

ผลของเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) ต่อการย่อยเนื้อวัว

Effect of Proteinases from Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus)

Viscera on Beef Hydrolysis

ศรวุฑ เหมหมัด^{1*} และสรรพสิทธิ์ กล่อมเกล้า²

Sarawut Hemmad^{1*} and Sappasith Klomklao²

บทคัดย่อ

การศึกษาการทำให้เนื้อนุ่มโดยการใช้อินไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (ร้อยละ 1 2 3 และ 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร)) เปรียบเทียบกับเอนไซม์ปาเปน พบว่ารูปแบบของโปรตีนกล้ามเนื้อเนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิล มีการย่อยของโปรตีนกล้ามเนื้อและแถบของโปรตีนบางลง ค่าแรงเฉือนของเนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยเอนไซม์มีค่าลดลง ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการประเมินคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสพบว่าเนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยเอนไซม์โปรตีนจากความเข้มข้นร้อยละ 4 ได้รับความนุ่มนวลมากขึ้น รส ความฉ่ำน้ำ ลักษณะเนื้อสัมผัสและความชอบรวมสูงสุด จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลสามารถใช้เป็นทางเลือกแทนเอนไซม์ปาเปนในการทำให้เนื้อนุ่มได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: ปลานิล เอนไซม์โปรตีน การทำให้เนื้อนุ่ม

Abstract

This study conducted to develop a method for improving tenderness of beef meat using proteinases from tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) viscera at different concentrations (1, 2, 3, and 4 % (w/v)). Their tenderizing efficacy was compared with the most popular enzyme, papain. Electrophoretic pattern of muscle proteins revealed extensive proteolysis and reduction in number of small protein bands in all treated samples. Reduction ($p < 0.05$) in shear force values were observed in enzyme-treated samples compared to control. Viscera extract-treated meat samples (4 % w/v) received better scores for appearance, flavor, juiciness, tenderness and overall acceptability. These results indicated proteinases from viscera of tilapia can be used as an effective alternative to papain.

Keywords: Tilapia, Proteinase, Tenderization

บทนำ

ปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) เป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งที่คนไทยนิยมบริโภค เนื่องจากเป็นแหล่งโปรตีนที่หาง่าย ราคาไม่แพง เกษตรกรสามารถเลี้ยงปลานิลได้ตามแหล่งน้ำ ปัจจุบันความต้องการบริโภคปลานิลในประเทศไทยและตลาดในต่างประเทศเพิ่มปริมาณมากขึ้นตามลำดับ ปริมาณการส่งออกปลานิลและผลิตภัณฑ์ของประเทศไทยในปี 2560 ปริมาณ 3,108.7 ตัน คิดเป็นมูลค่า 189.5 ล้านบาท รูปแบบผลิตภัณฑ์ปลานิลที่ส่งออกมากที่สุด คือ ปลานิลทั้งตัวแช่แข็ง คิดเป็นร้อยละ 73.7 ของมูลค่าการส่งออกทั้งหมด รองลงมา คือ เนื้อปลานิลแช่แข็งร้อยละ 23.8 ปลานิลสดแช่เย็นร้อยละ 1.2 เนื้อปลานิลแช่เย็นร้อยละ 0.7 และปลานิลมีชีวิตร้อยละ 0.6 ขนาดของปลาที่ต้องการ จะมีความแตกต่างกัน สำหรับตลาดในท้องถิ่นต้องการปลานิล

¹ นักวิจัย, สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตรและชีวภาพ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

² รศ.ดร., สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตรและชีวภาพ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

¹ Researcher, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro and Bio Industry, Thaksin University, Phatthalung, 93210

² Assoc. Prof. Dr., Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro and Bio Industry, Thaksin University, Phatthalung, 93210

*Corresponding author: Tel.: 074-693996 ext. 3403. E-mail address: raider_048@hotmail.com

(Received: April 16, 2018; Revised: May 18, 2018; Accepted: May 22, 2018)

