่งหน่วยย่อย (subunit) มีจุดไอโซอิเล็กทริกประมาณ 8.9 สำหรับการทำงานในการเร่งปฏิกิริยาของ MTGase นั้น สามารถทำงานได้ดีในช่วง pH 5-8 และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยามากที่สุดคือ 50 $^{\circ}C$ แต่จะสูญเสียการทำงานอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 70 $^{\circ}C$ ภายในเวลา 2-3 นาที (Seguro et al., 1996) MTGase มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาการเกิด ε-(γ-glutamyl) lysine isopeptide bond ของโปรตีนหลายชนิด ได้แก่ โปรตีนถั่วเหลือง โปรตีนธัญพืช โปรตีนนม โปรตีนไข่ โปรตีนเนื้อสัตว์ และโปรตีนปลา เป็นต้น ลักษณะเด่นของ MTGase ซึ่งแตกต่างจาก TGase จากแหล่งอื่นๆ คือ MTGase ไม่ต้องการ Ca^{2+} ในการเร่งปฏิกิริยา ในขณะที่ TGase ทั่วไปจำเป็นต้องมี Ca^{2+} เป็นโคแฟกเตอร์ (Motoki and Seguro, 1998)

มีการศึกษาการใช้โปรตีนถั่วเหลืองร่วมกับ MTGase ในอาหารหลายชนิดซึ่งส่วนใหญ่มุ่งเน้นให้เกิดลักษณะทางเนื้อสัมผัสของโปรตีนในผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อสัตว์ ได้แก่

Tsao และคณะ (2002) ศึกษาการใช้ soy protein isolate (SPI) และ MTGase ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูบดขึ้นรูปเพื่อลดปริมาณการใช้ $NaHSO_3$ ในการผลิต พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมในการใช้ SPI และ $NaHSO_3$ ในผลิตภัณฑ์คือ 5.0% และ 0.2% ตามลำดับ ซึ่งให้ค่า tensile strength (TS) 54.94 g.cm และ cooking yield 91.1% และเมื่อเติม MTGase ที่ระดับต่างๆ ตั้งแต่ 0-24 unit/g soy protein ลงในผลิตภัณฑ์ โดย 1 unit ของ MTGase คือปริมาณของ MTGase ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการสร้าง hydroxamic acid 17 μmol ในเวลา 1 นาทีที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}C$ พบว่าค่า TS เพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของ MTGase ที่ใช้เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าค่า TS และ cooking yield ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูบดขึ้นรูปเพิ่มขึ้นเมื่อให้อุณหภูมิในการ setting ที่ 40 $^{\circ}C$ เป็นเวลา 60 นาที แต่ค่า TS และ cooking yield จะลดลงเมื่อให้อุณหภูมิในการ setting ที่ 50 $^{\circ}C$ เป็นเวลา 60 นาที อาจเป็นเพราะเมื่อเนื้อหมูได้รับความร้อนจะปลดปล่อย alkaline protease และ cathepsins ออกมาซึ่งเป็นการขัดขวางการเชื่อมข้ามจากการทำงานของ MTGase

Ramírez-Suárez และ Xiong (2003) ศึกษาผลของการใช้ MTGase ในการเกิดเจลของโปรตีนผสมระหว่างโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์และโปรตีนถั่วเหลือง (MPI/SP mixture) โดยใช้ MTGase ช่วยให้เกิดการเชื่อมข้ามภายใน MPI/SP mixture โดยแปรอัตราส่วนของ MPI และ SP เป็น 1:1 , 3:1 และ 1:3 แปรความเข้มข้น NaCl เป็น 0, 0.15, 0.30, 0.45 และ 0.60 M ในขณะที่ควบคุม pH เท่ากับ 6.5 และความเข้มข้นของ MTGase เท่ากับ 0.5% w/v ในการศึกษาผลของการทำ pre-incubation ของ MPI, SP และ MPI/SP mixture เป็นเวลา 0, 0.5 และ 4.0 ชั่วโมง ร่วมกับการใช้ MTGase 0.5% w/v พบว่าการทำ pre-incubation ไม่มีความจำเป็นต่อสมบัติด้านวิสโค-อิลาสติก และ cohesiveness ของเจล MPI, SPI และ MPI/SP mixture เมื่อพิจารณาอัตราการเพิ่มขึ้นของค่า elasticity/rigidity ของเจลพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเกิดเจลของ MPI และ MPI/SP mixture โดยการเร่งด้วย MTGase อยู่ในช่วง 60–65 °C ซึ่งอุณหภูมินี้สูงกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของ MTGase เล็กน้อย (Ajinomoto, 1998) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ MTGase กับ MPI/SP mixture ในทุกอัตราส่วนทำให้ได้เจลที่มีค่า springiness มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเจลที่ไม่เติม MTGase และไม่มีการทำ pre-incubation ซึ่งเห็นได้จากค่า springiness ที่เพิ่มขึ้นจาก 1.5 เป็น 2.5 kPa ของ MPI/SP mixture ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก MTGase ทำให้เกิดการเชื่อมข้ามระหว่างโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์และโปรตีนถั่วเหลือง

นอกจากการประยุกต์ใช้โปรตีนถั่วเหลืองในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดแล้ว ยังมีรายงานการศึกษาการประยุกต์ใช้โปรตีนชนิดอื่นๆ ร่วมกับ MTGase ด้วยเช่นกัน ได้แก่

Uresti และคณะ (2004) ศึกษาการใช้โปรตีนจากนม 2 ชนิดคือ sodium caseinate และเวย์โปรตีนเข้มข้น (whey protein concentrate, WPC) 1% ในผลิตภัณฑ์เนื้อปลาขึ้นรูปจากปลา silver carp โดยแปรปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับคือ 0,1 และ 2% แล้ววัดค่า breaking force (BF) พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ 2% เพียงอย่างเดียวโดยไม่เติมเวย์โปรตีนเข้มข้นให้ค่า BF สูงสุด และผลิตภัณฑ์ที่เติม sodium caseinate ให้ค่า BF สูงกว่าผลิตภัณฑ์ที่เติมเวย์โปรตีนเข้มข้นที่ทุกความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ เมื่อทำ Texture Profile Analysis (TPA) ได้แก่ hardness, springiness และ cohesiveness พบว่าค่า hardness ของเจลที่เติมเวย์โปรตีนเข้มข้นเพิ่มขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นของคลอไรด์ที่ใช้ และผลิตภัณฑ์ที่เติม sodium caseinate ให้ค่า hardness สูงสุดในทุกปริมาณความเข้มข้นของคลอไรด์ที่ใช้ ในขณะที่ค่า springiness จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เฉพาะในผลิตภัณฑ์ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ 2% เท่านั้น สำหรับค่า cohesiveness มีค่าระหว่าง 0.109-0.157 ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แต่เมื่อมีการเติมเวย์โปรตีนเข้มข้นร่วมกับ MTGase 0.3% ลงในผลิตภัณฑ์ พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ให้ค่า hardness สูงขึ้นกว่าเดิมถึง 50% ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่เติมโซเดียมคลอไรด์จะให้ค่า hardness สูงขึ้นตามปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่ใช้ด้วย สำหรับค่า springiness และ

cohesiveness พบว่าให้ค่าสูงขึ้นเมื่อใช้โซเดียมคลอไรด์ 2% ร่วมกับ MTGase เท่านั้น อีกทั้งค่าความสามารถในการอุ้มน้ำเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ใช้ และจะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้เวย์โปรตีนเข้มข้นร่วมกับ MTGase ที่ไม่ใช้โซเดียมคลอไรด์และใช้ที่ความเข้มข้น 1%

Ramírez และคณะ (2007) ศึกษาการผลิตเนื้อปลาขึ้นรูปจากเศษปลา *Mugil cephalus* โดยใช้ MTGase หรือเวย์โปรตีนเข้มข้น (whey protein concentration, WPC) และแปรปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่ใช้ 2 ระดับคือ 10 และ 20 g/kg พบว่าที่ระดับการใช้โซเดียมคลอไรด์ 10 g/kg การเติม MTGase จะช่วยให้ผลิตภัณฑ์เนื้อปลาขึ้นรูปมีค่า springiness, cohesiveness และ chewiness สูงขึ้น ในขณะที่การเติม WPC ลงในผลิตภัณฑ์ไม่ช่วยเพิ่มค่า springiness, cohesiveness และ chewiness อีกทั้งยังส่งผลให้ springiness ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่การใช้โซเดียมคลอไรด์ 20 g/kg จะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เติม MTGase หรือ WPC มีค่า springiness และ chewiness ที่สูงกว่าสูตรควบคุม สำหรับค่า hardness ของเจลที่ใช้โซเดียมคลอไรด์ 20 g/kg ร่วมกับการใช้ MTGase หรือ WPC จะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้มีค่า hardness สูงกว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์ 10 g/kg ซึ่งให้ผลในทำนองเดียวกับค่า force, distance และ gel strength ของเจลด้วย นอกจากนี้ค่าสีที่วัดด้วยระบบ CIE LAB พบว่าการเติม WPC ทำให้ค่า a* เพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่า hue angle ลดลง หากมีการเติม MTGase หรือ WPC จะทำให้ค่า b* และ chroma เพิ่มขึ้นแต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า L* อย่างไรก็ตามการใช้ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าสีในผลิตภัณฑ์ จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าสมบัติเชิงกลของผลิตภัณฑ์ที่ใช้ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 20 g/kg มีค่าสูงกว่าที่ระดับ 10 g/kg และการเติม MTGase จะช่วยปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของเนื้อปลาขึ้นรูปได้ดีในการใช้โซเดียมคลอไรด์ทั้ง 2 ระดับ ในขณะที่การเติม WPC จะช่วยปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของเนื้อปลาขึ้นรูปได้ดีเมื่อใช้โซเดียมคลอไรด์ที่ 20 g/kg เท่านั้น

Wang และคณะ (2007) ศึกษาการเกิดเจลของกลูเต็นข้าวสาลีด้วยการให้ความร้อนที่ 100 °C แปรเวลาการให้ความร้อนเป็น 0, 30, 60 และ 120 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิลงเป็น 40 °C จึงเติม MTGase 10 unit/g protein โดย MTGase ที่ใช้มีแอกติวิตีของ TGase 100 unit/g พบว่าการเพิ่มเวลาในการให้ความร้อนสามารถเพิ่มจำนวนอนุมูลของกลูตามีนและไลซีนให้ปรากฏบนผิวหน้าของโมเลกุลกลูเต็นได้ ซึ่งเป็นการส่งเสริมให้ MTGase สามารถเชื่อมข้ามโมเลกุลโปรตีนด้วย ε-(γ-glutamyl) lysine isopeptide bond ได้มากขึ้น โดยพบว่าการไม่ให้ความร้อนแก่กลูเต็นข้าวสาลีจะมีการสร้าง ε-(γ-glutamyl) lysine isopeptide bond 1.35 μmol/g protein แต่เมื่อเพิ่มเวลาการให้ความร้อนเป็น 120 นาที จะมีการสร้าง ε-(γ-glutamyl) lysine isopeptide bond เป็น 5.92 μmol/g protein แสดงให้เห็นว่าการให้ความร้อนแก่กลูเต็นเป็นการช่วยส่งเสริมการเร่งปฏิกิริยาเชื่อมข้ามของ MTGase เนื่องจากความร้อนจะทำให้โมเลกุลโปรตีนของกลูเต็นเกิดการ

เปลี่ยนแปลง ซึ่งการเปลี่ยนโครงสร้างดังกล่าวอาจเป็นการส่งเสริมการสร้างโครงร่างตาข่ายของเจล อย่างไรก็ตามการศึกษาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่กลูเต็นจะเกิดเจลได้ด้วยการให้ความร้อนร่วมกับการใช้ MTGase จะแปรความเข้มข้นของสารละลายกลูเต็นตั้งแต่ 5-24% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 ^{o}C เป็นเวลา 120 นาที พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถเกิดเจลได้คือ 16% ซึ่งสูงกว่าการเกิดเจลของโปรตีนถั่วเหลือง นอกจากนี้ลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลที่ไม่ให้ความร้อนแต่มีการเติม MTGase จะมีความสามารถในการอุ้มน้ำเพิ่มขึ้นและเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าเมื่อมีการให้ความร้อนที่ 100 ^{o}C นาน 120 นาที เช่นเดียวกับค่า hardness ของเจลที่พบว่าเจลที่เตรียมโดยใช้ MTGase มีค่า hardness ของเจลเพิ่มขึ้นและเพิ่มขึ้นเป็น 1.69 เท่าเมื่อมีการให้ความร้อนที่ 100 ^{o}C นาน 120 นาที แสดงให้เห็นว่าการให้ความร้อนแก่กลูเต็นก่อนเติม MTGase จะสามารถช่วยปรับปรุงสมบัติเชิงกลของเจลได้เป็นอย่างดี ซึ่งอาจเป็นเพราะเกิดการเชื่อมข้ามของพันธะโควาเลนต์ระหว่างโมเลกุลโปรตีนจากการทำงานของ MTGase หลังจากการให้ความร้อนแก่กลูเต็นซึ่งนำไปสู่การสร้างโครงร่างตาข่ายในการเกิดเจล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

- soy protein isolate (SPI)

โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (SPI) จากบริษัท ไมท์ตี้ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด (กรุงเทพฯ) โดยมีองค์ประกอบตามเอกสารแสดงลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ (product specification) ดังนี้ โปรตีน 90% ไขมัน 4% และความชื้น 6%

- เนื้อปลายี่สก

เนื้อปลายี่สกสดบด ซื้อจากตลาดหัวรถไฟบางกอกน้อย (กรุงเทพฯ) นำมายังห้องทดลองโดยบรรจุในน้ำแข็ง ซึ่งบรรจุในกล่องโฟมเพื่อควบคุมอุณหภูมิไม่ให้เกิน 4 °C เมื่อนำมาถึงห้องปฏิบัติการนำเนื้อปลาบดมาแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -40 °C ด้วยเครื่องแช่เยือกแข็งโดยใช้ไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196 °C และเก็บในภาวะแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ 20$\pm$2 °C จนกว่าจะนำมาทดลองและกำหนดระยะการเก็บรักษาไม่เกิน 4 สัปดาห์เพื่อจำกัดผลของการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนในระหว่างการแช่เยือกแข็ง

- Microbial transglutaminase (MTGase)

ACTIVA™ TG-AK ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท อายิโนะโมะโต๊ะ จำกัด (กรุงเทพฯ) เป็นผลิตภัณฑ์นำเข้าจากประเทศญี่ปุ่น ซึ่งมีองค์ประกอบตามเอกสารประกอบลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ (product specification) ดังนี้ MTGase (transglutaminase activity 50-84 units/g), Trisodium phosphate และอื่นๆ ปริมาณการใช้ที่แนะนำคือ 0.4-0.6% ของผลิตภัณฑ์ซูริมิ ขนาดบรรจุ 1 kg (รายละเอียดภาคผนวก ก.1)

- สารปรุงแต่งอาหารสำหรับผลิตลูกชิ้นปลา ได้แก่

แป้งสาลี ตราว่าว	บริษัท ยูไนเต็ดฟลาวมิลล์ จำกัด (มหาชน)(กรุงเทพฯ)
พริกไทยป่น ตราไร่ทิพย์	บริษัท ไทยซีเรียลส์เวิลด์ จำกัด (กรุงเทพฯ)
โมโนโซเดียมกลูตาเมต	บริษัท อายิโนะโมะโต๊ะ จำกัด (กรุงเทพฯ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1.2 สารเคมี

สารเคมีสำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- Boric acid	Merck	AR. Grade
- Copper sulfate anhydrous ($CuSO_4$)	Ajax Fine Chemical	AR. Grade
- Hydrochloric acid (HCl) 37%	Carlo Erba	AR. Grade
- Methanol (CH_3OH)	Carlo Erba	AR. Grade
- Methyl red	Merck	AR. Grade
- Petroleum ether (bp. 40-60 ^{o}C)	Carlo Erba	AR. Grade
- Sodium hydroxide anhydrous (NaOH)	Carlo Erba	AR. Grade
- Potassium sulfate (K_2SO_4)	Carlo Erba	AR. Grade
- Sulfuric acid (H_2SO_4) 96%	Carlo Erba	AR. Grade

สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดย Modified Lowry's Method

- Bovine serum albumin (BSA)	Sigma	
- Copper sulfate anhydrous ($CuSO_4$)	Ajax Fine Chemical	AR. Grade
- Folin-Ciocalteu phenol	Carlo Erba	AR. Grade
- Potassium sodium tartrate	Merck	AR. Grade
- Sodium carbonate	Ajax Fine Chemical	AR. Grade
- Sodium dodecyl sulfate (SDS) ($C_{12}H_{25}OSO_3Na$)	Ajax Fine Chemical	AR. Grade
- Sodium deoxycholate (DOC)	Hi Media Laboratories	AR. Grade
- Sodium hydroxide anhydrous (NaOH)	Carlo Erba	AR. Grade
- Tricholoroacetic acid (TCA)	Carlo Erba	AR. Grade

สารเคมีสำหรับการทำวิเคราะห์โดย SDS-PAGE

- Acrylamide gel, 40% solution	Pulsone® Pharmacia Biotech	AR. Grade
- Ammonium persulfate ($(NH_4)_2S_2O_8$)	Amersham International	AR. Grade
- Bromophenol blue	Merck	AR. Grade
- Coomassie blue R-250	Fluka	AR. Grade
- Glacial acetic acid (CH_3COOH)	Carlo Erba	AR. Grade

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- Glycerol	Carlo Erba	AR. Grade
- Glycine ($H_2NCH_2CO_2H$), pure	Fisher Scientific	AR. Grade
- Hydrochloric acid (HCl) 37%	Fisher Scientific	AR. Grade
- 2-mercaptoethanol ($HSCH_2CH_2OH$)	Pulsone® Pharmacia Biotech	AR. Grade
- Methanol (CH_3OH)	Carlo Erba	AR. Grade
- N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine (TEMED)	Pulsone® Pharmacia Biotech	AR. Grade
- Sigma molecular weight marker (wide molecular range, M 4038)	Sigma	
- Sodium dodecyl sulfate (SDS) ($C_{12}H_{25}OSO_3Na$)	Ajax Fine Chemical	AR. Grade
- Tris (hydroxymethyl) amino methane ($NH_2C(CH_2OH)_3$)	Carlo Erba	AR. Grade

3.2 อุปกรณ์

- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (JSM-5410LV Scanning Microscope, JEOL, Tokyo, Japan)
- เครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) (DSC7, PerkinElmer, Waltham, MA)
- เครื่อง homogenizer (X10/20, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany)
- เครื่อง Instron Universal Materials Testing Machine (Model 5565, Instron, Norwood, MA)
- เครื่อง microcentrifuge (Mikco 22R, Hettich, Ramsey, MN)
- เครื่อง spectrophotometer (Lambda 25, PerkinElmer, Waltham, MA)
- เครื่อง spectrophotometer with water bath circulation (Genesis 10 UV, Thermospectronic, Rochester, NY)
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Precisa Balance series XT, Precisa, Dietikon, Switzerland)
- เครื่องผสมอาหาร (KM800, Kenwood, Havant, United Kingdom)
- เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator) (N-1N, Eyela, Tokyo, Japan)

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- เครื่องวัดสีระบบ CIE LAB (A60-1010-615, ColorFlex, Reston, VA)
- เครื่องวิเคราะห์ไขมัน (Model EV6A II/16, Gerhardt, Konigswinter, Germany)
- เครื่องเหวี่ยงแยก (OM8464 Multi(RF) Series, Thermo IEC, Waltham, MA)
- ชุดกำจัดไอกรดในการวิเคราะห์โปรตีน (B-414 Buchi Scrubber, Buchi, Flawil, Switzerland)
- ชุดเครื่องกลั่นในการวิเคราะห์โปรตีน (K-242 Kjeldahl line, Buchi, Flawil, Switzerland)
- ตู้แช่เยือกแข็งอุณหภูมิ -18 °C (WCF-95L, Whirlpool, Bangkok, Thailand)
- ตู้เย็น อุณหภูมิ 4±1 °C (SR-F152B, Sanyo, Bangkok, Thailand)
- ตู้อบลมร้อน (Model 600, Memmert, Schwabach, Germany)
- หม้อต้มไฟฟ้า (IP 137, Imarflex, Bangkok, Thailand)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (D-91126, Memmert, Schwabach, Germany)

3.3 ขั้นตอนดำเนินงานวิจัย

3.3.1 สมบัติของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate, SPI) และเนื้อปลายี่สกสดบด

3.3.1.1 สมบัติของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (SPI)

ข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีของ SPI ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน และไขมัน ได้จากเอกสารแสดงลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ของบริษัท ไมท์ตี้ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด (กรุงเทพฯ) การวิเคราะห์อุณหภูมิการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนใน SPI โดยวิธี differential scanning calorimetry (DSC) ซึ่งวิธีการทดลองดัดแปลงจาก Renkema และคณะ (2000) (ภาคผนวก ก.2)

3.3.1.2 สมบัติของเนื้อปลายี่สกสดบด

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลายี่สกสดบด โดยสุ่มตัวอย่างเนื้อปลาบด และนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน และไขมัน ตามวิธีของ A. O. A. C. (1995) (ภาคผนวก ก.3-ก.5)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3.2 การศึกษาผลของกระบวนการให้ความร้อนต่อการเกิดเจลของ SPI ที่เตรียมโดยใช้แทรนส์กลูทามิเนสจากจุลินทรีย์ (MTGase)

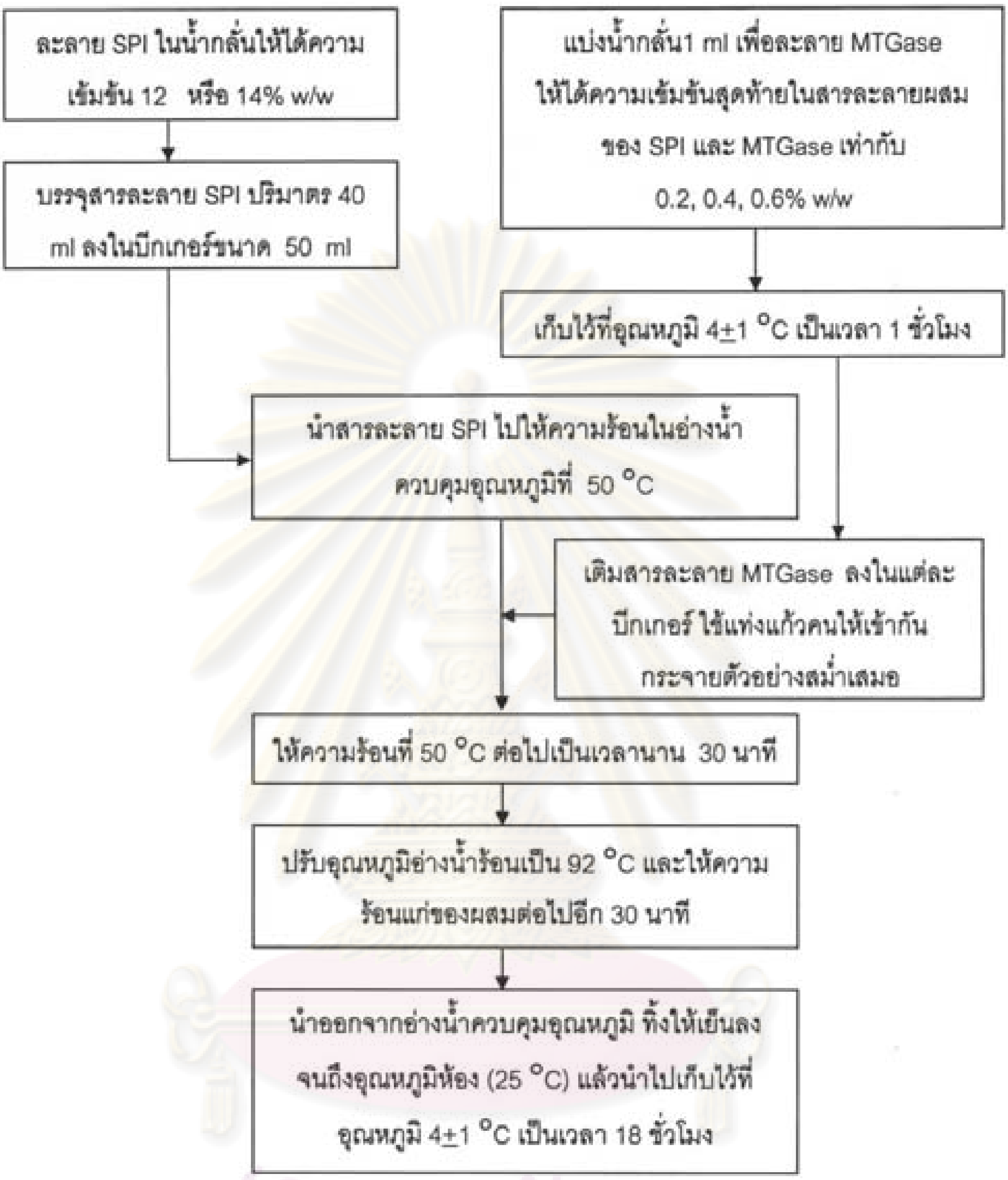
3.3.2.1 การเตรียมเจล SPI เตรียมโดยใช้ ACTIVA™ TG-AK (MTGase) โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน

ละลาย SPI ในน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 12 หรือ 14% w/w โดยแบ่งน้ำกลั่น 1 ml จากการละลาย SPI มาเพื่อละลาย ACTIVA™ TG-AK (MTGase) บรรจุสารละลาย SPI ปริมาตร 40 ml ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 ml ปิดผนึกบีกเกอร์ด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ จากนั้นเตรียมสารละลาย MTGase เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายในสารละลายผสมของ SPI และ MTGase เท่ากับ 0.2, 0.4 และ 0.6 % w/w เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4$\pm$1 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำสารละลาย SPI ที่เตรียมได้ไปให้ความร้อนแบบสองขั้นตอน (two-step heating) ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ โดยศึกษากระบวนการให้ความร้อน 2 วิธี ได้แก่

วิธีที่ 1 นำสารละลาย SPI เข้มข้น 12 หรือ 14% w/w ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นเติม MTGase เข้มข้น 0.2, 0.4 หรือ 0.6% w/w ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 50$\pm$1 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 92 °C และให้ความร้อนต่อโดยควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 92$\pm$1 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิลงจนถึงอุณหภูมิห้อง (25 °C) นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4$\pm$1 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ดังรูปที่ 3.1a

วิธีที่ 2 นำสารละลาย SPI เข้มข้น 12 หรือ 14% w/w ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 92 °C ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 92$\pm$1 °C ต่อไปอีกเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิลงเป็น 50 °C จึงเติม MTGase เข้มข้น 0.2, 0.4 หรือ 0.6% w/w ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 50$\pm$1 °C ต่อไปอีก 30 นาที จึงลดอุณหภูมิลงจนถึงอุณหภูมิห้อง (25 °C) นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4$\pm$1 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ดังรูปที่ 3.1b

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.1a ขั้นตอนเตรียมเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase และใช้กระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1

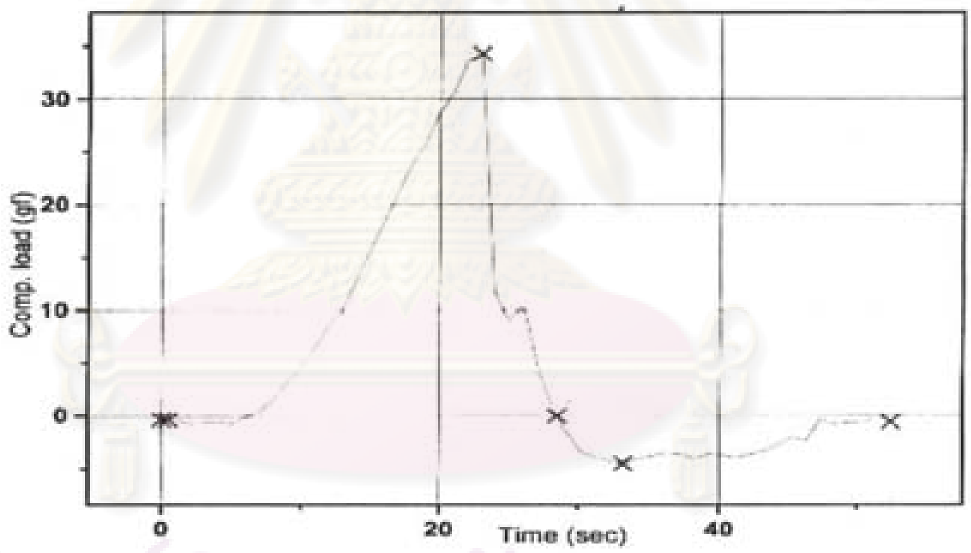
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3.1b ขั้นตอนเตรียมเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase และใช้กระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3.2.2 การวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน

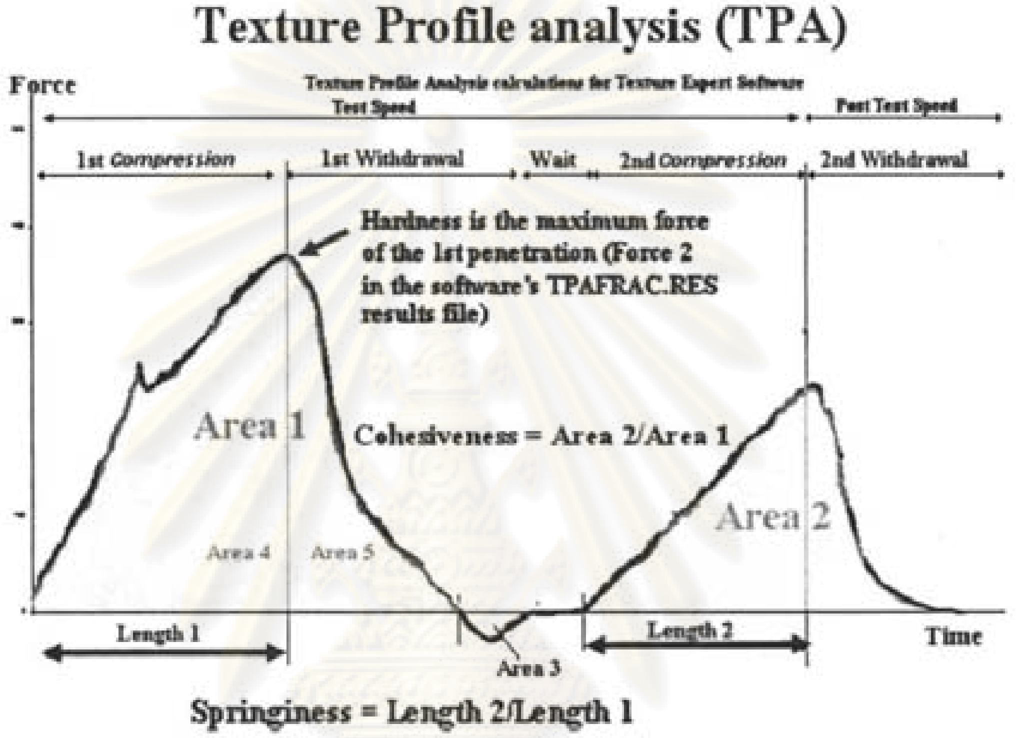
การวัดค่า gel strength ดัดแปลงจากวิธีของ Andrés และคณะ (2006) โดยใช้เครื่อง Instron Universal Materials Testing Machine รายละเอียดตามวิธีในภาคผนวก ก.6 โดยใช้หัววัดแบบหัวกดทรงกลม (ball probe) เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 6 mm กำหนดภาวะที่ใช้ในการวัดดังนี้คือ น้ำหนักของ load cell 5 kg ระยะทางที่หัววัดกดลงบนเจลเท่ากับ 75% ของความสูงเริ่มต้นของเจล หัววัดเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วก่อนและหลังสัมผัสตัวอย่างเจลเท่ากับ 1 mm/s คำนวณค่าต่อไปนี้จากกราฟที่ได้โดยใช้โปรแกรม Merlin ได้แก่ ค่า force คือค่าแรงต้านทานของเจลต่อการกดของหัววัดมีหน่วยเป็น g ค่า distance คือระยะทางที่หัววัดกดลงบนเจลแล้วทำให้เจลแตกออกมีหน่วย cm และ gel strength คือความแข็งแรงของเจลที่ทนต่อแรงกดของหัววัดมีหน่วยเป็น g.cm ซึ่งค่า gel strength สามารถคำนวณได้จากการนำค่า force คูณกับค่า distance ตัวอย่างกราฟการวัดค่า gel strength โดย Instron Universal Materials Testing Machine แสดงในรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 กราฟแสดงผลการวัดค่า gel strength โดย Instron Universal Materials Testing Machine

สำหรับ Texture Profile Analysis (TPA) ของเจล SPI วัดได้โดยใช้หัววัดแบบหัวกดทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 5.6 cm กำหนดภาวะที่ใช้ในการวัดดังนี้คือ น้ำหนักของ load cell 5 kg ระยะทางที่หัววัดกดลงบนเจลเท่ากับ 50% ของความสูงเริ่มต้นของเจล หัววัดเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วก่อนและหลังสัมผัสตัวอย่างเจลเท่ากับ 1 mm/s รายละเอียดการทดลองแสดงในภาคผนวก ก.7 คำนวณลักษณะเนื้อสัมผัสต่อไปนี้จากกราฟโดยใช้โปรแกรม Merlin ได้แก่

ค่า hardness หรือความแข็ง คือค่าแรงสูงสุดที่ได้จากการกดครั้งที่ 1 มีหน่วยเป็น g ค่า cohesiveness หรือการเกาะตัวกันของเนื้ออาหาร คืออัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟของการกดครั้งที่ 2 ต่อพื้นที่ใต้กราฟของการกดครั้งที่ 1 และค่า springiness หรือความยืดหยุ่น คืออัตราส่วนของเวลาในการกดครั้งที่ 2 ต่อเวลาในการกดครั้งที่ 1 ตัวอย่างกราฟการวัดค่า TPA โดย Instron Universal Materials Testing Machine แสดงในรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 กราฟแสดงผลการวัดค่า TPA โดย Instron Universal Materials Testing Machine (Bourne, 1982)

3.3.2.3 การศึกษาความสามารถในการอุ้มน้ำของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน

