บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

กุ้งเป็นสินค้าที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศ เนื่องจากกุ้งเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญ จากการศึกษาพบว่า ปี 2541 ประเทศไทยส่งผลิตภัณฑ์กุ้งไปจำหน่ายยังต่างประเทศคิดเป็นมูลค่าถึง 95.815 ล้านบาท (บางเขน1074, 2542) และตลาดยังมีการขยายตัวอย่างรวดเร็วมีการบริโภคภายในประเทศและส่วนใหญ่มักส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ กุ้งที่มีบทบาทที่สำคัญคือกุ้งกุลาดำ เนื่องจากเป็นที่นิยมในการเพาะเลี้ยงเพราะมีอัตราการเจริญเติบโตดี มีความแข็งแรง และทนทานมากให้ผลผลิตสูง นอกจากนี้ยังเป็นที่ต้องการของตลาดและมีราคาดี โดยตลาดส่งออกที่สำคัญ เช่น ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา สิงคโปร์ แคนาดา ออสเตรเลีย ฝรั่งเศส เกาหลีใต้ การแปรรูปกุ้งเพื่อไปจำหน่ายยังต่างประเทศอาจอยู่ในรูปต่างๆโดยส่วนใหญ่เป็นกุ้งแช่เยือกแข็งที่มีลักษณะเด็ดหัว (head–off) ปอกเปลือก (peeled) ผ่าหลัง (deviened) มีเปลือก (shell–on) เด็ดหางหรือมีหาง เนื้อกุ้งเป็นตัว กุ้งชุบแป้ง กุ้งต้ม โดยมีทั้งลักษณะที่แช่รวมกันเป็นก้อน (block) และกุ้งที่แช่เยือกแข็งโดยเรียงกันเป็นตัว (Individual Quick Frozen หรือ IQF Products) ส่วนกุ้งกระป๋องมีความสำคัญรองลงมาจากผลิตภัณฑ์ที่กุ้งแช่เยือกแข็ง นอกจากนี้ยังมีการส่งออกในรูปกุ้งแห้งและกุ้งรมควันอีกด้วย (พิบูลย์ เรียมอนุกูลกิจ, 2541) อย่างไรก็ตามกระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารเหล่านี้แม้ว่าจะสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียได้ แต่อาจทำให้เกิดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ และเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี และคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสในระหว่างการแปรรูปในด้านสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัส (Fellows, 1990) จากข้อจำกัดของกระบวนการแปรรูปอาหารแบบดั้งเดิม จึงทำให้ผู้ผลิตอาหารจำเป็นต้องพัฒนาหาเทคโนโลยีการผลิตอาหารใหม่ๆ ที่เป็นกระบวนการผลิตแบบไม่ใช้ความร้อนหรือใช้ความร้อนระดับต่ำ (non thermal processing) และยังสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคได้ ดังนั้นการใช้ความดันสูง (High hydrostatic pressure) เป็นอีกเทคโนโลยีการผลิตอาหารที่ไม่ได้ใช้ความร้อนจึงสามารถลดการเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางอาหาร กลิ่นรส และสี รวมทั้งสามารถลดปริมาณการใช้สารเติมแต่งอาหาร (Vardag and Korner, 1995) วิธีการนี้จะใช้เวลาในการผลิตสั้นมาก คืออยู่ในช่วง 2–30 นาที (พันธ์จิต พัฒโนภาษ, 2541) สามารถนำมาใช้ในการผลิตในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากได้มีการพัฒนาปรับปรุงเครื่องจักรการผลิตให้มีอัตราการผลิตสูงขึ้น พบว่าต้นทุนในการผลิตเมื่อใช้สภาวะ 400

เมกกะปาสคาล ที่ 20 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มีค่า 0.1–0.5 ยูโรต่อกิโลกรัมของอาหาร ซึ่งต่ำกว่าต้นทุนการผลิตแบบให้ความร้อน (Cheftel and Culioli, 1997)

ความดันสูงมีผลต่อโครงสร้างของโปรตีนโดยสามารถทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพ (denaturation) เกิดการรวมกลุ่มกัน (aggregation) หรือเกิดเจล (gelation) (Messens *et. al.*,1997) ซึ่งทำให้เกิดเจลลักษณะใหม่ ที่มีความโปร่งแสง มีความเลื่อมมัน มีคุณสมบัติในการอุ้มน้ำได้ดี มีความแน่นเนื้อ มีลักษณะนุ่มแต่มีความเหนียวและยืดหยุ่นมากกว่าเจลที่ได้จากการใช้ความร้อน (Cheftel and Culioli, 1997) นอกจากนี้ยังสามารถยั้บยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายกล้ามเนื้อ (Nagashima *et. al.*,1993) และยังสามารถทำให้เนื้อนุ่มได้เร็วในผลิตภัณฑ์แฮมดิบจากเนื้อหมู ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่มีคุณลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดี จะเห็นได้ว่าการนำเทคโนโลยีความดันสูงมาประยุกต์ใช้ในการผลิตอาหารอาจเป็นแนวทางที่ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ใหม่ที่แตกต่างจากกระบวนการแปรรูปอาหารแบบดั้งเดิมและยังสามารถตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคได้ อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์เหล่านี้ยังมีการผลิตในระดับการค้าไม่มากนักเนื่องจากเป็นเทคโนโลยีใหม่และยังมีการศึกษาข้อมูลที่ไม่เพียงพอ (Cheftel and Culioli, 1997) เทคโนโลยีการใช้ความดันสูงเป็นเทคโนโลยีที่น่าสนใจและสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมของประเทศไทยได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการแปรรูปกุ้งกุลาดำซึ่งเป็นสินค้าเศรษฐกิจและมีคู่แข่งทางการค้าที่สำคัญ เช่น จีน อินเดีย อินโดนีเซีย เป็นต้น ซึ่งผลิตกุ้งได้ในปริมาณมากและต้นทุนต่ำ ดังนั้นเพื่อให้สามารถแข่งขันทางการค้ากับประเทศอื่นได้ประเทศไทยต้องมีการพัฒนาทางด้านการรักษาคุณภาพและการแปรรูปกุ้งเพื่อเพิ่มมูลค่าและมีผลผลิตรูปแบบใหม่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการศึกษาแนวทางการใช้ความดันสูงในผลิตภัณฑ์กุ้งกุลาดำยังมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาผลของการใช้ความดันสูงและการใช้ความร้อนต่อคุณลักษณะโปรตีนกล้ามเนื้อ และคุณสมบัติการเกิดเจลของกุ้งกุลาดำเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำเทคโนโลยีนี้มาประยุกต์ใช้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต

การตรวจเอกสาร

1. **กุ้งกุลาดำ** (*Penaeus monodon* Fabricius)

1.1 องค์ประกอบทางเคมีของกุ้งกุลาดำ

องค์ประกอบที่สำคัญของสัตว์น้ำ คือ น้ำ โปรตีน และไขมัน โดยองค์ประกอบดังกล่าวมีประมาณร้อยละ 98 ของน้ำหนักเนื้อทั้งหมด องค์ประกอบเหล่านี้มีผลต่อคุณค่าทางโภชนาการ สมบัติเชิงหน้าที่ คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส และอายุการเก็บรักษา สำหรับองค์ประกอบอื่นๆ เช่น คาร์โบไฮเดรต วิตามิน และเกลือแร่มีปริมาณน้อยแต่มีความสำคัญต่อกลิ่นรสและคุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณขององค์ประกอบหลักจะเปลี่ยนแปลงตามชนิด ระยะการเจริญเติบโต และสภาวะทางโภชนาการของสัตว์น้ำ (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544) องค์ประกอบทางเคมีของกุ้งกุลาดำแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของส่วนที่บริโภคได้ของกุ้งกุลาดำ

Chemical composition of edible part of black tiger shrimp.

Chemical composition	percent
Protein	20.70-21.56
Carbohydrate	0.92-1.54
Fat	0.14-0.15
Moisture	76.07-76.25
Ash	1.13-1.54

Source: Pitakkosolpong (1992)

1.2 โปรตีน

กล้ามเนื้อสัตว์น้ำประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิด แต่ละชนิดมีหน้าที่แตกต่างกัน โดยสามารถจำแนกโปรตีนของกล้ามเนื้อเป็นกลุ่มต่างๆ ดังนี้

1.2.1 โปรตีนไมโอไฟบริล (myofibrilar proteins)

เป็นโปรตีนหลักในกล้ามเนื้อสามารถสกัดได้ด้วยสารละลายเกลือที่มีความแรงไอออนมากกว่า 0.15 (อยู่ในช่วง 0.1-0.3) โดยทั่วไปเนื้อสัตว์น้ำจะประกอบด้วยโปรตีนไมโอไฟบริล ร้อยละ 55-60 โดยมีบทบาทสำคัญต่อการยืดหดตัวของกล้ามเนื้อ การเคลื่อนที่ (Xiong, 1997) มีความสำคัญต่อการอุ้มน้ำของเนื้อและความสามารถในการเกิดเจล (Kijowski, 2001) โดยประกอบด้วย

1.2.1.1 ไมโอซิน (myosin)

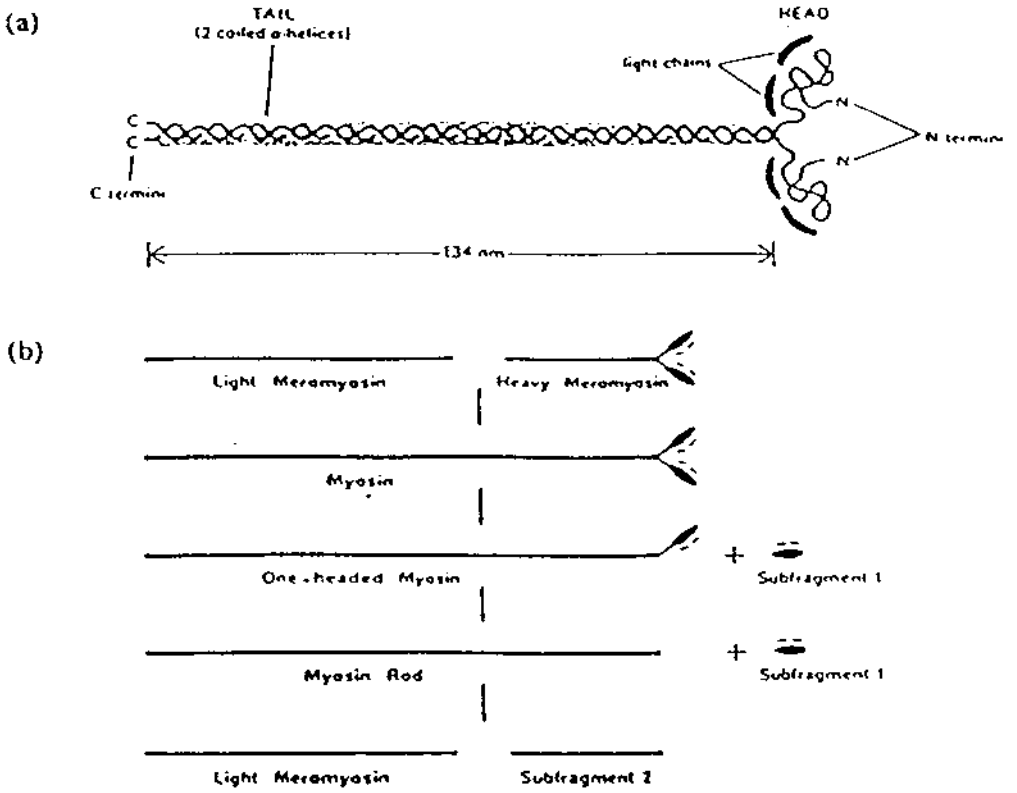
ไมโอซินเป็นโปรตีนสำคัญของฟิลาเมนท์หนา (thick filament) มีประมาณร้อยละ 45 ของโปรตีนไมโอไฟบริล (Foegeding *et al.*, 1996) ไมโอซินประกอบด้วยโซ่พอลิเปปไทด์เหมือนกัน 2 โซ่มีโครงสร้างเป็น แอลฟา-เฮลิกซ์ (α-helical structure) โมเลกุลของ ไมโอซินมีเอนไซม์ ATPase อยู่บริเวณหัวทั้งสอง (globular head) ซึ่งสามารถมีอันตรกิริยากับแอกติน (actin) (Kijowski, 2001) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 480,000 ดาลตัน (Foegeding *et al.*, 1996) เปลี่ยนแปลงง่ายเมื่อถูกความร้อน ตกตะกอนได้ง่าย ถูกย่อยได้ด้วยเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีน เช่น ทริปซิน (trypsin) และไคโมทริปซิน (chymotrypsin) เมื่อผ่านการย่อยจะได้เป็น 2 ส่วนคือ เมอโรไมโอซินเบา (light meromyosin) และเมอโรไมโอซินหนัก (heavy meromyosin) เมื่อเมอโรไมโอซินหนักถูกย่อยโดยเอนไซม์ทริปซิน ไคโมทริปซิน หรือปาเปน (papain) จะได้เป็นส่วนหัวและส่วนคอ โดยส่วนหัวเรียกว่า S-1 และส่วนคอเรียกว่า S-2 เมอโรไมโอซินหนักมีกิจกรรมของเอนไซม์ ATPase และมีส่วนที่จับกับแอกตินซึ่งไม่พบในเมอโรไมโอซินเบา (Kijowski, 2001) แสดงดังภาพที่ 1 สัตว์น้ำแต่ละชนิดจะมีปริมาณไมโอซินแตกต่างกันโดยมีปริมาณสูงสุดขณะจับได้ใหม่ๆ แต่จะมีปริมาณลดลงเป็นลำดับตามระยะเวลาการเก็บรักษา ความยืดหยุ่นของเนื้อสัตว์น้ำขึ้นอยู่กับปริมาณไมโอซิน ปลาที่มีปริมาณไมโอซินสูงจะมีความยืดหยุ่นสูงกว่าปลาที่มีปริมาณไมโอซินต่ำ (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2543)

1.2.1.2 แอกติน (actin)

แอกตินเป็นโปรตีนที่สำคัญของฟิลาเมนท์บาง (thin filament) มีประมาณร้อยละ 20 ของโปรตีนไมโอไฟบริล มีรูปร่างคล้ายเมล็ดถั่ว 2 เมล็ดที่มีขนาดเท่ากันเรียงต่อกัน แสดงดังภาพที่ 2 globular actin หรือ จี-แอกติน (G-actin) เป็นโปรตีนหน่วยย่อยที่มีรูปร่างกลม เมื่อ จี-แอกตินเรียงต่อกันตามยาวเป็นโครงสร้างแบบ double-helical structure เรียกว่า fibrous actin หรือ เอฟ- แอกติน (F-actin) และเอฟ-แอกตินสองเส้นขดเป็นเกลียวพันกันเรียกว่า super helix (Foegeding *et al.*, 1996) แอกตินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 42,000-48,000 ดาลตัน (Xiong,1997) ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 376 ตัว จับอยู่กับโทรโปนินและโทรโปไมโอซิน สามารถมีอันตรกิริยากับส่วนหัวของไมโอซิน (Kijowski, 2001) และสามารถสกัดได้โดยใช้สารละลายเกลือ (Foegeding *et al.*, 1996)

1.2.1.3 โทรโปไมโอซิน (tropomyosin)

โทรโปไมโอซินมีประมาณร้อยละ 5 ของโปรตีนไมโอไฟบริล มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 68,000 ดาลตัน มีลักษณะคล้ายส่วนหางของไมโอซิน ในโทรโปไมโอซินแต่ละเส้นประกอบด้วย จี-แอกติน 7 โมเลกุล (Foegeding *et al.*, 1996)



ภาพที่ 1 โครงสร้างโมเลกุลของไมโอซิน

Structure of myosin molecule.

