

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของเนื้อปลาสด และชูริมิจากปลา ทับทิม

การวิเคราะห์ค่าความสดของปลา (total volatile base-nitrogen; TVB-N และ trimethylamine; TMA-N) ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) และองค์ประกอบทางเคมี เช่น ความชื้น โปรตีน และไขมัน ของเนื้อปลาสดและชูริมิจากปลาทับทิม ได้ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของเนื้อปลาทับทิมสด และชูริมิปลาทับทิม

องค์ประกอบ	เนื้อปลาสด	ชูริมิ
ค่าความสด		
- TVB-N (mg/100g)	10.35 ± 0.69	NA
- TMA-N (mg/100g)	3.51 ± 0.06	NA
ค่า pH (%)	6.4 ± 0.0	7.0 ± 0.1
ความชื้น (%)	78.14 ± 0.32	76.58 ± 1.75
โปรตีน (%)	18.71 ± 0.21	13.04 ± 1.55
ไขมัน (%)	4.24 ± 0.25	0.78 ± 0.06

หมายเหตุ: ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

NA คือ ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

จากการศึกษาปริมาณต่างๆที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) และปริมาณไตรเมทิลเอมีน (TMA-N) ของกล้ามเนื้อปลาทับทิมสดที่ใช้เป็นวัตถุดิบผลิตชูริมิ พบว่ามีปริมาณ TVB-N และ TMA-N เริ่มต้นเท่ากับ 10.35 และ 3.51 mg/100g sample ตามลำดับ แสดงว่าปลาอยู่ในขั้นสดมาก โดยจากรายงานพบว่าปลาที่มีค่า TVB-N ต่ำกว่า 12 mg/100 g sample ถือว่ามี ความสดมาก ส่วนปลาที่มีค่า TVB-N สูงกว่า 30 mg/100 g sample ถือว่าไม่สด และถ้าค่า

เกิน 40 mg/100 g sample จัดว่าไม่เหมาะในการบริโภค ส่วนค่า TMA-N ก็ทำนองเดียวกัน หากมีค่าอยู่ในช่วง 5-10 mg/100 g sample ถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แต่ถ้าหากมากกว่า 15 mg/100 g sample จัดว่าไม่เหมาะในการบริโภค (นงลักษณ์ สุทธิวิษ, 2531) อย่างไรก็ตามค่า TVB-N และ TMA-N จะมีระดับที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของปลาและระยะเวลาในการเก็บ (Huss, 1988; Sikorski และคณะ, 1990)

การเปลี่ยนแปลงความสดของปลาเกิดเนื่องจากหลังจากปลาทายจะมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีโดยมีสาเหตุมาจากแบคทีเรีย โดยเฉพาะกลุ่ม *Pseudomonas* spp. ซึ่งจะสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อปลาทำให้เกิดสารประกอบต่าง ๆ เช่น สารประกอบเอมีนที่ระเหยได้ (total volatile base-nitrogen, TVB-N) ซึ่งเป็นค่ารวมของไตรเมทิลเอมีน (trimethylamine, TMA), ไดเมทิลเอมีน (dimethylamine, DMA) และแอมโมเนีย (ammonia, NH_3) รวมทั้งสารเอมีนที่ระเหยไม่ได้อื่น ๆ เช่น ฮีสตามีน นอกจากนี้เอนไซม์โปรตีเอสที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อปลาก็เป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่ทำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนเช่นกัน ดังนั้นการวัด metabolite ที่เกิดจากการกระทำของแบคทีเรีย ซึ่งได้แก่ปริมาณต่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB-N) และไตรเมทิลเอมีน (TMA-N) จึงสามารถใช้เป็นดัชนีบอกความสดของปลาได้ (Huss, 1988) การวัดความสดในปลาน้ำจืดนิยมวัดค่า TVB-N มากกว่า TMA-N ทั้งนี้เนื่องจากปลาน้ำจืดมีปริมาณ trimethylamine oxide (TMA-O) ต่ำมาก (นงลักษณ์ สุทธิวิษ, 2531)

ผลการวัดความเป็นกรดต่าง (pH) ของเนื้อปลาที่บ่มสด พบว่าได้ค่า pH เท่ากับ 6.4 ซึ่งตามปกติปลาที่ยังมีชีวิตจะมี pH ที่เป็นกลางประมาณ 7.0 แต่หลังจากเกิด post-mortem change หรือเกิดการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ พบว่า pH ของปลาจะลดลงอยู่ในช่วง 6.0-7.1 ทั้งนี้ค่า pH ที่วัดได้จะขึ้นอยู่กับชนิดของปลา (Park และคณะ, 1990; Mazorra-Manzano และคณะ, 2000) สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของกล้ามเนื้อปลามีสาเหตุมาจากเมื่อปลาทายจะเกิด post-mortem change กล่าวคือเกิดการ breakdown ของ glycogen และกล้ามเนื้อมีการหายใจแบบ anaerobic กระตุ้นให้เกิดการผลิต lactic acid ส่งผลให้ pH ของปลาลดต่ำลง (Huss, 1988) อย่างไรก็ตามเมื่อเกิดการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในตัวปลาหรือแบคทีเรีย pH ของปลาเริ่มเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้เกิดเนื่องจากการสลายตัวของ nitrogenous compounds ทำให้ค่า volatile base เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ pH ในเนื้อปลาสูงขึ้นมีผลต่อคุณภาพของซูริมิได้ แต่หลังจากเนื้อปลาสดผ่านขั้นตอนการล้าง และเติมสาร cryoprotectant ซึ่งเป็นสารป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีน เช่น น้ำตาลซูโครส ซอร์บิทอล และ ฟอสเฟต เมื่อวัดค่า pH อีกครั้งพบว่าค่าที่วัดได้จะเพิ่มสูงขึ้นจาก 6.4 เป็น 7.0 มีรายงานพบว่าสารฟอสเฟตที่เติมในซูริมิ อาทิเช่น

sodium tripolyphosphate ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$) ที่ระดับ 0.2-0.3 % ช่วยเพิ่ม pH ของซูริมิได้ (Lee และคณะ, 1992; Matsumoto และ Noguchi, 1992)

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาสดพบว่าความชื้น โปรตีน และไขมัน เท่ากับ 78.14 18.71 และ 4.24 % ตามลำดับ โดยทั่วไปในกล้ามเนื้อปลาจะมีความชื้นอยู่ในช่วง 66-81 % โปรตีนอยู่ในช่วง 16-21 % และไขมันอยู่ในช่วง 0.2-25 % (Huss, 1988) สำหรับการจัดกลุ่มปลาทะเลตามปริมาณไขมันสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม คือปลาที่มีไขมันต่ำมาก (<2 %) เช่น ปลา cod ปลา haddock และปลา Alaska pollock ปลาที่มีไขมันต่ำ (2-4 %) เช่น ปลา sole และปลา redfish ปลาที่มีไขมันปานกลาง (4-8 %) เช่น ปลา salmon และปลาที่มีไขมันสูง (8-20 %) เช่น ปลา herring และ ปลา mackerel เป็นต้น (Ackman, 1994) ถ้าหากใช้เกณฑ์นี้ในการจัดระดับไขมันในปลาที่บ่มจะอยู่ในกลุ่มปลาที่มีไขมันต่ำถึงไขมันระดับปานกลาง

อย่างไรก็ตามองค์ประกอบทางเคมีของปลาแต่ละชนิดแตกต่างกันตามชนิดของปลา ดังตารางที่ 4.2 ซึ่งเป็นการรวบรวมผลขององค์ประกอบทางเคมีและกายภาพ ที่วิเคราะห์จากกล้ามเนื้อปลาน้ำจืดและปลาทะเลโดยนักวิจัยหลาย ๆ ท่าน นอกจากนี้องค์ประกอบทางเคมีของปลายังแตกต่างกันตามฤดูกาลที่จับด้วย โดยทั่วไปปลาที่จับในช่วง feeding period จะให้ซูริมิที่มีคุณภาพสูง กล่าวคือกล้ามเนื้อปลาจะมีความชื้น และ pH ต่ำ ในขณะที่โปรตีนจะมีในปริมาณสูง ส่วนปลาที่จับในฤดูวางไข่ (spawning) จะมี pH สูง และมีแนวโน้มที่น้ำถูกกักในกล้ามเนื้อสูง จึงยากที่จะกำจัดออกจากเนื้อปลาในขั้นตอนการล้าง จึงทำให้ซูริมามีคุณภาพด้อยลง (Hall และ Ahmad, 1997; Park และ Morrisey, 2000)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

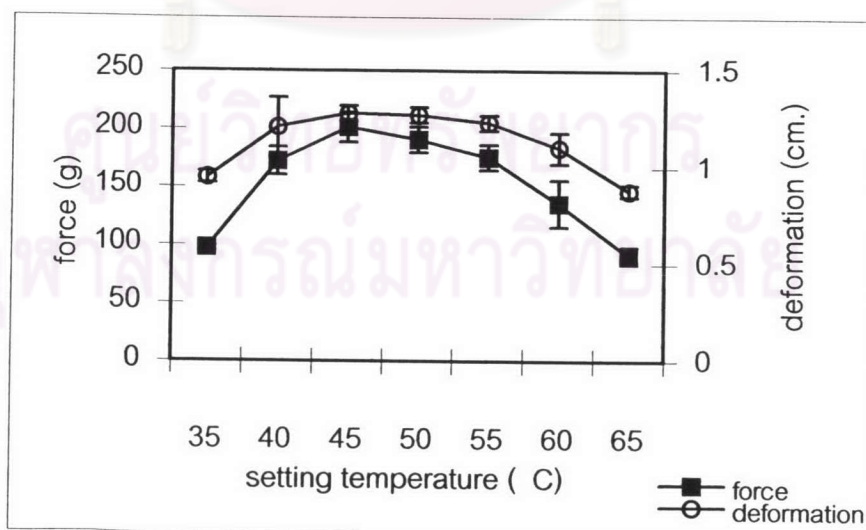
ตารางที่ 4.2 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของเนื้อปลาสด และซูริมิ จากปลาชนิดต่าง ๆ

Type of fish	Analyses	TVB-N (mg/100g)	pH (%)	Moisture (%)	Protein (%)	Fat (%)	Reference
Tilapia							
(<i>Oreochromis niloticus</i>)	flesh fish	6.1±0.8	6.8±0.0	82.0±0.3	14.1±0.5	1.9±0.3	Somboonyarathi (1990)
"	"	10.76	6.5	79.89	18.2	0.27	สุวรรณ วิรัชกุล และคณะ (2543)
"	"	-	6.6	76.8	18.8	0.4	สุวรรณ วิรัชกุล และคณะ (2543)
(<i>Areochromis aureus</i>)							
- pre-rigor	flesh fish	-	6.89	70.53	20.27	-	} Park และคณะ (1990)
- in-rigor	"	-	6.21	75.63	15.42	-	
- post-rigor	"	-	6.23	75.03	16.57	-	
Hybrid Clarias catfish	flesh fish	-	-	76.65 ± 0.37	15.80±0.31	7.56±0.39	อรวรรณ คงพันธ์ (2539)
	surimi	-	-	81.4	10.10	1.22	
Threadfin bream	flesh fish	14.66	6.86	81.02	18.14	0.32	Rattagool และ Ralston (1988)
	"	-	6.5±0.1	82.34±0.34	16.18±0.68	0.74±0.04	VidyaSagar Reddy และคณะ (1991)
	"	-	-	76.23	17.05	0.85	สุแพรวพันธ์ ชุมเรียง และคณะ (2542)
Big-eye snapper	flesh fish	11.42	6.73	78.58	17.87	0.72	Rattagool และ Ralston (1988)
Lizardfish	flesh fish	13.89	6.41	82.16	15.22	4.46	Rattagool และ Ralston (1988)
Sardine	flesh fish	10.64	6.25	78.64	13.42	11.45	Rattagool และ Ralston (1988)
	surimi	-	6.6	75.82	13.13	3.05	Alvarez และคณะ (1999)
Croaker	flesh fish	10.52	6.5	80.29	18.11	0.62	Rattagool and Ralston (1988)
Black skipjack	flesh fish	-	-	73.2±0.06	21.8 ±0.82	1.0 ±0.3	Mazorra-Manzano และคณะ (2000)
Pacific herring	flesh fish	-	-	81.4±0.1	16.6	1.7±0.3	Reppond และคณะ (1995)
"	"	-	-	76.1	-	3.8	Hastings และคณะ (1992)
	surimi	-	7.2	75.5	-	2.1	Hastings และคณะ (1992)
Pacific whiting	flesh fish	-	-	82.06	15.29	1.53	Chang-Lee และคณะ (1990)
	surimi	-	-	77.26	13.34	0.64	
Hoki	flesh fish	-	6.7	81.3±1.3	15.8±0.7	1.8	MacDonold และคณะ (1990)