การวัดความสามารถในการอุ้มน้ำดัดแปลงจากวิธีของ Martins และ Netto (2006) โดยตัดตัวอย่างเจลที่ต้องการวิเคราะห์ให้ได้ขนาด 1×1×2 cm^3 ใส่ชิ้นตัวอย่างลงไปในหลอดสำหรับเหวี่ยงแยกโดยประกบด้านบนและด้านล่างของเจลด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ขนาด 3×3 cm^2 ที่ชั่งน้ำหนักแล้วจำนวน 2 แผ่นด้านบนของเจลและจำนวน 3 แผ่นด้านล่างของเจล จากนั้นนำไปเหวี่ยงแยกที่ 1500×g เป็นเวลา 5 นาที ชั่งน้ำหนักกระดาษกรองหลังเหวี่ยงแยกแล้วคำนวณหา % expressible water ตามสูตร (1) ดังนี้

$$\% \text{ expressible water} = \frac{W_f - W_i \times 100}{W_a} \quad (1)$$

W_f = น้ำหนักกระดาษกรองหลังการเหวี่ยงแยก

W_i = น้ำหนักกระดาษกรองก่อนการเหวี่ยงแยก

W_s = น้ำหนักตัวอย่าง

สำหรับ 3.3.2.2-3.3.2.3 ออกแบบการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับการการวัดค่า gel strength และ 2 ซ้ำ สำหรับการวัด TPA โดยทำการทดลองซ้ำละ 10 ตัวอย่าง และตัดค่าที่สูงหรือต่ำเกินไปออกให้เหลือประมาณ 8 ค่า นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย Analysis of Variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test คัดเลือกกระบวนการการให้ความร้อนที่เหมาะสมในการเตรียมเจล SPI โดยใช้ MTGase ซึ่งให้ค่าลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดีที่สุดมาเพื่อใช้ในการผลิตลูกชิ้นปลาร่วมกับการใช้ SPI และ/หรือ MTGase ต่อไป

3.3.2.4 การติดตามการรวมตัวกันของโปรตีนใน SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน

ติดตามการรวมตัวกันของโปรตีนขณะเตรียมเจล SPI ด้วย MTGase ด้วยเครื่อง spectrophotometer ซึ่งควบคุมอุณหภูมิโดยต่อกับอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ โดยการวัดค่าแสงส่องผ่าน (% transmittance, T) ที่ความยาวคลื่น 600 nm ซึ่งใช้น้ำกลั่นเป็น blank โดยใช้สารละลาย SPI เข้มข้น 0.001% w/w ใช้ภาวะการให้ความร้อนเช่นเดียวกับการเตรียมเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase (3.2.2.1) ดังนี้ วิธีที่ 1 คือให้ความร้อนแก่สารละลาย SPI ปริมาตร 2.0 ml ที่อุณหภูมิ 50 $^{\circ}$C จากนั้นเติม MTGase ปริมาตร 0.5 ml ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายในสารละลายผสมของ SPI และ MTGase เท่ากับ 0.6% w/w ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 50 $^{\circ}$C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 92 $^{\circ}$C ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 92 $^{\circ}$C ต่อไปอีก 30 นาที บันทึกค่า %T ทุกๆ 1 นาที วิธีที่ 2 คือให้ความร้อนแก่สารละลาย SPI ปริมาตร 2.0 ml ที่อุณหภูมิ 92 $^{\circ}$C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิลงเป็น 50 $^{\circ}$C เติม MTGase ปริมาตร 0.5 ml ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายในสารละลายผสมของ SPI และ MTGase เท่ากับ 0.6% w/w ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 50 $^{\circ}$C ต่อไปอีก 30 นาที บันทึกค่า %T ทุกๆ 1 นาที สร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างเวลา และ %T รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.8

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3.2.5 การศึกษาโครงสร้างจุลภาคของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน

เตรียมตัวอย่างเจล SPI เข้มข้น 14% w/w ที่เตรียมโดยใช้ MTGase เข้มข้น 0.6% w/w ด้วยกระบวนการให้ความร้อน 2 วิธี (3.2.2.1) และนำตัวอย่างแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลวและศึกษาโครงสร้างจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (cryogenic scanning electron microscopy, cryo-SEM) ซึ่งเป็นการศึกษาโครงสร้างจุลภาคสามมิติด้วยการทำให้ตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์เป็นน้ำแข็งอย่างรวดเร็วด้วยวิธี ice-embedding (Nishioka, 2007) รายละเอียดในภาคผนวก ก.9

3.3.2.6 การตรวจสอบรูปแบบของแถบโปรตีน (protein pattern) บน SDS-PAGE ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน

ติดตามการเชื่อมข้ามโมเลกุลโปรตีนของ SPI จากการทำงานของ MTGase ด้วย SDS-PAGE โดยความเข้มข้นของ separating gel และ stacking gel เท่ากับ 10 % และ 4 % ตามลำดับ ปริมาณโปรตีนที่ใช้ในการวิเคราะห์ (protein loading) เท่ากับ 10±1 μg รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.10

3.3.3 การใช้ SPI และ MTGase ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลา

ในการผลิตลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมใช้สูตรลูกชิ้นปลาของคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (2545)

3.3.3.1 การคัดเลือกความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่จะใช้ในการผลิตลูกชิ้นปลาสูตรควบคุม

ผลิตลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมโดยแปรความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 5 ระดับคือ 1.00, 1.25, 1.50, 1.75 และ 2.00 % w/w โดยใช้ค่า gel strength ของลูกชิ้นปลาเป็นปัจจัยในการคัดเลือก วิธีการผลิตลูกชิ้นปลาแสดงในรูปที่ 3.4

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3.4 กระบวนการผลิตลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่างๆ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในการศึกษาการประยุกต์ใช้ SPI ร่วมกับ MTGase ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลา กำหนดให้สูตร 1 เป็นสูตรควบคุม และแปรปริมาณแป้งสาลีและ/หรือ SPI (สูตร 2-สูตร 4) ปริมาณ 2% w/w และผลศึกษาของการใช้หรือไม่ใช้ MTGase ที่ความเข้มข้น 0.6 %w/w (สูตร 5-สูตร 6) ซึ่งสูตรการผลิตลูกชิ้นปลาที่ใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w (สูตร A) และ 1.50% w/w (สูตร B) แสดงในตารางที่ 3.1 และ 3.2 ตามลำดับ และวิธีการผลิตแสดงในรูปที่ 3.5

ตารางที่ 3.1 สูตรการผลิตลูกชิ้นปลาที่ใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w (สูตร A)

สูตร	เนื้อปลาบด (g)	แป้งสาลี (g)	SPI (g)	โซเดียมคลอไรด์ (g)	น้ำแข็งบด (g)	โมโนโซเดียมกลูตาเมต (g)	พริกไทยป่น (g)
A1	1030	0	0	16.5	266	2	4
A2	1000	30	0	16.5	266	2	4
A3	1000	15	15	16.5	266	2	4
A4	1000	0	30	16.5	266	2	4
A5	1000	30	0	16.5	266	2	4
A6	1000	15	15	16.5	266	2	4
A7	1000	0	30	16.5	266	2	4

ตารางที่ 3.2 สูตรการผลิตลูกชิ้นปลาที่ใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w (สูตร B)

สูตร	เนื้อปลาบด (g)	แป้งสาลี (g)	SPI (g)	โซเดียมคลอไรด์ (g)	น้ำแข็งบด (g)	โมโนโซเดียมกลูตาเมต (g)	พริกไทยป่น (g)
B1	1030	0	0	19.8	266	2	4
B2	1000	30	0	19.8	266	2	4
B3	1000	15	15	19.8	266	2	4
B4	1000	0	30	19.8	266	2	4
B5	1000	30	0	19.8	266	2	4
B6	1000	15	15	19.8	266	2	4
B7	1000	0	30	19.8	266	2	4

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

* ในสูตรที่มีการเติม MTGase สามารถเติมในขั้นตอนนี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3.5 กระบวนการผลิตลูกชิ้นปลาที่เตรียมโดยใช้แป้งสาลีและ/หรือ SPI และใช้หรือไม่ใช้ MTGase

3.3.3.2 ลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นปลา

การวัดค่า gel strength ดัดแปลงจากวิธีของ Andrés และคณะ (2006) โดยใช้เครื่อง Instron Universal Materials Testing Machine รายละเอียดตามวิธีในภาคผนวก ก.6 โดยใช้หัววัดแบบหัวกดทรงกลม (ball probe) เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 6 mm กำหนดภาวะที่ใช้ในการวัดดังนี้คือ น้ำหนักของ load cell 5 kg ระยะทางที่หัววัดกดลงบนเจลเท่ากับ 75% ของความสูงเริ่มต้นของเจล หัววัดเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วก่อนและหลังสัมผัสตัวอย่างเจลเท่ากับ 1 mm/s คำนวณค่าต่อไปนี้จากกราฟที่ได้โดยใช้โปรแกรม Merlin ได้แก่ ค่า force, distance และ gel strength

สำหรับ Texture Profile Analysis (TPA) ของลูกชิ้นปลา วัดได้โดยใช้หัววัดแบบหัวกดทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 5.6 cm กำหนดภาวะที่ใช้ในการวัดดังนี้คือ น้ำหนักของ load cell 5 kg ระยะทางที่หัววัดกดลงบนเจลเท่ากับ 50% ของความสูงเริ่มต้นของเจล หัววัดเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วก่อนและหลังสัมผัสตัวอย่างเจลเท่ากับ 1 mm/s รายละเอียดการทดลองแสดงในภาคผนวก ก.7 คำนวณลักษณะเนื้อสัมผัสต่อไปนี้จากกราฟโดยใช้โปรแกรม Merlin ได้แก่ค่า hardness, cohesiveness และ springiness

3.3.3.3 การศึกษาความสามารถในการอุ้มน้ำของลูกชิ้นปลา

การวัดความสามารถในการอุ้มน้ำดัดแปลงจากวิธีของ Martins และ Netto (2006) โดยตัดตัวอย่างเจลที่ต้องการวิเคราะห์ให้ได้ขนาด 1×1×2 cm^3 ใส่ชิ้นตัวอย่างลงไปในหลอดสำหรับเหวี่ยงแยกโดยประกบด้านบนและด้านล่างของเจลด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ขนาด 3×3 cm^2 ที่ชั่งน้ำหนักแล้วจำนวน 2 แผ่นด้านบนของเจลและจำนวน 3 แผ่นด้านล่างของเจล จากนั้นนำไปเหวี่ยงแยกที่ 1500×g เป็นเวลา 5 นาที ชั่งน้ำหนักกระดาษกรองหลังเหวี่ยงแยกแล้วคำนวณหา % expressible water ตามสูตร (1) (หัวข้อ 3.3.2.3)

3.3.3.4 ค่าความขาวของลูกชิ้นปลา

วัดค่าสีของลูกชิ้นปลาในระบบ CIE LAB โดยเครื่องวัดสี ColorFlex รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.11 คำนวณค่าความขาว (whiteness) โดยใช้สูตร (2) (Lanier, 1992)

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

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

L* = ค่าความสว่าง (lightness) มีค่าระหว่าง 0-100

a* = ค่า (+) สีแดง หรือค่า (-) สีเขียว

b* = ค่า (+) สีเหลือง หรือค่า (-) สีน้ำเงิน

สำหรับ 3.3.3.1-3.3.3.4 ออกแบบการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยทำการทดลองซ้ำละ 10 ตัวอย่าง และตัดค่าที่สูงหรือต่ำเกินไปออกให้เหลือประมาณ 8 ค่า นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย Analysis of Variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test คัดเลือกสูตรลูกชิ้นปลาที่ให้ค่า gel strength สูงที่สุดของแต่ละระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของลูกชิ้นปลาขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C

3.3.3.5 โครงสร้างจุลภาคของลูกชิ้นปลา

เตรียมตัวอย่างลูกชิ้นปลา (3.3.3.1) สูตร A1 สูตร A2 สูตร A4 และสูตร A7 และนำมาศึกษาโครงสร้างจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (cryogenic scanning electron microscopy, cryo-SEM) เพื่อเปรียบเทียบผลของการใช้หรือไม่ใช้ SPI ร่วมกับการใช้หรือไม่ใช้ MTGase รายละเอียดในภาคผนวก ก.9

3.3.3.6 การตรวจสอบรูปแบบของแถบโปรตีน (protein pattern) ของลูกชิ้นปลาบน SDS-PAGE

ติดตามการเชื่อมข้ามโมเลกุลโปรตีนลูกชิ้นปลาด้วย SDS-PAGE โดยความเข้มข้นของ separating gel และ stacking gel เท่ากับ 10 %, 7.5% และ 4 % ตามลำดับ ปริมาณโปรตีนที่ใช้ในการวิเคราะห์ (protein loading) เท่ากับ 10±1 μg รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.10

3.3.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นปลาต้ม

คณะผู้ทดสอบประกอบด้วยผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน (semi-trained panelists) ซึ่งเป็นนิสิตและบุคคลากรจากภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารและหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จำนวน 15 คน ผู้ทดสอบทั้งหมดไม่สูบบุหรี่และมีความคุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลา ทดสอบด้วยวิธี descriptive test แบบ scaling method โดยใช้แบบประเมิน (ballot) ที่เป็น structured scale ลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ประเมิน ได้แก่ กลิ่นรสคาวปลา (fishy flavor) กลิ่นรสถั่ว (beany flavor) สีขาว (whiteness) ความเป็นมันวาวของผิวนอก (gloss) ความเนียน

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ของผลิตภัณฑ์ (smoothness) ความยืดหยุ่น (springiness) ความเกาะตัวกัน (cohesiveness) ความแข็ง (hardness) และรสเค็ม (saltiness) แบบประเมินแสดงในภาคผนวก ก.12 การทดสอบแบ่งออกเป็น 2 ช่วง ได้แก่ ช่วงการฝึกฝน (training period) และการทดสอบตัวอย่าง (sample tasting)

สำหรับช่วงการฝึกฝน ทำการฝึกฝนครั้งละประมาณ 1 ชั่วโมง จำนวน 3 ครั้งต่อสัปดาห์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ผู้วิจัยคัดเลือกตัวอย่างลูกชิ้นที่มีลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ต้องการทดสอบในระดับที่มากที่สุดและน้อยที่สุด (extremes) นำตัวอย่างไปให้ความร้อนโดยใช้น้ำอุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 10 นาที ก่อนที่จะนำเสนอตัวอย่างแก่ผู้ทดสอบในถ้วยพลาสติกสีขาวซึ่งปิดทับด้วยแผ่นพลาสติกสำหรับห่ออาหาร (plastic wrap) สถานที่ทดสอบเป็นห้องปรับอากาศอุณหภูมิประมาณ 25 °C ที่มีแสงสว่างของหลอดไฟชนิดฟลูออเรสเซนต์และมีการรบกวนจากปัจจัยภายนอกน้อยที่สุด ผู้ทดสอบชิมและให้คะแนนทางประสาทสัมผัสแต่ละลักษณะ เมื่อทดสอบแต่ละตัวอย่างเสร็จสิ้น ให้ผู้ทดสอบกลั้วปากด้วยน้ำสะอาด (น้ำดื่มบรรจุขวดซึ่งเป็นน้ำที่ผ่านการกรอง) และรอประมาณ 5 นาทีก่อนทดสอบตัวอย่างต่อไป สำหรับการฝึกฝนในช่วงแรกผู้วิจัยจะอธิบายลักษณะต่างๆ ที่จะประเมินให้ผู้ทดสอบทราบและให้ผู้ทดสอบปรึกษา ถามคำถาม และแสดงความคิดเห็นได้ โดยเป็นลักษณะของการประชุมโต๊ะกลม (round-table discussion) เพื่อให้ผู้ทดสอบมีความเข้าใจที่ถูกต้องตรงกันและมีมาตรฐานในการให้คะแนนที่เหมือนกัน ทำการฝึกฝนโดยใช้ตัวอย่างเดิมจนกระทั่งผู้ทดสอบสามารถให้คะแนนได้อย่างแม่นยำ จากนั้นในช่วงท้ายของการฝึกฝนจะให้ผู้ทดสอบประเมินตัวอย่างที่ไม่ทราบ (unknown) เปรียบเทียบผลการประเมินกับการประเมินในช่วงแรกของการฝึกฝน หากผู้ทดสอบมีการประเมินที่คลาดเคลื่อนไปจะทำการฝึกฝนเพิ่มเติมจนกว่าจะสามารถประเมินได้อย่างแม่นยำ เมื่อผู้ทดสอบผ่านการฝึกฝนแล้วจึงทำการทดสอบตัวอย่างในขั้นตอนต่อไป

สำหรับการทดสอบตัวอย่าง ให้ผู้ทดสอบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างลูกชิ้นปลาทั้งหมด 14 สูตร ทำการทดสอบไม่เกินวันละ 1 ครั้ง ครั้งละไม่เกิน 6 ตัวอย่าง วางแผนการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย Analysis of Variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3.5 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของลูกชิ้นปลาขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C

คัดเลือกสูตรลูกชิ้นปลาที่ให้ค่า gel strength สูงที่สุดของแต่ละระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นปลาขณะเก็บรักษาเป็นเวลา 11 วัน ที่อุณหภูมิ 4±1 °C โดยใช้ค่า gel strength, hardness, cohesiveness และ springiness เป็นตัวบ่งชี้ โดยออกแบบการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยทำการทดลองซ้ำละ 10 ตัวอย่าง และตัดค่าที่สูงหรือต่ำเกินไปออกให้เหลือประมาณ 8 ค่า นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย Analysis of Variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test และศึกษาอายุการเก็บรักษาด้วยการตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ด้วยวิธี A. O. A. C. (1995) (รายละเอียดภาคผนวก ก. 13) ลูกชิ้นปลาที่บรรจุในถุงพลาสติก polypropylene (PP) แบบสุญญากาศ โดยใช้มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นเนื้อวัว ลูกชิ้นหมู และลูกชิ้นไก่ (มอก.1009-2533) เป็นเกณฑ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 สมบัติของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate, SPI) และเนื้อปลาขี้สกสดบด

4.1.1. สมบัติของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (SPI)

โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (SPI) ที่ใช้ในการทดลองซื้อมาจากบริษัท ไมท์ตี้ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด มีองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน และความชื้น ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (SPI)

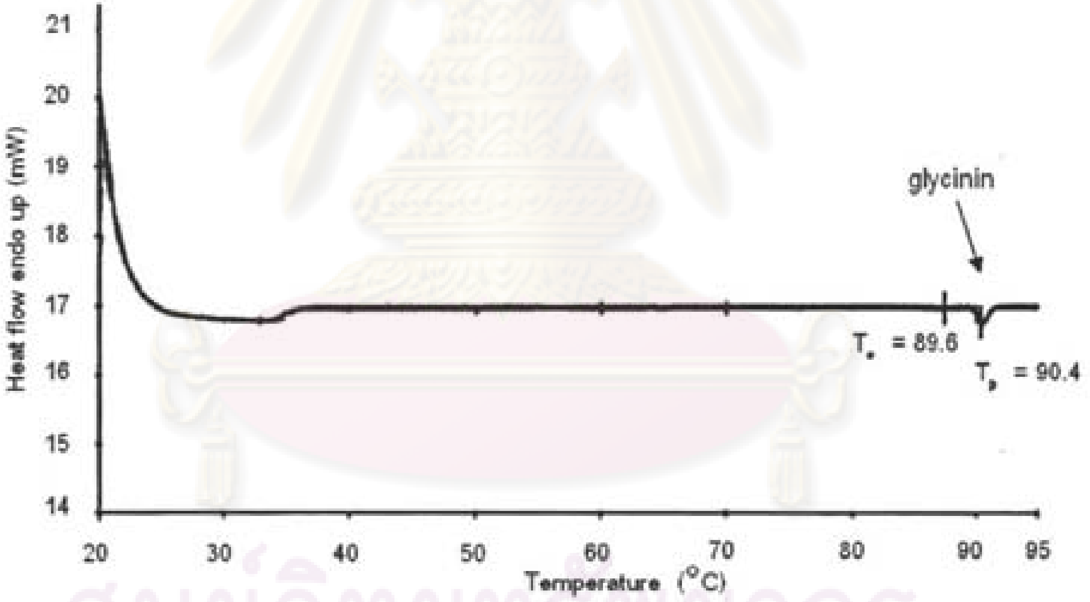
องค์ประกอบทางเคมี *	ปริมาณ (%, wb)
โปรตีน	90
ไขมัน	4
ความชื้น	6

* จากเอกสารแสดงลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ (product specification) บริษัท ไมท์ตี้ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด

งานวิจัยนี้ศึกษาอุณหภูมิที่ไกลซินินและเบต้า-คอนไกลซินินใน SPI เกิดการเสียสภาพธรรมชาติโดยวิธี differential scanning calorimetry (DSC) รูปที่ 4.1 แสดง DSC thermogram ของ SPI ซึ่งพบพีคการดูดความร้อน (endothermic peak) ที่อุณหภูมิประมาณ 90 °C โดยมี onset temperature (T_o) เท่ากับ 89.6 °C และ peak temperature (T_p) เท่ากับ 90.4 °C พีคการดูดความร้อนนี้เนื่องมาจากการเสียสภาพธรรมชาติของไกลซินิน เป็นที่น่าสังเกตว่าในงานวิจัยนี้พบเฉพาะพีคที่เกิดจากการเสียสภาพธรรมชาติของไกลซินิน ในขณะที่ไม่พบพีคการเสียสภาพธรรมชาติของเบต้า-คอนไกลซินิน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเบต้า-คอนไกลซินินซึ่งทนความร้อนได้ต่ำกว่าเกิดการเสียสภาพธรรมชาติไปแล้วในขั้นตอนการผลิต SPI ปรากฏการณ์เช่นเดียวกันนี้ได้รายงานโดย Chronakis (1996) ซึ่งติดตามการเสียสภาพของไกลซินินและเบต้า-คอนไกลซินินใน SPI ทางการค้า ซึ่งผู้วิจัยได้อธิบายว่าการที่พบพีคของไกลซินินเพียงพีคเดียวเนื่องมาจาก SPI ที่นำมาใช้ในการทดลองเป็นชนิดที่เสียสภาพธรรมชาติบางส่วน (partially denatured) ในขณะที่ Chronakis และ Kasapis (1993) ใช้ SPI ชนิดเสียสภาพโดยสมบูรณ์ (completely denatured) รายงานว่าไม่พบพีคการเสียสภาพธรรมชาติของทั้งไกลซินินและเบต้า-คอนไกลซินิน

อย่างไรก็ตาม Renkema และ van Vliet (2002) รายงานว่าไกลซินินและเบต้า-คอนไกลซินินใน SPI ที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการเกิดการเสียสภาพธรรมชาติที่อุณหภูมิ 88 และ 68 °C ตามลำดับ ส่วน Liu และคณะ (2004) รายงานว่าไกลซินินและเบต้า-คอนไกลซินินใน

นมถั่วเหลืองเสียสภาพธรรมชาติที่อุณหภูมิ 92 และ 71 °C ตามลำดับ ในขณะที่ Utsumi และคณะ (1997) นำ SPI มาแยกสกัดองค์ประกอบหลักคือไกลซินินและเบต้า-คอนไกลซินิน แล้ววิเคราะห์อุณหภูมิที่โปรตีนทั้งสองเสียสภาพธรรมชาติ และรายงานว่าไกลซินินเสียสภาพธรรมชาติที่อุณหภูมิประมาณ 80 °C ในขณะที่เบต้า-คอนไกลซินินซึ่งทนความร้อนได้ต่ำกว่าเสียสภาพธรรมชาติที่อุณหภูมิประมาณ 70 °C นอกจากนี้กลุ่มวิจัยอื่นๆ รายงานอุณหภูมิที่ไกลซินินและเบต้า-คอนไกลซินินเกิดการเสียสภาพธรรมชาติได้ในช่วง 85-95 และ 65-75 °C ตามลำดับ (Hermansson, 1978; Wright and Boulter, 1980; German, Damodaran and Kinsella, 1982; Kitabatake, Tahara and Doi, 1990; Nagano et al., 1992; Zhang, Takenaka and Isobe, 2004) อุณหภูมิการเสียสภาพธรรมชาติที่ต่างกันในแต่ละงานวิจัยอาจเนื่องมาจากชนิดของตัวอย่างโปรตีนถั่วเหลืองที่ต่างกันหรือขั้นตอนการเตรียมโปรตีนถั่วเหลืองที่แตกต่างกัน (Chronakis, 1996)



รูปที่ 4.1 DSC thermogram ของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (SPI)

ดังนั้น ในการศึกษาผลของกระบวนการให้ความร้อนต่อการเกิดเจลของ SPI ร่วมกับการใช้เอนไซม์แทรนส์กลูทามิเนสจากจุลินทรีย์ (microbial transglutaminase, MTGase) ในขั้นตอนต่อไป จึงเลือกใช้การให้ความร้อนแก่ SPI ที่อุณหภูมิ 92 °C ซึ่งสูงพอที่จะทำให้ไกลซินินเกิดการเสียสภาพได้

4.1.2. สมบัติของเนื้อปลายี่สกสดบด

เนื้อปลายี่สกที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นเนื้อปลาสดที่ผ่านกระบวนการแล่ บด แล้วแช่เยือกแข็งด้วยไนโตรเจนเหลว และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -18 ^{o}C จนกว่าจะนำมาใช้งาน ทั้งนี้เนื้อปลาบดดังกล่าวจะเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็งเป็นเวลาไม่เกิน 4 สัปดาห์ เพื่อจำกัดผลของการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนปลาในระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็งที่อาจส่งผลต่อสมบัติของลูกชิ้นปลา องค์ประกอบของเนื้อปลายี่สกสดบด แสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลายี่สกสดบด

องค์ประกอบทางเคมี *	ปริมาณ (%, wb)
โปรตีน	19.14 $\pm$ 2.00
ไขมัน	2.39 $\pm$ 0.10
ความชื้น	76.92 $\pm$ 5.43

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

4.2 ผลของกระบวนการให้ความร้อนต่อการเกิดเจลของ SPI ที่เตรียมโดยใช้แทรนส์กลูทามิเนสจากจุลินทรีย์ (MTGase)

การเกิดเจลโดยใช้ความร้อน (thermal gelation) ของโปรตีนถั่วเหลืองเป็นกระบวนการที่ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกคือการสูญเสียโครงสร้างตติยภูมิด้วยความร้อน ซึ่งจะได้ progel จากนั้นจึงเริ่มสร้างเจลในขั้นตอนที่สองในภาวะที่อุณหภูมิลดต่ำลง (cooling) สายโปรตีนจะเรียงตัวเข้าหากันเป็นโครงร่างตาข่ายสามมิติมีการกักเก็บน้ำและสารละลายบางส่วนไว้ภายในโครงสร้าง โครงสร้างที่เกิดขึ้นใหม่นี้เนื่องมาจากอันตรกิริยาทางเคมีหลายรูปแบบ ได้แก่ พันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก อันตรกิริยาของอิออน และการดึงดูดทางไฟฟ้าสถิตย์ของหมู่เคมีต่างๆ บนสายพอลิเพปไทด์ของโปรตีนที่เกิดการคลายตัว (unfold) โดยอันตรกิริยาแต่ละชนิดที่เกิดขึ้นมีผลต่อลักษณะของเจลที่ได้ (Chronakis, 1996)

เอนไซม์แทรนส์กลูทามิเนส (transglutaminase, TGase) เป็นเอนไซม์ที่เร่งการเชื่อมข้ามของโปรตีนผ่านทางการเกิด ε-(γ-glutamyl)lysine isopeptide bond โดยมีความสามารถในการย้ายหมู่ acyl ของหน่วยย่อยกลูตามีนให้เข้าจับกับหมู่ ε-amino ของหน่วยย่อยไลซีนบนสายของโปรตีน มีการศึกษาการใช้โปรตีนถั่วเหลืองร่วมกับ TGase ในอาหารหลายชนิด (Babiker et al., 1996; Babiker, 2000; Mariniello et al., 2003; Ramírez-Suárez and Xiong, 2003; Walsh et al., 2003; Tang et al., 2005; Jiang et al., 2006; Tang and Jiang, 2006; Tang et al., 2006a,

b; Bin Md Yasir et al., 2007; Schäfer et al., 2007; Pietrasik, Jarmoluk and Shand, 2007) ซึ่งส่วนใหญ่มุ่งเน้นให้เกิดลักษณะทางเนื้อสัมผัสของโปรตีนในผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อสัตว์

เป็นที่ทราบกันดีว่าในการชักนำให้เกิดเจลโปรตีนด้วยความร้อน การให้ความร้อนเป็นสิ่งจำเป็นเบื้องต้นเพื่อให้เกิดการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน เพื่อการสร้างโครงสร้างของเจล (Lee and Rha, 1978; Liu et al., 2004) อย่างไรก็ตามผลของการให้ความร้อนเบื้องต้นแก่สารละลายโปรตีนขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น วิธีการให้ความร้อน อัตราการให้ความร้อน อุณหภูมิที่ใช้ และระยะเวลาในการให้ความร้อน (Foegeding, Allen and Dayton 1986; Tang, 2007) งานวิจัยนี้จึงศึกษากระบวนการให้ความร้อนที่เหมาะสมต่อการเกิดเจลของ SPI ที่เตรียมโดยใช้ ACTIVA™ TG-AK (MTGase) โดยใช้วิธีการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน 2 วิธี ได้แก่

วิธีที่ 1 นำสารแขวนลอย SPI ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C จากนั้นเติม MTGase ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ต่อไปอีกเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 92 °C และ รักษาไว้ที่อุณหภูมินั้นเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิลงจนถึงอุณหภูมิห้อง (25 °C) แล้วเก็บตัวอย่างเจลในตู้เย็น (4 °C) เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (รูปที่ 3.1a) ก่อนนำมาศึกษาสมบัติของเจลต่อไป

วิธีที่ 2 นำสารแขวนลอย SPI ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 92 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิลงเป็น 50 °C จึงเติม MTGase ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 50 °C ต่อไปอีก 30 นาที จึงลดอุณหภูมิลงจนถึงอุณหภูมิห้อง (25 °C) แล้วเก็บตัวอย่างเจลในตู้เย็น (4°C) เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (รูปที่ 3.1b) ก่อนนำมาศึกษาสมบัติของเจลต่อไป

หมายเหตุ อ้างอิงจากเอกสารแสดงลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ของบริษัท อายิโนะโมะโต๊ะ จำกัด (กรุงเทพฯ) ACTIVA™ TG-AK มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานที่ 50 °C

4.2.1 การวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน

ศึกษาสมบัติด้านการเกิดเจลของสารแขวนลอย SPI ความเข้มข้น 12 และ 14% w/w ร่วมกับ ACTIVA™ TG-AK (MTGase) เข้มข้น 0.2, 0.4 และ 0.6 % w/w พบว่าลักษณะปรากฏของเจล SPI ที่เตรียมโดย MTGase จากการสังเกตด้วยสายตาของผู้วิจัยพบว่าการให้ความร้อนวิธีที่ 1 เจลที่ได้มีสีเหลืองอ่อน มีความมันวาว เนื้อเจลเนียนละเอียด ลักษณะคล้ายพุดดิ้ง ส่วนเจลที่เตรียมโดยวิธีการให้ความร้อนวิธีที่ 2 เจลที่ได้มีสีเหลืองอ่อน มีความมันวาวน้อยกว่า เนื้อเจลหยาบเล็กน้อย แต่ยังคงลักษณะคล้ายพุดดิ้ง นอกจากนี้ยังวิเคราะห์สมบัติของเจล ได้แก่ gel strength และลักษณะเนื้อสัมผัส (texture profile analysis, TPA) ได้แก่ hardness, springiness และ

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

cohesiveness โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงผลของวิธีการให้ความร้อนต่อสมบัติด้านเนื้อสัมผัสของเจล SPI ได้ผลดังตารางที่ 4.3 และ 4.4 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.3 Gel strength ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ

สมบัติเชิงกล	ความเข้มข้นของ SPI (% w/w)	กระบวนการให้ความร้อน	ความเข้มข้นของ MTGase (% w/w)		
			0.2	0.4	0.6
Gel strength (g.cm)	12	วิธีที่ 1	38.33^{a} ± 3.20	32.32^{a} ± 3.70	90.24^{b} ± 9.85
		วิธีที่ 2	40.39^{a} ± 4.98	42.46^{a} ± 3.62	43.29^{a} ± 5.02
	14	วิธีที่ 1	194.49^{c} ± 16.66	241.19^{d} ± 24.54	253.74^{e} ± 21.18
		วิธีที่ 2	196.25^{c} ± 19.70	246.41^{de} ± 23.98	252.87^{de} ± 24.97
Force (g)	12	วิธีที่ 1	1.49^{a} ± 0.16	1.25^{a} ± 0.13	5.29^{b} ± 0.59
		วิธีที่ 2	1.53^{a} ± 0.18	1.59^{a} ± 0.17	1.59^{a} ± 0.14
	14	วิธีที่ 1	8.69^{d} ± 0.92	15.25^{g} ± 1.05	10.16^{f} ± 0.95
		วิธีที่ 2	8.04^{c} ± 0.81	9.23^{e} ± 0.91	10.26^{f} ± 0.94
Distance (cm)	12	วิธีที่ 1	24.98^{c} ± 1.72	25.12^{c} ± 0.93	18.09^{b} ± 1.80
		วิธีที่ 2	24.81^{c} ± 1.05	24.83^{c} ± 1.74	25.66^{c} ± 0.71
	14	วิธีที่ 1	24.67^{c} ± 1.73	17.57^{b} ± 2.03	15.17^{a} ± 0.96
		วิธีที่ 2	24.66^{c} ± 2.76	25.71^{c} ± 2.67	25.88^{c} ± 0.67

<u>หมายเหตุ</u> a, b,c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันสำหรับค่าสมบัติเชิงกลเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Totosaus และคณะ (2002) กล่าวว่าในการเกิดเจลโปรตีนจะต้องมีปริมาณความเข้มข้นของโปรตีนที่มากพอ เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนต่ำจะมีสร้างโครงร่างตาข่ายสามมิติของเจลที่ไม่ต่อเนื่อง ค่า gel strength และ distance ของเจลจะสูงขึ้นตามความเข้มข้นของโปรตีนที่ใช้ เช่นเดียวกับการวิจัยของกนกศักดิ์ โคววิกกัย, พชพันธ์ ธุวนลิน และวิรงรอง ชัยมงคล (2547) ศึกษาการเกิดเจลของ SPI ร่วมกับ MTGase เข้มข้น 1% w/w โดยแปรระดับความเข้มข้นของ SPI 4 ระดับคือ 5.0, 6.5, 8.0, 10.0% w/v พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI ต่ำ คือ 5.0 และ 6.5%

w/v SPI ไม่สามารถเกิดเป็นเจลได้ ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณของโปรตีนไม่เพียงพอต่อการเกิดเจล แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ SPI ให้สูงขึ้นค่า gel strength สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณของแข็งโดยรวม (total solids) ที่เพิ่มขึ้น กับทั้งการที่มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นช่วยเพิ่มจำนวนหมู่เคมีที่สามารถเกิดพันธะเชื่อมข้ามโดย MTGase ส่งผลให้ค่า gel strength เพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้จากงานวิจัยนี้ที่พบว่าที่ระดับความเข้มข้น MTGase ที่เท่ากัน และวิธีการให้ความร้อนเดียวกัน การเพิ่มความเข้มข้นของ SPI ทำให้ค่า gel strength สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ภาคผนวก ข.1)