Source: McCormick (1994)

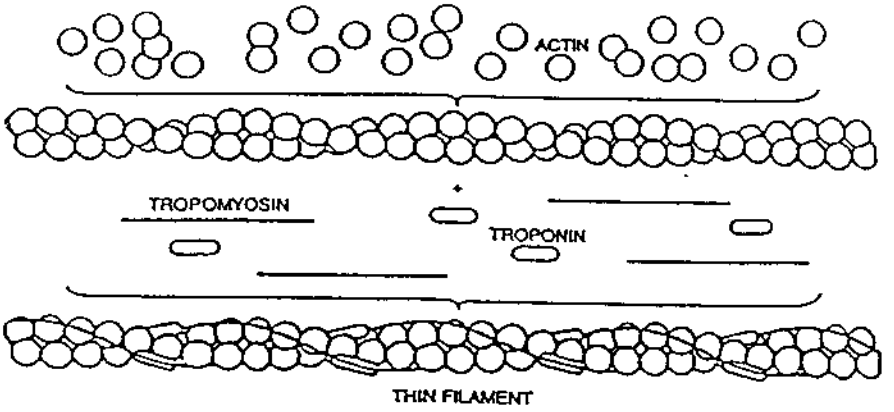
1.2.1.4 โทรโปนิน (troponin)

โทรโปนินเป็นโปรตีนชนิดโกลบูลาร์มีประมาณร้อยละ 8-10 ของโปรตีนไมโอไฟบริล ส่วนใหญ่มักอยู่รวมกับโทรโปไมโอซิน โทรโปนินสามารถจับกับแคลเซียมและมีบทบาทสำคัญต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ โทรโปนินประกอบด้วย 3 หน่วยย่อย (Foegeding *et al.*, 1996)

ก. โทรโปนิน-ซี (troponin-C) ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดที่เป็นกรด และมีบทบาทในการจับกับแคลเซียมอิออน และมีผลต่อ calcium sensitivity มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 17,000-18,000 ดาลตัน (Kijowski, 2001)

ข. โทรโปนิน-ไอ (troponin-I) สามารถยับยั้งกิจกรรมของของ ATPase มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 20,000-24,000 ดาลตัน (Foegeding *et al.*, 1996)

ค. โทรโปนิน-ที (troponin-T) ทำหน้าที่ในการจับกับโทรโปไมโอซิน มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 37,000-40,000 ดาลตัน (Foegeding *et al.*, 1996)



ภาพที่ 2 องค์ประกอบของฟิลาเมนท์เส้นบาง

Composition of thin filament

Source: Foegeding *et al.* (1996)

1.2.2 **โปรตีนซาร์โคพลาสมิก** (sarcoplasmic proteins)

มีอยู่ประมาณร้อยละ 30-35 ของโปรตีนทั้งหมด สามารถละลายน้ำหรือสารละลายเกลือที่มีความเข้มข้นต่ำ (น้อยกว่า 50 มิลลิโมลาร์) (Kijowski, 2001) โปรตีนชนิดนี้ได้แก่

1.2.2.1 เอนไซม์ กล้ามเนื้อสัตว์น้ำมีเอนไซม์หลายชนิด โปรติเอส (protease) เป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยโปรตีน ประกอบด้วย เอ็นโดเปปทิเดส (endopeptidase) หรือโปรติเนส (proteinase) และเอ็กโซเปปทิเดส (exopeptidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญต่อคุณภาพสัตว์น้ำ (Kirschke and Barrett, 1987 อ้างโดย สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2543) Wang และคณะ (1993) ได้ตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ m-calpain จากกล้ามเนื้อกุ้ง (*Penaeus monodon*) พบว่าสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่สภาวะความเป็นกรดด่าง 6.9 Jiang และคณะ (1992) พบเอนไซม์คาเทปซิน D ในกล้ามเนื้อกุ้ง (*Penaeus monodon*) และในกุ้ง (*Penaeus japonicus*) ซึ่งสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 45 และ50 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ที่สภาวะความเป็นกรดด่าง 3.0 Chander และ Thomas (1999) พบเอนไซม์ Alkaline protease จากวัสดุเศษเหลือของกุ้ง โดยสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 50-55 องศาเซลเซียส ที่สภาวะความเป็นกรดด่าง 8.5 นอกจากนี้ Sherekar และคณะ (1997) พบเอนไซม์โปรติเอสจากตับอ่อนของกุ้ง *(Acetes indicus)* โดยสามารถทำงานได้ดี

ที่อุณหภูมิประมาณ 50-55 องศาเซลเซียส ที่สภาวะความเป็นกรดด่าง 8.5 Tsai และคณะ (1986) พบเอนไซม์ไคโมทริปซินจากสัตว์พวกครัสตาเซียโดยพบในกั้งและปูในปริมาณที่สูงกว่าในกุ้งน้ำจืดและกุ้งทะเล Lu และคณะ (1990) พบเอนไซม์ทริปซินจากเครื่องในของกุ้งกุลาดำ นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในสัตว์จำพวกครัสตาเซีย เนื่องจากเป็นสาเหตุของการเปลี่ยนแปลงสี (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544)

1.2.2.2 โปรตีนเม็ดสี โปรตีนฮีมเป็นแหล่งของเม็ดสีที่สำคัญโดยมีผลต่อลักษณะสีแดงของเนื้อ เม็ดสีที่สำคัญได้แก่ ออกซีไมโอโกลบิน (oxymyoglobin) และออกซีฮีโมโกลบิน (oxyhemoglobin) แต่ในสัตว์จำพวกกุ้งและปู ประกอบด้วยโปรตีนที่มีทองแดงเรียกว่าฮีโมไซยานิน (hemocyanin) โดยฮีโมไซยานินสามารถจับโมเลกุลออกซิเจน 1 โมเลกุลต่อทองแดง 2 อะตอม โดยปกติจะไม่มีสี แต่เมื่อทิ้งเลือดให้ถูกอากาศภายนอกจะกลายเป็นสีฟ้า ฮีโมไซยานินที่สูญเสียสภาพธรรมชาติโดยความร้อนหรือออกซีฮีโมไซยานิน (oxyhemocyanin) จะเป็นสีขาว และเปลี่ยนเป็นสีเขียวแกมน้ำเงินในสภาวะที่มีไฮโดรเจนซัลไฟด์ (hydrogensulfide) (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544)

1.2.2.3 โปรตีนที่ไม่แข็งตัว เป็นไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ซึ่งเป็นโปรตีนในเลือดประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตและไกลโคเจนพบมากในเมือกและตับ (นงลักษณ์ สุทธิวานิช, 2531)

1.2.3 **สโตรมาร์** (stroma)

เป็นส่วนที่เหลือจากการสกัดโปรตีนซาร์โคพลาสมิกและโปรตีนไมโอไฟบริล ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue protein) เช่น คอลลาเจน (collagen) และอิลาสติน (elastin) มีประมาณร้อยละ 3 ของโปรตีนทั้งหมด (Kijowski, 2001)

1.3 การเปลี่ยนแปลงหลังการตายและการเน่าเสียของกุ้งกุลาดำ

สิ่งมีชีวิตประกอบด้วยสารชีวโมเลกุล (biomolecules) หลายชนิด ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต กรดนิวคลีอิก ไขมัน แร่ธาตุ น้ำ รวมทั้งหน่วยย่อยของสารโมเลกุลใหญ่ (macromolecules) เช่น กรดอะมิโน นิวคลีโอไทด์และน้ำตาล ระดับของสารประกอบเหล่านี้ในเนื้อเยื่อของสัตว์ขณะที่มีชีวิตปกติจะถูกรักษาให้อยู่ในสภาพสมดุลโดยผ่านกระบวนการสังเคราะห์ (catabolic pathways) ด้วยกลไกที่สลับซับซ้อน (Lehninger, 1985) แต่ภายหลังจากสัตว์ตายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายในเนื้อเยื่อโดยปราศจากกลไกการควบคุม เช่น การเกร็งตัวภายหลังการตาย (rigor mortis) โดยส่วนหัวของไมโอซินในส่วนฟิลาเมนท์เส้นหนาจับกับส่วนกลางของแอคตินซึ่งเป็นองค์ประกอบของฟิลาเมนต์เส้นบาง ส่งผลให้เกิดการหดตัวของโปรตีนกล้ามเนื้อ (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544) หรือกระบวนการย่อยสลายตัวเองหลังการตายของเซลล์ (autolysis) ซึ่งนับเป็นกลไก

สำคัญประการหนึ่งที่ทำให้คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของเนื้อเยื่อเปลี่ยนแปลงไป กระบวนการดังกล่าวเกิดจากการแตกสลายของไรโบโซมและปล่อยไลโซไซม์ ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ไฮโดรไลติก (hydrolytic enzymes) หลายชนิดออกมาย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ชนิดต่างๆให้เป็นโมเลกุลเล็ก ผลิตผลที่เกิดขึ้นจะเป็นสารอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียต่อไป (Gill, 1982 อ้างโดย Lehninger, 1985) เนื่องจากกุ้งเป็นอาหารหรือวัตถุดิบที่เสื่อมเสียได้ง่าย ดังนั้นการตรวจคุณภาพกุ้งก่อนนำไปบริโภคหรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ จึงเป็นสิ่งจำเป็น อาจกล่าวได้ว่าสาเหตุที่นำไปสู่การลดลงของคุณภาพหรือความสดและการเน่าเสียของเนื้อสัตว์เกิดขึ้นจากปัจจัยสำคัญ 2 ประการคือ

1.3.1 **การย่อยสลายด้วยเอนไซม์**

1.3.1.1 คาร์โบไฮเดรต

ภายหลังจากสัตว์ตาย ออกซิเจนในเนื้อเยื่อต่างๆลดลง ไกลโคเจนซึ่งเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สะสมไว้จะผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะเกิดเป็นกรดแลกติก ส่งผลให้ลดความเป็นกรดด่างในกล้ามเนื้อสัตว์น้ำ ปริมาณแลกติกที่เกิดขึ้นกับปริมาณไกลโคเจนที่สะสมก่อนการตาย รวมทั้งการปฏิบัติต่อสัตว์น้ำ (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544) โดยที่ Flick และ Lovell (1972) พบว่าปริมาณกรดแลคติกในกล้ามเนื้อกุ้ง brown shrimp (*Penaeus aztecus*) ซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส มีปริมาณเพิ่มขึ้น ในขณะที่มีการสลายของไกลโคเจนไปเป็นกรดแลคติกเพิ่มขึ้นจาก 160 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของเนื้อเยื่อเป็น 360 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของเนื้อเยื่อ ภายในระยะเวลา 10 วัน ซึ่งจัดว่ามีปริมาณต่ำเมื่อเทียบกับความเข้มข้นของกรดแลคติกในกล้ามเนื้อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่ได้รับการพักผ่อน อย่างไรก็ตามพบว่าค่าความเป็นกรดด่างของกุ้งเพิ่มขึ้นจาก 7.4 เป็น 8.2 ภายในระยะเวลา 10 วัน ซึ่งเป็นผลมาจากเกิดการเจริญของจุลินทรีย์ ค่าความเป็นกรดด่างที่เพิ่มขึ้นนี้เกิดจากการปลดปล่อยด่างที่มีมวลโมเลกุลต่ำซึ่งเป็นผลมาจากการทำงานของจุลินทรีย์

1.3.1.2 โปรตีน

การย่อยสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ที่พบในเนื้อเยื่อรวมทั้งเอนไซม์จากจุลินทรีย์ ก่อให้เกิดการอ่อนตัวของกล้ามเนื้อ ทั้งนี้เอนไซม์โปรติเนสมีผลในการย่อยสลายโมเลกุลของโปรตีนทำให้โครงสร้างมีลักษณะหลวมและอ่อนตัว ผลผลิตสำหรับการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอ็นไซม์ คือ เปปไทด์โมเลกุลต่ำ และกรดอะมิโนอิสระซึ่งพบทั่วไปในธรรมชาติมากกว่า 20 ชนิด กระบวนการนี้เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้คุณภาพของเนื้อสัตว์ลดลง นอกจากนี้สารประกอบเหล่านี้สามารถเป็นแหล่งสารอาหารในการเจริญของจุลินทรีย์ (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544)

เนื้อเยื่อของสัตว์น้ำขณะที่ยังมีชีวิต นอกจากจะมีโปรตีนเป็นส่วนประกอบแล้ว ยังมีกรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) รวมอยู่ด้วยร้อยละ 0.5-2 ของน้ำหนักตัว ระดับของกรดอะมิโนแต่ละชนิดแตกต่างกันไปตามชนิดของสัตว์และภาวะทางสรีระของสัตว์ สัตว์จำพวกครัสตาเซีย เช่น กุ้ง ปู ประกอบด้วยกรดอะมิโนอิสระสูงกว่าสัตว์จำพวกปลา (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544) นอกจากนี้สัตว์น้ำแต่ละชนิดสะสมกรดอะมิโนอิสระภายในเซลล์ต่างๆกันตามความเค็มของแหล่งน้ำ ในพวกครัสตาเซียและสัตว์ทะเลอื่นๆ ความเข้มข้นของสารประกอบไอออนิกของของเหลวที่อยู่ในตัวสัตว์น้ำมีปริมาณใกล้เคียงกับความเข้มข้นของน้ำทะเล โดยจะพบกรดอะมิโนไกลซีน (glycine) โพรลีน (proline) ซีรีน (serine) อาร์จีนีน (argenine) ทรีโอนีน(theonine) และ อลานีน (alanine) มีอยู่ประมาณร้อยละ 93-96 ของกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดในตัวกุ้ง ในกุ้งสดอาจมีปริมาณไกลซีนสูงกว่า 1000 มิลลิกรัม/100 กรัม (นงลักษณ์ สุทธิวานิช, 2531) กรดอะมิโนบางชนิดมีผลทำให้เนื้อสัตว์มีกลิ่นและรสชาติดี เช่น กรดกลูตามิก (glutamic acid) และไกลซีนอย่างไรก็ตามมาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีอย่างต่อเนื่องของกรดอะมิโน อาจทำให้คุณภาพสัตว์น้ำนั้นมีคุณภาพต่ำลงเช่นการเปลี่ยนไทโรซีน (tyrosine) ไปเป็นเมลานิน (melanin) โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้เนื้อสัตว์ธรรมชาติเปลี่ยนเป็นสีดำ (Eitenmiller, 1974)

