

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลของกระบวนการให้ความดันสูง ความร้อน และการให้ความดันสูงร่วมกับความร้อนต่อการเกิดเจลของเนื้อกุ้งกุลาดำบด

1.1 ผลของกระบวนการให้ความดันสูง ความร้อน และการให้ความดันสูงร่วมกับความร้อนต่อการเกิดเจลของเนื้อกุ้งกุลาดำบด

1.1.1 ลักษณะปรากฏและค่าสี

ลักษณะปรากฏและค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง-สีเขียว (a^*) และค่าสีเหลือง-สีน้ำเงิน (b^*) แสดงดังภาพที่ 3.1 และตารางที่ 3.1 โดยตัวอย่างเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ไม่ผ่านกระบวนการแปรรูปมีลักษณะเป็นสีเทาขุ่น หลังจากนั้นเมื่อให้ความดัน 400 เมกะปาสกาล นาน 20 นาที เนื้อกุ้งกุลาดำบดสามารถเกิดเจลได้ ซึ่งลักษณะเจลที่ได้ มีความเรียบเนียน เป็นมันวาว และมีการเปลี่ยนแปลงของสีเป็นสีม่วงอมน้ำเงิน และเมื่อให้ความดันเพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดสีแดงของตัวอย่างเพิ่มมากขึ้น สีของตัวอย่างเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดจะเป็นสีม่วงแดง ขณะที่ตัวอย่างเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการให้ความร้อน และตัวอย่างเจลที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับความร้อน มีลักษณะเจลขุ่น ทึบแสง และมีสีชมพูอมส้ม เช่นเดียวกับในการทดลองของ Chung และคณะ (1994) พบว่า เจลซูริมิที่ได้จากปลา อลาสก้าพอลล็อก (Alaska Pollock) และปลาแปซิฟิกไวทิง (Pacific whiting) ที่ผ่านการให้ความดัน มีลักษณะเรียบเนียน เป็นมันวาว ซึ่ง Okamoto และคณะ (1990) พบว่า ความมันวาวและโปร่งแสงของเจลที่ได้จากไข่ไก่ แอกโตไมโอซินของปลาคาร์ฟ เนื้อกระต่ายบด และส่วนของเหลวของโปรตีนถั่วเขียวที่ผ่านการให้ความดันเกิดจากการจัดเรียงตัวของโมเลกุลของน้ำรอบกรดอะมิโนในช่วงที่มีการให้ความดันกับตัวอย่างจึงทำให้เจลที่ได้มีความเรียบเนียนและมันวาว

ส่วนสีของตัวอย่างที่มีการเปลี่ยนแปลงสีจากสีเทาในตัวอย่างเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ไม่ผ่านกระบวนการแปรรูปเป็นสีม่วงอมชมพูในตัวอย่างเจลกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการให้ความดันเพียงอย่างเดียว โดยมีค่าความสว่าง (L^*) อยู่ในช่วง 39.88-44.16 ค่าสีแดง-สีเขียว (a^*) อยู่ในช่วง 4.75-6.84 และค่าสีเหลือง-สีน้ำเงิน (b^*) อยู่ในช่วง (-8.2)-(-14.75) และเปลี่ยนเป็นสีชมพูอมส้มในตัวอย่างเจลกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว และตัวอย่างเจลที่ผ่านการให้ความ

ตารางที่ 3.1 ค่าสี (L^* , a^* , b^*) ของเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการให้ความดัน (400-800 เมกะปาสกาล ที่ อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ความร้อน (ที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (200-800 เมกะปาสกาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)

L^* , a^* and b^* values of black tiger shrimp gel induced by pressure (400-800 MPa, at 28 °C, 20 min), heat (at 90 °C, 20 min) and combination treatment (200-800 MPa, at 28 °C, 20 min/ 90 °C, 20 min)

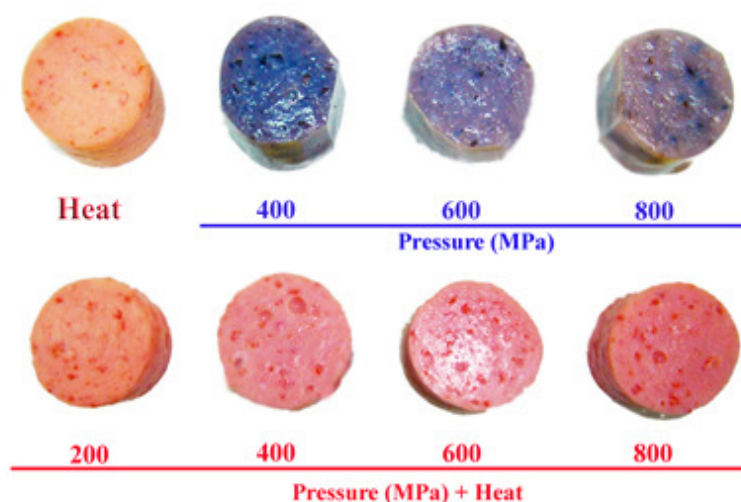
Treatment	Level of Pressure	L^*	a^*	b^*
	(MPa)			
Heat	0.1	61.43±0.25 ^b	22.26±0.06 ^b	10.34±0.15 ^a
	400	39.88±0.06 ^f	5.23±0.12 ^f	-14.75±0.31 ^g
	600	44.16±0.43 ^d	6.84±0.11 ^c	-13.43±0.12 ^f
Pressure	800	40.76±0.22 ^e	4.75±0.09 ^g	-8.2±0.18 ^e
	200	62.88±0.16 ^a	22.96±0.01 ^a	9.67±0.02 ^b
Pressure -	400	61.01±1.05 ^{bc}	20.57±0.10 ^d	2.61±0.40 ^d
	600	61.28±0.26 ^{bc}	20.52±0.09 ^d	2.37±0.19 ^d
Heat	800	60.58±0.38 ^c	21.81±0.03 ^c	3.42±0.19 ^c

Note: Mean ± SD of six determinations.

Different superscripts in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$).

ดันและความร้อน โดยมีค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง-สีเขียว (a^*) และค่าสีเหลือง-สีน้ำเงิน (b^*) อยู่ในช่วง 60.58-62.88 20.52-22.96 และ 2.37-10.34 ตามลำดับ ซึ่งตัวอย่างกลุ่มนี้มีค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง-สีเขียว (a^*) และสีเหลือง-สีน้ำเงิน (b^*) สูงกว่าตัวอย่างเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการให้ความดันเพียงอย่างเดียวอย่างเห็นได้ชัด ($p < 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากสีเทาหรือสีฟ้าของกุ้งกุลาดำตามธรรมชาติเกิดจากความแตกต่างของสัดส่วนขององค์ประกอบของสีน้ำเงินที่อยู่ในส่วนของบลูแคโรทีโนโปรตีน (blue carotenoprotein fraction) กับส่วนสีแดงของแคโรทีนอยด์ (red carotenoid fraction) ที่อยู่ภายในชั้นอิพิทีเลียมของกล้ามเนื้อ (muscular epithelium) โดยมีแอสตาแซนทินอิสระ (free astaxanthin) เป็นแคโรทีนอยด์ที่เป็นองค์ประกอบหลักของแคโรทีโนโปรตีน (Okada *et al.*, 1995) Jencks และ Buten (1964) รายงานว่า รังควัตถุของเปลือกล็อบสเตอร์ (Lobster) สามารถแยกออกเป็น 3 ส่วน คือ แอลฟา-ครัสตาไซยานิน (α -crustacyanin)

เบต้า-ครัสตาไซยานิน (β -crustacyanin) และรงควัตถุสีเหลือง (yellow pigment) โดยแอสทาแซนทิน เป็นหมู่โปรสตีติก (Prosthetic group) ของรงควัตถุทั้งสามส่วน ในสภาวะที่มีสารที่ทำให้โปรตีน สูญเสียสภาพ (denaturing agent) จะทำให้รงควัตถุเปลี่ยนเป็นสีแดงหรือเหลืองขึ้นกับชนิดของสาร ดังนั้นการให้ความดันหรือความร้อนมีผลทำให้โปรตีนสูญเสียสภาพ (Damodaran, 1996) โดยใน ส่วนของบลูแคโรทีโนโปรตีนสูญเสียสภาพ จึงทำให้ปรากฏเป็นสีแดงของแอสทาแซนทิน ทั้งนี้การ ให้ความดันระดับต่ำ (200-400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที) อาจมีผลทำให้โปรตีนสูญเสียสภาพ บางส่วน เจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ได้จึงมีสีม่วงอมน้ำเงิน และเมื่อให้ความดันในระดับสูง (600-800 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที) และความร้อน (90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ทำให้โปรตีนสูญเสีย สภาพมากขึ้นตามลำดับ สีของผลิตภัณฑ์จะปรากฏสีแดงของแอสทาแซนทินเด่นชัดขึ้นเป็นสีม่วงอม ชมพู และสีชมพูอมส้ม ตามลำดับ

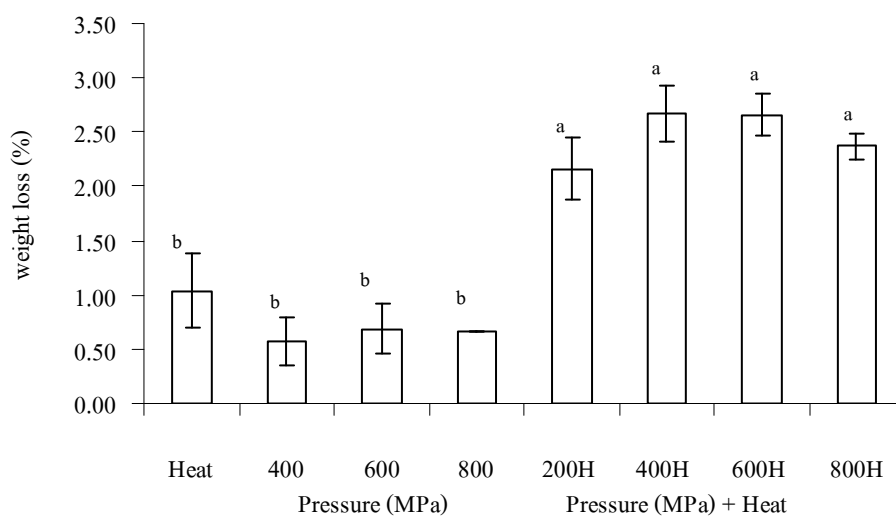


ภาพที่ 3.1 ลักษณะปรากฏของเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการให้ความดัน (400-800 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ความร้อน (ที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (200-800 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)

Appearance of minced black tiger shrimp gels induced by pressure (400-800 MPa, at 28 °C, 20 min), heat (at 90 °C, 20 min) and combination treatment (200-800 MPa, at 28 °C, 20 min/at 90 °C, 20 min)

1.1.2 ค่าการสูญเสียน้ำหนัก

ตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกลาดำบดที่ผ่านการให้ความดันและตัวอย่างเจลที่ผ่านการให้ความร้อนมีการสูญเสียน้ำหนักไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากความดันมีผลทำให้เกิดการเสียดสภาพของโปรตีน จึงทำให้เกิดการสูญเสียน้ำออกจากโครงสร้างของโปรตีนที่ผ่านการให้ความดัน (Hurtado *et al.*, 2001) และการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ มีผลทำให้ความสามารถในการจับน้ำ (water binding capacity) ของโปรตีนจะลดลง โดยอุณหภูมิสูงมีผลทำให้พันธะไฮโดรเจนลดลง และลดการจับกับน้ำของหมู่ที่มีประจุ (Damodaran, 1996) ดังนั้นทั้งความดันและความร้อน จึงมีผลต่อค่าการสูญเสียน้ำหนักของตัวอย่าง ซึ่งส่งผลให้ตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกลาดำบดที่มีการให้ความดันร่วมกับความร้อนมีค่าการสูญเสียน้ำหนักสูงสุด โดยการให้ความดัน ทำให้โปรตีนสูญเสียดสภาพธรรมชาติในระดับหนึ่ง หลังจากนั้นเมื่อให้ความร้อนทำให้เกิดการสูญเสียดสภาพธรรมชาติเพิ่มขึ้น จึงทำให้เกิดการสูญเสียน้ำออกจากตัวอย่างเพิ่มมากขึ้น



ภาพที่ 3.2 ค่าการสูญเสียน้ำหนักของเจลกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการให้ความดัน (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)

Weight loss (%) of minced black tiger shrimp gels induced by pressure (400-800 MPa, at 28 °C, 20 min), heat (at 90 °C, 20 min) and combination treatment (200-800 MPa, at 28 °C 20 min/ at 90 °C, 20 min)

Bars represent the standard deviation of three determinations.

Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

1.1.3 ค่าแรงและระยะทางก่อนเจาะทะลุ (Breaking force and deformation)

เนื้อกุ้งกุลาดำบดสามารถเกิดเจลได้เมื่อให้ความดันตั้งแต่ 400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที หรือให้ความดันตั้งแต่ 200 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที ร่วมกับการให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ขณะที่เนื้อปลาหมึกบดสามารถเกิดเจลได้ที่ความดันตั้งแต่ 600 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที (Nagashima *et al.*, 1993) ปลาอลาสก้าพอลล็อก (Alaska Pollock) สามารถเกิดเจลได้ตั้งแต่ระดับความดัน 200 เมกกะปาสกาล นาน 10 นาที (Shoji *et al.*, 1990) ดังนั้น แสดงว่าการเกิดเจลของสัตว์แต่ละชนิดเกิดได้ในระดับความดันแตกต่างกัน (Pérez-Mateos and Montero, 1997) เนื่องจากโครงสร้างภายในโปรตีนของสัตว์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน เมื่อผ่านการให้ความดันจึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกัน ซึ่งจิตติมา จันทโกศล (2547) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสภาพโปรตีนของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ผ่านการให้ความดันสูงด้วย Differential scanning calorimeter (DSC) พบว่า โปรตีนไมโอซินและแอกตินเกิดการเสียสภาพอย่างสมบูรณ์เมื่อผ่านการให้ความดันที่ระดับ 200 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที ซึ่งต่ำกว่าการเสียสภาพของโปรตีนไมโอซินและแอกตินในเนื้อหมู ซึ่งเกิดการเสียสภาพที่ระดับ 300-400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที (Cheah and Ledward, 1996) และโปรตีนไมโอซินในเนื้อปลาคอดเกิดการเสียสภาพอย่างสมบูรณ์เมื่อให้ความดันที่ระดับ 200 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที ขณะที่แอกตินเกิดการเสียสภาพหลังจากให้ความดันที่ระดับ 400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที (Angsupanich and Ledward, 1998) และ Gilleland และคณะ (1997) ได้อธิบายการเกิดเจลด้วยความดันไว้ว่า ความดันมีผลทำให้โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติโดยเกิดการแยกกันของโครงสร้างโปรตีนจนหมู่ที่สามารถสร้างพันธะ (bind site) อยู่ในตำแหน่งที่เหมาะสม จึงทำให้เกิดการสร้างแรงกระทำระหว่างโปรตีนในระหว่างการให้ความดันและระหว่างการลดความดัน

ค่าแรงและระยะทางก่อนเจาะทะลุ และค่า TPA ของตัวอย่างเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบด แสดงดังภาพที่ 3.3 และตารางที่ 3.2 ตามลำดับ ค่าแรงก่อนเจาะทะลุ (ภาพที่ 3.3A) และค่าความแข็ง (ตารางที่ 3.2) ของเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการให้ความดันมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อให้ความดันตั้งแต่ 400 ถึง 600 เมกกะปาสกาล และมีค่าลดลงเมื่อให้ความดัน 800 เมกกะปาสกาล เช่นเดียวกันในตัวอย่างเนื้อปลาซาร์ดีนบดที่ผ่านการล้างน้ำที่ให้ความดันตั้งแต่ 130-530 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 0-40 องศาเซลเซียส นาน 0-30 นาที มีค่าแรงก่อนเจาะทะลุ งานที่เกิดจากการเจาะทะลุ (work of penetration) และความแข็งเพิ่มขึ้นเมื่อให้ความดันในระดับ 130-330 เมกกะปาสกาล และลดลงเมื่อให้ความดันตั้งแต่ 430-530 เมกกะปาสกาล (Pérez-Mateos and Montero, 1997) และในเจลซูริมีที่ได้จากปลาอลาสก้าพอลล็อก (Alaska Pollock) และปลาแปซิฟิกไวทิง (Pacific whiting) มีค่าแรงเค้นเฉือน (shear stress) เพิ่มขึ้น เมื่อให้ความดันเพิ่มมากขึ้น ตั้งแต่ 100-240 เมกกะปาสกาล (1-2.4

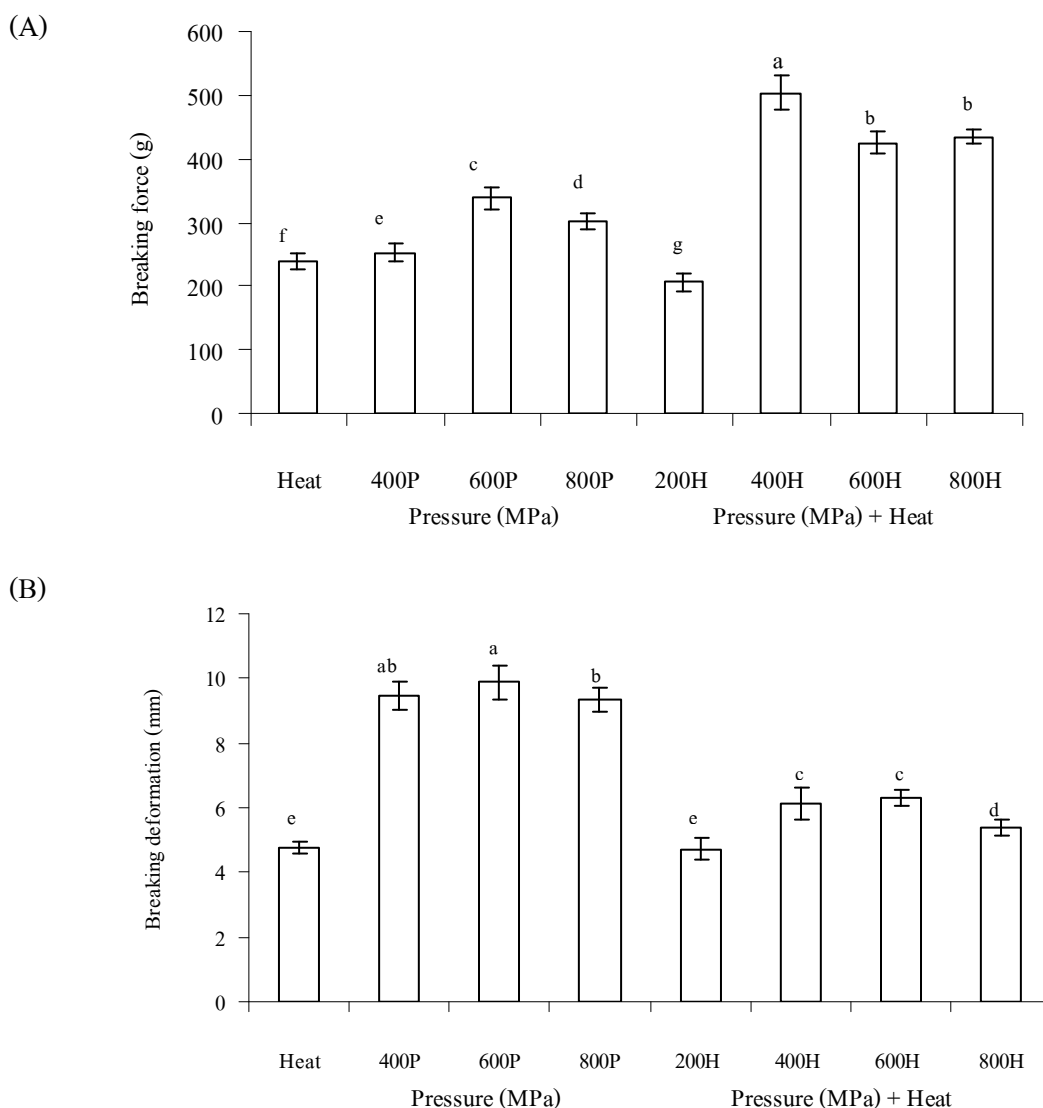
กิโอบาร์) ทั้งที่อุณหภูมิ 28 และ 35 องศาเซลเซียส (Chung *et al.*, 1994) นอกจากนี้ในเจลเนื้อปลาหมึกบดที่ผ่านการให้ความดันตั้งแต่ 600-1000 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิห้อง นาน 20 นาที มีค่าแรงก่อนเจาะทะลุเพิ่มมากขึ้นเมื่อให้ความดันที่ 600-800 เมกกะปาสกาลและมีค่าคงที่เมื่อให้ความดันเพิ่มขึ้นเป็น 1000 เมกกะปาสกาล เนื่องจากความดันสูงมีผลทำให้โปรตีนสูญเสียสภาพอย่างเหมาะสมแล้วทำให้เกิดแรงกระทำระหว่างโปรตีนจนเกิดการรวมกลุ่มของโปรตีน โดยเฉพาะในส่วนไมโอซิน นอกจากนี้ยังมีผลทำให้เกิดการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสจึงทำให้ลดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไมโอซิน (Nagashima *et al.*, 1993)

ส่วนตัวอย่างเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน ยกเว้นที่ระดับความดัน 200 เมกกะปาสกาล มีค่าแรงก่อนเจาะทะลุ และค่าความแข็งของเจลสูงกว่า ตัวอย่างเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการให้ความดันหรือความร้อนเพียงอย่างเดียว โดยตัวอย่างเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการให้ความดันที่ระดับ 400 เมกกะปาสกาลร่วมกับการให้ความร้อนมีค่าแรงก่อนเจาะทะลุ และค่าความแข็งสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Nagashima และคณะ (1993) ที่พบว่า ตัวอย่างเจลเนื้อปลาหมึกบดที่ผ่านการให้ความดันตั้งแต่ 400-1000 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที แล้วให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที มีค่าแรงก่อนเจาะทะลุสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันที่ระดับเดียวกันหรือให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว และในตัวอย่างเนื้อวัวบดที่ผสมเกลือร้อยละ 0.5-3 เมื่อผ่านการให้ความดันตั้งแต่ 50-150 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที แล้วให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที มีค่าแรงสูงสุด (peak force) และงานที่เกิดจากการเจาะทะลุเนื้อวัวบด (penetration work) สูงกว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว (Macfarlane *et al.*, 1984) และตามรายงานของ Ko (1996) พบว่า การให้ความดันที่ระดับ 101.33-506.64 เมกกะปาสกาล (1000-5000 เท่าของความดันบรรยากาศ) นาน 1 ชั่วโมง ก่อนให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ทำให้เนื้อปลาหมึกบด (milkfish) มีความแข็งแรงของเจลสูงกว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันเพียงอย่างเดียวที่ระดับความดันเดียวกัน

ส่วนค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุ (ภาพที่ 3.3B) และค่าการยึดติด (adhesiveness) (ตารางที่ 3.2) ซึ่งแสดงถึงค่าความยืดหยุ่นและความเหนียวของเจล ตามลำดับ พบว่า ในตัวอย่างเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการให้ความดันเพียงอย่างเดียว มีค่าสูงกว่าทั้งในตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อนและตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว ($p < 0.05$) เช่นเดียวกัน ในตัวอย่างเจลซุริมิที่ได้จากปลาอลาสก้าพอลล็อก (Alaska Pollock) มีค่าความเครียด (strain) ในตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันสูงกว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน และตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว (Gilleland *et al.*, 1997) นอกจากนี้ในตัวอย่างเจลเนื้อปลาหมึกบด มีค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุสูงสุดในตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันเพียงอย่างเดียว

เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน และตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว (Nagashima *et al.*, 1993) แต่อย่างไรก็ตามค่าความยืดหยุ่น (springiness) และค่าความยึดเกาะ (cohesiveness) (ตารางที่ 3.2) ซึ่งแสดงถึงความยืดหยุ่นของเจลเช่นกัน (Hamann and Lanier, 1987) ในตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกึ่งด้าบดที่ผ่านการให้ความดัน (ตั้งแต่ 400 เมกกะปาสคาล) และตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดัน (ตั้งแต่ 400 เมกกะปาสคาล) ร่วมกับการให้ความร้อน มีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย แต่มีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว ($p < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าค่าระยะทางก่อนการเจาะทะลุมีความเกี่ยวข้องกับค่าการสูญเสียน้ำหนัก (ภาพที่ 3.2) โดยเมื่อสูญเสียน้ำหนักจากตัวอย่างน้อยแสดงว่า สามารถเก็บกักน้ำไว้ในตัวอย่างได้มากยอมทำให้ตัวอย่างมีความยืดหยุ่นมาก และค่าระยะทางก่อนการเจาะทะลุก็ยิ่งต้องมากด้วย ขณะที่ตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกึ่งด้าบดที่ผ่านการให้ความดันและความร้อนสูญเสียน้ำหนักมาก ส่งผลให้เจลมีความแข็งและแรงก่อนเจาะทะลุสูง ซึ่ง Lanier (1992) ได้กล่าวว่า สมบัติและลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลเกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ของโปรตีนและปริมาณของแข็งที่สามารถกักเก็บน้ำได้

นอกจากนี้ตัวอย่างเนื้อกึ่งกึ่งด้าบดที่ผ่านการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว มีค่าแรงและระยะทางก่อนเจาะทะลุต่ำ เนื่องจากเอนไซม์โปรตีเอสในเนื้อกึ่งกึ่งด้าบดเกิดกิจกรรมมากขึ้นเมื่อให้อุณหภูมิสูงขึ้น โดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดต่าง 8.0 เป็นอุณหภูมิที่เอนไซม์โปรตีเอสของกึ่งกึ่งด้าบดเกิดกิจกรรมได้สูงสุด (ธิติมา จันทโกศล, 2547) นอกจากนี้ ธิติมา จันทโกศล (2547) ยังพบว่าในตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกึ่งด้าบดที่ผ่านการให้ความร้อน 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ภายในอ่างควบคุมอุณหภูมิ อุณหภูมิภายในของตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง 50-70 องศาเซลเซียส ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์และเกิดการย่อยสลายโปรตีนไมโอไฟบริลทำให้ได้เจลที่อ่อนตัว (Chung *et al.*, 1994) และความแตกต่างของเนื้อสัมผัสของเจลที่ผ่านกระบวนการที่แตกต่างกัน อันเนื่องมาจากกระบวนการแปรรูปที่ต่างกันมีผลต่อโครงสร้างของโปรตีนที่แตกต่างกัน



ภาพที่ 3.3 ค่าแรงก่อนเจาะทะลุ (A) และระยะทางก่อนเจาะทะลุ (B) ของเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการให้ความดัน (400- 800 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ความร้อน (ที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (200-800 เมกกะปาสกาลนาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)

Breaking force (A) and breaking deformation (B) of minced black tiger shrimp gels induced by pressure (400-800 MPa, at 28 °C, 20 min), heat (at 90 °C, 20 min) and combination treatment (200-800 MPa, at 28 °C, 20 min/at 90 °C, 20 min).

Bars represent the standard deviation of five determinations.

Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

ตารางที่ 3.2 ลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการให้ความดัน (400-800 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ความร้อน (ที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (200-800 เมกกะปาสกาลนาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)

Texture properties of minced black tiger shrimp gel induced by pressure (400-800 MPa, at 28 °C, 20 min), heat (at 90 °C, 20 min) and combination treatment (200-800 MPa, at 28 °C, 20 min/at 90 °C, 20 min)

Treatment	Level of	Hardness (g)	Adhesiveness (g*s)	Springiness (mm)	Cohesiveness
	Pressure (MPa)				
Heat	0.1	4945.06±358.07 ^c	-2.69±0.36 ^{ab}	0.869±0.010 ^c	0.60±0.05 ^c
	400	3228.61±199.99 ^{cf}	-19.90±7.68 ^d	0.898±0.011 ^b	0.74±0.02 ^b
Pressure	600	4408.88±275.21 ^d	-10.29±5.27 ^{bc}	0.902±0.007 ^{ab}	0.79±0.01 ^a
	800	3500.81±108.46 ^e	-18.41±15.24 ^{cd}	0.907±0.013 ^{ab}	0.78±0.02 ^a
Pressure - Heat	200	3058.61±144.33 ^f	-2.06±1.33 ^{ab}	0.867±0.020 ^c	0.50±0.03 ^d
	400	8833.11±456.69 ^a	-1.11±1.10 ^a	0.920±0.004 ^a	0.75±0.01 ^b
	600	7586.16±201.61 ^b	-0.88±0.58 ^a	0.897±0.029 ^b	0.72±0.02 ^b
	800	7272.30±441.95 ^b	-0.74±0.48 ^a	0.900±0.009 ^{ab}	0.72±0.02 ^b

Note: Mean ± SD of ten determinations.

Different superscripts in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$).

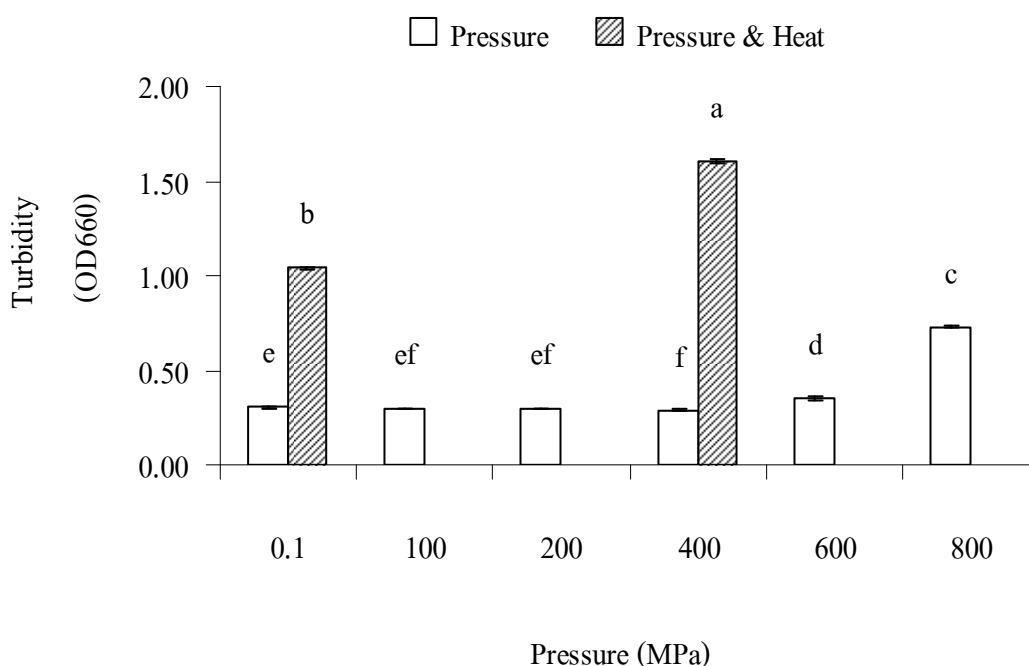
1.2 ผลของกระบวนการให้ความดันสูง ความร้อน และการให้ความดันสูงร่วมกับ ความร้อนต่อการเกิดเจลของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกุ้งกุลาดำ

1.2.1 ความขุ่น

การเปลี่ยนแปลงความขุ่นของสารละลายแอกโตไมโอซินตามธรรมชาติที่ผ่านการให้ความดัน ความร้อน และการให้ความดันร่วมกับความร้อน แสดงดังภาพที่ 3.4 ค่าความขุ่นของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่มีความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 7.0 ไม่มีความเปลี่ยนแปลงเมื่อให้ความดันในตั้งแต่ 0.1-400 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อให้ความดันเพิ่มเป็น 600 เมกกะปาสกาลมีค่าความขุ่นเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ($p < 0.05$) และมีการเปลี่ยนแปลงค่าความขุ่นเป็น 2 เท่าของตัวอย่างแอกโตไมโอซินธรรมชาติเมื่อให้ความดัน 800 เมกกะปาสกาล ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่าความขุ่นหรือค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้ แสดงถึงปริมาณการรวมตัวกันของโปรตีน จึงทำให้เกิดการหักเหแสงที่เปลี่ยนแปลงไป (Chan and Gill, 1994) ดังนั้นความดันที่ 600 และ 800 เมกกะปาสกาล มีผลทำให้โปรตีนแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกุ้งกุลาดำเกิดการรวมตัวกันเป็นตะกอนโปรตีนที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและไม่สามารถละลายได้ ทั้งนี้มีความสอดคล้องกับรายงานของ Yamamoto และคณะ (1994) ที่พบว่าตัวอย่างไมโอซินของกระต่ายมีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ละลายอยู่ในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 6.0 และ 7.0 มีค่าความขุ่นเพิ่มมากขึ้นเมื่อให้ความดันเพิ่มมากขึ้น โดยความดันมีผลทำให้เกิดการแยกของไมโอซินออกจากสายพิวลาเมนต์แล้วมาจับกลุ่มกันจนเกิดเป็นตะกอนโปรตีน จึงทำให้สารละลายมีความขุ่นเพิ่มมากขึ้น และเมื่อมีการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่านพบไมโอซินในรูปแบบโอลิโกเมอร์ (oligomer) และเมื่อมีการตรวจสอบน้ำหนักโมเลกุลของไมโอซินพบว่า ไมโอซินที่ผ่านการให้ความดันที่ระดับ 300-400 เมกกะปาสกาล มีน้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้น 1.5-2.0 เท่า (Ivanov *et al.*, 1960) และ Ishizaki และคณะ (1995) ได้ศึกษาการละลายของโปรตีนในสารละลายไมโอซินของปลาแบล็ค มาร์ลิน (black marlin) และปลาแจ๊คแมคเคอเรล (jack mackerel) ที่มีความเข้มข้น 8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์ พบว่า เมื่อให้ความดันที่ระดับ 300-500 เมกกะปาสกาลมีค่าการละลายลดลง เนื่องจากมีการเกิดตะกอนหรือจับกันของไมโอซินอย่างไม่ผันกลับ ดังนั้นสารละลายจึงมีความขุ่นเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน

นอกจากนี้ตัวอย่างที่มีการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว และตัวอย่างที่ให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อนมีค่าความขุ่นเพิ่มมากขึ้นเป็น 4 และ 6 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างแอกโตไมโอซินธรรมชาติ ดังนั้นแสดงว่าการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียวและการให้

ความดันร่วมกับการให้ความร้อนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบหรือรวมตัวกันเช่นกัน และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงมากกว่าการให้ความดันเพียงอย่างเดียว โดย Benjakul และคณะ (2001) ได้ อธิบายการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของแอกโตไมโอซินธรรมชาติไว้ว่า เมื่อให้ความร้อนส่วนหัวของ ไมโอซินที่จับอยู่กับสายฟิลาเมนต์ของแอกตินเกิดการแยกออกจากสายฟิลาเมนต์แล้วมาจับตัวกันเองจึงเกิดตะกอนของโปรตีน



ภาพที่ 3.4 ค่าความขุ่นของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้น 4

มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 7.0 ที่ผ่านการให้ความดัน (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)

Turbidity of black tiger shrimp natural actomyosin (4 mg/ml in 0.6 M KCl pH 7.0) induced by pressure (0.1-800 MPa, at 28 °C, 20 min), heat (at 90 °C, 20 min) and combination treatment (400 MPa, at 28 °C, 20 min/at 90 °C, 20 min)

Bars represent the standard deviation of three determinations.