ในการศึกษาผลของการใช้ MTGase ต่อการเกิดเจลของ SPI โดยแปรความเข้มข้นของ MTGase เป็น 3 ระดับคือ 0.2, 0.4 และ 0.6% w/w พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ SPI ที่เท่ากัน และวิธีการให้ความร้อนเดียวกัน ความเข้มข้นของ MTGase ที่สูงขึ้นทำให้ค่า gel strength เพิ่มขึ้น เนื่องจากการเพิ่มความเข้มข้นของ MTGase จะทำให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาการเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลของโปรตีนด้วยพันธะโควาเลนต์ได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่าที่ความเข้มข้นของ SPI 12% w/w และวิธีการให้ความร้อนวิธีที่ 2 เจลที่ใช้ความเข้มข้นของ MTGase ต่างกันมีค่า gel strength ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และจากการวิจัยของ Bin Md Yasir และคณะ (2007) โดยเปรียบเทียบค่า force ของเต้าหู้ที่เตรียมโดยใช้ MTGase เข้มข้น 1000 และ 5000 ppm โดยเติม MTGase ในขั้นตอนก่อนให้ความร้อนหรือหลังให้ความร้อนแก่นมถั่วเหลืองที่ 97 °C พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ MTGase ที่เติมในขั้นตอนก่อนให้ความร้อนและหลังให้ความร้อนแก่นมถั่วเหลือง ทำให้เต้าหู้ที่เตรียมได้มีค่า force สูงกว่าเต้าหู้ที่ไม่เติม MTGase แม้ว่าค่า force ของเต้าหู้ที่เติม MTGase ในขั้นตอนหลังให้ความร้อนจะต่ำกว่าก่อนให้ความร้อนแก่นมถั่วเหลืองก็ตาม ทั้งนี้ผู้วิจัยอธิบายว่าอาจเนื่องมาจากเมื่อนมถั่วเหลืองได้รับความร้อนจะทำให้โปรตีนถั่วเหลืองเริ่มเกิดเป็นเจลแล้วบางส่วน ทำให้มีปริมาณโปรตีนที่เป็นสับสเตรทของ MTGase ลดลง ส่งผลให้ค่า force ของเต้าหู้ที่เตรียมได้ลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ MTGase ทำให้เจล SPI มีค่า gel strength เพิ่มขึ้น เนื่องจากมีปริมาณของ ε-(γ-glutamyl) lysine bond เพิ่มมากขึ้น (Takahiko, 2003) เช่นเดียวกับการพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อบดขึ้นรูปของ Tsao และคณะ (2002) ที่เตรียมโดยการใช้ SPI และ MTGase เป็นสารเชื่อม โดยใช้ MTGase เข้มข้น 0-24 unit/g soy protein (1 unit ของ MTGase คือปริมาณของ MTGase ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการสร้าง 1 μmol ของ hydroxamic acid ในเวลา 1 นาทีที่อุณหภูมิ 37 °C) แล้ววัดค่า tensile strength (TS) พบว่าค่า TS เพิ่มขึ้นจาก 51.17 g.cm ในผลิตภัณฑ์ที่ไม่เติม MTGase เป็น 102.31 g.cm ในผลิตภัณฑ์ที่เติม MTGase ความเข้มข้น 24 unit/g soy protein ซึ่งอาจเกิดจากการที่มีการสร้าง ε-(γ-glutamyl) lysine bond จากการเร่งปฏิกิริยาการเชื่อมข้ามโดย MTGase (Kuraishi et al., 1997; Tseng, Liu and Chen, 2000) อย่างไรก็ตามการสร้าง ε-(γ-glutamyl)

lysine bond ที่มากขึ้นอาจขัดขวางการเกิดโครงร่างตาข่ายสามมิติที่ต่อเนื่องของเจล โดย Hsieh, Tsai และ Jiang (2002) รายงานว่าการใช้ MTGase ที่ความเข้มข้นสูงมากไปจะส่งผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน โดยศึกษาผลของการใช้ MTGase เพื่อปรับปรุงคุณภาพซูริมิปลา mackerel (*Scomber australasicus*) โดยแปรปริมาณของ MTGase ที่เติมเป็น 0 – 0.6 unit/g surimi (1 unit ของ MTGase คือปริมาณของ MTGase ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการสร้าง 1 µmol ของ hydroxamic acid ในเวลา 1 นาทีที่อุณหภูมิ 37 °C) จากนั้นนำซูริมิไปทำให้เกิดเป็นเจลที่ 30 และ 45 °C นาน 60 นาที แล้วให้ความร้อนที่ 90 °C นาน 30 นาทีเพื่อให้เจลแข็งตัว วัดคุณภาพเจลซูริมิพบว่าค่า for ce และ distance ของเจลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และค่าทั้งสองมีค่าสูงสุดเมื่อเติม MTGase 0.5 unit/g surimi ซึ่งค่า force และ distance นี้สูงกว่าซูริมิที่ไม่เติม MTGase 2.5 และ 1.5 เท่า ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม Hsieh และคณะ (2002) รายงานว่าเมื่อเติม MTGase มากกว่า 0.5 unit/g surimi ค่า force และ distance ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการสร้าง ε-(γ-glutamyl) lysine bond ที่มากขึ้นจะขัดขวางการเกิดโครงร่างตาข่ายสามมิติที่ต่อเนื่องของเจล ทำให้เจลแตกง่าย

เมื่อพิจารณาถึงผลของกระบวนการให้ความร้อนต่อการเกิดเจลของ SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ที่เท่ากัน การให้ความร้อนทั้ง 2 วิธีให้ค่า gel strength ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แม้ว่าค่า gel strength ของกระบวนการการให้ความร้อนวิธีที่ 1 จะสูงกว่าวิธีที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI 12% w/w และความเข้มข้นของ MTGase 0.6% w/w ก็ตาม ตามที่ทราบกันดีว่าในการชักนำให้เกิดเจลโปรตีนด้วยความร้อน การให้ความร้อนเป็นสิ่งจำเป็นเบื้องต้นเพื่อให้เกิดการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน เพื่อการสร้างโครงสร้างของเจล (Lee and Rha, 1978; Liu et al., 2004) อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนเบื้องต้นแก่สารละลายโปรตีนมีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณภาพของเจล เช่น วิธีการให้ความร้อน อัตราการให้ความร้อน อุณหภูมิที่ใช้ และระยะเวลาในการให้ความร้อน (Foegeding et al. 1986; Tang, 2007) โดยการชักนำให้เกิดเจลโปรตีนด้วย MTGase จำเป็นต้องให้การเชื่อมข้ามโดย MTGase มีอัตราเร็วสูงกว่าการตกตะกอนของโปรตีนด้วยความร้อนจึงจะเกิดโครงสร้างเจลได้ดีและเจลมีค่า gel strength สูง ในทางกลับกันหากอัตราการตกตะกอนของโปรตีนมีอัตราเร็วสูงกว่าการเชื่อมข้ามโดย MTGase จะทำให้การสร้างโครงสร้างเจลเกิดได้ช้าลง และเจลมีค่า gel strength ลดลง (Tang et al., 2006a, b, 2007) จากการศึกษาผลของการให้ความร้อนแก่นมถั่วเหลืองต่อค่า gel strength และโครงสร้างของเจลเต้าหู้ที่เตรียมโดยใช้ MTGase ของ Tang (2007) โดยใช้อัตราเร็วในการให้ความร้อนแก่นมถั่วเหลือง 3 ระดับคือ 1.6, 6.3 และ 23.8 °C/นาที พบว่าการให้ความร้อนในอัตราเร็ว 1.6 และ 6.3 °C/นาที ทำให้โครงสร้างของโปรตีนเกิดการคลายเกลียวได้มากกว่าการให้ความร้อนในอัตราเร็ว 23.8 °C/นาที เนื่องจากการให้ความร้อนใน

อัตราเร็วสูงมากๆ จะทำให้โปรตีนเกิดการคลายเกลียวและเสียสภาพโดยสมบูรณ์ และเกิดการรวมตัวกันของโปรตีนได้ง่าย ซึ่งการรวมตัวกันของโปรตีนที่มากเกินไปจะไปขัดขวางการเกิดการเชื่อมข้ามของโมเลกุลโปรตีนจากการเร่งปฏิกิริยาของ MTGase ส่งผลให้เจลที่เตรียมโดยการให้ความร้อนในอัตราเร็วสูงมีค่า gel strength ลดลงตามอัตราการให้ความร้อนที่เพิ่มขึ้น โดยทั่วไปเจลโปรตีนจะมีการสร้างโครงร่างตาข่ายสามมิติที่สมบูรณ์เมื่อให้ความร้อนอย่างช้าๆ (Camou, Sebranek and Olson, 1989)

ในการทดสอบลักษณะทางเนื้อสัมผัส ค่า gel strength อาจไม่สามารถบ่งบอกลักษณะทางเนื้อสัมผัสของเจลได้ทั้งหมด และเนื่องจาก SPI นิยมใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ไส้กรอก ผลิตภัณฑ์เนื้อขึ้นรูป ดังนั้นจึงศึกษาลักษณะเนื้อสัมผัสโดยการวัดค่า Texture Profile Analysis (TPA) ด้วย ซึ่งแสดงผลดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ลักษณะเนื้อสัมผัสของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ

สมบัติเชิงกล	ความเข้มข้นของ SPI (% w/w)	กระบวนการให้ความร้อน	ความเข้มข้นของ MTGase (% w/w)		
			0.2	0.4	0.6
Hardness (g)	12	วิธีที่ 1	$69.24^{ab} \pm 9.29$	$95.26^{c} \pm 10.45$	$93.29^{bc} \pm 8.07$
		วิธีที่ 2	$60.61^{a} \pm 5.91$	$81.07^{abc} \pm 10.54$	$70.10^{ab} \pm 9.41$
	14	วิธีที่ 1	$375.29^{d} \pm 44.69$	$412.58^{f} \pm 44.75$	$486.92^{g} \pm 47.39$
		วิธีที่ 2	$386.43^{de} \pm 45.88$	$406.84^{ef} \pm 37.04$	$396.99^{def} \pm 45.88$
Cohesiveness	12	วิธีที่ 1	$0.24^{a} \pm 0.02$	$0.42^{bc} \pm 0.06$	$0.39^{b} \pm 0.05$
		วิธีที่ 2	$0.39^{b} \pm 0.04$	$0.41^{b} \pm 0.05$	$0.46^{c} \pm 0.04$
	14	วิธีที่ 1	$0.52^{d} \pm 0.06$	$0.60^{e} \pm 0.04$	$0.77^{g} \pm 0.07$
		วิธีที่ 2	$0.54^{d} \pm 0.07$	$0.69^{f} \pm 0.10$	$0.71^{f} \pm 0.08$
Springiness	12	วิธีที่ 1	$0.14^{b} \pm 0.01$	$0.18^{c} \pm 0.02$	$0.18^{c} \pm 0.01$
		วิธีที่ 2	$0.12^{a} \pm 0.01$	$0.14^{b} \pm 0.01$	$0.13^{ab} \pm 0.02$
	14	วิธีที่ 1	$0.38^{d} \pm 0.05$	$0.40^{e} \pm 0.02$	$0.44^{g} \pm 0.03$
		วิธีที่ 2	$0.42^{ef} \pm 0.03$	$0.43^{fg} \pm 0.02$	$0.42^{fg} \pm 0.03$

หมายเหตุ a, b, c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันสำหรับค่าสมบัติเชิงกลเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Hardness คือ ค่าแรงสูงสุดที่ได้จากการกดครั้งที่ 1 เมื่อพิจารณาผลการทดลองในตารางที่ 4.4 พบว่าการใช้ความเข้มข้น SPI และ MTGase เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่า hardness มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการเชื่อมข้ามโดย MTGase ได้มากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ที่เพิ่มขึ้น (Imm, Lian and Lee, 2000) ทำให้โครงสร้างของเจลมีความสม่ำเสมอ (uniform) (Sakamoto, Kumasawa and Motoki, 1994) เมื่อพิจารณาผลของการให้ความร้อนต่อการเกิดเจล SPI ที่ความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ที่เท่ากันพบว่าวิธีการให้ความร้อนทั้งสองวิธีให้เจลที่มีค่า hardness ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) (ภาคผนวก ข.4) ที่ความเข้มข้นของ SPI เท่ากับ 14% w/w และ MTGase 0.6% w/w การให้ความร้อนวิธีที่ 1 ให้เจล SPI ที่มีค่า hardness สูงสุด ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับการใช้ MTGase ในเจลเต้าหู้ (Tang, 2007; Tang et al., 2007) และเจลหางนมผง (Imm et al., 2000) ซึ่งพบว่าค่า hardness เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ MTGase เพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการเชื่อมข้ามระหว่างสายโซ่โปรตีนจากการเร่งปฏิกิริยาของ MTGase

สำหรับ cohesiveness จากการทดลองพบว่าเมื่อใช้วิธีการให้ความร้อนเดียวกัน ความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่า cohesiveness มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่หากพิจารณาผลของการให้ความร้อนต่อการเกิดเจล SPI พบว่าวิธีการให้ความร้อนทั้งสองวิธีให้ค่า cohesiveness ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) (ภาคผนวก ข.5) เช่นเดียวกับค่า gel strength และ hardness

สำหรับ springiness มีรายงานว่าเจลของหางนมผง (Imm et al., 2000) เจลของไกลซินินที่สกัดจากถั่วเหลือง (Chanyongvorakul et al., 1994, 1995) และเจลของเบต้า-แลคโตโกลบูลิน (Dickinson and Yamamoto, 1996) ที่เตรียมโดยใช้ความร้อนร่วมกับ MTGase มีค่า gel strength และ springiness มากกว่าเจลที่เตรียมโดยการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว จากงานวิจัยนี้พบว่าการเพิ่มความเข้มข้น SPI ส่งผลให้ค่า springiness มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับการเพิ่มความเข้มข้นของ MTGase แม้ว่าที่ความเข้มข้นของ SPI เท่ากับ 14% w/w ความเข้มข้นของ MTGase เท่ากับ 0.6% w/w และใช้วิธีการให้ความร้อนที่ 2 จะมีค่า springiness ที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) (ภาคผนวก ข.6) จากวิธีการให้ความร้อนที่ 1 ก็ตาม และเมื่อพิจารณาผลของวิธีการให้ความร้อน พบว่าการให้ความร้อนวิธีที่ 1 จะให้ค่า springiness สูงกว่าวิธีที่ 2 ซึ่งเห็นผลชัดเจนในตัวอย่างที่ใช้ SPI เข้มข้น 12 % w/w ในขณะที่การใช้ SPI เข้มข้น 14 % w/w วิธีการให้ความร้อนวิธีที่ 2 จะให้ค่า springiness สูงกว่าวิธีที่ 1 แม้ว่าค่าที่วัดได้จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ตัวเลขค่า springiness แตกต่างกันไม่มากนัก ผลการวิเคราะห์ TPA ที่ได้จากงานวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานของ Wang และคณะ (2007) ซึ่งศึกษาผลของ MTGase ต่อค่า hardness, cohesiveness, adhesiveness และ chewiness ของเจลกลูเตน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากแป้งสาลี โดยพบว่าเจลกลูเต็นที่เตรียมโดยใช้ MTGase มีค่า hardness, cohesiveness, adhesiveness และ chewiness สูงกว่าเจลที่ไม่ใช้ MTGase และการให้ความร้อนแก่กลูเต็นที่ 100 °C เป็นเวลา 30, 60 และ 120 นาที ก่อนเติม MTGase ส่งผลให้ค่า hardness เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากความร้อนทำให้โมเลกุลโปรตีนในกลูเต็นคลายตัว ส่งผลให้หน่วยย่อยไลซีนและกลูตามีนปรากฏออกมาที่ผิวหน้ามากขึ้น และเกิดการสร้างพันธะเชื่อมข้ามโดย MTGase ได้ดีขึ้น

4.2.2 การศึกษาความสามารถในการอุ้มน้ำของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน

จากโครงสร้างของเจลที่เป็นโครงร่างตาข่าย สมบัติที่สำคัญอีกประการหนึ่งของเจล คือความสามารถในการอุ้มน้ำ โดยน้ำจะถูกเก็บกักไว้ในโครงร่างตาข่ายได้ มีรายงานว่าเจล SPI มีสมบัติในการอุ้มน้ำได้ดีโดยสามารถอุ้มน้ำได้มากกว่าเจลจากโปรตีนอื่นๆ เช่น โปรตีนนม และด้วยสมบัตินี้ทำให้นิยมใช้ SPI เป็นส่วนผสมในอาหารต่างๆ เช่น โยเกิร์ต เนื้อขึ้นรูป เนื่องจากช่วยอุ้มน้ำได้ดี ส่งผลให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ดีขึ้น (Zayas, 1997) โครงสร้างของเจลส่งผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำ เจลที่มีการจัดเรียงตัวแบบ particulate network จะมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับ fine-stranded network (Foegeding, 2007) ตารางที่ 4.5 แสดงความสามารถในการอุ้มน้ำของเจล SPI ในรูปของค่า expressible water โดยค่า expressible water แสดงปริมาณน้ำที่แยกออกมาได้เมื่อนำตัวอย่างเจลไปเหวี่ยงแยก ซึ่งตัวอย่างที่มีค่า expressible water สูง แสดงว่าเจลมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำ

จากตารางที่ 4.5 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ SPI เพิ่มขึ้น ค่า expressible water ของเจล SPI ลดลง นั่นคือความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลสูงขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากความเข้มข้นของ SPI ที่สูงขึ้น ทำให้มีปริมาณของกรดอะมิโนชนิดไฮโดรฟิลิกมากขึ้น ส่งผลให้มีการจับโมเลกุลน้ำไว้ภายในเจลได้มาก อีกทั้งการเพิ่มความเข้มข้นของ SPI เป็นการเพิ่มปริมาณหน่วยย่อยของกลูตามีนและไลซีนให้สูงขึ้น ทำให้มีปริมาณสับสเตรทของ MTGase มากขึ้นทำให้เกิดการเชื่อมข้ามระหว่างสายโซ่โปรตีนได้มากขึ้นด้วย ที่ความเข้มข้นของ SPI หนึ่งๆ ค่า expressible water ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนวิธีเดียวกันมีค่าลดลงตามความเข้มข้นของ MTGase ที่เพิ่มขึ้น แม้ว่าการเตรียมเจลโดยใช้ความเข้มข้นของ SPI 14% w/w และกระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 2 พบว่าตัวอย่างที่ใช้ความเข้มข้นของ MTGase ต่างๆ มีค่า expressible water ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญก็ตาม (*p*>0.05) (ภาคผนวก ข.7) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้ MTGase ทำให้เจลมีโครงร่างตาข่ายที่สามารถอุ้มน้ำได้เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการสร้าง

ε-(γ-glutamyl) lysine bond ที่มากขึ้นทำให้เก็บกักน้ำไว้ในโครงร่างของเจลได้ดี (Imm et al., 2000; Wang et al. 2007)

ตารางที่ 4.5 ความสามารถในการอุ้มน้ำ (แสดงในรูป expressible water) ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ

สมบัติ	ความเข้มข้นของ SPI (% w/w)	กระบวนการให้ความร้อน	ความเข้มข้นของ MTGase (% w/w)		
			0.2	0.4	0.6
Expressible water (%)	12	วิธีที่ 1	$41.06^{f} \pm 5.08$	$41.99^{f} \pm 4.84$	$32.01^{d} \pm 3.96$
		วิธีที่ 2	$40.89^{f} \pm 3.54$	$36.06^{e} \pm 3.22$	$35.45^{e} \pm 2.50$
	14	วิธีที่ 1	$22.22^{b} \pm 2.38$	$18.50^{a} \pm 2.16$	$20.14^{ab} \pm 2.27$
		วิธีที่ 2	$29.53^{c} \pm 2.61$	$28.54^{c} \pm 3.12$	$28.33^{c} \pm 1.61$

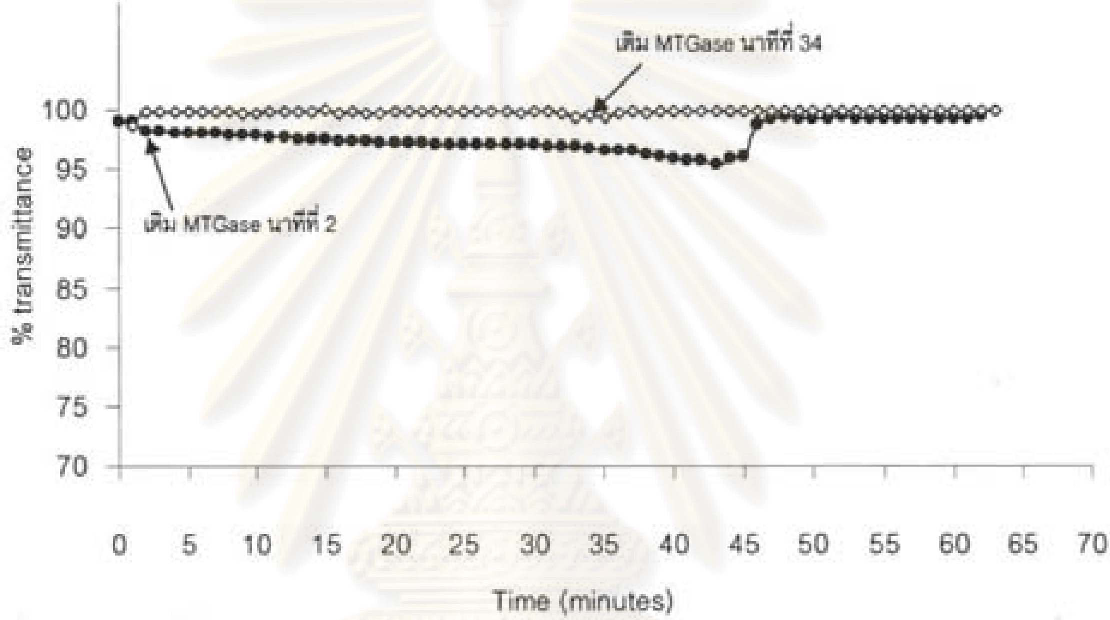
หมายเหตุ a, b,c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาถึงผลของกระบวนการให้ความร้อน การใช้ SPI และ MTGase ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน พบว่าโดยทั่วไปเจลที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1 มีค่า expressible water ต่ำกว่าเจลที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 2 ซึ่งเห็นชัดเจนในตัวอย่างที่ใช้ SPI ความเข้มข้น 14% w/w

4.2.3 การติดตามการรวมตัวกันของโปรตีนใน SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของกระบวนการให้ความร้อนทั้งสองวิธีต่อการรวมตัวกันของโปรตีนในสารละลาย SPI เมื่อมี MTGase ร่วมด้วย การรวมตัวกันของโปรตีนในสารละลาย SPI เข้มข้น 0.001% w/w เมื่อมี MTGase เข้มข้น 0.6% w/w โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนทั้งสองวิธี ติดตามโดยการวัดค่าแสงส่องผ่าน (transmittance) ที่ความยาวคลื่น 600 nm ที่เปลี่ยนแปลงไปทุก 1 นาที (รูปที่ 4.2) โดยการศึกษากระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1 เป็นการให้ความร้อนแก่สารละลาย SPI ที่อุณหภูมิ 50 °C วัดค่าแสงส่องผ่านของสารละลายในนาทีที่ 0 ของการทดลอง เติม MTGase ที่นาทีที่ 2 และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C ต่อไปอีก 30 นาทีจากนั้นจึงให้ความร้อนเพิ่มขึ้นเพื่อให้สารละลายมีอุณหภูมิเท่ากับ 92 °C ซึ่งสารละลาย SPI มีอุณหภูมิ

เท่ากับ 92 °C ที่นาทีที่ 44 จากนั้นให้ความร้อนแก่สารละลาย SPI ที่อุณหภูมิเท่ากับ 92 °C ต่อไปอีก 30 นาทีจึงหยุดการทดลอง ส่วนการศึกษากระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 2 เป็นการให้ความร้อนแก่สารละลาย SPI ที่อุณหภูมิ 92 °C วัดค่าแสงส่องผ่านของสารละลายในนาทีที่ 0 ของการทดลอง และให้ความร้อนแก่สารละลาย SPI ที่อุณหภูมิคงที่ที่ 92 °C นาน 30 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิลงเพื่อให้สารละลายมีอุณหภูมิเท่ากับ 50 °C ซึ่งสารละลาย SPI มีอุณหภูมิเท่ากับ 50 °C เมื่อนาทีที่ 33 จึงเติม MTGase ในนาทีที่ 34 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C ต่อไปอีก 30 นาทีจึงหยุดการทดลอง



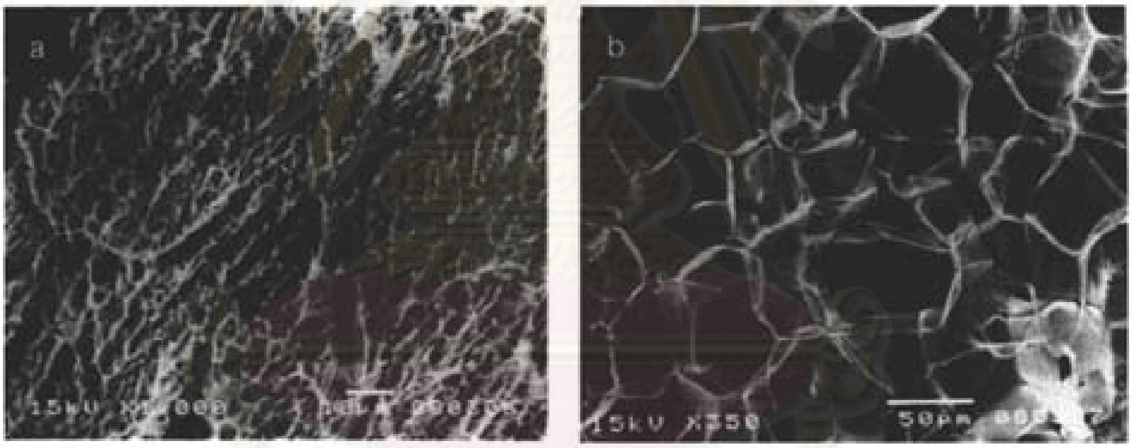
รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าแสงส่องผ่านของสารละลาย SPI ความเข้มข้น 0.001% w/w ซึ่งมี MTGase 0.6% w/w ที่ความยาวคลื่น 600 nm โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1 (—●—) และวิธีที่ 2 (—○—)

จากผลการทดลองพบว่าการให้ความร้อนวิธีที่ 1 เมื่อให้ความร้อนที่ 50 °C และเติม MTGase สารละลายจะมีความขุ่นมากขึ้นโดยค่าแสงส่องผ่านมีค่าลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการทำงานของ MTGase ในการเชื่อมข้ามสายโปรตีนในขณะให้ความร้อนที่ 50 °C ทำให้อนุภาคของโปรตีนมีขนาดใหญ่ขึ้นสารละลายจึงมีค่าแสงส่องผ่านลดลง (Tang et al., 2006b) และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 92 °C ค่าแสงส่องผ่านกลับมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากการที่โปรตีนในสารละลาย SPI รวมตัวกันตกตะกอน ซึ่งตะกอนโปรตีนรวมกันอยู่ที่ด้านล่างของคิวเวิตต์ซึ่งอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าช่องแสงส่องผ่านและทำให้สารละลายด้านบนมีความใสเพิ่มขึ้น ในขณะที่การให้ความร้อนวิธี 2 ค่าแสงส่องผ่านไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดการทดลอง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 92 °C โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติอย่างรวดเร็วและรวมตัวกันตกตะกอนอยู่

ด้านล่างของคิวเวตต์ซึ่งอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าช่องแสงส่องผ่าน เมื่อเติม MTGase ที่อุณหภูมิ 50 °C MTGase จะเร่งปฏิกิริยาเชื่อมข้ามสายโซ่โปรตีนที่เกิดการตะกอนอยู่ด้านล่างนั้น ส่งผลให้ค่าแสงส่องผ่านของสารละลายด้านบนที่วัดได้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดการทดลอง

4.2.4 โครงสร้างจุลภาคของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน

ผลของการให้ความร้อนต่อการเกิดเจลของ SPI ได้รับความสนใจศึกษาอย่างกว้างขวาง มีรายงานว่าการให้ความร้อนแก่ SPI ที่อุณหภูมิ 75-85 °C เพื่อให้เกิดการเสียสภาพธรรมชาติของเบต้า-คอนไกลซินิน ซึ่งเป็นการเสียสภาพธรรมชาติเพียงบางส่วนจะเหมาะสมต่อการทำงานของ MTGase มากกว่าการเสียสภาพธรรมชาติอย่างสมบูรณ์ (Tang and Jiang, 2006; Tang et al., 2007) เมื่อศึกษาโครงสร้างจุลภาคของตัวอย่างแช่เยือกแข็งด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (cryogenic scanning electron microscopy, cryo-SEM) เจล SPI ที่เตรียมโดยกระบวนการให้ความร้อน 2 วิธี ที่ความเข้มข้นของ SPI 14% w/w และ MTGase 0.6% w/w มีลักษณะดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 ลักษณะเจลที่ใช้ SPI เข้มข้น 14% w/w และ MTGase เข้มข้น 0.6% w/w ซึ่งเตรียมโดยกระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1 (กำลังขยาย 1,000 เท่า) (a) และวิธีที่ 2 (กำลังขยาย 350 เท่า) (b)

จากรูปที่ 4.3 พบว่ากระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันมีผลต่อโครงสร้างของเจล โดยกระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1 (รูปที่ 4.3 a) ให้เจลที่มีลักษณะเป็นโครงร่างตาข่ายที่เรียกว่า fine-stranded gel ซึ่งมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูง ในขณะที่กระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 2 (รูปที่ 4.3b) ให้เจลที่มีโครงสร้างแบบ coarse-aggregated network ที่อัดตัวกันแน่น จากโครงสร้างจุลภาคของเจล SPI ดังกล่าวสนับสนุนผลการติดตามการรวมตัวกันของโปรตีนใน SPI เข้มข้น 0.001% w/w ด้วย MTGase เข้มข้น 0.6% w/w โดยการวัดค่าแสงส่องผ่าน (4.2.3) คือ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1 ทำให้โปรตีนเกิดการคลายเกลียวและเกิดจากการเกิดรวมตัวกันตกตะกอนของโปรตีนในสารละลาย SPI อย่างช้าๆ ซึ่งอัตราเร็วของการรวมตัวกันของโปรตีนโดยความร้อนช้ากว่าอัตราเร็วของการเชื่อมข้ามสายโปรตีนโดย MTGase ทำให้เจลที่เตรียมได้มีโครงสร้างที่ละเอียดและสม่ำเสมอและมีค่า gel strength สูง (Tang et al., 2006a,b, 2007) ในขณะที่การให้ความร้อนวิธีที่ 2 มีอัตราเร็วของการรวมตัวกันของโปรตีนโดยความร้อนเร็วกว่าอัตราเร็วของการเชื่อมข้ามสายโปรตีนโดย MTGase ทำให้เจลที่เตรียมได้มีโครงสร้างที่หยาบและค่า gel strength ต่ำ นอกจากนี้งานวิจัยของ Tang (2007) ทำให้ทราบว่าการให้ความร้อนแก่นมถั่วเหลืองส่งผลต่อค่า gel strength และโครงสร้างของเจลเต้าหู้ที่เตรียมโดยใช้ MTGase เข้มข้น 100 unit/100 ml ของนมถั่วเหลือง โดยใช้กระบวนการให้ความร้อน 2 วิธีคือให้ความร้อนหนึ่งขั้นตอน (95 °C นาน 5 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 37 °C จึงเติม MTGase) และการให้ความร้อนสองขั้นตอน (75 °C นาน 5 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 95 °C นาน 5 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 37 °C จึงเติม MTGase) พบว่าการให้ความร้อนแบบขั้นตอนเดียวจะให้เจลที่ได้เป็นแบบ particulate network มีลักษณะที่โมเลกุลของโปรตีนตกตะกอนและรวมกันเป็นโครงร่างตาข่าย เนื่องจากการให้ความร้อนระดับนี้ทำให้โปรตีนในนมถั่วเหลืองเสียสภาพธรรมชาติอย่างสมบูรณ์ ซึ่งโปรตีนที่เสียสภาพนี้ไม่เสถียร จะเกิดการเปลี่ยนแปลงต่อไป คือการรวมตัวกันเองหรือรวมตัวกับองค์ประกอบอื่นๆ (เช่น ลิปิด) เนื่องจากโปรตีนที่เสียสภาพจะมีหมู่ที่เป็นไฮโดรโฟบิกปรากฏขึ้นที่ผิวหน้า ทำให้เกิดอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก ส่งผลให้เกิดเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่ที่เกิดจากการรวมตัวกันที่มีความเสถียรค่อนข้างสูง ซึ่งโครงสร้างนี้จะมีหมู่ที่เป็นไฮโดรโฟบิกอยู่ด้านในและหมู่ที่เป็นไฮโดรฟิลิกอยู่ที่ผิวนอก หากโครงสร้างที่เกิดการรวมตัวกันนี้มีความไม่สม่ำเสมอ (inhomogeneity) และมีความสามารถในการแพร่ (diffusivity) ที่ต่ำทำให้มีผลไปจำกัดการเชื่อมข้ามสายโปรตีนโดย MTGase โดยมีเพียงหมู่ที่อยู่ด้านนอกเท่านั้นที่สามารถเกิดการเชื่อมข้ามได้โดย MTGase ซึ่งสาเหตุนี้อธิบายลักษณะที่เป็น particulate network ของเต้าหู้ที่จากนมถั่วเหลืองที่ให้ความร้อนที่ 95 °C เป็นเวลา 5 นาที ระดับการรวมตัวของโปรตีนในนมถั่วเหลืองที่เกิดจากการเสียสภาพธรรมชาติมีผลต่อสมบัติของผลิตภัณฑ์เต้าหู้สุดท้าย ในกรณีนี้โครงสร้างที่เกิดจากการรวมตัวกันจะเป็นหน่วยพื้นฐาน (อยู่ในรูปแบบ thread และ particulate) ของโครงสร้างเจล ดังนั้นอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกที่เกิดขึ้นภายในโครงสร้างที่รวมตัวกันและการเกิดพันธะเชื่อมข้ามระหว่างหมู่ที่ผิวด้านนอกของโครงสร้างจะมีส่วนในการเกิดเป็นเจลของเต้าหู้ที่เตรียมจากนมถั่วเหลืองที่ผ่านการให้ความร้อนอย่างรุนแรง ในขณะที่การให้ความร้อนแบบสองขั้นตอนจะให้เจลที่ได้เป็นแบบ random aggregated network มีลักษณะที่เป็นเนื้อเดียวกันและและเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบมากกว่าการให้ความร้อนแบบขั้นตอนเดียว ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Liu และคณะ (2004)

