บทความวิจัย

สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมสารเคลือบผิวที่บริโภคได้จากเจลาตินปลาผสมเจลาตินปลาไฮโดรไลเสทเสริมเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสเพื่อการยืดอายุการเก็บรักษาปลาทับทิมแล่แช่เย็น

นันทนิกา กุลมา[1] และ สุธี วังเตือย[1,2*]

ได้รับบทความ: 20 ตุลาคม 2561
ได้รับบทความแก้ไข: 6 กุมภาพันธ์ 2562
ยอมรับตีพิมพ์: 12 กุมภาพันธ์ 2562

บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมสารเคลือบผิวที่บริโภคได้จากเจลาตินปลา เจลาตินไฮโดรไลเสทเสริมด้วยเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology: RSM) ร่วมกับแผนการทดลอง Box-Behnken Design โดยศึกษาผลของ 3 ปัจจัย คือ ปริมาณเจลาตินปลา (ร้อยละ 1-10) ปริมาณเจลาตินปลาไฮโดรไลเสท (ร้อยละ 1-10) และปริมาณเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนส (ร้อยละ 0.5-1.5) ต่อกิจกรรมการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ได้แก่ ความสามารถในการจับอนุมูล DPPH และ ABTS รวมถึงความสามารถในการรีดิวซ์ $FeSO_4$ พบการศึกษาด้วย RSM มีการกระจายของข้อมูลที่ได้จากการทดลองเป็นแบบปกติ สมการกำลังสองคือแบบจำลองที่เหมาะสม และแบบจำลองของทุกค่าตอบสนองแสดงค่า R^2 ที่ระดับ 0.89-0.98 สภาวะที่เหมาะสมจากการวิเคราะห์ร่วมกันของทุกค่าตอบสนอง (Multi-response optimization) คือ ปริมาณเจลาตินปลา เจลาตินปลาไฮโดรไลเสท และเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสที่เหมาะสมในการเตรียมสารเคลือบผิว เท่ากับ ร้อยละ 5.23 5.00 และ 0.99 ตามลำดับ และศึกษาผลการเคลือบผิวปลาทับทิมแล่ต่อคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาในสภาวะแช่เย็น พบว่าคุณภาพทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ของปลาทับทิมแล่ที่เคลือบผิวด้วยเจลาตินปลาเสริมเจลาตินปลาไฮโดรไลเสทมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพที่แสดงถึงการเสื่อมเสียได้ช้ากว่า และมีอายุการเก็บรักษาที่มากกว่าสิ่งทดลองที่ไม่มีการเคลือบผิว

คำสำคัญ: ปลาแล่แช่เย็น ปลาทับทิม เจลาตินปลา เจลาตินปลาไฮโดรไลเสท สารเคลือบผิวที่บริโภคได้

---

[1]สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
[2]สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ทางทะเล คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
[*]ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: sutee.w@cmu.ac.th

Optimization of Edible Coating Preparation from Mixed Fish Gelatin and Fish Gelatin Hydrolysate Enriched with Transglutaminase for Extending Shelf Life of Chilled Tabtim Fish Fillets

Nuntanika Kullama[1] and Sutee Wangtueai[1, 2]*

Received: 20 October 2018
Revised: 6 February 2019
Accepted: 12 February 2019

ABSTRACT

The optimization of edible coating preparation from mixed fish gelatin and fish gelatin hydrolysate enriched with transglutaminase was studied. The effect of fish gelatin content (1-10%), fish gelatin hydrolysate content (1-10%) and transglutaminase content (0.5-1.5%) on antioxidant activity (DPPH and ABTS radical scavenging activity, FRAP assay) in coating solution were determined by using response surface methodology (RSM) with 3-levels, 3-factors Box-Behnken Design. The results showed that all experiments by RSM performed a data with normal distribution. A quadratic equation was appropriated for all models with high R^2 value at the range of 0.89-0.98. By multi-response optimization, the optimum conditions for preparation of coating solution were 5.23% fish skin gelatin content, 5.00% fish gelatin hydrolysate and 0.99% transglutaminase. Those optimum conditions were applied to study effect of fish gelatin enriched fish gelatin hydrolysate coating on quality of Tabtim fish fillets during chilling storage. The changing of physiochemical and microbiological properties of coated fish fillets were lower than uncoated. Thus Tabtim fish fillets coated with fish gelatin enriched fish gelatin hydrolysate showed a longer shelf life than the uncoated in chilling storage.

Keywords: chilled fish fillets, tabtim fish, fish gelatin, fish gelatin hydrolysate, edible coating

[1] Division of Food Science and Technology, Faculty of Agro-industry, Chiang Mai University
[2] Division of Marine Product Technology, Faculty of Agro-industry, Chiang Mai University
*Corresponding author, e-mail: sutee.w@cmu.ac.th

บทนำ

ความสด (freshness) เป็นปัจจัยสำคัญที่แสดงถึงคุณภาพของปลา และสัตว์น้ำ ดังนั้นจึงเป็นปัจจัยที่ผู้ผลิต และผู้บริโภคคำนึงถึงในการเลือกวัตถุดิบเพื่อนำไปประกอบอาหารเพื่อการบริโภค หรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ เนื่องจากความสดจะส่งผลต่อคุณภาพด้านรสชาติที่ดีของสัตว์น้ำ [1] ซึ่งการติดตามความสดของปลาและสัตว์น้ำสามารถทำได้หลายๆ วิธี ได้แก่ วิธีการทางเคมี วิธีทางกายภาพ การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ และการประเมินทางด้านประสาทสัมผัส เป็นต้น ผลิตภัณฑ์ปลาแล่เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อความสะดวกต่อการจำหน่ายหรือการบริโภคมากยิ่งขึ้น มีทั้งรูปแบบแช่เย็น หรือแบบแช่แข็ง โดยที่การเก็บรักษาปลาสดแบบแช่เย็นช่วยรักษาคุณภาพของเนื้อปลา อย่างไรก็ตาม ในระหว่างการเก็บรักษา คุณภาพของเนื้อปลาจะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างช้าๆ ของเอนไซม์ในเนื้อปลา และการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ตลอดจนปฏิกิริยาทางเคมีอันเป็นผลมาจากระดับอุณหภูมิ และสภาวะของการเก็บรักษาที่จะส่งผลต่อคุณภาพของเนื้อปลา [2] โดยค่าคุณภาพต่างๆ และปริมาณของจุลินทรีย์สามารถบ่งชี้อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ปลาแล่ได้ [3-5] สาเหตุที่ทำให้ปลาเกิดการเสื่อมเสียได้ง่ายมากกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่นๆ นั้น เป็นผลมาจากปลามีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลาง ค่าแอคติวิตีของน้ำ ปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัว และกรดอะมิโนอิสระสูง [6] โดยกรดไขมันในเนื้อปลาสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลง และส่งผลต่อคุณภาพของสัตว์น้ำจากกระบวนการออกซิเดชันที่ถูกกระตุ้นด้วยออกซิเจน [4] ดังนั้นจึงนิยมยืดอายุในการเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่เย็นหรือแช่แข็ง โดยวิธีดังกล่าวจะสามารถยืดอายุการเก็บรักษา และช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลาระหว่างการเก็บรักษาได้ แต่ในขณะเดียวกันจุลินทรีย์ และเอนไซม์ในเนื้อปลาก็ยังสามารถเกิดกิจกรรมได้อย่างช้าๆ และสามารถมีผลกระทบต่อคุณภาพในเนื้อปลา [7] จึงทำให้มีการใช้วิธีการยืดอายุการเก็บรักษาด้วยวิธีอื่นร่วมด้วยในการยืดอายุการเก็บรักษา เช่น การเคลือบผิว หรือการฉายรังสี เป็นต้น

