นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของการเก็บรักษาในน้ำแข็งต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติโปรตีนกล้ามเนื้อและคุณภาพไส้กรอกปลาอิมัลชันจากปลาตาหวาน (*Priacanthus tayenus*) และปลาปากคม (*Saurida undosquamis*)

ปริญา จันทรัตน์ [1] ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์ [2] และ มณี วิทยานนท์ [3]

Abstract

Chantarat, P., Kijroongrojana, K. and Vittayanont, M.

Effect of ice storage on muscle protein properties and qualities of emulsion fish sausage from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) and lizardfish (*Saurida undosquamis*)

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2005, 27(1) : 123-138

The chemical changes in fish muscle and natural actomyosin (NAM) from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) and lizardfish (*Saurida undosquamis*) muscle during 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 and 14 days of iced storage were studied. Myosin heavy chain (MHC) of NAM extracted from two fish species was degraded throughout iced storage. However, no changes in actin were observed. The total volatile base (TVB). trimethylamine (TMA) and surface hydrophobicity increased, while the total sulfhydryl content and emulsion capacity of NAM from both fish species decreased significantly as the storage time increased ($p<0.05$). A Texture Profile Analysis (TPA) and shear force of emulsion fish sausages prepared from two fish species kept in ice for 0, 4, 8 and 12 days were investigated. The results showed that hardness, cohesiveness, gumminess, chewiness and

Department of Food Technology, Faculty of Agro-Industry, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112, Thailand.

[1]วท.ม.(เทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ประมง), [2]Ph.D.(Food Technology), [3]Ph.D.(Food Science and Technology), ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

Corresponding e-mail: kongkarn.k@psu.ac.th

รับต้นฉบับ 31 มีนาคม 2547 รับลงพิมพ์ 12 กรกฎาคม 2547

shear force of sausage prepared from fish kept in ice were lower than those produced from fresh fish. However, no significant differences in adhesiveness were observed. Cooking loss of emulsion fish sausage from two fish species increased throughout storage time (p<0.05). The texture of bigeye snapper sausage was better than that of lizardfish sausages. Scanning electron microscopy (SEM) micrographs of emulsion fish sausage from two fish species revealed bigger voids, thicker strands and less continuity of protein strands with increasing storage time. More microstructural changes were observed in sausages from lizardfish, compared to those in sausages from bigeye snapper.

Key words : emulsion, sausage, actomyosin, fish, ice storage

บทคัดย่อ

ปริญา จันทรัตน์ ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์ และ มณี วิทยานนท์

ผลของการเก็บรักษาในน้ำแข็งต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติโปรตีนกล้ามเนื้อและคุณภาพไส้กรอกปลาอิมัลชันจากปลาตาหวาน (*Priacanthus tayenus*) และปลาปากคม (*Saurida undosquamis*)

ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2548 27(1) : 123-138

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของกล้ามเนื้อปลา และโปรตีนแอกโตไมโอซินธรรมชาติจากกล้ามเนื้อปลาตาหวานและปลาปากคมระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 0 2 4 6 8 10 12 และ 14 วัน พบว่าไมโอซินเส้นหนักของโปรตีนแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่สกัดจากเนื้อปลาทั้งสองชนิดถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็วตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของแอกติน ส่วนปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด ไตรเมทธิลเอมีน และค่าไฮโดรโฟบิกซิตี้พื้นผิวของโปรตีนแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่สกัดจากกล้ามเนื้อปลาทั้งสองชนิดมีปริมาณเพิ่มขึ้น ขณะที่ปริมาณซัลฟ์ไฮดริลทั้งหมดและค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชันมีค่าลดลง (p<0.05) จากการศึกษาผลของคุณภาพปลาตาหวานและปลาปากคมระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง 0 4 8 12 วัน ต่อคุณภาพของไส้กรอกปลาอิมัลชัน พบว่า ค่าความแข็ง (Hardness) ค่าความยึดเกาะ (Cohesiveness) ค่าความหยุ่นตัว (Gumminess) และค่าความคงทนต่อการบดเคี้ยว (Chewiness) จากการวัดเนื้อสัมผัสแบบ Texture Profile Analysis (TPA) และค่าต้านแรงเฉือน (Shear force)มีค่าลดลง (p<0.05) เมื่อเทียบกับไส้กรอกปลาทั้งสองชนิดที่ได้จากปลาสด แต่ไม่มีผลต่อค่าการยึดติด (Adhesiveness) (p>0.05) ขณะที่ค่าสูญเสียน้ำหนักหลังทำให้สุกมีค่าเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา และเนื้อสัมผัสของไส้กรอกจากปลาตาหวานมีค่าดีกว่าไส้กรอกจากปลาปากคม จากการตรวจสอบโครงสร้างจุลภาคของไส้กรอก พบว่า ปลาที่ผ่านการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น มีผลทำให้โครงสร้างภายในเนื้อไส้กรอกมีช่องว่างใหญ่ขึ้น ความหนาของเส้นโครงข่ายโปรตีนเพิ่มขึ้น และความต่อเนื่องของเส้นใยลดลง โดยโครงข่ายโปรตีนของไส้กรอกที่ผลิตจากปลาตาหวานโดยรวมมีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าไส้กรอกที่ผลิตจากปลาปากคม

ไส้กรอกเป็นอาหารประเภทหนึ่งที่ได้รับความนิยมมาก โดยทั่วไปวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตไส้กรอก ได้แก่ เนื้อหมู เนื้อวัว และเนื้อไก่ แต่เนื่องจากเนื้อสัตว์ทั้ง 3 ชนิดมีราคาสูง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงมีราคาค่อนข้างสูงด้วย ทำให้ผู้มีรายได้ต่ำไม่สามารถซื้อบริโภคได้ การใช้เนื้อปลาเบญจพรรณ ได้แก่ ปลาตาหวานและปลาปากคม ซึ่งเป็นปลาที่มีราคาถูก คือ ประมาณกิโลกรัมละ 10 บาท และกิโลกรัมละ 9 บาท ตามลำดับ (จากการสอบถามพนักงาน ณ ท่าขึ้นปลาเทศบาลนครสงขลา, 2543) อีกทั้งไม่เป็นที่นิยมโดยผู้บริโภคเนื่องจากมีรสชาติและเนื้อสัมผัสไม่ดีนัก จึงเป็นแนวทางหนึ่งเนื่องจากเป็นโปรตีนที่มีราคาต่ำและมีคุณค่าทางอาหารสูง นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าและการให้ประโยชน์จากเนื้อปลาเบญจพรรณดังกล่าว

นอกจากนี้ ไส้กรอกโดยทั่วไปมีปริมาณไขมันสูงประมาณ 23-30% (Ockerman, 1989) ถ้าหากมีการบริโภคอย่างสม่ำเสมอจะทำให้ร่างกายเกิดการสะสมของ

ไขมันประเภทอิ่มตัวซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพ ในประเทศญี่ปุ่นมีการผลิตไส้กรอกจากเนื้อปลาซึ่งมีปริมาณไขมันเพียง 5-10% (Tanikawa, 1971) ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลามีกรรมวิธีการผลิตที่คล้ายกับผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ผลิตจากเนื้อสัตว์ประเภทอื่นๆ ความสดของเนื้อปลาที่นำมาผลิตมีความสำคัญต่อคุณภาพของไส้กรอกปลามาก เนื่องจากมีผลต่อกลิ่นรสของไส้กรอกและต่อคุณภาพของโปรตีนไมโอ-ไฟบริลลา ซึ่งมีผลต่อความเสถียรของระบบอิมัลชัน ส่งผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดีของไส้กรอก ได้แก่ ความสม่ำเสมอ มีโพรงอากาศเล็กน้อย เรียบเนียน มีความยืดหยุ่น เนื้อไม่ยุ่ย และนิ่มเกินไป ไม่มีการแยกตัวของหยดน้ำมันออกจากไส้กรอก (Tanikawa, 1971) โดย Connell (1962 อ้างโดย สุภาพร, 2538) พบว่าปริมาณไมโอซินที่สกัดได้จากเนื้อปลาจะเกิดการย่อยสลายเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงเกิน 0ºC นอกจากนี้ความยืดหยุ่นของเนื้อปลาจะลดลงด้วย เนื่องจากปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำเกลือลดลง Reddy และคณะ (1995) ศึกษาพบว่าการเก็บปลาพิงค์เพิร์ช (*Nemiptrus japonicus*) ในน้ำแข็งก่อนนำไปบดและแช่แข็งทำให้ค่าการละลายของโปรตีน (protein solubility) ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (emulsion stability) ความสามารถในการจับยึดน้ำ (water-binding capacity) ลดลง ($P<0.05$) คุณสมบัติดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับการละลายของโปรตีน และเป็นตัวบ่งชี้ถึงการสูญเสียของโปรตีนกล้ามเนื้อ ซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการบด หรือการจับตัวกันของโปรตีน (aggregation) ในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งและการเก็บในสภาพแช่แข็ง นอกจากนี้คุณภาพของไส้กรอกปลายังขึ้นกับชนิดของปลา เนื่องจากเนื้อปลามีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน เนื้อปลาที่มีปริมาณโปรตีนที่ละลายในน้ำเกลือสูงจะมีความยืดหยุ่นสูง ส่วนไขมันและโปรตีนซาร์โคพลาสมิกจะทำให้ความยืดหยุ่นของเนื้อปลาลดลง โดยขัดขวางการเรียงตัวของไมโอซินและแอคติน ทำให้ไม่เกิดโครงสร้างเป็นรูปตาข่าย (Miyaki and Kawakami, 1966) ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงทำการศึกษาผลของการเก็บรักษาในน้ำแข็งต่อคุณสมบัติโปรตีนกล้ามเนื้อและคุณภาพของไส้กรอกปลาอิมัลชันจากปลาเบญจพรรณทั้งสองชนิดได้แก่ ปลาตาหวาน และปลาปากคม เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาใหม่ๆ สนองความต้องการของผู้บริโภค ตลอดจนสามารถใช้ทรัพยากรสัตว์น้ำอย่างคุ้มค่าอีกแนวทางหนึ่ง