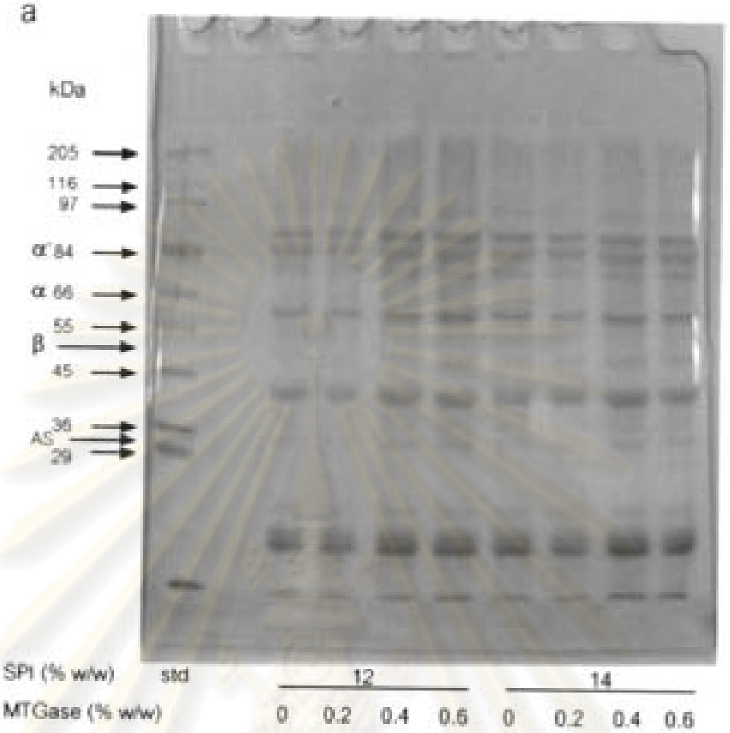
จากผลการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของเจล SPI ที่เตรียมโดย MTGase (4.2.1) แสดงให้เห็นว่าการใช้ MTGase เข้มข้น 0.6% w/w ให้ค่า gel strength, hardness, cohesiveness, springiness และความสามารถในการอุ้มน้ำสูงสุด จึงเลือกใช้ความเข้มข้น MTGase ที่ 0.6% w/w ในการศึกษาการประยุกต์ใช้ MTGase ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลา เมื่อพิจารณาผลของกระบวนการให้ความร้อน พบว่าการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของเจล SPI ไม่สามารถระบุความแตกต่างของวิธีการให้ความร้อนทั้ง 2 วิธีได้ แต่เมื่อติดตามการรวมตัวกันของโปรตีนขณะเตรียมเจล SPI ด้วย MTGase โดยการวัดค่าแสงส่องผ่านที่ความยาวคลื่น 600 nm และลักษณะโครงสร้างจุลภาคของเจลด้วย cryo-SEM ทำให้ทราบว่าวิธีการให้ความร้อนวิธีที่ 1 เหมาะสมต่อการเตรียมเจล SPI โดยใช้ MTGase เนื่องจากเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้วิธีการให้ความร้อนวิธีที่ 1 มีค่า springiness และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้วิธีการให้ความร้อนวิธีที่ 2 ในขณะที่ค่า gel strength, hardness, cohesiveness ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) จึงเลือกวิธีการให้ความร้อนที่ 1 ในการศึกษาการประยุกต์ใช้ SPI และ MTGase ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลาที่จะศึกษาในหัวข้อถัดไป นอกจากนี้การให้ความร้อนวิธีที่ 1 มีขั้นตอนการเตรียมที่สอดคล้องกับกระบวนการผลิตลูกชิ้นปลาโดยทั่วไปอีกด้วย

4.2.5 รูปแบบของแถบโปรตีน (protein pattern) บน SDS-PAGE ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน

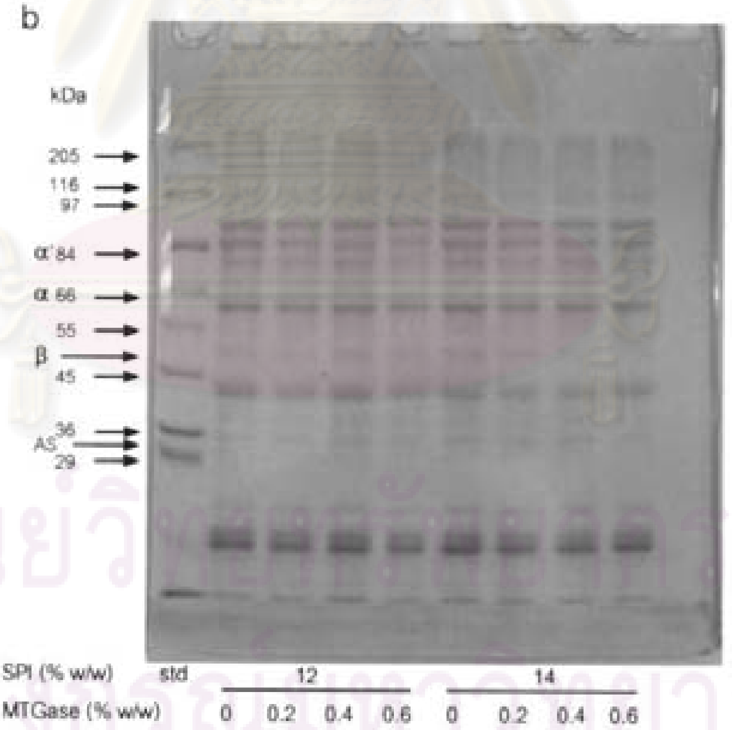
จากการติดตามการเชื่อมข้ามโมเลกุลโปรตีนของ SPI จากการทำงานของ MTGase ด้วย SDS-PAGE ดังแสดงในรูปที่ 4.4 ในโปรตีนของ SPI จะพบหน่วยย่อยของเบต้า-คอนไกลซินิน ได้แก่ α', α และ β ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 84, 66 และ 50 kDa ตามลำดับ ในขณะที่ไกลซินินประกอบด้วย acidic subunit (AS) (36 kDa) และ basic subunit (BS) (14.5 kDa) เมื่อตรวจสอบรูปแบบแถบโปรตีนของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase ด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่ากระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของหน่วยย่อยของเบต้า-คอนไกลซินินและไกลซินิน ดังจะเห็นได้จากแถบของหน่วยย่อยเหล่านี้ไม่แตกต่างเมื่อใช้กระบวนการให้ความร้อนที่ต่างกัน แต่กระบวนการให้ความร้อนส่งผลต่อการจัดเรียงตัวของโครงสร้างโปรตีนของ SPI ขณะเกิดเจลคือกระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1 ให้เจลที่มีลักษณะเป็นโครงร่างตาข่ายที่เรียกว่า fine-stranded gel ซึ่งมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูง (รูปที่ 4.3a) ในขณะที่กระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 2 (รูปที่ 4.3b) ให้เจลที่มีโครงสร้างแบบ coarse-aggregated network ที่อัดตัวกันแน่น ซึ่งสามารถอธิบายได้ด้วยโครงสร้างจุลภาคที่ศึกษาด้วย cryo-SEM และความสามารถในการอุ้มน้ำที่แตกต่างกัน ซึ่งการจัดเรียงตัวของโปรตีนที่แตกต่างกัน

ของเจล SPI สามารถอธิบายได้ด้วยการติดตามการรวมตัวกันของโปรตีนใน SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase ด้วยการวัดค่าแสงส่องผ่านที่ความยาวคลื่น 600 nm

a



b



รูปที่ 4.4 รูปแบบแถบโปรตีนของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1 (a) และวิธีที่ 2 (b) ความเข้มข้นของ SPI และ MTGase แสดงในหน่วย % w/w

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อพิจารณาถึงการทำงานของ MTGase ต่อการเกิดเจลของ SPI โดยเปรียบเทียบแถบโปรตีนของเจล SPI ที่ไม่เติม MTGase กับแถบโปรตีนของเจล SPI ที่เตรียมโดย MTGase ระดับต่างๆ พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ MTGase ไม่ส่งผลมีการเปลี่ยนแปลงของหน่วยย่อยของโปรตีนเบต้า-คอนไกลซินินและไกลซินิน ทั้งนี้อาจเนื่องจากทั้งโปรตีนเบต้า-คอนไกลซินินและไกลซินินเป็นโปรตีนที่สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือเจือจาง อีกทั้งไลซีนซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่เป็นสับสเตรทของ MTGase มีค่า pKa เท่ากับ 10.5 จึงสามารถแตกตัวได้ดีที่ pH สูง แต่ในงานวิจัยครั้งนี้ศึกษาการเกิดเจลของ SPI ที่ค่า pH ที่เป็นกลาง (pH เท่ากับ 7.42) ส่งผลให้อนุมูลของไลซีนปรากฏขึ้นบนผิวหน้าของโมเลกุลโปรตีนได้อย่างกำจัด แม้ว่ากระบวนการให้ความร้อนจะแตกต่างกัน ก็ไม่ส่งผลต่อปริมาณอนุมูลของไลซีนแต่อย่างใด ส่งผลให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของการเชื่อมข้ามโมเลกุลโปรตีนจากการเร่งปฏิกิริยาของ MTGase ไม่ชัดเจนนัก

มีการศึกษาการเชื่อมข้ามของโปรตีนใน SPI โดยการทำงานของ MTGase อย่างกว้างขวางโดย Chanyongvorkul และคณะ (1994) ศึกษาการเกิดเจลของไกลซินินที่เตรียมโดยใช้ MTGase และให้ความร้อนที่ 37 °C นาน 0, 5, 10, 20, 40, 50, 60, 90 และ 120 นาที หลังจากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 20 °C นาน 20 ชั่วโมง ก่อนนำมาวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE พบว่าการเพิ่มเวลาในการให้ความร้อนจะทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโมเลกุลโปรตีนให้มีขนาดใหญ่ขึ้นจากการเร่งปฏิกิริยาของ MTGase โดยเจลที่ให้ความร้อนนาน 90 นาที แถบโปรตีน acidic subunit ของไกลซินินที่มีขนาด 34 kDa จะจางลงมากกว่า 80% ในขณะที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของแถบโปรตีน basic subunit ของไกลซินิน ทั้งนี้อาจเนื่องจากโครงสร้างจตุรภูมิของไกลซินินที่มีโครงสร้างแบบเฮกซะเมอร์ซึ่งมี acidic subunit อยู่ภายนอกโมเลกุล ดังนั้น MTGase จึงสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับ acidic subunit ได้ง่ายกว่า basic subunit ที่อยู่ภายในโมเลกุล นอกจากนี้ผลการศึกษาการเกิดเจล SPI ที่มีสัดส่วนของไกลซินินหรือเบต้า-คอนไกลซินินสูงที่เตรียมโดยใช้ MTGase ของ Tang et al. (2006b) ทำให้ทราบว่าหน่วยย่อย β ของเบต้า-คอนไกลซินินมีความเป็นไฮโดรโฟบิกมากกว่าหน่วยย่อย α' และ α ทำให้ active site ของ MTGase จับกับหน่วยย่อย β ได้ดีกว่าหน่วยย่อย α' และ α อย่างไรก็ตามผู้วิจัยรายงานว่าหน่วยย่อยพื้นฐาน (basic subunit) ของไกลซินินยังคงมีประสิทธิภาพในการเชื่อมข้ามจากการทำงานของ MTGase ได้ดีกว่าหน่วยย่อย β ของเบต้า-คอนไกลซินิน นอกจากนี้ Basman, Köksel และ Ng (2002) ยังศึกษาผลของการใช้ MTGase ในการเชื่อมข้ามโปรตีนถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 0, 30, 60, 120 และ 240 นาที ด้วย SDS-PAGE พบว่าเมื่อให้ความร้อนเป็นเวลา 30 และ 60 นาที จะพบแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 205-116 kDa เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากการเชื่อมข้ามแบบสุ่มของออลิโกเมอร์ของโปรตีนจากถั่วเหลือง ในขณะที่การให้ความร้อนเป็นเวลา 240 นาที ไม่พบแถบ

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 205-116 kDa ทั้งนี้เนื่องจากโมเลกุลโปรตีนเกิดการเชื่อมข้ามเป็นโปรตีนที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่จนไม่สามารถผ่าน stacking gel ลงมาได้

4.3 การใช้ SPI และ MTGase ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลา

ลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมผลิตโดยใช้สูตรลูกชิ้นปลาของคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (2545)

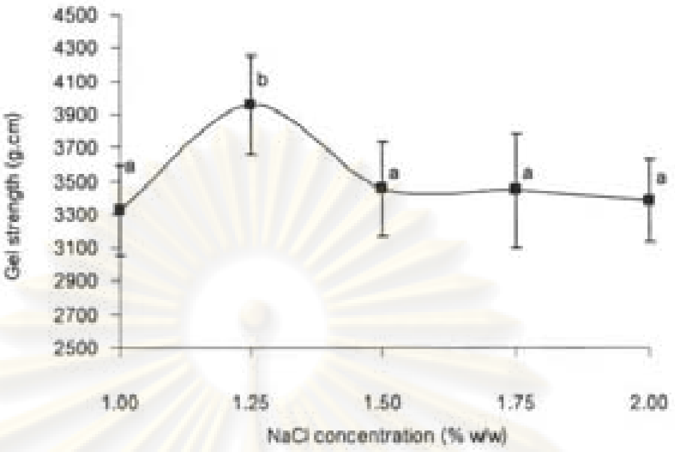
4.3.1 ผลการคัดเลือกความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่จะใช้ในการผลิตลูกชิ้นปลาสูตรควบคุม

เนื่องจากโซเดียมคลอไรด์ช่วยในการสกัดโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ซึ่งเป็นโปรตีนที่สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือเจือจางให้ออกมาจากเนื้อปลาแล้วรวมตัวกันเป็นแอกโตไมโอซิน ทำให้เนื้อปลามีสภาพเหนียวและเป็นเจลเมื่อได้รับความร้อน (Shimizu et al., 1954) จากการวิเคราะห์โครงสร้างของเจลโปรตีนปลาที่เตรียมโดยใช้เกลือที่ปริมาณแตกต่างกันด้วย SEM แสดงให้เห็นว่าเจลที่ได้จากการใช้โซเดียมคลอไรด์ปริมาณต่ำมีโครงสร้างที่จับกันแน่นและไม่ต่อเนื่อง ซึ่งสังเกตได้จากขนาดช่องว่างระหว่างโครงสร้างร่างแหของเจลที่เกิดจากการจับกันของโปรตีนมีขนาดไม่สม่ำเสมอ ขณะที่เจลที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์ปริมาณสูงมีโครงสร้างที่จับกันอย่างต่อเนื่อง ช่องว่างในโครงสร้างมีขนาดและการกระจายตัวที่สม่ำเสมอ นอกจากนี้ยังพบว่าค่า gel strength มีความสัมพันธ์กับปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่ใช้ในขั้นตอนการเตรียมโซลของการผลิตซูริมิ คือค่า gel strength เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ใช้ (จักรี ทองเรือง, 2544) Chan, Gill และ Paulson (1992) พบว่าโซเดียมคลอไรด์อาจมีส่วนช่วยให้ตำแหน่งที่สามารถถูกกระตุ้นที่เกิดการเชื่อมข้ามจากการเร่งปฏิกิริยาของ MTGase ให้ปรากฏบนผิวหน้าของโปรตีนได้อีกด้วย ดังนั้นเพื่อหาความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสมในการผลิตลูกชิ้นปลาจึงแปรความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 5 ระดับดังนี้ 1.00, 1.25, 1.50, 1.75 และ 2.00% w/w โดยใช้ค่า gel strength เป็นปัจจัยในการคัดเลือก ซึ่งแสดงผลดังในรูปที่ 4.5

ปริมาณเกลือที่เหมาะสมที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเนื้อสัมผัสดีที่สุดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของปลา พรรณวดี อภิศุภะโชคและคณะ (2545) พัฒนาผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลาจากปลาดุกอุยเทศพบว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 4% ของน้ำหนักเนื้อปลาให้ค่า springiness ของลูกชิ้นสูงสุด สำหรับงานวิจัยนี้พบว่าความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ที่ 1.25% w/w จะทำให้ลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมมีค่า gel strength สูงที่สุด อย่างไรก็ตามการผลิตลูกชิ้นปลาโดยทั่วไปมักใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.5% w/w ซึ่งนอกจากจะทำให้ลูกชิ้นมีค่า gel strength สูงแล้วยังให้รสเค็มในระดับที่เหมาะสมด้วย (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะประมง, 2545) ดังนั้นในการศึกษาการใช้ SPI

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

และ MTGase ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลาจึงเลือกใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w (สูตร A) และ 1.50% w/w (สูตร B) ในการผลิต



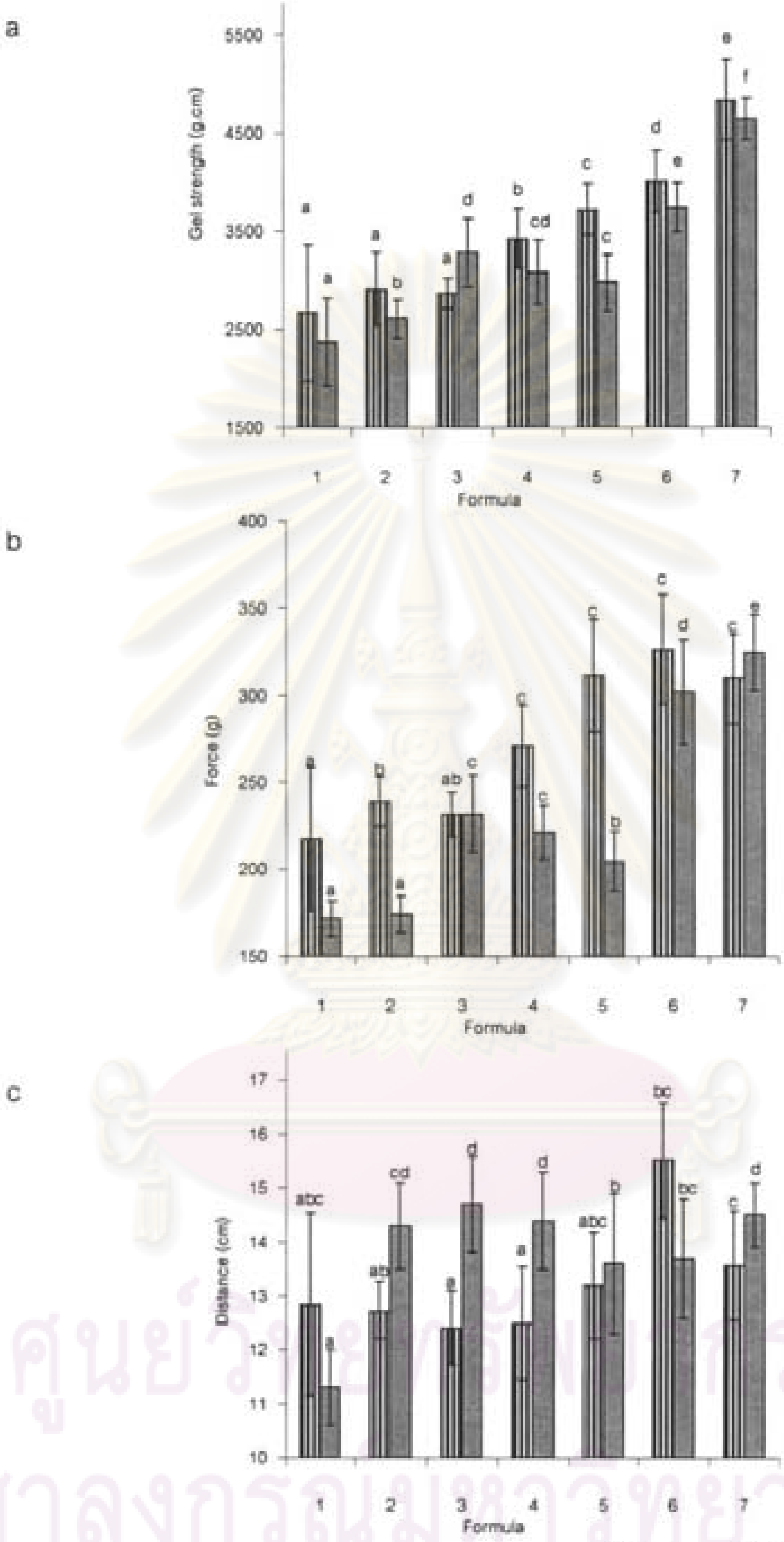
รูปที่ 4.5 Gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้นต่างๆ

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการเติมชีวพอลิเมอร์อื่นๆ เช่นโปรตีน และ สารไฮโดรคอลลอยด์ สามารถช่วยปรับปรุงความสามารถในการเกิดเจลในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ (Ikeuchi, 1964) ดังนั้น ในการศึกษาการใช้ SPI และ MTGase ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลา จึงแปรปริมาณการใช้ SPI และ/หรือแป้งสาลี เข้มข้น 2% w/w ร่วมกับการใช้หรือไม่ใช้ MTGase เข้มข้น 0.6% w/w เปรียบเทียบกับสูตรควบคุม โดยนำลูกชิ้นที่เตรียมได้มาวิเคราะห์ค่า gel strength, hardness, cohesiveness, springiness, ความสามารถในการอุ้มน้ำและค่าสีต่อไป จากนั้นเลือกสูตรลูกชิ้นที่ให้ค่า gel strength สูงที่สุด ในแต่ละระดับความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์มาเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้าน gel strength, hardness, cohesiveness, springiness ระหว่างการเก็บรักษาและอายุการเก็บรักษา ส่วนผสมของลูกชิ้นปลาสูตรต่างๆ แสดงใน 3.3.3 (ตารางที่ 3.1 และ 3.2)

4.3.2 ลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นปลา

เมื่อพิจารณาจากค่า gel strength ในรูปที่ 4.6 (a) พบว่าการใช้ SPI ทดแทนการใช้แป้งสาลี ในการปรับปรุงคุณภาพของลูกชิ้นปลา สามารถพิจารณาได้จากผลการทดลองในสูตร 2-สูตร 4 ที่แปรปริมาณสารชีวพอลิเมอร์ที่ใช้ โดยสูตร 2 ใช้แป้งสาลี 2% สูตร 3 ใช้แป้งสาลี 1% ร่วมกับ SPI 1% และสูตร 4 ใช้ SPI 2% ตามลำดับ งานวิจัยนี้พบว่าค่า gel strength มีแนวโน้มสูงขึ้นเป็นลำดับอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) (ภาคผนวก ข.13 และ ข.23) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้ SPI สามารถทดแทนการใช้แป้งสาลี และยังช่วยในการปรับปรุงค่า gel strength ของลูกชิ้นปลาได้

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4.6 Gel strength (a) force (b) และ distance (c) ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w (▥) และ 1.50% w/w (▤)

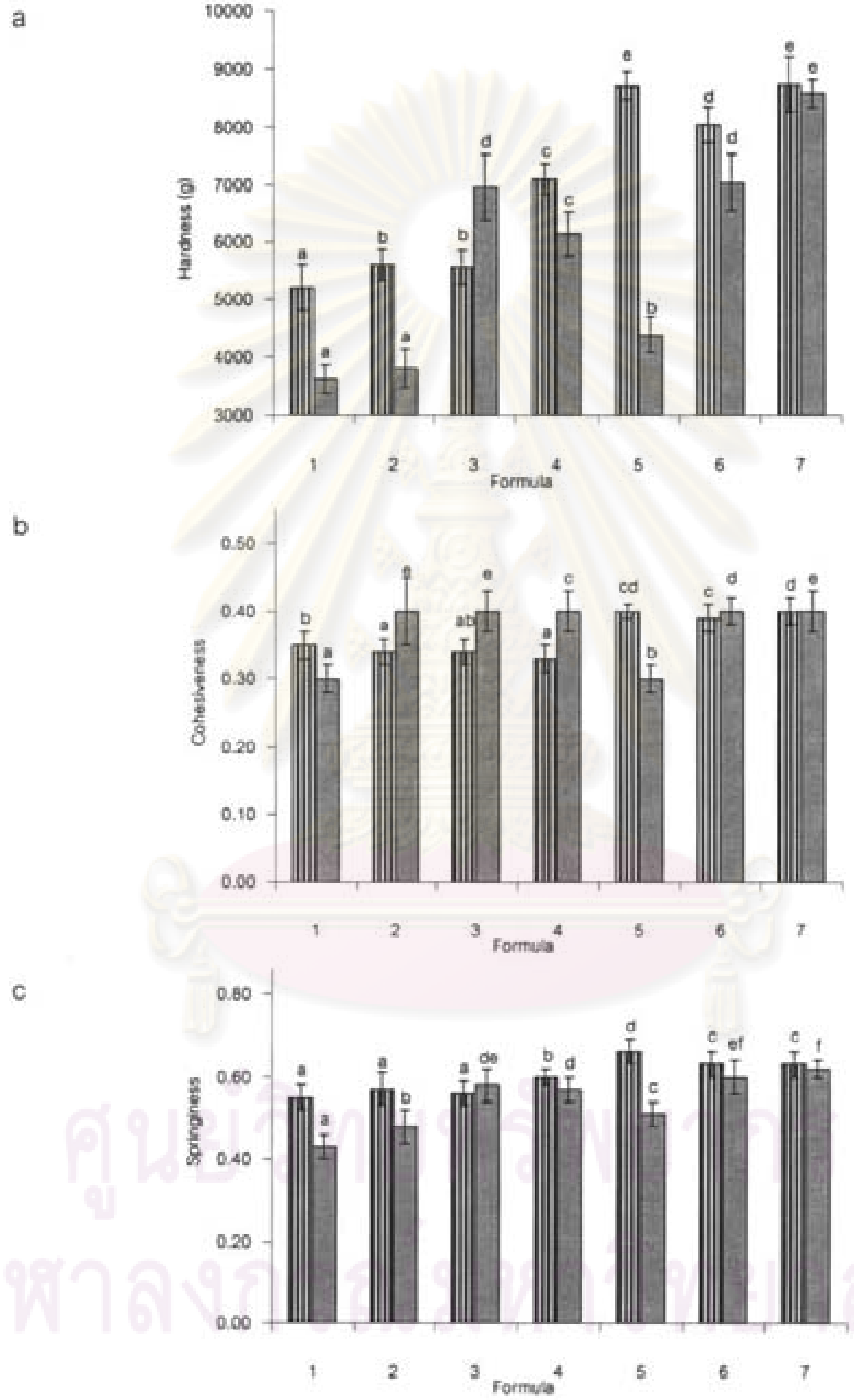
นอกจากนี้ SPI ยังเสียสภาพธรรมชาติได้ยากกว่าโปรตีนจากเนื้อสัตว์ ซึ่งเป็นการเพิ่มค่า gel strength ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ไขมันต่ำหลายชนิด (Ensor et al., 1987; Lin and Mei, 2000; Shand, 2000; Pietrasik et al., 2007) จากผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานของ Tsao และคณะ (2002) พบว่าค่า tensile strength ของผลิตภัณฑ์เนื้อหมูขึ้นรูปเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) คือผลิตภัณฑ์เนื้อหมูขึ้นรูปที่ไม่เติม SPI มีค่า tensile strength เท่ากับ 16.62 g.cm ในขณะที่ผลิตภัณฑ์เนื้อหมูขึ้นรูปที่เติม SPI เข้มข้น 10% w/w มีค่า tensile strength เท่ากับ 44.94 g.cm ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนถั่วเหลืองกับแอกโตไมโอซิน โดย Su, Bowers และ Zayas (2000) รายงานว่าการเติม SPI ลงในผลิตภัณฑ์ frankfurters ไขมันต่ำช่วยให้อนุภาคไขมันถูกตรึงไว้ภายในโครงสร้างระดับจุลภาค ส่งผลให้เป็นการเพิ่มเสถียรสภาพของการเกิดอิมัลชั่นและทำให้ผลิตภัณฑ์ frankfurters มีเนื้อสัมผัสที่แน่นขึ้น

สำหรับงานวิจัยนี้ผลของการใช้ MTGase ในการปรับปรุงคุณภาพของลูกชิ้นปลา สามารถพิจารณาเปรียบเทียบผลการทดลองเป็นคู่ได้ดังนี้ คู่ของสูตร 2 และสูตร 5, สูตร 3 และสูตร 6, สูตร 4 และสูตร 7 พบว่าลูกชิ้นปลาที่เตรียมโดยใช้ MTGase จะให้ค่า gel strength เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกันในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูขึ้นรูปที่มีโซเดียมต่ำ (Tsao et al., 2002) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้ MTGase สามารถช่วยในการปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสด้าน gel strength ของลูกชิ้นปลาได้ด้วยการเชื่อมข้ามโมเลกุลของโปรตีนด้วยพันธะโควาเลนต์จากการเร่งปฏิกิริยาของ MTGase (Cohen et al., 1979; Kahn and Cohen, 1981; Tseng et al., 2000)

เมื่อพิจารณาถึงผลของการใช้ SPI ร่วมกับการใช้ MTGase ในการปรับปรุงคุณภาพของลูกชิ้นปลาสามารถพิจารณาได้จากผลการทดลองในสูตร 5-สูตร 7 พบว่าสูตร 7 ให้ค่า gel strength สูงสุด รองลงมาคือ สูตร 6 และสูตร 5 ตามลำดับ ซึ่งสามารถสรุปได้ว่า การใช้แป้งสาลีและหรือ SPI ร่วมกับ MTGase สามารถปรับปรุงค่า gel strength ของลูกชิ้นได้ และค่า gel strength จะยิ่งเพิ่มมากขึ้น เมื่อใช้ SPI ร่วมกับ MTGase นอกจากนี้เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 2 ระดับคือ 1.25 และ 1.50% w/w พบว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w ให้เจลลูกชิ้นปลาที่มีค่า gel strength สูงกว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w ในขณะที่ Ramirez และคณะ (2002) รายงานว่าการเพิ่มความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 3 ระดับคือ 0-2% ในการผลิตแฮมจากเนื้อปลาสามารถช่วยเพิ่มค่า gel strength ของผลิตภัณฑ์ได้และจะยิ่งสูงขึ้นเมื่อมีการใช้โซเดียมคลอไรด์ร่วมกับการใช้ MTGase แต่การเพิ่มความเข้มข้นของ MTGase ตั้งแต่ 0-0.6% (1% ของ MTGase มีแอกติวิตีเท่ากับ TGase 100 unit/g) กลับไม่มีผลต่อค่า gel strength ของผลิตภัณฑ์แฮมจากเนื้อปลา

เมื่อนำตัวอย่างลูกชิ้นมาวิเคราะห์ TPA ด้าน hardness, cohesiveness และ springiness (รูปที่ 4.7) พบว่าสูตร B2-B4 มีค่า hardness และ springiness เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับลูกชิ้นปลา

สูตรควบคุม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้สารเชื่อม (แป้งสาลี และ/หรือ SPI) มีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกัน คือลักษณะการพองตัวของชีวพอลิเมอร์ที่แทรกอยู่ระหว่างโครงร่างตาข่ายของเจลที่แตกต่างกัน (จักรี ทองเรือง, 2544)



รูปที่ 4.7 Hardness (a) cohesiveness (b) และ springiness (c) ของลูกชิ้นปลาที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w (▥) และ 1.50% w/w (▩)

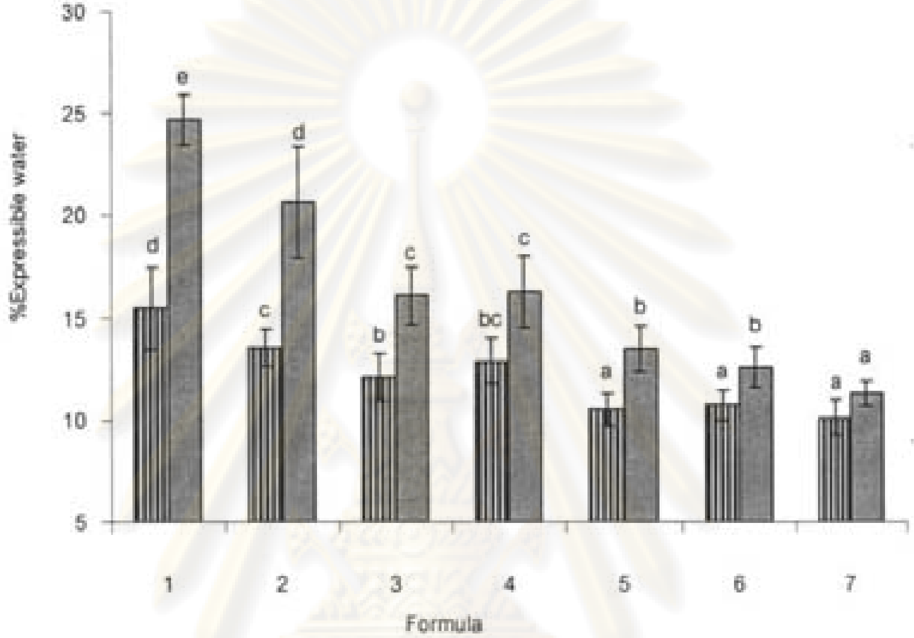
ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การใช้ SPI ทดแทนการใช้แป้งสาลี ในการปรับปรุงคุณภาพของลูกชิ้นปลา สามารถพิจารณาได้จากผลการทดลองในสูตร 2-สูตร 4 พบว่าค่า hardness ของลูกชิ้นปลาทั้งสูตร A และสูตร B มีแนวโน้มสูงขึ้นเป็นลำดับอย่างมีนัยสำคัญ (*p*≤0.05) (ภาคผนวก ข.17 และ ข.27) ในขณะที่ค่า cohesiveness (ภาคผนวก ข.18 และ ข.28) และ springiness (ภาคผนวก ข.19 และ ข.29) ของลูกชิ้นปลาทั้งสูตร A และสูตร B ไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบผลของการใช้ MTGase ในผลิตภัณฑ์ของสูตรลูกชิ้นเป็นคู่ได้แก่ คู่ของสูตร 2 และสูตร 5, สูตร 3 และสูตร 6, สูตร 4 และสูตร 7 พบว่าค่า hardness, cohesiveness และ springiness ของลูกชิ้นปลาที่เติม MTGase มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Uresti และคณะ (2004) พบว่าค่า hardness ของผลิตภัณฑ์เนื้อปลาขึ้นรูปจากเศษปลา silver carp ร่วมกับ MTGase 0.3% มีค่าสูงกว่าผลิตภัณฑ์ที่ไม่เติม MTGase ทั้งนี้เนื่องจาก MTGase ช่วยในการเชื่อมข้ามโปรตีนในเนื้อปลา ทำให้เจลจากโปรตีนปลามีค่า hardness สูงขึ้น เมื่อพิจารณาถึงผลของการใช้ SPI ร่วมกับการใช้ MTGase ในการปรับปรุงคุณภาพของลูกชิ้นปลาสามารถพิจารณาได้จากผลการทดลองในสูตร 5-สูตร 7 พบว่าค่า hardness, cohesiveness และ springiness ของลูกชิ้นปลาทั้ง 3 สูตรมีค่าใกล้เคียงกัน แม้ว่ายังคงมีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (*p*≤0.05) ก็ตาม