4.2 ผลของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดปรากฏการณ์ suwari และ modori ของ ชูริมิจากปลาทับทิม

ปรากฏการณ์ “suwari” เป็นปรากฏการณ์จัดเรียงตัว (setting) ของโมเลกุลโปรตีนใน เนื้อปลาในช่วงอุณหภูมิประมาณ 40-50 °C เกี่ยวข้องกับการ cross-linking ระหว่าง myosin heavy chain (MHC) เกิดเป็นโครงสร้างสามมิติ (3-dimensional network) โดยจากรายงาน พบว่าการเกิด cross-linking เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ Transglutaminase (TGase) ที่มี อยู่ในกล้ามเนื้อปลา นอกจากนี้ความร้อนที่ให้อาจส่งผลต่อการเกิด non-covalent bonds และ S-S bonds ส่วนปรากฏการณ์ “modori” หรือ disintegration จะเกิดในช่วงการให้ความร้อนที่ อุณหภูมิ 60-70 °C ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่เอนไซม์ alkaline protease ในเนื้อปลาทำงานได้ดี ส่งผลให้ความแข็งแรงของเจลลดลง (An และคณะ, 1996)

เพื่อให้เจลชูริมิจากปลาทับทิมมีคุณภาพดี จึงจำเป็นต้องทราบภาวะที่เหมาะสมสำหรับการ setting จากการทดลองภาวะที่ใช้คือการให้ความร้อนแบบ 2-step heating โดยแปร อุณหภูมิการให้ความร้อนในช่วงแรก (setting) เป็น 7 ระดับคือ 35 40 45 50 55 60 และ 65 °C เป็นเวลา 30 นาที ตามด้วยการให้ความร้อนที่ 90°C เป็นเวลา 20 นาที (cooking) ในการทดลองวิเคราะห์ค่าความแข็งแรงของเจล (gel strength) จากค่า force และ deformation ทดสอบความสามารถในการพับเจลชูริมิ (folding test) และวัดค่าความขาวของ เจล (whiteness) ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4.1 และตารางที่ 4.3



รูปที่ 4.1 ค่า force และ deformation ของชูริมิที่ผ่านการ setting ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

ตารางที่ 4.3 ค่า gel strength folding test และ whiteness ของซูริมิที่ผ่านการ setting ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

setting temperature (°C)	force (g.)	deformation (cm.)	gel strength (g.cm)	folding test	whiteness ^{ns}
35	97.46 ^a ± 2.01	0.95 ^{ab} ± 0.03	93.18 ^a ± 3.83	AA	78.85 ± 0.12
40	172.27 ^c ± 11.92	1.21 ^c ± 0.15	209.69 ^c ± 39.88	AA	79.20 ± 0.03
45	201.21 ^c ± 13.05	1.28 ^c ± 0.04	256.20 ^c ± 10.15	AA	79.87 ± 1.11
50	190.50 ^c ± 11.00	1.26 ^c ± 0.04	241.96 ^c ± 7.00	AA	80.27 ± 1.19
55	175.50 ^c ± 10.92	1.23 ^c ± 0.04	215.60 ^c ± 8.63	AA	79.36 ± 0.24
60	135.81 ^b ± 20.27	1.10 ^{bc} ± 0.08	150.03 ^b ± 33.52	AA	80.15 ± 0.54
65	91.13 ^a ± 7.42	0.88 ^a ± 0.03	85.00 ^a ± 3.22	A	79.85 ± 0.75

a,b,c ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05)

AA คือ เจลไม่แตก เมื่อพับ 4 ส่วน

A คือ เจลจะแตกเมื่อพับ 4 ส่วน ในขณะที่พับเจล 2 ส่วน เจลไม่แตก

ผลการทดลองพบว่า การเพิ่มอุณหภูมิการให้ความร้อน (setting temperature) ให้สูงขึ้น ส่งผลให้ทั้งค่า force และ deformation เพิ่มขึ้นจนกระทั่งถึงอุณหภูมิหนึ่ง หลังจากนั้นค่าทั้งสองจะมีแนวโน้มลดลงตามลำดับ (ดังรูปที่ 4.1) สำหรับอุณหภูมิการให้ความร้อนที่เหมาะสมต่อการเกิดเจลของซูริมิจากปลาทับทิมคือที่ 45 °C ให้เจลที่มีค่า force และ deformation เท่ากับ 201.21 g และ 1.28 cm ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการให้ความร้อนที่ภาวะอื่น ๆ ส่งผลให้ค่า gel strength ที่ได้มีค่าสูงที่สุดด้วย (256.20 g.cm) แต่เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าคุณภาพเจลที่ได้ทั้งค่า force deformation และ ค่า gel strength ไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับเจลที่ setting ที่ 40 50 และ 55 °C แต่จะพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) เมื่อ setting ที่อุณหภูมิต่ำ (35 °C) และอุณหภูมิสูงกว่า 55 °C (60 และ 65 °C) ซึ่งให้ค่า force และ deformation ต่ำมาก ทำให้ค่า gel strength ที่ได้มีค่าน้อย แสดงว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำ (35 °C) จะไม่มีผลให้ native actomyosin ของกล้ามเนื้อปลาทับทิมเกิดการคลายตัว (unfolding) นั้นหมายถึง myosin ของปลาทับทิมมีความคงตัวต่อความร้อนสูง Ogawa และคณะ (1999) รายงานว่า actomyosin ในกล้ามเนื้อปลานิล *Oreochromis niloticus* จะไม่เกิดเจลเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 30 นาที จากผลการทดลอง

หลังจากให้ความร้อนสูงขึ้นจนกระทั่งถึงอุณหภูมิ 45 °C ให้ค่า gel strength ที่สูงที่สุด อาจเนื่องจากเป็นช่วงอุณหภูมิที่ myosin เกิดการคลายตัวได้ดีที่สุด ส่งผลให้ hydrophobic part ของโปรตีนสามารถจับกันด้วยแรงยึดเหนี่ยว hydrophobic interaction รวมทั้งอาจเกิด S-S bond ส่งผลให้เกิด aggregation ของโปรตีนรวมตัวกันเป็น 3-dimensional network (Niwa, 1992) นอกจากนี้อาจเป็นไปได้ว่าที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นอุณหภูมิที่สามารถเกิดกิจกรรมของ เอนไซม์ทรานสกลูตามิเนส (TGase) ในปลาทบติมได้ดีซึ่งเหนี่ยวนำให้เกิดการเชื่อมโยงด้วยพันธะ โควาเลนต์ (cross-linking) ระหว่าง MHC ทำให้ค่า gel strength หรือค่าความแข็งแรงของเจล เพิ่มขึ้น Worratao และ Yongsawatdigul (2002) ศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ transglutaminase (TGase) ในกล้ามเนื้อปลานิล *Oreochromis niloticus* พบว่าในกล้ามเนื้อ ปลานิลมีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ในปริมาณที่สูงคือเท่ากับ 60.8 units/g. โดยมีอุณหภูมิ และ pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานที่ 50 °C และ 7.0-7.5 ตามลำดับ จากรูปที่ 4.1 เมื่อให้ความร้อนเพิ่มสูงขึ้นอีกจะพบว่าทั้งค่า force และ deformation มีแนวโน้มลดลง จนมีค่าต่ำสุดที่ 65 °C ซึ่งมีค่าเท่ากับ 91.13 g และ 0.88 cm ตามลำดับ ส่งผลให้ค่า gel strength ลดลงด้วย (85 g.cm) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Yongsawatdigul และคณะ (2000) ที่พบว่าที่อุณหภูมิ 65 °C เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายของเจลซูริมิจากปลานิล *Oreochromis niloticus* โดยเอนไซม์ protease ดังนั้นการทดลองนี้จึงเลือก 45 °C เนื่องจากให้ค่าสูงที่สุดถึงแม้จะไม่มี ความแตกต่างกันเมื่อเทียบกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 50 และ 55 °C

เมื่อประเมินคุณภาพเจลโดยการทดสอบความสามารถในการพับ (folding test) โดยอ้างอิงวิธีการของ Lanier (1992) พบว่าเจลที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 35 40 45 50 55 และ 60 °C มีระดับคุณภาพ AA ซึ่งหมายถึงความเหนียวของเจลอยู่ในระดับที่ดีมาก พับเป็น 4 ส่วนแล้ว เจลยังไม่แตก ส่วนตัวอย่างเจลที่ให้ความร้อนที่ 65 °C เมื่อพับ 4 ส่วนแล้วเจลจะแตก แต่ถ้าหากพับเป็น 2 ส่วนเจลไม่แตก ซึ่งจัดอยู่ในระดับคุณภาพ A หมายถึงความเหนียวของเจลอยู่ในระดับปานกลาง การที่คุณภาพเจลด้อยลงที่อุณหภูมิดังกล่าวเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ protease นั้นเอง ทั้งนี้ผลการทดสอบความสามารถในการพับของเจลเมื่อให้ความร้อนที่ 65 °C สอดคล้องกับค่า gel strength ที่ได้ (ตารางที่ 4.3)

ส่วนการวิเคราะห์ค่าความขาว (whiteness) ของเจลซูริมิจหรือที่เรียกกันว่า “คามาโบโกะ” ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิต่าง ๆ พบว่าค่าความขาวของเจลที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน คืออยู่ในช่วง 78.85-80.27 สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ทางสถิติที่พบว่าไม่มีความแตกต่าง

อย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ทำให้สามารถกล่าวได้ว่าอุณหภูมิการ setting ไม่ส่งผลต่อค่าความขาวของเจลซูริมิ ดังนั้นสามารถกล่าวได้ว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดเจลซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของโปรตีนในปลาแต่ละชนิดเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อคุณลักษณะของเจลซูริมิ โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิของแหล่งน้ำที่ปลาอาศัยอยู่ (Lee, 1994) เมื่อพิจารณาจากข้อมูลข้างต้น พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิด suwari คือ 45°C และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิด modori ของปลาทับทิมคือ 65°C

4.3 ผลของเวลาต่อการเกิดปรากฏการณ์ suwari และ modori ของซูริมิจากปลาทับทิม

ตัวอย่างเจลซูริมิจะผ่านการให้ความร้อนแบบ 2-step heating โดยการให้ความร้อนในขั้นตอนแรกให้ความร้อนแก่ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 45°C และ 65°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เลือกจากข้อ 4.2 ในแต่ละอุณหภูมิจะแปรเวลาการให้ความร้อน (setting) เป็น 3 ระดับคือ 30 60 และ 90 นาที จากนั้นให้ความร้อนอีกครั้งที่ 90°C เป็นเวลา 20 นาที นำเจลที่ได้มาวิเคราะห์ค่า force deformation gel strength folding test และค่าสี (L^* , a^* , b^* และ whiteness)

จากการทดสอบปรากฏการณ์ “suwari” ที่เกิดในกล้ามเนื้อปลาทับทิม ในช่วงการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 45°C (ตารางที่ 4.4) พบว่าระยะเวลาการให้ความร้อน (30 60 และ 90 นาที) ส่งผลต่อคุณภาพของเจลที่แตกต่างกัน กล่าวคือตัวอย่างเจลที่ให้ความร้อนที่ 45°C เป็นเวลา 30 นาที จะมีค่า force deformation และค่า gel strength เท่ากับ 212.57 g 1.31 cm และ 278.18 g.cm ตามลำดับ หลังจากเพิ่มระยะเวลาการให้ความร้อนเป็น 60 นาทีพบว่าความร้อนที่นานขึ้นส่งผลต่อค่า force และ gel strength แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีรายงานว่าในช่วง 5 นาทีแรกของการ setting ที่ optimal setting temperature ส่วนของ α -helix (tail portion) จะเริ่มเกิดการคลายตัว หลังจากนั้นเมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้นการคลายตัวจะเกิดอย่างต่อเนื่อง เกิดเป็นพันธะ non-disulfide bond ดังนั้นเพื่อให้ค่า gel strength เพิ่มขึ้นจึงต้องให้เกิดการคลายตัวของโมเลกุลโปรตีนเป็นเวลานาน (Ogawa และคณะ, 1995) สำหรับเวลาที่ใช้ในการคลายตัวของโมเลกุลโปรตีนในปลาทับทิมพบในช่วงเวลา 30-60 นาที เพราะถ้าใช้อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ setting สูงเกินไปอาจส่งผลให้เจลซูริมิเกิดการหดตัว (shrinkage) Belibagli และคณะ, (2003) รายงานว่าในระหว่างการให้ความร้อนโครงสร้าง (macro structure และ macro structure) ของซูริมิจะเปลี่ยนแปลงไปจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนและแรงยึดเหนี่ยวต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างการให้ความร้อน ดัง