ที่มีขนาดไม่ใหญ่มาก คือน้ำหนัก 150-250 กรัมต่อตัว แต่ตลาดในเมืองใหญ่และตลาดต่างประเทศต้องการปลาขนาดใหญ่ คือน้ำหนักประมาณ 500 กรัมต่อตัว ปลาชนิดขนาดใหญ่โดยทั่วไปจะมีราคาสูงกว่าปลาน้ำหนักเล็กกว่าหนึ่งเท่าตัว ปัจจุบันพบปลานิลในแทบทุกแหล่งน้ำทั่วประเทศ นอกจากนี้ยังสามารถนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ผลผลิตปลานิลส่วนใหญ่จะบริโภคภายในประเทศอยู่ในรูปของปลาสดร้อยละ 89 การแปรรูปทำเค็ม ตากแห้งร้อยละ 5 ย่างร้อยละ 3 และรูปแบบอื่น ๆ ร้อยละ 3 อีกทั้งยังมีการส่งออกปลานิลแปรรูปในรูปแบบแกละและเนื้อปลาสดไปจำหน่ายในต่างประเทศ ได้แก่ ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และ อิตาลี เป็นต้น การขยายตัวของโรงงานแปรรูปสัตว์น้ำทำให้มีวัสดุเศษเหลือ ได้แก่ เศษเนื้อ หนัง กระดูก และอวัยวะภายในของสัตว์น้ำต่าง ๆ เกิดขึ้นมากมาย จากเดิมที่มีการจัดการกับวัสดุเศษเหลือเหล่านี้ไม่ถูกต้องและไม่มีประสิทธิภาพ โดยการนำวัสดุเศษเหลือเหล่านี้ไปฝังดินหรือทิ้งลงทะเล ทำให้เป็นปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตามวัสดุเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูปสัตว์น้ำโดยเฉพาะเครื่องในประกอบด้วยเอนไซม์ในปริมาณสูง โดยเฉพาะเอนไซม์โปรตีน [1] ซึ่งเอนไซม์โปรตีนเป็นเอนไซม์ที่มีการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท ได้แก่ การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต การลอกหนังปลา [2] รวมถึงการทำให้นิ่มนุ่ม [3]

จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า เครื่องในปลานิลมีเอนไซม์โปรตีนในปริมาณสูง ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม พีเอช 9.0 และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลมีกิจกรรมอยู่ที่ 8,436 Unit/ml เอนไซม์จากสัตว์น้ำมีค่า Catalytic Efficiency สูงกว่าสัตว์บกและจุลินทรีย์ ทำให้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลรายงานเกี่ยวกับการนำไปใช้ในการย่อยสลายเนื้อวัวเพื่อทำให้นิ่มนุ่ม ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการนำไปประยุกต์ใช้ในการย่อยสลายเนื้อวัวเพื่อเพิ่มมูลค่าวัสดุเศษเหลือหลังจากการแปรรูป

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการ

การศึกษาผลของเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลต่อการย่อยสลายเนื้อวัว โดยรับซื้อเนื้อวัวสดภายหลังจากการฆ่าทันที อายุของวัว 3 ปี จากผู้ประกอบการในอำเภอป่าพะยอม โดยในการศึกษาใช้ส่วนเนื้อขาหลัง บรรจุในถุงโพลีเอทิลีนใส่ในกล่องโฟม โดยอัตราส่วนน้ำแข็งต่อเนื้อวัว เท่ากับ 2:1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ขนส่งมายังสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง ภายใน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำเนื้อวัวไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อใช้ในการทดลอง

1. ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลต่อการย่อยเนื้อวัว การเตรียมเอนไซม์โปรตีน

สกัดเอนไซม์จากเครื่องในปลานิล [4] โดยนำเครื่องในปลานิลสดที่ผ่านการกำจัดไขมัน เดิม น้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 9 กวนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 x g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองส่วนใสด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 ส่วนใส ที่ได้คือสารสกัดเอนไซม์ตัดเนื้อวัวขนาด 3×3 เซนติเมตรแล้วบ่มเนื้อวัวในสารสกัดเอนไซม์ดังนี้

- 1) ชุดควบคุม ใช้ น้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร
- 2) สารสกัดเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) 15 มิลลิลิตร
- 3) สารสกัดเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลร้อยละ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) 15 มิลลิลิตร
- 4) สารสกัดเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลร้อยละ 3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) 15 มิลลิลิตร
- 5) สารสกัดเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลร้อยละ 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) 15 มิลลิลิตร
- 6) เอนไซม์ปาเปน (ยี่ห้อ SIGMA มีกิจกรรมของเอนไซม์ 2.9 Unit/mg solid) ร้อยละ 0.2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) [4] 15 มิลลิลิตร