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 2 ระดับคือ 1.25 และ 1.50% w/w พบว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w ให้เจลลูกชิ้นปลาที่มีค่า hardness และ springiness สูงกว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w ในขณะที่การใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w ให้เจลลูกชิ้นปลาที่มีค่า cohesiveness สูงกว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gómez-Guillén และ Montero (1996) ที่พบว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.5% w/w เพื่อเตรียมเจลโปรตีนปลาซาร์ดีนที่จับได้ในเดือนมิถุนายน ซึ่งมีคุณภาพต่ำคือมีไขมันสูง (8.95%) และความชื้นต่ำ (72%) ร่วมกับการเติม iota-carrageenan และแป้งมีค่า hardness สูงกว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 2.5% w/w แต่ไม่ส่งผลต่อค่า springiness, cohesiveness และความสามารถในการอุ้มน้ำ ทั้งอาจเนื่องจากผลของการทำให้เจือจาง (diluting effect) จากการเติมสารปรุงแต่งอื่นๆ ลงไป ในขณะที่ Ramirez และคณะ (2002) รายงานว่าการเพิ่มความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ตั้งแต่ 0-2% ในการผลิตแฮมจากเนื้อปลาสามารถช่วยเพิ่มค่า hardness ของผลิตภัณฑ์ได้ และมีค่าสูงสุดเมื่อใช้โซเดียมคลอไรด์ร่วมกับการใช้ MTGase 0.3% (1% ของ MTGase มีแอกติวิตีเท่ากับ TGase 100 unit/g) ในขณะที่ค่า cohesiveness จะมีค่าสูงสุดเมื่อใช้โซเดียมคลอไรด์ร่วมกับการใช้ MTGase 0.6% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้ MTGase สามารถเร่งปฏิกิริยาในการเชื่อมข้ามโมเลกุลโปรตีนได้แม้ว่าจะมีโซเดียมคลอไรด์อยู่ในระบบก็ตาม

4.3.3 ความสามารถในการอุ้มน้ำของลูกชิ้นปลา

ความสามารถในการอุ้มน้ำของลูกชิ้นปลาสูตร A แสดงในรูปที่ 4.8 พบว่าการใช้ SPI ทดแทนแป้งสาลี (ลูกชิ้นสูตร 2-สูตร 4) สามารถลดค่า expressible water หรือช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ภาคผนวก ข.21 และ ข.31) ทั้งนี้อาจเกิดจากขณะที่ SPI มีการสร้างโครงสร้างของเจลจะสามารถกักเก็บน้ำไว้ในโครงร่างตาข่ายสามมิตินั้นด้วย ซึ่งเป็นการเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำได้ดี (Pietrasik et al., 2007)



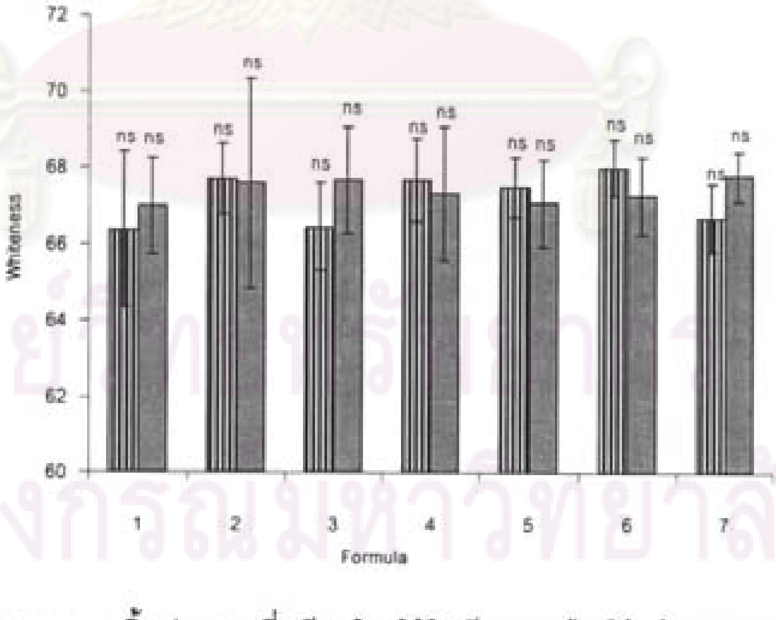
รูปที่ 4.8 ค่า % Expressible water ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w (▥) และ 1.50% w/w (▦)

เมื่อพิจารณาการใช้ MTGase ในการผลิตลูกชิ้นปลาทั้งสูตร A และสูตร B (พิจารณาในสูตรลูกชิ้นปลาเป็นคู่ คือสูตร 2 และสูตร 5, สูตร 3 และสูตร 6, สูตร 4 และสูตร 7) พบว่า MTGase สามารถช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำได้เป็นอย่างดี เนื่องจากการใช้ MTGase ทำให้เจลมีโครงร่างตาข่ายที่สามารถอุ้มน้ำได้เพิ่มขึ้นจากการสร้าง ε-(γ-glutamyl)lysine isopeptide bond ที่มากขึ้น ทำให้เกิดการเชื่อมข้ามระหว่างสายโซ่โปรตีนทำให้เก็บกักน้ำไว้ในโครงร่างของเจลได้ดี (Imm et al., 2000) ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Ramírez และคณะ (2007) ซึ่งกล่าวว่าการเติม MTGase ในการปรับปรุงเนื้อปลาขึ้นรูปจากปลา *Mugil cephalus* ช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลได้ และหากพิจารณาถึงผลการใช้ SPI และ/หรือแป้งสาลีร่วมกับ MTGase (สูตร 5-สูตร7) พบว่าการเลือกใช้ SPI หรือแป้งสาลีไม่มีผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของลูกชิ้นปลา

เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 2 ระดับคือ 1.25 และ 1.50% w/w พบว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w ให้เจลลูกชิ้นปลาที่มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w ในขณะที่ Ramírez และคณะ (2002) รายงานว่าการเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำในผลิตภัณฑ์แฮมจากเนื้อปลาได้ นอกจากนี้การใช้ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 1 และ 2% ในการผลิตแฮมจากเนื้อปลาร่วมกับการใช้ MTGase เข้มข้น 0.6% ทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้ MTGase ที่มากเกินไปทำให้อันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีนเพิ่มขึ้น ในขณะที่ทำให้อันตรกิริยาระหว่างน้ำกับโปรตีนลดลง จึงส่งผลให้ความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง

4.3.4 ค่าความขาวของลูกชิ้นปลา

สีของลูกชิ้นปลาที่เป็นที่ต้องการคือสีค่อนข้างขาว การใช้ SPI ที่มีสีเหลืองอ่อนทดแทนแป้งสาลีในสูตรการผลิต อาจส่งผลต่อลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ที่อาจมีสีเหลืองเพิ่มขึ้นได้ นอกจากนี้การแทนที่โปรตีนจากเนื้อสัตว์ด้วย SPI ในปริมาณที่มากกว่า 4% w/w จะทำให้ค่า a* ลดลง (Decker, Conley and Richert, 1986) ในขณะที่จะให้ค่า b* เพิ่มขึ้น (Chin et al., 1999) ดังนั้นในงานวิจัยนี้มีการวิเคราะห์ค่าสีของลูกชิ้นที่ผลิตได้ในระบบ CIE LAB โดยใช้ค่าความขาวเป็นปัจจัยในการประเมินคุณภาพของลูกชิ้นปลา (รูปที่ 4.9)



รูปที่ 4.9 ค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w (▥) และ 1.50% w/w (▦)

จากการทดลองพบว่าในการผลิตลูกชิ้นปลาทั้งสูตร A และสูตร B ที่ใช้ SPI ทดแทนแป้งสาลีในสูตร 2-สูตร 4 มีค่าความขาวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) (ภาคผนวก ข.33 และ ข.38) ทั้งอาจเนื่องจากงานวิจัยนี้ใช้ SPI ในปริมาณที่น้อยเพียง 2% w/w จึงไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีขาวในผลิตภัณฑ์ ในขณะที่ Chin และคณะ (1999) รายงานว่าการเติม SPI ในปริมาณที่มากกว่า 4% เพื่อทดแทนโปรตีนเนื้อสัตว์ในผลิตภัณฑ์ bologna ไขมันต่ำ มีค่าสี a* ลดลง ในขณะที่ค่า b* จะเพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาการใช้หรือไม่ใช้ MTGase ในการผลิตลูกชิ้นปลาทั้งสูตร A และสูตร B ในสูตรที่ 5-สูตร 7 พบว่ามีค่าความขาวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรควบคุมที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากัน ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Tseng และคณะ (2000) ซึ่งรายงานว่าการเติม MTGase ไม่มีผลต่อค่าความขาวของลูกชิ้นไก่ ในขณะที่ Kilic (2003) รายงานผลในทำนองเดียวกันสำหรับ kebabs ที่ทำจากเนื้อไก่

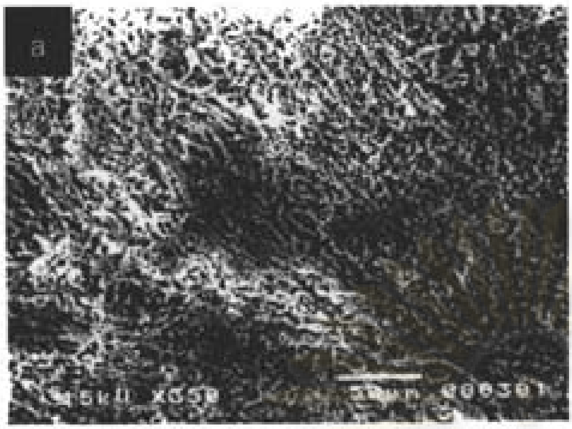
นอกจากนี้ผลของความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 2 ระดับคือ 1.25 และ 1.50% w/w พบว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นต่างกันไม่มีผลต่อค่าความขาวของลูกชิ้นปลาทั้งสองสูตร

4.3.5 โครงสร้างจุลภาคของลูกชิ้นปลา

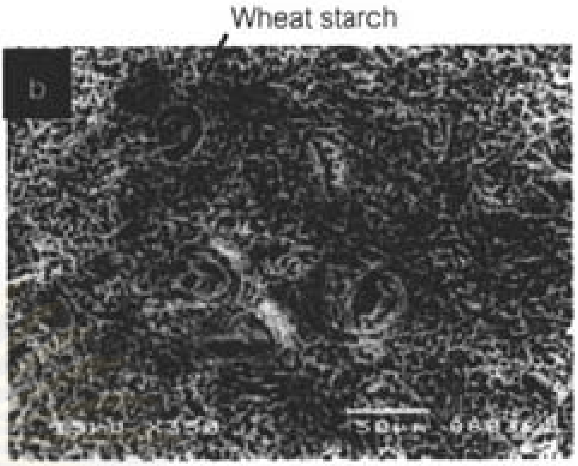
ในงานวิจัยนี้ศึกษาโครงสร้างจุลภาคของเจลลูกชิ้นปลาเพื่อเปรียบเทียบผลของการใช้ SPI ทดแทนแป้งสาลีและการใช้หรือไม่ใช้ MTGase ในการผลิตลูกชิ้นปลา ดังแสดงในรูปที่ 4.10 โดยคัดเลือกลูกชิ้นปลาเฉพาะสูตร A (โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25%) มาศึกษา เนื่องจากเป็นสูตรการผลิตที่ให้ค่า gel strength สูงสุดจากการศึกษาในข้อ 4.3.1 โดยศึกษาโครงสร้างจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (cryogenic scanning electron microscopy, cryo-SEM)

เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างจุลภาคของเจลลูกชิ้นปลาที่มีการเติมแป้งสาลีในรูป 4.10 (b) และเติม SPI ในรูป 4.10 (c) พบว่าจะมีอนุภาคของแป้งสาลีหรือ SPI แทรกตัวอยู่ในช่องว่างโครงร่างตาข่าย นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบเจลลูกชิ้นปลาที่มีการเติมแป้งสาลีในรูป 4.10 (b) และเติม SPI ในรูป 4.10 (c) กับเจลลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมในรูป 4.10 (a) ยังพบว่าโครงร่างตาข่ายของเจลที่มีการเติมแป้งสาลีหรือ SPI มีการจัดเรียงตัวที่เป็นระเบียบมากกว่าเจลลูกชิ้นปลาสูตรควบคุม ทั้งนี้อาจเกิดจากโครงสร้างของเจลสูญเสียความชื้นให้กับแป้งที่แทรกตัวอยู่ในช่องว่างของโครงสร้างตาข่ายของเจล จึงส่งผลให้ระบบเจลโดยรวมมีความแน่นขึ้น (Kim and Lee, 1985) และมีความยืดหยุ่นมากขึ้น (Hastings and Currall, 1989)

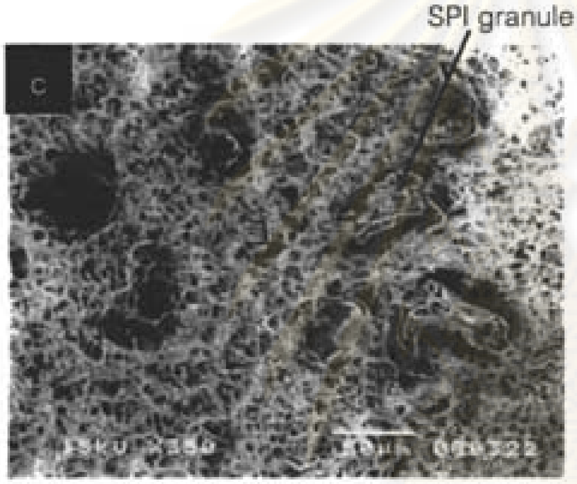
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



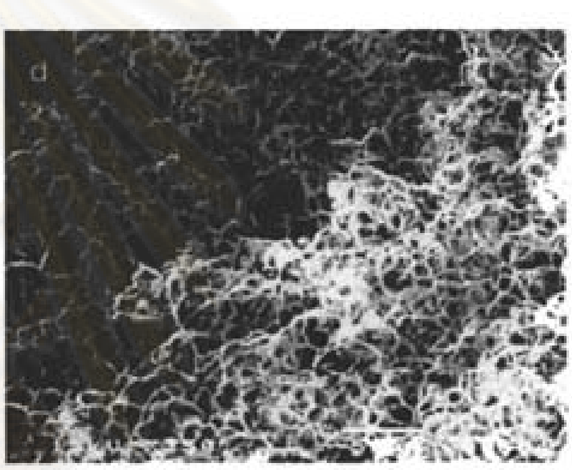
A1 : สูตรควบคุม



A2 : เติมแป้งสาลี



A4 : เติม SPI



A7 : เติม SPI+MTGase

รูปที่ 4.10 โครงสร้างจุลภาคของเจลลูกชิ้นปลาสูตร A1 (a), A2 (b), A4 (c) และ A7 (d) ที่ศึกษาโดยใช้ cryo-SEM (กำลังขยาย 350 เท่า)

เมื่อพิจารณาผลของการเติม MTGase สามารถพิจารณาเปรียบเทียบได้จากรูป 4.10 (c) และ 4.10 (d) พบว่าเจลของลูกชิ้นที่มีการเติม MTGase มีโครงร่างตาข่ายของเจลโปรตีนมีการจัดเรียงตัวเป็นระเบียบมากขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเชื่อมข้ามระหว่างอนุภาคของ SPI และโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์มากขึ้นด้วย ε-(γ-glutamyl)lysine isopeptide bond ทำให้เจลมีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลโปรตีนเกิดเป็นโครงร่างตาข่ายที่ดีขึ้น ซึ่งสนับสนุนผลการวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสคือ gel strength, hardness, cohesiveness และ springiness ของลูกชิ้นปลาที่มีการเติม MTGase มีค่าสูงขึ้น (4.3.2.1) ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Trespalacios และ Pla (2007) ที่ใช้ MTGase ร่วมกับไข่แดงสด (fresh egg yolk) และไข่ขาวแห้ง (dehydrated egg white) ในการปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลโปรตีนจากเนื้อไก่ที่ผลิตโดยใช้แรงดันสูง พบว่าการเติม MTGase ช่วยให้ค่า hardness, cohesiveness, springiness และ chewiness มี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

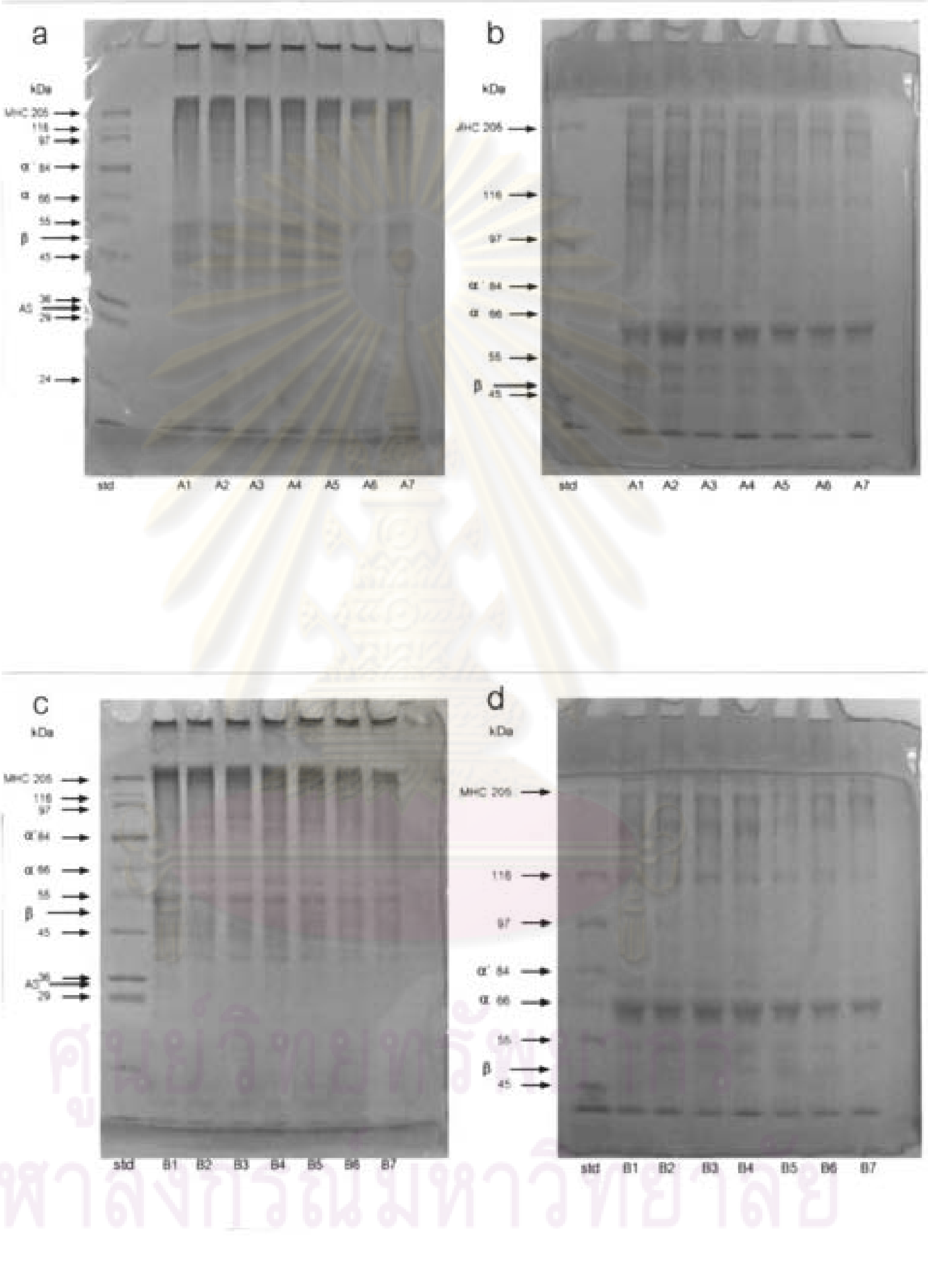
ค่าสูงสุด ทั้งนี้เนื่องจากมีการเชื่อมข้ามระหว่างโปรตีนไข่และโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ด้วย ε-(γ-glutamyl) lysine isopeptide bond ทั้งภายในและภายนอกโมเลกุล นอกจากนี้ยังมีการประยุกต์ใช้ TGase ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่ (Tseng et al., 2000) และไส้กรอกไก่ (Muguruma et al., 2003) ซึ่งพบว่าการเติม TGase ช่วยให้เกิดโครงร่างตาข่ายได้มากขึ้น ทำให้ได้เจลที่สมบูรณ์ ในขณะที่เจลที่ไม่มีการเติม TGase จะมีโครงร่างตาข่ายที่ไม่สม่ำเสมอ เนื่องจากมีโครงร่างตาข่ายได้น้อยกว่า ถึงแม้จะมีลักษณะที่เป็นเนื้อเดียวกันก็ตาม (Trespalacios and Pla, 2007)

4.3.6 รูปแบบของแถบโปรตีนบน SDS-PAGE ของลูกชิ้นปลา

จากรายงานของอลิศรา ตลึงผล (2547) ซึ่งศึกษาผลของการใช้ MTGase ต่อการเกิดเจลซูริมิปลาทับทิม พบว่าปริมาณ MTGase ที่เพิ่มสูงขึ้นมีความสัมพันธ์กับการลดลงของแถบความเข้มของโปรตีนไมโอซินและแอกติน โดยการเติม MTGase จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้ง myosin heavy chain (MHC) และแอกตินที่มีน้ำหนักมวลโมเลกุล 205 และ 45 kDa ตามลำดับ โดยพบว่าเจลซูริมิจากปลาทับทิมมีความเข้มของแถบโปรตีน MHC ลดลงเป็นลำดับเมื่อมีการเพิ่มปริมาณการเติม MTGase จาก 0.1-0.3% ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงติดตามผลการใช้ SPI ทดแทนแป้งสาลีและการใช้หรือไม่ใช้ MTGaseในการผลิตลูกชิ้นปลา ด้วย SDS-PAGE ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.11

เมื่อตรวจสอบรูปแบบแถบโปรตีนของลูกชิ้นปลาทั้งสูตร A และสูตร B โดยติดตามการเคลื่อนที่บน SDS-PAGE ในรูป 4.11(a) และ 4.11(c) ที่ใช้ separating gel 10% พบว่าการใช้ SPI ทดแทนการใช้แป้งสาลีในการปรับปรุงคุณภาพของลูกชิ้นปลา ซึ่งสามารถพิจารณาเปรียบเทียบในลูกชิ้นปลาสูตร 2-สูตร 4 ควบคู่กับการเปรียบเทียบรูปแบบแถบโปรตีนของเจล SPI (รูปที่ 4.4) พบว่ายังปรากฏหน่วยย่อยของ SPI ในเจลของลูกชิ้นปลา ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของหน่วยย่อยของ SPI ที่เติมในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลา แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำตัวอย่างลูกชิ้นมาวิเคราะห์ด้านลักษณะเนื้อสัมผัส (4.3.2) ด้วยเครื่อง Instron Universal Materials Testing Machine พบว่าการใช้ SPI ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลาสามารถช่วยปรับปรุงค่า gel strength, hardness และความสามารถในการอุ้มน้ำได้เป็นอย่างดี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

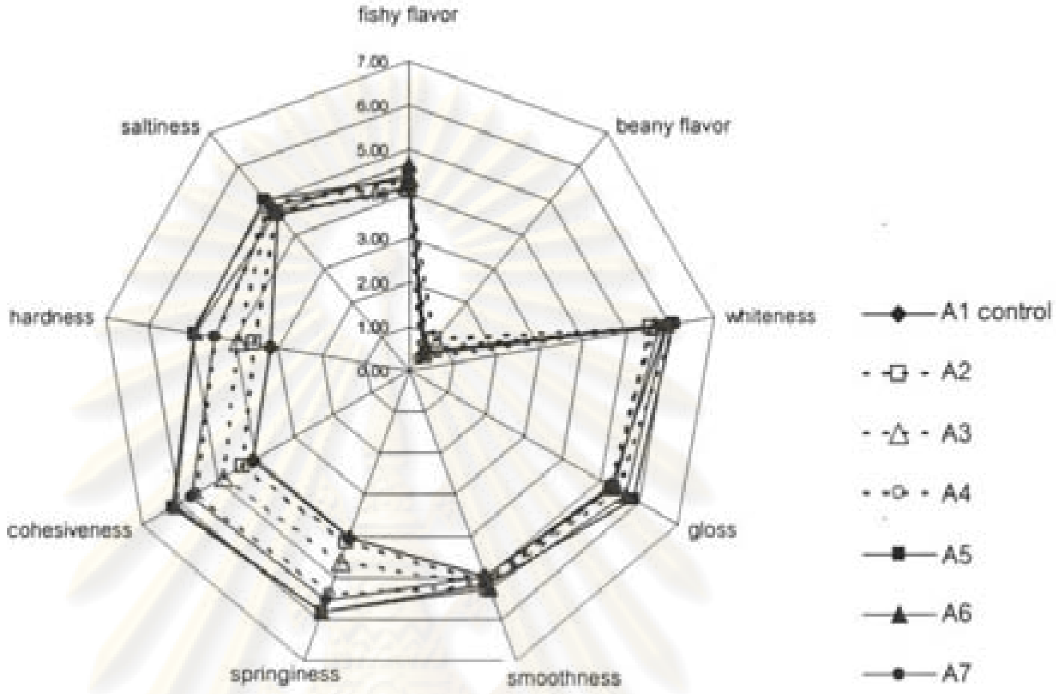
รูปที่ 4.11 รูปแบบแถบโปรตีนของลูกชิ้นปลาสูตร A (โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w) (a,b) และลูกชิ้นปลาสูตร B (โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w) (c,d)

เมื่อพิจารณาผลของการใช้หรือไม่ใช้ MTGase ในรูป 4.11(b) และ 4.11(d) ที่ใช้ separating gel 7.5% (พิจารณาในสูตรลูกชิ้นปลาเป็นคู่ คือสูตร 2 และสูตร 5, สูตร 3 และสูตร 6, สูตร 4 และสูตร 7) พบว่าแถบโปรตีนของลูกชิ้นปลาที่เติม MTGase มีความเข้มของแถบโปรตีน MHC และแอกตินลดลง ในขณะที่พบแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 205 kDa มีความเข้มมากกว่าแถบโปรตีนของลูกชิ้นปลาที่ไม่เติม MTGase นอกจากนี้แถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 66 kDa ก็มีความเข้มลดลงด้วย อีกทั้งเมื่อมีการใช้ SPI ร่วมกับ MTGase (พิจารณาในสูตร 5-สูตร 7) ทำให้ความเข้มของแถบโปรตีน MHC และแอกตินยิ่งลดลงกว่าการใช้แป้งสาลีและ/หรือ SPI ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโมเลกุลโปรตีนที่มีขนาดเล็กถูกเชื่อมข้ามไปเป็นโปรตีนที่มีขนาดมวลโมเลกุลใหญ่ขึ้นจากการเร่งปฏิกิริยาของ MTGase (Tsai, Lin and Jiang, 1996; Hsieh et al., 2002; Ramírez-Suárez, Addo and Xiong, 2005) เช่นเดียวกับรายงานของ Ramírez และคณะ (2002) ที่พบว่าการเติม MTGase 0.3% และ 0.6% ลงในผลิตภัณฑ์เนื้อปลาขึ้นรูปทำให้ความเข้มของแถบโปรตีน MHC ลดลงเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์เนื้อปลาขึ้นรูปที่ไม่เติม MTGase และแถบโปรตีน MHC จะลดลงตามความเข้มข้นของ MTGase ที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Tsao และคณะ (2002) รายงานผลในทำนองเดียวกันในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูขึ้นรูป

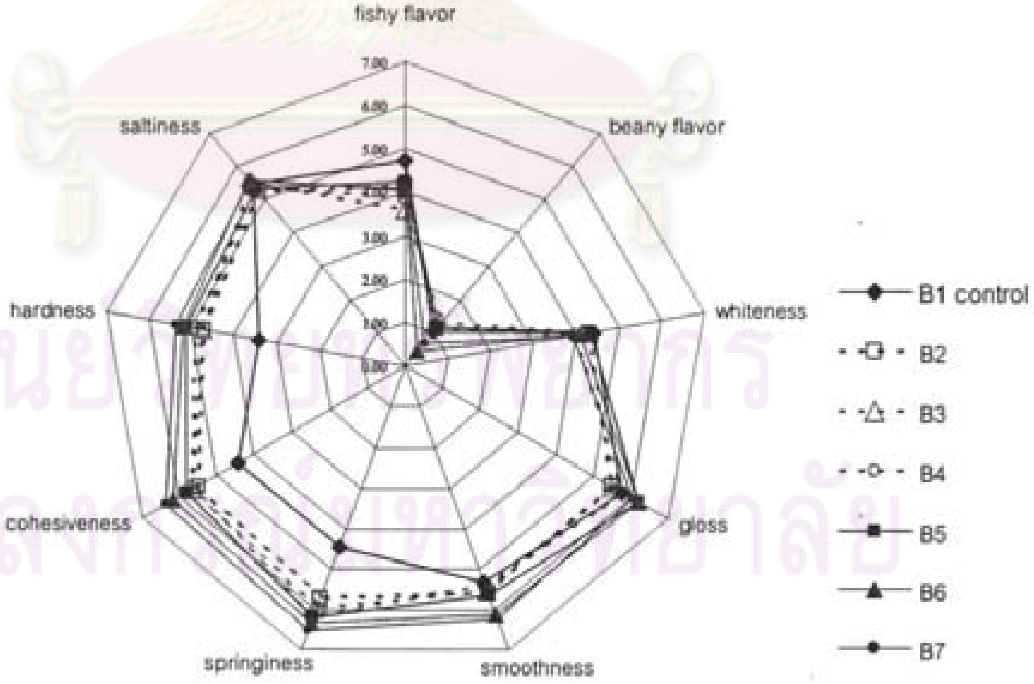
4.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นปลา

เมื่อประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสในลูกชิ้นปลาทั้งหมด 14 สูตร (สูตร A1-A7 และ B1-B7) ด้วยวิธี descriptive test ใช้จำนวนผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝนจำนวน 15 คน ดังแสดงในรูปที่ 4.12 โดยเปรียบเทียบลูกชิ้นปลาที่เติม SPI และ MTGase กับสูตรควบคุมในแต่ละความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เท่ากัน พบว่าลูกชิ้นปลาที่มีการใช้ SPI และ MTGase ได้คะแนนค่า springiness, cohesiveness และ hardness ที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) (ภาคผนวก ข. 59-ข.61 และ ข.69-ข.71) ในขณะที่ผู้ทดสอบให้คะแนน fishy flavor, beany flavor, whiteness, gloss, smoothness และ saltiness ของลูกชิ้นปลาทุกสูตรที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) (ภาคผนวก ข.64-ข.58, ข.62 และ ข.64-ข.68, ข.72) ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Tseng และคณะ (2000) ที่ประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นไก่ที่เตรียมโดยแปรระดับการใช้ MTGase 5 ระดับ ตั้งแต่ 0-1.0% โดยใช้ผู้ทดสอบ 15 คน พบว่าคะแนนด้านลักษณะปรากฏ สี และกลิ่นไม่มีความแตกต่างกันระหว่างตัวอย่างอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้ MTGase และ SPI สามารถใช้ในการปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ได้โดยไม่มีผลต่อลักษณะปรากฏ สี และกลิ่นของผลิตภัณฑ์ ในรูปที่ 4.12 และ 4.13 แสดงผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นปลาสูตร A และ B ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้ SPI และ MTGase สามารถช่วยให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นปลาดีขึ้นได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้าน

ค่า hardness, cohesiveness และ springiness โดยไม่มีผลต่อลักษณะด้านอื่น ได้แก่ fishy flavor, beany flavor, whiteness, gloss, smoothness และ saltiness อย่างมีนัยสำคัญ (*p*>0.05)



รูปที่ 4.12 ผลการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสในลูกชิ้นปลาสูตร A

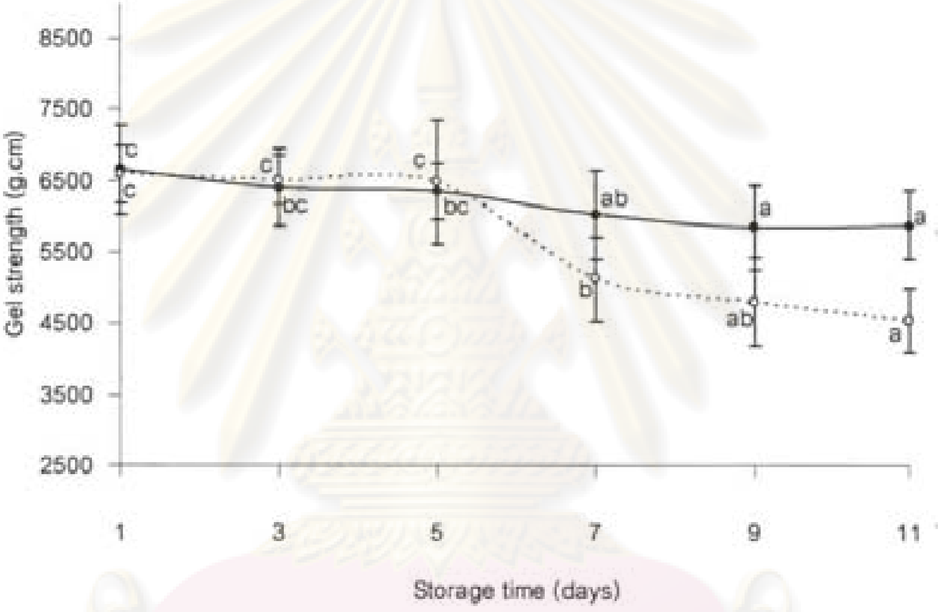


รูปที่ 4.13 ผลการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสในลูกชิ้นปลาสูตร B

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.5 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของลูกชิ้นปลาขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C