การเคลือบที่บริโภคได้ (edible coating) นั้นเป็นชั้นของฟิล์มที่มีลักษณะบางอยู่บนผิวหน้าของอาหารที่นำมาเคลือบ ซึ่งสารเคลือบสามารถเตรียมได้จากโปรตีน พอลิแซ็กคาไรด์ หรือ ไขมัน [5, 8] โดยวิธีการเคลือบถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร ด้วยสมบัติของการเคลือบที่สามารถลดการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนระหว่างอาหารและสภาพแวดล้อม ลดการสูญเสียปริมาณน้ำในอาหาร อีกทั้งยังช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่จะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหาร [9-10] นอกจากนั้นการเคลือบยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการยืดอายุการเก็บรักษาของสารเคลือบด้วยการเสริมสารสำคัญในองค์ประกอบของสารเคลือบ ปัจจุบันมีงานวิจัยหลากหลายที่เลือกใช้สารสำคัญต่างๆ มาเป็นส่วนประกอบหนึ่งของสารเคลือบเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา โดยสารดังกล่าวนั้นอาจมีสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน มีการศึกษาการใช้เจลาตินปลาเป็นสารเคลือบร่วมกับสารสกัดธรรมชาติ เช่น น้ำมันหอมระเหยออริกาโน [5] ไคโตซาน [11] สารสกัดจากขมิ้นชันผสมเบต้าไซโครเด็กตริน (β-cyclodextrin) [12] สารสกัดพอลีฟีนอลจากชา [13] และสารสกัดจากสาหร่ายทะเล [14]

เจลาตินปลาเป็นโปรตีนที่สามารถสกัดได้จากวัตถุดิบที่มีองค์ประกอบคอลาเจนที่เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมแปรรูปปลา ได้แก่ หนัง กระดูก หัว และเกล็ดปลา เป็นต้น โดยเฉพาะอุตสาหกรรมแปรรูปเนื้อปลาบดหรือซูริมิที่ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตเป็นอันดับต้นๆ ของโลก ซึ่งนิยมใช้ปลาทรายแดง ปลาตาหวาน หรือปลาปากคม เป็นวัตถุดิบหลักที่สำคัญในการนำมาผลิตซูริมิ [15] ทำให้มีส่วนเหลือทิ้งต่างๆ เหล่านั้นมากมายที่สามารถนำมาเป็นมาสกัดเป็นเจลาติน และนำไปปรับปรุงคุณภาพของอาหารได้อีกด้วย [14] เจลาตินปลาที่สกัดได้นั้นยังมีประโยชน์ในด้านของการเป็นสารที่ช่วยในการก่อเจล มีความสามารถในการละลายน้ำ ย่อยสลายได้ในทางชีวภาพ และไม่เป็นพิษ อีกทั้งเมื่อนำเจลาตินเป็นส่วนประกอบในสารเคลือบผิวมีผลลดการซึมผ่านของไอน้ำและออกซิเจน ทำให้ลดการสูญเสียของเหลวและการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน [5] เจลาตินปลาเป็นโปรตีนที่มีองค์ประกอบกรดอะ

มิโนครบทุกชนิด และเจลาตินปลาสามารถนำมาผลิตเป็นเจลาตินไฮโดรไลเสทได้ด้วยวิธีทางเอนไซม์ หรือการใช้วิธีทางเคมีกายภาพ ซึ่งการผลิตเจลาตินไฮโดรไลเสทเพื่อวัตถุประสงค์ให้ได้เปปไทด์ที่มีสมบัติทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์จะนิยมใช้วิธีทางเอนไซม์ โดยการใช้เอนไซม์ย่อยโปรตีนในทางการค้าได้แก่ ทริปซิน ไครโมทริปซิน เปปซิน อัลคาเลส โปรเนส โบรมิเลน และปาเปน เป็นต้น [16] เนื่องจากเจลาตินปลาไฮโดรไลเสทสามารถแสดงสมบัติของเปปไทด์ที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และสามารถพัฒนาไปเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidant) [17] ดังมีรายงานสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของเจลาตินไฮโดรเลทจากหนังปลานิล [18] ปลาวัว [19] ปลาฉลามครีบดำ [20] ปลาทูน่า และปลาแฮลิบัต [21]

เอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนส (Transglutaminase) ถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในสารเคลือบผิวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของสารเคลือบด้วยการไปเหนี่ยวนำให้เกิดการเชื่อมกันของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของสารเคลือบผิวคือช่วยให้เกิดการเชื่อมกันระหว่างกรดอะมิโนกลูตามีน และไลซีนบนสายโพลีเพปไทด์ทำให้สารเคลือบผิวมีสมบัติที่ดีขึ้น [22] ดังงานวิจัยของ Weng และ Zheng [23] ที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสในแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้จากเจลาตินจากเกล็ดปลานิลผสมโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง จะช่วยเพิ่มสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของน้ำ และมีโครงสร้างของฟิล์มที่แข็งแรงมากขึ้น อีกทั้งช่วยเพิ่มสมบัติความทนต่ออุณหภูมิของแผ่นฟิล์มด้วย

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมสารเคลือบจากเจลาตินปลาผสมเจลาตินปลาไฮโดรไลเสทเสริมคุณภาพของสารเคลือบด้วยเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนส (Transglutaminase) และนำไปใช้ศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษาปลาทับทิมแล่แช่เย็นที่เป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยทั้งด้านการบริโภคภายในประเทศและการส่งออกผลิตภัณฑ์ไปยังตลาดโลก [24] อันจะส่งเสริมการใช้วัตถุดิบอย่างคุ้มค่า เพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจ ได้ผลิตภัณฑ์ปลาแล่ที่มีคุณภาพ และมีความปลอดภัยทางอาหารได้ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. วัตถุดิบ

หนังปลาตาหวาน (*Priacanthus macracanthus*) ที่จะนำมาสกัดเจลาตินได้มาจากของเหลือทิ้งจากการแปรรูปซูริมิจากจังหวัดสมุทรสาคร และขนส่งมายังห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยหนังปลาจะผ่านการแช่แข็ง การขนส่งจะใส่น้ำแข็งผสมกับหนังปลาแช่แข็งในสัดส่วน 2:1 ส่วน ระยะเวลาในการขนส่งไม่เกิน 12 ชั่วโมง

ปลาทับทิมสั่งซื้อจากฟาร์มเพาะเลี้ยงในจังหวัดเชียงใหม่ ขนส่งปลาแบบมีชีวิตด้วยการให้ออกซิเจนมายังห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระยะเวลาขนส่ง ไม่เกิน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำปลามาทำให้สลบด้วยการแช่ในน้ำแข็ง ขอดเกล็ด และแล่ปลา เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ปลาทับทิมแล่แบบติดหนัง ขนาด 100-150 กรัมต่อชิ้น

2. การเตรียมเจลาตินจากหนังปลา และเจลาตินปลาไฮโดรไลเสท

สกัดเจลาตินจากหนังปลาตาหวานซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานผลิตซูริมิ โดยการดัดแปลงวิธีของ Jongjareonrak และคณะ [25] โดยนำหนังปลาตาหวานที่เก็บในสภาวะแช่แข็งมาละลายแล้วล้างทำความสะอาดแยกสิ่งปนเปื้อนออก จากนั้นนำหนังปลามาแช่ในสารละลาย NaOH ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยมีสัดส่วนหนังปลาต่อสารละลายเป็น 1:10 (w/v) ทำการแช่เป็นจำนวน 3 ครั้ง และเปลี่ยนสารละลายใหม่ในทุกครั้งที่แช่ นำหนังปลาที่ผ่านการแช่ NaOH ล้างด้วยน้ำสะอาดแบบไหลผ่าน จนมีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง (7.0-7.5) จากนั้นนำหนังปลามาแช่ในสารละลายกรดแอซีติกเข้มข้น 0.05 โมลาร์ เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้สัดส่วนหนังปลาต่อสารละลาย

1:5 (w/v) ล้างด้วยน้ำสะอาดแบบไหลผ่าน จนมีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง จากนั้นนำหนังปลาที่ได้มาสกัดเจลาตินด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 12 ชั่วโมง กรองสารละลายเจลาตินที่ได้ด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรองเบอร์ 1 ดูดซับสีและกลิ่นด้วย activated carbon ก่อนนำไปทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ศึกษาคุณภาพที่สำคัญของเจลาตินที่ผลิตได้ ได้แก่ ความแข็งแรงของเจล ความหนืด ตามวิธีดัดแปลงจาก Zhou และ Regenstion [26]