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุ

1. ปลาตาหวาน (*Priacanthus tayenus*) และปลาปากคม (*Saurida undosquamis*) ขนาดน้ำหนักตัวประมาณ 200-300 กรัม ความยาว 20-30 ซม. จากท่าเทียบเรือประมง อ.เมือง จ.สงขลา ซึ่งเป็นปลาที่จับได้จากทะเลอ่าวไทย และมีระยะเวลาตั้งแต่จับปลาจนถึงท่าเทียบเรือ 36-48 ชั่วโมง โดยนำปลามาบรรจุในกล่องโฟม วางปลาสลับน้ำแข็งในอัตราส่วนปลาต่อน้ำแข็ง 1:2 ระหว่างขนส่งมายังห้องปฏิบัติการ ภายใน 1 ชั่วโมง

2. สารเคมีเกรดสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี

วิธีการ

1. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง

เก็บรักษาปลาตาหวานและปลาปากคมทั้งตัวเป็นเวลา 14 วันในน้ำแข็งด้วยอัตราส่วนปลาต่อน้ำแข็ง 1:2 ทำการสุ่มตัวอย่างปลาทุก 2 วัน และเปลี่ยนถ่ายน้ำแข็งทุกครั้งที่สุ่มตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์ดังนี้

1.1 การเปลี่ยนแปลงทางทางเคมีของเนื้อปลา

1) วิเคราะห์ค่าปริมาณด่างที่ระเหยได้ (Total Volatile Basic Nitrogen, TVB-N) และค่าไตรเมทธิลเอมีน (trimethylamine, TMA-N) โดยวิธี Conway's method (Ng, 1987)

2) ค่าความเป็นกรดด่าง วิเคราะห์ด้วยพีเอชมิเตอร์ ยี่ห้อ DENVER INSTRUMENT รุ่น 15 โดยวิธีของ Benjakul และคณะ (1997)

1.2 การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของโปรตีนกล้ามเนื้อ

สกัดโปรตีนแอกโตไมโอซินธรรมชาติ (natural actomyosin) จากปลาตาหวานและปลาปากคม โดยสกัดเนื้อปลาบดด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.6 โมลาร์ และ 1.2 โมลาร์ ความเป็นกรดด่าง 7.0 ตามวิธีของ MacDonald และ Lanier (1994) นำมาวิเคราะห์

ดังนี้

1) รูปแบบของโปรตีนแอกโตไมโอซิน โดยการใช้ sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) running gel ที่ความเข้มข้น 10% และ stacking gel ที่ความเข้มข้น 4% โดยใช้ชุดอิเล็คโตรโฟริซิส ยี่ห้อ Bio-Rad รุ่น Mini-PROTEAN II ประเทศสหรัฐอเมริกา (Laemmli, 1970)

2) ปริมาณซัลฟ์ไฮดริลทั้งหมด (total sulfhydryl content) ของโปรตีนแอกโตไมโอซินธรรมชาติ โดยใช้ DTNB (5,5′-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) ตามวิธีของ Sompongse และคณะ (1996)

3) ค่าไฮโดรโฟบิกซิตี้ (hydrophobicity) ของโปรตีนแอกโตไมโอซินธรรมชาติ โดยใช้ ANS (1-anilinonaphthalene-8-sulfonic acid) ตามวิธีของ Benjakul และคณะ (1997)

4) วิเคราะห์ค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (emulsion capacity) ของโปรตีนแอกโตไมโอซินธรรมชาติ (ดัดแปลงวิธีของ Swift *et al.*, 1961) โดยนำแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่สกัดได้ความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 6 มก./มล. จำนวน 25 กรัม (24.41 มล.) เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 200 มล. โฮโมจิไนส์ด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ ยี่ห้อ NISSIE รุ่น AM-8 ประเทศมาเลเซียที่ความเร็วรอบ 13,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นแบ่งสารละลายที่ได้มา 12.5 กรัม (12.44 มล.) เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 37.5 มล. ผสมให้เข้ากันด้วยใบพัดที่ความเร็วรอบ 1,000 รอบ/นาที เติมน้ำมันถั่วเหลือง 50 มล.ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมน้ำมันถั่วเหลืองในอัตรา 0.8 มล./วินาที พร้อมโฮโมจิไนส์ที่ความเร็วรอบ 13,000 รอบ/นาที สังเกตการยุบตัวและการลดลงของความหนืดของอิมัลชัน บันทึกปริมาตรน้ำมันที่ใช้เติมทั้งหมด

2. การศึกษาคุณภาพไส้กรอกปลาอิมัลชันจากปลาที่ผ่านการเก็บรักษาในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่าง ๆ

นำเนื้อปลาตาหวานและปลาปากคมที่ผ่านการเก็บในน้ำแข็งเป็นเวลา 0 4 8 และ 12 วัน มาทำการผลิตไส้กรอกปลาอิมัลชันที่ประกอบด้วย เนื้อปลาบด 100 กรัมและส่วนประกอบอื่นๆ ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง 5% น้ำแข็ง 17% เกลือป่น 2.2% ไข่ขาวสด 3% แป้งมัน 5% เครื่องเทศ 1.6% ของน้ำหนักเนื้อปลา และควบคุมความชื้นของไส้กรอกให้อยู่ในช่วง 73±0.5% โดยนำเนื้อปลาบดผสมกับน้ำมันถั่วเหลืองแล้วนำไปแช่ที่ -20ºC นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมเกลือ สับผสมด้วยเครื่องสับผสมยี่ห้อ NATIONAL รุ่น MK-K77 ประเทศญี่ปุ่น 1 นาที นำไปแช่ที่ -20ºC อีกครั้งเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วเติมไข่ขาวและน้ำแข็ง สับผสม 1 นาที เติมแป้งมันและเครื่องเทศ สับผสมต่ออีก 5 นาที นำส่วนผสมบรรจุลงไส้เซลลูโลสขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มม. ด้วยเครื่องอัดไส้ ให้ได้ความยาวของไส้กรอก 8-10 ซม. มัดด้วยด้าย แล้วนำไปต้มที่ 70-80ºC นาน 30 นาที แช่ในน้ำเย็น แล้วนำไปวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

2.1 ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยใช้เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (texture analyzer) ยี่ห้อ STABLE MICRO SYSTEM รุ่น TA-XT 2I ประเทศอังกฤษ โดยนำตัวอย่างไส้กรอกหลังทำให้สุกแล้ว วางที่อุณหภูมิห้อง (25ºC) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนการวัดค่า ใช้ตัวอย่างที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มม. และยาว 3 ซม. วัดค่าดังนี้

1) Texture Profile Analysis (TPA) โดยกดตัวอย่างลง 50% ของความสูง ใช้ Loading cell รูปทรงกระบอกเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 ซม. ความเร็วของหัวกด 5 มม./วินาที กราฟ TPA ที่ได้ใช้ในการคำนวณหาค่าลักษณะเนื้อสัมผัสตามวิธีของ Bourne (1978)

2) ค่าแรงเฉือน (shearing force) โดยใช้ Warner-Bratzler Blade ความเร็ว 10 มม./วินาที โดยวิธีของ Cross และคณะ (1978)

2.2 ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังทำให้สุก (cooking loss) โดยน้ำหนักอิมัลชันก่อนผ่านการต้ม เปรียบเทียบกับน้ำหนักของไส้กรอกที่ผ่านกระบวนการทำให้สุกที่อุณหภูมิ 80ºC เวลา 30 นาที (ดัดแปลงวิธีของ Kondaiah *et al.*, 1985)

การสูญเสียน้ำหนัก

$$= \frac{(\text{น้ำหนักอิมัลชัน-น้ำหนักไส้กรอกสุก}) \times 100}{\text{น้ำหนักอิมัลชัน}}$$

2.3 โครงสร้างจุลภาค (microstructure) โดย scanning electron microscopy (SEM) ตัดตัวอย่างไส้กรอกส่วนที่อยู่ตรงกลางให้มีขนาด 0.4×0.4×1.0 ซม.

