

การศึกษาการเตรียมสเต็กปลาแซลมอนอ่อนนุ่มแช่แข็งสำหรับผู้สูงอายุด้วยเทคนิคการ
ฉีดสารละลายเอนไซม์ผสม

STUDY ON THE PREPARATION OF FROZEN TENDERED SALMON STEAK FOR
ELDERLY BY MIXED ENZYMES INJECTION TECHNIQUE



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการบริการอาหารและการจัดการ

คณะอุตสาหกรรมอาหาร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

KMITL – 2020 – FI -M – 055 - 373

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**STUDY ON THE PREPARATION OF FROZEN TENDERED SALMON STEAK FOR
ELDERLY BY MIXED ENZYMES INJECTION TECHNIQUE**

TOUNGRAT CHAROENDEE

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOODSERVICE TECHNOLOGY AND MANAGEMENT

FACULTY OF FOOD INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2020

KMITL – 2020 – FI -M – 055 - 373

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2020

FACULTY OF FOOD INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาการเตรียมสเต็มปลาแซลมอนอ่อนนุ่มแช่แข็งสำหรับผู้สูงอายุด้วยเทคนิคการฉีดสารละลายเอนไซม์ผสม

นักศึกษา นางสาวดวงรัตน์ เจริญดี

รหัสประจำตัว 59608012

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีการบริการอาหารและการจัดการ

พ.ศ. 2563

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิทธิพงษ์ นลินานนท์

บทคัดย่อ

โดยทั่วไปผู้สูงอายุมักประสบปัญหาในการรับประทานอาหารซึ่งเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพด้านความสามารถในการเคี้ยวและการกลืน การศึกษานี้ทำการตรวจสอบผลของการใช้อุณหภูมิและเวลาในการบ่มชิ้นเนื้อสเต็มปลาแซลมอนเพื่อให้ได้คุณลักษณะที่มีความอ่อนนุ่มเหมาะสมสำหรับผู้สูงอายุ โดยนำตัวอย่างชิ้นเนื้อปลาแซลมอนมาบ่มที่อุณหภูมิที่แตกต่างกัน (25 30 40 50 และ 60 °ซ) เป็นเวลา 30 นาที หลังจากการให้ความร้อน ทำการวิเคราะห์ การสูญเสีย น้ำหนัก เนื้อสัมผัสซึ่งแสดงโดยค่าความแข็ง (hardness) ค่าสีซึ่งแสดงเป็นค่า L^* a^* และ b^* ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าชิ้นเนื้อปลาแซลมอนมีการสูญเสียน้ำหนักมากขึ้นเมื่อมีการบ่มที่อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น ตัวอย่างชิ้นเนื้อปลาแซลมอนที่ผ่านการบ่มเป็นเวลา 30 นาที แสดงค่าความแข็ง (hardness) ต่ำที่สุดเท่ากับ 721.71 g.f และ 368.75 g.f สำหรับกล้ามเนื้อส่วนบน (dorsal muscle) ที่ผ่านการบ่มอุณหภูมิ 50 °ซ และกล้ามเนื้อส่วนล่าง (ventral muscle) ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 40 °ซ ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) การลดลงของค่าความแข็งของชิ้นสเต็มปลาแซลมอนเห็นได้ชัดหลังจากการบ่มเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 และ 50 °ซ ที่ 25 °ซ ค่าสีของชิ้นตัวอย่างปลาแซลมอนไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อมีการบ่มเป็นระยะเวลาสั้นขึ้น ตัวอย่างสเต็มปลาแซลมอนแสดงสีที่ซีดลงหลังจากการบ่มที่อุณหภูมิ 50 °ซ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างชุดควบคุม ซึ่งแสดงค่าความสว่าง (L^*) สูงขึ้นแต่มีค่าสีแดง (a^*) ลดต่ำลง ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน การศึกษาผลของการใช้เทคนิคการฉีดสารละลายเอนไซม์ผสมต่อการเตรียมสเต็มปลาแซลมอนอ่อนนุ่มแช่แข็งสำหรับผู้สูงอายุ ทำได้โดยทำการฉีดสเต็มปลาแซลมอนด้วยสารละลายเอนไซม์ผสมที่ประกอบไปด้วยเอนไซม์ปาเปน (ร้อยละ 0, 0.10, 0.25,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.50, 1.00, 3.00 และ 5.00) เอนไซม์โบรมิเลน ร้อยละ 0.25 ร่วมกับโซเดียมไตรฟอสเฟต ร้อยละ 0.5 และเกลือแกง ร้อยละ 2 โดยทำการฉีดสารละลายเอนไซม์ผสมลงบนชิ้นปลาแชลมอน จำนวน 20 จุด จุดละ 0.25 มล. ก่อนนำไปป้อนที่อุณหภูมิ 20 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ผลการทดลองพบว่าการใช้เอนไซม์ปลาเพิ่มความเข้มข้นร้อยละ 3 เป็นสถานะที่ดีที่สุดในการเตรียมสเต็กปลาแชลมอนอ่อนนุ่ม โดยพิจารณาจากค่าความแข็ง (hardness) และการประเมินทางประสาทสัมผัส จากการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสจากผู้ทดสอบที่เป็นผู้สูงอายุ จำนวน 30 คน ที่มีอายุระหว่าง 60-70 ปี พบว่าเตรียมสเต็กปลาแชลมอนอ่อนนุ่มที่เตรียมได้มีคุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัส (ความนุ่ม) และ ด้านความง่ายในการกลืนที่ดี ในขณะที่ผู้ทดสอบไม่สามารถสังเกตความแตกต่างในคุณลักษณะในด้านสีเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองยังเป็นที่สังเกตได้ว่าการใช้สารละลายเอนไซม์ผสมที่มากเกินไป มีผลต่อการเกิดรสขมที่เพิ่มขึ้นในสเต็กปลาแชลมอน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสถานะการใช้เอนไซม์ปลาเป็นมากกว่าร้อยละ 3 ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อการเตรียมสเต็กปลาแชลมอนสำหรับผู้สูงอายุ

คำสำคัญ: เอนไซม์ ปลาเป็น โบรมิเลน สเต็กปลาแชลมอน ผู้สูงอายุ อ่อนนุ่ม กลืนง่าย

Thesis	Study on the preparation of frozen tendered salmon steak for elderly by mixed enzymes injection technique
Student	Miss Toungrat Charoendee
Student ID.	59608012
Degree	Master of Science
Program	Foodservice Technology and Management
Year	2020
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr.Sitthipong Nalinanon

ABSTRACT

In general, elderly people have difficulty with eating due to physical changes in their ability to chew or swallow. This study was conducted to determine the effect of temperature and time on salmon steak tenderizing for elderly. Salmon samples were incubated at different temperatures (25, 30, 40, 50 and 60°C) for 30 min. After heat treatment, weight loss, texture expressed on hardness and color expressed on L*, a* and b* of the sample were analyzed. The results showed that weight loss of salmon samples increased when incubation temperature increased. Salmon sample incubated for 30 min exhibited the lowest hardness of 721.71 g.f and 368.75 g.f for dorsal muscle treated at 50°C and ventral muscle treated at 40°C, respectively ($p \leq 0.05$). The decrease of the hardness of salmon steak was noticeable after incubation for 60 min at both 25°C and 50°C. At 25°C, the color of salmon sample was not significantly changed when incubation time increased. The salmon steak sample exhibited pale color after treated at 50°C compared to the control sample, which had higher lightness (L*) but lower redness (a*) value. This might be related to protein denaturation. The effects of enzyme injection technique on the preparation of frozen tendered salmon steak for elderly were also studied. The salmon steak sample was injected with mixed enzymes solution, a mixture of papain (0, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00, 3.00 and 5.00 %), bromelain (0.25%), sodium tripolyphosphate (0.5%) and NaCl (2%), for 20 positions (0.25 ml of enzyme solution in each position) prior to incubation at 25 °C for 30 min. The results showed that the treatment with 3% papain was the best condition for tendered salmon steak preparation as determined by its hardness and sensory evaluation. The sensory characteristics of the prepared tendered salmon steak were evaluated by 30

elderly panelists with the age range of 60 – 70 years old. The results showed that the prepared

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ III งอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

tendered salmon steak exhibited good attributes on texture (tenderness) and swallow ability, whereas the difference in color could not be noticeable when compared with the control sample. It was noted that at high content of enzyme treatment to the sample, the bitter taste was more pronounced, particularly at the use of papain concentration more than 3%. Therefore, the information gained from this study is useful for salmon steak preparation for elderly.

Keywords: Enzyme, Papain, Bromelain, Salmon steak, Elderly, Tenderness, Easy to swallow



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ IV อ่างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาโทของสาขาเทคโนโลยีการบริการอาหารและการจัดการ คณะอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สิทธิพงศ์ นลินานนท์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการแก้ไขปัญหาต่างๆ รวมถึงให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ทำให้การทำงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ทั้งนี้ต้องขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ปาริฉัย อิงคะสุภัทร ผศ.ดร.สุพัตรา กาญจนประทุม และ ผศ.ดร.ศิริพร เรียบร้อย คิม กรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ ที่ช่วยให้คำแนะนำตรวจสอบ แก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่เทคนิค และเจ้าหน้าที่ของคณะอุตสาหกรรมอาหารทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณครอบครัว เพื่อน พี่ และน้องนักศึกษาระดับชั้นปริญญาตรี ปริญญาโท และปริญญาเอกทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำ และเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้ามาตลอด

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่ได้จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ข้าพเจ้าขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน หากปราศจากความช่วยเหลืออันดีจากผู้มีพระคุณทั้งหลาย งานวิจัยฉบับนี้จักไม่สำเร็จลุล่วงได้ สุดท้ายนี้ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะเป็นประโยชน์แก่นิสิต นักศึกษา และผู้สนใจทั่วไป และหากมีข้อความหรือเนื้อหาตอนหนึ่งตอนใดผิดพลาด เนื่องจากการพิมพ์หรือด้วยสาเหตุอันใดก็ตาม ผู้จัดทำยินดีน้อมรับคำติชมจากท่านผู้อ่านด้วยใจจริง และกราบขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

ดวงรัตน์ เจริญดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	IV
สารบัญ.....	V
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญภาพ.....	X
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 โพรตีนและโครงสร้างของโปรตีน.....	3
2.1.1 โครงสร้างโปรตีน.....	3
2.1.2 พันธะที่พบในโครงสร้างของโปรตีน.....	5
2.1.3 การจำแนกโปรตีนโดยอาศัยการละลาย.....	6
2.1.4 เอนไซม์ย่อยโปรตีนโดยธรรมชาติในกล้ามเนื้อ.....	10
2.1.5 เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ช่วยทำให้เกิดความนุ่มของเนื้อ.....	11
2.1.6 เอนไซม์ปาเปน (Papain).....	13
2.1.7 เอนไซม์โบรมีเลน (Bromelain).....	15
2.1.8 ปลาแซลมอน.....	16
2.1.9 กระบวนการปรับเนื้อสัมผัสชิ้นเนื้อให้อ่อนนุ่ม.....	19
2.2 โพรตีนและโครงสร้างของโปรตีน.....	3
2.2.1 โครงสร้างโปรตีน.....	3
2.2.2 พันธะที่พบในโครงสร้างของโปรตีน.....	5
2.2.3 การจำแนกโปรตีนโดยอาศัยการละลาย.....	6
2.2.4 เอนไซม์ย่อยโปรตีนโดยธรรมชาติในกล้ามเนื้อ.....	10
2.2.5 เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ช่วยทำให้เกิดความนุ่มของเนื้อ.....	11
2.2.6 เอนไซม์ปาเปน (Papain).....	13
2.2.7 เอนไซม์โบรมีเลน (Bromelain).....	15
2.2.8 ปลาแซลมอน.....	16
2.2.9 กระบวนการปรับเนื้อสัมผัสชิ้นเนื้อให้อ่อนนุ่ม.....	19
2.3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	23
3.1 วัตถุประสงค์.....	23
3.2 เอนไซม์.....	23
3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และแจ้งอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4 สารเคมี.....	24
3.5 วิธีการทดลอง.....	24
3.5.1 การเตรียมวัตถุดิบ.....	24
3.5.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกล้ามเนื้อของปลาแซลมอน.....	24
3.5.3 ศึกษาผลของเวลาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกล้ามเนื้อของปลาแซลมอน.....	25
3.5.4 ศึกษาผลของการใช้สารละลายเอนไซม์ผสมต่อคุณลักษณะของเนื้อปลา.....	25
3.5.5 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส.....	28
3.5.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	28
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	29
4.1 ผลของอุณหภูมิต่อลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างปลาแซลมอน.....	29
4.2 ผลของเวลาต่อลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างปลาแซลมอน.....	31
4.3 ผลของการใช้สารละลายเอนไซม์ผสมที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	33
ต่อลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างปลาแซลมอน	
4.4 ผลของการน็อคสารละลายเอนไซม์ผสมในตัวอย่างปลาแซลมอนต่อการ.....	36
เปลี่ยนแปลงรูปแบบโปรตีน	
4.5 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของสเต็กปลาแซลมอนที่น็อคสารละลาย.....	38
เอนไซม์ผสม	
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	40
บรรณานุกรม.....	41
ภาคผนวก	
ก การวิเคราะห์ทางกายภาพ.....	45
ข การวิเคราะห์ทางเคมี.....	46
ค เอกสารแนะนำแบบสอบถาม.....	47
ประวัติผู้เขียน.....	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ VII อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 โปรตีนที่ย่อยสลายกล้ำเนื้อปลาและสัตว์น้ำ.....	9
2.2 ประเภทของเอนไซม์ที่สามารถใช้ได้อย่างปลอดภัย.....	11
2.3 อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุด และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมเอนไซม์โปรตีเอส.....	12
2.4 ช่วงของ pH ที่เหมาะสมต่อกิจกรรมเอนไซม์โปรตีเอส.....	12
2.5 ระดับความสามารถของเอนไซม์โปรตีเอสในระดับความสามารถการไฮโดรไลซิสโปรตีนไมโอไฟบริลและคอลลาเจน.....	12
2.6 คุณสมบัติของเอนไซม์ป่าเป็นจากยางมะละกอ.....	13
2.7 คุณสมบัติของเอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรด.....	15
2.8 ปริมาณโปรตีนและไขมันในปลาแชลมอนแต่ละชนิด.....	20
4.1 ผลของอุณหภูมิต่อค่า Weight loss (%) และค่าความแข็ง(Hardness) ของตัวอย่างปลาแชลมอน ที่ผ่านการบ่มเป็นระยะเวลา 30 นาที.....	30
4.2 ผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสี (L*, a*, b*) ของตัวอย่างปลาแชลมอน ที่ผ่านการบ่มเป็นระยะเวลา 30 นาที.....	30
4.3 ผลของระยะเวลาการบ่มต่อค่าความแข็ง (Hardness) ของตัวอย่างปลาแชลมอนที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	32
4.4 ผลของระยะเวลาการบ่มต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีของตัวอย่างปลาแชลมอน ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	32
4.5 ผลของการใช้สารละลายเอนไซม์ผสม (Papain และ Bromelain 0.25%) ที่ในการบ่มตัวอย่างปลาแชลมอนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ต่อค่า Weight gain (%) Cooking loss (%) และ ค่าความแข็ง (Hardness).....	34
4.6 ผลของการใช้สารละลายเอนไซม์ผสม (Papain และ Bromerain 0.25%) ในการบ่มตัวอย่างปลาแชลมอน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีของปลาแชลมอน.....	35
4.7 ผลของการใช้สารละลายเอนไซม์ผสม (papain และ Bromerain 0.25%) ในการบ่ม.....	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และแจ้งอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างปลาแซลมอน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ต่อค่า cooking yield (%)
4.8 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้สูงอายุระหว่าง 60-70 ปี จำนวน 30 คน ต่อ..... 39
สเต็มปลาแซลมอน ที่ใช้สารละลายเอนไซม์ผสม (papain และ Bromerain 0.25%) ใน
การบ่มตัวอย่างปลาแซลมอน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ IX อ่างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของโปรตีน.....	5
2.2 โครงสร้างของเอนไซม์ปาเปน.....	14
2.3 ปลาแซลมอนแอตแลนติก (Atlantic Salmon).....	16
2.4 ปลาแซลมอนชินุก (Chinook Salmon).....	17
2.5 ปลาแซลมอนโคโฮ (Coho Salmon).....	17
2.6 ปลาแซลมอนซอกกี๊ หรือ ปลาแซลมอนโคคะนี (Sockeye or Kokanee Salmon).....	18
2.7 ปลาแซลมอนสีชมพู (Pink Salmon).....	18
2.8 ปลาแซลมอนซัม (Chum Salmon).....	19
3.1 ตำแหน่งการติดเอนไซม์ผสมบนชิ้นปลาแซลมอน.....	25
6 รูปแบบโปรตีนของกล้ามเนื้อปลาแซลมอน.....	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ X ึ่งอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ **XI** ให้อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

