

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการภาพ	(10)
บทที่	
1 บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	2
วัตถุประสงค์	28
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	29
3 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	36
4 สรุปผลการทดลอง	87
เอกสารอ้างอิง	90
ภาคผนวก	103
ก การสกัดแอกโตไมโอซิน	104
ข การวิเคราะห์ค่าทางกายภาพ	105
ค การวิเคราะห์ค่าทางเคมี	108
ง การตรวจสอบรูปแบบโปรตีน	114
จ การเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจสอบ โครงสร้างจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด	117
ฉ การเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจสอบ โครงสร้างจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน	118
ประวัติผู้เขียน	119

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	ข้อได้เปรียบและข้อจำกัดของการใช้ความดันสูงในกระบวนการแปรรูปอาหาร	5
1.2	องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อกึ่งสุก	6
1.3	ปัจจัยบางประการที่มีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน	12
1.4	คุณสมบัติของอันตรกิริยาที่ทำให้เกิดความคงตัวของโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิ ตติยภูมิและจตุรภูมิ	13
1.5	การเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนแอคโตไมโอซินธรรมชาติระหว่างการให้ความร้อน	15
3.1	ค่าสี (L^* , a^* , b^*) ของเจลเนื้อกึ่งสุกที่ผ่านการให้ความดัน (400-800 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (200-800 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที/ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	37
3.2	ลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลเนื้อกึ่งสุกที่ผ่านการให้ความดัน (400-800 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ความร้อน ที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (200-800 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	45
3.3	ลักษณะปรากฏของสารละลายแอคโตไมโอซินธรรมชาติของกึ่งสุกที่ผ่านการ ให้ความดัน (0.1-800 เมกกะปาสกาลที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ความร้อน ที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	54
3.4	ค่าสี (L^* , a^* , b^*) ของเจลเนื้อกึ่งสุกที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 0-3 และผ่านการให้ความดัน (600 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที/ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	64

รายการภาพ

ภาพที่	หน้า	
1.1	ระบบกำเนิดความดันสูง (a) แบบทางตรง (b) แบบทางอ้อม	2
1.2	รูปร่างโมเลกุลของไมโอซิน	10
1.3	องค์ประกอบของฟิลาเมนต์เส้นบาง	11
1.4	การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนระหว่างการให้ความร้อน	14
1.5	กลไกการเกิดเจลของไมโอซินด้วยความร้อน	17
1.6	การเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของไมโอซินระหว่างการให้ความดันสูง	21
1.7	การทำงานของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสในสถานะที่มีตัวร่วมทำปฏิกิริยาต่างๆ กัน	24
3.1	ลักษณะปรากฏของเจลเนื้อกึ่งกึ่งดัดที่ผ่านการให้ความดัน (400-800 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (200-800 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	38
3.2	ค่าการสูญเสียน้ำหนักของเจลกึ่งกึ่งดัดที่ผ่านการให้ความดัน (400-800 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ความร้อน ที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (200-800 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	40
3.3	ค่าแรงก่อนเจาะทะลุ (A) และระยะทางก่อนเจาะทะลุ (B) ของเจลเนื้อกึ่งกึ่งดัดที่ผ่านการให้ความดัน (400- 800 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (200-800 เมกกะปาสคาลนาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	44
3.4	ค่าความขุ่นของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกึ่งกึ่งดัดที่ผ่านการให้ความดัน (0.1-800 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ความร้อน (ที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (400 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	47
3.5	ปริมาณไฮโดรโฟบิกบนพื้นผิวของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกึ่งกึ่งดัดที่ผ่านการให้ความดัน (0.1-800 เมกกะปาสคาลที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ความร้อน (ที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (400 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	49

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
3.6	ปริมาณหมู่ซัลไฟไฮดริล (A) และพันธะไดซัลไฟด์ (B) ของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกึ่งกลูตาต้าที่ผ่านการให้ความดัน (0.1-800 เมกกะปาสกาลที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ความร้อน (ที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	52
3.7	โครงสร้างทางจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (กำลังขยาย 10,000 เท่า) ของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกึ่งกลูตาต้าที่ผ่านการให้ความดัน ความร้อนและการให้ความดันร่วมกับความร้อน โดย A และ B: สารละลายแอกโตไมโอซินที่ผ่านการให้ความดันที่ 600 และ 800 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ตามลำดับ และ C และ D: สารละลายแอกโตไมโอซินที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที และการให้ความดันที่ 400 เมกกะปาสกาล อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ร่วมกับการให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ตามลำดับ	57
3.8	โครงสร้างทางจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (กำลังขยาย 50,000 เท่า) ของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกึ่งกลูตาต้าที่ผ่านการให้ความดัน ความร้อนและการให้ความดันร่วมกับความร้อน โดย A และ B: สารละลายแอกโตไมโอซินที่ผ่านการให้ความดันที่ 600 และ 800 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ตามลำดับ และ C และ D: สารละลายแอกโตไมโอซินที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที และการให้ความดันที่ 400 เมกกะปาสกาล อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ร่วมกับการให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ตามลำดับ	60
3.9	รูปแบบโปรตีนด้วย SDS-PAGE ของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกึ่งกลูตาต้าที่ผ่านการให้ความดัน ความร้อน และการให้ความดันร่วมกับความร้อน โดย A B และ C D: รูปแบบอนรีควิงซ์และรีควิงซ์ตามลำดับ M: โปรตีนมาตรฐาน MHC: ไมโอซินเส้นหนัก 1-6: สารละลายแอกโตไมโอซินที่ผ่านการให้ความดันที่ 0.1 100 200 400 600 และ 800 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ตามลำดับ 7: สารละลายแอกโตไมโอซินที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที และ 8: สารละลายแอกโตไมโอซินที่ผ่านการให้ความดันที่ 400 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ร่วมกับการให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที	62