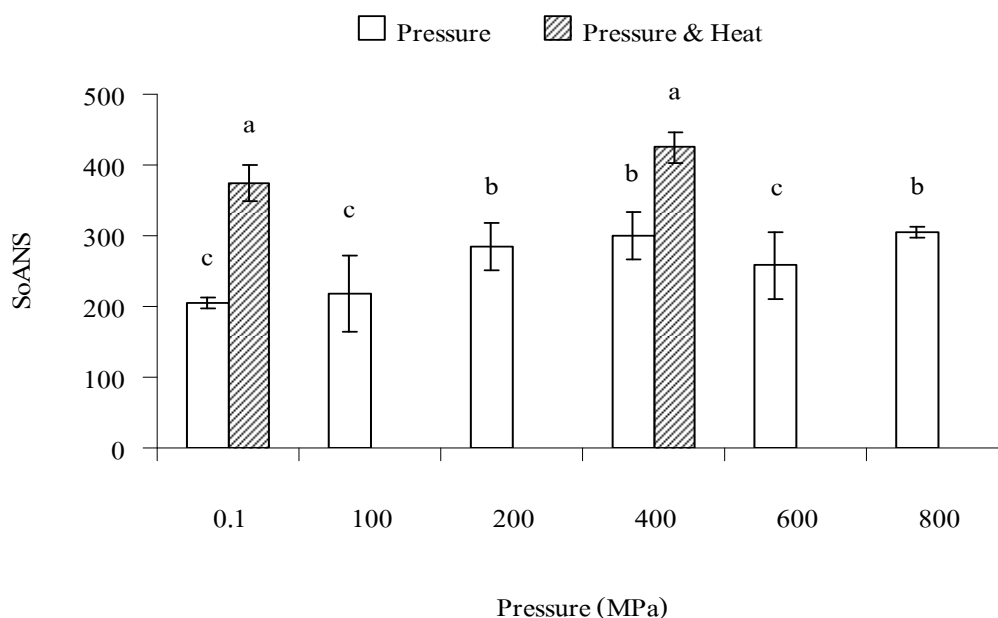
Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

1.2.2 ปริมาณไฮโดรโฟบิกบนพื้นผิว

จากภาพที่ 3.5 แสดงปริมาณไฮโดรโฟบิกบนพื้นผิวของตัวอย่างแอกโตไมโอซินที่ผ่านการให้ความดัน ความร้อน และการให้ความดันร่วมกับความร้อน การเปลี่ยนแปลงของปริมาณไฮโดรโฟบิกบนพื้นผิว แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนแอกโตไมโอซินเมื่อมีการให้ความดันและความร้อน โดยทำให้เกิดหมู่ไฮโดรโฟบิกบนพื้นผิวและสามารถเกิดแรงอันตรกิริยาของหมู่ไฮโดรโฟบิกซึ่งเป็นพันธะที่มีความสำคัญในการเกิดเจล (Chan *et al.*, 1993) ในตัวอย่างแอกโตไมโอซินความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ผ่านการให้ความดันมีปริมาณไฮโดรโฟบิกบนพื้นผิวเพิ่มมากขึ้นเมื่อเพิ่มระดับความดันจาก 100 เป็น 200 เมกกะปาสกาล และมีปริมาณคงที่เมื่อเพิ่มความดันตั้งแต่ระดับ 200-800 เมกกะปาสกาล ($p \geq 0.05$) แต่มีปริมาณมากกว่าแอกโตไมโอซินธรรมชาติ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ko และคณะ (2003) ที่พบว่าเมื่อให้ความดันกับไมโอซินจากปลานิล (*Tilapia*) ในระดับ 50.66-202.65 เมกกะปาสกาล (500-2000 เท่าของความดันบรรยากาศ) ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มีปริมาณไฮโดรโฟบิกบนพื้นผิวเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกันในไมโอซินจากปลาแบล็กมาร์ลิน (*black marlin*) และปลาแจ๊คแมคเคอเรล (*jack mackerel*) ที่มีความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายไปแตสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์ มีปริมาณไฮโดรโฟบิกบนพื้นผิวเพิ่มขึ้น 2-3 เท่าของตัวอย่างไมโอซินที่ไม่ผ่านกระบวนการเมื่อให้ความดันในช่วง 100-500 เมกกะปาสกาล (Ishizaki *et al.*, 1995) โดย Yamamoto และคณะ (1994) ได้อธิบายการเปลี่ยนแปลงของไมโอซินเนื่องจากความดันไว้ว่าความดันมีผลทำให้ไมโอซินเกิดการแยกของไมโอซินเส้นเบาออกจากไมโอซิน จึงทำให้หมู่ไฮโดรโฟบิกออกมาอยู่ในบริเวณพื้นผิวของส่วนหัวของไมโอซิน หลังจากนั้นจึงเกิดการรวมกลุ่มด้วยอันตรกิริยาของไฮโดรโฟบิกเกิดเป็นเจลต่อไป นอกจากนี้ Hoover และคณะ (1989 อ้างโดย Ko *et al.*, 2003) พบว่าความดันมีผลทำให้เกิดการเชื่อมต่อกันระหว่างหมู่ไฮโดรโฟบิกกับคู่ประจุไฟฟ้า (*dipole*) ของน้ำเช่นเดียวกัน Ishizaki และคณะ (1995) พบว่า พันธะ hydrophobic hydration มีบทบาทสำคัญต่อความคงตัวระหว่างการให้ความดัน เนื่องจากบนพื้นผิวของโปรตีนที่ผ่านการให้ความดันมีทั้งหมู่ไฮโดรโฟบิกและหมู่ไฮโดรฟิลิก ดังนั้นอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกสามารถเกิดได้ทั้งภายในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุลโปรตีนเมื่อมีการให้ความดัน (Ko *et al.*, 2003)

ตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับความร้อน และให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว มีปริมาณไฮโดรโฟบิกบนพื้นผิวมากกว่าตัวอย่างแอกโตไมโอซินธรรมชาติประมาณหนึ่งเท่า และมีปริมาณมากกว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันเพียงอย่างเดียวประมาณครึ่งเท่า โดย Ishizaki และคณะ (1995) ได้รายงานไว้ว่า อุณหภูมิและความดันมีผลต่อการเพิ่มของหมู่ไฮโดรโฟบิกบนพื้นผิว นอกจากนี้ Visessanguan และคณะ (2000) ยังพบว่า อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกเป็นพันธะที่มี

ความสำคัญต่อการรวมตัวกันของโปรตีนที่อุณหภูมิสูง โดย Benjakul และคณะ (2001) พบว่า ปริมาณไฮโดรโฟบิกบนพื้นผิวมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิตั้งแต่ 35-70 องศาเซลเซียสใน ตัวอย่างแอกโตไมโอซินธรรมชาติจากปลาตาหวานทั้งสองชนิดที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.6 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 7.0 ซึ่งการเพิ่มขึ้น ของปริมาณไฮโดรโฟบิก แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอกโตไมโอซินระหว่างการให้ความร้อนเป็นสาเหตุทำให้เกิดการรวมตัวกันของหมู่ไฮโดรโฟบิกบนพื้นผิวของโมเลกุล เนื่องจากมี พลังงานอิสระเป็นอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก (Sano *et al.*, 1994) ซึ่งเป็นพันธะที่สำคัญในการเกิด โครงข่ายเจลด้วยความร้อน



ภาพที่ 3.5 ปริมาณไฮโดรโฟบิกบนพื้นผิวของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 7.0 ที่ผ่านการให้ความดัน (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)

Surface hydrophobicity of black tiger shrimp natural actomyosin (4 mg/ml in 0.6 M KCl pH 7.0) induced by pressure (0.1-800 MPa, at 28 °C, 20 min), heat (at 90 °C, 20 min) and combination treatment (400 MPa, at 28 °C, 20 min/at 90 °C, 20 min)

Bars represent the standard deviation of three determinations.

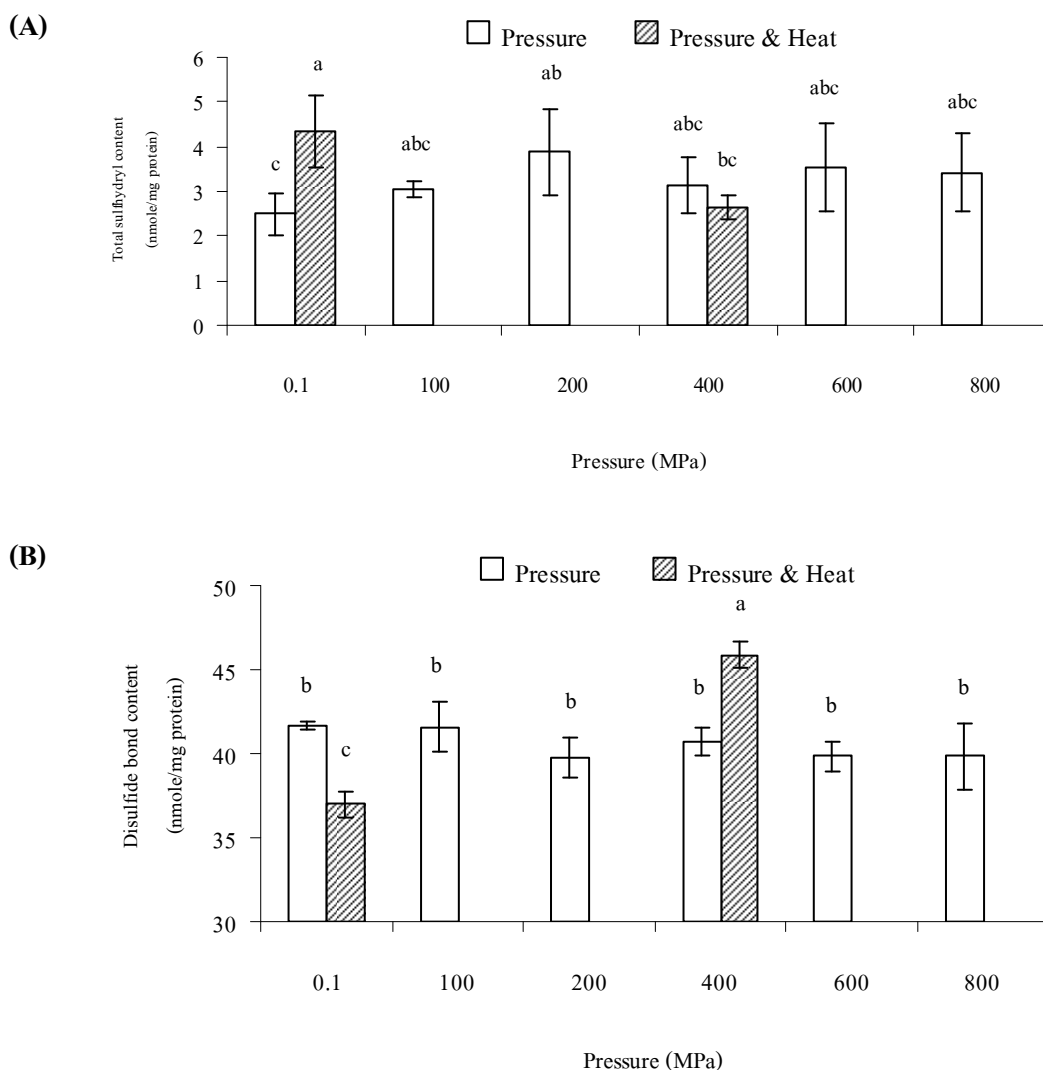
Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

1.2.3 ปริมาณหมู่ซัลไฟไฮดรอลทั้งหมดและปริมาณพันธะไดซัลไฟด์

จากภาพที่ 3.6 แสดงปริมาณหมู่ซัลไฟไฮดรอลทั้งหมด (ภาพA) และปริมาณพันธะไดซัลไฟด์ (ภาพB) ของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกุ้งกุลาดำที่ผ่านการให้ความดัน ความร้อน และการให้ความดันร่วมกับความร้อน พบว่า เมื่อให้ความดันเพิ่มขึ้น ปริมาณหมู่ซัลไฟไฮดรอลทั้งหมดและปริมาณพันธะไดซัลไฟด์ไม่มีความแตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) ดังนั้นแสดงว่าความดันสูงไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพันธะไดซัลไฟด์ภายในแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 7.0 Yamamoto และคณะ(1994) รายงานว่า หมู่ซัลไฟไฮดรอลไม่มีบทบาทในการเกิดตกตะกอนของไมโอซินจากกระต่ายที่ผ่านการให้ความดันตั้งแต่ 0.1-500 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที แต่ในทางตรงข้าม Ko และคณะ (2003) พบว่า เมื่อให้ความดันกับไมโอซินจากปลานิล (Tilapia) มีปริมาณหมู่ซัลไฟไฮดรอลทั้งหมดลดลง แต่ปริมาณหมู่ซัลไฟไฮดรอลที่มีปฏิกิริยา (reactive group) เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความดันตั้งแต่ 50.66-202.65 เมกกะปาสคาล (500-2000 เท่าของความดันบรรยากาศ) ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ซึ่งแสดงว่าเกิดพันธะไดซัลไฟด์เพิ่มขึ้นเมื่อให้ความดันเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Ikeuchi และคณะ (1992) ยังพบว่า มีการเพิ่มขึ้นของหมู่ซัลไฟไฮดรอลทั้งหมดในแอกโตไมโอซินของกระต่ายที่มีความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายโซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 6.0 เมื่อให้ความดันเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 0.1-300 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในไมโอซิน ส่วนในแอกตินที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายโซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 6.0 มีหมู่ซัลไฟไฮดรอลทั้งหมดเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความดันตั้งแต่ 0-150 เมกกะปาสคาล แล้วลดลงเมื่อให้ความดันเพิ่มต่อไปจนถึง 300 เมกกะปาสคาล ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าการเปลี่ยนแปลงหมู่ซัลไฟไฮดรอลทั้งหมดเกิดจากการเปลี่ยนแปลงในแอกตินเท่านั้น โดยเกิดพันธะไดซัลไฟด์เมื่อให้ความดันตั้งแต่ 150-300 เมกกะปาสคาล