World Health Organization (WHO) ให้ความสำคัญของผู้สูงอายุว่า หมายถึงผู้ที่มีอายุเกิน 60 ปีขึ้นไป โดยทั่วไปผู้สูงอายุมีความต้องการพลังงานลดลงจากวัยผู้ใหญ่เนื่องจากมีกิจกรรมประจำวันลดลงทำให้ปริมาณกล้ามเนื้อและมวลกล้ามเนื้อลดลงด้วย ผู้สูงอายุมักประสบปัญหา โรคฟันผุ ไม่มีฟันในการเคี้ยวอาหารและปัญหาในการย่อยและการดูดซึม (วรรณภาศรี และคณะ. 2556) นอกจากนี้มีรายงานว่าผู้สูงอายุจำนวนมากเกิดภาวะขาดสารอาหาร โดยเฉพาะ โปรตีน เหล็ก แคลเซียม และวิตามินบี ทั้งนี้การขาดโปรตีนมักมีสาเหตุจากสภาวะทางกายภาพของผู้สูงอายุด้านการเคี้ยวและการกลืนที่แย่ง ทำให้ไม่สามารถรับประทานอาหารกลุ่มเนื้อสัตว์ได้อย่างเพียงพอจากเมนูอาหารสำหรับกลุ่มผู้บริโภครวมทั่วไป แม้ในปัจจุบันจะมีการพัฒนาอาหารอ่อนนุ่มสำหรับผู้สูงอายุจำหน่ายทางการค้าบ้างแล้ว แต่ยังเป็นชุดอาหารที่ไม่หลากหลายและเกิดความแปลกแยกในการรับประทานซึ่งมีผลต่อสภาวะจิตใจของผู้บริโภคกลุ่มผู้สูงอายุ โดยผู้สูงอายุมีความต้องการอาหารที่สามารถเคี้ยวและกลืนได้ง่าย ซึ่งจะต้องอร่อย ปลอดภัย มีหน้าตาน่าสนใจ และน่ารับประทานอีกด้วย (Kim และ Joo, 2015) สถาบันอาหาร (National Food Institute) ได้ทำการสำรวจพฤติกรรมการบริโภคของผู้สูงอายุไทย พบว่าเมนูที่ผู้สูงอายุชื่นชอบคือ ประเภทเครื่องดื่ม อาหารแปรรูปเมนูปลา และแกงจืด โดยปลาเป็นแหล่งอาหารที่มีประโยชน์กับคนทุกเพศทุกวัย โดยให้โปรตีนที่สมบูรณ์ที่มีคุณภาพมีกรดไขมันที่จำเป็นร่างกาย มีไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย ปลาจึงเป็นอาหารที่ผู้สูงอายุควรรับประทานเป็นอย่างยิ่ง (กรมอนามัยกระทรวงสาธารณสุข, 2550) ปลาแชลมอนเป็นปลาที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคเป็นจำนวนมาก โดยปลาแชลมอนนั้นมีคุณค่าทางโภชนาการสูง รสชาติอร่อย หน้าตาน่ารับประทาน และมีมูลค่า แต่หากในการประกอบอาหารจากปลาแชลมอนผู้ประกอบอาหารขาดความรู้ ใช้งานเวลานาน หรือ อุณหภูมิที่สูงเกินไป จะทำให้โปรตีนเสียสภาพ (Gao และคณะ, 2009) เกิดการแข็งตัวของโปรตีน ส่งผลให้เนื้อสัมผัสแข็งกระด้างซึ่งยากต่อการรับประทาน

การใช้เอนไซม์เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการปรับปรุงคุณภาพเนื้อสัมผัสให้กับปลาแชลมอน ซึ่งเอนไซม์ที่มีกิจกรรมการย่อยโปรตีนสูงทำให้เนื้อนุ่มมากที่สุดคือปาเปน และ โบรมิเลน (Ha และคณะ, 2012) งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเตรียมสเต็มปลาแชลมอนอ่อนนุ่มสำหรับผู้สูงอายุ ที่ยังคงลักษณะปรากฏและวิธีรับประทานในลักษณะสวยงามน่ารับประทานใกล้เคียงกับ

สเต็กปลาสำหรับผู้บริโภคทั่วไป ที่มีจำหน่ายในร้านอาหารและ มีรสชาติอร่อย เพื่อให้ผู้สูงอายุสามารถรับประทานอาหารที่มีประโยชน์ มีสุขภาพที่ดีและยังสามารถพัฒนาคุณภาพชีวิตของผู้สูงอายุได้ในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษากระบวนการผลิตสเต็กปลาแชลมอนอ่อนนุ่มสำหรับผู้สูงอายุ โดยวิธีการจืดเอนไซม์ผสม

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของการจืดเอนไซม์ผสมต่อการอ่อนตัวของโครงสร้างกล้ามเนื้อปลาแชลมอน

1.2.3 เพื่อตรวจสอบคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของสเต็กปลาแชลมอน

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ได้ผลิตภัณฑ์สเต็กปลาแชลมอนอ่อนนุ่ม ที่มีลักษณะปรากฏไม่แตกต่างจากอาหารปกติทั่วไป แต่มีความนุ่มและกลืนง่ายเหมาะสำหรับผู้สูงอายุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โพรตีนและโครงสร้างของโปรตีน

โมเลกุลโปรตีนเกิดจากการเรียงตัวของกรดอะมิโนจำนวนมากกว่า 50 โมเลกุลเป็นพันธะต่อกันด้วยพันธะโคเวเลนต์ชนิดพันธะเดี่ยวและเรียกชื่อเฉพาะว่าพันธะเพปไทด์ (Peptide bond) พันธะเพปไทด์นี้เป็นพันธะโคเวเลนต์ที่เกิดขึ้นระหว่างหมู่คาร์บอกซิลของกรดอะมิโน โมเลกุลหนึ่งกับไนโตรเจนอะตอมในหมู่อะมิโนของกรดอะมิโนอีกโมเลกุลหนึ่ง เมื่อกรดอะมิโน 2 โมเลกุลต่อกันด้วยพันธะเพปไทด์จะได้โมเลกุลไดเพปไทด์และเมื่อรวมตัวกับกรดอะมิโนอีกโมเลกุลหนึ่งจะได้โมเลกุลไตรเพปไทด์ (มี 2 พันธะเพปไทด์) และถ้ารวมกันต่อไปเรื่อยๆจะได้โมเลกุลพอลิเพปไทด์ที่มีมวลโมเลกุลมากขึ้นและเมื่อพอลิเพปไทด์ที่เกิดขึ้นมีโมเลกุลขนาดใหญ่หรือมวลโมเลกุลมากเรียกว่าโปรตีน (สํารานู, 2551) โมเลกุลของโปรตีนอาจประกอบด้วยพอลิเพปไทด์ 1 สายหรือมากกว่า 1 สายก็ได้ นอกจากนั้นสายพอลิเพปไทด์อาจมีการเปลี่ยนไปเป็นโครงสร้างต่างๆ ได้อีกหลายแบบทำให้สามารถแบ่งโปรตีน โครงสร้างที่แตกต่างกันเป็น 4 ระดับ (แสดงดังภาพที่ 2.1) (สํารานู, 2551)

2.1.1 โครงสร้างโปรตีน (สมปอง , 2550)

2.1.1.1 โครงสร้างระดับปฐมภูมิ (Primary structure) (a)

โครงสร้างระดับปฐมภูมิ เป็นโปรตีนที่มีรูปโครงสร้างเป็นเส้นตรงได้จากการสังเคราะห์ใหม่ๆ และจะเปลี่ยนเป็นรูปโครงสร้างขั้นต่อไป โปรตีนแต่ละชนิดจะประกอบด้วยกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน และมีการจัดเรียงลำดับของกรดอะมิโนแตกต่างกันด้วย ส่งผลให้มีการจัดเรียงตัวหรือการม้วนพับของโปรตีนในระดับทุติยภูมิ ตติยภูมิ หรือจตุรภูมิแตกต่างกัน โดยการอ่านลำดับกรดอะมิโนในโครงสร้างระดับปฐมภูมิ จะอ่านจากปลายอะมิโนไปทางปลายคาร์บอกซี โปรตีนแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันซึ่งขึ้นอยู่กับโครงสร้างระดับปฐมภูมิ เช่น ไมโอโกลบินซึ่งเป็นโปรตีนที่จับออกซิเจน พบว่ามีความเหมือนกันในสิ่งมีชีวิตหลายๆ ชนิด เช่น ไมโอโกลบินในเซลล์ของมนุษย์จะมีกรดอะมิโน 153 ลำดับ ซึ่งเหมือนกันกับไมโอโกลบินในปลาฉลาม หรือแม้แต่ไมโอโกลบินและฮีโมโกลบินก็มีความคล้ายกัน

2.1.1.2 โครงสร้างระดับทุติยภูมิ (Secondary structure) (b)

โครงสร้างระดับทุติยภูมิ สายโปรตีนจะมีการเป็นรูปแบบที่ซ้ำกันอย่างสม่ำเสมอทำให้เกิดลักษณะเป็นเกลียว (helix) หรือแบบแผ่น (pleated sheet) ซึ่งเกิดจากการสร้างพันธะไฮโดรเจน

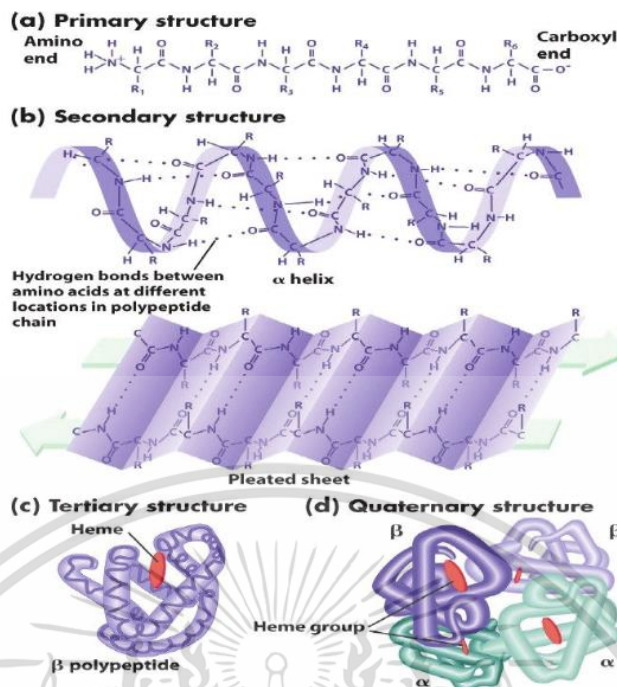
ระหว่างหมู่คาร์บอนิลและหมู่อะมิโนในสายของพอลิเพปไทด์ โครงสร้างของโปรตีนจึงมีความเสถียรมากขึ้น

2.1.1.3 โครงสร้างระดับตติยภูมิ (Tertiary structure) (c)

โครงสร้างตติยภูมิ เป็นโครงสร้าง 3 มิติ ของพอลิเพปไทด์ที่ม้วนพับของหากันของโครงสร้างทุติยภูมิ ซึ่งเกิดเป็น โครงสร้างที่เสถียรขึ้น สามารถทำหน้าที่ได้ บริเวณที่เกิดการม้วนพับ เรียกว่า domains ซึ่งเชื่อมต่อกันโดยสายพอลิเพปไทด์ โครงสร้างระดับตติยภูมิมักพบในโปรตีนที่มีรูปร่างกลมรี ที่โดยมักจะมีการม้วนพับโดย หันส่วนของกรดอะมิโนที่ละลายน้ำได้ยากเข้าด้านในของ โมเลกุล และหันกรดอะมิโนที่สามารถละลายน้ำได้ออกสู่ภายนอกโมเลกุล ดังนั้น โปรตีนประเภทนี้จึงเหมาะสมที่จะทำหน้าที่เป็นเอนไซม์

2.1.1.4 โครงสร้างระดับจตุรภูมิ (Quaternary structure) (d)

โครงสร้างระดับจตุรภูมิ คือ โปรตีนที่มีการจับกลุ่มกันโดยพอลิเพปไทด์มากกว่า 1 สายโดยเฉพาะพวกที่มีน้ำหนักอนุสูงๆ ซึ่งจับกลุ่มกันด้วย noncovalent bonds (เช่น salt bridges, H-bond, Van der Waals, hydrophobic) เป็น oligomers หรือ multisubunits โครงสร้างของโปรตีนจึงเกิดความเสถียร เป็น โครงสร้างระดับที่สี่ และทำให้โปรตีนสามารถทำงาน (function) ได้ในสิ่งมีชีวิต โดยพอลิเพปไทด์ แต่ละสายเรียกว่าเป็น monomer หรือ subunit ซึ่งแต่ละ subunit นี้อาจมีโครงสร้างที่เหมือนกันหรือแตกต่างกันก็ได้ globular protein ที่มีโครงสร้างจตุรภูมิ ส่วนใหญ่จะเป็น allosteric enzymes หรือ multienzyme complexes ตัวอย่างของโปรตีนที่มีโครงสร้างแบบจตุรภูมิคือ ฮีโมโกลบิน ซึ่งประกอบด้วยสายโกลบิน 4 สายมาจับตัวกันด้วยแรง noncovalent



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของโปรตีน

(a) : Primary structure, (b) : Secondary structure (α -Helix, or β -Plated sheet),

(c) : Tertiary structure, (d) ที่มา : Gupta และคณะ (2017)

2.1.2 พันธะที่พบในโครงสร้างของโปรตีน (ไพศาล สัทธกรกุล, 2014)

พันธะมีหลายแบบที่พบในโครงสร้างของโปรตีนที่ช่วยให้โครงสร้างนั้นมีความเสถียรมากขึ้น

2.1.2.1 Peptide bond

เป็นพันธะที่เกิดจากการเชื่อมต่อกันระหว่างหมู่ α -carbonyl ของกรดอะมิโนตัวหนึ่งกับหมู่ α -amino ของกรดอะมิโนอีกตัวหนึ่ง พันธะนี้ก่อให้เกิดความแข็งแรงแก่สายพอลิเปปไทด์

2.1.2.2 Disulfide bond

เป็นพันธะที่เกิดจากการจับตัวกันของ cysteine 2 residues ที่อาจจะอยู่ในสายเดียวกัน (intrachain) ของพอลิเปปไทด์ chain หรือต่างสาย (interchain) ก็ได้โดยทั่วไป disulfide bond นี้จะทนต่อสภาวะต่างๆ ที่ใช้ในการทำลายสภาพธรรมชาติ (denature) ของโปรตีนแต่อย่างไรก็ตามมีสารเคมีบางอย่างที่สามารถทำลายพันธะนี้ได้คือ β -mercaptoethanol และ dithiotheritol เป็นต้น

2.1.2.3 Hydrogen bond (H-bond)

การสร้างพันธะนี้จะเกิดขึ้นได้ 2 แบบ แบบแรกเกิดระหว่างอะตอมของไฮโดรเจนและออกซิเจนของพันธะเปปไทด์ ซึ่งอาจจะอยู่ในสาย พอลิเปปไทด์ เดียวกันหรือต่างสายกันก็ได้ แบบที่ 2 อาจเกิดจากการสร้าง H-bond ระหว่างหมู่ที่มีขั้วของสายข้างของกรดอะมิโนที่อยู่บนผิวของโปรตีนกับน้ำ H-bond ทั้ง 2 แบบนี้จะแสดงบทบาทที่สำคัญในการรักษาโครงสร้างของโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2.4 Van der Waals forces

เป็นพันธะอย่างอ่อนที่เกิดระหว่างหมู่ของสายข้างของกรดอะมิโนที่ไม่มีประจุทำให้โครงสร้างของโปรตีนเสถียรขึ้น

2.1.2.5 Electrostatic interactions

เป็นแรงที่เกิดระหว่าง ionized groups ที่มีประจุต่างกัน ซึ่งมักพบกลุ่มที่มีประจุ ใ้บน exterior of the protein และ strength of interaction จะขึ้นกับความเข้มข้นของสารละลายเกลือ (dielectric)

2.1.2.6 Hydrophobic interactions bonding

เป็นแรงกระทำระหว่างส่วนที่ไม่ชอบน้ำเหมือนกันหมู่อะมิโนที่มี hydrophobic side chains จะอยู่ด้านในของโปรตีน (protein interior)

2.1.3 การจำแนกโปรตีนกล้ามเนื้อโดยอาศัยการละลาย (สุทธรวัฒน์, 2557)

2.1.3.1 โปรตีนไมโอไฟบริล (Myofibrillar protein)

โปรตีนชนิดนี้สามารถสกัดได้โดยสารละลายเกลือที่มีค่า ionic strength มากกว่า 0.15 (โดยทั่วไปอยู่ในช่วง 0.3-1.0) สารละลายโปรตีนดังกล่าวสามารถตกตะกอนโดยการเจือจางด้วยน้ำกลั่นประมาณ 10 เท่า โดยทิ้งไปเนื้อสัตว์ ประกอบด้วยโปรตีนไมโอไฟบริลร้อยละ 40-60 โปรตีนชนิดนี้มีความสำคัญต่อการเคลื่อนที่ โดยมีบทบาทสำคัญต่อการยึดหดของกล้ามเนื้อ นอกจากนี้ยังมีความสำคัญต่อการอุ้มน้ำของเนื้อ และความสามารถในการเกิดเจล

2.1.3.2 ไมโอซิน และพาราไมโอซิน

ไมโอซินเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของฟิลาเมนต์เส้นหนา (thick filament) โดยมีปริมาณร้อยละ 45 ของโปรตีนไมโอไฟบริล ไมโอซินเป็นโปรตีนเส้นยาว มีความยาว 160 นาโนเมตร ประมาณ 480,000 ดัลตัน ประกอบด้วยพอลิเปปไทด์ 6 เส้น โดยมีเส้นหนัก (Heavy chain) 2 เส้นและมีเส้นเบา (light chain) 4 เส้น ประกอบด้วยส่วนหัว (head) และส่วนหาง (tail) ซึ่งมีลักษณะเป็นทรงกลม (globular) และเป็นท่อน (rod) ส่วนหางของไมโอซินประกอบด้วยโซ่ 2 สาย พบในลักษณะ “coiled-coil alpha-helical supersecondary structure” ส่วนหัวของไมโอซินมีความยาว 16.5 นาโนเมตร และกว้าง 6.5 นาโนเมตร และหนาประมาณ 4.0 นาโนเมตร ในส่วนหัวประกอบด้วยโครงสร้างทุติยภูมิ เช่น แอลฟา-เฮลิกซ์ ประมาณร้อยละ 48 ของกรดอะมิโนทั้งหมด บริเวณส่วนหัวของไมโอซินประกอบด้วยโปรตีนเส้นเบา 2 ชนิด คือ

1. Alkali light chain มีน้ำหนักโมเลกุล 16,600-20,950 ดัลตัน สามารถแยกออกจากไมโอซินในสภาวะที่เป็นด่าง โปรตีนเส้นบางชนิดนี้มีส่วนสำคัญต่อ ATPase ดังนั้นจึงเรียกว่า essential light chain

2. DTNB [(5'5 dithiobis)-2-(nitrobenzoic acid) light chain มีน้ำหนักโมเลกุล 18,000-

19,000 ดัลตัน DTNB light chain สามารถแยกแยะออกจากไมโอซิน โดย thiol reagent (DTNB)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการเรียนการสอนเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่ให้ใช้โดยไม่ว่ากรรมใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรตีนชนิดนี้มีส่วนในการควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อของสัตว์จำพวกมอลลัสต์และมีส่วนสำคัญในกระบวนการควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบ

พาราไมโอซินมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่มีลักษณะจำเพาะโดยประกอบด้วยกรดอะมิโนที่เป็นเบส และเอไมด์ (amide) สูง เช่น มีกลูตามีน ร้อยละ 20-23.5 แอสพาร์ติก ร้อยละ 12 อาร์จินีน ร้อยละ 12 และไลซีน ร้อยละ 9 แต่มีโพรลีนปริมาณต่ำโมเลกุลของพาราไมโอซินมีลักษณะเป็นท่อน (coiled-coil rod) ซึ่งเกิดจากสายโซ่ ชนิดแอลฟาเฮลิคัลที่แตกต่างกัน 2 สาย โมเลกุลประกอบด้วยซิสเทอีน 2 คู่ ซึ่งสามารถเกิดพันธะไดซัลไฟด์ โดยพบ 1 คู่ที่ N-Terminus และอีก 1 คู่ ที่ความยาว 1 ใน 3 ของความยาวนับจาก N-Terminus พาราไมโอซินประกอบด้วย 2 หน่วยย่อย ที่มีความยาวประมาณ 120 นาโนเมตร โดยมีโมเลกุลของหน่วยย่อย ประมาณ 95-125 กิโลดัลตัน

2.1.3.3 แอกติน (actin)

แอกตินเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของฟิลาเมนต์เส้นบาง (thin filament) โดยมีประมาณร้อยละ 20 ของไมโอไฟบริล แอกตินมีรูปร่างคล้ายเม็ดสี่เหลี่ยมที่มีขนาดเท่ากันเรียงต่อกัน โมโนเมอร์ของแอกตินเรียกว่า globular actin หรือ G-actin โมโนเมอร์ดังกล่าวจะเรียงตัวกันแบบโครงสร้างแบบ double-helical structure เรียก fibrous actin หรือ F-actin ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของฟิลาเมนต์เส้นบาง G-actin ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 374-375 ตัว และมีน้ำหนักโมเลกุล 42,000-48,000 ดัลตัน ฟิลาเมนต์ของ F-actin สามารถมีอันตรกิริยากับส่วนหัวของไมโอซิน

2.1.3.4 โทรโปไมโอซิน (tropomyosin) และโทรโปนิน (troponin)

โทรโปไมโอซินมีประมาณร้อยละ 5 ของโปรตีนไมโอไฟบริลประกอบด้วยสายโพลีเปปไทด์ ชนิดแอลฟา-เฮลิคัลพันกัน ในลักษณะ two-standard, coiled-coil super secondary structure มีลักษณะคล้ายส่วนหางของไมโอซิน ในโทรโปไมโอซินแต่ละเส้นประกอบด้วย G-actin 7 โมเลกุล

โทรโปนิน (troponin) (Bechtel, 1986)

โทรโปนินส่วนใหญ่มีอยู่ร่วมกับโทรโปไมโอซิน ประกอบด้วย 3 หน่วยย่อย คือ

1. โทรโปนิน C (17,000-18,000 ดัลตัน) ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดที่เป็นกรด (acidic amino acid) และมีบทบาทในการจับแคลเซียมไอออนและมีผลต่อ calcium sensitivity
2. โทรโปนิน I (20,000-24,000 ดัลตัน) มีผลต่อการยับยั้งกิจกรรมของ ATPase
3. โทรโปนิน T (37,000-40,000 ดัลตัน) ทำหน้าที่จับกับโทรโปไมโอซิน

2.1.3.5 โปรตีนซาร์โคพลาสมิก (Sacoplasmic proteins) (เกษม, 2526)

เป็นโปรตีนที่ไม่ใช่องค์ประกอบของเส้นใยไมโอไฟบริล แต่จะแขวนลอยอยู่ในส่วนของซาร์โคพลาสซึมมีประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณโปรตีนทั้งหมดละลายได้ในน้ำและสารละลายเกลืออ่อนๆ (ionic- strength 0.06) โปรตีนเหล่านี้มีสารย่อยคาเทปซิน ซึ่งสามารถย่อยโปรตีนชนิดอื่นได้ นอกจากนี้ยังสามารถทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์กับไขมันในการทำไส้กรอกประเภทอิมัลชัน แต่อิมัลชันที่ได้มักไม่คงทนเท่าไมโอไฟบริลลาร์ โปรตีน โปรตีนประเภทนี้ได้แก่ เอนไซม์ชนิดต่าง ๆ เช่น phosphorylase และเม็คคัสในเนื้อ เช่น ไมโอไกลบิน และเฮโมไกลบิน เป็นต้น

2.1.3.5.1 เอนไซม์ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2558)

เอนไซม์สำคัญที่พบในกล้ามเนื้อสัตว์มี 6 กลุ่ม กลุ่มที่สำคัญและมีบทบาทโดยตรงต่อคุณภาพ คือ ไฮโดรเลส (hydrolase) ออกซิโครีดักเตส (oxidoreductase) และทรานส์เฟอเรส (transferase)

1. ไฮโดรเลส เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่สำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงภายหลังการตายของสัตว์น้ำ เช่น เอนไซม์โปรตีนเอส เพพทิเคส ไลเปส ฟอสโฟไลเปส และไกลโคเจนไฮโดรเลส

2. ออกซิโครีดักเตส เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่รู้จักโดยทั่วไปในกลุ่ม dehydrogenases หรือ oxidases ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการเคลื่อนที่ของ hydrogen atoms และ electrons ซึ่งทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน หรือ ปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox reaction) (สมฤดี, 2554)

3. พอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) มีบทบาทสำคัญในสัตว์กลุ่มจำพวกครัสเตเชีย เนื่องจากเป็นสาเหตุของการเปลี่ยนแปลงสี ส่วนไลพอกซีจีเนสสามารถพบในหนังเหงือกและกล้ามเนื้อสัตว์น้ำ โดยมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแคโรทีนอยด์ในหนังและมีผลต่อกลิ่นรสนอกจากนี้เอนไซม์ที่สำคัญในกลุ่มนี้ประกอบด้วยเพอร์ออกซิเดส (peroxidase) คตะเลส (catalase) และซูเปอร์ออกไซด์ดิสมูเตส (superoxide dismutase)

4. ทรานส์กลูตามิเนสเอนไซม์ (protein-glutamine γ -glutamyltransferase; EC 2.3.2.13) สามารถเร่งการถ่ายหมู่เอซิลจากหมู่คาร์บอกซามัลของกลูตามีนในโปรตีน หรือเปปไทด์ ไปยังหมู่รับ เช่น ไลซีน ก่อให้เกิดการเชื่อมประสานของโปรตีน เอนไซม์ดังกล่าวมีบทบาทสำคัญต่อการเพิ่มความแข็งแรงของเจลซูริมิโดยเฉพาะในระหว่างการเซ็ตตัว เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส สามารถพบในปลาหลายชนิด เช่น คาร์ป เรนโบว์เทราท์ ชุมแซลมอน แอนคาแมคเคอเรลไวท์โครกเกอร์ นอกจากนี้สามารถพบในสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสมีหมู่ซีสเทอีนในบริเวณเร่ง โดยมีลำดับของหมู่อะมิโนดังนี้ Tyr-Gly-Gln-Cys-Trp เอนไซม์ที่พบในสัตว์น้ำต้องการแคลเซียมไอออนในการกระตุ้นกิจกรรม

เอนไซม์ ชนิดอื่นๆที่มีบทบาทสำคัญในกล้ามเนื้อ สัตว์น้ำ ประกอบด้วย ฟอสโฟริเลส (phosphorylase) ฟอสโฟฟรุกโทไคเนส (phosphofructkinase) และไตรเมทิลเอมีนออกไซด์ดีเมทิลเลส (TMA-demethylase) โดยเอนไซม์โปรติเอสย่อยสลายกล้ามเนื้อปลาและสัตว์น้ำแสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 โปรติเอสย่อยสลายกล้ามเนื้อปลาและสัตว์น้ำ (ปราณี, 2558)

เอนไซม์	ลักษณะปฏิกิริยา
1. โปรติเอสซิสเทอีน กลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วยแคลเซียม (จากส่วนอวัยวะภายใน)	-ย่อยสลายไมโอไฟบริลโปรตีน และส่วนของไซโตซเกอริทลโปรตีนทำให้เจลอ่อนตัวได้มากและเร็ว
2. กลุ่มคาเทปซิน L, B, C (Cathepsin L, B, C) อยู่ในกล้ามเนื้อเป็นส่วนซึ่งปลดปล่อยหลังสัตว์ตาย	-ย่อยสลายไมโอไฟบริลโปรตีนเป็นหลัก และอาจมีการย่อยสลายทั้งไมโอซิน แอกทิน เนบูลิน และคอลลาเจน
3. โปรติเอสเซริน โดยส่วนใหญ่จะเป็นเอนไซม์ ซึ่งทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูงคือ 50-60 °C ดังนั้นการให้ความร้อนจะเพิ่มแอกทิวิตีการเกิดเจล	-มีการย่อยสลายกล้ามเนื้อโดยเฉพาะส่วนไมโอซินมากกว่าส่วนอื่นและมียืนยันว่าช่วยในการอ่อนตัวของเจลเรียกในทอมภาษาญี่ปุ่นว่า “โม โคริ” จะเกิดได้ดีเมื่อเพิ่มความร้อนซึ่งช่วยเร่งปฏิกิริยาย่อยสลายไมโอซินให้เร็วขึ้นได้โครงสร้างที่ไม่พึงประสงค์ในผลิตภัณฑ์คามาโบโกะ
4. โปรติเอสมีโลหะ เป็นกลุ่มแอลคาไลน์โปรติเอส ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 40-50 °C	-ย่อยสลายโครงสร้างของเอ็นปลา เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เช่น คอลลาเจน เจลาติน รังแหไซโตซเกอริทลของโปรตีนปลา

2.1.3.5.2 โปรตีนเม็ดสี

โปรตีนฮีม (heme proteins) เป็นแหล่งของเม็ดสีที่สำคัญ เม็ดสีชนิดนี้มีผลต่อลักษณะสีแดงของกล้ามเนื้อเม็ดสีที่สำคัญในกลุ่มนี้ประกอบด้วยออกซีไมโอโกลบิน (oxy-myoglobin) และออกซีฮีโมโกลบิน (oxyhemoglobin)

2.1.3.5.3 พาร์วาลบูมิน (parvalbumin)

พาร์วาลบูมิน เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (~12 กิโลดัลตัน) เป็นโปรตีนที่ละลายน้ำและทนร้อน และมีความสามารถในการจับกับแคลเซียมไอออน โดยมากมักพบพาร์วาลบูมินและคาลโมดูลิน (calmodulin) ในกล้ามเนื้อของ สัตว์มีกระดูกสันหลังชั้นต่ำ โปรตีนกลุ่มนี้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถพบในปลาประมาณร้อยละ 20-30 ของปริมาณโปรตีนซาร์ โคพลาสติกทั้งหมดโปรตีนกลุ่มนี้ทำหน้าที่เช่นเดียวกับโทรโปนินและ โทรโปไมโอซินในสัตว์มีกระดูกสันหลังชั้นสูง

2.1.3.5.4 โปรตีนที่ไม่แข็งตัว

สัตว์น้ำจากมหาสมุทรอาร์กติกและแอนตาร์กติก มีโปรตีนในเลือด ซึ่งสามารถลดจุดเยือกแข็ง โดยไม่มีผลต่อแรงดัน ออสโมติก โปรตีนดังกล่าวเป็นไกลโคโปรตีน (antifreeze glycoproteins ; AFGP) ซึ่งเป็น พอลิเมอร์ ของ H₂N [Ala -Ala (β -galactosyl (1-3) α -N-acetylgalactosamine)Thr]_n Ala-Ala-COOH AFGP 1-8 ประกอบด้วย n เท่า กับ 50, 45, 35, 28, 17,12 และ 6-4 ตามลำดับ โดย AFGP 1-8 มีประมาณร้อยละ 80 ของโปรตีนทั้งหมด โปรตีนที่ไม่แข็งตัวบางชนิดไม่มีคาร์โบไฮเดรต โดยองค์ประกอบ 2 ใน 3 เป็นอะลานีน และมีกรดอะมิโนชนิดอื่นแทนที่คาร์โบไฮเดรต

2.1.3.6 สโตรมา (Stroma)

สโตรมาเป็นส่วนที่เหลือจากการสกัด โปรตีนซาร์ โคพลาสติกและ โปรตีนไมโอไฟบริล สโตรมา ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เช่น คอลลาเจน (collagen) อีลาสติน (elastin) และเรติคิวลิน สโตรมามีคุณสมบัติคือ ไม่ละลาย ในสารละลายใด ๆ แต่อาจละลายได้บ้างในสารละลายเข้มข้นของกรดและเบส (ไม่ละลายในสารละลายไฮโดรคลอริก หรือ โซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง)

2.1.3.7 ลิแกเมนต์ (Ligament)

ลิแกเมนต์เป็นโปรตีนที่สามารถเกิดเป็นเส้นใยที่มีลักษณะเหนียวคล้ายลิแกเมนต์ที่สำคัญคือ อีลาสติน (elastin) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมักพบในผนังเส้นเลือดแต่พบน้อยในหนังในสัตว์น้ำจะไม่พบอีลาสตินเป็นองค์ประกอบ (สุทรวัดน์ เบญจกุล, 2011)

2.1.3.8 สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน

สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนในสัตว์น้ำมีบทบาทสำคัญต่อคุณภาพสัตว์น้ำ โดยมีผลต่อกลิ่นรสและรสชาติ รวมทั้งมีผลต่อการเสื่อมเสียของสัตว์น้ำ สารประกอบในกลุ่มนี้ที่สำคัญได้แก่ กรดอะมิโนอิสระ เพปไทด์ กัว นิติน ยูเรีย บีตาอีน (betaine) นิวคลีโอไทด์ (nucleotide) เป็นต้น (สุทรวัดน์ เบญจกุล, 2011)

2.1.4 เอนไซม์ย่อยโปรตีนโดยธรรมชาติในกล้ามเนื้อ

กลไกแรกเริ่มที่เกิดขึ้นภายหลังการตายในกระบวนการอ่อนตัวของโครงสร้างกล้ามเนื้อคือการเกิดการสลายตัวของโครงสร้างโปรตีนกล้ามเนื้อจากกิจกรรมของเอนไซม์ทำให้เนื้อนุ่มขึ้นในระหว่างการบ่มซากที่อุณหภูมิต่ำ โดยมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องคือเอนไซม์คัลเพน (Calpain) ซึ่งมี 3 องค์ประกอบหลักคือ μ -calpain, m-calpain และ calpastatin โดย calpains และ calpastatin ซึ่งเป็นสารยับยั้งจัดเป็นพวกที่มีกิจกรรมขึ้นกับความเข้มข้น ของแคลเซียม (Calcium-dependent) (Goll และคณะ, 2003) Calpain สามารถย่อยสลายโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อตรง z-line ได้ อย่างไรก็ตาม

ตามกระบวนการย่อยสลายโปรตีนหลังจากการตายนั้นมีข้อจำกัดเนื่องจาก Calpain เกิดการย่อยสลายเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวเองได้เช่นกัน (Goll และคณะ, 2003) ดังนั้นกิจกรรมการย่อยสลายโปรตีน กล้ามเนื้อโดย Calpain จึงไม่ทำให้เกิดการย่อยสลายจนเกินจากความอ่อนนุ่ม (Chris และคณะ, 2007)

2.1.5 เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ช่วยทำให้เกิดความนุ่มของเนื้อ

มีงานวิจัยจำนวนมากศึกษาการใช้เอนไซม์จากพืช แบคทีเรีย และเชื้อรา ในกระบวนการทำให้เนื้อนุ่มเอนไซม์ที่เดิมใส่เข้าไปในเนื้อจะทำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนเส้นใยและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในลักษณะที่แตกต่างจากการย่อยสลายตัวเอง ปัจจุบันมีรายงานการศึกษาการใช้เอนไซม์ 5 ชนิดในการทำให้เนื้อนุ่ม ได้รับการจำแนกให้เป็น GRAS (Generally Recognized as Safe) โดย USDA's Food Safety Inspection Service (FSIS) ซึ่งเตรียมได้จาก พืช แบคทีเรีย และเชื้อรา (ตารางที่ 2.2) นอกจากนี้ยังไม่กลุ่มของเอนไซม์จากแหล่งอื่นๆที่ไม่การศึกษาแล้วและมีศักยภาพสูงในการนำมาประยุกต์ในการทำให้เนื้อนุ่ม เช่นเอนไซม์ที่สกัดได้จาก Kiwi fruit (actinidin) และ จิง เป็นต้น (Chris และคณะ, 2007)

ตารางที่ 2.2 ประเภทของเอนไซม์ที่สามารถใช้ได้อย่างปลอดภัย

Enzyme	Type	Source	Protease class
Papain	Vegetable	Papaya	Cysteine
Bromelain	Vegetable	Pineapple	Cysteine
Ficin	Vegetable	Figs	Cysteine
Bacillus Protease	Bacterial	<i>Bacillus subtilis</i>	Serine
Aspartic Protease	Fungal	<i>Aspergillus oryzae</i>	Aspartic

ที่มา : Chris และคณะ 2007)

Chris และคณะ (2007) กล่าวว่าอุณหภูมิมีผลอย่างมากต่อกิจกรรมของเอนไซม์ โดยพบว่าเอนไซม์มักมีการใช้ในการทำให้เนื้อนุ่มมีกิจกรรมที่เหมาะสมที่อุณหภูมิ 65-75°C (ตารางที่ 2.3) ด้วยเหตุนี้กิจกรรมการย่อยสลายโปรตีน โดยส่วนใหญ่จะเกิดระหว่างการแปรรูปหรือการปรุง และจะมีกิจกรรมลดลงเกิดเก็บรักษาด้วยความเย็น นอกจากนี้ pH ของชิ้นเนื้อและผลิตภัณฑ์ ก็มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนเช่นกัน แม้ว่าเอนไซม์โดยทั่วไปจะสามารถทำงานได้ดีที่ pH โดยธรรมชาติ เนื้อ แม้เอนไซม์บางชนิดอาจทำงานได้ดีที่สภาวะเป็นกรดหรือด่างเพิ่มขึ้น การเติมเกลืออาจมีผลทั้งต่อการเพิ่ม หรือลดกิจกรรมการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์ ทั้งนี้เอนไซม์โดยส่วนใหญ่ไม่สามารถซึมผ่าน เข้าสู่ชิ้นเนื้อได้ การแช่หรือหมักเนื้อนั้นเอนไซม์จึงมักมีกิจกรรมบริเวณที่สัมผัสกับเนื้อด้านนอกเป็นส่วนใหญ่การจำแนกเอนไซม์ เวลา อุณหภูมิ และ pH จึงขึ้นอยู่กับระบบของกระบวนการ การผลิตในการทำให้เนื้อนุ่ม ทั้งนี้ภาพรวมของ pH และช่วงของกิจกรรม เอนไซม์ที่