การเตรียมเจลาตินปลาไฮโดรไลเสทด้วยใช้เอนไซม์ปาเปนตามวิธีปรับปรุงวิธีของ Wangtueai และคณะ [27] โดยเตรียมสารละลายเจลาตินปลาที่สกัดได้เข้มข้นร้อยละ 5 เติมเอนไซม์ปาเปน (30,000 USP-U/mg, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) ร้อยละ 3 ของปริมาณเจลาติน (w/w) จากนั้นนำไปควบคุมสภาวะการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส 180 นาที หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยการนำไปต้มด้วยน้ำเดือด 10 นาที และลดอุณหภูมิให้มีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องก่อนนำไปทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

3. การศึกษาปริมาณเจลาตินปลา เจลาตินปลาไฮโดรไลเสท และเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสที่เหมาะสมในการเตรียมสารเคลือบ

ศึกษาปริมาณเจลาตินปลา เจลาตินปลาไฮโดรไลเสท และเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายสำหรับเคลือบผิวปลาทับทิมแล่ด้วยวิธีพื้นที่การตอบสนอง (Response Surface Methodology: RSM) ร่วมกับแผนการทดลอง Box-Behnken Design ดังตารางที่ 1 โดยศึกษาผลของ 3 ปัจจัย คือ ปริมาณเจลาตินปลา (ร้อยละ1-10) ปริมาณเจลาตินปลาไฮโดรไลเสท (ร้อยละ1-10) และปริมาณเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนส (ร้อยละ 0.5-1.5) ต่อตัวแปรตามประกอบด้วยค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity (mM Trolox/ml) [28] 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activity mM Torox/ml) [28] และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay (mM $FeSO_4$/ml) [29] โดยสภาวะที่เหมาะสมนั้นสารเคลือบผิวจะต้องแสดงค่ากิจกรรมการจับอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และค่าความสามารถในการริดิวซ์ $FeSO_4$ สูงที่สุด

ตารางที่ 1 ระดับต่างๆ ของปัจจัยที่ใช้ทำการศึกษา

ปัจจัยที่ศึกษา	Code value		
	-1	0	+1
ปริมาณเจลาตินปลา (ร้อยละ) : X_1	1.0	5.5	10
ปริมาณเจลาตินปลาไฮโดรไลเสท (ร้อยละ) : X_2	1.0	5.5	10
ปริมาณเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนส (ร้อยละ): X_3	0.5	1.0	1.5

4. การศึกษาผลการเคลือบผิวต่อคุณภาพปลาทับทิมแล่ระหว่างการเก็บรักษาในสภาวะแช่เย็น

นำตัวอย่างเนื้อปลาทับทิมแล่แบบติดหนังไปเคลือบผิวด้วยสารละลายเจลาตินผสมเจลาตินไฮโดรไลเสทที่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพสารเคลือบด้วยเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสตามสภาวะที่เหมาะสมที่คัดเลือกได้จากข้อ 3 โดยจุ่มในสารละลาย 2 นาที และผึ่ง 60 นาที ปลาทับทิมแล่ที่ผ่านการเคลือบผิว (samples) และไม่ผ่านการเคลือบผิว (control) ไปบรรจุในถุงซิปล็อค จำนวน 1 ชิ้นต่อถุง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 วัน สุ่มตัวอย่างปลาทับทิมแล่ทุกวันที่ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 และ 18 วัน เพื่อนำมาวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

4.1 ลักษณะเนื้อสัมผัส

การศึกษาลักษณะเนื้อสัมผัสของปลาทับทิมแล่ดัดแปลงจาก Hernández และคณะ [30] โดยใช้แรงกดลงบนตัวอย่างปลาทับทิมแล่ขนาด 2.5×2.5×2.5 cm เป็นจำนวน 2 ครั้ง เพื่อทดสอบความแข็ง (Hardness) ของตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analyser: Model TA-XT plus, England) โดยแต่ละสิ่งทดลองทำการศึกษา 5 ซ้ำ

4.2 ค่าสี

การศึกษาค่าสีค่าสีด้วยการวัดค่า *L**, *a**, และ *b** จากปลาทับทิมแล่ขนาด 2.5×2.5×2.5 cm ในตำแหน่งที่แตกต่างกันด้วยเครื่องวัดสี (Minolta chroma meter: Model CR-300,Japan) โดยแต่ละสิ่งทดลองทำการศึกษา 5 ซ้ำ

4.3 ค่า Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)

การศึกษาค่า TBARS ด้วยการดัดแปลงวิธีของ Buege และ Aust [31] โดยนำตัวอย่างเนื้อปลาที่ผ่านการบดจำนวน 1 กรัม ผสมกับสารละลาย TBA ปริมาณ 2.5 ml จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นระยะเวลา 10 นาที ภายหลังทำให้เย็นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3600 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 20 นาที จากนั้นวัดค่าด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 532 nm คำนวนค่า TBARS โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ malondialdehyde bis (diethyl acetal) (mg malondialdehyde/kg) โดยแต่ละสิ่งทดลองทำการศึกษา 3 ซ้ำ

4.4 ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (total volatile basic nitrogen: TVB-N)

ศึกษาค่า TVB-N ด้วยการดัดแปลงวิธีของ Conway และ Byrne [32] โดยนำเนื้อปลาบดจำนวน 3 กรัม ผสมให้เข้ากันกับสารละลาย Trichloroacetic acid ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 7 ml วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำคอนเวย์ (Conway unit) มาทาวาสลีนให้ทั่วขอบของฝา และปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาณ 1 ml ใส่ลงในวงรอบนอก หลังจากนั้นปิ

เปตกรดบอริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 1 ml ลงในช่องกลาง ตามด้วยปิเปตสารละลายอิ่มตัว K_2CO_3 ลงในช่องเดียวกับสารละลายตัวอย่าง ปิดฝาจานและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง และนำมาไตเตรทกับ HCl ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.01 เพื่อคำนวณหาค่า TVB-N (mg/100g) โดยแต่ละสิ่งทดลองทำการศึกษา 3 ซ้ำ

4.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง ตามวิธีของ AOAC [33] โดยการนำปลาทับทิมแล่มาบดให้ละเอียด จากนั้นนำเนื้อปลาที่บดจำนวน 10 กรัม ผสมเข้ากับน้ำกลั่นจำนวน 90 ml จากนั้นนำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (Mettler Toledo, Five easy plus, New Zealand) โดยแต่ละสิ่งทดลองทำการศึกษา 3 ซ้ำ

4.6 คุณภาพด้านจุลชีวิทยา

การหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดได้แก่ กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ (Phycophilic bacteria) และกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง (Mesophillic bacteria) ตามวิธีของ Bacteriological Analytical Manual [34] โดยแต่ละสิ่งทดลองทำการศึกษา 3 ซ้ำ

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลจากแผนการทดลองนำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ด้วยโปรแกรมโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS software version 16.0 (Chicago, IL, USA) วิเคราะห์สหสัมพันธ์ถดถอยแบบหลายตัวแปร (Multiple regression analysis) และสภาวะที่เหมาะสมของการทดลองด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Design-expert software version 11 (Minneapolis, MN, USA)

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

1. การศึกษาปริมาณเจลาตินปลา เจลาตินปลาไฮโดรไลเสท และเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสที่เหมาะสมสำหรับเตรียมสารเคลือบ

เจลาตินปลาที่สกัดได้มีค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลเท่ากับ 4.64 cP และ 71.55 g ตามลำดับ และนำมาเตรียมเป็นสารเคลือบผิวเพื่อศึกษาปริมาณเจลาตินปลา เจลาตินปลาไฮโดรไลเสท และเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสที่เหมาะสมสำหรับเตรียมสารเคลือบ จากแผนการทดลองได้ทำการทดลองโดยวิธีการสุ่มเพื่อลดผลกระทบจากความแปรปรวนของผลการทดลอง ได้ผลการศึกษาปริมาณเจลาตินปลา เจลาตินปลาไฮโดรไลเสท และเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนส สำหรับใช้ในการเตรียมสารละลายเคลือบผิวผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำที่เหมาะสม ดังตารางที่ 2 พบว่าคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารละลายสำหรับเคลือบผิวผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ ที่วิเคราะห์ด้วยค่ากิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ค่ากิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ $ATBS^+$ และค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP assay) ของแต่ละหน่วยทดลองมีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยหน่วยทดลองที่ 14 จะพบค่ากิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระได้สูงสุด ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับหน่วยทดลองอื่นๆ