นำไปแช่เยือกแข็งด้วยไนโตรเจนเหลว จากนั้นหักชิ้นตัวอย่างด้วยคีมปากคีบ นำมาตรึง (fixation) ด้วยกลูทาร์-อัลดีไฮด์ (glutaralhehyde) เข้มข้น 2.5% ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ (ความเป็นกรดด่าง 7.2) จากนั้น post fixation ด้วยออสเมี่ยมเตตราออกไซด์ (osmium tetraoxide) เข้มข้น 1.0% ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ (ความเป็นกรดด่าง 7.2) ดึงน้ำออกด้วยสารละลายเอทธานอลที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจาก 50% จนถึง 100% และทำตัวอย่างแห้งในสภาวะวิกฤต (critical point drying) ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว นำตัวอย่างวางบนแท่นอะลูมิเนียม ฉาบตัวอย่างด้วยทองคำหนา 250-300 นม. นาน 2 นาที ส่องตัวอย่างด้วยเครื่องวิเคราะห์โครงสร้างจุลภาค ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM ที่กำลังขยาย 5,000 เท่า และใช้ความต่างศักย์ 8 กิโลโวลต์ (Jone and Mandigo, 1982)

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) แต่ละสิ่งทดลองทำการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance: ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's multiple range test)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาระหว่างการเก็บรักษาต่อคุณสมบัติของโปรตีน

1.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของเนื้อปลา

ปริมาณด่างที่ระเหยได้ (TVB-N) และไตรเมทธิลเอมีน (TMA-N) ของกล้ามเนื้อปลาตาหวานและปลาปากคมที่เก็บรักษาในน้ำแข็งมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น ($P<0.05$) ดังแสดงใน Figure 1 และ 2 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าปลาทั้งสองชนิดมีความสดลดลง โดยตัวอย่างปลาตาหวานมีการเสื่อมเสียเล็กน้อยเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2-10 วัน และการเสื่อมเสียเพิ่มขึ้นไม่สามารถนำมารับประทานได้หลังจากเก็บไว้เป็นเวลา 10 วัน ส่วนปลาปากคมมีความสดลดลงตั้งแต่เริ่มต้นของการเก็บรักษาและมีการเสื่อมเสียเพิ่มขึ้นไม่สามารถนำมารับประทานได้หลังจากเก็บไว้เป็นเวลา 8 วัน (Stanby and Olcott, 1963; Banks *et al*., 1980) โดยปริมาณ TVB-N ที่เพิ่มขึ้นเป็นผลรวมของสารแอมโมเนีย ไดเมทธิลเอมีนไตรเมทธิลเอมีนและสารประกอบเอมีนที่ระเหยได้ โดยทั่วไปมักพบแอมโมเนียปริมาณเล็กน้อยในช่วงสัปดาห์แรกของการเก็บรักษาสัตว์น้ำในน้ำแข็ง และด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ระหว่างการเก็บรักษา โดยอาจเกิดจากกระบวนการกำจัดหมู่เอมีน (deamination) ของกรดอะมิโน สำหรับปริมาณ TMA-N ที่เพิ่มขึ้น สามารถเกิดขึ้นได้จากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ซึ่งจะมีบทบาทในการเปลี่ยนไตรเมทธิลเอมีนออกไซด์ (TMAO) เปลี่ยนแปลงเป็น TMA โดยจุลินทรีย์สามารถสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวกับการผลิต TMA (Jacober and Rand, 1982) รวมทั้งเอนไซม์ในสัตว์น้ำก็มีบทบาทในการเปลี่ยน TMAO เป็น TMA เช่นกัน (Sikorski *et al*., 1990) นอกจากนี้ปลาทะเลจำพวก gadoid ได้แก่ ปลาคอด (cod) การเน่าเสียเกิดจากปริมาณ TMAO ลดลงและเปลี่ยนเป็นไดเมทธิลามีน (dimethylamine, DMA) และฟอร์มาลดีไฮด์ (formaldehyde, FA) โดยเอนไซม์ไตรเมทธิล เอมีนออกไซด์เมทธิลเลส (TMAO demethylase) ภายในกล้ามเนื้อปลา (Hebard *et al*., 1982 อ้างโดย Magnusson and Martinsdottir, 1995)

นอกจากนี้ ค่าความเป็นกรดด่างของปลาปากคมมีค่าเริ่มต้นสูงกว่าปลาตาหวาน และระหว่างการเก็บรักษาปลาทั้งสองชนิดมีการเพิ่มขึ้นของค่าใกล้เคียงกัน (Table1) ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเกิดเป็นสารประกอบด่างที่ระเหยได้ ดังจะเห็นได้จากปริมาณ TVB-N และปริมาณ TMA-N ที่เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (Figure 1 และ 2 ตามลำดับ)

1.2 การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของโปรตีนแอกโตไมโอซินธรรมชาติจากกล้ามเนื้อปลา

จากการศึกษารูปแบบของโปรตีนแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่สกัดได้จากกล้ามเนื้อปลาตาหวานและกล้ามเนื้อปลาปากคม ซึ่งเก็บรักษาในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ เป็นเวลา 14 วัน โดย SDS-PAGE ดังแสดงใน Figure 3 และ 4 พบว่าไมโอซินเส้นหนักมีปริมาณลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งนานขึ้น และปริมาณการลดลงอย่างชัดเจนหลังจากเก็บรักษานานกว่า 8

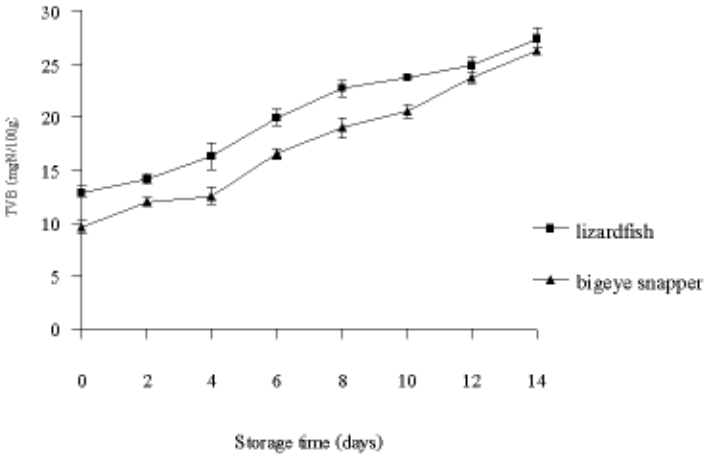

Figure 1. Changes of TVB-N in the bigeye snapper and lizardfish muscle during iced storage
***All values are the means of 6 determinations (3 determinations on each of 2 lots of fish).**

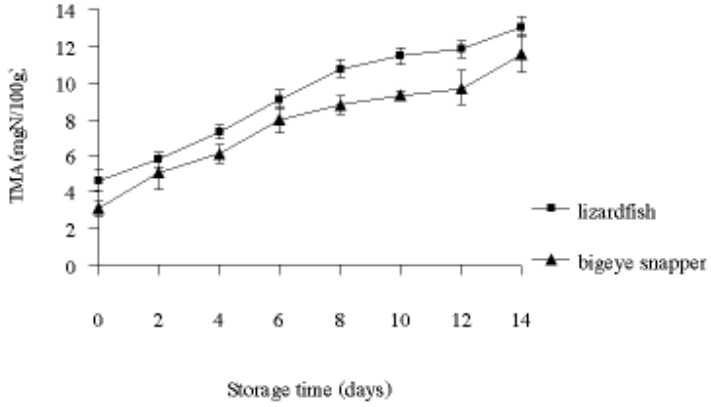

Figure 2. Changes of TMA in the bigeye snapper and lizardfish muscle during iced storage
***All values are the means of 6 determinations (3 determinations on each of 2 lots of fish).**