เหมาะสม แสดงดังตารางที่ 2.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุด และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมเอนไซม์โปรตีเอส

Enzyme	Active range (°C)	Optimal temperature (°C)
Papain	50-80	65-75
Bromelain	50-80	65-75
Ficin	45-75	60-70
Bacillus	50-65	55-60
Aspergillus	40-60	55-60

ที่มา : Chris และคณะ (2007)

ตารางที่ 2.4 ช่วงของ pH ที่เหมาะสมต่อกิจกรรมเอนไซม์โปรตีเอส

Enzyme	Active pH	Optimal pH
Papain	4.0-9.0	4.0-6.0
Bromelain	4.0-7.0	5.0-6.0
Ficin	5.0-9.0	7.0
Bacillus	5.0-9.0	7.0
Aspergillus	2.5-7.0	<6.5

ที่มา : Chris และคณะ (2007)

ตารางที่ 2.5 ระดับความสามารถของเอนไซม์โปรตีเอสในระดับความสามารถการไฮโดรไลซิสโปรตีนไมโอไฟบริลและคอลลาเจน

Protease	Hydrolysis of myofibrillar proteins	Hydrolysis of collagen
Papain	Excellent	Moderate
Bromelain	Moderate	Excellent
Ficin	Moderate	Excellent
Aspergillus	Moderate	Poor
Bacillus	Poor	Excellent

ที่มา : Chris และคณะ (2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6 เอนไซม์ปาเปน (Papain)

ปาเปนเป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งในขางมะละกอ โดยปกติขางมะละกอจะประกอบด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีน (Proteolytic enzyme) อยู่ 4 ชนิด คือ Papain, Chymopapain A และ B และ Papaya peptidase A โดย Chymopapain เป็นเอนไซม์ที่พบมากที่สุดในการขางมะละกอ รองลงมาคือ Papain ซึ่งมีปริมาณต่ำกว่าร้อยละ 10 และ papaya peptidase A มีปริมาณน้อยที่สุด เอนไซม์ Chymopapain มีความคงตัวต่อความร้อนและทนต่อสภาพกรดได้ดี และเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เนื้อมีความนุ่ม สายพันธุ์มะละกอที่สามารถผลิตน้ำขางสดได้สูงคือ สายพันธุ์จำปาดำ และแขกดำ โดยจะพบขางมะละกอในส่วนที่เป็นใบก้าน และผลดิบ ซึ่งมีแนวโน้มที่อาจเป็นไปได้ ในการกริดเอาขางมะละกอมาใช้ประโยชน์ เพื่อการอุตสาหกรรมในอนาคต (คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2554)

2.1.6.1 คุณสมบัติทางกายภาพและจลนศาสตร์

ปาเปนเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในกลุ่มเอนไซม์โปรติเอสที่มีกรดอะมิโนซิสเทอีน (cysteine) เป็นองค์ประกอบและอยู่ในกลุ่มเอนไซม์เปปติเดส C1 เอนไซม์ปาเปนประกอบด้วยสายพอลิเปปไทด์ (polypeptide) 1 สายกับ หมู่ไดซัลไฟด์ (disulfide) 3 หมู่ และหมู่ซัลไฟดริล (sulfhydryl) ซึ่งมีความจำเป็นต่อการทำงานของเอนไซม์ (Sigma – Aldrich, 2011) โดยคุณสมบัติของปาเปนแสดงดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 คุณสมบัติของเอนไซม์ปาเปนจากขางมะละกอ

คุณสมบัติ	ค่าแสดง
มวลโมเลกุล	23,406 Da (ลำดับกรดอะมิโน)
pH ที่เหมาะสมต่อการทำงาน	6.0 – 7.0
อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงาน	65 °C
pI	8.75; 9.55
คุณสมบัติในการดูดกลืนแสง	ที่ความยาวคลื่นสูงสุด 278 nm
Extinction coefficient, E ^{1%}	25
Extinction coefficient, EmM	57.6 (ที่ความยาวคลื่น 280 nm)

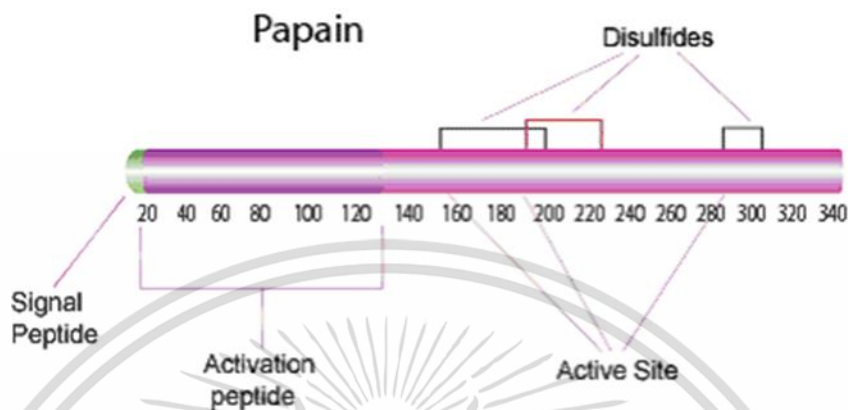
ที่มา : Sigma – Aldrich (2011)

คำจำกัดนิยามของกิจกรรมเอนไซม์ปาเปน : หนึ่งหน่วยกิจกรรม คือ N- α -benzoyl-L-arginine ethyl ester (BAEE) ที่ถูกย่อยจนได้เป็นผลิตภัณฑ์จำนวน 1 μ mole ต่อเวลาที่อุณหภูมิ 25 °C และ pH 6.2 (Sigma – Aldrich, 2011) รูปที่ 2 แสดงโครงสร้างของเอนไซม์ปาเปน ซึ่งประกอบด้วย

สายพอลิเปปไทด์ 1 สาย และมีพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide) อยู่ 3 พันธะ ซึ่งพบว่าพันธะไดซัลไฟด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการแข่งขันเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในสายพอลิเปปไทด์มีความสัมพันธ์กับกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ โดยพบว่าในสายพอลิเปปไทด์มีหมู่ไคซัลไฟต์อยู่ในตำแหน่งที่แตกต่างกัน ทำให้ผลต่อความยาวคลื่น ที่ใช้ในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่แตกต่างกันด้วย (Sigma – Aldrich, 2011)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของเอนไซม์ปาเปน

ที่มา: Sigma – Aldrich (2011)

ปาเปนเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสารตั้งต้นโปรตีนเป็นส่วนใหญ่ และใช้กันอย่างกว้างขวางมากกว่าการใช้เอนไซม์โปรติเอสจากตับอ่อน นอกจากนี้ปาเปนมีความจำเพาะกว่า โดยสามารถตัดพันธะเปปไทด์ของกรดอะมิโนที่เป็นเบสลิวีน หรือไกลซีน ได้ดี และยังสามารถไฮโดรไลส์หมู่เอสเตอร์ (esters) และเอไมด์ (amides) ได้ นอกจากนี้ปาเปนชอบทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนที่แสดงว่าไม่มีขั้วในหมู่ข้าง (hydrophobic side chains) ที่ตำแหน่ง P2 ยกเว้นกับกรดอะมิโนวาเลอีน (Valine) ปาเปนจะเข้าทำปฏิกิริยาที่ตำแหน่ง P1 (Sigma – Aldrich, 2011)

2.1.6.2 การประยุกต์ใช้

เอนไซม์ปาเปนเป็นที่นิยมใช้ในขั้นตอนการแยกเซลล์ เนื่องจากมีประสิทธิภาพสูง และทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อของตัวเซลล์น้อยกว่าการใช้เอนไซม์โปรติเอสชนิดอื่นๆ ข้อจำกัดของการย่อยโดยใช้เอนไซม์ปาเปน คือ ใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างของเอนไซม์และโปรตีนชนิดอื่นๆ และปาเปนยังถูกนำมาใช้ในทางเซรุ่มวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดแดง เพื่อช่วยในการปรับปรุงให้พื้นที่ผิวของเซลล์เม็ดเลือดแดงดีขึ้น หรือทำลายการเกิดปฏิกิริยาของแอนติเจนของเซลล์เม็ดเลือดแดงหลายๆ เซลล์ ซึ่งประกอบกันเป็นกลุ่มเซลล์ โดยมีตัวแอนติบอดีเป็นตัวคุ้มกัน หรือมีแอนติบอดีที่จำเพาะ นอกจากนี้ปาเปนยังมีประโยชน์ในทาง เซรุ่มวิทยาของเกล็ดเลือด และปาเปนยังมีการใช้ในการสังเคราะห์กรดอะมิโน เปปไทด์ และโมเลกุลชนิดอื่นๆ โดยวิธีทางเอนไซม์ (Sigma – Aldrich, 2011) อีกทั้งยังมีการใช้เอนไซม์ปาเปนในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลสได้จากพืชและสัตว์ เช่น กลูเตนในข้าวสาลี (wheat gluten) (Wang และคณะ, 2007) ไข่ปลานวลจันทร์เทศ meriga (Cirrhinus mrigala) ไข่ (Chalamaiah และคณะ, 2010) ถั่วเมล็ดแบน (Lentil) (Barbana และ Boye, 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นหน้าเว็บไซต์นี้เป็นการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.7 เอนไซม์โบรมีเลน (Bromelain)

2.1.7.1 คุณสมบัติทางกายภาพและจลนศาสตร์

โบรมีเลน คือเอนไซม์ย่อยโปรตีน (Proteinases) ที่ได้จากต้นของสับปะรด โบรมีเลน เป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีน (Proteolytic enzyme) หมู่ซัลไฟด์ไรด (Sulphydryl Proteases) มีรายงานระบุว่าเอนไซม์โบรมีเลนสามารถพบได้ในส่วนเปลือกทั้งของสับปะรด เช่น ใบแกน ,เปลือก และในใบสับปะรด โบรมีเลนที่ได้จากส่วนเปลือกทั้งของสับปะรดมีอยู่น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับที่มีอยู่ในลำต้นและผล (Manohar และคณะ, 2016) เอนไซม์โบรมีเลนสามารถทำลายด้วยความร้อนที่อุณหภูมิมากกว่า 70 องศาเซลเซียส มีความคงตัวที่ pH 3.0-3.5 และจะไม่คงตัวที่ pH 2.5 (Su และคณะ, 1975) โดย Kim และ Taub (1991) ได้ศึกษาพบว่า โบรมีเลนสามารถทำงานได้เหมาะสมที่สุดที่ pH 5

2.1.7.2 การประยุกต์ใช้

โบรมีเลนมักถูกใช้ในการเค็มเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการเพื่อช่วยในการทำงานของระบบการย่อยอาหาร และบรรเทาอาการอักเสบ ลดอาการบวม น้ำ ช่วยให้คุณซึมซาบปฏิชีวนะลดการเกิดโรคหลอดเลือดในสมองตีบ เป็นตัวยับยั้งการแพร่ขยายของเซลล์เนื้องอก และเพิ่มภูมิคุ้มกันแก่ร่างกาย โบรมีเลนทำปฏิกิริยากับเนื้อสัตว์ โดยจะทำลายเนื้อเยื่อคอลลาเจน ซึ่งเป็นกิจกรรมการย่อยสลายเนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งจะทำให้เนื้อนุ่ม โบรมีเลนเมื่อทำปฏิกิริยากับเนื้อสัตว์ จะส่งผลต่อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง, ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water-holding capacity) ปริมาณความชื้น (moisture content) และความคงตัวเอ็นไซม์โบรมีเลนถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะ ในอุตสาหกรรมที่ต้องการย่อยสลายโปรตีนให้มีขนาดของโมเลกุลที่เล็กลงโดยจะต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์ ในบางกรณีอาจมีการนำโบรมีเลนไปใช้ทดแทนเอนไซม์ปาเปนหรืออาจใช้ผสมร่วมกัน ข้อดีของโบรมีเลนเมื่อเปรียบเทียบกับปาเปนคือ โบรมีเลนมีราคาถูกกว่าปาเปน (ยูทพงษ์ และวีธา, 2538) คุณสมบัติของเอนไซม์โบรมีเลนจากสับปะรดแสดงดังตารางที่ 2.7

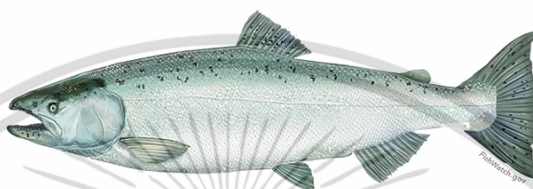
ตารางที่ 2.7 คุณสมบัติของเอนไซม์โบรมีเลนจากสับปะรด

คุณสมบัติ	ค่าแสดง
มวลโมเลกุล	30,000 Da
pH ที่เหมาะสมต่อการทำงาน	4.0 – 5.2
อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงาน	40 - 65 °C
pI	9.55
คุณสมบัติในการดูดกลืนแสง	ที่ความยาวคลื่นสูงสุด 410 nm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ปลาแซลมอนชินุก (Chinook Salmon)

ปลาแซลมอนชินุก เป็นปลาแซลมอนแปซิฟิกที่ใหญ่ที่สุด น้ำหนักราว 30 ปอนด์ (13.6 กิโลกรัม) ปลาแซลมอนชินุกมีอีกชื่อหนึ่งว่า Spring Salmon เพราะ ปลาแซลมอนชินุก จะกลับไปวางไข่เร็วกว่าสายพันธุ์อื่นๆ เนื่องจาก ขนาดของพวกมันและความเหมาะสม ของแหล่งน้ำ ไกลชายฝั่ง พวกมันเป็นเหยื่อของปลาวาฬและ ชาวประมงปลาแซลมอนชินุก สด มีสีที่แตกต่างกัน คือ สีชมพูอ่อนจนถึง สีแดงเข้ม



ภาพที่ 2.4 ปลาแซลมอนชินุก (Chinook Salmon)

ที่มา : NOAA Fisheries(2020)

3. ปลาแซลมอนโคโฮ (Coho Salmon)

ปลาแซลมอนโคโฮ พบไม่บ่อยนัก ทางทะเลทางตอนเหนือของแถบตะวันตกเฉียงเหนือ ปลาแซลมอนโคโฮใช้เวลา 18 เดือน ในทะเล ก่อนที่จะกลับไปยังแหล่งน้ำสำหรับการวางไข่แต่ไม่เหมือนกับแซลมอนสายพันธุ์อื่นๆ พวกมันจะไม่ย้ายไปไกล ปลาแซลมอนโคโฮ เป็นนักกระโดดและนักหลบหลีก และ ดังนั้น แซลมอนชินุกจึงเป็นที่นิยมของนักตกปลา ระหว่างที่แซลมอนชินุกวางไข่พวกมันจะมีการพัฒนาจากกรไกรของมันให้งุ่มยิ่งขึ้น



ภาพที่ 2.5 ปลาแซลมอนโคโฮ (Coho Salmon)

ที่มา : NOAA FISHERIES (2020)

4. ปลาแซลมอนซอกกี๊ หรือ ปลาแซลมอนโคคะนี (Sockeye or Kokanee Salmon)

ปลาแซลมอน ซอกกี๊ เป็นแซลมอนที่ดีที่สุดพันธุ์หนึ่งทางตะวันตกเฉียงใต้ของมหาสมุทรแปซิฟิก และเป็นผลผลิตทางการค้าอันดับหนึ่ง และยังเป็นปลาที่มีไขมันสูงและมีสีสดเข้ม และมีส่วนประกอบเป็นน้ำมันสูง เนื่องจากมันกินกุ้ง และสัตว์น้ำเปลือกแข็งอื่นๆ ปลาแซลมอนซอกกี๊ จะใช้เวลา 1 ปีหรือมากกว่านั้นในน้ำจืด แล้วจะย้ายไปสู่มหาสมุทร สามารถพบปลาแซลมอนซอกกี๊ ได้ เป็นบริเวณกว้างในเขตมหาสมุทรแปซิฟิก



ภาพที่ 2.6 ปลาแซลมอนซอกกี๊ หรือ ปลาแซลมอนโคคะนี (Sockeye or Kokanee Salmon)

ที่มา : NOAA FISHERIES (2020)

5. ปลาแซลมอนสีชมพู (Pink Salmon)

ปลาแซลมอนสีชมพู เป็นปลาแซลมอนที่พบได้มาก ปลาแซลมอนสีชมพูวางไข่ในลำธารและแม่น้ำจากอลาสก้าถึงแคลิฟอร์เนีย บริเวณที่มีการทำประมง ปลาแซลมอนสีชมพูมากที่สุดก็คือ แถบชายฝั่งอลาสก้าและทางตอนเหนือของโคลัมเบีย โดยแตกต่างจากแซลมอนพันธุ์อื่นๆคือ มันจะวางไข่บริเวณชายฝั่งแม้บริเวณปากแม่น้ำพวกมันถูกจำแนกโดย ข้อมูลพวกมันถูกพัฒนาไปสู่ปลาวัยรุ่น แล้วว่ายน้ำไปยังมหาสมุทร จากบริเวณที่วางไข่แซลมอนสีชมพูจะกลับไปวางไข่ระหว่างกรกฎาคม ถึงตุลาคม และมีชีวิตอยู่อีก 2 ปี ในมหาสมุทร พวกมันกินแพลงตอนและกุ้งเคยเป็นอาหาร ทำให้เนื้อของมันมีสีชมพู มันจะมีขนาดเล็กและอายุสั้น แซลมอนสีชมพูจะมีการเคลื่อนที่ราว 1000 กิโลเมตรก่อนที่จะย้อนกลับไปยังแหล่งน้ำเดิม ปลาแซลมอนสีชมพูมีชื่อเรียกอีกอย่างว่า humpback หรือ humpies จะใช้เรียกแซลมอนที่มีหนอกใหญ่ที่ด้านหลัง



ภาพที่ 2.7 ปลาแซลมอนสีชมพู (Pink Salmon)

ที่มา : NOAA FISHERIES (2020)

6. ปลาแซลมอนซัม (Chum Salmon)