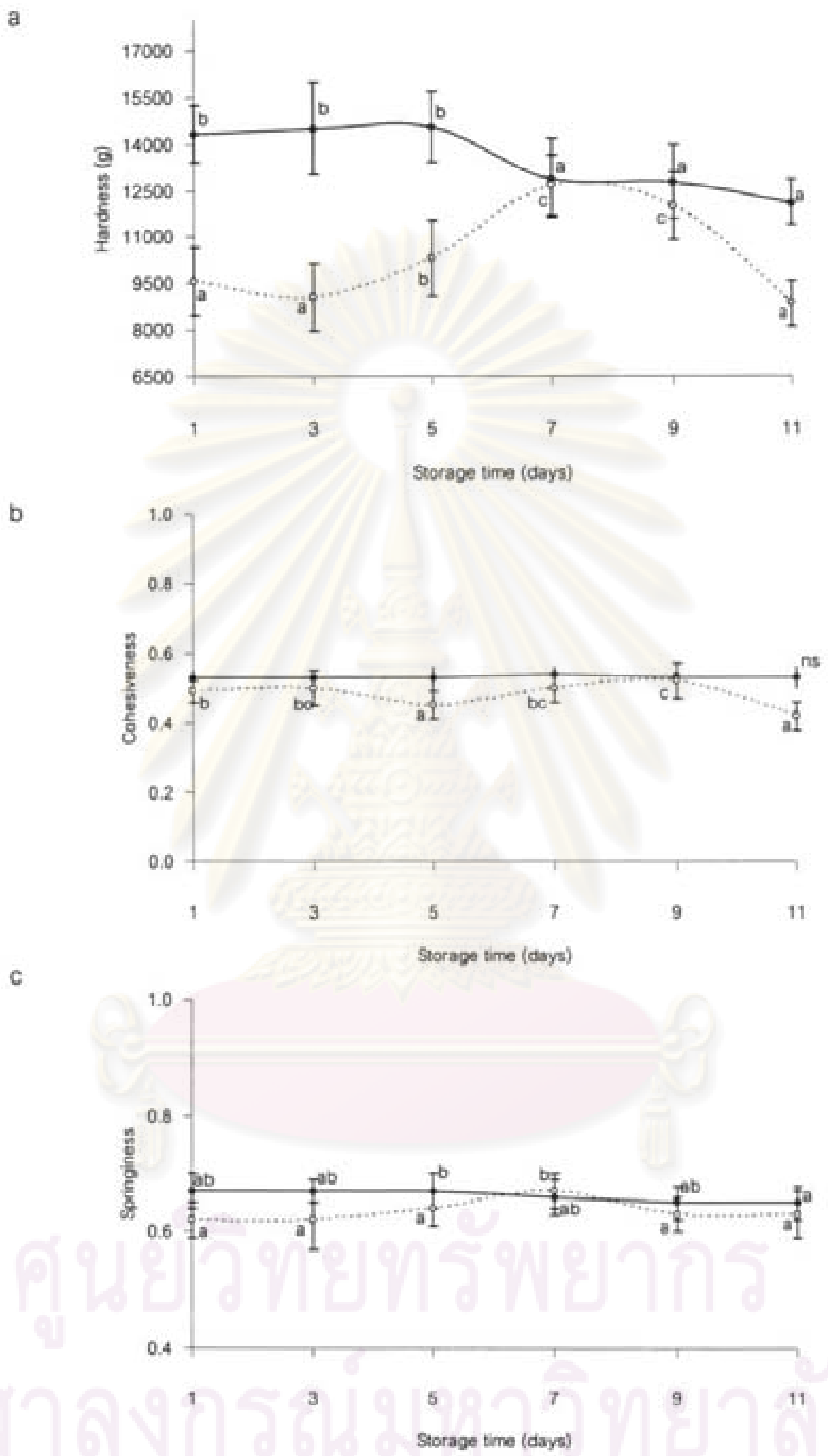
ลูกชิ้นปลาเกิดการเสื่อมเสียได้เนื่องจากการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางเคมีและทางกายภาพ รวมทั้งลักษณะเนื้อสัมผัสเปลี่ยนไป นอกจากนี้โปรตีนที่เกิดเป็นเจลแล้วอาจสูญเสียความชื้นไปขณะเก็บรักษา (Andrés et al. 2006) ในงานวิจัยครั้งนี้คัดเลือกสูตรลูกชิ้นปลา A7 และ B7 ซึ่งให้ค่า gel strength, hardness, cohesiveness, springiness และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำดีที่สุดในแต่ละระดับความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ โดยรูปที่ 4.14 และ 4.15 แสดงการเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นปลาสูตร A7 และ B7 ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 11 วัน



รูปที่ 4.14 Gel strength ของเจลลูกชิ้นปลาสูตร A7 (—•—) และ B7 (- ο -) ขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 11 วัน

จากรูปที่ 4.14 พบว่าค่า gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตร A7 และ B7 มีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนักในช่วง 5 วันแรกของการเก็บรักษา และจะเริ่มลดลงหลังจากวันที่ 7 หลังจากนั้นมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาที่พบว่าเริ่มมีการเจริญของจุลินทรีย์ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา (ตารางที่ 4.8)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4.15 Hardness (a) cohesiveness (b) และ springiness (c) ของเจลลูกชิ้นปลาสูตร A7 (—●—) และ B7 (– ○ –) ขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 11 วัน

เมื่อพิจารณาค่า hardness, cohesiveness และ springiness ของลูกชิ้นปลาสูตร A7 และสูตร B7 ในรูปที่ 4.15 พบว่าลูกชิ้นปลาสูตร B7 มีค่า hardness และ springiness สูงขึ้นเรื่อยๆ และเริ่มลดต่ำลงในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา ในขณะที่ลูกชิ้นสูตร A7 ไม่เปลี่ยนแปลงของค่า hardness และ springiness ใน 5 วันแรกของการเก็บรักษา แต่จะลดลงอย่างชัดเจนในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา งานวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานของ Andrés และคณะ (2006) ที่พบว่าลักษณะเนื้อสัมผัสของไส้กรอกไก่ไขมันต่ำที่เก็บรักษานาน 45 วัน ไส้กรอกไก่มีค่า hardness มากขึ้นเนื่องจากการสูญเสียน้ำไปขณะเก็บรักษา Candogan และ Kolsarici (2003) รายงานในทำนองเดียวกันในผลิตภัณฑ์ frankfurters จากเนื้อวัวไขมันต่ำ ทั้งนี้พบว่าค่า gumminess และ chewiness มักมีการเปลี่ยนแปลงในแนวโน้มเดียวกันกับค่า hardness แต่ค่า cohesiveness และ springiness มักไม่มีการเปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้พบว่า cohesiveness ของลูกชิ้นสูตร B7 มีค่าลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 11 วัน ในขณะที่ลูกชิ้นสูตร A7 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่า cohesiveness อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (*ภาคผนวก* ข.68 และ ข.76) สำหรับค่า springiness ของลูกชิ้นปลาทั้ง 2 สูตรไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (*ภาคผนวก* ข.69 และ ข.77) ตลอดการเก็บรักษา

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นเนื้อวัว ลูกชิ้นหมู และลูกชิ้นไก่ (มอก.1009-2533) กำหน ดมาตรฐานของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบในตัวอย่างไม่เกิน $1X10^6$ โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม โดยแบคทีเรียที่พบในปลาน้ำจืดเป็นประเภทมีโซไฟล์ (mesophile) เช่น *Staphylococcus aureus, Salmonella* (หน่วยปฏิบัติการกลางพัฒนาสื่อการศึกษา, 2550) อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรเซชันที่อุณหภูมิ 72 °C นาน 15 วินาที หรือที่อุณหภูมิ 65°C นาน 30 นาที เพียงพอต่อการทำลายแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียรวมทั้งแบคทีเรียชนิดเป็นพิษในอาหารได้ (ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, 2543) งานวิจัยนี้ศึกษาอายุการเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร A7 และ B7 ที่บรรจุในถุงพลาสติก polypropylene (PP) แบบสุญญากาศในภาวะแช่เย็น (4 °C) พบว่าลูกชิ้นปลาทั้ง 2 สูตรไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ใน 5 วันแรก (น้อยกว่า 10 โคโลนี/กรัม) ของการเก็บรักษา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 °C นาน 10 นาทีในขั้นตอนต้มให้สุก (cooking) สามารถทำลายแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียรวมทั้งแบคทีเรียชนิดเป็นพิษในอาหารได้บางส่วน และจุลินทรีย์ที่เหลือนั้นอาจบาดเจ็บจึงจำเป็นต้องใช้เวลาในการเจริญเป็นเวลานาน ทำให้ 5 วันแรกของการเก็บรักษายังตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ หรืออาจเนื่องมาจากเชื้อจุลินทรีย์นั้นยังไม่เจริญหรือมีการเจริญแต่มีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถตรวจวัดได้ และจะเริ่มพบเชื้อจุลินทรีย์ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นเนื้อวัว ลูกชิ้นหมู และลูกชิ้นไก่ พบว่าลูกชิ้นปลาสูตร A7 มีอายุการเก็บรักษาได้ 17 วัน ในขณะที่

ลูกชิ้นปลาสูตร B7 อายุการเก็บรักษาได้มากกว่า 19 วัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากลูกชิ้นปลามีส่วนผสมของโซเดียมคลอไรด์ซึ่งช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Khalid and Kunihiko, 2004; James and Maha, 2007) จึงทำให้ลูกชิ้นปลาสูตร B7 ที่ใช้ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่สูงกว่าลูกชิ้นปลาสูตร A มีอายุการเก็บรักษานานกว่า

ตารางที่ 4.8 Total plate count ของลูกชิ้นปลาสูตร A7 และ B7 ที่เก็บรักษาในภาวะแช่เย็น (4 °C)

ระยะเวลาในการเก็บ (วัน)	จำนวนโคโลนีที่นับได้ (โคโลนี/กรัม)	
	A7	B7
0	< 10	< 10
5	< 10	< 10
7	3.80×10^{1} - 5.80×10^{1}	4.40×10^{1} - 8.40×10^{1}
10	6.38×10^{2} - 6.74×10^{2}	1.78×10^{2} - 2.78×10^{2}
15	6.16×10^{4} - 7.00×10^{4}	4.62×10^{2} - 5.52×10^{2}
17	2.36×10^{5} - 2.68×10^{5}	8.16×10^{2} - 1.06×10^{3}
19	1.56×10^{7} - 2.24×10^{7}	2.80×10^{3} - 4.80×10^{3}

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

1. ความเข้มข้นของ ACTIVA™ TG-AK (MTGase) ที่เหมาะสมต่อการเตรียมเจล SPI คือ 0.6% w/w ซึ่งให้ค่า gel strength, hardness, cohesiveness, springiness และความสามารถในการอุ้มน้ำสูงสุด

2. การติดตามการรวมตัวกันของโปรตีนขณะเตรียมเจล SPI ด้วย MTGase โดยการวัดค่าแสงส่องผ่านที่ความยาวคลื่น 600 nm และลักษณะโครงสร้างจุลภาคของเจลด้วย cryo-SEM ทำให้ทราบว่ากระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1 เหมาะสมต่อการเตรียมเจล SPI โดยใช้ MTGase เนื่องจากเจล SPI ที่เตรียมด้วยกระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1 ให้เจลที่มีลักษณะเป็นโครงร่างตาข่ายที่เรียกว่า fine-stranded gel ในขณะที่กระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 2 ให้เจลที่มีโครงสร้างแบบ coarse-aggregated network ที่อัดตัวกันแน่น

3. กระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 1 เหมาะสมต่อการเกิดเจลของ SPI ซึ่งให้ค่า springiness และความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่ากระบวนการให้ความร้อนวิธีที่ 2 ในขณะที่ค่า gel strength, hardness, cohesiveness ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

4. การตรวจสอบรูปแบบแถบโปรตีน (protein pattern) ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase ด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่ากระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของหน่วยย่อยของเบต้า-คอนไกลซินินและไกลซินิน

5. การใช้ SPI ทดแทนการใช้แป้งสาลี ในการปรับปรุงคุณภาพของลูกชิ้นปลา สามารถปรับปรุงค่า gel strength, hardness และความสามารถในการอุ้มน้ำได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq$0.05) ในขณะที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่า cohesiveness, springiness และค่าความขาวของผลิตภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) แสดงให้เห็นว่าการใช้ SPI สามารถทดแทนแป้งสาลีในการผลิตลูกชิ้นปลาได้เป็นอย่างดี

6. การใช้ MTGase ในการปรับปรุงคุณภาพของลูกชิ้นปลาสามารถปรับปรุงค่า gel strength, hardness, cohesiveness, springiness และความสามารถในการอุ้มน้ำได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq$0.05) ในขณะที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าความขาวของผลิตภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7. การใช้ SPI และ/หรือแป้งสาลี ร่วมกับการใช้ MTGase ในการปรับปรุงคุณภาพของลูกชิ้นปลาสามารถปรับปรุงค่า gel strength ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ในขณะที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่า hardness, cohesiveness, springiness ความสามารถในการอุ้มน้ำ และความขาวของผลิตภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

8. การใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w ให้เจลลูกชิ้นปลาที่มีค่า gel strength, hardness, springiness และความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ในขณะที่การใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w ให้เจลลูกชิ้นปลาที่มีค่า cohesiveness สูงกว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) และการใช้โซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นต่างกันนี้ไม่มีผลต่อค่าความขาวของผลิตภัณฑ์ อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

9. การตรวจสอบรูปแบบแถบโปรตีน (protein pattern) ของลูกชิ้นปลาทั้ง 14 สูตร พบว่าการเติม MTGase ช่วยในการเชื่อมข้ามโมเลกุลโปรตีนที่มีขนาดเล็กให้เป็นโปรตีนที่มีขนาดมวลโมเลกุลใหญ่ขึ้นจากการเร่งปฏิกิริยาของ MTGase ได้ดี และจะมีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อใช้ MTGase ร่วมกับ SPI

10. การศึกษาลักษณะโครงสร้างจุลภาคของลูกชิ้นปลาด้วย cryo-SEM ทำให้ทราบว่าเจลของลูกชิ้นปลาที่มีการเติม MTGase มีโครงร่างตาข่ายของเจลโปรตีนที่มีการจัดเรียงตัวเป็นระเบียบมากขึ้นจากการเชื่อมข้ามระหว่างอนุภาคของ SPI และโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ที่มากขึ้นด้วย ε-(γ-glutamyl)lysine isopeptide bond

11. ผลการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสในลูกชิ้นปลาทั้งหมด 14 สูตร (สูตร A1-A7 และ B1-B7) ด้วยวิธี descriptive test ในแต่ละความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เท่ากัน ผู้ทดสอบให้คะแนนค่า springiness, cohesiveness และ hardness สูงขึ้นในผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้ SPI และ MTGase อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ในขณะที่ผู้ทดสอบให้คะแนน fishy flavor, beany flavor, whiteness, gloss, smoothness และ saltiness ของลูกชิ้นปลาทุกสูตรที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

12. การเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นปลาขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 $^{\circ}$C ของลูกชิ้นปลาสูตร A7 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่า hardness และ springiness ใน 5 วันแรกของการเก็บรักษา แต่จะลดลงอย่างชัดเจนในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา ในขณะที่ค่า cohesiveness และ springiness ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ตลอดการเก็บรักษา

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

13. การเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นปลาขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C ของลูกชิ้นปลาสูตร B7 มีค่า hardness และ springiness สูงขึ้นเรื่อยๆ และเริ่มลดต่ำลงในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา สำหรับค่า cohesiveness มีค่าลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 11 วัน ในขณะที่ค่า springiness ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตลอดการเก็บรักษา

14. ลูกชิ้นปลาสูตร A7 มีอายุการเก็บรักษาได้ 17 วัน ในขณะที่ลูกชิ้นปลาสูตร B7 มีอายุการเก็บรักษาได้มากกว่า 19 วัน โดยใช้เกณฑ์จะลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน $1X10^6$ โคโลนี/กรัม

ข้อเสนอแนะ

การให้ความร้อนเป็นสิ่งจำเป็นเบื้องต้นเพื่อให้เกิดการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน เพื่อการสร้างโครงสร้างของเจล โดยผลของการให้ความร้อนเบื้องต้นแก่สารละลายโปรตีนขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น วิธีการให้ความร้อน อัตราการให้ความร้อน อุณหภูมิที่ใช้ และระยะเวลาในการให้ความร้อน ซึ่งในงานวิจัยนี้ศึกษาผลของกระบวนการให้ความร้อนต่อการเกิดเจลของ SPI ที่เตรียมโดยใช้แทรนส์กลูทามิเนสจากจุลินทรีย์ (MTGase) โดยไม่คำนึงถึงผลของอัตราการให้ความร้อน ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ ACTIVA™ TG-AK (MTGase) โดยใช้วิธีการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน 2 วิธี ให้ผลการทดลองที่ไม่ชัดเจนนัก และในการแปรความเข้มข้นของ MTGase ในการเตรียมเจล SPI ควรมีการศึกษาในความเข้มข้นที่สูงกว่า 0.6% เพื่อศึกษาผลของการใช้ MTGase ที่สูงเกินไปมีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลที่เตรียมได้หรือไม่

นอกจากนี้ในการศึกษาผลของการใช้ MTGase ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลาควรศึกษาเพิ่มเติมในตัวอย่างลูกชิ้นปลาที่เตรียมด้วยเนื้อปลาล้วนและเติม MTGase เพื่อแสดงผลของการใช้ MTGase ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นปลาได้โดยตรง สำหรับการศึกษาอายุการเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาที่ 4 °C ควรเพิ่มการตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (20-25 °C) เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการผลิตต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กนกศักดิ์ โควิกกัย, พชพันธ์ ธุวนลิน และวิรงรอง ชัยมงคล. 2547. ผลของไมโครเบียลแทรนส์กลูทามิเนสต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง. โครงการการเรียนการสอนเพื่อประสบการณ์ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จักรี ทองเรือง. 2544. ซูริมิ. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จิรชัย เลขาวิจิตร. 2547. ผลของภาวะในการเกิดเจล ความสดของปลา และระยะเวลาการเก็บรักษาซูริมิแช่แข็งต่อสมบัติของเจลซูริมิจากปลาทับทิม *Oreochromis nilotcus x O. placidus*. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2549. เคมีอาหาร. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

ประมง, กรม. 2550. การแปรรูปสัตว์น้ำ [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.fisheries.go.th/sf-chiangrai/sara/produ1.htm [18 สิงหาคม 2550]

ปราณิศา เชื้อโพธิ์หัก, นงนุช รักสกุลไทย และวันชัย วรวัฒนเมธีกุล. 2543. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาและอายุการเก็บรักษา. วารสารอาหาร 30(4): 261-263.

ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์. 2543. การเน่าเสียของอาหาร. ใน วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, หน้า 73-91. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปวีนา น้อยทัพ และนงนุช รักสกุลไทย. 2539. การพัฒนาการผลิตลูกชิ้นปลาผสมปลาหมึกและการเก็บรักษา. วารสารอาหาร 26(4): 264-274.

พรรณวดี อภิศุภะโชค, สุธาวัลย์ หลงเจริญ และสุภารัตน์ ธาราสายทอง. 2545. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นจากปลาดุกอุยเทศ. โครงการการเรียนการสอนเพื่อประสบการณ์ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะประมง. 2545. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ ลูกชิ้นสัตว์น้ำ ลูกชิ้นเพื่อสุขภาพ. นนทบุรี: เอ พลัส ทรี มีเดีย, (โครงการเกษตรกู้ชาติ ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์).

วิไลรัตน์ มณีเสถียรรัตนา. 2535. การผลิตไส้กรอกเลียนแบบจากโปรตีนถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ส่งเสริมการเกษตร, กรม. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2549. การเพาะเลี้ยงปลายี่สก [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.doae.go.th/LIBRARY/html/detail/yeesok/index1.htm [12 พฤศจิกายน 2549]

สุภาพร โชคคณาโรจน์วงศ์. 2537. การผลิตไส้กรอกอิมัลชันจากปลาสวายและปลานิล. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

หน่วยปฏิบัติการกลางพัฒนาสื่อการศึกษา. 2550. การเน่าเสียของปลาและผลิตภัณฑ์ [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.cyberlab.lh1.ku.ac.th/elearn/faculty/aid/id77/fish/fish1.htm [3 กรกฎาคม 2550]

อลิศลา ตลึงผล. 2547. ผลของแทรนส์กลูทามิเนส โซเดียมแอสคอร์เบต บีฟพลาสมาโปรตีน และไข่ขาว ต่อคุณภาพของเจลซูริมิจากปลาทับทิม *Oreochromis niloticus x O. placidus*. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อุตสาหกรรม, กระทรวง. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 1009-2533. 2542. ลูกชิ้นเนื้อวัว ลูกชิ้นหมู และลูกชิ้นไก่. กรุงเทพมหานคร. (ม.ป.ท.).

ภาษาอังกฤษ

A. O. A. C. 1995. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 16 th ed., Washington, D.C.: The Association of Official Analytical Chemists

A. O. A. C. 1995. Official Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 16 th ed., Washington, D.C.: The Association of Official Analytical Chemists.

Ajinomoto. 1998. Basic Properties of Transglutaminase. Ajinomoto. Teaneck, NJ: Ajinomoto.

Alvarez, C., Couso, I., and Tejada, M. 1995. Sardine surimi gel as affected by salt concentration, blending, heat treatment and moisture. Journal of Food Science. 60(3): 622-626.

American Soybean Association. 2001. Soy Stats 2001: A Reference Guide to Important Soybean Facts and Figures [Online]. Available from: http://www.soystats.com/2001/SoyStats_2001.pdf [2007, June 11]

An, H., Peter, M. Y., and Seymour, T. A. 1996. Roles of endogenous enzymes in surimi gelation. Trends in Food Science and Technology. 7(10): 321-326.

Andrés, S. C., Garcïa, M. E., Zaritzky, N. E., and Califano, A. N. 2006. Storage stability of low-fat chicken sausages. Journal of Food Engineering. 72(4): 311–319.

Babiker, E.E. 2000. Effect of transglutaminase treatment on the functional properties of native and chymotrypsin-digested soy protein. Food Chemistry. 70(2): 139-145.

Babiker, E. E., Khan, M. A. S., Matsudomi, N., and Kato, A. 1996. Polymerization of soy protein digests by microbial transglutaminase for improvement of the functional properties. Food Research International. 26(7): 627-634.

Barbut, S. 1996. Determining Water and Fat Holding. In G. M. Hall (ed.), Methods of Testing Protein Functionality, pp.186-225. London: Blackie Acadamic & Professional.

Basman, A., Köksel, H., and NG, P. K. W. 2002. Effect of transglutaminase on SDS-PAGE pattern of wheat, soy and barley protein and their blends. Journal of Food Science. 67(7): 2654-2658.

Bayliss, P. 1996. Chemistry in the kitchen: fish and fish products. Nutrition and Food Science. 96(1): 41-43.

Benjakul, S., Visessanguan, W., and Tueksuban, J. 2003. Changes in physico-chemical properties and gel-forming ability of lizardfish (*Saurida tumbil*) during post-mortem storage in ice. Food Chemistry. 80(4): 535-544.

Berk, Z. 1992. Technology Production of Edible Flours and Protein Products from Soybeans. FAO Agricultural Services bulletin No. 97: Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.

Bin Md Yasir, S., Sutton, K. H., M. P. Newberry, Andrews, N. R., and Gerrard, J. A. 2007. The impact of transglutaminase on soy proteins and tofu texture. Food Chemistry. 104(4): 1491-1501.

Bourne, M. C. 1982. Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement, pp. 44-106. New York: Academic Press.

Bremer, L. G. B., Walstra, P., and van Vliet, T. 1995. Estimations of the aggregation time of various colloidal systems. Colloids and Surfaces. A: Physicochemical and Engineering Aspect. 99(2): 121-127.

Camou, J. P., Sebranek, J. G., and Olson, D. G. 1989. Effect of heating rate and protein concentration on gel strength and water loss of muscle protein gels. Journal of Food Science. 54(4): 850-854.

Candogan, K., and Kolsarici, N. 2003. The effects of carrageenan and pectin on some quality characteristics of low-fat beef frankfurters. Meat Science. 64(2): 199–206.

Catsimpoolas, N., and Ekenstam. C. 1969. Isolation of alpha, beta and gamma conglycinin. Archives of Biochemistry and Biophysical. 129: 490-497.

Chan, J. K., Gill, T. A., and Paulson, A. T. 1992. Cross-linking of myosin heavy chains from cod, herring and silver hake during thermal setting. Joumal of Food Science . 57(4): 906-912.

Chanyongvorakul, Y., Matsumura, Y., Sakamoto, H., Motoki, M., Ikura, K., and Mori, T. 1994. Gelation of bean 11S globulins by Ca^{2+}- independent transglutaminase. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. 58(5): 864–869.

Chanyongvorakul, Y., Matsumura, Y., Nonaka, M., Motoki, M., and Mori, T. 1995. Physical properties of soy bean and broad bean 11S globulin gel formed by transglutaminase reaction. Journal of Food Science . 60(3): 483-488, 493.

Chin, K. B., Keeton, J. T., Longnecker, M. T., and Lamkey, J. W. 1999. Utilization of soy protein isolate and konjac blends in a low-fat bologna (model system). Meat Science. 53(1): 45-57.

Chronakis, I. S. 1996. Network formation and viscoelastic properties of commercial soy protein dispersions: effect of heat treatment, pH and calcium ions. Food Research International. 29(2): 123-134.

Chronakis, I. S., and Kasapis, S. 1993. Structure properties of single and mixed milk/soya protein gels. Food Hydrocolloids. 7(6): 459-478.

Cofrades, S., Careche, J. M., and Colmenero, F. J. 1997. Thermal gelation of chicken, pork and hake (*Merluccius merluccius*, L) actomyosin. Meat Science. 47(1/2): 157-166.

Cohen, I., Young-Bandala, L., Blankenberg, T., Siefring, A. G. E., and Bruner- Lorand, J. 1979. Fibrinoligase-catalyzed cross-linking of myosin from platelet and skeletal muscle. Archives of Biochemistry and Biophysics. 192(1): 100-111.

de Jong, G. A. H., and Koppelman, S. J. 2002. Transglutaminase catalyzed reactions: impact on food applications. Journal of Food Science. 67(8): 2798-2806.

Decker, C. D., Conley, C. C., and Richert, S. H. 1986. Use of isolated soy protein in the development of frankfurters with reduced level of fat, calories, and cholesterol. Proceedings of the European Meeting of Meat Research Workers. 7(1): 333-349.

Dickinson, E., and Yamamoto, Y. 1996. Rheology of milk protein gels and protein stabilized emulsion gel cross-linked with transglutaminase. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 44(6): 1371-1377.

Doi, E. 1993. Gels and gelling of globular proteins. Trends in Food Science and Technology. 4(1): 1-5.

Egbert, R. 2004. Soy protein in the food processing industry [Online]. Available from: http://www.gsf99.uiuc.edu/invited.2_7_04.pdf [2004, October 7]

Endres, J. G. 2001. Soy Protein Products: Characteristics, Nutritional, Aspects and Utilization, pp. 36-40. Champaign Illinois: AOCS Press.

Ensor, S. A., Mandigo, R. W., Calkins, C. R., and Quint, L. N. 1987. Comparative-evaluation of whey-protein concentrate, soy protein isolate and calcium-reduced nonfat dry milk as binders in an emulsion-type sausage. Journal of Food Science. 52(5): 1155–1158.

Foegeding, E. A. 2007. Rheology, structure and texture perception in food protein gels [Online]. Available from: http://www.rsc.org/ebooks/archive/free/BK9780854046386/BK9780854046386-00001.pdf [2007, April 19].

Foegeding, E. A., Allen, C. E., and Dayton, W. R. 1986. Effect of heating rate on thermally formed myosin, fibrinogen and albumin gels. Journal of Food Science. 51(1): 104-108.

Fukuda, Y., Chen, S., Cheng, Y., Wang, X., Zhou, L., Zhang, D., and Yuan, C. 2001. Development of frozen surimi from freshwater fish meat produced in China. JIRCAS Working Report No.20: 103-111.

Fukushima, D. 1991. Recent progress of soybean protein foods: Chemistry, technology and nutrition. Food Reviews International. 7(3): 323-351.

German, B., Damodaran, S., and Kinsella, J. E. 1982. Thermal dissociation and association behavior of soy proteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

30(5): 807–811.

Gomez-Guillén, M. C., and Montero, P. 1996. Addition of hydrocolloids and non-muscle protein to sardine (*Sardina plicihardus*) mince gels. Food Chemistry. 56(4): 421-427.

Ha, C., and Luchi, I. 2003. Transglutaminase. In J. Whitaker; A. Voragen; and D. Wong (eds.), Handbook of Food Enzymology, pp.637-638. New York: Dekker.

Haad, N. F. 1992. Biochemistry and Chemistry of Color and Color Changes in Seafoods. In G. J. Flick; and R. E. Martin (eds.), Advances in Seafood Biochemistry, Composition and Quality, pp.305-361. Lancaster: Technomic Publishing.

Hastings, R. J., and Currall, J. E. P. 1989. Effect of water, oil, egg white and starch on the texture of cod surimi gels by response surface methodology. Journal Texture Study. 19(4): 431-451.

Hermansson, A. M. 1978. Physico-chemical aspects of soy proteins structure formation. Journal of Texture Studies. 9(1-2): 33–58.

Hermansson, A. M. 1994. Microstructure of Protein Gels Related Functionality. In R. Y. Yada; R. L. Jackman; and J. L. Smith (eds.), Protein Structure-Function Relationships in Foods, pp.22-23. Cambridge: CRC press.

Hsieh, J. F., Tsai, G. J., and Jiang, S. T. 2002. Microbial transglutaminase and recombinant cystatin effect on improving the quality of mackerel surimi. Journal of Food Science. 67(8): 3120-3125.

Ikeuchi, T. 1964. Enhancing effect of various jelly-forming substances on kamaboko-jelly. Nippon Suisan Gakkaishi. 39: 75-81.

Imm, J. Y., Lian, P., and Lee, C. M. 2000. Gelation and water binding properties of transglutaminase-treated skim milk powder. Journal of Food Science. 65(2): 200-205.

James, L. M., and Maha N. H. 2007. Salted Fish [Online]. Available from: www.answers.com/topic/salted-fish [2007, August 24]

Jarmoluk, A., and Pietrasik, Z. 2002. Response surface methodology study on the effect of blood plasma, microbial transglutaminase and κ-carrageenan on pork batter gel properties. Journal of Food Engineering. 60(3): 327-334.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Jiang, Y., Tang, C. H., Wen,. Q. B., Li, L., and Yang, X. Q. 2006. Effect of processing parameters on the properties of transglutaminase-treated soy protein isolate film. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 8(2): 218-225.

Kahn, D. R., and Cohen, I. 1981. Factor XIIIa-catalyzed coupling of structural proteins. Biochimica et Biophysics Acta. 668: 490-494.

Khalid, L. S., and Kunihiko, S. 2004. Effects of trisodium phosphate and sodium chloride dipping on t he microbial quality and shelf life of refrigerated tray-packaged chicken breasts. Journal of Food Science and Biotechnology. 13(4): 425-429.

Kilic, B. 2003. Effect of microbial transglutaminase and sodium caseinate on quality of chicken döner kebab. Meat Science. 63(3): 417-421.

Kim, J. M. and Lee, C. M. 1985. Texture properties and structure of starch-reinforced surimi gel as affected by heat-setting. Presented at the 30th Atlantic Fisheries Technological Conference. Boston, MA. August. 25-29.

Kitabatake, N., Tahara, M., and Doi, E. 1990. Thermal denaturation of soybean protein at low water contents. Agricultural and Biological Chemistry. 54(9): 2205–2212.

Koshiyama. I. 1969. Distribution of the 7S proteins in soybean globulins by gel filtration with Sephadex G-200. Agricultural and Biological Chemistry. 33(2): 281-284.

Koshiyama. I. 1983. Storage Proteins of Soybean. In W. Gottschalk; and H. P. Müller (eds.), Seed Proteins Biochemistry, pp. 427-450. Hague: Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publisher.

Kuraishi, C., Sakamoto, J., Yamazaki, K., Sosa, Y., Kuhara, C., and Soeda, T. 1997. Production of restructured meat using microbial transglutaminase without salt or cooking. Journal of Food Science. 62(3): 488–490, 515.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227(259): 15571-1557.

Laird, W. M., Mackie, I. M., and Hattula, T. 1980. Studies of the changes in the protein of cod-frame minces during frozen storage at -15 °C. In J. J. Connell (ed.), Advances in Fish Science And Technology, pp. 428-434. England: Fishing New Book.

Lakemond, C. M. M., de Jongh, H. H. J., Hessing, M., Gruooen, H., and Voragen, A. G. 2000. Soy glycinin: Influence of pH and ionic strength on solubility and molecular

structure at ambient temperatures. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48(6): 1985-1990.

Lanier, T. C. 1992. Measurement of Surimi Composition and Functional Properties. In T. C. Lanier; and C. M. Lee (eds.), Surimi Technology, pp. 23-58. New York: Marcel Dekker.

Lanier, T. C. 2000. Surimi Gelation Chemistry. In J.W. Park (ed.), Surimi and Surimi Seafood, pp. 237-265. New York: Marcel Dekker.

Lee, C. H., and Rha, C. 1978. Microstructure of soybean protein aggregates and its relation to the physical and textural properties of the curd. Journal of Food Science. 43(1): 79–84.

Lee, C. M. 1994. Surimi Processing From Lean Fish. In F. Shahidi; and J. R. Botta (eds.), Seafood: Chemistry, Processing Technology and Quality, pp. 263-287. London: Blackie Acadamic & Professional.

Lee, M. C. 1987. Surimi Process Technology. Food Technology. 38(11): 69-80.

Lin, K. W., and Mei, M. Y. 2000. Influences of gums, soy protein isolate, and heating temperatures on reduced-fat meat batters in a model system. Journal of Food Science. 65(1): 48–52.

Liu, K. 1997. Soybeans: Chemistry, Technology and Utilization, pp. 379-411. New York: Chapman and Hall.

Liu, K. 2000. Expanding soybean food utilization. Food Technology. 54(7):46-58.

Liu, Z. S., Chang S. K. C., Li, L. T., and Tatsumi, E. 2004. Effect of selective thermal denaturation of soybean proteins on soymilk viscosity and tofu's physical properties. Food Research International. 37(8): 815-822.

Luo, Y. K., Kuwahara, R., Keneniwa, M., Murata, Y., and Yokohama, M. 2001. Comparison of gel properties of surimi from Alaska pollock and three freshwater fish species : effect of thermal processing and protein concentration. Journal of Food Science. 66(4): 548-554.

Mariniello, L., Di Pierro, P., Esposito, C., Sorrentino, A., Masi, P., and Porta, R. 2003. Preparation and mechanical properties of edible pectin–soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase. Journal of Biotechnology. 102(2): 191-198.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Mrak, E. M., and Steward, G. F. 1954. Advances in Food Research. In P. E. Johnson (ed.). vol. 7. New York: Academic Press.

Martins, V. B., and Netto, F. M. 2006. Physiochemical and functional properties of soy protein isolate as a function of water activity and storage. Food Research International. 39(2): 145-153.

Matsumura, Y., and Mori, T. 1997. Gelation. In G.M. Hall (ed.), Methods of testing protein functionality, pp. 76-109. London: Blackie Acadamic & Professional.

Matthews, R. H. 1989. Legumes: Chemistry, Technology and Human Nutrition. New York: Marcel Dekker.

Mine, Y. 1995. Recent advances in the understanding of egg white protein functionality. Trends in Food Science and Technology. 6(2): 225-232.

Motoki, M., and Seguro K. 1998. Transglutaminase and its use for food processing. Trends in Food Science and Technology. 9(5): 204-210.

