



รายงานการวิจัย

ผลของการเก็บรักษาในน้ำแข็งต่อคุณภาพโปรตีนและลิพิดของปลาและ
เนื้อปลาบดล้างน้ำที่เตรียมจากปลาเกล็ดเงิน

(Effect of postharvest ice storage on protein and lipid
quality of silver carp and its washed mince)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



รายงานการวิจัย

ผลของการเก็บรักษาในน้ำแข็งต่อคุณภาพโปรตีนและลิพิดของปลาและ
เนื้อปลาบดล้างน้ำที่เตรียมจากปลาเกล็ดเงิน
(Effect of postharvest ice storage on protein and lipid
quality of silver carp and its washed mince)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ จิรวัดน์ ยงสวัสดิกุล

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

นางกาญจนา ธรรมนุ

สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2559-2560

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

มกราคม 2565

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้ทุนสนับสนุนโครงการวิจัยปีงบประมาณ พ.ศ. 2559-2560 แก่โครงการวิจัยนี้ ขอขอบคุณสำนักงานประมง จังหวัดขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อปลาเกล็ดเงินสำหรับการศึกษาค้นคว้าวิจัย ขอขอบคุณบริษัท อนุสรณ์มหาชัยซูริมิ จำกัด และบริษัท อันดามันซูริมิ อินดัสทรีส์ จำกัด ที่เกื้อหนุนเนื้อปลาบดล้างน้ำ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำอาคารเครื่องมือ 3 และ 10 ที่อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ระดับสูง ขอขอบคุณสถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน) ที่ให้ความอนุเคราะห์การใช้เครื่องมือบนระบบลำเลียงแสงที่ 4.1 ขอขอบคุณคุณศุภกานูจน์ บุญอยู่ เจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไปสถานวิจัย สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สำหรับการปฏิบัติงานทางการเงินและบัญชีของโครงการวิจัย ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัยโครงการที่อุทิศตนเพื่อปฏิบัติงานวิจัยอย่างวิริยะอุตสาหะ และคุณกฤษณพงศ์ แก้วบังเกิด ที่ได้เรียบเรียง/จัดทำรูปเล่มรายงานจนเสร็จสิ้นสมบูรณ์ สุดท้ายนี้ขอขอบคุณผู้ให้ความช่วยเหลือทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้อง ซึ่งไม่สามารถกล่าวนามท่านได้ทั้งหมด คณะผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

คณะผู้วิจัย

มกราคม 2565

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย คือ ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของโปรตีนและไขมันในปลาเกล็ดเงิน (*Hypophthalmichthys molitrix*) ที่เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง ที่มีผลกระทบต่อสมบัติทางเคมี-กายภาพและเนื้อสัมผัสเมื่อนำมาผลิตเนื้อปลาบดล้างน้ำ นอกจากนี้ศึกษาการใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier Transform-infrared spectroscopy, FT-IR) และฟูเรียร์ทรานสฟอร์มรามาน (FT-Raman) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพเนื้อสัมผัสของเนื้อปลาบดล้างน้ำและคุณภาพความสดของวัตถุดิบ

ค่าเคเพิ่มขึ้นจาก 15.8 จนถึง 85.0% หลังจากเก็บปลาในน้ำแข็งเป็นเวลา 14 วัน ค่าพื้นที่ผิวไฮโดรโฟบิกของโปรตีนกล้ามเนื้อปลาเกล็ดเงินเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง และเนื้อปลาบดล้างน้ำที่ผลิตจากปลาที่เก็บรักษาในน้ำแข็งมีค่าเคและพื้นที่ผิวไฮโดรโฟบิกเพิ่มขึ้นตามวัตถุดิบเช่นกัน ปริมาณผลผลิตและสมบัติด้านเนื้อสัมผัสของเนื้อปลาบดล้างน้ำลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บวัตถุดิบ ผลการวิเคราะห์ FT-IR สเปกโทรสโกปีบ่งชี้ว่าปริมาณแอลฟา-ฮีลิกซ์ (α -helix) ของเนื้อปลาบดลดลงในขณะที่ปริมาณเบต้าชีท (β -sheet) เพิ่มขึ้น เมื่ออายุการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งนานขึ้น อายุการเก็บรักษาส่งผลให้กลุ่มอะมิโนแอโรมาติกเปิดตัวออก และการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ที่มากขึ้นทั้งในเนื้อปลาบด และเนื้อปลาบดล้างน้ำ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเบต้าชีทของเนื้อปลาบดและค่าความเข้รามานที่เลขคลื่น 828 cm^{-1} มีความสัมพันธ์กับค่าเค นอกจากนี้ปริมาณแอลฟาฮีลิกซ์และค่าความเข้รามานที่เลขคลื่น 621 และ 828 cm^{-1} ที่ตรวจวัดจากเนื้อปลาบดมีความสัมพันธ์กับสมบัติทางเนื้อสัมผัส

ปริมาณลิพิดทั้งหมด พอลิฟลิพิด กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะ (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวพันธะเดียว (Monounsaturated fatty acid, MUFA) ของหนังเนื้อส่วนท้อง เนื้อปลาบด ลดลงในระหว่างการเก็บรักษาปลาเกล็ดเงินในน้ำแข็งและในผลิตภัณฑ์เนื้อปลาบดล้างน้ำ กระบวนการล้างน้ำที่ใช้ในการผลิตเนื้อปลาบดล้างน้ำมีผลลดปริมาณลิพิดแต่เพิ่มความเข้มข้นของพอลิฟลิพิดในผลิตภัณฑ์ เนื้อส่วนท้องแสดงค่า TBARS สูงที่สุด ส่วนเนื้อปลาบดแสดงค่าต่ำสุด พบสารระเหยซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากการเกิดออกซิเดชันของไขมันจำนวน 4 10 5 และ 1 สารในหนัง เนื้อส่วนท้อง เนื้อปลาบด และเนื้อปลาบดล้างน้ำ ตามลำดับ ซึ่งเป็นสารประกอบแอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์ และคีโตน และมีปริมาณเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็ง

ผลจากงานวิจัยนี้บ่งชี้ว่าการแปรรูปซูริมิจากปลาเกล็ดเงินที่เก็บรักษาในน้ำแข็งควรดำเนินการภายใน 7 วันเพื่อที่จะได้ปริมาณผลผลิตและคุณภาพเจดที่ดี นอกจากนี้อินฟราเรด และรามานสเปกโทรสโกปีสามารถใช้ติดตามคุณภาพความสด การเปลี่ยนแปลงโครงร่างของโปรตีน และการเกิดออกซิเดชันของลิพิดของเนื้อปลาเกล็ดเงิน และยังสามารถใช้ประเมินสมบัติด้านเนื้อสัมผัสของเนื้อปลาบดล้างน้ำที่ผลิตจากปลาที่มีค่าความสดต่าง ๆ

Abstract

The objectives of this study were to elucidate biochemical changes of proteins and lipids in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) occurred during ice storage, which would affect the physico-chemical and textural properties of its respective washed mince. In addition, Fourier Transform-infrared spectroscopy (FT-IR) and FT-Raman were applied to establish relationship between textural properties of washed mince and freshness quality of its raw material.

The K-value increased from 15.8 to 85.0% after 14 d on ice. The surface hydrophobicity of silver carp muscle proteins increased during ice storage, and its respective thrice-washed mince showed the same trend. The yield and textural properties of washed mince continually decreased as the storage time was extended. FT-IR spectroscopy revealed that as storage time increased, the α -helix content of mince decreased, while the β -sheet content increased. Prolonged ice storage led to an exposure of buried aromatic amino acid residues and an increase in disulfide interchanges of mince and washed mince. Changes in the β -sheet structure and Raman intensity at 828 cm^{-1} observed in mince correlated well with the K-value. In addition, the α -helix content and Raman intensity at 621 and 828 cm^{-1} of raw washed mince showed a strong correlation with its textural properties.

Total lipid, phospholipid, polyunsaturated fatty acid (PUFA) and monounsaturated fatty acid (MUFA) contents of skin, belly flap, mince and their respective washed mince decreased with storage time in ice. Washing process decreased lipid content but concentrated phospholipid counterparts. Fish belly flap exhibited the highest TBARS value, while that of mince was lowest. Lipid oxidation products, a total of 4, 10, 5, and 1 volatile compounds in skin, belly flap, mince and washed mince, respectively, including alcohols, aldehydes and ketones, were increased during prolong storage.

The study revealed that silver carp should be processed to surimi within 7 d of ice storage to obtain a reasonably good yield and gel texture. In addition, infrared and Raman spectroscopy can possibly be utilized for monitoring freshness quality, protein conformational changes and lipid oxidation in silver carp and to estimate the textural properties of washed mince as affected by the freshness.

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
สารบัญ.....	ง-ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ซ
คำอธิบายสัญลักษณ์.....	ฅ-ญ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1-5
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	5
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	5-6
1.4 ข้อตกลงเบื้องต้น.....	6
1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย.....	6-7
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ปลาเกล็ดเงิน.....	8
2.2 ซูริมิ.....	8-10
2.3 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพเนื้อปลาระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง.....	10-12
2.4 องค์ประกอบของไขมันในเนื้อปลา.....	12-13
2.5 การเกิดออกซิเดชันของไขมันในซูริมิ.....	13-15
2.6 สเปกโตรสโกปีของการสัน.....	16-20
2.6.1 รามานสเปกโตรสโกปี.....	16
2.6.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนโดยรามานสเปกโตรสโกปี..	16-18
2.6.3 การศึกษาไขมันและการออกซิเดชันของไขมันโดยรามานสเปกโตรสโกปี.....	18-19
2.6.4 ฟลูออโรสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี.....	19
2.6.5 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนโดย ฟลูออโรสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี.....	19-20
2.6.6 การศึกษาไขมันและการออกซิเดชันของไขมันโดย ฟลูออโรสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี.....	20

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งต่อคุณภาพเนื้อปลาบดล้างน้ำ.....	21-25
3.1.1 การเตรียมตัวอย่างเนื้อปลาเกล็ดเงินบดล้างน้ำ.....	21
3.1.2 วิเคราะห์องค์ประกอบของกล้ามเนื้อ.....	21-22
3.1.3 ค่าเค (K-value)	22-23
3.1.4 วิเคราะห์ระดับการย่อยสลายตัวเอง.....	23
3.1.5 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน.....	23-24
3.1.6 สเปกโตรสโกปีของการสั่น.....	24-25
3.1.7 วิเคราะห์รูปแบบโปรตีนโดยวิธีเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส.....	25
3.1.8 การประเมินคุณภาพเจล.....	25
3.2 ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งต่อคุณภาพเนื้อปลาบดล้างน้ำ.....	26-29
3.2.1 การเตรียมตัวอย่าง.....	26
3.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันและกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ.....	26-27
3.2.3 เหล็กในรูปฮีมี (Heme iron)	28
3.2.4 การทดสอบ Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)	28
3.2.5 การวิเคราะห์สารประกอบที่ระเหยได้.....	28-29
3.2.6 สเปกโตรสโกปีของการสั่น.....	29
3.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	29
บทที่ 4 ผลการวิจัย	
4.1 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งต่อคุณภาพเนื้อปลาบดล้างน้ำ.....	30-47
4.1.1 คุณภาพความสดของปลา.....	30-31
4.1.2 องค์ประกอบทางเคมี.....	32-33
4.1.3 การสูญเสียโปรตีนและผลผลิตที่ได้.....	34-36
4.1.4 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน.....	36-37
4.1.5 สเปกโตรสโกปีของการสั่น.....	38-42
4.1.6 การประเมินคุณภาพของเจล.....	43-44

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัย (ต่อ)	
4.1.7 ความสัมพันธ์ระหว่างสเปกตราของการสั่นและคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ.....	44-47
4.2 การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งต่อ คุณภาพเนื้อปลาบดล้างน้ำ.....	48-62
4.2.1 การเปลี่ยนแปลงของไขมัน.....	48
4.2.2 ปริมาณเหล็กในรูปฮีมี (Heme content)	53
4.2.3 ค่า Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS).....	53
4.2.4 สารประกอบที่ระเหยได้.....	54-55
4.2.5 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มมามานเปกโตรสโกปี.....	56-57
4.2.6 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแอมพเททโทพัลรีเฟลกชันฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (FT-IR/ATR analysis).....	58-60
4.2.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก.....	61-62
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	
สรุปผลการวิจัย	63
บรรณานุกรม	64-78
ประวัติผู้วิจัย	79-81

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของปลาเกล็ดเงินระหว่างเก็บรักษาในน้ำแข็ง 14 วัน และเนื้อปลาบดล้างน้ำ.....	33
2	การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิจากช่วงแถบของ amide I.....	38
3	พื้นที่สัมพัทธ์ของแถบรามาน (%) ที่ได้จากเนื้อปลาเกล็ดเงินบดและปลาบดล้างน้ำ.....	41
4	ค่าสหสัมพันธ์เพียร์สันระหว่างค่าตรวจวัดสัมพัทธ์กับการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลาเกล็ดเงินบดและปลาบดล้างน้ำ.....	45
5	การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของปลาเกล็ดเงินระหว่างการเก็บในน้ำแข็ง 14 วัน และเนื้อปลาบดล้างน้ำ (น้ำหนักแห้ง).....	50
6	รูปแบบกรดไขมันในเนื้อเยื่อชนิดต่างๆของปลาเกล็ดเงินระหว่างการเก็บในน้ำแข็ง 14 วัน และเนื้อปลาบดล้างน้ำ (น้ำหนักแห้ง).....	51-52
7	การเปลี่ยนแปลงสารประกอบที่ระเหยได้ในเนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ ของปลาเกล็ดเงินระหว่างการเก็บในน้ำแข็งและเนื้อปลาบดล้างน้ำ.....	55
8	พื้นที่สัมพัทธ์ของรามานสเปกตราของไขมันที่สกัดจากเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของปลาเกล็ดเงินระหว่างเก็บรักษาในน้ำแข็งและปลาบดล้างน้ำ.....	57
9	พื้นที่สัมพัทธ์ของ FT-IR สเปกตราของไขมันที่สกัดจากเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของปลาเกล็ดเงินระหว่างเก็บรักษาในน้ำแข็งและปลาบดล้างน้ำ.....	60

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า	
1	การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์จากการสลายตัวของนิวคลีโอไทด์และค่าเค (A) และปริมาณโอลิโกเพปไทด์ที่ละลายในกรดไตรคลอโรอะซิติก (B) ของปลาเกล็ดเงินระหว่างเก็บรักษาในน้ำแข็ง 14 วัน.....	31
2	รูปแบบโปรตีนของปลาเกล็ดเงินบด ปลาบดล้างน้ำ และน้ำล้าง ที่ผลิตด้วยวิธีที่เก็บในน้ำแข็งเวลา 0 (A) 7 (B) และ 14 (C) วัน จากการวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE โดยใช้ stacking gel เข้มข้น 4% และ running gel เข้มข้น 10% M: น้ำหนักโมเลกุลของสารมาตรฐาน; lane 1: ปลาบด, lanes: 2-4: ปลาบดล้างน้ำ 1 2 และ 3 ครั้ง; lanes: 5-7: น้ำล้างครั้งที่ 1 2 และ 3.....	35
3	ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ได้ของปลาเกล็ดเงินที่เก็บรักษาในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่าง ๆ และจำนวนครั้งในการล้างน้ำ ($p < 0.05$).....	36
4	ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาในน้ำแข็งและการล้างต่อปริมาณ total Sulfhydryl, (T-SH) (A) และ Reactive Sulfhydryl (R-SH) (B) และ surface hydrophobicity (S_0 -ANS) (C).....	37
5	สเปกตรัมเฉลี่ยของ FT-Raman ช่วง $3,700-2,400\text{ cm}^{-1}$ (A) และ $1,800-500\text{ cm}^{-1}$ (B) ของปลาเกล็ดเงินที่เก็บรักษาในน้ำแข็งที่ระยะเวลา 0 (M0), 7 (M7) และ 14 (M14) และปลาบดล้างน้ำ (Wm0, Wm7 และ Wm14).....	39
6	Breaking force (A) และ distance (B) ของเจลปลาเกล็ดเงินบดล้างน้ำที่เตรียมจากปลาที่เก็บในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่าง ๆ ($p < 0.05$).....	43
7	การวิเคราะห์องค์ประกอบหลักแสดงโดยองค์ประกอบร่วมที่ 1 (PC1) และ 2 (PC2) ของเนื้อปลาเกล็ดเงินบดที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง (M) และปลาบดล้างน้ำ (Wm) กราฟ (A) และ (B) แทน ตัวแปรและค่าที่วิเคราะห์ ตามลำดับ.....	47
8	การวิเคราะห์องค์ประกอบหลักแสดงโดยองค์ประกอบร่วมที่ 1 (PC1) และ 2 (PC2) ของเนื้อปลาเกล็ดเงินบดที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง (M) และปลาบดล้างน้ำ (Wm).....	62

คำอธิบายสัญลักษณ์

ANS	8-anilino-1-naphthalene sulfonate
BME	เบต้า-เมอแคปโทเอทานอล (β -mercaptoethanol)
BSA	โบวีนซีรัมอัลบูมิน (Bovine serum albumin)
cm^{-1}	หมายเลขคลื่น (Wavenumber)
DI	น้ำปราศจากไอออน (Deionized water)
DNS	กรดไดไนโตรซาลิไซลิก (3,5-Dinitro salicylic acid)
EDTA	กรดเอทิลีนไดอามีนเตตราแอสिटิก (Ethylenediaminetetraacetic acid)
FT-IR	ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด (Fourier transform Infrared)
FT-Raman	ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มรามาน (Fourier transform Raman)
GC	โครมาโทกราฟีประเภทแก๊ส (Gas chromatography)
g	กรัม (gram)
$\times g$	แรงหนีศูนย์กลางสัมพัทธ์ (Relative centrifugal force)
HCl	กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)
HClO_4	กรดเปอร์คลอริก (Perchloric acid)
HPLC	โครมาโทกราฟีสมรรถนะสูงประเภทของเหลว (High performance liquid chromatography)
h	ชั่วโมง (Hour)
K_2HPO_4	ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Dipotassium hydrogen phosphate)
kDa	กิโลดาลตัน (Kilodalton)
kg	กิโลกรัม (Kilogram)
L	ลิตร (Liter)
M	โมลาร์ (Molarity)
Mw	มวลโมเลกุล (Molecular mass)
mg	มิลลิกรัม (Milligram)
mL	มิลลิลิตร (Milliliter)
mM	มิลลิโมลาร์ (Millimolar)
NaCl	โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride)
NaOH	โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)
Na_2SO_4	โซเดียมซัลเฟต (Sodium sulfate)
ng	นาโนกรัม (Nanogram)

คำอธิบายสัญลักษณ์ (ต่อ)

nm	นาโนเมตร (Nanometer)
PAGE	พอลิอะคริลลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟริซิส (Polyacrylamide gel electrophoresis)
PBS	สารละลายเกลือโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer saline)
rpm	รอบต่อนาที (Round per minute)
SDS	โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfat)
pH	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (Positive potential of the Hydrogen ions)
TEMED	เตตระเมทิลเอทิลีนไดอะมีน (N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine)
Tris	ทริสเบส หรือ ทริสอะมีโนมีเทน (Tris aminomethane: $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$)
TVB-N	สารระเหยกลุ่มไนโตรเจน (Total volatile base nitrogen)
$^{\circ}\text{C}/^{\circ}\text{ซ}$	องศาเซลเซียส (Degree Celsius)
%	เปอร์เซ็นต์ หรือ ร้อยละ (Percentage)
% (w/v)	สัดส่วน หรือ ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร (weight by volume: w/v)
% (v/v)	สัดส่วน หรือ ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร (volume by volume: v/v)
α	แอลฟา (Alpha)
β	เบต้า (Beta)
γ	แกมมา (Gamma)
δ	เดลต้า (Delta)
ϵ	เอปซิลอน (Epsilon)
Σ	ผลรวม (Sum)
ω	โอเมก้า (Omega)
ν	ความถี่คลื่น (Nu)
μ	ไมโคร (Micro)
λ_{max}	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุด (Wavelength of maximum absorbance)

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ซูริมิ (Surimi) คือ เนื้อปลาสดที่ผ่านการล้างน้ำ เพื่อแยกเอาสารประกอบที่ไม่ต้องการออก เช่น เลือด ไขมัน และเม็ดสี ให้เหลือเฉพาะโปรตีนที่มีสมบัติในการเกิดเจล คือ มัยโอไฟบิลลาร์โปรตีน ทำให้ซูริมิเจลมีความเหนียวและยืดหยุ่น เนื่องจากซูริมิมิมีลักษณะเนื้อสัมผัสเฉพาะตัวและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง จึงได้รับความนิยมนำมาเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น ลูกชิ้น เนื้อปูอัดหรือปูเทียม ไส้กรอกปลา เต้าหู้ปลา เป็นต้น ปลาเขตศูนย์สูตรเช่น ปลาทวายแดง (Threadfin bream) ปลาปากคม (Lizardfish) ปลาดาทหวาน (Bigeye snapper) และปลาแพะ (Goatfish) (Park et al., 2013) เป็นวัตถุดิบสำคัญของการผลิตซูริมิของโลก ซึ่งประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตซูริมิจากปลาเขตศูนย์สูตรที่สำคัญของโลก เคยมีกำลังการผลิตเป็นอันดับ 1 ในปี พ.ศ. 2548 โดยมีกำลังการผลิตถึง 145,000 ตัน (Guenneugues & Ianelli, 2014) และมูลค่าการส่งออกของซูริมิและผลิตภัณฑ์แปรรูปจากซูริมิไม่น้อยกว่า 13,000 ล้านบาท อย่างไรก็ตามกำลังการผลิตซูริมิของประเทศลดลงอย่างต่อเนื่องหลังจากนั้น เนื่องจากประสบปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบ และการหมดสัญญาอนุญาตทำประมงในเขตน่านน้ำอินโดนีเซียในเดือนกันยายน พ.ศ. 2549 โดยในปี พ.ศ. 2554 ประเทศไทยสามารถผลิตซูริมิได้เพียง 92,000 ตัน ในขณะที่ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนและเวียดนามมีกำลังการผลิตเพิ่มขึ้นเป็น 200,000 และ 122,000 ตัน ตามลำดับ และในปัจจุบัน (พ.ศ. 2557-2558) ผู้แปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารทะเลซึ่งใช้ซูริมิเป็นวัตถุดิบต้องนำเข้าซูริมิจากต่างประเทศ จะเห็นได้ว่านอกจากการสูญเสียความสามารถในการเป็นผู้ผลิตซูริมิอันดับต้นๆ ของโลก ประเทศไทยกลายเป็นผู้นำนำเข้าซูริมิซึ่งไม่เพียงแต่เสียโอกาสการแข่งขันในตลาดโลกแต่ยังเป็นการเสียดุลการค้าอีกด้วย การลดลงของปริมาณปลาทะเลเขตศูนย์สูตรสำหรับผลิตซูริมิ ส่งผลให้ปลาน้ำจืดเริ่มมีบทบาทสำคัญในการใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อให้มีปริมาณการผลิตที่เพียงพอ

ปลาเกล็ดเงิน (Silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*) หรือที่รู้จักในนามของปลาลิ้นหรือปลาจีน เป็นปลาน้ำจืดที่นำเข้ามาจากประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน สามารถเจริญเติบโตได้ดี โดยเฉพาะในบ่อเลี้ยงที่มีขนาดใหญ่ นิยมเลี้ยงร่วมกับปลาชนิดอื่นเพื่อเพิ่มผลผลิตปลาในบ่อ ปลาเกล็ดเงินเป็นปลาที่มีเนื้อสีขาว มีปริมาณโปรตีนสูง (15-18%) รสชาติดีแต่ไม่เป็นที่นิยมของผู้บริโภคเนื่องจากเป็นปลาที่มีก้างฝอยทำให้ความต้องการของตลาดไม่สูงมากนัก ราคาจึงค่อนข้างต่ำ (Fu et al., 2009; Liu et al., 2008) นอกจากนี้ปลาเกล็ดเงินเป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งที่สำคัญซึ่งมีการผลิตทั่วโลกประมาณ 5.3 ล้านเมตริกตัน จัดเป็นอันดับสองของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำประเภทปลารองจากปลา Bighead carp (FAO, 2017) จึงเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมที่จะมาผลิตซูริมิเมื่อเทียบกับปลานิล ซึ่งเป็นปลาที่มีราคาแพงกว่าและผู้บริโภคนิยมรับประทานเนื้อ ปลาเกล็ดเงินนั้นมีศักยภาพในการใช้เป็นวัตถุดิบในระดับ

อุตสาหกรรมสำหรับผลิตซูริมิ โดยมีความสามารถในการเกิดเจลที่ดีและมีสีขาว (Park et al., 2013; Weng and Zheng, 2015) จากการศึกษาเปรียบเทียบการผลิตซูริมิในระดับโรงงานจากปลาน้ำจืด 3 สายพันธุ์ คือ ปลานิล ปลายี่สกเทศ และปลาเกล็ดเงิน พบว่าซูริมิจากปลาเกล็ดเงินมีสมบัติในการเกิดเจลสูงสุด เจลที่ได้มีเนื้อสัมผัสยืดหยุ่นมากที่สุด โดยสมบัติเจลที่ได้ดีเทียบเท่าซูริมิปลาทรายแดง แต่มีปริมาณผลผลิต (Yield) ต่ำสุดคือประมาณ 20% ของน้ำหนักวัตถุดิบ ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับคุณภาพความสดของปลาทำให้เกิดการสูญเสียเส้นใยกล้ามเนื้อในระหว่างกระบวนการล้าง (จิรวัดน์, 2555) ดังนั้นความเข้าใจเกี่ยวกับคุณภาพความสดของปลาเกล็ดเงินต่อปริมาณผลผลิตซูริมิ เช่น การจัดเก็บหลังจากการจับในระหว่างการแช่น้ำแข็งยังไม่มีการศึกษา การเข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงหลังการจับในปลาเกล็ดเงินนั้นเป็นปัจจัยสำคัญให้จัดทำมาตรการตรวจวัดเพื่อควบคุมสำหรับกระบวนการผลิตซูริมิ จะทำให้สามารถพัฒนากระบวนการเพิ่มผลผลิตซูริมิปลาเกล็ดเงินได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้เกิดการผลิตในระดับอุตสาหกรรม อันจะส่งผลให้ซูริมิปลาเกล็ดเงินเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกและยังเป็นแนวทางเพิ่มผลผลิตซูริมิของประเทศภายใต้ทรัพยากรที่มีความยั่งยืน

องค์ประกอบทางเคมีของซูริมิแตกต่างจากปลาสดโดยมีคุณลักษณะที่สำคัญคือ มีสีขาว ไม่มีกลิ่นคาวปลา และมีความสามารถในการเกิดเจลที่ดี ความสดของปลามีความสำคัญต่อคุณภาพของซูริมิซูริมิที่มีคุณภาพดีโดยทั่วไปแล้วได้จากปลาที่มีความสดสูง (Lin and Morrissey, 1995) การเสื่อมสภาพของโปรตีนกล้ามเนื้อปลาที่เก็บรักษาไว้นานและไม่ถูกวิธี ส่งผลให้ซูริมิที่ได้มีคุณภาพด้อยกว่าซูริมิที่ผลิตจากปลาสด MacDonald et al. (1990) พบว่าปลาที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลานานจะให้เจลซูริมียุ่คุณภาพต่ำ มีความยืดหยุ่นต่ำและมีสีคล้ำ Benjakul et al. (2003) ศึกษาความสามารถในการเกิดเจลของปลาปากคมที่ผ่านการตัดหัวและควักไส้ ก่อนเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 15 วัน พบว่าความสามารถในการเกิดเจลของซูริมิปลาปากคมลดลงเมื่อเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น แต่เจลที่ได้มีความขาวมากกว่าปลาที่เก็บรักษาในน้ำแข็งแบบแช่ไว้ทั้งตัว เจลของซูริมิจะสูญเสียคุณสมบัติเชิงหน้าที่อย่างรวดเร็วระหว่างเก็บรักษาวัตถุดิบในน้ำแข็ง (Hossain et al., 2005; Mehta et al., 2014; Yathavamoorthi et al., 2010; Yongswawatdigul and Park, 2002) Yongswawatdigul and Park (2002) รายงานว่าปลาทรายแดง ไม่ควรเก็บในน้ำแข็งนานเกิน 3 วัน เพื่อให้ใช้ผลิตซูริมิที่มีคุณภาพสูง Hossain et al. (2005) พบว่าความสามารถในการเกิดเจล (Gel forming ability) ของปลา Queen fish (*Chorinemus lysan*) ลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อเมื่อนำมาผลิตซูริมิหลังจากการเก็บรักษาในน้ำแข็ง 10 วัน Yathavamoorthi et al. (2010) พบว่าซูริมิที่เตรียมจากปลายี่สก (Black rohu, *Labeo calbasu*) เก็บในน้ำแข็ง 2 วันส่งผลให้คุณสมบัติของเจลลดลง (Gel properties) อย่างมีนัยสำคัญ Mehta et al. (2014) รายงานว่าคุณภาพเจลของซูริมิที่เตรียมจากปลากระโทงอินเดีย (Indian major carps) ได้แก่ ปลากระโทงเทศ (*Catla, Catla catla*) ปลานวลจันทร์เทศ (*Mrigala, Cirrhinus mrigala*) และปลายี่สกเทศ (Rohu, *Labeo rohita*) จะลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บในน้ำแข็งนานขึ้น ปลากระโทงเทศและปลายี่สกเทศให้เจลจากซูริมิที่มีคุณสมบัติที่ดีเมื่อนำมาใช้ผลิตภายใน 3 วัน ในขณะที่ปลานวลจันทร์เทศ

สามารถเก็บในน้ำแข็งได้นานถึง 6 วันโดยยังคงให้เจลจากซูริมีที่มีคุณภาพดี สภาวะที่การเก็บวัตถุดิบในน้ำแข็งที่เหมาะสมสำหรับการผลิตซูรินั้นแตกต่างกันในวัตถุดิบแต่ละชนิด ดังนั้นการควบคุมคุณภาพความสดของวัตถุดิบจะช่วยลดปัญหาซูริมีที่ไม่ได้คุณภาพ

ปลาที่มีไขมันต่ำ (Lean fish) มีปริมาณไขมันในกล้ามเนื้อในช่วง 0.2-2% (Kotakowska et al., 2003) ปลาประเภทนี้สะสมไขมันในระดับเป็นสำคัญ และเมื่อพิจารณาถึงชนิดของไขมันในปลาประกอบด้วยไขมันหลัก 2 ชนิด คือ ไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides) และฟอสโฟลิพิด (Phospholipids) โดยไตรกลีเซอไรด์เป็นไขมันที่เก็บสะสมในเนื้อเยื่อไขมัน (Adipose tissue) ในขณะที่ฟอสโฟลิพิดเป็นไขมันสำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์และเป็นไขมันหลักในกล้ามเนื้อโดยเฉพาะในกลุ่มปลาไขมันต่ำ ปลาในเขตศูนย์สูตรที่เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตซูริมี โดยส่วนใหญ่เป็นปลาที่มีไขมันต่ำ ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบไขมันจึงไม่ได้รับความสนใจและศึกษามากนัก โดยเฉพาะในประเด็นที่เกี่ยวข้องกับการผลิตและคุณภาพของซูริมี เนื่องจากมีความเชื่อว่าวัตถุดิบตั้งต้นมีไขมันต่ำ และไขมันสามารถถูกกำจัดออกได้จากกระบวนการล้างน้ำ

อย่างไรก็ตามความเชื่อดังกล่าวอาจเป็นจริงในกระบวนการผลิตซูริมีปลา Alaska Pollock และ Pacific whiting ซึ่งเป็นปลาที่มีไขมันต่ำ และเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตซูริมีที่สำคัญสำหรับซูริมีปลาเขตเย็นและเขตอบอุ่น ตามลำดับ เนื่องจากการเก็บรักษาหลังการจับก่อนที่จะนำมาแปรรูปของปลาทั้ง 2 ชนิดมีระยะเวลาสั้นเพียง 12-24 ชั่วโมง การเปลี่ยนแปลงของไขมัน โดยเฉพาะการเกิดออกซิเดชันทั้งทางเคมี และ/หรือเอนไซม์ไลโปออกซิจีเนส (Lipoxygenase) หรือการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยเอนไซม์ไลเปสในระหว่างการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งอาจไม่มีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามสถานการณ์ในปลาเขตศูนย์สูตรแตกต่างโดยสิ้นเชิง ปลาทะเลจะถูกเก็บรักษาในน้ำแข็งในรูปของปลาทั้งตัวรวมเครื่องในเป็นระยะเวลา 7-10 วันก่อนที่จะนำมาแปรรูปเป็นซูริมี ในขณะที่ปลาน้ำจืดอาจเก็บรักษาเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง การเปลี่ยนแปลงของไขมันในตับทั้งจากเอนไซม์ในตัวปลาและจุลินทรีย์อาจมีผลกระทบต่อคุณภาพของวัตถุดิบและต่อคุณภาพของซูริมี ไขมันในปลาประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นจำนวนมาก (Ackman, 1989) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันทำให้เกิดสารประกอบเพอร์ออกไซด์ (Peroxide) ซึ่งจะเกิดการแตกสลายเป็นสารระเหยในกลุ่ม อัลดีไฮด์ คีโตน และแอลกอฮอล์ ส่งผลต่อคุณภาพด้านกลิ่นรสของปลา และแม้สารเหล่านี้จะสามารถถูกกำจัดออกได้บ้างในกระบวนการล้างแต่อาจส่งผลคุณภาพของซูริมี

นอกจากนี้ กระบวนการล้างยังไม่สามารถกำจัดฟอสโฟลิพิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ออกซิเดชันของฟอสโฟลิพิดจึงเกิดขึ้นอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ การเกิดออกซิเดชันของไขมันไม่เพียงทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการแต่ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันนั้นเหนียวนำไปเกิดการออกซิเดชันของโปรตีนได้เช่นกัน ซึ่งส่งผลให้เนื้อสัมผัสและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของซูริมีลดลง (Xiong, 2000) การศึกษาคุณภาพของปลาสดเกี่ยวกับการสลายของนิวคลีโอไทด์และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีนพบอย่างกว้างขวางในกระบวนการผลิตซูริมีจากปลาเขตศูนย์สูตรโดยทั่วไปมักเก็บปลาในน้ำแข็งก่อนนำไปผลิต ชิ้นส่วนปลา

ต่างกัันนั้นมืปริมาณไขมันแตกต่างกันส่งผลให้ระดับการเกิดออกซิเดชันของไขมันระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง อนึ่ง ผลการเกิดออกซิเดชันของไขมันในปลาเกล็ดเงินยังไม่มีการศึกษาโดยเฉพาะในประเด็นที่เกี่ยวข้งกับการผลิตซูริมิ การศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางไขมันในระหว่างการเก็บรักษาปลาเกล็ดเงินในน้ำแข็งจะทำให้ทราบผลกระทบขององค์ประกอบไขมันต่อคุณภาพของซูริมิหรือปลาบดล้างน้ำ ซึ่งจะนำไปสู่การออกแบบระบบการจัดการวัตถุดิบและกระบวนการผลิตซูริมิให้มีคุณภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพ

มีการใช้ดัชนีชี้วัดมากมาย เช่น การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ปัจจัยทางจุลินทรีย์ ภายนอกภาพ และทางชีวเคมี ในการประเมินความสดของปลาระหว่างการเก็บในน้ำแข็ง (Cheng et al., 2015; Soncin et al., 2009) การติดตามการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนระหว่างการแช่แข็ง เช่น พื้นผิวไฮโดรโฟบิก (Surface hydrophobicity) ของโปรตีน ปริมาณหมู่ซัลไฟไฮไดรล (Sulfhydryl group) กิจกรรมของ Ca^{2+} -ATPase และ Circular Dichroism (CD) วิธีวิเคราะห์เหล่านี้ตรวจวัดเฉพาะโปรตีนที่สามารถสกัดได้เท่านั้น ไม่สามารถตรวจวัดโปรตีนกล่ามเนื้อทั้งหมด โดยทั่วไปคุณภาพซูริมิตัดสินจากคุณภาพเจลของซูริมิ ซึ่งการตรวจวัดอาศัยเวลาและต้องมีทักษะ ดังนั้น เทคนิคที่รวดเร็วและแม่นยำในการประเมินคุณภาพความสดของปลาและคุณภาพของซูริมิจึงเป็นที่ต้องการในอุตสาหกรรมการผลิตซูริมิ สเปกโตรสโกปีแบบสั่น (Vibrational spectroscopy) ได้แก่ ฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปี อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Fourier transform infrared, FT-IR) และฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปีรามานสเปกโตรสโกปี (Fourier transform Raman spectroscopy, FT-Raman) ได้มีการนำมาประยุกต์ใช้ในการประเมินคุณภาพอาหาร โดย

FT-IR ใช้หลักการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของสารประกอบที่มีขั้ว ในขณะที่ FT-Raman อาศัยหลักการตรวจจับการกระเจิงแสงแบบไม่ยืดหยุ่น (Inelastic scattering) ของโมเลกุลที่มีการสั่นเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงขั้วแบบขั้วคราว (Polarizability) (Li-Chan, 2010) เทคนิค FTIR สามารถให้ข้อมูลที่สำคัญของโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนที่เลขคลื่น $1,600\text{-}1,700\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งแสดงถึง amide-I ในขณะที่สเปกตรัมรามานให้ข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างทุติยภูมิและสิ่งแวดล้อมที่อยู่รอบโซ่ข้างของโครงสร้างโปรตีน เช่น ไทโรซีน (Tyrosine) ทริปโตแฟน (Tryptophan) และโครงร่าง (Conformation) ของพันธะไดซัลไฟด์ (Li-Chan, 1996) ทั้งสองเทคนิคนี้ให้ผลที่ส่งเสริมซึ่งกันและกันซึ่งช่วยอธิบายการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนในตัวอย่างโดยตรง (*in situ*) นอกจากนี้สเปกโตรสโกปีของการสั่นร่วมกับการวิเคราะห์ทางเคมีเมตริกซ์ (Chemometric) ได้ถูกประยุกต์ใช้ในการตรวจคุณสมบัติต่าง ๆ ในผลิตภัณฑ์อาหารเช่นกัน (Careche et al., 2002; Careche et al., 1999; Hernández-Martínez et al., 2014; Herrero et al., 2004; Leelapongwattana et al., 2008; Moosavi-Nasab et al., 2005; Uysal et al., 2019)

การเกิดออกซิเดชันของไขมันในปลาและซูริมิ สามารถตรวจวัดได้หลายวิธี ได้แก่ 1) การวัดการเปลี่ยนแปลงของสารตั้งต้นหลังการเกิดออกซิเดชัน เช่น ปริมาณกรดไขมัน ไขมันทั้งหมดและ

ฟอสโฟลิพิด 2) ติดตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากออกซิเดชัน ทั้งผลิตภัณฑ์ปฐมภูมิ (Primary products) และทุติยภูมิ (Secondary products) และ 3) ติดตามการเปลี่ยนแปลงทั้งหมดในผลิตภัณฑ์ เช่น ลักษณะปรากฏของปลา เป็นต้น อย่างไรก็ตามวิธีการต่าง ๆ ที่กล่าวมานั้นให้ข้อมูลเกี่ยวกับการเกิดออกซิเดชันเพียงบางส่วน ในกรณีของการวิเคราะห์ Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) สารมาลอนไดแอลดีไฮด์ (Malondialdehyde) เป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน แต่สารประกอบอื่นซึ่งไม่ได้เกิดจากกระบวนการออกซิเดชันนั้นมีผลต่อค่า TBARS เช่นกัน (Giménez et al., 2011) ในระยะหลังนี้ การประเมินสารประกอบที่ระเหยได้ถูกนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้หนึ่งของการเกิดออกซิเดชันของไขมันในปลาและตัวอย่างซูริมี (Iglesias & Medina, 2008) วิธีตรวจวัดด้วยเครื่องมือด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีแบบสั่น ได้แก่ FT-IR และ FT-Raman เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการตรวจหาชนิดของไขมันและติดตามการเปลี่ยนแปลงการเกิดออกซิเดชัน เนื่องจากไม่ทำลายตัวอย่าง มีความรวดเร็ว และให้ข้อมูลหลายด้านพร้อมกันจากสเปกตรัม (Chaijan et al., 2006)

ทั้งนี้ ยังไม่มีงานวิจัยอธิบายชัดเจนระหว่างสเปกตรัมที่ได้จากสเปกโตรสโกปีของการสั่น และคุณภาพความสดของปลา รวมถึงการติดตามการเปลี่ยนแปลงสถานะการเกิดออกซิเดชันในเนื้อปลาและปลาบดด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีของการสั่น เพราะฉะนั้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมี ชีวเคมีและโครงสร้างเนื้อปลาเกล็ดเงินและเนื้อปลาเกล็ดเงินบดล้างน้ำระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง ประเมินการเกิดออกซิเดชันของไขมันในเนื้อเยื่อปลาเกล็ดเงินและเนื้อปลาบดล้างน้ำซึ่งเป็นผลจากการเก็บรักษาในน้ำแข็ง สเปกตรัมของ FT-IR และ FT-Raman จากปลาบดและปลาบดล้างน้ำของปลาเกล็ดเงินที่ความสดแตกต่างกัน รวมถึงติดตามการเกิดออกซิเดชันระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง นอกจากนี้ยังประเมินความสัมพันธ์ระหว่างสเปกตรัมและคุณภาพทางชีวเคมีและเนื้อสัมผัสด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนและไขมันของปลาเกล็ดเงินในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง
2. เพื่อเปรียบเทียบผลผลิตและสมบัติการเกิดเจลและโครงร่างโปรตีน การเกิดออกซิเดชันของไขมัน และการเกิดสารระเหยของปลาเกล็ดเงินบดล้างน้ำที่ผลิตจากวัตถุดิบที่เก็บรักษาในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างๆ

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีปลาเกล็ดเงินระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งที่ระยะเวลา 0, 7 และ 14 วัน โดยวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาเบื้องต้น ได้แก่ ปริมาณความชื้น

โปรตีนหยาบ (Crude protein) ไขมันทั้งหมด (Total lipid) และเถ้า ปริมาณฟอสโฟลิพิด ชนิดของโปรตีนในเนื้อปลา (Myofibrillar protein, sarcoplasmic protein, alkaline-extraction protein และ stroma protein)

2. เปรียบเทียบรูปแบบของกรดไขมัน (Fatty acid profiles) รูปแบบขององค์ประกอบโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนในระดับทุติยภูมิและตติยภูมิ ด้วยเทคนิค FT-IR และ FT-Raman โดยเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของทั้งโปรตีนและไขมันระหว่างการเก็บรักษา วิเคราะห์คุณภาพความสดของปลา โดยการตรวจวัดค่า pH, K-value และระดับการย่อยสลายตัวเอง (Autolytic activity) นอกจากนี้ ติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมี-กายภาพของโปรตีน ได้แก่ปริมาณหมู่ซัลไฟไฮดริลทั้งหมด ปริมาณหมู่ซัลไฟไฮดริลพร้อมทำปฏิกิริยา และปริมาณพีนิวไฮโดรโอฟิก (S_0)
3. ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งที่ระยะเวลา 0, 7 และ 14 วัน แยกวิเคราะห์การเกิดออกซิเดชันของกล้ามเนื้อ หนัง และพุงปลา โดยวิเคราะห์ค่าเพอร์ออกไซด์ (Peroxide value) และค่า TBARS วิเคราะห์องค์ประกอบของสารระเหย (Volatile compounds) วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไขมัน ด้วยเทคนิค FT-IR และ FT-Raman
4. ศึกษาผลผลิตและสมบัติการเกิดเจลของเนื้อปลาเกล็ดเงินล้างน้ำที่ผลิตจากเนื้อปลาที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง เป็นระยะเวลา 0 7 และ 14 วัน โดยศึกษาระดับการสูญเสียโปรตีนในน้ำล้าง วิเคราะห์ปริมาณและชนิดของโปรตีนที่เก็บเกี่ยวได้ วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในระดับทุติยภูมิและตติยภูมิของเนื้อปลาบดล้างน้ำด้วยเทคนิค FT-IR และ FT-Raman จากนั้น ตรวจวัดคุณภาพของเจลโดยวัดค่า Breaking force และ Breaking distance ด้วยหัววัด Spherical probe และวิเคราะห์ค่าสีของเจลเนื้อปลาบดล้างน้ำที่ได้

1.4 ข้อตกลงเบื้องต้น

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีทางกายภาพของโปรตีนและไขมันสกัดจากปลาเกล็ดเงินที่เพาะเลี้ยงจากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดขอนแก่น เพื่อให้ทราบสายพันธุ์ที่แน่นอน ตัวอย่างปลาล้างน้ำ (Washed mince) เตรียมให้ระดับห้องปฏิบัติการโดยไม่มีการกำจัดเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในเนื้อปลา

1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1.5.1 ด้านวิชาการ

นำองค์ความรู้ที่ได้ไปพัฒนาปรับปรุงกระบวนการผลิตซูริมิจากปลาเกล็ดเงิน และอาจไปประยุกต์ใช้กับปลาน้ำจืดชนิดอื่นๆ ให้มีคุณภาพทัดเทียมกับซูริมิปลาทะเล ตลอดจนเผยแพร่องค์ความรู้

เกี่ยวกับซูริมิปลาน้ำจืดให้ได้รับการยอมรับจากผู้ประกอบการและอุตสาหกรรมทั้งอุตสาหกรรมผลิตและแปรรูป ซูริมิ ซึ่งจะเป็นแนวทางในการพัฒนาอุตสาหกรรมซูริมิของประเทศให้สามารถแข่งขันในตลาดโลกได้ภายใต้สถานการณ์วัตุดิบทางทะเลมีแต่จะลดน้อยลง

1.5.2 ด้านเศรษฐกิจ/พาณิชย์ ด้านสังคมและชุมชน

- สร้างแหล่งตลาดใหม่ให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงปลาน้ำจืด ให้มีโรงงานแปรรูปรองรับ แทนการพึ่งพาตลาดปลาสด
- สร้างวัตุดิบทางเลือกให้แก่โรงงานผลิตซูริมิ ลดความต้องการวัตุดิบปลาทะเล โดยยังคงไม่สูญเสียกำลังการผลิต
- ลดปัญหาต่อเนื่องที่เกี่ยวข้องกับภาคประมง เช่น ปัญหาแรงงาน ปัญหาค้ามนุษย์ ข้อกำหนดนานาชาติเกี่ยวกับการทำประมง เป็นต้น
- เป็นการส่งเสริมการใช้วัตุดิบที่มีความยั่งยืน
- ชุมชนหรือหน่วยงาน ที่ได้รับการถ่ายทอดองค์ความรู้/เทคโนโลยีนี้ สามารถนำไปสร้างอาชีพแปรรูปซูริมิปลาน้ำจืดให้เป็นผลิตภัณฑ์อื่นได้ เช่น ลูกชิ้น ไส้กรอกปลา เป็นต้น



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปลาเกล็ดเงิน

ปลาเกล็ดเงิน (ปลาลิ้น) (*Hypophthalmichthys molitrix*) เป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งอาศัยในสถานะอบอุ่น (6-28 °ซ) และพบทั่วไปในทวีปเอเชีย ปลาชนิดนี้ชอบอยู่บริเวณที่มีน้ำนิ่งหรือไหลช้า เช่น ในบ่อเลี้ยงหรือแม่น้ำขนาดใหญ่ และมีธรรมชาติการอพยพเพื่อขยายพันธุ์ที่ตื้นน้ำ จากนั้นไข่และตัวอ่อนจะไหลตามกระแสน้ำมายังบริเวณที่ราบลุ่มปลายแม่น้ำ ปลาเกล็ดเงินมีลักษณะนิสัยตื่นตัวและเคลื่อนไหวรวดเร็ว ว่ายอยู่บริเวณผิวน้ำ เมื่อถูกรบกวนมักจะกระโดดขึ้นมาเหนือผิวน้ำ โดยทั่วไปปลาเกล็ดเงินกินแพลงก์ตอนจากพืชเป็นอาหาร ปลาเกล็ดเงินเป็นปลาน้ำจืดในวงศ์ปลาตะเพียน (Carp) ที่พบได้ทั่วไป องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO, 2007) รายงานว่าปลาเกล็ดเงินมีมูลค่าต่ำ เนื่องจากหลังการจับต้องทำการขนส่งและจัดเก็บในระยะเวลาสั้น ดังนั้นถึงแม้ว่าจะมีปริมาณการผลิตสูงแต่มูลค่าของปลาสดต่ำ อย่างไรก็ตามปลาเกล็ดเงินได้รับความนิยมจากผู้บริโภคเนื่องจากเนื้อที่มีสีขาว โดยนำมาผ่านกระบวนการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ เช่น ชิ้นเนื้อปลาแล่ (Fillet) และซูริมิ (Surimi) กระบวนการผลิตชิ้นเนื้อปลาแล่นั้นเกิดการสูญเสียส่วนที่สามารถกินได้ปริมาณมาก (Martín-Sánchez et al., 2009) ในทางตรงกันข้ามการนำวัตถุดิบปลาเกล็ดเงินมาผลิตผลิตภัณฑ์ซูรินั้นสามารถใช้ประโยชน์จากได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่า แต่ลักษณะเนื้อสัมผัสของซูริมิจากปลาเกล็ดเงินที่ได้นั้นมี (Modori) เมื่อให้ความร้อน ส่งผลเสียต่อการยอมรับทางด้านคุณภาพเนื้อสัมผัส ทำให้ราคาของผลิตภัณฑ์ซูริมิลดลง (Luo et al., 2001)

2.2 ซูริมิ

ซูริมิ คือ เนื้อปลาสดที่ผ่านการล้างน้ำหรือมีไมโอไฟบิลลาร์โปรตีน (Myofibrillar protein) เข้มข้นที่ได้จากการกระบวนการล้างน้ำซ้ำหลายครั้งในสถานะที่เย็นเพื่อกำจัดซาร์โคพลาสมิคโปรตีน (Sarcoplasmic protein) ซูริมิเป็นที่รู้จักในประเทศไทยตั้งแต่ปี ค.ศ. 1978-1979 โดยผลิตจากปลาทะเลในเขตศูนย์สูตร เช่น ปลาทรายแดง (Threadfin bream) ปลาปากคม (Lizardfish) ปลาตาหวาน (Big eye snaper) และปลาแพะ (Goat fish) ซึ่งในปี ค.ศ. 2012 มีโรงงานผลิตซูริมิและผลิตภัณฑ์จากซูริมิจำนวน 15 แห่ง (Park et al., 2013) ซูริมิเป็นวัตถุดิบที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร ในกระบวนการผลิตซูริมิมีปัจจัยสำคัญหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เช่น ชนิดของปลา การจัดการหลังปลาตาย อายุ ความสด ขั้นตอนการผลิต กระบวนการล้างเนื้อปลา อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาวัตถุดิบก่อนการแปรรูป (Park and Morrissey, 2000) แม้จุดเริ่มต้นของการผลิตซูริมิ จะใช้ปลาทะเลเป็นวัตถุดิบแต่ในปัจจุบันสามารถผลิตได้จากปลาน้ำจืดหรือหมึก โดย

คุณภาพของซูริมิที่ได้มีความแตกต่างกันตามวัตถุดิบที่ใช้ (Nopianti et al., 2010) โดยทั่วไปซูริมิจากปลาที่มีไขมันและเนื้อแดงสูงมีคุณภาพต่ำกว่าซูริมิจากปลาที่มีไขมันและเนื้อแดงต่ำ (Lee, 1994) ความสดของปลาเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อกระบวนการผลิตและคุณภาพของซูริมิที่สุด ระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ระดับการย่อยสลายตัวเองของโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเนสที่มีอยู่ในตัวปลา (Autolysis) สูงขึ้น นอกจากนี้ ค่า pH ปริมาณฟอสฟอรัสและปริมาณด่างในเนื้อปลาเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลลดลงอันเป็นผลมาจากโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและสูญเสียคุณสมบัติเชิงหน้าที่ (Hamann and MacDonald, 1992; Martín-Sánchez et al., 2009) กระบวนการล้างเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการผลิตซูริมิเนื่องจากจำเป็นต้องกำจัดสารที่สามารถละลายน้ำได้ออกซึ่งส่วนใหญ่คือ ซาร์โคพลาสมิคโปรตีน ไขมัน และวัตถุที่ไม่ต้องการ เช่น เม็ดสี มัยโอไฟบิลลาร์โปรตีนเข้มข้นที่ได้หลังจากกระบวนการล้างจะเป็นองค์ประกอบพื้นฐานในการเกิดเจล โครงสร้างแบบสามมิติ (Hall and Ahmad, 1997) จำนวนครั้งและปริมาณน้ำที่ใช้ในการล้างนั้นขึ้นกับชนิดปลา คุณภาพด้านความสด ชนิดของเครื่องมือที่ใช้ล้าง รวมถึงคุณภาพของซูริมิที่ต้องการ (Hall and Ahmad, 1997) โดยทั่วไปนั้นการกว 5 นาทีต่อการล้าง 2 ครั้ง ในอัตราส่วน น้ำ:ปลาสด เท่ากับ 3:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก (v/w) นั้นเพียงพอในกระบวนการผลิตซูริมิ (Lee, 1986) Pacheco-Aguilarety et al. (1989) ศึกษาผลของกระบวนการล้างในการผลิตซูริมิปลา Pacific whiting รายงานว่าการล้างเพียง 1 ครั้ง ในอัตราส่วน น้ำ:ปลาสด เท่ากับ 3:1 v/w นั้นมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอในการกำจัดไขมันแต่ส่งผลให้ปริมาณของแข็งและโปรตีนที่ได้สูงเมื่อเทียบกับการล้างจำนวนหลายครั้ง Lin and Park (1996) รายงานว่าการล้าง 2 ครั้งด้วยอัตราส่วน น้ำ:ปลาสด น้อยกว่า 2:1 v/w โดยครั้งแรกใช้น้ำในอัตราส่วน 0.9-1.2 และครั้งที่สองใช้น้ำในอัตราส่วน 0.7-0.8 นั้นให้ผลอย่างมีประสิทธิภาพ กระบวนการล้างที่ไม่เพียงพอส่งผลให้เจลที่ได้สูญเสียคุณภาพในระหว่างการเก็บแช่เยือกแข็งได้ ในทางตรงกันข้ามการล้างมากเกินไปทำให้เกิดการสูญเสียองค์ประกอบที่ดีและมีความชื้นสูง ส่งผลให้ขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ (Refining) และเอาน้ำออก (Dewatering or decanter) ทำได้ยากขึ้น นอกจากนี้การล้างมากเกินไปทำให้เกิดการละลายของมัยโอไฟบิลลาร์โปรตีน ทำให้เกิดการรวมตัวกันเพิ่มขึ้นในขั้นตอนการกวอีกด้วย

ในกระบวนการล้างนั้นไขมันที่เป็นกลาง (Neutral lipids) จะสามารถกำจัดได้ง่ายกว่า ฟอสโฟลิพิดซึ่งเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ (Membrane phospholipids) (Raghavan et al., 2008) ปริมาณฟอสโฟลิพิดในซูรินั้นมากกว่าที่พบในปลาสด ไขมันที่มีขั้วที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์จะรวมตัวกับโปรตีนทำให้ล้างออกได้ยากกว่าไขมันที่เป็นกลาง (Eymard et al., 2005) Tongnuanchan et al. (2011) รายงานว่าปริมาณไขมันของเนื้อปลานิลแดง (Red Tilapia) บดที่ผ่านการล้างน้ำลดลง 14.4% เมื่อเทียบกับปลาสด Eymard et al. (2005) รายงานว่าไขมันส่วนใหญ่ในปลา Horse mackerels บดถูกกำจัดออกระหว่างขั้นตอนการล้าง โดยไขมันที่สูญเสียไปนั้นประกอบด้วยไขมันที่เป็นกลางมากกว่าไขมันที่มีขั้ว Dawson et al. (1990) พบว่าการล้างเนื้อไก่ซึ่งเลาะออกโดยใช้เครื่องจักร (Mechanically separated chicken meat) สามารถกำจัดไขมันที่เป็นกลางมากกว่าไขมันที่มีขั้วเช่นกัน Srinivasan et

al. (1996) รายงานว่าเนื้อปลาซาร์ดีน (Sardine) บดที่ผ่านการล้างด้วยโซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium bicarbonate) (0.5%) สามารถลดไขมันที่เป็นองค์ประกอบได้ Hrynets et al. (2011) รายงานว่าการกรดซิตริกส่งผลต่อปริมาณโปรตีนที่ได้และการกำจัดไขมันระหว่างกระบวนการสกัดโปรตีนจากเนื้อไก่วง ซึ่งเลาะออกโดยใช้เครื่องจักร (Mechanically separated turkey meat, MSTM) โดยความเข้มข้นของกรดซิตริกที่เหมาะสมที่ทำให้ได้โปรตีนสูงที่สุดคือ 6 mM อย่างไรก็ตามกรดซิตริกเข้มข้น 2 mM สามารถกำจัดฟอสโฟลิพิดได้ดีที่สุด โดยผลงานวิจัยนี้สามารถแยกได้โปรตีนที่มีเสถียรภาพจากการเกิดการออกซิเดชันของไขมันเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อไก่วงดิบ (MSTM) Rhee et al. (1998) รายงานว่าการล้างเนื้อแกะบดด้วยน้ำประปา 4 ครั้งที่ค่า pH สูง (8.2) สามารถลดปริมาณไขมันทั้งหมดได้อย่างรวดเร็วโดยเฉพาะไขมันที่เป็นกลาง และยังสามารถลดการเกิดการออกซิเดชันของไขมันระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4°C ได้อีกด้วย

มายโอไฟบิลลาร์โปรตีนคือองค์ประกอบที่มีหน้าที่สำคัญในซูริมิ การแช่น้ำแข็งเป็นวิธีการที่ใช้อย่างกว้างขวางสำหรับการเก็บผลิตภัณฑ์จากซูริมิในระยะสั้น ระหว่างการแช่น้ำแข็งมายโอไฟบิลลาร์โปรตีนจะเกิดการเสียสภาพส่งผลให้ซูริมิสูญเสียสมบัติเชิงหน้าที่ เช่น การลดลงของค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water-holding capacity) การละลายของโปรตีน (Protein solubility) และความสามารถในการเกิดเจล (Gel-forming ability) (Xiong et al., 2009) Jasra et al. (2001) รายงานว่าหลังจากเก็บชิ้นเนื้อปลายี่สกเทศ (Rohu carp; *Labeo rohita*) ที่อุณหภูมิ 2 °C ระยะเวลา 15 วัน หรือแช่แข็งที่อุณหภูมิ -8 °C หรือ -20 °C ระยะเวลา 6 เดือน มายโอไฟบิลลาร์โปรตีน ไมโอซินสายเบา (Myosin light chains) และแอลฟาแอคตินิน (α -actinin) จะถูกทำลายระหว่างเก็บในสถานะแช่แข็ง ดังนั้นอุณหภูมิการเก็บรักษา (The post-mortem storage temperature) จึงเป็นสิ่งที่ควรตระหนักถึงเนื่องจากมีความสำคัญต่อการควบคุมการเสื่อมสลายของมายโอไฟบิลลาร์โปรตีน

2.3 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพเนื้อปลาระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง (Post-harvest changes during ice storage)

การเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งสามารถป้องกันการเสื่อมสภาพจากจุลินทรีย์และสามารถชะลอปฏิกิริยาชีวเคมีที่ไม่ต้องการได้ อัตราการเสื่อมคุณภาพความสดแตกต่างกันตามแต่ชนิดของปลา Yeon (1993) ศึกษาคุณภาพเจลซูริมิปลาทรายแดง พบว่าปริมาณโปรตีน ไขมัน และความชื้นของซูริมิปลาทรายแดงที่ผลิตจากปลาที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 8 วัน ไม่แตกต่างกัน แต่ผลผลิต (Yield) ของซูริมิที่ผลิตจากปลาที่เก็บไว้มากกว่า 2 วัน ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ความแข็งแรงของเจลลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บเพิ่มขึ้น โดยปลาที่เก็บไว้มากกว่า 4 วัน ให้เจลที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ Yongsawatdigul and Park (2002) พบว่า การเก็บรักษาปลาทรายแดงในน้ำแข็งเป็นเวลา 6 วัน ส่งผลให้ค่า Breaking force ลดลงมากกว่า 50% เมื่อเทียบกับซูริมิที่เตรียมจากปลาสด และยังเกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโปรตีนโดยเฉพาะมายโอซินเมื่อติดตามกิจกรรม Ca^{2+} -ATPase นอกจากนี้

Chomnawang et al. (2007) ศึกษาผลของอายุ เพศ และระยะเวลาในการเก็บรักษาปลาที่อุณหภูมิ 4 °C ต่อการเปลี่ยนทางเคมีและชีวเคมี และคุณสมบัติในการเกิดเจลของเนื้อปลาดุก พบว่า pH, total volatile base nitrogen (TVB-N) และระดับการเสื่อมสลายของกล้ามเนื้อ (Autolytic degradation) เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา ในขณะที่กิจกรรม Ca^{2+} -ATPase และคุณสมบัติของเจล (gel properties) ลดลง เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น นอกจากนี้เพศและอายุของปลาไม่มีผลต่อการเกิดเจล และการเก็บชิ้นปลาแล่ (Fillet) ที่อุณหภูมิ 4 °C ไม่เกิน 6 วัน จะยังคงให้เจลปลาดุกที่มีคุณภาพดี Lin and Morrissey (1994) ศึกษาการเก็บรักษาปลาน้ำจืด Northern squawfish ในน้ำแข็งเป็นเวลา 24 วัน ผลของการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีและการประเมินทางประสาทสัมผัส พบว่าปลาที่เก็บไว้ 15 วัน ยังมีคุณภาพดี ในขณะที่คุณสมบัติการเกิดเจลของปลาวันที่ 24 ลดลงเพียง 10% เมื่อเทียบกับวันเริ่มต้น Abarna et al. (2013) รายงานว่าปลาเยือกเทศที่ศึกษาที่ประเทศอินเดีย สามารถเก็บรักษาในน้ำแข็งได้นาน 17 วันเมื่อพิจารณาจากค่า TVB-N การเกิดออกซิเดชันของไขมัน และลักษณะทางประสาทสัมผัส

การเปลี่ยนแปลงในปลาเกิดขึ้นทันทีหลังการตาย ความเสถียรลดลง โดยค่าเค (K-value) เป็นวิธีการที่ใช้ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงความสดในปลาหลายชนิด ซึ่งนำมาใช้ครั้งแรกโดย Saito, Araki, & Matsuyoshi (1959) คำนวณจากปริมาณอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate: ATP) ในกล้ามเนื้อ รวมถึงปริมาณนิวคลีโอไทด์ที่เกิดจากการสลายของ ATP ได้แก่ ปริมาณอะดีโนซีนไดฟอสเฟต (adenosine diphosphate, ADP) อะดีโนซีนโมโนฟอสเฟต (adenosine monophosphate, AMP) อิโนซีนโมโนฟอสเฟต (inosine monophosphate, IMP) อิโนซีน (inosine, Ino) และไฮโปแซนทีน (hypoxanthine, Hx) Lin & Morrissey (1994) แนะนำว่าค่าที่น้อยกว่า 20% นั้นแสดงถึงปลามีคุณภาพดีมาก ค่าที่ 60% คือไม่สามารถยอมรับได้ ส่วนค่ามากกว่า 80% คือไม่เหมาะสมสำหรับบริโภค การสลายตัวของสารประกอบที่สัมพันธ์กับ ATP (ATP-related compounds) ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งนั้นแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของปลา Puchata, Białowas, & Pilarczyk (2005) รายงานว่าค่าเคของปลา Carp (*Cyprinus carpio*) ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเพิ่มขึ้นจาก 3.8% เป็น 52.6% หลังจากระยะเวลาการเก็บ 7 วัน Ocaño-Higuera et al. (2009) พบว่าค่าเคของปลา cazon fish (*Mustelus lunulatus*) เมื่อเก็บรักษาในน้ำแข็งนาน 18 วันมีค่าถึง 58.9% โดยเมื่อเก็บรักษาน้อยกว่า 6 วัน จะยังคงมีความสดมาก และความเสถียรอยู่ในระดับปานกลางเมื่อเก็บรักษาจนถึงวันที่ 16 หลังจากนั้นปลาจะมีความสดน้อยมากเมื่อเก็บที่ 18 วัน Lakshmanan, Antony, & Gopakumar (1996) รายงานว่าระยะเวลาการเก็บปลาระบอบ (*Liza corsula*) และปลาหมอ (*Etroplus suratensis*) ในน้ำแข็ง 4 และ 8 วัน มีค่าเค 29.8% และ 23.5% ตามลำดับ ซึ่งถือว่าปลามีความสดและยังคงคุณภาพที่ดี หลังจากเก็บเป็นเวลา 8 และ 13 วัน มีค่าเค 50% และคุณภาพไม่สามารถยอมรับได้หลังจากเก็บเป็นระยะเวลา 12 และ 14 วัน โดยมีค่าเค 70.59% และ 54.94% ตามลำดับ Özoğul et al. (2011) รายงานว่าค่าเคของปลา wild common sole

(*Solea solea*) มีค่ามากกว่า 80% หลังจากเก็บในน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 16-18 วัน ซึ่งถือว่ามีคุณภาพอยู่ในระดับปานกลาง

จากการทบทวนเอกสาร แม้จะมีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของปลาทะเลและปลาน้ำจืดอย่างแพร่หลาย ประเด็นของการเปลี่ยนแปลงต่อคุณภาพของซูริมิหรือปลาบดล้างน้ำยังไม่มีการรายงาน โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงโครงร่าง (conformation) ของโปรตีนกล้ามเนื้อทั้งในส่วนของปลาและเนื้อปลาบดล้างน้ำ จะมีเพียงแต่การรายงานกิจกรรม Ca^{2+} -ATPase เป็นสำคัญ ดังนั้นจึงยังไม่สามารถระบุได้ว่าซูริมิหรือเนื้อปลาบดล้างน้ำที่ผลิตจากปลาที่เก็บในน้ำแข็งเป็นเวลานานมีโครงร่างของโปรตีนแตกต่างจากตัวอย่างที่เตรียมจากปลาสดหรือไม่อย่างไร

2.4 องค์ประกอบของไขมันในเนื้อปลา

ข้อมูลจาก Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, <http://www.fao.org>) พบว่าแหล่งสะสมไขมันหลักในปลาคือพุงปลา (Belly flap) ใต้ผิวหนังและกล้ามเนื้อ ทั้งกล้ามเนื้อขาวและกล้ามเนื้อดำ ทั้งนี้จะแตกต่างกันตามชนิดของปลาและฤดูกาล กลุ่มไขมันสำคัญในปลาสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภทคือ ไขมันที่เป็นกลาง คือ ไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides) (neutral lipids, NL-triacylglycerols, TAG) และฟอสโฟลิพิด (Phospholipids, vPL) (Rehbein & Oehlenschläger, 2009) มีปริมาณ 0.2-3.4% และ 0.5-1.3% ตามลำดับ ในปลาน้ำจืดชนิดต่างๆที่ขายในตลาดสด ณ เมืองเชียงใหม่ (Kaneniwa et al., 2000) ไตรกลีเซอไรด์เป็นไขมันที่สะสมอยู่ใต้ผิวหนัง พุงปลา และส่วนของเครื่องใน เช่น ตับ ในขณะที่ฟอสโฟลิพิดเป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์และอยู่ในกล้ามเนื้อของปลาที่มีไขมันต่ำ ฟอสโฟลิพิดประกอบด้วยกรดไขมัน กลีเซอรอล หมู่ฟอสเฟต และแอลกอฮอล์ที่มีไนโตรเจนอยู่ในโครงสร้าง ไตรกลีเซอไรด์ประกอบด้วยโครงสร้างที่ไม่ชอบน้ำ ในขณะที่ฟอสโฟลิพิดมีโครงสร้างที่มีขั้วจึงชอบรวมตัวกับน้ำ (Burri et al., 2012) ฟอสโฟลิพิดสามารถรวมตัวกับโปรตีนทำให้กำจัดโดยการล้างได้ยาก (Lanier, Carvajal, & Yongsawatdigul, 2000)

ไขมันในปลามีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวคือ n-3 และ n-6 สูง (Lei et al., 2012) ถึงแม้ว่าโดยทั่วไปแล้วปลาน้ำจืดมีสัดส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัว n-6 (2.42-21.92%) สูงกว่าปลาทะเล (0.43-14.2%) และยังมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว n-3 สูงเช่นกัน เช่น 20:5n-3 (1.15-13.8%) และ 22:6n-3 (0.94-24.8%) สัดส่วนของ (n-6)/(n-3) อยู่ระหว่าง 0.04 และ 4.55 (Özogul, Özogul, & Alagoz, 2007) ปริมาณไขมันและกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบนั้นแตกต่างกันตามชนิดของปลา ชนิดกล้ามเนื้อดำและกล้ามเนื้อขาว ซึ่งเป็นผลมาจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม ฤดูกาล ขนาดตัว อายุ ชนิด (Species, type) ที่อยู่อาศัย (Habitat) ช่วงชีวิต (Life stage) และความอุดมสมบูรณ์ของอาหาร โดยเฉพาะชนิด (Species) คือ สัตว์กินพืช (Herbivorous) สัตว์ที่กินทั้งพืชและสัตว์ (Omnivorous) หรือ สัตว์กินเนื้อ (Carnivorous) (Hossain, 2011; Saito et al., 1999; Sargent et al., 1995) การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันตามฤดูกาลมีการตรวจพบในปลา Gilthead sea bream

(*Sparus aurata*) (Grigorakis et al., 2002) ปลา baltic herring (*Clupea harengus membras*) (Aro et al., 2000) และในปลาชนิดอื่นบางชนิด (Luzia et al., 2003; Tanakol et al., 1999) องค์ประกอบของกรดไขมันในไตรกลีเซอไรด์ที่ใกล้เคียงกับอาหารที่ใช้เลี้ยงจึงใช้บ่งชี้ถึงวิธีการเลี้ยงได้ว่า เจริญในฟาร์มหรือจากแหล่งธรรมชาติ รวมถึงตำแหน่งการกระจายของกรดไขมันในตำแหน่งของ คาร์บอนในโครงสร้างกลีเซอรอลที่เป็นองค์ประกอบในไขมันสามารถใช้บ่งชี้ชนิดและการปลอมปนได้ (Rehbein & Oehlenschläger, 2009)

การเปลี่ยนแปลงจากทั้งปฏิกิริยาทางเคมีและจุลินทรีย์ของไขมันในระหว่างการเก็บรักษาจึงมีผลกระทบต่อคุณภาพความสดของปลา ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจากเอนไซม์ไลเปส (Lipase) ทั้งจากตัวปลา (Endogenous) และ/หรือจากจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการสะสมของกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid) ซึ่งง่ายต่อการเกิดออกซิเดชันเมื่อเปรียบเทียบกับไตรกลีเซอไรด์ ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (Polyunsaturated fatty acids) ในตัวอย่างปลาเกล็ดเงินจากประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนคิดเป็น 44% ของกรดไขมันทั้งหมด (Kaneniwa et al., 2000) นอกจากนี้คณะวิจัยนี้ยังพบว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่งเป็นองค์ประกอบของพอสโฟลิพิด การเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งทำให้เกิดการลดลงของพอสโฟลิพิดและการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง ซึ่งคาดว่าเป็นผลจากกิจกรรมเอนไซม์พอสโฟไลเปส อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของไขมันในปลาเกล็ดเงินและปลาทรายแดงในประเทศไทย ทั้งที่การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมีความสำคัญต่อคุณภาพปลาสดและซูริมิ