1.3.1.3 กรดนิวคลีอิก

กรดนิวคลีอิกในเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (deoxyribonucleic acid, DNA) และกรดไรโบนิวคลีอิก (ribonucleic, RNA) ผลิตผลจากการย่อยกรดนิวคลีอิกโดยเอ็นไซม์ คือ นิวคลีโอไทด์ (nucleotyde) ซึ่งมีอยู่หลายชนิด ขณะที่เซลล์ยังมีชีวิตอยู่ภายในจะมีกรดนิวคลีโอไทด์อิสระประกอบอยู่ด้วยโดยเฉพาะอย่างยิ่งอะดิโนซีนไตรฟอสเฟต (Adenosine triphosphate, ATP) ซึ่งมีระดับสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ นิวคลีโอไทด์ชนิดอื่น นิวคลีโอไทด์อาจถูกเปลี่ยนไปเป็นสารชนิดอื่นได้ทันทีภายหลังการตาย โดยทั่วไปการสลายตัวของนิวคลีโอไทด์ในสัตว์น้ำในขั้นที่ยังบริโภคได้จะสิ้นสุดที่ ไฮโปแซนทีน (Hypoxanthine, Hx) (Fatima *et al.*,1981)

Flick และ Lovell (1972) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสารประกอบนิวคลีโอไทด์ ในกุ้งสีน้ำตาล (brown shrimp) (*Penaeus aztecus*) โดยทำการเก็บที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส พบว่าในกล้ามเนื้อกุ้งมีความเข้มข้นเริ่มต้นของ ATP เท่ากับ 6.1 ไมโครโมล/กรัม ซึ่งแสดงถึงสภาวะของกุ้งเป็นปกติก่อนการตาย (ไม่เครียด) ส่วนอะดิโนซีนไดฟอสเฟต (Adenosine diphosphate, ADP) มีความเข้มข้นเริ่มต้นในปริมาณต่ำ (1.7 ไมโครโมล/กรัม) และจะเกิดการลดลงอย่างรวดเร็วภายหลังสัตว์ตาย ขณะที่ปริมาณ อะดิโนซีนโมโนฟอสเฟต (Adenosine monophosphate, AMP) ค่อนข้างคงที่ตลอดระยะการเก็บรักษา (0.65 ไมโครโมล/กรัม) กล้ามเนื้อกุ้งมีปริมาณอิโนซีนโมโนฟอสเฟต (Inosine

momophosephate, IMP) ในระยะแรกค่อนข้างสูงและจะมีปริมาณลดลงอย่างช้าๆ นอกจากนี้สามารถตรวจพบปริมาณอิโนซีน (Inosine, Ino) ในกล้ามเนื้อกุ้งภายหลังการเก็บ 4 วัน โดยที่ปริมาณ ATP จะลดลงร้อยละ 50 ของปริมาณเริ่มต้น และมีปริมาณลดลงเป็น 2.9 ไมโครโมล/กรัม เมื่อเก็บรักษานาน 10 วัน ส่วน Hx ในกุ้งจะมีปริมาณต่ำ (0.4 ไมโครโมล/กรัม) และจะเพิ่มอย่างต่อเนื่องตลอดเวลาระยะเวลาการเก็บรักษา 10 วัน ซึ่ง Hx เป็นอนุพันธ์ที่เกิดจากการสลายตัวหรือปลดปล่อยของ ATP เป็นเพียวรีน (purine residue) Hx ที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณ Ino ที่ลดลง

Fatima และคณะ (1981) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ IMP และ Hx ในกล้ามเนื้อกุ้ง (*Penaeus merguensis*) โดยทำการเก็บรักษาในน้ำแข็งนาน 20 วัน พบว่า Hx มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆในช่วงแรกการเก็บรักษาจากระดับเริ่มต้น 0.075 ไมโครโมล/กรัม เป็น 0.953 ไมโครโมล/กรัม เมื่อเก็บรักษานาน 12 วัน และมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากวันที่ 12 ของการเก็บรักษา สำหรับ IMP ซึ่งมีปริมาณเริ่มต้น 5.7 ไมโครโมล/กรัม จะมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วในระยะ 4 วันแรกของการเก็บรักษา หลังจากนั้นจะลดลงอย่างช้าๆ

นอกจากนี้ Fatima และคณะ (1981) พบว่าผลิตผลจากการสลายตัวของนิวคลีโอไทด์ เช่น IMP และ Hx ยังส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางด้านประสาทสัมผัส ซึ่งได้แก่ สี กลิ่น รสชาติและลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อสัตว์ได้ โดยได้นำกุ้ง (*Penaeus merguiensis*) ที่เด็ดหัวและล้างแล้วมาบรรจุในถุงพอลีเอทธิลีน แล้วนำไปเก็บในน้ำแข็งบดทันที พบว่าเมื่อเก็บกุ้งไว้นาน 8 วัน จะทำให้ลักษณะของกลิ่นรสหวานสูญเสียไป อย่างไรก็ตามในช่วง 8-16 วัน มีคะแนนการยอมรับที่ยังยอมรับได้ แม้ว่าทำให้กลิ่นรสลดลงไปมาก และหลังจากวันที่ 16 แล้วผู้ทดสอบชิมจะไม่ยอมรับ เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับค่า Hx พบว่ามีค่าเท่ากับ 2 ไมโครโมล ซึ่งปริมาณ Hx ในระดับนี้จะทำให้เกิดรสขมในกุ้ง นอกจากนี้ Chen (1990) พบว่าภายหลังจากการเก็บรักษาชั่วโมงที่ 18 กุ้งที่ขนส่งโดยการเก็บในน้ำแข็งร่วมกับการให้ออกซิเจนเพื่อให้กุ้งยังมีชีวิตอยู่นั้นมีคะแนนทางประสาทสัมผัสสูงกว่ากุ้งที่เก็บในน้ำแข็ง

Fatima และ Qadri (1979) ได้ศึกษาการเก็บรักษากุ้งโดยใช้สารเคมีโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ (sodium metabisulfite) (800 ส่วนในล้านส่วน) คลอแรมฟีนิคอล (chloramphenical) (30 ส่วนในล้านส่วน) กรดแอสคอบิก (ascorbic acid) (ร้อยละ 0.5) และ กรดซิตริก (citric acid) (ร้อยละ 0.5) ร่วมกับการเก็บในน้ำแข็งเป็นเวลานาน14 วัน พบว่ากุ้งที่เก็บในสารเคมีมีคะแนนทดสอบทางประสาทสัมผัสที่สูงกว่ากุ้งชุดควบคุมซึ่งเก็บในน้ำแข็งเพียงอย่างเดียว โดยชุดควบคุมจะได้ระดับคะแนนในด้านกลิ่น เนื้อสัมผัส และสี เป็น 3.3, 5.6 และ 5.3 ตามลำดับ ในขณะที่กุ้งที่เก็บโดยใช้สารเคมีร่วมกับการใช้น้ำแข็งจะมีระดับคะแนนอยู่ในช่วง 6.7 ในทุกลักษณะที่ตรวจสอบ

1.3.2 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพโดยแบคทีเรีย

ในขณะที่สัตว์มีชีวิต แบคทีเรียไม่สามารถทะลุผ่านผิวหนังเข้าไปในเนื้อเยื่อแต่สามารถผ่านออกจากลำไส้เข้าไปในเนื้อเยื่อและปริมาณแบคทีเรียจะอยู่ในระดับสมดุลย์ตลอดเวลา เมื่อสัตว์ตาย ระบบป้องกันแบคทีเรียจะหยุดทำงาน ผิวหนังและเนื้อเยื่อจะสูญเสียความสามารถในการควบคุมการซึมผ่าน (permeability) ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544) แบคทีเรียบางชนิดสามารถสังเคราะห์เอนไซม์ออกมาย่อยสารโมเลกุลใหญ่เพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับตัวเองได้ แต่อัตราการเจริญเติบโตจะเร็วขึ้นถ้าได้รับสารอาหารโมเลกุลเล็กจากภายนอก ดังนั้นกิจกรรมต่างๆ ของแบคทีเรียในเนื้อสัตว์จึงเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วหลังจากสารโมเลกุลใหญ่ถูกย่อยโดยเอนไซม์มาจากตัวสัตว์เอง (Cobb III and Vanderzant,1971 อ้างโดย สุนิสา ศรีพงษ์พันธ์กุล, 2535) ในช่วงที่สัตว์น้ำตายใหม่ๆ โดยเฉพาะในช่วงเกร็งตัวมีการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียน้อยมากซึ่งเปรียบเหมือนระยะการปรับตัว (lag phase) ซึ่งในระยะนี้อาจมีการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นรสและลักษณะบางประการ ต่อจากนั้นแบคทีเรียจะเข้าสู่ระยะเอกซ์โพเนลเชียล (log phase) ซึ่งเป็นระยะที่เกิดการเสื่อมเสีย ในระยะนี้จะพบปริมาณไตรเมทธิลเอมีน (trimethylamine, TMA) และด่างชนิดอื่น ส่วนในระยะการเจริญคงที่ (stationary phase) ซึ่งปริมาณค่อนข้างคงที่ ถึงแม้ปริมาณแบคทีเรียไม่ได้เพิ่มขึ้น แต่เป็นระยะที่มีกลิ่นเหม็นเน่า (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544) อย่างไรก็ตามการเน่าเสียของกุ้งจะเกิดขึ้นเร็วหรือช้านั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ อุณหภูมิ ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดที่มีผลต่ออัตราการเน่าเสียของอาหารโดยตรง Chang และคณะ (1983) ได้ศึกษาผลของการเก็บกุ้งขาว (*Penaeus setiferus*) ในน้ำแข็ง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4, 12 และ 22 องศาเซลเซียส พบว่า กุ้งที่เด็ดหัวแล้ว มีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น 10^5 CFU/g เมื่อทำการเก็บกุ้งในน้ำแข็งนาน 8 วัน พบว่าปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเป็น 10^8 CFU/g และกุ้งจะมีคุณภาพลดลงอย่างรวดเร็ว ส่วนกุ้งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์คล้ายกับการเก็บในน้ำแข็ง แต่การเก็บกุ้งที่อุณหภูมิ 12 และ 22 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มสูงมาก กุ้งที่เก็บที่ 12 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์ 10^8 CFU/g ภายในระยะเวลา 72 ชั่วโมง ส่วนกุ้งที่เก็บที่ 22 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์เป็น 10^8 CFU/g ภายในเวลาเพียงไม่ถึง 15 ชั่วโมง Smith และคณะ (1984) ได้อธิบายว่าการเน่าเสียของกุ้งขาวซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 12 และ 22 องศาเซลเซียส เกิดจากจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสารประกอบอินโดล (indole) ซึ่งได้แก่ *Flavobacterium* ร้อยละ 52.4 *Aeromonas* ร้อยละ 23.8 *Proteus* ร้อยละ 21.4 และ *Yersinia* ร้อยละ 2.5 แต่อย่างไรก็ตามไม่พบ *Escherichia coli* ในกุ้งเลย

นอกจากนี้วิธีการขนส่งกุ้ง ก็มีผลต่อการเน่าเสียของกุ้ง โดย Chen และคณะ (1990) ได้ตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ในกุ้งกุลาดำที่มีการขนส่งด้วยการแช่ในน้ำแข็งและการขนส่งในสภาพที่กุ้งยังมีชีวิตอยู่นั้นพบว่ากุ้งกุลาดำมีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น 8.82×10^3 CFU/g หลังจากนั้นปริมาณ

จุลินทรีย์ที่พบในการขนส่งกุ้งทั้ง 2 วิธีจะลดลง โดยในช่วง 10 ชั่วโมงแรกปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุ้งที่มีชีวิตอยู่ต่ำกว่ากุ้งที่ขนส่งด้วยการแช่น้ำแข็ง แต่หลังจาก 10 ชั่วโมงต่อมาจำนวน จุลินทรีย์ทั้งหมดในกุ้งที่ขนส่งด้วยทั้งสองวิธีจะไม่แตกต่างกัน และปริมาณของ *Pseudomonas* และ fecal coliform ก็ไม่มีความแตกต่างกัน

1.4 **คุณภาพของกุ้งกุลาดำ**

การนำสัตว์น้ำมาบริโภคหรือแปรรูปเพื่อการบริโภคนั้น สิ่งสำคัญที่จะต้องคำนึงถึงมากที่สุดคือความสด โดยถือว่าสัตว์น้ำทันทีหลังการตายมีความสดอยู่ในระดับสูงสุด จากนั้นความสดจะลดลงเรื่อยๆ ซึ่งมีลักษณะความสดของกุ้งกุลาดำที่สำคัญสามารถจำแนกได้ดังนี้

1.4.1 **คุณภาพที่แสดงออกทางลักษณะภายนอก** (external quality)

ลักษณะต่างๆ ที่สามารถตรวจสอบได้คือ รูปร่างที่คงรูปปกติ สีสดใสตามพันธุ์ของกุ้งกุลาดำ ซึ่งอาจมีได้ตั้งแต่ สีฟ้าจนถึงสีน้ำตาลดำ เหงือกสีขาวใส ตากลมนูน สีดำเป็นประกาย เปลือกแข็งเรียบเป็นมันติดแน่นกับเนื้อ และปราศจากตำหนิ เช่น รอยถลอกต่างๆ หรือแผลดำที่เกิดจากโรคบางชนิด นอกจากนี้ต้องมีกลิ่นสดตามธรรมชาติของกุ้งกุลาดำที่จับใหม่ๆ ซึ่งมีกลิ่นคล้ายสาหร่ายทะเลหรือกลิ่นทะเลและไม่ควรมีกลิ่นแปลกปลอม เช่น กลิ่นโคลนหรือหญ้าหมัก เมื่อทำให้สุกควรมีรสชาติดี กลิ่นหอม รสหวาน สำหรับลักษณะเนื้อสดควรเป็นเงา สีใส เนื้อสัมผัสแน่นยืดหยุ่น เมื่อทำให้สุกชิ้นเนื้อจะเกาะกันแน่น ไม่ยุ่ย เละ (ประเสริฐ สายสิทธิ์, 2527)

1.4.2 **คุณภาพที่แสดงออกทางลักษณะภายใน** (internal quality)