ในแต่ละถุงมีเนื้อวัวทั้งหมด 4 ชิ้น แต่ละสารสกัดเอนไซม์มีจำนวน 12 ถุง แต่ละชิ้นน้ำหนัก 2 กรัม แล้วผสมให้เข้ากัน เก็บในถุงโพลีเอทิลีน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นทำการสุ่มตัวอย่างแต่ละสารสกัดเอนไซม์อย่างละ 3 ถุง ที่เวลา 0 12 24 และ 48 ชั่วโมง เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

2. การตรวจสอบ TCA Soluble Peptide

ตรวจสอบปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติก [5]

3. การตรวจสอบรูปแบบโปรตีน

ตรวจสอบรูปแบบโปรตีนของเนื้อวัวที่ผ่านการย่อยสลายของเอนไซม์โปรตีนเอส โดยใช้ Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) โดยใช้ 10 % Running Gel และ 4 % Stacking Gel [6]

4. การตรวจสอบลักษณะเนื้อสัมผัส

ตรวจสอบลักษณะเนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture Analyzer) ยี่ห้อ Stable Micro Systems รุ่น TA-XT Plus ประเทศอังกฤษ โดยใช้ใบมีดชนิด Warner Brazler Shear Blade (HDP/BS) โดยมีอัตราการเคลื่อนที่ของใบมีด (Test Speed) เท่ากับ 2 มม./วินาที โดยตรวจวัดจำนวน 20 ซ้ำต่อตัวอย่าง

5. การประเมินด้านประสาทสัมผัส

นำเนื้อวัวที่บ่มสารสกัดเอนไซม์โปรตีนเอส ไปล้างน้ำแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที จำลองตามแบบผลิตภัณฑ์เนื้ออบ ทดสอบความชอบแบบ 9-Point Hedonic Scale โดยผู้ทดสอบด้านประสาทสัมผัสมีทักษะความชำนาญและได้รับการฝึกอบรมจำนวน 50 คนขึ้นไปโดยวัดลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ ความฉ่ำน้ำ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบรวม

ผลการวิจัย

การศึกษาผลของเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลต่อการย่อยเนื้อวัว โดยตัดเนื้อวัวขนาด 3×3×3 เซนติเมตร แล้วบ่มเนื้อวัวในสารสกัดเอนไซม์ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันแล้วผสมให้เข้ากันเก็บในถุงโพลีเอทิลีน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการสุ่มตัวอย่างที่เวลา 0 12 24 และ 48 ชั่วโมง เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

1. การตรวจสอบ TCA Soluble Peptide และการตรวจสอบรูปแบบโปรตีน

จากการศึกษาปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกจากเนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง (ตารางที่ 1) โดยนำเนื้อวัวไปแช่ในสารละลาย TCA แล้วนำสารละลาย TCA ที่มีเปปไทด์ละลายอยู่ไปวิเคราะห์ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลสูงขึ้นและเวลาการบ่มเพิ่มขึ้น ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเพิ่มขึ้น เนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลที่เวลาการบ่ม 48 ชั่วโมงความเข้มข้นของเอนไซม์โปรตีนร้อยละ 4 ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกสูงที่สุดคือ 0.77 $\mu\text{mol Tyrosine/g Sample}$ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลและเอนไซม์ปาเปนพบว่าเอนไซม์ปาเปนมีปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกสูงกว่าเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิล เนื่องจากเอนไซม์ปาเปนมีความจำเพาะและมีกิจกรรมของเอนไซม์สูงกว่าเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิล ทำให้เอนไซม์ปาเปนสามารถปลดปล่อยโปรตีนจากเนื้อวัวได้มากกว่า