Muguruma, M., Tsuruoka, K., Katayama, K., Erwanto, Y., Kawahara, S., Yamauchi, K., Sathe, S. K., and Soeda, T. 2003. Soybean and milk proteins modified by transglutaminase improves chicken sausage texture even at reduced levels of phosphate. Meat Science. 63(2): 191-197.

Nagano, T., Akasaka T., and Nishinari, K. 1994. Dynamic viscoelastic properties of glycinin and β-conglycinin gel from soybeans. Biopolymers. 34(10): 1303-1309.

Nagano, T., Hirotsuka, M., Mori, H., Kohyama, K., and Nishinari, K. 1992. Dynamic viscoelastic study on the gelation of 7S globulin from soybeans. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 40(6): 941–944.

Nakai, S., and Li-Chan, E. 1989. Effect of Heating on Protein Functionality. In R. D. Pillips; and J. W. Finiley (eds.), Protein Quality and the Effect of Processing, pp.125-143. New York: Marcel Dekker.

Nielson, N. C. 1984. The chemistry of legume storage proteins. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B. 304(1120): 287-296.

Nielson, N. C. 1985. Structure of Soy Proteins. In A. M. Altschul; and H. L. Wilcke (eds.), New Protein Foods. vol. 5, pp. 27-64. Orlando: Academic Press.

Nishioka, H. 2007. Application and Research Center JEOL Ltd. [online]. Available from: http://www.jeol.se/JEOL%20News/news36E/NEWSHOME/News%20home/45/index.html [2007, February 6]

Niwa, E. 1992. Chemistry of Surimi Gelation. In T. C. Lanier; and C. M. Lee (eds.), Surimi Technology, pp. 389-427. New York: Marcel Dekker.

Ofstad, R., Grahl-Madsen, E., and Solberg, C. 1992. Surimi From Blue Whiting (*Micromesistius poutassou*) Produced on Board m/s Uksnoy: Process and Quality. In J. R. Burt; K. Hardy; and K. J. Whittle (eds.), Pelagic Fish the Resource and Its Explotiation, pp. 82-93. London : Fishing News Books.

Ogawa, M., Kanamaru, J., Miyashita, H., Tamiya, T., and Tsuchiya, T. 1995. Alpha-helical structure of fish actomyosin: Changes during setting. Journal of Food Science. 60(2): 297-299.

Pan, B. S. 1990. Minced Fish Technology. In Z. E. Sikorski; B. S. Pan; and F. Shahidi (eds.), Seafood: Resources, Nutritional Composition, and Preservation, pp 199-210. Florida: CRC Press.

Peterson, G. L. 1983. Determination of total protein. Methods in Enzymology. 91: 95-119.

Pietrasik, Z., Jarmoluk, A., and Shand, P. J. 2007. Effect of non-meat proteins on hydration and textural properties of pork meat gels enhanced with microbial transglutaminase. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie-Food Science and Technology. 40(5): 915-920.

Pigott, G. M., and Tucker, B. W. 1990. Seafood: Effect of Technology on Nutrition. New York: Marcel Dekker.

Piper, C. V., and Morse, W. J. 1923. The Soybean. New York: McGraw-Hill Book Company.

Price, J. F., and Schweigert, B. S. 1975. The Science of Meat and Meat Product. 2nd eds. San Francisco: W. H. Freeman and Company.

Ramirez, J. A., Del Ángel, A., Uresti, R. M., Velaquez G., and Vázquez M. 2007. Low-salt restructured products from striped mullet (*Mugil caphalus*) using microbial transglutaminase or whey protein concentrate as additives. Food Chemistry. 102(1): 243-249.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Ramirez, J. A., Uresti, R., Tellez, S., and Vazquez, M. 2002. Using salt and microbial transglutaminase as binding agent in restructured fish products resembling hams. Journal of Food Science. 67(5): 1778-1784.

Ramirez-Suárez, J. C., and Xiong, Y. L. 2003. Effect of transglutaminase-induced cross-linking on gelation of myofibrillar/soy protein mixtures. Meat Science. 65(2): 899-907.

Ramirez-Suárez, J. C., Addo, K., and Xiong, Y. L. 2005. Gelation of mixed myofibrillar/wheat gluten proteins treated with microbial transglutaminase. Food Research International. 38(10): 1143-1149.

Renkema, J. M. S., and van Vliet, T. 2002. Heat-induced gel formation by soy protein at neutral pH. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50(6): 1569-1573.

Renkema, J. M. S., Knabben, J. H. M., and van Vliet, T. 2001. Gel formation by β-conglycinin and glycinin and their mixtures. Food Hydrocolloids, 15(4-6): 407-414.

Renkema, J. M. S., Lakemond, C. M. M., de Jongh, H. H. J., Gruppen, H., and van Vliet, T. 2000. The effect of pH on heat denaturation and gel forming properties of soy proteins. Journal of Biotechnology. 79(3): 223-230.

Sakamoto, H., Kumasawa, Y., and Motoki, M. 1994. Strength of protein gels prepared with microbial transglutaminase as related to reaction conditions. Journal of Food Science. 59(4): 866–871.

Schäfer, C., Zacherl, C., Engel, K., Neidhart, S., and Carle, R. 2007. Comparative study of gelation and cross-link formation during enzymatic texturisation of leguminous proteins. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 8(2): 269-278.

Seguro, K., Nio, N., and Motogi, M. 1996. Some Characteristics of a Microbial Protein Cross-linking Enzyme: Transglutaminase. In N. Parris; A. Kato; L. K. Creamer; and J. Pearce (eds.), Macromolecular Interaction in Food Technology, pp.271-280. Washington DC: American Chemical Society.

Shahidi, F. 1994. Seafood Protein and Preparation of Protein Concentrates. In F. Shahidi; and J. R. Botta (eds.), Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality, pp. 3-9. London: Blackie Acadamic & Professional.

Shand, P. J. 2000. Textural, water holding, and sensory properties of low-fat pork bologna with normal or waxy starch hull-less barley. Journal of Food Science. 65(1): 101–107.

Shimada, K., and Matsushita, S. 1980. Relationship between thermocoagulation and amino acid composition. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 28(2): 413-417.

Shimizu, Y., Shimidu, W., and Ikeuchi, T. 1954. Studies on jelly-strength of kamaboko IV: Influence of salts. Japan Social Science Fish Fournal. 20: 295-297.

Stading, M., and Hermansson, A.M. 1991. Large deformation properties of β-lactoglobulin gel structure. Food Hydrocolloids. 5(4): 339-352.

Staswick, P. E., Hermodson, M. A., and Nielson, N. C. 1984. Identification of the cystine which links the acidic and basic components of glycinin subunits. Journal of Biological Chemistry. 259(21): 13431-13435.

Stone, A. P., and Stanley, D. W. 1992. Mechanisms of fish muscle gelation. Food Research International. 25(5): 381-388.

Su, Y. K., Bowers, J. A., and Zayas, J. F. 2000. Physical characteristics and microstructure of reduced-fat frankfurters as affected by salt and emulsified fats stabilized with non-meat proteins. Journal of Food Science. 65(1): 123–128.

Suzuki, T. 1981. What is Frozen Minced Meat (Surimi). In T. Suzuki (ed.), Fish and Krill Protein. Processing Technology. pp. 45–51, 100–103, 133–134. London: Applied Science Publishers.

Sykes, G. E., and Gayler, K. R. 1981. Detection and characterization of a new β-conglycinin from soybean seeds. Archives of Biochemistry and Biophysics. 210(2): 525-530.

Takahiko, S. 2003. Effect of microbial transglutaminase for gelation of soy protein isolate during cold storage. Food Science and Technology. 9(2): 165-169.

Tang, C. H. 2007. Effect of thermal pretreatment of raw soymilk on the gel strength and microstructure of tofu induced by microbial transglutaminase. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie - Food Science and Technology. 40(8): 1403-1409.

Tang, C. H., and Jiang, Y. 2006. Modulation of mechanical and surface hydrophobic properties of food protein films by transglutaminase treatment. Food Research International. 40(4): 504-509.

Tang, C. H., Jiang, Y., Wen, Q. B., and Yang, X. Q. 2005. Effect of transglutaminase treatment on the properties of cast films of soy protein isolates. Journal of Biotechnology. 120(3):296-307.

Tang, C. H, Wu, H., Chen, Z., and Yang, X. Q. 2006a. Formation and properties of glycinin-rich and β-conglycinin-rich soy protein isolate gels induced by microbial transglutaminase. Food Research International. 39(1): 87-97.

Tang, C. H., Chen, Z., Li, L., and Yang, X. Q. 2006b. Effects of transglutaminase treatment on the thermal properties of soy protein isolates. Food Research International. 39(6): 704-711.

Tang, C. H., Li, L., Wang, J. L., and Yang, X. Q. 2007. Formation and rheological properties of 'cold-set' tofu induced by microbial transglutaminase. Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie - Food Science and Technology. 40(4): 579-586.

Tanikawa, E. 1985. Marine Products in Japan. Tokyo: Koseisha-Koseikaku.

Thanh, V. H., and Shibasaki, K. 1978. Major proteins of soybean seeds. Subunit structure of β-conglycinin. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 26(3): 692-695.

Totosaus, A., Montejano, J. G., Salazar, J. A., and Guerrero, I. 2002. A review of physical and chemical protein-gel induction. International Journal of Food Science and Technology. 37(6): 589–601.

Trespalacios, P., and Pla, R. 2007. Simultaneous application of transglutaminase and high pressure to improve functional properties of chicken meat gels. Food Chemistry. 100(1): 264-272.

Tsai, G., Lin, S., and Jiang, S. 1996. Transglutaminase from *Stretoverticillium ladakanum* and application to minced fish product. Journal of Food Science. 61(6): 1234–1238.

Tsao, Y., Kao, Y. C., Hsieh, J. F., and Jiang, S. T. 2002 . Use of soy protein and microbial transglutaminase as a binder in low-sodium restructured meat. Journal

of Food Science. 67(9):3502-3506.

Tseng, T. F., Liu, D. C. and Chen, M. T. 2000. Evaluation of transglutaminase on the quality of low-salt chicken meat-balls. Meat Science. 55(4): 427-431.

United Soybean Board. 2004. Soy Protein Isolate [Online]. Available from: http://www.talksoy.com [2005, January 14]

Uresti, R. M., López-Arias, N., González-Cabriales, J. J., Ramírez, J. A., and Vázquez, M. 2004. Use of dairy proteins and microbial transglutaminase to obtain low-salt fish products from filleting waste from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). Food Chemistry. 86(2): 257-262.

Utsumi, S., Matsumura, Y., and Mori, T. 1997. Structure-Function Relationships of Soy Protein. In S. Damodaran; and A. Paraf (eds.), Food Proteins and Their Applications, pp. 257-285. New York: Marcel Dekker.

van Vliet, T. 2000. Structure and Rheology of Gels Formed by Aggregated Protein Particles. In K. Nishinari (ed.), Physical Chemistry and Industrial Application of Gels, Polysaccharides, and Proteins, pp.367-377. Amsterdam: Elsevier Science.

van Vliet, T., van Dijk, H. M., Zoon, P., and Walstra, P. 1991. Relation between syneresis and rheological properties of particle gels. Colloid and Polymer Science. 269(6): 620-627.

van Vliet, T., Lucey, J. A., Grolle, K., and Walstra, P. 1997. Rearrangements in GDL-Induced Casein Gels During and After Gel Formation. In E. Dickinson; and B. Bergensthl (eds.), Food Colloids: Proteins, Lipids and Polysacchrides, pp. 335-345. Great Britain: Royal Society of Chemistry.

Walsh, D. J., Cleary, D., McCarthy, E., Murphy S., and FitzGerald, R. J. 2003. Modification of the nitrogen solubility properties of soy protein isolate following proteolysis and transglutaminase cross-linking. Food Research International. 36(7): 677-683.

Wang, J. S., Zhao, M. M., Yang Z. Q., Jiang Y. M., and Chun, C. 2007. Gelation behavior of wheat gluten by heat treatment followed by transglutaminase cross-linking reaction. Food Hydrocolloids. 21(2): 174-179.

Wasson, D. H., Reppond, K. D., Bahbitt, J. K., and French, J. S. 1992. Effect of additive on proteolytic and functional properties of arrowtooth flounder surimi. Journal of

Aquatic Food Product Technology. 1(3/4): 147-165.

Wolf, W. J. 1970. Soybean proteins: Their functional, chemical and physical properties. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 18(6): 969-976.

Wolf, W. J. 1972. Purification and Properties of the Proteins. In A. K. Smith; and S. J. Circle (eds.), Soybeans: Chemistry and Technology. vol. 1. Proteins, pp.93-143. Westport: AVI Publishing.

Wolf, W. J. 1997. Legumes: Seed Composition and Structure, Processing into Protein Products and Protein Properties. In J. R. Whitaker; and S. R. Tannenbaum (eds.), Food Proteins, pp.301-302. Westpost: AVI Publishing.

Wolf, W. J., Rackis, J. J., Smith, A. K., Sasame, H. A., and Babcock, G. E. 1958. Behavior of the 11S protein of soybeans in acid solution. I. Effects of pH, ionic strength and time on ultracentrifugal and optical rotary properties. Journal of the American Chemical Society. 80(21): 5730-5735.

Wright, D. J., and Boulter, D. 1980. Differential scanning calorimetric study of meals and constituents of some food grain legumes. Journal of the Science of Food and Agriculture. 31(12): 1231–1241.

Yada, R. Y. 2004. Proteins in Food Processing. Cambridge: CRC Press.

Yamauchi, F., Sato, M., Sato, W., Kamata, Y., and Shibasaki, K. 1981. Isolation and identification of a new type of β-conglycinin in soybean globulins. Agricultural and Biological Chemistry. 45(12): 2863-2868.

Yamauchi, F., Yamagishi, T., and Iwabuchi, S. 1991. Molecular understanding of heat induced phenomena of soybean proteins. Food Reviews International. 7(3): 283-322.

Zayas, J. F. 1997. Functionality of Proteins in Food. New York: Springer-Verlag.

Zhang, H., Takenaka, M., and Isobe, S. 2004. DSC and electrophoretic studies on soy milk protein denaturation. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. 75(3): 719-726.

Zhu, Y., Rinzema, A., Tramper, J., and Bol, J. 1995. Microbial transglutaminase-a review of its production and application in food processing. Applied Microbiology and Biotechnology. 44(3/4): 277-282.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก
วิธีการวิเคราะห์

ก.1 องค์ประกอบตามเอกสารประกอบลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ (product specification) **ของ** ACTIVA[TM] TG-AK

Activa TG-AK

A) Ingredient : Enzyme transglutaminase, trisodium phosphate, other.

B) Objective : Application for fried fish paste, imitation crab, fish sausage

: For improving texture in fish ball and surimi products-Increase elasticity

C) Specification

Items	Standard value	Method/Remark
Color	Yellowish white powder	Sensory test
Odor	Odorless	Sensory test
Foreign matter	Not detectable	Foreign matter analysis
Loss of drying	Not more than 4%	At 105 °C for 4 hrs
pH	11.0-13.0	At 2% solution
Arsenic	Not more than 2 micro g/g	As As_2O_3
Heavy metals	Not more than 20 micro g/g	As Pb
Total bacterial count	Not more than 3×10^3 counts/g	Standard method (A .O. A. C.)
Coliform bacteria	Negative	Standard method (A .O. A. C.)
Transglutaminase activity	50-84 units/g	Hydroxamate method

D) Dosage : Surimi 0.4-0.6%

Surimi base product 0.1-0.2% per surimi weight

E) Direction : Adding as mixing as powder

F) Packing : 1 kg × 10 per carton

G) Shelf life : 1.5 years

H) Standard price : 2,050 bath/kg

รูปที่ ก.1 เอกสารประกอบลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ของ ACTIVA[TM] TG-AK

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก.2 การวิเคราะห์อุณหภูมิที่โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติโดย Differential Scanning Calorimetry (DSC) (**ดัดแปลงจาก** Renkema et al., 2000)

<u>วิธีทดลอง</u>

1. เตรียมสารละลาย SPI เข้มข้น 10 mg/ml เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 4 ชั่วโมง
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 10 mg ลงใน pan อะลูมิเนียม และปิดผนึกให้สนิท
3. ใช้ pan อะลูมิเนียมที่ไม่มีตัวอย่างเป็นตัวเปรียบเทียบ
4. ให้ความร้อนแก่ตัวอย่างจากอุณหภูมิ 20-95 °C ในอัตราเร็วคงที่ 1 °C/นาที

5. หา onset temperature (T_o) และ peak temperature (T_p) ของการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนจากกราฟ DSC

ก.3 **การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น** (A. O. A. C, 1995)

อุปกรณ์

1. ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105 °C
2. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. จานตัวอย่างอะลูมิเนียม
4. โถดูดความชื้น (desiccator)

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 5 g ใส่ลงในจานตัวอย่างอะลูมิเนียมที่อบแห้งแล้ว
2. นำตัวอย่างไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 10-12 ชั่วโมง
3. นำตัวอย่างออกจากตู้อบและตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) และชั่งน้ำหนัก
4. นำไปอบต่ออีกประมาณ 1 ชั่วโมงหรือจนน้ำหนักคงที่
5. คำนวณน้ำหนักที่หายไป แล้วคำนวณปริมาณความชื้น (% wet basis) จากสูตร (1) ดังนี้

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%, wb)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (g) - น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (g)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (g)}} \times 100 \quad (1)$$

ก.4 **การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน** (A. O. A. C, 1995)

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. ชุดวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ด้วยวิธี Kjeldahl method
3. ฟลาสก์ก้นกลมขนาด 250 ml

สารเคมี

1. คะตะลิสต์ (ส่วนผสมของ potassium sulfate 1.8 g และ copper sulfate 0.32 g)
2. 4% Boric acid
3. 0.1 N Hydrochloric acid

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. 50% Sodium hydroxide
5. 96% Sulfuric acid

<u>วิธีทดลอง</u>

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 g ใส่ลงในหลอดย่อย
2. เติมคะตะลิสต์ประมาณ 5 g และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 ml นำไปย่อยบนเตาย่อย โดยเพิ่มความร้อนในการย่อยอย่างช้าๆ ย่อยตัวอย่างจนของผสมในฟลาสก์เป็นสีเขียว (ประมาณ 30 นาที) ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น
3. เจือจางของผสมด้วยน้ำกลั่น 60 ml
4. กลั่นตัวอย่างที่ย่อยได้ด้วยเครื่อง K-242 Kjeldahl line, Buchi โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นตัวทำปฏิกิริยา และเก็บสารที่กลั่นได้ในสารละลายกรดบอริก เติม methyl red ซึ่งเป็นอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด
5. ไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ด้วยสารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 N จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพูม่วง แล้วคำนวณปริมาณโปรตีนจากสูตร (2) ดังนี้

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\%, db)} = \frac{A \times B \times 6.25 \times 1.4}{C} \tag{2}$$

A คือความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรท (0.1 N)

B คือปริมาตรของสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรท (ml)

C คือน้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ (g)

6. คำนวณปริมาณโปรตีนเป็น % wb

ก.5 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (A. O. A. C, 1995)

<u>อุปกรณ์</u>

1. กระดาษกรอง Whatman No.1
2. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator)
4. ชุดเครื่องวิเคราะห์ไขมัน EV6A II/16 Gerhardt
5. ตู้อบอุณหภูมิ 100-110 ^{o}C
6. โถดูดความชื้น (desiccator)
7. thimble

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

8. Soxhlet flask

สารเคมี

1. Petroleum ether (bp. 40-60 $^{\circ}$C)

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่อบแห้งแล้วให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 5 g ห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ใส่ใน thimble
2. นำ thimble ใส่ลงในชุดสกัดของชุดวิเคราะห์ปริมาณไขมันที่ต่ออยู่กับ Soxhlet flask ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน โดยใช้ thimble holder
3. เติม petroleum ether (b.p. 40-60 $^{\circ}$C) ประมาณ 250 ml ลงในชุดสกัด นำไปให้ความร้อนจนเดือดและมีการ reflux จากนั้นนำ Soxhlet flask ไประเหย petroleum ether ออกจนหมด ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator)
4. นำ Soxhlet flask ไปอบที่ 100-105 $^{\circ}$C นาน 2 ชั่วโมง
5. นำออกมาจากตู้อบ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) และชั่งน้ำหนักไขมันที่สกัดได้ แล้วคำนวณปริมาณไขมัน จากสูตร (3) ดังนี้

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%, db)} = \frac{\text{ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (g)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (g)}} \times 100 \qquad (3)$$

6. คำนวณปริมาณไขมันเป็น % wb

ก.6 การวัดค่า gel strength โดย Instron Universal Materials Testing Machine (ดัดแปลงจาก Andrés et al., 2006)

วิธีทดลอง

1. ติดตั้งหัววัดทรงกลม (ball probe) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 6 mm และฐานรองรับตัวอย่างเข้ากับเครื่องให้เรียบร้อย
2. เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์ แล้วเข้าสู่โปรแกรม Merlin ตั้งค่าของภาวะที่ใช้ในการวัดโดยกำหนดน้ำหนักของ load cell 5 kg ระยะทางที่หัววัดกดลงบนเจลเท่ากับ 75% ของความสูงเริ่มต้นของเจล หัววัดเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วก่อนและหลังสัมผัสตัวอย่างเจลเท่ากับ 1 mm/s
3. ทำการ calibrate หัววัด และตั้งระยะทางระหว่างหัววัดกับฐานของแท่นวัดที่ 35 mm

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. นำชิ้นตัวอย่างเจล SPI ทรงกระบอก เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 cm สูง 3 cm หรือลูกชิ้นปลาทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 cm ไปวางบนแท่นของเครื่องวัด และเริ่มวัดตัวอย่างโดยกดปุ่ม test run
5. กดตัวอย่างจนกระทั่งผิวหน้าแตก คำนวณน้ำหนักที่ใช้กด (force) และระยะทางที่หัววัดกดลงในตัวอย่างจนแตก (distance) รวมถึงค่า gel strength โดยใช้โปรแกรม Merlin

ก.7 การวิเคราะห์ Texture Profile Analysis โดย Instron Universal Materials Testing Machine (ดัดแปลงจาก Andrés et al., 2006)

วิธีทดลอง

1. ติดตั้งหัววัดทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 5.6 cm และฐานรองรับตัวอย่างเข้ากับเครื่องให้เรียบร้อย
2. เปิดเครื่องคอมพิวตอร์ แล้วเข้าสู่โปรแกรม Merlin ตั้งค่าของภาวะที่ใช้ในการวัดโดยกำหนดน้ำหนักของ load cell 5 kg ระยะทางที่หัววัดกดลงบนเจลเท่ากับ 50% ของความสูงเริ่มต้นของเจล หัววัดเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วก่อนและหลังสัมผัสตัวอย่างเจลเท่ากับ 1 mm/s
3. ทำการ calibrate หัววัด และตั้งระยะทางระหว่างหัวกดกับฐานของแท่นวัดที่ 40 mm
4. นำชิ้นตัวอย่างเจล SPI ทรงกระบอก เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 cm สูง 3 cm หรือลูกชิ้นปลาทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 cm ไปวางบนแท่นของเครื่องวัด และเริ่มวัดตัวอย่างโดยกดปุ่ม test run
5. กดตัวอย่าง คำนวณค่า hardness, cohesiveness และ springiness จากกราฟ TPA ที่ได้โดยใช้โปรแกรม Merlin

ก.8 การติดตามการรวมตัวกันของโปรตีนใน SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน ด้วยการวัดค่าแสงส่องผ่านด้วยเครื่อง Spectrophotometer with water bath circulation

วิธีทดลอง

1. เปิดเครื่อง Spectrophotometer และอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิปรับอุณหภูมิตามต้องการ
2. วัด % transmittance (%T) ที่ความยาวคลื่น 600 nm

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. ทำการ calibrate เครื่องด้วยการกดปุ่ม calibrate ที่ตัวเครื่อง โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank
4. เทน้ำกลั่นออก แล้วเติมสารละลาย SPI เข้มข้น 0.001% w/w ปริมาตร 2 ml ลงไปแทน อ่านค่าที่ได้พร้อมบันทึกผลการวัดทุกๆ 1 นาที
5. ปรับอุณหภูมิการให้ความร้อนเช่นเดียวกับการเตรียมเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้ MTGase ดังนี้ วิธีที่ 1 คือให้ความร้อนแก่สารละลาย SPI ที่อุณหภูมิ 50 °C จากนั้นเติม MTGase เข้มข้น 0.6% w/w ปริมาตร 0.5 ml ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 50 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 92 °C ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 92 °C ต่อไปอีก 30 นาที จึงหยุดการทดลอง วิธีที่ 2 คือให้ความร้อนแก่สารละลาย SPI ที่อุณหภูมิ 92 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิลงเป็น 50 °C เติม MTGase เข้มข้น 0.6% w/w ปริมาตร 0.5 ml ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 50 °C ต่อไปอีก 30 นาที จึงหยุดการทดลอง
6. อ่านค่า %T ที่วัดได้ พร้อมบันทึกผลการวัดทุกๆ 1 นาที และนำไปสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างเวลา และ %T

ก.9 การศึกษาโครงสร้างจุลภาคของเจลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (cryogenic scanning electron microscopy, cryo-SEM)

<u>วิธีทดลอง</u>

1. ตัดเจล SPI หรือลูกชิ้นปลาขนาด 3×3×20 mm^3
2. นำชิ้นตัวอย่างสอดเข้าไปในวงแหวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm แล้วนำไปจุ่มในไนโตรเจนเหลว จนได้ตัวอย่างแช่แข็งอย่างรวดเร็ว
3. หักชิ้นตัวอย่างที่อยู่ด้านนอกวงแหวนออกด้วยคีม นำวงแหวนต่อเข้ากับฐานของรับตัวอย่าง จากนั้นนำชิ้นตัวอย่างเข้าเครื่อง SEM เพื่อการศึกษาลักษณะโครงสร้างจุลภาค

ก.10 การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน และตรวจสอบรูปแบบของแถบโปรตีน (protein pattern) ด้วย SDS-PAGE

การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Wasson et al., 1992)

<u>อุปกรณ์</u>

1. เครื่องเหวี่ยงแยก
2. เครื่อง homogenizer

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>สารเคมี</u>

1. 0.1% 2-mercaptoethanol
2. 5% Sodium dodecyl sulfate (SDS)

<u>วิธีทดลอง</u>

1. บดตัวอย่างให้ละเอียด
2. ชั่งตัวอย่าง 3 g นำมาโฮโมจีไนส์ด้วยสารละลาย 5% SDS + 0.1% 2-mercaptoethanol (95 °C) ปริมาตร 27 ml
3. นำ homogenate ที่ได้มาให้ความร้อนที่ 80 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือจนตัวอย่างละลายหมด
4. นำไปเหวี่ยงแยกที่ 17,500 × g เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (25 °C)
5. เก็บส่วนใส (supernatant) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน และสำหรับใช้เป็นตัวอย่างในการตรวจสอบรูปแบบของแถบโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดย Modified Lowry Method (Peterson, 1983)

<u>อุปกรณ์</u>

1. เครื่อง spectrophotometer Lambda 25

<u>สารเคมี</u>

1. Bovine serum albumin (BSA)
2. Copper sulfate anhydrous ($CuSO_4$)
3. Copper-tartrate-carbonate (CTC) (0.1% copper sulfate +0.2% potassium sodium tartrate +20% sodium carbonate)
4. Folin-Ciocalteu phenol
5. Potassium sodium tartrate
6. Reagent A (CTC+0.8 N NaOH+10% SDS+น้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:1)
7. Reagent B (Folin-Ciocalteu phenol + น้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:5)
8. Sodium carbonate
9. 0.15% Sodium deoxycholate (DOC)
10. 10% Sodium dodecyl sulfate (SDS)
11. 0.8 N Sodium hydroxide (NaOH)
12. 72% Tricholoroacetic acid (TCA)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>วิธีทดลอง</u>

1. เตรียมกราฟมาตรฐานในการหาปริมาณโปรตีนด้วยสารละลายโปรตีนมาตรฐาน bovine serum albumin (BSA) โดยชั่ง BSA 10 mg ละลายกับน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 10 ml
2. ปิเปตสารละลาย BSA ปริมาตรต่างๆ ผสมกับน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 1 ml เติมสารละลาย DOC เข้มข้น 0.15% ปริมาตร 0.1 ml เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 ^{o}C) นาน 10 นาที
3. เติมสารละลาย TCA เข้มข้น 72% ปริมาตร 0.1 ml เขย่าให้เข้ากัน
4. นำไปเหวี่ยงแยกที่ความเร็ว 12,000 × g เป็นเวลา 30 นาที
5. เทส่วนใสทิ้ง
6. นำตะกอนที่ได้มาเติมสารละลาย A ปริมาตร 1.0 ml เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 ^{o}C) นาน 10 นาที
7. จากนั้นเติมสารละลาย B ปริมาตร 0.5 ml เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 ^{o}C) นาน 30 นาที
8. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm
9. หาปริมาณโปรตีนจากสารละลายตัวอย่างโดยใช้สารละลายตัวอย่างที่มีโปรตีน 5-100 µg แทนสารละลาย BSA แล้วทำการทดลองข้างต้นซ้ำในข้อที่ 2- 8

การตรวจสอบรูปแบบของแถบโปรตีน (protein pattern) ด้วย SDS-PAGE (Laemmli, 1970)

<u>สารเคมี</u>

1. 2 M Tris-HCl (pH 8.8)
2. 1 M Tris-HCl (pH 6.8)
3. 10% Sodium dodecyl sulfate (SDS)
4. 50% Glycerol
5. 1% Bromophenol blue
6. 10% ammonium persulfate
7. Electrophoresis buffer (25 mM Tris, 192 mM glycine, 0.1% SDS)
8. Sample buffer (60 mM Tris-HCl, 25% glycerol, 2% SDS, 14.4 mM 2-mercaptoethanol, 0.1% bromophenol blue)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

9. Coomassie gel stain solution (Coomassie blue R-250, methanol, glacial acetic acid และน้ำกลั่น)
10. Coomassie gel destain solution (methanol, glacial acetic acid และน้ำกลั่น)

<u>วิธีทดลอง</u>

1. ล้างแผ่นกระจกสำหรับหล่อเจลด้วยน้ำสะอาด จากนั้นล้างอีกครั้งด้วย deionized water แล้วเช็ดด้วยเอทานอล
2. ประกบแผ่นกระจกทั้งสองแผ่นเข้าหากัน โดยใช้แผ่นพลาสติกสีขาว (spacer) ที่มีความหนา 1 mm คั่นไว้ที่ขอบทั้งสองด้าน ประกอบแผ่นกระจกเข้ากับตัวเครื่องโดยให้กระจกแผ่นที่มีรอยเว้าหันเข้าด้านในของตัวเครื่อง
3. ใช้ไมโครปิเปตดูด resolving gel solution เติมลงในช่องระหว่างแผ่นกระจกอย่างช้าๆ ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ จนสารละลายอยู่ต่ำกว่าขอบบนของแผ่นกระจกที่มีรอยเว้าประมาณ 1.5- 2.0 cm
4. หยอดสารละลายบิวทานอลปิดทับหน้าเจล ตั้งทิ้งไว้บนพื้นที่เรียบ รอให้เจลแข็ง ใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง
5. เทของเหลวบนผิวหน้าเจลออก ล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วใช้ไมโครปิเปตดูด stacking gel solution เติมลงในช่องระหว่างแผ่นกระจกอย่างช้าๆ ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ จนสารละลายสูงถึงขอบบนของกระจก
6. สอด comb ลงในช่องระหว่างแผ่นกระจก เพื่อให้เกิดช่องสำหรับบรรจุตัวอย่าง แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เจลชั้นบนแข็ง ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง จึงถอด comb ออก จะได้แผ่นเจลที่พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่าง
7. ปิเปตสารละลายโปรตีนที่ต้องการวิเคราะห์ประมาณ 0.3 ml เติมลงใน sample buffer ในอัตราส่วน 1:3 ที่บรรจุใน eppendorf tube จากนั้นผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 $^{\circ}C$ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น
8. ต่อชุด electrophoresis เข้ากับเครื่องกำเนิดไฟฟ้าเติม electrophoresis buffer ลงใน chamber และระหว่างแผ่นกระจกจนสารละลายท่วมแผ่นเจล
9. ดูดสารละลายโปรตีนที่ต้องการวิเคราะห์ 10 μl ลงในช่องด้านบนของ stacking gel ช่องละ 1 ตัวอย่าง
10. กำหนดกระแสไฟฟ้า 20-30 mA กดปุ่ม start รอจนตัวอย่างวิ่งลงมาจนสุดขอบล่างของแผ่นเจลจึงปิดเครื่องแล้วถอดเครื่องกำเนิดไฟฟ้าออก แกะเจลออกจากแผ่นกระจก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

11. นำแผ่นเจลแช่ใน staining solution เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปแช่ใน destaining solution จนแถบของโปรตีนปรากฏให้เห็น เทสารละลายทิ้งและล้างแผ่นเจลด้วยน้ำกลั่น

ก.11 การวัดค่าสีระบบ CIE LAB โดยเครื่องวัดสี ColorFlex

วิธีทดลอง

1. เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์ แล้วเข้าสู่โปรแกรม Spectrophotometer Universal
2. เลือกขนาดแท่นที่มีช่องเปิดรับแสงขนาด 0.5 นิ้ว
3. ทำการ calibrate โดยการกดแถบเมนู calibrate เครื่องจะขึ้นข้อความเพื่อให้วางแผ่นสีดำาตรฐานโดยวางให้จุดสีขาวที่อยู่บนของแผ่นอยู่กึ่งกลางด้านหน้าของเครื่องวัดสี แล้วกด OK ที่หน้าจอคอมพิวเตอร์ เครื่องจะขึ้นข้อความเพื่อให้วางแผ่นมาตรฐานสีขาว โดยวางให้จุดสีขาวที่อยู่บนของแผ่นอยู่กึ่งกลางด้านหน้าของเครื่องวัดสี แล้วกด OK ที่หน้าจอคอมพิวเตอร์
4. ทดสอบการ calibrate เครื่องด้วยการอ่านค่าสีขาวจากแผ่นมาตรฐาน (L* 93.35, a* -1.15 และ b* 1.54) โดยกดแถบเมนู read standard ค่าที่เครื่องอ่านได้จะต้องมีค่า ± ไม่เกิน 0.03 ของค่ามาตรฐานที่สามารถดูได้จากแผ่นสีขาวมาตรฐานเขียนกำกับไว้ หากค่าที่อ่านได้ ± เกิน 0.03 ให้ทำการ calibrate ซ้ำตามข้อ 3
5. ทำการวัดตัวอย่าง โดยตัดตัวอย่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 cm หนา 0.5 cm วางทับบนแท่นรูรับแสงให้แนบสนิท
6. กดแถบเมนู read sample เครื่องจะคำนวณ ค่าสี L* a* b* ให้ทันที จากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่าความขาว (whiteness) จากสูตร (2) (3.3.3.4)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก.12 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นปลาแสดงในรูปที่ ก.1

ชื่อ...**โทรศัพท์**...REP...............