ส่วนตัวอย่างแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกุ้งกุลาดำที่ผ่านการให้ความร้อนมีปริมาณพันธะไดซัลไฟด์ลดลง และปริมาณหมู่ซัลไฟไฮดรอลทั้งหมดเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับแอกโตไมโอซินธรรมชาติ ซึ่งแสดงว่าเกิดการแยกของพันธะไดซัลไฟด์เป็นหมู่ซัลไฟไฮดรอลเมื่อให้ความร้อน แต่ Benjakul และคณะ (2001) พบว่าเมื่อให้ความร้อนกับแอกโตไมโอซินจากปลาตาหวานทั้งสองชนิดที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 7.0 มีปริมาณของซัลไฟไฮดรอลทั้งหมดลดลงและพันธะไดซัลไฟด์เพิ่มมากขึ้นในช่วงอุณหภูมิ 35-70 องศาเซลเซียส ดังนั้นแสดงว่าความร้อนมีผลต่อพันธะไดซัลไฟด์ในแอกโตไมโอซิน โดยหมู่ซัลไฟไฮดรอลที่อยู่บนพื้นผิวของแอฟ-แอกตินเกิดปฏิกิริยากับหมู่ซัลไฟไฮดรอล

ของไมโอซิน (Jiang *et al.*, 1989 อ้างโดย Benjakul *et al.*, 2001) และในตัวอย่างแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่ให้ความดันที่ 400 เมกกะปาสคาล ร่วมกับการให้ความร้อน มีปริมาณพันธะไดซัลไฟด์เพิ่มมากขึ้น และปริมาณหมู่ซัลไฟไฮดริลน้อยลงเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติ ดังนั้นการให้ความดันเพียงอย่างเดียวไม่ผลต่อพันธะไดซัลไฟด์ แต่เมื่อให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อนมีผลต่อการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ในแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกุ้งกุลาดำ ซึ่ง Montero และคณะ (2005) กล่าวว่า การเปลี่ยนแปลงโปรตีนภายใต้สภาวะความดันขึ้นอยู่กับความเข้มข้น แหล่งของโปรตีน สภาวะแวดล้อมต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลาย ความเป็นกรดค่า และความแรงไอออน



ภาพที่ 3.6 ปริมาณหมู่ซัลไฟด์ไฮดริลทั้งหมด (A) และปริมาณพันธะไดซัลไฟด์ (B) ของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายโบเตสซีซมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 7.0 ที่ผ่านการให้ความดัน (0.1-800 เมกะปาสคาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ความร้อน (ที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (400 เมกะปาสคาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)

Total sulphydryl content (A) and disulfide bond content (B) of black tiger shrimp natural actomyosin (4 mg/ml in 0.6 M KCl pH 7.0) induced by pressure (0.1-800 MPa, at 28 °C, 20 min), heat (at 90 °C, 20 min) and combination treatment (400 MPa, at 28 °C, 20 min/at 90 °C, 20 min) Bars represent the standard deviation of three determinations.

Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

1.2.4 ลักษณะปรากฏ

การเปลี่ยนแปลงของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกึ่งกลูตาต้าที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกรัมในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 7.0 เมื่อผ่านการให้ความดัน ความร้อน และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อนแสดงดังตารางที่ 3.3 โดยสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติสามารถเกิดเจลได้เมื่อให้ความดันตั้งแต่ 400 เมกกะปาสกาล หรือให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว หรือให้ความดันที่ 400 เมกกะปาสกาลร่วมกับการให้ความร้อน ซึ่งสอดคล้องกับการเกิดเจลของกึ่งกลูตาต้าบดในหัวข้อที่ 1.1 ที่สามารถเกิดเจลได้เมื่อให้ความดันตั้งแต่ 400 เมกกะปาสกาลเช่นเดียวกัน Okamoto และคณะ (1990) ที่พบว่าแอกโตไมโอซินของปลาการ์ฟไม่สามารถเกิดเจลเมื่อผ่านการให้ความดันในระดับ 98.06 เมกกะปาสกาล (1000 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร) แต่สามารถเกิดเจลได้เมื่อให้ความดันตั้งแต่ 294.21 เมกกะปาสกาล (3000 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และในไมโอซินที่ได้จากกระต่ายที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายฟอสเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ที่มีโซเดียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 6.0 ไม่สามารถเกิดเจลได้เมื่อให้ความดันที่ 100-200 เมกกะปาสกาล นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (Iwasaki *et al.*, 2005) นอกจากนี้ในการศึกษาของ Yamamoto และคณะ (1993) ยังพบว่า ไมโอซินจากกระต่ายที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 6.0 ไม่สามารถเกิดเจลได้ด้วยความดันเพียงอย่างเดียวที่อุณหภูมิห้อง แต่สามารถเกิดเจลได้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไมโอซินเป็น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและให้ความดันที่ 600 เมกกะปาสกาล นาน 30 นาที ดังนั้นระดับความดันที่ทำให้เกิดเจลของโปรตีนไมโอซินหรือแอกโตไมโอซินขึ้นกับแหล่งของโปรตีน ความเข้มข้น และความคงตัวของโปรตีนต่อความดันที่แตกต่างกัน (Yamamoto *et al.*, 1993; Messen *et al.*, 1997; Montero *et al.*, 2005)

ตารางที่ 3.3 ลักษณะปรากฏของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกรัมในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์ ความเป็นกรดค่า 7.0 ที่ผ่านการให้ความดัน (0.1-800 เมกกะปาสคาลที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (400 เมกกะปาสคาลนาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)

Appearance of black tiger shrimp natural actomyosin (50 mg/g in 0.6 M KCl pH 7.0) induced by pressure (0.1-800 MPa, at 28 °C, 20 min), heat (at 90 °C, 20 min) and combination treatment (400 MPa, at 28 °C, 20 min/at 90 °C, 20 min)

Process	Level of Pressure	
	(MPa)	Appearance
Control	0.1	Opaque pink liquid
	100	Opaque pink liquid
	200	More opaque and high intensity pink liquid
	400	Very soft pink sol
	600	Soft pink gel; like soft Tofu
Pressure	800	Soft pink gel; like soft Tofu
	Heat	0.1
Pressure-Heat	400	Soft pink gel; like soft Tofu

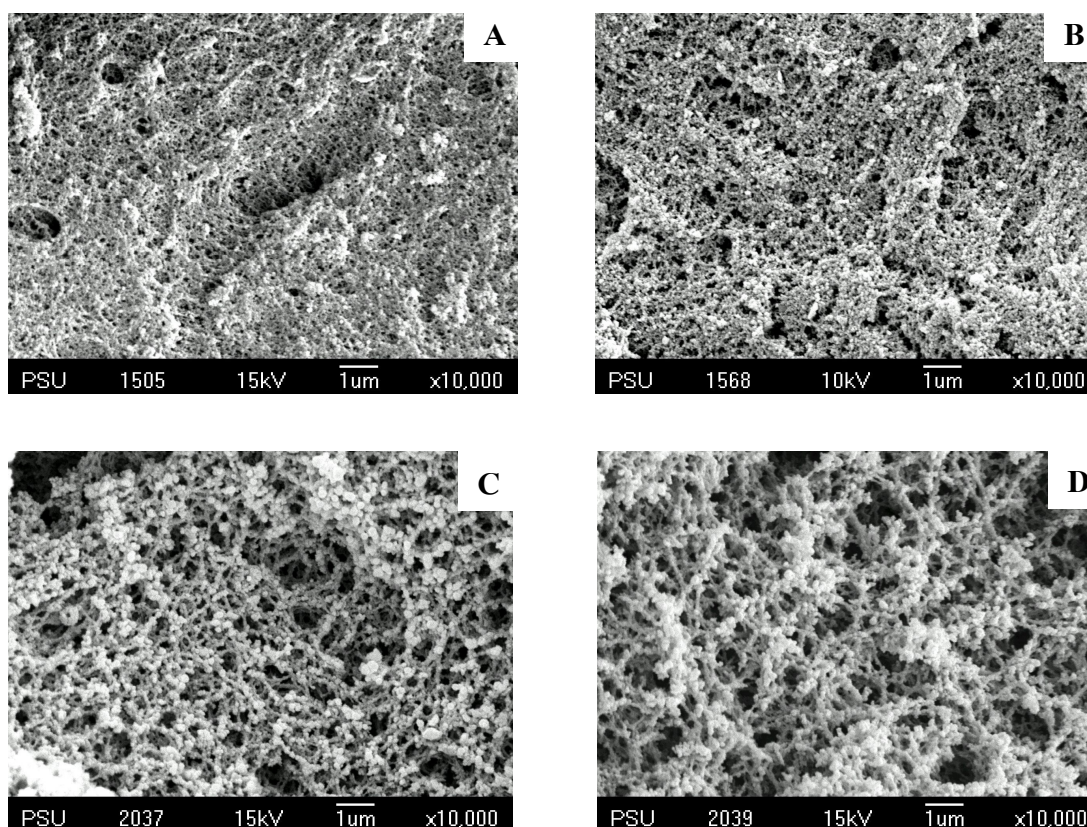
1.2.5 โครงสร้างทางจุลภาคของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกึ่งกลาดำ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด

โครงสร้างทางจุลภาคของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกึ่งกลาดำที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 7.0 ที่ผ่านการให้ความดัน ความร้อน และความดันร่วมกับความร้อน แสดงดังภาพที่ 3.7 โดยภาพ A และ B เป็นโครงสร้างทางจุลภาคของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่ผ่านการให้ความดันที่ระดับ 600 และ 800 เมกกะปาสคาล ตามลำดับ มีลักษณะเป็นโครงข่ายร่างแหที่เป็นระเบียบ มีความต่อเนื่องของเส้นใยโปรตีน แต่ในตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันที่ 600 เมกกะปาสคาล มีความหนาแน่นของโครงข่าย และมีช่องว่างภายในโครงข่ายโปรตีนน้อยกว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันที่ 800 เมกกะปาสคาล ทั้งนี้เนื่องจากการให้ความดันที่ระดับ 600 เมกกะปาสคาลเป็นระดับที่เหมาะสมในการทำให้โปรตีนเกิดการคลายตัว และเกิดการสร้างโครงข่ายใหม่ภายหลังจากการให้ความดัน ซึ่งส่งผลให้เจลเนื้อกึ่งกลาดำบดมีค่าแรงก่อนเจาะทะลุและระยะทางเจาะทะลุ (ภาพที่ 3.3A และ B) และค่าความแข็ง (ตารางที่ 3.2) สูงสุด แต่ในการให้ความดันที่ระดับ 800 เมกกะปาสคาล อาจจะอยู่ในระดับที่มากเกินไปทำให้โปรตีนเกิดการจับกันเป็นกลุ่มมากขึ้นซึ่งสอดคล้องกับค่าความหยุ่น (ภาพที่ 3.4) และทำให้มีความหนาของเส้นใยโปรตีนมากขึ้นและโครงสร้างที่เกิดจากความดันดังที่กล่าวมามีลักษณะคล้ายคลึงกับรายงานของ Yamamoto และคณะ (1990) ที่ได้ตรวจสอบโครงสร้างทางจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดในไมโอซินจากกระต่ายที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ผ่านการให้ความดันที่ 280 เมกกะปาสคาล นาน 30 นาที พบว่า มีโครงข่ายเชื่อมต่อกันด้วยเส้นใยอย่างเป็นระเบียบ ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับโครงสร้างของเจลไมโอซินที่เกิดจากความร้อนในสภาวะไอออนิกต่ำ แต่ในทางตรงข้าม Iwasaki และคณะ (2005) ไม่พบความแตกต่างของโครงสร้างทางจุลภาคของไมโอซินจากกระต่ายที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อให้ความดันที่ระดับ 250-500 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที และยังไม่มีความแตกต่างกันในไมโอซินที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40-70 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ส่วนภาพ C และ D เป็นโครงสร้างทางจุลภาคของสารละลายแอกโตไมโอซินตามธรรมชาติที่ผ่านการให้ความร้อน และการให้ความดันที่ระดับ 400 เมกกะปาสคาลร่วมกับการให้ความร้อน ตามลำดับ มีลักษณะเป็นโครงข่ายร่างแหมีความเป็นระเบียบ มีความต่อเนื่องของเส้นใยโปรตีนน้อยกว่าตัวอย่างที่ให้ความดันเพียงอย่างเดียว ในตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับความร้อนมีความหนาของเส้นใยโปรตีนมากกว่า และมีช่องว่างภายในโครงข่ายขนาดใหญ่กว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว เนื่องจากสภาวะดังกล่าวเจลที่ได้มีการสูญเสียน้ำหนักสูงกว่า