ปลาแซลมอนซัม รู้จักกันในชื่อ dog salmon ลักษณะเฉพาะของมันก็คือ ส่วนของขากรรไกรที่โค้งงอขึ้น และฟันที่คล้ายกับ สุนัข ปลาแซลมอนซัม ไม่ได้มีเพียงแต่ส่วนตอนใต้ของชายฝั่งอเมริกาใต้ แต่ไปไกลถึงญี่ปุ่นและเกาหลี แซลมอนซัม เป็นนักกระโดดที่แ่ที่สุดในตระกูล ปลาแซลมอนแปซิฟิกทำให้มันเดินทางไปวางไข่ในน้ำ แซลมอนชนิดนี้เหมาะกับการรมควันแบบเย็น เนื่องจากมันมีไขมันที่น้อยโดยเปอร์เซ็นต์โปรตีนในปลาแซลมอนแต่ละชนิดแสดงดังตารางที่ 2.8



ภาพที่ 2.8 ปลาแซลมอนซัม (Chum Salmon)

ที่มา : NOAA FISHERIES (2020)

ตารางที่ 2.8 ปริมาณโปรตีนและไขมันในปลาแซลมอนแต่ละชนิด

Species	Protein (%)	Lipid (%)
Atlantic salmon	22.00	7.00
Chinook salmon	19.00	11.40
Chum salmon	23.10	3.70
Coho salmon	20.00	4.60
Pink salmon	20.40	6.70
Sockeye salmon	20.30	7.90

2.1.9 กระบวนการปรับเนื้อสัมผัสชิ้นเนื้อให้อ่อนนุ่ม

กระบวนการปรับปรุงเนื้อสัมผัสความนุ่มของเนื้อสัตว์นั้น มีอยู่หลายวิธี ประกอบด้วย การจุ่มแช่ (immersing) การฉีดสารละลาย (injecting) และ การนวดผสมเข้ากับสารละลาย (tumbling) ความนุ่มเนื้อนั้น เป็นอิทธิพลมาจากความยาวของซาโคเมอร์ (sarcomeres) ความสมบูรณ์ของโครงสร้างของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งเป็นผลทำให้เกิดความเหนียวของเนื้อ (Chen และคณะ, 2006) เนื้อสัตว์ที่ได้จากสัตว์ที่มีอายุมากโดยทั่วไปจะมีความเหนียวมากกว่าสัตว์ที่อายุน้อย ยิ่งสัตว์อายุมากขึ้นจะทำให้เส้นใยคอลลาเจนจะจับกันดียิ่งขึ้น (Koochmaraie, 1992) ภายหลังจากสัตว์ตาย เอนไซม์ที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อสัตว์ (calpains และ cathepsins) จะทำงาน และส่งผลต่อความเหนียวของเนื้อสัตว์ (Koochmaraie, 1994)

โดยยังมีอีกหลายวิธีที่จะใช้ในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อให้ดีขึ้น โดยการใช้เอนไซม์, เกลือ ฟอสเฟต (Pietrasak และคณะ, 2010) และแคลเซียมคลอไรด์ (Gerelt และคณะ, 2000) อย่างไรก็ตามยังมีกระบวนการทางกายภาพในการปรับปรุงคุณภาพความนุ่มเนื้อ เช่น การใช้ความดัน (Palka, 1999) อัลตราซาวด์ (Pohlman และคณะ, 1997) การกระตุ้นด้วยไฟฟ้า (Claus และคณะ, 2001) และ การทำให้นุ่มด้วยไบมิคปลายแหลม (Pietrasak และคณะ, 2010) และ การใช้โปรตีโอไลติกเอนไซม์ (Proteolytic enzymes) เป็นเอนไซม์ที่ใช้โดยทั่วไปในกระบวนการทำให้เนื้อนุ่ม โดยเอนไซม์ประเภทนี้เป็นเอนไซม์ที่ได้จากพืช (Sullivan และ Calkins, 2010) เป็นต้น

2.1.9.1 การบ่มซาก (Ageing)

การบ่มซาก (Ageing) คือการเก็บรักษาเนื้อไว้ระยะหนึ่งหลังจากสัตว์ตายเพื่อที่จะมีการเปลี่ยนแปลงเส้นใยกล้ามเนื้อ แม้ว่าสภาวะอุณหภูมิสูงจะช่วยให้แต่ไม่สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้จึงควรใช้อุณหภูมิที่ 0-4 องศาเซลเซียสในการบ่มซาก (สัญญาชัย จตุรสิทธา, 2555) การบ่มซากในทางการค้ามีอยู่ด้วยกัน 2 ประเภท คือ การบ่มซากแบบแห้ง (dry ageing) และการบ่มซากแบบเปียก (wet ageing) การบ่มซากแบบแห้ง (dry ageing) คือกระบวนการบ่มซากแบบดั้งเดิมโดยจะเป็น

การบ่มแบบ wholesale cut โดยไม่มีสิ่งปกคลุมหรือไม่มีบรรจุภัณฑ์ห่อหุ้ม เก็บในห้องเย็น ประมาณเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการศึกษานานาชาติ เมื่อผู้ดูแลเห็นว่าเป็นประโยชน์ในการศึกษาไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

21 ถึง 28 วัน ที่ 0-4 องศาเซลเซียส และที่ความชื้น 80-85 % ความเร็วลมที่ 2.5 เมตร/วินาที การบ่มซากแบบเปียก คือการบ่มซากในถุงสุญญากาศ ที่ 0-4 องศาเซลเซียส โดยเห็นได้ชัดว่า ค่าความชื้นและความเร็วลมไม่จำเป็นต่อการบ่มซากแบบเปียก เนื่องจากเนื้อจะถูกบรรจุในถุงสุญญากาศโดยแยกเป็นชิ้นส่วนซึ่งกระบวนการบ่มซากแบบเปียกจะเป็นที่นิยมมากกว่าในปัจจุบัน การบ่มเนื้อสัตว์สามารถเพิ่มความนุ่มของเนื้อสัตว์ โดยการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส (protease) ที่อยู่ในเนื้อสัตว์ ย่อยเส้นใยโปรตีนกล้ามเนื้อ (myofibril) และโปรตีนที่เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เช่น คอลลาเจน ส่งผลให้เนื้อนุ่มเพิ่มขึ้น โดยขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการบ่ม ซึ่งการบ่มซากจะมีผลต่อความนุ่มและรสชาติของโคมากกว่าเนื้อสัตว์ประเภทอื่นๆ (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2556)

2.1.9.2 การใช้เอนไซม์ธรรมชาติ

อุตสาหกรรมแปรรูปเนื้อสัตว์ มีการประยุกต์ใช้เอนไซม์ในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและใช้ในการปรับปรุงคุณภาพเนื้อสัตว์ให้ดียิ่งขึ้น โดยมีการใช้เอนไซม์ในเนื้อสัตว์ที่มีความเหนียวในการปรับปรุงเนื้อสัมผัสเพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลิตภัณฑ์ได้อีกด้วย ซึ่งการใช้เอนไซม์จากพืชเป็นวิธีการหนึ่งซึ่งใช้มานาน เช่นการใช้ ปาเปน, โบรมิเลน และ ฟิซิน สารเหล่านี้เป็นเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนจากพืชธรรมชาติ ซึ่งได้รับความสนใจและใช้กันมานาน Papain ถูกนำมาใช้ในอาหารมานานถึง 800 ปี โดยชาวเม็กซิกัน อินเดีย โดยการใช้ เนื้อมะละกอหรือใบมะละกอใส่ลงไปเนื้อโค กาลูจนพร และ อาภัสสร (2561) ได้ศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์ที่มีต่อความนุ่มเนื้อพบว่า การใช้เอนไซม์ปาเปนและ โบรมิเลนสามารถปรับปรุงให้เนื้อสัมผัสของเนื้อนุ่มขึ้นได้ โดยการใช้เอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 0.5%, 1% และ 1.5% มีประสิทธิภาพในการลดค่าเนื้อสัมผัสของเนื้อ ได้ แต่การหมักเนื้อด้วยเอนม์ที่มีความเข้มข้นสูงจะส่งผลเสียต่อคุณภาพด้านเนื้อสัมผัสของเนื้อมากกว่าการหมักเนื้อที่ความเข้มข้น 0.5% โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จะทำให้ pH ลดลง (Manohar และคณะ, 2016) McKeith และคณะ (1994) ได้ทำการศึกษาการเพิ่มความนุ่มของเนื้อพบว่าการคิดสารละลายเอนไซม์ลงไปในกลุ่มเนื้อให้ผลดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรจุ่มและการนวดผสม (tumbling) ลงในตัวอย่าง เอนไซม์สองชนิดที่นิยมใช้ในกระบวนการทำให้เนื้อนุ่ม คือ ปาเปน และ โบรมิเลน เอนไซม์ทั้งสองชนิดได้มาจากพืช ซึ่งได้จาก มะละกอและสับปะรด และบางส่วนจะใช้ ฟิซิน ที่ได้จาก ยางของพืค ซึ่งแหล่งของเอนไซม์อื่นๆ นอกเหนือจากพืช ที่ทำให้เนื้อนุ่มเช่น Bacillus subtilis, Aspergillus oryzae และ pancreatin จากตับอ่อน Chris และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาการ การใช้เอนไซม์ในการทำให้เนื้อนุ่มโดยใช้เอนไซม์ Papain, Bromelain, Ficin, Bacillus Protease และ Aspartic Protease พบว่า Papain สามารถทำให้เนื้อนุ่มได้ดีที่สุดรองลงมาคือ Bromelain และ Ficin ตามลำดับ นอกจากนี้ Xu Jun-hui และคณะ, (2020) ได้ทำการศึกษาการคิดสารละลายเอนไซม์ปาเปน และเอนไซม์โบรมิเลนในกลุ่มเนื้อของปลาหมึกยักษ์ พบว่าเอนไซม์ทั้งสองชนิดสามารถช่วยลดค่าความแข็ง (Hardness) ของปลาหมึกได้อีกด้วย

2.1.9.3 Sous Vide

กระบวนการซูวีด เป็นกระบวนการปรุงอาหารโดยบรรจุในถุงสุญญากาศภายใต้การควบคุมอุณหภูมิ การควบคุมอุณหภูมิในการซูวีดสามารถเลือกความสุกและเนื้อสัมผัสของอาหารได้หลายระดับ มากกว่าการปรุงอาหารแบบดั้งเดิม การควบคุมอุณหภูมิภายใต้สุญญากาศสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร ทั้งยังช่วยรักษารสชาติและคุณค่าทางโภชนาการอีกด้วย (Schellekens, 1996) โดยการซูวีดใช้ความร้อนที่ระดับพาสเจอร์ไรส์กับวัตถุดิบสดและกึ่งสุกกึ่งดิบ เช่น เนื้อสัตว์ ไข่ ผัก ผลไม้ หรืออาหารหวาน โดยบรรจุลงถุงทนความร้อนในสภาพสุญญากาศก่อนนำไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลานานอุณหภูมิจะถ่ายโอนความร้อนจากน้ำเข้าสู่อาหารภายใน ทำให้อาหารสุกทั่วถึงและสม่ำเสมอ ส่งผลต่อความนุ่ม เพิ่มกลิ่นรสและคงคุณภาพของสี และลดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบ (อิสรากรณ์ คงเปี่ยม, 2558)

2.1.9.4 Tumbling

Tumbling คือกระบวนการปรับปรุงคุณภาพทางกายภาพโดยอาศัยการทำงานของเครื่องจักร ซึ่งเนื้อจะถูกหมุนใน cylindrical drum และทำให้ชิ้นเนื้อตกลงด้วยแรงโน้มถ่วงของโลก Tumblers ถูกออกแบบในทวีปยุโรปเป็นครั้งแรก เพื่อปรับปรุงเนื้อที่ถูกตัดแต่งและปรับปรุงรูปร่างของชิ้นเนื้อ Tumbling มักถูกใช้อุตสาหกรรมเนื้อเพื่อใช้ในการปรับปรุงคุณภาพเนื้อที่เหนียวให้ดีขึ้นและทำให้ส่วนผสมในการหมักกระจายตัวได้เร็วขึ้น (Bishnoi และคณะ, 2017) Tumbling มักถูกใช้ในกระบวนการถนอมอาหารประเภทเนื้อสัตว์โดยเฉพาะ หัวไหล่หมูและส่วนขาหมู (Krause และคณะ, 1978)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ปลาแซลมอนแอตแลนติก ปลาแซลมอนสายพันธุ์แอตแลนติก (Atlantic salmon: *Salmo salar*) ขนาดประมาณ 3-4 กิโลกรัมต่อตัว ตัดให้เป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดความหนา 1.5 – 2 เซนติเมตร จากบริษัท Siam Inter Sea

3.2 เอนไซม์

- | | |
|-----------------------|--|
| 3.2.1 เอนไซม์ปาเปน | Beijing Aoboxing Biotechnology Co, Ltd.
Beijing China |
| 3.2.2 เอนไซม์โบรมิเลน | Beijing Aoboxing Biotechnology Co, Ltd.
Beijing China |

3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- | | |
|--|--|
| 3.3.1 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง | Radwag (รุ่น AS 220.R2, Poland) |
| 3.3.2 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ | Wisd. (รุ่น Maxturdy-30, Korea) |
| 3.3.3 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) | Thermo scientific
(รุ่น Legend Mach 1.6 R, Germany) |
| 3.3.4 เครื่องวัดเนื้อสัมผัส | Stable Micro System Texture Analyser
(รุ่น TA-XT plus, England) |
| 3.3.5 เครื่องบรรจุและปิดผนึกสุญญากาศ | Vacuum packaging machine
(รุ่น YS-DQ500D) |
| 3.3.6 เครื่องวัดสี | Minolta (รุ่น CR-400) |
| 3.3.7 Homogenizer | (รุ่น T25 B, IKA, Malaysia) |
| 3.3.8 ชุดอุปกรณ์อิเล็กโตรโฟรีซิส | ATTO, Japan |
| 3.3.9 ถุงสุญญากาศ | Vacuum Bag |
| 3.3.10 อุปกรณ์เครื่องแก้ว | |
| 3.3.11 อุปกรณ์เครื่องครัว | |
| 3.3.12 ตู้เย็นแช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส | Sanyo, Japan |
| 3.3.13 Micropipete | Rainin, America |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 สารเคมี

- 3.4.1 HCl
- 3.4.2 Acrylamide
- 3.4.3 Ammonium Persulfate ((NH₄)₂S₂O₈)
- 3.4.4 Sodium Tripolyphosphate (Na₅P₃O₁₀)
- 3.4.5 CuSO₄·5H₂O
- 3.4.6 Potassium Sodium Tetrat
- 3.4.7 NaOH
- 3.4.8 อัลบูมิน ฟอรัม โปวินซีรัม
- 3.4.9 Acrylamide
- 3.4.10 SDS (Sodium dodecyl sulfate)
- 3.4.11 Ammonium persulfate
- 3.4.12 TEMED

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำปลาแซลมอนสายพันธุ์แอตแลนติก (Atlantic salmon: *Salmo salar*) มาตัดเป็นชิ้นสติก ความหนา 1.5 – 2 เซนติเมตร น้ำหนัก 110-130 กรัม บรรจุใส่ถุงพลาสติกชนิด Polypropylene (PP) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสก่อนนำไปทำการทดลองภายในระยะเวลาไม่เกิน 2 สัปดาห์ ทั้งนี้ก่อนการทดลองให้นำชิ้นปลาแซลมอนมาทำการละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง หรือจนกว่าอุณหภูมิที่กึ่งกลางชิ้นปลาอยู่ในช่วง 0-4 องศาเซลเซียส

3.5.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกล้ำเนื้อของปลาแซลมอน

นำชิ้นปลาตัวอย่างที่เตรียมไว้ในข้อ 3.5.1 ทำการละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสนาน 12 ชั่วโมง แล้วนำไปปรมที่อุณหภูมิ 25, 30, 40, 50, และ 60 องศาเซลเซียส โดยกำหนดระยะเวลาการปรมที่ 30 นาที โดยแต่ละชุดการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.5.2.1 ชั่งน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไป (weight loss)

3.5.2.1.1 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างปลาแซลมอน ก่อนและหลังจากการนำไปปรมที่อุณหภูมิ และระยะเวลาดังข้อที่ 3.5.2 แล้วบันทึกน้ำหนักตัวอย่างปลาแซลมอน เพื่อคำนวณหา weight loss

3.5.2.2 การวิเคราะห์ค่าสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการวิเคราะห์ค่าสีของตัวอย่างปลาแซลมอน ก่อน และหลังการบ่ม ตามข้อ 3.5.2 โดยใช้เครื่องวัดสี Minolta รุ่น CR-400 ทำการวัดชิ้นปลาแซลมอน ซีกละ 6 ตำแหน่ง แบ่งเป็น Dorsal muscle 3 ตำแหน่ง และ Ventral muscle 3 ตำแหน่ง รายงานผลเป็นค่า L* , a* , b* โดยวัดค่าสีเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม แล้วจึงเลือกตัวอย่างที่มีค่าสีใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุมมากที่สุดไปทำการทดลองฉีดสารละลายเอนไซม์ต่อไป

3.5.2.3 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

ทำการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของชิ้นตัวอย่างปลาแซลมอน หลังการบ่มที่สภาวะดังข้อ 3.5.2 แล้วนำไปผ่านกระบวนการอย่างสุกระดับ Well done วัดค่าโดยใช้เครื่อง Texture Analyzer ใช้หัววัด Cylindrical plunger ทำการวัดซีกละ 2 ตำแหน่ง แบ่งเป็นส่วน Dorsal muscle 1 ตำแหน่ง และ Ventral muscle 1 ตำแหน่ง รายงานผลเป็นค่าความแข็ง (Hardness) ในหน่วยกรัมแรง (g.f) โดยเลือกตัวอย่างที่มีค่าความแข็ง (Hardness) น้อยกว่าตัวอย่างควบคุมแต่ยังคงมีลักษณะภายนอกเหมือนกับตัวอย่างควบคุม

3.5.3 ศึกษาผลของเวลาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกล้ามเนื้อของปลาแซลมอน

นำชิ้นปลาตัวอย่างที่เตรียมไว้ในข้อ 3.5.1 ทำการละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสนาน 12 ชั่วโมง แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 โดยกำหนดระยะเวลาการบ่มที่ 0, 30, 60, 120, 180 นาที โดยแต่ละชุดการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.5.3.1 ชั่งน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไป (weight loss)

3.5.3.1.1 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างปลาแซลมอน ก่อนและหลังจากการนำไปบ่มที่อุณหภูมิ และระยะเวลาดังข้อที่ 3.5.3 แล้วบันทึกน้ำหนักตัวอย่างปลาแซลมอน เพื่อคำนวณหา weight loss