จากการศึกษารูปแบบโปรตีนของเนื้อวัว โดยนำเนื้อวัวบ่มด้วยเอนไซม์โปรตีนที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน และเอนไซม์ปาเปนร้อยละ 0.2 ด้วยเทคนิค Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) ดังภาพที่ 1 พบว่าแถบความเข้มของไมโอซินเส้นหนัก (Myosin Heavy Chain) บางลงตามความเข้มข้นของเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลที่เพิ่มขึ้นและเวลาที่เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (เนื้อวัวสด) และเนื้อวัวที่ไม่ผ่านการบ่มด้วยเอนไซม์ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง เนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยเอนไซม์โปรตีนความเข้มข้นร้อยละ 4 ที่เวลา 48 ชั่วโมงถูกย่อยมากที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างเอนไซม์โปรตีนความเข้มข้นร้อยละ 4 กับเอนไซม์ปาเปนความเข้มข้นร้อยละ 0.2 พบว่าเอนไซม์ปาเปนเข้มข้นร้อยละ 0.2 สามารถย่อยเนื้อวัวได้ดีกว่าเอนไซม์โปรตีนความเข้มข้นร้อยละ 4 เนื่องจากเอนไซม์ปาเปนมีความจำเพาะและมีกิจกรรมของเอนไซม์สูงกว่าเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิล ทำให้เอนไซม์ปาเปนสามารถย่อยโปรตีนได้ดีกว่า ดังนั้นเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลสามารถนำไปใช้เป็นที่ทางเลือกแทนเอนไซม์ปาเปนได้อย่างมีประสิทธิภาพ Guo-Yan Zhao และคณะ (2012) [7] รายงานว่าการย่อยสลายโปรตีนจากเนื้อวัว โดยใช้เอนไซม์ Cold-adapted Collagenolytic MCP-01 จาก *Pseudoalteromonas sp.* เอนไซม์โบรมิเลนและเอนไซม์ปาเปน โดย MCP-01 สามารถย่อย Myosin ได้เพียงเล็กน้อย ในทางตรงกันข้ามเอนไซม์ โบรมิเลนและเอนไซม์ปาเปนสามารถย่อยสลาย Myosin และ Actin ได้เกือบทั้งหมด Naveena และคณะ (2011) [5] รายงานว่าการลดลงของจำนวนและความเข้มของแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (≥ 65 kDa) และการเพิ่มขึ้นของโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (< 25 kDa) แสดงว่ามีการย่อยสลายของโปรตีน Myofibrillar

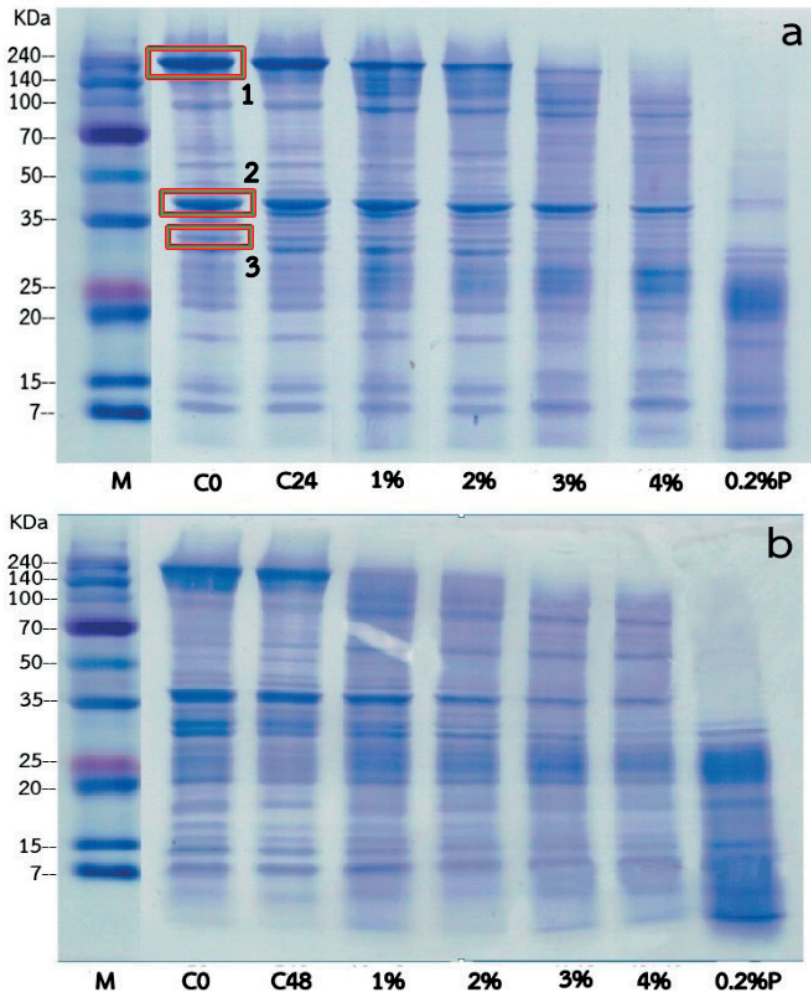
ตารางที่ 1 ปริมาณของเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกของเนื้อวัวที่ผ่านการบ่มเอนไซม์ ความเข้มข้นต่าง ๆ ในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