นั่นจึงเกิดการขั้บน้ำ "syneresis" ขึ้น เจลเกิดการหดตัว จากรายงานดังกล่าวสอดคล้องกับผลการทดลอง เมื่อตัวอย่างเจลได้รับความร้อนเป็นเวลานานขึ้นคือ 90 นาที ค่า gel strength จะมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่ค่า force และ deformation ที่วัดจากเจลซูริมิที่ผ่านระยะเวลาการให้ความร้อนทั้ง 3 ระดับ จะมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาที่นานขึ้น แต่ค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4.4 ผลของเวลาต่อการเกิดปรากฏการณ์ suwari ในเจลซูริมิจากปลาหับทิม

สิ่งที่ประเมินผล	45 °C		
	30 min	60 min	90 min
force (g) ^{ns}	212.57±0.96	228.64 ± 2.63	196.23 ±13.79
deformation (cm.) ^{ns}	1.31±0.06	1.29 ± 0.06	1.15± 0.06
gel strength (g.cm)	278.18 ^b ±15.03	293.94 ^b ±18.79	225.85 ^a ± 2.29
L* ^{ns}	79.95± 0.99	79.39±1.34	79.59± 0.54
a* ^{ns}	-2.23± 0.15	-2.3±0.01	-2.25± 0.03
b* ^{ns}	0.15± 0.52	0.32±0.07	0.34± 0.40
whiteness ^{ns}	79.50 ± 0.58	78.43±1.13	78.59± 0.67
folding test	AA	AA	AA

a,b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

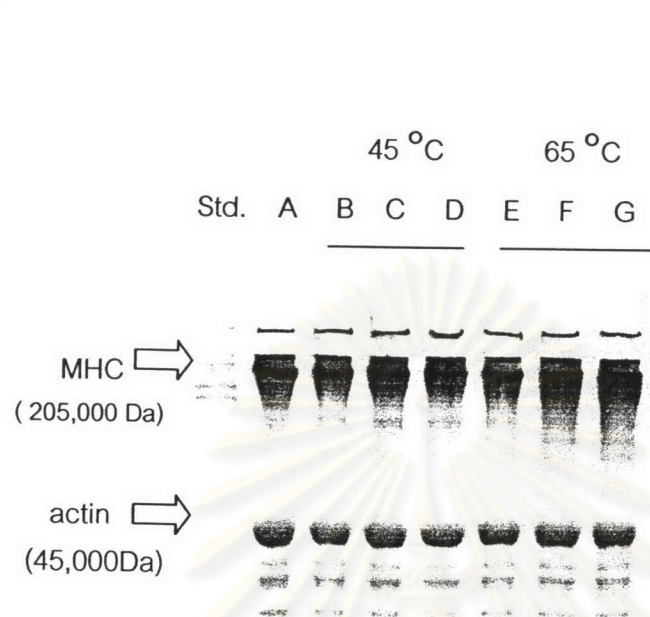
ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

AA คือ เจลไม่แตกเมื่อพับเป็น 4 ส่วน

จากการตรวจสอบ protein pattern ของเจลซูริมิ ด้วย SDS-PAGE (รูปที่ 4.2) พบว่าการให้ความร้อนที่ 45 °C เป็นเวลาต่าง ๆ (แถบ B, C, D) จะไม่พบการเปลี่ยนแปลงของ MHC band เมื่อเปรียบเทียบกับซูริมิที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน (แถบ A) นอกจากนี้ระยะเวลาการให้ความร้อน (setting) ที่นานขึ้น (30 60 และ 90 นาที) ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าสี (L*, a*, b* และ whiteness) (ตารางที่ 4.4)

ดังนั้นจึงเลือกภาวะ การให้ความร้อนที่ 45 °C เป็นเวลา 30 นาที ตามด้วยการให้ความร้อนที่ 90 °C เป็นเวลา 20 นาที เป็นภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการเกิดเจลของซูริมิจากปลาหับทิม

อีกทั้งเป็นการประหยัดเวลาในการเตรียมเจลอีกด้วย ภาวะการให้ความร้อนที่เหมาะสมต่อการเกิดเจลของโปรตีนจะแตกต่างกันทั้งขึ้นอยู่กับชนิดของปลา และอุณหภูมิของแหล่งน้ำที่ปลาอาศัยอยู่



รูปที่ 4.2 การตรวจสอบ protein pattern ของเจลซูริมิด้วย SDS-PAGE ที่ภาวะการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ: แถบ (std.) Sigma marker wide range (6,500-205,000 Da); แถบ (A) ไม่ผ่านความร้อน; แถบ (B-D) การให้ความร้อนที่ 45 °C เป็นเวลา 30 60 และ 90 นาที ตามลำดับ; แถบ (E-G) การให้ความร้อนที่ 65 °C เป็นเวลา 30 60 และ 90 นาที ตามลำดับ

จะเห็นว่าโปรตีนในปลาทบิมซึ่งเป็นปลาน้ำจืดที่อาศัยอยู่ในเขตร้อน มีคุณสมบัติในการคงตัวต่อความร้อนสูงเช่นเดียวกับปลาที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำเขตร้อนชนิดอื่น ๆ ในขณะที่การ set ตัวของปลาทะเลหรือ cold water fish พบว่ามี optimal setting temperature ที่ต่ำ ดังตารางที่ 4.5 แสดงว่า myofibrillar protein ของปลาน้ำจืดจะคงตัวต่อความร้อนได้ดีกว่าปลาในเขตนํ้าเย็นชนิดต่าง ๆ

ตารางที่ 4.5 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดเจล (setting) ของปลาชนิดต่าง ๆ

Species	Optimal setting	Reference
ปลาน้ำจืด		
tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	40 °C นาน 60 นาที	สุวรรณ วิรัชกุล และคณะ, 2543; Klesh และคณะ, 2000
common carp (<i>Cyprinus carpio</i>)	35 °C นาน 60-120 นาที	Luo และคณะ, 2001
grass carp (<i>Ctenopharyngodon idellus</i>)	40 °C นาน 30 นาที	Luo และคณะ, 2001
silver carp (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>)	35-40°C นาน 60 นาที	Luo และคณะ, 2001
ปลาทะเลเขตร้อน		
Threadfin bream (<i>Nemipterus virgatus</i>)	30 °C นาน 90 นาที หรือ 45 °C นาน 20 นาที	Jiang และคณะ, 2001
paddlefish (<i>Polyodon spathula</i>)	70 °C นาน 30 นาที	Lou และคณะ, 2000
ปลาทะเลเขตน้ำเย็น		
Herring (<i>Clupea harengus</i>)	40 °C นาน 50 นาที	Chan และคณะ, 1992
Alaska pollock (<i>Theragra chalcogramma</i>)	4 °C นาน 22 ชั่วโมง 30 °C นาน 2 ชั่วโมง	Klesh และคณะ, 2000 Fukuda และคณะ, 2001

จากการทดลอง ปรากฏการณ์ “modori” ในกล้ามเนื้อปลาที่บ่มจะเกิดได้ดีเมื่อให้ความร้อนที่ 65 °C ทั้งนี้เนื่องจากที่อุณหภูมิช่วงดังกล่าวเป็นช่วงอุณหภูมิที่เอนไซม์ protease ทำงานได้ดี Yongsawatdigul และคณะ (2000) รายงานว่าการย่อยสลายของชูริมิจากปลานิล *Oreochromis niloticus* จะเกิดเมื่อเพิ่มอุณหภูมิการให้ความร้อน และมีกิจกรรมสูงสุดที่ 65 °C ซึ่งจะพบแถบโปรตีนที่มีขนาดเล็กลง 116-97 kDa จากการย่อยสลายของ myosin heavy chain

(MHC) และ MHC จะหายไปเมื่อให้ความร้อนที่ 65 °C นาน 4 ชั่วโมง ในขณะที่ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 70 °C เนื่องจากเอนไซม์สูญเสียสภาพไปแล้ว จากตารางที่ 4.6 เมื่อเพิ่มเวลาการให้ความร้อนจาก 30 นาที เป็น 60 นาที จะส่งผลให้ทั้งค่า force deformation และ gel strength ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และเมื่อเพิ่มเวลาเป็น 90 นาที จะพบว่าเจลที่ได้ไม่สามารถนำมาวัดค่า force และ deformation ได้

ตารางที่ 4.6 ผลของเวลาต่อการเกิดปรากฏการณ์ modori ในเจลซูริมิจากปลาหีบทิม

สิ่งที่ประเมินผล	65 °C		
	30 min	60 min	90 min
force (g)	117.08 ^b ± 4.27	50.14 ^a ± 10.44	*
deformation (cm.)	0.91 ^b ± 0.08	0.53 ^a ± 0.01	*
gel strength (g.cm)	106.81 ^b ± 4.48	26.37 ^a ± 6.53	*
L* ^{ns}	79.74 ± 0.33	78.96 ± 0.54	*
a* ^{ns}	-2.27 ± 0.07	-2.15 ± 0.06	*
b*	0.26 ^a ± 0.04	0.67 ^b ± 0.24	*
whiteness ^{ns}	78.98 ± 0.22	76.97 ± 0.69	*
folding test	A	B	*

a,b ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

A คือ เจลไม่แตกเมื่อพับครึ่ง

B คือ เจลจะแตกออก (ไม่ขาดออกจากกัน) เมื่อพับครึ่ง

* ไม่สามารถวัดค่าได้

สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ค่า folding test ที่ได้ นั่นคือระดับคุณภาพของเจลจากการหีบจะลดลงตามระยะเวลาการให้ความร้อนที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งผลการทดลองสนับสนุนสมมติฐานที่ว่าการทำงานของเอนไซม์ protease จะทำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนมากขึ้น ทำให้เจลที่ได้ไม่แข็งแรง (weak gel) สามารถยืนยันผลได้ด้วยการตรวจสอบ protein pattern ของเจลซูริมิด้วย SDS-PAGE (รูปที่ 4.2; แถบ E, F, G) ที่พบว่า myosin heavy chain (MHC) ยังคงปรากฏอยู่แต่เกิดการย่อยสลายกลายเป็นโพลีเปปไทด์ที่มีขนาดเล็กลง (~ 84-116 KDa) ซึ่ง

จาก SDS-PAGE แสดงให้เห็นว่า MHC สามารถถูกย่อยสลายได้ง่ายกว่า actin ซึ่งผลนี้สอดคล้องกับรายงานของ Benjakul และคณะ (1997) ที่รายงานว่า MHC สามารถถูกย่อยสลายโดย proteolytic enzyme ได้ง่ายกว่าโปรตีนชนิดอื่น เช่น actin tropomyosin หรือ troponin นอกจากนี้การเกิดการย่อยสลายของ MHC เป็น MHC ที่มีน้ำหนักโมเลกุลลดลงของตัวอย่างเจลที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ อาจเกิดการเหนี่ยวนำโดย modori-inducing proteinase (MIP) (Onibala และคณะ, 1997) ดังนั้นเอนไซม์โปรตีเอสที่มีผลต่อเนื้อสัมผัสในปลาทับทิมอาจเป็นชนิด mf-60°C-MIP ซึ่งเป็น MIP ที่จับกับ myofibrillar protein ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 60 °C ทำให้เกิดการย่อยสลายของ MHC จึงส่งผลทำให้ค่า gel strength ลดต่ำลง

การวัดค่าสี พบว่าค่า L^* และ a^* ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ค่า b^* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ส่วนการให้ความร้อนเป็นเวลา 90 นาที ไม่สามารถวัดค่าต่าง ๆ ได้เนื่องจากเจลมีลักษณะที่เละมาก ดังผลในตารางที่ 4.6 ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่าปรากฏการณ์ modori ที่อุณหภูมิ 65 °C จะเกิดได้ดีเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น จึงชี้ให้เห็นถึงการทำงานของ protease อย่างชัดเจน

4.4 ผลการปรับปรุงคุณภาพเจลซูริมิจากปลาทับทิมโดยการเติมวัตถุเจือปนอาหาร

คุณสมบัติทางเนื้อสัมผัสและสีของผลิตภัณฑ์ซูริมิ นอกจากจะขึ้นอยู่กับคุณภาพเริ่มต้นของซูริมิแล้ว ชนิดและระดับของวัตถุเจือปนอาหารที่เติมในขั้นตอนการเตรียมเจลก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ

4.4.1 Sodium ascorbate (SA)

เตรียมซูริมิดังขั้นตอนในบทที่ 3 (การเตรียมเจลซูริมิ) นำมาบดผสมกับ 2.5% NaCl พร้อมกับเติม SA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 0.2 และ 0.3 % ตามลำดับ จากนั้นผ่านการให้ความร้อนแบบ 2-step heating โดยในขั้นตอนแรกให้ความร้อนแก่ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 30 นาที ตามด้วย 90 °C เป็นเวลา 20 นาที ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เลือกได้จากผลการทดลองในตอนที่ 4.3 ซึ่งเป็นภาวะที่ให้คุณสมบัติการเกิดเจลที่ดีที่สุด จากนั้นนำเจลที่ได้มาวิเคราะห์ค่า force deformation gel strength folding test และค่าสี (L^* , a^* , b^* และ whiteness) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ผลของการเติม sodium ascorbate (SA) ที่ระดับต่าง ๆ ต่อการปรับปรุงคุณภาพของเจลซูริมิ