ตารางที่ 2 หน่วยทดลองที่ได้จากการวางแผนการทดลอง และค่าตอบสนองกิจกรรมต้านออกซิเดชันของสารละลายสำหรับเคลือบผิวผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ

Treatment	Fish gelatin (%)	Fish gelatin hydrolysate (%)	TGase (%)	DPPH (mM Trolox/ml)	ABTS (mM Trolox/ml)	FRAP (mM $FeSO_4$/ml)
1	5.5	1	0.5	14.00 ± 0.83^{cd}	15.23 ± 1.16^{c}	8.80 ± 0.66^{de}
2	5.5	10	0.5	3.00 ± 0.44^{i}	2.63 ± 0.83^{g}	6.86 ± 0.96^{f}
3	10	1	1	9.00 ± 0.58^{f}	10.79 ± 0.21^{d}	9.86 ± 1.28^{d}
4	1	5.5	1.5	10.88 ± 0.98^{e}	15.24 ± 1.24^{c}	9.52 ± 0.34^{de}
5	1	10	1	8.00 ± 0.83^{fg}	15.00 ± 1.07^{c}	8.65 ± 0.51^{de}
6	5.5	5.5	1	20.50 ± 1.39^{b}	19.00 ± 1.32^{a}	22.00 ± 0.14^{b}
7	1	1	1	13.08 ± 1.14^{d}	8.94 ± 0.58^{e}	9.20 ± 0.39^{de}
8	10	5.5	1.5	6.00 ± 1.48^{h}	4.62 ± 0.54^{f}	9.65 ± 0.48^{d}
9	1	5.5	0.5	11.50 ± 0.21^{e}	9.05 ± 0.26^{e}	9.52 ± 0.90^{de}
10	5.5	5.5	1	20.00 ± 0.77^{b}	17.00 ± 0.30^{b}	22.50 ± 1.42^{b}
11	10	10	1	4.00 ± 0.50^{i}	6.00 ± 0.60^{f}	7.84 ± 1.13^{ef}
12	10	5.5	0.5	14.24 ± 0.84^{cd}	11.21 ± 0.78^{d}	11.37 ± 0.34^{c}
13	5.5	10	1.5	7.00 ± 0.48^{gh}	6.00 ± 0.34^{f}	8.76 ± 0.55^{de}
14	5.5	5.5	1	22.30 ± 1.06^{a}	20.00 ± 0.68^{a}	24.60 ± 1.64^{a}
15	5.5	1	1.5	15.32 ± 0.56^{c}	4.81 ± 0.57^{f}	9.24 ± 0.72^{de}

Note: Different letters in same column indicate statistical differences ($p \leq 0.05$)

นำข้อมูลไปวิเคราะห์ด้วยวิธีพื้นที่ผิวการตอบสนอง (RSM) เพื่อสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ซึ่งจากการศึกษาด้วย RSM มีการกระจายของข้อมูลที่ได้จากการทดลองเป็นแบบปกติ สมการถดถอย (regression equation) ที่ให้เหมาะสมประกอบด้วยสมการเส้นตรง (X_1, X_2, X_3) ปฏิสัมพันธ์ (X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3), และสมการกำลังสอง (X_1^2, X_2^2, X_3^2) สามารถสร้างแบบจำลองแบบสมการเต็มรูป (full model) ดังตารางที่ 3 โดยสมการของแบบจำลองทั้งหมดแสดงค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ที่ค่อนข้างสูง (0.91-0.98) ซึ่งแสดงถึงความเหมาะสมของแบบจำลองที่สามารถใช้ในการหาพื้นที่การตอบสนองได้ และประกอบกับทุกแบบจำลองมีค่า p-value ที่น้อยกว่า 0.05 ที่แสดงถึงความเหมาะสมอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแบบจำลองเป็นการทดสอบความมีนัยสำคัญทางสถิติของทุกเทอมของสมการ (สมการเส้นตรง สมการกำลังสอง และปฏิสัมพันธ์) และ residual variances เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมนั้นแบบจำลองที่ดีควรประกอบไปด้วย มีค่านัยสำคัญของการทดสอบ (p-value) ที่น้อยกว่า 0.05 ($p \leq 0.05$) ค่า lack of fit ควรมีค่ามากกว่า 0.05 ($p > 0.05$) และมีค่า R^2 ที่สูงที่จะแสดงถึงความแม่นยำในการทำนายค่าของแบบจำลอง [35-36] การหาสภาวะที่เหมาะสมโดยรวมสำหรับการหาปริมาณที่เหมาะสมของเจลาตินปลาเจลาตินปลาไฮโดรไลเสทและเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสสำหรับเตรียมสารเคลือบผิว โดยใช้ฟังก์ชั่น Multi-response optimizer ของโปรแกรม

Design-Expert 11.0 ซึ่งตัวแปรตาม หรือค่าตอบสนอง (DPPH ABTS FRAP) จะถูกกำหนดค่าเป้าหมายของการหาสภาวะที่เหมาะสมคือ การได้ค่ากิจกรรมการจับอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และค่าความสามารถในการริดิวซ์ $FeSO_4$ สูงที่สุด สามารถหาการจุดที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมสารละลายเพื่อการเคลือบผิวสัตว์น้ำ คือ ระดับปริมาณเจลาตินปลาร้อยละ 5.23 (code value เท่ากับ -0.061) ปริมาณเจลาตินปลาไฮโดรไลเสท ร้อยละ 5.00 (code value เท่ากับ -0.11) ปริมาณเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสร้อยละ 0.99 (code value เท่ากับ -0.030) และยังมีค่าระดับความพึงพอใจ (Desirability) เท่ากับ 0.926

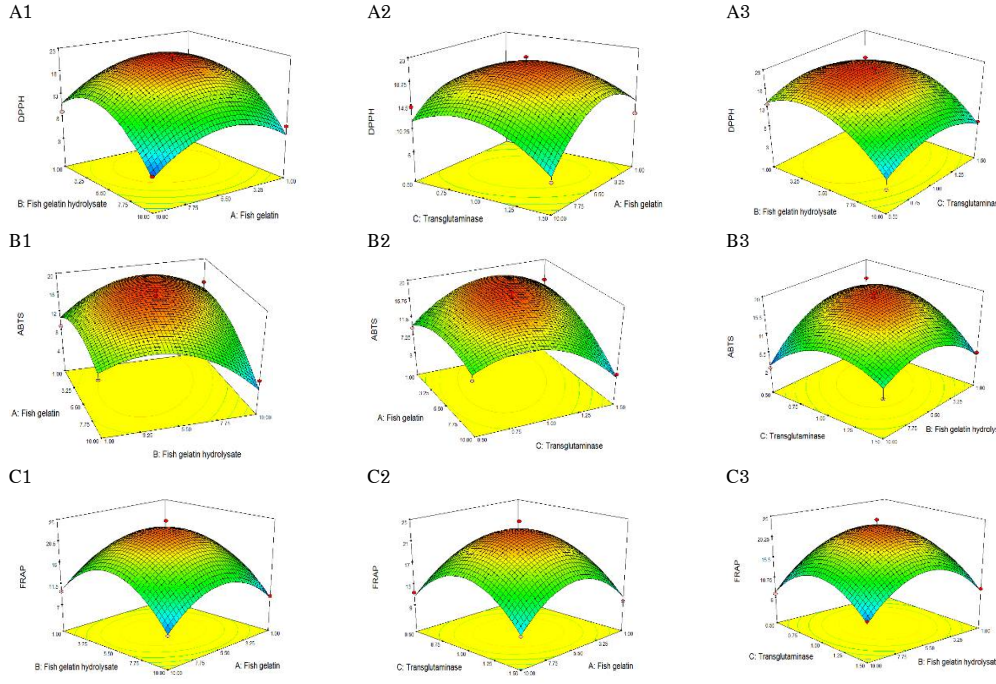
ตารางที่ 3 แบบจำลองพื้นที่การตอบสนอง (Response surface model) ของปริมาณเจลาตินปลา เจลาตินปลาไฮโดรไลเสท และเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสที่เหมาะสมในการเคลือบปลาทับทิมแล่