3.5.3.2 การวิเคราะห์ค่าสี

ทำการวิเคราะห์ค่าสีของตัวอย่างปลาแซลมอน ก่อนทำการบ่ม และหลังทำการบ่ม ตามข้อ 3.5.3 โดยใช้เครื่องวัดสี Minolta รุ่น CR-400 ทำการวัดชิ้นปลาแซลมอน ซีกละ 6 ตำแหน่ง แบ่งเป็น Dorsal muscle 3 ตำแหน่ง และ Ventral muscle 3 ตำแหน่ง รายงานผลเป็นค่า L* , a* , b* โดยวัดค่าสีเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม แล้วจึงเลือกตัวอย่างที่มีค่าสีใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุมมากที่สุดไปทำการทดลองฉีดสารละลายเอนไซม์ต่อไป

3.5.3.3 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

ทำการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของชิ้นตัวอย่างปลาแซลมอน หลังการบ่มที่สภาวะดังข้อ 3.5.3 แล้วนำไปผ่านกระบวนการอย่างสุกระดับ Well done วัดค่าโดยใช้เครื่อง Texture Analyzer ใช้หัววัด Cylindrical plunger ทำการวัดซีกละ 2 ตำแหน่ง แบ่งเป็นส่วน Dorsal muscle 1 ตำแหน่ง และ Ventral muscle 1 ตำแหน่ง รายงานผลเป็นค่าความแข็ง (Hardness) ในหน่วยกรัมแรง (g.f) โดยเลือกตัวอย่างที่มีค่าความแข็ง (Hardness) น้อยกว่าตัวอย่างควบคุมแต่ยังคงมีลักษณะภายนอกเหมือนกับตัวอย่างควบคุม

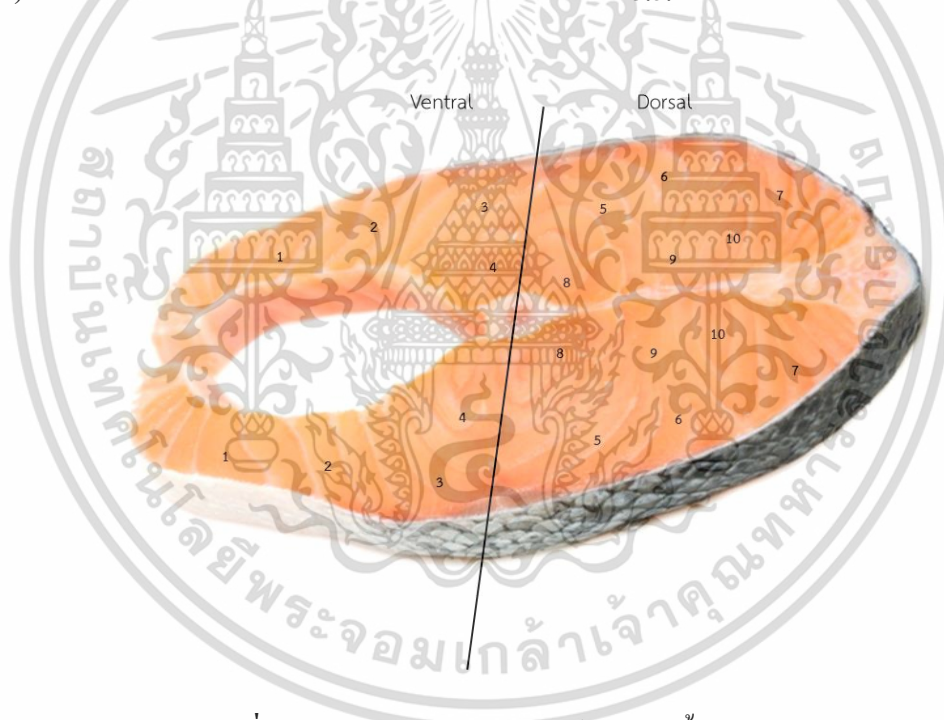
3.5.4 ศึกษาผลของการใช้สารละลายเอนไซม์ผสมต่อคุณลักษณะของเนื้อปลา

3.5.4.1 การเตรียมสารละลายเอนไซม์ผสม

ทำการเตรียมสารละลายผสมของเอนไซม์ โดยนำเอนไซม์ป่าเป็นปริมาณ (0, 0.1, 0.25, 0.50, 1.00, 3.00 และ 5.00 กรัม) และเอนไซม์โบรมิเลนปริมาณ 0.25 กรัม มาผสมร่วมกับ โซเดียม ไตรพอลิฟอสเฟต 0.5 กรัม NaCl 2 กรัม ในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรรวมเท่ากับ 100 มิลลิลิตร

3.5.4.2 การฉีดสารละลายเอนไซม์และการบ่ม

ฉีดสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 3.5.4.1 ลงในตัวอย่างปลาแซลมอนที่เตรียมได้จากข้อ 3.5.1 โดยใช้ Syringe ลงในชั้นปลาแซลมอนบริเวณตำแหน่งกล้ามเนื้อส่วนไมโอโตม (Myotome) กระจายไปทั่วชั้นปลา โดยฉีดลึกลงไปตรงกลางชั้นปลา ซึ่กละ 10 ตำแหน่ง แบ่งเป็นส่วน Dorsal muscle 7 ตำแหน่ง และ Ventral muscle 3 ตำแหน่ง รวมฉีด 20 ตำแหน่งต่อชิ้น (ภาพที่ 3.1) ปริมาณการฉีดสารละลายกำหนดที่ตำแหน่งละ 0.25 cm³ จากนั้นบรรจุลงถุงพลาสติก Polypropylene (PP) แล้วทำการบ่มที่สภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 3.5.2



ภาพที่ 3.1 ตำแหน่งการฉีดเอนไซม์ผสมบนชั้นปลาแซลมอน

3.5.4.3 การเก็บรักษาตัวอย่างภายหลังการฉีด

นำชิ้นตัวอย่างปลาแซลมอนที่ผ่านการบ่มจากข้อ 3.5.4.2 ไปแช่แข็งด้วยเครื่อง Air Blast Freezer ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อจำลองการเก็บรักษาระหว่างการจำหน่ายปลาแซลมอนแช่แข็งปกติในท้องตลาด ก่อนนำไปวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีและกายภาพตามข้อ 3.5.4.4 ต่อไป

3.5.4.4 การวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีและกายภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.4.4.1 การเตรียมตัวอย่างปลาแชลมอน

นำชิ้นตัวอย่างปลาแชลมอนที่ผ่านการเก็บรักษาจากข้อ 3.5.4.3 มาละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง และนำชิ้นปลาแชลมอน ไปย่างเป็นสเต็กปลาแชลมอน พร้อมบริโกลโดยทำตามวิธีมาตรฐานการย่างในระดับสุกทั่วชิ้น (Well done) แล้วนำชิ้นตัวอย่างปลาแชลมอนไปวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีกายภาพ

3.5.4.4.2 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

วิเคราะห์เนื้อสัมผัสของชิ้นตัวอย่างสเต็กปลาแชลมอนที่ได้จากข้อ 3.5.4.4.1 ด้วยเครื่อง Texture Analyzer โดยใช้หัววัด Cylindrical plunger ทำการวัดซีกละ 2 ตำแหน่ง แบ่งเป็นส่วน Dorsal muscle 1 ตำแหน่ง และ Ventral muscle 1 ตำแหน่ง รายงานผลเป็นค่าความแข็ง (Hardness) ในหน่วยกรัมแรง (g.f) โดยเลือกตัวอย่างปลาแชลมอนที่มีค่าความแข็งน้อยที่สุด 3 อันดับที่ยังคงรูปเป็นชิ้นสเต็ก เพื่อนำไปทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสต่อไป

3.5.4.4.3 การวิเคราะห์ค่าสี

วิเคราะห์ค่าสีของชิ้นตัวอย่างปลาแชลมอนที่ได้จากข้อ 3.5.4.4.1 โดยใช้เครื่องวัดสี Minolta รุ่น CR-400 ทำการวัดชิ้นปลาแชลมอน ซีกละ 6 ตำแหน่ง แบ่งเป็น Dorsal muscle 3 ตำแหน่ง และ Ventral muscle 3 ตำแหน่ง รายงานผลเป็น L^* , a^* , b^* โดยวัดค่าสีเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม

3.5.4.4.4 วิเคราะห์ค่า Cooking loss และ Cooking yield โดยดัดแปลงจากวิธีของ Sriket และคณะ (2007) โดยวัดจากน้ำหนักชิ้นปลาแชลมอนที่ผ่านการปรุง เปรียบเทียบกับน้ำหนักของปลาแชลมอนหลังการเก็บรักษาจากข้อที่ 3.5.4.3 จำนวน 3 ซ้ำ

$$\text{Cooking loss (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนให้ความร้อน (g)} - \text{น้ำหนักหลังให้ความร้อน (g)})}{\text{น้ำหนักก่อนให้ความร้อน (g)}} \times 100$$

$$\text{Cooking yield (\%)} = \frac{100 - (\text{น้ำหนักก่อนให้ความร้อน (g)} - \text{น้ำหนักหลังให้ความร้อน (g)})}{\text{น้ำหนักก่อนให้ความร้อน (g)}} \times 100$$

3.5.4.4.5 ตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE ตามวิธีของ Leammli (1970) ในตัวอย่างปลาแชลมอนที่ผ่านการบ่ม แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา

2 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.4.4.6 วิเคราะห์ค่า Weight gain (%) (อาภัสสร และคณะ, 2558) โดยวัดน้ำหนักจากชิ้นปลาแชลมอนหลังการฉีดด้วยเอนไซม์ผสมจากข้อที่ 3.5.3.2 เปรียบเทียบกับน้ำหนักปลาแชลมอนก่อนทำการฉีดด้วยเอนไซม์ผสม

$$\text{Weight gain (\%)} = \frac{W_{t2} - W_{t1}}{W_{t1}} \times 100$$

โดยกำหนดให้ W_{t1} = น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ก่อนการฉีดสารละลายเอนไซม์ผสม

W_{t2} = น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) หลังการฉีดสารละลายเอนไซม์ผสม

3.5.4.4.7 วิเคราะห์ค่า Weight loss (%) (อาภัสสร และคณะ, 2558) โดยวัดน้ำหนักของชิ้นปลาแชลมอนภายหลังการจัดเก็บจากข้อ 3.5.3.3 เปรียบเทียบกลับน้ำหนักของชิ้นปลาแชลมอนที่ผ่านการปรุงจากข้อ 3.5.3.4.1

$$\text{Weight loss (\%)} = \frac{W_{t1} - W_{t2}}{W_{t1}} \times 100$$

โดยกำหนดให้ W_{t1} = น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ภายหลังการจัดเก็บ

W_{t2} = น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) หลังผ่านการปรุง

3.5.5 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ทำการปรุงและการย่างขึ้นเพื่อเตรียมเป็นเมนูสเต็กปลาแชลมอนพร้อมบริโภค โดยอย่างในระดับสูงทั่วขึ้น (Well done) โดยเลือกกลุ่มเป้าหมายเป็นกลุ่มผู้สูงอายุที่มีอายุตั้งแต่ 60 ถึง 70 ปี จำนวน 30 คน โดยใช้วิธี 5 point Hedonic Scale ซึ่งเน้นปัจจัยด้านเนื้อสัมผัส ความอ่อนนุ่ม และการกลืนได้ง่าย และความชอบโดยรวม

3.5.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ในข้อที่ 3.5.3.4 ส่วนการทดสอบทางประสาทสัมผัส วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) ทำการทดลองกับผู้ทดสอบ 30 คน วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ผลทางสถิติ Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลของอุณหภูมิต่อลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างปลาแชลมอน

ผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างปลาแชลมอน ติดตามโดยการวิเคราะห์ค่า %Weight loss ค่าความแข็ง (Hardness) และ ค่าสีของชิ้นตัวอย่างปลาแชลมอนที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที แสดงผลการทดลองในตารางที่ 4.1 และ 4.2 ผลการทดลองพบว่าค่า %Weight loss ของชิ้นตัวอย่างปลาแชลมอนเพิ่มขึ้นเมื่อมีการให้ความร้อน และพบการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มสูงขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ผลการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของชิ้นตัวอย่างสตั๊กปลาแชลมอนที่ผ่านการบ่ม พบว่าชิ้นตัวอย่างปลาแชลมอนทั้งในส่วนของ Dorsal muscle และ Ventral muscle มีค่าความแข็งลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมีค่าต่ำสุดเมื่อมีการบ่มเป็นเวลา 30 นาที ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ค่าสีของตัวอย่างปลาแชลมอนที่ผ่านการบ่มเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าค่าสีของปลาแชลมอน มีค่าความสว่าง L^* เพิ่มสูงขึ้นเมื่อใช้อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น ($p \leq 0.05$) แต่มีค่า a^* และ b^* ไม่เปลี่ยนแปลง ($p > 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับผลการสังเกตสีด้วยตาเปล่า เมื่อใช้อุณหภูมิสูงขึ้นสตั๊กปลาแชลมอนจะมีสีซีดลง ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพดังกล่าวข้างต้นเป็นผลมาจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนกล้ามเนื้อและ myofibrillar proteins โปรตีนเม็ดสี (pigment proteins) ที่สำคัญคือ ฮีโมโกลบิน (hemoglobin) และ ไมโอโกลบิน (Myoglobin) และอาจเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) แอสตาแซนทิน (astaxanthin) ซึ่งอยู่ในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoid) ที่พบอยู่ในกล้ามเนื้อปลาแชลมอน (Haard, 1992) เป็นผลทำให้เกิดการสูญเสียน้ำหนักและการเปลี่ยนแปลงสีที่สามารถสังเกตได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองแม้จะแสดงให้เห็นว่าการใช้อุณหภูมิที่อุณหภูมิ 50 องศาทำให้ได้เนื้อปลาที่อ่อนนุ่มมากที่สุด โดยมีความความแข็งเท่ากับ 721.74 g.f และ 511.57 g.f ใน Dorsal muscle และ Ventral muscle ตามลำดับ แต่ที่สภาวะการบ่มดังกล่าวทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างปลาแชลมอนอย่างชัดเจนซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ตามต้องการ ดังนั้นการบ่มชิ้นปลาแชลมอนในขั้นตอนนี้ จึงทำการเลือกสภาวะการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่แสดงผลค่าสีไม่แตกต่างจากชุดควบคุม แต่ทำให้เนื้อปลาแชลมอนมีความแข็งลดลงได้

ตารางที่ 4.1 ผลของอุณหภูมิต่อค่า Weight loss (%) และค่าความแข็ง(Hardness) ของตัวอย่างปลาเซลมอน ที่ผ่านการบ่มเป็นระยะเวลา 30 นาที

Temperature (°C)	Weight loss(%)	Hardness (g.f)*	
		Dorsal muscle	Ventral muscle
Control†	0.00 ± 0.00 ^a	5045.54 ± 110.29 ^{b‡}	917.85 ± 10.17 ^d
25	6.40 ± 0.64 ^{bc}	4838.18 ± 67.83 ^b	661.11 ± 35.64 ^{bc}
30	4.78 ± 1.77 ^{ab}	1882.55 ± 72.41 ^a	582.54 ± 16.93 ^{abc}
40	9.25 ± 1.29 ^{bc}	1193.78 ± 79.75 ^a	368.75 ± 7.10 ^a
50	14.66 ± 1.79 ^d	721.74 ± 17.91 ^a	511.57 ± 12.19 ^{ab}
60	11.76 ± 4.33 ^{cd}	1152.50 ± 10.72 ^a	784.78 ± 11.05 ^{cd}

หมายเหตุ * แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

† ตัวอย่างชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการบ่ม

‡ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

Weight loss วัดค่าจากเนื้อปลาเซลมอนที่ผ่านบ่ม แล้วจัดเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์

Hardness (g.f) วัดค่าจากเนื้อปลาเซลมอนที่ผ่านการย่างสุกระดับ Well done

ตารางที่ 4.2 ผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสี (L^* , a^* , b^*) ของตัวอย่างปลาแซลมอน ที่ผ่านการบ่มเป็นระยะเวลา 30 นาที

Temperature (°C)	Color [§]		
	L^*	a^{*ns}	b^{*ns}
Control [†]	49.04 ± 1.36 ^{a‡}	15.13 ± 3.52	23.27 ± 2.93
25	51.08 ± 1.77 ^a	16.80 ± 0.48	23.25 ± 0.24
30	57.09 ± 1.43 ^b	14.41 ± 4.26	23.36 ± 6.19
40	61.05 ± 3.09 ^b	16.61 ± 0.06	22.70 ± 0.38
50	65.61 ± 1.75 ^c	17.26 ± 1.92	25.94 ± 3.76
60	73.25 ± 0.42 ^d	12.42 ± 0.52	18.41 ± 0.06

หมายเหตุ [§] คือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

[†] คือตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ns} คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ค่าสี วัดค่าจากเนื้อปลาแซลมอนที่ผ่านบ่ม แล้วจัดเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 สัปดาห์

4.2 ผลของเวลาต่อลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างปลาแซลมอน

ผลการศึกษการบ่มตัวอย่างปลาแซลมอนที่ระยะเวลาต่างๆ โดยใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แสดงดังตารางที่ 4.3 และ 4.4 พบว่า ซึ้นตัวอย่างปลาแซลมอนมีค่าความแข็งลดต่ำลงเมื่อมีระยะเวลาการบ่มนานขึ้น ($p \leq 0.05$) โดยค่าความแข็งของซึ้นตัวอย่างปลาแซลมอนต่ำที่สุดที่ทำการบ่มเป็นระยะเวลา 180 นาที ส่วนซึ้นตัวอย่างปลาแซลมอนในส่วน Ventral muscle ที่มีการบ่มเป็นเวลา 30 นาที มีค่าความแข็งไม่แตกต่างจากการบ่มที่ใช้ระยะเวลานานขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนค่าสีพบว่า การบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 ถึง 180 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังนั้นการบ่มตัวอย่างปลาแซลมอนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานานขึ้น จึงเป็นทางเลือกที่เหมาะสมในการทำให้ซึ้นปลาอ่อนนุ่มโดยส่งผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงสีน้อยที่สุด ทำให้ได้ซึ้นสเต็กปลาแซลมอนที่ยังคงมีสีใกล้เคียงกับตัวอย่างปลาสดแต่มีความนุ่มเพิ่มมากขึ้นเมื่อนำไปให้ความร้อนเป็นสเต็กปลาแซลมอนพร้อมรับประทาน จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าสภาวะการบ่มตัวอย่างปลาแซลมอนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลา 30 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำสเต็กปลาแซลมอนที่นุ่มมากขึ้นแต่มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงด้านสีน้อยที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น มิใช่สัญญาใด ๆ ที่นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลของระยะเวลาการบ่มต่อค่าความแข็ง (Hardness) ของตัวอย่างปลาแซลมอนที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