เนื้อวัวที่แช่เอนไซม์ที่ความเข้มข้น แตกต่างกัน	เปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก ($\mu\text{mol Tyrosine/g Sample}$)	
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	$0.17 \pm 0.01^{\text{Aa}}$	$0.26 \pm 0.01^{\text{Ab}}$
เอนไซม์โปรตีนส ร้อยละ 1	$0.30 \pm 0.01^{\text{Ba}}$	$0.38 \pm 0.00^{\text{Ba}}$
เอนไซม์โปรตีนส ร้อยละ 2	$0.38 \pm 0.01^{\text{Ca}}$	$0.50 \pm 0.01^{\text{Cb}}$
เอนไซม์โปรตีนส ร้อยละ 3	$0.45 \pm 0.01^{\text{Da}}$	$0.64 \pm 0.01^{\text{Db}}$
เอนไซม์โปรตีนส ร้อยละ 4	$0.55 \pm 0.01^{\text{Ea}}$	$0.77 \pm 0.01^{\text{Eb}}$
เอนไซม์ปาเปน ร้อยละ 0.2	$1.19 \pm 0.02^{\text{Fa}}$	$1.28 \pm 0.02^{\text{Fa}}$

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่าง ($p > 0.05$)

ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแถวเดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$)

ค่าเฉลี่ย \pm SD จากการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 1 รูปแบบโปรตีนของเนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยเอนไซม์ความเข้มข้นต่าง ๆ เวลา 24 ชั่วโมง (a) และ 48 ชั่วโมง (b) 1: Myosin Heavy Chain, 2: Actin, 3: Tropomyosin, M: Molecular Weights Markers, C0: ชุดควบคุม C24, C48: เนื้อวัวชุดควบคุม ที่ผ่านการบ่มเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ 1 2 3 และ 4 % : เนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยสารสกัดเอนไซม์โปรตีนจาก เครื่องใน ปลาชนิดที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 2 3 และ 4 ตามลำดับ 0.2 % P: เนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยเอนไซม์ปาเปนเข้มข้นร้อยละ 0.2

2. การตรวจสอบลักษณะเนื้อสัมผัส

จากการศึกษาลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันและเอนไซม์ป่าเปนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ที่เวลาต่าง ๆ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์โปรตีนสเพิ่มขึ้นแรงเฉือนของเนื้อวัวลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อเปรียบเทียบกับแรงเฉือนของเนื้อวัวในแต่ละเวลา พบว่าแรงเฉือนของเนื้อวัวจะลดลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังนั้นกิจกรรมการย่อยสลายเนื้อวัวโดยเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเอนไซม์โปรตีนและระยะเวลาที่ใช้บ่มเนื้อวัว (ตารางที่ 2) เอนไซม์โปรตีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 ที่เวลา 48 ชั่วโมง มีแรงเฉือนใกล้เคียงกับเอนไซม์ป่าเปนที่เป็นเอนไซม์ที่ใช้ในทางการค้าคือ 5,992.15 กรัม และ 5,228.38 กรัม ตามลำดับ

ตารางที่ 2 แรงเฉือนของเนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยเอนไซม์ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ที่เวลาต่าง ๆ