Responses	Quadratic models	R^2	p-value
DPPH radical scavenging activity (mM Trolox/ml)	$Y_1 = -11.60 + 3.71X_1 + 2.48X_2 + 38.01X_3 + 0.001X_1X_2 - 0.85X_1X_3 + 0.30X_2X_3 - 0.29X_1^2 - 0.33X_2^2 - 17.94X_3^2$	0.9130	0.0333
ABTS radical scavenging activity (mM Trolox/ml)	$Y_2 = -14.94 + 3.19X_1 + 1.94X_2 + 44.72X_3 - 0.13X_1X_2 - 1.32X_1X_3 + 1.53X_2X_3 - 0.15X_1^2 - 0.28X_2^2 - 23.76X_3^2$	0.9261	0.0229
FRAP (mM $FeSO_4$/g)	$Y_3 = -25.46 + 3.75X_1 + 4.08X_2 + 54.29X_3 - 0.02X_1X_2 - 0.19X_1X_3 + 0.16X_2X_3 - 0.31X_1^2 - 0.39X_2^2 - 26.99X_3^2$	0.9867	0.0004

Note: X_1: Fish gelatin content, X_2: Fish gelatin hydrolyzate content, X_3: Tranglutaminase content

2. กราฟพื้นที่การตอบสนอง (Response surface plots)

การเตรียมสายละลายสำหรับเคลือบผิวปลาแล่เพื่อให้มีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุด พบว่าปริมาณเจลาตินปลา เจลาตินปลาไฮโดรไลเสท และเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจะมีผลต่อค่ากิจกรรมการจับอนุมูลอิสระ DPPH (mM Trolox/ml) ค่ากิจกรรมการจับอนุมูลอิสระ ABTS (mM Trolox/ml) และค่าความสามารถในการริดิวซ์ $FeSO_4$ (mM $FeSO_4$/ml) ของสารละลายสาหรับเคลือบผิวปลาแล่ ดังรูปที่ 1 ที่แสดงกราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ของอธิพลร่วมของปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อค่าตอบสนอง คือเมื่อเพิ่มความความเข้มข้นของเจลาตินปลาเจลาตินปลาไฮโดรไลเสท และเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสให้เข้าใกล้ค่ากลาง (code value 0) จะส่งผลทำให้ค่าการกิจกรรมการจับอนุมูลอิสระ DPPH ABTS และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) มีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุด ซึ่งแสดงลักษณะของกราฟแบบค่าสูงสุด (Maximum) โดยช่วงที่เหมาะสมของทุกปัจจัยจะอยู่ในช่วงค่ากลางที่ส่งผลต่อค่าต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด อาจเป็นผลเนื่องจากเจลาตินไฮโดรไลเสทที่เป็นองค์ประกอบในสารเคลือบผิวมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีแต่เมื่อมีปริมาณมากเกินไปจะส่งผลทำให้สารต้านอนุมูลอิสระเปลี่ยนเป็น pro-oxidant ที่นำไปสู่การเพิ่มขึ้นของปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ แต่ในทางกลับกันหากมีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณน้อยเกินไปจึงไม่เพียงพอต่อการยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชัน [37-38]



รูปที่ 1 กราฟพื้นที่ผิวตอบสนองของปริมาณเจลาตินปลา เจลาตินปลาไฮโดรไลเสท และเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสต่อค่ากิจกรรมการจับอนุมูลอิสระ DPPH (mM Trolox/ml) (A1-A3) ค่ากิจกรรมการจับอนุมูลอิสระ ABTS (mM Trolox/ml) (A1-A3) และค่าความสามารถในการริดิวซ์ $FeSO_4$ (mM $FeSO_4$/ml) (C1-C3)

3. การศึกษาผลการเคลือบผิวต่อคุณภาพปลาทับทิมแล่ระหว่างการเก็บรักษาในสภาวะแช่เย็น

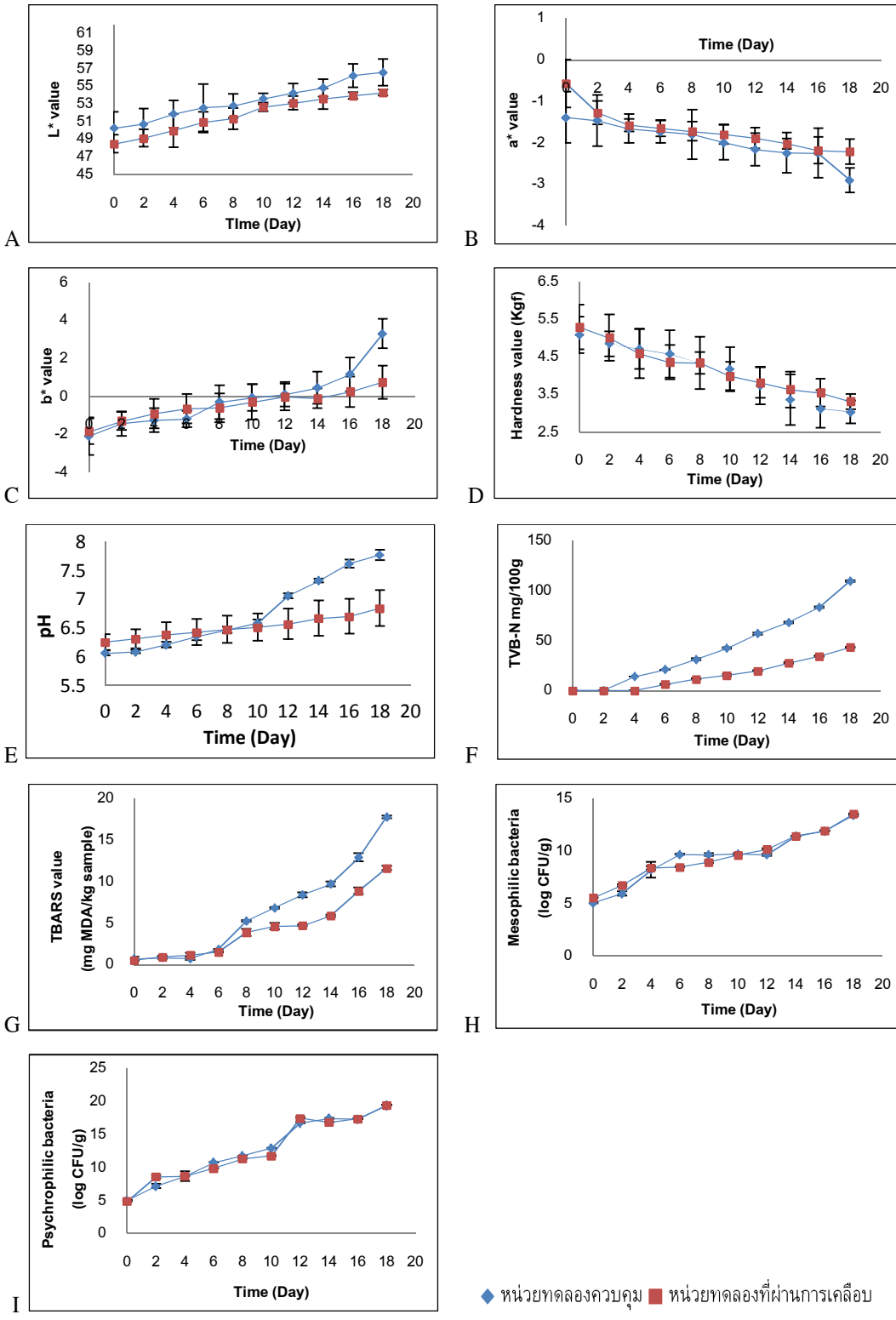
จากสภาวะที่เหมาะสมที่คัดเลือกได้จากการทดลองได้นำมาเตรียมเป็นสารละลายสำหรับเคลือบผิวปลาทับทิมแล่แล้วเก็บรักษาในสภาวะแช่เย็น (4 องศาเซลเซียส) วิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ที่เปลี่ยนแปลงไปตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 18 วัน เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผ่านการเคลือบผิว แสดงดังรูปที่ 2A-I