สิ่งที่ประเมินผล	ปริมาณของ SA ที่ใช้ (%)			
	0.0	0.1	0.2	0.3
force (g)	412.30 ^a ±25.23	430.29 ^a ±45.98	619.43 ^b ±67.27	660.01 ^b ± 53.58
deformation (cm.) ^{ns}	1.49±0.02	1.42±0.07	1.45±0.05	1.44±0.01
gel strength (g.cm)	613.23 ^a ±44.87	610.79 ^a ±93.59	898.44 ^b ±28.53	915.67 ^b ±28.46
L*	81.58 ^a ±0.01	82.17 ^b ±0.06	81.51 ^a ±0.22	81.23 ^a ±0.02
a* ^{ns}	-2.07±0.07	-2.04±0.08	-2.26±0.12	-2.09±0.11
b*	1.74 ^c ±0.50	1.40 ^{bc} ±0.26	0.34 ^a ±0.12	0.68 ^{ab} ±0.18
whiteness	76.41 ^a ±1.48	77.98 ^{ab} ±0.74	80.52 ^b ±0.58	79.29 ^b ±0.54
ΔE	-	0.68	1.41	1.09
folding test	AA	AA	AA	AA
expressible water ^{ns} (%)	8.72±1.16	7.61±0.61	7.59±0.12	7.58±0.09
WHC ^{ns} (%)	99.89	99.90	99.90	99.90

a,b,c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

AA หมายถึง เจลไม่แตกเมื่อพับเป็น 4 ส่วน

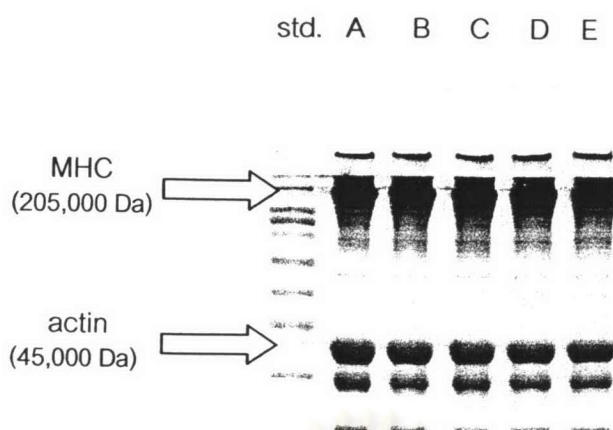
จากตารางที่ 4.7 พบว่าปริมาณการเติม SA ส่งผลต่อค่า gel strength กล่าวคือ ปริมาณการเติมในระดับที่สูงขึ้นส่งผลให้ทั้งค่า gel strength เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 0.2 % และ 0.3% เมื่อเปรียบเทียบกับ control ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ไม่เติม SA พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่ปริมาณ SA ที่เติมจะไม่ส่งผลต่อค่า deformation มีรายงานว่า การเติม SA ลงในผลิตภัณฑ์ซูริมิสามารถปรับปรุงเนื้อสัมผัสให้ดีขึ้นได้ โดยมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า gel strength สามารถอธิบายได้ว่า SA ที่ผสมลงไปในซูริมิจะถูกออกซิไดส์อย่างรวดเร็วโดยเฉพาะในช่วงการสับผสม (comminution process) มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของ surface hydrophobicity ของโปรตีนเกิดการเปลี่ยน SH-group ระหว่างโมเลกุลโปรตีนเป็น S-S bond ทำให้เกิดการเชื่อมต่อกันมากขึ้น ค่า gel strength จึงเพิ่มขึ้น (Lee และคณะ, 1992)

จากการวิเคราะห์ค่า expressible water ในผลิตภัณฑ์ซูริมิที่เติม SA โดยเปรียบเทียบกับ control (ไม่เติม SA) พบว่าการเติม SA มีแนวโน้มจะให้ค่า expressible water น้อยกว่าตัวอย่างที่ไม่เติม SA ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการเติม SA ช่วยปรับปรุงความสามารถในการยึดจับกับน้ำได้ (water holding capacity, WHC) ของซูริมิได้ เจลสามารถยึดจับกับน้ำได้ดีทำให้ค่า expressible water ที่ได้มีค่าต่ำ แต่อย่างไรก็ตามผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลของการใช้ SA กับค่า expressible water อาจขึ้นอยู่กับชนิดปลาด้วย Chen และคณะ (1999) รายงานว่าค่า expressible water ของซูริมิจากปลา milkfish ที่ผ่านการเติม SA จะมีค่าเพิ่มขึ้นสูงกว่า control ซึ่งให้ผลขัดแย้งกับผลการทดลองที่ได้

นอกจากนี้ SA ที่เติมในซูริมียังส่งผลต่อค่าสีอีกด้วย โดย SA ที่ระดับ 0.2 % จะเป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุดที่ทำให้เจลกามาโบโกะมีสีขาว (whiteness) สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ control (ไม่เติม SA) โดยพบว่าปริมาณที่เติมจะส่งผลต่อค่า L^* และ b^* โดยค่า L^* จะมีค่าสูงที่สุดที่ปริมาณการเติมเท่ากับ 0.1 % และค่าจะมีแนวโน้มลดลง แสดงว่า SA ส่งผลต่อค่า L^* ให้สูงขึ้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้น (Chen และคณะ, 1999) ในขณะที่ค่า b^* ค่าจะมีแนวโน้มลดลงจนถึงที่ระดับการเติม 0.2 % จากนั้นค่าจะเพิ่มสูงขึ้นอีก แสดงให้เห็นว่าการเติม SA ช่วยให้เจลกามาโบโกะขาวขึ้น ซึ่งโดยรวมแล้ว ค่า ΔE ของเจลกามาโบโกะที่ใส่ SA มากขึ้น จะเห็นได้ว่าแตกต่างจาก control อย่างชัดเจน ($\Delta E > 1$)

จากข้อมูลดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่า SA สามารถเพิ่มค่า gel strength และ whiteness ให้แก่เจลซูริมิจากปลาทับทิมได้

ผลของการตรวจสอบ protein pattern ของเจลซูริมิด้วย SDS-PAGE แสดงให้เห็นว่าการเติม SA ไม่มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ MHC และ actin (รูปที่ 4.3) ทั้งนี้เป็นเพราะกลไกการทำงานของ SA จะเป็นการเกิด S-S bond ซึ่งไม่สามารถตรวจได้ด้วยวิธี SDS-PAGE หากยังมีการใช้ DTT หรือ 2-mercaptoethanol เพราะ S-S bond จะถูกสลายตัวไปในการเตรียมตัวอย่าง



รูปที่ 4.3 การตรวจสอบ protein pattern ของเจลซูริมิด้วย SDS-PAGE เมื่อเติม sodium ascorbate (SA) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ: แถบ (std.) Sigma marker wide range (6,500-205,000 Da); แถบ (A) ไม่ผ่านความร้อน; แถบ(B) ไม่เติม SA; แถบ (C-E) เติม SA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 0.2 และ 0.3% ตามลำดับ

4.4.2 Microbial transglutaminase (MTGase)

เตรียมซูริมิดังขั้นตอนในบทที่ 3 (การเตรียมเจลซูริมิ) นำมาบดผสมกับ NaCl 2.5 % พร้อมกับเติม MTGase ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 0.2 และ 0.3 % ของน้ำหนักซูริมิ ตามลำดับ จากนั้นผ่านการให้ความร้อนแบบ 2-step heating โดยในขั้นตอนแรกให้ความร้อนแกตัวอย่างที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 30 นาที ตามด้วย 90 °C เป็นเวลา 20 นาที ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เลือกได้จากผลการทดลองในตอนที่ 4.3 ซึ่งเป็นภาวะที่ให้คุณสมบัติการเกิดเจลดีที่สุด จากนั้นนำเจลที่ได้มาวิเคราะห์ค่า force deformation gel strength folding test และค่าสี (L^* , a^* , b^* และ whiteness) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ผลของการเติม microbial transglutaminase (MTGase) ที่ระดับต่าง ๆ ต่อการปรับปรุงคุณภาพของเจลซูริมิ

สิ่งที่ประเมินผล	ปริมาณของ MTGase ที่ใช้ (%)			
	0.0	0.1	0.2	0.3
force (g)	412.30 ^a ± 25.23	722.34 ^b ± 16.09	999.83 ^d ± 45.58	841.59 ^c ± 25.13
deformation (cm.) ^{ns}	1.49 ± 0.02	1.50 ± 0.00	1.49 ± 0.02	1.50 ± 0.00
gel strength (g.cm)	613.23 ^a ± 44.87	1083.20 ^b ± 24.19	1488.25 ^d ± 52.22	1262.34 ^c ± 37.72
L*	81.58 ^c ± 0.01	79.75 ^b ± 0.11	78.56 ^a ± 0.24	81.79 ^c ± 0.21
a*	-2.07 ^b ± 0.07	-2.10 ^b ± 0.03	-2.58 ^a ± 0.04	-1.73 ^c ± 0.01
b*	1.74 ^c ± 0.50	0.59 ^{ab} ± 0.25	-0.33 ^a ± 0.12	1.36 ^{bc} ± 0.48
whiteness ^{ns}	76.41 ± 1.48	77.99 ± 0.62	79.54 ± 0.62	77.70 ± 1.2
ΔE	-	2.16	3.70	0.55
folding test	AA	AA	AA	AA
expressible water ^{ns} (%)	8.72 ± 1.16	9.53 ± 0.52	9.91 ± 0.18	10.04 ± 0.42
WHC (%)	99.89	99.88	99.87	99.87

a,b,c,d ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

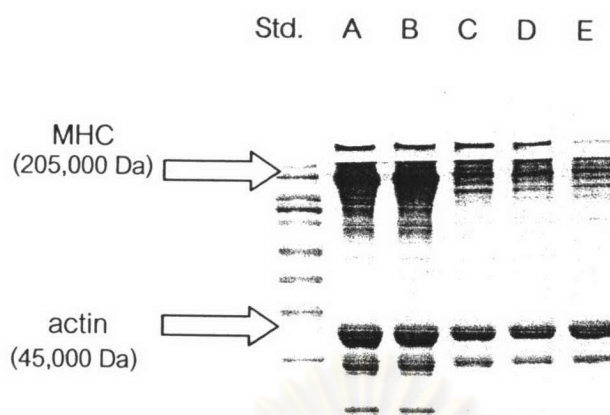
AA คือ เจลไม่แตกเมื่อพับเป็น 4 ส่วน

จากตารางที่ 4.8 ผลของการเติม MTGase ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในซูริมิ จากปลาหีบหิม พบว่าสามารถปรับปรุงค่า force และ gel strength ให้เพิ่มสูงขึ้นได้ โดยค่า force อยู่ในช่วง 722.34 – 999.83 g ค่า deformation อยู่ในช่วง 1.49 - 1.50 cm. และค่า gel strength อยู่ในช่วง 1083.2-1488.25 g.cm ซึ่งปริมาณของ MTGase จะส่งผลต่อเนื้อสัมผัสของเจล (P<0.05) (ตารางที่ ข.1) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าต่ำสุดที่ได้จาก control ซึ่งเป็นตัวอย่างเจลซูริมิที่ไม่เติม MTGase ส่วนค่า deformation ไม่พบว่ามีเปลี่ยนแปลงเนื่องจากการเติม MTGase เมื่อเติม MTGase 0.2 %ของน้ำหนักซูริมิ โดยจะให้ค่า gel strength สูงสุดเท่ากับ 1488.25 g.cm โดยค่าจะเพิ่มขึ้น 2.4 เท่าเมื่อเทียบกับซูริมิที่ไม่เติม MTGase (control) เมื่อเติม MTGase ในปริมาณมากเกินไป (> 0.2% ของน้ำหนักซูริมิ) จะส่งผลให้เกิดการลดลงของค่า force และ gel strength (P<0.05) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการสร้าง ε-(γ-glutamyl) -lysine bond ที่มากเกินไป อาจขัดขวางการเกิดโครงร่างตาข่าย 3 มิติ (3-dimensional network) ที่ต่อเนื่องของเจล ทำให้เจลแตกง่าย (Sakamoto และคณะ, 1995)

การที่ค่า expressible water มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอาจเป็นไปได้ว่าการเติม MTGase ในซูริมีมีผลให้ ϵ -amino group ของ lysine residual ในโปรตีนเป็น acyl acceptors เกิดเป็น cross-linking ขึ้น (Zhu และคณะ, 1995) นอกจากนี้การใช้ MTGase ในระดับที่สูงเกินไปเป็นสาเหตุให้มี protein-protein interaction สูง ส่วน protein-water interaction ต่ำ มีผลให้ความสามารถในการยัดจับน้ำ (WHC) ลดต่ำลง ดังนั้นการใช้ MTGase ในปริมาณมากอาจทำให้โมเลกุลโปรตีนเกิดการรวมตัวกัน มีผลต่อเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ และความสามารถในการยัดจับน้ำที่ต่ำ (Ramirez และคณะ, 2002)