องค์ประกอบทางเคมี คุณค่าทางอาหาร สารประกอบต่างๆ รวมทั้งสารพิษที่เกิดจากจุลินทรีย์ จะต้องไม่สูงกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกุ้งแช่เยือกแข็งที่กำหนด เช่น จะต้องมีปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดไม่เกิน 30 มิลลิกรัม/100 กรัม และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีได้ไม่เกิน 10^6 โคโลนี/กรัม (มอก., 2533) ตามข้อกำหนดมาตรฐานความสดของสินค้าสัตว์น้ำชนิดมีเปลือกแข็งของประเทศเกาหลี จะต้องมีปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดไม่เกิน 25 มิลลิกรัม/100 กรัม ส่วนในประเทศญี่ปุ่นอาหารทะเลแช่เยือกแข็งต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีได้ไม่เกิน 10^5 โคโลนี/กรัม ไม่มีแบคทีเรียพวก Coliform และต้องมีปริมาณซัลไฟต์ได้ไม่เกิน 100 ส่วนในล้านส่วน รวมทั้งต้องไม่พบสารปฏิชีวนะใดๆ ซึ่งตามข้อกำหนดของประเทศสหรัฐอเมริกากำหนดให้กุ้งแช่เยือกแข็งต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีได้ไม่เกิน $5x10^5$ โคโลนี/กรัม ไม่มีแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรค โดยเฉพาะ *Salmonella spp.*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *E.coli* (กองอาหารส่งออก, 2541 อ้างโดย สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544)

1.5 ดัชนีบ่งชี้คุณภาพของกุ้ง

1.5.1 คุณสมบัติทางกายภาพ

นอกจากสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีและความแน่นของเนื้อแล้ว ค่าความเป็นกรดด่างก็เป็นคุณสมบัติทางกายภาพซึ่งอาจนำมาใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพและความสดกุ้งได้ โดยทั่วไปในระยะที่เนื้อสัตว์มีความสดสูงสุดนั้นจะมีความเป็นกรดด่างเป็นกลางคือประมาณ 6.8–7.0 (Jay,1987 อ้างโดย สุนิสา ศรีพงษ์พันธ์กุล, 2535) ในระหว่างสภาวะการเกร็งตัวค่าความเป็นกรดด่างอาจลดลงเล็กน้อย เนื่องจากมีการสะสมของกรดแลคติกแต่จะเพิ่มขึ้นอีกครั้งเมื่อเกิดการสะสมของสารประกอบไนโตรเจนจากกิจกรรมของแบคทีเรียเพิ่มขึ้น จากการรายงานพบว่าค่าความเป็นกรดด่างของกุ้งมีค่าตั้งแต่ 6.80-7.60 ซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของกุ้ง ค่าความเป็นกรดด่างของสัตว์น้ำแต่ละชนิดมีความแปรปรวนสูงและแม้แต่สัตว์น้ำชนิดเดียวกันก็อาจมีความแตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นอีกหลายประการ เช่น การเปลี่ยนแปลงฤดูกาล วิธีการจับ รวมทั้งการเก็บรักษา ดังนั้นจึงไม่สามารถหาค่าความเป็นกรดด่างมาตรฐานเพื่อกำหนดคุณภาพของสัตว์น้ำอย่างแม่นยำได้ (Flores and Crawford, 1973)

1.5.2 คุณสมบัติทางเคมี

1.5.2.1 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB)

ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ความสดของกุ้งได้เนื่องจากสารประกอบเหล่านี้เป็นผลิตผลจากกิจกรรมของแบคทีเรีย ดังนั้นจึงมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาและวิธีการเก็บรักษา (Cobb III *et al.*,1973) แต่ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดไม่สามารถใช้บ่งบอกการเสื่อมเสียของสัตว์น้ำในระยะเริ่มต้นได้เพราะมักพบปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดอย่างเด่นชัดในช่วงที่เกิดการเน่าเสีย (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544) อย่างไรก็ตาม Chen และคณะ (1990) พบว่าด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดมีอยู่แล้วในตัวกุ้ง (*Penaeus monodon*) แม้ขณะนี้ยังมีชีวิตอยู่โดยประมาณ 3.50 มิลลิกรัม/100 กรัม ส่วนการทดลองของ Raiz และ Qadri (1979) พบว่าผลของการเด็ดหัวกุ้งนั้นจะให้ผลแตกต่างกันกล่าวคือ พบว่า กุ้งที่ไม่ได้เด็ดหัวจะมีค่า TVB สูงกว่ากุ้งที่เด็ดหัวเล็กน้อย

1.5.2.2 ปริมาณไตรเมทธิลเอมีน (Trimethyamine, TMA)

ปริมาณไตรเมทธิลเอมีน มีความเหมาะสมสำหรับใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพของสัตว์น้ำได้เนื่องจากมักตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไตรเมทธิลเอมีนของสัตว์น้ำที่มีการเก็บรักษาในสภาวะที่ไม่ใช่การแช่เยือกแข็ง (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544) มาตรฐานของประเทศออสเตรเลียและญี่ปุ่นกำหนดว่ากุ้งที่ใช้บริโภคภายในประเทศต้องมีปริมาณไตรเมทธิลเอมีนไม่เกิน 5 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง (Montogmery *et al.*, 1970 อ้างโดย สุนิสา ศรีพงษ์พันธุ์กุล, 2535) การใช้ปริมาณไตรเมทธิลเอมีนเป็นตัวกำหนดคุณภาพของสัตว์น้ำ ต้องพิจารณาถึง ชนิดของสัตว์น้ำ ระยะการเสื่อม

เสีย แหล่งที่จับสัตว์น้ำ ช่วงระยะเวลาที่จับสัตว์น้ำ ชนิดของการแปรรูปสัตว์น้ำ รูปแบบการเก็บรักษา และวิธีการวิเคราะห์ (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544)

1.5.3 **คุณสมบัติทางด้านจุลินทรีย์**

จำนวนจุลินทรีย์ในกุ้งขณะยังมีชีวิตหรือหลังการตายใหม่ๆ ส่วนใหญ่อยู่ตามบริเวณทางเดินอาหาร เหงือก และระยาง ประกอบด้วย *Vibrio*, *Klebsiella*, *Yersinia* และ *Pseudomonas* สำหรับ *Aeromonas*, *Enterobacter* และ *Plesiomonas* พบจำนวนเล็กน้อย (ภัทราพร ยุธาชิต และคณะ, 2533) เนื่องจากแหล่งที่มาของจุลินทรีย์เริ่มต้นในกุ้งอาจเป็นชนิดที่อาศัยในตัวกุ้งเองและการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น พื้นดิน น้ำ อาหาร ดังนั้นจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบจะขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ชนิดของกุ้ง แหล่งที่จับ แหล่งที่มา (กุ้งจากการเพาะเลี้ยง และกุ้งจากแหล่งธรรมชาติ) วิธีการจับ ฤดูกาล และระยะเวลาในระหว่างการจับจนถึงการสุ่มตัวอย่าง ดังนั้นการใช้ชนิดและนับจำนวนจุลินทรีย์เป็นดัชนีบ่งความสดของกุ้งจึงมีความไม่แน่นอน แต่สามารถใช้เป็นข้อมูลที่สามารถนำมาใช้เป็นเครื่องบ่งชี้แสดงความปลอดภัยในการบริโภคได้ เช่น แบคทีเรียในกลุ่ม *Coliforms*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. เป็นต้น (สุนิสา ศรีพงษ์พันธุ์กุล, 2535) โดยมีระดับมาตรฐานของจุลินทรีย์แต่ละชนิด แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงระดับมาตรฐานของปริมาณของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆในกุ้งแช่เยือกแข็งตามมาตรฐานเลขที่ มอก.165

Standard level of microorganism in black tiger shrimp frozen product follow Thai industrial standard 165

Type of microorganism	standard level
Total viable count (colony/g)	$< 1x10^6$
Escherichia coli (MPN/g)	$< 4x10^3$
Staphylococcus aureus (colony/g)	$< 5x10^3$
Salmonella spp.	no detected in 25 g of sample

Source: Thai industrial standard (1990)

1.5.4 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

เป็นการประเมินค่อนข้างยากเนื่องจากเป็นการตรวจสอบคุณภาพโดยการใช้ประสาทสัมผัส คือ การดมกลิ่น การสัมผัส และการมองเห็น จากนั้นจึงนำเอาผลของการตรวจสอบมารวมเป็นคุณภาพรวมทั้งหมด การตรวจสอบทางประสาทสัมผัสจะเป็นวิธีการวัดคุณภาพทางตรง มักต้องใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนมาเป็นที่เรียบร้อยแล้ว ซึ่งสามารถตรวจสอบคุณภาพได้อย่างแม่นยำและรวดเร็วทั้งในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ที่สำเร็จรูป นิยมตรวจสอบเพื่อกำหนดราคาวัตถุดิบ (นงลักษณ์ สุทธิวานิช , 2531) การตรวจสอบทำได้โดยการประเมินคุณภาพของกุ้งในด้านกลิ่น ลักษณะปรากฏ สี และลักษณะเนื้อสัมผัส แล้วทำการให้คะแนน (1-4 คะแนน) โดยที่ระดับคะแนนมากแสดงว่ากุ้งยังคงความสดและมีคุณภาพสูง (กฤษณา โสภณพงษ์, 2538)

2. กระบวนการใช้ความดันสูง (High pressure processing)

การใช้ความดันสูงเป็นเทคโนโลยีการผลิตอาหารที่ไม่ได้ใช้ความร้อน โดยอาหารจะได้รับความดันสูงประมาณ 100-1,000 เมกกะปาสคาล (Megapascal, MPa) (Cheftel and Culioli, 1997) และสามารถนำมาใช้ในการแปรรูปอาหารได้ทั้งในสภาวะที่เป็นของแข็งและของเหลว อาหารที่มีการบรรจุในภาชนะบรรจุหรือไม่ก็ได้ อุณหภูมิในระหว่างการแปรรูปสามารถใช้ได้ทั้งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส จนถึงอุณหภูมิมากกว่า 100 องศาเซลเซียส (Farkas and Hoover, 2000) ระบบของช่องอัดความดัน (pressure vessel) จะมีการออกแบบเป็นพิเศษเพื่อให้มีความปลอดภัยในขณะที่ทำการอัดความดัน (Farkas and Hoover, 2000) การใช้ความดันสูงใช้เวลาในการผลิตสั้นมาก คืออยู่ในช่วง 2–30 นาที (พันธ์จิต พัฒโนภาษ, 2541) ขณะที่การใช้ความร้อนมีผลทำให้เกิดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ และเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี และคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสในระหว่างการแปรรูปได้ (Fellows, 1990)

2.1 การประยุกต์ใช้ความดันสูงในกระบวนการแปรรูป

โดยทั่วไปได้มีการนำเทคโนโลยีความดันสูงมาใช้ในอุตสาหกรรมพวกเซรามิก ซูเปอร์อัลลอยด์ การทำเพชรเทียม (Cheftel and Culioli, 1997) และพบว่าการใช้ความดันสูงได้รับความสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้ในงานทางด้านชีวเคมีและทางอาหาร โดยในปี 1899 นักชีวเคมีชาวอเมริกันชื่อ Bert Hite ได้ทำการทดลองให้ความดันที่ระดับ 700 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิห้องแก่น้ำนมพบว่าสามารถลดจำนวนปริมาณแบคทีเรียในน้ำนมจาก 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เหลือ 10^1 ถึง 10^2 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (พันธ์จิต พัฒโนภาษ, 2541) นอกจากนี้เทคโนโลยีความดันสูงที่ระดับ 410-820 เมกกะปาสคาล สามารถนำมาใช้ในการถนอมรักษาผลิตภัณฑ์นมและผลไม้ (Hite *et al.*, 1989 อ้าง

โดย Knorr, 1999) เทคโนโลยีดังกล่าวมีการพัฒนาขึ้นในประเทศญี่ปุ่นและเป็นเทคโนโลยีที่กำลังเป็นที่นิยมในยุโรปในขณะนี้ อาจเรียกชื่ออีกอย่างว่า พาสเจอร์ไรเซชั่นแบบเย็น (Cold Pasteurization) (พันธ์จิต พัฒโนภาษ, 2541)

บางประเทศเริ่มมีการทดลองนำเทคโนโลยีนี้มาใช้ในกระบวนการผลิตอาหารระดับเล็กๆ (small-scale) ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่นใช้ในกระบวนการผลิตอาหารกลุ่มผลไม้ ประเทศฝรั่งเศสใช้ในการผลิตน้ำส้ม และประเทศสหรัฐอเมริกาใช้ในการผลิต อโวกาโดรสเปรด ต่อมาในประเทศญี่ปุ่นได้นำมาประยุกต์ใช้ในอาหารทะเล เช่น ปลาหมึก (Nagashima *et al.*, 1993) หอยนางรม กุ้ง เนื้อปู (Mermelstein, 2000) และเทคโนโลยีนี้ทำให้เชื้อจุลินทรีย์และปรสิตในเนื้อปลาดิบลดลงได้โดยจะต้องเก็บในสภาวะเย็นและสามารถเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคปลาดิบได้มากขึ้น (Cheftel and Culioli, 1997) ได้มีการศึกษาถึงผลของความดันสูงต่อการลดจำนวนจุลินทรีย์ในอาหารพบว่าจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความสามารถในการทนความดันได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เช่น สปอร์ของแบคทีเรียและไวรัสบางชนิดสามารถทนต่อความดันสูงและยังมีชีวิตรอดภายใต้ความดันระดับสูงกว่า 1,000 เมกกะปาสคาล โดยสปอร์สามารถทนทานได้มากกว่าเซลล์ของจุลินทรีย์ สปอร์จะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตได้เมื่อเกิดการงอกของสปอร์แล้วเท่านั้น การทำลายเซลล์ของแบคทีเรียและสปอร์ที่งอกแล้วจะทำได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อมีการให้ความดันสูงกับต่ำซ้ำๆ กัน (Oscillatory pressurization) การให้ความดันร่วมกับอุณหภูมิ หรือการใช้ร่วมกับสภาวะอื่น เช่น การใช้คลื่นอัลตราโซนิค การใช้กระแสไฟฟ้าสูงเป็นช่วงๆ การใช้เอธานอล ไลโซไซม์ ไคโตแซน กรดซอร์บิค และกรดเบนโซอิค (Mozhaev *et al.*, 1994) แต่พบว่าเทคโนโลยีความดันสูงนี้มีอุปสรรคสำคัญคือ อัตราการผลิตต่ำและค่าใช้จ่ายสูง อย่างไรก็ตามในปัจจุบันสามารถนำมาใช้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรมได้ เนื่องจากได้มีการพัฒนาปรับปรุงเครื่องจักรการผลิตให้มีอัตราการผลิตสูงขึ้น (พันธ์จิต พัฒโนภาษ, 2541) โดยพบว่าต้นทุนในการผลิตเมื่อใช้สภาวะ 400 เมกกะปาสคาลที่ 20 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มีค่า 0.1-0.5 ยูโรต่อกิโลกรัมของอาหาร ซึ่งมีต้นทุนต่ำกว่าการผลิตแบบให้ความร้อน (Cheftel and Culioli, 1997)