2.5 การเกิดออกซิเดชันของไขมันในซูริมิ

การเกิดออกซิเดชันของไขมันส่งผลทำให้เกิดการเสื่อมเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารจากเนื้อสัตว์และโดยทั่วไปนิยมใช้ในการตรวจติดตามอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์อาหาร (Frankel, 1993) การเกิดออกซิเดชันของไขมันเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนเกิดจากการที่กรดไขมันไม่อิ่มตัวทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของออกซิเจนผ่านกลไกของอนุมูลอิสระ (Asghar et al., 1988) กลไกพื้นฐานของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันแบ่งเป็น 3 ขั้นตอนคือ ปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น (Initiation), ปฏิกิริยาขั้นแผ่ขยาย (Propagation) และปฏิกิริยาขั้นยุติ (Termination) (Nawar, 1996) ผลิตภัณฑ์ขั้นต้น (Primary products) ที่เกิดจากปฏิกิริยาส่วนใหญ่คือ ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (Hydroperoxides) ซึ่งมีเสถียรภาพค่อนข้างต่ำ ไม่มีกลิ่น และสามารถสลายได้สารประกอบทุติยภูมิ (Secondary compounds) ได้แก่ แอลเคน (Alkanes) แอลคีน (Alkenes) แอลดีไฮด์ (Aldehydes) คีโตน (Ketones) แอลกอฮอล์ (Alcohols) เอสเทอร์ (Esters) กรด (Acids) และไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbons) ในสารเหล่านี้ แอลดีไฮด์มีความสำคัญเนื่องจากมีค่าระดับต่ำสุดที่สามารถรับรู้ได้ (Threshold) ต่ำและเป็นสารประกอบที่ก่อให้เกิดกลิ่นรสนั้น (Ladikos & Lougovois, 1990; Ross & Smith, 2006) นอกจากนี้การเกิดออกซิเดชันของไขมันยังส่งผลให้เกิดปัญหาด้านการเสื่อมเสียของกลิ่น

รส สี และเนื้อสัมผัส (Kanner, 1994) โดยในไขมันหลากหลายชนิดที่พบในเนื้อปลานั้นพบว่าพอสโฟลิพิดซึ่งมีปริมาณ 1% ของปริมาณไขมันทั้งหมดนั้นถือว่าเป็นสารตั้งต้นหลักที่เกิดออกซิเดชันก่อให้เกิดการเหม็นหืน (Gandemer & Meynier, 1995) เนื่องจากมีความไม่อิ่มตัวสูง พื้นที่ผิวมาก และมีสารเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันอยู่ในเซลล์ส่วนที่เป็นสารละลาย (Medina et al., 2012)

ในกระบวนการผลิตซูริมินั้นไตรกลีเซอไรด์ส่วนใหญ่สามารถแยกออกได้ด้วยการทำให้ลอย ใช้กระบวนการทางกลช่วยและการหลอม/ทำให้มัน ไขมันส่วนใหญ่จะถูกแยกออกไปพร้อมกับกระบวนการเอาหัว ใส และหนังปลาออก เนื่องจากโดยทั่วไปไขมันปลาจะสะสมอยู่บริเวณส่วนเหล่านี้ อย่างไรก็ตามพอสโฟลิพิดที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งมีปริมาณน้อยจะคงอยู่ในเนื้อปลาซึ่งจะกำจัดออกด้วยการล้างได้ยาก พอสโฟลิพิดเหล่านี้มีโครงสร้างไม่อิ่มตัวและไวต่อการรวมตัวกับเหล็กในรูปฮีม (heme iron) จึงเกิดออกซิเดชันได้ง่าย ส่งผลให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการและเร่งให้มัยโอไฟบิลลาร์โปรตีนเสียสภาพ ไขมันในซูริมิจะก่อให้เกิดปัญหาถ้ามีสารที่เร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Pro-oxidants) เช่น เหล็ก (จากน้ำประปา เครื่องจักร หรือฮีมโปรตีนที่เหลือ) ขั้นตอนการบดและการล้างโดยทั่วไปแล้วออกซิเจนปริมาณมากจะสัมผัสกับซูริมิทำให้เกิดออกซิเดชันของไขมันขึ้น (Park, 2000) ส่งผลให้เกิดอนุมูลอิสระ (Free radicals) และลิพิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (Lipid hydroperoxides) ผลิตภัณฑ์ขั้นปฐมภูมิที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันนั้นจะสลายตัวต่อไปเป็นสารประกอบขั้นทุติยภูมิ เช่น แอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์ และคีโตน และเกิดปฏิกิริยาต่อไปจนเกิดสี กลิ่น รส ที่ไม่ต้องการ (Frankel, 2005) Saeed & Howell (2002) รายงานว่าผลิตภัณฑ์ขั้นปฐมภูมิและทุติยภูมิที่เกิดจากการออกซิเดชันของไขมันในโปรตีนกล้ามเนื้อของปลา Atlantic mackerel นั้นเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น รวมถึงที่อุณหภูมิการเก็บสูงที่ 20 °C เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ -30 °C

ซูริมิและเนื้อปลาบดที่ผ่านการล้างน้ำจะสูญเสียการป้องกันจากธรรมชาติและส่งผลให้ไวต่อการเกิดออกซิเดชัน (Eymard et al., 2005) Eymard, Baron, & Jacobsen (2009) พบว่าปลา horse mackerel บดที่ล้างด้วยน้ำเย็นแล้วทำให้เกิดความไม่สมดุลระหว่างสารเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและสารป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Antioxidant) ในกล้ามเนื้อ กระบวนการล้างจะส่งเสริมการเกิดออกซิเดชันของไขมัน โดยลำดับการเกิดออกซิเดชันคือ ปลาบด < ปลาบดล้างน้ำ 1 ครั้ง < ปลาบดล้างน้ำ 2 ครั้ง < ปลาบดล้างน้ำ 3 ครั้ง Srinivasan et al. (1996) รายงานว่าหัวใจวัวที่ผ่านการล้าง 2 ครั้ง ด้วยสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) ที่ pH 7 เข้มข้น 25 mM ที่มีเกลือ (0.1 M NaCl) เพื่อใช้เป็นวัตถุค้ำชูซูริมิ ป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมันระหว่างการเก็บรักษา ผลงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า Na^+ ควบคุมความสามารถของ H^+ ในการเร่งปฏิกิริยารีดอกซ์ของไมโอโกลบิน หรือการล้างด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้น 0.1 M จะกำจัดปัจจัยและโคแฟกเตอร์ (Cofactors) ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของไขมันหรือเม็ดสีในกล้ามเนื้อหัวใจวัวได้ Wimmer, Sebranek, & McKeith (1993) รายงานว่าการล้างเนื้อหมูด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้น 1.5% ที่ pH 5.5 และ pH 6.5 ส่งผลลดไขมันลง 1% และลดการเกิดออกซิเดชันของไขมันลงระหว่างการเก็บได้

Sohn et al. (2005) ศึกษาการเกิดออกซิเดชันของไขมันในปลาหางเหลือง (yellowtail) ทั้งในส่วนกล้ามเนื้อขาวและกล้ามเนื้อแดง ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง พบว่าหลังจากเก็บปลาไว้เป็นเวลา 2 วัน ปริมาณเปอร์ออกไซด์และค่า TBARS ในกล้ามเนื้อแดงมีมากกว่ากล้ามเนื้อขาวอย่างมีนัยสำคัญ ในกล้ามเนื้อดำมีปริมาณไขมันและมัยโอโกลบินสูงกว่ากล้ามเนื้อขาวจึงมีแนวโน้มเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ง่ายกว่า Balange, Benjakul, & Maqsood (2009) พบว่าค่า pH ปริมาณ total volatile base (TVB) trimethylamine (TMA) trichloroacetic acid (TCA)-soluble peptide contents และ TBARS ระหว่างการเก็บรักษาเนื้อปลาแมคเคอเรล (Mackerel) ในน้ำแข็งเป็นเวลา 12 วัน เพิ่มขึ้น และความสามารถในการเกิดเจล (Gel-forming ability) ซูริมิปลาแมคเคอเรลลดลง เมื่อระยะเวลาในการเก็บปลาเพิ่มขึ้น อันเป็นผลเนื่องจากการเสื่อมสภาพของโปรตีนและการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน การเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวทำให้เกิดสารประกอบเปอร์ออกไซด์ ซึ่งแตกตัวเป็น อัลดีไฮด์ คีโตน แอลกอฮอล์และสารระเหยอื่นๆ ที่ให้กลิ่น-รส ที่ไม่พึงประสงค์ (off-flavor) ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของปลาและปลาสดล้างน้ำ

Miyasaki, Hamaguchi, & Yokoyama (2011) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารระเหยในเนื้อปลาหลายชนิดที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 3-4 วัน ด้วยเทคนิค SPME-GC/MS ผลการศึกษาตรวจพบสารประกอบอัลดีไฮด์และแอลกอฮอล์จำนวนมาก เช่น 1-heptanol, (E)-2-octenal, (E)-2-hexenal, 1-pentanol, (E,E)-2,4-heptadienal, 2,4-hexadienal, 1-hexanol, 4-heptenal เป็นต้น ซึ่งสารระเหยดังกล่าวเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน จึงสามารถนำมาใช้ตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพความสดของเนื้อปลาได้ นอกจากนี้ Wierda et al. (2006) พบสารประกอบอัลดีไฮด์และแอลกอฮอล์ในปลา king salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) ที่เก็บเป็นเวลานาน และพบว่าสาร acetoin, ethyl benzene, propyl benzene, styrene, 3-methyl butanoic acid and acetic acid สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้การเน่าเสียของปลาชนิดนี้ได้ นอกจากนี้ Leduc et al. (2012) รายงานว่า thiophene, hexanal, 1-octen-3-one, dimethyl-trisulphide และ 1-nonen-3-ol สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพความสดของปลาได้ อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาถึงการเกิดสารระเหยในปลาเขตศูนย์สูตร โดยเฉพาะปลาที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจที่เป็นวัตถุดิบของการผลิตซูริมิอย่างเช่นปลาเกล็ดเงิน และยังไม่เคยมีการศึกษาถึงสารระเหยในผลิตภัณฑ์ปลาสดล้างน้ำที่เตรียมจากปลาที่มีคุณภาพความสดต่างกัน ทั้งที่เป็นองค์ประกอบที่มีผลต่อกลิ่น-รส ซึ่งเป็นลักษณะทางประสาทสัมผัสที่สำคัญ

2.6 สเปกโตรสโกปีของการสั่น (Vibrational spectroscopy)

สเปกตร้าของการสั่นได้จากทั้งเทคนิคการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด (infrared absorption, IR) หรือการกระเจิงแสงแบบรามาน (Raman scattering) โดยทั้ง 2 เทคนิคนี้ให้ข้อมูลที่ส่งเสริมซึ่งกันและกัน IR ได้จากการดูดซับพลังงานเนื่องจากการสั่นของพันธะเคมีทั้งในแบบยืด (stretching) และแบบงอ (bending) การกระเจิงแสงแบบรามานได้จากการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงาน (transitions) ในโมเลกุลเหมือนกัน แต่มีความจำเพาะต่อชนิดโมเลกุลแตกต่างกัน โดยโมเลกุลที่ให้แถบการดูดกลืนแสงอ่อน (weak bands) ใน IR จะแสดงสัญญาณที่ดีใน Raman (Li-Chan, Griffiths, & Chalmers, 2010) การศึกษาโครงสร้างของโปรตีนจะแสดงสเปกตร้าที่เกิดจากหมู่เอไมด์ (amide) ที่แถบ amide I (C=O stretch, เลขคลื่นใกล้ $1,650\text{ cm}^{-1}$), amide II (N-H bend และ C-N stretch, เลขคลื่นใกล้ $1,550\text{ cm}^{-1}$), และ amide III (C-N stretch, N-H bend, เลขคลื่นใกล้ $1,300\text{ cm}^{-1}$) (Pelton & McLean, 2000)

2.6.1 รามานสเปกโตรสโกปี (Raman spectroscopy)

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิครามานสเปกโตรสโกปีนั้นใช้หลักการของการกระเจิงแสงแบบไม่ยืดหยุ่นของโฟตอนในหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลเมื่อเกิดการสั่น ทั้งความถี่และความเข้มของการสั่นของโมเลกุลนั้นสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงพันธะเคมีและสิ่งแวดล้อมระดับจุลภาค (microenvironment) ของหมู่ฟังก์ชัน จะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงรามานสเปกตรัม (Careche & Li-Chan, 1997) รามานสเปกโตรสโกปีเป็นวิธีที่ไม่ทำลายตัวอย่างและไม่ต้องการขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างก่อนวิเคราะห์ นอกจากนี้ยังต้องการตัวอย่างเพียงเล็กน้อยในการทดสอบ มีงานวิจัยจำนวนมากใช้รามานสเปกโตรสโกปีศึกษาโปรตีน รวมถึงติดตามการทำปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนซึ่งเกิดขึ้นระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บผลิตภัณฑ์อาหาร (Marquardt & Wold, 2004) การทำปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนกับไขมันในอิมัลชัน (Howell, Herman, & Li-Chan, 2001) เนื่องจากโมเลกุลของน้ำให้สัญญาณรามานอ่อน ดังนั้นเทคนิคนี้จึงเหมาะสมในการศึกษาระบบชีวโมเลกุล เช่น อาหาร ซึ่งมีน้ำประกอบในปริมาณสูง (Careche & Li-Chan, 1997)

2.6.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนโดยรามานสเปกโตรสโกปี

การบ่งชี้สเปกตร้าของโปรตีนในแถบรามานนั้นอาศัยข้อมูลจากสารประกอบที่ใช้เป็นต้นแบบ เช่น กรดอะมิโน หรือ เพปไทด์สายสั้น รามานสเปกโตรสโกปีให้ข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างทุติยภูมิและตติยภูมิของโปรตีนในตัวอย่างที่มีสถานะเป็นของแข็งได้ (Li-Chan, Nakai, & Hirotsuka, 1994) เช่น กล้ามเนื้อในผลิตภัณฑ์อาหาร แถบของรามาน (Raman bands) ที่ใช้ในการตรวจติดตามโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน คือ Amide I ($1,645\text{--}1,685\text{ cm}^{-1}$) และ Amide III ($1,200\text{--}1,350\text{ cm}^{-1}$) ซึ่งสัมพันธ์กับโครงสร้างแบบเกลียวแอลฟา (α -helix) เบต้าชีท (β -sheet) และบริเวณที่มีโครงสร้างไม่เป็นระเบียบ

(Random coil) ข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างตติยภูมิได้จากการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมที่อยู่ใกล้เคียง (Local environments) เช่น ทริปโตเฟน (Tryptophan) (544, 577, 760, 879, 1014, 1,340, 1,363, 1,553 และ 1,582 cm^{-1}) ไทโรซิล ดับเบิลท (Tyrosil doublet) (855 และ 828 cm^{-1}) และส่วนของสายไฮโดรคาร์บอนที่ไม่ชอบน้ำ (Aliphatic hydrophobic residues) ที่เลขคลื่น 1,450 cm^{-1} (CH_2 และ CH_3 bending) และ 2,930 cm^{-1} (C-H stretching) (Li-Chan, 1996)

รามานสเปกโตรสโกปีเป็นเทคนิคที่ใช้ประโยชน์ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในระบบอาหารที่เป็นของแข็ง เช่น ปลาและเนื้อ และใช้ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระหว่างกระบวนการผลิตและจัดเก็บผลิตภัณฑ์อาหารจากปลาและอาหารทะเล เช่น ซูริมิ (Herrero, Carmona, & Careche, 2004) โดยสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีนโดยตรงระหว่างเกิดการเสถียรภาพและเกิดการรวมตัวกันของโปรตีน (Li-Chan et al., 1994) Careche et al. (1999) ใช้ฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม (Fourier transform Raman, FT-Raman) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีนของปลา hake (*Merluccius merluccius* L.) ระหว่างการเก็บรักษาที่ -10°C ถึง 30°C เป็นระยะเวลา 10 เดือน พบว่าโครงสร้าง β -sheet เพิ่มขึ้น ในขณะที่ α -helix ลดลง ร่วมกับค่าความหนืด (Apparent viscosity) และแรงต้านการเฉือน (Shear resistance) ซึ่งชี้ให้เห็นถึงการสูญเสียคุณภาพของโปรตีน Leelapongwattana et al. (2008) แสดงให้เห็นว่ารามานสเปกตรัมของแอกโทไมโอซิน (Natural actomyosin) ของปลา Haddock ระหว่างการแช่เย็นที่ 4°C และการแช่เยือกแข็งที่ -10°C แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง α -helix และ β -sheet เนื่องจากเกิดการคลายตัวของโครงสร้างเกลียวแอลฟา หลังจากนั้นจึงเกิดการรวมตัวกันระหว่างส่วนที่ไม่มีขั้วที่เปิดตัวออกเกิดเป็นโครงสร้าง β -sheet Herrero, Carmona, & Careche (2004) แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนในเนื้อปลา hake ระหว่างการแช่แข็งเกี่ยวข้องกับโครงสร้างโปรตีนชั้นทุติยภูมิและตติยภูมิ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมินั้นพบว่าโครงสร้าง β -sheet สัมพันธ์กับเกลียวแอลฟา นอกจากนี้การสั่นของ C-H stretching ที่เลขคลื่นใกล้เคียงกับ 2,935 cm^{-1} เพิ่มขึ้น ซึ่งชี้ให้เห็นว่าเกิดการเสถียรภาพของโปรตีนกล้ามเนื้อจากการเปิดตัวของสายไฮโดรคาร์บอนที่ไม่ชอบน้ำ Herrero et al. (2005) ใช้รามานสเปกโตรสโกปีศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างกล้ามเนื้อของปลา Hake ระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่แข็ง พบว่าช่องว่างระหว่างเส้นใยกล้ามเนื้อ (Myofibrils) สัมพันธ์กับแรงต้านการเฉือนและแถบรามานซึ่งเข้มชัดเจนที่เลขคลื่น 160 cm^{-1} สัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนกล้ามเนื้อและ/หรือแรงกระทำระหว่างโปรตีนกับน้ำ นอกจากนี้ความเข้มของแถบของการสั่นของพันธะ O-H นั้นอาจเนื่องจากการเคลื่อนย้ายของน้ำไปยังช่องว่างที่ใหญ่กว่าในระหว่างการแช่เยือกแข็ง Sultanbawa & Li-Chan (2001) พบว่าผลของการแช่แข็งต่อแอกโทไมโอซินของปลา Ling cod ซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10°C และซูริมิหลังจากการทำละลายเมื่อแช่แข็ง การวิเคราะห์ด้วยเทคนิครามานแสดงให้เห็นว่าปริมาณโครงสร้าง α -helix เพิ่มขึ้น บ่งชี้ได้ว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นได้เมื่อเก็บรักษาในสภาวะแช่แข็ง Sun et al. (2011) ใช้รามานสเปกโตรสโกปีศึกษาและแสดง

ให้เห็นว่าโครงสร้างเส้นใยโปรตีน (Myofibrillar proteins) เปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการผลิตไส้กรอก (Cantonese sausage) โดย amide I, amide III, และการสั่นของพันธะ C-C stretching ที่เลขคลื่นช่วง $890-1,060\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งสัมพันธ์กับ α -helix ลดลงในขณะที่โครงสร้าง β -sheet เพิ่มขึ้นภายในระยะเวลา 18 ชั่วโมง

2.6.3 การศึกษาไขมันและการออกซิเดชันของไขมันโดยรามานสเปกโตรสโกปี

รามานสเปกโตรสโกปีใช้ศึกษาโครงสร้างไขมันและการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากสภาวะการเก็บรักษาหรือการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้เช่นกัน (Howell et al., 2001) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไขมันสัมพันธ์กับลำดับของสายโซ่ (Chain order-disorder) สามารถบ่งชี้ได้จากตำแหน่งของความถี่ของการสั่นแบบยืดของพันธะ C-H ที่เลขคลื่นช่วง $3,000-2,800\text{ cm}^{-1}$ (Li-Chan, 1996) และการสลายของไขมัน (lipid hydrolysis) ทำให้ความเข้มของแถบรามานของเอสเทอร์ (Ester) ลดลง (เช่น C=O stretching ที่เลขคลื่น $1,745\text{ cm}^{-1}$) แต่ความเข้มของแถบรามานบางแถบของกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acids) ที่เลขคลื่นใกล้เคียงกับ $1,710\text{ cm}^{-1}$ (C=O stretching) และ 920 cm^{-1} (OH bending) (Li-Chan, 1996) เพิ่มขึ้น

การศึกษาการเกิดออกซิเดชันของไขมันสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งวิธีหนึ่งคือใช้การสั่นของแบบงอของพันธะ O-H ในโมเลกุลของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (Hydroperoxides) และ/หรือสารประกอบไฮดรอกซิล (Hydroxyl compounds) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่บ่งชี้ได้จากช่วงเลขคลื่น $3,500-3,000\text{ cm}^{-1}$ วิธีนี้ได้ผลที่น่าเชื่อถือกับตัวอย่างที่แห้ง อย่างไรก็ตามในตัวอย่งที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบแถบนี้จะถูกบดบัง ดังนั้นการตรวจวัดความเข้มของแถบที่เกิดจากการสั่นแบบยืดของพันธะ C-H ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ C=C ที่เลขคลื่น $3,060-3,000\text{ cm}^{-1}$ จึงถูกนำมาใช้แทน อย่างไรก็ตามความเข้มของแถบเหล่านี้มันอาจมีผลมากจากน้ำร่วมด้วย ดังนั้นอาจใช้การแทนที่ H (Proton) ด้วย deuterium (Deuteration) ในตัวอย่างที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ นอกจากการสั่นแบบยืดของพันธะ O-O ในโมเลกุลของเพอร์ออกไซด์ (Peroxide) ที่เลขคลื่น $900-800\text{ cm}^{-1}$ ที่พบในทั้งอินฟราเรดและรามานสเปกตรัม ซึ่งแม้จะมีความเข้มต่ำก็สามารถใช้ประเมินผลร่วมได้ (Li-Chan et al., 2010)

รามานสเปกโตรสโกปียังใช้วิเคราะห์ระดับความไม่อิ่มตัวของกรดไขมัน (Iodine value) ในกล้ามเนื้อปลาแซลมอน (*Salmo salar*) บดและไขมันปลาแซลมอนที่สกัดได้ (Afseth, Wold, & Segtnan, 2006) Sarkardei & Howell (2007) ตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไขมันที่สกัดจากปลา Mackerel และปลา Horse mackerel ที่ผ่านการทำแห้ง (Freeze-dried) รามานสเปกตรัมแสดงให้เห็นว่าความเข้มของแถบรามานซึ่งสัมพันธ์กับการสั่นแบบยืดของพันธะ CH_2 และ C=O ในเอสเทอร์ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และความเข้มของแถบรามานที่เลขคลื่น $3,011\text{ cm}^{-1}$ และ $2,960-2,850\text{ cm}^{-1}$ เพิ่มขึ้น บ่งชี้ว่ามีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไขมันที่เกี่ยวข้องกับหมู่ C-H ร่วมกับค่า

เปอร์ออกไซด์ของไขมันที่สกัดจากปลา Mackerel และ Horse mackerel ที่ผ่านการทำแห้งที่เพิ่มขึ้น ช่วงเริ่มต้นและลดลงเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 22 °ซ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ซึ่งเป็นการยืนยันว่าเกิดการออกซิเดชันของไขมัน Sánchez-Alonso, Carmona, & Careche (2012) ติดตามการเปลี่ยนแปลงของไขมันที่สกัดจากปลา hake ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 °ซ โดยใช้ FT-Raman พบว่าการสั่นแบบยืดของพันธะ C=C ($1,658 \text{ cm}^{-1}$) สัมพันธ์กับการเกิดสารประกอบ -C=C-C=C- (Conjugated dienes)

2.6.4 ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)

FT-IR คือเทคนิคการวิเคราะห์ระหว่างการวัดความเข้มของรังสีอินฟราเรดกับความยาวคลื่นของแสง สเปกตรัมที่ได้แสดงลักษณะของโมเลกุลของสารอินทรีย์ซึ่งจะดูดซับพลังงานจากรังสีอินฟราเรดที่ความถี่เฉพาะ ดังนั้นสารประกอบสามารถตรวจวิเคราะห์ได้จากการดูดซับรังสีอินฟราเรด และแสดงตำแหน่งในสเปกตรัมต่างกัน (Klaypradit, Kerdpiboon & Singh, 2011)

2.6.5 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนโดยฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (FT-IR) เป็นเทคนิคที่รวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง และให้ผลที่น่าเชื่อถือเมื่อวิเคราะห์ซ้ำ (Reproducible) ให้ข้อมูลเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน อินฟราเรดสเปกตรัมของโปรตีนและเพปไทด์ประกอบด้วย Amide I และ Amide II โดยแสดงการดูดกลืนแสงของ amide I ($1,700\text{-}1,600 \text{ cm}^{-1}$) เกิดจากการสั่นแบบยืด (Stretching) ของพันธะ C=O ในพันธะเพปไทด์ ส่วนการดูดกลืนแสงของ Amide II เกิดจากการสั่นแบบงอ (Bending) ของพันธะ N-H เนื่องจากพันธะ C=O และ N-H เกี่ยวข้องกับพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน ดังนั้น Amide I และ Amide II จึงไวต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณและโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน (Kong & Yu, 2007)

สเปกตรัมของ FT-IR ของปลา Alaska Pollock บดล้างน้ำนั้น Amide I แสดงให้เห็นว่า α -helix เพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนครั้งการล้างเพิ่มขึ้น และพบว่ามีโครงสร้าง Unordered หรือ Random coil ($1641\text{-}1645 \text{ cm}^{-1}$) (Moosavi-Nasab, 2003) มากขึ้นเช่นกัน ซูริมิปลา Alaska Pollock มีปริมาณ α -helix มากกว่าปลาบดเนื่องจากกระบวนการล้างกำจัดสารประกอบที่มีโครงสร้าง β -sheet และการสูญเสียโครงสร้างเกลียวแอลฟาจะเกิดขึ้นมากกว่าในการแช่แข็งแบบช้า (slowly frozen) เมื่อเปรียบเทียบกับแช่แข็งอย่างรวดเร็ว (Rapidly-frozen) (Moosavi-Nasab et al., 2005) การแช่แข็งอย่างรวดเร็วสามารถคงโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่เยือกแข็งในระยะเวลาอันยาวนานได้อย่างมีประสิทธิภาพ สเปกตรัมของ FT-IR ของไส้กรอก (Cantonese sausage) นั้น

แสดงทั้งหมด 9 แถบการดูดกลืนหลัก ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีนโดยเฉพาะ amide I (Sun et al., 2011) ซึ่งแถบการดูดกลืนเหล่านี้ส่วนใหญ่เกิดจากการสั่นแบบยืดของพันธะ C=O และส่วนน้อยเกิดจากการสั่นแบบยืดของพันธะ C-N ของพันธะเพปไทด์

2.6.6 การศึกษาไขมันและการออกซิเดชันของไขมันโดยฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (FT-IR)

สเปกตรัมของ FT-IR สามารถใช้ตรวจวิเคราะห์การเกิดการออกซิเดชันของไขมันและประยุกต์ใช้กับการตรวจวิเคราะห์อื่นๆ มากมาย Sinelli et al. (2007) FT-IR สามารถแยกประเภทระหว่างตัวอย่างน้ำมันมะกอกบริสุทธิ์ที่ผลิตใหม่ (Fresh) กับน้ำมันมะกอกที่เกิดการออกซิเดชัน โดยพบว่าแถบการดูดกลืนแสงสัมพันธ์กับความเข้มข้นของแอลดีไฮด์ คีโตน และอีพอกไซด์ (Epoxides) ที่เพิ่มขึ้นของตัวอย่างน้ำมันที่ผ่านการเก็บมากกว่าตัวอย่างน้ำมันที่ผลิตใหม่ คือที่เลขคลื่น $1,743\text{ cm}^{-1}$, แสดงถึงการสั่นแบบยืดของพันธะ C=O ในโมเลกุลของแอลดีไฮด์และคีโตน ที่เลขคลื่น $1,363\text{ cm}^{-1}$ แสดงถึงการสั่นแบบงอแบบกรรไกร (Scissoring) ของ CH_2 ในโมเลกุลของอีเทอร์ ที่เลขคลื่น $1,218\text{ cm}^{-1}$ แสดงถึงการสั่นแบบยืดของพันธะ C-O ของอีพอกไซด์ นอกจากนี้สเปกตรัมของ FT-IR ให้ผลการตรวจวัดการเกิดการออกซิเดชันสอดคล้องกับวิธีการวิเคราะห์แบบดั้งเดิม (Classical methods) Klaypradit et al. (2011) พบว่าสเปกตรัมของ FT-IR สามารถใช้ติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพที่เกิดจากการออกซิเดชันของน้ำมันปลา Menhaden fish เก็บภายใต้สภาวะมีแสง ที่อุณหภูมิห้องได้ โดยแสดงที่เลขคลื่น $3,500\text{--}1,700\text{ cm}^{-1}$ และการดูดกลืนแสงยังสัมพันธ์กับค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value, PV) และค่าแอนิซิดีน (Anisidine value, AnV) ที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี นอกจากนี้ยังพบว่าค่าการดูดกลืนของสเปกตรัมของ FT-IR ที่เลขคลื่น $3,600\text{--}3,200\text{ cm}^{-1}$ เพิ่มขึ้นนั้น สอดคล้องกับค่าเปอร์ออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นในกล้ามเนื้อปลาซาร์ดีน (*Sardinella gibbosa*) ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 9 วัน แสดงถึงการเกิดขึ้นของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (Hydroperoxide) ในตัวอย่าง (Chaijan et al., 2006) แต่หลังจากระยะเวลาการเก็บ 15 วัน ไม่พบค่าการดูดกลืนแสงในช่วงเลขคลื่นนี้ แสดงถึงการสลายตัวของโมเลกุลไฮโดรเปอร์ออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน Sánchez-Alonso et al. (2012) รายงานว่า FT-IR สามารถใช้สำหรับติดตามการสลายตัวของไขมัน (lipid hydrolysis) ของไขมันที่สกัดจากชิ้นปลา Hake ระหว่างการเก็บรักษาแบบแช่แข็งที่ $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ โดยพบการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมอย่างมีนัยสำคัญในช่วงการสั่นของโมเลกุลคาร์บอนิล (Carbonyl) ($1,800\text{--}1,600\text{ cm}^{-1}$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งแถบการดูดกลืนแสงที่แตกต่างอยู่ใกล้เลขคลื่น $1,742\text{ cm}^{-1}$ และ $1,712\text{ cm}^{-1}$ นอกจากนี้สเปกโตรสโกปีของการสั่นยังใช้ติดตามการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนและไขมันของปลาทรายแดง (Threadfin bream) และปลาเกล็ดเงิน (Silver carp) ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง รวมถึงการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาบดเมื่อนำมาเก็บรักษาโดยการแช่แข็งอีกด้วย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีระหว่างการศึกษาในน้ำแข็งต่อคุณภาพปลาบดล้างน้ำ

3.1.1 การเตรียมตัวอย่างปลาเกล็ดเงินบดล้างน้ำ

ปลาเกล็ดเงิน (*Hypophthalmichthys molitrix*) ขนาดน้ำหนัก 1.0-1.5 กิโลกรัม (kg) ได้รับจากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด จ.ขอนแก่น (KhonKaen inland fisheries research and development center) ขนส่งปลาสดมายังห้องปฏิบัติการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีภายใน 3 ชั่วโมง จากนั้นบรรจุในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งทันทีด้วยอัตราส่วนปลาต่อน้ำแข็ง 1:2 และเก็บในห้องเย็นตลอดการทดลอง โดยมีการระบายน้ำและเติมน้ำแข็งทุก 2 วัน ระหว่างระยะเวลาการเก็บ 14 วัน สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ในวันที่ 0 7 และ 14 โดยนำปลามาตัดหัว ควักไส้ ล้าง เอาหนังออก และแล่เป็นชิ้น จากนั้นบดด้วยเครื่องบดผ่านรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร แล้วนำปลาบดที่ได้มาล้างน้ำ (Portable reverse osmosis) 2 ครั้ง ด้วยอัตราส่วนปลาบดต่อน้ำเท่ากับ 1:3 ใช้เวลาในการล้าง 5 นาที ที่อุณหภูมิห้องต่ำกว่า 5 °ซ การล้างครั้งที่ 3 นั้นใช้วิธีการล้างตามรายละเอียดข้างต้น แต่ล้างด้วยสารละลายเกลือ (NaCl) เข้มข้น 0.3% จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงที่ 4,000 xg ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เวลา 5 นาที หลังการล้างทุกครั้งทำการเก็บสารละลายที่ได้หลังปั่นเหวี่ยง คือ น้ำล้าง สำหรับวิเคราะห์ต่อไป บรรจุปลาบดและปลาบดล้างน้ำที่ได้ในถุงโพลีเอทิลีนเก็บที่อุณหภูมิ -80 °ซ และทำการวิเคราะห์ภายใน 10 วัน การวิเคราะห์หองค์ประกอบหลัก (ความชื้น เถ้า และโปรตีน) ของตัวอย่างทั้งหมดตามวิธี AOAC (2005) ปริมาณไขมันทั้งหมด (Folch et al., 1957) และวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมด

3.1.2 วิเคราะห์องค์ประกอบของกล้ามเนื้อ

วิเคราะห์องค์ประกอบของกล้ามเนื้อในตัวอย่างปลาบดและปลาบดล้างน้ำ ตามวิธีของ Hashimoto et al. (1979) โดยตัดแปลงเล็กน้อย ซึ่งตัวอย่าง 10 กรัม ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenized) ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (15.6 mM ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) เข้มข้น 15.6 mM และ โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต KH_2PO_4 เข้มข้น 3.5 mM) pH 7.5 โดยใช้เครื่องเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (IKA T25 DigitalUltra-Turrax, Model T 25D, Staufen, Germany) ที่ 10,000 รอบต่อนาที (rpm) เวลา 30 วินาที หลังจากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 xg เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 4 °ซ นำสารละลายที่ได้มาวิเคราะห์ซาร์โคพลาสมิคโปรตีน (sarcoplasmic protein) ส่วนตะกอนนั้นทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (Na_2HPO_4 เข้มข้น 15.6 mM และ KH_2PO_4 เข้มข้น 3.5 mM) pH 7.5 ที่มีสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) เข้มข้น 0.45 M pH 7.5 นำสารละลายที่ได้มาปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ 5,000 xg เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 4 °ซ ส่วนตะกอนนั้นนำมาสกัดด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ด้วยวิธีการเดิม ส่วน

สารละลายที่ได้นำมารวมกันเพื่อวิเคราะห์ส่วนไมโอไฟบริลลารีโปรตีน (Myofibrillar protein) หรือส่วนโปรตีนที่ละลายได้ในเกลือ (Salt soluble protein, SSP) ส่วนที่ไม่ละลายนำมาผสมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 0.1 N กวนผสม ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง แล้วปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 ×g อุณหภูมิ 4 °ซ เวลา 15 นาที ถือเป็นโปรตีนส่วนที่สกัดได้ด้วยด่าง (Alkaline-extraction protein) และส่วนสุดท้าย คือ สโตรมาโปรตีน (Stroma protein) โดยโปรตีนที่สกัดได้แต่ละส่วนนั้นวิเคราะห์โดยใช้วิธีเคเจลดาล์ (Kjeldahl method) ซึ่งใช้ Conversion factor คือ 6.25 (AOAC, 2005)

3.1.3 ค่าเค (K value)