การเติม MTGase ยังส่งผลต่อค่าสีอีกด้วย โดยพบว่าค่าความขาว (whiteness) ของเจลจะเพิ่มสูงขึ้นตามปริมาณการเติม MTGase จนถึงที่ระดับ 0.2 % ของน้ำหนักซูริมี แต่การเติมในปริมาณมากเกินไปส่งผลให้ค่าความขาวลดลงเช่นกัน

นอกจากนี้ปริมาณ MTGase ที่เพิ่มสูงขึ้นมีความสัมพันธ์กับการลดลงของแถบความเข้มของ myosin และ actin โดยการเติม MTGase จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้ง MHC และ actin (แถบ C-E) เมื่อเปรียบเทียบกับ control ซึ่งเป็นซูริมีที่ไม่เติม MTGase (แถบ B) เมื่อตรวจสอบ protein pattern ของเจลซูริมี ด้วย SDS-PAGE ในตัวอย่างเจลซูริมีจากปลา ทับทิม พบว่า intensity ของ myosin heavy chain (MHC) จะลดลงเมื่อมีการเพิ่มปริมาณการเติม MTGase จาก 0.1-0.3 % ตามลำดับ เช่นเดียวกับรายงานของ Suwansakornkul และคณะ (1999) ที่พบว่าเมื่อเติม 0.3 % MTGase MHC จะหายไปเนื่องจากเกิด cross-link ของ MHC ซึ่งผลการทดลองก็ยังเป็นเช่นนี้แม้ว่าจะทดลองในซูริมีที่มีคุณภาพของซูริมีเริ่มต้นหรืออุณหภูมิการ setting ที่ต่างกัน (Seguro และคณะ, 1995) ซึ่งการลดลงของความเข้มของ band อาจเนื่องมาจากมีการเพิ่มของ myosin aggregation ในช่วงของการบดผสม จากรายงานพบว่า MTGase สามารถเหนี่ยวนำให้เกิด cross-linking (protein-protein covalent bond) ระหว่าง myofibrillar protein ในช่วงการบดผสมที่อุณหภูมิต่ำกว่า 15 °C (Ramirez และคณะ, 2002; Tellez-Luis และคณะ, 2002) นอกจากนี้ myosin จะรวมตัวกับ MTGase แล้วการให้ความร้อนโดยเฉพาะช่วงการ setting ก็ยังทำให้เกิดการสูญเสียสภาพของโปรตีน ทำให้หมู่ต่าง ๆ ของโปรตีนง่ายต่อการทำปฏิกิริยา เกิด catalytic action ของ MTGase ซึ่งการหายไปของ MHC อาจจะทำให้เกิด MHC cross-link (Sakamoto และคณะ, 1995; Jiang และคณะ, 2000; Hsieh และคณะ, 2002)



รูปที่ 4.4 การตรวจสอบ protein pattern ของเจลซูริมิด้วย SDS-PAGE เมื่อเติม microbial transglutaminase (MTGase) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ: แถบ (std.) Sigma marker wide range (6,500-205,000 Da); แถบ (A) ไม่ผ่านความร้อน; แถบ (B) ไม่เติม MTGase; แถบ (C-E) เติม MTGase ที่ระดับความเข้มข้น 0.1-0.3 % ตามลำดับ

4.4.3 Beef plasma protein (BPP)

เตรียมซูริมิดังขั้นตอนในบทที่ 3 (การเตรียมเจลซูริมิ) นำมาบดผสมกับ NaCl 2.5 % พร้อมกับเติม BPP ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 % ตามลำดับ จากนั้นผ่านการให้ความร้อนแบบ 2-step heating โดยในขั้นตอนแรกให้ความร้อนแก่ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 30 นาที ตามด้วย 90 °C เป็นเวลา 20 นาที ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เลือกได้จากผลการทดลองในตอนที 4.3 ซึ่งเป็นภาวะที่ให้คุณสมบัติการเกิดเจลดีที่สุด จากนั้นนำเจลที่ได้มาวิเคราะห์ค่า force deformation gel strength folding test และค่าสี (L^* , a^* , b^* และ whiteness) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ผลของการเติม beef plasma protein (BPP) ที่ระดับต่าง ๆ ต่อการปรับปรุงคุณภาพของเจลชูริมิ

สิ่งที่ประเมินผล	ปริมาณของ BPP ที่ใช้ (%)			
	0.0	1.0	2.0	3.0
force (g)	412.30 ^a ± 25.23	493.95 ^b ± 23.38	638.61 ^c ± 5.30	590.23 ^c ± 18.17
deformation (cm.) ^{ns}	1.49 ± 0.02	1.49 ± 0.01	1.49 ± 0.02	1.49 ± 0.01
Gel strength (g.cm)	613.23 ^a ± 44.87	737.71 ^b ± 37.45	949.99 ^c ± 1.91	876.41 ^c ± 35.84
L*	81.58 ^a ± 0.01	82.44 ^b ± 0.33	81.62 ^{ab} ± 0.04	82.37 ^{ab} ± 0.47
a* ^{ns}	-2.07 ± 0.07	-2.13 ± 0.01	-2.12 ± 0.23	-2.07 ± 0.02
b*	1.74 ^a ± 0.50	3.40 ^b ± 0.40	4.67 ^{bc} ± 0.74	5.09 ^c ± 0.02
whiteness	76.41 ^b ± 1.48	72.26 ^b ± 1.54	67.62 ^a ± 2.18	67.11 ^a ± 0.40
Δ E	-	1.87	2.93	3.44
Folding test	AA	AA	AA	AA
Expressible water(%)	8.72 ± 1.16 ^b	7.43 ± 1.86 ^{ab}	7.36 ± 0.72 ^{ab}	5.73 ± 0.55 ^a
WHC (%)	99.89	99.90	99.90	99.93

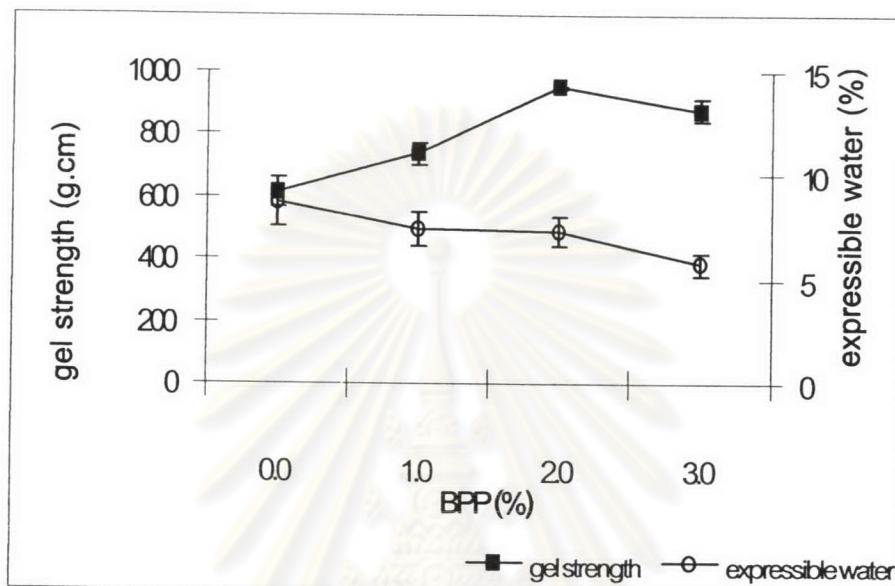
a,b,c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

AA คือ เจลมีไม่แตกเมื่อพับเป็น 4 ส่วน

จากการวิเคราะห์ทางเนื้อสัมผัสของเจลชูริมิที่มีการเติม BPP พบว่าตัวอย่างที่เติม BPP จะให้ gel strength ซึ่งบ่งบอกถึงความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (P < 0.05) ดังตารางที่ 2 ในภาคผนวก ข. เมื่อเปรียบเทียบกับ control (ตัวอย่างชูริมิที่ไม่เติม BPP) โดยพบว่าระดับของ BPP (1.0 2.0 และ 3.0 % ของน้ำหนักชูริมิ) จะมีผลต่อเนื้อสัมผัส เมื่อระดับของ BPP ที่ใช้เติมในชูริมิเพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลให้ค่า gel strength เพิ่มขึ้นด้วย โดยที่ระดับ 2.0 % BPP จะให้ค่าสูงที่สุดคือเท่ากับ 949.99 g.cm แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ที่ระดับ 3.0 % ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Chen (2000) ที่พบว่า BPP (AMP 600N) สามารถเพิ่มค่า gel strength ของเจลชูริมิเมื่อเติมที่ระดับ 2.0 % ของน้ำหนักชูริมิ แต่เมื่อเพิ่มปริมาณการเติมเป็น 3.0 % ของน้ำหนักชูริมิ gel strength จะลดลง ทั้งนี้เนื่องจาก BPP บางส่วนจะทำปฏิกิริยากับ myosin ของกล้ามเนื้อปลา และส่วนที่เหลือจะทำปฏิกิริยากันเองทำให้การยึดเกาะของโปรตีนลดต่ำลง โดยจากผลการทดลองจะเห็นว่าค่า gel strength ที่ได้จะลดลงเมื่อใช้ BPP 3.0 %

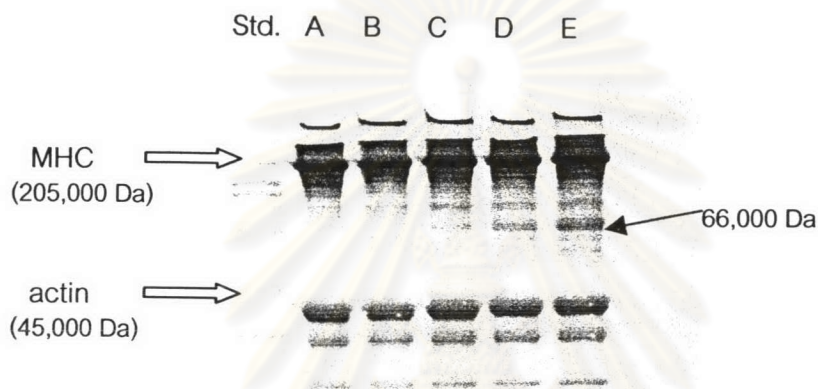
ค่า gel strength ที่ได้สัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันกับค่า expressible water ด้วย กล่าวคือเมื่อเจลมีความสามารถในการยึดจับกันได้ดี (ค่า WHC สูงขึ้น) ปริมาณน้ำที่ถูกสกัดออกมีค่าน้อย (expressible water ต่ำ) ทำให้ค่า gel strength หรือความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นด้วย ดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า gel strength และ expressible water เมื่อเติม beef plasma protein (BPP) ที่ระดับต่าง ๆ

การที่เติม BPP แล้วทำให้ค่า gel strength เพิ่มขึ้นนั้นอาจอธิบายได้หลายกลไก เช่น อาจเนื่องมาจากในช่วงการ setting ที่อุณหภูมิต่ำ (45 °C) เกิดอันตรกิริยากันระหว่างสารที่เป็นองค์ประกอบใน BPP คือ fibrinogen กับโมเลกุล myosin ในกล้ามเนื้อปลาด้วยแรงยึดเหนี่ยว non-covalent และ disulfide bonding (Park, 2000; Chen, 2000) นอกจากนี้ใน BPP ยังประกอบด้วย active TGase ที่สามารถเร่งการเกิด covalent bond ซึ่งช่วยให้การเกิดเจลดีขึ้น (Lanier, 1992; Lou และคณะ, 2000) หลังจากนั้นเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้นทำให้เกิด polymerized ของโปรตีนโดย covalent bond ทำให้เกิดเป็น high molecular weight protein (HMP) ทำให้เจลทนต่อ proteolysis ได้ดี สอดคล้องกับผลการตรวจสอบ protein pattern ของเจลซูริมิด้วย SDS-PAGE ในตัวอย่างเจลซูริมิจากปลาทับทิม ดังรูปที่ 4.6 ที่มีแถบที่สามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจน (MW 66,000 Da) ขณะเดียวกัน heat-coagulable protein ใน BPP เช่น serum albumin ซึ่งเกิดเจลที่ 85 °C ก็ช่วยให้เพิ่มค่า gel strength ได้เช่นกัน ขณะ