2.1.1 ข้อได้เปรียบและข้อจำกัดในการใช้ความดันสูง

ความดันสูงมีผลต่อองค์ประกอบของอาหาร อัตราการเกิดปฏิกิริยา ความสามารถในการผ่านเมมเบรน และการเปลี่ยนแปลงเฟสของระบบอาหาร (Knorr, 1999) การอัดความดันจะเกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอทั่วทุกจุดของอาหารโดยจะไม่ขึ้นกับรูปร่าง ขนาดและองค์ประกอบของอาหาร ดังนั้นขนาด รูปร่าง และองค์ประกอบภาชนะบรรจุก็จะไม่มีผลต่อประสิทธิภาพในการใช้ความดันสูง (Farkas and Hoover, 2000) ซึ่งเป็นข้อได้เปรียบหลักที่ดีกว่ากระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนที่มีข้อจำกัดด้วยขนาดและรูปร่างของอาหาร เช่น การลดขนาด ทำให้เพิ่มความสามารถในการถ่ายโอนความร้อน

และการถ่ายโอนมวล แต่มีผลต่อการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ การแปรรูปที่ไม่ขึ้นกับรูปร่างของอาหารไม่เพียงแต่จะช่วยลดความรุนแรงของกระบวนการผลิตอาหารอีกทั้งยังทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพดีด้วย เพิ่มความยืดหยุ่นของกระบวนการผลิตและตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคในการบริโภคอาหารที่ไม่ต้องการลดขนาดให้มีขนาดเล็ก (Knorr, 1999)

ความดันสูงสามารถใช้ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์หรือกิจกรรมของเอนไซม์ในอาหารได้ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) หรือที่อุณหภูมิต่ำกว่า การแปรรูปได้ที่สภาวะอุณหภูมิต่ำสามารถช่วยคงคุณภาพด้านโภชนาการและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของวัตถุดิบ (Knorr, 1999) เช่น การใช้ความดันที่ระดับ 400 เมกกะปาสคาล นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในกระบวนการลวกมันฝรั่งขนาด 6 ลูกบาศก์เซนติเมตร พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณวิตามินซีหลงเหลืออยู่ร้อยละ 85 และมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่แข็งกว่าผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการลวกด้วยการใช้น้ำร้อนหรือการใช้ไอน้ำร้อน (Eshtiaghi and Knorr, 1993)

นอกจากนี้ความดันสูงยังมีความปลอดภัยต่อสภาวะแวดล้อมและเป็นเทคโนโลยีที่ไม่เกิดขยะ ส่วนกระบวนการให้ความร้อนทำให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม เช่น น้ำที่ได้จากการลวกอาหาร อย่างไรก็ตามการใช้ความดันสูงอาจยับยั้งกิจกรรมของเชื้อจุลินทรีย์และกิจกรรมของเอนไซม์ที่อยู่ในอาหารได้ไม่สมบูรณ์ ดังนั้นอาจใช้ความดันสูงร่วมกับสภาวะอื่น เช่น ความร้อน เพื่อเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคอาหารและยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ได้อย่างสมบูรณ์ (Knorr, 1999) ข้อได้เปรียบและข้อจำกัดของการใช้ความดันสูงในกระบวนการแปรรูปอาหาร แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ข้อได้เปรียบและข้อจำกัดของการใช้ความดันสูงในกระบวนการแปรรูปอาหาร

Advantages and limitations of high pressure treatment for food processing operations.

Treatment	
Advantages :	
- Instant response	- Immediate distribution throughout product (in the absence of gas)
- Even distribution	- Independence of sample size and geometry
- Low / ambient temperature	- Reducing thermally generate quality reduction/losses
- Application affects (directly) mainly non-covalent bonds	- Quality retention (i.e., flavor, color, nutrients)
- Increased reaction rate	- Increased bioconversion rates, increased metabolite production, improved separation processes
- Affects phase transition	- Process and product development (i.e., gelling, melting, crystallization)
- Degassing	- Improved heat transfer, reduced oxidation
- Membrane permeabilization	- Aids separation processes
- Waste-free technology	- Environmentally friendly processes
- Volumn compression	- Compacting, forming, coating
- Affect enzyme activity	- Food preservation
- Affects microbial activity	- Food preservation
- Differs from thermal effects	- Selective process/product development (i.e., pressure induced gelling)
- Adiabatic heating	- Additional temperature effect
- pH reduction	- Additional pH effect
Limitations :	
- Membrane permeabilization	- Stress reaction (plants, microorganisms), texture effects
- Residual enzyme activity	- Quality effects
- Incomplete microbial inactivation	- Safety and quality effects
- Reaction enhancement	- Quality effects (i.e., enzymatic browning)
- Temperature effects	- Adiabatic heating, heat of fusion
- Volumn effects	- Compression of water

Source: Knorr (1999)

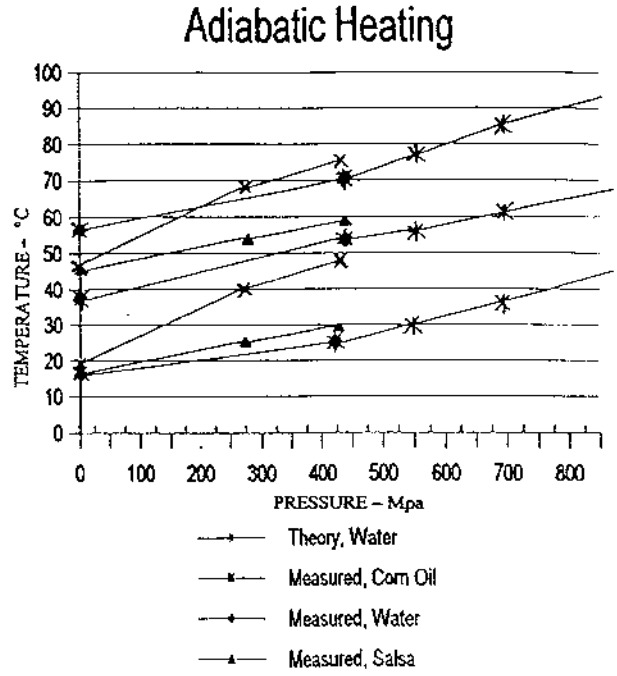
2.1.2 Adiabatic heating

การอัดความดันจะมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิของอาหาร โดยทำให้เกิด Adiabatic heating ขึ้นได้ 3 องศาเซลเซียส เมื่อมีการให้ความดันทุกๆ 100 เมกกะปาสคาล ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของอาหาร เช่น อาหารที่มีไขมันอัตราการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิก็จะมากขึ้น ดังภาพที่ 3 เมื่อมีการลดความดันอาหารจะเย็นลงจนถึงอุณหภูมิเริ่มต้นที่มีการให้ความดัน ถ้าไม่มีการสูญเสียความร้อนไปในช่วงที่มีการคงความดัน (Farkas and Hoover, 2000)

อาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบน้อยกว่าร้อยละ 25 และมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันจะมีอัตราเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิกระจายทั่วทั้งชิ้นของอาหารและอุณหภูมิสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ซึ่งเกิดจากการถ่ายโอนความร้อนของอาหารไปยังผนังหรือถ่ายโอนจากผนังของช่องอัดความดัน ดังนั้นช่องอัดความดันที่ดีจะต้องมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ (isothermal) (Farkas and Hoover, 2000)

2.2.3 **การลดลงของปริมาตร**

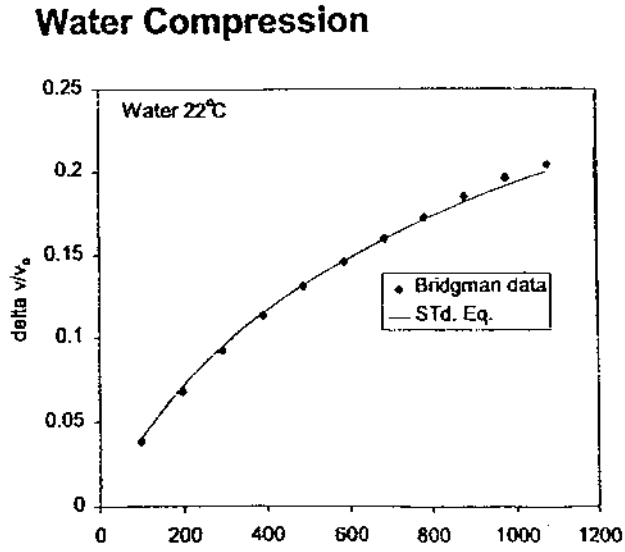
การให้ความดันทำให้เกิดการลดลงของปริมาตรของอาหาร และมีการขยายตัวกลับมาเหมือนเดิมเมื่อมีการปลดปล่อยความดัน ดังนั้นภาชนะบรรจุที่มีการใช้กับอาหารที่ต้องนำมาให้ความดัน จะต้องสามารถทนการลดลงของปริมาตรได้ถึงร้อยละ 15 และยังคงสภาพเหมือนเดิมได้โดยปราศจากการฉีกขาดของรอยปิดผนึก (Farkas and Hoover, 2000) การลดลงของปริมาตรของอาหารแสดงดังภาพที่ 4 พบว่าขณะที่มีการให้ความดัน ทำให้เกิดการลดลงของปริมาตรของน้ำ (ΔV) จากปริมาตรเริ่มต้น (Vo) โดยเมื่อเพิ่มความดัน การลดลงของปริมาตรของน้ำเกิดได้มากขึ้น



ภาพที่ 3 การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิของน้ำ น้ำมัน และ salsa ซึ่งเป็นผลมาจาก Adiabatic Compression

Increase in temperature of water, corn oil, and salsa as a result of Adiabatic Compression.

Source: Ting (1999 cite through Farkas and Hoover, 2000)



ภาพที่ 4 การลดลงของปริมาตรของน้ำในขณะที่มีการให้ความดัน

Fractional decrease in volumn of water as a function of Imposed Pressure.

Source: Ting (1999 cite through Farkas and Hoover, 2000)

2.2 ผลของความดันสูงต่อโครงสร้างและพันธะภายในโมเลกุลของโปรตีน

ความดันสูงมีผลต่อโครงสร้างโปรตีนโดยในเบื้องต้นจะสัมพันธ์กับการแตกออกของแรงกระทำที่ไม่ใช่พันธะโควาเลนต์ที่อยู่ในโมเลกุลของโปรตีนและภายหลังจะเกิดการสร้างพันธะขึ้นมาใหม่ภายในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุลของโปรตีน อาจกล่าวได้ว่าความดันสูงมีผลต่อโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิ ตติยภูมิ และจตุรภูมิ (Messens et al., 1997) ความคงตัวของพันธะต่างๆในโครงสร้างของโปรตีนแสดงดังตารางที่ 4

ความดันสูงจะมีผลต่อพฤติกรรมของระบบชีวภาพซึ่งจะเป็นไปตามกฎของ Le Chatelier's กล่าวคือ ความดันจะทำให้เกิดการเลื่อนสมดุลของปฏิกิริยา โดยความดันจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาตรในเชิงลบ ($-\Delta V$) ความดันสนับสนุนให้ปฏิกิริยาเลื่อนสมดุลไปข้างหน้าเมื่อมีการลดลงของปริมาตร และจะเกิดมากขึ้นเมื่อเพิ่มความดัน (Mozhaev et al., 1994)

ตารางที่ 4 คุณสมบัติของอันตรกิริยาที่ทำให้เกิดความคงตัวของโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิ ตติยภูมิ และจตุรภูมิ

Properties of the interactions stabilizing the secondary, tertiary and quarternary structures of proteins.

Type of interaction	Energy (Kj / mol)	Functional groups involved	Destabilizing conditions	Stabilizing conditions
Covalent and semi-covalent	330-400(peptide bond) 200 (S-S bond)	NH-CO-(peptide bond) Cystine S-S	Reducing agent : β-mercaptoethanol, dithiothreitol(S-S bonds)	Increased reactivity of SH groups above pH 7
Electrostatic	42-84	Amino acid residues with carboxyl COO- (e.g. Asp, Glu) and amino NH_2^+ (e.g. His, Arg, Lys) groups	Salt solutions, high or low pH values, pressure	
Hydrogen bonds	8-40	H atom of OH or NH (proton donor) group share with CO (proton acceptor) group, e.g. -N-H- - - -O=C -O-H- - - -O=C	Solutions with guanidine HCl, urea or detergents, heating	Cooling
Hydrophobic	4-12	Amino acid residues with aliphatic (e.g. Leu, Ile, Val) or aromatic (e.g. Phe.Tyr) side chains	Detergents, pressure (aliphatic side chains), heating at high temperatures	Moderate heating, pressure (stacking of aromatic side chains
Van der Waals	1-9	Permanent, induced and instantaneous dipoles		

Source: Messens *et al.* (1997)

ความดันสูงจะมีผลต่อแรงกระทำระหว่างโมเลกุลแบบไม่ใช่พันธะโควาเลนต์ โดยแรงกระทำแต่ละชนิดจะมีพฤติกรรมแตกต่างกันภายใต้ความดันสูง แรงกระทำระหว่างประจุ (Electrostatic) ของหมู่ที่มีประจุเป็นแรงกระทำที่เกิดระหว่างกรดนิวคลีอิกและโปรตีน อาจพบการลดลงของปริมาตร เช่น การจับตัวกันแน่นระหว่างขั้วของโมเลกุลน้ำ นอกจากนี้การสร้างแรงกระทำระหว่างประจุจะเกิดจากการดึงน้ำจากอะตอมที่มีประจุ ซึ่งมีผลทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของปริมาตรได้ ดังนั้นจะไม่คงตัวที่สภาวะความดัน การสร้างพันธะไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic interaction) ระหว่างหมู่อะลิฟาติก (aliphatic) เมื่อมีการเพิ่มขึ้นของปริมาตรและถูกทำลายเมื่อมีการเพิ่มความดัน พันธะไฮโดรโฟบิกจะมีบทบาทสำคัญต่อความคงตัวของโครงสร้างโปรตีนตติยภูมิและจตุรภูมิ แต่ถ้าเกิดแรงกระทำกับวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ปริมาตรจะลดลงเล็กน้อย (Mozhaev *et al.*, 1994) โปรตีนโอลิโกเมอริกสามารถแยกออกเป็นหน่วยย่อยเมื่อมีการให้ความดันระดับปานกลาง (น้อยกว่า 150 เมกกะปาสคาล) โดยปกติแล้วจะเกิดขึ้นเมื่อมีการลดลงของปริมาตรมากกว่า 500 มิลลิลิตรต่อโมล แต่อย่างไรก็ตาม โปรตีนโครงสร้างจตุรภูมิอาจเกิดโครงสร้างเชิงซ้อนได้อีกครั้ง โดยการเกิดการแยกตัวของโปรตีนตามด้วยการรวมกลุ่มของโปรตีนหน่วยย่อย เมื่อมีการให้ความดันเพิ่มขึ้นพันธะไฮโดรเจนอาจถูกสร้างขึ้นได้ภายใต้สภาวะความดันเมื่อมีการลดลงของปริมาตรเพียงเล็กน้อย พันธะไฮโดรเจนจะมีความคงตัวต่อความดันสูงทำให้สามารถรักษาโครงสร้างทุติยภูมิได้ แต่อย่างไรก็ตามพันธะไฮโดรเจนอาจถูกทำลายได้เมื่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาตรเข้าใกล้ศูนย์ ในโครงสร้างเกลียวคู่ (double helix) ของ DNA จะคงตัวเมื่อให้ความดันและไม่เกิดการคลายตัวจนกระทั่งให้ความดันมากกว่า 1000 เมกกะปาสคาล ส่วนพันธะโควาเลนต์ของสารชีวโมเลกุลที่มีมวลโมเลกุลต่ำ เช่น เปปไทด์ ลิปิด แซคคาไรด์ ที่เป็นโครงสร้างปฐมภูมิของสารโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิก และ โพลีแซคคาไรด์ จะไม่ถูกทำลายด้วยความดันที่ระดับ 1000–2000 เมกกะปาสคาล เนื่องจากพันธะโควาเลนต์มีความยืดหยุ่นได้เล็กน้อยจึงทนต่อการบีบอัด พันธะไดซัลไฟด์เป็นพันธะที่มีบทบาทสำคัญที่ถูกสร้างขึ้นภายใต้สภาวะความดัน ซึ่งทำให้เกิดการรวมกลุ่ม (aggregation) และการเกิดเจลของโปรตีน โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่สภาวะความเป็นกรดด่างเป็นกลางและเป็นด่าง การเพิ่มขึ้นของการรวมกลุ่มกันของโปรตีนอาจเกิดจากการเพิ่มขึ้นของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลซึ่งเป็นผลมาจากการคลายตัวของโครงสร้างโปรตีนที่สภาวะความเป็นกรดด่างดังกล่าว (Messens *et al.*, 1997)