การเกิดเจลโดยความร้อนหรือความดัน (ภาพ 3.2B) ส่งผลให้เจลมีค่าแรงเฉาะทะลุ (ภาพที่ 3.3A) และค่าความแข็ง (ตารางที่ 3.2) สูงกว่าเจลที่ได้จากความดัน ขณะที่ในรายงานของ Yamamoto และคณะ (1993) พบว่า ไม่มีความแตกต่างภายในโครงสร้างทางจุลภาคของไมโอซินจากกระต่ายที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 6.0 เมื่อผ่านการให้ความดันที่ 70-210 เมกกะปาสกาล แล้วให้ความร้อนที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และในตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว ซึ่งลักษณะเจลที่ได้มีลักษณะเดียวกับเจลไมโอซินที่เกิดจากความร้อนในสภาวะความเข้มข้นของเกลือสูง (สารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์)

เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างทางจุลภาคระหว่างตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันเพียงอย่างเดียวกับตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับความร้อน ตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันเพียงอย่างเดียวมีโครงข่ายที่เป็นระเบียบ มีความต่อเนื่องของเส้นใยโปรตีน มีความหนาแน่น และมีช่องว่างภายในโครงข่ายโปรตีนมากกว่า มีขนาดช่องว่างภายในโครงข่ายเล็กกว่า และมีความหนาของเส้นใยโปรตีนน้อยกว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับความร้อน เนื่องจากการรวมตัวกันหรือการตกตะกอนของโปรตีนเนื่องจากความร้อน ซึ่ง Ishioroshi และคณะ (1982, อ้างโดย Benjakul *et al.*, 2001) อธิบายการเกิดเจลด้วยความร้อนว่าเกิดจากทั้งไมโอซินเส้นหนัก (HMM) และเส้นเบา (LMM) โดยไมโอซินเส้นหนักมีการรวมกลุ่มในลักษณะคล้ายฟองน้ำ (sponge-like network) และ ไมโอซินเส้นเบารวมกันเป็นโครงข่ายแบบเลซี่ (lacy-like network) ซึ่งส่งผลให้มีค่าแรงก่อนเฉาะทะลุ (ภาพที่ 3.3A) และค่าความแข็ง (ตารางที่ 3.2) สูงกว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันเพียงอย่างเดียว



ภาพที่ 3.7 โครงสร้างทางจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (กำลังขยาย 10,000 เท่า) ของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 7.0 ที่ผ่านการให้ความดัน ความร้อน และการให้ความดันร่วมกับความร้อน 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

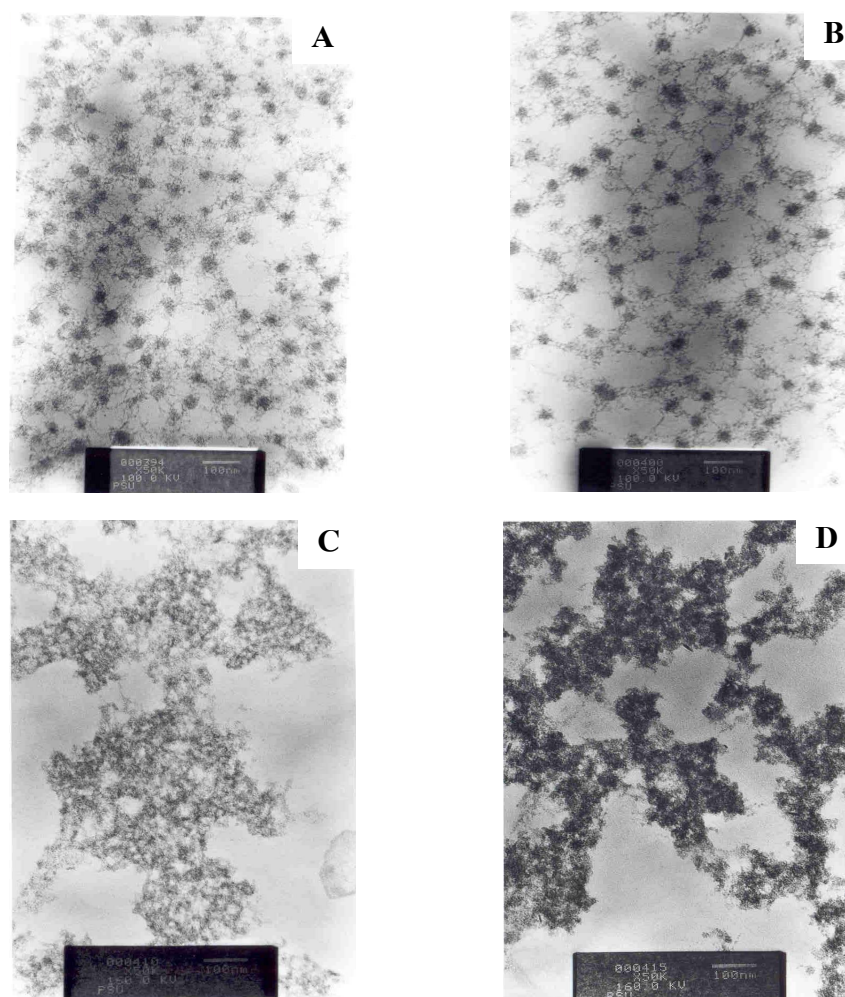
Microstructure by scanning electron microscope (magnification: 10,000x) of natural actomyosin from black tiger shrimp (50 mg/g in 0.6 M KCl pH 7.0) induced by pressure, heat and combination treatment; A, B: Natural actomyosin induced by pressure 600 and 800 MPa, 28 °C, 20 min, respectively; C,D: Natural actomyosin induced by heat (90 °C, 20 min) and combination treatment (400 MPa, 20 min/90 °C, 20 min), respectively.

1.2.6 โครงสร้างทางจุลภาคของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกึ่งกลาคำ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน

โครงสร้างทางจุลภาคของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกึ่งกลาคำที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกรัมในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 7.0 ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน แสดงดังภาพที่ 3.8 พบว่าโครงสร้างทางจุลภาคของตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันที่ 600 (ภาพ A) และ 800 เมกกะปาสคาล (ภาพ B) มีลักษณะการรวมตัวเป็นกลุ่มเป็นก้อนกลม และมีการเรียงตัวกันอย่างต่อเนื่องเป็นโครงข่ายร่างแหอย่างเป็นระเบียบสม่ำเสมอ โดยตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันที่ 600 เมกกะปาสคาลมีความหนาแน่นของโครงข่ายมากกว่า แต่มีขนาดของการรวมตัวเป็นกลุ่มของโปรตีนน้อยกว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดัน 800 เมกกะปาสคาล ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างทางจุลภาคที่ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (ภาพที่ 3.7) ซึ่ง Ikeuchi และคณะ (1992) ได้รายงานไว้ว่าเมื่อมีการให้ความดันกับแอกโตไมโอซินของกระต่ายที่อยู่ในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์ ที่ประกอบด้วยไมโอซินในรูปโมโนเมอร์จำนวนมากบนพื้นผิวของแอกตินฟิลาเมนต์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบ โดยเกิดการจับกันของไมโอซินเป็นโครงข่ายขึ้น และ Yamamoto และคณะ (1993) ได้อธิบายการเกิดเจลของไมโอซินไว้ว่าเกิดจากการรวมตัวกันของส่วนหัวของไมโอซินเป็นโอลิโกเมอร์แล้วเกิดการพันกันของส่วนแอลฟา-เฮลิกซ์ในส่วนหางจึงเกิดเป็นโครงข่ายเจลคล้ายดอกเดซี่ (daisy-wheel) และการรายงานของ Hsu และ Ko (2001) ที่พบว่า ไมโอซินของปลานิล (Tilapia) ที่มีความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารละลายฟอสเฟต 20 มิลลิโมลาร์ที่มีโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 7.0 เกิดการรวมตัวกันและมีรูปแบบโครงข่ายเจลที่เป็นระเบียบดีเมื่อผ่านการให้ความดันที่ 151.99 เมกกะปาสคาล (1500 เท่าของความดันบรรยากาศ) แต่เมื่อให้ความดันที่ 202.65 เมกกะปาสคาล (2000 เท่าของความดันบรรยากาศ) ไมโอซินเกิดการรวมกลุ่มก้อน มีการจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบและไม่พบโครงสร้างฟิลาเมนต์

ขณะที่ตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อน และการให้ความดันร่วมกับความร้อน (ภาพ C และ D) พบว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อน โปรตีนจะรวมตัวกันอย่างหนาแน่นเป็นกลุ่มใหญ่ แต่ในตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน มีการรวมตัวกันเป็นกลุ่มที่เพิ่มขึ้น และมีความต่อเนื่องกันเป็นโครงข่าย แต่ไม่เป็นระเบียบ และมีช่องว่างระหว่างโครงข่ายขนาดใหญ่ ความแตกต่างกันระหว่างตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนและตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับความร้อนมีค่าสอดคล้องกับค่าความขุ่น (ภาพที่ 3.4) ซึ่งตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับความร้อนมีขนาดโครงข่ายใหญ่ขึ้นจนตกตะกอนและทำให้ค่าความขุ่นมากขึ้น ซึ่งมีค่ามากกว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อน และส่งผลให้ตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกลาคำบดที่ผ่านการให้ความ

ดันที่ 400 เมกกะปาสกาลร่วมกับการให้ความร้อน มีค่าแรงก่อนเจาะทะลุ (ภาพที่ 3.3A) และค่าความแข็ง (ตารางที่ 3.2) สูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันหรือความร้อนเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ โครงสร้างทางจุลภาคโดยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่านของตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน หรือตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียวยังมีความแตกต่างจากตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันอย่างชัดเจน



ภาพที่ 3.8 โครงสร้างทางจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (กำลังขยาย 50,000 เท่า) ของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกรัม ของสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 7.0 ที่ผ่านการให้ความดัน ความร้อนและการให้ความดันร่วมกับความร้อน โดย A และ B: สารละลายแอกโตไมโอซิน ที่ผ่านการให้ความดันที่ 600 และ 800 เมกะปาสคาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ตามลำดับ และ C และ D: สารละลายแอกโตไมโอซินที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที และการให้ความดันที่ 400 เมกะปาสคาล อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ร่วมกับการให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ตามลำดับ