วัน ขณะที่แถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 45,000-36,000 ดาลตัน และน้อยกว่า 36,000 ดาลตัน มีความเข้มเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามไม่พบการเปลี่ยนแปลงของแอคตินตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา แสดงให้เห็นว่าอาจมีการย่อยสลายของไมโอซินเส้นหนักเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำลง โดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นหลังจากปลาตายส่วนใหญ่เกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเนส ซึ่งสามารถพบในกล้ามเนื้อ และเครื่องใน รวมทั้งเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับส่วนต่างๆ ของตัวปลา โดยทำหน้าที่ย่อยสลายโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของกล้ามเนื้อปลา กิจกรรมการย่อยสลายจะเพิ่มขึ้นเมื่อปลามีการเสื่อมเสียมากขึ้น An และคณะ (1994) รายงานว่าเอนไซม์คาเธปซินจากกล้ามเนื้อปลาแปซิฟิกไวติงก์ (Pacific whiting) สามารถย่อยสลายไมโอซินเส้นหนัก (MHC) ได้สูงสุด รองลงมาคือ โทรโปนิน T แอลฟา-โทรโปไมโอซิน และเบต้า-โทรโปไมโอซิน

Table1. Changes in pH of bigeye snapper and lizardfish muscle during iced storage

Storage time (days)	Bigeye snapper*	Lizardfish*
0	6.35±0.05g	6.52±0.03f
2	6.47±0.04f	6.60±0.02e
4	6.52±0.03e	6.66±0.01d
6	6.41±0.05d	6.52±0.03f
8	6.61±0.04c	6.76±0.02c
10	6.76±0.01b	6.79±0.04c
12	6.78±0.03fa	6.82±0.02b
14	6.81±0.01a	6.84±0.02a

***Means ± standard deviation in each column with the same letters are not significantly different (p<0.05).**

Benjakul และคณะ (2003a) รายงานว่า การเก็บรักษาปลาปากคม (*Saurida tumbil*) ในน้ำแข็งเป็นเวลา 15 วัน ทำให้เกิดเจลที่มีคุณภาพต่ำ เนื่องจากการย่อยสลายและการเสียสภาพของโปรตีนโดยตลอดการเก็บรักษาเป็นเวลา 15 วัน แถบไมโอซินเส้นหนักมีปริมาณลดลง ขณะที่ค่า TCA soluble peptide เพิ่มขึ้นมาก (วันที่ 0 มีค่า 0.5 ไมโครโมล/กรัมกล้ามเนื้อ และวันที่ 15 มีค่าประมาณ 4 ไมโครโมล/กรัมกล้ามเนื้อ) แสดงให้เห็นว่าเกิดการไฮโดรไลซิสของพันธะเปปไตด์เกิดขึ้นระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งเกิดจากเอนไซม์โปรติเนสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริลที่จัดอยู่ในกลุ่มซีสเตอีนและเซอรีนโปรติเนส รวมทั้งเอนไซม์โปรติเนสจากของเหลวซาร์โคพลาสมิก มีกิจกรรมสูงสุดที่ความเป็นกรดด่าง 8 และอุณหภูมิ 65ºC และจัดอยู่ในกลุ่มซีสเตอีนโปรติเนส (Benjakil *et al*., 2003b) ขณะที่การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพปลาตาหวาน (*Priacanthus tayenus*) ในระหว่างเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 15 วัน แสดงให้เห็นว่าค่า TCA soluble peptide มีค่าสูงขึ้นเล็กน้อย (วันที่ 0 มีค่า 0.5 ไมโครโมล/กรัมกล้ามเนื้อและวันที่ 15 มีค่าประมาณ 1.4 ไมโครโมล/กรัมกล้ามเนื้อ) และไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงของแถบไมโอซินเส้นหนักจาก SDS-PAGE (Benjakul *et al*., 2002) ดังนั้นเห็นได้ว่าการย่อยสลายของโปรตีนในปลาปากคมน่าจะมีกิจกรรมมากกว่าในปลาตาหวาน โดยการย่อยสลายกล้ามเนื้อในปลาตาหวานเกิดจากเอนไซม์โปรติเนสที่แตกต่างจากในปลาปากคมโดยโปรติเนสที่จับกับโปรตีนไมโอไฟบริลที่จัดอยู่ในกลุ่มเซอรีนโปรติเนส และเอนไซม์โปรติเนสจากของเหลวซาร์โคพลาสมิก มีกิจกรรมสูงสุดที่ความเป็นกรดด่าง 5.0 และอุณหภูมิ 60ºC และจัดอยู่ในกลุ่มเซอรีน ซีสเตอีน เมทาลโลโปรติเนส และโปรติโอโซม (proteosome) (Benjakul *et al*., 2003c)

จากการวิเคราะห์ปริมาณซัลฟ์ไฮดริลทั้งหมดพบว่ามีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น (Figure 5) เนื่องจากเกิดจากการสร้างพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bonds) โดยการออกซิเดชั่นของหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (Hayakawa and Nakai, 1985 อ้างโดย Benjakul *et al*., 1997) เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของปลาปากคมและปลาตาหวาน จะเห็นว่ามีความแตกต่างกันเล็กน้อย ปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริลทั้งหมดเริ่มต้นของปลาตาหวานมีปริมาณสูงกว่าในปลาปากคมเล็กน้อย และมีปริมาณที่เท่ากันหลังจากวันที่ 8 ของการเก็บรักษาในน้ำแข็ง การเปลี่ยนแปลงปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริลที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของปลา โดย Buttkus (1970) กล่าวว่าไมโอซินจากปลาคอดมีการรวมกลุ่ม (aggregation) และการเกิดออกซิเดชั่นของกลุ่มซัลฟ์ไฮดริล (SH group) น้อยกว่าในไมโอซินจากปลาเทราท์ (trout) และปลาแรบบิท

จากการศึกษาค่าไฮโดรโฟบิกซิตี (Hydrophobicity) ของโปรตีนแอกโตไมโอซินที่สกัดได้จากกล้ามเนื้อปลาตาหวานและปลาปากคม ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 14 วัน ที่ระยะเวลาต่างๆ (Figure 6) พบว่าค่า

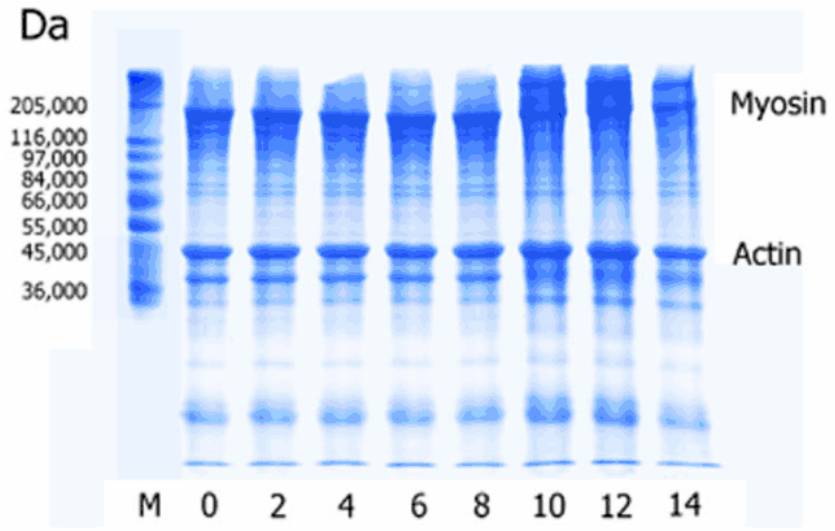

Figure 3. SDS-PAGE (10% polyacrylamide gel) patterns of natural actomyosin from bigeye snapper during iced storage. Numbers designate storage time. M, High molecular weight protein standard

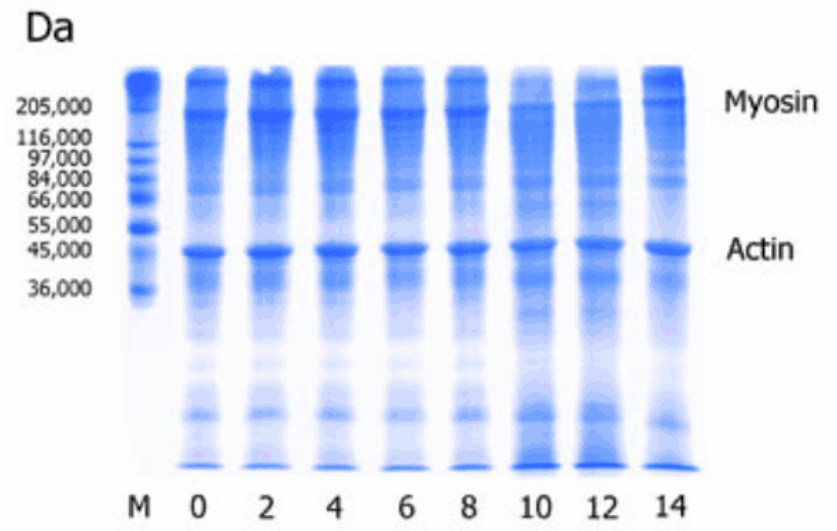

Figure 4. SDS-PAGE (10% polyacrylamide gel) patterns of natural actomyosin from lizard fish during iced storage. Numbers designate storage time. M, High molecular weight protein standard