วิเคราะห์คุณภาพความสดของปลาโดยหาค่าเค (K-value) ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง (High-performance liquid chromatography, HPLC) ตามวิธีของ Yongswawatdigul and Park (2002) โดยชั่งตัวอย่างเนื้อปลาสด 5 กรัม เติมสารละลายกรดเปอร์คลอริก (Perchloric acid) เย็นเข้มข้น 7.5% ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ผสมทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน ที่ 10,000 rpm เวลา 30 วินาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาปั่นเหวี่ยงที่ 990 ×g อุณหภูมิ 4 °ซ เวลา 5 นาที เก็บส่วนสารละลาย โดยปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายกรดเปอร์คลอริกเย็นเข้มข้น 7.5% จากนั้นเก็บที่ -20 °ซ สำหรับการวิเคราะห์ด้วย HPLC นั้น นำตัวอย่างที่สกัดได้มาละลายแล้วเติมสารละลายโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Potassium phosphate buffer) เข้มข้น 0.6 M (pH 7.6) ในปริมาตรที่เท่ากัน ทั้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดการตกตะกอนของโพแทสเซียมเปอร์คลอเรต (Potassium perchlorate) กรองสารละลายส่วนใสที่ได้ผ่านเมมเบรนชนิดไนลอน (Nylon filter membrane) ขนาด 0.45 ไมครอน

อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (Adenosine triphosphate, ATP) และผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการสลายตัวของ ATP ได้แก่ อะดีโนซีนไดฟอสเฟต (Adenosine diphosphate, ADP) อะดีโนซีนโมโนฟอสเฟต (Adenosine monophosphate, AMP) อินอซีนโมโนฟอสเฟต (Inosine monophosphate, IMP) อินอซีน (Inosine, HxR) และไฮโปแซนทีน (Hypoxanthine, Hx) จะถูกแยกด้วยคอลัมน์ C18 reverse phase (Hypersil ODS C18 column (3 ไมครอน, 150 × 4.6 มิลลิเมตร)) (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) ตัวทำละลายที่ใช้ในการชะหรือแยกตัวอย่าง คือ เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ประกอบด้วย เฟสเคลื่อนที่ A คือ KH_2PO_4 เข้มข้น 150 mM และ KCl เข้มข้น 150 mM (ปรับ pH เป็น 6.0 ด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) เข้มข้น 50%) และเฟสเคลื่อนที่ B คือ สารละลายอะซิโตนไนไตรล์ (Acetonitrile) เข้มข้น 20% ในเฟสเคลื่อนที่ A โดยอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ คือ 2 มิลลิลิตรต่อนาที อาศัยการไล่ระดับแบบเส้นตรง (Linear gradient) ซึ่งปริมาณเฟสเคลื่อนที่ B เพิ่มขึ้นตั้งแต่ 0 ถึง 100% ในระยะเวลา 25 นาที คำนวณค่าเคตามสมการ ①

$$K \text{ value (\%)} = \frac{HxR+Hx}{ATP+ADP+AMP+IMP+HxR+Hx} \times 100 \quad \text{-----} \textcircled{1}$$

3.1.4 วิเคราะห์ระดับการย่อยสลายตัวเอง (Autolytic activity)

กิจกรรมการย่อยสลายตัวเองของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อระหว่างการรักษาในน้ำแข็งนั้น ตรวจสอบจากปริมาณโอลิโกเปปไทด์ที่ละลายในกรดไตรคลอโรอะซิติก (Trichloroacetic acid (TCA)-soluble oligopeptide) (Yongsawatdigul and Piyadhamviboon, 2004) โดยชั่งตัวอย่างเนื้อปลาสด 3 กรัม บ่มในอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเกิดกิจกรรมย่อยสลายตัวเองของเนื้อปลาเกลือเงิน คือ 65°C เวลา 1 ชั่วโมง แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วย สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้น 5% ปริมาตร 27 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน บั่นเหวี่ยงที่ 10,000 ×g อุณหภูมิ 4 °C เวลา 15 นาที วิเคราะห์ปริมาณโอลิโกเปปไทด์ตามวิธีของ Lowry et al. (1951) โดยใช้ไทโรซีน (Tyrosine) เป็นสารมาตรฐาน ตัวอย่างควบคุม คือ เนื้อปลาสดที่ไม่ได้ผ่านการบ่ม ระดับการย่อยสลายตัวเองแสดงในหน่วย $\mu\text{mole tyrosine g}^{-1}\text{sample h}^{-1}$

3.1.5 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน (Protein conformational changes)

วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนในเนื้อปลาสดและเนื้อปลาล้างน้ำที่ระยะเวลาการรักษาในน้ำแข็งที่แตกต่างกัน โดยนำตัวอย่างโปรตีนส่วนที่ละลายในเกลือที่สกัดได้จากเนื้อปลาสดและตัวอย่างเนื้อปลาล้างน้ำมาวิเคราะห์ปริมาณหมู่ซัลไฟไฮโดรซิลทั้งหมด (Total Sulfhydryl, T-SH) ปริมาณหมู่ซัลไฟไฮโดรซิลพร้อมทำปฏิกิริยา (Reactive Sulfhydryl, R-SH) และวิเคราะห์ปริมาณพื้นผิวไฮโดรโฟบิก (surface hydrophobicity, S_0 -ANS) ของโปรตีน

ตรวจวิเคราะห์หมู่ T-SH โดยใช้สาร Ellman's reagent ตามวิธีที่อธิบายของ Yongsawatdigul and Park (2002) ใช้ตัวอย่าง SSP (4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เติมสารละลายบัฟเฟอร์เย็น (PBS เข้มข้น 50 mM กรดเอทิลีนไดอะมีนเตตระอะซิติก (ethylenediaminetetraacetic acid: EDTA) เข้มข้น 10 mM โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เข้มข้น 0.6 M และยูเรีย (Urea) เข้มข้น 8 M, pH 7.0) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จากนั้นผสมสารละลาย (4 มิลลิลิตร) กับ 5, 5'-dinitrobenzoic acid (2-nitrobenzoic acid) หรือ DNS เข้มข้น 0.1% ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 40 °C เวลา 25 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร (nm) คำนวณหมู่ T-SH โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดแสง (Extinction coefficient) เท่ากับ $13,600 \text{ mol L}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ส่วนการตรวจวิเคราะห์หมู่ R-SH โดยบ่มตัวอย่าง SSP ที่อุณหภูมิ 4 °C เวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงของยูเรีย หมู่ T-SH และ R-SH นั้นแสดงค่าเป็น moles $105 \text{ g}^{-1} \text{ protein}$

การเปลี่ยนแปลง S_0 ตรวจวัดโดยใช้ 8-anilino-1-naphthalene sulfonate (ANS) ตามวิธีของ Hayakawa and Nakai (1985) โดยเติมตัวอย่าง SSP (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในสารละลาย ANS เข้มข้น 8 M ปริมาตร 10 μL ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.01 M (pH

7.0) แล้วผสมให้เข้ากัน บ่มตัวอย่างในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นวัดความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence intensity, FI) ของสารผสมที่ความยาวคลื่นแสงที่ใช้สำหรับกระตุ้น (Excitation wavelengths) และความยาวคลื่นแสงที่ใช้สำหรับคาย (Emission wavelengths) คือ 374 และ 485 nm ตามลำดับ โดยใช้สเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ (Spectrofluorometer) (FP-8300, Jasco, Tokyo, Japan) คำนวณค่าปริมาณพื้นผิวไฮโดรโฟบิกจากค่าความชันของกราฟที่ได้จากค่าสัมพัทธ์ของความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์กับความเข้มข้นของโปรตีน (% w/v)

3.1.6 สเปกโตรสโกปีของการสั่น (Vibrational spectroscopy)

วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนทุติยภูมิ (Secondary structure) และ ตติยภูมิ (Tertiary structure) ด้วยเทคนิค FT-IR และ FT-Raman ตามวิธีของ Sánchez-Alonso et al. (2012)

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนโดยใช้ FT-IR โดยใช้เทคนิค attenuated total reflectance (ATR) ด้วยการสะท้อนแสงแบบ single reflection และตัวตรวจวัดเป็น MCT (Mercury-Cadmium-Telluride Detector) ทำความเย็นด้วยไนโตรเจนเหลว วัดที่ความยาวคลื่น 4,000-600 cm^{-1} ความละเอียด 4 cm^{-1} จำนวน 64 สแกน โดยใช้เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Tensor 27, Bruker Optics Ltd, Ettlingen, Germany) โดยเตรียมตัวอย่างปลาบดและปลาบดล้างน้ำ ผ่านการทำแห้ง (Lyophilized) วางแนบติดกับแผ่น ATR ในแนวระนาบ ตรวจวัดตัวอย่างละ 30 สเปกตรัม วิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม OPUS 7.2 สเปกตรัมทั้งหมดได้จากตัวอย่างทั้งหมด 3 ซ้ำ (Replications) จากนั้นทำการเฉลี่ยสเปกตรัม แล้วทำ curve fitting ด้วยการปรับเส้นพื้นฐาน (Baseline correction) ในช่วงเลขคลื่นของ amide I (1,730-1,587 cm^{-1}) แสดงผลวิเคราะห์เป็นปริมาณสัมพัทธ์ของอินทริเกตความเข้มของแถบ (Integrated intensity) ที่เป็นองค์ประกอบ (Parallel β -sheet, 1,613–1,636 cm^{-1} ; α -helix, 1,647–1,669 cm^{-1} ; β -turn, 1,680 cm^{-1} ; และ antiparallel β -sheet, 1,691 cm^{-1})

FT-Raman ตรวจวัดด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (BrukerRAM II) ทำงานร่วมกับอินเตอร์เฟอโรมิเตอร์ (Vertex 70v interferometer, Bruker Co., Ettlingen, Germany) โดยใช้ Nd:YAG laser เป็นแหล่งกำเนิดแสง ที่ความยาวคลื่น 1064 นาโนเมตร ตรวจวัดการกระเจิงแสงที่ความยาวคลื่น 4,000-600 cm^{-1} ความละเอียด 4 cm^{-1} โดยนำตัวอย่างปลาบดและปลาบดล้างน้ำใส่ในช่อง (Tablet) วางในที่จับตัวอย่าง (Sample holder) และตรวจสอบตัวอย่างภายใต้กล้องวิดีโอ (Video camera) วัดตัวอย่างที่เลเซอร์กำลัง 300 mW 300 สแกน โดยวัดอย่างน้อยจำนวน 9 สเปกตรัมต่อตัวอย่าง จากนั้นเฉลี่ย และนอร์มัลไลซ์ (Normalized) สเปกตรัมที่ได้ด้วยโปรแกรม OPUS 7.2 โดยอินทริเกตความเข้มของสเปกตรัมที่ผ่านการทำอนุพันธ์อันดับสอง (The second

derivative) หลังจากปรับเส้นเรียบ (Nine-point smoothing) เพื่อแยกแถบที่ซ้อนทับออกจากกันและแสดงผลเป็นปริมาณสัมพัทธ์ของการอินทิเกรตความเข้มของแถบ (Dong, Huang, & Caughey, 1990)

3.1.7 วิเคราะห์รูปแบบโปรตีนโดยวิธีเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (SDS-PAGE)

วิเคราะห์รูปแบบของโปรตีน (Protein pattern) ของเนื้อปลาบด เนื้อปลาบดล้างน้ำและน้ำล้างที่ได้ ด้วยเทคนิค Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) ตามวิธีของ Laemmli (1970) ตัวอย่างเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดล้างน้ำ (2 กรัม) นำปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันกับ SDS เข้มข้น 5% ปริมาตร 18 มิลลิลิตร และน้ำล้างตัวอย่าง (2 มิลลิลิตร) ละลายใน SDS เข้มข้น 10% ปริมาตร 18 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำตัวอย่างสารผสมทุกตัวอย่างมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 °ซ เวลา 30 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ 5000 ×g เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 4 °ซ โดยวัดปริมาณโปรตีนตามวิธีของ Lowry method (Lowry et al., 1951) แยกโปรตีน (20 µg) โดยใช้เจลกักตัวอย่าง (Stacking gel) และเจลแยก (Running gel) เข้มข้น 4 และ 10% ตามลำดับ

3.1.8 การประเมินคุณภาพเจล (Gel quality assessment)

นำตัวอย่างปลาบดล้างน้ำประกอบด้วยซูโครส (Sucrose) เข้มข้น 6% และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตเข้มข้น 0.3% มาผสมกับน้ำแข็งและโซเดียมคลอไรด์ ให้ความเข้มข้นและความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์สุดท้ายเป็น 80% และ 2% ตามลำดับ ทำตัวอย่างให้เป็นผงในโกร่ง (Mortar) โดยใช้สาก (Pestle) บดเป็นเวลา 7 นาที ทำการฉีด (Injected) ซูริมิเพส (Surimi paste) ลงในหลุมไมโครเพลท (Microplate well) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ความลึก 10 มิลลิเมตร แล้วบรรจุไมโครเพลทแยกในถุงโพลีเอทิลีนและปิดผนึกสุญญากาศ จากนั้นนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 40 °ซ หรือ 60 °ซ เวลา 30 นาที ก่อนนำไปให้ความร้อน 90 °ซ เวลา 30 นาที และเตรียมตัวอย่างที่ให้ความร้อนโดยตรงที่อุณหภูมิ 90 °ซ เวลา 30 นาที เมื่อครบเวลา ทำให้เย็นในน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 20 นาที และเก็บที่อุณหภูมิ 4 °ซ ช้ามคืน ก่อนวิเคราะห์เนื้อสัมผัส นำตัวอย่างมาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ประเมินค่าแรงที่ทำให้แตกหัก (Breaking force, g) และระยะการแทรกผ่านตัวอย่าง (Penetration distance) (มิลลิเมตร) โดยใช้เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (texture analyzer) (XT Plus, Stable Micro System, Surrey, UK) ต่อกับหัววัดทรงกระบอกเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ความเร็วของหัววัด 1 มิลลิเมตร ต่อวินาที วัดค่าแรงที่ทำให้แตกหักและระยะการแทรกผ่านตัวอย่างในตัวอย่างเจลอย่างน้อย 8 ตัวอย่างต่อกลุ่มทดลอง

3.2 ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งต่อคุณภาพเนื้อปลาบดล้างน้ำ

3.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

ปลาเกล็ดเงินสด (*Hypophthalmichthys molitrix*) ขนาด 1.0-1.5 kg จากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดขอนแก่น (KhonKaen inland fisheries research and development center) ขนส่งมาที่ห้องปฏิบัติการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีภายใน 4 ชั่วโมง เมื่อมาถึงนั้นปลาจะสลบในน้ำแข็ง โดยน้ำแข็งกระจายอย่างสม่ำเสมออยู่รอบตัวปลาในกล่องโฟมโพลีสไตรีนและเก็บในห้องเย็น (4 °ซ) ตลอดระยะเวลา 14 วัน และมีการเติมน้ำแข็งทุก 2 วัน ที่ระยะเวลาการเก็บ 0 7 และ 14 วัน นำปลามาล้างด้วยน้ำประปา แยกหนัง (Skin) พุงปลา (Belly flap) ออกและเก็บไว้ นำปลาสดมาบดด้วยเครื่องผ่านแผ่นกั้นที่มีรูขนาด 5 มิลลิเมตร จากนั้นนำเนื้อปลาบดไปล้างน้ำ 3 ครั้ง ด้วยน้ำประปา (< 5 °ซ) ที่อัตราส่วนเนื้อปลาบดต่อน้ำ 1:3 เฉพาะการล้างครั้งที่ 3 ใช้น้ำเกลือความเข้มข้น 0.3% ในปริมาณที่เท่ากัน จากนั้นแยกเนื้อและน้ำล้างโดยการปั่นเหวี่ยง 5,000 ×g เวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °ซ ทุกครั้งหลังการล้าง เพื่อกำจัดสารที่ลอยอยู่หลังการปั่นเหวี่ยง เช่น เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อและไตรกลีเซอไรด์ ส่วนหนังปลา พุงปลา เนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดล้างน้ำนั้นนำมาบรรจุในถุงพลาสติกแบบสุญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ -80 °ซ จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์ภายใน 1 สัปดาห์ ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในตัวอย่างเนื้อปลา หนัง และพุงปลา ในตัวอย่างปลาที่เก็บในวันที่ 0 7 และ 14 โดยวิเคราะห์ต่าง ๆ ได้แก่

3.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันและกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ

ปริมาณไขมันทั้งหมดวิเคราะห์ตามวิธีของ Folch et al. (1957) โดยตัดแปลงเล็กน้อย ตัวอย่างบด (30 กรัม) ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยปั่นผสมกับสารละลายคลอโรฟอร์มและเมทานอล (2:1) ปริมาตร 180 มิลลิลิตร เวลา 1 นาที และปั่นเหวี่ยงที่ 2,000 ×g อุณหภูมิ 4 °ซ เวลา 10 นาที จากนั้นกรองสารละลายผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No. 1) ใส่ในกรวยแยก (Separatory funnel) เติมหคลอโรฟอร์ม (60 มิลลิลิตร) น้ำปราศจากไอออน (Deionized water: DI) (60 มิลลิลิตร) และสารละลายเกลือ (NaCl) เข้มข้น 0.58% (10 มิลลิลิตร) และผสมให้เข้ากัน หลังจากเกิดการแยกชั้นของสารละลายจึงทำการเก็บชั้นล่างของคลอโรฟอร์ม เติมหโซเดียมซัลเฟต (Anhydrous sodium sulfate) เพื่อกำจัดน้ำ แล้วทำการกรองส่วนคลอโรฟอร์มผ่าน Whatman No. 1 และระเหยให้แห้งภายใต้ไนโตรเจน เก็บไขมันที่สกัดได้ที่อุณหภูมิ -80 °ซ สำหรับวิเคราะห์ฟอสโฟลิพิด รูปแบบของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดและรามานสเปกโตรสโกปี

วิเคราะห์ปริมาณฟอสโฟลิพิดด้วยวิธี Colorimetric method (Eymard et al., 2005) โดยละลายไขมันที่สกัดได้ในคลอโรฟอร์ม (0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) จากนั้นผสมสารละลายที่ได้ปริมาตร 2 มิลลิลิตร กับ Thiocyanate reagent (Ferric chloride hexahydrate เข้มข้น 0.10 M และ

Ammonium thiocyanate เข้มข้น 0.40 M) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำสารผสมที่ได้มาปั่นเหวี่ยงที่ 750 xg อุณหภูมิ 4 °C เวลา 10 นาที เก็บตัวอย่างที่มีสีแดงซึ่งอยู่ชั้นล่างสำหรับวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 488 นาโนเมตร ใช้ฟอสฟาติดีลโคลีน (Phosphatidylcholine, PC) (0–0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เป็นสารมาตรฐาน ปริมาณฟอสโฟลิพิดแสดงในหน่วย กรัมฟอสฟาติดีลโคลีนต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง (g PC/100 g dry sample)

วิเคราะห์รูปแบบของกรดไขมันองค์ประกอบของไขมัน (fatty acid profiles) ด้วยเครื่อง Gas Chromatography/Flame Ionization Detection (GC-FID) ตามวิธีของ AOAC (1997) โดยใช้กระบวนการเติมหมู่ methyl (-CH₃) (methylation) เข้าไปในโครงสร้างของกรดไขมันดังนี้ ซึ่งไขมันที่สกัดได้หนัก 25 มิลลิกรัม ในหลอดฝาเกลียวขนาด 10 มิลลิลิตร ผสมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 0.5 M ในเมทานอลปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เติมแก๊สไนโตรเจนเข้าไปแทนที่อากาศ (nitrogen flush) ในสารผสมโดยใช้เวลา 30 วินาทีให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเติมสารมาตรฐานภายใน (Internal standard) คือ กรดไขมันชนิด C17 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรและสารละลายโบรอนไตรฟลูออไรด์ (Boron trifluoride, BF₃) เข้มข้น 14% ในเมทานอลปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมแก๊สไนโตรเจนเข้าไปแทนที่อากาศในสารผสมและให้ความร้อนอีกครั้งที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 30 นาที และผสมกับไอโซออกเทน (Isooctane) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมสารละลายเกลืออิ่มตัว (Saturated NaCl) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพื่อแยกชั้นของสารละลายไอโซออกเทนออกจากเมทานอลและน้ำ สกัดสารผสมด้วยไอโซออกเทนซ้ำจนกระทั่งได้ปริมาตรครบ 5 มิลลิลิตร แล้วนำส่วนไอโซออกเทนที่ได้ซึ่งมีเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (Fatty acid methyl esters, FAME) กรองผ่านเยื่อกรองชนิดไนลอนขนาด 0.45 ไมครอน ก่อนนำไปวิเคราะห์ GC

เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (GC) (7890A, Agilent technologies Santa Clara, CA, USA) ต่อกับอุปกรณ์ตรวจวัด flame ionization detector (FID) โดยใช้คอลัมน์ SP 2560 capillary column (ยาว 100 เมตร x ความหนาของฟิล์มภายใน (Film thickness) 0.20 ไมครอน x เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร) (Supelco Co., Ltd., Bellefonte, PA, USA) ใช้สำหรับวิเคราะห์ FAME แก๊สตัวพา คือ ฮีเลียม (Helium) ที่มีอัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตร/นาที อุณหภูมิที่ส่วนฉีดสารตัวอย่าง (Injection port) และตัวตรวจวัด (Detector) เท่ากับ 250 °C วิเคราะห์ Chromatogram peaks ของ FAMEs ที่ได้โดยเปรียบเทียบกับเวลา (Retention time) ที่สารมาตรฐาน FAME (Supelco 37 component FAME mix) (Bellofonte, PA, USA) ใช้ในการเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ ปริมาณกรดไขมันแสดงในหน่วย มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง (mg/g dry sample)

3.2.3 ปริมาณเหล็กในรูปฮีม (Heme iron)

ตรวจสอบปริมาณเหล็กในรูปฮีมตามวิธีของ Clark, Mahoney & Carpenter (1997) ซึ่งตัวอย่างบด 2 กรัม เติมสารผสมระหว่างกรด-อะซิโตน (Acid-acetone mixture) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร (อะซิโตน 40 มิลลิลิตร น้ำ 9 มิลลิลิตร และกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร) ปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันที่ 10,000 rpm เวลา 30 วินาที หลังจากนั้นเติมสารผสมระหว่างกรด-อะซิโตนอีกครั้ง ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และเก็บในที่มืด 1 ชั่วโมง ปั่นเหวี่ยงที่ 2,200 ×g เวลา 10 นาที เก็บตัวอย่างส่วนใสกรองผ่านกระดาษ Whatman No. 1 และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 640 นาโนเมตร คำนวณความเข้มข้นของเม็ดสีทั้งหมด (Total pigments) ในตัวอย่าง g hematin/g sample โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้คูณกับแฟคเตอร์ 6,800 และหารด้วยน้ำหนักตัวอย่าง ปริมาณเหล็กคำนวณจากแฟคเตอร์ 0.0882 µg iron/µg hematin เหล็กในรูปฮีมแสดงในหน่วย mg/100 g sample (Hornsey, 1956)

3.2.4 การทดสอบกรดไทโอบาร์บิฟูริก (Thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)

วิเคราะห์ TBARS ตามวิธีของ Ahn et al. (1995) ซึ่งตัวอย่าง 2 กรัม ปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันกับสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก (Trichloroacetic acid, TCA) เข้มข้น 7.5% เวลา 30 วินาที จากนั้นปั่นเหวี่ยง 10,000 ×g เวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C แล้วนำสารผสมที่ได้มากรองผ่านกระดาษ Whatman No. 1 ผสมสารละลายที่ได้ (2 มิลลิลิตร) กับสารละลาย TBA เข้มข้น 0.02 M ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ให้ความร้อนตัวอย่างที่อุณหภูมิ 95 °C เวลา 20 นาที แล้วทำให้เย็นในน้ำแข็งหรือตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร โดยใช้ 1,1,3,3-Tetraethoxypropane (TEP) เป็นสารมาตรฐาน แสดงค่า TBARS ในหน่วย ng of malonaldehyde/kg dry sample

3.2.5 การวิเคราะห์สารประกอบที่ระเหยได้ (Volatile compounds)

องค์ประกอบของสารระเหยด้วยวิธี Solid-Phase Microextraction (SPME) ควบคู่กับการแยกสารและระบุชนิดของสารด้วยเทคนิค Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS) ตามวิธีของ Iglesias & Medina (2008) SPME fiber เคลือบด้วย carboxen-divinylbenzene-olydim-ethyl-siloxane (CAR/DVB/PDMS) (Supelco, Bellefonte, PA) โดยชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ในขวดก้นกลม (Round bottom flask) ขนาด 20 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำ DI ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เติม NaCl 0.7 กรัม butylated hydroxytoluene (BHT) เข้มข้น 7.2% ในเอทานอล 70% ปริมาตร 10 µL และใช้ cyclohexanol เข้มข้น 100 ppm ปริมาตร 30 µL เป็นสารมาตรฐานภายใน (Internal standard) ปิดปากขวดด้วย Polytetrafluoroethylene (PTFE)/silicone septa (Agilent, USA) ตั้งสารผสมไว้ที่อุณหภูมิ 60 °C เวลา 10 นาที วิเคราะห์สารระเหยด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี 450-GC ทำงานร่วมกับ 320-MS Quadrupole mass spectrometer (Bruker Daltonics, Billerica, MA) ตั้ง

ค่าอุณหภูมิเตาให้ความร้อน GC ดังนี้ อุณหภูมิ 35 °ซ เวลา 3 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 3 °ซ/นาที จนถึงอุณหภูมิ 70 °ซ จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิอัตรา 10 °ซ/นาที จนถึงอุณหภูมิ 200 °ซ และสุดท้ายเพิ่มอุณหภูมิอัตรา 20 °ซ/นาที ให้ได้อุณหภูมิสุดท้ายที่ 260 °ซ คงที่เป็นเวลา 5 นาที ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นตัวพาโดยมีอัตราการไหลคงที่เป็น 1.0 มิลลิลิตร/นาที แมสสเปกโตรมิเตอร์ (quadrupole mass spectrometer) ตรวจวัดด้วยวิธี Electron impact (EI) mode และตั้งอุณหภูมิที่ 200 °ซ วิเคราะห์ชนิดสารประกอบที่ระเหยได้โดยสืบค้นจาก MS library และเปรียบเทียบกับเวลาที่ใช้ในการเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ (Retention time)

3.2.6 สเปกโตรสโกปีของการสั่น (Vibrational spectroscopy)

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไขมันด้วยเทคนิค FT-Raman และ FT-IR ซึ่ง FT-Raman ตรวจวัดด้วยเครื่องรามานสเปกโตรสโกปี (Bruker RAM II FT-Raman module) ทำงานร่วมกับอินเตอร์เฟอโรมิเตอร์ (Bruker Vertex 70v interferometer) (Bruker Co., Ettlingen, Germany) โดยใช้ Nd:YAG laser เป็นแหล่งกำเนิดแสง ที่ความยาวคลื่น 1,064 นาโนเมตร ตรวจวัดการกระเจิงแสงที่ความยาวคลื่น 4,000-600 cm^{-1} ความละเอียด 4 cm^{-1} โดยนำตัวอย่างไขมันที่สกัดได้ใส่ในถ้วยสแตนเลส วางในที่จับตัวอย่างและตรวจสอบตัวอย่างภายกล้องวิดีโอ (video camera) วัดตัวอย่างที่เลเซอร์กำลัง 500 mW จำนวน 200 สแกน โดยวัดจำนวน 12 สเปกตรารต่อตัวอย่าง

ส่วน FT-IR นั้น ใช้เทคนิค Attenuated total reflectance (ATR) ด้วยการสะท้อนแสงแบบ single reflection และตัวตรวจวัดเป็น MCT detector ทำความเย็นด้วยไนโตรเจนเหลว (Bruker Tensor 27, Bruker Optics Ltd, Ettlingen, Germany) วางตัวอย่างไขมันที่สกัดได้ (20 μL) ให้สัมผัสกับ ATR plate ในแนวนอน วัดอินฟราเรดสเปกตรารที่ความยาวคลื่นช่วง 4,000-600 cm^{-1} ความละเอียด 4 cm^{-1} จำนวน 64 สแกน โดยใช้เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Tensor 27, Bruker Optics Ltd, Ettlingen, Germany) ตรวจวัดจำนวน 30 สเปกตรารต่อตัวอย่าง

3.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ประเมินผลที่ได้ทางสถิติด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one-way analysis of variance, ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range tests ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SPSS 17.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) แสดงผลแบบค่าเฉลี่ย (mean) \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) โดยถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$ นอกจากนี้การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis, PCA) ของค่าที่ตรวจวัดได้ทั้งหมดที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ โดยใช้โปรแกรม XLSTAT (version 2018.5) และใช้การวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์เพียร์สัน (pearson correlation) ในการประเมินความสัมพันธ์ระหว่างค่าตรวจวัดแต่ละคู่

บทที่ 4

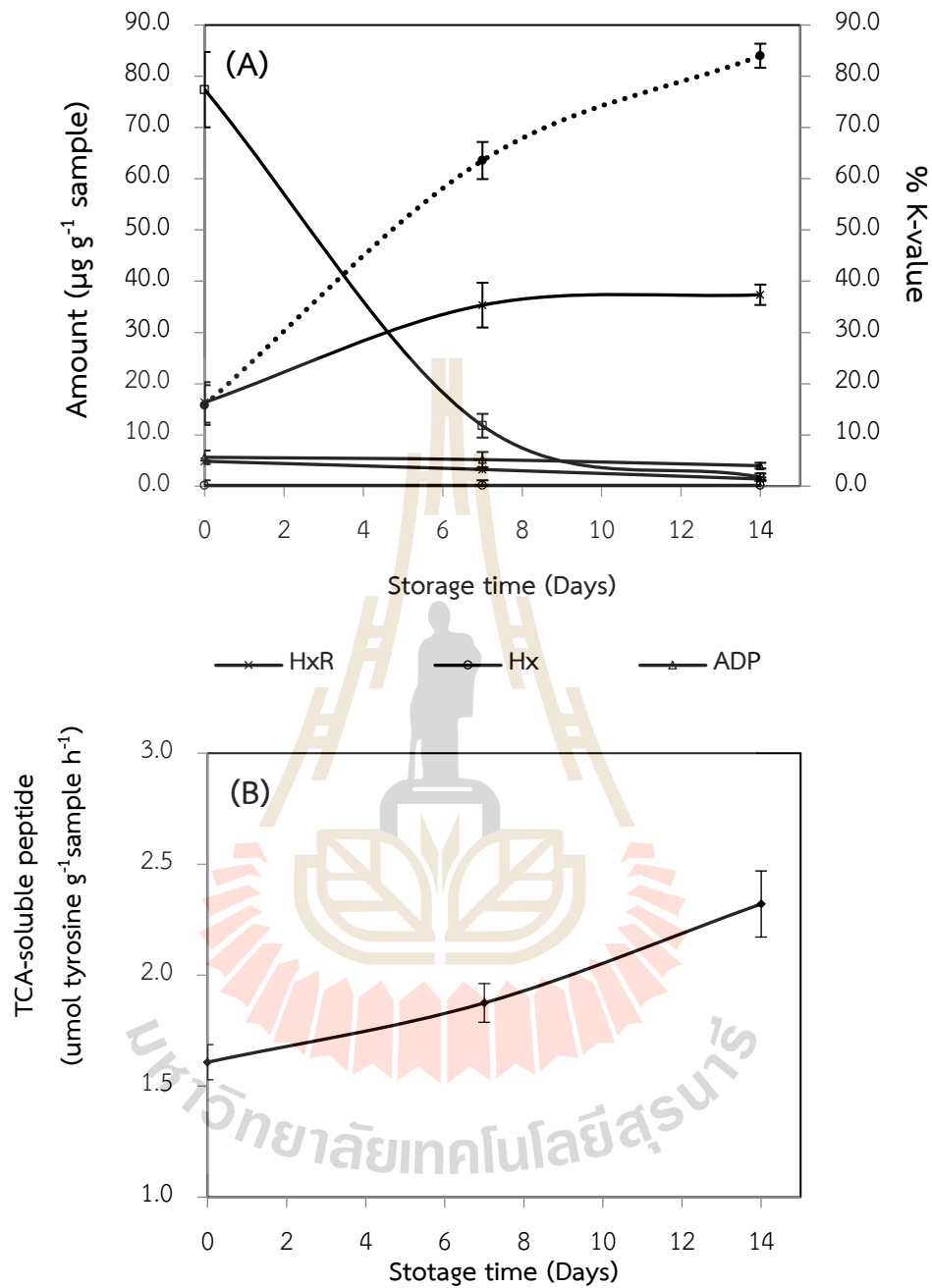
ผลการวิจัย

4.1 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งต่อคุณภาพเนื้อปลาบดล้างน้ำ

4.1.1 คุณภาพความสดของปลา

ในระยะเริ่มต้นไม่พบ ATP ในปลาเกล็ดเงินในขณะที่พบ ADP และ AMP ในปริมาณค่อนข้างต่ำ (5.63 และ 4.85 $\mu\text{g g}^{-1}$, ตามลำดับ) ในทางตรงกันข้ามพบ IMP ในปริมาณสูงถึง 77.39 $\mu\text{g g}^{-1}$, (รูปที่ 1A) การย่อยสลายอย่างรวดเร็วของ ATP ในกล้ามเนื้อปลาเป็น IMP เกิดจากเอนไซม์ที่อยู่ในเนื้อคือ ATPase myokinase และ AMP deaminohydrolase (Hattula, 1997) การดีนรระหว่างการจัดและความเครียดก่อนตายส่งผลสำคัญต่อการสลายของ ATP (Alasalvar, Taylor, & Shahidi, 2002; Tejada, 2009) โดยการลดลงของ IMP สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของ HxR เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาในน้ำแข็งนานขึ้น เป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่า IMP ปริมาณต่ำสัมพันธ์กับการสูญเสียคุณภาพความสด การสะสมของ Hx นั้นเนื่องจากปฏิกิริยาการย่อยสลายตัวเองและการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ (Woyewoda, 1986)

ค่าเคเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องถึง 63.6% เมื่อเก็บ 7 วันและเพิ่มถึง 85.0% เมื่อเก็บ 14 วัน (รูปที่ 1A) หลังจากเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 7 วัน พบว่าปลามีระดับความสดปานกลาง และมีเนื้อสัมผัสนิ่มและตาชุ่นเล็กน้อย การเสื่อมเสียเริ่มสังเกตได้เมื่อเก็บรักษาในน้ำแข็งนาน 14 วัน โดยเนื้อนิ่มขึ้น มีกลิ่นผิดปกติเล็กน้อย และตาขาวชุ่น ผลที่ได้สอดคล้องกับผลงานวิจัยในปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 12 วัน ส่งผลให้คุณภาพทางประสาทสัมผัสไม่สามารถยอมรับได้ และมีค่าเคมากกว่า 73% (Özogul & Özogul, 2001) Özogul et al. (2006) รายงานว่าปลา Wild turbot (*Scophthalmus maximus*) ยังคงคุณภาพที่ยอมรับได้เมื่อเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 15 วัน และมีค่าเค 75-85% ส่วนปลา Rohu ที่เก็บในน้ำแข็ง 21 วัน ก็ยังคงคุณภาพที่ยอมรับได้ และมีค่าเค 56% เมื่อพิจารณาจากค่าเคและผลการประเมินทางประสาทสัมผัสพบว่าปลาเกล็ดเงินสามารถเก็บรักษาในน้ำแข็งได้นานถึง 7 วัน และค่าเคของปลาเกล็ดเงินที่ให้คุณภาพความสดที่ยอมรับได้คือ ไม่ควรเกิน 65%



รูปที่ 1 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์จากการสลายตัวของนิวคลีโอไทด์และค่าเค (A) และปริมาณโอลิโกเปปไทด์ที่ละลายในกรดไตรคลอโรอะซิติก (B) ของปลาเกล็ดเงินระหว่างเก็บรักษาในน้ำแข็ง 14 วัน

4.1.2 องค์ประกอบทางเคมี (Chemical composition)

ความชื้นในปลาเกลือลดลงระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ($p > 0.05$, ตารางที่ 1) ปริมาณเถ้าในปลาลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บในน้ำแข็งนานขึ้น อาจเนื่องจากไอออนละลายออกจากกล้ามเนื้อปลาระหว่างการแช่ในน้ำแข็ง ทำให้ปริมาณเถ้าในตัวอย่างปลาลดลง ปริมาณโปรตีนในปลาลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนที่ต่ำในเนื้อปลาลดลงน้ำที่เตรียมจากปลาที่เก็บรักษานานขึ้น การย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์โปรติเอสที่มีอยู่ในเนื้อปลาเองและจากเชื้อจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง ส่งผลให้เกิดการสลายของโปรตีน ทำให้ปริมาณโปรตีนลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น ซึ่งยืนยันได้จากปริมาณโอลิโกเปปไทด์ที่ละลายในกรดไตรคลอโรอะซิติก (TCA-soluble oligopeptide) ที่ลดลงอย่างต่อเนื่องระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง (รูปที่ 1B)

การสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อส่งผลให้เกิดการสูญเสียโปรตีนออกไปกับน้ำล้าง ตัวอย่างปลาลดลงน้ำที่เตรียมจากปลาที่เก็บไว้นาน (Aged) จึงมีปริมาณโปรตีนต่ำ การเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมันทั้งหมดมีแนวโน้มเหมือนกับปริมาณโปรตีน โดยการย่อยสลายไขมันและการเกิดออกซิเดชันของไขมันระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งนั้นเป็นสาเหตุหลักในการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ (Wongwichian et al., 2015) การล้างลดปริมาณไขมันทั้งหมด 60-70% คงเหลือไขมันประมาณ 5.8-6.5% ไมโอไฟบริลลาร์และโปรตีนส่วนที่สกัดได้ด้วยต่างของปลาและปลาลดลงน้ำลดลง เมื่อระยะเวลาการเก็บวัตถุดิบปลาสดเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$, ตารางที่ 1) โปรตีนส่วนที่สกัดด้วยต่างได้จากไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนที่เสถียรภาพเกิดการรวมตัวกัน (Pacheco-Aguilar, Lugo-Sánchez, and Robles-Burgueño, 2000) ดังนั้นโปรตีนทั้งสองส่วนนี้บ่งชี้ถึงปริมาณไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนทั้งหมดในตัวอย่าง ชาร์โคปลาสมิกโปรตีนและสโตรมาโปรตีนทั้งในปลาและปลาลดลงน้ำเปลี่ยนแปลงน้อยมากระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งนั้น ($p > 0.05$) สอดคล้องกับ Pacheco-Aguilar et al. (2000) ซึ่งรายงานว่าคุณสมบัติของชาร์โคปลาสมิกโปรตีนของปลา Monterey sardine ไม่เปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง 15 วัน สโตรมาโปรตีนของปลาเกลือมีแนวโน้มลดลงระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง ซึ่งอาจเป็นผลมาจากเอนไซม์คอลลาจีเนส (Collagenases) (Delbarre-Ladrat et al., 2006) ผลงานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บปลาลดลงน้ำทั้งตัวในน้ำแข็งนานขึ้น ส่งผลให้สูญเสียไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนมากขึ้น กระบวนการล้างส่งผลให้ชาร์โคปลาสมิกโปรตีนลดลง แต่ไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนและโปรตีนส่วนที่สกัดด้วยต่างเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 1) หลังผ่านกระบวนการล้างสัดส่วนของสโตรมาโปรตีนเพิ่มขึ้นเช่นกัน เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (Connective tissues) นั้นไม่ละลายน้ำ ดังนั้นจะยังคงเหลืออยู่หลังผ่านการล้าง 3 ครั้ง ในกระบวนการผลิตซูริมินั้น สโตรมาโปรตีนจะถูกกำจัดออกทั้งในขั้นตอนการเลาะกระดูก (Deboning)/การบด (Mincing) และกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ (Refining process) เนื้อปลาลดลงน้ำที่เตรียมจากปลาที่เก็บไว้นาน จะมีไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนน้อยกว่าที่เตรียมจากเนื้อปลาสดที่จับใหม่ ($p < 0.05$, ตารางที่ 1) จึงชี้ให้เห็นว่าเกิดการสูญเสียไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนจากกระบวนการเสื่อมสลายระหว่างกระบวนการเก็บรักษาในน้ำแข็ง

ตารางที่ 1 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของปลาเกล็ดเงินระหว่างเก็บรักษาในน้ำแข็ง 14 วัน และเนื้อปลาล้างน้ำ

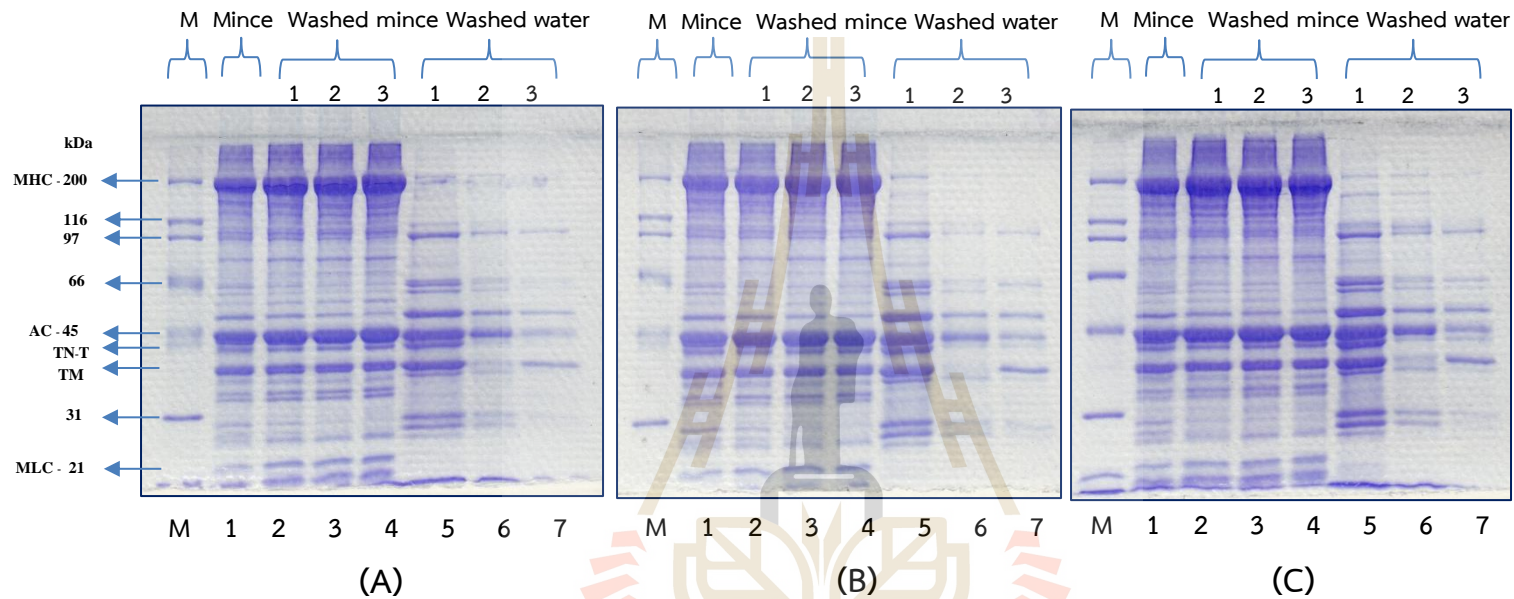
องค์ประกอบทางเคมี	เนื้อปลาสด (Mince)			เนื้อปลาล้างน้ำ (Washed mince)		
	Day 0	Day 7	Day 14	Day 0	Day 7	Day 14
Moisture	79.32±0.66	78.84±0.61	78.72±1.04	87.43±0.71 ^A	86.75±0.20 ^B	86.60±0.38 ^B
Ash (g kg ⁻¹ dry weight)	0.58±0.01 ^a	0.49±0.02 ^b	0.47±0.07 ^b	0.24±0.01 ^A	0.25±0.03 ^A	0.25±0.03 ^A
Protein (g kg ⁻¹ dry weight)	7.88±0.19 ^a	7.25±0.11 ^b	7.15±0.17 ^b	8.36±0.17 ^A	7.65±0.20 ^B	7.10±0.20 ^C
Lipid (g kg ⁻¹ dry weight)	1.14±0.15 ^a	1.07±0.33 ^b	0.90±0.14 ^c	0.65±0.35 ^A	0.62±0.28 ^{AB}	0.58±0.27 ^B
Muscle protein composition (g kg⁻¹ dry weight)						
Sarcoplasmic	2.92±0.19	2.90±0.09	2.83±0.17	1.26±0.10	1.29±0.10	1.26±0.09
Myofibrillar	3.41±0.06 ^a	3.25±0.08 ^{ab}	3.16±0.17 ^b	4.24±0.18 ^A	4.01±0.07 ^B	3.91±0.11 ^B
Alkali-extractable	1.08±0.11 ^a	0.55±0.05 ^b	0.55±0.07 ^b	2.08±0.17 ^A	1.21±0.12 ^B	0.78±0.05 ^C
Stroma	0.35±0.05	0.30±0.11	0.29±0.10	0.84±0.06 ^A	0.80±0.07 ^A	0.57±0.10 ^B

ตัวอักษร ^{a-c} ที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างที่ระยะเวลาการเก็บรักษาวัตถุดิบในน้ำแข็งต่างกัน ($p < 0.05$) ตัวอักษร ^{A-B} ที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างระหว่างเนื้อปลาล้างน้ำที่ผลิตจากปลาที่เก็บในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่าง ๆ ($p < 0.05$)

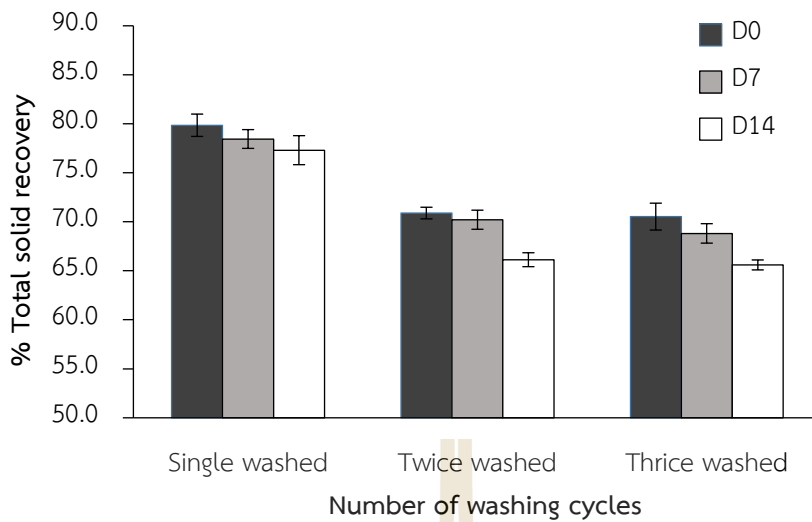
4.1.3 การสูญเสียโปรตีนและผลผลิตที่ได้ (Protein loss and yield)

กิจกรรมการย่อยสลายตัวเองของกล้ามเนื้อปลาเกล็ดเงินเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น (รูปที่ 1B) ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง โปรตีนปลาเกิดการเสื่อมสลายจากกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสในตัวปลาและจุลินทรีย์ การสลายของโปรตีน (Proteolysis) ในกล้ามเนื้อปลาเกล็ดเงินเกิดจากการทำงานของ cathepsin L และ B (Liu et al., 2006; Liu et al., 2008) ถึงแม้ว่ากิจกรรมการย่อยสลายตัวเองของปลาเกล็ดเงินและการสูญเสียไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาในน้ำแข็งนานขึ้น แต่ไม่พบการเสื่อมสลายของไมโอซินสายหนัก (Myosin heavy chain, MHC) แอกทิน (Actin, AC) และโทรโปไมโอซิน (Tropomyosin, TM) (รูปที่ 2) อย่างไรก็ตามโปรตีนที่มีมวลโมเลกุลต่ำ (< 29 kDa) จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 7 และ 14 วัน ซึ่งน่าจะเกิดจากการสลายของโปรตีนในกล้ามเนื้อ น้ำที่ได้จากการล้างครั้งที่ 3 ของปลาที่เก็บ 14 วัน พบว่ามีไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนสูงที่สุด (รูปที่ 2) ดังนั้นซูริมิและเนื้อปลาบดล้างน้ำ ควรผลิตจากปลาที่เก็บในน้ำแข็งไม่เกิน 7 วัน เพื่อให้ไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนเกิดการสูญเสียน้อยที่สุดระหว่างการล้าง





รูปที่ 2 รูปแบบโปรตีนของปลาเก๋ตเงินบด ปลาบดล้างน้ำ และน้ำล้าง ที่ผลิตวัตถุดิบที่เก็บในน้ำแข็งเวลา 0 (A) 7 (B) และ 14 (C) วัน จากการวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE โดยใช้ stacking gel เข้มข้น 4% และ running gel เข้มข้น 10% M: น้ำหนักโมเลกุลของสารมาตรฐาน; lane 1: ปลาบด, lanes: 2-4: ปลาบดล้างน้ำ 1 2 และ 3 ครั้ง; lanes: 5-7: น้ำล้างครั้งที่ 1 2 และ 3

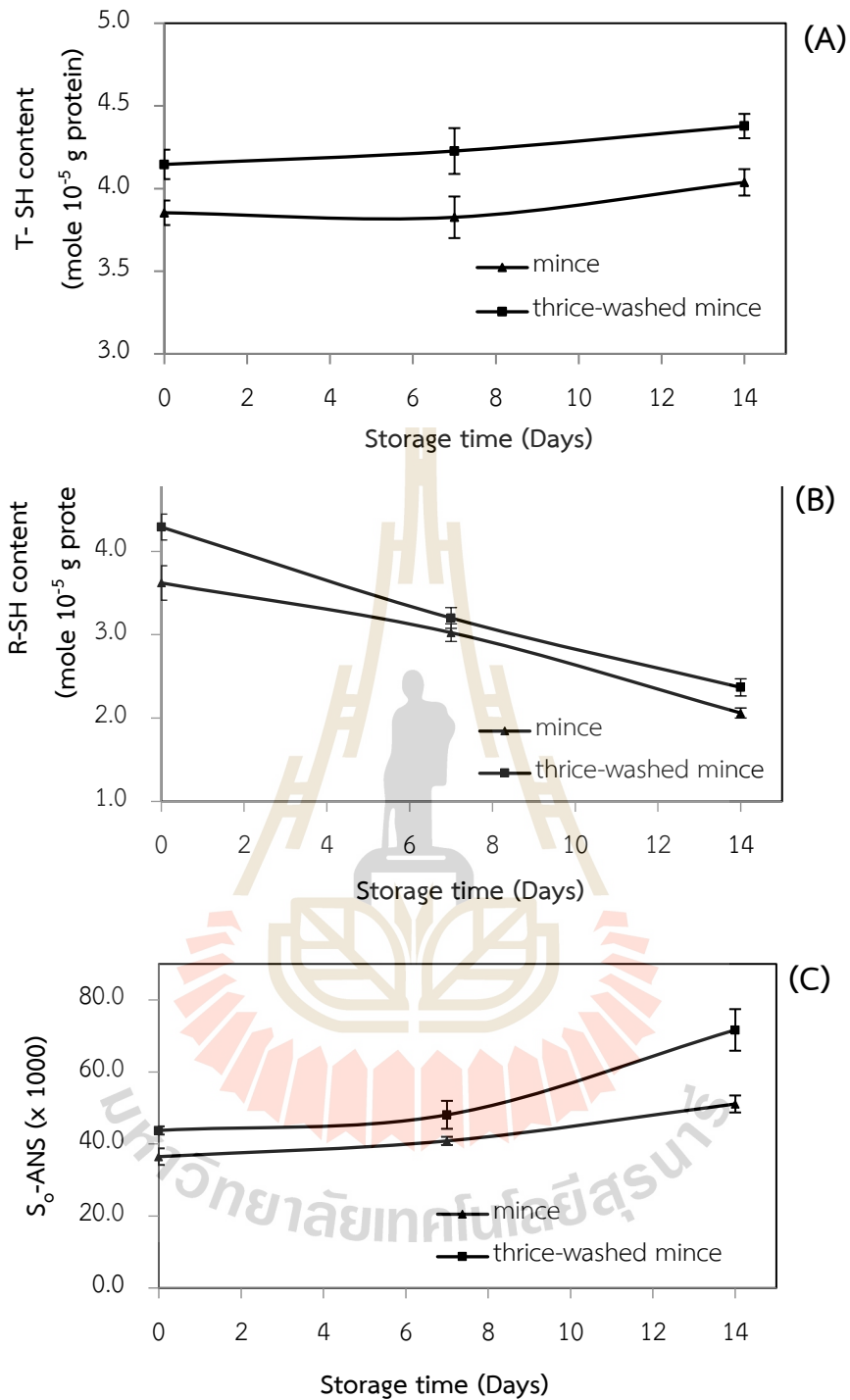


รูปที่ 3 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ได้ของปลาเกล็ดเงินที่เก็บรักษาในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่าง ๆ และจำนวนครั้งในการล้างน้ำ ($p < 0.05$)

ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ได้หรือผลผลิตของเนื้อปลาบดล้างน้ำ 3 ครั้ง เปรียบจากปลาเกล็ดเงินสดที่จับใหม่มีค่า 70.53% ซึ่งเหมือนกับรายงานในงานวิจัยก่อนหน้าคือ 74–76.8% (Liu et al., 2008; Li-Chan et al., 1994) การลดลงอย่างมีนัยสำคัญของผลผลิตที่ได้ออกเมื่อระยะเวลาการเก็บของวัตถุดิบเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$, **รูปที่ 3**) การสูญเสียไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนเนื่องจากการย่อยสลายของโปรตีนนั้นเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ผลผลิตลดลง

4.1.4 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน (Protein conformational changes)

การเปลี่ยนแปลง T-SH ในทั้งตัวอย่างปลาสดและปลาบดล้างน้ำเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง ($p > 0.05$, **รูปที่ 4A**) แสดงถึงการเกิดออกซิเดชันของหมู่ซัลไฟไฮดริลเป็นพันธะไดซัลไฟด์อย่างไม่มีนัยสำคัญ ในทางตรงกันข้ามปริมาณ R-SH ลดลงอย่างต่อเนื่อง เมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$, **รูปที่ 4B**) การเก็บในน้ำแข็งเหนียวทำให้หมู่ R-SH ในไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนเปิดออก และ S_0 -ANS ของไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนของปลาสดและปลาบดล้างน้ำระหว่างการเก็บในน้ำแข็งนั้นมีค่าเพิ่มขึ้นเช่นกัน ($p < 0.05$, **รูปที่ 4C**) เป็นการยืนยันว่าไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนเปิดตัวระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง โดยจะเปิดตัวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในเนื้อปลาบดล้างน้ำที่เตรียมจากปลาที่เก็บในน้ำแข็งหลังจาก 14 วัน นอกจากนี้การล้างเหนียวทำให้เกิดการเปิดตัวเพิ่มขึ้นเช่นกัน ซึ่งปริมาณพื้นผิวไฮโดรโฟบิกของเนื้อปลาบดล้างน้ำมีค่าสูงกว่าเนื้อปลาสด จากผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าเนื้อปลาบดล้างน้ำผลิตจากปลาที่เก็บในน้ำแข็งที่ระยะเวลานานขึ้น เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนสูงกว่าที่ผลิตจากปลาสด



รูปที่ 4 ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาในน้ำแข็งและการล้างต่อปริมาณ total Sulphydryl, (T-SH) (A) และ Reactive Sulphydryl (R-SH) (B) และ surface hydrophobicity (S₀-ANS) (C)

4.1.5 สเปกโทรสโกปีของการสั่น (Vibrational spectroscopy)

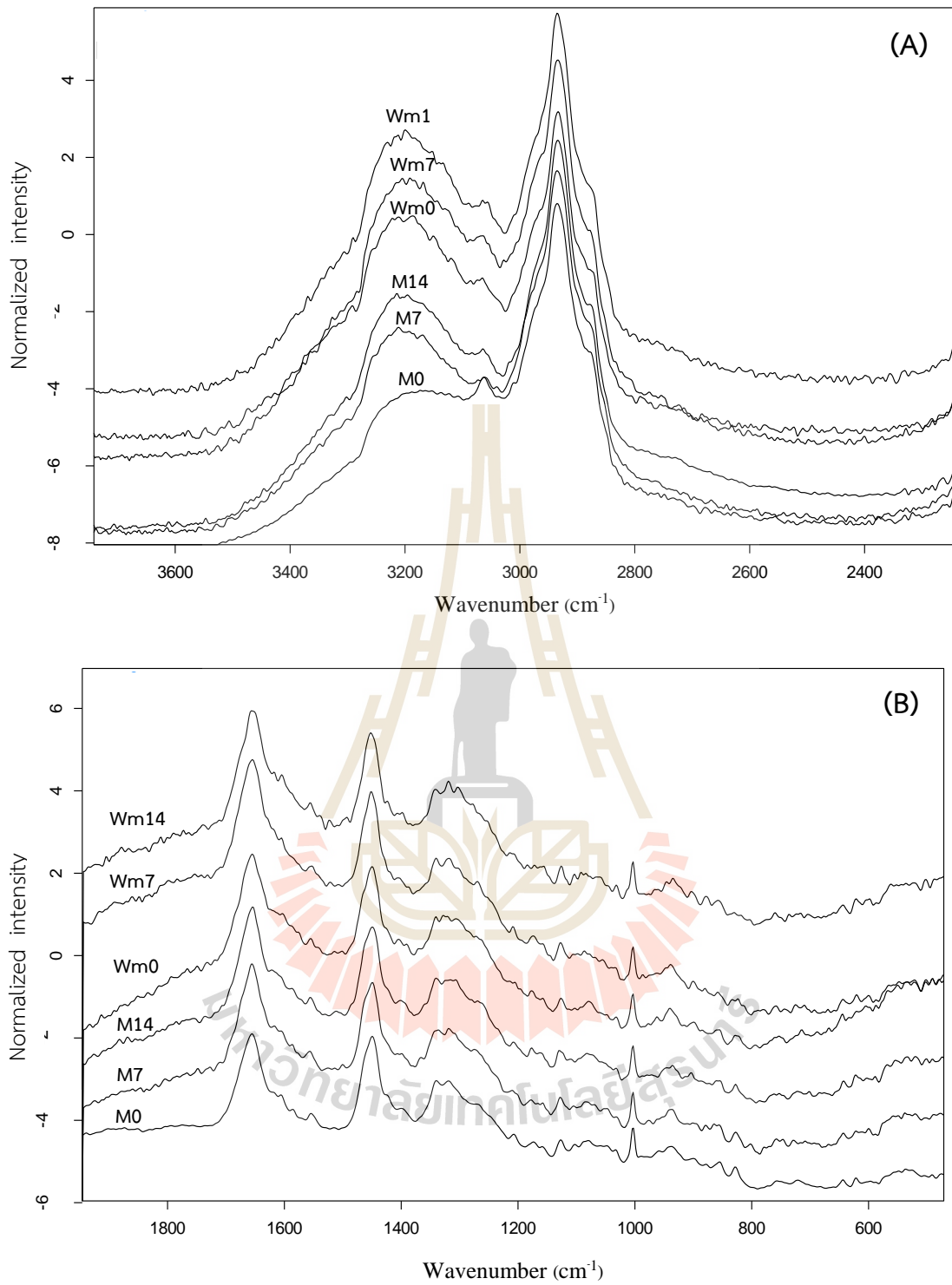
โครงสร้างทุติยภูมิส่วนใหญ่ในเนื้อปลาสดและเนื้อปลาล้างน้ำคือ α -helix และ β -sheet ซึ่งประมาณได้จากช่วงแถบของ amide I ของ FTIR (ตารางที่ 2) โครงสร้าง α -helix และ β -turn ในตัวอย่างเนื้อปลาลดลง ในขณะที่ β -sheet เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บในน้ำแข็งนานขึ้น ผลที่ได้สอดคล้องกับการเพิ่มของ S_0 -ANS ของไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนที่สกัดจากปลาที่เก็บในน้ำแข็งนานขึ้น (รูปที่ 4C) เนื้อปลาล้างน้ำมีส่วนของโครงสร้าง α -helix สูงกว่าเนื้อปลาสด (ตารางที่ 2) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิของเนื้อปลาล้างน้ำนั้น พบว่าไม่สัมพันธ์กับคุณภาพความสดของวัตถุดิบ (ตารางที่ 2) จากผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าการเก็บรักษาในน้ำแข็ง เหนียวน่าให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนกล้ามเนื้อในเนื้อปลามากกว่าเนื้อปลาล้างน้ำ

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิจากช่วงแถบของ amide I

Secondary structure	เนื้อปลาสด (Mince)			เนื้อปลาล้างน้ำ (Washed mince)		
	Day 0	Day 7	Day 14	Day 0	Day 7	Day 14
α -helix	51.78±0.70 ^a	50.83±0.71 ^{ab}	49.75±1.11 ^b	55.32±1.24	55.66±0.86	53.90±0.65
β -turn	13.18±0.78 ^a	8.67±0.22 ^b	9.15±0.66 ^b	10.25±1.52	11.17±2.36	13.00±0.86
pararell β -sheet	33.16±0.62 ^a	32.07±0.99 ^{ab}	31.09±0.74 ^b	30.33±0.72 ^A	28.61±0.73 ^B	28.82±0.57 ^B
anti pararell β -sheet	4.21±0.37 ^c	7.43±1.00 ^b	10.33±0.88 ^a	4.43±1.51	4.56±1.07	3.95±0.48
$\Sigma\beta$ -sheet	37.37±1.73 ^b	39.50±1.13 ^{ab}	41.41±0.23 ^a	34.77±1.81	33.16±1.51	32.70±0.90

ตัวอักษร ^{a-c} ที่แตกต่างในแต่ละแถว แสดงถึงความแตกต่างที่ระยะเวลาการเก็บรักษาวัตถุดิบในน้ำแข็งต่างกัน ($p < 0.05$); ตัวอักษร ^{A-B} ที่แตกต่างในแต่ละแถว แสดงถึงความแตกต่างระหว่างเนื้อปลาล้างน้ำที่ผลิตจากปลาที่เก็บในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่าง ๆ ($p < 0.05$)

รามานสเปกตรัมของตัวอย่างเนื้อปลาล้างน้ำได้จากปลาที่เก็บรักษาในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่างกัน รวมถึงเนื้อปลาล้างน้ำที่ได้ แสดงในช่วงเลขคลื่น 3,200–2,800 cm^{-1} (รูปที่ 5A) และ 1,800–800 cm^{-1} (รูปที่ 5B) ตามลำดับ



รูปที่ 5 สเปกตรัมเฉลี่ยของ FT-Raman ช่วง $3,700\text{-}2,400\text{ cm}^{-1}$ (A) และ $1,800\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ (B) ของปลาเกล็ดเงินที่เก็บรักษาในน้ำแข็งที่ระยะเวลา 0 (M0), 7 (M7) และ 14 (M14) และปลาบดล้างน้ำ (Wm0, Wm7 และ Wm14)

หมู่ไฮโดรคาร์บอนสายตรงทั้งหมด (Total aliphatic residues) นั้นเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยระหว่างการเก็บรักษาวัตถุดิบในน้ำแข็ง (ตารางที่ 3) กรดอะมิโนที่มีสารประกอบอะโรมาติกอยู่ที่โซ่ข้าง (Aromatic amino acid residues) ได้แก่ เช่น ทริปโตเฟน (Tryptophan) ไทโรซีน (Tyrosine) และ ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ในตัวอย่างปลาบดและปลาบดล้างน้ำเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาวัตถุดิบในน้ำแข็ง 14 วัน ($p < 0.05$) ไทโรซิล ดับเบิลท (Tyrosil doublet) (830 และ 850 cm^{-1}) ใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมระดับจุลภาค (Microenvironment) รอบ ๆ ไทโรซีน (Tyrosine residues) และเกี่ยวข้องกับการสั่นของวงเบนซีนที่ถูกแทนที่ ณ ตำแหน่งพารา (para-substituted benzene ring) (Li-Chan et al., 1994) ค่าความเข้มของ I_{850}/I_{830} บ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงของไทโรซีนบนพื้นผิวของโปรตีนอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่มีขี้ผึ้งมากขึ้น ถ้ามีค่ามากกว่า 1 แสดงถึงไทโรซีนเปิดตัวสู่สภาวะแวดล้อมที่มีขี้ผึ้งและทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของน้ำโดยเกิดพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bonds) อย่างไรก็ตามถ้าค่าน้อยกว่า 1 แสดงถึงไทโรซีนถูกบดบังอยู่ในโครงสร้างโปรตีน (Cheng et al., 2015; Shao et al., 2011) ในงานวิจัยนี้พบว่าอัตราส่วนของค่าสัมพัทธ์ของอินทิเกรตความเข้มของแถบคู่ (doublet bands) ที่ 854 cm^{-1} และ 828 cm^{-1} ($854/828$) ของเนื้อปลาบดเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น แสดงถึงการเปิดตัวของโปรตีนกล้ำเนื้อระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง โดยพบว่าค่าของเนื้อปลาบดล้างน้ำสูงกว่าในเนื้อปลาบด แสดงให้เห็นว่ากระบวนการล้างทำให้เปิดโครงสร้างของไทโรซีน และเหนี่ยวนำให้โปรตีนกล้ำเนื้อคลายตัวออก

แถบรามานที่เลขคลื่น 536 , 525 , และ 507 cm^{-1} แสดงถึงการสั่นแบบยืดของ S-S ในพันธะไดซัลไฟด์ในรูปแบบโครงสร้าง trans-gauche-trans, gauche-gauche-trans และ gauche-gauche-gauche ตามลำดับ (Bouraoui, Nakai, & Li-Chan, 1997) โดยพบว่าการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ในกล้ำเนื้อปลาเกล็ดเงินและเนื้อปลาบดล้างน้ำเพิ่มขึ้น ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง ($p < 0.05$, ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่าการเก็บรักษาในน้ำแข็งเหนี่ยวนำให้เกิดการออกซิเดชันของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของโปรตีนกล้ำเนื้อ การล้างน้ำ 3 ครั้งนั้น ส่งเสริมให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์เพิ่มขึ้น ดังนั้นการใช้ปลาเกล็ดเงินที่มีคุณภาพความสดต่ำ ไม่เพียงแต่ให้ผลผลิตปลาบดล้างน้ำต่ำและยังส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนมากขึ้น เช่น การเปิดตัวของกรดอะมิโนที่ไม่มีขี้ผึ้งและเกิดการออกซิเดชันของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลเกิดพันธะไดซัลไฟด์เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 3 พื้นที่สัมพัทธ์ของแถบรามาน (%) ที่ได้จากเนื้อปลาเกล็ดเงินบดและปลาบดล้างน้ำ

Wavenumber (cm ⁻¹)	Band assignment	เนื้อปลาบด (mince)			เนื้อปลาบดล้างน้ำ (Washed mince)		
		0	7	14	0	7	14
∑	aliphatic amino acid residues	43.52±1.64	42.64±2.32	44.907±2.38	45.18±1.73	45.34±0.67	45.07±0.70
2,980	v_{as}(CH₃)	1.34	1.59	1.50	2.70	3.26	2.44
2,937	v_{as}(CH₂), v_s(CH₃)	19.88	19.58	20.60	19.11	17.41	21.37
2,872	v_s(CH₂)	6.97	6.47	8.18	8.60	5.65	5.82
1,450	δ_sCH₂, δ_{as}CH₃	10.62	10.56	10.13	7.63	10.59	9.32
1,341	δ(CH)	3.16	2.20	3.82	4.19	3.91	2.12
1,319	δ(CH)	1.08	2.24	0.0	2.50	3.26	2.57
720	rCH₂	0.49	0.00	0.67	0.46	1.26	1.44
∑	aromatic amino acid residues	32.70±1.29^c	35.79±1.57^b	38.98±1.12^a	36.44±1.67^B	37.13±1.43^B	40.09±1.25^A
3,064	Aromatic v(CH)	3.44	3.85	3.65	3.91	2.27	3.06
1,618	Aromatic v -ring (Trp, Phe, Tyr v -ring)	0.53	0.76	0.86	0.50	1.06	1.23
1,605	Aromatic v -ring (Trp, Phe, Tyr v -ring)	2.03	2.16	2.64	3.08	2.34	2.89
1,584	v(Trp-ring)	0.58	0.70	0.83	0.27	0.33	0.66
1,554	v(Trp-ring)	1.68	2.20	2.33	1.41	1.68	1.68

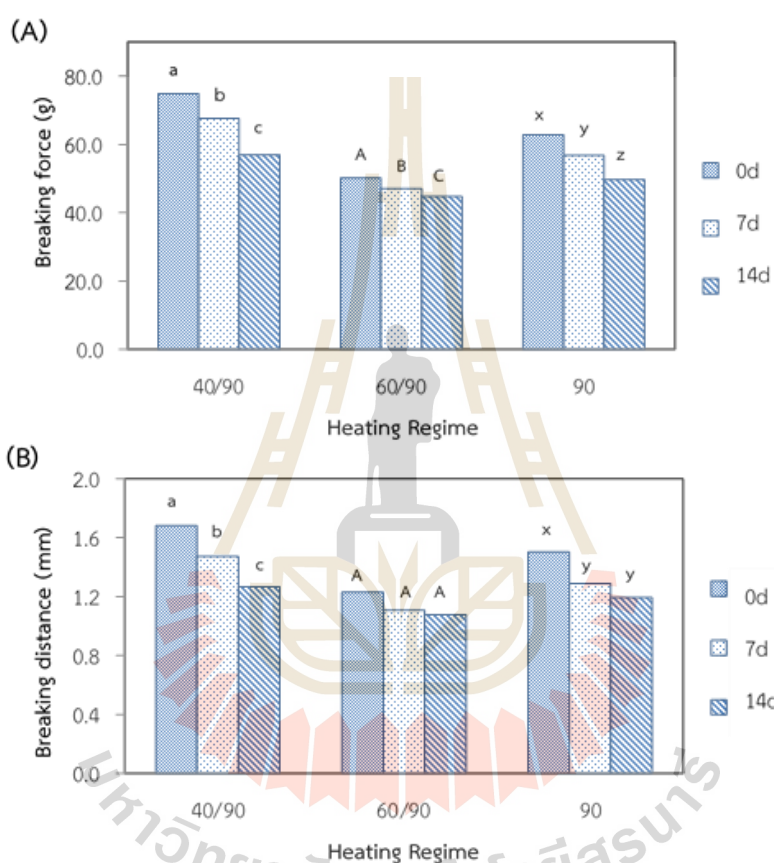
ตารางที่ 3 (ต่อ)

Wavenumber (cm ⁻¹)	Band assignment	เนื้อปลาสด (mince)			เนื้อปลาล้างน้ำ (Washed mince)		
		0	7	14	0	7	14
∑ aromatic amino acid residues							
1,207	Tyr, Phe	1.46	1.15	1.45	0.96	1.57	1.62
1,175	Tyr	1.08	1.26	1.69	2.91	2.56	1.37
1,033	δ(Phe-ring)	1.58	2.09	2.98	2.42	2.38	3.37
1,003	ν(Phe-ring)	9.94	9.82	10.09	9.34	9.66	8.20
877	tryptophan	0.41	0.38	0.57	0.05	0.58	1.25
854	ν(Tyr-ring)	1.81	2.16	2.59	2.38	3.58	4.44
828	ν(Tyr-ring)	2.57	2.64	2.66	0.88	0.38	0.10
758	Trp	1.27	1.72	1.27	0.57	1.66	1.62
645	Tyr	2.30	2.85	2.76	3.34	2.45	4.42
621	Phe	2.04	2.07	2.59	4.41	4.62	4.16
854/828		0.70	0.82	0.97	2.70	9.42	44.40
∑ disulfide bonds		0.37±0.02^b	0.57±0.05^a	0.61±0.04^a	0.79±0.08^B	0.90±0.05^{AB}	1.07±0.10^A
536	S-S (tgt)	0.13	0.23	0.33	0.15	0.31	0.33
525	S-S (ggt)	0.10	0.13	0.15	0.43	0.29	0.41
507	S-S (ggg)	0.14	0.21	0.13	0.21	0.30	0.33