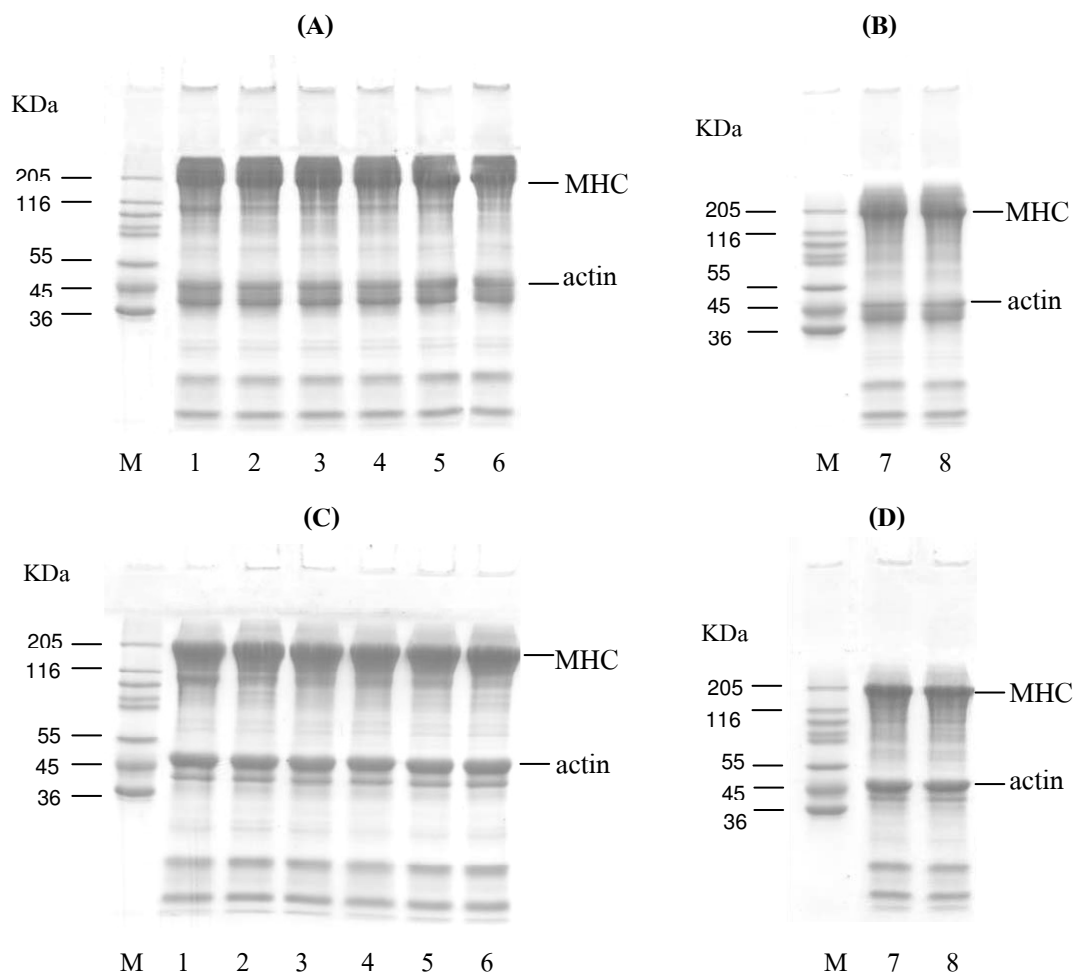
Microstructure by transmission electron microscope (magnification: 50,000x) of natural actomyosin from black tiger shrimp (50 mg/g in 0.6 M KCl pH 7.0) induced by pressure, heat and combination treatment; A, B: Natural actomyosin induced by pressure 600 and 800 MPa, at 28 °C, 20 min, respectively; C,D: Natural actomyosin induced by heat (at 90 °C, 20 min) and combination treatment (400 MPa, at 28 °C, 20 min/at 90 °C, 20 min), respectively.

1.2.7 รูปแบบโปรตีนโดย SDS-PAGE

รูปแบบโปรตีนของสารละลายแอกโตไมโอซินที่ผ่านการให้ความดัน ความร้อน และการให้ความดันร่วมกับความร้อน แสดงดังภาพที่ 3.7 พบว่าไม่มีความแตกต่างของความเข้มของแถบโปรตีนแต่ละแถบเมื่อผ่านการให้ความดันในระดับที่เพิ่มขึ้น ทั้งในรูปแบบที่ไม่เติมเบต้า-เมอแคปโตเอทานอล (นอนรีดิวซิ่ง) (ภาพ A) และรูปแบบที่เติมเบต้า-เมอแคปโตเอทานอล (รีดิวซิ่ง) (ภาพ C) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Suzuki และคณะ (1990) ที่พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของแถบโปรตีนไมโอไฟบริลของเนื้อวัวที่การให้ความดัน เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการให้ความดัน

ส่วนรูปแบบโปรตีนของตัวอย่างแอกโตไมโอซินที่ผ่านการให้ความร้อน และการให้ความดันร่วมกับความร้อนในรูปแบบนอนรีดิวซิ่ง (ภาพ B) พบว่า มีความเข้มของแถบโปรตีนขนาด 205 กิโลดาลตันน้อยกว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดัน (ภาพ A) แต่มีความเข้มของแถบโปรตีนขนาด 55-116 กิโลดาลตันมากกว่า ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากความร้อนมีผลทำให้เกิดกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มมากขึ้น โดยย่อยโปรตีนขนาดใหญ่เป็นโปรตีนขนาดเล็กกว่าเดิม (Motsumoto and Noguchi, 1992 อ้างโดย Chung *et al.*, 1994) แต่ในแถบโปรตีนของแอกตินไม่มีความแตกต่างกันทั้งในตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดัน ความร้อน และการให้ความดันร่วมกับความร้อน

อย่างไรก็ตามพบว่ามีความแตกต่างในความเข้มของแถบโปรตีนที่มีขนาดใหญ่กว่า 205 กิโลดาลตันระหว่างรูปแบบนอนรีดิวซิ่ง (ภาพ A และ B) และรีดิวซิ่ง (ภาพ C และ D) ของตัวอย่างแอกโตไมโอซินที่ผ่านการให้ความดัน ความร้อน และการให้ความดันร่วมกับความร้อน ซึ่งแสดงว่า ทั้งความดันและความร้อนมีผลทำให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์ เช่นเดียวกับกับรายงานของ Lee และ Lanier (1995, อ้างโดย Angsupanich *et al.*, 1999) ที่พบว่า มีพันธะไดซัลไฟด์เกิดขึ้นทั้งเจดที่ผ่านการให้ความดันและความร้อน ขณะที่ในการศึกษาปริมาณพันธะไดซัลไฟด์ในสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติ (ภาพที่ 3.6) พบว่าไม่มีความแตกต่างของปริมาณพันธะไดซัลไฟด์ ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้นของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติในการศึกษาข้างต้นมีความเข้มข้นที่ต่ำจึงไม่สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงของปริมาณพันธะไดซัลไฟด์ นอกจากนั้นยังพบว่ามีความเข้มของแถบโปรตีนที่มีขนาดใหญ่กว่า 205 กิโลดาลตันในรูปแบบรีดิวซิ่งเหลืออยู่ ดังนั้นแสดงว่า นอกจากพันธะไดซัลไฟด์แล้วยังประกอบด้วยพันธะอื่นๆ อีกในโครงสร้างของโปรตีนแอกโตไมโอซินที่ผ่านการให้ความดัน ความร้อน และการให้ความดันร่วมกับความร้อน ดังเช่นพันธะโควาเลนต์ที่มีใช้พันธะไดซัลไฟด์



ภาพที่ 3.9 รูปแบบโปรตีนด้วย SDS-PAGE ของสารละลายแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์ ความเป็นกรดต่าง 7.0 ที่ผ่านการให้ความดัน ความร้อน และการให้ความดันร่วมกับความร้อน โดย A B และ C D: รูปแบบนอนรีดิวซิ่งและรีดิวซิ่งตามลำดับ 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

SDS-PAGE protein pattern of black tiger shrimp natural actomyosin (50 mg/g in 0.6 M KCl pH 7.0) induced by pressure, heat and combination treatment; A and B: Non-reducing; C and D: Reducing; M: Marker; MHC: Myosin heavy chain lane 1-6: Natural actomyosin induced by pressure 0.1, 100, 200, 400, 600 and 800 MPa, at 28 °C, 20 min, respectively; lane 7: Natural actomyosin induced by heat (at 90 °C, 20 min) and lane 8: Natural actomyosin induced by combination treatment (400 MPa, at 28 °C, 20 min/at 90 °C, 20 min)

2. ผลของการเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวต่อคุณสมบัติการเกิดเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีบด

จากผลการทดลองการศึกษาผลของกระบวนการให้ความดันสูง ความร้อน และการใช้ความดันสูงร่วมกับความร้อนต่อการเกิดเจลของเนื้อกึ่งกลูตาดีบด ตัวอย่างเจลกึ่งกลูตาดีบดที่ผ่านการให้ความดันสูงที่ 400 เมกะปาสกาล ร่วมกับการให้ความร้อน มีความแข็งแรงของเจลสูงสุด และตัวอย่างเจลกึ่งกลูตาดีบดที่ผ่านการให้ความดันสูงที่ 600 เมกะปาสกาล มีความยืดหยุ่นของเจลสูงสุด ดังนั้นจึงเลือกใช้สภาวะในการแปรรูปทั้งสองนี้เพื่อศึกษาในหัวข้อต่อไป

2.1 ค่าสี

จากการเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว ในตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีบด พบว่า โปรตีนพลาสมาเลือดวัวมีผลต่อสีของตัวอย่าง ซึ่งแสดงค่าแสงสว่าง (L^*) ค่าสีแดง-สีเขียว (a^*) ค่าสีเหลือง-สีน้ำเงิน (b^*) ดังตารางที่ 3.4 ในตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีบดที่ผ่านกระบวนการเดียวกัน ความเข้มข้นของโปรตีนพลาสมาเลือดวัวไม่มีผลต่อค่าความสว่าง และค่าสีแดง-สีเขียว แต่มีผลทำให้ค่าสีเหลือง-สีน้ำเงินเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น มีผลทำให้เจลเนื้อกึ่งกลูตาดีบดมีค่าสีเหลืองเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันเมื่อเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวในตัวอย่างเจลเนื้อปลาหมึกบด (Ayensa *et al*, 2002) และซูริมิจากปลาตาหวาน (Kwalumtharn, 2002) การเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างเจลที่มีการเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว เนื่องจากสีของโปรตีนพลาสมาเลือดวัว อย่างไรก็ตามซูริมิที่มีการเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวในระดับ 1% ยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคชาวญี่ปุ่น แต่เมื่อเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวในระดับ 2% หรือมากกว่านั้น จะเกิดกลิ่นรสที่ไม่ดี (Akazawa *et al.*, 1993)

2.2 ค่าการสูญเสียน้ำหนักและความสามารถในการอุ้มน้ำ

ค่าการสูญเสียน้ำหนักและความสามารถในการอุ้มน้ำของตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีบดที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว แสดงดังภาพที่ 3.10A และ B ตามลำดับ ในตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีบดที่ผ่านกระบวนการเดียวกัน เมื่อเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวในปริมาณที่เพิ่มขึ้นทำให้เกิดการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มมากขึ้น ($p < 0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในความสามารถในการอุ้มน้ำ ($p \geq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณของโปรตีนพลาสมาเลือดวัวที่เติมในเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีบดอาจจะไปจับกับหมู่ที่ชอบน้ำ (hydrophilic) ของโปรตีนทำให้โปรตีนไม่สามารถจับกับน้ำจึงทำให้สูญเสียน้ำออกจากระบบจึงทำให้ค่าการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้น นอกจากนี้โปรตีนพลาสมาเลือดวัวยังสามารถจับตัวกับโปรตีนไมโอไฟบริลได้เป็นโครงข่ายเจลที่แน่นขึ้นจึงทำให้มีช่องว่างในโครงข่าย

ตารางที่ 3.4 ค่าสี (L^* , a^* , b^*) ของเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 0-3 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการให้ความดัน (600 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)