SoANS ของปลาตาหวานและปลาปากคมมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 14 ของการเก็บรักษา แสดงให้เห็นว่าในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน (Kato and Nakai, 1980; Roura *et al*., 1992) เนื่องจากการโผล่ของหมู่ไฮโดรโฟบิก (hydrophobic group) จากภายในโมเลกุลที่เกิดจากการแปลงสภาพของโปรตีน (denaturation) หรือเกิดจากการแตกสลาย (degradation) (Multilangi *et al*., 1996; Li-Chan *et al*., 1985) โดยการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมีผลทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำ และความ

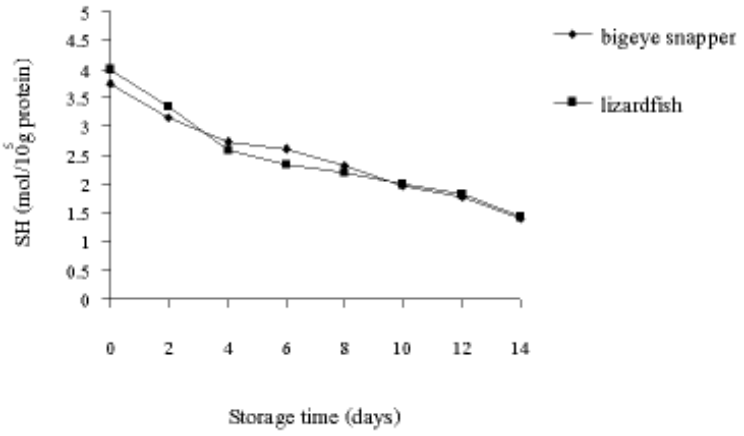

Figure 5. Total sulfhydryl content of natural actomyosin from bigeye snapper and lizardfish during iced storage (total SH was calculated from absorbance at 412 nm using the molar extinction coefficient of 13,600 M^{-1} cm^{-1} for 2 - nitro - 5 - thiobenzoic acid).
***All values are the means of 6 determinations (3 determinations on each of 2 fish lots).**

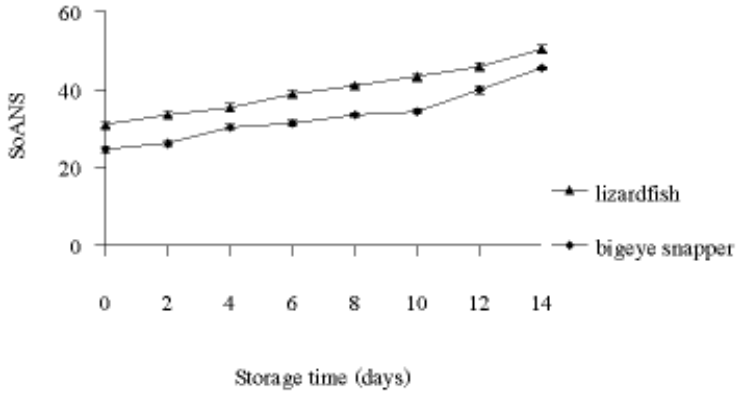

Figure 6. Hydrophobicity (SoANS) of natural actomyosin from bigeye snapper and lizardfish during iced storage.
***All values are the means of 6 determinations (3 determinations on each of 2 fish lots).**

สามารถในการเกิดเจลของซูริมิลดลง (Benjakul *et al.*, 1997)

นอกจากนี้ การเก็บรักษาในน้ำแข็งยังส่งผลต่อค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (Emulsion capacity, EC) ของโปรตีนแอกโตไมโอซิน ซึ่ง EC เป็นค่าที่บอกถึงปริมาตรสูงสุดของน้ำมันที่เกิดการอิมัลซิฟายด์กับปริมาณโปรตีนก่อนเกิดการแยกชั้นภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (Hill, 1996) จาก Figure 7 แสดงให้เห็นว่าค่า EC ของโปรตีนแอกโตไมโอซินจากปลาตาหวานลดลงหลังเก็บรักษาเป็นเวลา 6 วัน ขณะที่ค่า EC จากปลาปากคมลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาโดยค่า EC ของปลาปากคมลดลงมากกว่าค่า EC ของปลาตาหวานเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งนานขึ้น ($P<0.05$) Sarma และคณะ (1999) กล่าวว่า ปริมาณโปรตีนที่ละลายในน้ำ

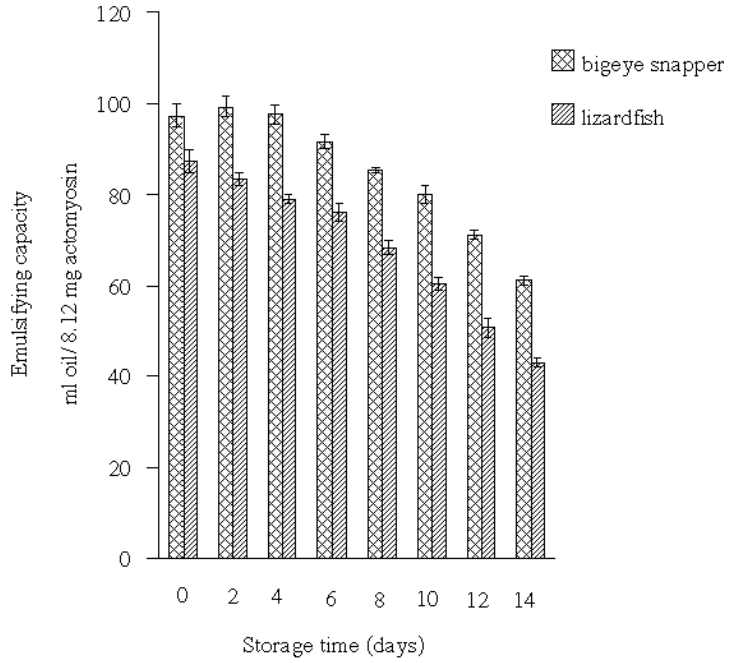

Figure 7. Emulsifying capacity (ml of oil / 8.12 mg actomyosin) of natural actomyosin from bigeye snapper and lizardfish during iced storage.
***All values are the means of 6 determinations (3 determinations on each of 2 fish lots).**

และปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในเกลือของปลาพิงค์เพิร์ช (*Nemipterus japonicus*) และปลาซาร์ดีน (*Sardinella longiceps*) มีค่าลดลงเมื่อเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 16 และ 20 วัน ตามลำดับ ซึ่งปริมาณโปรตีนดังกล่าวมีผลต่อการลดลงของค่า EC ค่าความหนืด ค่าความสามารถในการจับกับน้ำ และการเพิ่มขึ้นของค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังทำให้สุก การศึกษาของ Colmenero และ Borderias (1983) แสดงให้เห็นว่าค่า EC ค่าการละลายของโปรตีนและค่าความหนืดของกล้ามเนื้อปลาฮอร์สแมคเคอเรล (horse mackerel) และปลาบลูไวท์ติง (blue whiting) มีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด และมีค่าลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20ºC ในเวลา 8 เดือน การลดลงของค่า EC ของเนื้อปลาเป็นผลมาจากการเสียสภาพและการรวมกลุ่ม (aggregation) ของโปรตีนที่เกิดจากการแช่เยือกแข็ง Reddy และ Srikar (1991) พบว่าค่า EC ของเนื้อปลาพิงค์เพิร์ชบดลดลงหลังจากการเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 5 วัน เป็นผลมาจากการสูญเสียความสามารถในการละลายของโปรตีนที่เกิดจากการเสียสภาพของโปรตีน นอกจากนี้ ค่าไฮโดรโฟบิกซิตี้พื้นผิว (surface hydrophobicity) ของโปรตีนมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า Emulsifying activity และมีผลต่อการลดแรงตึงผิวของอิมัลชัน (Kato and Nakai, 1980) Li-Chan และคณะ (1985) พบว่า ทั้ง aromatic hydrophobicity และ aliphatic hydrophobicity เป็นตัวบ่งชี้ถึงค่าความคงตัวในอิมัลชัน (emulsifying stability index) และคุณสมบัติการจับตัวกับไขมันของโปรตีนกล้ามเนื้อที่ละลายได้ในเกลือจากการทดลองแม้ว่าค่าไฮโดรโฟบิกซิตี้ เพิ่มขึ้น (Figure 6) แต่พบว่าค่า EC ของกล้ามเนื้อปลา และโปรตีนแอกโตไมโอซินจากกล้ามเนื้อปลาทั้ง 2 ชนิดมีค่าลดลง ดังนั้นการลดลงของความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ได้จากการเสียสภาพของโปรตีนขณะเก็บรักษาในน้ำแข็งจึงอาจจะเป็นสาเหตุสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงค่า EC Benjakul และคณะ (2003a) พบว่า การเก็บรักษาปลาปากคมในน้ำแข็งนานขึ้น ทำให้ปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์สูงขึ้น

