สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

2(2).

คุณภาพของเนื้อกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเกลือแร่ภายใต้ความเค็มน้ำ 4 ระดับ

Meat Quality of Black Tiger Prawn (*Penaeus monodon*) Reared with Mineral Supplemented Diet under 4 Levels of Salinity

29 พ.ย. 2549
214201
BK0096606

อรสา สุริยาพันธ์ [1] บุญรัตน์ ประทุมชาติ [2] และ พิทักษ์ สูตรอนันต์ [3]

[1] ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี

[2] ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี

[3] ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี

เริ่มบริการ
25 เม.ย. 2550

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์หลักของงานวิจัย คือ ศึกษาอิทธิพลของสภาวะในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่มีต่อคุณภาพของเนื้อกุ้งที่เก็บในสภาวะเยือกแข็ง (-18 °C, 7 เดือน) โดยกำหนดตัวแปรในขั้นการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ 2 ตัวแปร คือ ปริมาณของแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป 3 ระดับ (0 , 1 และ 3%) และความเค็มของน้ำที่เลี้ยงกุ้ง 3 ระดับ (10, 20 และ 30 ppt.) การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของเนื้อกุ้ง 9 กลุ่มทดลอง แสดงว่า เนื้อกุ้งทุกชุดทดลองมีองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกัน คือ ปริมาณความชื้น (78.21-82.29%) ปริมาณโปรตีน (13.81-18.61%) และปริมาณไขมัน (0.22-0.73%) ผลการวัดค่าความแน่นเนื้อของเนื้อกุ้งด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (TA-XT2, Flat cylinder P/6) แสดงว่า ระดับความเค็มของน้ำที่เลี้ยงกุ้งมีผลต่อค่าความแน่นเนื้อของกุ้ง($p < 0.05$) โดยเนื้อของกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มของน้ำ 30 ppt. มีค่าฉลี่ยของความแน่นเนื้อเ (54.73 นิวตัน) สูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 10 ppt. ซึ่งมีค่าเฉลี่ยความแน่นเนื้อ (38.47 นิวตัน) แต่อย่างไรก็ตามไม่พบว่าสภาวะในการเลี้ยงมีผลต่อค่าความเหนียวของเนื้อกุ้ง เมื่อลวกเนื้อกุ้งในน้ำเดือดเป็นเวลา 45 วินาที พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเค็มของน้ำและปริมาณแร่ธาตุในอาหารที่เลี้ยงกุ้ง มีผลต่อค่าการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อกุ้งเนื่องจากการได้รับความร้อน ($p < 0.05$) โดยกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 10 ppt. และมีปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูปเป็น 3% มีค่าการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อกุ้งเนื่องจากการได้รับความร้อนเพิ่มขึ้น (2 เท่า) เมื่อเทียบกับกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมแร่ธาตุ จากการวัดค่าเนื้อสัมผัสของเนื้อกุ้งต้มสุก(TA-XT2, Flat cylinder P/50) พบว่าระดับความเค็มของน้ำและปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยงไม่มีผลต่อค่าเนื้อสัมผัสของเนื้อกุ้งต้มสุก ในด้านค่าความแข็ง (Hardness, 96-129 นิวตัน) , ค่าความแตกเปราะ (Fracturability, 83-108 นิวตัน) และค่าการตอบสนองการเคี้ยว (Chewiness, 43-61 นิวตัน) ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาของเนื้อกุ้งต้มสุกด้วยวิธี Quantitative Descriptive Analysis (QDA) และการยอมรับด้วยวิธี 9-point Hedonic scale กลุ่มผู้ทดสอบให้ความเห็นว่าตัวอย่างเนื้อกุ้งต้มสุกไม่มีความแตกต่างของลักษณะทางประสาทสัมผัส ในด้านสีแดง, กลิ่น, รสชาติ, กลิ่นรส และเนื้อสัมผัส และ พบว่ากลุ่มผู้ทดสอบให้ความยอมรับในตัวอย่างกุ้งที่ทดสอบในระดับชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง

Abstract

The main purpose of this study was to investigate the effects of supplementary mineral content in feed (0, 1 and 3%) and salinity levels of water (10 , 20 and 30 ppt.) on chemical properties and sensory attributes of frozen black tiger prawn. Control group was prawns raised under optimum level of salinity (20 ppt.) and fed with normal diet (0% mineral). All prawns (9 treatment groups) were kept at -20 $^{\circ}$C for 7 months prior to analysis. Based on approximate analysis, there was no significant difference in moisture content (78.21-82.29%), protein content (13.81-18.61%) and lipid content (0.22-0.73%) of prawns raised in different cultivation conditions. Texture Data (TA-XT2) revealed that salinity of water statistically affected on firmness (Compression force, Flat cylinder P/6) of prawns ($p<0.05$). Prawns raised at 30 ppt. of salinity were firmer than those raised at lower salinity (10 ppt.). Nonetheless, no difference was found in toughness (Shear force, Warner-Bratzler blade). After cooking in boiling water for 45 seconds, all cooked prawns lost their weight about 7-19%. In addition, it was found that there was an interaction between supplementary mineral content in feed and salinity of water on cooking loss ($p<0.05$) . Without mineral supplemented diet, prawns raised at 30 ppt. possessed higher cooking loss than those raised at 10 ppt ($p<0.05$). However, at lowest salinity (10 ppt), the increase of mineral content in diet caused higher cooking loss of prawns. According to texture profile analysis (TA-XT2 , Flat cylinder P/50) , no difference was found in hardness (96-129 N), fracturability (83-108 N), and chewiness (43-61 N) among cooked prawns. Trained panelists (n=8) performed descriptive test (Quantitative Descriptive Analysis, 15 attributes) and preference test (9-point Hedonic scale test) on cooked prawns. The panel concluded that all cooked Black Tiger prawns possessed similar sensory profiles such as redness, odor, taste, flavor and texture. Furthermore, the panelists had no difference on overall liking on cooked prawns.

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญภาพ ..... ญ
บทที่
1. บทนำ 1
1.1 ความสำคัญของปัญหา 2
1.2 วัตถุประสงค์ 2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
2. การตรวจเอกสาร 3
2.1 กุ้งกุลาดำ 3
2.2 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของสัตว์น้ำ 4
2.3 กุ้งแช่เยือกแข็ง 6
2.4 วิธีการถนอมอาหารโดยการแช่แข็ง 6
2.5 การเปลี่ยนแปลงที่มีผลกระทบต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำเยือกแข็ง 7
2.6 การตรวจสอบและวิเคราะห์คุณภาพเนื้อสัมผัสของกุ้งเยือกแข็ง 11
2.7 หลักการพื้นฐานของอิเล็กโทรโฟรีซิส 12
2.7.1 ทฤษฎีของอิเล็กโทรโฟรีซิส 12
2.7.2 อิเล็กโทรโฟรีซิสแบบพอลิอะคริลาไมด์เจล 12
2.7.3 อิเล็กโทรโฟรีซิสแบบเสียสภาพธรรมชาติ 13
2.7.4 อิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไม่ต่อเนื่อง 14
3. วิธีการดำเนินการทดลอง 16
3.1 วัตถุดิบ 16
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ 16

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่

3.3 สารเคมี..... 17

3.4 ขั้นตอนการดำเนินการทดลอง..... 18

3.4.1 การศึกษาลักษณะของกุ้งกุลาดำที่ใช้ในการทดลอง..... 18

3.4.2 การศึกษาลักษณะทั่วไปของเนื้อกุ้งกุลาดำ..... 18

3.4.3 การศึกษาคุณภาพของเนื้อกุ้งกุลาดำที่เก็บแบบเยือกแข็ง..... 19

3.4.4 การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี (muscle chemistry) ของกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำเยือกแข็ง..... 20

3.4.5 การศึกษาความแข็งแรงของโครงสร้าง (muscle integrity) ของกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำเยือกแข็ง..... 22

3.4.6 การศึกษาปริมาณการสูญเสียน้ำหนักจากการทำให้สุกของเนื้อกุ้งกุลาดำ..... 23

3.4.7 การวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุก..... 23

4. ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 25

4.1 ผลการศึกษาลักษณะของกุ้งกุลาดำที่ใช้ในการทดลอง..... 25

4.2 ผลการศึกษาลักษณะทั่วไปของเนื้อกุ้งกุลาดำ..... 28

4.3 ผลการศึกษาคุณภาพของเนื้อกุ้งกุลาดำที่เก็บแบบเยือกแข็ง..... 31

4.4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี (muscle chemistry) ของกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำเยือกแข็ง..... 32

4.5 ผลการศึกษาความแข็งแรงของโครงสร้าง (muscle integrity) ของกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำเยือกแข็ง..... 42

4.6 ผลการศึกษาปริมาณการสูญเสียน้ำหนักจากการทำให้สุกของเนื้อกุ้งกุลาดำ..... 43

4.7 ผลการวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุก..... 44

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่

5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 54

เอกสารอ้างอิง..... 55

ภาคผนวก..... 57

ภาคผนวก ก..... 58

ภาคผนวก ข..... 59

ภาคผนวก ค..... 62

ภาคผนวก ง..... 69

ภาคผนวก จ..... 71

ภาคผนวก ฉ..... 74

ภาคผนวก ช..... 76

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

3.1 การเตรียม 12.5% เซเปเรติงเจล และ 3.9% สแตคกิงเจล..... 22
4.1 ค่าความยาวเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ..... 27
4.2 ค่าน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ 27
4.3 ค่าน้ำหนักเฉลี่ยของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ..... 30
4.4 ค่าเฉลี่ยความหนาที่ตำแหน่งปล้องที่สามของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ..... 30
4.5 องค์ประกอบโดยประมาณของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ..... 31
4.6 ค่า pH ของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ..... 32
4.7 ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในน้ำของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารที่ไม่เสริมแร่ธาตุและความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ..... 33
4.8 ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในน้ำของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารที่เสริมแร่ธาตุ 1% และความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ 34
4.9 ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในน้ำของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารที่เสริมแร่ธาตุ 3% และความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ..... 34
4.10 ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารที่ไม่เสริมแร่ธาตุ และความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ..... 35

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

4.11 ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารที่เสริมแร่ธาตุ 1% และความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ..... 35

4.12 ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารที่เสริมแร่ธาตุ3% และความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ..... 36

4.13 ปริมาณของ myosin heavy chain (MHC) ของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารที่ไม่เสริมแร่ธาตุ และความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ..... 40

4.14 ปริมาณของ myosin heavy chain (MHC) ของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารที่เสริมแร่ธาตุ 1% และความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ..... 41

4.15 ปริมาณของ myosin heavy chain (MHC) ของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารที่เสริมแร่ธาตุ 3% และความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ..... 41

4.16 ค่าเฉลี่ยความแน่นเนื้อของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำและปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ..... 42

4.17 ค่าเฉลี่ยความเหนียวของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำและปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ..... 43

4.18 ค่าเฉลี่ยปริมาณการสูญเสียจากการทำให้สุกของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ..... 44

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

4.19 คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของกุ้งกุลาดำต้มสุกที่ผ่านการเก็บแบบแช่เยือกแข็ง โดยวิธี Hedonic scale 47

4.20 คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของกุ้งกุลาดำต้มสุกที่ผ่านการเก็บแบบแช่เยือกแข็ง โดยวิธี QDA..... 48

4.15 ลักษณะทางประสาทสัมผัส ความหมายและสารมาตรฐานของลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุก..... 49

4.16 ค่าเฉลี่ยความแข็ง (hardness) ของเนื้อกุ้งกุลาดำที่วัดด้วยหัววัดแบบทรงกระบอกที่เส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิลิตร (P/50) จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ 51

4.17 ค่าเฉลี่ยความการ cutting ของเนื้อกุ้งกุลาดำที่วัดด้วยหัววัด Warner- Bratzler blade จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ..... 52

4.18 ค่าเฉลี่ยความแตกเปราะ (Fracturability) ของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ..... 52

4.19 ค่าเฉลี่ยการตอบสนองต่อการเคี้ยว (Chewiness)ของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ..... 53

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

4.1 ลักษณะปรากฏของกุ้งกุลาดำ 9 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยความเค็มของน้ำ 3 ระดับ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป 3 ระดับ..... 26
4.2 ลักษณะปรากฏหลังปอกเปลือกของเนื้อกุ้งกุลาดำ 9 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยความเค็มของน้ำ 3 ระดับ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป 3 ระดับ..... 29
4.3 แสดงแถบโปรตีนของเนื้อกุ้งที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 10 ppt..... 37
4.4 แสดงแถบโปรตีนของเนื้อกุ้งที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 20 ppt..... 38
4.5 แสดงแถบโปรตีนของเนื้อกุ้งที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 30 ppt..... 39
4.6 ลักษณะปรากฏของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุก 9 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยความเค็มของน้ำ 3 ระดับ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป 3 ระดับ..... 45

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

กุ้งกุลาดำเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศอย่างยิ่ง ดังเห็นได้จากในปี 2543 ประเทศไทยส่งออกกุ้งกุลาดำแช่แข็ง แช่เย็นและผลิตภัณฑ์จากกุ้งกุลาดำมีมูลค่าโดยรวมประมาณหนึ่งแสนล้านบาท กุ้งกุลาดำจัดเป็นอาหารทะเลที่มีมูลค่าสูงและเป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศ โดยเฉพาะสหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น และสหภาพยุโรป ในแต่ละปีตลาดโลกมีความต้องการกุ้งทะเลประมาณปีละหนึ่งล้านตัน ดังนั้นเพื่อเป็นการรองรับการขยายตัวของตลาด และหลีกเลี่ยงมลภาวะทางน้ำ รวมทั้งป้องกันการระบาดของโรคกุ้งจากบริเวณชายฝั่ง การเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทยจึงได้มีการขยายพื้นที่เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำในพื้นที่น้ำจืด เช่น นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี และฉะเชิงเทรา เป็นต้น ซึ่งพบว่ามีปัญหาในการเลี้ยงหลายประการ เช่น การเจริญเติบโตช้า และการมีความแตกต่างของขนาดของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในรุ่นเดียวกัน กุ้งมีลักษณะการลอกคราบที่ไม่สมบูรณ์ กุ้งนิ่ม เป็นต้น ทำให้ผลผลิตต่อไร่โดยรวมต่ำกว่าปกติ และเชื่อว่าน่าจะมีส่วนทำให้กุ้งมีสมบัติของเนื้อทางกายภาพและเคมีเปลี่ยนแปลงไปไม่มากก็น้อย อย่างไรก็ดีนักวิชาการได้มีความพยายามอย่างต่อเนื่องที่จะแก้ปัญหาดังกล่าวในเชิงการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มผลผลิต เป็นที่ทราบกันดีว่าคุณภาพของกุ้งกุลาดำเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ผู้นำเข้ากุ้งยังคงต้องการนำเข้ากุ้งจากประเทศไทย จึงเป็นเรื่องที่ภาครัฐต้องให้ความสนใจมากยิ่งขึ้นเมื่อพิจารณาในแง่การแข่งขันทางการตลาดซึ่งนับวันจะมีการแข่งขันกันสูงมากขึ้นเป็นลำดับ การส่งออกผลิตภัณฑ์จากกุ้งกุลาดำจากประเทศไทย ในปัจจุบัน อาจกล่าวได้ว่า ประมาณร้อยละ 80 เป็นกุ้งสดแช่เย็นแช่แข็ง ในรูปกุ้งชนิดไม่เด็ดหัวไม่ปอกเปลือก กุ้งเด็ดหัวแต่ไม่ปอกเปลือก กุ้งเด็ดหัวปอกเปลือกไม่ไว้หางและผ่าหลังเอาไส้ออก กุ้งเด็ดหัวปอกเปลือกไม่ไว้หางและไม่ผ่าหลัง กุ้งเด็ดหัวปอกเปลือกไว้หางและผ่าหลังเอาไส้ออก กุ้งเด็ดหัวปอกเปลือกไว้หางและไม่ผ่าหลัง เนื้อกุ้งเป็นชิ้น กุ้งชุบแป้ง กุ้งต้มสุกแช่เย็น กุ้งกระป๋อง เป็นต้น (กองเศรษฐกิจการประมง, 2542) ซึ่งจะเห็นได้ว่า ผลิตภัณฑ์จากกุ้งกุลาดำส่งออกเน้นการเก็บรักษาคุณภาพของเนื้อกุ้งสดโดยการแช่เย็นหรือแช่เยือกแข็ง และนิยมให้กุ้งผ่านการตกแต่งให้อยู่ในรูปที่ผู้ซื้อสะดวกในการนำไปใช้ตามลักษณะของผลิตภัณฑ์แต่ละประเภท ก่อนนำกุ้งมาแช่เย็นแช่แข็งหรือผ่านการให้ความร้อน เป็นที่ทราบกันดีว่าในอุตสาหกรรมอาหารทะเลว่า ผลผลิต และ

คุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแช่เย็นแช่เยือกแข็งมีความสัมพันธ์กับคุณภาพของกล้ามเนื้อของสัตว์ทะเลที่ใช้เป็นวัตถุเริ่มต้นเป็นอย่างยิ่ง (Ando et al., 1999; Sigholt et al., 1997)

ในปี 2545 ภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ได้ดำเนินการวิจัยเพื่อหาแนวทางการแก้ไขด้านการเลี้ยงกุ้งกุลาดำเพื่อหาคำตอบถึงความจำเป็นของการใช้เกลือแร่เสริมในอาหารเพื่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในที่ระดับความเค็มต่างกันโดยใช้ผลผลิตและการเปลี่ยนแปลงทางสรีระเคมีในร่างกายกุ้งกุลาดำเป็นดัชนีชี้วัด (บุญรัตน์ ประทุมชาติและคณะ, 2545) อย่างไรก็ตาม จากการตรวจเอกสารเบื้องต้น คณะผู้วิจัยยังไม่พบว่ามีการศึกษาผลต่อเนื่องที่เชื่อมโยงจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในเชิงคุณภาพของผลผลิตทางการเกษตรที่ได้จากการพัฒนาเทคโนโลยีด้านการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย กับข้อมูลในด้านคุณภาพของเนื้อกุ้งกุลาดำ ในด้านเคมี- กายภาพ และโดยเฉพาะอย่างยิ่งทางด้านประสาทสัมผัสของกุ้งกุลาดำที่ผ่านการให้ความร้อนพร้อมนำมาบริโภค

ดังนั้นการขาดความรู้และความเข้าใจอันดีเกี่ยวกับผลของการเลี้ยงกุ้งกุลาดำภายใต้อาหารเสริมเกลือแร่และน้ำความเค็มต่ำ ต่อคุณภาพด้านเคมี-กายภาพ ของเนื้อกุ้งกุลาดำเมื่อสด และคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำเมื่อผ่านการให้ความร้อนจนสุก มีโอกาสก่อให้เกิดอุปสรรคต่อการพัฒนาเทคโนโลยีของการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำและการขยายตัวของอุตสาหกรรมอาหารทะเลของประเทศได้ จึงควรที่จะศึกษาวิจัยเพื่อเตรียมความพร้อมเพื่อสามารถแก้ปัญหาได้ทันเหตุการณ์

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูปและความเค็มของน้ำต่อคุณภาพด้านเคมี เคมีกายภาพและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำ

2. เพื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพของเนื้อกุ้งกุลาดำเยือกแข็งที่เลี้ยงภายใต้ความเค็มต่ำ (10-30 ppt.)และการเสริมแร่ธาตุในอาหารในระดับต่างๆ เมื่อเก็บรักษาในสภาวะเยือกแข็ง

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ข้อมูลเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างสภาวะในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำกับคุณภาพของเนื้อกุ้งกุลาดำ

2. ได้ข้อมูลเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพของการเก็บเนื้อกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็ง

3. การศึกษาวิจัยนี้เป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานของรัฐและเอกชน เช่น กรมประมง สถาบันอุดมศึกษาของรัฐ ผู้ประกอบการอุตสาหกรรมอาหารทะเลเพื่อการส่งออก

บทที่ 2

เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กุ้งกุลาดำ (กรมประมง, 2541)

2.1.1 ลักษณะทั่วไป

กุ้งกุลาดำมีชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า "Black Tiger prawn" และชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Penaeus monodon* จัดอยู่ในไฟลัมอาร์โทโปดา (Arthropoda) ชั้นครัสเตเซีย (Class Crustacea) กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งทะเลขนาดใหญ่ มีหนวด 2 คู่ ลำตัวยาวแบ่งเป็นข้อปล้องแยกออกได้เป็น 3 ส่วน คือ ส่วนหัว (head) ส่วนอก (thorax) ซึ่งมักจะรวมติดกันเรียกว่าส่วนหัวอก (Ceptalothorax) และส่วนลำตัว (abdomen) มีเปลือกหุ้มที่ส่วนหัว-อก เรียกว่าเปลือกคลุมหัว (Carapace)ระยางค์ของร่างกายแยกเป็น 2 แฉก มีระยางค์ทั้งหมด 19 คู่ อยู่ตามปล้องต่างๆ ปล้องละ 1 คู่ ที่ส่วนหัวมี 5 ปล้อง ระยางค์คู่ที่ 1-2 ทำหน้าที่รับความรู้สึกในระยะวัยอ่อน ระยางค์นี้จะไม่แยกเป็น 2 แฉก คู่ที่ 3,4,5 ทำหน้าที่ช่วยในการกินอาหาร ที่ส่วนอกมี 8 โดยระยางค์คู่ที่ 6,7,8 ช่วยในการกินอาหาร ระยางค์คู่ที่ 9-13 ทำหน้าที่เป็นขาเดิน ส่วนลำตัวมี 6 ปล้อง โดยระยางค์ 6 คู่ คู่ที่ 4-18 ทำหน้าที่ในการว่ายน้ำระยางค์คู่ที่ 19 ทำหน้าที่เหมือนหางเสือ กุ้งกุลาดำเคลื่อนที่โดยการยืดและงอตัว ส่วนเลือดในตัวกุ้งเป็นสีฟ้า ขณะมีชีวิตลำตัวจะเป็นสีน้ำเงินอมแดง มีแถบสีน้ำตาลหรือดำพาดขวางลำตัวเป็นปล้อง ๆ และโคนขาว่ายน้ำมีแถบสีเหลืองเป็นปล้องๆ เช่นกัน หนวดสีดำ ไม่มีลาย

2.1.2 ถิ่นอาศัย

กุ้งกุลาดำจัดเป็นพวกหากินกลางคืน ชอบอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีพื้นดินเป็นทรายปนโคลนหรือทรายปนเปลือกหอยและหินปะการัง สามารถปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดี กุ้งกุลาดำสามารถอยู่และเจริญเติบโตได้ดีในแหล่งน้ำกร่อย ในธรรมชาติพบแพร่กระจายอยู่ทั่วไป ในทวีปเอเชียโดยมีชุกชุมในประเทศไทย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย มาเลเซีย อินเดีย ออสเตรเลีย และไต้หวัน ประเทศไทยพบแพร่กระจายทั่วไปในอ่าวไทยแต่จะพบมากบริเวณเกาะช้าง บริเวณนอกฝั่งจังหวัดชุมพรถึงนครศรีธรรมราช ส่วนทางฝั่งมหาสมุทรอินเดีย (ทะเลอันดามัน) พบมากบริเวณจังหวัดภูเก็ตและระนอง

2.1.3 วงจรชีวิตของกุ้งกุลาดำ

แม่กุ้งวางไข่ในทะเลที่มีความเค็มสูงและลึกตั้งแต่ 10 เมตรขึ้นไป แม่กุ้งขนาดความยาวประมาณ 15-20 ซม. มีไข่จำนวน ห้าแสน-หนึ่งล้านฟอง ไข่ที่ได้รับการผสมพันธุ์แล้วจะจมลงสู่บริเวณหน้าดินและจะฟักออกเป็นตัวภายใน 14-15 ชั่วโมง ภายหลังจากวางไข่ กุ้งที่ออกเป็นตัวระยะแรกเรียกว่า นอเพลียส (Nauplius) ระยะที่ 2 เรียกโปรโตโซเอีย (Protozoea) ระยะที่ 3 ไมซีส (Mysis) ระยะที่ 4 โพสลาวา (Postlarva) กุ้งวัยอ่อนทั้ง 4 ระยะนี้จัดเป็นพวกแพลงค์ตอนลอยอยู่บริเวณผิวน้ำและเข้าไปสู่บริเวณชายฝั่ง หรือแม่น้ำลำคลองตามกระแสคลื่นลม ซึ่งจะใช้เวลาในการเจริญเติบโตประมาณ 10-12 วัน กุ้งซึ่งถูกพัดเข้าไปตามชายฝั่งจะเจริญเติบโตต่อไปเป็นกุ้งวัยรุ่นและโตเต็มวัยตามลำดับ กุ้งที่มีขนาดใหญ่เดินทางกลับออกสู่ทะเลลึกเพื่อทำการสืบพันธุ์ต่อไปเป็นวงจรชีวิตและที่เป็นเช่นนี้เพราะในแต่ละช่วงอายุของกุ้งมีความต้องการแตกต่างกัน คือ กุ้งโพสลาวาและกุ้งวัยรุ่นต้องการความเค็มต่ำเพื่อเลี้ยงตัว ส่วนกุ้งขนาดโตต้องการความเค็มสูงเพื่อสืบพันธุ์ กุ้งวัยอ่อนและกุ้งวัยรุ่นต้องการอาหารประเภทแพลงค์ตอนและอินทรีย์วัตถุที่เน่าเปื่อยผุพังซึ่งมีชุกชุมบริเวณชายฝั่งและปากแม่น้ำ กุ้งกุลาดำนี้ มีความอดทนและปรับตัวให้เข้ากับความเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและความเค็มของน้ำได้ดี คือจะไม่ตายง่ายในกรณีที่อุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไปสูงหรือต่ำอย่างรวดเร็ว หรือความเค็มของน้ำเพิ่มขึ้นหรือลดลงในทันที (สุวิทย์ ชื่นสินธุ์, 2531)

2.1.4 การกินอาหาร

การกินอาหารของกุ้งกุลาดำจะแตกต่างกันตามอายุ วิวัฒนาการของวัยอ่อนสมบูรณ์ที่สุดกินอาหารได้ทั้งพืชและสัตว์ทั้งที่ตายแล้วและยังมีชีวิตอยู่ พอจะแยกได้ดังนี้ ระยะนอเพลียส ระยะนี้จะมี yolk ติดอยู่จึงยังไม่กินอาหารภายนอก ระยะโปรโตซูเอีย เริ่มกินพืช แพลงต์ตอนขนาดเล็กเป็นอาหาร ปลายๆ ระยะจะเริ่มกินแพลงค์ตอนสัตว์เป็นอาหารด้วย ระยะไมซีสจะกินอาหารทั้งที่เป็นแพลงค์ตอนพืชและแพลงค์ตอนสัตว์ ระยะโพสลาวา ส่วนมากจะกินแพลงค์ตอนสัตว์เป็นอาหารและเริ่มกินสัตว์ที่ตายแล้ว เนื่องจากวัยอ่อนในระยะนี้เตรียมที่จะปรับตัวอาศัยบริเวณผิวดิน ระยะกุ้งวัยรุ่นจะกินสัตว์ พืชที่ตายแล้ว การกินอาหารของกุ้งวัยรุ่นจะเหมือนกับกุ้งโต กินอาหารได้ทุกชนิดและเป็นพวกหากินกลางคืน

2.2 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของสัตว์น้ำ (คณาจารย์, 2543)

2.2.1 สารประกอบโปรตีน

สารประกอบที่เป็นโปรตีนในสัตว์น้ำ จัดจำแนกตามลักษณะการละลายได้ดังนี้

1. โปรตีนที่ละลายได้ในน้ำหรือที่เรียกว่า ซาร์โคพลาสมิกโปรตีน (Sarcoplasmic Protein) หรือ myogen ซึ่งมีอยู่ประมาณ 10-20% ของโปรตีนทั้งหมด ได้แก่เอนไซม์ชนิดต่างๆ เม็ดสีในเนื้อและ cytochrome C เป็นต้น

2. โปรตีนที่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายในสารละลายเกลือเจือจาง ซึ่งมี ionic strength ประมาณ 0.15 เช่น โปรตีนในเลือดและเอนไซม์บางชนิด

3. โปรตีนที่ละลายในสารละลายเกลือที่มี ionic strength ประมาณ 0.5 ได้แก่ โปรตีน กล้ามเนื้อ (myofibillar protein) เช่น แอกติน (actin) ไมโอซิน (myosin) แอกโตไมโอซิน (actomyosin) เป็นต้น พบประมาณ 65-67% ของโปรตีนทั้งหมด

4. โปรตีนที่ไม่ละลายน้ำหรือสารละลายเกลือแต่ละลายในกรดและเบสเข้มข้น เรียกว่า stroma protein พวกนี้ได้แก่ โปรตีนในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เช่น collagen, elastin, reticulin พบอยู่ประมาณ 3-10% ของโปรตีนทั้งหมด

2.2.2 สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (Non-protein nitrogen) หรือ NPN เป็นสารที่มีไนโตรเจนประกอบในโมเลกุล แต่ไม่ใช่สารโปรตีน ได้แก่ กรดอะมิโนอิสระ พอลิเพปไทด์ แอมโมเนีย ยูเรีย สารอะมีนต่างๆ นิวคลีโอไทด์ เป็นต้น สารเอ็น.พี.เอ็น. นี้ พบอยู่ในสัตว์น้ำมากกว่าสัตว์เลือดอุ่นและมักพบว่าเป็นสารที่ให้กลิ่นรสในสัตว์น้ำ สารเหล่านี้เกิดขึ้นเนื่องจากสาเหตุหลายประการ เช่น เกิดการสะสมจากอาหารที่สัตว์กิน เป็นลักษณะตามพันธุกรรม เป็นสารที่มีอยู่ในแหล่งน้ำทำให้แทรกซึมเข้าสู่ตัวสัตว์ซึ่งอาจเกิดขึ้นภายในทางเดินอาหารแล้วแทรกซึมสู่เนื้อเยื่อหรือเป็นสารที่เกิดจากการย่อยสลายเนื่องจากน้ำย่อยในเนื้อเยื่อหรือน้ำย่อยจากจุลินทรีย์ เป็นต้น

2.2.3 ไขมัน

ไขมันของสัตว์น้ำมีความไม่อิ่มตัวสูงจึงสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ง่าย การเสื่อมเสียของไขมันจากสัตว์น้ำ ที่สำคัญ คือ

1. Hydrolysis ปฏิกิริยานี้เกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์หรืออาจเกิดจากจุลินทรีย์บางชนิดทำให้เกิดการย่อยสลายของไตรกลีเซอไรด์และฟอสฟอลิปิด เกิดกรดไขมันอิสระซึ่งเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้เร็วกว่าไขมันอื่น

2. Auto-oxidation เกิดขึ้นเองโดยไม่ต้องอาศัยปฏิกิริยาจากเอนไซม์ใดๆโดยไขมันทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ซึ่งเกิดการเปลี่ยนแปลงต่อไปได้สารประกอบแอลดีไฮด์และสารที่ได้จากการออกซิไดซ์อื่นๆซึ่งให้กลิ่นรสหืนในสัตว์น้ำ

2.2.4 วิตามิน

วิตามินที่ละลายได้ในน้ำ คือ วิตามินบีต่างๆแต่วิตามินซีพบน้อยมาก วิตามินที่ละลายในน้ำมัน คือ เอ ดี อี เค พบมากบริเวณตับและเนื้อส่วนที่มีไขมันสะสมอยู่มาก สีที่พบในเนื้อปลาบางชนิดและกุ้ง ได้แก่ axtaxantin และ zeaxanthin สาร carotenoid เป็นสารให้สีที่พบในสัตว์น้ำ

2.2.5 เกลือแร่

เกลือแร่ที่พบในสัตว์น้ำมีหลายชนิด คือ K,Cl,P,S,Mg,Ca,Fe,Mn,Zn,F,As, Cu และ I โดยพบในปริมาณมากน้อยแตกต่างกันไปตามชนิดของสัตว์น้ำ แหล่งที่จับและฤดูกาล

2.3 กุ้งแช่เยือกแข็ง (ประเสริฐ สายสิทธิ์,2527)

ประเทศไทย การทำกุ้งเยือกแข็งส่งขายต่างประเทศกำลังเป็นอุตสาหกรรมที่ทำรายได้ให้กับประเทศเป็นอย่างมาก กุ้งที่ส่งไปจำหน่ายต่างประเทศส่วนใหญ่เป็นกุ้งสดเยือกแข็ง ซึ่งมีทั้งชนิดที่ทำเยือกแข็งเป็นแท่ง (block) และทำเยือกแข็งเป็นตัวๆ (IQF- Individual Quick Frozen) การที่จะทำกุ้งเยือกแข็งให้มีคุณภาพดีนั้น จะต้องใช้กุ้งที่สดและสะอาด คือปราศจากเชื้อจุลินทรีย์พวกโคลิฟอร์ม และจะต้องผ่านกรรมวิธีที่ถูกต้องโดยผ่านจุดสูงสุดของการตกผลึกอย่างรวดเร็ว ที่จุดศูนย์กลางของกุ้งจะต้องมีอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า – 18 องศาเซลเซียส และถ้าจะต้องเก็บ ต้องเก็บไว้ในห้องที่มีความเย็นสม่ำเสมอและอุณหภูมิไม่สูงกว่า -18 องศาเซลเซียส ตลอดเวลาที่เก็บกุ้งที่จะนำมาแช่เยือกแข็งจะต้องเป็นกุ้งสด หรือกุ้งสุกที่ผ่านการคัดเลือกคุณภาพแล้ว กุ้งสดที่นำมาทำเยือกแข็งมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด อาจจะเป็นกุ้งทั้งตัว กุ้งเด็ดหัว กุ้งปอกเปลือกก็ได้ ส่วนกุ้งที่ทำให้สุกแล้วมักจะเป็นกุ้งที่เด็ดหัวและปอกเปลือกออกทั้งสิ้น การทำเยือกแข็งนั้นจะทำโดยขบวนการทำเยือกแข็งอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิระหว่าง -25 ถึง -30 องศาเซลเซียส เพื่อที่จะรักษาคุณภาพตามธรรมชาติของกุ้งสดไว้ให้มากที่สุด

2.4 วิธีการถนอมอาหารโดยการแช่แข็ง (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก,2532)

การถนอมอาหารโดยการแช่แข็งเป็นการเก็บอาหารในอุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส ปกตินิยมทำที่อุณหภูมิต่ำกว่า –20 องศาเซลเซียส การเก็บถนอมอาหารโดยวิธีนี้เป็นการหยุดการทำงานของจุลินทรีย์และเอนไซม์ การเก็บในสภาพแช่แข็งที่มีการคลายเย็น (Thaw) เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บก่อให้เกิดผลเสียในด้านเนื้อสัมผัสของอาหาร การสูญเสียน้ำและสภาพแขวนลอยของอาหาร นอกนั้นอาหารที่แช่แข็งนี้สามารถเก็บรักษาได้นานหลายปีในห้องเย็นที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ไม่สูงกว่า –18 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารและคุณภาพทางจุลินทรีย์ของอาหารก็ลดลงด้วย

การแช่แข็งอาหาร สามารถทำได้ 2 วิธี คือ การแช่แข็งแบบช้า และการแช่แข็งแบบเร็ว ทั้งสองวิธีมีผลต่อคุณภาพของอาหารต่างกัน

2.4.1 การแช่แข็งแบบช้า (slow freezing)

เป็นการทำให้อาหารแข็งตัวอย่างช้าๆที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง เวลาที่ใช้ในการแช่แข็งจะขึ้นอยู่กับอาหาร ตัวอย่างการแช่แข็งโดยวิธีนี้ คือ การแช่แข็งในช่องแข็งของตู้เย็นซึ่งมีอุณหภูมิระหว่าง –1 ถึง -15 องศาเซลเซียส

2.4.2 การแช่แข็งแบบเร็ว (quick freezing)

เป็นการนำอาหารมาผ่านอุณหภูมิที่ทำให้น้ำในอาหารแข็งตัวอย่างรวดเร็วในระยะเวลาไม่เกิน 30 นาที วิธีการแช่แข็งแบบเร็วนี้สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การจุ่มโดยตรง(direct immersion) การใช้ลมเป่า (air blast) และการใช้แผ่นความเย็น (plate freezing)

การแช่แข็งแบบเร็วเป็นกระบวนการที่มีข้อได้เปรียบในด้านคุณภาพของอาหารเมื่อเทียบกับการแช่แข็งแบบช้า การแช่แข็งแบบช้า น้ำอิสระที่อยู่ภายนอกเซลล์เกิดเป็นผลึกน้ำแข็งทำให้มีความเข้มข้นของสารภายนอกเซลล์ก็สูงขึ้น เป็นผลให้ความเข้มข้นของสารภายนอกไม่เท่ากัน น้ำภายในเซลล์ซึมผ่านผนังเซลล์ออกมาข้างนอกทำให้เซลล์เกิดการสูญเสียน้ำ เมื่อผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นมีขนาดใหญ่ขึ้น สามารถดันผนังเซลล์ให้ฉีกขาด เซลล์ถูกทำลายและเหี่ยวลงช่วงในการแช่แข็งแบบเร็ว ทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งในอาหารทั่วทั้งภายในและภายนอกในเวลาที่ใกล้เคียงกัน ผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นผลึกขนาดเล็ก

2.5 การเปลี่ยนแปลงที่มีผลกระทบต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำเยือกแข็ง (มยุรี จัยวัฒน์ ,2527)

การเปลี่ยนแปลงที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำแช่เยือกแข็งอาจเกิดขึ้นในขั้นตอนใดตอนหนึ่งนับตั้งแต่การเป็นวัตถุดิบจนกระทั่งถึงมือผู้บริโภคนั้น การเปลี่ยนแปลงนี้สามารถแยกได้เป็น 4 ขั้นตอน คือ

2.5.1 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นก่อนการแช่เยือกแข็ง จะเกิดขึ้นตั้งแต่หลังจากสัตว์น้ำถูกจับได้ และเมื่อตายจะเกิดการเปลี่ยนแปลง 4 ลักษณะ คือ

2.5.1.1 ปฏิกิริยาการสลายไกลโคเจน (Glycolysis) ไกลโคเจนเป็นพลังงานสะสมของสัตว์น้ำมีอยู่ในปริมาณต่างๆกันแล้วแต่ชนิดของสัตว์น้ำ ส่วนมากจะสะสมที่ตับและกล้ามเนื้อ เมื่อสัตว์น้ำตาย ไกลโคเจนจะถูกขับออกมาจากที่เก็บแล้วถูกย่อยสลายกลายเป็นกรดแลกติก ในสภาพไร้อากาศ มีผลทำให้ pH ลดลง การลดลงนี้จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณไกลโคเจน สัตว์น้ำบางชนิด เช่น ปลาทูน่า มีปริมาณไกลโคเจนค่อนข้างสูง pH จะเปลี่ยนแปลงมากขึ้น หากได้ pH

ใกล้เคียงกับจุด isoelectric point จะทำให้น้ำและโปรตีนที่เคยรวมตัวกันในสัตว์น้ำแยกออกจากกัน เมื่อผ่านการแช่เยือกแข็งและละลายน้ำแข็งออก น้ำที่ไหลออกมา (drip) จะทำให้แร่ธาตุและคุณค่าทางอาหารอื่นๆออกมาด้วย

2.5.1.2 ปฏิกิริยาที่กล้ามเนื้อ (Rigor-mortis) ขณะที่สัตว์น้ำเช่น ปลา ยังมีชีวิต กล้ามเนื้อจะยืดหดได้โดยอาศัย ATP (Adenosine triphosphate) ซึ่งเป็นสารประกอบโพลีฟอสเฟส เมื่อปลาตายกล้ามเนื้อปลาสูญเสียคุณสมบัติไม่สามารถยืดหดตัวได้ตามปกติ โปรตีนในกล้ามเนื้อปลาอยู่ในรูปของแอคตินไมโอซิน ซึ่งไม่ละลายน้ำ น้ำมีโอกาสแยกออกมาแข็งตัวขณะผ่านกรรมวิธีเยือกแข็งมาก เมื่อละลายน้ำแข็งออกก็จะมีน้ำที่นำเอาแร่ธาตุและคุณค่าทางอาหารอื่นๆออกมาด้วย

2.5.1.3 การสลายตัวของ ATP (ATP degradation) เมื่อสัตว์น้ำ เช่น ปลาตาย ATP จะสลายตัวได้โมเลกุลที่เล็กลง คือ ADP (Adenosine monophosphate) IMP (Inosine-5'-phosphate)HxR (inosine) Hx(Hypoxanthine) และ D-ribose ปฏิกิริยาการสลายตัวของ ATP จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ หากสูงก็จะเกิดเร็ว คุณภาพปลาก็จะเสื่อมเสียเร็วขึ้น

2.5.1.4 การย่อยสลายตัวเอง (Autolysis) หลังจากสัตว์น้ำตาย เอนไซม์ทั้งหลายยังมีกิจกรรมอยู่แม้จะไม่ได้กินอาหารก็จะย่อยตัวเอง โดยย่อยองค์ประกอบของเนื้อปลาเป็นโมเลกุลที่เล็กลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีนซึ่งจะถูกย่อยสลายเป็นเปปไทด์ กรดอะมิโน แอมโมเนีย อะมีน และอื่นๆ สารประกอบที่เกิดขึ้นบางอย่างให้กลิ่น เช่น แอมโมเนีย อินโดล TMA เป็นต้น ปฏิกิริยาจะขึ้นกับอุณหภูมิ หากสูงก็จะเกิดได้เร็ว การเปลี่ยนแปลงในระยะแรกนี้จะเห็นได้ว่าขึ้นอยู่กับอุณหภูมิทั้งสิ้น ดังนั้นการลดการเปลี่ยนแปลงเพื่อชลอการเสื่อมเสียของสัตว์น้ำจึงขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในการรักษา ดังนั้นเมื่อสัตว์น้ำถูกจับได้แล้วควรวางบนน้ำแข็งหรือเก็บไว้ในห้องเย็น การผลิตหรือการเตรียมการกับสัตว์น้ำควรลดอุณหภูมิให้ต่ำที่สุดเพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าว

2.5.2 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นขณะแช่เยือกแข็ง

2.5.2.1 อุณหภูมิบนตัวสัตว์น้ำ ขณะให้ความเย็นอุณหภูมิในตัวจะลดลง ซึ่งแต่ละแห่งจะลดลงไม่เท่ากัน เช่น บริเวณผิวหนังของปลาอุณหภูมิจะลดลงอย่างรวดเร็ว แต่ในส่วนเนื้อที่ลึกลงไปอุณหภูมิจะลดลงซึ่งในสัตว์น้ำประเภทอื่นๆ ก็เช่นเดียวกัน

2.5.2.2 การเกิดน้ำแข็ง การแข็งตัวของน้ำจะเริ่มจากด้านนอกเข้าไปจนถึงส่วนกลางเช่น ส่วนที่เป็นเนื้อปลาจะแข็งช้าที่สุด อัตราการลดลงของอุณหภูมิก็ดี ระยะเวลาการแข็งตัวเป็นน้ำแข็งก็ดี ล้วนแต่ส่งผลถึงคุณภาพเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ทั้งสิ้น กล่าวคือถ้าอุณหภูมิลดลงช้าระยะเวลาในการกลายเป็นน้ำแข็งนานจะทำให้ได้ขนาดของน้ำแข็งใหญ่ รูปร่างแหลมคม มีส่วนทำให้เนื้อเยื่ออาหารฉีกขาดเป็นบาดแผล เมื่อละลายน้ำแข็งออกก็จะมีน้ำซึ่งอุดมไปด้วยเกลือแร่

และคุณค่าทางอาหาร น้ำนี้เรียกว่า " Drip" นอกจากมี Drip ออกมาแล้ว ลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารจะเปลี่ยนไปด้วย

2.5.2.3 การเกิดปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนหรือปฏิกิริยาการระเหยของน้ำจากผลิตภัณฑ์ขณะแช่เยือกแข็ง โดยปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนจะเกิดได้ในกรณีที่แช่เยือกแข็งแบบ immersion freezing ในกรณีที่ทำเยือกแข็งแบบ Blast freezing เมื่อเปรียบเทียบกับการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวในระยะที่เก็บในห้องเย็นแล้ว ในช่วงนี้ยังเกิดน้อยมาก

2.5.3 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บในสภาพเยือกแข็ง

2.5.3.1 การระเหยของน้ำออกจากผลิตภัณฑ์ (Desiccation) เกิดขึ้นเนื่องจากการเคลือบไม่ดีหรือบรรจุในหีบห่อไม่ดี หรือสภาพภายในห้องเย็นไม่สม่ำเสมอ การสูญเสียน้ำมากๆ นอกจากจะทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ด้อยไปแล้ว ยังทำให้ผลิตภัณฑ์สูญเสียน้ำหนักไปด้วย หากมีการสูญเสียน้ำจากผลิตภัณฑ์มากจนทำให้ผิวของผลิตภัณฑ์แห้งและแข็งเรียกว่า freezer burn การลดการสูญเสียน้ำอาจทำได้โดย การบรรจุในภาชนะที่กันระเหยได้ดีซึ่งจะช่วยป้องกันการระเหยของไอน้ำได้ ยิ่งถ้ามีการเคลือบผิวผลิตภัณฑ์ชั้นหนึ่งก่อนแล้วบรรจุในหีบห่ออีกจะช่วยป้องกันได้ดียิ่งขึ้น

2.5.3.2 การเปลี่ยนแปลงสี มีการเปลี่ยนแปลงตั้งแต่หลังถูกจับ เช่น เม็ดสีสีส้ม (astaxanthin) ที่มีอยู่ในกุ้งจะเกิดขบวนการเติมออกซิเจนสีของกุ้งจะซีดลงและคล้ำเมื่อเก็บไว้นาน หรือการเกิดจุดสีดำในกุ้ง (black spot of prawn) ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาเมลาโนซีส (melanosis) โดยสารประกอบไธโรซีน (tyrosin) หรือสารประกอบใกล้เคียงถูกออกซิไดซ์ โดยมีเอนไซม์ไธโรซีเนส (tyrosinase) ในเลือดเป็นตัวกระตุ้น เกิดสารประกอบที่เรียกว่า "เมลานีน" (melanine) ซึ่งมีสีดำหรือคล้ำ ปฏิกิริยานี้เกิดขึ้นได้ดีเนื่องจากมีการสลายเม็ดเลือดร่วมด้วย การป้องกันทำได้โดยหักหัวทิ้งและผลิตให้เร็วขึ้น ควรควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำตลอดเวลาหรือใช้สารป้องกันปฏิกิริยาการเติมออกซิเจน เช่น การใช้กรดแอสคอร์บิคในปริมาณที่พอเหมาะ เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากว่าการใช้กรดปริมาณมากไปจะทำให้เนื้อกุ้งซีดมากขึ้นหรือมีเนื้อแข็งขึ้น นอกจากนี้อาจใช้สารประกอบซัลไฟท์ เช่น โซเดียมเมตาไบซัลไฟท์ในปริมาณที่พอเหมาะจะช่วยชะลอการเกิดจุดสีดำได้

2.5.3.3 การปลี่ยนแปลงกลิ่น การเปลี่ยนแปลงกลิ่นมี 2 ลักษณะคือ การสูญเสียกลิ่นซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาการเติมออกซิเจน และการเปลี่ยนแปลงอีกลักษณะคือ การเกิดกลิ่นแปลกปลอม โดยจะเกิดขึ้นหลังการสูญเสียกลิ่นตามธรรมชาติไปแล้ว กลิ่นที่มักเกิดขึ้นเสมอคือกลิ่นหืน เกิดจากปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนเช่นกัน ทำให้เกิดสารประกอบประเภท carbonic compound ซึ่งอาจเป็นปฏิกิริยาเคมีจากไขมันกับออกซิเจนซึ่งเรียกว่า Autoxidation หรือมีเอนไซม์

ร่วมด้วย ถ้ามีความร้อน แสง หรือสารเร่งปฏิกิริยา เช่น เหล็กหรือทองแดงปฏิกิริยาจะเกิดเร็วขึ้น แต่ถ้ามีสารยับยั้งปฏิกิริยาต่างๆ ปฏิกิริยาจะเกิดช้าลง

นอกจากผลกระทบโดยตรงจากการเก็บในสภาพเยือกแข็งแล้ว การทำเยือกแข็งนอกจากจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่ส่งผลถึงคุณภาพแล้ว การทำเยือกแข็งยังมีอิทธิพลต่ออย่างอื่นโดยตรงด้วยดังนี้ คือ

1. โปรตีน ความเย็นจัดจะทำให้โปรตีนบางชนิดเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติ (denature) การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนจะมีผลโดยตรงกับลักษณะเนื้อสัมผัสคือ ทำให้เนื้อกระด้าง (toughness) เนื้อหยุ่น (spongelike texture) และเนื้อเหนียวแบบยาง (rubbery texture) การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในสัตว์น้ำเยือกแข็งอาจทำให้ได้โดยการทดสอบคุณสมบัติต่างๆ ของโปรตีน คือ

- คุณสมบัติในการละลาย (protein solubility) หลังการเยือกแข็งจะละลายได้น้อยลง ทำให้เนื้อมีความเหนียวเพิ่มขึ้น

- คุณสมบัติของเนื้อเยื่อ (tissue properties) เกี่ยวกับการอุ้มน้ำ (water holding capacity) กับน้ำที่ไหลออกมาภายนอก (drip) เปรียบเทียบกับการตรวจด้วยประสาทสัมผัส

2. เอนไซม์ ในสัตว์น้ำหรือจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาจะได้รับอิทธิพลจากการทำเยือกแข็งโดยจะถูก inactivate คือทำให้กิจกรรมลดลง โดยทั่วไปอุณหภูมิต่ำจะไม่ทำลายกิจกรรมของเอนไซม์หมด แต่จะทำให้กิจกรรมลดลงต่างกับอุณหภูมิที่สูงมากๆ ซึ่งมีผลในการทำลายกิจกรรมของเอนไซม์ให้หมดสิ้นไป

3. ไขมัน (fat) ที่อุณหภูมิต่ำ ไขมันจะรวมตัวกับออกซิเจนได้ช้าลงแต่ก็ยังเกิดขึ้นได้แม้จะถูกเก็บที่อุณหภูมิต่ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งไขมันปลาซึ่งเป็นไขมันที่มีความว่องไวต่อปฏิกิริยาการเติมออกซิเจน

4. วิตามิน อุณหภูมิต่ำนอกจากจะไม่ทำลายวิตามินแล้ว ยังช่วยเก็บรักษาคุณภาพของวิตามินเอาไว้ด้วย แต่ในทางปฏิบัติมักพบว่ามีการสูญเสียวิตามินไปหลายชนิด เช่น วิตามินซี วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินเหล่านี้สูญหายไปก่อนการทำเยือกแข็งแล้วคือ ในระหว่างการผลิต เช่น การล้าง การลวก การตัดแต่ง การบด เนื่องจากวิตามินเหล่านี้เป็นพวกที่ละลายในน้ำ โอกาสสูญเสียจึงมีมาก ส่วนพวกที่ละลายในไขมันคือ วิตามินเอ วิตามินดี วิตามินอี และวิตามินเค หากจะมีการเปลี่ยนแปลงก็จะเกิดขึ้นเมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไว้นาน

2.5.4 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายหลังการละลายน้ำแข็งออก

การละลายน้ำแข็งออกจากผลิตภัณฑ์เยือกแข็งมีความสำคัญต่อคุณภาพมาก การละลายจะทำให้เกิดน้ำซึมออกมา (drip loss) ทำให้องค์ประกอบภายในเซลล์ละลายออกมา จึงเกิดการสูญเสียสารอาหารที่ละลายน้ำได้ โดยสาเหตุของการเกิด drip loss อาจเกิดได้หลายสาเหตุคือ

- เกิดจากสภาวะความเป็นกรดในเนื้อของสัตว์น้ำสูง
- เกิดจากปฏิกิริยาการรวมตัวกันของโมเลกุลของโปรตีนของสัตว์น้ำ
- ก่อนการทำให้เยือกแข็ง อุณหภูมิของสัตว์น้ำสูงขึ้นจนเป็นสาเหตุให้เกิด Rigor mortis มีการหดของกล้ามเนื้อซึ่งจะดันให้น้ำในเซลล์ออกมาภายนอก นอกจากนี้น้ำที่ซึมออกมายังเป็นสารตั้งต้นสำหรับเอนไซม์หรือการเกิดปฏิกิริยาโดยจุลินทรีย์ (วิไล รังสาดทอง, 2543) การใช้อุณหภูมิต่ำแม้ว่าจะต้องใช้เวลาในการละลายน้ำแข็งออกนานขึ้นก็จะช่วยให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีกว่าการใช้อุณหภูมิเนื่องจากหลังการละลายน้ำแข็งออกสภาพของผลิตภัณฑ์ยังคงเป็นสภาพของของสดอยู่

2.6 การตรวจสอบและวิเคราะห์คุณภาพเนื้อสัมผัสของกุ้งเยือกแข็ง (คณาจารย์, 2543)

การตรวจสอบทางประสาทสัมผัส วิธีนี้ทำได้ง่ายและรวดเร็ว แต่จะให้ผลแม่นยำถ้าผู้ตรวจสอบผ่านการฝึกฝนจนชำนาญ โดยทั่วไปจะเป็นการใช้สายตาสำรวจดูลักษณะปรากฏของสัตว์น้ำ นอกจากนั้นควรใช้การดมกลิ่นประกอบ ส่วนการชิมรสและการใช้นิ้วกดสัมผัสที่ตัวสัตว์น้ำก็ให้ผลในการตรวจสอบความสดได้ดีเช่นกัน

การวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัส เป็นแบบหนึ่งของการทดสอบทางประสาทสัมผัสซึ่งอาจใช้คนทดสอบหรืออาศัยเครื่องมือช่วยในการตรวจสอบก็ได้ การทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัสแบบ Texture Profile Analysis มาจากการพัฒนาของ General Food Texturometer โดยใช้กระบอกตวงหน้าตัดขนาดเล็กกดลงบนอาหารที่มีขนาดพอเคี้ยว ในการเคลื่อนที่เข้ากดซึ่งเลียนแบบการทำงานของฟันกราม โดยการใช้ strain guage และเครื่องบันทึกกราฟบนกระดาษ กราฟระหว่างแรงและเวลาจะแสดงความเป็นไปในการจำลองการเคี้ยวอาหาร

2.7 หลักการพื้นฐานของอิเล็กโทรโฟรีซิส (Basic Principles of Electrophoresis) (อาภัสสรา, 2537)

2.7.1 ทฤษฎีของอิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis Theory)

อิเล็กโทรโฟรีซิสเป็นคำที่ใช้อธิบายการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่มีประจุไฟฟ้าในสนามไฟฟ้า พอลิเมอร์ทางชีวภาพ (biological polymer) ส่วนใหญ่มีประจุจึงสามารถเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าได้

อาศัยคุณสมบัติดังกล่าวนี้ เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสจึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ของโมเลกุล ตัวอย่างเช่น มวลโมเลกุลของโปรตีน ความแตกต่างของโมเลกุลในแง่ประจุสุทธิและรูปร่างของมัน รวมทั้งการแยกโมเลกุลที่แตกต่างกันด้วย

2.7.2 อิเล็กโทรโฟรีซิสแบบพอลิอะคริลาไมด์เจล (Polyacrylamide Gel Electrophoresis, PAGE)

อิเล็กโทรโฟริซิสแบบพอลิอะคริลาไมด์เจลหรือที่เรียกย่อๆ ว่า PAGE เป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในงานวิเคราะห์โปรตีนและสารละลายโปรตีนผสม

ไอออนที่มีประจุหรือหมู่ที่มีประจุเมื่ออยู่ในสนามไฟฟ้าจะเคลื่อนที่ได้ โปรตีนก็เช่นเดียวกัน เป็นโมเลกุลที่มีประจุที่พีเอชต่างๆ จึงเคลื่อนที่ได้ในสนามไฟฟ้า ทั้งนี้อัตราการเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของประจุโปรตีน ความหนาแน่นของประจุหมายถึง อัตราส่วนของประจุต่อมวล (charge/ mass) ถ้าอัตราส่วนนี้สูงโมเลกุลจะเคลื่อนที่ได้เร็วเมื่อให้สนามไฟฟ้ากับสารละลายโปรตีนผสม โปรตีนแต่ละชนิดจะเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วที่ต่างกัน ทำให้แยกออกจากกันได้

PAGE เป็นเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสที่มีตัวกลางค้ำจุนเป็นพอลิอะคริลาไมด์เจล ซึ่งเฉื่อยต่อสารเคมีในระหว่างเกิดกระบวนการแยก หลักการแยกโปรตีนโดยใช้ตัวกลางขึ้นกับความหนาแน่นประจุของโปรตีนที่ค่า pH หนึ่งๆ ที่เลือก ตัวกลางค้ำจุนพวกเจลสามารถลดการแพร่และป้องกันการเกิดการพา ทำให้แถบโปรตีนที่แยกได้คมชัด รวมทั้งเป็น ตัวกลางที่มีรูพรุน ทำหน้าที่เปรียบเหมือนตะแกรงร่อนโมเลกุลเมื่อปรับขนาดของรูพรุนให้เหมาะสม เพราะฉะนั้น การแยกโปรตีนโดยใช้ตัวกลางค้ำจุนเป็นเจลจึงขึ้นกับความหนาแน่นของประจุและขนาดของสารที่ต้องการแยก ด้วยเหตุนี้โปรตีน 2 ชนิดที่มีขนาดต่างกัน แต่มีความหนาแน่นของประจุเท่ากัน เมื่อใช้เทคนิค PAGE ขนาดรูพรุนของเจลที่เหมาะสมจะมีผลทำให้อัตราการเคลื่อนที่ของโปรตีนขนาดใหญ่ช้าลงกว่าการเคลื่อนที่ของโปรตีนขนาดเล็ก ทำให้โปรตีน 2 ชนิดแยกออกจากกันได้ ความสามารถในการเป็นตะแกรงร่อนโมเลกุลของเจลนี้จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับขนาดรูพรุนของเจลว่ามีขนาดใกล้เคียงกับขนาดของอนุภาคที่เคลื่อนที่หรือไม่ พอลิอะคริลาไมด์เจลมีขนาดรูพรุนใกล้เคียงกับขนาดของโมเลกุลโปรตีนทำให้การแยกขึ้นกับขนาดและความหนาแน่นประจุ

2.7.3 อิเล็กโทรโฟรีซิสแบบเสียสภาพธรรมชาติ (SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis, SDS-PAGE)

ในปัจจุบันการทำ PAGE มักนิยมใช้สารซักฟอกที่มีชื่อว่าโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate) หรือ SDS ในระบบบัฟเฟอร์ร่วมกับสารที่สลายพันธะไดซัลไฟด์ การทำ PAGE ที่

มี SDS เรียกว่า SDS-PAGE เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกหน่วยย่อยของโปรตีนและหามวลโมเลกุลของมัน SDS เป็นสารซักฟอกแอนไอออนิก (anionic detergent) ที่มีประจุลบ สามารถจับกับสายโซ่พอลิเปปไทด์ด้วยอัตราส่วนที่คงที่ คือ SDS 1.4 กรัมต่อสายโซ่พอลิเปปไทด์ 1 กรัม เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนเอสดีเอส-พอลิเปปไทด์ (SDS-polypeptide complex) มีรูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) เนื่องจากสายโซ่พอลิเปปไทด์เมื่อถูกจับด้วย SDS จะคลายการหดม้วนออกเป็นสายยาว มีเส้นผ่านศูนย์กลางคงที่ประมาณ 18 อังสตอม ในขณะที่ความยาวของคอมเพล็กซ์จะเป็นสัดส่วนกับมวลโมเลกุลของสายพอลิเปปไทด์ คอมเพล็กซ์นี้มีประจุลบ (เนื่องจากประจุของSDS ไปบดบังประจุของโปรตีน) มีอัตราส่วนของประจุต่อมวลหรือมีความหนาแน่นของประจุคงที่เท่ากัน และมีรูปร่างเหมือนกัน จึงทำให้การเคลื่อนที่ของสายพอลิเปปไทด์ขึ้นกับมวลโมเลกุลของสายพอลิเปปไทด์และทุกคอมเพล็กซ์จะเคลื่อนที่ไปในทิศทางเดียวกันคือเข้าหาขั้วบวก เมื่อเปรียบเทียบการเคลื่อนที่ของโปรตีนมาตรฐานที่ทราบมวลโมเลกุลทำให้ทราบถึงมวลโมเลกุลของสายพอลิเปปไทด์ และจากวิธีการย้อมสีทำให้ทราบถึงจำนวนหน่วยย่อยหรือจำนวนสายพอลิเปปไทด์ที่อยู่ในโปรตีน (native protein)

SDS-PAGE เป็นเทคนิคที่ง่าย รวดเร็ว ใช้ปริมาณโปรตีนที่ต้องการศึกษาน้อยเป็นไมโครกรัม มีประโยชน์ในการศึกษาพวกเอนไซม์ที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยหลายหน่วย โปรตีนที่ถูกแยกโดย SDS-PAGE สามารถนำไปศึกษาคุณภาพอื่นๆ ต่อไปได้ โดยการชะแต่ละแถบที่แยกออกจากกันจากเจลแล้วกำจัด SDS หรือสารเคมีอื่นๆ จากนั้นจึงนำไปศึกษา เช่น วิเคราะห์กรดอะมิโน แผนที่เปปไทด์ (peptide map) หาปลายอะมิโน หรือหาปลายคาร์บอกซี

สารผสมโปรตีนที่ต้องการแยก และหามวลโมเลกุลต้องถูกทำให้สูญเสียสภาพธรรมชาติโดยให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส สารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ละลายหรือเจือจางสารผสมโปรตีนต้องมี SDS ปริมาณมากเกินพอ และมีสารไธออล (thiol reagent) ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ สลายพันธะไดซัลไฟด์ สารไธออลที่นิยมใช้คือ 2-เมอร์แคปโตเอธานอล หรือ ไดไธโอไธรทอล (dithiothreitol, DTT) ซึ่งมีข้อดีคือไม่มีกลิ่นและเป็นสารริดิวซิง (reducing agent) ที่ให้ผลเท่ากันกับ 2-เมอร์แคปโตเอธานอล

การเตรียมสารตัวอย่างสำหรับ SDS-PAGE อาจทำให้เกิดข้อผิดพลาดได้ เช่นเกิดการสลายพันธะไดซัลไฟด์ไม่สมบูรณ์หรือมีการย่อยสลายโปรตีน (proteolytic degradation) ในสารตัวอย่างโดยเอนไซม์โปรตีเอส (protease) ซึ่งเกิดขึ้นเมื่อผสม SDS และ 2-เมอร์แคปโตเอธานอล ในสารตัวอย่างแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพราะฉะนั้นการเตรียมสารตัวอย่างสำหรับ SDS-PAGE จึงจำเป็นต้องต้มสารตัวอย่างในน้ำเดือนนานอย่างน้อย 3 นาที หลังจากเติม SDS และ 2-เมอร์แคปโตเอธานอลลงในสารตัวอย่างเพื่อทำให้โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติ หลังจากนั้นปล่อยให้เย็นที่

อุณหภูมิห้อง ถ้ายังไม่ใช้สารตัวอย่างทันทีให้เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อถูกเก็บที่อุณหภูมิต่ำ SDS จะตกผลึกออกจากสารละลาย เพราะฉะนั้นจึงต้องทำให้สารละลายอุ่นก่อนที่จะนำไปใช้ การต้มสารตัวอย่างจะทำให้โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติอย่างสมบูรณ์ ทำให้เอนไซม์โปรติเอสไม่สามารถสลายโปรตีนที่สนใจในสารตัวอย่างได้

การวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง การหามวลโมเลกุลของโปรตีนในช่วงมวลโมเลกุล 20,000-66,000 ดอลตัน พบว่าเมื่อมีเกลือโซเดียมคลอไรด์ ในสารตัวอย่างสูงถึง 0.8 โมลาร์ ก่อให้เกิดปัญหา และถ้าเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมฟอสเฟต pH 7.0 จาก 0.01 โมลาร์ไปเป็น 0.1 โมลาร์ ในสารตัวอย่าง จะมีผลต่อการหามวลโมเลกุลเช่นกัน

2.7.4 อิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไม่ต่อเนื่อง (Discontinuous Electrophoresis)

2.7.4.1 ลักษณะทั่วไปของอิเล็กโทรโฟริซิสแบบไม่ต่อเนื่อง

อิเล็กโทรโฟรีซิสแบบโซนที่มีระบบบัฟเฟอร์ต่างกันทั้งส่วนประกอบของบัฟเฟอร์และค่า pH ของสารตัวอย่างรวมทั้งบัฟเฟอร์ในอ่างอิเล็กโทรด อิเล็กโทรโฟรีซิสแบบโซนที่มีลักษณะเช่นนี้เรียกว่า อิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไม่ต่อเนื่อง (discontinuous gel electrophoresis) หรือเรียกย่อๆ ว่า "disc electrophoresis" เจลที่ใช้สำหรับระบบนี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วนดังนี้ คือ

ส่วนบน เรียกว่า สแตคกิงเจล (stacking gel) หรือสเปเซอร์เจล (spacer gel) เตรียมจากเจลที่มีความเข้มข้นต่ำ จึงมีขนาดรูพรุนที่ใหญ่ ทำให้สารเคลื่อนที่ได้เร็ว สารละลายบัฟเฟอร์

ส่วนล่างเรียกว่า เซเปเรติงเจล (separating gel) สำหรับเซเปเรติงเจลเป็น Tris/HCl มีค่าไอออนิกสเตรนจ์สูงกว่าและมี pH สูงกว่า คือ pH 8.9 เจลส่วนนี้จะถูกเตรียมก่อนเมื่อเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันอย่างสมบูรณ์แล้ว จึงเตรียมส่วนสแตคกิงเจล

ข้อได้เปรียบที่สำคัญของเทคนิคนี้คือ สามารถใช้สารตัวอย่างที่เจือจางในปริมาตรมากได้และให้ผลการแยกที่ดี ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนจะถูกทำให้เข้มข้นเป็นแถบแคบมากในระหว่างการเคลื่อนที่ผ่านส่วนสแตคกิงเจล ก่อนที่จะเกิดการแยกระหว่างการเคลื่อนที่ในส่วนเซเปเรติงเจล

2.7.4.1 กลไกการแยกสารด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไม่ต่อเนื่อง

สารละลายบัฟเฟอร์ที่อยู่ในอ่างอิเล็กโทรด เป็นทริส-ไกลซีน มีค่า pH เท่ากับ 8.3 ซึ่งค่า pH นี้อาจเท่ากับ pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ของเจลส่วนเซเปเรติงเจลก็ได้ ไกลซีนเป็นกรดอ่อนมีค่า pK_a 9.6 เพราะฉะนั้นที่ pH 6.7 ในสารตัวอย่างและในสแตคกิงเจล ไกลซีนแตกตัวได้น้อยมากทำให้เคลื่อนที่ช้าจึงเรียกไกลซีนว่าไอออนตาม (trailing ion) ในขณะที่คลอไรด์ไอออน (Cl^-) มีการเคลื่อนที่สูงเป็นไอออนนำ (leading ion) ส่วนโปรตีนมีการเคลื่อนที่อยู่ระหว่างคลอไรด์ไอออนและไกลซีน เมื่อเริ่มต้นการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส ไอออนนำอยู่ในเจลขณะที่ไอออนตามอยู่ในอิเล็กโทรดบัฟเฟอร์ ต่อมาเมื่อให้สนามไฟฟ้าไอออนทั้ง 2 ชนิดจะเคลื่อนที่ไปหาขั้วบวก (anode)

โดยที่คลอไรด์ไอออนเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าโปรตีนและไกลซีน คลอไรด์ไอออนจะเคลื่อนที่ห่างจากไกลซีนโดยมีแถบที่มีการนำไฟฟ้าที่ต่ำกว่าอยู่ข้างหลัง เนื่องจากค่าการนำไฟฟ้าจำเพาะเป็นสัดส่วนกลับกับความเข้มข้นของสนามไฟฟ้า เพราะฉะนั้นแถบนี้จึงมีเกรเดียนต์ของความต่างศักย์ไฟฟ้าที่สูงกว่า ซึ่งจะเร่งให้ไกลซีนเคลื่อนไล่ตามคลอไรด์ไอออน การเคลื่อนที่ของโปรตีนที่มีประจุลบและไกลซีนจะถูกเร่งจนกระทั่งไอออนที่มีประจุเหล่านี้ มีอัตราเร็วในการเคลื่อนที่เท่ากัน โปรตีนถูกทำให้เข้มข้นเป็นแถบที่แคบมากเรียกว่า protein stack เนื่องจากส่วนสแตคกิงเจลมีขนาดรูพรุนใหญ่ จึงไม่มีการแยกโดยอาศัยขนาดรูพรุนหรือผลของตะแกรงร่อนโมเลกุล

เมื่อแถบของโปรตีนเคลื่อนที่เข้าสู่ส่วนของเซเปเรติงเจลจะพบความแตกต่างของความเข้มข้นของเจลระบบบัฟเฟอร์และ pH ค่า pH ในส่วนนี้มีค่าสูงกว่ามากคือ 8.9 มีผลทำให้ไกลซีนแตกตัวเพิ่มขึ้นหลายเท่า เพราะฉะนั้นจึงเคลื่อนที่ได้เร็ว ทำให้ไล่ทันโปรตีน และเริ่มที่จะเคลื่อนที่ตามหลังคลอไรด์ไอออนอย่างใกล้ชิด ในขณะเดียวกัน ขนาดรูพรุนก็เล็กลงอย่างเด่นชัด ทำให้ลดการเคลื่อนที่ของโปรตีน โดยผลของตะแกรงร่อนโมเลกุลของเจลเหล่านี้ทำให้โปรตีนไม่ถูกบีบเป็นแถบแคบ แต่จะเคลื่อนที่ในบริเวณที่มีความต่างศักย์ไฟฟ้าที่สม่ำเสมอ และมีค่า pH คงที่ และจะถูกแยกเป็นแถบ ตามความแตกต่างของขนาดและประจุสุทธิ

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

กุ้งกุลาดำที่ใช้ในการศึกษานี้ได้รับจากภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาในสภาพเยือกแข็ง ตัวอย่างกุ้งกุลาดำมีทั้งหมด 9 กลุ่มทดลอง แตกต่างกันตามสภาวะที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ 9 สภาวะ คือ ระดับความเค็มของน้ำที่ใช้เลี้ยง 3 ระดับ คือ 10, 20 และ 30 ppt และปริมาณของแร่ธาตุในอาหารเลี้ยงสำเร็จรูป 3 ระดับ คือ 0, 1 และ 3% (ภาคผนวก ก) กุ้งกุลาดำ (อายุ 3 เดือน) ถูกเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ขนาด 2 ลูกบาศก์เมตร เป็นเวลา 1 เดือน (จำนวน 3 บ่อ/สภาวะ) เมื่อครบกำหนด 1 เดือน กุ้งกุลาดำทั้งหมดถูกจับมาแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 เครื่องมือสำหรับเตรียมตัวอย่าง

1. ตู้แช่แข็ง (รุ่น Ult 7150-7-V15)
2. ตู้แช่แข็ง (รุ่น Ult 1786-9-V14)
3. เครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศ (Audiovac VM201)
4. ถุงสุญญากาศ (Saran) ขนาด 190×270 มิลลิเมตร
5. ถาดโฟม
6. ไม้บรรทัดขนาดยาว 1 ฟุต
7. เวอร์เนีย (vernier caliper)

3.2.2 เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพ

1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (รุ่น BA 4100 S, Sartorius)
2. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (รุ่น AC 211S, Sartorius)
3. เครื่องวิเคราะห์โปรตีน (Buchi รุ่น 323, Switzerland)
4. เครื่องวิเคราะห์ไขมัน (Gerhardt, S300AK)
5. เตาเผา (Carbolite, RWE 1200)
6. ตู้อบลมร้อน (Model : 1350 FX)
7. โถดูดความชื้น (desicater)

1.6 ปริมาณความชื้น (moisture) วิเคราะห์แบบ gravimetric method คือ อบเนื้อกุ้งกุลาดำบด 2 กรัมที่อุณหภูมิ 105 °C จนได้น้ำหนักคงที่ (AOAC, 1990) (ภาคผนวก ข)

1.7 ปริมาณสารที่ไม่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (N-free extract) เป็นค่าผลต่างระหว่าง 100 กับผลรวมปริมาณของโปรตีนรวม เถ้า ไขมันรวม น้ำ

3.4.4 การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี (muscle chemistry) ของกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำเยือกแข็ง

3.4.4.1 วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

โดยการเจือจางเนื้อกุ้งกุลาดำบดด้วยน้ำกลั่น (1:5, w/v) แล้ววัดค่าโดยใช้ pH-meter (Ben-gigirey et al.,1999) ที่อุณหภูมิ 25 °C

3.4.4.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในน้ำ (water soluble protein)

ดัดแปลงจากวิธีของ Anderson และ Ravesi (1969) และ Liccardello และคณะ (1982) โดยนำเนื้อกุ้งกุลาดำบดผสมกับ 0.05M phosphate buffer (pH 7) ในอัตราส่วน 4:80 (g:mL) แล้วทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenization) เป็นเวลา 10 วินาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3500 × g เป็นเวลา 30 นาที แล้วทำการแยกส่วนใส (supernatant) เพื่อนำมาปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วย 0.05M phosphate buffer (pH 7) ส่วนนี้ คือ water-soluble fraction นำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีของ Bradford (1976) ตามภาคผนวก ฉ

3.4.4.3วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือ(salt soluble protein)

ดัดแปลงจากวิธีของ Anderson and Ravesi (1969) และ Liccardello และคณะ (1982) โดยนำส่วนที่เหลือเป็นตะกอนหลังการแยก water-soluble fraction ออกจากเนื้อกุ้งกุลาดำมาผสมกับ 0.05M phosphate buffer (pH 7) ที่มี KCl (0.6M) จำนวน 80 มิลลิลิตร แล้วทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenization) เป็นเวลา 10 วินาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3500 × g เป็นเวลา 30 นาที แยกส่วนใส (supernatant) เพื่อนำมาปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วย 0.05M phosphate buffer (pH 7) ที่มี KCl (0.6M) ส่วนนี้ คือ salt-soluble fraction ซึ่งนำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีของ Bradford (1976) ตามภาคผนวก ฉ

3.4.4.4 วิเคราะห์สัดส่วนของโปรตีนในเนื้อกุ้งกุลาดำ

ซึ่งได้แก่ โปรตีนที่มีชื่อว่า myosin heavy chain (MHC), tropomyosin, (Tmyo), myosin light chain (LC) โดยนำตัวอย่างโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือที่เตรียมจากข้อ

3.4.2.2.3 มาวิเคราะห์ด้วยวิธี Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) มีวิธีการทำดังนี้

1. การเตรียมตัวอย่างกุ้งกุลาดำสำหรับนำมาแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า

นำส่วนใสที่กรองได้จากข้อ 3.4.4.3 ผสมกับแซมเปิลบัฟเฟอร์ ที่มี 0.5 โมลาร์ ทริส-คลอไรด์/เอสดีเอส pH 6.8 7 มิลลิลิตร กลีเซอรอล (30% ปริมาตรต่อปริมาตร) 3.0 มิลลิลิตร เอสดีเอส (1% น้ำหนักต่อปริมาตร) 1 กรัม 2-เมอร์แคปโตเอธานอล หรือ ไดไธโอไธรทอล (dithiothreitol, DTT) 0.93 กรัม และโบรโมฟีนอล บลู 1.2 มิลลิกรัม (0.0012% น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วเก็บไว้ในที่เย็น 4 °C เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

2. การเตรียม 12.5% เซเปเรติงเจล

ทำการเตรียมประกอบชุดสำหรับแยกโปรตีน หรือ gel sandwich ก่อน โดยนำแผ่นกระจกที่จะใช้เตรียมเจลหนึ่งคู่ (glass-plate sandwich) ของอุปกรณ์สำหรับทำอิเล็กโทรโฟเรซิส พร้อมกับ spacer ขนาด 0.75 mm โดยทำตามคู่มือ และทำการล็อกแผ่นกระจกคู่นั้น (sandwich) กับ casting stand แล้วใส่น้ำกลั่นจนเต็มทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที เพื่อทดสอบว่า gel sandwich รั่วหรือไม่ ถ้ารั่วต้องประกอบใหม่ จากนั้นนำสารละลายบิส-อะคริลาไมด์ เซเปเรติงบัฟเฟอร์ และน้ำกลั่นมาผสมตามตารางที่ 3.1 ในบีกเกอร์คนให้เข้ากัน แล้วเติมแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต และทีเมต ผสมให้เข้ากัน ขั้นนี้ต้องทำอย่างรวดเร็วเนื่องจากเจลเริ่มเกิดการพอลิเมอไลซ์ เทน้ำกลั่นออกจาก gel sandwich ใช้ออโตปิเปตดูดสารละลายเซเปเรติงเจลใส่ใน gel sandwich ที่เตรียมไว้ ระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศในเจล ใส่จนกระทั่งสารละลายอยู่ต่ำกว่าระดับของหวีประมาณ 0.5 เซนติเมตร แล้วค่อยๆ เติมน้ำกลั่นลงไปบนเซเปเรติงเจลจนกระทั่งเต็ม gel sandwich เพื่อให้ผิวหน้าเจลเรียบ ทิ้งให้เจลเกิดพอลิเมอไลซ์ประมาณ 45-60 นาที จะเห็นเจลแยกชั้นกับส่วนที่เป็นน้ำได้อย่างชัดเจน แล้วเทน้ำที่ใส่ไว้ออกให้หมด

3. การเตรียม 3.9% สแตคกิงเจล

นำสารละลายบิส-อะคริลาไมด์ สแตคกิงบัฟเฟอร์ และน้ำกลั่นผสมกันตามตารางที่ 3.1 ในบีกเกอร์คนให้เข้ากัน เติมแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต และทีเมต (TEMED) ผสมให้เข้ากัน ใช้ออโตปิเปตดูดสารละลายสแตคกิงเจลใส่ไปบนเซเปเรติงที่เตรียมไว้ในข้อ 2 ใส่จนกระทั่งสารละลายเกือบเต็ม gel sandwich ค่อยๆ ใส่หวีลงไปด้านบนของสแตคกิงเจล ระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศ ทิ้งให้เจลเกิดพอลิเมอไลซ์ประมาณ 30 นาที

4. การหยอดสารตัวอย่าง

เมื่อสแตคกิงเจลพอลิเมอไลซ์สมบูรณ์แล้วค่อยๆดึงหวีออกระวังอย่าให้ช่องหลุม (well) ที่จะเอาไว้ใส่ตัวอย่างเกิดการฉีกขาดได้ นำ gel sandwich ไปใส่กับถาด (chamber) และเติม

1.25 โมลาร์ เอสดีเอส-อิเล็กโทรโฟรีซิสบัฟเฟอร์ ลงไปในถาด จนกระทั่งบัฟเฟอร์ท่วมช่องหลุมของสแตคกิงเจล นำตัวอย่างที่เตรียมไว้มาให้ความร้อนที่ 100 ^{o}C ทำการหยอด (load) ตัวอย่างโปรตีนที่ได้ โดยกำหนดให้โปรตีนในแต่ละหลุมมีปริมาณรวมเท่ากันคือ 30 ไมโครกรัมต่อหลุม ใช้สารละลายโปรตีนมาตรฐานของบริษัท BioLabs เป็นเครื่องหมายเอาไว้เปรียบเทียบกับตัวอย่าง ทำการเชื่อมต่อเครื่องกับเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า และเริ่มการทำงานโดยใช้กระแสไฟฟ้าคงที่ 24 มิลลิแอมแปร์ รอจนกระทั่งสีย้อมโบรโมฟีนอลบลู ใกล้ถึงส่วนล่างสุดของเจล ใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง จากนั้นปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า ถอดปลั๊กที่เชื่อมต่อกับเจลออก ย้าย gel sandwich ออกจากถาด เทบัฟเฟอร์ออกแล้วย้ายเจลออกจากแผ่นกระจกไปไว้ในกล่องที่เตรียมไว้สำหรับย้อมเจล ตัดมุมเจลออกเล็กน้อยเพื่อให้ทราบทิศทางของการหยอดสารตัวอย่าง นำเจลไปย้อมด้วยสารละลายสีโคแมสซีบลู จนเห็นแถบโปรตีนชัดเจน จากนั้นนำไปล้างสีออกด้วยสารละลายล้างสี ที่ประกอบด้วย 10% acetic acid คอยเปลี่ยนสารละลายทุกๆ 30 นาที จนกระทั่งพื้นหลังไม่มีสี

ตารางที่ 3.1 การเตรียม 12.5%v/v เซเปเรติงเจล และ 3.9%v/v สแตคกิงเจล

สารเคมี	12.5% เซเปเรติงเจล(μl)	3.9% สแตคกิงเจล(μl)
สารละลายบิส-อะคริลาไมด์	4,170	650
เซเปเรติงบัฟเฟอร์ pH 8.8	2,500	-
สแตคกิงบัฟเฟอร์ pH 6.8	-	1,250
น้ำกลั่น	3,330	3,050
10% แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต	50	25
ทีเมต (TEMED)	5	5

5. การถ่ายภาพและการวัดปริมาณความเข้มของแถบโปรตีนโดยใช้โปรแกรม GeneSnap ในการถ่ายภาพและโปรแกรม GeneTool ในการวิเคราะห์ผลภาพของเครื่อง Gel document วัดค่าเป็น Raw volume ที่ความกว้างของ peak เท่ากับ 7 pixel ของแถบโปรตีนไมโอซิน เทียบเป็นร้อยละต่อแถบโปรตีนแอคตินหรือเขียนเป็นสมการได้ว่า

$$\text{Relative percentage areas} = \frac{\text{myosin heavy chain band area}}{\text{Actin band area}} \times 100$$

3.4.5 การศึกษาความแข็งแรงของโครงสร้าง (muscle integrity) ของกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำเยือกแข็ง

3.4.5.1 วัดค่าความแน่นเนื้อของเนื้อกุ้งกุลาดำ (hardness)

วัดค่าความแน่นเนื้อด้วยเครื่อง TA.XT2 Texture Analyzer (Stable Micro System,England) เลือกใช้ puncture test โดยใช้หัววัด (probe) แบบ flat cylinder (P/6) เพื่อ

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

เลียนแบบการวัดเนื้อสัมผัสโดยใช้นิ้วมือ (Sigurgisladottir et.at., 1999) ค่าความแน่นเนื้อของเนื้อกุ้งที่ได้จากเครื่องคือ แรง (นิวตัน) ที่ใช้ในการกดเนื้อกุ้งลงไปจากตำแหน่งเริ่มต้น 2 มิลลิเมตร โดยการวัดจะทำการวัดที่ตำแหน่งปล้องที่ 2 ของตัวกุ้ง (ใช้กุ้ง 15 ตัวต่อชุดการทดลอง)

3.4.5.2 วัดค่าความเหนียวของเนื้อกุ้งกุลาดำ (toughness)

วัดค่าความเหนียวด้วยเครื่อง TA.XT2 Texture Analyzer โดยเลือก cutting test ใช้หัววัด Warner-Bratzler blade เพื่อเลียนแบบการกัดเนื้อกุ้งด้วยฟันหน้า และการเคี้ยวด้วยฟันด้านข้าง ตามลำดับ (Srinivasan et al.,1999;Sigurgisladottir et.al.,1999) ค่าความเหนียวของเนื้อกุ้งที่ได้จากเครื่องคือ แรงเฉือน (shear force, นิวตัน) ที่ใช้ในการตัดเนื้อกุ้งออกเป็น 2 ส่วน โดยการวัดจะทำการวัดที่บริเวณปล้องที่ 2 ของตัวกุ้ง (ใช้กุ้ง 15 ตัวต่อชุดการทดลอง)

3.4.6 การศึกษาปริมาณการสูญเสียน้ำหนักจากการทำให้สุกของเนื้อกุ้งกุลาดำ

3.4.6.1 วัดปริมาณการสูญเสียจากการทำให้สุก (% cooking loss)

นำตัวอย่างกุ้งในแต่ละชุดการทดลองมาชั่งน้ำหนัก แล้วนำตัวอย่างที่ชั่งน้ำหนักแล้วมาต้มน้ำเดือด 1 ลิตร ประมาณ 45 วินาที นำขึ้นมาวางไว้ให้เนื้อกุ้งเย็นลงเล็กน้อย แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก แล้วนำค่าที่ได้มาแสดงในเทอมของร้อยละของน้ำหนักที่สูญเสียไประหว่างการต้มต่อน้ำหนักเริ่มต้นของกุ้งก่อนต้ม โดยในการทำแต่ละครั้งจะทำ 2 ตัวอย่าง เพื่อไม่ให้กุ้งที่ผ่านการต้มมานั้นแห้งจนเกินไป และเพื่อเป็นการควบคุมอุณหภูมิ (Srinivasan et. Al., 1999)

3.4.7 การวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุก

3.4.7.1 วัดลักษณะเนื้อสัมผัสแบบ Texture Profile Analysis (TPA)

นำเนื้อกุ้งกุลาดำในแต่ละกลุ่มมาต้มในน้ำเดือดปริมาตร 2 ลิตร เป็นเวลา 45 วินาที แล้ววัดค่าความแข็ง (Hardness) ความแตกเปราะ (Fracturability) การตอบสนองต่อการเคี้ยว (Chewiness) ด้วยเครื่อง TA. XT2 Texture Analyzer (Stable Micro System, England) โดยใช้หัววัดแบบทรงกระบอกที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร (P/50) เพื่อเลียนแบบการเคี้ยว

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลการทดลองหาค่าความแปรปรวน (ANOVA) โดยวิเคราะห์ข้อมูลแบบ 3 ×3 factorial design ในกรณีที่พบว่ามีผลของปัจจัยที่ศึกษามีความสำคัญต่อลักษณะที่ศึกษาของกุ้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจะทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากแต่ละสภาวะการเลี้ยงแบบ Duncan's multiple comparison (α=0.05)

214201

639.68
ง 382 ก
น.2

3.4.7.2 การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็ง

นำกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่เยือกแข็งต้องทำให้กุ้งคลายเย็น (thaw) ด้วยการใช้น้ำประปาไหลผ่านกุ้งเป็นเวลา 30 นาที ก่อนมาต้มให้สุก วิธีการต้มกุ้งทำโดยต้มกุ้ง (20 ตัว) ในน้ำเดือด 1 ลิตร เป็นเวลา 45 วินาที ทิ้งให้เย็นลงบนถาดจนมีอุณหภูมิประมาณ 40°C จากนั้นทำการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสทันที โดยวิธีในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส 2 แบบ คือ

1. Descriptive analysis

โดยเลือกแบบ Quantitative Descriptive Analysis (QDA) โดยได้มีการซักซ้อมกลุ่มผู้ทดสอบอายุประมาณ 30-40 ปี ซึ่งเป็นอาจารย์และเจ้าหน้าที่ของคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จำนวน 8 คน ได้มีการซักซ้อมเป็นจำนวน 3 ครั้ง เพื่อให้กลุ่มผู้ทดสอบมีประสบการณ์ในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของอาหารทะเล ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณาของกุ้งต้มสุก ในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติและเนื้อสัมผัส และเพื่อทำการสร้างคำ และความหมายและสารมาตรฐานทางด้านประสาทสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุก ผู้ทดสอบให้คะแนนโดยการทำเครื่องหมาย X บนเส้นคะแนนซึ่งมีความยาว 15 ซม. แสดงดังภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์คะแนนจากลักษณะต่างๆ ของกุ้งกุลาดำต้มสุก ที่ได้จากการประเมินผลทางประสาทสัมผัสแบบ Quantitative Descriptive Analysis (QDA) สภาวะในการเลี้ยงกุ้ง (ระดับความเค็ม และปริมาณอาหารเสริม) เป็น treatment หาค่าความแปรปรวน (ANOVA) ในกรณีที่พบว่ามีผลของปัจจัยที่ศึกษามีความสำคัญต่อลักษณะที่ศึกษาของกุ้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เลือกใช้การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากแต่ละสภาวะการเลี้ยงแบบ Duncan'multiple comparison (α=0.05)

2. Hedonic scaling

ทำการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของกลุ่มผู้ทดสอบที่มีต่อเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุก โดยให้คะแนนความชอบด้วยวิธี 9-Point Hedonic scale คือ 9 = ชอบมากที่สุด และ 1 = ไม่ชอบที่สุด ในด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม แสดงดังภาคผนวก จ โดยใช้ผู้ทดสอบ 8 คน วิเคราะห์ข้อมูลทางประสาทสัมผัส โดยวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดยให้ผู้ทดสอบเป็น block และหาค่าความแปรปรวน (ANOVA) ในกรณีที่พบว่ามีผลของปัจจัยที่ศึกษามีความสำคัญต่อลักษณะที่ศึกษาของกุ้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากแต่ละสภาวะการเลี้ยงแบบ Duncan'multiple comparison (α=0.05)

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

ในงานวิจัยนี้ ใช้แผนการทดลอง การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ แบบ 2 Factors Factorial Design โดยแปรระดับความเค็มน้ำเป็น 3 ระดับ คือ 10, 20 และ 30 ppt. และแปรระดับปริมาณของแร่ธาตุที่เพิ่มในอาหารสำเร็จรูปเป็น 3 ระดับ คือ 1%, 3% และที่ไม่ได้เพิ่มแร่ธาตุ ดังนั้นในการศึกษานี้มีกลุ่มตัวอย่างกุ้งกุลาดำจำนวนทั้งหมด 9 กลุ่มตามสภาวะของการเลี้ยงที่แตกต่างกัน โดยกลุ่มทดลองควบคุม คือ สภาวะการเลี้ยงกุ้งที่ไม่เสริมแร่ธาตุ ที่ระดับความเค็มของน้ำ 20 ppt. ซึ่งเมื่อครบกำหนดเวลาของการเลี้ยงกุ้งกุลาดำกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในแต่ละกลุ่มทดลองถูกนำมาแช่เยือกแข็งทั้งเปลือกและเก็บ ที่อุณหภูมิ –18 °C เป็นเวลา 7 เดือนก่อนการนำมาคลายเย็น เด็ดหัว และปอกเปลือกกุ้ง นำเนื้อกุ้งที่ได้มาเก็บที่สภาวะเยือกแข็งตามรายละเอียดในวิธีการดำเนินการทดลอง

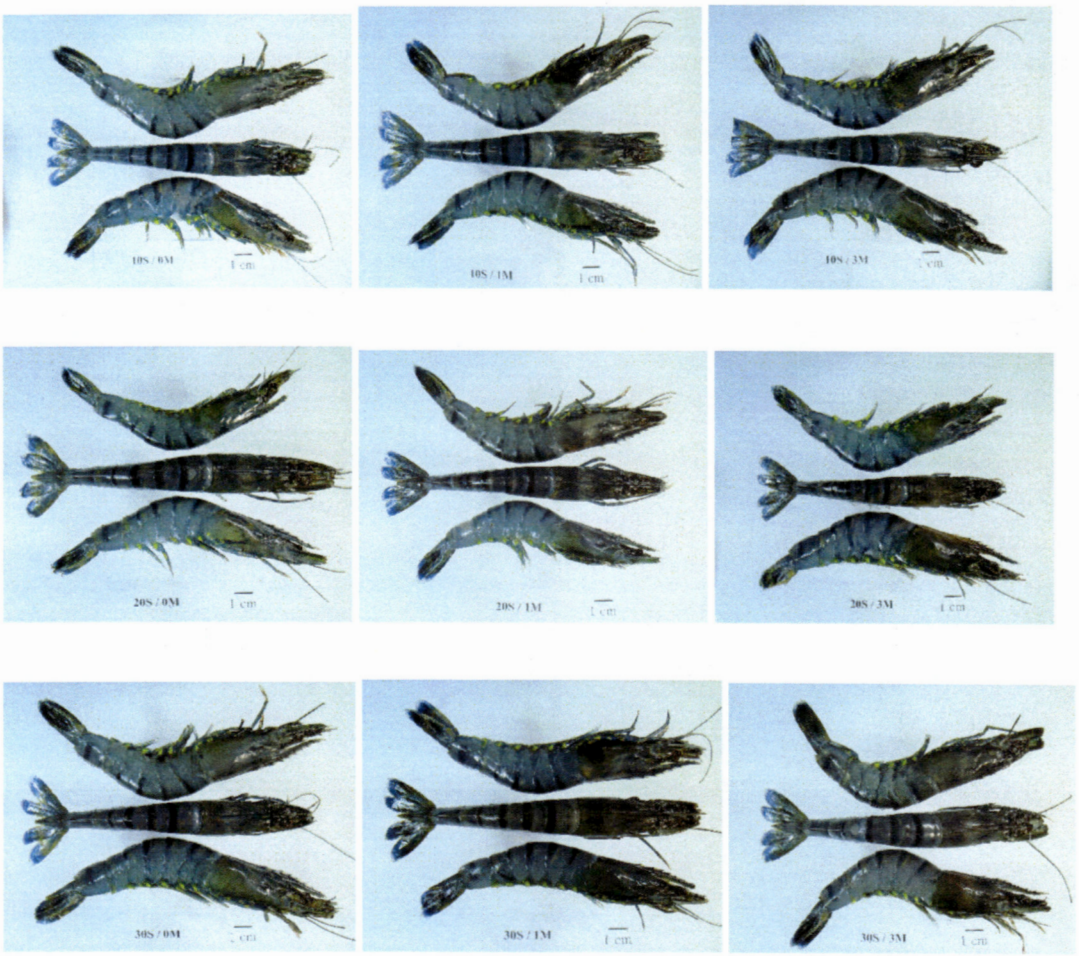
4.1 ผลการศึกษาลักษณะของกุ้งกุลาดำที่ใช้ในการทดลอง

ลักษณะปรากฏกุ้งกุลาดำทั้งหมดที่ใช้ในการศึกษานี้ แสดงในภาพที่ 4.1 กุ้งกุลาดำในแต่ละกลุ่มทดลองนั้น มีลักษณะปรากฏที่คล้ายคลึงกัน เป็นไปตามลักษณะตามธรรมชาติของกุ้งกุลาดำ แต่มีข้อสังเกตว่า สีเปลือกลำตัวของกุ้งมีสีน้ำเงินอมเหลือง และ มีแถบสีเหลืองที่โคนขาว่ายน้ำ ชัดเจนมาก อย่างไรก็ตามไม่พบลักษณะสีม่วงที่เปลือกกุ้งในแต่ละกลุ่มทดลอง (สีม่วงที่เปลือกกุ้งเป็นลักษณะที่บ่งชี้ว่ากุ้งได้มีการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพไปก่อนการวิเคราะห์)

สำหรับความยาวเฉลี่ยและน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำและปริมาณแร่ธาตุในอาหาร ที่ระดับต่างๆนั้น แสดงในตารางที่ 4.1 และ4.2 ตามลำดับ กุ้งที่ใช้ในการศึกษานี้มีค่าความยาวเฉลี่ย 12.58 ซม/ตัว และ น้ำหนักเฉลี่ย 13.61 กรัม/ตัว ตามลำดับ จัดว่าเป็นกุ้งที่มีขนาดปานกลาง คือ 70-75 ตัวต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นขนาดที่สามารถขายในตลาดได้

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมจากปัจจัยที่ศึกษาทั้งสอง คือ ระดับความเค็มของน้ำ และ ปริมาณแร่ธาตุในอาหารเลี้ยง ต่อค่าความยาวและน้ำหนักของกุ้งกุลาดำ แต่พบว่าระดับความเค็มของน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งมีผลต่อความยาวและน้ำหนักของกุ้งกุลาดำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยที่ระดับความเค็ม 30 ppt. กุ้งมีค่าเฉลี่ยของความยาวและน้ำหนักลดลงเล็กน้อยกว่ากุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 20 และ 10 ppt.



ภาพที่ 4.1 ลักษณะปรากฏของกุ้งกุลาดำ 9 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยความเค็มของน้ำ 3 ระดับ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป 3 ระดับ

แถวบน เป็นภาพถ่ายกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 10 ppt.

แถวกลาง เป็นภาพถ่ายกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 20 ppt.

แถวล่าง เป็นภาพถ่ายกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt.

ในแต่ละแถว ภาพถ่ายเรียงจากซ้ายไปขวา คือ ปริมาณแร่ธาตุที่ระดับ 0% , 1% และ 3% ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 ค่าความยาวเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)	ความยาว (เซนติเมตร/ตัว) ค่าเฉลี่ย* ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยง (%) NS			Main Effect
	0	1	3	
10	12.79±0.70	12.79±0.72	12.39±0.82	12.66 A
20	12.86±0.71	12.57±0.56	12.64±0.66	12.69 A
30	12.10±0.91	12.56±0.55	12.45±0.71	12.37 B

* ค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 7 ข้อมูล

A,B ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

NS หมายความว่าปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยงไม่มีผลกับความยาวของกุ้งกุลาดำ

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-1)

ตารางที่ 4.2 ค่าน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)	น้ำหนักกุ้ง (กรัม/ตัว) ค่าเฉลี่ย* ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยง (%) NS			Main Effect
	0	1	3	
10	14.32±2.18	14.09±2.51	13.72±3.60	14.04 A
20	14.07±2.27	13.83±1.80	13.63±2.68	13.84 A
30	11.75±1.81	13.24±1.86	13.56±2.53	12.85 B

* ค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 7 ข้อมูล

A,B ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

NS หมายความว่าปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยงไม่มีผลกับน้ำหนักของกุ้งกุลาดำ

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-2)

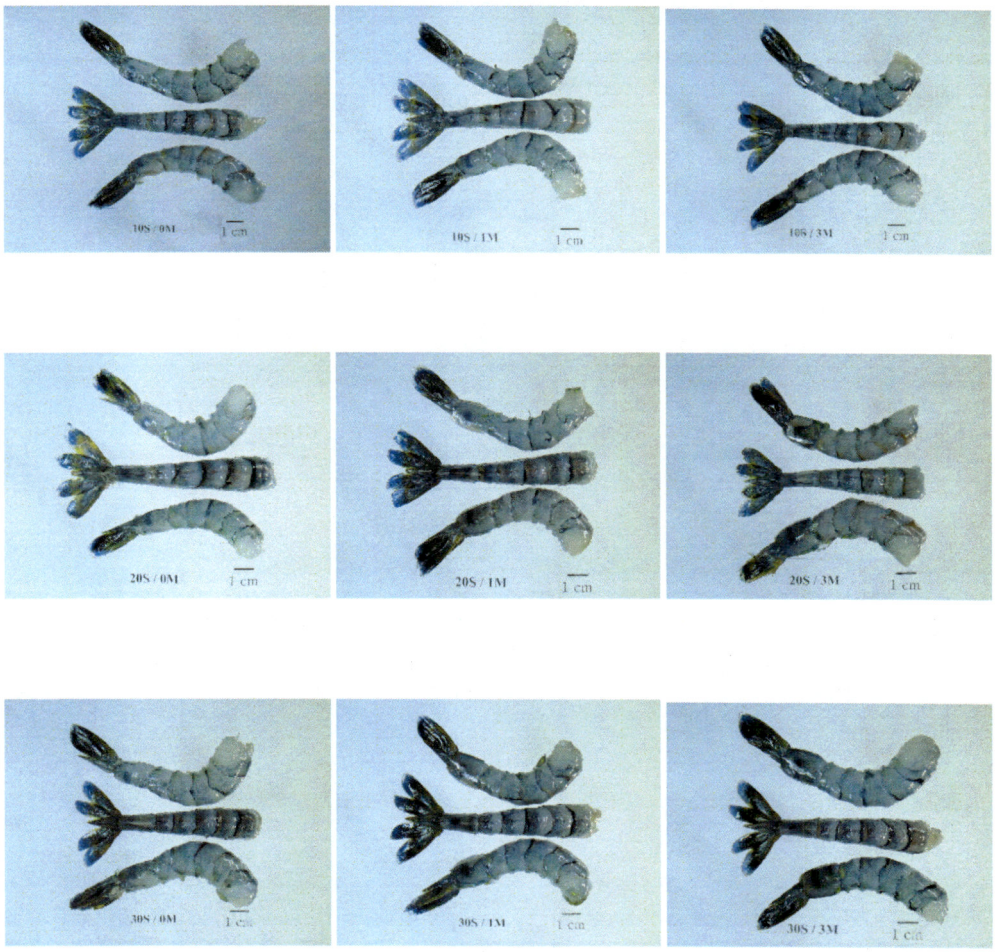
4.2 ผลการศึกษาลักษณะทั่วไปของเนื้อกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำแต่ละกลุ่มทดลองที่ผ่านการวัดความยาวและชั่งน้ำหนักก่อนปอกเปลือกแล้ว ถูกนำมาเด็ดหัว และปอกเปลือกออกเพื่อหาน้ำหนักเฉลี่ย และความหนาของเนื้อกุ้งที่ตำแหน่งปล้องที่สามก่อนนำไปเนื้อกุ้งแช่เยือกแข็งตามสภาวะที่กำหนด

ลักษณะปรากฏของเนื้อกุ้งกุลาดำแสดงในภาพที่ 4.2 กล่าวได้ว่าเนื้อกุ้งกุลาดำในแต่ละกลุ่มทดลองมีลักษณะปรากฏที่ดี มีความสด และมีสีตามธรรมชาติของของเนื้อกุ้งกุลาดำ แต่มีข้อสังเกตว่ามีของเหลวสีน้ำเงินเข้มไหลซึมออกจากตัวกุ้งค่อนข้างมากในระหว่างการแกะเปลือก คาดว่าเป็นผลสืบเนื่องมาจากการที่เซลล์ของเนื้อกุ้งเกิดมีการฉีกขาดระหว่างการแช่เยือกแข็ง ซึ่งเมื่อนำกุ้งมาทำให้คลายเย็นก่อนการแกะเปลือก ผลึกน้ำแข็งในเซลล์กุ้งละลายระหว่างการคลายเย็น น้ำ และสารที่ละลายในน้ำ เช่นรงควัตถุในเซลล์เนื้อกุ้งสามารถไหลซึมออกมาได้

สำหรับน้ำหนักเฉลี่ย และความหนาเฉลี่ยของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งเลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำและปริมาณแร่ธาตุในอาหาร ที่ระดับต่างๆนั้น แสดงในตารางที่ 4.3 และ4.4 ตามลำดับ เนื้อกุ้งหลังการเด็ดหัวและปอกเปลือกมีค่าน้ำหนักเฉลี่ย 6.27 กรัม/ตัว ซึ่งเมื่อคำนวณเทียบกับน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งก่อนการแกะเปลือก พบว่า ส่วนหัวและเปลือกกุ้งมีน้ำหนักรวมกันสูงถึง 54% ของน้ำหนักกุ้งทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมจากปัจจัยที่ศึกษาทั้งสอง คือ ระดับความเค็มของน้ำ และ ปริมาณแร่ธาตุในอาหารเลี้ยง ต่อค่าน้ำหนักและความหนาของเนื้อกุ้งกุลาดำ แต่พบว่าระดับความเค็มของน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งมีผลต่อน้ำหนักและความหนาของเนื้อกุ้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยที่ระดับความเค็ม 30 ppt. พบว่า เนื้อกุ้งมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักต่ำกว่าเนื้อกุ้งที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 20 และ 10 ppt. ประมาณ 0.5-0.7 กรัม



รูปที่ 4.2 ลักษณะปรากฏหลังปอกเปลือกของเนื้อกุ้งกุลาดำ 9 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยความเค็มของน้ำ 3 ระดับ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป 3 ระดับ

แถวบน เป็นภาพถ่ายเนื้อกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 10 ppt.

แถวกลาง เป็นภาพถ่ายเนื้อกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 20 ppt.

แถวล่าง เป็นภาพถ่ายเนื้อกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt.

ในแต่ละแถว ภาพถ่ายเรียงจากซ้ายไปขวา คือ ปริมาณแร่ธาตุที่ระดับ 0%, 1% และ 3% ตามลำดับ

ตารางที่ 4.3 ค่าน้ำหนักเฉลี่ยของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)	น้ำหนักเนื้อกุ้ง (กรัม/ตัว) ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยง (%) NS			Main Effect
	0	1	3	
10	6.66±1.13	6.67±1.20	6.34±1.48	6.55 A
20	6.43±0.99	6.08±0.98	6.61±1.47	6.38 A
30	5.49±1.08	5.92±0.92	6.25±1.27	5.88 B

* ค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 10 ข้อมูล

A,B ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

NS หมายความว่าปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยงไม่มีผลกับน้ำหนักของเนื้อกุ้งกุลาดำ

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-3)

ตารางที่ 4.4 ค่าเฉลี่ยความหนาที่ตำแหน่งปล้องที่สามของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)	ความหนา (มิลลิเมตร/ตัว) ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยง (%) NS			Main Effect
	0	1	3	
10	7.32±0.72	7.69±0.65	7.56±0.75	7.52 B
20	7.67±0.88	7.78±0.67	7.45±0.76	7.63 B
30	9.17±0.29	9.03±1.95	8.08±1.29	8.76 A

* ค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 10 ข้อมูล

A,B ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

NS หมายความว่าปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยงไม่มีผลกับความหนาของเนื้อกุ้งกุลาดำ

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-4)

4.3 ผลการศึกษาคุณภาพของเนื้อกุ้งกุลาดำที่เก็บแบบเยือกแข็ง

4.3.1 องค์ประกอบโดยประมาณทางเคมีของเนื้อกุ้งกุลาดำเยือกแข็ง

องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของเนื้อกุ้งกุลาดำเยือกแข็ง 9 กลุ่มทดลอง (ตารางที่ 4.5) พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในสภาพธรรมชาติ (มุทิตา ไทยวงศ์ , 2545) กล่าวคือ องค์ประกอบหลักของเนื้อกุ้งคือ น้ำและโปรตีน โดยมีปริมาณความชื้น (79.95%) ปริมาณไขมัน (0.43%) ปริมาณเถ้า (1.14%) ปริมาณโปรตีน (16.25%) และสารที่มีไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบที่ไม่ใช่โปรตีน (0.26%)

ตารางที่ 4.5 องค์ประกอบโดยประมาณของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ	อาหารเสริมแร่ธาตุ	องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก)					
		ความชื้น	ไขมัน	เถ้า	โปรตีน	สารไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน	คาร์โบไฮเดรต
10							
	0	81.32	0.56	0.95	15.86	0.21	0.89
	1	78.21	0.56	1.20	17.33	0.32	2.07
	3	80.50	0.22	0.92	15.26	0.22	2.67
20							
	0	78.74	0.05	1.18	18.61	0.27	0.88
	1	78.99	0.66	0.95	16.89	0.28	2.80
	3	79.05	0.42	2.44	16.56	0.28	0.97
30							
	0	80.96	0.73	0.94	13.81	0.29	2.98
	1	79.53	0.43	0.94	17.77	0.23	0.86
	3	82.29	0.25	0.80	14.18	0.27	1.95

ค่าที่แสดงได้จากการวิเคราะห์ 1 ครั้ง

4.4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี (muscle chemistry) ของกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำเยือกแข็ง

สมบัติทางชีวเคมีของโปรตีนในกล้ามเนื้อกุ้งที่สำคัญ คือ ค่า pH เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของค่า pH มีผลต่อการเสื่อมสภาพทางธรรมชาติของโปรตีนในเนื้อกุ้ง ค่าpH ของเนื้อกุ้งที่นำมาศึกษาทั้งหมดมีค่าใกล้เคียงกันและอยู่ในช่วงที่เป็นค่าปกติ คือ 7.07-7.20 ดังแสดงในตารางที่ 4.6 ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าสภาวะในการเลี้ยง และการเก็บเนื้อกุ้งก่อนนำมาวิเคราะห์ ไม่มีผลกระทบต่อค่า pH

ตารางที่ 4.6 ค่า pH ของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)	ค่า pH ปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยง (%)		
	0	1	3
10	7.18	7.07	7.20
20	7.07	7.27	7.20
30	7.20	7.19	7.20

ค่าที่แสดงได้จากการวิเคราะห์ 1 ครั้ง

เป็นที่ทราบกันดีว่า การแช่เยือกแข็งมีผลทำให้โปรตีนในสัตว์น้ำ เช่น เนื้อปลาทะเล เกิดการเสื่อมสภาพตามธรรมชาติเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บ ซึ่งการเสื่อมสภาพทางธรรมชาติอาจเกิดเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีน หรือเกิดการ cross – link ระหว่างสายโพลีเปปไทด์ พันธะทางเคมีที่เกี่ยวข้องได้แก่ disulfide bridge (-S-S-) หรือ methylene brigde ($-CH_2-CH_2-$) เป็นต้น เมื่อโปรตีนเสื่อมสภาพทางธรรมชาติ มักส่งผลให้มีค่าการละลายที่ลดลง ดังนั้นปริมาณโปรตีนที่ละลายในน้ำและในน้ำเกลืออาจใช้เป็นตัวบ่งบอกการเสื่อมเสียสภาพโปรตีนได้ (Benjakul และคณะ, 2005)

แนวทางหนึ่งของการศึกษาคุณภาพของโปรตีน คือ การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสมบัติชีวเคมีของโปรตีนในสภาวะที่มีการเยือกแข็งและคลายเย็นหลายรอบ ซึ่งสภาวะดังกล่าวเป็น สภาวะที่เอื้อต่อการเสื่อมสภาพในอัตราที่เร็วขึ้นของโปรตีนในเนื้อสัตว์ที่เก็บในสภาวะเยือกแข็ง

เพื่อให้สามารถประเมินถึงอิทธิพลของสภาวะการเลี้ยงกุ้ง(ระดับความเค็มของน้ำ และ ปริมาณแร่ธาตุในอาหาร) ต่อสมบัติของโปรตีนที่เปลี่ยนแปลงไปในกล้ามเนื้อกุ้งที่จากผลกระทบของการคลายเย็น ในการวิจัยนี้ได้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ละลายในน้ำ หรือซาร์โคพลาสมิกโปรตีน (Sarcoplasmic protein) และ ปริมาณโปรตีนที่ละลายในเกลือ หรือ โปรตีนกล้ามเนื้อ (Myofibrillar protein) จากเนื้อกุ้งที่ผ่านการคลายเย็น1, 2 และ 3 ครั้ง ตามลำดับ แสดงผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11 และ 4.12 อย่างไรก็ตาม พบว่าปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารนั้นจะไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีน และที่ระดับความเค็มของน้ำ 10 และ 20 ppt. พบว่าจำนวนครั้งในการละลายจะไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนในกล้ามเนื้อ ยกเว้นที่ระดับความเค็มของน้ำ 30 ppt. เมื่อจำนวนครั้งในการละลายเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งขัดแย้งกับทฤษฎีข้างต้น อาจมีสาเหตุเนื่องจาก เนื้อกุ้งที่ทำการศึกษานี้ได้ผ่านการแช่เยือกแข็งเป็นระยะเวลานาน 7 เดือน ก่อนที่นำมาศึกษา ดังนั้นโปรตีนในเนื้อกุ้งมีการเปลี่ยนแปลง ไปจากในสภาพเนื้อกุ้งสด ทำให้ปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้ในแต่ละครั้งของการคลายเย็น จึงไม่แสดงความแตกต่างอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบเนื้อกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มของน้ำสูง (30 ppt.) จะเห็นได้ว่าการเพิ่มจำนวนครั้งของการคลายเย็นมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนที่ละลายในน้ำและในเกลือมีแนวโน้มสูงขึ้น คาดว่าข้อผิดพลาดอาจเกิดได้จากการสุ่มตัวอย่างและการวิเคราะห์

ตารางที่ 4.7 ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในน้ำของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารไม่เสริมแร่ธาตุและความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)	ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในน้ำ (μg) ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	จำนวนครั้งของการคลายเย็น		
	0	1	3
10	24.44±2.92 ^{A}x	33.25±3.03 ^{A}x	30.40±3.48 ^{A}x
20	24.60±1.80 ^{A}x	32.06±3.37 ^{A}x	29.76±3.03 ^{A}x
30	16.59±0.34 ^{B}y	31.35±0.79 ^{A}x	30.32±2.69 ^{A}x

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 2 ข้อมูล

^{AB} ค่าในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

^{XY} ค่าในแนวนอนที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-33)

ตารางที่ 4.8 ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในน้ำของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารเสริมแร่ธาตุ 1% และความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)	ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในน้ำ (μg) ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จำนวนครั้งของการคลายเย็น		
	0	1	3
10	$22.70 \pm 0.22^{AB}x$	$27.06 \pm 0.34^{B}x$	$28.10 \pm 2.92^{A}x$
20	$29.52 \pm 4.04^{A}x$	$36.75 \pm 0.34^{A}x$	$29.13 \pm 3.70^{A}x$
30	$20.48 \pm 2.47^{B}y$	$33.97 \pm 2.69^{A}x$	$33.89 \pm 1.46^{A}x$

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 2 ข้อมูล

^{AB} ค่าในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

^{XY} ค่าในแนวนอนที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-33)

ตารางที่ 4.9 ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในน้ำของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารเสริมแร่ธาตุ 3% และความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)	ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในน้ำ (μg) ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จำนวนครั้งของการคลายเย็น		
	0	1	3
10	$30.24 \pm 2.36^{A}x$	$32.30 \pm 1.91^{A}x$	$28.10 \pm 0.22^{A}x$
20	$23.89 \pm 1.46^{B}x$	$31.03 \pm 5.28^{A}x$	$29.44 \pm 2.81^{A}x$
30	$16.67 \pm 0.90^{C}y$	$30.48 \pm 1.12^{A}x$	$30.40 \pm 1.46^{A}x$

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 2 ข้อมูล

^{ABC} ค่าในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

^{XY} ค่าในแนวนอนที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-33)

ตารางที่ 4.10 ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารไม่เสริมแร่ธาตุและความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt)	ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในเกลือ (μg) ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	จำนวนครั้งของการคลายเย็น		
	0	1	3
10	25.63±2.36 ^{A}x	28.49±3.25 ^{A}x	28.89±1.12 ^{A}x
20	21.43±2.02 ^{AB}y	24.84±0.11 ^{A}y	33.33±1.80 ^{A}x
30	19.68±0.22 ^{B}y	16.27±0.56 ^{B}y	32.22±6.73 ^{A}x

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 2 ข้อมูล

^{ABC} ค่าในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

^{XY} ค่าในแนวนอนที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-34)

ตารางที่ 4.11 ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารเสริมแร่ธาตุ 1% และความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)	ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในเกลือ (μg) ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	จำนวนครั้งของการคลายเย็น		
	0	1	3
10	20.32±3.14 ^{A}x	22.78±2.36 ^{A}x	21.98±5.95 ^{A}x
20	15.87±0.45 ^{A}y	22.06±2.92 ^{A}y	31.90±2.92 ^{A}x
30	19.92±3.03 ^{A}y	18.25±0.67 ^{A}y	29.37±1.12 ^{A}x

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 2 ข้อมูล

^{ABC} ค่าในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

^{XY} ค่าในแนวนอนที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-34)

ตารางที่ 4.12 ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารเสริมแร่ธาตุ 3% และความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)	ปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในเกลือ (μg) ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	จำนวนครั้งของการคลายเย็น		
	0	1	3
10	$17.14\pm1.57^{A}y$	$26.67\pm2.47^{A}x$	$20.24\pm0.56^{B}y$
20	$18.97\pm0.56^{A}y$	$23.33\pm0.90^{A}xy$	$26.67\pm2.24^{A}x$
30	$21.19\pm1.68^{A}x$	$22.94\pm3.48^{A}x$	$21.19\pm0.79^{B}x$

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 2 ข้อมูล

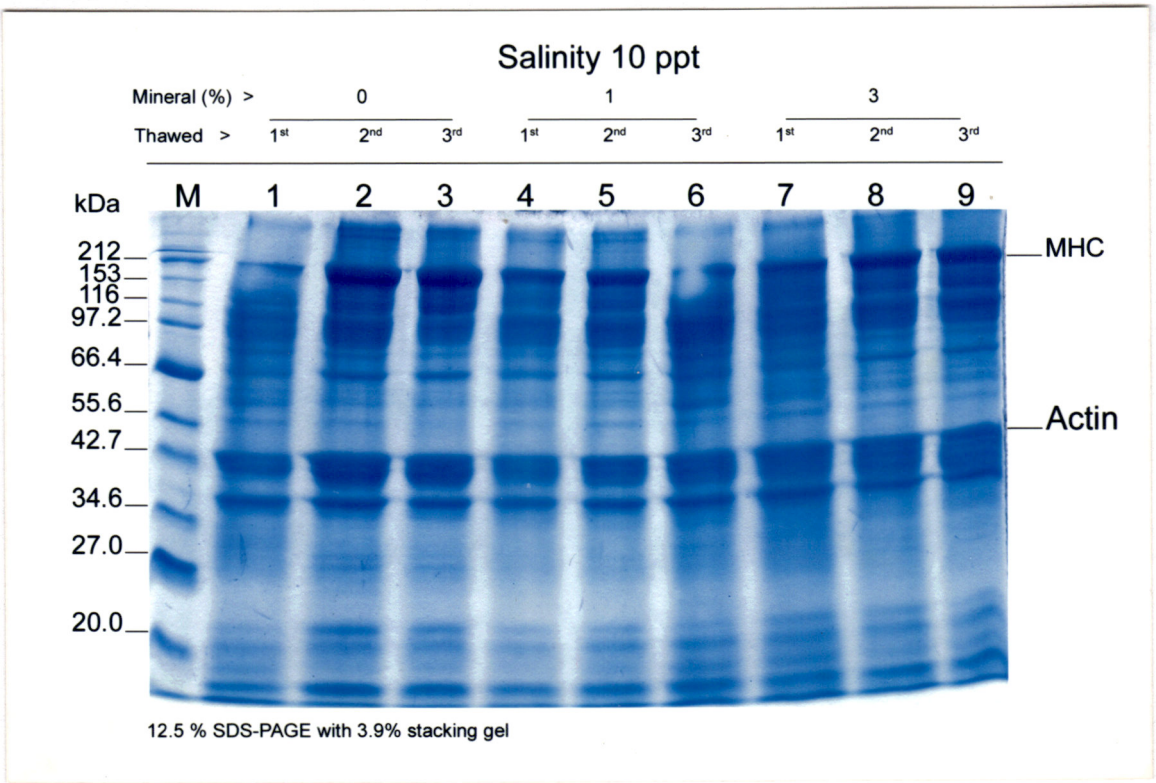
^{ABC} ค่าในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

^{XY} ค่าในแนวนอนที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-34)

การศึกษาสมบัติทางชีวเคมี โปรตีนกล้ามเนื้อในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เยือกแข็งนิยมใช้วิธี Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electeophoresis (SDS-PAGE) โดยโปรตีนแต่ละชนิดจะถูกแยกออกจากกันตามน้ำหนักมวลโมเลกุล ดังแสดงในภาพที่ 4.3, 4.4 และ 4.5 ตามลำดับ

ภาพที่ 4.3 แสดงแถบโปรตีนที่ได้จากการทำ SDS-PAGE จากเนื้อกุ้งที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 10 ppt. ในทำนองเดียวกันภาพที่ 4.4 และ 4.5 เป็นแถบโปรตีนที่ได้จากการทำ SDS-PAGE จากเนื้อกุ้งที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 20 และ 30 ppt. ตามลำดับ โดยในแต่ละภาพแถบโปรตีนคอลัมน์ที่ 1-3 หมายความว่าไม่มีการเสริมแร่ธาตุในอาหารเลี้ยง คอลัมน์ที่ 4-6 เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมแร่ธาตุ 1 % และคอลัมน์ที่ 7-9 เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมแร่ธาตุ 3 % จะเห็นได้ว่าแถบโปรตีน myosin heavy chain (MHC) แสดงเป็นแถบเข้มที่ระดับน้ำหนักมวลโมเลกุล 212 และ แถบ Actin แสดงเป็นแถบเข้มที่ระดับน้ำหนักมวลโมเลกุล 45 อย่างไรก็ตามโปรตีนกล้ามเนื้อกลุ่ม Troponin (Troponin-T,Troponin-I,Troponin-C) นั้นพบในปริมาณที่น้อยมาก โดยดูได้จากแถบที่ระดับน้ำหนักมวลโมเลกุล 40, 20 และ 19 ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณที่จางมาก



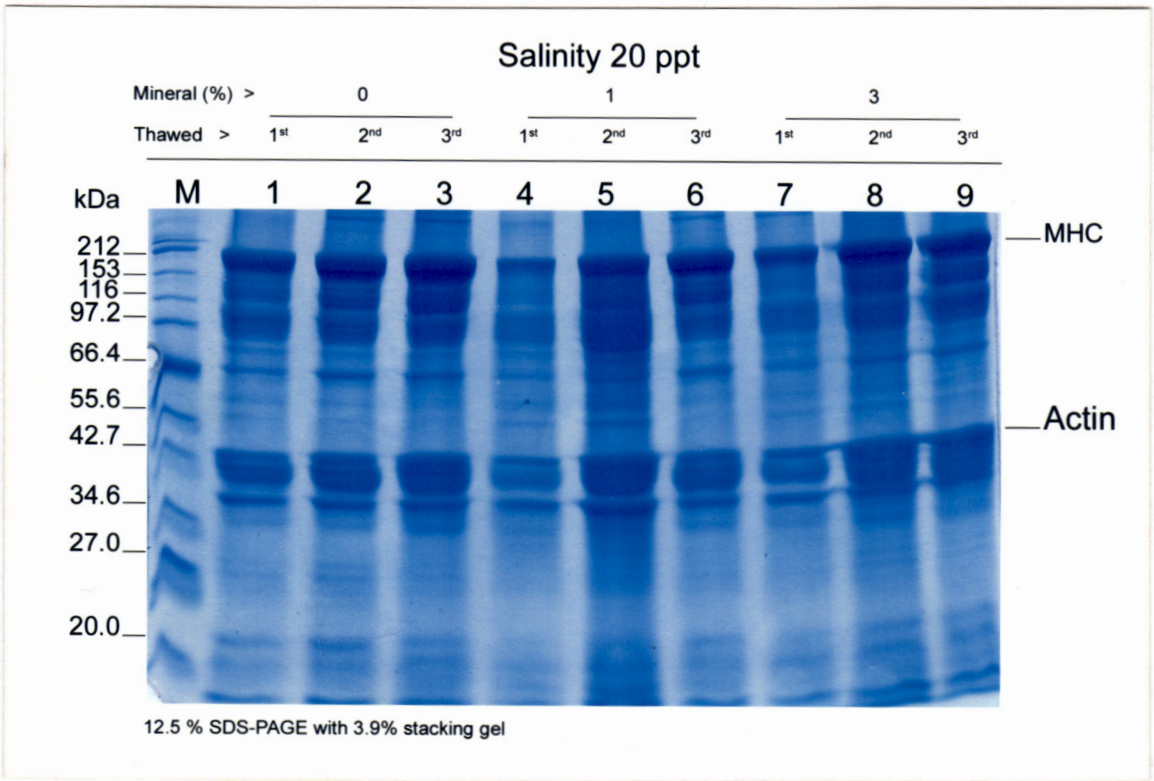
ภาพที่ 4.3 แสดงแถบโปรตีนของเนื้อกุ้งที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 10 ppt.

แถว M หมายถึง โปรตีนมาตรฐาน

แถว 1, 4, 7 หมายถึง กุ้งกุลาดำที่ผ่านการคลายเย็นรอบที่ 1

แถว 2, 5, 8 หมายถึง กุ้งกุลาดำที่ผ่านการคลายเย็นรอบที่ 2

แถว 3, 6, 9 หมายถึง กุ้งกุลาดำที่ผ่านการคลายเย็นรอบที่ 3



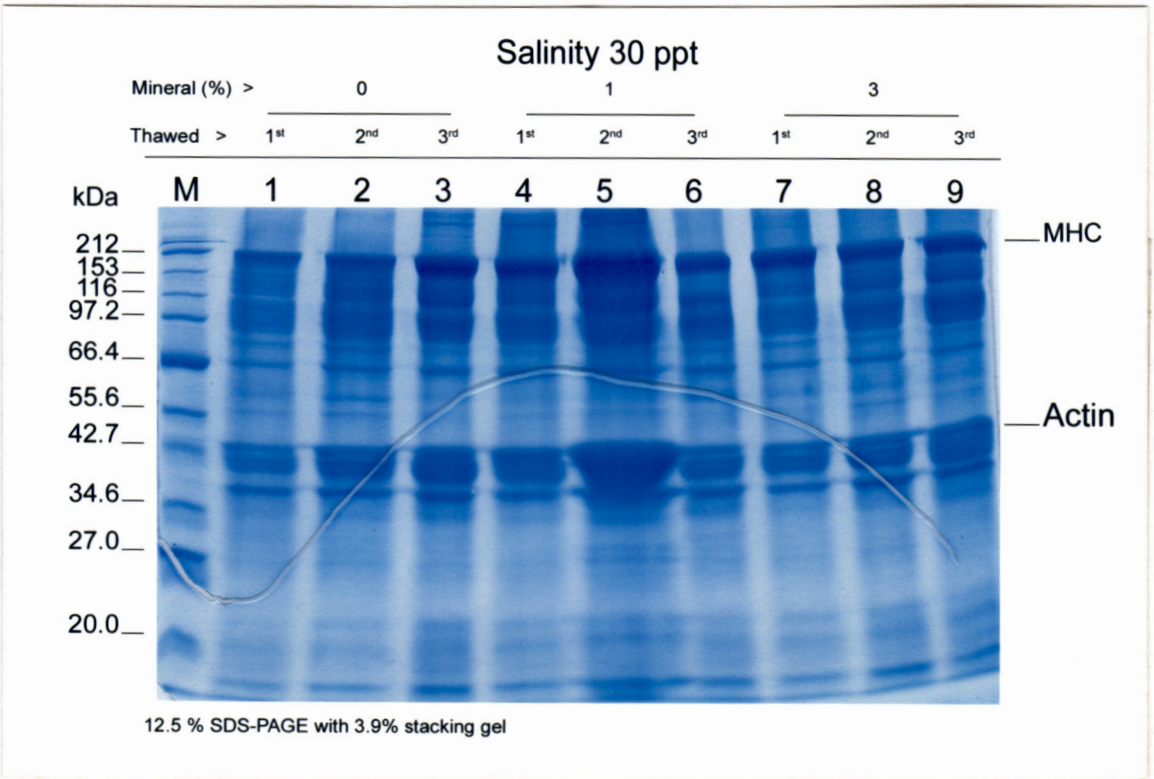
ภาพที่ 4.4 แสดงแถบโปรตีนของเนื้อกุ้งที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 20 ppt.

แถว M หมายถึง โปรตีนมาตรฐาน

แถว 1, 4, 7 หมายถึง กุ้งกุลาดำที่ผ่านการคลายเย็นรอบที่ 1

แถว 2, 5, 8 หมายถึง กุ้งกุลาดำที่ผ่านการคลายเย็นรอบที่ 2

แถว 3, 6, 9 หมายถึง กุ้งกุลาดำที่ผ่านการคลายเย็นรอบที่ 3



ภาพที่ 4.5 แสดงแถบโปรตีนของเนื้อกุ้งที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 30 ppt.

แถว M หมายถึง โปรตีนมาตรฐาน

แถว 1, 4, 7 หมายถึง กุ้งกุลาดำที่ผ่านการคลายเย็นรอบที่ 1

แถว 2, 5, 8 หมายถึง กุ้งกุลาดำที่ผ่านการคลายเย็นรอบที่ 2

แถว 3, 6, 9 หมายถึง กุ้งกุลาดำที่ผ่านการคลายเย็นรอบที่ 3

จากรายการศึกษาของ Warner และคณะ (1986) (อ้างถึงใน Ojeda และคณะ ,2001)ได้เสนอว่า แอคตินเป็นโปรตีนที่มีความคงตัวในระหว่างการเก็บในสภาวะเยือกแข็ง ดังนั้นในการศึกษานี้ได้ใช้อัตราส่วนความเข้มของแถบโปรตีนไมโอซินต่อแถบความเข้มของแอคตินเป็นค่าที่แสดงการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน myosin heavy chain (MHC) ในเนื้อกุ้งที่ผ่านการคลายเย็นหลายครั้ง ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.9

ในการศึกษาพบว่าระดับความเค็มของน้ำ ปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารและจำนวนครั้งในการคลายเย็นไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีน myosin heavy chain (MHC) แต่ในทางทฤษฎีการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพทางเคมีกายภาพของแถบโปรตีนเส้นใยหนักต่อโปรตีนแอคตินควรมีค่าลดลงตามจำนวนครั้งของการคลายเย็น ดังเช่นในงานวิจัยของ Subramanian S. et al., (1997) ซึ่งศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของโปรตีนเส้นใยหนักในกุ้งก้ามกรามที่เก็บแบบแช่เยือกแข็งคลายเย็นหลายรอบ ทั้งนี้คาดว่าตัวอย่างกุ้งที่นำมาศึกษาได้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเส้นใยหนักในระหว่างการเก็บที่สภาวะเยือกแข็งเป็นเวลา 7 เดือน ก่อนที่จะนำมาศึกษาทำให้ไม่สามารถตรวจพบการลดลงของโปรตีนเส้นใยหนักในการคลายเย็นหลายรอบ

ตารางที่ 4.13 ปริมาณเปอร์เซ็นต์ของ myosin heavy chain (MHC) ของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารไม่เสริมแร่ธาตุและความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)	Relative percentage areas (%)** ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จำนวนครั้งของการคลายเย็น		
	0	1	3
10	91.37±40.76 ^{A}x	117.81±7.61 ^{A}x	134.78±19.47 ^{A}x
20	147.15±14.46 ^{A}x	149.67±5.68 ^{A}x	130.70±8.91 ^{A}x
30	116.48±5.90 ^{A}x	143.31±39.60 ^{A}x	132.46±9.96 ^{A}x

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 2 ข้อมูล

^{ABC} ค่าในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

^{XY} ค่าในแนวนอนที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-35)

** ค่า Relative percentage areas คำนวณได้ดังข้อ 3.4.4.4

ตารางที่ 4.14 ปริมาณเปอร์เซ็นต์ของ myosin heavy chain (MHC) ของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารเสริมแร่ธาตุ 1% และความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)	Relative percentage areas (%)** ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จำนวนครั้งของการคลายเย็น		
	0	1	3
10	136.53±0.80 ^{A}x	122.99±1.97 ^{A}x	131.13±37.39 ^{A}x
20	116.13±7.41 ^{A}y	120.30±1.13 ^{A}y	147.11±4.93 ^{A}x
30	138.51±14.01 ^{A}x	127.25±10.55 ^{A}x	145.30±34.63 ^{A}x

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 2 ข้อมูล

^{ABC} ค่าในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

^{XY} ค่าในแนวนอนที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-35)

** ค่า Relative percentage areas คำนวณได้ดังข้อ 3.4.4.4

ตารางที่ 4.15 ปริมาณเปอร์เซ็นต์ของ myosin heavy chain (MHC) ของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารเสริมแร่ธาตุ 3% และความเค็มของน้ำในระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)	Relative percentage areas (%)** ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จำนวนครั้งของการคลายเย็น		
	0	1	3
10	120.81±23.62 ^{A}x	134.36±12.51 ^{A}x	132.13±19.27 ^{A}x
20	144.71±4.13 ^{A}x	139.23±2.46 ^{A}x	121.39±16.06 ^{A}x
30	126.70±5.09 ^{A}y	134.41±9.71 ^{A}x	97.29±13.25 ^{A}y

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 2 ข้อมูล

^{ABC} ค่าในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

^{XY} ค่าในแนวนอนที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-35)

** ค่า Relative percentage areas คำนวณได้ดังข้อ 3.4.4.4

4.5 ผลการศึกษาความแข็งแรงของโครงสร้าง (muscle integrity) ของกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำเยือกแข็ง

ความแข็งแรงของโครงสร้างกล้ามเนื้อสามารถแสดงได้ในเทอมของค่าความแน่นเนื้อ (แรงกด) และค่าความเหนียว (แรงเฉือน) ค่าความแน่นเนื้อมีความสำคัญเนื่องจากเป็นดัชนีที่ใช้ในการตรวจสอบความสดของตัวกุ้ง กุ้งที่มีสภาพไม่สมบูรณ์จะมีลักษณะตัวนิ่ม สำหรับความเหนียวของเนื้อกุ้งคาดว่าสามารถใช้เป็นดัชนีของความแข็งแรงของเส้นใยกล้ามเนื้อ เนื่องจากเส้นใยกล้ามเนื้อ (ระยะหลังการเกร็งตัว) ประกอบด้วยโปรตีนแอกโตไมโอซิน (actomyosin) เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเมื่อแอกโตไมโอซินถูกสลายทำให้ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อลดลง

ค่าความแน่นเนื้อ (แรงกด)และค่าความเหนียว (แรงเฉือน) ของเนื้อกุ้ง ทั้ง 9 กลุ่มทดลอง ด้วยเครื่อง TA.XT2 Texture Analyzer ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.10 และ 4.11 ซึ่งเมื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าระดับความเค็มของน้ำมีผลต่อค่าความแน่นเนื้อ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีผลต่อความเหนียว (แรงเฉือน) เนื้อกุ้งมีความแน่นเนื้อสูงขึ้นตามระดับความเค็มของน้ำที่เพิ่มสูงขึ้น โดยค่าความแน่นเนื้อที่ระดับความเค็ม 30 ppt. มีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 1.4 เท่ากับระดับความเค็มน้ำ 10 ppt.

ตารางที่ 4.16 ค่าเฉลี่ยความแน่นเนื้อของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)	ความแน่นเนื้อ (กรัม) ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	ปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยง (%) [NS]			Main Effect
	0	1	3	
10	36.80±8.09	37.27±14.38	41.33±13.93	38.47 [C]
20	50.07±17.24	46.40±25.59	40.93±15.09	45.80 [B]
30	52.20±12.63	61.47±23.49	50.53±15.19	54.73 [A]

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 15 ข้อมูล

[ABC] ค่าในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

[NS] หมายความว่าปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยงไม่มีผลกับความแน่นเนื้อของกุ้งกุลาดำ

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-5)

ตารางที่ 4.17 ค่าเฉลี่ยความเหนียวของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)[NS]	แรงเฉือน (กรัม/มิลลิเมตร) ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยง (%) [NS]		
	0	1	3
10	3.45±0.55	3.48±0.69	3.38±0.70
20	3.54±0.84	3.26±0.43	3.23±0.56
30	2.84±0.39	3.14±0.70	3.49±1.04

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 15 ข้อมูล

[NS] หมายความว่าปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยงไม่มีผลกับความความเหนียวของกุ้งกุลาดำ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-6)

4.6 ผลการศึกษาปริมาณการสูญเสียน้ำหนักจากการทำให้สุกของเนื้อกุ้งกุลาดำ

ปริมาณการสูญเสียน้ำหนักจากการทำให้สุกของเนื้อกุ้งเป็นสมบัติที่มีความสำคัญในแง่ของผลผลิตในการแปรรูปผลิตภัณฑ์กุ้งกุลาดำที่ผ่านการให้ความร้อน ซึ่งต้องการค่าการสูญเสียน้ำหนักจากการทำให้สุกมีค่าต่ำ จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเค็มของน้ำและปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยงต่อปริมาณการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการต้มเนื้อกุ้งกุลาดำในน้ำเดือดเป็นเวลา 45 วินาที กุ้งที่ได้จากการเลี้ยงที่ระดับความเค็ม 30 ppt. มีค่าการสูญเสียน้ำหนักจากการทำให้สุก (16.28%) และกุ้งที่เลี้ยงในระดับความเค็ม 10 ppt. มีค่าการสูญเสียน้ำหนักต่ำที่สุด (7.64%) กุ้งที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำปกติ (20 ppt.) พบว่าปริมาณแร่ธาตุในอาหารเลี้ยงไม่มีผลต่อปริมาณการสูญเสียน้ำหนัก ในขณะที่กุ้งที่เลี้ยงในระดับความเค็มของน้ำต่ำ (10 ppt.) เมื่อมีการเพิ่มแร่ธาตุทำให้ปริมาณการสูญเสียน้ำหนักสูงขึ้น กุ้งที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่เสริมแร่ธาตุและเสริมแร่ธาตุ 1 % และเลี้ยงในระดับความเค็มของน้ำต่ำ (10 ppt.) สามารถอุ้มน้ำได้ดีกว่าที่เลี้ยงในระดับความเค็มสูง

เมื่อเปรียบเทียบค่าความแน่นเนื้อของกุ้งสดกับปริมาณการสูญเสียน้ำหนัก พบว่ากุ้งที่มีค่าความแน่นเนื้อของเนื้อกุ้งสดสูงมีค่าปริมาณการสูญเสียน้ำหนักสูงด้วย แสดงให้เห็นว่าน้ำหนักที่สูญเสียจากการทำให้สุกเป็นการสูญเสียของน้ำจากกล้ามเนื้อกุ้ง

ตารางที่ 4.18 ค่าเฉลี่ยปริมาณการสูญเสียจากการทำให้สุกของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)^{SIG}	ปริมาณการสูญเสียจากการทำให้สุก (%) ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	ปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยง (%)^{NS}		
	0	1	3
10	$7.64\pm4.03^{B}{}_{Y}$	$8.07\pm6.95^{B}{}_{Y}$	$15.29\pm4.92^{A}{}_{X}$
20	$15.29\pm4.92^{A}{}_{X}$	$12.04\pm4.45^{AB}{}_{X}$	$10.69\pm7.08^{B}{}_{X}$
30	$19.50\pm3.51^{A}{}_{X}$	$14.40\pm5.70^{A}{}_{X}$	$14.94\pm9.48^{A}{}_{X}$

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 10 ข้อมูล

^{ABC} ค่าในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

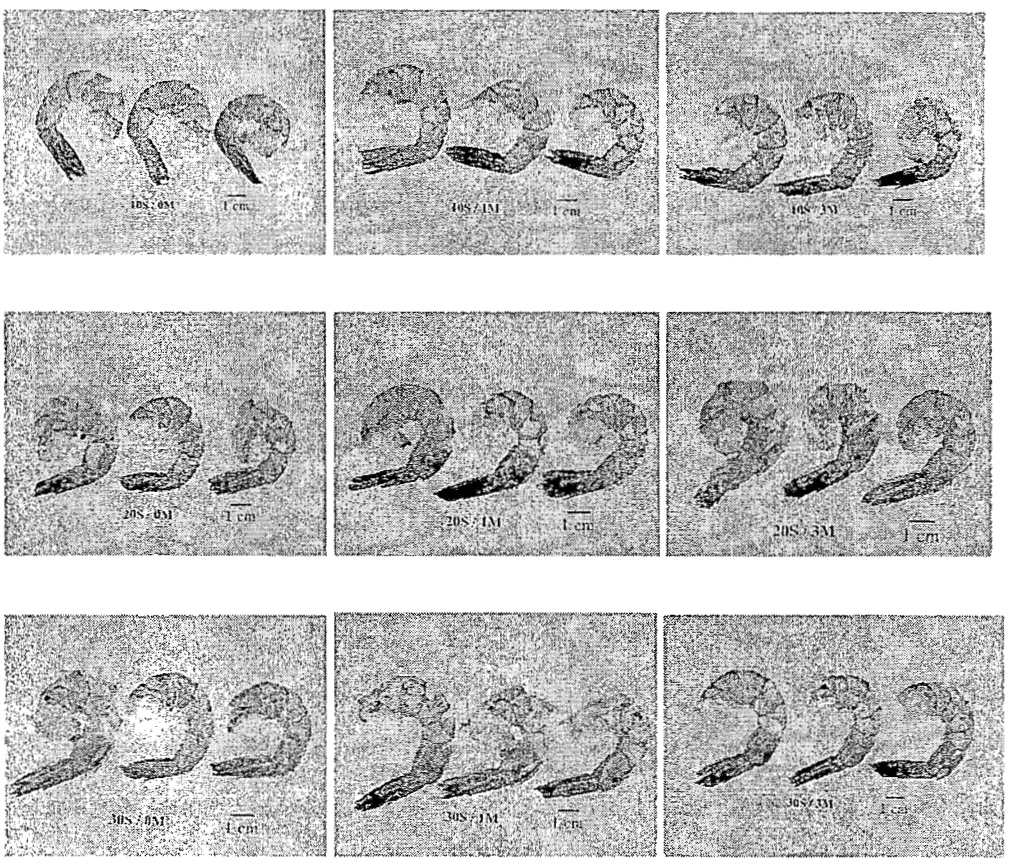
^{XY} ค่าในแนวนอนที่มีอักษรแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติ

^{NS} หมายความว่าปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยงไม่มีผลกับการสูญเสียน้ำหนักของกุ้งกุลาดำต้มสุก

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-7)

4.7 ผลการวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุก

รูปแบบของผลิตภัณฑ์กุ้งกุลาดำที่นิยมในตลาดต่างประเทศ คือ กุ้งที่ผ่านการต้มสุกแช่เยือกแข็ง ปัจจัยที่มีผลต่อการตัดสินใจต่อการซื้อของผู้บริโภค คือ สี กลิ่น กลิ่นรส รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส ซึ่งลักษณะที่ดีของกุ้งกุลาดำต้มสุกคือ มีสีแดงเข้ม มีกลิ่นรสที่ปกติ ลักษณะเนื้อสัมผัสที่มีความกรอบ ไม่ยุ่ย ลักษณะของกุ้งกุลาดำต้มสุกแสดงดังภาพที่ 4.6 ในการศึกษานี้ใช้วิธีการประเมินทางประสาทสัมผัส 2 วิธี คือ การประเมินความพึงพอใจด้วยวิธี Hedonic scale และการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสในเชิงพรรณนาด้วยวิธี Quantitative Descriptive Analysis (QDA) เพื่อเป็นการสร้างกลุ่มคำที่ระบุลักษณะเฉพาะของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกโดยมุ่งหวังว่าได้ข้อมูลที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะเฉพาะกับความพึงพอใจของเนื้อกุ้ง



ภาพที่ 4.6 ลักษณะปรากฏของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุก 9 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยความเค็มของน้ำ 3 ระดับ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป 3 ระดับ

แถวบน เป็นภาพถ่ายเนื้อกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 10 ppt.

แถวกลาง เป็นภาพถ่ายเนื้อกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 20 ppt.

แถวล่าง เป็นภาพถ่ายเนื้อกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt.

ในแต่ละแถว ภาพถ่ายเรียงจากซ้ายไปขวา คือ ปริมาณแร่ธาตุที่ระดับ 0%, 1% และ 3% ตามลำดับ

คะแนนทางด้านประสาทของกุ้งกุลาดำต้มสุกโดยวิธี Hedonic scale ดังตารางที่ 4.13 กลุ่มผู้ทดสอบให้ความเห็นว่ากุ้งที่นำมาทดสอบทั้ง 9 กลุ่มตัวอย่างมีระดับความพึงพอใจในด้านสี กลิ่น กลิ่นรส รสชาติ และลักษณะเนื้อสัมผัสที่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) นอกจากนี้แล้วกลุ่มผู้ทดสอบให้การยอมรับตัวอย่างกุ้งกุลาดำต้มสุกทุกตัวอย่างในระดับชอบเล็กน้อยจนถึงชอบปานกลาง

ผลการประเมินคุณภาพด้านประสาทสัมผัสด้วยวิธี QDA กลุ่มผู้ทดสอบมีความเห็นลักษณะที่สำคัญของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกมี 15 ลักษณะดังแสดงในตารางที่ 4.15 นอกจากนี้กลุ่มผู้ทดสอบได้เสนอว่าลักษณะเนื้อสัมผัสของกุ้งมีบทบาทที่สำคัญต่อความพึงพอใจของผู้ทดสอบต่อเนื้อกุ้ง โดยเฉพาะเนื้อสัมผัสของเนื้อกุ้งที่แสดงลักษณะความกรอบของเนื้อกุ้ง จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธี QDA ดังตารางที่ 4.14 กลุ่มผู้ทดสอบมีความเห็นว่ากุ้งกุลาดำต้มสุกทั้ง 9 กลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการประเมินด้านความพึงพอใจด้วยวิธี 9- point hedonic scale อย่างไรก็ตามการประเมินลักษณะทาง QDA ในการศึกษาครั้งนี้ยังคงมีข้อต้องปรับปรุงในเรื่องการซักซ้อมความเข้าใจของกลุ่มผู้ทดสอบในด้านกลิ่น และกลิ่นรส ดังเห็นได้จากข้อมูลที่ได้มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานค่อนข้างสูง

ตารางที่ 4.19 คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของกุ้งกุลาดำต้มสุกที่ผ่านการเก็บแบบแช่เยือกแข็ง โดยวิธี Hedonic scale

ลักษณะทางประสาทสัมผัส	ค่าเฉลี่ย + ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ชนิดของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในสภาวะต่างๆ*								
	10S/0M	10S/1M	10S/3M	20S/0M	20S/1M	20S/3M	30S/0M	30S/1M	30S/3M
สีแดง^{NS}	6.60±1.08	6.80±1.03	7.00±0.82	6.50±1.72	6.50±1.35	7.00±0.94	6.20±1.32	7.00±0.22	6.40±1.08
กลิ่น^{NS}	6.20±1.40	6.10±1.10	6.10±1.52	6.50±1.18	6.30±1.16	5.90±1.29	6.40±1.17	5.90±0.74	6.10±1.45
กลิ่นรส^{NS}	6.00±1.56	6.20±0.91	6.10±1.29	6.60±0.84	6.00±1.05	6.60±0.70	6.50±1.08	6.50±0.97	6.60±1.08
รสชาติ^{NS}	6.30±1.89	6.60±0.97	6.40±0.97	6.50±1.08	6.30±1.25	6.90±0.99	6.60±1.17	6.60±0.97	6.80±1.14
ลักษณะเนื้อสัมผัส^{NS}	6.40±1.35	6.20±1.40	6.40±1.17	6.40±1.17	6.60±1.08	7.00±1.25	6.00±1.25	7.10±1.20	6.90±0.99
ความชอบโดยรวม^{NS}	6.40±1.27	6.25±1.14	6.45±1.21	6.55±1.21	6.40±0.84	7.10±1.10	6.40±1.08	6.95±0.96	6.75±1.03

* 10S/0M หมายถึง กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมแร่ธาตุและความเค็มของน้ำในระดับ 10 ppt.
10S/1M หมายถึง กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแร่ธาตุ 1% และความเค็มของน้ำในระดับ 10 ppt.
10S/3M หมายถึง กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแร่ธาตุ 3% และความเค็มของน้ำในระดับ 10 ppt.
20S/0M หมายถึง กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมแร่ธาตุและความเค็มของน้ำในระดับ 20 ppt.
20S/1M หมายถึง กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแร่ธาตุ 1% และความเค็มของน้ำในระดับ 20 ppt.
20S/3M หมายถึง กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแร่ธาตุ 3% และความเค็มของน้ำในระดับ 20 ppt.
30S/0M หมายถึง กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมแร่ธาตุและความเค็มของน้ำในระดับ 30 ppt.
30S/1M หมายถึง กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแร่ธาตุ 1% และความเค็มของน้ำในระดับ 30 ppt.
30S/3M หมายถึง กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแร่ธาตุ 3% และความเค็มของน้ำในระดับ 30 ppt.

ตารางที่ 4.20 คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของกุ้งกุลาดำต้มสุกที่ผ่านการเก็บแบบแช่เยือกแข็ง โดยวิธี QDA

ลักษณะทางประสาทสัมผัส	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ชนิดของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในสภาวะต่างๆ*								
	10S/0M	10S/1M	10S/3M	20S/0M	20S/1M	20S/3M	30S/0M	30S/1M	30S/3M
สีแดง^{NS}	7.25±1.13	7.06±1.06	7.18±1.36	7.52±1.32	7.92±1.45	7.71±1.37	6.78±1.33	7.58±0.91	8.00±1.38
กลิ่นมันเทศต้ม^{NS}	3.66±2.08	2.69±2.09	2.60±1.54	2.68±1.60	2.93±1.57	3.17±1.79	4.04±1.79	2.91±1.77	2.96±1.65
กลิ่นเนื้อปูสุก^{NS}	6.31±3.17	7.33±3.09	6.57±1.93	5.88±2.64	6.67±3.12	6.89±2.96	7.84±2.19	5.79±2.19	6.25±2.01
กลิ่นปลานิล^{NS}	4.48±3.00	3.93±2.79	3.77±2.75	3.68±2.82	3.97±2.72	3.57±2.93	4.67±2.81	3.55±2.87	2.74±2.58
รสเค็ม^{NS}	2.25±1.09	2.06±1.01	2.03±0.71	2.28±1.05	2.02±0.80	1.93±0.82	2.18±0.83	2.35±0.802	2.07±0.70
รสหวาน^{NS}	5.00±1.59	4.99±1.15	4.91±2.17	5.53±1.76	4.71±1.10	5.40±1.70	5.39±1.09	5.57±1.65	5.41±1.60
รสอูมามิ^{NS}	5.44±1.62	5.21±1.89	4.86±1.47	5.08±2.34	4.94±1.26	5.13±2.33	5.24±1.85	5.87±1.57	5.53±1.92
ความแข็งของผิวกุ้ง^{NS}	5.58±1.94	4.90±2.13	5.65±2.47	5.37±2.06	6.04±2.17	6.48±2.43	4.86±2.67	6.17±2.18	6.02±1.85
ความยืดหยุ่น^{NS}	4.81±2.93	4.65±2.68	4.93±2.21	4.70±2.48	5.25±2.28	4.84±2.38	3.93±2.13	5.20±2.23	5.46±2.11
ความแน่นเนื้อ^{NS}	5.00±3.03	4.92±2.66	5.20±2.57	4.83±2.51	5.41±2.84	5.27±2.94	4.04±2.24	5.15±2.76	5.77±2.77
ความชุ่มน้ำ^{NS}	9.43±2.71	9.82±2.20	8.69±2.85	9.38±1.78	9.06±2.24	8.58±1.98	10.14±2.22	9.35±2.40	9.82±2.23
ความละเอียด^{NS}	6.81±0.80	7.05±1.20	6.64±0.82	6.94±0.81	7.09±1.48	7.07±1.32	7.03 ±1.42	6.70±1.44	7.30±1.18
กลิ่นรสเผือกนึ่ง^{NS}	1.58±1.52	1.12±1.13	1.24±1.26	1.32±1.50	1.31±1.49	1.19±1.34	1.41±1.52	1.25±1.26	1.06±1.16
กลิ่นรสโคลน^{NS}	1.03±0.76	1.34±1.70	0.93±0.61	1.41±1.22	0.93±1.15	1.03±1.50	1.69±2.08	1.16±1.08	1.19±1.24
กลิ่นรสเนื้อปูสุก^{NS}	6.35±2.65	6.72±2.78	5.78±2.02	7.37±2.26	5.92±2.54	5.96±2.71	7.20±2.91	6.38±2.45	7.27±2.30

* ชนิดของกุ้งกุลาดำในสภาวะต่างๆ ดังตารางที่ 4.19

ตารางที่ 4.21 ลักษณะทางประสาทสัมผัส คำ ความหมายและสารมาตรฐานของลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุก

ผลิตภัณฑ์ เนื้อกุ้งกุลาดำต้ม

ลักษณะที่ประเมิน	คำอธิบาย/วิธีการประเมิน	ตัวอย่างอ้างอิง/วิธีการเตรียม
สีของผิวกุ้ง		
สีแดง	สีของผิวกุ้งที่บริเวณรอยปล้องของตัวกุ้ง ตรวจพินิจด้วยสายตา	เทียบแผ่นสีมาตรฐานSalmoFan™ โดย แผ่นสีหมายเลข 20 = ระดับคะแนน 4, แผ่นสีหมายเลข 30 = ระดับคะแนน 9
กลิ่น		
กลิ่นมันเทศต้ม	กลิ่นคล้ายมันเทศต้มที่ได้จากการสูดดมตัวอย่างกุ้ง1 ครั้ง	มันเทศต้มสุก จำนวน 0.5 กรัมในขวดแก้วขนาด 30 มล. ความเข้มของกลิ่นที่รับรู้ = ระดับคะแนน *5*
กลิ่นเนื้อปูสุก	กลิ่นคล้ายเนื้อปูสุกที่ได้จากการสูดดมตัวอย่างกุ้ง1 ครั้ง	เนื้อปูสุก จำนวน 0.08 กรัมในขวดแก้วขนาด 30 มล. ความเข้มของกลิ่นที่รับรู้ = ระดับคะแนน 11.
กลิ่นปลานิล	กลิ่นคล้ายปลานิล ต้มสุก ที่ได้จากการสูดดมตัวอย่างกุ้ง 1 ครั้ง	เนื้อปลานิล จำนวน 0.20 กรัมในขวดแก้วขนาด 30 มล. ความเข้มของกลิ่นที่รับรู้ = ระดับคะแนน 8
รสชาติ		
รสเค็ม	รสชาติพื้นฐานรสชาติลำดับแรกที่ผู้ทดสอบได้รับหลังการการเคี้ยวตัวอย่าง 2-3 ครั้งด้วยฟันกรามการเคี้ยว	สารละลายโซเดียมคลอไรด์ โดยที่ระดับ ความเข้มข้น 0.1% = ระดับคะแนน 1 คะแนน ความเข้มข้น 0.25% = ระดับคะแนน 3.5 คะแนน
รสหวาน	รสชาติพื้นฐานรสชาติลำดับที่สองที่ผู้ทดสอบได้รับหลังการเคี้ยวตัวอย่าง 2-3 ครั้งด้วยฟันกราม	สารละลายน้ำตาลซูโครส โดยที่ระดับความเข้มข้น 1.0% = ระดับคะแนน 3.5 คะแนน ความเข้มข้น 2.0 % = ระดับคะแนน 6 คะแนน
รสอูมามิ	รสชาติพื้นฐานรสชาติที่ค้างอยู่หลังจากที่ผู้ทดสอบได้รับหลังการเคี้ยวตัวอย่าง 2-3 ครั้งด้วยฟันกราม	สารละลายโมโนโซเดียมกลูตาเมต โดยที่ระดับความเข้มข้น 0.05% = ระดับคะแนน 7 คะแนน

ลักษณะที่ประเมิน	คำอธิบาย/วิธีประเมิน	ตัวอย่างอ้างอิง/วิธีการเตรียม
เนื้อสัมผัส		
ความแข็งของผิวกุ้ง (Skin – Hardening)	ความรู้สึก(การต้านทาน)ที่ได้รับทันทีเมื่อกัดชิ้นกุ้งด้วยฟันกราม	ไส้กรอกไก่ แฟรงค์เฟิร์ต (บริษัท ซีพี) = ระดับคะแนน 8.5 ไส้กรอกไก่ต้มในน้ำอุณหภูมิ 100 ซ เป็นเวลา 5 นาที แล้วหั่นเป็นท่อนทรงกระบอก มีความหนา 1 ซม.
ความหยืดหยุ่น (Elasticity)	ความรู้สึกที่ได้รับเมื่อกัดชิ้นกุ้งด้วยฟันกรามประมาณครึ่งหนึ่งของความหนาของชิ้นกุ้งแล้วปล่อย	ไส้กรอกไก่ แฟรงค์เฟิร์ต (บริษัท ซีพี) = ระดับคะแนน 5. ไส้กรอกไก่ต้มในน้ำที่อุณหภูมิ 1005 ซ เป็นเวลา 5 นาที แล้วหั่นเป็นท่อนทรงกระบอก มีความหนา 1 ซม.
ความแน่นเนื้อ (Firmness)	ความรู้สึก(การต้านทาน)ที่ได้รับเมื่อกัดชิ้นกุ้งด้วยฟันกรามจนขาด	ไส้กรอกไก่ แฟรงค์เฟิร์ต (บริษัท ซีพี) = ระดับคะแนน 5 ไส้กรอกไก่ต้มในน้ำที่อุณหภูมิ 100 ซ เป็นเวลา 5นาที แล้วหั่นเป็นท่อนทรงกระบอก มีความหนา 1 ซม.
ความชุ่มน้ำ (Juiciness)	ปริมาณของเหลวที่ออกจากชิ้นกุ้งที่รู้สึกได้เมื่อเคี้ยวชิ้นตัวอย่าง 2-3 ครั้ง	เนื้อปลานิลต้ม เป็นเวลา 10 นาที = ระดับคะแนน 15
ความละเอียด (smoothness)	ความละเอียดของชิ้นเนื้อกุ้งที่รู้สึกได้หลังจากเคี้ยวชิ้นตัวอย่าง 2-3 ครั้ง	เนื้อปลาทูน่าในน้ำเกลือ (นอทิลุส) = ระดับคะแนน 5 คะแนน เนื้อปลานิลลวก (น้ำเดือด, 1 นาที) = ระดับคะแนน 8.5 คะแนน
กลิ่นรส		
กลิ่นรสเผือกนึ่ง	กลิ่นรสคล้ายเผือกต้มที่ได้ระหว่างการเคี้ยวและกลืนตัวอย่าง	เผือกนึ่ง จำนวน 0.08 กรัม = ระดับคะแนน 5 คะแนน
กลิ่นรสโคลน	กลิ่นรสคล้ายดินที่ได้ระหว่างการเคี้ยวและกลืนตัวอย่าง	เนื้อปลานิลต้ม เป็นเวลา 10 นาที = ระดับคะแนน 7 คะแนน
กลิ่นรสเนื้อปูสุก	กลิ่นรสคล้ายเนื้อปูสุกที่ได้ระหว่างการเคี้ยวและกลืนตัวอย่าง	เนื้อปูสุกที่ผ่านการนึ่ง ระดับคะแนน 12 คะแนน

ตามที่ได้กล่าวขั้นต้นกลุ่มผู้ทดสอบให้ความสำคัญแก่ลักษณะเนื้อสัมผัสกุ้งกุลาดำต้มสุกมาก ดังนั้นเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการประเมินด้วยกลุ่มผู้ทดสอบกับค่าที่ได้จากเครื่องวัดเนื้อสัมผัส โดยลักษณะเนื้อสัมผัสที่วิเคราะห์ประกอบด้วย ค่าความแข็ง ค่าความเหนียว ค่าความแตกเปราะ ค่าการตอบสนองการเคี้ยว ดังแสดงในตารางที่ 4.16, 4.17, 4.18 และ 4.19 ตามลำดับ การวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าระดับความเค็มของน้ำและปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยงไม่มีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำสุก ลักษณะเนื้อสัมผัสของกุ้งที่ผู้ทดสอบให้ความพึงพอใจมีค่าความแข็ง 96-130 นิวตัน ค่าความเหนียว 17-20 นิวตัน ค่าความแตกเปราะ 76-104 นิวตัน และค่าการตอบสนองต่อการเคี้ยว 43-58 นิวตัน อย่างไรก็ตาม มีข้อที่น่าสังเกตเกี่ยวกับค่าที่ได้จากการวัดด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัสดังนี้ ค่าความแข็งที่ได้จากการกดมีค่ามากกว่าค่าความเหนียวที่ได้จากแรงเฉือนประมาณ 6 เท่า ค่าตอบสนองความเคี้ยวมีค่าสูงกว่าค่าความเหนียวประมาณ 2-3 เท่า ดังนั้นการวัดค่าความเหนียวอาจเป็นดัชนีที่ใช้ประเมินค่าความแข็งและค่าตอบสนองความเคี้ยวได้

ตารางที่ 4.22 ค่าเฉลี่ยความแข็ง (hardness) ของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่วัดด้วยหัววัดแบบทรงกระบอกที่เส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิลิตร (P/50) จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)[NS]	ความแข็ง (hardness) (นิวตัน) ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	ปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยง (%) [NS]		
	0	1	3
10	96.48±17.19	97.85±33.67	101.88±25.85
20	129.75±25.47	119.17±15.83	124.80±6.57
30	120.56±30.95	115.07±48.92	107.53±27.43

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 5 ข้อมูล

[NS] หมายความว่าปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยงไม่มีผลกับความแข็งของกุ้งกุลาดำ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-8)

ตารางที่ 4.23 ค่าเฉลี่ยความเหนียวของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่วัดด้วยหัววัด Warner- Bratzler blade จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)[NS]	cutting (นิวตัน) ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	ปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยง (%) [NS]		
	0	1	3
10	16.52±2.69	19.26±1.75	19.62±4.74
20	19.47±5.26	17.87±3.21	17.83±2.58
30	19.90±7.59	14.30±2.78	17.52±3.09

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 15 ข้อมูล

[NS] หมายความว่าปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยงไม่มีผลกับความเหนียวของกุ้งกุลาดำต้มสุก ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-11)

ตารางที่ 4.24 ค่าเฉลี่ยความแตกเปราะ (Fracturability) ของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)[NS]	ความแตกเปราะ (Fracturability) (นิวตัน) ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	ปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยง (%) [NS]		
	0	1	3
10	89.14±13.29	83.54±33.76	89.76±36.13
20	76.43±27.23	104.77±27.05	108.82±12.95
30	97.94±42.73	90.85±19.13	94.68±30.32

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 5 ข้อมูล

[NS] หมายความว่าปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยงไม่มีผลกับความแตกเปราะของกุ้งกุลาดำต้มสุก ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-9)

ตารางที่ 4.25 ค่าเฉลี่ยการตอบสนองต่อการเคี้ยว (Chewiness) ของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่ได้จากกุ้งที่เลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูป ที่ระดับต่างๆ

ระดับความเค็มของน้ำ (ppt.)[NS]	การตอบสนองต่อการเคี้ยว (Chewiness) (นิวตัน) ค่าเฉลี่ย *± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	ปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยง (%) [NS]		
	0	1	3
10	43.29±9.22	45.57±13.93	48.05±14.61
20	61.25±17.95	55.49±13.43	57.91±5.60
30	57.73±18.88	53.31±23.06	50.43±12.72

* หมายความว่าค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 15 ข้อมูล

[NS] หมายความว่าปริมาณแร่ธาตุที่เสริมในอาหารเลี้ยงไม่มีผลกับการตอบสนองต่อการเคี้ยวของกุ้งกุลาดำต้มสุก ผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ช (ตารางที่ ช-10)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

1. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารเสริมแร่ธาตุและเลี้ยงในน้ำที่มีระดับความเค็มต่างๆ ไม่มีอิทธิพลร่วมจากปัจจัยที่ศึกษาทั้งสองต่อคุณภาพด้านเคมี เคมีกายภาพและคุณภาพทางเนื้อสัมผัสและประสาทสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำ แต่ระดับความเค็มของน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งจะมีผลต่อคุณภาพทางด้านความแข็งแรงของโครงสร้างกล้ามเนื้อ (ค่าความแน่นเนื้อ)

2. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารเสริมแร่ธาตุและเลี้ยงในน้ำที่มีระดับความเค็มต่างๆ มีอิทธิพลร่วมจากปัจจัยที่ศึกษาทั้งสองต่อปริมาณการสูญเสียน้ำหนักจากการทำให้สุกของเนื้อกุ้งกุลาดำ และพบว่าที่ระดับความเค็มของน้ำ 10 ppt มีคุณภาพที่ดีที่สุด เมื่อพิจารณาในด้านปริมาณการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากมีค่าการสูญเสียน้ำหนักต่ำที่สุด

3. การเปลี่ยนแปลงของคุณภาพเมื่อมีการเก็บรักษาในสภาวะเยือกแข็งของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงภายใต้ความเค็มต่ำและการเสริมเกลือแร่ในอาหารในระดับต่างๆไม่พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงที่เด่นชัดของปริมาณโปรตีนทั้งสองชนิด ในเนื้อกุ้งที่มีจำนวนของการคลายเย็นแตกต่างกัน คาดว่าเป็นผลมาจากเนื้อกุ้งที่ทำการศึกษานี้ได้ผ่านการแช่เยือกแข็งเป็นระยะเวลานาน 7 เดือน ก่อนที่นำมาศึกษา ดังนั้นโปรตีนในเนื้อกุ้งมีการเปลี่ยนแปลง ไปจากในสภาพเนื้อกุ้งสด ทำให้ปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้ในแต่ละครั้งของการคลายเย็น จึงไม่แสดงความแตกต่างอย่างชัดเจน

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2541. กุ้งกุลาดำ. สัตว์น้ำ 1(ฉบับพิเศษ): 3-11

กองเศรษฐกิจการประมง กรมประมง. 2542. สถิติการส่งออกกุ้งแช่เยือกแช่เย็น แช่แข็ง และผลิตภัณฑ์. กรุงเทพฯ.

ดนัย กิจชัยนุกูล, 2547. เรื่องน่ารู้ของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด. เข้าถึงได้จาก www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/pep_4_2547_sem.pdf. วันที่เข้าค้นข้อมูล 16 มี.ค 47.

บุญรัตน์ ประทุมชาติ บัลลังก์ เนื่องแสง ถนอมศักดิ์ บุญภักดี. 2545. โครงการวิจัยการเสริมเกลือแร่ในอาหารและการเปลี่ยแปลงสรีรเคมีของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงระบบพัฒนา. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

ประเสริฐ สายสิทธิ์. 2527. กรรมวิธีอุตสาหกรรมประมง. กรุงเทพฯ: สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก. 2532. กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2543. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มยุรี จัยวัฒน์. 2527. การให้ความเย็นผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ: ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิไล รังสาดทอง. 2543. เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร. กรุงเทพฯ: บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด

สุวิทย์ ชื่นสินธุ์. 2531. การเลี้ยงกุ้งแชบ๊วยและกุ้งกุลาดำ. กรุงเทพฯ: ศูนย์หนังสือเกษตร

อาภัสสรา ชมิดท์. 2537. คู่มือทางชีวเคมี. พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพฯ: รั้วเขียว.

อำนวย โชติญาณวงษ์. 2524. การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ประมง. กรุงเทพฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Anderson, ML., and Ravesi, E. 1969. Relation between protein extractability and free fatty acid production in cod mue aged in ice. J. Fish. Res. Board Canada 25: 2059-2069.

Ando, M.; Ando, M.; Tsukamasa, Y.; Makinodan, Y.; and Miyoshi, M. 1999. Muscle firmness and structure of raw and cooked arrow squid mantle as affected by freshness. Journal of Food Science 64 (4): 659-662.

Ben-gigirey, B.; Vieites Baptista de Siusa, J. M.; Villa, T. G.; and Barros-velazquez, J. 1999. Chemical changes and visual appearance of Albacore Tuna as related to frozen storage. Journal of Food Science 64 (1): 20-24.

Benjakul Soottawat, Wonnop Visessanguan[b], Chutima Thongkaew[a], Munehiko Tanaka[c]. 2005. Effect of frozen storage on chemical and gel-forming properties of fish commonly used for surimi production in Thailand. Food Hydrocolloids 19: 197-207

Bligh, E. G.; and Dryer, WJ. 1959. A rapid method for total lipid extraction purification Can J Biochem and Phys 37: 911-917.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.

Licciardello, J. J,; Ravesi, E. M.; Lundstrom, R. C,; Wilhelm, K. A., Correia, F. F.; and Allsup, M. G. 1982. Time-temperature tolerance and physical chemical quality tests for frozen red hake. Journal of Food Quality 5: 215-234.

Ojeda M.A., Wagner J.R. and Crupkin M. 2001. Biochemical Properties of Myofibrils from Frozen Longissimus Dorsi Muscle of Three Lamb Genotypes. Lebensm-Wiss.u-Technol. 34: 390-397.

Sigholt, T.; Erikson, U.; Rustad, T.; Johansen, S.; Nordtvedt, T. S.; and Seland, A. 1997. Handling stress and storage temperature affect meat quality of farmed-raised Atlantic salmon (Salmo salar). Journal of Food Science 62 (4): 898-905.

Witte, V. C.; Krause, G. F. and Bailey, M. E. 1970. A new extraction meathod for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. Journal of Food Science 35: 582-585.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ข้อมูลการเลี้ยงและการให้อาหาร

การเลี้ยงและการให้อาหาร

ให้อาหารที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คืออาหารสำเร็จรูปเสริมแร่ธาตุ 1%, 3% และไม่เสริมแร่ธาตุ โดยอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลองมีโปรตีนไม่ต่ำกว่า 38% ไขมันไม่ต่ำกว่า 5% ความชื้นไม่มากกว่า 11 % กากไม่มากกว่า 3%และแร่ธาตุที่นำมาเสริมในอาหารสำเร็จรูปประกอบด้วย

แร่ธาตุหลัก

Calcium (Ca)	21.57	%
Phosphorus (P)	12.45	%
Potassium (K)	8.51	%
Magnesium (Mg)	4.75	%
Sodium (Na)	1.58	%
Chloride (Cl)	2.63	%
Sulfur (S)	0.045	%

แร่ธาตุรองในรูปของคีเลตอัตราส่วนของธาตุต่อกรดอะมิโนเท่ากับ 1:1

Iron (Fe)	0.098	%
Copper (Cu)	0.140	%
Cobalt (Co)	0.010	%
Zinc (Zn)	0.370	%
Selenium (Se)	0.001	%
Manganese (Mn)	0.040	%
Iodide (I)	0.003	%

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี

1. การหาปริมาณความชื้น (AOAC, 1990)

นำ moisture can มาอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ บันทึกน้ำหนักของ moisture can แล้วชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ใส่ลงใน moisture can จากนั้นนำ moisture can ที่มีตัวอย่างแล้วไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นานประมาณ 3 ชั่วโมง นำ moisture can ที่มีตัวอย่างนั้น ออกมาจากตู้อบและปล่อยให้เย็นใน เดซิเคเตอร์ (desicator) ประมาณ 30 นาที นำไปอบซ้ำหลายๆ ครั้งจนได้น้ำหนักคงที่ ซึ่งค่าที่ได้จะต้องไม่แตกต่างกันเกิน 0.05 กรัม ชั่งหาน้ำหนักของแข็งที่เหลืออยู่ คำนวณหาน้ำหนักที่หายไป และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น

สูตรคำนวณความชื้น

$$\text{ความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

2. การหาปริมาณเถ้า (AOAC, 1990)

นำครูซิเบิล (crucible) ไปเผาที่อุณหภูมิประมาณ 550 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ประมาณ 30 นาที ชั่งน้ำหนักครูซิเบิลที่แน่นอน จากนั้นชั่งตัวอย่างแห้งประมาณ 2-3 กรัม ใส่ในครูซิเบิล นำตัวอย่างไปเผาด้วยตะเกียงบุนเซนจนไม่มีควันดำเสียก่อน แล้วจึงนำไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิประมาณ 550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว นำไปทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนักเถ้า คำนวณหาเปอร์เซ็นต์เถ้าทั้งหมดในอาหารตัวอย่าง

สูตรการคำนวณเถ้า

$$\text{เถ้าทั้งหมด (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

3. การหาปริมาณโปรตีน (ดัดแปลงตาม AOAC, 1990)

สารเคมี

1. คะตะลิสต์ผสม (selenium reagent mixture)

2. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4)

3. สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

5. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

6. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

7. เชียร์ อินดิเคเตอร์ (sher indicator)

วิธีการวิเคราะห์

1. การย่อยสลาย (Digestion)

ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ใส่ใน digestion flask เติมคะตะลิสต์ผสม 10 กรัม เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตรตามลงไป นำ digestion flask ไปตั้งบนเตาย่อย ทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง หรือจนกว่าสารละลายใส ตั้งทิ้งไว้รอจนสารละลายเย็น

2. การกลั่น (Distillation)

นำตัวอย่างที่ได้จากการย่อยมาเติมน้ำ 40 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร แล้วต่อขวดย่อยเข้ากับเครื่องกลั่นให้ปลายข้างหนึ่งของคอนเดนเซอร์จุ่มในสารละลายกรดบอริก 4 นอร์มัล ปริมาตร 50 มิลลิลิตรกับเชียร์ อินดิเคเตอร์ ให้ช่วยในการดักจับก๊าซแอมโมเนียที่เกิดขึ้นขณะทำการกลั่นเป็นเวลา 3 นาที หลังจากการกลั่นสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว

3. การไตเตรท (Titration)

นำตัวอย่างที่กลั่นได้มาไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.1 นอร์มัลให้สีเขียวเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล บันทึกปริมาตรที่ใช้ในการไตเตรทและคำนวณหาปริมาณโปรตีนรวม

สูตรการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โปรตีนรวม

ปริมาณโปรตีนรวม (ร้อยละ) = $(X \times N \times 1.4 \times 6.25) / W$

เมื่อ X คือ ปริมาณของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไตเตรท ใช้หน่วยเป็นมิลลิลิตร

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก ใช้หน่วยเป็นนอร์มัล

W คือ น้ำหนักหรือปริมาตรของตัวอย่าง ใช้หน่วยเป็นกรัม

4. การหาปริมาณไขมัน (ดัดแปลงตาม AOAC, 1990)

สารเคมี

1. ไดเอทิล อีเทอร์

2. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 4 นอร์มัล

3. ซีไลซ์ (Celite)

4. ซีแซนด์ (sea sand)

วิธีการวิเคราะห์

1. อบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 1-2 ชั่วโมง จากนั้นใส่ในเดซิเคเตอร์

2. อบบีกเกอร์ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

3. ชั่งตัวอย่างประมาณ 5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ที่จะย่อย ใส่ซีไลต์ 5 กรัม

4. เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 4 นอร์มัล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เพื่อละลายตัวอย่างและซีไลต์ และเติมอีก 50 มิลลิลิตร เพื่อล้างตัวอย่างและซีไลต์ที่ติดอยู่ข้างๆ

5. วางบีกเกอร์ที่จะย่อยบน hot plate ในเครื่องย่อย

6. เตรียมกระดาษกรองใส่ในกรวยกรอง ชั่งซีแซนด์ 5 กรัม ใส่ในกระดาษกรอง

7. เมื่อสารละลายจากข้อ 5 เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มให้ปิดเครื่องย่อย

8. กรองสารละลายใส่ในกระดาษกรองที่เตรียมไว้ (ทำในตู้ควัน) จากนั้นต้มน้ำร้อนไว้

9. นำน้ำอุ่นมาล้างซีไลต์ที่ติดอยู่กับบีกเกอร์ให้สารละลายที่กรองได้มีปริมาตรประมาณ 250 มิลลิลิตร

10. รอจนตะกอนในกระดาษกรองแห้ง

11. นำตะกอนแห้งที่ติดอยู่กับกระดาษกรองใส่ในทิมเบิ้ล จากนั้นนำไปใส่ในบีกเกอร์ที่เตรียมไว้ในข้อ 2 และเติมไดเอทิล อีเทอร์ 140 มิลลิลิตร

12. นำตัวอย่างทั้งหมดเข้าเครื่อง soxterm นำตะกอนทิ้ง และล้างทิมเบิ้ลเก็บ จากนั้นชั่งบีกเกอร์ที่มีน้ำมันอยู่ บันทึกผลและคำนวณปริมาณไขมัน

สูตรการคำนวณหาปริมาณไขมัน

ปริมาณไขมัน (ร้อยละ) = $(W_1 \times 100) / W_2$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักน้ำมันที่สกัดได้ หน่วยเป็นกรัม

W_2 คือ น้ำหนักตัวอย่าง หน่วยเป็นกรัม

ภาคผนวก ค

การวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำ

1. การวัดความแน่นเนื้อ (firmness)

นำเนื้อกุ้งกุลาดำไปวัดค่าความแน่นเนื้อด้วยเครื่อง TA-XT2 Texture Analyzer (Stable Micro Symtem, England) โดยเลือก puncture test ใช้หัววัดแบบ flat cylinder ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลา 6 มิลลิเมตร (P/6) เพื่อเลียนแบบการวัดเนื้อสัมผัสโดยใช้นิ้ว ค่าความแน่นเนื้อของเนื้อกุ้งที่ได้จากเครื่องคือ แรง (นิวตัน) ที่ใช้ในการกดเนื้อกุ้งลงไปจากตำแหน่งเริ่มต้น 2 มิลลิเมตร โดยการวัดจะทำการวัดที่บริเวณกล้ามเนื้อปล้องที่ 2 ของเนื้อกุ้งกุลาดำ

2. การวัดความเหนียว (toughness)

นำเนื้อกุ้งกุลาดำมาวัดค่าความเหนียวด้วยเครื่อง TA XT2 Texture Analyzer (Stable Micro Symtem, England) โดยเลือก cutting test ใช้หัววัดแบบ Warner-Bratzler blade เพื่อเลียนแบบการกัดเนื้อกุ้งด้วยฟันหน้าและการเคี้ยวด้วยฟันด้านข้างตามลำดับ ค่าความเหนียวของเนื้อกุ้งที่ได้จากเครื่องคือ แรงเฉือน (shear force, นิวตัน) ที่ใช้ในการตัดเนื้อกุ้งออกเป็น 2 ส่วน โดยจะทำการวัดที่บริเวณกล้ามเนื้อปล้องที่ 2 ของเนื้อกุ้งกุลาดำ

3. การวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกแบบ Texture Profile Analysis (TPA)

การวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของกุ้งกุลาดำต้มสุก โดยใช้เครื่อง Texture analyzer รุ่น TA-XT2 ทำได้โดยใช้หัววัด (probe) รูปทรงกระบอกเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร (P/50) มีลักษณะเป็นอลูมิเนียม กดลงบนเนื้อกุ้ง 2 ครั้ง เลียนแบบการเคี้ยว ค่าที่วัดได้จะประกอบด้วย hardness, fracturability, gumminess, chewiness และ springiness การเตรียมตัวอย่างทำได้โดยนำเนื้อกุ้งกุลาดำต้มในน้ำเดือดปริมาตร 2 ลิตร เป็นเวลา 45 วินาที จากนั้นนำไปวัด โดยวางส่วนตัวกุ้งให้อยู่ตรงกลางของหัววัด

วิธีการใช้เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture analyzer รุ่น TA-XT2)

1. เริ่มทำงาน

1.1 เปิดคอมพิวเตอร์และเครื่อง Texture analyzer

1.2 คลิกที่โปรแกรม Texture analyzer จะปรากฏหน้าต่าง User Selection ⟶ คลิก OK

1.3 จากนั้นไปที่ File ⟶ New Project จะปรากฏหน้าต่างของ Project (ถ้าใช้เป็นครั้งแรก) หรือถ้าไม่ต้องการจะตั้ง Project ⟶ Restart ⟶ จะปรากฏหน้าต่างของกราฟ

1.4 กรณีมีข้อมูลแล้ว ให้คลิกที่ Open icon จะปรากฏหน้าต่างของ Open ให้เลือกชื่อไฟล์ตามต้องการโดยเปลี่ยนชนิดของไฟล์ได้ที่ List First of Type โดย *.ARC คือ ไฟล์ที่เป็นกราฟ *.RES คือ ไฟล์ที่เป็นตารางข้อมูล *.PRJ คือไฟล์ที่เป็น Project Document .MAC คือไฟล์ที่เป็น Macro และ *.LIS คือไฟล์ที่เป็นข้อมูลดิบ

2. การปรับเทียบ (calibration)

2.1 จะต้อง calibrate force ทุกครั้งที่ทำการทดสอบโดยไปที่ T.A. บน menu bar ⟶ Calibrate Force จะปรากฏหน้าต่างของ Force Calibration ตรวจดูให้แน่ใจว่าไม่มีหัววัด (probe) ติดอยู่ที่ calibration platform จากนั้นให้คลิก OK

2.2 จากนั้นจะปรากฏหน้าต่างใหม่ของ Force Calibration ต่อไปให้วางตุ้มน้ำหนัก 5 กิโลกรัม บน calibration platform แล้วคลิก OK

2.3 เมื่อปรากฏข้อความว่า " Calibration Successful" ให้ยกตุ้มน้ำหนักลงแล้วคลิก OK

2.4 จากนั้นจะต้องมีการ calibrate probe โดยไปที่ T.A. บน menu bar⟶Calibrate probe จะปรากฏหน้าต่างของ Probe Calibration ตรวจดูให้แน่ใจว่ามีหัววัด (probe) ติดอยู่ที่ calibration platform และให้กำหนดระยะในการดึงกลับ จากนั้นให้คลิก OK

3. การทำ T.A. Setting

3.1 ไปที่ T.A. ⟶ T.A. Setting จะปรากฏหน้าต่างของ Texture Analyzer Setting ตั้งค่าพารามิเตอร์ดังนี้

กรณีการวัดค่าความแน่นเนื้อ

Pre Test Speed :	4.0 mm/s
Test Speed :	2.0 mm/s
Post Test Speed :	4.0 mm/s
Rupture Test Speed :	0.1 mm

Distance :	2.0 mm
Force :	0.98 N
Time :	3.00 sec.
Count :	5

กรณีการวัดค่าความเหนียว

Pre Test Speed :	4.0 mm/s
Test Speed :	4.0 mm/s
Post Test Speed :	10.0 mm/s
Rupture Test Speed :	0.1 mm
Distance :	35 mm
Force :	0.98 N
Time :	3.00 sec.
Count :	5

กรณีการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกแบบ Texture Profile Analysis (TPA)

Pre Test Speed :	4.0 mm/s
Test Speed :	2.0 mm/s
Post Test Speed :	10.0 mm/s
Rupture Test Speed :	0.1 %
Distance :	70 %
Force :	0.98 N
Time :	3.00 sec.
Count :	5

3.2 ถ้าต้องการบันทึกข้อมูลไว้ให้คลิก Save กรณีจะเรียกใช้ข้อมูลเดิมให้คลิก Load

3.3 เมื่อจะทำขั้นต่อไปให้คลิก Update

4. การทำ Run a Test

4.1 เมื่อวางตัวอย่างบนแท่นทดสอบหรือ probe ชุดล่างเรียบร้อยแล้ว ให้เลือก T.A. บน menu bar.⟶ Run a Test (หรือ F2) จะปรากฏหน้าต่างของ Run a Test พารามิเตอร์ต่างๆ มีความหมายดังนี้

Auto Save : บันทึกข้อมูลโดยอัตโนมัติตาม drive หรือ path ที่ตั้งไว้

File Id : ตั้งชื่อ file สำหรับกราฟแสดงผล (5 ตัวอักษร)

File No : ตั้งหมายเลขไฟล์ (จำเป็นในครั้งแรกเพราะจะเพิ่มขึ้นเองโดยอัตโนมัติหลังจากที่แต่ละไฟล์ถูกบันทึก)

Drive : ตำแหน่งที่จะให้บันทึกข้อมูลไว้

Title : ตั้งชื่อกราฟแสดงผล

Note : บันทึกรายละเอียดของตัวอย่างนำมาทดสอบ

Probe and Product Data : เลือกชนิดของ Probe ให้ตรงกับที่นำมาใช้

Configure : ใส่ Production dimension

Delay Start : เมื่อต้องการเลื่อนเวลาในการเริ่มการวัดออกไป

Clear Previous Graph : เมื่อต้องการให้การทดสอบแต่ละครั้งปรากฏกราฟเพียงเส้นเดียว (เป็นการลบ ARC file เดิมออกเพื่อให้ ARC file ใหม่เข้ามาแทน)

Run Macro : เมื่อต้องการให้วิเคราะห์ผลโดยอัตโนมัติ

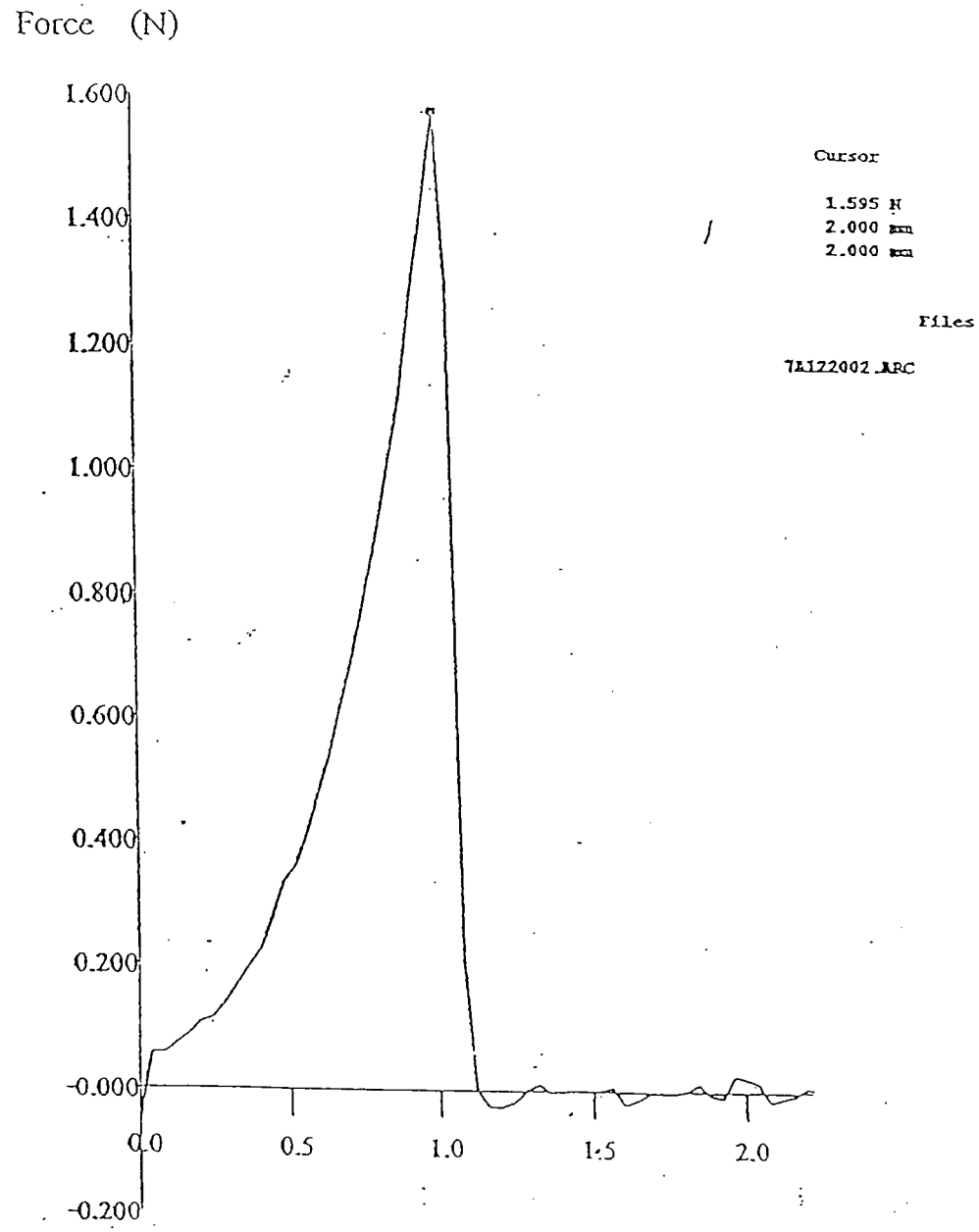
PPS : อัตราเร็วในการบันทึกข้อมูลลงในหน่วยความจำของคอมพิวเตอร์ โดยทั่วไปใช้ 200 PPS

4.2 เมื่อตั้งค่าต่าง เรียบร้อยแล้วให้คลิก OK เครื่องจะเริ่มทำการทดสอบพร้อมกับปรากฏเส้นกราฟบนหน้าต่างกราฟ ส่วนการทดสอบขั้นต้นต่อไป ให้คลิก T.A. บน menu bar ⟶Quick Test Run (หรือกดแป้น Ctrl + Q

4.3 อ่านค่าที่ได้จากกราฟ

กรณีอ่านค่าความแน่นเนื้อ (firmness)

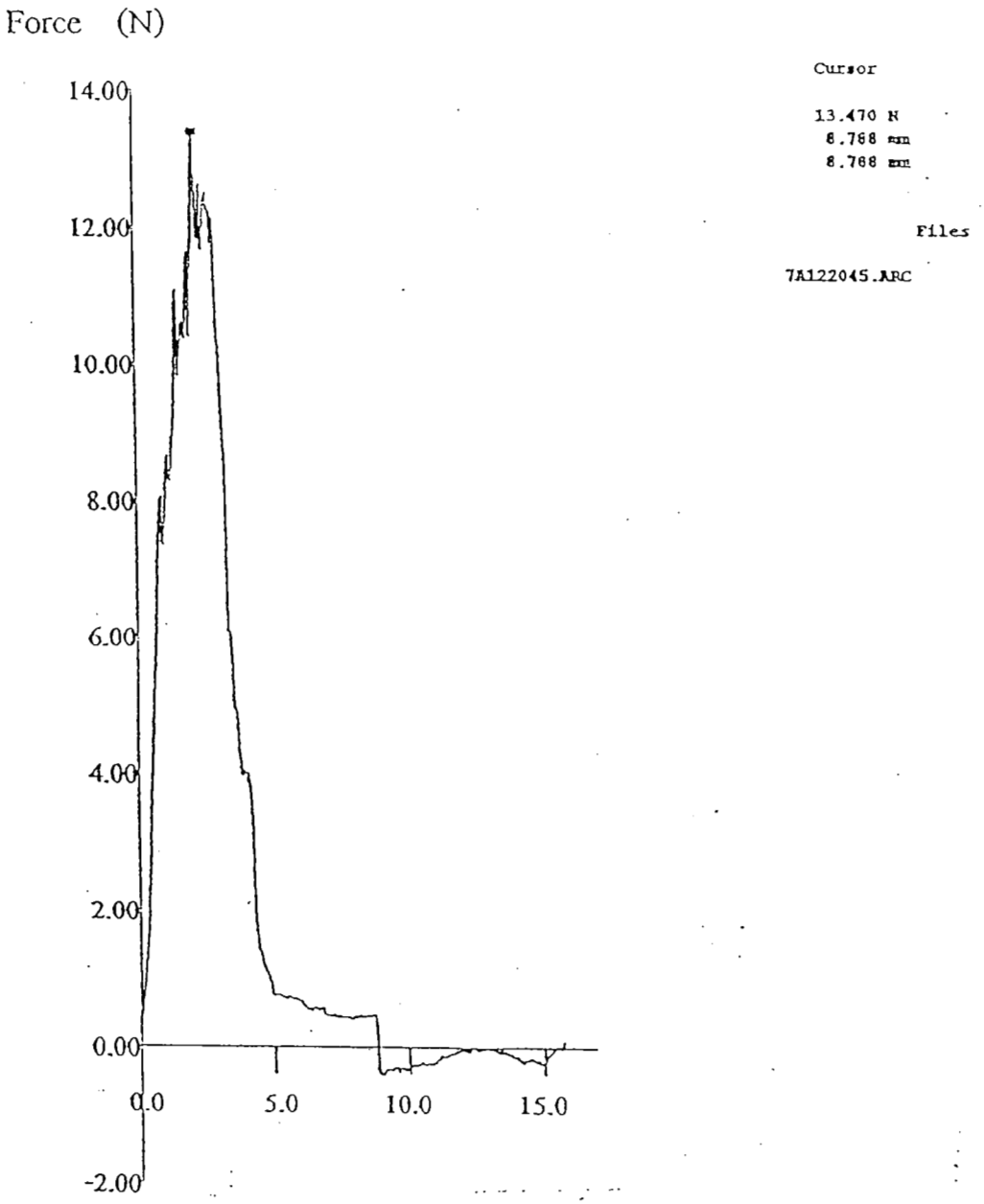
เลือก Go to บน menu bar ⟶ max force ⟶ OK ได้กราฟแสดงภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงตัวอย่างค่าความแน่นเนื้อที่อ่านได้จากกราฟด้วยเครื่อง TA. XT2 Texture Analyzer

กรณีอ่านค่าความเหนียว (toughness)

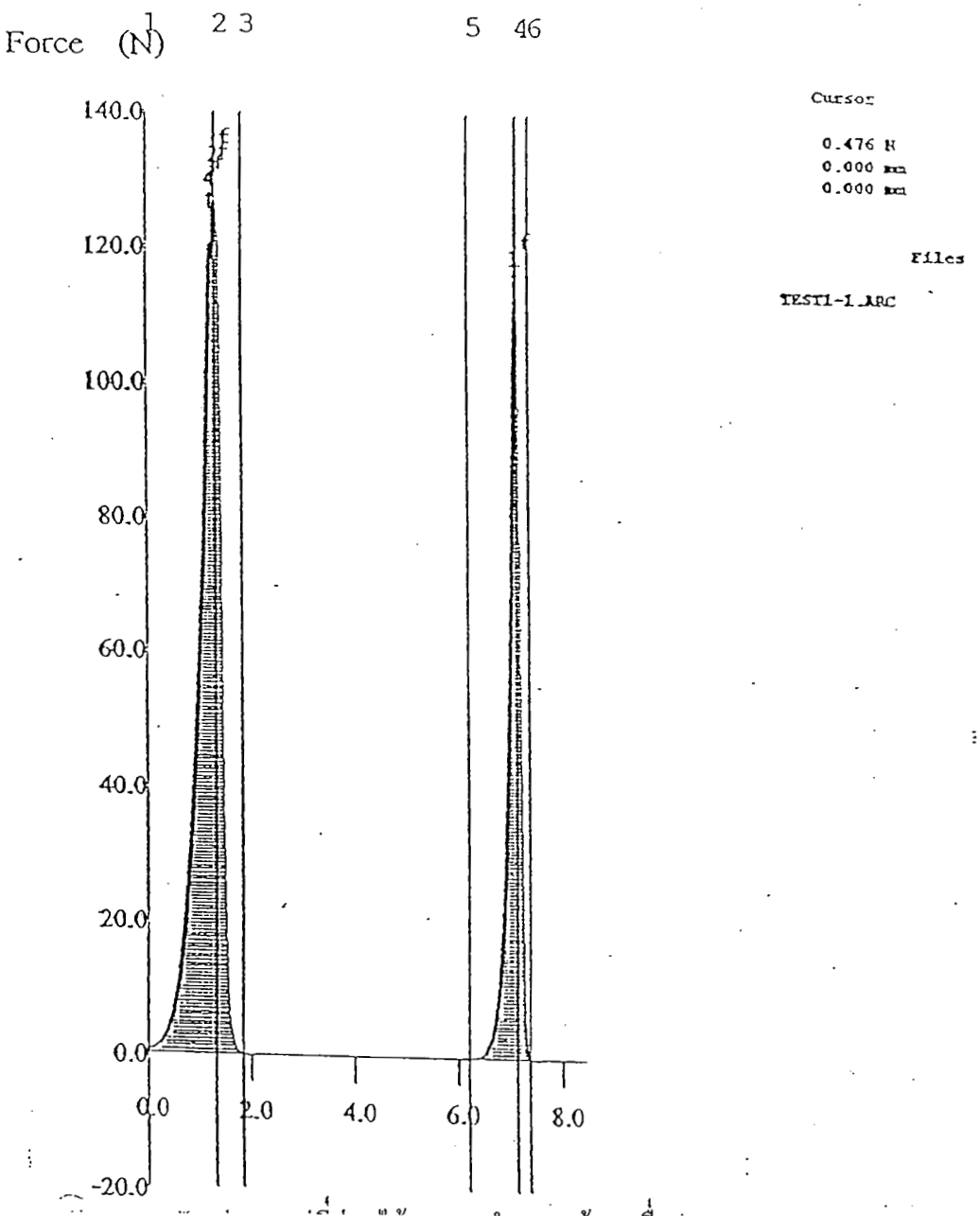
เลือก Go to บน menu bar ⟶ max force ⟶ OK ได้กราฟแสดงภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แสดงตัวอย่างค่าความเหนียวที่อ่านได้จากกราฟด้วยเครื่อง TA. XT2 Texture Analyzer

กรณีอ่านค่าที่ได้จากการทำ TPA

เลือก Go to บน menu bar ⟶ max force ⟶ OK ได้กราฟแสดงภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แสดงตัวอย่างกราฟที่อ่านได้จากการทำ TPA ด้วยเครื่อง TA. XT2 Texture Analyzer

ภาคผนวก ง

วิธีการเตรียมสารในการทำ SDS PAGE

1. การเตรียมสารละลาย 30% อะคริลาไมด์ที่มี 0.8% บิส

ชั่งอะคริลาไมด์ 30 กรัม และบิสอะคริลาไมด์ 0.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร กวนทิ้งไว้ 1 คืน เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในที่ไม่มีแสง

2. การเตรียม 1.5 โมลาร์ ทริส-คลอไรด์/เอสดีเอส pH 8.8 หรือ เซเปเรติงบัฟเฟอร์

ชั่งทริส (ไฮดรอกซี เมทธิล)-อะมิโนมีเธน 18.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 8.8 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3. การเตรียม 1.25 โมลาร์ เอสดีเอส-อิเล็กโทรโฟรีซิสบัฟเฟอร์

ชั่งทริส (ไฮดรอกซี เมทธิล)-อะมิโนมีเธน 15.1 กรัม ไกลซีน 72 กรัม และเอสดีเอส 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ก่อนใช้เจือจาง 5 เท่า

4. การเตรียม 0.125 เอสดีเอส แซมเปิลบัฟเฟอร์

ตวงสารทุกอย่างดังนี้ 0.5 โมลาร์ ทริส-คลอไรด์/เอสดีเอส pH 6.8 25 มิลลิลิตร กลีเซอรอล 20 มิลลิลิตร เอสดีเอส 4 กรัม 2-เมอร์แคปโตเอทานอล 2 มิลลิลิตร โบรโมฟีนอลบูล 1 มิลลิกรัม นำสารทุกอย่างมาผสมกันในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

5. การเตรียม 0.5 โมลาร์ ทริส-คลอไรด์/เอสดีเอส pH 6.8

ชั่งทริส (ไฮดรอกซี-เมทธิล)-อะมิโนมีเธน 6.05 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 6.8 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เติมเอสดีเอส 0.4 กรัม ก่อนใช้เจือจาง 2 เท่า

6. การเตรียม 0.05 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์

ชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 6.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ใช้โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ปรับ pH ให้เป็น 7 จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร เวลาใช้ต้องเจือจาง 2 เท่า เพื่อให้ได้ 0.05 โมลาร์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์

7. การเตรียม 0.05 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มี 0.6 โมลาร์ โพแทสเซียมคลอไรด์

ชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ 44.74 กรัม ละลายในสารละลาย 0.05 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1000 มิลลิลิตร

8. การเตรียม 10% กรดไตรคลอโรอะซีติก

ชั่งกรดไตรคลอโรอะซีติก 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

9. การเตรียมสารละลายสีโคแมสซีบูล

ชั่งสีโคแมสซีบูล จี250 0.0125 กรัม เติม 85% กรดฟอสฟาริค 25 มิลลิลิตร และเติมน้ำปราศจากไอออนจนได้ปริมาตร 250 มิลลิลิตร นำไปกรองด้วยกระดาษกรอง (ควรเตรียมใหม่ทุกครั้ง)

10. การเตรียมโปรตีนมาตรฐาน BSA 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ชั่งโปรตีนมาตรฐาน BSA 0.5 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร

11. การเตรียมสารละลายย้อมสี

ชั่งโคแมสซีบูล จี 250 0.5 กรัม เติม 10 % (ปริมาตรต่อปริมาตร) กรดอะซีติก 200 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

12. การเตรียมสารละลายล้างสี

ใช้ กรดอะซีติก ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำปริมาตร 900 มิลลิลิตร

13. การเตรียม 10% แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต

ชั่งแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร (ควรเตรียมใหม่ทุกครั้ง)

ภาคผนวก จ

ตัวอย่างแบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ใบรายงานผลการทดสอบการพึงพอใจ (Hedonic Scaling Test)

วันที่ .....

<u>คำแนะนำ</u> กรุณาทดสอบตัวอย่างกุ้งต้มสุกตามลำดับ จากซ้ายไปขวา แล้วให้คะแนนความชอบตามความรู้สึกของท่าน ตามคำอธิบายคะแนนความชอบข้างล่างนี้และบ้วนปากระหว่างตัวอย่าง(กรุณาบ้วนปากก่อนชิมตัวอย่างต่อไป)

1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 = เฉย ๆ 6 = ชอบเล็กน้อย
7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากที่สุด

ร หัสตัวอย่าง									
สี									
กลิ่น									
กลิ่นรส									
รสชาติ									
ลักษณะเนื้อสัมผัส									
ความชอบโดยรวม									

ข้อเสนอแนะ..... .....

.....

(ขอบคุณค่ะ)

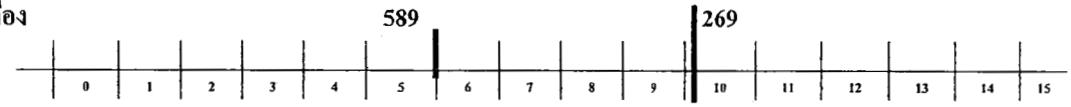
การประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาด้วยวิธีQDA

ผลิตภัณฑ์ เนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุก วันที่

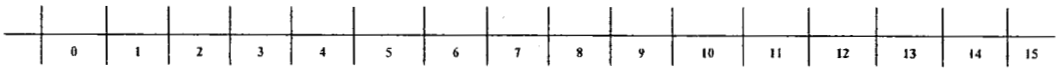
.....

กรุณาขีดเส้นตรงตั้งฉากกับเส้นคะแนนในตำแหน่งที่ท่านเห็นว่าเป็นระดับความเข้ม (Intensity) ของลักษณะของแต่ละตัวอย่างที่ท่านได้รับรู้ระหว่างการประเมิน จากนั้นเขียนเลขรหัสของตัวอย่างเหนือเส้นตรงที่ท่านขีด เช่น รหัสตัวอย่าง 589 และ 269

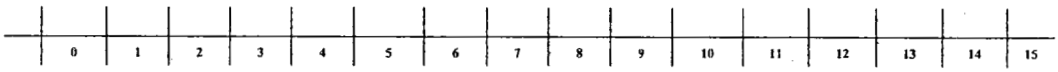
สีเหลือง



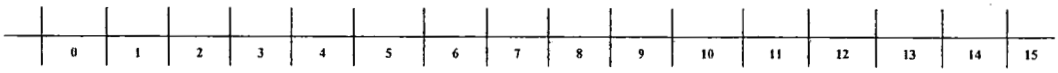
สีแดง



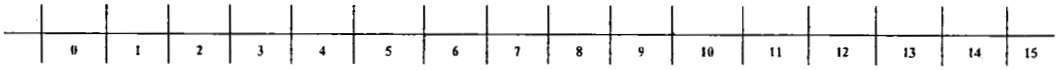
กลิ่นมันเทศต้ม



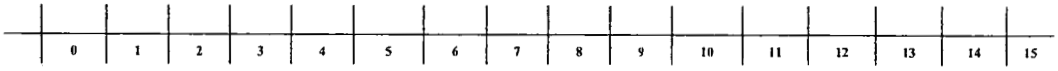
กลิ่นเนื้อปูสุก



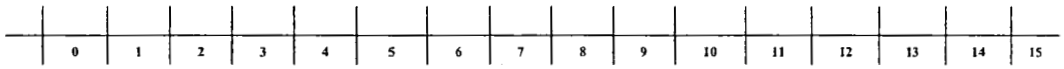
กลิ่นปลานิล



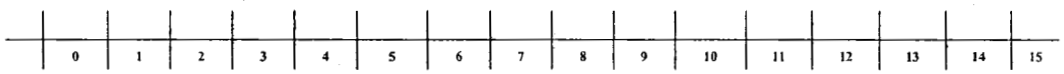
รสเค็ม



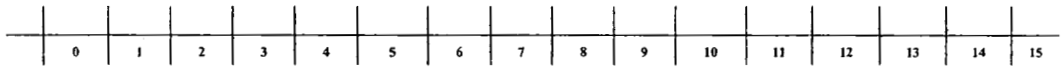
รสหวาน



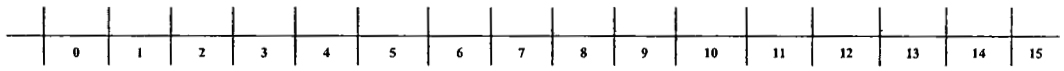
รสอูมามิ



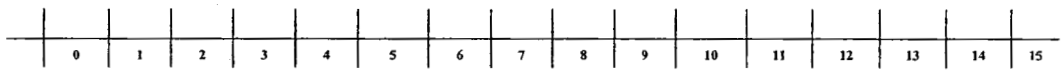
ความแข็งของผิวกุ้ง



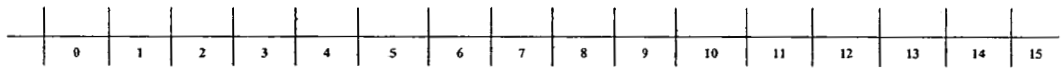
ความยืดหยุ่น



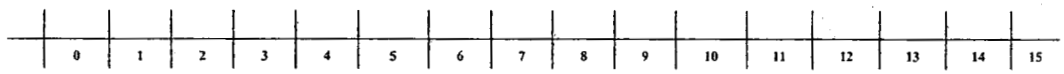
ความแน่นเนื้อ



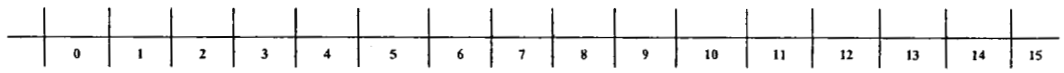
ความชุ่มน้ำ



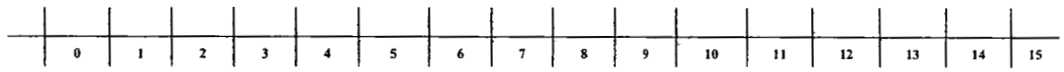
ความละเอียด



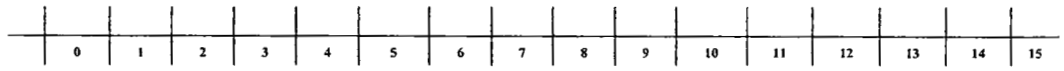
กลิ่นรสเผือกนึ่ง



กลิ่นรสโคลน



กลิ่นรสเนื้อปูสุก



ข้อเสนอแนะ

ขอบคุณค่ะ

ภาคผนวก ฉ

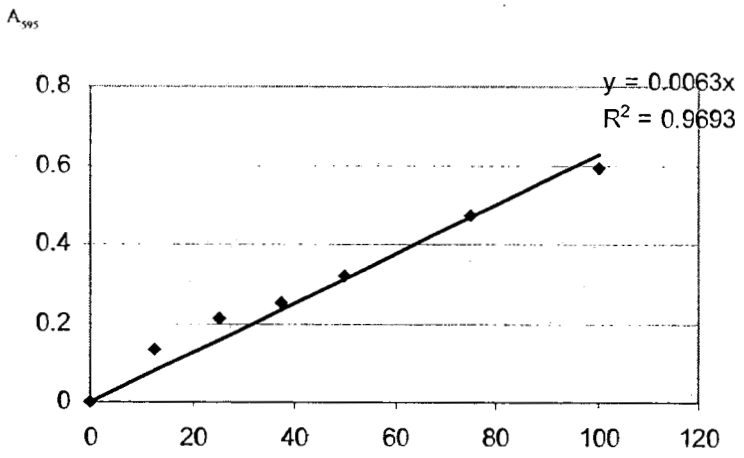
การสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีของแบรดฟอร์ด

1. ปิเปตสารละลายโปรตีนมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA)ความเข้มข้น0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตรต่างกันใส่ในหลอดทดลอง ตามตาราง ฉ.1 หลอดที่ทำเป็นแบลงค์ (blank)ไม่ต้องใส่โปรตีน
2. เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จนได้สารละลายโปรตีนปริมาตร 500 ไมโครลิตร ทุกหลอด
3. เติมสารละลายสีโคแมสซีบูล ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที
4. นำสารละลายในหลอดทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร ควรผสมสารละลายให้เข้ากันให้ดีก่อนการนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง
5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาเขียนกราฟกับปริมาณโปรตีนที่เติมลงในแต่ละหลอด จะได้กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

ตารางที่ ฉ.1 แสดงการทำกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีของแบรดฟอร์ด

หลอดที่	ปริมาณโปรตีน (ไมโครกรัม)	สารละลายโปรตีนมาตรฐาน BSA (0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (มิลลิลิตร)	สารละลายสีโคแมสซีบูล (มิลลิลิตร)
1	0	0	500	5
2	12.5	●	475	5
3	12.5	25	475	5
4	25	50	450	5
5	25	50	450	5
6	37.5	75	425	5
7	37.5	●	425	5
8	50	100	500	5
9	50	100	500	5
10	25	100	350	5
11	75	100	350	5
12	100	200	500	5
13	100	100	500	5

กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธีของแบรดฟอร์ด



วิธีการหาปริมาณโปรตีนรวมด้วยวิธีของแบรดฟอร์ด

ใช้ออโตปิเปตดูดสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 480 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง แล้วดูดสารละลายโปรตีนตัวอย่างละ 20 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลายสีโคแมสซีบูลปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร ก่อนที่จะวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องทำให้ตัวอย่างเข้ากันก่อน นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเปรียบเทียบและคำนวณหาปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน

ภาคผนวก ช

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ ช.1 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านความยาวของกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็งที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity [sig]	2	3.899	1.949	3.835	0.023
Mineral	2	0.653	0.327	0.643	0.527
Salinity x Mineral	4	4.898	1.224	2.409	0.051
Error	180	91.491	0.508		
Total	189	100.941			

ตารางที่ ช.2 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านน้ำหนักก่อนปอกเปลือกของกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็งที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity [sig]	2	51.159	25.579	4.363	0.014
Mineral	2	3.917	1.958	0.334	0.716
Salinity x Mineral	4	40.994	10.248	1.748	0.141
Error	180	1055.272	5.863		
Total	189	1151.342			

ตารางที่ ช.3 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านน้ำหนักหลังปอกเปลือกของกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็งที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity [sig]	2	17.404	8.702	5.902	0.003
Mineral	2	0.513	0.256	0.174	0.841
Salinity x Mineral	4	8.567	2.142	1.453	0.219
Error	180	265.402	1.474		
Total	189	291.886			

ตารางที่ ช.4 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านความหนาของกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็งที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity [sig]	2	42.444	21.222	21.588	0.000
Mineral	2	5.324	2.662	2.708	0.071
Salinity x Mineral	4	6.984	1.746	1.776	0.138
Error	126	123.862	0.983		
Total	135	178.614			

ตารางที่ ช.5 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านความแน่นเนื้อของกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็งที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity [sig]	2	5972.80	2986.40	10.385	0.000
Mineral	2	380.311	190.156	0.661	0.518
Salinity x Mineral	4	1480.889	370.222	1.287	0.278
Error	126	36234.00	287.571		
Total	135	44068.00			

ตารางที่ ช.6 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของแรงเฉือนของกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็งที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	1.805	0.903	1.939	0.148
Mineral	2	0.198	0.099	0.212	0.809
Salinity x Mineral	4	3.873	0.968	2.080	0.087
Error	126	58.641	0.465		
Total	135	64.516			

ตารางที่ ช.7 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านปริมาณการสูญเสียจากการทำให้สุกของกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็งที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity[sig]	2	537.465	268.732	7.611	0.001
Mineral	2	117.659	58.830	1.666	0.195
Salinity*Mineral [sig]	4	520.237	130.059	3.683	0.008
Error	81	2860.139	35.310		
Total	90	4035.50			

ตารางที่ ช.8 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านความแข็ง (hardness) ของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกันจากการทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัสแบบ TPA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	5080.763	2540.381	3.201	0.053
Mineral	2	210.441	105.221	0.133	0.876
Salinity*Mineral	4	576.379	144.095	0.182	0.946
Error	36	28574.282	793.730		
Total	45	34441.865			

ตารางที่ ช.9 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านความแตกเปราะ (Fracturability) ของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกันจากการทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัสแบบ TPA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	692.662	346.331	0.423	0.658
Mineral	2	738.307	369.153	0.451	0.641
Salinity*Mineral	4	2619.00	654.750	0.799	0.534
Error	36	29497.245	819.368		
Total	45	33547.214			

ตารางที่ ช.10 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านการตอบสนองต่อการเคี้ยว (Chewiness) ของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกันจากการทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัสแบบ TPA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	1223.134	611.567	2.650	0.084
Mineral	2	56.209	28.104	0.122	0.886
Salinity*Mineral	4	219.106	54.776	0.237	0.915
Error	36	8307.056	230.752		
Total	45	9805.504			

ตารางที่ ช.11 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านการ cutting ของกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	14.170	7.085	0.419	0.661
Mineral	2	18.539	9.269	0.548	0.583
Salinity*Mineral	4	98.069	24.517	1.449	0.238
Error	36	609.199	16.922		
Total	45	739.977			

ตารางที่ ช.12 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านสีแดงของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาโดยวิธี QDA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	4.596	2.298	1.430	0.245
Mineral	2	3.250	1.625	1.011	0.368
Salinity*Mineral	4	5.418	1.355	0.843	0.502
Error	81	130.138	1.607		
Total	89	143.402			

ตารางที่ ช.13 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านกลิ่นมันเทศต้มของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาโดยวิธี QDA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	2.475	1.237	0.393	0.677
Mineral	2	6.872	3.436	1.090	0.341
Salinity*Mineral	4	9.390	2.347	0.745	0.564
Error	81	255.368	3.153		
Total	89	274.105			

ตารางที่ ช.14 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านกลิ่นเนื้อปูสุกของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาโดยวิธี QDA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	0.995	0.497	0.072	0.931
Mineral	2	0.185	0.092	0.013	0.987
Salinity*Mineral	4	34.216	8.554	1.234	0.303
Error	81	561.335	6.930		
Total	89	596.731			

ตารางที่ ช.15 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านกลิ่นปลานิลของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาโดยวิธี QDA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	2.753	1.376	0.174	0.840
Mineral	2	12.604	6.302	0.798	0.454
Salinity*Mineral	4	9.808	2.452	0.310	0.870
Error	81	640.006	7.901		
Total	89	665.172			

ตารางที่ ช.16 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านรสเค็มของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาโดยวิธี QDA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	0.242	0.121	0.157	0.855
Mineral	2	0.768	0.384	0.498	0.609
Salinity*Mineral	4	0.562	0.140	0.182	0.947
Error	81	62.442	0.771		
Total	89	64.014			

ตารางที่ ช.17 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านรสหวานของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาโดยวิธี QDA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	3.602	1.801	0.728	0.486
Mineral	2	0.739	0.369	0.149	0.861
Salinity*Mineral	4	3.389	0.847	0.343	0.848
Error	81	200.287	2.473		
Total	89	208.017			

ตารางที่ ช.18 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านรสอูมามิของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาโดยวิธี QDA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	4.030	2.015	0.596	0.554
Mineral	2	0.417	0.208	0.062	0.940
Salinity*Mineral	4	3.472	0.868	0.257	0.905
Error	81	273.964	3.382		
Total	89	281.882			

ตารางที่ ช.19 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านความแข็งของผิวกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาโดยวิธี QDA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	5.196	2.598	0.524	0.594
Mineral	2	9.126	4.563	0.921	0.402
Salinity*Mineral	4	10.809	2.702	0.545	0.703
Error	81	401.490	4.957		
Total	89	426.621			

ตารางที่ ช.20 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านความยืดหยุ่นของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาโดยวิธี QDA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	0.273	0.137	0.024	0.976
Mineral	2	6.679	3.340	0.582	0.561
Salinity*Mineral	4	8.753	2.188	0.382	0.821
Error	81	464.532	5.735		
Total	89	480.238			

ตารางที่ ช.21 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านความแน่นเนื้อของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาโดยวิธี QDA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	0.539	0.269	0.037	0.964
Mineral	2	9.798	4.899	0.667	0.516
Salinity*Mineral	4	7.831	1.958	0.267	0.899
Error	81	594.963	7.345		
Total	89	613.131			

ตารางที่ ช.22 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านความชุ่มน้ำของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาโดยวิธี QDA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	8.853	4.426	0.828	0.440
Mineral	2	5.864	2.932	0.549	0.580
Salinity*Mineral	4	7.125	1.781	0.333	0.855
Error	81	432.887	5.344		
Total	89	454.729			

ตารางที่ ช.23 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านความละเอียดของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาโดยวิธี QDA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	0.730	0.365	0.256	0.775
Mineral	2	0.096	0.048	0.034	0.967
Salinity*Mineral	4	2.670	0.667	0.468	0.759
Error	81	115.430	1.425		
Total	89	118.926			

ตารางที่ ช.24 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านกลิ่นรสเผือกนึ่งของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาโดยวิธี QDA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	0.081	0.040	0.022	0.978
Mineral	2	1.228	0.614	0.338	0.714
Salinity*Mineral	4	0.629	0.157	0.087	0.986
Error	81	147.108	1.816		
Total	89	149.046			

ตารางที่ ช.25 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านกลิ่นรสโคลนของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาโดยวิธี QDA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	1.113	0.556	0.314	0.731
Mineral	2	1.699	0.849	0.480	0.621
Salinity*Mineral	4	2.271	0.568	0.321	0.863
Error	81	143.459	1.771		
Total	89	148.541			

ตารางที่ ช.26 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้านกลิ่นรสเนื้อปูสุกของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาโดยวิธี QDA

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	7.467	3.733	0.585	0.560
Mineral	2	8.065	4.032	0.631	0.534
Salinity*Mineral	4	14.959	3.740	0.586	0.674
Error	81	517.235	6.386		
Total	89	547.725			

ตารางที่ ช.27 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนสีของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสโดยวิธี Hedonic scale

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	1.067	0.533	0.620	0.541
Mineral	2	2.467	1.233	1.435	0.245
Block^{sig}	9	43.111	4.790	5.573	0.000
Salinity*Mineral	4	3.467	0.867	1.008	0.409
Error	72	61.889	0.860		
Total	89	112.00			

ตารางที่ ช.28 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนกลิ่นของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสโดยวิธี Hedonic scale

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	0.200	0.100	0.174	0.841
Mineral	2	1.867	0.933	1.620	0.205
Block^{sig}	9	83.611	9.290	16.122	0.000
Salinity*Mineral	4	1.333	0.333	0.578	0.679
Error	72	41.489	0.576		
Total	89	128.50			

ตารางที่ ช.29 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนกลิ่นรสของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสโดยวิธี Hedonic scale

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	2.956	1.478	2.805	0.067
Mineral	2	0.622	0.311	0.591	0.557
Block^{sig}	9	56.767	6.307	11.972	0.000
Salinity*Mineral	4	2.044	0.511	0.970	0.429
Error	72	37.933	0.527		
Total	89	100.322			

ตารางที่ ช.30 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนรสชาติของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสโดยวิธี Hedonic scale

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	0.822	0.411	0.536	0.588
Mineral	2	0.956	0.478	0.623	0.539
Block^{sig}	9	59.556	6.617	8.624	0.000
Salinity*Mineral	4	1.644	0.411	0.536	0.710
Error	72	55.244	0.767		
Total	89	118.22			

ตารางที่ ช.31 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสโดยวิธี Hedonic scale

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	2.222	1.111	0.941	0.395
Mineral	2	4.022	2.011	1.704	0.189
Block[sig]	9	34.000	3.778	3.200	0.003
Salinity*Mineral	4	4.978	1.244	1.054	0.386
Error	72	85.000	1.181		
Total	89	130.222			

ตารางที่ ช.32 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนความชอบโดยรวมของเนื้อกุ้งกุลาดำต้มสุกที่เลี้ยงในสภาวะที่ต่างกัน จากการทดสอบประสาทสัมผัสโดยวิธี Hedonic scale

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	2.117	1.058	1.320	0.274
Mineral	2	1.617	0.808	1.008	0.370
Block[sig]	9	40.292	4.477	5.583	0.000
Salinity*Mineral	4	2.867	0.717	0.894	0.472
Error	72	57.733	0.802		
Total	89	104.625			

ตารางที่ ช.33 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในน้ำที่ผ่านการคลายเย็นครั้งที่ 1, 2, 3 ของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูปที่ระดับต่างๆ

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity[sig]	2	54.391	27.195	4.393	0.022
Mineral	2	11.817	5.908	0.954	0.398
Thaw[sig]	2	759.976	379.988	61.386	0.000
Salinity*Mineral[sig]	4	143.635	35.909	5.801	0.002
Salinity*Thaw[sig]	4	242.230	60.558	9.783	0.000
Mineral*Thaw	4	15.341	3.835	0.620	0.652
Salinity*Mineral*Thaw	8	67.781	8.473	1.369	0.254
Error	27	167.133	6.190		
Total	53	1462.304			

ตารางที่ ช.34 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนปริมาณโปรตีนที่สามารถละลายได้ในเกลือที่ผ่านการคลายเย็น 1, 2, 3 ครั้งของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูปที่ระดับต่างๆ

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	34.434	17.217	2.583	0.094
Mineral[sig]	2	138.776	69.388	10.409	0.000
Thaw[sig]	2	486.645	243.322	36.499	0.000
Salinity*Mineral	4	62.388	15.597	2.340	0.081
Salinity*Thaw[sig]	4	269.110	67.277	10.092	0.000
Mineral*Thaw[sig]	4	173.074	43.268	6.490	0.001
Salinity*Mineral*Thaw	8	85.827	10.728	1.609	0.169
Error	27	179.995	6.666		
Total	53	1430.249			

214201

ตารางที่ ช.35 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนปริมาณของ myosin heavy chain (MHC) ที่ผ่านการคลายเย็น 1, 2, 3 ครั้งของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเลี้ยงที่สภาวะความเค็มน้ำ และปริมาณแร่ธาตุในอาหารสำเร็จรูปที่ระดับต่างๆ

SOV	df	SS	MS	F	*p*
Salinity	2	1006.489	503.244	1.549	0.231
Mineral	2	132.729	66.365	0.204	0.817
Thaw	2	301.938	150.969	0.465	0.633
Salinity*Mineral	4	2374.377	593.594	1.827	0.153
Salinity*Thaw	4	881.221	220.305	0.678	0.613
Mineral*Thaw	4	2960.826	740.206	2.278	0.087
Salinity*Mineral*Thaw	8	2922.856	365.357	1.124	0.379
Error	27	8774.284	324.973		
Total	53	19354.720			