ค่าสี *L** *a** และ *b** ของเนื้อปลาทับทิมแล่ระหว่างการเก็บรักษาเกิดการเปลี่ยนแปลง (รูปที่ 2A-C) โดยในวันที่ 0 หรือวันเริ่มทำการศึกษาตัวอย่างปลาทับทิมแล่มีเนื้อสีค่อนข้างชมพู และเมื่อทำการเก็บรักษาระยะเวลานานมากขึ้นเนื้อปลาทับทิมแล่ค่อยๆ เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยจะมีสีเหลืองมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการวัดค่าสี พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษามากขึ้นจะทำให้ค่า *L** มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น สัมพันธ์กับค่า *a** ที่มีแนวโน้มลดลง และค่า *b** มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา โดยในวันเริ่มทำการศึกษาพบว่าตัวอย่างปลาทับทิมแล่ที่ไม่ผ่านการเคลือบผิวมีค่า *L** *a** และ *b** อยู่ที่ 50.25, -1.39 และ -2.08 ตามลำดับ ปลาทับทิมแล่ที่ผ่านการเคลือบผิวมีค่า *L** *a** และ *b** อยู่ที่ 48.46, -0.57 และ-1.84 ตามลำดับ และเมื่อครบระยะเวลา 18 วัน พบว่าปลาทับทิมแล่ที่ผ่านการเคลือบผิวจะมีการเปลี่ยนแปลงของค่าสีที่น้อยกว่าปลาทับทิมแล่ที่ไม่ผ่านการเคลือบผิว โดยปลาทับทิมแล่ที่ไม่ผ่านการเคลือบผิวจะมีค่า *L** *a** และ *b** อยู่ที่ 56.58, -2.91 และ 3.23 ตามลำดับ และปลาทับทิมแล่ที่ผ่านการเคลือบจะมีค่า *L** *a** และ *b** อยู่ที่ 54.26, -2.22 และ 0.755 อัตราการเปลี่ยนแปลง

คุณภาพของสีเนื้อปลาทับทิมแล่ที่ผ่านการเคลือบมีค่าน้อยกว่า โดยมีค่าอัตราการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของค่า L^* a^* และ b^* เท่ากับ 0.34, -0.07 และ 0.12 (R^2 0.98, 0.83 และ 0.95 ตามลำดับ) ในขณะที่ปลาทับทิมแล่ที่ไม่ผ่านการเคลือบผิวจะมีค่าอัตราการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของค่า L^* a^* และ b^* เท่ากับ 0.35, -0.07 และ 0.24 (R^2 0.99, 0.91 และ0.87 ตามลำดับ) ซึ่งการเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อปลาในระหว่างการเก็บรักษานั้นเป็นผลสืบเนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไมโอโกลบินที่ทำให้เนื้อปลามีสีเข้มขึ้น [39] และค่า L^* เพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการ drip loss ระหว่างการเก็บรักษาทำให้สีของเนื้อปลามีความสว่างมากขึ้น ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ninan et al. [40] ที่ได้ศึกษาคุณภาพของปลาเทราท์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นเป็นเวลา 15 วัน พบว่าค่า L^* และค่า b^* มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น และพบว่าทุกสิ่งทดลองมีค่า L^* a^* และ b^* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่วันเก็บรักษาวันเดียวกัน

ลักษณะเนื้อสัมผัสที่วัดด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส โดยใช้แรงกดลงบนตัวอย่างปลาทับทิมแล่ เพื่อทดสอบค่าความแข็ง (Hardness) ซึ่งลักษณะเนื้อสัมผัสนี้เป็นลักษณะสำคัญที่ส่งผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค [41] จากการวิเคราะห์พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานมากยิ่งขึ้นส่งผลทำให้ค่าความแข็งของเนื้อปลาทับทิมแล่มีค่าลดลง (รูปที่ 2 D) โดยการเปลี่ยนแปลงของลักษณะเนื้อสัมผัสเป็นผลจากกิจกรรมของเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลา และส่งผลทำให้เนื้อปลามีลักษณะที่อ่อนตัวลง [39] ซึ่งในวันเริ่มทำการเก็บรักษาค่าความแข็งของปลาทับทิมแล่ที่ไม่เคลือบผิวจะมีค่าความแข็งอยู่ที่ 5.09 Kgf และปลาทับทิมแล่ที่เคลือบผิวมีค่าความแข็งอยู่ที่ 5.29 kgf และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา18 วัน ค่าความแข็งของปลาทับทิมแล่ที่ไม่ผ่านการเคลือบผิวจะมีค่าความแข็งอยู่ที่ 3.03 Kgf และปลาทับทิมแล่ที่ผ่านการเคลือบผิวมีค่าความแข็งอยู่ที่ 3.31 kgf ซึ่งปลาทับทิมแล่ที่ผ่านการเคลือบผิวมีค่าอัตราการลดลงของค่าความแข็ง เท่ากับ -0.11 (R^2 0.97) และปลาทับทิมแล่ที่ไม่ผ่านการเคลือบผิวมีค่าอัตราการลดลงของค่าความแข็ง เท่ากับ -0.12 (R^2 0.98) ซึ่งจะเห็นได้ว่าปลาทับทิมที่ผ่านการเคลือบผิวมีการเปลี่ยนแปลงของค่าความแข็งที่น้อยกว่า อาจเป็นผลเนื่องจากการเคลือบผิวสามารถช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากในเนื้อปลาแล่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังงานวิจัยของ Zhang และคณะ [42] ซึ่งอธิบายว่าการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีนและเอนไซม์คาลเพน (calpain) ซึ่งจะส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพที่แสดงออกในลักษณะของค่าความแข็งที่ลดลง

ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปลาทับทิมแล่ที่เก็บรักษาในสภาวะแช่เย็น (รูปที่ 2E) ในวันเริ่มทำการศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างของปลาทับทิมแล่ที่ไม่ผ่านและผ่านการเคลือบผิวมีค่าอยู่ที่ 6.06 และ 6.25 ตามลำดับ ดังรายงานวิจัยของ Mohan และคณะ [7] และ Ababouch และคณะ [43] ที่อธิบายว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของสัตว์น้ำหลังการตายมีค่าเฉลี่ยประมาณ 6.2-6.6 โดยจะสูงกว่าสัตว์เลือดอุ่น ในการทดลองนี้ในตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาค่าความเป็น กรด-ด่างมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งปลาทับทิมแล่ที่ผ่านและไม่ผ่านการเคลือบผิวมีค่าอัตราการเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 0.03 (R^2 0.98) และ 0.10 (R^2 0.94) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อปลานี้เป็นผลมาจากการการสลายตัวของด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด และการสร้างสารกลุ่มแอมโมเนียจากการกิจกรรมของเชื้อจุลินทรีย์ [44] นอกจากนั้นค่าความเป็นกรด-ด่างยังส่งผลถึงลักษณะเนื้อสัมผัส เนื่องจากเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มมากขึ้นจะส่งผลถึงค่าความแข็งทำให้เนื้อปลามีลักษณะที่อ่อนนุ่มมากยิ่งขึ้น



รูปที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าสี *L** (A) a* (B) b* (C) ค่าความแข็ง (D) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (E) ค่า TVB-N (F) ค่า TBARS (G) ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด Mesophilic bacteria (H) และ Psychrophillic bacteria (I)

ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ (TVB-N) เป็นค่าบ่งชี้ความสดของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ [45] ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ในเนื้อปลาจะแสดงออกถึง กลิ่น รส และสีที่เปลี่ยนแปลงไป [39] ในปกติแล้วสามารถใช้ค่า TVB-N บ่งชี้ความสดของปลาได้ หากมีค่ามากกว่า 25 mg/100 g จะไม่สามารถรับประทานได้ [46] ค่าTVB-N ของปลาทับทิมแล่ระหว่างเก็บรักษาในสภาวะแช่เย็น ดังรูปที่ 2F พบว่าในตัวอย่างปลาทับทิมแล่ที่วันเริ่มต้นของการเก็บรักษาจนถึงวันที่ 4 ตรวจไม่พบปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ และในปลาทับทิมแล่ที่ไม่ผ่านการเคลือบผิวมีค่า TVB-N เกิน 25 mg ในวันที่ 8 ในขณะที่ปลาทับทิมแล่ที่ผ่านการเคลือบผิวมีค่า TVB-N เกิน 25 mg ในวันที่ 16 ซึ่งปลาทับทิมแล่ที่ผ่านการเคลือบผิวมีอายุการเก็บรักษาที่มากกว่า จากการวิเคราะห์อัตราการเพิ่มขึ้นของค่า TVB-N ของปลาทับทิมแล่ที่ผ่านการเคลือบผิว (2.47, R^2 0.95) มีค่าต่ำกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการเคลือบผิว (5.94, R^2 0.97) ที่แสดงว่าการเคลือบผิวปลาทับทิมช่วยชลอการเสื่อมเสียของเนื้อปลาได้