โดยสารดังกล่าวก่อให้เกิดการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน โดยเร่งการเชื่อมประสานของโปรตีน ทำให้น้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้น มีผลทำให้โปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ ได้แก่ ความสามารถในการละลาย และความสามารถในการสกัดโปรตีนไมโอไฟบริล (Mackie, 1994) นอกจากนี้การลดลงของปริมาณของหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (Figure 5) เนื่องจากการสร้างพันธะไดซัลไฟด์ โดยการเกิดออกซิเดชั่นของหมู่ซัลฟ์ไฮดริล ทำให้การรวมตัวกันของโปรตีน ส่งผลให้การละลายโปรตีนลดลง และทำให้สภาวะการเกิดอิมัลชันไม่เหมาะสมส่งผลให้ค่า EC มีค่าลดลง (Zayas, 1997)

2. การศึกษาคุณภาพไส้กรอกอิมัลชันจากปลาตาหวานและปลาปากคมที่ผ่านการเก็บรักษาในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่าง ๆ

ค่า TPA และค่าต้านแรงเฉือน (shear force) ของไส้กรอกอิมัลชันจากเนื้อปลาตาหวาน มีค่าสูงกว่าจากเนื้อปลาปากคม และระยะเวลาในการเก็บรักษาในน้ำแข็งที่นานขึ้น ส่งผลให้ไส้กรอกอิมัลชันที่ได้จากปลาทั้งสองชนิดมีคุณภาพเนื้อสัมผัสโดยวิธี TPA ได้แก่ ค่าความแข็ง (hardness), ค่าความยึดเกาะ (cohesiveness), ค่าความหยุ่นตัว (gumminess), ค่าความคงทนต่อการบดเคี้ยว (chewiness) และค่าต้านแรงเฉือน (shear force) ลดลง ($P<0.05$) โดยไม่มีผลต่อค่าการยึดติด (adhesiveness) ($P>0.05$) (Table 2 และ 3 ตามลำดับ)

ไส้กรอกอิมัลชันเป็นอิมัลชันประเภทเจล (gel-type emulsion) ซึ่งไขมันกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอในเมตริกซ์ของเจลโปรตีน และความคงตัวของอิมัลชันขึ้นอยู่กับการกระจายตัวของอนุภาคไขมัน และความแข็งแรงของเจล (Zayas, 1997) ดังนั้นคุณภาพด้านเนื้อสัมผัสของไส้กรอกปลาอิมัลชันที่เตรียมจากเนื้อปลาที่เก็บรักษาในน้ำแข็งมีคุณภาพลดลงนั้นสัมพันธ์กับการเสียสภาพของโปรตีนซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการเป็นอิมัลชันดังที่กล่าวข้างต้น นอกจากนี้ผลของการย่อยสลาย

Table 2. Texture Profile Analysis (TPA) and shear force of emulsion fish sausage from bigeye snapper during iced storage

Storage time (days)	Hardness (g)	Adhesiveness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness	Shear force (g)
0	4179.30a	73.47ns	0.95ns	0.59a	2485.83a	2347.00a	1741.02a
4	3804.47b	66.05ns	0.94ns	0.59a	2250.68b	2113.53b	1581.60b
8	3802.91b	60.59ns	0.94ns	0.58a	2215.85b	2075.86b	1544.53b
12	3729.56b	52.93ns	0.93ns	0.49b	1814.07c	1688.61c	1462.83b

***All values are the means of 12 determinations (6 determinations on each of 2 fish lots). The values in each column with the same letters are not significantly different ($p<0.05$).**

Table 3. Texture Profile Analysis (TPA) and shear force of emulsion fish sausage from lizardfish during iced storage

Storage time (days)	Hardness (g)	Adhesiveness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness	Shear force (g)
0	3096.74a	19.59ns	1.18a	0.25a	733.45a	867.19a	734.42a
4	2445.47b	15.16ns	0.91b	0.22ab	528.98b	481.29b	522.78b
8	2443.20b	7.93ns	0.87b	0.21ab	515.74b	452.29b	445.48c
12	2389.70b	7.46ns	0.87b	0.20b	471.79b	414.58b	413.84c

***All values are the means of 12 determinations (6 determinations on each of 2 fish lots). The values in each column with the same letters are not significantly different ($p<0.05$).**

ไมโอซินที่เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ดังแสดงในผลของ SDS-PAGE (Figure 3 และ 4) มีผลทำให้สายโซ่ของไมโอซินสั้นลง ดังนั้นในการเกิดเจลจึงมีการสร้างพันธะระหว่างโปรตีนลดลง ทำให้ได้เจลที่มีความแข็งแรงต่ำ (An *et al*., 1996) Niwa (1992 อ้างโดย An *et al*., 1996) ยังกล่าวว่าโครงสร้างของโปรตีนในสภาพธรรมชาติ (native protein) มีความสำคัญมากต่อการเกิดเจลที่ดี ดังนั้นไมโอซินที่เสียสภาพก่อนการเกิดเจลจึงไม่สามารถได้เจลที่แข็งแรงที่สุด จะเห็นว่ากล้ามเนื้อปลาที่ได้จากการเก็บรักษาในน้ำแข็งนั้น โปรตีนเกิดการเสียสภาพเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บ ดังนั้นไส้กรอกปลาอิมัลชันที่ได้จึงเกิดจากการสร้างเจลที่ไม่สมบูรณ์ไม่สามารถเก็บกักน้ำและไขมันภายในเมตริกซ์ของเจลโปรตีนได้ ทำให้เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสที่อ่อนนุ่มลง

เมื่อเปรียบเทียบค่าลักษณะเนื้อสัมผัสของไส้กรอกจากปลาปากคมและปลาตาหวานพบว่าไส้กรอกจากปลาตาหวานมีค่าดีกว่าไส้กรอกปลาปากคม เนื่องจากเนื้อปลาปากคมมีกิจกรรมของเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนสูงดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น (Benjakul *et al*., 2003a) ทำให้การย่อยสลายเพิ่มขึ้นเมื่อปลามีระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น การย่อยสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อจะส่งผลให้คุณภาพของเนื้อปลาลดต่ำลงในขณะที่เก็บรักษาปลาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เนื้อสัมผัสที่ได้เปลี่ยนแปลงไป คือ มีลักษณะที่อ่อนตัวและนิ่ม ดังนั้นค่าวิเคราะห์เนื้อสัมผัสที่ได้จึงลดลงด้วย (Ando *et al*., 1999) สอดคล้องกับการศึกษาความสามารถการเกิดเจลของซูริมิจากปลาปากคม (Benjakul *et al*., 2003a) และปลาตาหวาน (Benjakul *et al*., 2002) มีค่าความแข็งแรง และความยืดหยุ่นลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาในน้ำแข็ง โดยเจลจากปลาตาหวานมีค่าแรงเจาะทะลุลดลง 79.6-81.3% หลังเก็บรักษา 15 วัน ขณะที่เจลจากปลาปากคมมีค่าลดลง 69% หลังเก็บรักษาเพียง 3 วัน เนื่องจากปลาทั้งสองชนิดเกิดการย่อยสลายตัวเองของไมโอซินโดยกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนสที่มีกิจกรรมต่างกันดังที่กล่าวแล้วข้างต้น รวมทั้งเกิดการสะสมฟอร์มาลดีไฮด์เพิ่มขึ้นในปลาปากคม ซึ่งสามารถรวมตัวกับบางหมู่ของโปรตีนโซ่ข้าง (protein side chain) โดยสร้างพันธะเมทธิลีน (methylene bridge) ภายใน และระหว่างโมเลกุลโปรตีน ปฏิกิริยาดังกล่าวส่งเสริมให้โปรตีนเกิดการรวมกลุ่มและลดความสามารถในการละลาย ส่งผลให้ความสามารถในการเกิดเจลลดลง (Benjakul *et al*., 2003a)