เดียวกัน BPP ยังทำหน้าที่เป็น protease inhibitor โดยพบว่าใน BPP มีปริมาณของ cysteine protease inhibitor ในปริมาณที่สูง (Saeki และคณะ, 1995; Weerasinghe และคณะ, 1996) สารที่สำคัญที่พบใน BPP คือ kininogen ซึ่งเป็น specific cysteine protease inhibitor (Kang และ Lanier, 1999) และ Alpha 2- macroglobulin (α_2 M) เป็น specific inhibitor (Hamann และคณะ, 1990; Morrissey และคณะ, 1993) สารเหล่านี้สามารถยับยั้ง เอนไซม์ proteinase ที่มีอยู่ในซูริมิได้ ทั้งนี้ความสามารถในการยับยั้งขึ้นอยู่กับปริมาณของ BPP ที่ใช้ด้วย พบว่าการเพิ่มปริมาณของ BPP $\geq 3\%$ ไม่มีผลต่อการยับยั้ง (Weerasinghe และคณะ, 1996)



รูปที่ 4.6 การตรวจสอบ protein pattern ของเจลซูริมิด้วย SDS-PAGE เมื่อเติม beef plasma protein (BPP) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ: แถบ (std.) Sigma marker wide range (6,500-205,000 Da); แถบ (A) ไม่ผ่านความร้อน; แถบ (B) ไม่เติม BPP; แถบ (C-E) เติม BPP ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 % ตามลำดับ

ส่วนผลการวิเคราะห์ค่าสี (L^* a^* b^* และ whiteness) จากผลการทดลองการเติม BPP จะส่งผลต่อค่า b^* และ whiteness ($P < 0.05$) ตารางที่ 3 ภาคผนวก ข. เมื่อเปรียบเทียบกับ control (ไม่เติม BPP) โดยค่า b^* เพิ่มขึ้นอย่างมาก ส่งผลให้ whiteness หรือค่าความขาวของเจลลดลง ซึ่งจะพบความแตกต่างของ whiteness เมื่อระดับการเติมมากกว่า

หรือเท่ากับ 2.0 % ของน้ำหนักซูริมิ ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า BPP ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่าสี (ΔE) ได้มากโดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 2.0 และ 3.0 % (ตารางที่ 4.9) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Morrissey และคณะ (1993) ที่พบว่า BPP เป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีที่ระดับการเติม > 2.0%

ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าการเติม BPP สามารถปรับปรุงเนื้อสัมผัสของเจลซูริมิ จากปลาทับทิมได้เมื่อ setting ที่อุณหภูมิต่ำกว่าก่อนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง โดยทำหน้าที่เป็นทั้ง gelling agent มีผลในการเสริมความแข็งแรงให้แก่เจล และ protease inhibitor มีผลต่อการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ แต่ทั้งนี้การเติมในปริมาณที่สูงเกินไป (>2.0 %) ทำให้เกิดสีคล้ำได้ ดังนั้นจึงเลือกใช้ BPP ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 % ของน้ำหนักซูริมิ เป็นระดับที่เหมาะสมในการปรับปรุงคุณภาพของซูริมิ

4.4.4 Egg white (EW)

เตรียมซูริมิดังขั้นตอนในบทที่ 3 (การเตรียมเจลซูริมิ) นำมาบดผสมกับ NaCl 2.5 % พร้อมกับเติม EW ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 % ตามลำดับ จากนั้นผ่านการให้ความร้อนแบบ 2-step heating โดยในขั้นตอนแรกให้ความร้อนแก่ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 30 นาที ตามด้วย 90 °C เป็นเวลา 20 นาที ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เลือกได้จากผลการทดลองในตอนที 4.3 ซึ่งเป็นภาวะที่ให้คุณสมบัติการเกิดเจลดีที่สุด จากนั้นนำเจลที่ได้มาวิเคราะห์ค่า force, deformation, gel strength, folding test และค่าสี (L^* , a^* , b^* และ whiteness) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.10

ผลของ EW ต่อเนื้อสัมผัสของซูริมิ พบว่าการใช้ระดับของ EW สูงขึ้นจะส่งผลให้ค่า force และ gel strength เพิ่มสูงขึ้น ($P < 0.05$) ดังตารางที่ 4 ในภาคผนวก ข. โดยที่ค่า gel strength ที่ระดับ 2 % และ 3 % มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เติม EW (control) และ 1% EW โดย EW ที่ระดับ 3 % จะให้ค่าสูงสุดคือเท่ากับ 903.25 g.cm แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับที่ 2 % ค่า gel strength ที่เปลี่ยนแปลงอาจเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงของค่า force นั้นเอง เนื่องจากไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่า deformation

ตารางที่ 4.10 ผลของการเติม egg white (EW) ที่ระดับต่าง ๆ ต่อการปรับปรุงคุณภาพของเจลซูริมิ

สิ่งที่ประเมินผล	ปริมาณของ EW ที่ใช้ (%)			
	0.0	1.0	2.0	3.0
force (g)	412.30 ^a ± 25.23	412.66 ^a ± 43.81	573.94 ^b ± 17.17	614.93 ^b ± 1.43
deformation (cm.) ^{ns}	1.49 ± 0.02	1.48 ± 0.01	1.49 ± 0.01	1.47 ± 0.00
Gel strength (g.cm)	613.23 ^a ± 44.87	611.92 ^a ± 67.80	854.43 ^b ± 17.06	903.25 ^b ± 4.25
L*	81.58 ^a ± 0.01	82.25 ^b ± 0.28	82.51 ^b ± 0.13	82.40 ^b ± 0.32
a*	-2.07 ^b ± 0.07	-2.13 ^b ± 0.11	-2.37 ^a ± 0.02	-2.50 ^a ± 0.08
b*	1.74 ^a ± 0.50	2.49 ^{ab} ± 0.67	3.04 ^{bc} ± 0.32	3.80 ^c ± 0.01
Whiteness	76.41 ^b ± 1.48	74.80 ^b ± 1.73	73.41 ^{ab} ± 1.07	71.01 ^a ± 0.30
Δ E	-	1.01	1.63	2.26
Folding test	AA	AA	AA	AA
expressible water(%)	8.72 ^b ± 1.16	7.13 ^{ab} ± 0.86	7.04 ^{ab} ± 1.22	6.78 ^a ± 0.24
WHC (%)	99.89	99.91	99.91	99.91

a,b,c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

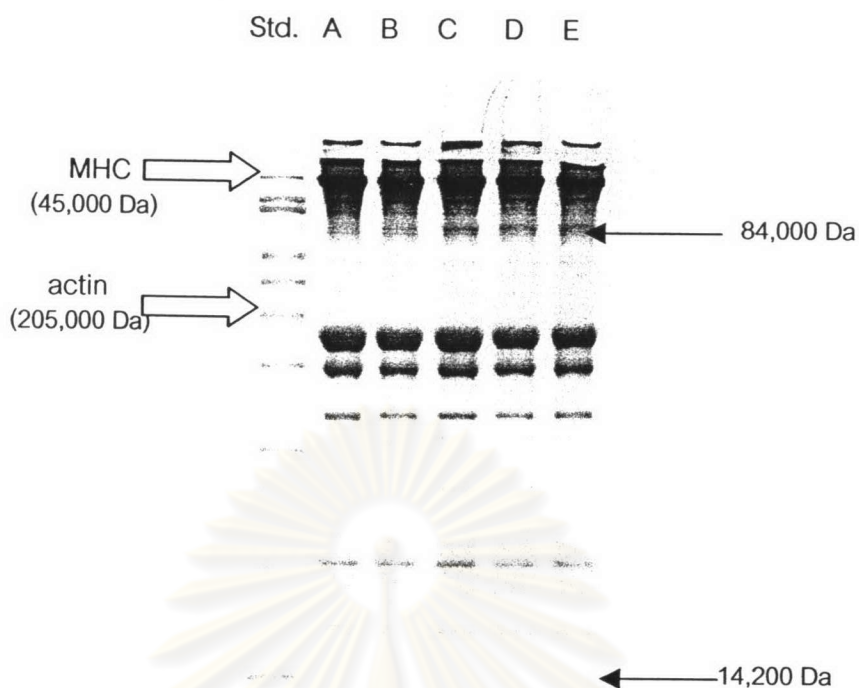
AA คือ เจลไม่แตกเมื่อพับเป็น 4 ส่วน

EW มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า gel strength อาจเนื่องมาจากการเสริมความแข็งแรงของเจลโดยแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลโปรตีน (protein network) (Okerman และ Yetim, 2001) เนื่องจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำ (40-45 °C) มีผลให้โมเลกุลโปรตีนมีความคงตัวโดย interaction ของโปรตีนจาก EW (ovalbumin; MW. 46 KDa) และโปรตีนจากเนื้อปลา (myofibrillar protein) กล่าวคือ ovalbumin และ myofibrillar protein จะเสียสภาพธรรมชาติ มีการคลายตัวของ polypeptide ทำให้โครงสร้างโปรตีนเกิดเป็นสายยาวโดยมีโซ่ข้างที่สามารถทำปฏิกิริยากันได้ ซึ่งโซ่ข้างของโปรตีนเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาทางเคมีทั้ง hydrogen bond และ covalent bond โดยเกิดปฏิกิริยาของหมู่ซัลไฮดริล (-SH group) ไปเป็นพันธะไดซัลไฟด์ (S-S bond) Mine (1992) รายงานว่าหมู่ซัลไฮดริลของโปรตีนใน EW จะปรากฏเด่นออกมาเมื่ออยู่ในภาวะการให้ความร้อน โมเลกุลโปรตีนจะเสียสภาพธรรมชาติและเกิด aggregation ในเวลาต่อมาโดย hydrophobic interaction และการสร้าง S-S bond โดย sulhydryl oxidation หรือ SH/S-S interacting reaction ซึ่งปฏิกิริยาเหล่านี้ทำให้เกิดการยึด

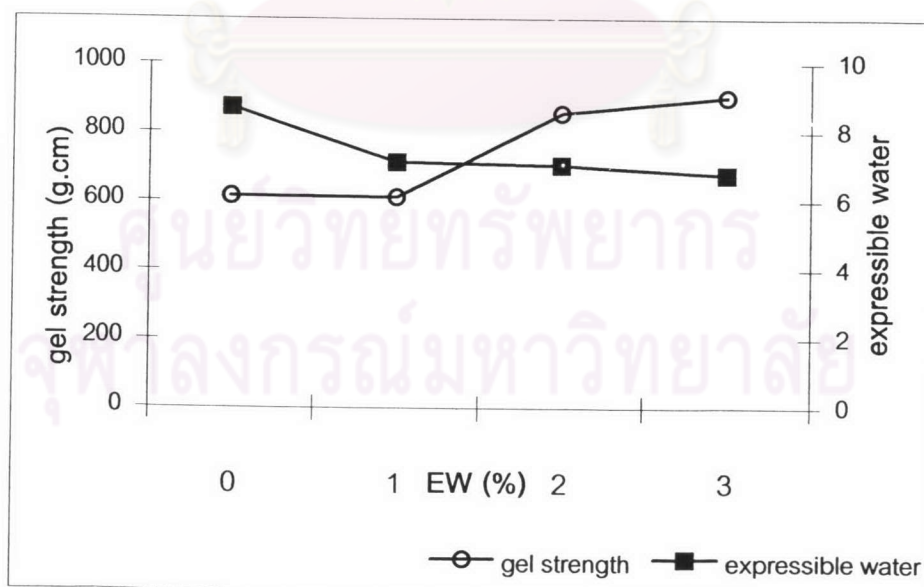
เกาะของเนื้อปลาได้สูงขึ้น และเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิที่สูงขึ้นโมเลกุลโปรตีนจะเสียสภาพธรรมชาติอย่างสมบูรณ์ ทำให้เจลมีค่า gel strength ที่สูง จากการวิเคราะห์โดยวิธี differential scanning calorimetry (DSC) ซึ่งเป็นการวัด thermal gelation พบว่าเมื่อเติม protein additive เช่น BPP หรือ EW จะลด enthalpy ของ endothermic peaks ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ exothermic contribution มีผลให้โมเลกุลของโปรตีนเกิดการ aggregation ได้สูงขึ้น ค่า shear stress จึงเพิ่มขึ้น (Park, 1994)

นอกจากนี้มีรายงานว่า EW จะมี specific serine proteinase inhibitor ในปริมาณที่สูงสามารถยับยั้ง trypsin ได้อย่างสมบูรณ์ protease inhibitor ที่พบเช่น ovomucoid ovoidinhibitor และ ovostatin (Alpha 2- macroglobulin, α_2M) เป็นต้น โดยเฉพาะ ovomucoid (MW. 28000) ซึ่งเป็น specific trypsin inhibitor และ ovoidinhibitor (MW. 49000) สามารถยับยั้งได้ทั้ง trypsin และ chymotrypsin (Chang-Lee และคณะ, 1990; Weerasinghe และคณะ, 1996) จากผลการวิเคราะห์ protein pattern ด้วยวิธี SDS-PAGE ในซูริมิจากปลาที่เติม EW จะพบสังเกตเห็นแถบที่มี molecular weight อยู่ในช่วง 76-84 KDa และ 46-49 KDa ที่เด่นชัดมาก ซึ่งบ่งชี้ถึงการมี conalbumin และ ovalbumin ที่เป็นส่วนประกอบหนึ่งใน EW นั้นเอง นอกจากนี้ยังพบแถบที่มี molecular weight ที่ประมาณ 14 kDa ซึ่งอาจเป็น Lysozyme ดังรูปที่ 4.7