เนื้อวัวที่บ่มเอนไซม์	แรงเฉือนของเนื้อวัวที่บ่มเอนไซม์ที่เวลาต่าง (กรัม)			
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
C	11,541.20 ± 30.05 ^{Bd}	10,504.54 ± 29.68 ^{Fc}	9,531.13 ± 19.30 ^{Fb}	9,169.32 ± 10.58 ^{Fa}
1 %	10,871.51 ± 40.05 ^{Ad}	9,481.86 ± 25.06 ^{Ec}	8,661.88 ± 61.26 ^{Eb}	8,143.01 ± 50.24 ^{Ea}
2 %	10,557.66 ± 23.75 ^{Ad}	8,727.16 ± 64.25 ^{Dc}	7,802.62 ± 20.51 ^{Db}	6,989.09 ± 50.25 ^{Da}
3 %	10,741.95 ± 25.78 ^{Ad}	8,195.078 ± 35.87 ^{Cc}	7,042.95 ± 77.46 ^{Cb}	6,534.99 ± 10.24 ^{Ca}
4 %	10,310.03 ± 24.38 ^{Ad}	7,327.43 ± 49.74 ^{Bc}	6546.44 ± 56.54 ^{Bb}	5,992.15 ± 24.44 ^{Ba}
0.2 % P	10,543.76 ± 15.21 ^{Ad}	7,082.17 ± 73.77 ^{Ac}	5,860.27 ± 56.03 ^{Ab}	5,228.38 ± 56.44 ^{Aa}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$)

ตัวอักษรพิมพ์เล็กในแถวเดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างในตัวอย่างเดียวกัน ($p > 0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± SD จากการทดลอง 3 ซ้ำ $n = 24$

C: ชุดควบคุม

1, 2, 3 และ 4 %: เนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยสารสกัดเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลานิลที่ระดับ ความเข้มข้น ร้อยละ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ,

0.2 % P: เนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยเอนไซม์ป่าเปนเข้มข้นร้อยละ 0.2

3. การประเมินด้านประสาทสัมผัส

จากการประเมินด้านประสาทสัมผัส โดยนำเนื้อวัวไปบ่มสารสกัดเอนไซม์โปรตีนสเปรียบเทียบกับเอนไซม์ป่าเปนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างน้ำ อบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที ทดสอบความชอบแบบ 9-Point Hedonic Scale โดยผู้ทดสอบจำนวน 50 คน โดยตรวจสอบลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ ความฉ่ำน้ำ ลักษณะเนื้อสัมผัสและความชอบรวม พบว่าเนื้อวัวที่บ่มด้วยสารสกัดเอนไซม์โปรตีนสเข้มข้น ร้อยละ 4 ผู้ทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสให้คะแนน ลักษณะปรากฏ กลิ่น ความฉ่ำน้ำ ลักษณะเนื้อสัมผัสและความชอบรวมสูงที่สุดคือ 7.10 7.60 7.75 8.00 และ 7.95 คะแนนตามลำดับ ลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อวัวชุดควบคุมในเวลา 0 ได้รับคะแนน 5.75 เนื่องจากเนื้อวัวมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่เหนียว เคี้ยวยาก และคะแนนการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสด้าน กลิ่น และรสชาติของเนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยเอนไซม์ป่าเปนเข้มข้นร้อยละ 0.2 ได้รับคะแนน 5.65 และ 5.65 ตามลำดับ เนื่องจากกลิ่นและรสชาติของเนื้อวัวมีกลิ่นและรสชาติผิดไปจากเนื้อวัวอบชุดควบคุม ทำให้ผู้ทดสอบชิมไม่ยอมรับ (ตารางที่ 3) จากประเมินด้านประสาทสัมผัสเปรียบเทียบกับระหว่างเอนไซม์โปรตีนสและเอนไซม์ป่าเปนพบว่าเนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยเอนไซม์โปรตีนสเข้มข้นร้อยละ 4 ได้คะแนนความชอบรวมมากกว่าเอนไซม์ป่าเปนเข้มข้นร้อยละ 0.2 แสดงว่าเอนไซม์โปรตีนสจากเครื่องในปลานิลสามารถนำมาใช้แทนเอนไซม์ป่าเปนในการทำให้เนื้อนุ่มได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตารางที่ 3 การประเมินทางด้านประสาทสัมผัสของเนื้อวัวที่ผ่านการบ่มด้วยเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลาชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ลักษณะทางประสาทสัมผัส	ตัวอย่างเนื้อวัวที่บ่มสารสกัดเอนไซม์ความเข้มข้นต่างๆ เวลา 48 ชั่วโมง						
	ชุดควบคุม 0 ชั่วโมง	ชุดควบคุม 48 ชั่วโมง	โปรตีนส ร้อยละ 1	โปรตีนส ร้อยละ 2	โปรตีนส ร้อยละ 3	โปรตีนส ร้อยละ 4	ปาเปน ร้อยละ 0.2
ลักษณะปรากฏ	6.80 ± 0.61 ^{bc}	6.45 ± 0.51 ^a	6.65 ± 0.49 ^{bc}	6.5 ± 0.51 ^b	6.75 ± 1.33 ^{bc}	7.10 ± 0.45 ^c	6.80 ± 0.41 ^{bc}
กลิ่น	6.65 ± 0.49 ^c	6.65 ± 0.67 ^c	6.20 ± 0.41 ^b	6.35 ± 0.49 ^{bc}	7.45 ± 0.51 ^d	7.60 ± 0.68 ^d	5.65 ± 0.81 ^a
รสชาติ	7.05 ± 0.51 ^c	6.95 ± 0.51 ^b	7.60 ± 0.50 ^d	7.30 ± 0.47 ^{bc}	6.50 ± 0.61 ^a	7.20 ± 0.61 ^{bc}	5.65 ± 0.49 ^a
ความเหนียว	6.30 ± 0.47 ^a	6.65 ± 0.74 ^b	6.25 ± 0.55 ^a	7.40 ± 0.50 ^d	7.25 ± 0.64 ^c	7.75 ± 0.44 ^c	7.10 ± 0.64 ^c
ลักษณะเนื้อสัมผัส	5.75 ± 0.85 ^a	6.65 ± 0.49 ^c	6.20 ± 0.41 ^b	6.45 ± 0.76 ^b	7.65 ± 0.67 ^d	8.00 ± 0.56 ^c	7.45 ± 0.51 ^d
ความชอบรวม	6.50 ± 0.51 ^c	6.60 ± 0.50 ^c	6.30 ± 0.47 ^b	6.35 ± 0.4 ^{bc}	7.45 ± 0.51 ^d	7.95 ± 0.51 ^c	5.90 ± 0.30 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$) ค่าเฉลี่ย ± SD จากผู้ทดสอบชิม 50 คน