นอกจากนี้ ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังทำให้สุก (cooking loss) ของไส้กรอกอิมัลชันจากเนื้อปลาตาหวานและปลาปากคม มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ($P<0.05$) (Table 4) ซึ่งเป็นผลจากการสูญเสียสภาพของโปรตีนในระหว่างการเก็บรักษา ทำให้ความสามารถในการเก็บกักน้ำของโปรตีนลดลง (Reddy *et al*., 1995; Sarma *et al*., 2000) รวมทั้งการรายงานของ Pearson และ Tauber (1984) พบว่าการผลิตไส้กรอกปลาอิมัลชันจากโปรตีนที่เสียสภาพมีผลทำให้ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังทำให้สุกมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากน้ำในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกมีปริมาณคงที่ในขณะที่ปริมาณไมโอไฟบริลลา

Table 4. Cooking loss of emulsion fish sausage from bigeye snapper and lizardfish during iced storage

Storage time (days)	% Cooking loss	
	Bigeye snapper*	Lizardfish*
0	6.07±0.00d	7.13±0.03d
4	6.53±0.04c	7.75±0.09c
8	7.15±0.03b	8.18±0.13b
12	7.81±0.17a	8.26±0.15a

*** Means ± standard deviation in each column with the same letters are not significantly different ($p<0.05$).**

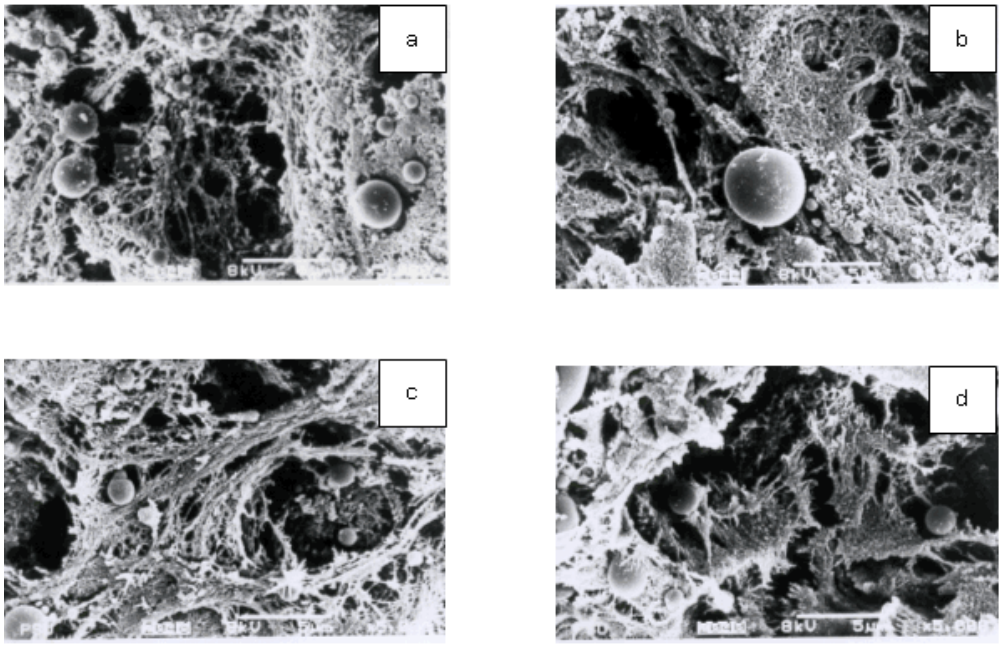

Figure 8. Scanning electron microscope image of emulsion fish sausage from bigeye snapper kept in ice for 0 (a), 4 (b), 8 (c) and 12 (d) days at magnification of 5000X .

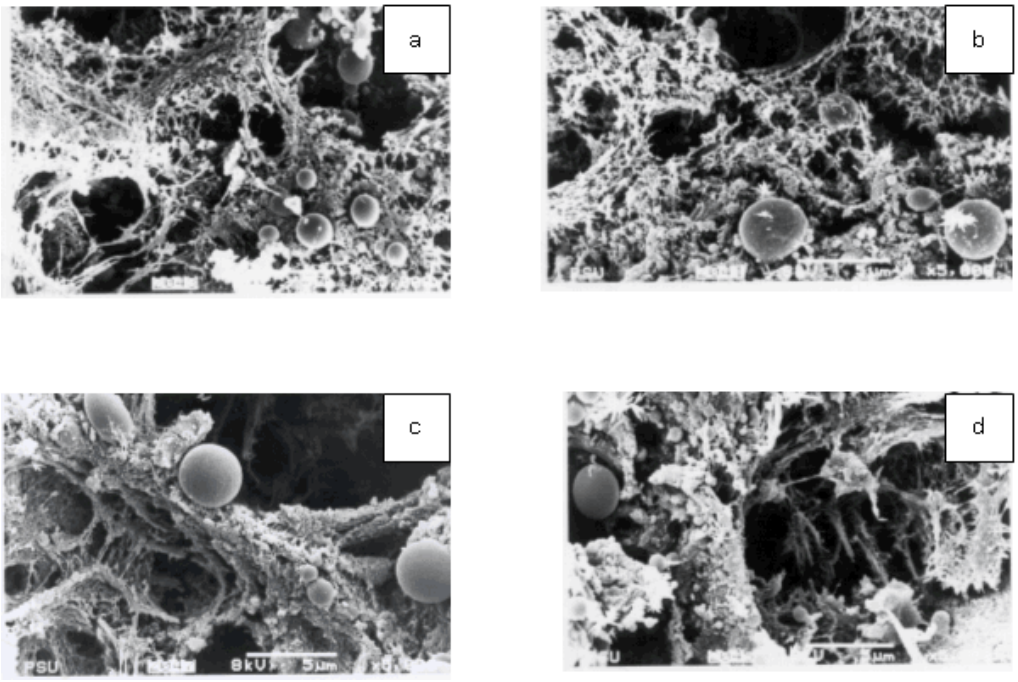

Figure 9. Scanning electron microscope image of emulsion fish sausage from lizardfish kept in ice for 0 (a), 4 (b), 8 (c) and 12 (d) days at magnification of 5000X .

โปรตีนมีจำกัด ทำให้ผลิตภัณฑ์มีน้ำอิสระมากขึ้น รวมทั้งโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไขมันไม่ทั่วถึง เมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อนจะมีการสูญเสียทั้งส่วนของน้ำและไขมันเนื่องจากน้ำอิสระและอิมัลชันบางส่วนที่ไม่คงตัว

3. โครงสร้างจุลภาคของไส้กรอกปลาอิมัลชัน

การตรวจสอบโครงสร้างจุลภาคของไส้กรอกปลาอิมัลชันที่เตรียมจากเนื้อปลาตาหวาน (Figure 8) และจากเนื้อปลาปากคม (Figure 9) ที่ผ่านการเก็บในน้ำแข็งเป็นเวลา 0, 4, 8 และ 12 วัน พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โครงสร้างภายในเนื้อสัมผัสของไส้กรอกที่เตรียมจากปลาทั้ง 2 ชนิดมีช่องว่างใหญ่ขึ้นความหนาของเส้นโครงข่ายโปรตีนเพิ่มขึ้นและความต่อเนื่องของเส้นใยลดลง สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสที่วัดโดย TPA (Table 2 และ 3) ของไส้กรอกที่เตรียมจากปลาทั้งสองชนิดมีค่าลดลง ในขณะที่ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังทำให้สุก (Table 4) มีค่าเพิ่มขึ้นตามลำดับเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น เป็นที่สังเกตได้ว่าโครงข่ายโปรตีนของไส้กรอกที่ทำจากปลาตาหวานโดยรวมมีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าไส้กรอกที่ทำจากปลาปากคม ยกเว้นที่ระยะเวลาเก็บ 12 วัน จะไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างโครงสร้างภายในของไส้กรอกจากปลาทั้ง 2 ชนิด (Figure 8(d) และ 9(d)) เนื่องจากเนื้อปลาทั้งสองมีคุณภาพต่ำมาก