เมื่อวิเคราะห์ค่า expressible water พบว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเติม EW มากกว่า 2 % โดยค่า expressible water จะลดลงจาก 8.72 % (control) เป็น 6.78 % (3% EW) แต่เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) แสดงให้เห็นว่าการเติม EW ในซูริมิ ทำให้ได้เจลที่มีความสามารถในการยึดจับกับน้ำได้เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า มีความสัมพันธ์กันในด้านลบระหว่างค่า expressible water และค่า gel strength ดังรูป 4.8 กล่าวคือถ้าเจลมีค่า expressible water ต่ำ นั้นหมายถึงเจลมีความสามารถในการยึดจับกับน้ำได้ดี เจลจึงมีค่า gel strength สูง Chang-Lee และคณะ (1989) รายงานความสัมพันธ์ของค่า expressible water กับปริมาณของเอนไซม์ protease ไว้ว่า เปอร์เซ็นต์ของค่า expressible water จะแปรผันตามปริมาณ protease activity กล่าวคือ ถ้าซูริมิมีปริมาณ protease activity สูง จะทำให้ค่า expressible water สูงด้วย



รูปที่ 4.7 การตรวจสอบ protein pattern ของเจลซูริมิด้วย SDS-PAGE เมื่อเติม egg white (EW) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ: แถบ (std.) Sigma marker wide range (6,500-205,000 Da); แถบ (A) ไม่ผ่านความร้อน; แถบ (B) ไม่เติม EW; แถบ (C-E) เติม EW ที่ระดับความเข้มข้น 1.0, 2.0 และ 3.0 % ตามลำดับ



รูปที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า gel strength และ expressible water เมื่อเติม egg white (EW) ที่ระดับต่าง ๆ

จากผลการทดลองสามารถกล่าวได้ว่าการเติม EW สามารถปรับปรุงคุณลักษณะทางเนื้อสัมผัส เช่นความแข็งแรงของเจลได้ดี แต่ในทางตรงข้ามเมื่อเติมในปริมาณมากขึ้นจะส่งผลต่อค่าสี โดยพบว่า การเติม EW จะมีผลมากต่อค่า L^* a^* และ b^* โดยเมื่อเพิ่มปริมาณการเติมในระดับที่สูงขึ้นทำให้ค่า L^* a^* และ b^* เพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) ในขณะที่ค่า a^* มีแนวโน้มลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ control เมื่อคำนวณการเปลี่ยนแปลงของค่าสี (ΔE) พบว่าการเติม EW ที่ระดับความเข้มข้นสูง 2.0 % และ 3.0% ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงสีเป็น 1.63 และ 2.26 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสีของเจลซูริมิที่ได้แตกต่างจาก control อย่างมองเห็นได้ชัด ส่วนค่า whiteness จะลดลงตามปริมาณของ EW ที่เติมนั่นเอง

กลไกของ EW ในการปรับปรุงคุณภาพของซูริมิอาจมาจาก 2 กลไก คือ บทบาทโดยตรงของ protease inhibitor ใน EW เอง เช่น thiol-ovoinhibitor (Chang-Lee และคณะ, 1990) และอาจเกิดจากการรวมตัว (aggregation) ของ EW ovalbumin โดยเกิด SH/S-S interchange reaction (Chang-Lee และคณะ, 1989) ดังนั้นการทดลองนี้จึงเลือกปริมาณของ EW ที่ระดับ 2.0 % เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการปรับปรุงคุณภาพ เนื่องจากให้ค่าความแข็งแรงของเจลสูง และความขาวมีความแตกต่างจาก control ไม่มากนัก

4.5 เปรียบเทียบคุณภาพของเจลซูริมิที่ได้จากการทดลองกับเจลซูริมิที่ผลิตทางการค้า (คามาโบโกะขาว)

จากการทดลองในข้อ 4.4 สามารถเลือกระดับของวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิดที่เหมาะสมสำหรับเจลซูริมิจากปลาหีบชนิดนี้ sodium ascorbate (SA) microbial transglutaminase (MTGase) beef plasma protein (BPP) และ egg white (EW) ใช้ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 % 0.2 % 2.0% และ 2.0 % ตามลำดับ โดยวัตถุดิบอาหารดังกล่าวถูกเติมลงในซูริมิในขั้นตอนการสับผสม (ดังรูปที่ 3.2) จากนั้นนำมาผ่านการให้ความร้อนแบบ 2-step heating โดยในขั้นตอนแรกให้ความร้อนแก่ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 30 นาที ตามด้วย 90 °C เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำตัวอย่างเจลที่ได้มาวิเคราะห์ผลโดยเปรียบเทียบกับ "sample" (คามาโบโกะขาว) จากบริษัทคิบุโนไทยแลนด์ จำกัด ซึ่งมีส่วนประกอบคือ ซูริมิ 50.0% แป้งมัน 8.0% ไข่ขาว น้ำ 5.0% น้ำตาล 2.0% เกลือ 1.27% และผงชูรส 1.06%

เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่า force deformation และ gel strength พบว่า เจลซูริมิที่เติม SA MTGase BPP และ EW ช่วยปรับปรุงค่า force deformation และ gel strength ให้สูงขึ้นได้ โดยพบว่าค่าที่ได้มีค่าสูงกว่า "sample" โดยที่ MTGase จะให้ค่า force deformation และ gel

strength สูงที่สุด ดังตารางที่ 4.11 เมื่อจัดลำดับความแข็งแรงของเจลซูริมิที่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพด้วยวัตถุเจือปนอาหารชนิดต่าง ๆ และ “sample” จากมากไปน้อย ได้ผลดังนี้ 0.2% MTGase 2.0% BPP 2.0% EW 0.2% SA และ “sample” ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้เป็นที่สังเกตว่า “sample” ซึ่งเป็นตัวอย่างทางการค้าซึ่งผ่านการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ซูริมิแล้ว โดยมีแป้ง ไข่ขาวน้ำ ผงชูรส และน้ำตาลเป็นองค์ประกอบจึงส่งผลต่อคุณภาพของเจล ค่าความแข็งแรงของเจลจึงต่ำกว่าตัวอย่างที่ทำการทดลอง

ตารางที่ 4.11 ผลการวิเคราะห์เนื้อสัมผัส โดยวิธี penetration test

ภาวะการทดลองที่ใช้	Force(g)	Deformation(cm)	Gel strength (g.cm)
Sample	452.94 ^a ± 8.86	0.91 ^a ± 0.00	413.02 ^a ± 5.68
0.2% SA	546.16 ^{ab} ± 56.26	1.45 ^b ± 0.02	791.92 ^b ± 71.86
0.2 % MTGase	968.95 ^c ± 32.29	1.50 ^c ± 0.00	1448.8 ^c ± 653.63
2.0 % BPP	601.03 ^b ±57.46	1.48 ^{bc} ± 0.02	888.56 ^b ± 97.32
2.0 % EW	595.82 ^b ±51.70	1.48 ^{bc} ± 0.03	883.33 ^b ± 92.22

a,b,c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

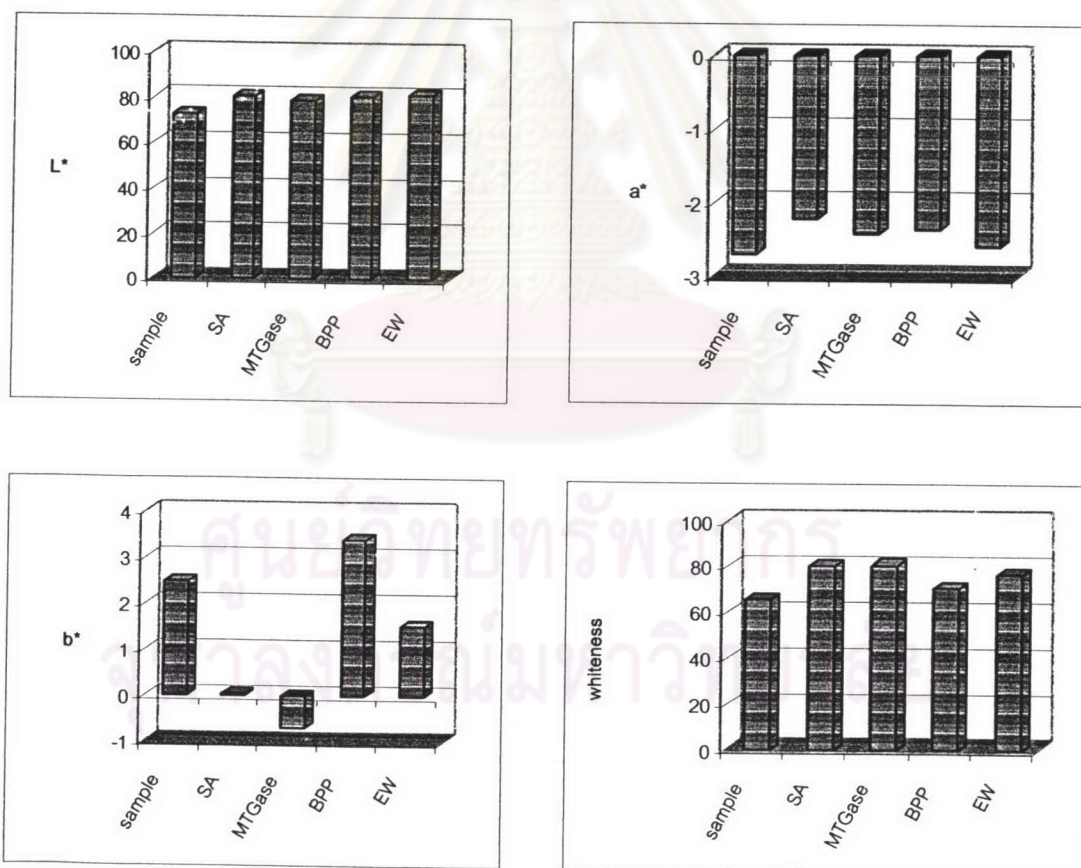
เมื่อวิเคราะห์เจลซูริมิที่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพ โดยวิธีการทดสอบแบบ texture profile analysis (TPA) ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบที่เลียนแบบการเคี้ยวของมนุษย์ ได้ผลดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 ผลการวิเคราะห์เนื้อสัมผัส โดยวิธี texture profile analysis (TPA)

ภาวะการทดลองที่ใช้	Hardness (g.)	springiness	Cohesiveness
Sample	11986.79 ^b ± 189.53	0.87 ^{ab} ± 0.00	0.73 ^a ± 0.04
0.2% SA	9349.88 ^a ±169.59	0.87 ^{ab} ±0.01	0.72 ^a ± 0.01
0.2% MTGase	13511.87 ^b ± 158.20	0.91 ^b ± 0.02	0.81 ^b ± 0.01
2.0% BPP	7711.75 ^a ±149.81	0.85 ^a ± 0.02	0.72 ^a ± 0.01
2.0%EW	7808.03 ^a ±66.20	0.82 ^a ± 0.04	0.72 ^a ± 0.00

a,b ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในสดมภ์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

จากตารางที่ 4.12 พบว่าเจลซูริมิตี่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพด้วย 0.2% MTGase ให้ค่า hardness (ความแข็ง) springiness (ความยืดหยุ่น) และ cohesiveness (ความสามารถในการเกาะรวมตัวกัน) สูงที่สุด โดยที่ให้ค่า hardness และ springiness ไม่แตกต่างกับ "sample" ที่นำมาเปรียบเทียบ เมื่อจัดลำดับเจลซูริมิตี่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพด้วยวัตถุเจือปนอาหารและ Sample ได้ผลดังนี้ ค่า hardness ; 0.2% MTGase > "sample" > 0.2% SA > 2.0% EW > 2.0% BPP ค่า springiness ; 0.2% MTGase > "sample" = 0.2% SA > 2.0% BPP > 2.0% EW และค่า cohesiveness; 0.2% MTGase > "sample" > 0.2% SA = 2.0% EW = 2.0% BPP จะเห็นว่าผลการทดลองที่ได้เมื่อวิเคราะห์โดยวิธี compression และ TPA จะให้ผลไปในทางเดียวกัน คือการเติม MTGase ปรับปรุงคุณภาพทางด้านเนื้อสัมผัสของเจลได้ดีที่สุด นอกจากสามารถปรับปรุงเนื้อสัมผัสให้แก่เจลแล้ว ยังไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่า whiteness หรือค่าความขาวของเจลอีกด้วย ดังรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 ผลของค่าสีของตัวอย่างเจลซูริมิตี่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างทางการค้า (คาามาโบโกะขาว)