การอภิปรายผลและสรุปผลการวิจัย

การศึกษาผลของเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลาชนิดต่อการย่อยเนื้อวัว โดยเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องใน ปลาชนิดสามารถย่อยสลายกล้ามเนื้อวัวได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นเอนไซม์โปรตีนจากเครื่องในปลาชนิดน่าจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการทำให้เนื้อนุ่มได้

เอกสารอ้างอิง

- [1] Shahidi, F. (1994). Proteins from Seafood Processing Discard. In E.Z. Sikorski, B.S. Pan & F. Shahidi, (Eds.). *Seafood Proteans*, 171-193. New York, USA : Chapman & Hall.
- [2] Shahidi, F., & Kamil, Y. Y. A. J. (2001). Enzymes from Fish and Aquatic Invertebrates and Their Application in Food Industry. *Trends in Food Science and Technology*, 12, 435-464.
- [3] Naveena, B. M., Kiran, M., Reddy, K. S., Ramakrishna, C., Vaithyanathan, S., & Devatkal, S. K. (2011). Effect of Ammonium Hydroxide on Ultrastructure and Tenderness of Buffalo Meat. *Meat Science*, 88, 727-732.
- [4] Klomklao, S., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2004). Comparative Studies on Proteolytic Activity of Spleen Extracts from Three Tuna Species Commonly Used in Thailand. *Journal of Food Biochemistry*, 28, 355-372.
- [5] Klomklao, S., Kishimura, H., Benjakul, S., & Simpson, B.K. (2009). Autolysis and Biochemical Properties of Endogenous Proteinase in Japanese Sandfish (*Arctoscopy japonicus*). *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1344-1350.
- [6] Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of Structure Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
- [7] Zhao, G. Y., Zhou, M. Y., Zhao, H. L., Chen, X. L., Xie, B. B., Zhang, X. Y., He, H. L., Zhou, B.C., & Zhang, Y. Z. (2012). Tenderization Effect of Cold-adapted Collagenolytic Protease MCP-01 on Beef Meat at Low Temperature and Its Mechanism. *Food Chemistry*, 134, 1738-1744.