Incubation time (min)	Hardness (g.f)*	
	Dorsal muscle	Ventral muscle
0	5045.54 ± 1108.29 ^{c‡}	917.85 ± 103.17 ^b
30	4838.18 ± 675.83 ^c	661.11 ± 35.64 ^a
60	2584.60 ± 408.11 ^b	620.29 ± 134.30 ^a
120	2104.48 ± 346.51 ^b	546.73 ± 116.23 ^a
180	1241.88 ± 25.58 ^a	642.85 ± 73.88 ^a

หมายเหตุ * แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

‡ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

Hardness (g.f) วัดค่าจากเนื้อปลาแซลมอนที่ผ่านการสุกระดับ Well done

ตารางที่ 4.4 ผลของระยะเวลาการบ่มต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีของตัวอย่างปลาแซลมอน ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

Incubation time (min)	Color ^{§ ns}		
	L*	a*	b*
0	49.04 ± 1.36	15.13 ± 3.52	23.27 ± 2.93
30	51.08 ± 1.77	16.80 ± 0.48	23.25 ± 0.24
60	54.31 ± 0.98	15.70 ± 0.31	21.57 ± 2.43
120	51.49 ± 3.80	17.73 ± 0.20	26.18 ± 0.97
180	53.09 ± 1.20	16.95 ± 0.59	24.77 ± 2.00

หมายเหตุ[§] คือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

ns คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าสี วัดค่าจากเนื้อปลาแซลมอนที่ผ่านบ่ม แล้วจัดเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 สัปดาห์

4.3 ผลของการใช้สารละลายเอนไซม์ผสมที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ต่อลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างปลาแชลมอน

ผลของการใช้สารละลายเอนไซม์ผสม โดยใช้เอนไซม์ปาเปนปริมาณ (ร้อยละ 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 3, และ 5) และเอนไซม์ โบรมิเลนร้อยละ 0.25 มาผสมร่วมกับ โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตร้อยละ 0.5 และ NaCl ร้อยละ 2 ในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรรวมเท่ากับ 100 มิลลิลิตร แล้วฉีดสารละลายบนชิ้นปลาแชลมอน ซีกละ 10 ตำแหน่ง ตำแหน่งละ 0.25 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ต่อลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างปลาแชลมอน คิดตามโดยการวิเคราะห์ค่า % Weight gain , %Cooking loss ค่าความแข็ง (Hardness) และ ค่าสีของชิ้นตัวอย่างปลาแชลมอน ที่ แสดงผลดังตารางที่ 4.5 และ 4.6 ผลการทดลองพบว่า % Weight gain และค่าสีของชิ้นตัวอย่างปลาแชลมอน ไม่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ค่าความแข็ง (Hardness) และ % Cooking loss ของตัวอย่างปลาแชลมอนที่ผ่านการฉีดสารละลายเอนไซม์ผสมที่มีความเข้มข้นต่างๆ พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมีค่าความแข็ง (Hardness) น้อยที่สุดเมื่อใช้เอนไซม์ปาเปนปริมาณ 5 กรัม คือ 182.26 g.f ใน Dorsal muscle และเมื่อใช้เอนไซม์ปาเปนปริมาณ 3 กรัม คือ 319.57 g.f ใน Ventral muscle ซึ่งเมื่อใช้เอนไซม์ปาเปนปริมาณ 5 กรัม ฉีดลงบนตัวอย่างปลาแชลมอนพบว่า เนื้อปลาแชลมอนมีความเปื่อยยุ่ย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ กาญจนานพร และ อภัสสร (2561) ที่รายงานว่า การใช้เอนไซม์ ปาเปน และ โบรมิเลน สามารถปรับปรุงคุณภาพเนื้อสัตว์ ให้นุ่มลงได้ และปาเปนมีความสามารถในการ ลดค่าความแข็ง (Hardness) ได้ดีกว่า โบรมิเลน โดยโบรมิเลน และปาเปนมีคุณสมบัติในการย่อยโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันร้อออกจากกัน (Barekat and Soltanizadeh, 2017) และในการใช้สารละลายเอนไซม์ผสมที่มีความเข้มข้นของเอนไซม์ปาเปน 5 % ยังส่งผลทำให้เนื้อปลาแชลมอนเกิดรสขม ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการเพิ่มของเปปไทด์สายสั้นที่มีกรดอะมิโนที่มีหมู่ที่ไม่ชอบน้ำในโมเลกุล(อัมพร, 2010) เป็นองค์ประกอบที่เพิ่มสูงขึ้น จึงไม่เหมาะสมนำมาใช้ทำสเต็กปลาแชลมอน และจากการทดลองพบว่าผลการวิเคราะห์ค่า % Cooking loss มีค่ามากที่สุดในตัวอย่างเป็นปลาแชลมอนที่ฉีดสารละลายเอนไซม์ผสมที่มีความเข้มข้นของเอนไซม์ปาเปนร้อยละ 5 เท่ากับ 13.92 %

ตารางที่ 4.5 ผลของการใช้สารละลายเอนไซม์ผสม (Papain และ Bromelain 0.25%) ในการบ่มตัวอย่างปลาแซลมอนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ต่อค่า Weight gain (%) Cooking loss (%) และ ค่าความแข็ง (Hardness)

Papain (%)	Weight gain (%) ^{ns}	Cooking loss (%)	Hardness (g.f)*	
			Dorsal muscle	Ventral muscle
control†	0	5.43 ± 1.43 ^a	861.97 ± 60.23 ^{cz}	959.15 ± 65.84 ^c
0	1.26 ± 1.31	7.28 ± 4.63 ^{ab}	598.69 ± 53.89 ^d	634.64 ± 233.94 ^b
0.1	0.48 ± 0.42	9.38 ± 3.27 ^{ab}	356.02 ± 35.38 ^c	364.51 ± 19.58 ^a
0.25	0.88 ± 1.29	9.94 ± 5.63 ^{ab}	333.11 ± 18.58 ^{bc}	382.89 ± 56.29 ^a
0.5	1.24 ± 1.06	7.15 ± 1.00 ^{ab}	355.74 ± 11.04 ^c	402.18 ± 124.95 ^a
1	1.42 ± 1.96	11.11 ± 4.24 ^{ab}	285.80 ± 27.90 ^b	345.84 ± 129.52 ^a
3	0.50 ± 0.61	10.73 ± 2.11 ^{ab}	315.87 ± 23.60 ^{bc}	319.57 ± 32.68 ^a
5	0.55 ± 0.55	13.92 ± 5.03 ^b	182.26 ± 9.79 ^a	369.16 ± 4.24 ^a

หมายเหตุ * แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

† ตัวอย่างชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการบ่ม

‡ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ns} คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยทางสถิติ ($p > 0.05$)

Cooking loss (%) และ Hardness (g.f) วัดค่าจากเนื้อปลาแซลมอนที่ผ่านการย่างสุกระดับ

Well done

Weight gain (%) วัดค่าจากเนื้อปลาแซลมอนที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

ตารางที่ 4.6 ผลของการใช้สารละลายเอนไซม์ผสม (Papain และ Bromelain 0.25%) ในการบ่มตัวอย่างปลาแซลมอน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีของปลาแซลมอน

Papain (%)	Color [§]		
	L* ^{ns}	a* ^{ns}	b* ^{ns}
Control [†]	49.39 ± 0.56	16.40 ± 0.04	24.18 ± 0.83
0	49.19 ± 0.36	16.49 ± 0.16	24.60 ± 0.95
0.1	49.05 ± 0.55	16.50 ± 0.04	24.27 ± 0.62
0.25	49.43 ± 0.67	16.53 ± 0.17	24.61 ± 1.13
0.5	49.86 ± 0.37	16.56 ± 0.38	24.52 ± 1.69
1	49.45 ± 0.77	16.75 ± 0.17	25.15 ± 0.46
3	48.99 ± 0.64	16.47 ± 0.46	24.62 ± 1.53
5	48.68 ± 0.58	16.31 ± 0.95	24.49 ± 0.98

หมายเหตุ [§] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

[†] ตัวอย่างชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการบ่ม

^{ns} คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยทางสถิติ ($p > 0.05$)

ค่าสี วัดค่าจากเนื้อปลาแซลมอนที่ผ่านบ่ม แล้วจัดเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 สัปดาห์

ผลของการใช้สารละลายเอนไซม์ผสม โดยใช้เอนไซม์ป่าเป็นความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 3, และ 5 และเอนไซม์ โบรมิเลนร้อยละ 0.25 มาผสมร่วมกับ โซเดียมไตรฟอสเฟต 0.5 กรัม และ NaCl 2 กรัม ในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรรวมเท่ากับ 100 มิลลิลิตร ต่อค่า Cooking yield (%) แสดงดังตารางที่ 4.7 จากการทดลองพบว่าค่า Cooking yield (%) มีค่าน้อยสุด เมื่อใช้สารละลายเอนไซม์ที่มีความเข้มข้นของเอนไซม์ป่าเป็นร้อยละ 5 เนื่องจากโปรตีนไมโอซินถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ให้มีขนาดเล็กลงทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง (Pietrasik และ Shand, 2011) ส่งผลให้ค่า Cooking yield (%) ลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย Papain

ตารางที่ 4.7 ผลของการใช้สารละลายเอนไซม์ผสม (papain และ Bromerain 0.25%) ในการต้ม ตัวอย่างปลาแซลมอน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ต่อค่า cooking yield (%)

Papain (%)	%cooking yield*
control†	67.44 ± 5.74 ^{ab‡}
0	73.01 ± 8.87 ^b
0.1	73.36 ± 4.53 ^b
0.25	70.16 ± 5.35 ^b
0.5	55.28 ± 1.18 ^a
1	77.94 ± 7.54 ^b
3	65.54 ± 8.32 ^{ab}
5	53.55 ± 2.53 ^a

หมายเหตุ * แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

† ตัวอย่างชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการต้ม

‡ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

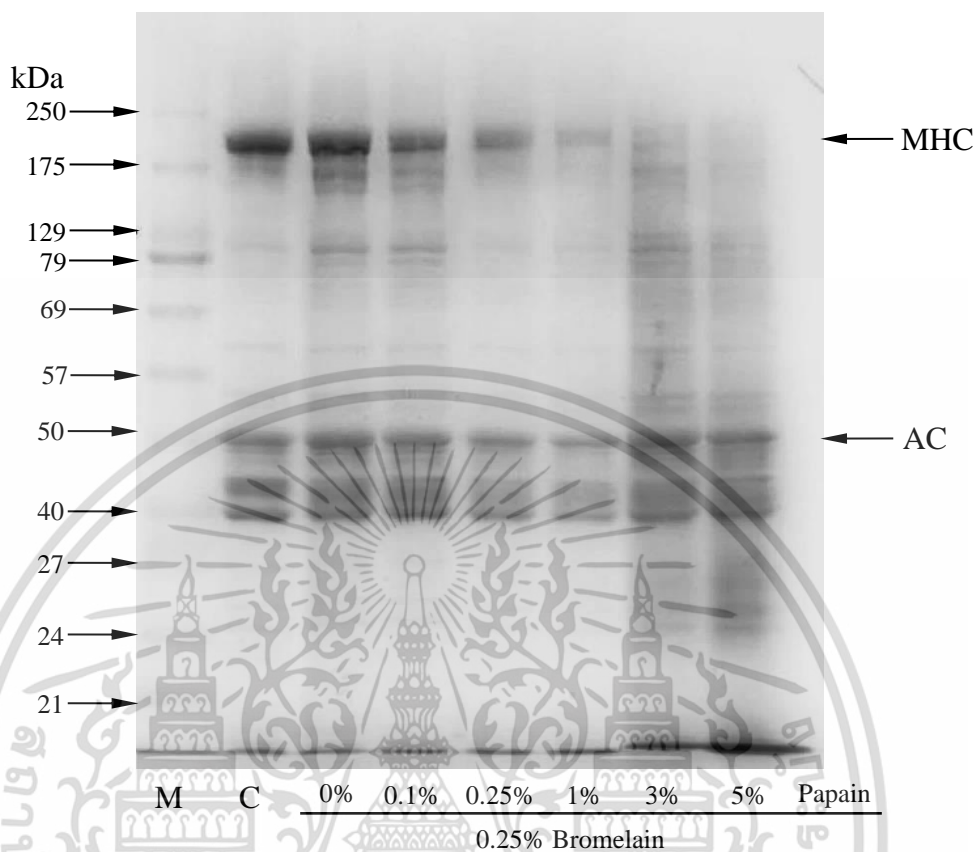
%cooking yield วัดค่าจากเนื้อปลาแซลมอนที่ผ่านการสุกระดับ Well done

4.4 ผลของการฉีดสารละลายเอนไซม์ผสมในตัวอย่างปลาแซลมอน ต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบโปรตีนกล้ามเนื้อ

ผลการตรวจสอบรูปแบบโปรตีนของตัวอย่างเนื้อปลาแซลมอนที่ผ่านการฉีดสารละลายเอนไซม์ผสมระหว่างเอนไซม์โบรมิเลน และเอนไซม์ปาเปน ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้เอนไซม์ปาเปนความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 3, และ 5 ร่วมกับเอนไซม์ โบรมิเลนความเข้มข้นร้อยละ 0.25 ภายหลังจากต้มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีแสดงดังรูปที่ 6 พบว่าเมื่อมีการต้มและการใช้เอนไซม์ปาเปนร่วมกับโบมิเลนทำให้ โครงสร้างของโปรตีน ของกล้ามเนื้อปลาแซลมอนมีการสลายตัวเพิ่มสูงขึ้น โดยพบว่าการใช้เอนไซม์โบรมิเลนเพียงอย่างเดียวสามารถทำให้เกิดการย่อยสลายอย่างเห็นได้ชัดของโปรตีนไมโอซินเส้นหนัก (MHC) และเมื่อมีการใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์โบรมิเลน 0.25 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับเอนไซม์ปาเปน พบว่าระดับการย่อยสลายเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีการใช้ความเข้มข้นเอนไซม์ปาเปนเพิ่มสูงขึ้น โดยพบว่า โปรตีนไมโอซินเส้นหนักจะมีการย่อยสลาย อย่างชัดเจนและจะมีการย่อยสลายได้หมดเมื่อมีการใช้เอนไซม์ปาเปนเข้มข้นร้อยละ 5 ส่วนโปรตีน Actin ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน โดยน้ำหนักของโปรตีน myosin (MHC, ~ 200 kDa), paramyosin (~110 kDa), actin (~45 kDa), tropomyosin (~40 kDa), troponin T (~38 kDa), and myosin light chain (MLC, ~ 20 kDa) (Nyaisaba et al, 2019) โปรตีนแถบอื่นๆ มีน้ำหนักใกล้เคียง 50 และ 75 kDa ซึ่งเป็น Sarcoplasmic proteins (Llorca et al., 2007) ซึ่งรูปแบบโปรตีนชนิดนี้สามารถพบได้บ่อยในสัตว์ทะเล (Geng et al, 2015) อย่างไรก็ตามนั้น เมื่อมีการใช้เอนไซม์เพิ่มสูงขึ้นนั้นพบว่าเกิดโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุลที่เล็กลงจากโปรตีนในช่วงน้ำหนักโมเลกุลเดียวกันกับไมโอซินเส้นหนัก ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 200 kDa โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเล็กลงอยู่ในช่วง 50 kDa และ 170 kDa และมีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 21-30 kDa เพิ่มสูงขึ้นซึ่ง (Ramirez et al, 2008) รายงานว่าจากการใช้เอนไซม์โบรมิเลนและปาเปนย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อ พบว่า MHC จะถูกย่อยสลายได้ง่ายกว่า actin เช่นเดียวกัน นอกจากนี้จากการทดลองข้างต้นยังพบว่า การที่ระดับการย่อยสลายสูง ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองค่าเนื้อสัมผัส ที่พบว่าการย่อยสลายโดยการใช้เอนไซม์ปาเปนร่วมกับโบรมิเลนที่ร้อยละ 3 และ 5 ทำให้เนื้อปลาแชลมอนมีลักษณะนุ่มที่สุด สอดคล้องกับรูปแบบของโปรตีนที่พบปริมาณโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำเพิ่มสูงขึ้นมากกว่าในชุดการทดลองควบคุม และในชุดการทดลองที่มีการใช้โบรมิเลนที่มีความเข้มข้นต่ำ อย่างไรก็ตามปริมาณของโปรตีนน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ นั้นหรือปริมาณเปปไทด์ที่เพิ่มขึ้นนั้น ที่เราพบอยู่ในช่วงสอดคล้องกันกับความขมที่เพิ่มขึ้นเมื่อมีการทดสอบชิมโดยผู้ทดสอบ และให้ความเห็นว่าการใช้ปาเปนที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 ไม่ได้รับการยอมรับเนื่องจากมีรสขมมาจนเกินไป (ข้อมูลไม่ได้แสดง) ดังนั้นการใช้เอนไซม์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 3 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงค่าเนื้อสัมผัสขึ้นเนื้อสติกที่นุ่มลงร่วมกับการตรวจสอบรูปแบบโปรตีน โดยเทคนิค SDS-PAGE ทำให้ได้ลักษณะขึ้นปลาแชลมอนที่นุ่มลงและมีการย่อยสลายในระดับสูงทำให้ได้ขึ้นปลาแชลมอนที่มีความนุ่มและยังคงค่าการยอมรับจากผู้บริโภคได้



ภาพที่ 6 รูปแบบโปรตีนของกล้ามเนื้อปลาแซลมอน (C) ที่ผ่านการบ่มโดยใช้สารละลายเอนไซม์ผสมโบรเมลินเข้มข้นร้อยละ 0.25 ร่วมกับ เอนไซม์ปาเปนที่ความเข้มข้นต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที M, MHC และ AC แสดงแถบโปรตีนมาตรฐาน myosin heavy chain และ actin ตามลำดับ

4.5 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของสเต็กปลาแซลมอน ที่ฉีดสารละลายเอนไซม์ผสม