สรุป

การเก็บรักษากล้ามเนื้อปลาตาหวานและกล้ามเนื้อปลาปากคมในน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 14 วัน ส่งผลให้ปลามีความสดลดลง โดยมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณด่างที่ระเหยได้ (TVB-N) และไตรเมทธิลเอมีน (TMA-N) ปริมาณความเป็นกรดด่าง ปริมาณไฮโดรโพบิกซิตี้ รวมทั้งปริมาณไมโอซินของกล้ามเนื้อจากปลาทั้ง 2 ชนิด เกิดการย่อยสลายมากขึ้น ขณะที่ปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริลมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น และค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชันของปลาตาหวานมีค่าลดลงหลังเก็บรักษาเป็นเวลา 6 วัน ขณะที่ค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชันจากปลาปากคมมีค่าน้อยกว่าปลาตาหวานและมีค่าลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ไส้กรอกปลาอิมัลชันที่ได้จากเนื้อปลาตาหวานและปลาปากคมที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 4 8 และ 12 วัน มีค่าเนื้อสัมผัสลดลงเมื่อเทียบกับไส้กรอกที่เตรียมจากปลาสด ยกเว้นค่าการยึดติด ขณะที่ค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังทำให้สุก มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น และโครงสร้างจุลภาคของไส้กรอกปลาทั้ง 2 ชนิดมีช่องว่างใหญ่ขึ้น ความหนาของเส้นโครงข่ายโปรตีนเพิ่มขึ้นและความต่อเนื่องของเส้นใยลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น และโครงข่ายโปรตีนของไส้กรอกที่ทำจากปลาตาหวานโดยรวมมีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าไส้กรอกที่ทำจากปลาปากคม เมื่อพิจารณาจากปริมาณ TVB-N และ TMA-N พบว่า ปลาตาหวานและปลาปากคมมีการเสื่อมเสียไม่เหมาะในการนำแปรรูปหลังเก็บเป็นเวลา 10 วัน และ 8 วัน ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

สุภาพร โชคณาโรจน์วงศ์. 2538. การผลิตไส้กรอกอิมัลชันจากปลาสวายและปลานิล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

An, H., Peters, M.Y. and Seymour, T.A. 1996. Roles of endogenous enzymes in surimi gelation. Trend Food Sci. Technol. 7: 321-326.

An, H., Weerasinghe, V., Seymour, T.A. and Morrissey, M.T. 1994. Cathepsin degradation of Pacific whiting surimi protein. J. Food Sci. 59: 1013-1017.

Ando, M., Nishiyabu, A., Tsukamasa, Y. and Makinodan, Y. 1999. Post-mortem softening of fish muscle during chilled storage as affected by bleeding. J. Food Sci. 64: 423-428.

Banks, H., Nickelson, R. and Finne, G. 1980. Shelf life studies on carbon dioxide packaged finfish from the gulf of Mexico. J. Food Sci. 45: 157-162.

Benjakul, S., Seymour, T.A., Morrissey, M.T. and An, H. 1997. Physicochemical changes in pacific whiting muscle proteins during iced storage. J. Food Sci. 62: 729-733.

Benjakul, S., Visessanguan, W., Riebroy, S., Ishizaki, S. and Tanaka, M. 2002. Gel-forming properties of surimi produced from bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and *P. macracanthus*, stored in ice. J. Sci. Food Agric. 82: 1442-1451

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

Benjakul, S., Visessanguan, W. and Tueksuban, T. 2003b. Heat-activated proteolysis in lizardfish (*Saurida tumbil*) muscle. Food Res. Inter. 36: 1021-1028

Benjakul, S., Leelapongwattana, K. and Visessanguan, W. 2003c. Comparative study on proteolysis of two species of bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*. J. Sci. Food Agric. 83: 871-879

Bourne, M.C. 1978. Texture profile analysis. Food Technol. 32(4): 62-66 ,72.

Buttkus, H. 1970. Accelerated denaturation of myosin in frozen solution. J. Food Sci. 35: 558-562.

Colmenero, F.J. and Borderias, A.J. 1983. A study of the effects of frozen storage on certain function properties of meat and fish protein. J. Food Technol. 18(6): 731-737.

Cross, H.R., Stanfield, M.S. and Frank JR. W.J. 1978. Objective measurements of texture in ground beef patties. J. Food Sci. 43: 1510-1513.

Hill, S.E. 1996. Emulsions. In Methods of Testing Protein Functionality. (Hall, G.M., ed.) p. 153-185. Chapman & Hall. London.

Jacober, L.F. and Rand, A.G. 1982. Biochemical evaluation of seafood. In Chemistry & Biochemistry of Marine Food Products. (Martin, R.E., Flick, G.J., Hebard, C.E. and Ward, D.R., eds) p. 347-365. The AVI publishing company, Inc. Westport.

Jone, K.W. and Mandigo, R.W. 1982. Effects of chopping temperature on the microstructure of meat emulsions. J. Food Sci. 47: 1930-1935.

Kato, A. and Nakai, S. 1980. Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins. Biochem. Biophys. Acta. 624: 13-20.

Kondaiah, N., Anjaneyulu, A.S.R., Rao, V.K., Sharma, N. and Joshi, H.B. 1985. Effect of salt and phosphate on the quality of buffalo and goat meats. Meat Sci. 15: 183- 192.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of head of bacteriophage T4. Nature. 277: 680-685.

Li-Chan, E., Nakai, S. and Wood, D.F. 1985. Relationship between functional (fat binding, emulsifying) and physicochemical properties of muscle proteins. Effect of heating, freezing, pH and species. J. Food Sci. 50: 1034-1040.

MacDonald, G.A. and Lanier, T.C. 1994. Actomyosin stabilization to freeze-thaw and heat denaturation by lactate salts. J. Food Sci. 59: 101-105.

Magnusson, H. and Martinsdottir, E. 1995. Storage quality of fresh and frozen-thawed fish in ice. J. Food Sci. 60: 273-278.

Mackie, I.M. 1994. Fish protein. In New and Developing Sources of Food Proteins. (Hudson, B.F.J., ed.) p.95-143. Chapman & Hall. London.

Miyaki, M. and Kawakami, K. 1966. Study on fish meat jellies (Fish sausage)-VIII. Effect of amino acids on the elasticity of fish meat jellies-I. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 32: 446-449.

Multilangi, W.A.M., Panyam, D. and Kilara, A. 1996. Functional properties of hydrolysates from proteolysis of heat - denatured whey protein isolate. J. Food Sci. 61: 270-274.

Ng, C.S. 1987. Determination of Trimethylamine Oxide (TMAO-N), Trimethylamine (TMA-N), Total Volatile Basis Nitrogen (TVB-N) by Conway's Method. In Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish Protein. (Hasegawa, H. ed.) p. B3.1-3.8. Marine Fisheries Research Department. SEAFDEC. Singapore.

Ockerman, H.W. 1989. Sausage and Processed Meat Formulation. AVI Publishing Co. Inc. Westport.

Pearson, A.M. and Tauber, F.W. 1984. Processed Meats. 2nd ed. AVI Publishing Co. Inc. Westport.

Reddy, G.V.S. and Srikar, L.N. 1991. Preprocessing iced storage effects on functional properties of fish mince protein. J. Food Sci. 56: 965-968.

Reddy, G.V.S., Srikar, L.N., Khuntia, B.K. and Vinaykumar, N. 1995. Effect of pre-process storage in ice on the chemical characteristics of fish mince. J. Food Sci. Technol. 32: 315-319.

Roura, S.I., Saavedra, J.P., Truco, R.E. and Crupkin, M. 1992. Conformational change in actomyosin from post-spawned Hake stored on ice. J. Food Sci. 57: 1109-1111.

Sarma, J., Srikar, L.N. and Vidya, S.R.G. 1999. Effect of ice storage on the functional properties of pink perch and oil sardine meat. J. Sci. Food Agric. 79: 169-172

Sarma, J., Srikar, L.N. and Vidya, S. R.G. 2000. Change in the functional properties of dry salted pink perch and oil sardine meat during storage. J. Aquatic Food Technol. 9: 5-15.

Sikorski, Z.E., Kolakowsku, A. and Burt, J.R. 1990. Post harvest Biochemical and Microbial Changes. In Seafood Resources, Nutrition Composition, and preservation. p. 30-90. CRC Press, Inc. Boca Raton.

Sompongse, W., Itoh, Y. and Obatake, A. 1996. Effect of cryoprotectants and a reducing reagent on the stability of actomyosin during ice storage. Fish. Sci. 62: 73-79.

Stanby, M.E. and Olcott, H.S. 1963. Composition of Fish. In Industrial Fishery Technology. (Dassow, J.A., ed.) Chapman & Hall. London.

Swift, C.E., Locket, C. and Fryar, A.J. 1961. Comminuted meat emulsions: the capacity of meats for emulsifying fat. Food Technol. 15(11): 468-473.

Tanikawa, E. 1971. Fish Sausage and Ham Industry. In Marine Products in Japan. (Tanikawa, E., ed.) p.373-421. Koseisha-Koseikaku Company. Hokkaido.

Zayas, J.F. 1997. Emulsifying Properties of Proteins. In Functionality of Proteins in Food. p. 134-227. Springer - Verlag, Berlin.