ค่า TBARS จะแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของไขมันที่มักเกิดจากไขมันที่เป็นองค์ประกอบของเมมเบรน และไขมันที่สะสมไว้ของสัตว์น้ำ ซึ่งถือเป็นค่าที่มีความสำคัญในการบ่งชี้ถึงการประเมินของปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน [39] เนื่องจากค่า TBARS จะเป็นค่าที่แสดงถึงปฏิกิริยาลำดับที่สองของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เพอร์ออกไซด์จะถูกออกซิไดส์ให้กลายเป็นแอลดีไฮด์ และคีโตน [5] ในปลาที่สดควรมีค่า TBARS อยู่ที่ 4-7 mg malondialdehyde/kg [47] จากการเก็บรักษาปลาทับทิมแล่มีการเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ดังรูปที่ 2G โดยค่า TBARS ของเนื้อปลาทับทิมแล่ที่ผ่านและไม่ผ่านการเคลือบผิวจะมีค่าเกินค่ามาตรฐานในวันที่ 16 และ 12 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าปลาทับทิมแล่ที่ผ่านการเคลือบผิวจะมีอายุการเก็บรักษาที่มากกว่า อีกทั้งปลาทับทิมแล่ที่ผ่านการเคลือบผิวมีอัตราการเพิ่มขึ้นของค่า TBARS (0.57, R^2 0.90) ที่ช้ากว่าปลาทับทิมแล่ที่ไม่ผ่านการเคลือบผิว (0.92, R^2 0.92)

จากการศึกษาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของปลาทับทิมแล่ พบว่าในตัวอย่างปลาแล่มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic bacteria) และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ (Psychrophilic bacteria) เท่ากับ 5.07 และ 5.55 log CFU/g ตามลำดับ อาจเป็นผลเนื่องมาจากในการทดลองนี้ส่วนของขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างไม่ได้มีการใช้น้ำล้างปลาที่เติมสารฆ่าเชื้อเช่นเดียวกับการผลิตในโรงการอุตสาหกรรมจึงเป็นผลให้มีค่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดค่อนข้างสูง แต่จากมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมของเนื้อปลาสดแช่เย็นแช่แข็งกำหนดไว้ว่าเนื้อปลาสดที่ยังยอมรับได้ควรมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 7 log CFU/g ซึ่งจากการศึกษาอัตราการเพิ่มขึ้นของปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม Mesophilic bacteria และ Psychrophilic bacteria ในปลาทับทิมแล่ที่ผ่านและไม่ผ่านการเคลือบผิวจะมีอัตราการเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกัน คือ 0.39 (R^2 0.97), 0.40 (R^2 0.90) และ 0.78 (R^2 0.94), 0.79 (R^2 0.98) ตามลำดับ

จากการศึกษาผลของการเคลือบผิวปลาทับทิมแล่ด้วยเจลาตินปลาผสมเจลาตินปลาไฮโดรไลเสทเสริมเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสต่อคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาในสภาวะแช่เย็น พบว่าตัวอย่างที่เคลือบผิวจะมีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานกว่าตัวอย่างที่ไม่เคลือบผิว ซึ่งแสดงว่าการเคลือบผิวที่จะเป็นชั้นสารประกอบธรรมชาติที่มีลักษณะบางบนผิวหน้าของปลาแล่ด้านนอก โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกันการแลกเปลี่ยนความชื้น และออกซิเจน [8] ทั้งยังมีสมบัติของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของเจลาตินไฮโดรไลเสท [17] ที่เสริมเข้าไปในสารเคลือบที่อาจจะช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพของเนื้อปลาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันขององค์ประกอบไขมันและโปรตีนของเนื้อปลาได้ นอกจากนั้นยังเป็นผลมาจากสารประกอบในสารละลายเคลือบของเจลาตินปลา เจลาตินปลาไฮโดรไลเสท และเอนไซม์ ทรานส์กลูทามิเนสที่ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของปลาทับทิมแล่ ประกอบกับ

เอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสที่มีผลให้เกิดการเชื่อมกันด้วยพันธะโควาเลนต์ระหว่างสายเปปไทด์ [48] ซึ่งจะทำให้ความสามารถยึดเกาะของฟิล์มเคลือบมีประสิทธิภาพในด้านการเป็นสารเคลือบที่ผิวหน้าของปลาแล่ได้ดียิ่งขึ้น

สรุปผลการทดลอง

สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมสารเคลือบผิวที่บริโภคได้จากเจลาตินปลาผสมเจลาตินปลาไฮโดรไลเสทเสริมด้วยเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสเพื่อให้ได้สารเคลือบผิวที่มีความสามารถเป็นสารต้านออกซิเดชันที่เหมาะสำหรับเคลือบผิวปลาทับทิมแล่ คือใช้เจลาตินปลา เจลาตินปลาไฮโดรไลเสท และเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนส ในปริมาณร้อยละ 5.23 5.00 และ 0.99 ตามลาดับ และเมื่อนำสภาวะดังกล่าวไปเคลือบผิวปลาทับทิมแล่ และศึกษาคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นเป็นระยะเวลา 18 วัน พบว่าคุณภาพทางกายภาพ และเคมี ของปลาทับทิมแล่ที่ผ่านการเคลือบผิวมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพที่แสดงถึงการเสื่อมเสียได้ช้ากว่าและมีอายุการเก็บรักษาที่มากกว่าปลาทับทิมแล่ที่ไม่มีการเคลือบผิว แต่การเคลือบผิวมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ที่ไม่แตกต่างจากเนื้อปลาทับทิมแล่ที่ไม่ผ่านการเคลือบผิว

กิตติกรรมประกาศ

ผลงานการวิจัยนี้อยู่ระหว่างการศึกษาอยู่ ณ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนทุนการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Cheng, J. H., Suna, D. W., Zeng, X. A., & Pua, H. B. (2014). Non-destructive and rapid determination of TVB-N content for freshness evaluation of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by hyperspectral imaging. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *21*, 179–187.
2. Chomnawang, C., Nantachai, K., Yongsawatdigul, J., Thawornchinsombut, S., & Tungkawachara S. (2007). Chemical and biochemical changes of hybrid catfish fillet stored at 4°C and its gel properties. *Food Chemistry*, *103*(2), 420–427.
3. Nowzari, F., Shábanpour, B., & Ojagh, S. M. (2013). Comparison of chitosan–gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, *141*(3), 1667-1672.
4. Volpe, M. G., Siano, F., Paolucci, M., Sacco, A., Sorrentino, A., Malinconico, M., & Varricchio, E. (2015). Active edible coating effectiveness in shelf-life enhancement of trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *LWT-Food Science and Technology*, *60*(1), 615-622.
5. Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M., & Ghavi, F. F. (2016). Effect of fish gelatin coating enriched with oregano essential oil on the quality of refrigerated rainbow trout fillet. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, *25*(6), 835-842.