2.3 ผลของความดันสูงต่อโปรตีนกล้ามเนื้อ

2.3.1 ผลของความดันสูงต่อการเสียสภาพของโปรตีน

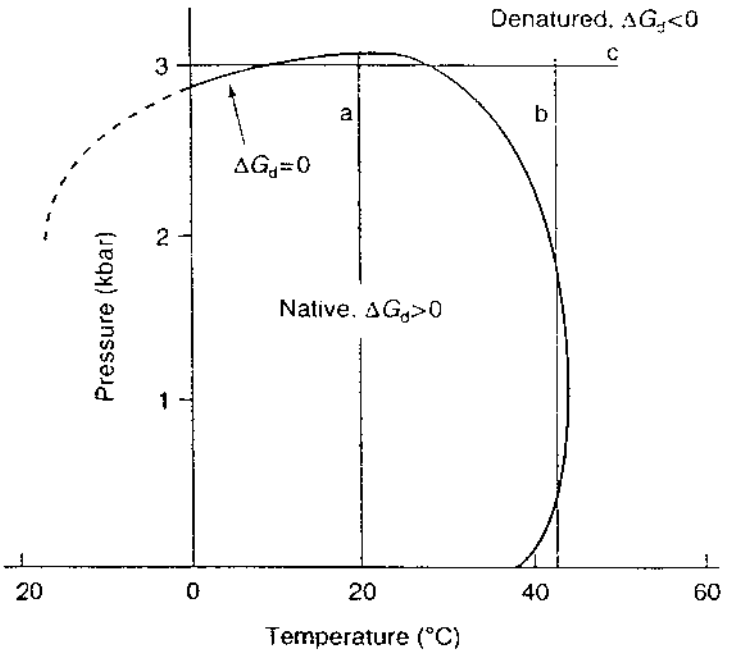
ความดันสูงมีผลต่อโครงสร้างของโปรตีน โดยสามารถทำให้เกิดการเสียสภาพ (denaturation) เกิดการรวมกลุ่มกันของโปรตีน (aggregation) หรือเกิดเจล (gelation) ซึ่งขึ้นอยู่กับระบบของโปรตีน ได้แก่ ชนิดของโปรตีน ความเป็นกรดด่าง ความแรงของไอออน นอกจากนี้ยังขึ้นกับความดันและอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความดันด้วย (Messens *et al.*, 1997) ผลของความดันต่อโปรตีนจะเกิดขึ้นแบบผันกลับได้ระหว่างความดัน 100–200 เมกกะปาสคาล (Cheftel and Culioli, 1997) ขณะที่ความดันมากกว่า 300 เมกกะปาสคาล ทำให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีนอย่างสมบูรณ์ การเสียสภาพของโปรตีนอันเนื่องมาจากอุณหภูมิจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อความดันเพิ่มขึ้นมากกว่า 100 เมกกะปาสคาล และการเพิ่มขึ้นของความดันระดับหนึ่งจะช่วยลดการเสียสภาพของโปรตีนอันเนื่องมาจากความร้อน (Leadley and Williams, 1997)

ที่ระดับความดัน 100–200 เมกกะปาสคาล โปรตีนโอลิโกเมอริก (Oligomeric) และโปรตีนที่ประกอบด้วยหลายหน่วยย่อย (multiprotein) จะเกิดการแยกตัวกัน ซึ่งเป็นผลมาจากความดันมีผลทำลายพันธะระหว่างโปรตีนหน่วยย่อย (subunit) และเกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาตรในเชิงลบเป็นสาเหตุให้เกิดการทำลายพันธะไฮโดรโฟบิกและพันธะไอออนิกที่เกิดระหว่างโปรตีนหน่วยย่อย หลังจากมีการแยกตัวด้วยความดันแล้ว โปรตีนหน่วยย่อยอาจมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปและเกิดการคลายตัวไปบางส่วน เมื่อมีการปลดปล่อยความดันโปรตีนโอลิโกเมอริกมีแนวโน้มที่จะกลับมาขดตัวอีกครั้งอย่างช้าๆ โปรตีนที่มีการเสียสภาพด้วยความดันจะมีการอัดตัวกันแน่นกว่าโปรตีนที่ทำให้เสียสภาพด้วยอุณหภูมิหรือสารเคมี (Mozhaev *et al.*, 1994)

Mozhaev และคณะ (1994) กล่าวว่าความดันและอุณหภูมิเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีน โดยทั่วไปการเสียสภาพของโปรตีนจะเกิดขึ้นที่สภาวะบรรยากาศและอุณหภูมิสูง ซึ่งเกิดการเสียสภาพแบบผันกลับไม่ได้ ความดันทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพได้ที่อุณหภูมิห้องมากกว่าที่อุณหภูมิสูงขึ้น จากภาพที่ 5 บริเวณเส้นกราฟ (contour line) เป็นบริเวณที่มีความเข้มข้นของโปรตีนตามธรรมชาติและโปรตีนที่เสียสภาพที่สมดุลกัน ($\Delta Gd = 0$) ส่วนบริเวณใต้กราฟเป็นบริเวณที่โปรตีนตามธรรมชาติมีความคงตัว ($\Delta Gd>0$) และเหนือเส้นกราฟ เป็นบริเวณที่เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน ($\Delta Gd<0$)

จากภาพที่ 5 เส้น a และ b เป็นบริเวณที่มีอุณหภูมิเท่ากัน (isothemal) และเส้น c เป็นบริเวณที่มีความดันเท่ากัน (isobaric) ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เมื่อเพิ่มความดันมากกว่า 3 กิโลบาร์ (300 เมกกะปาสคาล) (เส้น a) โปรตีนจะเกิดการเสียสภาพและที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส (เส้น b) โปรตีนจะแสดงพฤติกรรมเชิงซ้อน โดยที่สภาวะความดันบรรยากาศโปรตีนส่วนใหญ่อยู่ในรูป

ของโปรตีนที่เสียสภาพ และเมื่อความดันมากกว่า 0.5 กิโลบาร์ (50 เมกกะปาสคาล) ทำให้โปรตีนเปลี่ยนกลับมาอยู่ในรูปของโปรตีนตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้โปรตีนมีความคงตัวต่อการเสียสภาพด้วยความร้อนที่สภาวะความดันสูงและอาจทำให้เอนไซม์ที่สามารถยับยั้งด้วยความร้อนยังคงมีกิจกรรมเหลืออยู่ เมื่อความดันมากกว่า 2 กิโลบาร์ (200 เมกกะปาสคาล) โปรตีนจะเกิดการเสียสภาพอีกครั้ง ในทำนองเดียวกัน อาจจะพบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในลักษณะเดียวกันเมื่อเพิ่มอุณหภูมิโดยที่กำหนดให้ความดันคงที่ที่ระดับ 3 กิโลบาร์ (300 เมกกะปาสคาล) (เส้น c) กลไกการเสียสภาพของโปรตีนจะเกิดขึ้นแบบผันกลับได้หรือไม่สามารถผันกลับได้ ขึ้นกับการเลือกใช้ความดันและอุณหภูมิให้เหมาะสม (Mozhaev *et al.*, 1994)



ภาพที่ ·5 ไดอะแกรมการเปลี่ยนแปลงความดันและอุณหภูมิของ chymotrypsinogen A (ΔG_d คือ พลังงานอิสระของการสูญเสียสภาพ)

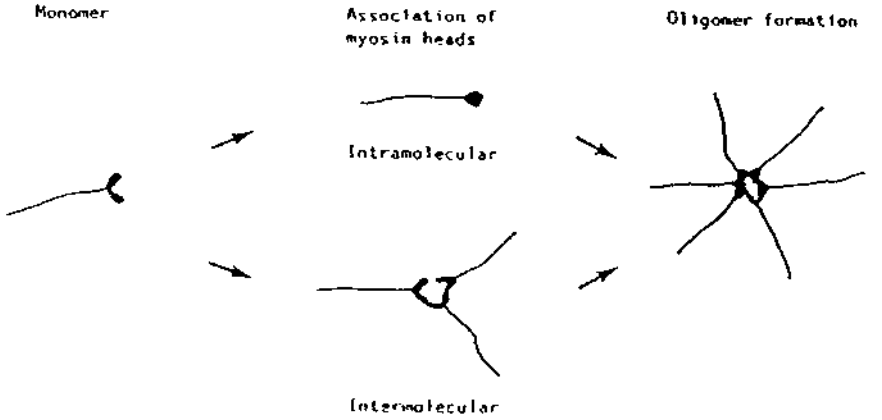
Pressure-temperature transition diagram for chymotrypsinogen A (free energy of denaturation, ΔG_d).

Source: Mozhaev *et al.* (1994)

2.3.2 ผลของความดันสูงต่อการเกิดเจล

การเกิดเจลเป็นผลมาจากการเสียสภาพของโปรตีน ทำให้โปรตีนสูญเสียความคงตัว ทำให้เกิดการสร้างพันธะโควาเลนต์และแรงกระทำที่ไม่ใช่พันธะโควาเลนต์ พันธะไดซัลไฟด์ และพันธะไฮโดรโฟบิก Heremans และ Heremans (1989) ได้อธิบายกลไกการเกิดเจลด้วยความดันว่า ในระยะแรกพันธะไฮโดรโฟบิกซึ่งเป็นพันธะที่ทำให้โครงสร้างโปรตีนธรรมชาติมีความคงตัวจะถูกทำลายด้วยความดัน เนื่องจากการสร้างพันธะไฮโดรโฟบิกทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของปริมาตร เมื่อมีการให้ความดันสูงขึ้นจะทำลายพันธะนี้มากขึ้นโดยทำให้เกิดการเปิดออกของโครงสร้างโปรตีน ทำให้หมู่ที่ไม่ชอบน้ำถูกปลดปล่อยออกมาในสารละลาย การสูญเสียความคงตัวของโปรตีนเนื่องจากความดันทำให้เกิดการลดลงของปริมาตรจากการเกิด electrostriction รอบๆหมู่ที่มีประจุ การเรียงตัวของน้ำรอบๆหมู่ที่ไม่มีขั้วและการละลายของหมู่ที่มีขั้วโดยอาศัยพันธะไฮโดรเจน นอกจากนี้ Gilleland และคณะ (1997) คาดว่าการลดความดันลงจะทำให้หมู่ที่ไม่ชอบน้ำถูกปลดปล่อยออกมาในสารละลายได้น้อยลง การเกิดแรงกระทำระหว่างโปรตีน ได้แก่ พันธะไดซัลไฟด์จะเกิดการสร้างภายใต้ความดัน และพันธะไฮโดรเจนถูกสร้างขึ้นเมื่อมีการลดความดัน และเกิดการสร้างพันธะไฮโดรโฟบิกระหว่างโมเลกุลโปรตีนทำให้เกิดเจลได้เมื่อมีความเข้มข้นของโปรตีนที่เพียงพอ การจัดเรียงตัวของโมเลกุลของน้ำรอบกรดอะมิโนในเจลที่เกิดจากความดันทำให้เกิดเป็นลักษณะเป็นเงามัน (glossy) และเจลมีลักษณะโปร่งใส (transparent) มีคุณสมบัติในการอุ้มน้ำได้ดี มีความแน่นเนื้อ นุ่มแต่มีความเหนียวและยืดหยุ่นมากกว่าเจลที่ได้จากการใช้ความร้อน (Cheftel and Culioli, 1997)

Yamamoto และ คณะ (1993) ได้ตรวจสอบการเกิดเจลของสารละลายไมโอซินในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.5 โมลต่อลิตร ที่ความเป็นกรดด่าง 6 พบว่าโมเลกุลไมโอซินโดยทั่วไปอยู่ในรูปโมโนเมอร์ที่ประกอบด้วย 2 หัวต่อ 1 โมเลกุลของไมโอซิน ที่ความดัน 140 เมกกะปาสคาล สามารถทำให้ส่วนหัวของไมโอซินเกิดแรงอันตรกิริยาต่อกัน (head-to-head interaction) เกิดเป็นโอลิโกเมอร์ การเพิ่มความดันกลุ่มของไมโอซินจะจับตัวกันแน่นมากขึ้น เมื่อความดันเพิ่มเป็น 210 เมกกะปาสคาล นาน 5 นาที พบว่าจะพบโมเลกุลของไมโอซินที่เป็นโมโนเมอร์อยู่เป็นสัดส่วนที่น้อยกว่าโอลิโกเมอร์ ถ้าเพิ่มระยะเวลาเป็น 30 นาที ไมโอซินไม่สามารถเกิดเจลโดยการให้ความดันเพียงอย่างเดียว ดังนั้นจึงต้องมีการใช้ความร้อนช่วยในการเกิดเจล การให้ความดันจะไม่มีผลต่อโครงสร้างของไมโอซินส่วนหาง และไม่สามารถเชื่อมประสานส่วนหางเข้าด้วยกันได้จึงไม่สามารถเกิดเจลได้อย่างสมบูรณ์ การเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของไมโอซินระหว่างการให้ความดันสูง แสดงดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 การเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของไมโอซินระหว่างการให้ความดันสูง

Schematic diagram for the formation of oligomeric species of myosin molecules by hydrostatic pressure.