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
3.10	ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (A) และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (B) ของเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีนาคาบัคที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 0-3 และผ่านการให้ความดัน (600 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) หรือการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	65
3.11	ปริมาณของเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกของเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีนาคาบัคที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 0-3 และผ่านการให้ความดัน (600 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) หรือการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	67
3.12	ค่าแรงก่อนเจาะทะลุ (A) และค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุ (B) ของเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีนาคาบัคที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 0-3 และผ่านการให้ความดัน (600 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) หรือการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	68
3.13	รูปแบบโปรตีนด้วย SDS-PAGE ของเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีนาคาบัคที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 0-3 โดย A: รูปแบบนอนรีคิวงิ่ง B: รูปแบบบริคิวงิ่ง MHC: ไมโอซินเส้นหนัก M: โปรตีนมาตรฐาน 1-4: ตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดัน (600 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 0 1 2 และ 3 ตามลำดับ 5-8: ตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 0 1 2 และ 3 ตามลำดับ	70
3.14	ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (A) และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (B) ของเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีนาคาบัคที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการให้ความดัน (200-600 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) การบ่ม (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) และการให้ความร้อน (ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	72

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
3.15	ค่าแรงก่อนเจาะทะลุ (A) และค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุ (B) ของเจลเนื้อกึ่งกึ่งกลาดำบดที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการให้ความดัน (200-600 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) การบ่ม (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) และการให้ความร้อน (ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	74
3.16	รูปแบบโปรตีนโดย SDS-PAGE ของเจลเนื้อกึ่งกึ่งกลาดำบดที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการให้ความดัน (200-600 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) การบ่ม (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) และการให้ความร้อน (ที่ 90 องศาเซลเซียส) A,B: รูปแบบอนรีควิ่ง C,D: รูปแบบรีควิ่ง MHC: ไมโอซินเส้นหนัก M: โปรตีนมาตรฐาน 1: ตัวอย่างที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง (การบ่ม) 2: ตัวอย่างที่ผ่านการบ่มและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที (ความร้อน) 3-4: ตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันที่ 400 และ 600 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที ตามลำดับ 5-6: ตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันที่ 400 และ 600 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที แล้วบ่ม ตามลำดับ 7-9: ตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันที่ 200 400 และ 600 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที แล้วบ่ม และให้ความร้อน ตามลำดับ 10-11: ตัวอย่างที่ผ่านการบ่มแล้วให้ความดันที่ 400 และ 600 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที ตามลำดับ และ 12-14: ตัวอย่างที่ผ่านการบ่ม การให้ความดันที่ 200 400 และ 600 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที และให้ความร้อน ตามลำดับ	76
3.17	ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (A) และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (B) ของเจลเนื้อกึ่งกึ่งกลาดำบดที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0-0.2 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการบ่ม (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) และการให้ความดัน (600 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	79
3.18	ค่าแรงก่อนเจาะทะลุ (A) และค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุ (B) ของเจลเนื้อกึ่งกึ่งกลาดำบดที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0-0.2 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการบ่ม (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) และการให้ความดัน (600 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)	82

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
3.19	83
รูปแบบโปรตีนด้วย SDS-PAGE ของเจลเนื้อกึ่งกลาดำบดที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจาก จุลินทรีย์ร้อยละ 0-0.2 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการบ่ม (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) และการให้ความดัน (600 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) โดย A: รูปแบบนอนรีดิวิซิ่ง B: รูปแบบรีดิวิซิ่ง MHC: ไมโอซินเส้นหนัก M: โปรตีนมาตรฐาน 1-5: ตัวอย่างที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0 0.05 0.10 0.15 และ 0.20 ตามลำดับ	
3.20	85
โครงสร้างทางจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (กำลังขยาย 10,000 เท่า) ของ ตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกลาดำบด โดย A: ตัวอย่างเจลที่ผ่านการให้ความดัน (600 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส) B: ตัวอย่างเจลที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับ ความร้อน (400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส/90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) C และ D: ตัวอย่างเจลที่เติมโปรตีนพลาสติกเม็ดวุ้นร้อยละ 2 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ที่ผ่านการให้ความดัน (600 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส) และการให้ความดันร่วมกับความร้อน (400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส/90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ตามลำดับ และ E: ตัวอย่างเจลที่เติม เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0.15 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ร่วมกับการบ่ม และการให้ความดัน (ที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง/ 600 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที)	
ภาพภาคผนวกที่	หน้า
1	112
กราฟมาตรฐานไทโรซีน	
2	113
กราฟมาตรฐาน BSA	