6. Ghaly, A. E., Dave, D., Budge, S., & Brooks, M. S., (2010). Fish spoilage mechanism and preservation techniques review. *American Journal of Applied Sciences*, *7*(7), 859-877.
7. Mohan, C. O., Ravishankar, C. N., Lalitha, K. V., & Gopal, T. S. (2012). Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage. *Food Hydrocolloids*, *26*(1), 167-174.
8. Dehghani, S., Hosseini, S. V., & Regenstein, J. M. (2018). Edible films and coatings in seafood preservation: A review. *Food Chemistry*, *240*, 505-513.
9. Arfat, Y. A., Benjakul, S., Vongkamjan, K., Sumpavapol, P., & Yarnpakdee, S. (2015). Shelf-life extension of refrigerated sea bass slices wrapped with fish protein isolate/fish skin gelatin-ZnO nanocomposite film incorporated with basil leaf essential oil. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(10), 6182–6193.
10. Li, T., Li, J., Hu, W., & Li, X. (2013). Quality enhancement in refrigerated red drum (*Sciaenops ocellatus*) fillets using chitosan coatings containing natural preservatives. *Food Chemistry*, *138*(2-3), 821–826.
11. Feng, X., Bansal, N., & Yang, H. (2016). Fish gelatin combined with chitosan coating inhibits myofibril degradation of golden pomfret (*Trachinotus blochii*) fillet during cold storage. *Food Chemistry*, *200*, 283-292.
12. Sun, X., Guo, X., Ji, M., Wu, J., Zhu, W., Wang, J., Chen, C., Chen, Li., & Zhang, Q. (2018). Preservative effects of fish gelatin coating enriched with CUR/βCD emulsion on grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets during storage at 4°C. *Food Chemistry*, 272, 643-652.
13. Feng, X., Ng, V. K., MikŠ-Krajnik, M., & Yang, H. (2017). Effects of fish gelatin and tea polyphenol coating on the spoilage and degradation of myofibril in fish fillet during cold storage. *Food and Bioprocess Technology*, *10*(1), 89-102.
14. Vala, M., Augusto, A., Horta, A., Mendes, S., & Gil, M. M. (2017). Effect of tuna skin gelatin-based coating enriched with seaweed extracts on the quality of tuna fillets during storage at 4°C. *International Journal of Food Studies*, *6*(2), 201-221.
15. Sukkwai, S., Kijroongrojana, K., & Benjakul, S. (2011). Extraction of gelatin from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) skin for gelatin hydrolysate production. *International Food Research Journal*, *18*(3), 1129-1134.
16. GÓmez-Guillén, M. C., Giménez, B., LÓpez-Caballero, M. A., & Montero, M. P. (2011). Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*, *25*(8), 1813-1827.
17. Yang, J. I., Ho, H. Y., Chu, Y. J., & Chow, C. J. (2008). Characteristic and antioxidant activity of retorted gelatin hydrolysates from cobia (*Rachycentron canadum*) skin. *Food Chemistry*, *110*(1), 128-136.

18. Zhang, Y., Duan, X., & Zhuang, Y. (2012). Purification and characterization of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin. *Peptides*, *38*(1), 13-21.
19. Sai-Ut, S., Benjakul, S., Sumpavapol, P., & Kishimura, H. (2015). Antioxidant activity of gelatin hydrolysate produced from fish skin gelatin using extracellular protease from Bacillus amyloliquefaciens H11. *Journal of Food Processing and Preservation*, *39*(4), 394-403.
20. Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Shahidi, F. (2012). Gelatin hydrolysate from blacktip shark skin prepared using papaya latex enzyme: Antioxidant activity and its potential in model systems. *Food Chemistry, 135*(3), 1118–1126.
21. Alemán, A., Giménez, B., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2011). Antioxidant activity of several marine skin gelatins. *LWT-Food Science and Technology*, *44*(2), 407-413.
22. Sabbah, M., Giosafatto, C. V. L., Esposito, M., Di Pierro, P., Mariniello, L., & Porta, R. (2019). Transglutaminase cross-linked edible films and coatings for food applications. In *Enzymes in Food Biotechnology* (pp. 369-388). Academic Press.
23. Weng, W., & Zheng, H. (2015). Effect of transglutaminase on properties of tilapia scale gelatin films incorporated with soy protein isolate. *Food Chemistry*, *169*, 255-260.
24. Wangtueai, S., Vichasilp, C., Pankasemsuk, T., Theanjumpol, P., & Phimolsiripol, Y. (2016). Kinetics and nondestructive measurement of total volatile basic nitrogen and thiobarbituric acid-reactive substances in chilled Tabtim fish fillets using near infrared spectroscopy (NIRS). *International Journal of Food Engineering*, *2*(1), 16-20.
25. Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Tanaka, M. (2006). Skin gelatin from bigeye snapper and brownstripe red snapper: Chemical compositions and effect of microbial transglutaminase on gel properties. *Food Hydrocolloids, 20*(8), 1216–1222.
26. Zhou, P., Mulvaney, S. J., & Regenstein, J. M. (2006). Properties of Alaska pollock skin gelatin: a comparison with tilapia and pork skin gelatins. *Journal of Food Science*, *71*(6), C313-C321.
27. Wangtueai, S., Siebenhandl-Ehn, S., & Haltrich, D. (2016). Optimization of the preparation of gelatin hydrolysates with antioxidative activity from lizardfish (*Saurida spp.*) Scales Gelatin. *Chiang Mai Journal of Science*, *43*(1), 1122-1133.
28. Binsan, W., Benjakul, S., Visessanguan, W., Roytrakul, S., Tanaka, M., & Kishimura, H. (2008). Antioxidative activity of Mungoong, an extract paste, from the cephalothorax of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Food Chemistry*, *106*(1), 185-193.
29. Benzie, I. F. F. & Strain J. J. (1999). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, *239*(1), 70-76.
30. Hernández, M. D., López, M. B., Álvarez, A., Ferrandini, E., García, B. G., & Garrido, M. D. (2009). Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. *Food Chemistry*, *114*(1), 237-245.

31. Buege, J.A. & S.D. Aust. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, *52*, 302-310.
32. Conway, E.J. & Byrne, A. (1993). Micro-diffusion analysis of TVN. *Biochemistry Journal, 27*, 419-429.
33. AOAC. (2000). Official Methods of Analysis. 17th Edition, The association of official analytical chemists, Gaithersburg, MD, USA. Methods 925.10, 65.17, 974.24, 992.16.
34. BAM, F., Hunt, J., Abeyta, C., & Tran, T. (1998). FDA bacteriological analytical manual. *Chapter*, *7*: 23.
35. Wangtueai, S. & Noomhorm, A. (2009). Processing optimization and characterization of gelatin from lizardfish (*Saurida spp.*). *LWT-Food Science and Technology*, *42*(4), 825-834.
36. Hajji, S., Younes, I., Affes, S., Boufi, S., & Nasri, M. (2018). Optimization of the formulation of chitosan edible coatings supplemented with carotenoproteins and their use for extending strawberries postharvest life. *Food Hydrocolloids*, *83*, 375-392.
37. Choe, E., & Min, D. B. (2009). Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *8*(4), 345-358.
38. Bouayed, J., & Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants—double-edged swords in cellular redox state: health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *3*(4), 228-237.
39. Benjakul, S. (2006). Chemistry and Quality of fish. Odeon Store, Bangkok, 336 pp. (in Thai).
40. Ninan, G., Lalitha, K. V., Zynudheen, A. A., & Joseph, J. (2011). Effect of chilling on microbiological, biochemical and sensory attributes of whole aquacultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*, 1792). *Journal of Aquaculture Research and Development*, S5, 1–8.
41. Yu, D., Jiang, Q., Xu, Y., & Xia, W. (2017). The shelf life extension of refrigerated grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets by chitosan coating combined with glycerol monolaurate. *International Journal of Biological Macromolecules*, *101*, 448-454.
42. Zhang, W., Xiao, S., & Ahn, D. U. (2013). Protein oxidation: basic principles and implications for meat quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *53*(11), 1191-1201.
43. Ababouch H. L., Souibri L., Rhabily K., Ouahdi O., Battal M., & Busta F. F. (1996). Quality changes in sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice and ambient temperature. *Food Microbiology*, *13*(2), 123-132.
44. Reddy, N. R., Schreiber, K. S., Bazard, K. S., Skinner, G. E., & Amstrong, D. J. (1994). Shelf life of fresh Tilapia fillets packaged in high barrier film with modified atmospheres. *Journal of Food Science*, *59*(2), 260-264.

45. Santos, J., Lisboa, F., Pestana, N., Casal, S., Albes, M. R., & Oliveria, M. B. P. (2013). Shelf life assessment of modified atmosphere packaged turbot (*Pseta maxima*) fillets: Evaluation of microbial, physical and chemical quality parameters. *Food and Bioprocess Technology*, *6*(10), 2630-2639.

46. Kulawik, P., Özoğul, F., & Glew, R. H. (2013). Quality properties, fatty acids, and biogenic amines profile of fresh tilapia stored in ice. *Journal of Food Science*, *78*(7), S1063-1068.

47. Masniyom, P., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2005). Combination effect of phosphate and modified atmosphere on quality and shelf-life extension of refrigerated seabass slices. *LWT-Food Science and Technology*, *38*(7), 745-756.

48. Wangtueai, S., Noomhorm, A. & Regenstein, J. M. (2010). Effect of microbial transglutaminase on gel properties and film characteristics of gelatin from lizardfish (*Saurida spp.*) scales. *Journal of Food Science*, *75*(9), C731-C739.