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของสเต็กปลาแซลมอน ที่ฉีดสารละลายเอนไซม์ผสม ที่ความเข้มข้น ต่างๆ คือ control, 0.1%, 1%, และ 3% ด้วยวิธี 5-Point Hedonic Scale แสดงดังตารางที่ 4.8 พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบคุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัส(ความนุ่ม) และคุณลักษณะด้านความง่ายในการกลืน ของสเต็กปลาแซลมอน ที่ฉีดสารละลายเอนไซม์ผสม ความเข้มข้น 3% มากที่สุดเท่ากับ 3.76 และ 3.88 ตามลำดับ ($P \leq 0.05$) และ ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบคุณลักษณะด้าน ลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ และ ความชอบโดยรวม ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

($p > 0.05$) แสดงให้เห็นว่าผู้ทดสอบประเมินสเต็กปลาแซลมอน ที่ใช้สารละลายเอนไซม์ผสม 3% ในระดับ บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบถึงขอบเล็กน้อย ซึ่งเมื่อประเมินจากผลของการใช้สารละลายเอนไซม์ผสมต่อคุณลักษณะทางกายภาพ ในด้านค่าความแข็ง (Hardness) จะเห็นว่ามีความน้อยที่สุดซึ่งสอดคล้องกับการประเมิน โดยผู้ทดสอบในด้านเนื้อสัมผัส(ความนุ่ม) และด้านความง่ายในการกลืน

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้สูงอายุระหว่าง 60-70 ปี จำนวน 30 คน ต่อ สเต็กปลาแซลมอน ที่ใช้สารละลายเอนไซม์ผสม (papain และ Bromerain 0.25%) ในการบ่มตัวอย่างปลาแซลมอน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

Papain (%)	ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส [§]					
	ลักษณะปรากฏ ^{ns}	กลิ่น ^{ns}	เนื้อสัมผัส (ความนุ่ม)	ความง่ายในการกลืน	รสชาติ ^{ns}	ความชอบโดยรวม
control [†]	3.42 ± 0.97	3.57 ± 0.94	2.94 ± 1.03 [‡]	3.0 ± 1.03 [‡]	3.18 ± 0.80	3.40 ± 1.09
0.1	3.36 ± 0.90	3.55 ± 0.90	3.15 ± 1.03 ^a	3.27 ± 1.07 ^a	3.15 ± 0.87	3.42 ± 1.12
1	3.27 ± 1.03	3.45 ± 0.94	3.33 ± 1.14 ^{ab}	3.45 ± 1.15 ^{ab}	3.27 ± 1.10	3.51 ± 1.12
3	3.27 ± 0.91	3.36 ± 0.89	3.76 ± 0.87 ^b	3.88 ± 0.78 ^b	3.21 ± 0.93	3.88 ± 0.74

หมายเหตุ † ตัวอย่างชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการบ่ม

§ คือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน คะแนนความชอบการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

^{ns} คือค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยทางสถิติ ($p > 0.05$)

‡ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การเตรียมสเต็มปลาแซลมอนอ่อนนุ่มทำได้โดยใช้สารละลายเอนไซม์ผสมระหว่าง เอนไซม์โบรมิเลนความเข้มข้น ร้อยละ 0.25 ร่วมกับ เอนไซม์ปาเปนความเข้มข้น ร้อยละ 3 ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ทำให้ได้สเต็มปลาแซลมอนที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สุดโดยพิจารณาจากค่าความแข็ง (Hardness) และจากผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสจากผู้บริโภคที่มีอายุระหว่าง 60-70 ปี โดยมีคะแนนในด้านเนื้อสัมผัส(ความนุ่ม) และ ด้านความง่ายในการกลืนมากที่สุด แต่คุณลักษณะในด้านค่าสีไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งเป็นผลจากการใช้สารละลายเอนไซม์ที่สามารถย่อยกล้ามเนื้ออย่างเหมาะสม อย่างไรก็ตามการใช้สารละลายเอนไซม์ผสมที่มากเกินไป มีผลต่อการเกิดรสขมของสเต็มปลาแซลมอน โดยพบว่าไม่ควรใช้สารละลายเอนไซม์ผสมที่มีความเข้มข้นของเอนไซม์ปาเปนมากกว่าร้อยละ 3 ในการเตรียมสเต็มปลาแซลมอนแช่แข็งอ่อนนุ่มสำหรับผู้สูงอายุ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับบรรจุภัณฑ์และอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สเต็มปลาแซลมอนอ่อนนุ่มแช่แข็งสำหรับผู้สูงอายุ

5.2.2 ควรมีการศึกษาต้นทุนการผลิตของสเต็มปลาแซลมอนอ่อนนุ่มแช่แข็งสำหรับผู้สูงอายุ เพื่อพัฒนาสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมต่อไป

5.2.3 ควรศึกษาอุปกรณ์เพิ่มเติมสำหรับฉีดเอนไซม์ที่ทำให้สามารถทำงานได้ง่ายและรวดเร็วขึ้น เพื่อพัฒนาในการผลิตปริมาณมาก

บรรณานุกรม

- กาญจนาพร นนทะลุน และ อากัสสร ศิริจริยวัตร. 2561. ผลของชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์ ที่มีต่อความนุ่มของเนื้อ. แก่นเกษตร 46.
- เกษม นันทชัย. 2526. เอกสารประกอบการสอนเรื่องกล้ามเนื้อและเนื้อสัตว์.ขอนแก่น . มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ปราณี อ่านเปรื่อง. 2558. เอนไซม์ทางอาหาร โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร.
- บุทธิพงษ์ ประชาสิทธิศักดิ์ และ วชิรา พริ้งสุลกะ. 2538. การศึกษาการปรับปรุงคุณภาพทางจุลินทรีย์ของเอ็นไซม์โบรมีเลนด้วยรังสีแกมมา. กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม. 1-3.
- วรรณภาศรี ธีรรัตน์, พิมภาสุตรา ผ่องพรรณ และ อรุณแสง เลิศรัตน์. 2556. ประมวลผลงานโครงการวิจัยและนวัตกรรมการสร้างเสริมสุขภาพของแผนงานพัฒนาเครือข่ายพยาบาลศาสตร์เพื่อการสร้างเสริมสุขภาพระยะที่ 2 (พ.ศ.2551-2554). สภากาพยาบาล 27: 114-212.
- สำราญ พุกภัยสุนทร. คัมภีร์เคมี. กรุงเทพฯ : 2551
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานนท์. 2556. เกรดคุณภาพซากเนื้อวัว. (ออนไลน์). สืบค้นจาก:<http://www.foodnetworksolution.com> (เข้าถึงเมื่อ 10 กุมภาพันธ์ 2560).
- ไพศาล สิทธิกรกุล. [ออนไลน์]. พันธะที่พบในโครงสร้างของโปรตีน. เข้าถึงได้จาก:
<http://vichakarn.triamudom.ac.th/comtech/studentproject/final54/832BioTec/bio/Website%20%28Biomolecule%29/protein.html>[20 ตุลาคม 2561]
- สุทนต์ เบญจกุล, เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : 2554
- สมปอง ธรรมศิริรักษ์. 2550. โครงสร้างและหน้าที่ของโปรตีน. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. จำนวน 187 หน้า
- สมฤดี ศรีทับทิม. ชีวะเคมีสำหรับเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี : 2554
- ตั๋นชัย จตุรติทธา. 2555. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- อากัสสร ศิริจริยวัตร, กอบชัย คำศรีพล และสุกฤษ กำเนิดพันธ์. 2558. การเปลี่ยนแปลงของมะม่วงสุกตั้งแต่ในระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เย็น. แก่นเกษตร 43.
- อิสราภรณ์ คงเปี่ยม. 2558. การปรับปรุงคุณภาพเนื้อไบบัวจากโคไทยเพื่อใช้ชีวภาพ. ในการผลิตสเต็มด้วยกระบวนการชีววิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดและบริการอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 3.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Barbana, C. and Boye, I., J. 2011. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory properties of lentil proteinhydrolysates: Determination of the kinetics of inhibition. *Food Chemistry* 127. 94-101.
- Bechtel, P.J., Ed.; Academic Press: Orlando, FL, USA; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 1986;pp. 135–199.
- Bishnoi, S., Yadav, S. and VaquilandSheoran, N. 2017. Effect of tumbling on processing of muscle food: A review. *The Pharma Innovation Journal* 6. 157-160.
- Chalamaiah, M., Rao, G.N., Rao, D.G. and Jyothirmayi, T. 2010. Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties AGRIS: International Information System for The Agricultural Science and Technology 120.
- Chen, Q. H., He, G. Q., Jiao, Y. C. and Ni, H. 2006. Effects of Elastase from a *Bacillus* Strain on the Tenderization of Beef Meat, *Food Chemistry* 98. 624-629.
- Claus, J. R., Schilling, J. K., Marriott, N. G., Duncan, S. E., Solomon, M. B. and Wang, H. Tenderization of Chicken and Turkey Breasts with Electrically Produced Hydrodynamic Shockwaves. *Meat Science* 58. 283-286.
- Fisheries Council of British Columbia. 2005. Cited by <http://acronyms.thefreedictionary.com/Fisheries+Council+of+British+Columbia+salmon+protein+fat>. [19/10/2018]
- Ha, M., Bekhit, A.E.-D.A., Carne, A. and Hopkins, D.L. 2012. Characterisation of commercial papain, bromelain, actinidin and zingibain protease preparations and their activities toward meat proteins. *Food Chemistry* 134. 95-105.
- Gupta R, Dey A, Vijan A. and Gartia B. 2017. In Silico Structure Modeling and Characterization of Hypothetical Protein YP_004590319.1 Present in *Enterobacter aerogens*. *journal of proteomics & bioinformatics* 10. 152-170.
- Gao, T., Li, J., Zhang, L., Jiang, Y., Liu, Y., Zhang, X., Gao, F. and Zhou, G. 2015. Effect of different tumbling marination methods and time on the quality characteristics of prepared pork chops. *Food Science and Technology*.
- Goll, D.E., V.F. Thompson, H. Li, W. Wei, and J. Cong. 2003. The calpain system. *Physiological Reviews* 83. 731-801.
- Kim, S. and Joo, N. 2015. The study on development of easily chewable and swallowable food for elderly. *Nutrition Research and Practice* 9. 420-424.

- Krause, R.J., Ockerman, H.W., Krol, B., Moerman, P.C. and Plimpton, J.R.F. 1978. Influence of tumbling, tumbling time, trim, and sodium tripolyphosphate on quality and yield of cured hams. *Food Science* 43. 853-855.
- Koohmaraie, M., Seideman, S., Schollmeyer, J., Dutson T. and Grouse J. 1987. Effect of postmortem storage on Ca₂ Dependent proteases, their inhibitor and myofibril fragmentation. *Meat Science* 19. 187-196.
- Manohar, J., Gayathri, R. and Vishnupriya, V. 2016. Tenderisation of Meat Using Bromelain from Pineapple Extract. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 39. 81-85.
- McKeith, F.K., Brewer, M.S. and Bruggen, K.A. 1994. Effects on enzyme application on sensory, chemical, and processing characteristics of beef steaks and roasts. *Muscle Foods* 5. 149-164.
- Pietrzak, M., Greaser M.L. and Sosnicki, A.A. 1997. Effect of rapid rigor mortis processes on protein functionality in pectoralis major muscle of domestic turkeys. *Journal of Animal Science* 75. 2106-2116.
- Pohlman, F., Dikeman, M. and Kropf D. 1997. Effects of high intensity ultrasound treatment, storage time and cooking method on shear, sensory, instrumental color and cooking properties of packaged and unpackaged beef pectoralis muscle. *Meat Science* 46. 89-100.
- Schellekens, M. 1996. Newresearch issues in sous-vide cooking. *Trends in Food Science and Technology* 7. 256-262.
- Sullivan, G. and Calkins, C. 2010. Application of exogenous enzymes to beef muscle of high and low-connective tissue. *Meat Science* 85. 730-734.
- Sherman, J. 2018. Science of Cooking. Cited by <https://www.exploratorium.edu/cooking/meat/meat-chart.html>. [08/11/2018].



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ทางกายภาพ

1. การวัดค่าสีโดยใช้เครื่องวัดค่าสี

การวัดค่าสีโดยใช้เครื่องวัดค่าสี (chromameter) ยี่ห้อ Konica Minolta รุ่น CR-400 มาตรฐาน CIE $L^*a^*b^*$ ได้แก่ค่าความสว่าง (+)/(-) มีด (lightness, L^*) ค่าความเป็นสีแดง (+)/(-) สีเขียว (redness/greenness, a^*) ค่าความเป็นสีเหลือง (+)/(-) สีฟ้า (yellowness/blueness, b^*) โดยทำการคาลิเบรตด้วยแผ่น สีขาวมาตรฐาน (standard white reference tile) ในครั้งแรก และแนบหัวทดสอบไปบนตัวอย่างเพื่อวัดค่าทั้งหมด 10 ซ้ำต่อสิ่งทดลองแต่ละค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการวัด 3 ครั้ง (Goncalves และคณะ, 2007)



ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. ตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE ตามวิธีของ Leammli (1970)

1.1 ยึดแม่แบบที่ประกอบด้วยแผ่นกระจกและแผ่นเซรามิกกับแท่นที่ใช้สำหรับเตรียมเจลให้แน่น โดยมีแผ่นพลาสติกบางขนาดเล็กสอดที่ด้านข้าง ระหว่างกระจกและแผ่นเซรามิกเพื่อให้เกิดช่องว่างระหว่างเทเจล

1.2 ผสม separating gel (ร้อยละ 12 (w/v) เพลงในแม่แบบให้มีพื้นที่ส่วนบนเหลืออยู่ประมาณ 1 นิ้ว ปล่อยให้แห้งให้เจลแข็งที่อุณหภูมิห้อง

1.3 ผสม stacking gel (ร้อยละ 5 (w/v) เททับลงบน separating gel ในแบบจนสุดขอบด้านบนของแม่แบบ จากนั้นสอดพลาสติกบางที่มีลักษณะเป็นซี่ฟันลงใน stacking gel ที่ยังไม่แข็งตัว เพื่อให้เกิดช่องว่างสำหรับใส่ตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ปล่อยให้แห้งให้เจลแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง

1.4 ถอดแผ่นพลาสติกบาง ที่มีลักษณะเป็นซี่ฟันออกจากเจล จากนั้นนำเจลที่แข็งตัวในแม่แบบออกจากแท่นยึด และติดตั้งเข้าสู่ชุด electrophoresis โดยให้ด้านล่างของเจลจุ่มอยู่ใน electrode buffer และเติม electrode buffer จนท่วมผิวด้านบนของเจล

1.5 เติมตัวอย่างโปรตีนที่ต้องการทดสอบหาขนาด จำนวน 15 ไมโครกรัม ซึ่มร่วมกับสารละลาย SDS (sample buffer) ลงในช่องว่างสำหรับใส่ตัวอย่างส่วนบนของ stackinggel โดยทำพร้อมกับโปรตีนมาตรฐานที่ทราบขนาดโมเลกุล

1.6 ต่อขั้วไฟฟ้าของชุดทดสอบเข้ากับหม้อแปลงไฟฟ้ากระแสตรงปรับให้มีกระแสไฟฟ้าประมาณ 10 มิลลิแอมป์ต่อเจล

1.7 ปล่อยให้ตัวอย่างโปรตีนเคลื่อนที่ภายในเนื้อเจลจนสีน้ำเงินของ bromphenol blue ที่เติม sample buffer เคลื่อนที่ลงไปจุดสุดขอบล่างของเจล

1.8 ปิดกระแสไฟฟ้า นำเจลออกจากชุดทดสอบค่อยๆ ลอกเนื้อเจลออกจากแม่แบบ นำเจลที่ได้ไปย้อมด้วยชุดย้อม silver stain หรือ Coomassie Brilliant Blue R-250

1.9 นำเจลที่ผ่านการย้อมแล้วมาล้างด้วย destain 1 และ 2

1.10 ตรวจสอบขนาดของโปรตีนโดยเปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดได้เห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

เอกสารแนะนำแบบสอบถาม

แบบสอบถามวิธีการให้คะแนนความชอบ

ผลิตภัณฑ์ สเต็กปลาแซลมอนอ่อนนุ่มแช่แข็ง

วันที่ _____

ผู้ทดสอบ _____

คำแนะนำ: กรุณาทดสอบตัวอย่างให้คะแนนความชอบตามที่ารู้สึกให้ตรงกับรหัสตัวอย่าง (กรุณา
บ้วนปากก่อนทดสอบตัวอย่างทุกครั้ง)

สเกลความชอบ: 1 = ไม่ชอบมากที่สุด

2 = ไม่ชอบเล็กน้อย

3 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ

4 = ชอบเล็กน้อย

5 = ชอบมากที่สุด

และขีดเครื่องหมาย / ให้ตรงกับความรู้สึกที่ท่านมีต่อผลิตภัณฑ์ในเรื่องความพอดีของผลิตภัณฑ์

ปัจจัยคุณภาพ	คะแนนความชอบ ตัวอย่าง	คะแนนความชอบ ตัวอย่าง	คะแนนความชอบ ตัวอย่าง
ลักษณะปรากฏ			
กลิ่น			
เนื้อสัมผัส ความนุ่ม			
ความง่ายในการกลืน			
รสชาติ			
ความชอบโดยรวม			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวดวงรัตน์ เจริญดี
เกิดเดือนปีเกิด	15 ตุลาคม 2533
สถานที่เกิด	679 ถ. รามอินทรา แขวง คันนายาว เขตคันนายาว กรุงเทพมหานคร 10230
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2555 จบการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต คณะเทคโนโลยี คหกรรมศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร พ.ศ. 2559 เข้ารับการศึกษาระดับปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะ อุตสาหกรรมอาหาร สาขาเทคโนโลยีการบริการอาหารและการจัดการ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประวัติการทำงาน	พ.ศ. 2555-2556 เจ้าหน้าที่ R&D The Decent Noodles Factory พ.ศ. 2556-2560 อาจารย์ผู้ช่วยสอน วิทยาลัยดุสิตธานี พัทยา พ.ศ. 2560-ปัจจุบัน อาจารย์ผู้สอน วิทยาลัยดุสิตธานี พัทยา
การนำเสนอผลงาน	ผลของอุณหภูมิและเวลาต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของสเต็ม ปลาเซลมอน การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา แห่งชาติ ครั้งที่ 48 ร่วมกับการประชุมวิชาการบัณฑิตศึกษาระดับชาติและ นานาชาติ ครั้งที่ 9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้