นอกจากนี้ยังพบว่า ถึงแม้เติม BPP และ EW ซึ่งจะส่งผลต่อค่าสี หรือค่าความขาวแก่ เจลซูริมิ แต่ความขาวที่ได้ก็ยิ่งสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ "sample" พบว่ามีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) จากผลการวิเคราะห์ค่าสีจะเห็นว่า "sample" จะมีค่า L^* (ความสว่าง) ต่ำ ในขณะที่ให้ค่า b^* (yellowness) ในระดับที่ค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่น ๆ ส่งผลให้มีค่า whiteness ต่ำด้วย

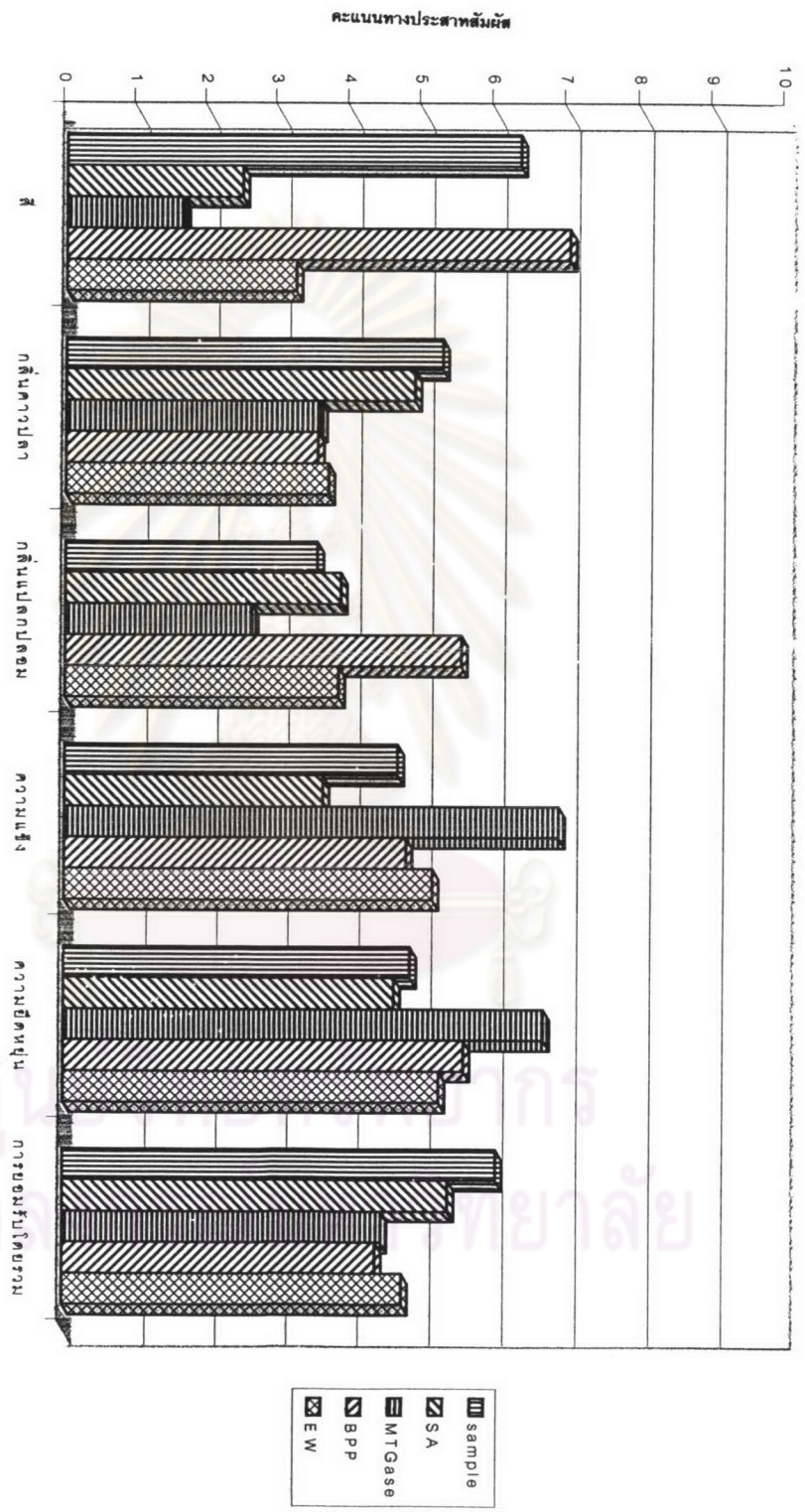
เมื่อทำการประเมินตัวอย่างเจลซูริมิโดยวิธีการทางประสาทสัมผัสด้าน สี กลิ่นคาวปลา กลิ่นแปลกปลอม ความแข็ง ความยืดหยุ่น และการยอมรับโดยรวม ได้ผลดังรูปที่ 4.10 โดยมีการวัดระดับคะแนนในช่วงสเกล 0-10 ดังนี้ การทดสอบทางด้านสี กลิ่นคาวปลา และกลิ่นแปลกปลอม ถ้าได้รับคะแนนการทดสอบต่ำ หมายถึงว่าตัวอย่างเจลจะมีสีขาว มีกลิ่นคาวปลา และกลิ่นแปลกปลอมต่ำซึ่งตัวอย่างใดได้รับคะแนนต่ำจึงเป็นที่ต้องการ ในขณะที่การทดสอบทางด้านความแข็ง ความยืดหยุ่น และการยอมรับโดยรวม ถ้าได้รับคะแนนสูงถือว่าตัวอย่างเจลจะมีลักษณะที่แข็งมาก ยืดหยุ่นมาก และการยอมรับโดยรวมสูง ตามลำดับ ดังนั้นถ้าเจลได้รับคะแนนสูงถือว่าเป็นที่ยอมรับ เนื่องจากในทางการค้าผู้ประกอบการนำซูริมิไปเป็นวัตถุดิบพื้นฐานในการนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นที่ได้เจลที่มีความยืดหยุ่น ดังนั้นวัตถุดิบซูริมิที่ใช้จึงต้องมีความแข็งแรงสูงมาก

ซึ่งจะเห็นว่าเจลที่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพด้วย 0.2 % MTGase จะได้คะแนนคุณลักษณะทางด้านความแข็งและความยืดหยุ่นสูงสุด คือ 6.89 และ 6.69 ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองที่ได้ให้ผลสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ค่า gel strength และ TPA ที่ให้ผลสูงสุดเช่นกัน ในขณะที่เดียวกันการเติม MTGase จะไม่ส่งผลต่อค่าสี มีกลิ่นคาวปลา และกลิ่นแปลกปลอมน้อยมาก แต่อย่างไรก็ตามผู้ทดสอบให้การยอมรับตัวอย่างที่เติม 0.2 % MTGase ในระดับคะแนน 4.46 ซึ่งเป็นค่าที่แตกต่างจากตัวอย่างทางการค้า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเติม MTGase ให้ลักษณะเจลที่มีความแข็ง และความเหนียวมากเกินไป ในขณะที่ตัวอย่างที่เติม 0.2% SA ให้คุณลักษณะทางด้านความแข็ง และความยืดหยุ่นที่น้อยมากคือมีระดับคะแนนการยอมรับเท่ากับ 3.63 และ 4.63 ตามลำดับ นอกจากนี้ปริมาณที่เติมมีผลต่อค่าสีไม่มากนัก ส่งผลให้เป็นที่ยอมรับโดยรวมมากที่สุด โดยค่าการยอมรับมีค่าใกล้เคียงกับตัวอย่างทางการค้า ($P > 0.05$) ส่วนการเติม 2.0% BPP และ 2.0 % EW ได้รับคะแนนทางด้านความแข็งเท่ากับ 4.79 และ 5.15 ตามลำดับ และคะแนนด้านความยืดหยุ่นเท่ากับ 5.59 และ 5.25 ตามลำดับซึ่งค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกับตัวอย่างทางการค้า ($P > 0.05$) ในขณะที่ปริมาณการเติมจะมีผลต่อค่าความขาวของเจลเป็นอย่างมาก นอกจากนี้ยังมีกลิ่นแปลกปลอมในระดับที่สูงอีกด้วย โดยเฉพาะตัวอย่างที่เติม BPP

ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่าการเติม 0.2% MTGase ช่วยปรับปรุงคุณภาพทางเนื้อสัมผัส และค่าสีที่ดีที่สุด ซึ่งเหมาะสมที่จะนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ซูริมิ (surimi-based product) รองลงมาคือ การเติม 2.0% BPP 2.0% EW และ 0.2% SA ตามลำดับ

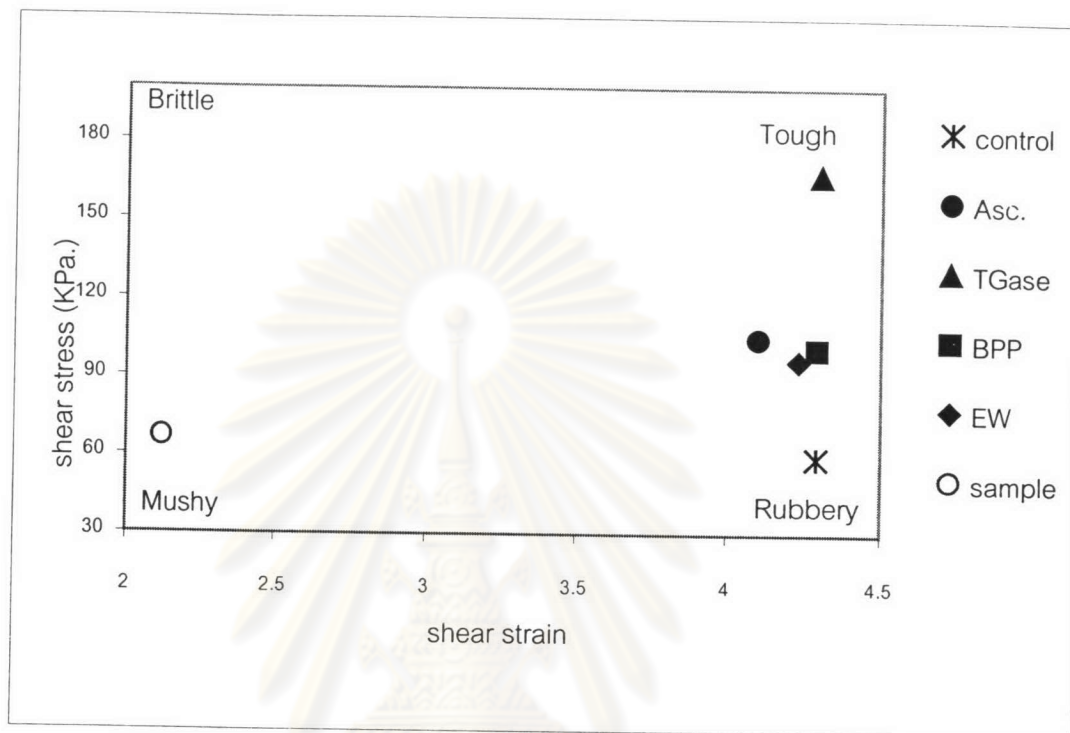


ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.10 การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทดัมผัดของผู้ตอบอย่างเจตนาที่ได้จากการทดลองกับตัวอย่างเจลทางการค้า (ความไวโคเซทากู)

สามารถเขียนแบบจำลองลักษณะเนื้อสัมผัสของตัวอย่างเจลซูริมิจากการเติมวัตถุเจือปนอาหารชนิดต่าง ๆ ดังรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 แบบจำลองลักษณะเนื้อสัมผัสเจลซูริมิหลังจากผ่านการปรับปรุงคุณภาพ

ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความแข็งแรงของเจล และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส จะพบว่าตัวอย่างที่เติมวัตถุเจือปนอาหาร คือ 0.2% SA, 0.2% MTGase, 2.0% BPP และ 2.0% EW จะให้เจลที่มีลักษณะ tough (แข็งกระด้าง) และ rubbery (เหนียว) โดยเฉพาะตัวอย่างที่เติม MTGase จะให้เจลที่มีลักษณะ tough สูงมาก นั่นหมายถึง เจลซูริมิที่ได้มีทั้งค่า force และ deformation ที่สูง ซึ่งสอดคล้องกับผลทางประสาทสัมผัส ในขณะที่ตัวอย่าง control (ไม่เติมวัตถุเจือปนอาหาร) จะให้ลักษณะที่เป็น rubbery นั่นคือ เจลมีค่า deformation ค่อนข้างสูง แต่มีค่า force ไม่มากนัก ส่วนตัวอย่างเจลทางการค้าหรือคามาโบโกะขาว ผ่านกรรมวิธีการดัดแปรเป็นผลิตภัณฑ์ซูริมิแล้วทำให้เจลที่ได้มีลักษณะ mushy (ละ) คือเจลจะมีความแข็งแรงต่ำ ทำให้เจลที่ได้มีลักษณะนุ่ม และ