คำชี้แจง 1. โปรดทดสอบตัวอย่างตามลำดับดังนี้ control , xxx, xxx, xxx และ xxx ตามลำดับ

2. โปรดทำเครื่องหมายเส้นขวาง (|) ลงบนเส้นสเกลตรงตำแหน่งที่ท่านคิดว่าแสดงถึงระดับของลักษณะทางประสาทสัมผัสแต่ละตัวอย่าง พร้อมทั้งระบุรหัสเหนือเส้นขวางนั้น

3. เมื่อทดสอบแต่ละตัวอย่างเสร็จแล้ว กรุณากลั้วปากด้วยน้ำและรอประมาณ 5 นาที ก่อนทดสอบตัวอย่างต่อไป

กลิ่นรส (flavor) :

1) กลิ่นคาวปลา (fishy flavor)

0 น้อยที่สุด — 10 มากที่สุด

2) กลิ่นถั่ว (beany flavor)

0 น้อยที่สุด — 10 มากที่สุด

ลักษณะปรากฏ (appearance) :

3) สีขาว (whiteness)

0 สีคล้ำ — 10 สีขาวมาก

4) ความเป็นมันวาวของผิวนอก (gloss)

0 น้อยที่สุด — 10 มากที่สุด

5) ความเนียนของเนื้อผลิตภัณฑ์ (smoothness)

0 น้อยที่สุด — 10 มากที่สุด

ความรู้สึกในปาก (mouthfeel) :

6) ความยืดหยุ่น (springiness)

0 น้อยที่สุด — 10 มากที่สุด

7) ความเกาะตัวกันของผลิตภัณฑ์ (cohesiveness)

0 น้อยที่สุด — 10 มากที่สุด

8) ความแข็งของผลิตภัณฑ์ (hardness)

0 น้อยที่สุด — 10 มากที่สุด

รสชาติ (taste) :

9) รสเค็ม (saltiness)

0 น้อยที่สุด — 10 มากที่สุด

ข้อเสนอแนะ ....

รูปที่ ก.2 แบบประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสของลูกชิ้นปลา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก.13 การตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (A. O. A. C, 1995)

อุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ
2. ปิเปตปราศจากเชื้อขนาด 1 ml
3. สารละลาย peptone เข้มข้น 0.1% ที่ปราศจากเชื้อ
4. หลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อ
5. อาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar ที่ปราศจากเชื้อ
6. stomacher

วิธีทดลอง

1. นำตัวอย่างลูกชิ้นที่ผ่านการบดด้วยเครื่อง stomacher นาน 2 นาที จำนวน 5 g ผสมกับสารละลาย peptone เข้มข้น 1% ปริมาตร 45 ml ผสมให้เข้ากัน
2. ทำการเจือจางสารละลายตัวอย่างแบบ serial dilution ด้วยสารละลาย peptone เข้มข้น 1% คือทำการเจือจางตัวอย่าง 1:10, $1:10^2$, $1:10^3$, $1:10^4$, $1:10^5$, $1:10^6$
3. ดูดเชื้อที่ระดับการเจือจาง $1:10^4$ ปริมาตร 1 ml ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ 2 จาน
4. ดูดเชื้อที่ระดับการเจือจาง $1:10^5$ และ $1:10^6$ ทำเช่นเดียวกับข้อ 3
5. เทอาหาร nutrient agar (ปราศจากเชื้อและหลอมเหลวแช่อยู่ในอ่างน้ำอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส) ลงในจานข้อ 3 และ 4
6. หมุนจานอาหารตามเข็มนาฬิกา 5 รอบ ทวนเข็มนาฬิกา 5 รอบ เคลื่อนจานขึ้นลงตามแนวระนาบ 5 ครั้ง เคลื่อนไปทางซ้ายขวาตามแนวระนาบ 5 ครั้ง เพื่อให้เชื้อกระจายตัวทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ
7. ตั้งทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว คว่ำจานลง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
8. ตรวจนับจำนวนโคโลนี โดยนับเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี มีหน่วยเป็น CFU (Colony forming unit) ต่อ ml

$$\text{จำนวนแบคทีเรียในตัวอย่าง} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้}}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้} \times \text{ระดับการเจือจาง}}$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข
ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ข.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า gel strength ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	11	154998.306	600.266*
Within Groups	180	258.216	
Total	191		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า force ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	11	356.544	752.689*
Within Groups	180	0.474	
Total	191		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า distance ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	11	230.067	98.924*
Within Groups	180	2.326	
Total	191		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	11	495528.670	457.360*
Within Groups	180	1083.454	
Total	191		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	11	0.393	108.215*
Within Groups	180	0.004	
Total	191		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springiness ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	11	0.319	576.047*
Within Groups	180	0.001	
Total	191		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (แสดงในรูป expressible water) ของเจล SPI ที่เตรียมโดยใช้กระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกันสองวิธี ที่ระดับความเข้มข้นของ SPI และ MTGase ต่างๆ

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	11	1065.032	99.409*
Within Groups	180	10.714	
Total	191		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.8 Gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้นต่างๆ

โซเดียมคลอไรด์	Gel strength (g.cm)	Force (g)	Distance(cm)
1.00	$3320.63^{a} \pm 271.47$	$242.79^{a} \pm 19.64$	$13.69^{ab} \pm 0.66$
1.25	$3955.73^{b} \pm 293.71$	$270.55^{b} \pm 17.94$	$14.37^{b} \pm 0.87$
1.50	$3451.68^{a} \pm 285.26$	$253.39^{a} \pm 22.02$	$14.19^{b} \pm 1.17$
1.75	$3445.16^{a} \pm 342.85$	$147.31^{a} \pm 21.02$	$13.8^{ab} \pm 0.81$
2.00	$3378.58^{a} \pm 245.28$	$256.63^{a} \pm 18.22$	$13.19^{a} \pm 0.91$

a, b,c… ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้นต่างๆ

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	4	1706771.675	22.499*
Within Groups	75	75859.244	
Total	79		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า force ของลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้นต่างๆ

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	4	3191.514	9.441*
Within Groups	75	338.052	
Total	79		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า distance ของลูกชิ้นปลาสูตรควบคุมที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้นต่างๆ

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	4	3.233	4.941*
Within Groups	75	0.654	
Total	79		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.12 Gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

สูตร	Gel strength (g.cm)	Force (g)	Distance(cm)
A1	$2673.68^{a} \pm 694.89$	$217.20^{a} \pm 41.36$	$12.83^{abc} \pm 1.69$
A2	$2913.17^{a} \pm 372.32$	$238.83^{b} \pm 14.47$	$12.73^{ab} \pm 0.53$
A3	$2868.37^{a} \pm 151.38$	$231.52^{ab} \pm 13.15$	$12.42^{a} \pm 0.68$
A4	$3430.25^{b} \pm 305.84$	$270.93^{c} \pm 23.53$	$12.50^{a} \pm 1.03$
A5	$3723.05^{c} \pm 261.40$	$311.37^{d} \pm 32.37$	$13.19^{abc} \pm 0.98$
A6	$4006.94^{d} \pm 313.58$	$326.49^{d} \pm 31.49$	$15.51^{bc} \pm 1.08$
A7	$4834.86^{e} \pm 411.84$	$309.68^{d} \pm 25.85$	$13.57^{c} \pm 1.01$

a, b,c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	7540025.850	79.363*
Within Groups	105	95006.661	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า force ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	21981.356	37.295*
Within Groups	105	589.387	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า distance ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	7.783	10.098*
Within Groups	105	0.771	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.16 Hardness, cohesiveness และ springiness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

สูตร	Hardness (g)	Cohesiveness	Springiness
A1	$5201.94^{a} \pm 395.43$	$0.35^{b} \pm 0.02$	$0.55^{a} \pm 0.03$
A2	$5604.65^{b} \pm 275.47$	$0.34^{a} \pm 0.02$	$0.57^{a} \pm 0.04$
A3	$5565.00^{b} \pm 300.72$	$0.34^{ab} \pm 0.02$	$0.56^{a} \pm 0.03$
A4	$7090.36^{c} \pm 260.76$	$0.33^{a} \pm 0.02$	$0.60^{b} \pm 0.02$
A5	$8705.70^{e} \pm 243.85$	$0.40^{cd} \pm 0.01$	$0.66^{d} \pm 0.03$
A6	$8035.35^{d} \pm 297.87$	$0.39^{c} \pm 0.02$	$0.63^{c} \pm 0.03$
A7	$8729.31^{e} \pm 470.79$	$0.40^{d} \pm 0.02$	$0.63^{c} \pm 0.03$

a, b,c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	37916334.840	348.926*
Within Groups	105	108665.988	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	0.015	40.696*
Within Groups	105	0.000	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springiness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	0.028	32.465**
Within Groups	105	0.001	
Total	111		

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.20 ค่า % Expressible water ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

สูตร	%Expressible water
A1	$15.47^{d} \pm 2.03$
A2	$13.52^{c} \pm 0.92$
A3	$12.09^{b} \pm 1.12$
A4	$12.89^{bc} \pm 1.08$
A5	$10.50^{a} \pm 0.79$
A6	$10.72^{a} \pm 0.72$
A7	$10.09^{a} \pm 0.88$

a, b,c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า % expressible water ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	59.887	45.074*
Within Groups	105	1.329	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.22 Gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

สูตร	Gel strength (g.cm)	Force (g)	Distance(cm)
B1	$2377.33^{a} \pm 444.27$	$171.75^{a} \pm 10.19$	$11.33^{a} \pm 0.75$
B2	$2610.41^{b} \pm 197.57$	$173.96^{a} \pm 10.33$	$14.35^{cd} \pm 0.78$
B3	$3284.73^{d} \pm 350.84$	$231.92^{c} \pm 21.97$	$14.69^{d} \pm 0.95$
B4	$3084.18^{cd} \pm 326.10$	$221.39^{c} \pm 15.55$	$14.44^{d} \pm 0.87$
B5	$2976.94^{c} \pm 290.72$	$204.51^{b} \pm 17.31$	$13.56^{b} \pm 1.32$
B6	$3739.19^{e} \pm 253.57$	$301.95^{d} \pm 29.87$	$13.75^{bc} \pm 1.08$
B7	$4644.53^{f} \pm 210.71$	$324.68^{e} \pm 21.65$	$14.47^{d} \pm 0.57$

a, b,c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	9384614.516	61.153*
Within Groups	105	153460.217	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า force ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	56917.954	153.482*
Within Groups	105	370.844	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า distance ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	21.528	24.788*
Within Groups	105	.868	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.26 Hardness, cohesiveness และ springiness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

สูตร	Hardness (g)	Cohesiveness	Springiness
B1	$3610.88^{a} \pm 256.89$	$0.27^{a} \pm 0.02$	$0.43^{a} \pm 0.03$
B2	$3811.5^{a} \pm 341.85$	$0.44^{e} \pm 0.05$	$0.48^{b} \pm 0.04$
B3	$6942.47^{d} \pm 571.59$	$0.44^{e} \pm 0.03$	$0.58^{de} \pm 0.04$
B4	$6128.63^{c} \pm 383.21$	$0.37^{c} \pm 0.03$	$0.57^{d} \pm 0.03$
B5	$4394.15^{b} \pm 307.17$	$0.30^{b} \pm 0.02$	$0.51^{c} \pm 0.03$
B6	$7035.29^{d} \pm 483.63$	$0.39^{d} \pm 0.02$	$0.60^{ef} \pm 0.04$
B7	$8565.07^{e} \pm 245.99$	$0.43^{e} \pm 0.03$	$0.62^{f} \pm 0.02$

a, b,c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	56815519.023	359.975*
Within Groups	105	157831.923	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.28 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	7.455E-02	78.147*
Within Groups	105	9.539E-04	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.29 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	7.642E-02	61.640*
Within Groups	105	1.240E-03	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.30 ค่า % expressible water ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

สูตรที่	%Expressible water
B1	24.69^{a} ± 1.24
B2	20.63^{b} ± 2.75
B3	16.10^{c} ± 1.40
B4	16.27^{c} ± 1.74
B5	13.48^{d} ± 1.13
B6	12.56^{d} ± 1.00
B7	11.27^{e} ± 0.63

a, b,c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.31 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า % expressible water ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	363.661	151.927*
Within Groups	105	2.394	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.32 ค่าสี L*, a*, b* และค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

สูตร	L*	a*	b*	Whiteness
A1	68.46^{a} ± 3.03	-1.46^{a} ± 0.03	11.41^{a} ± 0.76	66.37^{ns} ± 2.71
A2	69.95^{ab} ± 0.86	-0.33^{e} ± 0.03	11.85^{ab} ± 0.34	67.69^{ns} ± 0.79
A3	68.73^{ab} ± 2.97	-0.38^{d} ± 0.03	12.06^{bc} ± 0.32	66.45^{ns} ± 2.74
A4	70.23^{ab} ± 0.90	-0.93^{b} ± 0.06	12.57^{c} ± 0.78	67.66^{ns} ± 0.92
A5	69.96^{ab} ± 0.76	-0.37^{d} ± 0.03	12.48^{c} ± 0.76	67.47^{ns} ± 0.60
A6	70.46^{b} ± 0.78	-0.95^{b} ± 0.09	12.33^{bc} ± 0.64	67.96^{ns} ± 0.67
A7	69.14^{ab} ± 2.48	-0.43^{c} ± 0.02	12.56^{c} ± 0.39	66.66^{ns} ± 2.32

a, b,c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี L* ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	9.788	1.873**
Within Groups	105	5.226	
Total	111		

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.34 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี a* ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	2.961	30.228*
Within Groups	105	0.098	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.35 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี b* ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	3.010	6.489*
Within Groups	105	0.464	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.36 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	7.008	1.601**
Within Groups	105	4.378	
Total	111		

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.37 ค่าสี L*, a*, b* และค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

สูตร	L*	a*	b*	Whiteness
B1	$69.22^{ns} \pm 3.01$	$-0.64^{c} \pm 0.05$	$11.96^{c} \pm 0.37$	$66.99^{ns} \pm 2.59$
B2	$69.21^{ns} \pm 0.48$	$-1.06^{a} \pm 0.09$	$11.97^{c} \pm 0.30$	$67.59^{ns} \pm 0.50$
B3	$69.89^{ns} \pm 0.82$	$-0.79^{b} \pm 0.07$	$11.79^{c} \pm 0.24$	$67.65^{ns} \pm 0.82$
B4	$69.31^{ns} \pm 0.85$	$-0.61^{c} \pm 0.05$	$11.29^{ab} \pm 0.18$	$67.29^{ns} \pm 0.72$
B5	$69.11^{ns} \pm 2.96$	$-0.53^{d} \pm 0.02$	$11.51^{b} \pm 0.26$	$67.06^{ns} \pm 2.24$
B6	$69.23^{ns} \pm 0.74$	$-0.39^{e} \pm 0.07$	$11.26^{a} \pm 0.25$	$67.23^{ns} \pm 0.71$
B7	$69.89^{ns} \pm 1.04$	$-0.49^{d} \pm 0.03$	$11.54^{b} \pm 0.31$	$67.74^{ns} \pm 1.00$

a, b,c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.38 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี L* ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	2.160	0.720**
Within Groups	105	3.000	
Total	111		

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p >0.05)

ตารางที่ ข.39 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี a* ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	0.783	67.195*
Within Groups	105	0.012	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.40 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสี b* ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	1.399	12.147*
Within Groups	105	0.115	
Total	111		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.41 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	6	1.426	0.568**
Within Groups	105	2.509	
Total	111		

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p >0.05)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.42 Gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25 และ 1.50% w/w

สูตร	Gel strength (g.cm)		Force (g)		Distance(cm)	
	1.25% NaCl	1.50% NaCl	1.25% NaCl	1.50% NaCl	1.25% NaCl	1.50% NaCl
1	2673.68^a ± 694.89	2377.33^a ± 444.27	217.20^a ± 41.36	171.75^a ± 10.19	12.83^b ± 1.69	11.33^a ± 0.75
2	2913.17^a ± 372.32	2610.41^a ± 197.57	238.83^a ± 14.47	173.96^a ± 10.33	12.73^a ± 0.53	14.35^a ± 0.78
3	2868.37^a ± 151.38	3284.73^b ± 350.84	231.52^a ± 13.15	231.92^a ± 21.97	12.42^a ± 0.68	14.69^b ± 0.95
4	3430.25^b ± 305.84	3084.18^a ± 326.10	270.93^a ± 23.53	221.39^a ± 15.55	12.50^a ± 1.03	14.44^a ± 0.87
5	3723.05^b ± 261.40	2976.94^a ± 290.72	311.37^b ± 32.37	204.51^a ± 17.31	13.19^a ± 0.98	13.58^b ± 1.32
6	4006.94^b ± 313.58	3739.19^a ± 253.57	326.49^b ± 31.49	301.95^a ± 29.87	15.51^a ± 1.08	13.75^b ± 1.08
7	4834.86^b ± 411.84	4644.53^a ± 210.71	309.68^a ± 25.85	324.68^b ± 21.65	13.57^a ± 1.01	14.47^b ± 0.57

a, b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนสำหรับค่าสมบัติเชิงกลเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.43 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า gel strength ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	13	8851100.755	71.49*
Within Groups	210	123805.770	
Total	223		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.44 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า force ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	13	47335.652	82.36*
Within Groups	210	574.728	
Total	223		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.45 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า distance ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	13	14.562	14.89*
Within Groups	210	0.992	
Total	223		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.46 Hardness, cohesiveness และ springiness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25 และ 1.50% w/w

สูตร	Hardness (g)		Cohesiveness		Springiness	
	1.25% NaCl	1.50% NaCl	1.25% NaCl	1.50% NaCl	1.25% NaCl	1.50% NaCl
1	5201.94^{b} ± 395.43	3610.88^{a} ± 256.89	0.35^{b} ± 0.02	0.27^{a} ± 0.02	0.55^{b} ± 0.03	0.43^{a} ± 0.03
2	5604.65^{b} ± 275.47	3811.5^{a} ± 341.85	0.34^{a} ± 0.02	0.44^{b} ± 0.05	0.57^{b} ± 0.04	0.48^{a} ± 0.04
3	5565.00^{a} ± 300.72	6942.47^{b} ± 571.59	0.34^{a} ± 0.02	0.44^{b} ± 0.03	0.56^{a} ± 0.03	0.58^{a} ± 0.04
4	7090.36^{b} ± 260.76	6128.63^{a} ± 383.21	0.33^{a} ± 0.02	0.37^{b} ± 0.03	0.60^{a} ± 0.02	0.57^{a} ± 0.03
5	8705.70^{b} ± 243.85	4394.15^{a} ± 307.17	0.40^{b} ± 0.01	0.30^{a} ± 0.02	0.66^{b} ± 0.03	0.51^{a} ± 0.03
6	8035.36^{b} ± 297.87	7035.29^{a} ± 483.63	0.39^{a} ± 0.02	0.39^{a} ± 0.02	0.63^{b} ± 0.03	0.60^{a} ± 0.04
7	8729.31^{b} ± 470.79	8565.07^{a} ± 245.99	0.40^{a} ± 0.02	0.43^{a} ± 0.03	0.63^{a} ± 0.03	0.62^{a} ± 0.02

a, b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนสำหรับค่าสมบัติเชิงกลเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.47 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	13	49991135.261	375.17*
Within Groups	210	133248.956	
Total	223		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.48 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	13	0.042	63.17*
Within Groups	210	0.001	
Total	223		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.49 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springiness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	13	0.063	59.42*
Within Groups	210	0.001	
Total	223		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.50 ค่า % expressible water และค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25 และ 1.50% w/w

สูตร	%Expressible water		Whiteness	
	1.25% NaCl	1.50% NaCl	1.25% NaCl	1.50% NaCl
1	$15.47^{a} \pm 2.03$	$24.69^{b} \pm 1.24$	$66.37^{a} \pm 2.71$	$66.99^{ab} \pm 2.59$
2	$13.52^{a} \pm 0.92$	$20.63^{b} \pm 2.75$	$67.69^{ab} \pm 0.79$	$67.59^{ab} \pm 0.50$
3	$12.09^{a} \pm 1.12$	$16.10^{b} \pm 1.40$	$66.45^{ab} \pm 2.74$	$67.65^{ab} \pm 0.82$
4	$12.89^{a} \pm 1.08$	$16.27^{b} \pm 1.74$	$67.66^{ab} \pm 0.92$	$67.29^{ab} \pm 0.72$
5	$10.50^{a} \pm 0.79$	$13.48^{b} \pm 1.13$	$67.47^{ab} \pm 0.60$	$67.06^{ab} \pm 2.24$
6	$10.72^{a} \pm 0.72$	$12.56^{b} \pm 1.00$	$67.96^{b} \pm 0.67$	$67.23^{ab} \pm 0.71$
7	$10.09^{a} \pm 0.88$	$11.27^{b} \pm 0.63$	$66.66^{ab} \pm 2.32$	$67.74^{ab} \pm 1.00$

a, b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.51 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า %expressible water ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	13	273.099	146.74*
Within Groups	210	1.861	
Total	223		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.52 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w และ 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	13	4.039	1.173**
Within Groups	210	3.442	
Total	223		

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.53 ผลการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสในลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้ปริมาณเกลือ 1.25%

สูตร	กลิ่นคาวปลา	กลิ่นถั่ว	สีขาว	ความเป็นมันวาวของผิวนอก	ความเนียนของเนื้อผลิตภัณฑ์	Springiness	Cohesiveness	Hardness	รสเค็ม
A1	$4.13^{ab}\pm1.18$	$0.58^{ns}\pm1.19$	$5.92^{abc}\pm0.78$	$5.28^{ab}\pm0.84$	$4.97^{ns}\pm0.80$	$4.03^{a}\pm1.27$	$4.05^{a}\pm1.02$	$3.15^{a}\pm0.93$	$4.63^{ns}\pm0.74$
A2	$4.05^{a}\pm1.02$	$0.90^{ns}\pm2.00$	$5.55^{a}\pm0.53$	$5.30^{ab}\pm0.90$	$5.07^{ns}\pm0.75$	$4.17^{ab}\pm0.98$	$4.33^{a}\pm0.91$	$3.55^{ab}\pm0.89$	$4.65^{ns}\pm0.82$
A3	$4.38^{ab}\pm1.19$	$0.63^{ns}\pm1.63$	$5.65^{ab}\pm0.78$	$5.22^{a}\pm1.04$	$5.15^{ns}\pm0.76$	$4.60^{b}\pm1.01$	$4.83^{b}\pm0.80$	$3.93^{bc}\pm0.92$	$4.90^{ns}\pm0.88$
A4	$4.28^{ab}\pm1.19$	$0.35^{ns}\pm0.80$	$6.12^{c}\pm0.88$	$5.43^{ab}\pm0.52$	$5.18^{ns}\pm0.64$	$5.42^{c}\pm1.27$	$5.57^{c}\pm1.04$	$4.43^{cd}\pm1.55$	$4.87^{ns}\pm0.67$
A5	$4.33^{ab}\pm0.80$	$0.55^{ns}\pm1.35$	$6.06^{bc}\pm0.68$	$5.85^{c}\pm1.05$	$5.12^{ns}\pm1.02$	$5.83^{c}\pm1.26$	$6.20^{d}\pm1.06$	$4.92^{cd}\pm1.47$	$5.08^{ns}\pm1.01$
A6	$4.68^{b}\pm1.40$	$0.50^{ns}\pm0.94$	$5.93^{abc}\pm0.73$	$5.67^{bc}\pm0.68$	$5.23^{ns}\pm0.77$	$5.80^{c}\pm1.36$	$6.14^{cd}\pm0.88$	$4.90^{d}\pm1.63$	$4.68^{ns}\pm0.71$
A7	$4.42^{ab}\pm1.08$	$0.45^{ns}\pm0.80$	$5.78^{abc}\pm0.99$	$5.33^{ab}\pm0.77$	$4.97^{ns}\pm0.88$	$5.53^{c}\pm1.10$	$5.69^{cd}\pm1.05$	$4.48^{d}\pm1.35$	$4.83^{ns}\pm0.86$

a, b,c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

125

ตารางที่ ข.54 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกลิ่นคาวปลาของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	3.760	3.659*
Intercept	1	3930.344	3824.939*
Block	14	4.826	4.697*
Formula	6	1.272	1.238**
Error	189	1.028	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.55 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกลิ่นถั่วของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	5.198	3.905*
Intercept	1	67.433	50.655*
Block	14	7.038	5.287*
Formula	6	0.906	0.680**
Error	189	1.331	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.56 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	1.576	3.037*
Intercept	1	7206.629	13885.773*
Block	14	1.696	3.268*
Formula	6	1.296	2.497**
Error	189	0.519	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.57 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความมันเงาของผิวนอกของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	2.589	4.363*
Intercept	1	6213.568	10471.990*
Block	14	2.998	5.052*
Formula	6	1.635	2.756*
Error	189	0.593	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.58 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความเนียนของเนื้อผลิตภัณฑ์ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	10.718	11.408**
Intercept	1	5364.619	5709.805*
Block	14	7.676	8.170*
Formula	6	17.817	18.964**
Error	189	0.940	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.59 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springiness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	10.718	11.408*
Intercept	1	5364.619	5709.805*
Block	14	7.676	8.170*
Formula	6	17.817	18.964*
Error	189	0.940	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.60 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	8.857	11.341*
Intercept	1	5810.196	7439.645*
Block	14	3.116	3.990*
Formula	6	22.253	28.493*
Error	189	0.781	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.61 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	9.008	7.189*
Intercept	1	3696.005	2949.580*
Block	14	7.010	5.594*
Formula	6	13.671	10.910*
Error	189	1.253	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.62 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของรสเค็มของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	1.462	2.452**
Intercept	1	4852.811	8138.168*
Block	14	1.747	2.930*
Formula	6	0.797	1.336**
Error	189	0.596	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.63 ผลการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสในลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้ปริมาณเกลือ 1.50%

สูตร	กลิ่นคาวปลา	กลิ่นถั่ว	สีขาว	ความเป็นมันวาวของ	ความเนียนของเนื้อ	Springiness	Cohesiveness	Hardness	รสเค็ม
A1	4.71^{b}±1.81	1.02^{ab}±1.64	4.39^{ns}±0.80	5.78^{abc}±1.03	5.29^{a}±1.11	4.45^{a}±0.72	4.42^{a}±1.15	3.42^{a}±1.17	5.43^{ns}±0.79
A2	4.12^{ab}±1.75	1.11^{b}±1.63	4.31^{ns}±1.38	5.45^{a}±1.45	5.57^{ab}±1.25	5.69^{b}±1.36	5.51^{b}±1.35	4.68^{b}±0.93	5.22^{ns}±0.93
A3	3.57^{a}±1.96	1.30^{b}±1.73	4.29^{ns}±1.13	5.50^{ab}±1.07	5.52^{ab}±1.28	5.95^{bc}±1.49	5.64^{bc}±0.99	4.72^{b}±1.03	5.48^{ns}±1.13
A4	3.65^{a}±1.14	1.17^{b}±1.96	3.99^{ns}±0.88	5.76^{abc}±0.97	5.35^{a}±1.37	6.13^{bc}±0.99	5.65^{bc}±0.96	4.87^{bc}±0.83	5.31^{ns}±1.02
A5	4.25^{ab}±1.01	1.17^{b}±1.65	4.35^{ns}±1.15	6.18^{c}±0.96	5.63^{abc}±1.25	6.18^{bc}±1.07	5.80^{bc}±0.96	5.08^{bc}±0.83	5.28^{ns}±1.13
A6	4.03^{ab}±1.31	0.43^{a}±1.04	4.10^{ns}±1.15	6.17^{c}±0.99	6.10^{bc}±1.12	6.30^{c}±0.75	6.15^{cd}±0.72	5.15^{bc}±0.84	5.55^{ns}±0.77
A7	4.07^{ab}±1.51	0.70^{ab}±1.18	3.94^{ns}±1.08	6.05^{bc}±1.07	6.22^{c}±0.96	6.52^{c}±0.61	6.35^{d}±0.71	5.32^{c}±0.89	5.52^{ns}±0.61

a, b,c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

129

ตารางที่ ข.64 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกลิ่นคาวปลาของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	5.823	2.875*
Intercept	1	3506.360	1731.426*
Block	14	6.736	3.326*
Formula	6	3.694	1.824**
Error	189	2.025	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.65 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกลิ่นถั่วของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	10.943	7.571*
Intercept	1	203.846	141.035*
Block	14	14.420	9.977*
Formula	6	2.828	1.956**
Error	189	1.445	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.66 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความขาวของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	2.750	2.674*
Intercept	1	3696.844	3594.870*
Block	14	3.498	3.401*
Formula	6	1.006	0.978**
Error	189	1.028	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.67 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความมันเงาของผิวนอกของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	3.033	2.896*
Intercept	1	7169.186	6846.241*
Block	14	3.174	3.031*
Formula	6	2.705	2.583**
Error	189	1.047	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.68 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความเนียนของเนื้อผลิตภัณฑ์ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	3.482	2.681*
Intercept	1	6749.001	5196.282*
Block	14	3.320	2.556**
Formula	6	3.858	2.970**
Error	189	1.299	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.69 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springiness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	5.623	5.475*
Intercept	1	7278.275	7086.973*
Block	14	1.987	1.935**
Formula	6	14.105	13.734*
Error	189	1.027	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.70 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	5.377	6.178*
Intercept	1	6692.430	7690.602*
Block	14	2.744	3.153*
Formula	6	11.520	13.238*
Error	189	0.870	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.71 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	5.153	6.618*
Intercept	1	4734.326	6079.788*
Block	14	2.237	2.873*
Formula	6	11.957	15.356*
Error	189	0.779	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.72 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของรสเค็มของลูกชิ้นปลาสูตรที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Corrected Model	20	1.473	1.871**
Intercept	1	6121.332	7778.050*
Block	14	1.890	2.401**
Formula	6	0.499	0.635**
Error	189	0.787	
Total	210		
Corrected Total	209		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.73 Gel strength, force และ distance ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

วันที่เก็บรักษา	Gel strength	Force	Distance
1	6648.48[a] ± 622.57	402.43[a] ±27.38	15.21[a] ±0.91
3	6392.51[ab] ± 543.42	392.88[a] ±35.80	16.00[b] ±1.10
5	6350.03[bc] ±388.60	406.78[a] ±34.15	16.25[bc] ±0.86
7	6014.89[cd] ±625.32	365.23[b] ±32.53	16.79[cd] ±0.98
9	5836.33[d] ± 587.76	386.78[ab] ±35.62	15.57[ab] ±1.03
11	5863.96[d] ±478.17	404.29[a] ±36.15	17.25[d] ±1.34

a, b,c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.74 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า gel strength ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	5	1723798.955	5.749*
Within Groups	90	299840.668	
Total	95		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.75 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า force ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	5	3896.712	3.422**
Within Groups	90	1138.623	
Total	95		

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.76 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า distance ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	5	9.148	8.350*
Within Groups	90	1.096	
Total	95		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.77 Hardness, cohesiveness และ springiness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

วันที่เก็บรักษา	Hardness (g)	Cohesiveness	Springiness
1	14319.52^{a} ± 915.71	0.53^{a} ±0.02	0.67^{a} ±0.03
3	14504.57^{a} ±1481.79	0.53^{a} ±0.01	0.67^{a} ±0.02
5	14531.06^{a} ±1119.69	0.53^{a} ±0.03	0.67^{a} ±0.03
7	12868.29^{b} ±1284.37	0.54^{a} ±0.02	0.66^{a} ±0.03
9	12749.47^{b} ±1200.92	0.53^{a} ±0.01	0.65^{a} ±0.03
11	12080.96^{b} ±749.32	0.53^{a} ±0.03	0.65^{a} ±0.03

a, b,c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.78 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	5	18302152.346	13.828*
Within Groups	90	1323536.216	
Total	95		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.79 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	5	0.000	0.674**
Within Groups	90	0.001	
Total	95		

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.80 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springiness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.25% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	5	0.002	1.947**
Within Groups	90	0.001	
Total	95		

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.81 Gel strength, force และ distance ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

วันที่เก็บรักษา	Gel strength	Force	Distance
1	6594.17^{a} ±405.91	414.41^{a} ±36.48	16.51^{ab} ±1.31
3	6501.14^{a} ±345.18	351.33^{a} ±30.83	17.14^{a} ±1.50
5	6471.91^{a} ±867.03	378.86^{a} ±74.18	15.64^{a} ±1.35
7	5113.01^{a} ±574.89	375.07^{a} ±32.17	15.97^{a} ±1.06
9	4790.62^{ab} ±609.85	352.41^{a} ±28.92	16.93^{a} ±1.20
11	4531.74^{a} ±448.97	277.03^{a} ±21.18	15.67^{a} ±1.33

a, b,c… ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.82 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า gel strength ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	5	1723798.955	5.749*
Within Groups	90	299840.668	
Total	95		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.83 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า force ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	5	3896.712	3.422**
Within Groups	90	1138.623	
Total	95		

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.84 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า distance ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	5	9.148	8.350*
Within Groups	90	1.096	
Total	95		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.85 Hardness, cohesiveness และ springiness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

วันที่เก็บรักษา	Hardness (g)	Cohesiveness	Springiness
1	9557.02^{a} ±1104.5	0.49^{a} ±0.03	0.62^{a} ±0.03
3	9050.32^{a} ±1083.29	0.50^{ns} ±0.05	0.62^{a} ±0.05
5	10309.27^{b} ±1221.60	0.45^{a} ±0.04	0.64^{a} ±0.03
7	12664.37^{c} ±961.52	0.50^{ns} ±0.04	0.67^{a} ±0.03
9	11979.91^{c} ±1090.01	0.52^{a} ±0.05	0.63^{a} ±0.03
11	8821.38^{a} ±724.06	0.42^{a} ±0.04	0.63^{a} ±0.04

a, b,c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.86 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า hardness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	5	18302152.346	13.828*
Within Groups	90	1323536.216	
Total	95		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.87 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า cohesiveness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	5	0.000	0.674**
Within Groups	90	0.001	
Total	95		

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ ข.88 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า springiness ขณะเก็บรักษาของลูกชิ้นปลาสูตร 7 ที่เตรียมโดยใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.50% w/w

SOV	d.f.	MS	F Value
Between Groups	5	0.002	1.947**
Within Groups	90	0.001	
Total	95		

** ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสุนันทา ทรงกัลยาณวัตร เกิดวันที่ 28 กันยายน พ.ศ. 2523 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร จบการศึกษาปริญญาบัณฑิต (วท.บ.) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพจากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ เมื่อปี พ.ศ. 2545 หลังจากนั้นได้เข้าทำงานที่บริษัท ไทยคิวพี จำกัด ในตำแหน่งผู้ช่วยหัวหน้าหน่วยผลิต เป็นเวลา 2 ปี 1 เดือน ก่อนที่จะเข้าศึกษาในระดับปริญญามหาบัณฑิตในหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ. 2548

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย