รหัสโครงการ SUT3-305-43-12-03

รายงานการวิจัย

การเร่งกระบวนการแปรรูปน้ำปลา

(Acceleration of Fish Sauce Processing)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์

ผู้ร่วมวิจัย : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล

สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปี งบประมาณ พ.ศ. 2543

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

พฤศจิกายน 2548

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ พนักงานและนักวิทยาศาสตร์ของศูนย์เครื่องมือฯ และผู้ช่วยวิจัยของโครงการ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณเศกสิทธิ์ ชำนาญศิลป์ คุณสุชาดา อุดมพร และ คุณศิริวรรณ ฉะวงษ์ ตลอดจนคุณศุภกาญจน์ บุญอยู่ และคุณปุญณภา สูบโคกสูง เจ้าหน้าที่สถานวิจัย สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร ซึ่งช่วยในการจัดพิมพ์และทำรูปเล่มรายงานฉบับนี้

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2543

คณะผู้วิจัย

บทคัดย่อ

การศึกษากิจกรรมการย่อยโปรตีนของเอนไซม์สกัดจากปลากะตักพบว่า เอนไซม์โปรติเนสของปลากะตักมีกิจกรรมสูงสุดที่ อุณหภูมิ 65 °ซ และ pH 8.5 การเพิ่มปริมาณเกลือมีผลลดกิจกรรมของเอนไซม์ โดยที่ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 25 จะไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ การเพิ่มปริมาณเกลือที่ใช้ในการหมักปลา มีผลให้การทำงานของเอนไซม์โปรติเนสในเนื้อปลากะตักระหว่างการหมักลดลงเช่นเดียวกัน ส่วนการเพิ่มอุณหภูมิระหว่างการหมักน้ำปลา มีผลเร่งการทำงานของโปรติเนสในเนื้อปลากะตักให้มากขึ้น การใช้เกลือร้อยละ 15 และอุณหภูมิ 40 °ซ จะสามารถย่อยโปรตีนปลาได้ปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ทั้งหมดเกินมาตรฐานน้ำปลาชั้นหนึ่งภายใน 7 วัน การเสริมด้วยเอนไซม์อัลคาเลส ในปริมาณ 60 หน่วย (AU) ต่อ ก.ก. ของปลา ที่ pH 8.5 อุณหภูมิ 65 °ซ และเกลือร้อยละ 5 จะช่วยเร่งการย่อยสลายโปรตีนให้เพิ่มขึ้นได้ดีที่สุด ระหว่างการหมักน้ำปลาจุลินทรีย์ซึ่งชอบและทนเกลือสูงจะมีปริมาณประชากรสูงสุด และจุลินทรีย์ทุกชนิดจะลดปริมาณลงอย่างรวดเร็วใน 3 เดือนแรกของการหมักน้ำปลา การเร่งกระบวนการหมักน้ำปลาโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสร่วมกับเอนไซม์เฟเวอร์ไซม์ และหัวเชื้อน้ำปลาซึ่งผ่านการหมักเป็นเวลา 1 เดือน ร้อยละ 10 ของเนื้อปลา ใช้เวลา 4 เดือน ได้น้ำปลาซึ่งมีลักษณะทางประสาทสัมผัสไม่แตกต่างจากน้ำปลาซึ่งหมักเป็นเวลา 12 เดือน

Abstract

Protein hydrolyzing enzymes extracted from Anchovy exhibited maximum activity at pH 8.5 and 65 °C. Increases in NaCl resulted in the reduction of the enzyme activity and no activity was observed at 25% NaCl. During fish sauce fermentation, the activity of proteinase in fish decreased as NaCl was increased. Increases in fermentation temperatures accelerated activity of proteinase in fish. At 15% NaCl and 40 °C, fish protein was hydrolyzed to total soluble proteins exceeding the standard for the first grade fish sauce within 7 days. Addition of Alcalase in the amount of 60 AU per kg of fish best accelerated protein hydrolysis at 65°C, pH 8.5, and 5% NaCl. The highest population of microorganisms in fish sauce during fermentation belonged to halobacteria but all microorganisms rapidly reduced within the first 3 months. Acceleration of fish sauce fermentation was achieved in 4 months with the application of Alcalase together with Flavourzyme and the addition of 1 month-fermented raw fish sauce amounting to 10% of the fish. The accelerated fish sauce exhibited no significant difference in sensory characteristics comparing with 12 months-fermented fish sauce.

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญ	ง
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
1.วัตถุดิบ	4
2. การศึกษากิจกรรมการย่อยโปรตีนของเอนไซม์สกัดจากปลากะตัก	4
3. การศึกษาผลของปริมาณเกลือที่มีต่อการย่อยสลายโปรตีนปลากะตักระหว่างการหมักน้ำปลา	4
4.การศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์อัลคาเลส (Alcalase) ที่มีต่อการย่อยสลายโปรตีนปลากะตัก	4
5. การศึกษาผลของปริมาณเกลือที่มีต่อกิจกรรมการย่อยโปรตีนของเอนโซม์อัลคาเลส	5
6. การศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ระหว่างกระบวนการหมักน้ำปลา	5
7. การศึกษาการเร่งกระบวนการผลิตน้ำปลาด้วยการเติมเอนไซม์และหัวน้ำปลาหมักอายุ 1 เดือน	5
บทที่ 3 ผลและการวิเคราะห์ผล	
1. กิจกรรมการย่อยโปรตีนของเอนไซม์สกัดจากปลากะตัก	7
2. ผลของปริมาณเกลือที่มีต่อการย่อยสลายโปรตีนปลากะตักระหว่างการหมักน้ำปลา	9
3. ผลของการเสริมเอนไซม์อัลคาเลสในการย่อยสลายโปรตีนปลากะตัก	14
4. ผลของปริมาณเกลือที่มีต่อกิจกรรมการย่อยโปรตีนของเอนไซม์อัลคาเลส	15
5. การเจริญของจุลินทรีย์ระหว่างกระบวนการหมักน้ำปลา	15
6. ผลการเร่งกระบวนการผลิตน้ำปลาด้วยการเติมเอนไซม์และหัวน้ำปลาหมักอายุ 1 เดือน	18
บทที่ 4 บทสรุป	20
เอกสารอ้างอิง	21
ประวัตินักวิจัย	23

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

น้ำปลาเป็นเครื่องปรุงรสที่สำคัญสำหรับอาหารในประเทศแถบเอเชีย จากการสำรวจของพบว่าโดยเฉลี่ยคนไทยมีอัตราการบริโภค น้ำปลา 20 มิลลิลิตรต่อคน ต่อวัน หรือเทียบเท่าปริมาณบริโภคน้ำปลาในแต่ละครัวเรือนตกประมาณเดือนละ 2 ขวด คิดเป็นปริมาณความต้องการบริโภคปีละ 386 ล้านลิตร ซึ่งเท่ากับมูลค่าปริมาณ 5,000 ล้านบาท ต่อปี โดยแบ่งเป็นน้ำปลาคุณภาพดีมากร้อยละ 10 และน้ำปลาคุณภาพดี ร้อยละ 30 ที่เหลือคือน้ำปลาคุณภาพต่ำหรือน้ำปลาสังเคราะห์ ซึ่งมีแนวโน้มลดลงเนื่องจากผู้บริโภคเลือกใช้น้ำปลาคุณภาพดีมากขึ้นเรื่อย ๆ (บริษัทศูนย์วิจัยกสิกรไทยจำกัด, 2543) ซึ่งจะทำให้ยอดมูลค่าของน้ำปลาสูงขึ้นตามไปด้วย นอกจากมูลค่าการบริโภคในประเทศสูงมากแล้ว ประเทศไทยยังส่งออกน้ำปลาไปยังต่างประเทศในปี 2546 ระหว่าง มกราคม-ธันวาคม ประมาณ 35 ล้านลิตร คิดเป็นร้อยละ 9.1 ของการบริโภคในประเทศ ซึ่งมีมูลค่า (FOB) เท่ากับ 833.9 ล้านบาท (ประมาณร้อยละ 16.5 ของมูลค่าการบริโภคในประเทศ) (กรมศุลกากร, 2547)

แม้การบริโภคน้ำปลาในประเทศและการส่งออกจะมีมูลค่าสูง ปัญหาในการผลิตน้ำปลาคุณภาพดีจะต้องใช้เวลาในการหมักนานถึง 12 เดือน และอาจถึง 18 เดือน สำหรับน้ำปลาคุณภาพดีมาก นอกจากใช้เวลานานแล้วยังต้องใช้พื้นที่และเงินลงทุนในวัตถุดิบมาก ก่อนที่ได้ผลิตภัณฑ์พร้อมจำหน่าย การเร่งเวลาการผลิตจะช่วยลดอุปสรรคของการผลิต ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตและผลผลิตในเวลา และพื้นที่เท่าเดิม และเงินลงทุนหมุนเวียนเร็วขึ้น

ในการเร่งการผลิตน้ำปลาให้สั้นลงนั้น ได้มีผู้ศึกษาการใช้เอนไซม์จากแหล่งอื่น นอกเหนือไปจากเอนไซม์จากตัวปลาซึ่งเป็นวัตถุดิบ (Beddows and Ardeshir, 1979 a ; Beddows *et al.*, 1976; Claveesak *et al.*, 1943 ; Rassakulthai *et al.*, 1986; Sulit and Tiongaon, 1973; และ Yoshinaka *et al.*, 1983) ตลอดจนมีการปรับสภาวะการหมัก โดยเฉพาะความเป็นกรดและปริมาณเกลือ (Beddows and Ardeshir, 1976-9 และ Gildberg *et al.*, 1984) เพื่อให้การย่อยโปรตีนปลาเร็วขึ้นจะได้ลดเวลาการผลิตให้สั้นลงแต่คุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังด้อยกว่าน้ำปลาซึ่งผลิตตามวิธีการเดิม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปัจจัยคุณภาพไม่ได้ขึ้นอยู่กับการย่อยสลายของโปรตีนปลาแต่เพียงอย่างเดียว แต่ยังขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเป็นกรดอะมิโนระหว่างระยะเวลาที่หมักยาวนาน (Vo-Van, *et al.*, 1984) และจุลินทรีย์ซึ่งทนเกลือที่อยู่ในน้ำปลาอาจจะมีบทบาทต่อกลิ่นรสของน้ำปลา (Ijong and Ohta, 1996; Thongthai *et al*, 1992 และ McIver *et al.*, 1982) ด้วย ฉะนั้นการใช้เวลาหมักนานจึงดูเหมือนว่ายังจำเป็นสำหรับการพัฒนาการที่ให้กลิ่นรสในน้ำปลา

การเติมเอนไซม์เป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเร่งกระบวนการผลิตน้ำปลา Beddows and Ardeshir (1979) พบว่าการใช้โบรมิเลนสามารถลดระยะเวลาในการผลิตน้ำปลาลงเหลือ 18-21 วัน

Raksakulthai et al. (1986) พบว่าการเติมเอนไซม์ทริปซิน ไคโมทริปซิน โปรเนส และโปรติเนสจากเชื้อรา มีผลให้ปริมาณกรดอะมิโนอิสระน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม (ไม่ได้เติมเอนไซม์) แต่การเติม hepatopancrease จากปลาหมึกทำให้ได้ปริมาณกรดอะมิโนอิสระเพิ่มขึ้น และได้รับการยอมรับจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงกว่าตัวอย่างควบคุมหลังจากหมักเป็นเวลา 13 เดือน ต่อมา Raksakulthai and Haard (1992) พบว่า cathepsin C จาก hepatopancrease ของปลาหมึกคือเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในปลา capelin

เอนไซม์จากตัวปลาก็มีบทบาทสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนในระหว่างกระบวนการหมักเช่นกัน Orejana and Liston (1982) พบว่า serine proteinase ประเภท trypsin-like proteinase จากตัวปลามีบทบาทสำคัญต่อการย่อยสลายโปรตีนโดยเฉพาะในระยะ 1 เดือนแรกของการหมัก Gildberg and Shi (1994) รายงานว่า กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินในน้ำปลาที่หมักจากเครื่องใน (vicera) ของปลาคอด (cod) นั้นลดลงอย่างต่อเนื่องนับจากเริ่มต้นการหมัก และไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ในวันที่ 25 ของการหมัก Lopetcharat and Park (2002) พบว่า น้ำปลาที่หมักจากปลา Pacific whiting ที่ 50°C มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเท่ากับ 26.9 g/L ภายใน 60 วัน การย่อยสลายอย่างรวดเร็วนั้นเกิดจากเอนไซม์ในตัวปลา (endogenous proteinases) ในกลุ่ม cathepsins จะเห็นได้ว่าการย่อยสลายโดยเอนไซม์ในตัวปลามีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการหมักน้ำปลาเช่นกัน โดยเฉพาะในระยะเวลาเริ่มต้นของการหมัก

Tongthai and Suntinanalert (1991) ได้แยกจุลินทรีย์ Halobacterium จากน้ำปลาและพบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถสร้างโปรติเนสได้สูง นอกจากนี้ยังพบเชื้อ Bacillus และ Coryneform ในน้ำปลาซึ่งสามารถสร้างโปรติเนสได้สูงเช่นกัน ต่อมา Thongthai et al. (1992) ได้รายงานการแยก Halobacterium salinarium จากน้ำปลา ซึ่งเชื้อดังกล่าวสามารถสร้างเอนไซม์โปรติเนสที่ยังคงแสดง activity ที่ความเข้มข้นของเกลือ 4 M อย่างไรก็ตาม ไม่มีรายงานว่าโปรติเนสดังกล่าวเป็นประเภทใดและเชื้อดังกล่าวเกิดขึ้นช่วงใดของการหมักน้ำปลา Chaiyanan et al. (1999) แยกจุลินทรีย์ *Halobacillus thailandensis* sp. nov. จากน้ำปลา เชื้อดังกล่าวสามารถสร้างโปรติเนสกลุ่ม serine proteinase และ metalloproteinase ซึ่งคาดว่าโปรติเนสจาก Halobacillus มีบทบาทสำคัญต่อการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในน้ำปลา Porntaveewat et al. (2002) ได้ศึกษาโปรติเนสจาก Halobacterium ที่แยกได้จากกระบวนการหมักน้ำปลา และพบว่าเป็นเอนไซม์ ในกลุ่ม serine proteinase โดยเอนไซม์ที่ทำบริสุทธิ์สามารถแสดงกิจกรรมได้สูงสุดที่ pH 6.0, 55°C และความเข้มข้นของเกลือ 25% จากงานวิจัยดังกล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่สร้างโปรติเนสนั้นมีหลากหลายสายพันธุ์ การเติมจุลินทรีย์ที่ได้จากการหมัก อาจเป็นแนวทางหนึ่งในเร่งกระบวนการผลิตน้ำปลา

ดังนั้น การศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการผลิตน้ำปลาที่มีคุณภาพดีในเวลาที่สั้นลง ยังคงเป็นสิ่งที่ท้าทายสำหรับอุตสาหกรรมผลิตน้ำปลาซึ่งมีมูลค่ารวมปีละเกือบ 6,000 ล้านบาท

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในปลาคะตัก
2. ศึกษาการลดเวลาในการย่อยโปรตีนปลาด้วยการเพิ่มเอนไซม์
3. ศึกษาปัจจัยทาง ชีวเคมี และจุลินทรีย์ ซึ่งอาจมีผลต่อคุณภาพของน้ำปลา

ขอบเขตของการวิจัย

ใช้ปลาคะตักเป็นวัตถุดิบในการทดลองโดยเลือกใช้เอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนจากภายในและจากด้านนอกโมเลกุลของโปรตีน เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ ระหว่างการหมักน้ำปลา ด้วยวิธีปกติ เพื่อเป็นแนวทางในการพิจารณาปรับปรุงกระบวนการหมักน้ำปลาให้สั้นลง

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

ได้ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยโปรตีนปลาโดยใช้เวลาลดลง และทราบถึงการเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ระหว่างการหมักเพื่อนำไปพัฒนากระบวนการผลิตน้ำปลาให้ใช้เวลาที่สั้นลง แต่ยังรักษาคุณภาพที่เป็นเอกลักษณ์ของน้ำปลาไว้ ซึ่งอุตสาหกรรมการผลิตน้ำปลาสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้โดยตรง สำหรับการเพิ่มประสิทธิภาพและเพิ่มผลผลิตของโรงงาน

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

1.วัตถุดิบ

วัตถุดิบเป็นปลากะตักสด ได้จากท่าเรือประมงจังหวัดชลบุรี ขนส่งโดยใส่ในกล่องโฟมบรรจุน้ำแข็ง นำมาแช่เยือกแข็งภายใน 12 ชั่วโมงหลังการจับ และเก็บรักษาใช้ในสภาพแช่เยือกแข็งจนถึงเวลาใช้

2. การศึกษากิจกรรมการย่อยโปรตีนของเอนไซม์สกัดจากปลากะตัก

นำปลากะตักมาสกัดเอนไซม์ย่อยโปรตีนด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ของเกลือฟอสเฟตที่ pH 7.0 โดยใช้ปลาต่อบัฟเฟอร์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 โดยน้ำหนัก นำสารละลายเอนไซม์ที่ได้ไปทดสอบกิจกรรมการย่อยโปรตีนที่ pH 5.5, 7.0 และ 8.5 ระดับความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 1, 2, 3 และ 4 M โซเดียมคลอไรด์ โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 30, 40, 50, 60, 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียสใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 60 นาที

การทดสอบที่ pH 5.5 และ 7.0 ใช้สารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ส่วน pH 8.5 ใช้สารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl ส่วนการติดตามการเกิดปฏิกิริยาใช้ Azocasein assay (An *et al.*, 1994) เพื่อหาสภาวะการทำงานของเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับการหมักน้ำปลา

3. การศึกษาผลของปริมาณเกลือที่มีต่อการย่อยสลายโปรตีนปลากะตักระหว่างการหมักน้ำปลา

ในแต่ละการทดลองใช้ปลากะตัก 500 กรัม นำปลากะตักไปบดด้วยเครื่องสับที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เติมเกลือป่นลงไปในเนื้อปลาบดให้มีความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 15, 20 และ 25 โดยน้ำหนัก (ปลาบดต่อเกลือเท่ากับ 8.5 : 1.5, 8.0 : 2.0 และ 7.5 : 2.5) นำส่วนผสมที่ได้แต่ละความเข้มข้นของเกลือไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (29-30 องศาเซลเซียส) 40 องศาเซลเซียส และ60 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 9 สัปดาห์

ระหว่างการบ่มจะสุ่มตัวอย่างทุกสัปดาห์เพื่อนำไปหาปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ทั้งหมดตามวิธี Kjeldahl ของ AOAC (1995) วัดปริมาณแอมโมเนีย ตามวิธี AOAC (1995) และปริมาณกรดอะมิโนในรูปอัลฟาอะมิโน ตามวิธี TNBS (Satake *et al.*, 1960) รวมทั้ง ติดตามการเปลี่ยนแปลงของ pH ตามวิธีของ AOAC (1995)

4.การศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์อัลคาเลส (Alcalase) ที่มีต่อการย่อยสลายโปรตีนปลากะตัก

นำปลากะตัก 250 กรัมบดผสมกับน้ำ 250 กรัม ปรับ pH เป็น 8.5 ซึ่งเป็น pH ที่เหมาะสมของเอนไซม์อัลคาเลส 2.4 L (Novozyme) ด้วย 2N NaOH ปรับอุณหภูมิให้ได้ 65 องศาเซลเซียส แล้วใส่เอนไซม์ปริมาณ 30, 45, 60 และ 90 หน่วย (AU) ต่อกิโลกรัม ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 120 นาที โดยสุ่มตัวอย่าง ปริมาณ 10 กรัม เมื่อบ่มได้ 0, 10, 20, 30, 40, 60, 90 และ 120 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วยการให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงแยกสารละลายโปรตีนเพื่อนำไปวิเคราะห์หาอัลฟาอะมิโน ด้วยวิธี TNBS เพื่อหาปริมาณอัลคาเลสที่เหมาะสม หลังจากการบ่มตามช่วงเวลาที่กำหนด ได้มีการสุ่มตัวอย่างเช่นเดิมเพื่อวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ตามวิธี AOAC (1995) ปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน แอมโมนิคัลไนโตรเจน และไนโตรเจนจากกรดอะมิโน ตามวิธีในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำปลาพื้นเมือง(กระทรวงอุตสาหกรรม, 2526)

5. การศึกษาผลของปริมาณเกลือที่มีต่อกิจกรรมการย่อยโปรตีนของเอนไซม์อัลคาเลส

นำปลากะตัก 250 กรัม บดผสมกับน้ำและเกลือ โดยให้มีเกลือปริมาณร้อยละ 5, 10, 15, 20 และ 25 โดยน้ำหนัก โดยมีตัวอย่างซึ่งไม่เติมเกลือเป็นตัวควบคุม และน้ำหนักรวมของแต่ละตัวอย่างคิดเป็น 500 กรัม แล้วเติมเอนไซม์อัลคาเลสในปริมาณ ซึ่งเลือกจากข้อ 4 แล้วว่าเหมาะสม นำไปบ่มที่ 65 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที โดยสุ่มตัวอย่างทุก 10 , 20, 30, 40 และ 60 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วยการให้ความร้อน 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์หาอัลฟาอะมิโนด้วยวิธี TNBS โดยมีตัวอย่างซึ่งไม่ใส่เกลือเป็นตัวควบคุม

6. การศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ระหว่างกระบวนการหมักน้ำปลา

นำตัวอย่างน้ำปลาระหว่างกระบวนการหมัก จากสถานประกอบการในจังหวัดระยอง โดยเป็นตัวอย่างซึ่งเก็บจากบ่อหมักซึ่งหมักได้เวลา 1, 3, 6, 9 และ 12 เดือน บ่อละ 3 ตัวอย่าง โดยสูบน้ำปลาเวียนเป็นเวลา 10 นาทีก่อนเก็บตัวอย่าง แล้วนำมาตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ตามวิธีการเพาะเชื้อมาตรฐานด้วยเทคนิคการเกลี่ย (spread plate) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ซึ่งไม่มีเกลือ สำหรับแบคทีเรียทั้งหมด อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ซึ่งมี เกลือร้อยละ 5 สำหรับแบคทีเรียซึ่งชอบเกลือปานกลาง และอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ซึ่งมีเกลือ ร้อยละ 15 สำหรับกลุ่มแบคทีเรียซึ่งชอบเกลือสูง (extremely halophiles)

7. การศึกษาการเร่งกระบวนการผลิตน้ำปลาด้วยการเติมเอนไซม์และหัวน้ำปลาหมักอายุ 1 เดือน

นำปลากะตัก 500 กรัม ไปบดด้วยเครื่องสับที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที แล้วเติมเอนไซม์อัลคาเลส 2.4 L 30 AU นำไปบ่มที่ 65 °ซ นาน 4 ช.ม. แล้วลดอุณหภูมิลงที่ 50 °ซ เติมเฟเวอร์ไซม์ 500L (Flavourzyme 500L, Novozyme) ในปริมาณ 2,500 LAPU บ่มต่อเป็นเวลา 24 ช.ม. แล้วเติมเกลือในอัตราส่วน เนื้อปลา:เกลือ เท่ากับ 7:3 โดยน้ำหนัก ก่อนเติมหัวน้ำปลาที่ได้จากการหมักเป็นเวลา 1 เดือน (มีจุลินทรีย์ซึ่งชอบและทนเกลือสูงในปริมาณ 1,830 โคโลนีต่อมล.) ซึ่งได้จากโรงงานน้ำปลาในจังหวัดระยอง ในปริมาณร้อยละ 10 โดยหัวน้ำปลาที่เติมนี้มีทั้งที่เป็นหัวน้ำปลาดิบและหัวน้ำปลาซึ่งผ่านการให้ความร้อนที่ 90 °ซ นาน 15 นาที เพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุม จากนั้น

หมักต่อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 เดือน โดยมีเนื้อปลาบดผสมกับเกลือในอัตราส่วนเนื้อปลาต่อเกลือเท่ากับ 7 ต่อ 3 (มีจุลินทรีย์ซึ่งชอบและทนเกลือสูงในปริมาณ 115 โคโลนีต่อกรัม) ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เตรียมเลียนแบบการหมักแบบดั้งเดิม ใช้เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบการย่อยของโปรตีนปลา โดยระหว่างการหมักจะมีการเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจอัลฟา-อะมิโน และไนโตรเจนทั้งหมด

หลังจากหมักได้ 4 เดือน นำน้ำปลาที่ได้จากการหมักที่มีการเติมหัวน้ำปลาไปกรองเพื่อนำไปทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสเทียบกับน้ำปลาหมักแบบดั้งเดิมซึ่งผ่านการหมัก 12 เดือน จากโรงงานน้ำปลาในจังหวัดระยอง จำกัด โดยใช้ การทดสอบความชอบ (Hedonic scale 7) โดยผู้ทดสอบชิม 15 คน เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพของน้ำปลาที่ได้จาการหมักโดยกระบวนการเร่งการย่อยโปรตีนปลาด้วยเอนไซม์และการเติมหัวเชื้อน้ำปลาซึ่งผ่านการหมักมาแล้ว 1 เดือน

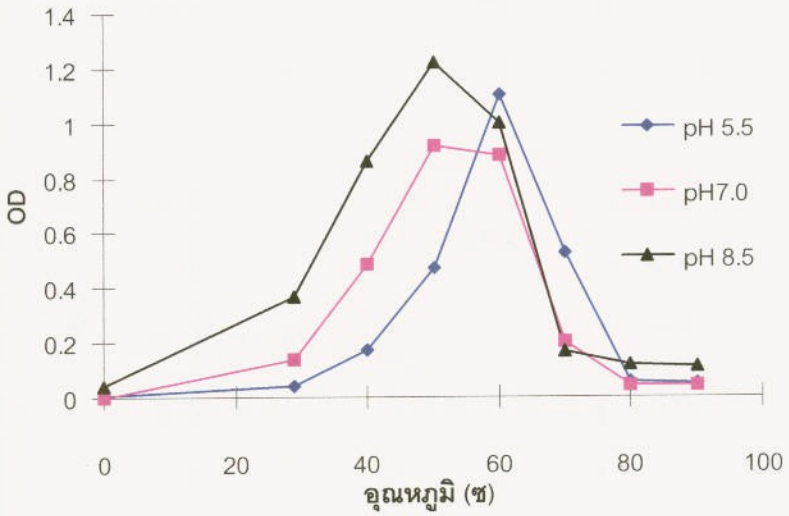
บทที่ 3

ผลและการวิเคราะห์ผล

1. กิจกรรมการย่อยโปรตีนของเอนไซม์สกัดจากปลากะตัก

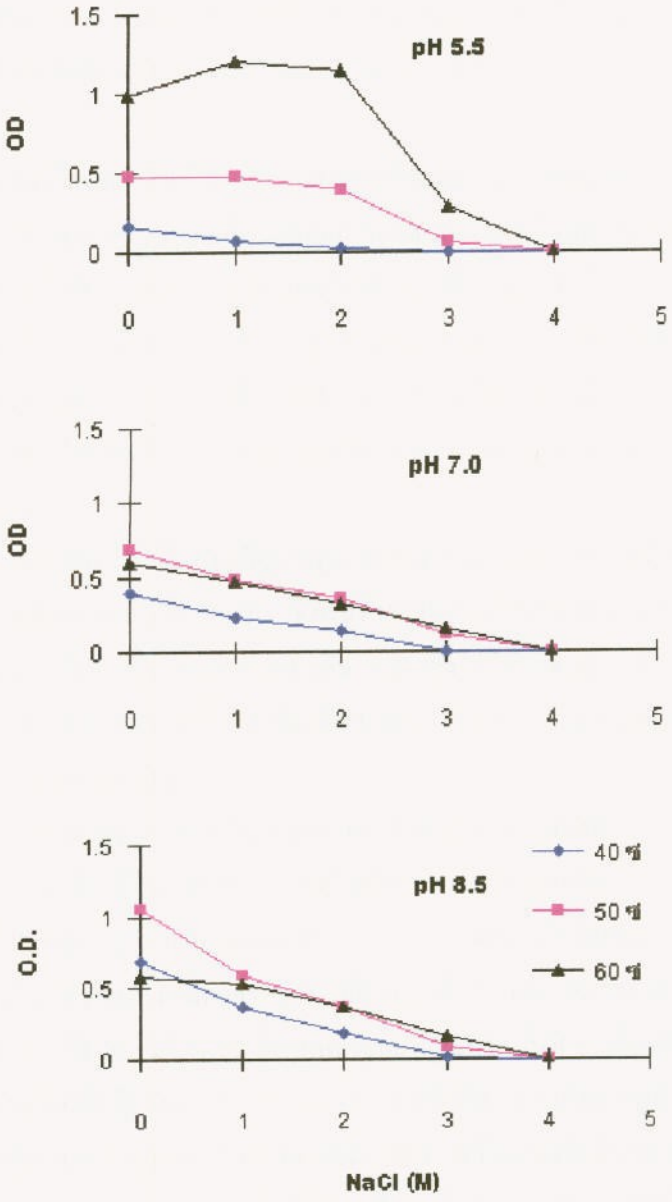
กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนส ภายในตัวปลากะตัก ซึ่งสกัดจากปลากะตักภายใต้สภาวะการควบคุม pH และอุณหภูมิแสดงในรูปที่ 1 พบว่าที่ pH 7.0 อุณหภูมิของการเร่งปฏิกิริยาที่เหมาะสม 50 องศาเซลเซียส (pH 7) เมื่อ pH เป็นด่าง (pH 8.5) อุณหภูมิของการเร่งปฏิกิริยาที่เหมาะสมจะสูงขึ้นเป็นที่ 60 องศาเซลเซียส ในการศึกษานี้ใช้ตัวอย่างปลาแช่แข็งซึ่งเป็นกระบวนการเก็บรักษาวัตถุดิบที่น่าจะมีผลกระทบต่อกิจกรรมของเอนไซม์น้อยมาก

จากกราฟแสดงให้เห็นว่ากิจกรรมของเอนไซม์สกัดจากปลากะตักเร่งการย่อยสลายโปรตีนสูงสุดที่ pH 8.5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่ง pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ในปลานี้ สูงกว่า pH ของเนื้อปลาสดก่อนหมัก (pH 6.5) ถึง 2 หน่วย pH การหมักปลาในกระบวนการผลิตน้ำปลาจึงไม่ได้ทำภายใต้สภาวะ pH ที่เหมาะสมที่สุดของการทำงานของเอนไซม์ในตัวปลา



รูปที่ 1. กิจกรรมเร่งการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์สกัดจากปลากะตักที่ pH และอุณหภูมิต่าง ๆ

กิจกรรมของเอนไซม์สกัดจากปลาภายใต้สภาวะการเปลี่ยนความเข้มข้นของเกลือและ *อุณหภูมิ ณ pH ต่าง ๆ แสดงในรูปที่ 2* โดยจะเห็นว่าทุก pH และทุกอุณหภูมิ กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสของปลากะตักจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มมากขึ้น ยกเว้นที่ pH 5.5 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เอนไซม์ซึ่งทำงานได้ดีในสภาพความเป็นกรดและอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็น



รูปที่ 2. ผลของเกลือต่อกิจกรรมเร่งการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์สกัดจากปลากะตักที่ pH และอุณหภูมิต่าง ๆ

อุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ รักษากิจกรรมไว้ได้ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือไม่เกิน 2 M (คิดเป็นความเข้มข้นร้อยละ 11.7) เป็นที่น่าสังเกตว่าที่ความเข้มข้นของเกลือ 4M (ความเข้มข้นร้อยละ 23.4) ตรวจไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสซึ่งสกัดจากปลากะตัก ถ้าเอนไซม์โปรติเอสสกัดจากปลากะตักมีลักษณะสมบัติเช่นเดียวกับเอนไซม์โปรติเอสซึ่งอยู่ในสภาพธรรมชาติของปลาแล้ว ผลการทดลองนี้บ่งชี้ว่า เอนไซม์โปรติเอสในปลากะตักอาจไม่มีบทบาทหรือว่ามีบทบาทน้อยมากต่อการย่อยสลายโปรตีนของปลาระหว่างกระบวนการหมักน้ำปลา

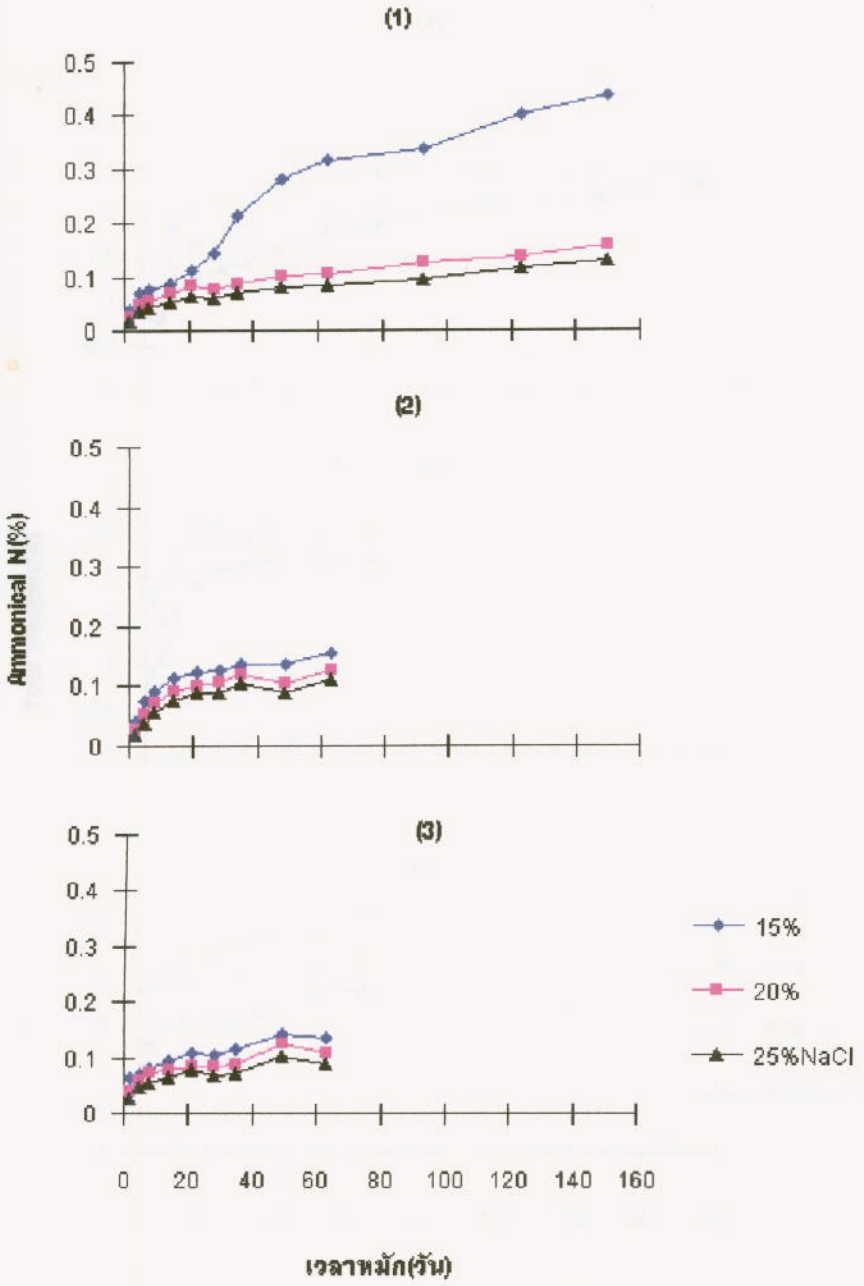
2. ผลของปริมาณเกลือที่มีต่อการย่อยสลายโปรตีนปลากะตักระหว่างการหมักน้ำปลา

ความเข้มข้นของเกลือมีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนปลาในระหว่างกระบวนการหมักน้ำปลา โดยติดตามได้จากการวัดปริมาณแอมโมเนีย (รูปที่ 3) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด(รูปที่ 4) และปริมาณอัลฟาอะมิโน(รูปที่ 5) จะเห็นว่า ทุกตัวตรวจวัดแสดงว่า กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนส ลดลงมากเมื่อความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้น ระหว่างการสลายตัวของโปรตีน pH จะลดลง (รูปที่ 6) ยกเว้นกรณีของการย่อยโปรตีนที่ 30 องศาเซลเซียส ณ ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 15 ซึ่ง pH จะเพิ่มสูงขึ้น [รูปที่ 6-(1)]

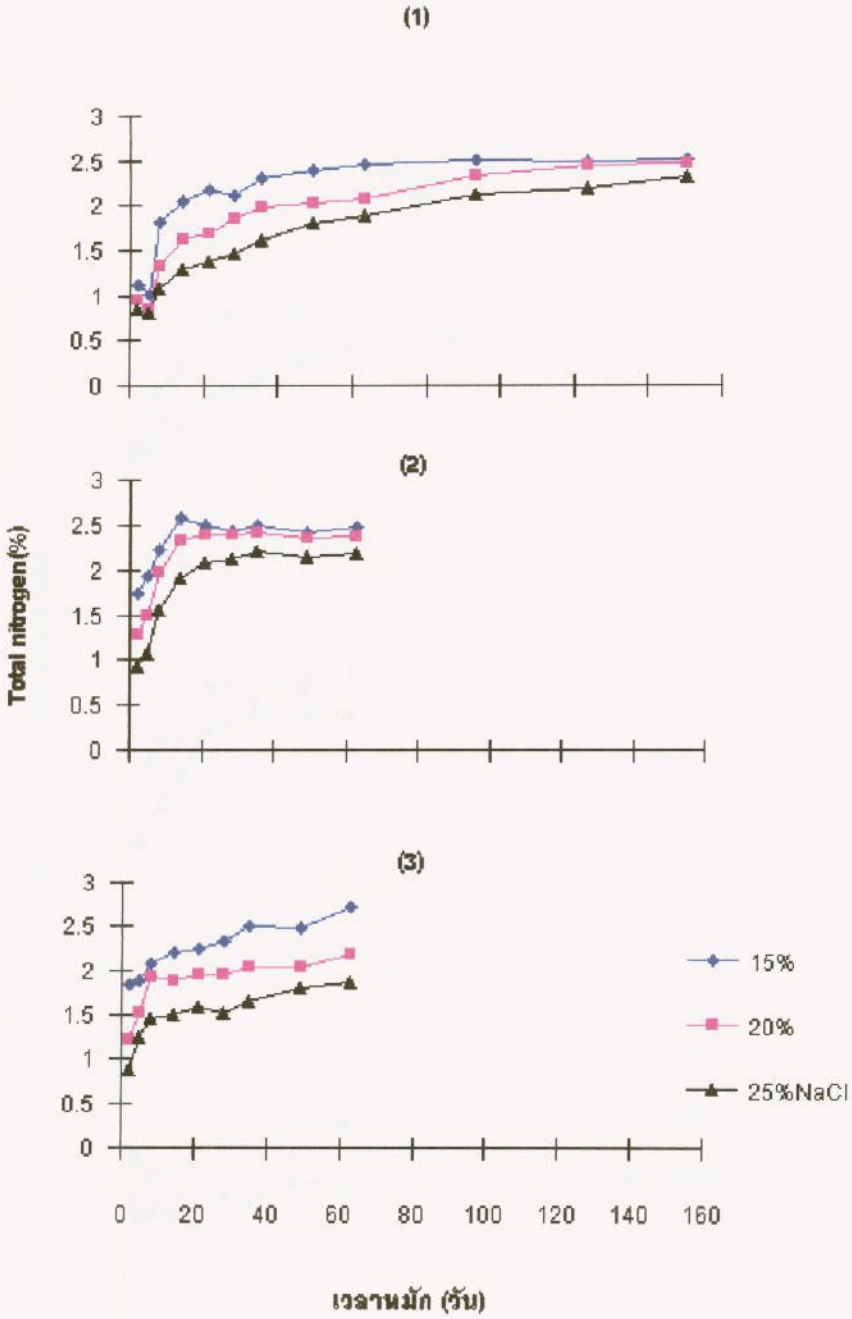
การย่อยโปรตีนปลาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปรากฏว่าการใช้เกลือร้อยละ 15 เกิดกลิ่นเน่าเสียหลังการหมักได้ 30 วัน ซึ่งสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของอัลฟาอะมิโนอย่างมาก [รูปที่ 3-(1)] และค่า pH ที่เพิ่มขึ้น [รูปที่ 6-(1)] เกิน 6.0 ซึ่งไม่ได้มาตรฐานน้ำปลาคุณภาพชั้น 2 ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำปลาพื้นเมือง(มอก.3-2526) ของสำนักมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม

ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำปลาพื้นเมืองสำหรับน้ำปลาคุณภาพชั้นที่ 1 นั้น ระบุให้น้ำปลาจะต้องมีไนโตรเจนทั้งหมดไม่น้อยกว่า 20 กรัมต่อลิตร และ pH อยู่ระหว่าง 5.0-6.0 ซึ่งการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 20 และ 25 ผลการหมักพบว่ามีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดถึงเกณฑ์ เมื่อหมักได้ 35 และ 90 วัน ตามลำดับ ณ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดถึงเกณฑ์คุณภาพชั้นที่ 1 เมื่อหมักได้ 6, 8 และ 20 วัน ที่ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 15, 20 และ 25 ตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจะใช้เวลา 7 วัน (เกลือร้อยละ 15) 30 วัน (เกลือร้อยละ 20) แต่ที่ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 25 ใช้เวลานานมากขึ้น แม้หลังการหมัก 63 วันแล้วก็ตาม ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดยังไม่ได้มาตรฐาน

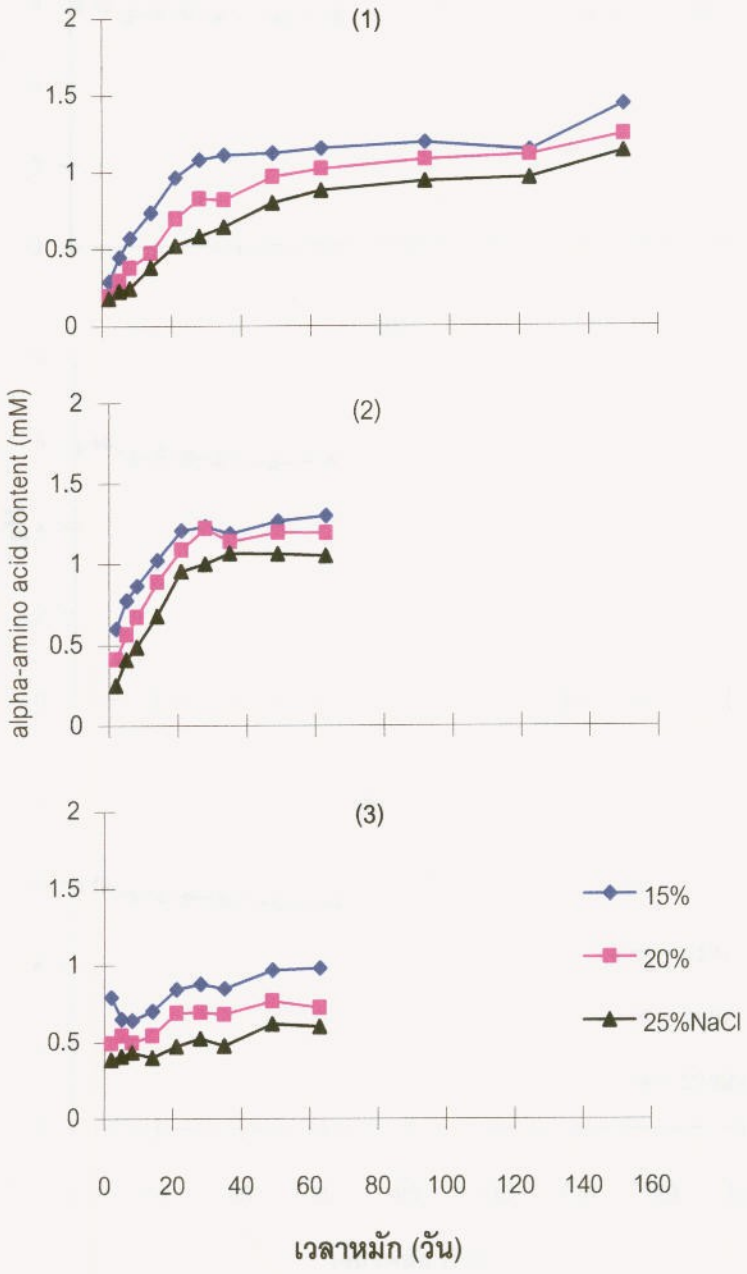
การบ่มที่ 40 และ 60 องศาเซลเซียส ผลการย่อยโปรตีนปลากะตักทุกระดับความเข้มข้นของเกลือ หลังจาก 14 วัน มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเพิ่มขึ้นน้อยมาก ยกเว้นตัวอย่างซึ่งบ่มที่ 40 องศาเซลเซียส ณ ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 25 การเปลี่ยนแปลงจะน้อยมากหลัง 21 วัน ขณะเดียวกันการเพิ่มขึ้นของอัลฟา-อะมิโนทุกระดับความเข้มข้นของเกลือเริ่มคงที่หลังการบ่มนาน 21 วัน



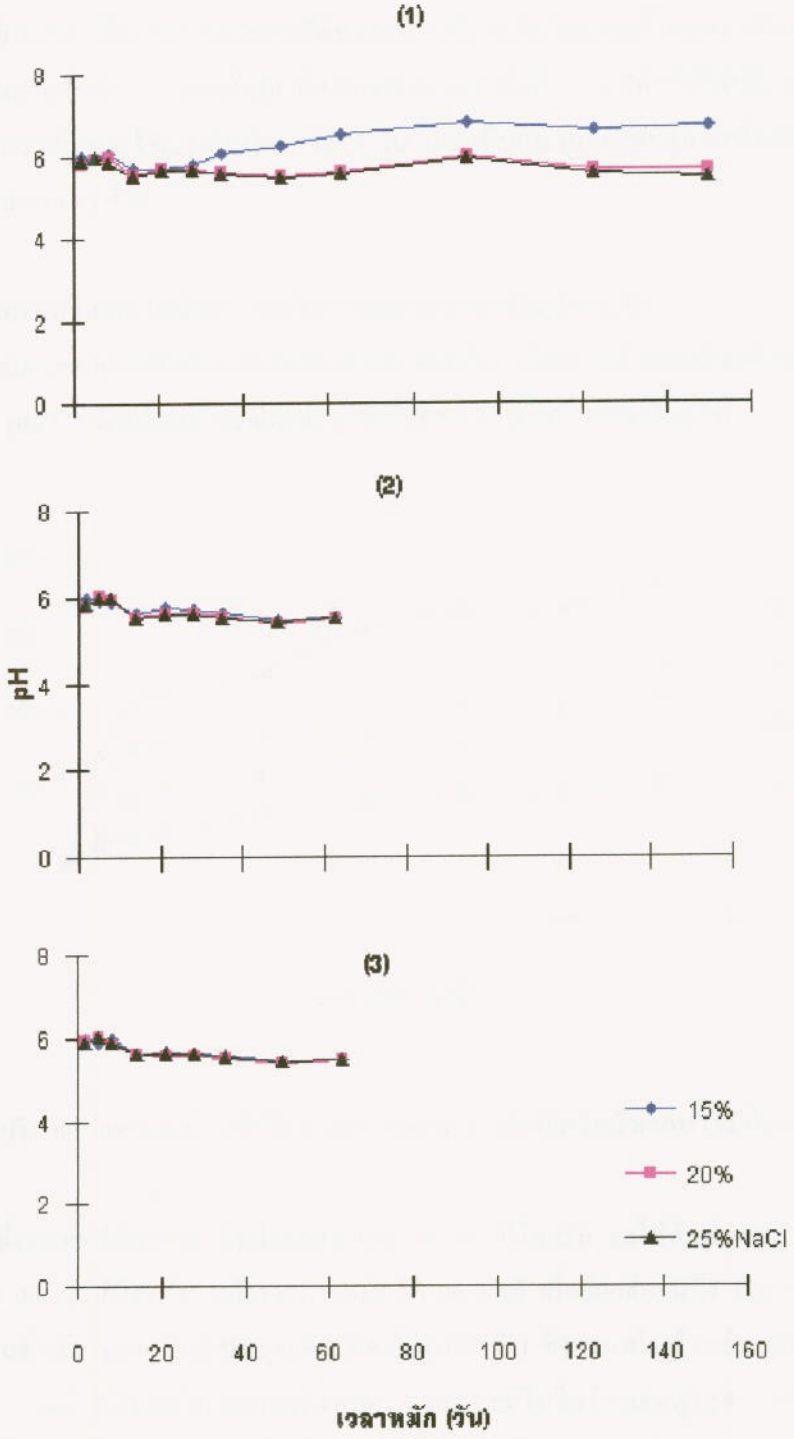
รูปที่ 3. ปริมาณแอมโมเนียระหว่างการย่อยโปรตีนปลากะตัก ณ อุณหภูมิ และความเข้มข้นของเกลือระดับต่าง ๆ: ที่ (1) 30 องศาเซลเซียส (2) 40 องศาเซลเซียส (3) 60 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดระหว่างการย่อยโปรตีนปลากะตัก ณ อุณหภูมิ และความเข้มข้นของเกลือระดับต่าง ๆ: ที่ (1) 30 องศาเซลเซียส (2) 40 องศาเซลเซียส (3) 60 องศาเซลเซียส



รูปที่ 5. ปริมาณอัลฟา-อะมิโนระหว่างการย่อยโปรตีนปลากะตัก ณ อุณหภูมิ และความเข้มข้นของเกลือระดับต่าง ๆ (1) ที่ 30 องศาเซลเซียส (2) ที่ 40 องศาเซลเซียส (3) ที่ 60 องศาเซลเซียส

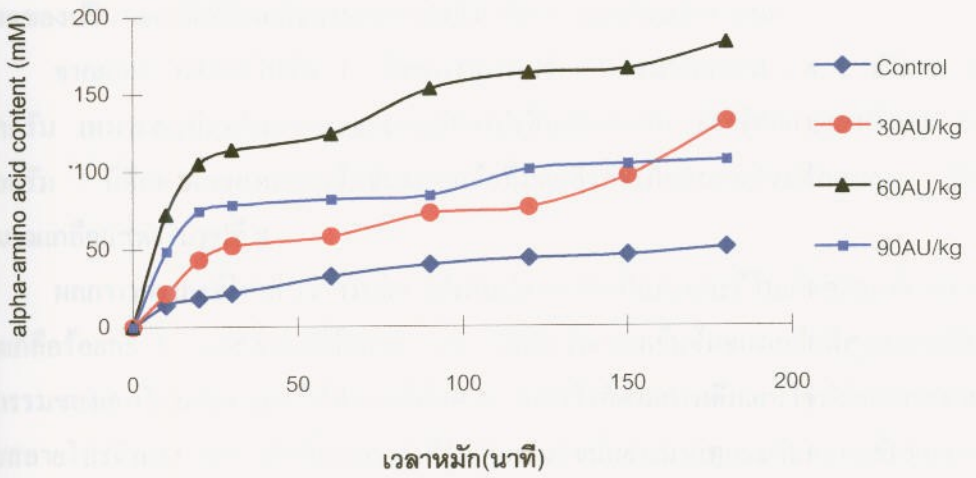


รูปที่ 6. pH ระหว่างการย่อยโปรตีนปลากะตัก ณ อุณหภูมิ และความเข้มข้นของเกลือระดับต่าง ๆ: ที่(1) 30 องศาเซลเซียส (2) 40 องศาเซลเซียส (3) 60 องศาเซลเซียส

ผลของการหมักที่อุณหภูมิและความเข้มข้นของเกลือระดับต่าง ๆ กันนี้ชี้ให้เห็นว่า การหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และลดปริมาณเกลือลงเป็นร้อยละ 15 จะลดระยะเวลาการหมักลงเหลือเพียง 1 สัปดาห์ ก็จะได้ลักษณะสมบัติทางเคมี (ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด) เทียบเท่ากับมาตรฐานน้ำปลาคุณภาพชั้นที่ 1 ของน้ำปลาที่หมักตามธรรมชาติแล้ว แต่เพื่อให้ได้ปริมาณกรดอะมิโนเพิ่มมากขึ้น การหมักควรใช้เวลาไม่น้อยกว่า 21 วัน และเป็นแนวทางในการผลิตน้ำปลาที่มีเกลือต่ำ (low sodium fish sauce) ด้วย

3. ผลของการเสริมเอนไซม์อัลคาเลสในการย่อยสลายโปรตีนปลากะตัก

ผลการย่อยโปรตีนปลากะตักเป็นอัลฟา-อะมิโน เมื่อเสริมด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่ 65 องศาเซลเซียส pH 8.5 ซึ่งเป็นสภาวะซึ่งเหมาะสมที่สุดของเอนไซม์ แสดงในรูปที่ 7



รูปที่ 7. ปริมาณอัลฟา-อะมิโนซึ่งได้จากการย่อยปลากะตักที่เสริมด้วยเอนไซม์อัลคาเลสระดับต่าง ๆ

ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเสริมด้วยอัลคาเลส 60 AU/กิโลกรัม จะให้อัลฟา-อะมิโน เหมือนกับการเสริมด้วย 90 AU/กิโลกรัม หลังจากการหมักได้ 90 นาที เมื่อย่อยต่อจนถึง 120 นาที สารประกอบไนโตรเจนที่ได้ในของเหลวมีปริมาณดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งการเสริมด้วยอัลคาเลสปริมาณ 60 AU/กิโลกรัม จะให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และอะมิโนไนโตรเจนสูงสุด ดังนั้นการเสริมด้วยเอนไซม์อัลคาเลสในระดับความเข้มข้น 60 AU/กิโลกรัม จึงเหมาะสมที่สุด

ตารางที่ 1 องค์ประกอบไนโตรเจนของโปรตีนปลากะตักซึ่งได้จากกระบวนการย่อยซึ่งเสริมด้วยเอนไซม์อัลคาเลส 2.4 L

ปริมาณอัลคาเลส (AU/กิโลกรัม)	ไนโตรเจนทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	แอมโมเนีย (กรัม/ลิตร)	ฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน (กรัม/ลิตร)	อะมิโนไนโตรเจน (กรัม/ลิตร)
0	10.8	1.6	6.4	4.7
30	13.9	3.3	10.4	7.1
45	14.4	3.7	12.7	8.9
60	14.8	4.0	13.2	9.2
90	13.3	2.1	10.7	8.6

4. ผลของปริมาณเกลือที่มีต่อกิจกรรมการย่อยโปรตีนของเอนไซม์อัลคาเลส

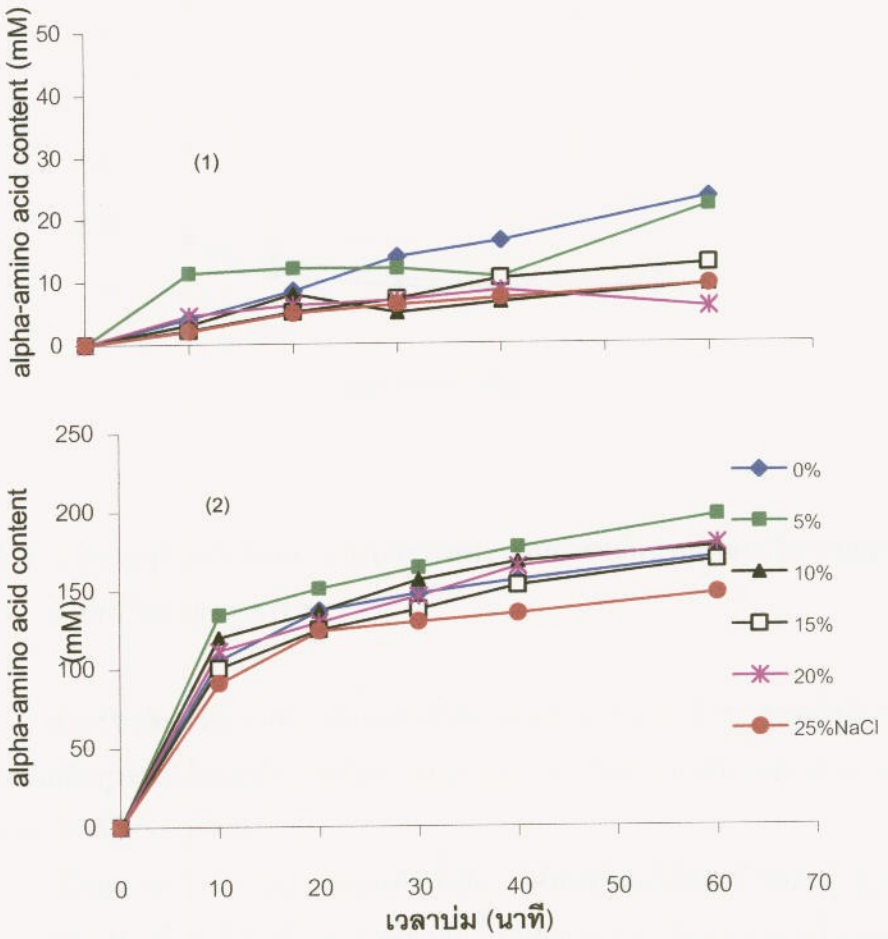
จากผลการทดลองในข้อ 3 ซึ่งพบว่าการเสริมเอนไซม์อัลคาเลส 2.4 L ปริมาณ 60 AU/กิโลกรัม เหมาะสมที่สุดในการช่วยเร่งการย่อยโปรตีนปลากะตัก จึงใช้อัลคาเลสปริมาณ 60 AU/กิโลกรัม นี้ศึกษาผลของความเข้มข้นของเกลือที่มีต่อกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาเลส ซึ่งผลของปริมาณเกลือแสดงในรูปที่ 8

ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าการย่อยโปรตีนปลากะตักเป็นกรดอะมิโนเกิดสูงสุดที่ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 5 และต่ำสุดที่ร้อยละ 25 แสดงว่าความเข้มข้นของเกลือที่สูงมากจะมีผลยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อันคาเลสให้ทำงานได้ลดลง อย่างไรก็ตามการเติมเอนไซม์อัลคาเลสช่วยให้การย่อยสลายโปรตีนปลากะตักเกิดขึ้นมากกว่าที่ไม่เติมเอนไซม์อย่างมากทุกระดับความเข้มข้นของเกลือ

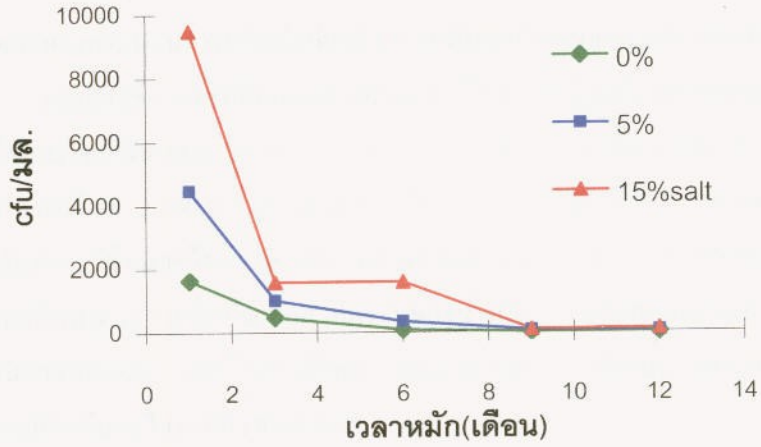
5. การเจริญของจุลินทรีย์ระหว่างกระบวนการหมักน้ำปลา

การติดตามการเจริญของจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มทั่วไป (total count) กลุ่มที่ชอบเกลือ (halophiles) ซึ่งอาหารเพาะเชื้อมีเกลือร้อยละ 5 และกลุ่มที่ทนเกลือ (extreme halophiles) ซึ่งอาหารเพาะเชื้อมีเกลือร้อยละ 15 ในระหว่างกระบวนการหมักน้ำปลา 1-12 เดือน นั้นได้แสดงผลในรูปที่ 9

น้ำปลาที่หมักได้ 1 เดือนจะมีจุลินทรีย์กลุ่มซึ่งทนเกลือสูงในปริมาณมากสุด โดยพบในปริมาณ 9.5 x 10^3 CFU/มิลลิลิตร รองลงมาเป็นกลุ่มที่ชอบเกลือซึ่งพบในปริมาณ 4.5 x 10^3 CFU/มิลลิลิตร และจุลินทรีย์ทั่วไปปริมาณ 1.6 x 10^3 CFU/มิลลิลิตร จุลินทรีย์แต่ละกลุ่มจะลดลงอย่างรวดเร็วใน 3 เดือนแรก หลังจากนั้นจะมีจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มจะน้อยลงเรื่อย ๆ ในช่วง 3-6 เดือน จุลินทรีย์กลุ่มที่ชอบและทนเกลือสูง ยังคงมีปริมาณมากกว่ากลุ่มจุลินทรีย์กลุ่มอื่น



รูปที่ 8. ปริมาณอัลฟา-อะมิโนที่ได้ระหว่างการย่อยโปรตีนปลากะตัก ณ ความเข้มข้นของเกลือระดับต่าง ๆ ที่ 65 องศาเซลเซียส: (1) ไม่เติมอัลคาเลส (2) เติมอัลคาเลส 60 AU/กิโลกรัม



รูปที่ 9. ปริมาณจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ระหว่างกระบวนการหมักน้ำปลาของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตน้ำปลาในช่วงเวลาต่าง ๆ

สำหรับจุลินทรีย์กลุ่มทั่วไปนั้นตรวจไม่พบเลยในช่วง 9-12 เดือน ขณะที่จุลินทรีย์กลุ่มที่ชอบและทนเกลือสูงจะเหลืออยู่เพียงเล็กน้อย (102 CFU/มิลลิลิตร) เท่านั้น แต่มากกว่ากลุ่มที่ชอบเกลือ (32 CFU/มิลลิลิตร) ในเดือนที่ 12

เนื่องจากระหว่างกระบวนการหมักน้ำปลา ได้พบจุลินทรีย์กลุ่มซึ่งทนเกลือสูงในปริมาณมากที่สุด และยาวนานที่สุด ซึ่งบ่งชี้ว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่น่าจะมีบทบาทต่อกลิ่นรสของน้ำปลามากที่สุด จุลินทรีย์กลุ่มนี้ติดมากับวัตถุดิบ คือ ปลาและเกลือ

ส่วนจุลินทรีย์ทั่วไปซึ่งเป็นจุลินทรีย์ทั่วไปติดมากับวัตถุดิบสามารถมีชีวิตอยู่ได้ค่อนข้างมากใน 3 เดือนแรกนั้น น่าจะเป็นจุลินทรียกลุ่มที่ทนเกลือ (salt tolerant) จึงมีชีวิตอยู่ได้ค่อนข้างนานในน้ำปลาซึ่งมีความเข้มข้นของเกลือประมาณร้อยละ 25 แต่จุลินทรีย์เหล่านี้ก็จะตายไปก่อนจุลินทรีย์กลุ่มอื่นโดยเหลือเพียง 77 CFU/มิลลิลิตร ในเดือนที่ 6 เท่านั้น และจะตรวจไม่พบเลย ณ เดือนที่ 9

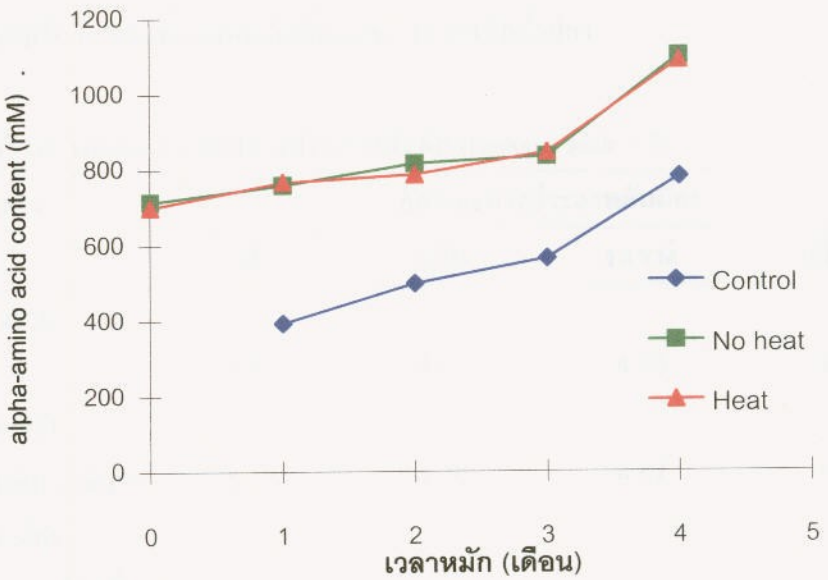
ถ้าหากจุลินทรีย์ซึ่งทนเกลือได้สูง และจุลินทรีย์ซึ่งชอบเกลือมีบทบาทต่อการสร้างสารให้กลิ่นกับน้ำปลาแล้ว จุลินทรีย์เหล่านี้น่าจะสร้างอย่างน้อยสารตั้งต้นภายใน 1-2 เดือนแรก ของกระบวนการหมักน้ำปลา เพราะเป็นช่วงที่เชื้อมีปริมาณค่อนข้างมาก หลังจากนั้นสารตั้งต้นหรือสารที่จุลินทรีย์สร้างจะค่อย ๆ เปลี่ยนแปลงหรือทำปฏิกิริยากันในระหว่างระยะแรกของการหมักที่เหลือจนให้ลักษณะกลิ่นเฉพาะของน้ำปลา นอกจากนั้นผลการศึกษานี้ยังชี้ให้เห็นเป็นแนวทางในการ

พิจารณาทำน้ำปลาซึ่งหมักเกลือมีอายุ 1 เดือน มาใช้เป็นหัวเชื้อในการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ ซึ่งชอบเกลือและจุลินทรีย์ทนเกลือสูง เพื่อเป็นการผลิตสารให้กลิ่นรสกับน้ำปลา

6. ผลการเร่งกระบวนการผลิตน้ำปลาด้วยการเติมเอนไซม์และหัวน้ำปลาหมักอายุ 1 เดือน

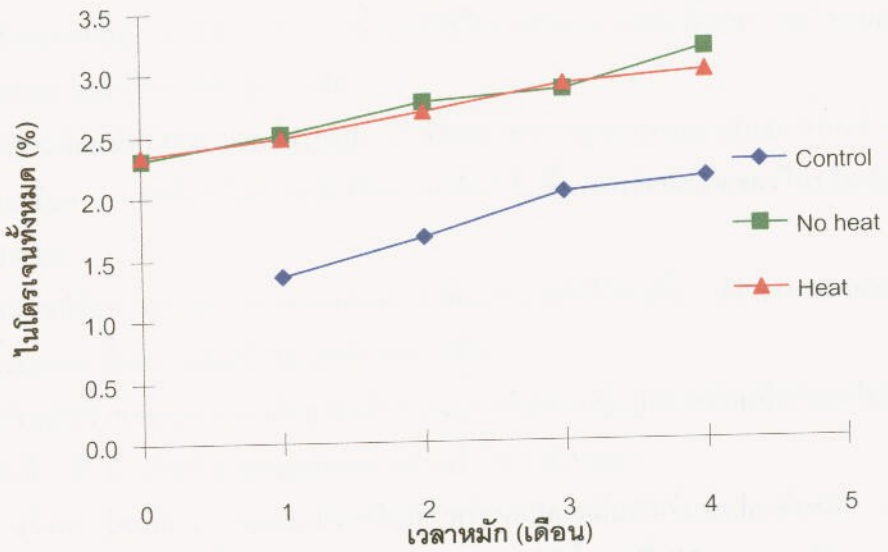
ผลการใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเฟเวอร์ไซม์ ย่อยโปรตีนปลากะตักแสดงในรูปที่ 10 และ 11 การใช้เอนไซม์อัลคาเลส 30 หน่วย (AU) ย่อยโปรตีนปลากะตัก 4 ช.ม. ที่ 65 องศาเซลเซียส แล้วต่อด้วยเฟเวอร์ไซม์ 2,500 หน่วย (LAPU) เป็นเวลา 24 ช.ม. ที่ 50 องศาเซลเซียส ทำให้ได้ปริมาณของอัลฟาอะมิโนและไนโตรเจนทั้งหมดเพิ่มขึ้นมากกว่าเท่าตัว โดยเฉพาะปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะมากเกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุสาหกรรมของน้ำปลา (20 กรัมต่อลิตร) แล้ว เอนไซม์เฟเวอร์ไซม์ ซึ่งมีส่วนประกอบของ อะมิโนเปปติเดส (aminopeptidase) ด้วยนั้นจะสามารถย่อยโปรตีนปลาให้เป็นกรดอะมิโนอิสระได้มากกว่าอัลคาเลส

การเติมหัวน้ำปลาซึ่งผ่านการหมักเป็นเวลา 1 เดือน เป็นการเพิ่มปริมาณแบคทีเรียซึ่งชอบและทนเกลือให้กับส่วนผสม ถ้าจุลินทรีย์กลุ่มนี้มีผลต่อการเกิดกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ของน้ำปลาแล้ว การเกิดกลิ่นที่ดีของน้ำปลาควรเกิดเร็วขึ้น จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างน้ำปลาซึ่งใช้เอนไซม์ 2 ชนิด ร่วมกับ หมัก 4 เดือน เมื่อเทียบกับน้ำปลาจากโรงงานซึ่งผ่านการหมักมาแล้ว 12 เดือนแล้ว (ตารางที่ 2) ไม่พบความแตกต่างในเรื่องความชอบในทุกปัจจัยคุณภาพที่ศึกษา ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้เอนไซม์ 2 ชนิดนี้ร่วมกับการเติมหัวน้ำปลาซึ่งผ่านการหมักมา 1 เดือน สามารถเร่งกระบวนการผลิตน้ำปลาลงมาได้ภายใน 4 เดือน



รูปที่ 10. ปริมาณอัลฟา-อะมิโน ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักน้ำปลา

อย่างไรก็ตามการเติมหัวเชื้อน้ำปลาดิบและที่ผ่านการให้ความร้อนมาแล้วซึ่งจะทำลายจุลินทรีย์ซึ่งชอบและทนเกลือสูงแล้ว พบว่าไม่มีความแตกต่างของความชอบในปัจจัยคุณภาพต่างๆที่ศึกษา ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่ากลิ่นรสที่เกิดขึ้นนั้นอาจไม่จำเป็นต้องมีจุลินทรีย์ซึ่งชอบและทนเกลือสูงที่มีชีวิตอยู่อีกเพราะความจริงแล้วจุลินทรีย์กลุ่มนี้ก็จะลดจำนวนไปเรื่อยๆ แต่จุลินทรีย์ได้สร้างสารตั้งต้นของสารที่ให้กลิ่นรสไว้แล้ว ดังนั้นถึงไม่มีจุลินทรีย์เมื่อหมักต่อ เป็นเวลา 4 เดือนสารตั้งต้นได้ทำปฏิกิริยากันและทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน ได้กลิ่นรสซึ่งไม่แตกต่างจากการใช้หัวเชื้อน้ำปลาดิบแต่อย่างใด



รูปที่ 11. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักน้ำปลา

ตารางที่ 2. ผลการทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส (Hedonic scale = 7)

ตัวอย่าง	ลักษณะทางประสาทสัมผัส*			
	สี	กลิ่น	รสชาติ	กลิ่นรส
น้ำปลาจากโรงงาน (12 เดือน)	4.27	4.07	4.53	4.60
น้ำปลาหมัก 4 เดือน (เติมหัวน้ำปลาดิบ 1 เดือน)	5.13	4.40	4.67	4.40
น้ำปลาหมัก 4 เดือน (เติมหัวน้ำปลา 1 เดือน ซึ่งผ่านการให้ความร้อน)	4.93	4.20	5.07	4.40

* ลักษณะทางประสาทแต่ละด้านไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

บทที่ 4
บทสรุป

จากการศึกษาสามารถสรุปผลการทดลองได้ดังต่อไปนี้

1. เอนไซม์สกัดจากตัวปลากะตักมีกิจกรรมสูงสุดที่ pH 8.5 และอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่ได้ใช้ระหว่างการหมักในอุตสาหกรรมผลิตน้ำปลา
2. ปริมาณเกลือสูงระดับร้อยละ 25 ซึ่งปกติใช้ในอุตสาหกรรมผลิตน้ำปลา จะไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์สกัดจากตัวปลากะตัก
3. ปลากะตักหมักที่ปริมาณเกลือร้อยละ 15 มีลักษณะปรากฏของการเน่าเสียเมื่อหมักที่ 30 องศาเซลเซียส และที่ระดับความเข้มข้นของเกลือที่เพิ่มขึ้น การย่อยสลายของโปรตีนปลากะตักจะลดลง
4. เอนไซม์อัลคาเลสช่วยเร่งการย่อยสลายโปรตีนปลากะตักให้เร็วขึ้น แต่กิจกรรมของเอนไซม์นี้จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มมากขึ้น
5. จุลินทรีย์ซึ่งชอบและทนเกลือสูงจะมีปริมาณมากที่สุดในเนื้อปลากะตักหมักกับเกลือร้อยละ 30 ที่ 1 เดือน แล้วปริมาณจะลดลงอย่างรวดเร็วใน 3 เดือนแรก
6. การใช้เอนไซม์อัลคาเลสและเฟเวอร์ไซม์ พร้อมกับการเติมหัวเชื้อน้ำปลาซึ่งหมัก 1 เดือน สามารถเร่งการผลิตน้ำปลาลงเหลือ 4 เดือน โดยได้น้ำปลาซึ่งมีลักษณะสมบัติทางประสาทสัมผัสได้ไม่แตกต่างจากน้ำปลาซึ่งหมักเป็นเวลา 12 เดือน

เอกสารอ้างอิง

1. กรมศุลกากร. 2547. สถิติการส่งออกน้ำปลา (สินค้าประเภท 2103909017). จาก http://www.customs.go.th/Statistic/StatisticIndex.jsp.
2. บริษัทศูนย์วิจัยกสิกรไทย จำกัด. 2543. น้ำปลา: ผู้ผลิตปรับมาตรฐาน...ขยายตลาดในและตลาดส่งออก. มองเศรษฐกิจ ปีที่ 6 ฉบับที่ 708 วันที่ 7 มีนาคม 2543.
3. สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม. 2526. น้ำปลาพื้นเมือง. ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 678 (มอก. 3-2526) กระทรวงอุตสาหกรรม.
4. An, H., Seymour, T.A., Wu, J., and Morrissey, M.T. 1994. Assay systems and Charecteization of Pacific whiting (*Merluccius productus*) protease. J. Food Sci. 59(2): 277-281.
5. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis 16th Edition. Arlington, VA. AOAC International.
6. Beddows, C. G. and Ardeshir, A. G. 1979a. The Production of Soluble Fish Protein Solution for Use in Fish Sauce Manufacture. I. The Use of Added Enzymes. J. Food Technol. 14(6):603-612.
7. Beddows, C. G. and Ardeshir, A .G. 1979b. The Production of Soluble Fish Protein Solution for Use in Fish Sauce Manufacture. II. The Use of Acids at Ambient Temperature. J. Food Technol. 14(6):613-623.
8. Beddows, C.G., Ismail, M., and Steinkraus, K. H. 1976. The Use of Bromelain in the Hydrolysis of Mackerel and the Investigation of Fermented Fish Aroma [Oriental fish sauce]. J. Food. Technol. 11 (4):379-388.
9. Chaiyanan, S., Chaiyanan, S., Maugel, T., Huq, A., Robb, F.T., and Colwell, R.R. 1999. Polyphasic taxonomy of a novel Halobacillus, *Halobacillus thailandensis* sp. nov. isolated from fish sauce. System. Appl. Microbiol. 22: 360-365.
10. Chaveesuk, R., Smith, J.P., and Simpson, B.K. 1993. Production of Fish Sauce and Acceleration of Sauce Fermentation Using Proteolytic Enzymes. J. Aquat. Food Prod. Technol. 2 (3):59-77.
11. Gildberg, A., Espejo-Hermes, J., and Magno-Orejana, F. 1984. Acceleration of Autolysis during Fish Sauce Fermentation by Adding Acid and Reducing the Salt Content. J. Sci. Food. Agric. 35(12):1363-1369.
12. Gildberg, A. and Shi, X.Q. 1994. Recovery of tryptic enzymes from fish sauce. Process Biochem. 29: 151-155.

13. Ijong, F.G. and Ohta, Y. 1996. Physicochemical and Microbiological Changes Associated with Bakasang Processing--A Traditional Indonesian Fermented Fish Sauce. J. Sci. Food Agric. 71(1):69-74.

14. Lopetcharat, K. and Park, J.W. 2002. Characteristics of fish sauce made from Pacific whiting and surimi by-products during fermetation stage. J. Food Sci. 67: 511-516.

15. McIver, R.C., Brooks, R.I., and Reineccius, G.A. 1982. Flavor of Fermented Fish Sauce Southeast Asia. J. Agric. Food Chem. 30(6):1017-1020.

16. Orejana, F.M. and Liston, J. 1982. Agent of proteolysis and its inhibition in patis (fish sauce) fermentation. J. Food Sci. 47: 198-203, 209.

17. Porntaveewat, W., Padongkeittiwong, P., and Chaiyana, S. 2002. Characterization of halophilic extracellular proteases of halophilic bacteria isolated from fermenting fish sauce. Protein Research Network Symposium, August 29-30, 2002., Mahidol University.

18. Raksakulthai, N. and Haard, N.F. 1992. Fish sauce from capelin (*Mallotus villosus*): contribution of cathepsin C to the fermentation. ASEAN Food J. 7: 147-151.

19. Raksakulthai, N., Lee, Y.Z., and Haard, N.F. 1986. Effect of Enzyme Supplements on the Production of Fish Sauce from Male capelin (*Mallotus villosus*). J. Can. Inst. Food Sci. Technol. 19(1):28-33.

20. Satake, K., Okuyama, T., Ohashi, M., and Shinoda, T. 1960. J. Biochem. 47:654.

21. Sulit, J.I. and Tiongson, E.S. 1970. A Study on the Preparation of Fish Sauce with the Aid of Pronaze Enzyme. Araneta. J. Agr. 17(1):16-21.

22. Thongthai, C., McGenity, T.J., Suntinanalert, P., and Grant, W.D. 1992. Isolation and Characterization of an Extremely Halophilic Archaeobacterium from Traditionally Fermented Thai Fish Sauce (nam pla). Lett. Appl. Microbiol. 14(3): 111-114.

23. Tongthai, C. and Suntinanalert, P. 1991. Halophiles in Thai fisha sauce (Nam pla). In General and Applied Aspects of Halophilic Microorganisms, F. Rodriguez-Valera (ed.), Plenum Press, New York.

24. Vo-Van, T., Kusakabe, I., and Murakami, K. 1984. The Aminopeptidase Activity in Fish Sauce [Sardines, *Sardinops melanosticta*]. Agric-Biol-Chem. 48(2):525-527.

25. Yoshinaka, R., Sato, M., Tsuchiya, N., and Ikeda, S. 1983. Production of Fish Sauce From Sardine by Utilization of Its Visceral Enzymes *Sardinops melanosticta*. Bull Jap. Soc. Sci. Fish. 49(3):463-469.

ประวัตินักวิจัย

หัวหน้าโครงการ

1. ชื่อ(ภาษาไทย) **นาย สุเวทย์** นามสกุล **นิงสานนท์**

(ภาษาอังกฤษ) **Suwayd Ningsanond**

2. รหัสประจำตัว **39-40-0195**

3. ตำแหน่งปัจจุบัน **หัวหน้าสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร**

4. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ปริญญา ประเทศ	อักษรย่อ	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบัน
2533	เอก	Ph.D.	Food Science	Food Processing	U. of Alberta แคนาดา
2529	โท	M.Sc.	Food Science	Food Processing	U. of Alberta แคนาดา
2519	ตรี	วท.บ.	วิทยาศาสตร์การอาหาร	วิทยาศาสตร์การอาหาร	ม. เกษตรศาสตร์ ไทย

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชา

การประกันคุณภาพ

การพัฒนาผลิตภัณฑ์

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ: ระบุสถานภาพในการทำวิจัย ว่า เป็นหัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละเรื่อง

6.1 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

1) เป็นหัวหน้าโครงการ

สุเวทย์ นิงสานนท์, เทอดศักดิ์ ดำเหมือง, พิษณุ วิเชียรสรรค์ และ ชวลิต ตั้งตระกูล. 2535. การใช้กากถั่วพุ่มที่ได้จากการสีเปลือกถั่วพุ่มเป็นอาหารทดแทนโปรตีนจากกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารห่านรุ่น. แก่นเกษตร. 20(2):97-106.

2) เป็นผู้ร่วมวิจัย

อุสาห์ เจริญวัฒนา, *สุเวทย์ นิงสานนท์*, เพียรศักดิ์ ภักดี และ ทิพย์วรรณา งามศักดิ์. 2528. การใช้ประโยชน์จากแป้ง ถั่วพุ่มในการทำขนมอบ. แก่นเกษตร. 13(2):108-113.

สุวรรณ วิรัชกุล, *สุเวทย์ นิงสานนท์* และ ประทุม สงวนตระกูล. 2527. การศึกษาคุณค่าทางอาหารและวิธีการหมักเค็มสับประรดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ: (3) ผลของการถนอมเค็มสับประรดโดยกรรมวิธีการพาสเจอไรส์. แก่นเกษตร. 13(4):227-234.

สุวรรณ วิรัชกุล, *สุเวทย์ นิงสานนท์* และ ประทุม สงวนตระกูล. 2527. **การศึกษาคุณค่าทางอาหารและวิธีการหมักเต็มสับประรดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ :(2) การปรับปรุงตำรับอาหารของเต็มสับประรด.** *แก่นเกษตร. 12(6):285-293.*

Ningsanond, S. and Ooraikul, B. 1989. Use of Red Cowpeas in the Manufacture of Some Food Products. Starch. 41(12):452-457.

Ningsanond, S. and Ooraikul, B. 1989. Physicochemical and Functional Properties of Dry and Wet Dehulling of Red Cowpeas. Starch. 41(7):255-261.

Ningsanond, S. and Ooraikul, B. 1989. Chemical and Nutritional Properties of Red Cowpeas. Can. Inst. Food. Technol. J. 22:147-155.

Ningsanond, S. and Ooraikul, B. 1989. Dry and Wet Milling of Red Cowpeas. Can. Inst. Food Technol. J. 22:25-33.

Singthong, J., *Ningsanond, S.*, Cui, S.W., and Goff, H.D. 2005. Extraction and physicochemical characterization of Krueo Ma Noy pectin. Food Hydrocolloids. 19(5): 793–801.

Singthong, J., Cui, S. W., *Ningsanond, S.*, and Goff, H. D. 2004. Structural characterization, degree of esterification and some gelling properties of Krueo Ma Noy. Carbohydrate Polymers. 58(4): 391-400.

Donkwa, K. *and Ningsanond, S. 2004. Production and Quality of Herbal Food Products of the Cottage Industry in the Northeast.* Suranaree J. Sci. Technmol. 11:67-80 (in Thai).

6.2 งานวิจัยที่กำลังทำ -

ผู้ร่วมวิจัย

1. **ชื่อ :** (ภาษาไทย) นายจิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล

(ภาษาอังกฤษ) Mr. Jirawat Yongsawatdigul

2. ประวัติการทำงาน

สิงหาคม - ปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
สาขาเทคโนโลยีอาหาร
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

พฤษภาคม 2540 – กรกฎาคม 2542
อาจารย์
สาขาเทคโนโลยีอาหาร
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มกราคม 2539 - เมษายน. 2540
นักวิจัย (Research Associate)
Oregon State University Seafood Laboratory
Astoria, OR. 97103. USA.

3. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	อักษรย่อ	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันศึกษา	ประเทศ
2532	ปริญญาตรี	วท.บ.(วิทยาศาสตร์บัณฑิต) เกียรตินิยม	เทคโนโลยีอาหาร	เทคโนโลยีอาหาร	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2535	ปริญญาโท	M.S. (Master of Science)	Food Science	Food processing	University of Wisconsin-Madison	สหรัฐอเมริกา
2539	ปริญญาเอก	Ph.D. (Doctor of Philosophy)	Food Science and Technology	Seafood chemistry	Oregon State University	สหรัฐอเมริกา

4. รางวัลจากงานวิจัย

1995 Recipient of Research Associate Assistance Award from The American Institute of Fishery Research Biologists. USA.

1994 Recipient of Walter G. Jones Fisheries Development Memorial Award. Recognition of an outstanding graduate student who conducts research work contributing to fisheries development. Oregon State University, USA.

1994 Recipient of Graduate Paper Competition Award from Seafood Technology Division. Institute of Food Technologists. USA.

1988 Recipient of Outstanding Food Science Student from The Food Technologists Association of Thailand.

Member:

-Institute of Food Technologists, USA

-Gamma Sigma Delta The Honor Society of Agriculture, USA

5. งานวิจัยและแหล่งทุนที่ได้รับการสนับสนุน

1. **ชื่อโครงการ** ปัจจัยที่มีผลต่อฮีสตามีนในกระบวนการผลิตน้ำปลา
   แหล่งทุน คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ผ่านทางมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
   ระยะเวลา 2.5 ปี (2542-2544)
2. **ชื่อโครงการ** โปรตีเนสและทรานกลูทามิเนสในปลาน้ำจืดเศรษฐกิจ
   แหล่งทุน คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ผ่านทางมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
   ระยะเวลา 2 ปี (2543-2544)
3. **ชื่อโครงการ** การลดปริมาณไบโอจีนิกเอมีนในน้ำปลา
   แหล่งทุน คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ผ่านทางมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
   ระยะเวลา 2 ปี (2544-2545)
4. **ชื่อโครงการ** ผลกระทบของคุณภาพความสดและการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างดั้งเดิมของมัยโอซินต่อความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนกล้ามเนื้อจากปลาทรายแดง
   แหล่งทุน สกว
   ระยะเวลา 2 ปี (2542-2543)
   งบประมาณ 400,000 (ตลอดโครงการ)
   หน้าที่รับผิดชอบหัวหน้าโครงการ

5. **ชื่อโครงการ** การทำบริสุทธิ์และคุณสมบัติทางชีวเคมีของทรานกลูทามิเนสจากปลานิล

แหล่งทุน ศูนย์พันธุวิศวกรรมแห่งชาติ

ระยะเวลา 2 ปี (2544-2545)

งบประมาณ 488,000 (ตลอดโครงการ)

หน้าที่รับผิดชอบหัวหน้าโครงการ

6. **ชื่อโครงการ** การเร่งกระบวนการแปรรูปน้ำปลา

แหล่งทุน คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติผ่านทาง มทส.

ระยะเวลา 1 ปี (2543)

งบประมาณ 180,000 (ตลอดโครงการ)

หน้าที่รับผิดชอบ ผู้ร่วมโครงการ

7. **ชื่อโครงการ** *การเชื่อมโยงโปรตีนกล้ามเนื้อปลาทรายแดงด้วยพันธะโคเวเลนท์* โดยทรานสกลูทามิเนส

แหล่งทุน สกว

ระยะเวลา 3 ปี (2544-2546)

งบประมาณ 1,080,000 (ตลอดโครงการ)

หน้าที่รับผิดชอบ หัวหน้าโครงการ

8. **ชื่อโครงการ** การพัฒนากระบวนการผลิตลูกชิ้นและไส้กรอกจากปลาน้ำจืด

แหล่งทุน ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

ระยะเวลา 2 ปี (2545-2546)

งบประมาณ 732,000บาท

9. **ชื่อโครงการ** Inhibition of proteolysis and application of microbial transglutaminase in lizardfish surimi.

แหล่งทุน International Foundation for Science (IFS), Sweden

ระยะเวลา 2 ปี (2545-2546)

งบประมาณ US$ 11,700

6. ผลงานที่ตีพิมพ์

Research articles

1. Park, J.W., **Yongsawatdigul, J.**, and Lin, T.M. 1994. Rheological behavior and potential cross-linking of Pacific whiting surimi. J. Food Sci. 59: 773-776.
2. **Yongsawatdigul, J.**, Park, J.W., Kolbe, E., AbuDagga, Y., and Morrissey, M.T. 1995. Ohmic heating maximizes gel functionality of Pacific whiting surimi. J. Food Sci. 60: 10-14.
3. **Yongsawatdigul, J.**, Park, J.W., and Kolbe, E. 1995. Electrical conductivity of Pacific whiting surimi during ohmic heating. J. Food Sci. 60: 922-925, 935.
4. **Yongsawatdigul,** J. and **Park,** J.W. 1996. Linear heating rate affects gel formation of Alaska pollock and Pacific whiting. J. Food Sci. 61: 432-438.
5. **Yongsawatdigul, J.**, Park, J.W., and Kolbe, E. 1997. Degradation kinetics of myosin heavy chain of Pacific whiting surimi. J. Food Sci. 62: 724-728.
6. Park, J.W., Lin, T.M., and **Yongsawatdigul, J.** 1997. New developments in manufacturing of surimi and surimi seafood. Food Rev. Int. 13(4): 577-610.
7. **Yongsawatdigul, J.** and Park, J.W. 1999. Thermal aggregation and dynamic rheological properties of Pacific whiting and cod myosin as affected by heating rate. J. Food Sci. 64: 679-683.
8. **Yongsawatdigul, J.,** Park, J.W., Virulhakul, P., and Viratchakul, S. 2000. Proteolytic degradation of tropical tilapia surimi. J. Food Sci. 65: 129-133.
9. Klesk, K., **Yongsawatidigul, J.**, Park, J.W., Viratchakul, S., and Virulhakul, P. 2000. Physical behavior of tilapia (*Oreochromis niloticus*) surimi gels at various thermal treatments as compared with Alaska pollock and Pacific whiting surimi. J. Aquat. Food Prod. 9: 91-104.
10. **Yongsawatdigul, J.** and Park, J.W. 2002. Biochemical and conformation changes of actomyosin from threadfin bream stored in ice. J. Food Sci. 67(3): 985-990.
11. **Yongsawatdigul, J.**, Worratao, A., and Park, J. 2002. Effect of endogenous transglutaminase on gelation of threadfin bream surimi. J. Food Sci. 67(9): 3258-3263.
12. Worratao, A and **Yongsawatdigul, J.** 2003. Cross-linking of actomyosin by crude tilapia (*Oreochromis niloticus*) transglutaminase. Food Biochem. 27: 35-51.

13. **Yongsawatdigul, J.** and Park, J.W. 2003. Thermal denaturation and aggregation of threadfin bream actomyosin. Food Chem. In press.

Book chapters

1. Park, J.W., **Yongsawatdigul, J.**, and Kolbe, E. 1998. Proteolysis and gelation of fish proteins under ohmic heating. In *Process-Induced Chemical Changes in Foods*, (Eds.), F. Shahidi, C.T. Ho, and V.C. Nguyen. Plenum Publishing Corp, New York. pp25-34.
2. Park. J.W. and **Yongsawatdigul, J.** 1999. Gelation properties of fish proteins under ohmic heating. In *Quality Attributes of Muscle Foods*, (Eds.), Xiong et al. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. p. 421-429.
3. **Yongsawatdigul, J.** 1998. Ohmic heating of surimi seafood. In *Advanced Technology in Surimi Seafood Manufacturing Workshop Manual.* August 18-20, 1998. Bangkok Thailand.