อักษรย่อ; s, symmetric; as, asymmetric; ν, stretch; δ, deformation; r, rock ตัวอักษร ^{a-c} ที่แตกต่างกันในแต่ละแถว แสดงถึงความแตกต่างที่ระยะเวลาการเก็บรักษาวัตถุดิบในน้ำแข็งต่างกัน ($p < 0.05$) ตัวอักษร ^{A-B} ที่แตกต่างกันในแต่ละแถว แสดงถึงความแตกต่างระหว่างเนื้อปลาล้างน้ำที่ผลิตจากปลาที่เก็บในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่าง ๆ ($p < 0.05$)

4.1.6 การประเมินคุณภาพของเจล (Gel quality assessment)

คุณภาพเนื้อสัมผัสของเจลที่ผลิตจากเนื้อปลาบดล้างน้ำลดลง เมื่อระยะเวลาการเก็บเนื้อปลาเพิ่มขึ้น (รูปที่ 6) สัมพันธ์กับการสูญเสียไมโอไฟบริลลาร์โปรตีน และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง ระยะเวลาการเก็บในน้ำแข็งเพิ่มขึ้นจะเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของไมโอไฟบริลลาร์โปรตีน เปิดตัวของส่วนที่ไม่มีขั้ว การออกซิเดชันของหมู่ซัลไฟไฮดริล/การแลกเปลี่ยนพันธะไดซัลไฟด์ ซึ่งปัจจัยทั้งหมดนี้นั้นรบกวนความสามารถในการเกิดเจลของเนื้อปลาเกล็ดเงินบดล้างน้ำ



รูปที่ 6 Breaking force (A) และ distance (B) ของเจลปลาเกล็ดเงินบดล้างน้ำที่เตรียมจากปลาที่เก็บในน้ำแข็งที่ระยะเวลาต่าง ๆ ($p < 0.05$)

การเก็บรักษาในน้ำแข็งนั้นเหนี่ยวนำให้เกิดการสลายของโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรตีเอสเช่นกัน ทำให้เกิดโครงร่างตาข่ายของเจลได้ไม่ดี ความแข็งแรงของเจลของซูริมิจากปลา calbasu ลดลงเป็น 19.12% และ 25% ในปลาที่เก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ (Mehta et al., 2014) Phatcharat et al. (2006) รายงานว่าประเมินค่าแรงที่ทำให้แตกหัก (breaking force) ของซูริมิจากปลาปลา bigeye snapper ลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อปลาเก็บรักษาในน้ำแข็ง 14 วัน

ผลงานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าความสามารถในการเกิดเจลของปลาเกล็ดเงินบดล้างน้ำลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็งนานขึ้น

เนื้อสัมผัสของเจลจากเนื้อปลาบดล้างน้ำขึ้นกับกระบวนการให้ความร้อน ($p < 0.05$) เจลปลาเกล็ดเงินที่แช่ตัวที่อุณหภูมิ 40 °ซ ระยะเวลา 30 นาที ให้เจลที่มีค่าแรงที่ทำให้แตกหัก (breaking force, g) และระยะการแทรกผ่านตัวอย่าง (Penetration distance or breaking distance) สูงที่สุดในขณะเจลที่แช่ตัวที่อุณหภูมิ 60 °ซ ระยะเวลา 30 นาที มีค่าต่ำที่สุด ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Luo et al. (2008) การผลิตเจลปลาเกล็ดเงินบดที่อุณหภูมิ 60 °ซ มีคุณภาพด้อยกว่า อาจเนื่องจากเกิดการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์โปรติเอสในเนื้อปลา ซึ่งเกิดกิจกรรมได้ดีที่อุณหภูมิที่เหมาะสม (Optimal activity) ระหว่าง 60 และ 70 °ซ (An et al., 1994) การแช่เจลที่อุณหภูมิ 40 °ซ ปรับปรุงเนื้อสัมผัส น่าจะเนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสที่เหลืออยู่ (Residual transglutaminase) ซึ่งเร่งปฏิกิริยาการสร้างพันธะเชื่อมข้ามไนโปรตีนระหว่างหมู่ γ -carboxamide ของกลูตามีน (Glutamine) และหมู่ ϵ -amino ของไลซีน (Lysine) Ramírez et al. (2000) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเกิดเจลปลาเกล็ดเงินคือที่ 39.6 °ซ เวลา 1 ชั่วโมง การส่งเสริมการเกิดเจลจะลดลงเมื่อความสดของปลาลดลง (รูปที่ 6) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีน เช่น การสูญเสียโครงสร้าง α -helical ที่เลขคลื่น 1,647–1,669 cm^{-1} (Amide I) และเปิดโครงสร้างส่วนสารที่เป็นประกอบอะโรมาติก (Aromatic residues) ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง จะขัดขวางการเหนียวจากการเกิดโครงร่างตาข่ายระหว่างการเกิดเจล

4.1.7 ความสัมพันธ์ระหว่างสเปกตร้าของการสั่นและคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (Correlations between vibrational spectra and physico-chemical properties)

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก พบว่าองค์ประกอบร่วม 2 องค์ประกอบคือ F1 และ F2 เป็นตัวแทนความแปรปรวนเท่ากับ 83.97% (รูปที่ 7) และ F1 จำแนกระหว่างปลาสดและปลาบดล้างน้ำได้อย่างชัดเจน ระยะเวลาการเก็บรักษาวัตถุดิบไม่มีผลต่อตัวแปรที่วัดได้ของตัวอย่างปลาสดและปลาบดล้างน้ำ ปลาที่เก็บรักษา 7 และ 14 วัน (M7 และ M14) อยู่ด้านลบของ F2 สอดคล้องกับการเพิ่มของกิจกรรมการย่อยตัวเองและค่าเคที่เพิ่มขึ้น และปริมาณไขมันและเถ้าที่ลดลงที่ค่า loading factor เท่ากับ 0.974, 0.803, 0.947 และ 0.976 ตามลำดับ (รูปที่ 7) ผลวิจัยยังบ่งชี้ว่าอินฟราเรดและรามานสเปกตรามีศักยภาพในการแยกความแตกต่างระหว่างเนื้อปลาที่ผ่านการเก็บและเนื้อปลาสดได้ด้วย $\Sigma\beta$ -sheet และค่าสัมพัทธ์ของอินทิเกรตความเข้มที่ 828 cm^{-1} ν (Tyr-ring) ที่มีค่า loading factors เท่ากับ 0.916 และ 0.985 ตามลำดับ นอกจากนี้ค่าสหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson's correlations) แสดงความสัมพันธ์แบบบวกอย่างมีนัยสำคัญระหว่างค่าเคและ $\Sigma\beta$ -sheet ($p < 0.01$, ตารางที่ 4) ดังนั้น ข้อมูล $\Sigma\beta$ -sheet และ 828 cm^{-1} ν (Tyr-ring) จากอินฟราเรดและรามานสเปกโตรสโกปีสามารถพัฒนาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพความสดของปลาเกล็ดเงินที่เก็บรักษาในน้ำแข็งได้

ตารางที่ 4 ค่าสหสัมพันธ์เพียร์สันระหว่างค่าตรวจวัดสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลาเกล็ดเงินบดและปลาบดล้างน้ำ

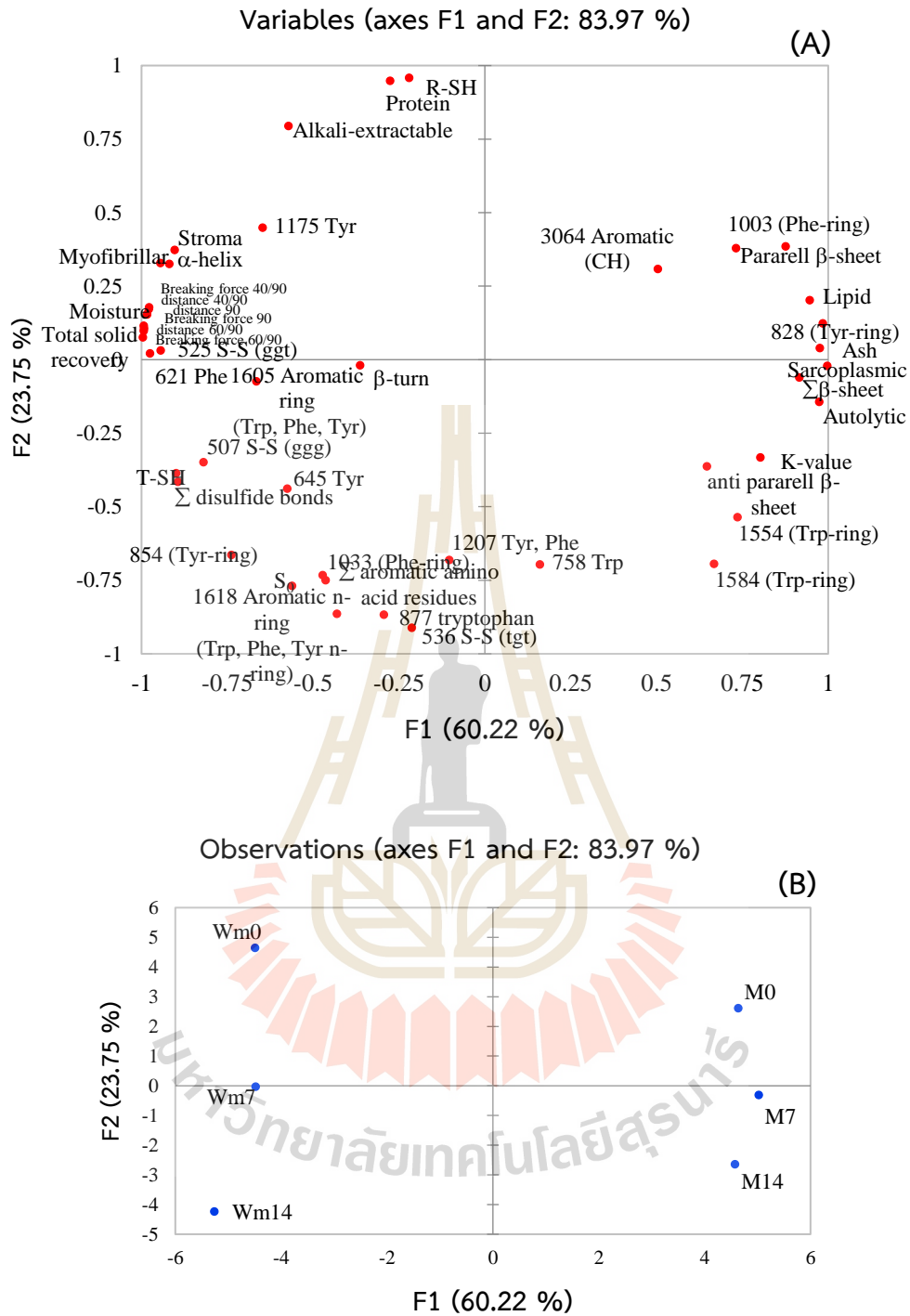
Parameters	Conformation or wavenumber (cm ⁻¹)																							
	β-sheet pararell	α-helix	β-turn	Anti- pararell	∑ β-sheet	3,064	1,618	1,605	1,584	1,554	1,207	1,175	1,033	1,003	877	854	828	758	645	621	∑ DFSB	536	525	507
K-value	.486	-	-.716	.962**	.944**	.489	-	-	.779	.959**	-	-	.039	.588	-.138	-.425	.801	.193	-.306	-.714	-.516	.246	-.680	-.625
Breaking force 40/90	-	.954**	.252	-.629	-.873*	-	.279	.655	-.786	-.766	-	.776	.354	-	.093	.600	-	-	.456	.979**	.816*	.088	.932**	.738
Breaking force 60/90	-	.943**	.297	-.641	-.897*	-	.347	.662	-.738	-.756	.008	.722	.406	-	.181	.663	-	-	.514	.981**	.856*	.142	.943**	.782
Breaking force 90	-	.951**	.264	-.632	-.880*	-	.294	.660	-.774	-.765	-	.763	.369	-	.115	.615	-	-	.473	.980**	.827*	.100	.937**	.748
distance 40/90	-	.951**	.251	-.629	-.871*	-	.270	.665	-.784	-.769	-	.775	.357	-	.090	.595	-	-	.465	.977**	.815*	.080	.937**	.733
distance 60/90	-	.941**	.294	-.641	-.893*	-	.334	.674	-.738	-.760	-	.723	.407	-	.173	.654	-	-	.523	.978**	.853*	.130	.949**	.774
distance 90	-	.946**	.266	-.634	-.877*	-	.285	.678	-.766	-.769	-	.756	.378	-	.116	.612	-	-	.495	.976**	.828*	.090	.947**	.743
Total solid recovery	-	.942**	.308	-.643	-.904*	-	.370	.652	-.728	-.749	.033	.710	.415	-	.204	.681	-	-	.517	.982**	.865*	.161	.938**	.796
β-sheet pararell	1	-.700	-1.40	.291	.723	.650	-	-	.372	.342	-	-	-.701	.632	-.497	-	.903*	-	-.525	-	-	-	-.787	-
α-helix		1	.380	-.783	-	-	.173	.421	-	-	-	.719	.091	-	.010	.485	-	-	.271	.904*	.674	-	.805	.712
β-turn			1	-.762	-6.26	-	.190	-	-.199	-.632	.566	-	-.028	-	.487	.366	-.430	.068	.241	.223	.191	-	.222	.314
β-sheet Anti pararell				1	.872*	.397	-	-	.689	.917**	-	-	.200	.558	-.127	-.304	.661	.104	-.266	-.517	-.360	.370	-.523	-.561
∑β-sheet					1	.620	-	-	.684	.836*	-	-	-.218	.730	-.352	-.681	.940**	-	-.465	-	-.753	-	-.780	-
∑ ARMT						-	.771	.670	.263	.202	.319	.175	.983**	-	.636	.783	-.493	.193	.682	.492	.774	.854*	.531	.504
3,064 cm ⁻¹						1	-	.161	.309	.269	-	-	-.156	.227	-.494	-.658	.605	-	.073	-.534	-.501	-	-.204	-.642
1,618 cm ⁻¹							1	.171	.246	.152	.731	-	.727	-	.880*	.915*	-.554	.697	.481	.415	.736	.916*	.300	.733
1,605 cm ⁻¹								1	-.236	-.353	-	.547	.727	-	.137	.456	-.581	-	.737	.667	.675	.201	.855*	.322
1,584 cm ⁻¹									1	.868*	.319	-	.283	.116	.426	-.049	.590	.449	.088	-.695	-.305	.433	-.576	-.366
1,554 cm ⁻¹										1	.106	-	.128	.481	.084	-.220	.689	.454	-.254	-.659	-.380	.448	-.679	-.429
1,207 cm ⁻¹											1	-	.335	-	.803	.605	-.243	.640	.054	.083	.261	.637	-.114	.320
1,175 cm ⁻¹												1	.118	-	-.428	.135	-.536	-	-.017	.772	.439	-	.646	.265
1,033 cm ⁻¹													1	-	.674	.779	-.498	.110	.758	.476	.758	.791	.564	.465
1,003 cm ⁻¹														1	-.683	-.792	.775	-	-	-.586	-.808	-	-.764	-.773
877 cm ⁻¹															1	.828*	-.428	.626	.603	.197	.570	.741	.209	.577
854 cm ⁻¹																1	-	.410	.675	.695	.920**	.752	.639	.865*
828 cm ⁻¹																	1	.000	-.590	-	-	-	-	-
758 cm ⁻¹																		1	-.022	-.197	.137	.608	-.357	.401
645 cm ⁻¹																			1	.448	.732	.344	.718	.586
621 cm ⁻¹																				1	.870*	.264	.910*	.752
∑ DFSB																					1	.586	.860*	.894*
536 cm ⁻¹																						1	.143	.465
525																							1	.690
507																								1

* และ ** หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ และ $p < 0.01$ ตามลำดับ; ARMT คือ Aromatic amino acid; DFSB คือ Disulfide bonds

เนื้อปลาสดและเนื้อปลาล้างน้ำนั้นแยกออกจากกันได้ชัดเจนเป็นสองกลุ่ม (รูปที่ 7) เนื้อปลาเกลือเงินบดมีคุณลักษณะ คือ ปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตสูง โปรตีน ร่วมกับ $\Sigma\beta$ -sheet และ 828 ν (Tyr-ring) สูงกว่าเนื้อปลาล้างน้ำ ส่วนปริมาณไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนและ α -helix ร่วมกับความเข้มข้นที่เลขคลื่น 621 (Phe), 525 (S-S, ggt) และ 507 (S-S, ggg) cm^{-1} และ Σ disulfide bonds กำหนดคุณลักษณะของเนื้อปลาล้างน้ำ (รูปที่ 7)

เมื่อระยะเวลาการเก็บปลาเกลือเงินในน้ำแช่ชานขึ้น ส่งผลต่อคุณภาพเนื้อปลาสดและเนื้อปลาล้างน้ำ ซึ่งสามารถแยกออกจากกันได้ชัดเจนด้วย F2 พบว่าเนื้อปลาล้างน้ำที่เตรียมจากวัตถุดิบที่มีคุณภาพความสดต่ำมีแนวโน้มที่จะมีปริมาณ R-SH ต่ำและมีค่าสัมพัทธ์ของอินทิเกรตความเข้มข้นที่เลขคลื่น 536 cm^{-1} (S-S, tgt) สูงด้วยค่า loading factors คือ 0.958 และ 0.912 ตามลำดับ การเปลี่ยนแปลงของรามานที่เลขคลื่น 525 cm^{-1} เป็นตัวบ่งชี้ในการตรวจติดตามคุณภาพความสดของปลาสำหรับเนื้อปลาล้างน้ำ ค่าสหสัมพันธ์เพียร์สันแสดงให้เห็นว่าคุณภาพเนื้อสัมผัสทั้งค่าแรงที่ทำให้แตกหักและระยะการแทรกผ่านตัวอย่าง (penetration distance) สัมพันธ์เชิงลบกับ α -helix ($p < 0.01$) ค่าสัมพัทธ์ของอินทิเกรตความเข้มข้นที่เลขคลื่น 621 cm^{-1} (Phe, $p < 0.01$) และ 525 cm^{-1} (S-S, ggt, $p < 0.01$) และ Σ disulfide bonds ($p < 0.05$) ส่วนคุณภาพเนื้อสัมผัสของเจลจากเนื้อปลาล้างน้ำนั้นสัมพันธ์เชิงลบกับ parallel $\Sigma\beta$ -sheet ($p < 0.05$) $\Sigma\beta$ -sheet ($p < 0.05$) และค่าสัมพัทธ์ของอินทิเกรตความเข้มข้นที่เลขคลื่น 828 cm^{-1} (Tyr-ring, $p < 0.01$) ดังนั้นสเปกตร้าของการสั่นเหล่านี้มีศักยภาพในการใช้ตรวจติดตามคุณภาพเจลจากเนื้อปลาล้างน้ำ/ซูริมิ รวมถึงคุณภาพความสดของวัตถุดิบที่จะนำมาใช้ได้





รูปที่ 7 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลักแสดงโดยองค์ประกอบร่วมที่ 1 (PC1) และ 2 (PC2) ของเนื้อปลาเกล็ดเงินบดที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง (M) และปลาบดล้างน้ำ (Wm) กราฟ (A) และ (B) แทนตัวแปรและค่าที่วิเคราะห์ ตามลำดับ

4.2 การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งต่อคุณภาพเนื้อปลาบดล้างน้ำ

4.2.1 การเปลี่ยนแปลงของไขมัน

ปริมาณไขมันแตกต่างกันตามชนิดเนื้อเยื่อของปลา โดยพบว่าพุงปลา (Belly flap) 33.9-40.6% มีปริมาณไขมันมากที่สุด รองลงมา คือ กล้ามเนื้อ (Muscle) 9.0-11.5% และหนัง (Skin) 7.0-8.8% (ตารางที่ 5) Ackman (1994) รายงานว่าไขมันในปลาส่วนมากอยู่ในส่วนเนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง (Subcutaneous tissue) พุงปลา เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ เป็นเยื่อบุช่องท้อง (Mesenteric tissue) ตับ (Liver) และหัว (Head) Moradi et al. (2011) กล่าวว่าปริมาณไขมันในหนังปลานั้นสูงกว่าเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ สำหรับปลาที่มีไขมันต่ำ (Lean fish) เช่น ปลา cod และปลา blue whiting มีปริมาณไขมันเฉลี่ย 0.2-3.9% ในขณะที่ปลาที่มีไขมันสูง (Fatty fish) มีปริมาณไขมันสูงถึงมากกว่า 50% Thilakarathne & Attygalle (2009) รายงานว่าหนังของปลา Indo-Pacific sailfish (*Istiophorus platypterus*) มีปริมาณไขมันสูงที่สุด คือ 6.52% รองลงมา คือ พุงปลา 3.91% Ohshima, Fujita, & Koizumi (1993) แสดงให้เห็นว่าปริมาณไขมันในหนังของปลา Mackerel และ Sardine (รวมถึงไขมันที่อยู่ใต้ผิวหนัง) นั้นสูงกว่าในกล้ามเนื้อ ซึ่งแตกต่างจากผลของงานวิจัยนี้ แสดงให้เห็นว่าส่วนพุงปลาเกลือเงินมีปริมาณไขมันสูงที่สุด ซึ่งอาจเนื่องจากการสะสมของไขมันไม่กระจายทั่วทุกส่วนในเนื้อเยื่อปลา (Thilakarathne & Attygalle, 2009) โดยเฉพาะในหนังของปลาเกลือเงินอย่างไรก็ตามในปลาบางชนิดพบว่าปริมาณไขมันสูงในส่วนพุง เช่น แซลมอน (Hui et al., 2012)

ปริมาณไขมันในส่วนหนัง พุงปลา และเนื้อปลาบด ลดลงระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง ($p < 0.5$) ในขณะที่เนื้อปลาบดล้างน้ำนั้นไม่เปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาการเก็บวัตถุดิบในน้ำแข็ง ($p > 0.05$) การลดลงของไขมันระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งนั้น น่าจะเกิดจากการสลายของไขมันโดยเอนไซม์ลิเพสในเนื้อปลา (Endogenous lipases) และ/หรือการเกิดออกซิเดชันของไขมัน กระบวนการล้างจะกำจัดไขมันออก 35-45% Tongnuanchan et al. (2011) รายงานว่าปริมาณไขมันของเนื้อปลานิลแดง (red tilapia) บดล้างน้ำลดลง 14.4% เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อปลาบด Eymard et al. (2005) รายงานว่าไขมันส่วนใหญ่ในเนื้อปลา Horse mackerels บดถูกกำจัดออกระหว่างขั้นตอนการล้างและไขมันที่เป็นกลางจะสูญเสียในสัดส่วนที่สูงกว่าไขมันที่มีขี้

การสะสมของปริมาณฟอสโฟลิพิดนั้นแตกต่างกันในเนื้อเยื่อปลาแต่ละชนิด ฟอสโฟลิพิดเป็นไขมันที่มีขี้ซึ่งเป็นโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ Aursand et al. (1994) รายงานว่าฟอสโฟลิพิดนั้นมีปริมาณน้อยกว่าในพุงปลา แต่พบไขมันที่เป็นกลางในสัดส่วนที่สูง นอกจากนี้ฟอสโฟลิพิดในกล้ามเนื้อมีปริมาณลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น ($p < 0.05$, ตารางที่ 5) โดยการลดลงของฟอสโฟลิพิดส่วนใหญ่พบในกล้ามเนื้อ Hui (2006) กล่าวว่า การเกิดออกซิเดชันของไขมันไม่อิมพัทธ์ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งนั้นสำคัญต่อการสลายของเนื้อเยื่อในปลา ส่งผลต่อการสลายตัวของกรดไขมัน ซึ่งสำคัญต่อเสถียรภาพของฟอสโฟลิพิด ในงานวิจัยนี้สังเกตได้ว่าปริมาณฟอสโฟลิพิดในเนื้อปลาบดล้างน้ำนั้นสูงกว่า

เนื้อปลาสด พอสโพลิพิดนั้นมักจะทำปฏิกิริยากับโปรตีนและทำให้กำจัดโดยการล้างได้ยาก (Lanier, Carvajal, & Yongsawatdigul, 2000) อย่างไรก็ตามเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น เส้นใยกล้ามเนื้อของปลาจะถูกทำลายได้มากขึ้น (Castro, Teixeira, & Kirby, 1996) ส่งผลให้พอสโพลิพิดถูกชะล้างออกมาในกระบวนการล้างได้ง่ายขึ้น

กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acid, SFA) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่พันธะเดี่ยว (Monounsaturated fatty acid, MUFA) ที่พบส่วนใหญ่ในตัวอย่างหนึ่ง พุงปลา เนื้อปลาสด และเนื้อปลาล้างน้ำ คือ กรดปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) และกรดโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9c) กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายพันธะ (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) ส่วนใหญ่ที่พบในหนึ่งและพุง คือ กรดลิโนเลนิก (Linolenic acid, C18:3n3) ส่วน PUFA ส่วนใหญ่ที่พบในเนื้อปลาสด และเนื้อปลาล้างน้ำ คือ กรดโดโคซะเฮกซะอีโนอิก (Docosahexaenoic acid; DHA, C22:6n3) ผลงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าปลาเกล็ดเงินเป็นแหล่งที่ดีของกรดไขมันโอเมกา-3 การเก็บรักษาในน้ำแข็ง 14 วันส่งผลให้กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบเกิดการเปลี่ยนแปลง โดยสังเกตพบปริมาณ MUFA และ PUFA ลดลง ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของ SFA การลดลงของ MUFA และ PUFA อาจเนื่องจากการเกิดออกซิเดชันของไขมันและ/หรือการสลายของไขมัน (Lipolysis) เกิดขึ้นระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง ในขณะที่การเพิ่มขึ้นของ SFA เนื่องจากการเสื่อมสลาย (Degradation) ของ MUFA และ PUFA เกิดสารประกอบที่มีมวลโมเลกุลเล็กและกรดไขมันที่มีสายสั้นลง (Chávez-Mendoza et al., 2014) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้าโดย Chaijan et al. (2006) ซึ่งพบว่าปริมาณ MUFA และ PUFA ในกล้ามเนื้อปลาสาร์ดีน (*Sardinella gibbosa*) เมื่อเก็บรักษาในน้ำแข็ง 15 วัน มีค่าลดลง 9.7% และ 8.1% ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณ SFA เพิ่มขึ้น 2.3% Simat et al. (2015) รายงานว่า PUFA ในปลา wild bogues (*Boops boops* Linnaeus, 1758) ลดลงเมื่อเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 16 วัน

ตารางที่ 5 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของปลาเกล็ดเงินระหว่างการเก็บในน้ำแข็ง 14 วัน และเนื้อปลาบดล้างน้ำ (น้ำหนักแห้ง)

องค์ประกอบทางเคมี	ส่วนต่าง ๆ ของปลา/ ระยะเวลาการเก็บ (days)											
	หนัง (Skin)			พุง (Belly flap)			กล้ามเนื้อ (Muscle)			เนื้อปลาบดล้างน้ำ (Washed mince)		
	0	7	14	0	7	14	0	7	14	0	7	14
Total lipid (g/100g)	8.78±0.34 ^a	8.12±0.55 ^a	7.07±0.60 ^b	40.52±1.86 ^a	38.60±1.98 ^a	33.86±2.74 ^b	11.45±0.15 ^a	10.74±0.33 ^b	9.00±0.14 ^c	6.40±0.52	6.29±0.85	5.83±0.56
Phospholipid (g PC/100g)	0.52±0.08	0.51±0.09	0.47±0.12	1.15±0.18	1.10±0.21	0.99±0.22	1.67±0.27 ^a	1.38±0.17 ^b	1.19±0.20 ^b	2.49±0.23	2.35±0.41	2.17±0.36
TBARS (ng of MDA/ kg)	0.69±0.05 ^b	0.83±0.11 ^{ab}	0.94±0.06 ^a	2.08±0.10 ^c	10.12±0.90 ^b	12.51±0.21 ^a	0.59±0.03 ^c	0.70±0.02 ^b	0.86±0.06 ^a	0.77±0.08 ^b	0.96±0.05 ^a	1.06±0.05 ^a
Heme (mg/100g)	0.092±0.01	0.090±0.01	0.071±0.01	0.176±0.02	0.155±0.04	0.156±0.05	0.772±0.08 ^a	0.590±0.03 ^b	0.294±0.05 ^c	0.193±0.04 ^a	0.118±0.03 ^b	0.102±0.02 ^b

a, b และ c ที่แตกต่างกันในแต่ละแถว แสดงถึงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (Treatment) ($p < 0.05$)



ตารางที่ 6 รูปแบบไขมันในเนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ ของปลาเกล็ดเงินระหว่างการเก็บในน้ำแข็ง 14 วัน และเนื้อปลาบดล้างน้ำ (น้ำหนักแห้ง)

กรดไขมัน	หนัง (Skin)			พุง (Belly flap)			เนื้อปลาบด (Mince)			เนื้อปลาบดล้างน้ำ (Washed mince)		
	D0	D7	D14	D0	D7	D14	D0	D7	D14	D0	D7	D14
C10:0	0.20	0.25	0.27	1.15	1.21	1.17	0.15	0.14	0.34	0.10	0.09	0.09
C12:0	0.08	0.10	0.08	0.50	0.52	0.60	0.05	0.03	0.08	0.03	0.03	0.04
C13:0	0.04	0.07	0.05	0.32	0.39	0.43	0.03	0.04	0.06	0.00	0.02	0.03
C14:0	1.30	2.06	1.59	9.55	11.28	12.08	0.92	1.17	2.04	0.56	0.65	1.20
C15:0	0.29	0.39	0.29	0.88	0.87	0.93	0.37	0.32	0.74	0.23	0.28	0.44
C16:0	8.16	8.53	10.90	58.59	63.75	65.59	7.87	8.37	10.63	6.00	6.33	10.51
C18:0	1.49	2.20	1.90	10.74	11.71	11.94	1.86	1.61	3.36	1.18	1.19	1.31
C20:0	0.14	0.28	0.15	0.89	0.90	1.09	0.11	0.11	0.23	0.08	0.08	0.16
C21:0	0.02	0.02	0.04	0.18	0.25	0.31	0.00	0.02	0.10	0.00	0.02	0.03
C22:0	0.00	0.04	0.00	0.08	0.05	0.05	0.00	0.03	0.12	0.00	0.02	0.03
C23:0	0.00	0.00	0.03	0.07	0.20	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C24:0	0.86	0.95	0.90	4.26	2.52	2.52	2.43	2.30	2.43	2.03	1.82	2.29

ตารางที่ 6 (ต่อ)

กรดไขมัน	หนัง (Skin)			พุง (Belly flap)			เนื้อปลาด (Mince)			เนื้อปลาดล้างน้ำ (Washed mince)		
	D0	D7	D14	D0	D7	D14	D0	D7	D14	D0	D7	D14
C14:1	0.64	0.73	0.38	3.66	4.30	3.35	0.21	0.14	0.03	0.03	0.02	0.02
C16:1	3.77	3.33	3.43	24.09	24.56	23.19	2.49	2.13	2.16	1.60	1.66	1.54
C17:1	0.74	0.64	0.58	3.72	3.48	4.11	0.48	0.40	0.41	0.34	0.32	0.39
C18:1n9t	0.28	0.06	0.17	1.08	1.59	1.41	0.16	0.14	0.14	0.12	0.11	0.12
C18:1n9c	15.13	14.14	10.01	85.16	70.87	67.39	7.12	6.46	6.22	4.93	4.44	3.95
C20:1	0.92	1.56	0.87	5.38	4.72	6.21	0.58	0.57	0.60	0.38	0.33	0.59
C22:1n9	0.07	0.04	0.03	0.16	0.25	0.26	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02
C18:2n6t	0.15	0.10	0.12	1.20	1.20	1.15	0.06	0.06	0.04	0.04	0.05	0.09
C18:2n6c	2.80	1.80	2.17	13.12	16.74	15.15	1.91	1.68	1.74	1.61	1.22	1.18
C18:3n6	0.29	0.10	0.19	1.04	1.59	1.45	0.15	0.12	0.13	0.13	0.12	0.19
C18:3n3	3.80	2.38	2.92	24.74	23.65	22.61	2.18	1.90	2.02	1.57	1.45	1.04
C20:2	0.35	0.23	0.25	1.42	2.02	1.91	0.24	0.20	0.21	0.21	0.18	0.15
C20:3n6	0.81	0.38	0.58	2.38	2.71	2.52	0.75	0.63	0.59	0.65	0.54	0.54
C20:3n3	0.45	0.36	0.42	2.74	2.90	2.63	0.35	0.31	0.34	0.24	0.29	0.41
C20:4n6	1.15	1.41	0.91	5.20	5.05	5.54	1.82	1.42	1.45	1.64	1.57	1.53
C22:2	0.98	0.00	0.00	4.48	4.30	4.37	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C20:5n3	1.02	0.00	0.00	6.40	5.71	5.20	0.97	0.95	0.58	1.25	1.18	1.17
C22:6n3	1.90	2.63	1.39	13.88	9.83	9.70	3.47	2.66	2.58	3.07	2.39	2.34
SFA	12.58±1.05 ^b	14.89±0.92 ^{ab}	16.20±0.94 ^a	87.20±1.89 ^b	93.65±2.25 ^{ab}	96.93±2.53 ^a	13.78±0.98 ^b	14.14±1.23 ^b	20.13±0.62 ^a	10.21±0.53 ^b	10.55±0.67 ^b	16.11±1.08 ^a
MUFA	21.55±0.93 ^a	21.49±0.85 ^a	15.47±0.84 ^b	123.25±2.91 ^a	109.77±1.58 ^b	105.93±2.82 ^b	11.09±0.31 ^a	9.87±0.57 ^{ab}	9.59±0.41 ^b	7.42±0.69	6.91±0.76	6.62±0.26
PUFA	13.70±0.92 ^a	9.39±0.83 ^b	8.97±0.70 ^b	76.59±1.18 ^a	75.701.09± ^{ab}	72.23±1.41 ^b	11.91±0.32 ^a	9.94±0.29 ^b	9.69±0.34 ^b	10.41±0.45 ^a	8.99±0.39 ^b	8.64±0.46 ^b

a, b และ c ที่แตกต่างกันในแต่ละแถว แสดงถึงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (treatment) ($p < 0.05$)

4.2.2 ปริมาณเหล็กในรูปฮีม (Heme content)

ปริมาณเหล็กในรูปฮีมในกล้ามเนื้อปลาที่ผ่านการเก็บ (Aged fish) และเนื้อปลาสดลดลงอย่างมีนัยสำคัญอาจเนื่องจากการสลายตัวของสารประกอบเหล็กในรูปฮีม โดยเกิดการสลายของพันธะของวงแหวนพอร์ไฟริน (Porphyrin ring) จากปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง Thiansilakul, Benjakul, & Richards (2010) รายงานว่าปริมาณเหล็กในรูปฮีมในกล้ามเนื้อปลา seabass (*Lates calcarifer*) และปลา Red tilapia (*Oreochromis mossambicus* และ *O. iloticus*) ลดลงหลังจากการเก็บรักษาในน้ำแข็ง 15 วัน Rezaei & Hosseini (2008) พบว่าปริมาณฮีมในปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ลดลงเช่นกัน เมื่อเก็บรักษาในน้ำแข็งเป็นเวลา 20 วัน นอกจากนี้กระบวนการล้างยังส่งผลให้สูญเสียฮีมโปรตีน (Heme protein) ได้แก่ ไมโอโกลบิน (Myoglobin) และฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ได้

4.2.3 ค่า TBARS

ค่า TBARS แตกต่างกันตามชนิดของเนื้อปลาและมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อการเก็บรักษาในน้ำแข็งนานขึ้น ($p < 0.05$, ตารางที่ 5) พุงปลา มีค่า TBARS สูงที่สุด เนื่องจากมีปริมาณไขมันทั้งหมด ($p < 0.05$, ตารางที่ 1) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายพันธะสูงที่สุด (ตารางที่ 6) นอกจากนี้เอนไซม์หลายชนิด เช่น ลิพอกซิเจเนส (Lipoxygenase) เพอร์ออกซิเดส (peroxidase) และไมโครโซมอล (Microsomal) ที่อยู่ในปลา สามารถส่งเสริมให้เกิดออกซิเดชันของไขมันในพุงปลาได้ (Venugopal, 2008) ถึงแม้ว่าปริมาณเหล็กในรูปฮีมในปลาชนิดนั้นสูงกว่าปลาชนิดอื่นแต่ค่า TBARS ในปลาชนิดนั้นต่ำกว่า เหล็กในรูปฮีมนั้นเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่สำคัญในการเกิดออกซิเดชันของไขมัน เนื้อปลาสดล้างน้ำนั้น มีปริมาณพอสโพลีพิดและมีสัดส่วนของ PUFA สูง จึงไวต่อการเกิดออกซิเดชันของไขมัน แม้จะมีปริมาณเหล็กในรูปฮีมซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในปริมาณต่ำ ดังนั้นปริมาณของไขมัน พอสโพลีพิดและกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ จึงเป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีผลความคงตัวของปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidative stability) ในปลา

4.2.4 สารประกอบที่ระเหยได้ (Volatile compounds)

ในเนื้อเยื่อส่วน ๆ ต่างของปลาเกล็ดเงิน ตรวจพบสารประกอบที่ระเหยได้ ได้แก่ แอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์และคีโตน (ตารางที่ 7) โดยสารประกอบที่ระเหยได้นั้นเกิดจากการออกซิเดชันของไขมันซึ่งพบได้มากในพุงปลา ความแตกต่างของสารประกอบที่ระเหยได้ที่พบในงานวิจัยนี้ เกิดจากความแตกต่างของไขมันและกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในส่วนเนื้อเยื่อต่างชนิดกัน ซึ่งมีบทบาทที่สำคัญต่อการเกิดสารประกอบที่ระเหยได้ สารประกอบ 1-Pentanol และ 1-octen-3-ol นั้น เกิดจากการออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) Hsieh & Kinsella (1989) รายงานว่า 1-octen-3-ol นั้นเป็นสารระเหยที่สำคัญที่ก่อให้เกิดกลิ่นรสที่ผิดปกติ (off-flavors) เนื่องจากมีค่าระดับต่ำสุดที่สามารถรับรู้ได้ (Threshold) ของกลิ่นต่ำ 1-Heptanol, 1-octanol, 1-hexanol, nonanal และ 2-octenal, (E)- นั้นเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการเสื่อมสลายของกรดโอเลอิก (Oleic acid) (Choe & Min, 2006) สารประกอบ 2, 3-Octanedione เกิดจากการออกซิเดชันของกรดไขมันโอเมกา-6 (Buettner, 2017) hexanal เป็นผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิซึ่งเกิดจากการออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิก (Linoleic acid) โดยทั่วไปใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ (Marker) การเกิดออกซิเดชันในปลา (Iglesias & Medina, 2008) ปริมาณสารระเหยที่ลดลงในเนื้อปลาลดลง น้ำ บ่งชี้ถึงสารระเหยที่มีคุณสมบัติละลายน้ำ (volatile water-soluble properties) และการล้าง ส่งผลให้สารระเหยถูกกำจัดออกไปในปริมาณมาก จากผลงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า Hexanal ที่เพิ่มขึ้น สามารถใช้เป็นสารบ่งชี้การเกิดออกซิเดชันในเนื้อปลาลดลงน้ำและพุงปลา อย่างไรก็ตาม nonanal และ 1-octen-3-ol ที่มีปริมาณสูง รวมถึงการเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงวัตถุดิบที่มีคุณภาพต่ำ

ตารางที่ 7 การเปลี่ยนแปลงสารประกอบที่ระเหยได้ในเนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ ของปลาเกล็ดเงินระหว่างการเก็บในน้ำแข็งและเนื้อปลาบดล้างน้ำ

RI	Compounds	หนัง (Skin)			พุง (Belly flap)			เนื้อปลาบด (Mince)			เนื้อปลาบดล้างน้ำ (Washed mince)		
		D0	D7	D14	D0	D7	D14	D0	D7	D14	D0	D7	D14
Alcohols													
1,25	1-pentanol	0.014±0.004 ^a	0.022±0.005 ^a	ND	0.057±0.014 ^b	0.259±0.052 ^a	0.190±0.064 ^a	0.019±0.009	0.025±0.005	0.056±0.034	ND	ND	ND
1,36	1-hexanol	0.040±0.012^b	0.174±0.047^a	0.198±0.027^a	0.491±0.259 ^b	1.642±0.065 ^a	1.432±0.055 ^a	0.199±0.154 ^b	0.319±0.049^{ab}	0.524±0.039^a	0.039±0.010	0.050±0.017	0.053±0.017
1,45	1-octen-3-ol	0.029±0.017^c	0.225±0.004^b	0.285±0.012^a	0.131±0.059 ^b	0.926±0.119 ^a	1.107±0.520 ^a	0.048±0.006 ^b	0.099±0.013^{ab}	0.175±0.073^a	0.041±0.013	0.052±0.028	0.048±0.022
1,46	1-heptanol	0.018±0.001 ^b	0.095±0.031 ^a	0.065±0.015 ^{ab}	0.049±0.031^b	0.162±0.010^a	0.175±0.042^a	0.020±0.008^b	0.029±0.003^b	0.064±0.009^a	0.012±0.007	0.016±0.002	0.018±0.001
1,48	1,5-octadien-3-ol, (Z)-	ND	ND	ND	ND	0.171±0.022 ^a	0.279±0.139 ^a	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,49	2-Ethyl-1-hexanol	0.062±0.015 ^{ab}	0.073±0.020 ^a	0.033±0.014 ^b	0.388±0.232	0.354±0.0353	0.396±0.068	ND	0.111±0.049 ^a	0.042±0.035 ^b	0.230±0.039 ^a	0.037±0.015 ^b	ND
1,56	1-octanol	0.038±0.009^b	0.153±0.029^a	0.101±0.023^a	0.018±0.013 ^b	0.073±0.004^a	0.068±0.028^a	ND	0.028±0.015 ^a	0.021±0.006 ^a	0.007±0.001 ^a	0.003±0.001 ^b	0.006±0.001 ^a
1,62	2-octenol	0.007±0.002 ^b	0.031±0.002 ^a	0.025±0.011 ^a	0.021±0.004	0.048±0.008	0.087±0.012	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,66	1-nonanol	0.024±0.008 ^b	0.149±0.035 ^a	0.091±0.034 ^{ab}	0.041±0.003	0.371±0.005	0.027±0.011	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,68	2-octyn-1-ol	ND	0.039±0.003 ^a	0.014±0.002 ^b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,77	2-ethyl-1-hexanol	ND	ND	ND	ND	0.044±0.004	0.041±0.003	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,84	3-octen-1-ol, (E)-	ND	ND	ND	ND	0.053±0.010	0.064±0.007	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Aldehydes													
1,08	hexanal	0.019±0.024	0.029±0.007	0.027±0.003	0.087±0.034 ^b	0.144±0.054 ^b	0.440±0.135 ^a	ND	ND	ND	0.014±0.012^b	0.033±0.005^b	0.055±0.005^a
1,28	octanal	ND	0.070±0.009 ^a	0.026±0.004 ^b	ND	0.027±0.001 ^b	0.061±0.018 ^a	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,39	nonanal	0.032±0.008^c	0.161±0.036^b	0.242±0.029^a	0.041±0.008 ^b	0.063±0.007 ^b	0.102±0.017 ^a	0.022±0.007 ^b	0.039±0.003^{ab}	0.064±0.014^a	0.013±0.012	0.019±0.003	0.020±0.008
1,43	2-octenal, (E)-	ND	ND	ND	ND	0.035±0.006 ^b	0.073±0.010 ^a	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ketones													
1,32	2,3-octanedione	ND	0.023±0.002 ^b	0.035±0.007 ^a	0.049±0.003^b	0.234±0.053 ^a	0.291±0.089 ^a	ND	0.037±0.008^b	0.142±0.028^a	ND	ND	ND
1,57	3,5-octadien-2-one,	ND	ND	ND	ND	ND	0.024±0.003	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND = not detected; ^{a, b, c} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละแถว แสดงถึงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (Treatment) ($p < 0.05$)

4.2.5 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มมามานเปกโตรสโกปี (FT- Raman analysis)

ไขมันที่สกัดจากเนื้อปลาบดล้างน้ำ แสดงแถบที่เป็นลักษณะเฉพาะที่เลขคลื่น $3,015\text{ cm}^{-1}$, $1,747\text{ cm}^{-1}$ และ $1,658\text{ cm}^{-1}$ ในขณะที่สเปกตรัม 4 แถบ (รวมถึง $1,267\text{ cm}^{-1}$) พบในไขมันที่สกัดได้จากเนื้อปลาบด พุงปลา และหนัง (ตารางที่ 8) การลดลงของแถบเลขคลื่นที่ $3,015\text{ cm}^{-1}$ และ $1,267\text{ cm}^{-1}$ เกิดจากการสั่นแบบยืดของพันธะ *cis* =CH และการสั่นแบบ symmetric rock ของ *cis* =CH ตามลำดับ การลดลงของ 2 แถบนี้สอดคล้องกับการลดลงของ PUFA ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง

การลดลงของหมู่เมทิลีน ($2,935\text{ cm}^{-1}$; CH_2 asymmetric, $2,850\text{ cm}^{-1}$; symmetric stretching, $1,438\text{ cm}^{-1}$; the CH_2 deformation และ $1,301\text{ cm}^{-1}$; CH_2 in-phase twisting) เกิดจากปฏิกิริยาที่เปลี่ยนโครงสร้างไปเป็นอีกไอโซเมอร์ทรานส์ (*trans*) (Isomerization) และ/หรือ การสลายตัว (breakdown) เป็นผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิที่เกิดออกซิเดชัน

แถบเลขคลื่นที่ $1,746\text{ cm}^{-1}$ เกิดจากการสั่นแบบยืดของ C=O esters เพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดสารประกอบคาร์บอนิลิก (Carbonylic compounds) ส่วนอีกแถบที่มีความเข้มสูงที่เลขคลื่น 1658 cm^{-1} เกิดจากการสั่นแบบยืดของ *cis* double bond (C=C) พบว่าลดลง เนื่องจากการสูญเสียของพันธะคู่ประเภท Conjugated double bonds จากผลงานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าเนื้อปลาบดล้างน้ำจากปลาที่ผ่านการเก็บนั้น จะเกิดการออกซิเดชันของไขมัน FT-Raman ใช้ในการจำแนกระดับความไม่อิ่มตัวของกรดไขมัน (Iodine value) ของกล้ามเนื้อปลาแซลมอน (*Salmo salar*), เนื้อปลาแซลมอนบดและไขมันที่สกัดได้ (Afseth et al., 2006) Sarkardei & Howell (2007) ติดตามการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไขมันที่สกัดจากปลา Mackerel และ Horse mackerel ที่ผ่านการทำแห้ง (Freeze-dried) จากการวิเคราะห์รามานสเปกตรัม พบว่าความเข้มของแถบที่เกิดจากการสั่นแบบยืดของพันธะ CH_2 และ C=O ester นั้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ร่วมกับความเข้มที่เพิ่มขึ้นของแถบที่เลขคลื่น $3,011\text{ cm}^{-1}$ และ $2,960\text{--}2,850\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งสัมพันธ์กับหมู่ CH แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างไขมัน ซึ่งยืนยันจากค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันที่สกัดได้จากปลา Mackerel และ Horse mackerel ที่ผ่านการทำแห้ง (Freeze-dried) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ นั้นเพิ่มขึ้นในช่วงเริ่มต้น แล้วจากนั้นจึงลดลง ซึ่งเป็นการยืนยันการเกิดการออกซิเดชันของไขมันขึ้น

ตารางที่ 8 พื้นที่สัมพัทธ์ของรามานสเปกตร้าของไขมันที่สกัดจากเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของปลาเกล็ดเงินระหว่างเก็บรักษาในน้ำแข็งและปลาล้างน้ำ

Wavenumber (cm ⁻¹)	Band assignment	หนัง (Skin)			พุง (Belly flap)			เนื้อปลาลบ (Mince)			เนื้อปลาล้างน้ำ (Washed mince)		
		D0	D7	D14	D0	D7	D14	D0	D7	D14	D0	D7	D14
3,015	cis-olefinic group =CH stretching	7.374±0.14	7.260±0.11	7.279±0.06	7.763±0.30 ^a	7.525±0.22 ^b	7.151±0.18 ^c	8.463±0.11 ^a	8.098±0.23 ^{ab}	7.964±0.23 ^b	9.187±0.14 ^a	9.044±0.10 ^{ab}	8.840±0.10 ^b
Σ	methylene groups (2,935, 2,850, 1,438, 1,301)	56.450±0.51	56.003±0.21	55.856±0.79	55.157±0.45	54.306±0.84	54.133±0.31	54.496±0.41	53.930±0.53	53.546±0.64	51.845±0.34 ^a	50.632±0.50 ^b	50.645±0.79 ^b
2,935	ν _{as} CH ₂	9.805	9.827	9.783	9.545	9.510	9.401	9.538	9.543	9.422	9.753	9.579	9.560
2,850	ν _s CH ₂	32.890	32.591	32.487	31.604	31.140	31.398	31.717	31.504	31.306	29.675	28.614	28.648
1,438	δ(CH ₂)	9.380	9.227	9.229	9.461	9.073	8.931	8.856	8.666	8.676	8.468	8.501	8.504
1,301	tCH ₂ in-phase twisting	4.375	4.358	4.357	4.547	4.583	4.403	4.384	4.217	4.143	3.949	3.938	3.933
1,747	ν(C=O) carbonyl compounds	1.421±0.01 ^b	1.526±0.07 ^{ab}	1.576±0.03 ^a	1.519±0.04 ^b	1.575±0.14 ^b	1.606±0.07 ^a	1.255±0.12 ^b	1.455±0.03 ^a	1.449±0.04 ^a	0.991±0.04 ^b	1.078±0.09 ^{ab}	1.152±0.04 ^a
1,658	ν(C=C) conjugated double bonds	11.119±0.52	11.175±0.60	10.901±0.29	11.606±0.41 ^a	11.210±0.11 ^{ab}	10.739±0.07 ^b	11.790±0.38 ^a	11.287±0.07 ^{ab}	10.994±0.12 ^b	11.853±0.22	11.874±0.28	11.725±0.11
1,267	δ(=CH) symmetric rock (cis)	2.541±0.10	2.517±0.23	2.497±0.19	3.503±0.7 ^a	3.231±0.09 ^{ab}	3.051±0.17 ^b	3.549±0.02 ^a	3.346±0.08 ^{ab}	3.072±0.04 ^b	3.895±0.09	3.867±0.07	3.701±0.07

อักษรย่อ; s, symmetric; as, asymmetric; ν, stretch; δ, deformation; r, rock

ตัวอักษร ^{a,b,c} ที่แตกต่างกันในแต่ละแถว แสดงถึงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (Treatment) ($p < 0.05$)

4.2.6 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแอมพเทนนูเอเทตโททัลรีเฟลกชันฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (FT-IR/ATR analysis)

อินฟราเรดสเปกตรัมของไขมันที่สกัดจากเนื้อเยื่อปลาเกล็ดเงินชนิดต่างกันระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งและเนื้อปลาบดล้างน้ำแสดงในตารางที่ 9 โดยพบการลดลงของแถบเลขคลื่นที่ $3,013\text{ cm}^{-1}$ ที่เกิดจากการสั่นแบบยืดของพันธะ *cis* C-H ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง ในหนัง พุงและเนื้อปลาบดล้างน้ำ แต่ไม่พบความแตกต่างในเนื้อปลาบด นอกจากนี้ยังพบการลดลงของแถบนี้อย่างต่อเนื่องเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น บ่งชี้ถึงการสูญเสีย *cis* double bonds ซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide)

แถบที่เลขคลื่น $2,924, 2,853$ และ 722 cm^{-1} ($-(\text{CH}_2)\text{-rocking}$) เกิดจากการสั่นของพันธะ asymmetric $-\text{CH}_2$, symmetric $-\text{CH}_2$ และ bending rocking $-\text{CH}_2$ ตามลำดับ การลดลงของการสั่นของหมู่ฟังก์ชันเหล่านี้เกิดจากเมทิลีน (methylene residue) ถูกดึงโมเลกุลของไฮโดรเจนออก (hydrogen abstraction) เกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ การสลายของเปอร์ออกไซด์ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิ เช่น แอลดีไฮด์ คีโตน และแอลกอฮอล์ สารประกอบคาร์บอนิล (carbonyl) นั้นบ่งชี้ด้วยเลขคลื่นที่ $1,745\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งสัมพันธ์กับการสั่นแบบยืดของ triglyceride ester carbonyl ($\text{C}=\text{O}$) ที่เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็ง บ่งชี้ถึงการเกิดผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิ อย่างไรก็ตามที่แถบเลขคลื่น 722 cm^{-1} นั้นเกิดจากการสั่นแบบงอ (out of plane bending) ของหมู่ *cis*-disubstituted เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น แสดงให้เห็นจากการลดลงของแถบแบนนี้ เนื่องจากการสูญเสียของพันธะ *cis* double bonds และเกิดการไอโซเมอไรเซชัน (Isomerization) เป็นโครงร่างแบบทรานส์ (*trans* configuration)

การเพิ่มขึ้นของแถบที่เลขคลื่น 970 cm^{-1} เกิดจากพันธะคู่แบบทรานส์ของ $-\text{HC}=\text{CH}-$ ซึ่งพบในไขมันที่สกัดจากพุงปลาที่ผ่านการเก็บมาแล้ว นอกจากนี้ระดับไขมันแบบทรานส์ (*trans* fat) พบในปริมาณสูงกว่าในไขมันที่สกัดจากเนื้อปลาบดล้างน้ำ ผลงานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าไม่เพียงระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น แต่กระบวนการล้างนั้นสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดไขมันแบบทรานส์ได้เช่นกัน โครงร่างแบบทรานส์ (*trans* configuration) นั้นเกิดจากการออกซิเดชันของไขมัน โมเลกุลออกซิเจนที่ไม่มีอนุมูลหรืออิลคตรอนเดี่ยว (singlet oxygen) ทำปฏิกิริยากับพันธะคู่แบบซิส (*cis*) และเปลี่ยนไปเป็นโครงร่างแบบทรานส์ (*trans*) ซึ่งมีเสถียรภาพ (Thermodynamically stable) สูงกว่ารูปแบบซิส

ฟอสโฟลิพิดที่แถบเลขคลื่น 925 cm^{-1} และ 825 cm^{-1} เกิดจากการสั่นแบบยืดของพันธะ symmetric และ asymmetric P-O-C พบว่าปริมาณของฟอสโฟลิพิดลดลงในไขมันที่สกัดจากตัวอย่างที่มีระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น เป็นที่สังเกตว่าแถบเลขคลื่น 2 แถบของหมู่ฟอสเฟตนั้น พบในอินฟราเรดสเปกตรัมแต่ไม่พบในรามานสเปกโตรสโกปี ไขมันที่สกัดจากปลาบดที่ผ่านการเก็บรักษา (Aged mince) และปลาบดล้างน้ำที่เตรียมจากปลาบดที่ผ่านการเก็บรักษา พบการลดลงของหมู่ฟอสเฟต ซึ่งบ่งชี้ถึงการเกิดออกซิเดชันของฟอสโฟลิพิดและ/หรือกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสโฟลิเพส

(Phospholipase) ระหว่างการเก็บรักษาปลาในน้ำแข็ง Sánchez-Alonso et al. (2012) รายงานว่า อินฟราเรดสเปกโตรสโกปีสามารถใช้ติดตามการเกิดการสลายของไขมัน (lipid hydrolysis) ในไขมันที่สกัดจากชิ้นปลา Hake ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10°C อินฟราเรดสเปกตรัมแสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของบริเวณแถบเลขคลื่นของหมู่คาร์บอนิล (carbonyl region; $1,800\text{--}1,600\text{ cm}^{-1}$) ระหว่างการเก็บรักษา โดยความเข้มการดูดกลืนแสงที่แถบสำคัญคือเลขคลื่น $1,742$ และ $1,712\text{ cm}^{-1}$ Klaypradit et al. (2011) แสดงให้เห็นว่าอินฟราเรดสเปกตรัมของน้ำมันปลา Menhaden เก็บภายใต้แสง ที่อุณหภูมิห้อง สามารถติดตามการเกิดออกซิเดชัน (Oxidative quality) โดยพบว่าการเปลี่ยนแปลงในช่วงเลขคลื่น $3,500$ และ $1,700\text{ cm}^{-1}$ และค่าการดูดกลืนแสงสัมพันธ์กับค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value, PV) และค่าแอนิซิดีน (Anisidine value, AnV) ที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี



ตารางที่ 9 พื้นที่สัมพัทธ์ของ FT-IR สเปกตราของไขมันที่สกัดจากเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของปลาเกล็ดเงินระหว่างเก็บรักษาในน้ำแข็งและปลาดิบล้างน้ำ

Wavenumber (cm ⁻¹)	Band assignment	หนัง (Skin)			พุง (Belly flap)			เนื้อปลาดิบ (Mince)			เนื้อปลาดิบล้างน้ำ (Washed mince)		
		D0	D7	D14	D0	D7	D14	D0	D7	D14	D0	D7	D14
3,013	Olefinic V(C=H) (cis)	2.685±0.10 ^a	2.538±0.04 ^{ab}	2.508±0.10 ^b	2.980±0.12 ^a	2.743±0.15 ^{ab}	2.635±0.09 ^b	3.203±0.12 ^a	3.035±0.35 ^a	2.895±0.31 ^a	3.558±0.20 ^a	3.243±0.17 ^{ab}	2.913±0.22 ^b
2,924	V _{as} (CH ₂)	15.472	15.146	15.301	16.093	15.672	15.777	15.587	15.483	15.209	14.966	15.091	14.640
2,853	V _s (CH ₂)	12.019	11.968	11.745	12.038	12.000	12.322	11.457	12.221	11.457	11.294	11.217	11.002
722	-(CH ₂)- rocking	5.017	4.943	5.020	4.504	4.469	4.101	5.472	4.961	4.917	5.193	4.510	4.349
Σmethylene groups (2,924, 2,853, 722)		32.507±0.57 ^a	32.057±0.56 ^a	32.065±0.79 ^a	32.636±0.23 ^a	32.141±0.24 ^a	32.201±0.42 ^a	32.516±0.40 ^a	32.665±0.76 ^a	31.583±0.90 ^a	31.453±0.51 ^a	30.818±0.39 ^{ab}	29.991±0.96 ^b
1,745	Ester V(C=O)	27.268±0.11 ^c	27.712±0.11 ^b	28.103±0.05 ^a	23.014±0.23 ^b	25.175±0.86 ^{ab}	25.455±0.85 ^a	23.292±1.21 ^b	24.068±1.01 ^{ab}	25.685±1.16 ^a	21.069±0.32 ^b	21.687±0.26 ^{ab}	22.029±0.11 ^a
970	-HC=CH- (trans) isolated double bonds	0.735±0.04 ^a	0.755±0.07 ^a	0.728±0.09 ^a	1.693±0.08 ^b	1.827±0.12 ^b	2.188±0.11 ^a	2.074±0.23 ^a	2.345±0.13 ^a	2.396±0.21 ^a	4.105±0.19 ^a	4.111±0.22 ^a	4.605±0.19 ^a
925	V _s (P-O-C)	0.717	0.889	0.605	1.326	1.213	1.282	1.296	1.183	1.171	1.957	1.934	1.947
825	V _{as} (P-O-C)	0.386	0.280	1.047	0.724	0.653	0.601	0.302	0.270	0.287	1.858	1.269	1.014
Σphosphate (925, 825)		1.104±0.05 ^a	1.169±0.08 ^a	1.128±0.17 ^a	2.050±0.35 ^a	1.866±0.13 ^a	1.883±0.23 ^a	1.598±0.05 ^a	1.453±0.04 ^b	1.458±0.04 ^b	3.815±0.12 ^a	3.203±0.09 ^b	2.962±0.13 ^b

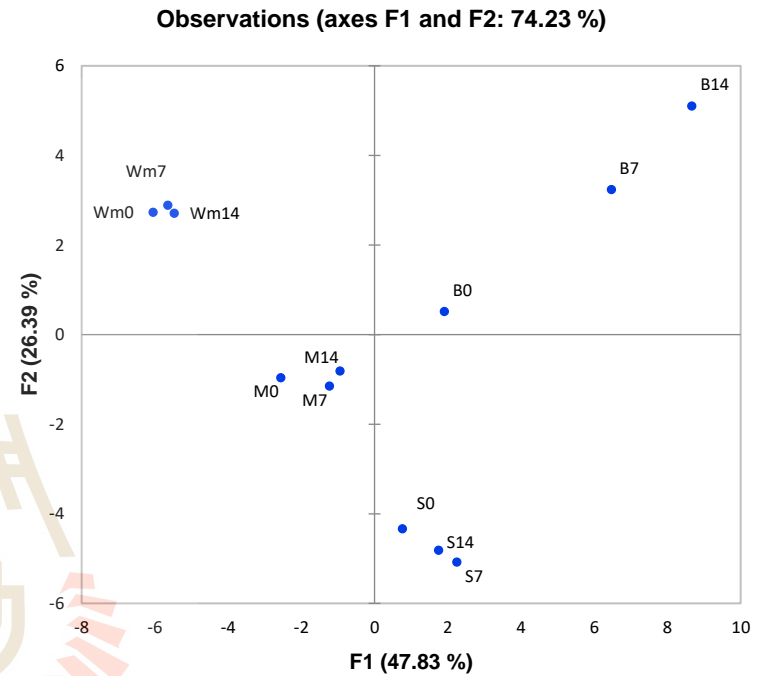
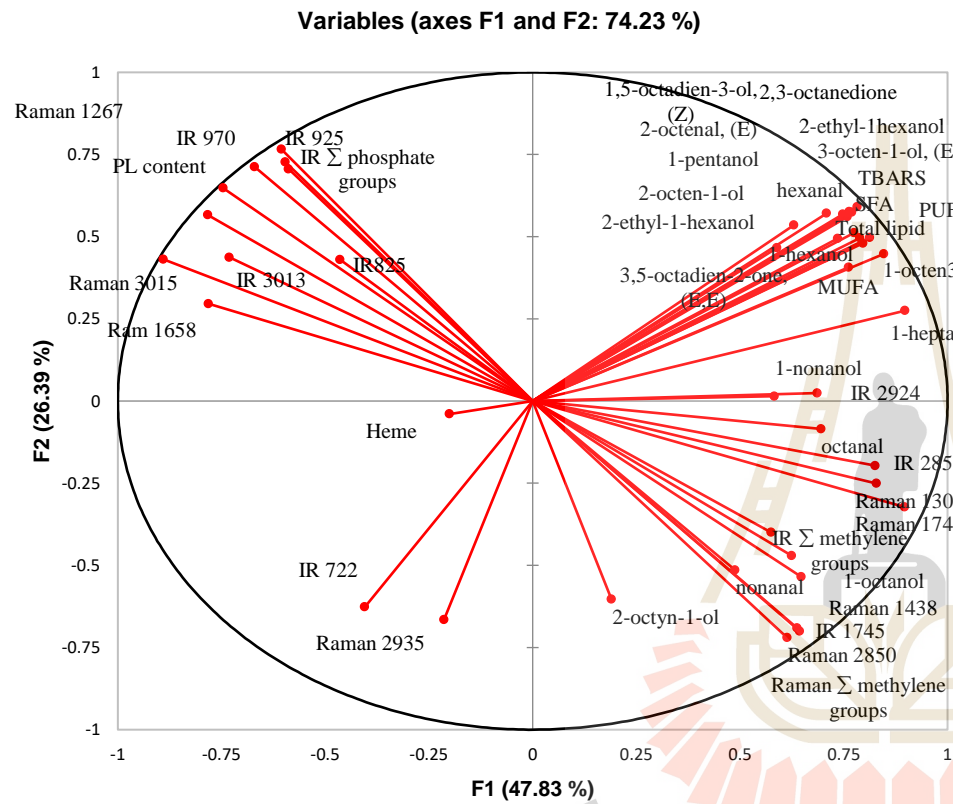
อักษรย่อ; s, symmetric; as, asymmetric; ν, stretch; δ, deformation; r, rock

ตัวอักษร ^{a,b,c} ที่แตกต่างกันในแต่ละแถว แสดงถึงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (Treatment) ($p < 0.05$)

4.2.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal component analysis, PCA)

องค์ประกอบรวม 2 องค์ประกอบแรกจากการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก อธิบายความแปรปรวนเท่ากับ 74.23% (รูปที่ 8) คุณสมบัติทางเคมีและไขมันที่เป็นองค์ประกอบในส่วนหนึ่ง พุงเนื้อปลาสดจากเนื้อเยื่อปลาที่ผ่านการเก็บและเนื้อปลาดล้นน้ำพบการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ส่วนหนึ่งและพุงปลา สามารถแยกออกจากส่วนอื่น โดยใช้องค์ประกอบที่ 1 (PC1) ด้วยผลจากปริมาณไขมันทั้งหมด, TBARS, SFA, MUFA และ PUFA ส่วนสารระเหยที่เกิดจากการเกิดออกซิเดชัน (volatile oxidative products) ได้แก่ 1-pentanol, 1-hexanol, 1-octen-3-ol, 1-heptanol, 1,5-octadien-3-ol, (Z)-, 2-ethyl-1-hexanol, 1-octanol, 2-octen-1-ol, 1-nonanol, 2-octyn-1-ol, 2-ethyl-1-hexanol, 3-octen-1-ol, (E)-, hexanal, octanal, nonanal, 2-octenal, (E)- และ 2,3-octanedione, 3,5-octadien-2-one, (E, E)- รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของแถบ FTIR ที่เลขคลื่น $1,745\text{ cm}^{-1}$ ester $\nu(\text{C}=\text{O})$, $2,924\text{ cm}^{-1}$ $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$, $2,853\text{ cm}^{-1}$ $\nu_{\text{s}}(\text{CH}_2)$, Σ methylene groups ($2,924\text{ cm}^{-1}$, $2,853\text{ cm}^{-1}$, 722 cm^{-1}) และสเปกตรัมของ FT-Raman ที่เลขคลื่น $2,850\text{ cm}^{-1}$ $\nu_{\text{s}}\text{ CH}_2$, $1,438\text{ cm}^{-1}$ $\delta(\text{CH}_2)$, $1,301\text{ cm}^{-1}$ tCH₂ in-phase twisting, $1,747\text{ cm}^{-1}$ $\nu(\text{C}=\text{O})$ ของสารประกอบคาร์บอนิล ใช้บ่งชี้ความแตกต่างระหว่างส่วนหนึ่งและพุงปลาออกจากเนื้อปลาสดและเนื้อปลาดล้นน้ำ

เนื้อปลาดสดแตกต่างจากเนื้อปลาดล้นน้ำโดยขึ้นกับปริมาณฟอสโฟลิพิด ซึ่งยืนยันจาก FTIR ที่เลขคลื่น 925 cm^{-1} $\nu_{\text{s}}(\text{P}-\text{O}-\text{C})$, 825 cm^{-1} $\nu_{\text{as}}(\text{P}-\text{O}-\text{C})$ และ Σ phosphate groups (925 cm^{-1} , 825 cm^{-1}) และพบว่าปริมาณฟอสโฟลิพิดในเนื้อปลาดล้นน้ำนั้นสูงกว่าในเนื้อปลาสด นอกจากนี้สเปกตรัมของ FT-Raman ที่เลขคลื่น $2,935\text{ cm}^{-1}$ $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$ และ FTIR ที่เลขคลื่น 722 cm^{-1} $-(\text{CH}_2)-$ rocking สเปกตรัมของ FT-Raman ที่เลขคลื่น $3,015\text{ cm}^{-1}$ *cis*-olefinic group =CH stretching, $1,658\text{ cm}^{-1}$ $\nu(\text{C}=\text{C})$ conjugated double bonds, $1,267\text{ cm}^{-1}$ $\delta(=\text{CH})$ symmetric rock (*cis*) และสเปกตรัมของ FTIR ที่เลขคลื่น $3,013\text{ cm}^{-1}$ olefinic $\delta(\text{C}=\text{H})$ (*cis*) และ 970 cm^{-1} $-\text{HC}=\text{CH}-$ (*trans*) isolated double bonds สัมพันธ์เชิงบวกกับ PC2 ใช้ในการจำแนกเนื้อปลาดล้นน้ำจากตัวอย่างอื่น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปัจจัยเหล่านี้มีศักยภาพในการใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ (Marker) สำหรับการแบ่งแยกเนื้อปลาดล้นน้ำ



รูปที่ 8 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลักแสดงโดยองค์ประกอบร่วมที่ 1 (PC1) และ 2 (PC2) ของเนื้อปลาเกล็ดเงินบดที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง (M) และปลาบดล้างน้ำ (Wm)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

ระยะเวลาการเก็บรักษาในน้ำแข็งนานขึ้น เหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนของปลาเกล็ดเงินทั้งในเนื้อปลาสดและเนื้อปลาล้างน้ำ ปริมาณพื้นผิวไฮโดรโฟบิก (Surface hydrophobicity) เพิ่มขึ้น ปริมาณหมู่ซัลไฟไฮดริลพร้อมทำปฏิกิริยา (Reactive sulfhydryl) ลดลง นอกจากนี้ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแข็งจะเกิดการสลายของโปรตีน (Proteolysis) เพิ่มขึ้น เกิดการสูญเสียมีโอพิบิลลาร์โปรตีนเพิ่มขึ้นระหว่างการล้าง ได้ผลผลิตต่ำ รวมถึงความสามารถในการเกิดเจลไม่ดี ดังนั้นเพื่อให้ได้เนื้อปลาล้างน้ำที่มีคุณภาพดี วัตถุประสงค์ปลาเกล็ดเงินไม่ควรเก็บรักษาในน้ำแข็งนานเกิน 7 วัน ก่อนที่จะนำไปผ่านกระบวนการผลิต สเปกโตรสโกปีของการสั่นสามารถแยกความแตกต่างระหว่างเนื้อปลาสดและเนื้อปลาล้างน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยอาศัยโครงสร้าง α -helix $\Sigma\beta$ -sheet และ Σ disulfide bonds การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิที่ตรวจสอบจาก FT-IR และ FT-Raman ที่เลขคลื่น 828 cm^{-1} ซึ่งบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงของวงแหวนในทริปโทแฟน (tryptophan ring) สัมพันธ์อย่างยิ่งกับค่าเคของปลาเกล็ดเงิน ปริมาณของ parallel $\Sigma\beta$ -sheet และค่าสัมพัทธ์ของอินทิเกรตความเข้มของแถบรามานที่เลขคลื่น 828 cm^{-1} สัมพันธ์เชิงลบต่อคุณภาพเนื้อสัมผัสของเนื้อปลาล้างน้ำ ในขณะที่การสั่นของฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine) และไดซัลไฟด์ (disulfide) ที่เลขคลื่น 621 และ 525 cm^{-1} เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับค่าแรงที่ทำให้แตกหัก (Breaking force) FT-IR และ FT-Raman มีศักยภาพในการใช้เป็นเทคนิคที่รวดเร็วในการติดตามคุณภาพความสดของปลาและประเมินคุณภาพเจลจากเนื้อปลาล้างน้ำ

การเกิดออกซิเดชันของไขมันของปลาเกล็ดเงินนั้นแตกต่างกันแต่ละชั้นส่วนของปลา ระยะเวลาการเก็บในน้ำแข็งที่นานขึ้นเหนี่ยวนำให้ส่วนพุงปลาเกิดออกซิเดชันมากที่สุด FT-IR และ FT-Raman สามารถใช้ติดตามการเกิดออกซิเดชันของไขมันในเนื้อเยื่อปลาเกล็ดเงิน จากการเปลี่ยนแปลงของพันธะคู่ (cis double bonds) หมู่เมทิลีน (Methylene groups) หมู่ฟอสเฟต (Phosphate groups) พันธะเอสเทอร์ (Ester bonds) และการเกิดกรดไขมันโครงสร้างแบบ trans ของไขมันที่สกัดได้ รวมถึงเพื่อให้คงคุณภาพของเนื้อปลาสดและเนื้อปลาล้างน้ำ ควรนำส่วนพุงปลาออกก่อนเก็บรักษาในน้ำแข็งหรือก่อนกระบวนการแยกกระดูกด้วยเครื่อง (Mechanically deboning)

บรรณานุกรม

- จิรวัดน์ ยงสวัสดิกุล. (2555). การทดสอบกระบวนการผลิตซูริมีปลาน้ำจืดในระดับโรงงาน. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. 32 หน้า.
- Abarna, S., Dhanapal, K., Balasubramanian, A., and Vidyasagar Reddy, G. (2013). Quality Evaluation of Catla (*Catla catla*) during chilled storage. Journal of Interacademia. Vol 17. Issue 4. 735-744.
- Ackman, R.G. (1994). Seafood lipids. In: Fereidoon, S. and Richard J.B. (eds.), Seafoods: chemistry, processing technology and quality (pp. 34-48): Springer: Boston, MA.
- Ackman, R.G. (1989). Marine biogenic lipids, fats and oils (Vol 2). CRC Press: Boca Raton, FL.
- Afseth, N.K., Wold, J.P., and Segtnan, V.H. (2006). The potential of Raman spectroscopy for characterisation of the fatty acid unsaturation of salmon. Analytica Chimica Acta. Vol 572. Issue 1. 85-92.
- Ahn, D., Lutz, S., Cherian, G., Wolfe, F., and Sim, J. (1995). Lipid oxidation and sensory characteristics of fresh and cured sausages from α -linolenic acid enriched pork. Journal of food quality. Vol 18. Issue 5. 397-413.
- Alasalvar, C., Taylor, K.A., and Shahidi, F. (2002). Comparative quality assessment of cultured and wild sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 50. 2039-2045.
- An, H., Weerasinghe, V., Seymour, T.A., and Morrissey, M.T. (1994). Cathepsin degradation of Pacific whiting surimi proteins. Journal of food science. Vol 59. 1013-1017.
- Association of Official Analytical Chemists. (1997). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists (15th ed.). AOAC: Arlington, TX.
- Association of Official Analytical Chemists. (2005). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists (18th ed.). AOAC: Arlington, TX.
- Aro, T., Tahvonen, R., Mattila, T., Nurmi, J., Sivonen, T., and Kallio, H. (2000). Effects of season and processing on oil content and fatty acids of baltic herring (*Clupea harengus membras*). Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 48. Issue 12. 6085-6093.
- Asghar, A., Gray, J.I., Buckley, D.J., Pearson, A.M., and Booren A.M. (1988). Perspectives on warmed-over flavor. Food Technology. Vol 42. 102-108.