Source: Yamamoto *et al.* (1993)

2.3.3 ผลของความดันสูงต่อคุณลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารทะเล

Gilleland และคณะ (1997) พบว่ากรรมวิธีในการผลิตเจลซูริมิจากปลา Alaska Pollack มีผลอย่างยิ่งต่อค่า Tensile strength (stress) แต่มีผลต่อค่า Tensile strain เพียงเล็กน้อยเท่านั้น การบ่ม (setting) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง หลังจากให้ความดันที่ระดับ 300 เมกกะปาสคาล ที่ 5 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เจลมีความแข็งแรงมากขึ้น โดยเจลที่ได้จากการให้ความดันแล้วนำมาบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง แล้วให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที (P/S/C) พบว่ามีค่า Tensile stress มากกว่าการให้ความดัน (P) 5 เท่า และเป็น 2 เท่าของเจลที่บ่มแล้วให้ความร้อน (S/C) การบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ภายหลังจากให้ความดันนั้นจะส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ทรานกลูตามิเนสซึ่งจะทำให้เกิดการเชื่อมประสาน (crosslink) และเกิดเจลในระหว่างการบ่ม เนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ทรานกลูตามิเนสจะขึ้นกับการเสียสภาพของไมโอซิน ซึ่งจะทำให้เกิดการโผล่ของตำแหน่งที่สามารถสร้างพันธะ (binding site) มากขึ้นทำให้เกิดการเชื่อมประสานของไมโอซินได้มาก การเกิด ε-(γ-glutamyl) lysine จะมีความสัมพันธ์กับค่าความแข็งแรงของเจลซึ่งให้ค่าที่สูงขึ้น (Lee *et al.*, 1996 อ้างโดย Gilleland *et al.*, 1997)

Shoji และคณะ (1990) พบว่าการให้ความดันที่ระดับ 200-500 เมกกะปาสคาล ทำให้เกิดเจลของโปรตีนปลา Alaska Pollack ได้ที่อุณหภูมิห้องหรืออุณหภูมิต่ำกว่า ซึ่งเกิดจากการสร้างพันธะระหว่างโมเลกุลโดยส่วนใหญ่จะเป็นพันธะที่ไม่ชอบน้ำ พันธะไดซัลไฟด์และพันธะโควาเลนต์ที่ไม่ใช่พันธะไดซัลไฟด์

Berg และคณะ (1965 อ้างโดย Gilleland *et al.*, 1997) พบว่า พันธะไดซัลไฟด์เป็นพันธะที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดเจลของซูริมิจากปลา Alaska pollack โดยการใช้ความดันสูงที่ระดับ 300 เมกกะปาสคาล สามารถเพิ่มจำนวนของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของไมโอซินที่ใช้ในการสร้างพันธะไดซัลไฟด์อย่างรวดเร็ว ส่วนพันธะโควาเลนต์ชนิดที่ไม่ใช่พันธะไดซัลไฟด์มีบทบาทน้อยมากในระหว่างการให้ความดัน แต่ความดันมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนโครงสร้างของโปรตีนในลักษณะที่ส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ทรานกลูตามิเนสในการเชื่อมประสานโปรตีนด้วยพันธะ ε-(γ-glutamyl) lysine ซึ่งจะเกิดขึ้นในเจลที่ผ่านการเซทตัวที่ 25 องศาเซลเซียส จะทำให้เจลที่ได้มีคุณภาพสูงขึ้น (Gilleland *et al.*, 1997)

Chung และคณะ (1994) ได้ศึกษาการใช้ความดันสูงในการผลิตเจลจากซูริมิปลา Pacific Whiting และ Alaska Pollack โดยนำโซลของปลาทั้ง 2 ชนิด มาให้ความดันและอุณหภูมิที่สภาวะต่างๆ กัน ความดันสูงทำให้เจลของปลา Pacific Whiting และ Alaska Pollack มีคุณภาพดีขึ้น โดยเจลที่ได้มีลักษณะโปร่งใสกว่าเจลที่เซทตัวด้วยความร้อน และค่าความเค้นจะแปรผันตรงกับความดัน ส่วนค่าความเครียดจะแปรผกผันกับความดัน แต่อย่างไรก็ตามบางครั้งสภาวะการให้ความดันและอุณหภูมิมีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มขึ้น เช่น การให้ความดัน 170 กิโลปาสคาล / 50 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เอนไซม์โปรติเอสทำงานได้ดี (Motsumoto and Noguchi, 1992 อ้างโดย Chung *et al.*,1994) ความดันในช่วง 100 และ 200 เมกกะปาสคาล ทำให้เกิดการแตกออกของเมมเบรนของไลโซโซม (lysosomal membrane) ทำให้ปลดปล่อยเอนไซม์ ส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มขึ้น และเกิดการย่อยสลายโปรตีนไมโอไฟบริล ทำให้เจลอ่อนตัวที่อุณหภูมินั้น (Chung *et al.*,1994) การอ่อนตัวของเจลนี้สามารถป้องกันได้โดยการใช้สารยับยั้งเอนไซม์โปรติเอส เช่น Beef Plasma Protein และ ไข่ขาว (Morrissey *et al.*, 1993 อ้างโดย Chung *et al.*, 1994)

Nagashima และคณะ (1993) ได้นำเทคโนโลยีความดันสูงมาปรับปรุงคุณภาพของเจลปลาหมึกซึ่งมีความสามารถต่ำในการเกิดเจลด้วยความร้อน โดยการให้ความดันที่ระดับต่างๆ (200 400 600 800 และ 1000 เมกกะปาสคาล) นาน 20 นาที พบว่าความดันสามารถทำให้เนื้อปลาหมึกเกิดเจลได้เมื่อให้ความดันสูงกว่า 600 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที และเมื่อนำมาให้ความดันที่ระดับต่างๆ แล้วให้ความร้อนสองแบบคือ แบบขั้นตอนเดียวโดยให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 30

นาที และอีกแบบให้ความร้อนสองขั้นตอนคือที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วตามด้วยอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที พบว่าเจลของปลาหมึกที่ผ่านการให้ความดันที่ 400 เมกกะปาสคาล แล้วนำมาให้ความร้อนแบบขั้นตอนเดียวจะให้ค่าแรงที่ทำให้เจลแตก (breaking strength value) สูงกว่าการเกิดเจลด้วยความร้อน 2 เท่า และเจลที่ให้ความร้อนแบบสองขั้นตอนมีค่าต่ำกว่าเจลที่ให้ความร้อนแบบขั้นตอนเดียวแต่มีค่าไม่แตกต่างกันเมื่อให้ความดันที่ 800 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที ก่อนการให้ความร้อน เนื่องจากการให้ความดันที่สูงกว่า 800 เมกกะปาสคาล สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายกล้ามเนื้อปลาหมึก ความดันสูงทำให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีน การสร้างแรงกระทำระหว่างโปรตีนและการเกิดโพลิเมอไรเซชันของไมโอซิน

2.3.4 ผลของความดันสูงต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับคุณลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารทะเล

กระบวนการความดันสูงสามารถนำมาใช้ในการควบคุม การปรับปรุงกิจกรรมของเอนไซม์ช่วยในการปรับปรุงคุณภาพของอาหาร การพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่และกระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์แบบใหม่ได้ ผลของความดันต่อการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ในเบื้องต้นได้ทำการทดลองในปี 1932 โดย Basset และ Macheboeuf ในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ความดันมีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาทางชีวเคมีของเอนไซม์ ซึ่งเกิดมาจากสาเหตุต่างๆดังนี้ (Ashie and Lanier, 2000)

2.3.4.1 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการจับกันของเอนไซม์และซับสเตรท หรือการจับกับลิแกนด์ (enzyme-substrate/ligand binding)

2.3.4.2 การเปลี่ยนแปลงอันตรกิริยา (modulator interaction)

2.3.4.3 การเปลี่ยนแปลงสภาวะกระตุ้น (activation event)

2.3.4.4 การรวมตัวหรือการแยกตัวของโปรตีนหน่วยย่อย (subunit)

2.3.4.5 เกิดการเสียสภาพ

2.3.4.6 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในการจับกับซับสเตรท (substrate binding) ซึ่งจะมีความไวต่อความดันมากที่สุด

กระบวนการเปลี่ยนแปลงปริมาตรที่เกี่ยวข้องกับการจับของลิแกนด์ (ligand binding) อาจส่งเสริมให้เกิดขึ้นหรือเกิดการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ได้ด้วยความดัน เช่น ความดันเร่งให้เอนไซม์ thermolysin จากเชื้อ *Bacillus thermoproteolyticus* เกิดการจับกับลิแกนด์ ในขณะที่เอนไซม์จากเชื้อ *Bacillus subtilis* จะถูกยับยั้ง (Michels *et al.*, 1996 อ้างโดย Ashie and Lanier, 2000)

การเปลี่ยนแปลงปริมาตรเป็นผลมาจากการจัดเรียงตัวของน้ำและโมเลกุลอื่นรอบๆ สารตัวกลาง (medium) ความดันทำให้เกิดการดึงหรือการเติมของกรดอะมิโน (amino acid residues) และลิแกนด์ที่อยู่รอบๆ สารตัวกลาง ความดันมีผลอย่างมากต่อกิจกรรมของเอนไซม์โดยมีผลในหลายๆ ขั้นตอนของการเร่งปฏิกิริยา (Ashie and Lanier, 2000)

Hurtado และคณะ (2001) ได้นำเนื้อปลาหมึกสาย (*Octopus vulgaris*) มาให้ความดันที่สภาวะ 200 300 และ 400 เมกกะปาสคาล นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 7 และ 40 องศาเซลเซียส และได้ทำการเปรียบเทียบการให้ความดันแบบต่อเนื่องกับการให้ความดันเป็นช่วงๆ ช่วงเวลาละ 5 นาที จนครบ 15 นาที ที่ระดับความดัน 400 เมกกะปาสคาล พบว่ากิจกรรมการย่อยสลายตัวเอง (Autolytic activities) มีกิจกรรมลดลงอย่างชัดเจนเมื่อมีการให้ความดันมากกว่า 200 เมกกะปาสคาล และการลดของกิจกรรมเพิ่มขึ้นเมื่อให้อุณหภูมิสูงขึ้น การให้ความดันแบบเป็นช่วงๆ สามารถลดกิจกรรมได้น้อยกว่าการให้ความดันแบบต่อเนื่องอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่ากิจกรรมการย่อยสลายตัวเองของเอนไซม์หลายๆชนิดจะลดลงเมื่อมีการให้ความดันเพิ่มขึ้น (100-300 เมกกะปาสคาล) Angsupanich และ Ledward (1998) พบว่า กิจกรรมการย่อยสลายโปรตีนในปลาคอด (cod) จะลดลงเมื่อมีการให้ความดันเพิ่มขึ้นถึง 800 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิห้อง ถึงแม้ว่าการให้ความดันที่ 200 เมกกะปาสคาล ที่สภาวะความเป็นกรดด่าง 3.3 และ 9.0 กิจกรรมจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งอาจเกิดจากการแตกออกของไลโซโซม ทำให้เกิดการปลดปล่อยเอนไซม์ นอกจากนี้กิจกรรมการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อจะแตกต่างกันไปตามชนิดของเอนไซม์โดย neutral และ alkaline proteinase จะมีความไวมากกว่า acidic proteinase การให้ความดันแบบช่วงๆ ไม่ได้มีประสิทธิภาพในการลดกิจกรรมการย่อยสลายตัวเองเมื่อเทียบกับการให้ความดันแบบต่อเนื่อง แต่รอบของการให้ความดันเพียงแค่ช่วยเพิ่มโอกาสในการยับยั้งเอนไซม์ได้เมื่อระดับความดันเกินกว่าระดับความดันต่ำสุดที่ใช้ในการยับยั้ง (Hurtado *et al.*, 2001)

Ashie และ Simpson (1996) ได้สกัดเอนไซม์จากปลา bluefish และ sheephead แล้วนำมาให้ความดันในช่วง 1000-3000 atm (101.33-303.98 เมกกะปาสคาล) แล้วตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์คาเธปซิน C (cathepsin C), คอลลาจีเนส (collagenase), ไคโมทริปซิน และ ทริปซินจากปลา เปรียบเทียบกับเอนไซม์จากเนื้อวัว พบว่าเอนไซม์ที่ได้จากปลาจะมีความไวต่อการยับยั้งด้วยความดันสูงกว่าเอนไซม์จากเนื้อวัว ความดันที่ 3000 atm (303.98 เมกกะปาสคาล) นาน 30 นาที สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์คาเธปซิน C ในปลา sheephead และ bluefish ได้ร้อยละ 80 และ 91 ตามลำดับ แต่มีผลต่อเอนไซม์จากเนื้อวัวเพียงเล็กน้อย และสามารถยับยั้งเอนไซม์ทริปซินในปลา sheephead และ bluefish ได้ร้อยละ 66 และ 74 ตามลำดับ ส่วนเอนไซม์จากเนื้อวัวสามารถยับยั้งได้ร้อยละ 51 นอกจากนี้ยังได้ตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์จากปลาภายหลังจากให้ความดัน 3000

atm (303.98 เมกกะปาสคาล) นาน 30 นาที ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซิน และ ทริปซินของปลา sheephead จะเพิ่มขึ้นร้อยละ 60 และ 40 ตามลำดับหลังจากเก็บรักษาที่ 21 วัน ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์คาเธปซิน C หลังจากเก็บรักษาที่ 14 วันจะเพิ่มขึ้นร้อยละ 50 แต่กิจกรรมจะลดลงร้อยละ 10 เมื่อเก็บรักษาที่ 21 วัน ส่วนปลา bluefish กิจกรรมของเอนไซม์คาเธปซิน C และทริปซินจะเพิ่มขึ้นร้อยละ 40 และ 45 ตามลำดับหลังจากเก็บรักษาที่ 21 วัน กิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซิน และคอลลาจีเนสจะเพิ่มขึ้นร้อยละ 55 และ 57 ตามลำดับหลังจากเก็บรักษาที่ 14 วัน แต่กิจกรรมของเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดจะลดลงร้อยละ 10 เมื่อเก็บรักษาที่ 21 วัน

Ashie และ Lanier (2000) พบว่าเอนไซม์จากปลาบางชนิดที่อยู่ในน้ำที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส จะมีการเปลี่ยนแปลงของพันธะที่มีอยู่ตามธรรมชาติในโครงสร้างซึ่งแตกต่างจากสัตว์ที่อาศัยในเขตอบอุ่น โดยทั่วไปแล้วเอนไซม์จากสัตว์ที่อาศัยที่อุณหภูมิต่ำจะมีแนวโน้มที่จะถูกทำลายด้วยความร้อนได้ง่ายกว่าแต่มีโครงสร้างที่มีความยืดหยุ่น (flexible) มากกว่าเอนไซม์จากสัตว์ในเขตอบอุ่น (Low and Someo, 1974 อ้างโดย Ashie and Simpson 1996) ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์จากสัตว์ที่อาศัยในเขตอบอุ่นจะมีพันธะไฮโดรเจน พันธะไฮโดรโฟบิกและเกิดการเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์มากกว่า นอกจากนี้โครงสร้างของเอนไซม์ยังประกอบด้วย α-helicity มากกว่าสัตว์ที่อาศัยที่อุณหภูมิต่ำ จะเห็นได้ว่าโครงสร้างที่แตกต่างกันนี้ทำให้เอนไซม์จากอาหารทะเลมีความไวต่อการยับยั้งด้วยความดันสูงมากกว่าสัตว์ในเขตอบอุ่น (Ashie and Lanier, 2000)