- Aursand, M., Bleivik, B., Rainuzzo, J., Leif, J., and Mohr, V. (1994). Lipid distribution and composition of commercially farmed Atlantic salmon (*Salmo-Salar*). Journal of the Science of Food and Agricultural. Vol 64. 239-248.
- Balange, A., Benjakul, S., and Maqsood, S. (2009). Gel strengthening effect of wood extract on surimi produced from mackerel stored in ice. Journal of food science. Vol 74. Issue 8. C619-C627.
- Benjakul, S., Visessanguan, W., and Tueksuban, J. (2003). Changes in physico-chemical properties and gel-forming ability of lizardfish (*Saurida tumbil*) during post-mortem storage in ice. Food Chemistry. Vol 80. Issue 4. 535-544.
- Bourauoi, M., Nakai, S., and Li-Chan, E. (1997). In situ investigation of protein structure in Pacific whiting surimi and gels using Raman spectroscopy. Food Research International. Vol 30. 65-72.
- Buettner, A. (2017). Springer handbook of odor. Springer: Cham, Denmark.
- Burri, L., Hoem, N., Banni, S., and Berge, K. (2012). Marine omega-3 phospholipids: metabolism and biological Activities. International Journal of Molecular Sciences. Vol 13. Issue 12. 15401-15419.
- Careche, M., Garcia, M., Herrero, A., Solas, M., and Carmona, P. (2002). Structural properties of aggregates from frozen stored hake muscle proteins. Journal of Food Science. Vol 67. 2827-2832.
- Careche, M., Herrero, A., Rodriguez-Casado, A., Del Mazo, M., and Carmona P. (1999). Structural changes of hake (*Merluccius merluccius L.*) fillets: effects of freezing and frozen storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 47. 952-959.
- Careche, M. and Li-Chan, E.C.Y. (1997). Structural changes in cod myosin after modification with formaldehyde or frozen storage. Journal of Food Science. Vol 62. 717-723.
- Castro, H.P., Teixeira, P.M., and Kirby, R. (1996). Changes in the cell membrane of *Lactobacillus bulgaricus* during storage following freeze-drying. Biotechnology Letters. Vol 18. Issue 1. 99-104.
- Chaijan, M., Benjakul, S., Visessanguan, W., and Faustman, C. (2006). Changes of lipids in sardine (*Sardinella gibbosa*) muscle during iced storage. Food Chemistry. Vol 99. Issue 1. 83-91.

- Chávez-Mendoza, C., García-Macías, J.A., Alarcón-Rojo, A.D., Ortega-Gutiérrez, J.Á., Holguín-Licón, C., and Corral-Flores, G. (2014). Comparison of fatty acid content of fresh and frozen fillets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Walbaum. Brazilian Archives of Biology and Technology. Vol 57. Issue 1. 103-109.
- Cheng, J.H., Sun, D.W., Zeng, X.A., and Liu, D. (2015). Recent advances in methods and techniques for freshness quality determination and evaluation of fish and fish fillets: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Vol 55. 1012-1225.
- Choe, E., and Min, D.B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol 5. Issue 4. 169-186.
- Chomnawang, C., Nantachai, K., Yongsawatdigul, J., Thawornchinsombut, S., and Tungkawachara, S. (2007). Chemical and biochemical changes of hybrid catfish fillet stored at 4 C and its gel properties. Food Chemistry. Vol 103. Issue 2. 420-427.
- Clark, E.M., Mahoney, A.W., and Carpenter, C.E. (1997). Heme and total iron in ready-to-eat chicken. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 45. Issue 1. 124-126.
- Dawson, P.L., Sheldon, B.W., Larick, D.K., and Ball, H.R. (1990). Changes in the phospholipid and neutral-lipid fractions of mechanically deboned chicken meat due to washing, cooking, and storage. Poultry Science. Vol 69. Issue 1. 166-175.
- Delbarre-Ladrat, C., Chéret, R., Taylor, R., and Verrez-Bagnis, V. (2006). Trends in postmortem aging in fish: understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Vol 46. 409-421.
- Dong, A., Huang P., and Caughey, W.S. (1990). Protein secondary structures in water from second-derivative amide I infrared spectra. Biochemistry. Vol 29. 3303-3308.
- Eymard, S., Baron, C.P., and Jacobsen, C. (2009). Oxidation of lipid and protein in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) mince and washed minces during processing and storage. Food Chemistry. Vol 114. Issue 1. 57-65.
- Food and agriculture organization of United States. (2017). FAO yearbook, Fishery and Aquaculture Statistics. 2015/FAO annuaire. Statistiques des pêches et de l'aquaculture. 2015/FAO anuario. Estadísticas de pesca y acuicultura 2015. FAO: Rome, Italy.

- Food and agriculture organization of United States. (2005). Fisheries and aquaculture topics. Lipids: text by Lahsen Ababouch [online]. FAO: Rome, Italy.
- Folch, J., Lees, M., and Sloane-Stanley, G. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry. Vol 226. Issue 1. 497-509.
- Fu, X., Xu, S., and Wang, Z. (2009). Kinetics of lipid oxidation and off-odor formation in silver carp mince: The effect of lipoxygenase and hemoglobin. Food Research International. Vol 42. Issue 1. 85-90.
- Grigorakis, K., Alexis, M.N., Taylor, K.D.A., and Hole, M. (2002). Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*); composition, appearance and seasonal variations. International Journal of Food Science and Technology. Vol 37. Issue 5. 477-484.
- Hall, G.M., and Ahmad, N.H. (1997). Surimi and fish mince products. In: Hall, G.M. (ed.), Fish Processing Technology (pp. 74-91). Blackie Academic and Professional, London, United Kingdom.
- Hamann, D., and MacDonald, G. (1992). Rheology and texture properties of surimi and surimi-based foods. Surimi technology. 429-500.
- Herrero, A.M., Carmona, P., and Careche, M. (2004). Raman spectroscopic study of structural changes in Hake (*Merluccius merluccius L.*) muscle proteins during frozen storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 52. Issue 8. 2147-2153.
- Herrero, A.M., Carmona, P., Garcia, M.L., Solas, M.T., and Careche, M. (2005). Ultrastructural changes and structure and mobility of myowater in frozen-stored hake (*Merluccius merluccius L.*) muscle: relationship with functionality and texture. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 53. 2558-2566.
- Hernández-Martínez, M., Gallardo-Velázquez, T., Osorio-Revilla, G., Almaraz-Abarca, N., & Castañeda-Pérez, E. (2014). Application of MIR-FTIR spectroscopy and chemometrics to the rapid prediction of fish fillet quality. CYTA - Journal of Food. Vol 12. 369-377.
- Hornsey, H. (1956). The colour of cooked cured pork. I. Estimation of the nitric oxide-haem pigments. Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol 7. Issue 8. 534-540.

- Hossain, M.A. (2011). Fish as source of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs), which one is better-farmed or wild? Advance Journal of Food Science and Technology. Vol 3. Issue 6. 455-466.
- Hossain, M., Kamal, M., Sakib, M., Shikha, F., Neazuddin, M., and Islam, M. (2005). Influence of ice storage on the gel forming ability, myofibrillar protein solubility and Ca²⁺-ATPase activity of queen fish (*Chorinemus lysati*). Australian Journal of Biological Sciences. Vol 5. v519-524.
- Howell, N.K., Herman, H., and Li-Chan, E.C.Y. (2001). Elucidation of protein–lipid interactions in a lysozyme–corn oil system by fourier transform raman spectroscopy. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 49. Issue 3. 1529-1533.
- Eymard, S., Carcouët, E., Rochet, M.J., Dumay, J., Chopin, C., and Genot, C. (2005). Development of lipid oxidation during manufacturing of horse mackerel surimi. Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol 85. Issue 10. 1750-1756.
- Frankel, E. (1993). In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. Trends in Food Science & Technology. Vol 4. Issue 7. 220-225.
- Frankel, E.N. (2005). Lipid oxidation (2nd ed). The oily press: Bridgewater, England.
- Gandemer, G., and Meynier, A. (1995). The importance of phospholipids in the development of flavour and offflavour in meat products. In: Lundstrom, K., Hansson, I., and Wiklund, E., (eds.), Composition of meat in relation to processing, nutritional and sensory quality from farm to fork (pp. 119-12). ECCEAMST: Utrecht, Netherlands.
- Giménez, B., Gómez-Guillén, M.C., Pérez-Mateos, M., Montero, P., and Márquez-Ruiz, G. (2011). Evaluation of lipid oxidation in horse mackerel patties covered with borage-containing film during frozen storage. Food Chemistry. Vol 124. Issue 4. 1393-1403.
- Guenneugues, P. and Ianelli, J. (2014). Surimi resource and market. In: Jae W.P. (ed.), Surimi and surimi seafood (pp. 25-54). CRC Press: Boca Raton, FL.
- Hashimoto, K., Watabe, S., Kono, M., and Shiro, M. (1979). Muscle protein composition of sardine and mackerel. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. Vol 45. 1435-1441.

- Hattula, T. (1997). Adenosine triphosphate breakdown products as a freshness indicator of some fish species and fish products, in Technical Research Centre of Finland. Finland VTT: Helsinki, Finland.
- Hayakawa, S. and Nakai, S. (1985). Relationships of hydrophobicity and net charge to the solubility of milk and soy proteins. Journal of Food Science. Vol 50. 486-491.
- Hrynets, Y., Omana, D.A., Xu, Y., and Betti, M. (2011). Impact of citric acid and calcium ions on acid solubilization of mechanically separated turkey meat: Effect on lipid and pigment content. Poultry Science. Vol 90. Issue 2. 458-466.
- Hsieh, R.J., and Kinsella, J.E. (1989). Lipoygenase generation of specific volatile flavor carbonyl compounds in fish tissues. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 37. Issue 2. 279-286.
- Hui, Y.H. and Sherkat, F. (2006). Handbook of food science, technology, and engineering. CRC press: Boca Raton, FL.
- Hui, Y., Cross, N., Kristinsson, H., Lim, M., Nip, W., Siow, L., and Stanfield, P. (2012). Biochemistry of seafood processing. Food Biochemistry and Food Processing. 344-364.
- Iglesias, J. and Medina, I. (2008). Solid-phase microextraction method for the determination of volatile compounds associated to oxidation of fish muscle. Journal of Chromatography A. Vol 1192. Issue 1. 9-16.
- Jasra, S.K., Jasra, P.K., and Talesara, C.L. (2001). Myofibrillar protein degradation of carp (*Labeo rohita* (Hamilton)) muscle after post-mortem unfrozen and frozen storage. Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol 81. Issue 5. 519-524.
- Kamal, M., Sakib, M., Shikha, F., Neazuddin, M., and Islam, M. (2005). Influence of ice storage on the gel forming ability, myofibrillar protein solubility and Ca²⁺-ATPase activity of queen fish (*Chorinemus lysati*). Australian Journal of Biological Sciences. Vol 5. 519-524.
- Kaneniwa, M., Miao, S., Yuan, C., Lida, H., and Fukuda, Y. (2000). Lipid components and enzymatic hydrolysis of lipids in muscle of Chinese freshwater fish. Journal of the American Oil Chemists' Society. Vol 77. Issue 8. 825-831.
- Kanner, J. (1994). Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. Meat Science. Vol 36. Issue 1. 169-189.

- Klaypradit, W., Kerdpi boon, S., and Singh, R.K. (2010). Application of artificial neural networks to predict the oxidation of menhaden fish oil obtained from fourier transform infrared spectroscopy method. Food and Bioprocess Technology. Vol 4. Issue 3. 475-480.
- Kotakowska, A., Olley, J., and Dunstan, G. (2003). Fish lipids. In Z.E. Sikorski and A. Kolakowska (eds.). Chemical and functional properties of food lipids (pp. 221-264). CRC Press: Boca Raton, FL.
- Kong, J., and Yu, S. (2007). Fourier Transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. Acta Biochimica et Biophysica Sinica. Vol 39. Issue 8. 549-559
- Ladikos, D, and Lougovois, V. (1990). Lipid oxidation in muscle foods: a review. Food Chemistry. Vol 35. 295-314.
- Lakshmanan, P., Antony, P., and Gopakumar, K. (1996). Nucleotide degradation and quality changes in mullet (*Liza corsula*) and pearlspot (*Etroplus suratensis*) in ice and at ambient temperatures. Food Control. Vol 7. Issue 6. 277-283.
- Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. Vol 227. 680-685.
- Lanier, T. C., Carvajal, P., and Yongsawatdigul, J. (2005). Surimi gelation chemistry. In: Jae W.P. (ed.), Surimi and surimi seafood (pp. 435-489). Taylor & Francis: Boca Raton, FL.
- Leduc, F., Tournayre, P., Kondjoyan, N., Mercier, F., Malle, P., Kol, O., Berdagué, J.L., and Duflos, G. (2012). Evolution of volatile odorous compounds during the storage of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Food Chemistry. Vol 131. Issue 4. 1304-1311.
- Lee, C.M. (1994). Surimi processing from lean fish. In: Fereidoon, S. and Botta, J.R. (eds.), Seafoods: chemistry, processing technology and quality (pp. 263-287). Springer: Boston, MA.
- Lee, C.M. (1986). Surimi manufacturing and fabrication of surimi-based products. Food Technology. Vol 40. Issue 3. 115-124.
- Leelapongwattana, K., Benjakul, S., Visessanguan, W., and Howell, N.K. (2008). Raman spectroscopic analysis and rheological measurements on natural actomyosin from haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) during refrigerated (4°C) and frozen

- (-10°C) storage in the presence of trimethylamine-N-oxide demethylase from kidney of lizardfish (*Saurida tumbil*). Food Chemistry. Vol 106. 1253-1263.
- Lei, L., Li, J., Li, G.Y., Hu, J.N., Tang, L., Liu, R., Fan, Y.W., and Deng, Z.Y. (2012). Stereospecific analysis of triacylglycerol and phospholipid fractions of five wild freshwater fish from Poyang lake. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 60. Issue 7. 1857-1864.
- Li-Chan, E. (2010). Introduction to vibrational spectroscopy in food science. In: Li-Chan E., Chalmers J.M. and Griffiths P. (eds.), Applications of vibrational spectroscopy in food science, Vol I: Instrumentation and fundamental applications (pp. 4-10). John Wiley & Sons: West Sussex, United Kingdom.
- Li-Chan, E. (1996). The applications of Raman spectroscopy in food science. Trends Journal of Food Science and Technology. Vol 7. 361-370.
- Li-Chan, E., Nakai, S., and Hirotsuka, M. (1994). Raman spectroscopy as a probe of protein structure in food systems. In: Yada, R.Y., Jackman, R.L., and Smith, J.L. (eds.), Protein structure-function relationships in foods (pp. 163-197). Springer: Boston, MA.
- Lin, D. and Morrissey, M.T. (1994). Iced storage characteristics of Northern squawfish (*Ptychocheilus oregonensis*). Journal of Aquatic Food Product Technology. Vol 3. Issue 2. 25-43.
- Lin, D. and Morrissey, M. (1995). Northern squawfish (*Ptychocheilus oregonensis*) for surimi production. Journal of Food Science. Vol 60. 1245-1247.
- Liu, H., Yin, L., Zhang, N., Li, S., and Ma, C. (2008). Isolation of cathepsin B from the muscle of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and comparison of cathepsins B and L actions on surimi gel softening. Food Chemistry. Vol 110. Issue 2. 310-318.
- Liu, H., Yin, L., Zhang, N., Li, S., and Ma, C. (2006). Purification and characterization of cathepsin L from the muscle of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 54. 9584-9591.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry. Vol 193. 265-275.
- Luo, Y.K., Kuwahara, R., Kaneniwa, M., Murata, Y., and Yokoyama, M. (2001). Comparison of gel properties of surimi from Alaska pollock and three freshwater fish species:

- effects of thermal processing and protein concentration. Journal of Food Science. Vol 66. Issue 4. 548-554.
- Luo, Y., Shen, H., Pan, D., and Bu, G., (2008). Gel properties of surimi from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) as affected by heat treatment and soy protein isolate. Food Hydrocolloids. Vol 22. 1513-1519.
- Luzia, L. (2003). The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. Food Chemistry. Vol 83. Issue 1. 93-97.
- MacDonald, G., Lelievre, J., and Wilson, N. (1990). Strength of gels prepared from washed and unwashed minces of hoki (*Macruronus novaezelandiae*) stored in ice. Journal of food science. Vol 55. Issue 4. 976-978.
- Marquardt, B.J., and Wold, J.P. (2004). Raman analysis of fish: a potential method for rapid quality screening. LWT-Food Science and Technology. Vol 37. Issue 1. ISSN 00236438.
- Martín-Sánchez, A., Navarro, C., Pérez-Álvarez, J., and Kuri, V. (2009). Alternatives for efficient and sustainable production of surimi: a review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol 8. Issue 4. 359-374.
- Medina, I., Undeland, I., Larsson, K., Storror, I., Rustad, T., Jacobsen, C., Kristinová, V., and Gallardo, J.M. (2012). Activity of caffeic acid in different fish lipid matrices: A review. Food Chemistry. Vol 131. Issue 3. 730-740.
- Mehta, N.K., Elavarasan, K., Reddy, A.M., and Shamasundar, B. (2014). Effect of ice storage on the functional properties of proteins from a few species of fresh water fish (Indian major carps) with special emphasis on gel forming ability. Journal of Food Science and Technology. Vol 51. 655-663.
- Miyasaki, T., Hamaguchi, M., and Yokoyama, S. (2011). Change of volatile compounds in fresh fish meat during ice storage. Journal of food science. Vol 76. Issue 9. C1319-C1325.
- Moosavi-Nasab, M. (2003). Protein structural changes during preparation and storage of surimi, (Ph.D. dissertation). McGill University, Montréal, Canada.
- Moosavi-Nasab, M., Alli, I., Ismail, A.A., and Ngadi, M.O. (2005). Protein structural changes during preparation and storage of surimi. Journal of food science. Vol 70. Issue 7. c448-c453.

- Moradi, Y., Bakar, J., Motalebi, A., Syed Muhamad, S., and Che Man, Y. (2011). A review on fish lipid: composition and changes during cooking methods. Journal of Aquatic Food Product Technology. Vol 20. Issue 4. 379-390.
- Nawar, W.W. (1996). Lipids. In: Fennema O.R. (ed.), Food chemistry, 3rd ed., (pp. 225-319). Marcel Dekker: New York, NY.
- Nopianti, R., Huda, N., and Ismail, N. (2010). Loss of functional properties of proteins during frozen storage and improvement of gel-forming properties of surimi. Asian Journal of Food and Agro-Industry. Vol 3. Issue 6. 535-547.
- Ocaño-Higuera, V.M., Marquez-Ríos, E., Canizales-Dávila, M., Castillo-Yáñez, F.J., Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sánchez, M.E., García-Orozco, K.D., and Graciano-Verdugo, A.Z. (2009). Postmortem changes in cazon fish muscle stored on ice. Food Chemistry. Vol 116. Issue 4. 933-938.
- Ohshima, T., Fujita, Y., and Koizumi, C. (1993). Oxidative stability of sardine and mackerel lipids with reference to synergism between phospholipids and α -tocopherol. Journal of the American Oil Chemists' Society. Vol 70. Issue 3. 269-276.
- Özoğul, Y., Boğa, E. K., Tokur, B., and Özoğul, F. (2011). Changes in biochemical, sensory and microbiological quality indices of Common Sole (*Solea solea*) from the Mediterranean Sea, during ice storage. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol 11. Issue 2. 243-251.
- Özogul, Y. and Özogul, F. (2001). Degradation products of adenine nucleotide in rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*) stored in ice and in modified atmosphere packaging. Turkish Journal of Zoology. Vol 26. 127-130.
- Özogul, Y., Özogul, F., and Alagoz, S. (2007). Fatty acid profiles and fat contents of commercially important seawater and freshwater fish species of Turkey: A comparative study. Food Chemistry. Vol 103. Issue 1. 217-223.
- Özogul, Y., Özogul, F., Kuley, E., Özkutuk, A.S., Gökbulut, C. and Köse, S. (2006). Biochemical, sensory and microbiological attributes of wild turbot (*Scophthalmus maximus*), from the Black sea, during chilled storage. Food Chemistry. Vol 99. 752-758.
- Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sánchez, M., and Robles-Burgueño, M. (2000). Postmortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0°C. Journal of Food Science. Vol 65. 40-47.

- Pacheco-Aguilar, R., Crawford, D.L., and Lampila, L.E. (1989). Procedures for the efficient washing of minced whiting (*Merluccius productus*) flesh for surimi production. Journal of Food Science. Vol 54. Issue 2. 248-252.
- Park, J.W., Graves, D., Draves, R., and Yongsawatdigul, J. (2013). Manufacture of Surimi. In: Jae W.P. (ed.), Surimi and surimi seafood, 3rd ed., (pp. 55-97). CRC Press: Boca Raton, FL.
- Park, J.W., and Morrissey, M.T. (2000). Manufacturing of surimi from light muscle fish. In: Jae W.P. (ed.), Surimi and Surimi Seafood (pp. 23-58). Marcel Dekker, New York: NY.
- Park, J.W., Nozaki, H., Suzuki, T., and Beliveau, J. (2013). Historical review of Surimi technology and market developments. In: Jae W.P. (ed.), Surimi and Surimi Seafood, 3rd ed., (pp. 3-24). CRC Press: Boca Raton, FL.
- Pelton, J.T., and McLean, L.R. (2000). Spectroscopic methods for analysis of protein secondary structure. Analytical Biochemistry. Vol 277. Issue 2. 167-176.
- Phatcharat, S., Benjakul, S. and Visessanguan, W. (2006). Effects of washing with oxidising agents on the gel-forming ability and physicochemical properties of surimi produced from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). Food Chemistry. Vol 98. 431-439.
- Puchała, R., Białowas, H., and Pilarczyk, M. (2005). Influence of cold and frozen storage on carp (*Cyprinus carpio*) flesh quality. Polish journal of food and nutrition sciences. Vol 14. Issue 55. 103-106.
- Raghavan, S., Kristinsson, H.G., and Leeuwenburgh, C. (2008). Radical scavenging and reducing ability of tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein hydrolysates. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 56. Issue 21. 10359-10367.
- Ramírez, J.A., Santos, I.A., Morales, O.G., Morrissey, M.T., and Vázquez, M. (2000). Application of microbial transglutaminase to improve mechanical properties of surimi from silver carp. Cienc Technol Aliment. Vol 3. 21-28.
- Rehbein, H. and Oehlenschläger, J. (2009). Basic facts and figures. In: H. Rehbein and J. Oehlenschläger (eds.), Fishery products: Quality, safety and authenticity (pp. 1-15). Blackwell: Oxford, United Kingdom.

- Rezaei, M. and Hosseini, S. (2008). Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. Journal of food science. Vol 73. Issue 6. H93-H96.
- Rhee, K.S., Cho, S.H., Kim, J.O., and Kim, M.N. (1998). Lipid classes, fatty acids, flavor and storage stability of washed sheep meat. Journal of Food Science. Vol 63. Issue 1. 168-172.
- Ross, C.F. and Smith, D.M. (2006). Use of volatiles as indicators of lipid oxidation in muscle foods. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol 5. Issue 1. 18-25.
- Saeed, S. and Howell, N.K. (2002). Effect of lipid oxidation and frozen storage on muscle proteins of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol 82. Issue 5. 579-586.
- Saito, T., Araki, K., and Matsuyoshi, M. (1959). A new method for the estimating the freshness of fish. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. Vol 24. 749-750.
- Saito, H., Yamashiro, R., Alsalvar, C., and Konno., T. (1999). Influence of diet on fatty acids of three subtropical fish, subfamily caesioninae (*Caesio diagrama* and *C. tile*) and family siganidae (*Siganus canaliculatus*). Lipids. Vol 34. 1073-1082.
- Sánchez-Alonso, I., Carmona, P., and Careche, M. (2012). Vibrational spectroscopic analysis of hake (*Merluccius merluccius L.*) lipids during frozen storage. Food Chemistry. Vol 132. Issue 1. 160-167.
- Sargent, J.R., Bell, J.G., Bell, M.V., Henderson, R.J., and Tocher, D.R. (1995). Requirements criteria for essential fatty acids. Journal of Applied Ichthyology. Vol 11. 183-198.
- Sarkardei, S. and Howell, N.K. (2007). The effects of freeze-drying and storage on the FT-Raman spectra of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) and horse mackerel (*Trachurus trachurus*). Food Chemistry. Vol 103. Issue 1. 62-70.
- Shao, J.H., Zou, Y.F., Xu, X.L., Wu, J.Q., and Zhou, G.H. (2011). Evaluation of structural changes in raw and heated meat batters prepared with different lipids using Raman spectroscopy. Food Research International. Vol 44. 2955-2961.
- Šimat, V., Bogdanović, T., Poljak, V., and Petričević, S. (2015). Changes in fatty acid composition, atherogenic and thrombogenic health lipid indices and lipid

- stability of bogue (*Boops boops* *Linnaeus*, 1758) during storage on ice: Effect of fish farming activities. Journal of Food Composition and Analysis. Vol 40. 120-125.
- Sinelli, N., Cosio, M.S., Gigliotti, C., and Casiraghi, E. (2007). Preliminary study on application of mid infrared spectroscopy for the evaluation of the virgin olive oil "freshness." Analytica Chimica Acta. Vol 598. Issue 1. 128-134.
- Sohn, J.H., Taki, Y., Ushio, H., Kohata, T., Shioya, I., and Ohshima, T. (2005). Lipid Oxidations in ordinary and dark muscles of fish: Influences on rancid off-odor development and color darkening of Yellowtail flesh during ilce storage. Journal of food science. Vol 70. Issue 7. s490-s496.
- Soncin, S., Chiesa, L. M., Panseri, S., Biondi, P., and Cantoni C. (2009). Determination of volatile compounds of precooked prawn (*Penaeus vannamei*) and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice as possible spoilage markers using solid phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol 89. 436-442.
- Srinivasan, S., Xiong, Y. L., and Decker, E. A. (1996). Inhibition of protein and lipid oxidation in beef heart surimi-like material by antioxidants and combinations of pH, NaCl, and buffer type in the washing media. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 44. Issue 1. 119-125.
- Sultanbawa, Y. and Li-Chan, E. C. (2001). Structural changes in natural actomyosin and surimi from ling cod (*Ophiodon elongatus*) during frozen storage in the absence or presence of cryoprotectants. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 49. Issue 10. 4716-4725.
- Sun, W., Zhou, F., Zhao, M., Yang, B., and Cui, C. (2011). Physicochemical changes of myofibrillar proteins during processing of Cantonese sausage in relation to their aggregation behaviour and *in vitro* digestibility. Food Chemistry. Vol 129. Issue 2. 472-478.
- Tanakol, R., Yazici, Z., Sener, E., and Sencer, E. (1999). Fatty acid composition of 19 species of fish from the black sea and the marmara Sea. Lipids. Vol 34. Issue 3. 291-297.
- Tejada, M. (2009). ATP-Derived Products and K-Value Determination. Wiley-Blackwell: Chichester, United Kingdom.

- Thiansilakul, Y., Benjakul, S., and Richards, M.P. (2010). Changes in heme proteins and lipids associated with off-odour of seabass (*Lates calcarifer*) and red tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) during iced storage. Food Chemistry. Vol 121. Issue 4. 1109-1119.
- Thilakarathne, L. and Attygalle, M. (2009). Lipid composition of skin and muscle of the Indo-Pacific sailfish, *Istiophorus platypterus*. Vidyodaya Journal of Science. Vol 14. Issue 1. 161-166.
- Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T., and Songtipya, P. (2011) Characteristics of film based on protein isolate from red tilapia muscle with negligible yellow discoloration. International Journal of Biological Macromolecules. Vol 48. 758-767.
- Uysal, R.S., Montes Yilmaz, O., and Boyaci, I.H. (2019). Determination of liquid egg composition using attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics. Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol 99. 3572-3577.
- Venugopal, V. (2008). Marine products for healthcare: functional and bioactive nutraceutical compounds from the ocean. CRC press: Boca Raton, FL.
- Weng, W. and Zheng, W. (2015). Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) surimi acid-induced gel extract characteristics: a comparison with heat-induced gel. International Journal of Food Properties. Vol 18. Issue 4. 821-832.
- Wierda, R.L., Fletcher, G., Xu, L., and Dufour, J.P. (2006). Analysis of volatile compounds as spoilage indicators in fresh king salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) during storage using SPME-GC-MS. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 54. Issue 22. 8480-8490.
- Wimmer, M.P., Sebranek, J., and McKeith, F. (1993). Washed mechanically separated pork as a surimi-like meat product ingredient. Journal of Food Science. Vol 58. 254-258.
- Wongwichian, C., Klomklao, S., Panpipat, W., Benjakul, S., and Chaijan, M. (2015). Interrelationship between myoglobin and lipid oxidations in oxeye scad (*Selar boops*) muscle during iced storage. Food Chemistry. Vol 174. 279-285.
- Woyewoda, A.D. (1986). Recommended Laboratory Methods for Assessment of Fish Quality. Fisheries and Oceans. Canada.

- Xiong, Y.L. (2000). Protein oxidation and implications for muscle food quality. Antioxidants in muscle foods: nutritional strategies to improve quality. Wiley and Sons: New York, NY.
- Xiong, G., Cheng, W., Ye, L., Du, X., Zhou, M., Lin, R., Geng, S., Chen, M., Corke, H., and Cai, Y.Z. (2009). Effects of konjac glucomannan on physicochemical properties of myofibrillar protein and surimi gels from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Food Chemistry. Vol 116. Issue 2. 413-418.
- Yathavamoorthi, R., Sankar, T.V., and Ravishankar, C.N. (2010). Effect of ice storage and washing on the protein constituents and textural properties of surimi from *Labeo calbasu* (Hamilton, 1822). Indian Journal of Fisheries. Vol 54. 85-91.
- Yean, Y.S. (1993). The quality of surimi made from Threadfin bream stored on ice for different periods. International journal of food science & technology. Vol 28. Issue 4. 343-346.
- Yongswawatdigul, J. And Park, J. (2002). Biochemical and conformation changes of actomyosin from threadfin bream stored in ice. Journal of food science. Vol 67. Issue 3. 985-990.
- Yongsawatdigul, J. and Piyadhamviboon, P. (2004). Inhibition of autolytic activity of lizardfish surimi by proteinase inhibitors. Food Chemistry. Vol 87. 447-455.

ประวัติผู้วิจัย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1. หัวหน้าโครงการวิจัย

1.1 ชื่อ รองศาสตราจารย์ ดร. จิรวัดน์ ยงสวัสดิกุล (Assoc. Prof. Dr. Jirawat Yongsawatdigul)

1.2 หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก:

สาขาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เลขที่ 111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

โทร 044-22-4359 โทรสาร 044-22-4387

E-mail: jirawat@sut.ac.th

1.3 ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา (สาขาวิชา)	วิชาเอก	สถาบันศึกษา	ประเทศ
2539	Ph.D. (Food Science and Technology)	Seafood chemistry	Oregon State University	อเมริกา
2535	M.S. (Food Science)	Food processing	University of Wisconsin-Madison	อเมริกา
2532	วท.บ. (วิทยาศาสตร์บัณฑิต)	เทคโนโลยีอาหาร	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย

1.4 สาขาวิชาการที่มีความชำนาญการพิเศษ

- โปรตีน เพปไทด์ และเอนไซม์สำหรับเทคโนโลยีการอาหาร
- การใช้ประโยชน์จากวัสดุชีวภาพเหลือทิ้งจากฟาร์ม-อุตสาหกรรม เพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพมูลค่าสูง
- การใช้ประโยชน์จากกล้าเชื้อจุลินทรีย์ในการหมักโปรตีน
- วิทยาศาสตร์ทางด้านโปรตีนหลังการเก็บเกี่ยวในระดับโมเลกุล
- กระบวนการแปรรูปและคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากโปรตีนปลา

1.5 ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยและงานวิจัย

1.5.1 หัวหน้าโครงการวิจัย: จำนวน 50 โครงการ

1.5.2 สิทธิบัตรที่ยื่นจดทะเบียนในประเทศไทย: จำนวน 1 สิทธิบัตร

1.5.3 ผลงานวิจัยที่ได้พิมพ์เผยแพร่

- ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ

วารสารระดับชาติ 2 เรื่อง และวารสารระดับนานาชาติ 108 เรื่อง

2. ผู้ร่วมวิจัย

2.1 ชื่อ ดร. กาญจนา ธรรมนุ (Dr. Kanjana Thumanu)

2.2 หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก:

สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เลขที่ 111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง

จังหวัดนครราชสีมา 30000 โทร: 044-217040 ต่อ 1487 โทรสาร: 044-217047

E-mail: kthumanu@gmail.com, kanjanat@sri.or.th

2.3 ประวัติการศึกษา:

ปีที่จบ	ระดับปริญญา (สาขาวิชา)	วิชาเอก	สถาบันศึกษา	ประเทศ
2546	Ph.D. (Biochemistry)	Biochemistry	University of Birmingham	อังกฤษ
2537	วท.ม. (วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต)	เทคโนโลยีชีวภาพ	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ไทย
2533	วท.บ. (วิทยาศาสตรบัณฑิต)	เทคโนโลยีชีวภาพ	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	ไทย

2.4 สาขาวิชาการที่มีความชำนาญการพิเศษ

- Synchrotron Infrared spectroscopy and IR microspectroscopy with Multivariate analysis
- IR imaging with cluster analysis
- Enzyme mechanisms/ Protein folding
- Stopped flow apparatus with FTIR spectroscopy
- Antibiotic resistance
- Cell signaling

2.5 ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยและงานวิจัย

ผลงานวิจัยที่ได้พิมพ์เผยแพร่

- ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการวารสารระดับนานาชาติ 61 เรื่อง (ค.ศ. 2003-2020)