นอกจากนี้เมื่อนำเนื้อปลามาผ่านการให้ความดันที่ 1000 atm (101.33 เมกกะปาสคาล) นาน 30 นาที พบว่า trypsin และ chymotrypsin–like enzyme จะสูญเสียกิจกรรมไปร้อยละ 66 และ 77 ตามลำดับ แต่เมื่อให้ความดันที่สภาวะเดียวกันเอนไซม์ที่สกัดได้ (crude extract) จะสูญเสียกิจกรรมของ trypsin และ chymotrypsin–like enzyme ไปร้อยละ 36 และ 7 ตามลำดับ ความดันที่เพิ่มขึ้นจะยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ได้มากขึ้น การให้ความดันจะทำให้การยับยั้งเอนไซม์โปรติเอสในสภาวะที่มีอยู่ในเนื้อปลาแตกต่างจากเอนไซม์โปรติเอสที่อยู่ในรูปของสารละลาย โดยในสภาวะที่อยู่ในรูปของสารละลายการยับยั้งเอนไซม์ส่วนใหญ่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในโมเลกุลของเอนไซม์ ส่วนการยับยั้งเอนไซม์โปรติเอสในสภาวะที่อยู่ในเนื้อปลานอกจากจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงภายในโมเลกุลของเอนไซม์แล้วยังเกิดการสร้างแรงกระทำระหว่างโปรตีนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระหว่างโมเลกุลของเอนไซม์ด้วย (Ashie and Simpson ,1996)

การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับระดับของความดัน ระยะเวลาในการให้ความดัน ชนิดของวัตถุดิบ และชนิดของเอนไซม์ นอกจากนี้ถ้าต้องการปรับปรุงความแน่นเนื้อหรือความแข็งแรงของเนื้อปลาสดสามารถใช้ความดันที่ 2000 atm (202.65 เมกกะปาสคาล) แต่ไม่ควรให้ความดันสูง

และระยะเวลานานกว่านี้จะทำให้เนื้อสัมผัสมีคุณภาพลดลง อาจใช้ความดันร่วมกับสารยับยั้งเอนไซม์โปรติเอสซึ่งได้แก่ α_2-macroglobulin จะทำให้ประสิทธิภาพในการนำเทคโนโลยีความดันสูงมาใช้ได้ดีขึ้น โดยสามารถยับยั้ง endogenous enzyme เพื่อให้ได้เจลปลาที่คงตัวมากขึ้น (Simpson, 1998)

2.3.5 ผลของความดันต่อลักษณะปรากฏ

เมื่อกล้ามเนื้อของปลาได้รับความดันสูง สีของเนื้อปลาจะกลายเป็นสีขุ่นทึบแสง (opaque) โดยกล้ามเนื้อปลาคอด ได้รับความดันในระดับ 608 เมกกะปาสคาล เป็นเวลา 15 นาที ค่า L จะเพิ่มขึ้นและค่า L จะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อให้ความดันเพิ่มขึ้น สำหรับกล้ามเนื้อปลาแมคเคอเรล (mackerel) ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน และค่า a จะลดลงอย่างเด่นชัดเมื่อให้ความดันเพิ่มขึ้นเป็น 608 เมกกะปาสคาล ส่วนค่า b จะไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ (Ohshima *et al.*, 1993)

2.3.6 ผลของความดันต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

Angsupanich และ Ledward (1998) พบว่าการให้ความดันที่ระดับต่ำกว่า 400 เมกกะปาสคาล มีผลเพียงเล็กน้อยต่อการออกซิเดชันของไขมันในกล้ามเนื้อปลาคอด แต่จะมีผลอย่างมากที่ระดับความดันสูงขึ้น โดย Ohshima และคณะ (1992 อ้างโดย Angsupanich and Ledward 1998) และ Tanaka และคณะ (1991) พบว่า ไขมันจากสัตว์ทะเลที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์จะมีความคงตัวต่อการเกิดออโตออกซิเดชัน (autooxidation) ด้วยความดัน แต่ความดันสามารถเร่งการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้เมื่อมีกล้ามเนื้อปลา ทั้งนี้อาจเกิดจากความดันทำให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีนจึงเกิดการปลดปล่อยไอออนของโลหะ ซึ่งส่งเสริมให้เกิดการออกซิเดชันของไขมัน นอกจากนี้ Cheftel และ Culioli (1997) รายงานว่าการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันดังกล่าวจะไม่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในกล้ามเนื้อปลาเนื่องจากเอนไซม์ดังกล่าวจะถูกยับยั้งอย่างมีนัยสำคัญเมื่อให้ความดันมากกว่า 200 เมกกะปาสคาล Cheah และ Ledward (1996) พบว่าเนื้อบดที่ให้ความดันในสภาวะที่มีอากาศมีค่า TBA เริ่มต้นสูงกว่าตัวอย่างที่ให้ความดันในสภาวะที่มีไนโตรเจน แต่เมื่อนำไปเก็บในอากาศพบว่าอัตราการเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างชุดควบคุม แสดงให้เห็นว่าการเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันไม่ได้ขึ้นกับการมีก๊าซออกซิเจนในระหว่างการให้ความดัน นอกจากนี้ Cheah และ Ledward (1996) รายงานว่าการให้ความดันกับเนื้อหมูบดและเนื้อหมูบดที่ผ่านการล้างน้ำ พบว่าตัวอย่างทั้ง 2 ชุดการทดลองเกิดการออกซิเดชันอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับชุดควบคุม แสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบของกล้ามเนื้อทั้งที่ละลายและที่ไม่ละลายน้ำก็สามารถเร่งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งอัตราการเกิดในตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันนั้นจะมีความคล้ายคลึงกับ

ตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที อัตราการเกิดออกซิเดชันของตัวอย่างทั้ง 2 ชุดการทดลองจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อให้ความดันที่ 400 เมกกะปาสคาล และที่ระดับความดันสูงขึ้นมีผลทำให้อัตราการเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ความดันทำให้เกิดการเสียโครงสร้างของเซลล์จึงทำให้เพิ่มปริมาณของไขมันที่ง่ายต่อการเกิดออกซิเดชัน จากการวัด Differential scanning calorometry Reflectance spectrophotometry และ Electrophoresis แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างที่ให้ความดันตั้งแต่ 300-400 เมกกะปาสคาล โปรตีนไมโอไฟบริล และโปรตีนซาร์โคพลาสมิกส่วนใหญ่จะเกิดการเสียสภาพ และเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไมโอโกลบินหรือออกซีไมโอโกลบินให้อยู่ในรูปเหล็กที่เสียสภาพ (denatured ferric) โดยความดันมีผลไปปลดปล่อยไอออนของโลหะจากโลหะที่อยู่ในรูปเชิงซ้อน ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของปริมาณโลหะอิสระซึ่งได้แก่ เหล็ก และทองแดง ซึ่งเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (Cheah and Ledward, 1997) Angsupanich และ Ledward (1998) พบว่ากลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในหมูบดมีความคล้ายคลึงกับในตัวอย่างปลาคอด โดยการเติม Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) ร้อยละ 1 ลงในปลาคอด ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในปลาคอดที่ผ่านการให้ความดัน 800 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที ที่สภาวะที่มีอากาศ ดังนั้นการเกิดออกซิเดชันด้วยความดันทำให้เกิดข้อจำกัดในการใช้ประโยชน์สำหรับเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ซึ่งต้องใช้ภาชนะบรรจุที่เหมาะสมหรือการใช้วัตถุกันหืน (Cheah and Ledward, 1996)

2.3.7 ผลของความดันต่อจุลินทรีย์

กระบวนการให้ความดันสูงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา ปฏิกิริยาทางเคมี กระบวนการทางพันธุกรรม เยื่อหุ้มเซลล์และผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ (Hoover *et al.*, 1992 อ้างโดย Leadley and Williams, 1997) ความดันมีผลต่อองค์ประกอบที่มีอยู่ในเซลล์รวมทั้งเอนไซม์และองค์ประกอบอื่นๆ เช่น ไรโบโซม จะเกิดการเสียสภาพเนื่องจากความดันทำให้เกิดการทำลายพันธะไฮโดรเจน แรงกระทำระหว่างเกลือ (salt bridges) เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งจะนำไปสู่การส่งเสริมให้เกิดการเปลี่ยนความสามารถในการซึมผ่านของสารและทำลายสารพันธุกรรมในเซลล์จึงเป็นผลให้เกิดการยับยั้งจุลินทรีย์ (Isaace and Chilton, 1995)

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการทำลายจุลินทรีย์ด้วยความดันสูง ได้แก่ ระดับและระยะเวลาในการให้ความดัน ชนิดของจุลินทรีย์ อุณหภูมิและธรรมชาติของตัวอย่าง (Patterson *et al.*, 1995 อ้างโดย Leadley and Williams, 1997) เซลล์ในระยะเอกซ์โพเนลเชียลมีความไวต่อความดันมากกว่าเซลล์ในระยะการเจริญคงที่ (Knorr, 1995 อ้างโดย Leadley and Williams, 1997) เนื่องจากขนาดของจุลินทรีย์ในระยะการเจริญคงที่เล็กกว่าและมีรูปร่างกลมมากกว่าจุลินทรีย์ในระยะเอกซ์โพเนลเชียลซึ่ง

มีรูปร่างเป็นรูปแท่งและมีอัตราเมตาบอลิซึมสูงกว่า ดังนั้นจุลินทรีย์ที่อยู่ในระยะที่อัตราเมตาบอลิซึมต่ำจะสามารถลดผลกระทบของความดันต่อสารต่างๆภายในเซลล์ เช่น โปรตีน นอกจากนี้คาร์โบไฮเดรตบางชนิดมีผลต่อการต้านความดันของเซลล์ (Isaace and Chilton, 1995)

Isaace และ Chilton (1995) ได้ทำการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อ *Escherichia coli* โดยการนำของเหลวที่ออกจากเซลล์มาวัดปริมาณสารที่สามารถดูดกลืนแสง UV ที่ 260 นาโนเมตร ได้แก่ โปรตีน กรดอะมิโนชนิดที่มีวงแหวน (aromatic amino acid) เช่น ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ไทโรซีน และทริปโตเฟน (tryptophan) นิวคลีโอไทด์ และสารประกอบพวก ethidium bromide ซึ่งเป็นองค์ประกอบของสายดีเอ็นเอ (DNA) ซึ่งพบว่ามีค่าสูงขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความดันและระดับของการให้ความดัน (2-4 กิโลบาร์) (200-400 เมกกะปาสคาล) จุลินทรีย์ที่อยู่ในระยะการเจริญคงที่จะปลดปล่อยของเหลวที่มีสารที่ดูดกลืนแสง UV ที่ 260 นาโนเมตร น้อยกว่าจุลินทรีย์ที่อยู่ในระยะเอกซ์โพเนลเชียล ความดันที่ระดับต่ำสามารถทำให้เกิดการปลดปล่อยสารที่อยู่ภายในเซลล์อย่างรวดเร็วตามด้วยการแตกสลายขององค์ประกอบของเซลล์ นอกจากนี้ Isaace และ Chilton (1995) ได้นำเชื้อ *Salmonella typhimurium* มาให้ความดันที่ 2.5 กิโลบาร์ (250 เมกกะปาสคาล) แล้วทำการตรวจสอบลักษณะของเซลล์โดยใช้กล้องจุลทัศน์อิเลคตรอน พบว่าเกิดการหายไปของแถบไรโบโซมและเกิดการอัดแน่นของสารภายในไรโบโซม (ribosomal material) ซึ่งอาจเกิดจากความดันทำให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีน นอกจากนี้ยังพบว่าเกิดการหายไปของแถบไรโบโซมจึงสามารถสังเกตเห็นแถบสายของดีเอ็นเอ

Patterson และคณะ (1995 อ้างโดย Leadley and Williams, 1997) พบว่าจุลินทรีย์แกรมบวกทนต่อความดันมากกว่าจุลินทรีย์แกรมลบเนื่องจากจุลินทรีย์แกรมลบมีเยื่อหุ้มเซลล์ที่ซับซ้อนมากกว่าจุลินทรีย์แกรมบวกจึงทำให้มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงต่อสิ่งแวดล้อมเนื่องจากความดันได้มากกว่า นอกจากนี้จุลินทรีย์ชนิดเดียวกันมีความสามารถในการทนต่อความดันได้แตกต่างกันขึ้นกับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ อุณหภูมิในระหว่างการให้ความดันเป็นปัจจัยที่สำคัญในการยับยั้งจุลินทรีย์ การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจะส่งเสริมให้เกิดการงอกของสปอร์จึงทำให้สปอร์มีความไวต่อการยับยั้งด้วยความดัน (Ludwig *et al*., 1992 อ้างโดย Leadley and Williams, 1997) ที่สภาวะอุณหภูมิห้องโดยทั่วไปเซลล์ของจุลินทรีย์ถูกยับยั้งที่ความดัน 294 เมกกะปาสคาล สปอร์ถูกยับยั้งเมื่อใช้ความดัน 589 เมกกะปาสคาล ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส (Bengtsson, 1994 อ้างโดย Leadley and Williams, 1997) การทนความดันของสปอร์จึงเป็นข้อจำกัดในการประยุกต์ใช้ความดันสูงเนื่องจากการใช้ความดันสูงเพียงอย่างเดียวที่สภาวะอุณหภูมิไม่เพียงพอที่จะลดจำนวนของสปอร์ให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (Knorr, 1995 อ้างโดย Leadley and Williams, 1997) จำนวนของสปอร์จะสามารถลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญโดยการให้ความดัน 2 ขั้นตอน โดยการให้ความดันเพื่อ

ทำให้สปอร์งอกแล้วให้ความดันอีกครั้งเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ (Sale *et al.*, 1970 อ้างโดย Leadley and Williams, 1997) ความดันในช่วง 200-400 เมกกะปาสคาล มีความเหมาะสมในการยับยั้งสปอร์ และความดันในช่วง 50-400 เมกกะปาสคาล สามารถทำให้เกิดการงอกของสปอร์ ความดันทำให้เกิดการเสียสภาพของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการงอกของสปอร์ (Mertens, 1992 อ้างโดย Leadley and Williams, 1997)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเปรียบเทียบผลของการใช้ความดันสูงและการใช้ความร้อนต่อคุณลักษณะโปรตีนกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำ
2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติการเกิดเจลของเนื้อกุ้งบดโดยกระบวนการใช้ความร้อน การใช้ความดันสูง และการใช้ความดันสูงร่วมกับการใช้ความร้อน