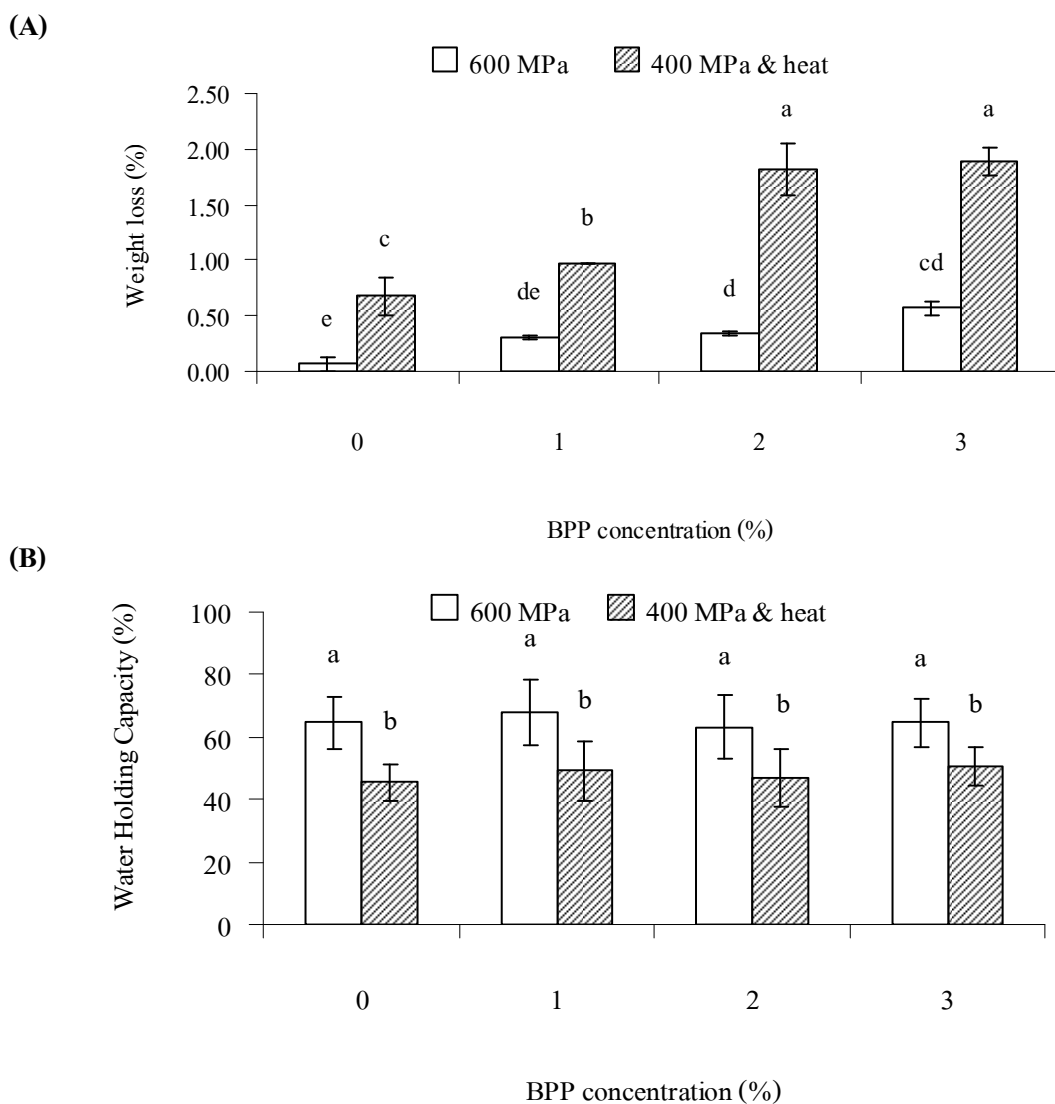
L^* , a^* and b^* values of black tiger shrimp gel added with 0-3% (w/w) bovine plasma protein and induced by pressure (600 MPa, at 28 °C, 20 min) and pressure-heat (400 MPa, at 28 °C, 20 min/ at 90 °C, 20 min)

Process	BPP concentration			
	(%)	L^*	a^*	b^*
600 MPa	0	57.81±4.81 ^b	-0.12±1.40 ^b	-11.7±2.85 ^e
	1	56.13±5.20 ^{bc}	-0.31±1.34 ^b	-8.17±2.38 ^d
	2	53.48±3.71 ^{bc}	-1.39±1.60 ^b	-6.59±2.26 ^d
	3	53.06±4.14 ^c	-1.80±1.16 ^b	-3.27±2.79 ^c
400 MPa & Heat	0	72.26±0.61 ^a	12.73±4.24 ^a	5.63±0.27 ^b
	1	70.68±2.36 ^a	12.74±4.24 ^a	6.86±1.48 ^b
	2	70.67±2.10 ^a	11.33±3.74 ^a	9.12±0.56 ^a
	3	69.76±3.58 ^a	11.59±3.79 ^a	11.31±0.56 ^a

Note: Mean ± SD of six determinations.

Different superscripts in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$).

น้อยและมีพื้นที่ในการเก็บกักน้ำได้น้อย (ภาพที่ 3.20C และ D) ซึ่งแตกต่างจากการรายงานของ Ayensa และคณะ (2002) ที่พบว่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลเนื้อปลาหมึกบดที่มีการเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 1-3 และผ่านการให้ความร้อนมีค่ามากกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว นอกจากนี้ Zayas (1997) ได้ศึกษาการเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวในไส้กรอก พบว่า โปรตีนพลาสมาเลือดวัวมีผลต่อการเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของไส้กรอกที่มีการเติมน้ำในสูตรการผลิต ทั้งนี้ตัวอย่างเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดมีการปล่อยน้ำออกจากเจลทำให้ค่าการสูญเสียน้ำเพิ่มมากขึ้น และในตัวอย่างเจลเนื้อกุ้งกุลาดำที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับความร้อนมีการสูญเสียน้ำหนักสูงกว่า และมีความสามารถในการอุ้มน้ำน้อยกว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เป็นผลมาจากกระบวนการแปรรูปที่ต่างกัน เพราะพันธะไฮโดรเจนเป็นพันธะที่มีความคงตัวต่อความดันสูง แต่ถูกทำลายด้วยความร้อน (Messens *et al.*, 1997)



ภาพที่ 3.10 ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (A) และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (B) ของเจลเนื้อกุ้งกุลาดำ บดที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 0-3 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการให้ความดัน (600 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) หรือการให้ความดัน ร่วมกับความร้อน (400 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) Weight loss (A) and water holding capacity (B) of black tiger shrimp gel added with 0-3% (w/w) bovine plasma protein and induced by pressure (600 MPa, at 28 °C, 20 min) or pressure-heat (400 MPa, at 28 °C , 20 min/ at 90 °C, 20 min) Bars represent the standard deviation of six determinations. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

2.3 เปปไทด์ที่สามารถละลายได้ในสารละลายไตรคลอโรอะซิติก (TCA-soluble peptide)

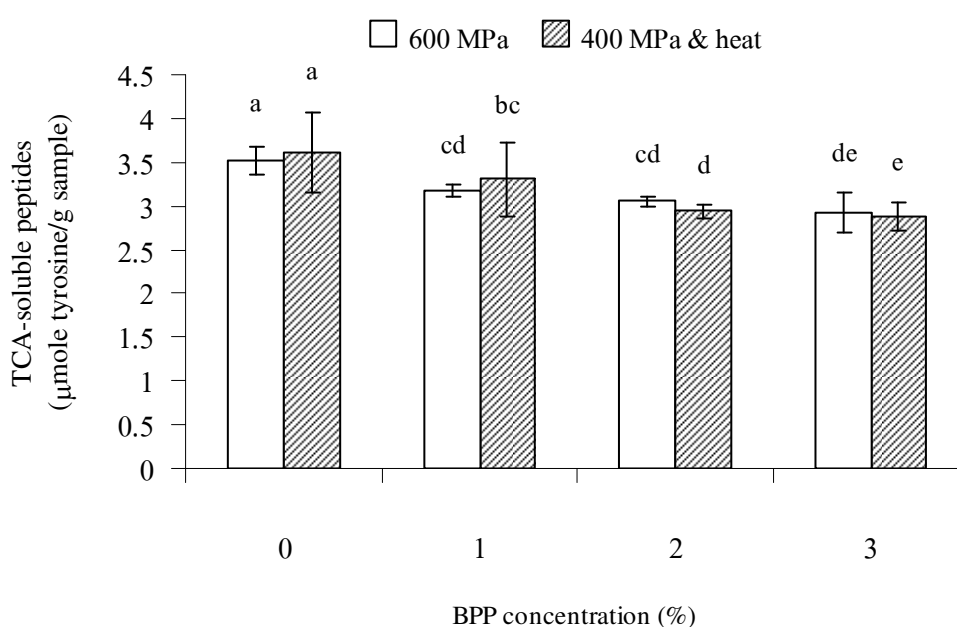
เมื่อตรวจสอบเปปไทด์ที่สามารถละลายได้ในสารละลายไตรคลอโรอะซิติก พบว่า ในตัวอย่างที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวในปริมาณเพิ่มมากขึ้น ทำให้พันธะเปปไทด์ที่ละลายได้ในไตรคลอโรอะซิติกลดลง ($p < 0.05$) ทั้งในตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันเพียงอย่างเดียว และตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันและความร้อน แสดงดังภาพที่ 3.11 ซึ่งสอดคล้องกับค่าความแข็งของเจลที่มีค่าเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 3.12A) ดังนั้นแสดงว่ามีความสมบูรณ์ของสายเปปไทด์จึงไม่สามารถละลายด้วยสารละลายไตรคลอโรอะซิติก ดังนั้นการลดลงของการย่อยของเปปไทด์ชี้ให้เห็นว่า โปรตีนพลาสมาเลือดวัวสามารถช่วยในการเชื่อมประสานและยับยั้งโปรตีเอสจำพวกคาร์เทปซิน D (Jiang *et al.*, 1992) ทริปซิน (Tsai *et al.*, 1986) และโคโมทริปซิน (Lu *et al.*, 1990) ในเนื้อกึ่งกลาดำบกระหว่างกระบวนการแปรรูป เช่นเดียวกันในเนื้อปลาหมึกบดที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวพบกิจกรรมย่อยสลายโปรตีนของโปรตีเอสน้อยกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว (Ayensa *et al.*, 2002)

2.4 ค่าแรงและระยะทางก่อนเจาะทะลุ

เมื่อเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น ทำให้ค่าแรงก่อนเจาะทะลุเพิ่มมากขึ้น แต่ไม่มีผลต่อระยะทางก่อนเจาะทะลุ ทั้งในตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันเพียงอย่างเดียวและตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันและความร้อน แสดงดังภาพที่ 3.12A และ B ตามลำดับ โดยตัวอย่างที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 2 และ 3 มีค่าแรงก่อนเจาะทะลุสูงที่สุด ($p < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ayensa และคณะ (2002) ที่พบว่าตัวอย่างเนื้อปลาหมึกบดที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว ร้อยละ 3 และทำให้เกิดเจลด้วยความร้อนมีค่าแรงก่อนเจาะทะลุสูงที่สุดเช่นกัน ในตัวอย่างซูริมิที่ได้จากเนื้อปลาตาหวานมีค่าแรงก่อนเจาะทะลุสูงขึ้น เมื่อเติมปริมาณโปรตีนพลาสมาเลือดวัวเพิ่มมากขึ้น (Kwalumthan, 2002) นอกจากนี้ Chung และคณะ (1994) ได้เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวในซูริมิจากปลาแปซิฟิกไวทิง (Pacific whiting) ร้อยละ 1 และทำให้เกิดเจลด้วยความดัน พบว่า มีค่าแรงเค้นเฉือน (shear stress) มากกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว

การเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวมีผลทำให้เจลมีความแข็งแรงขึ้น เนื่องจากโปรตีนพลาสมาเลือดวัวมีแอลฟา-2-แมคโครโกลบูลิน (α_2M) และคินิโนเจนเป็นองค์ประกอบที่สามารถยับยั้งกิจกรรมการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์โปรตีเอส (Morrissey *et al.*, 1993) ทำให้เกิดการเชื่อมต่อของโปรตีนไมโอไฟบริลมากขึ้น และยังสามารถเร่งการเชื่อมประสานโปรตีนโดยพลาสมาทรานส์กลูตามิเนส (PTGase) และ แอลฟา-2-แมคโครโกลบูลิน ซึ่งทำหน้าที่เช่นเดียวกับ

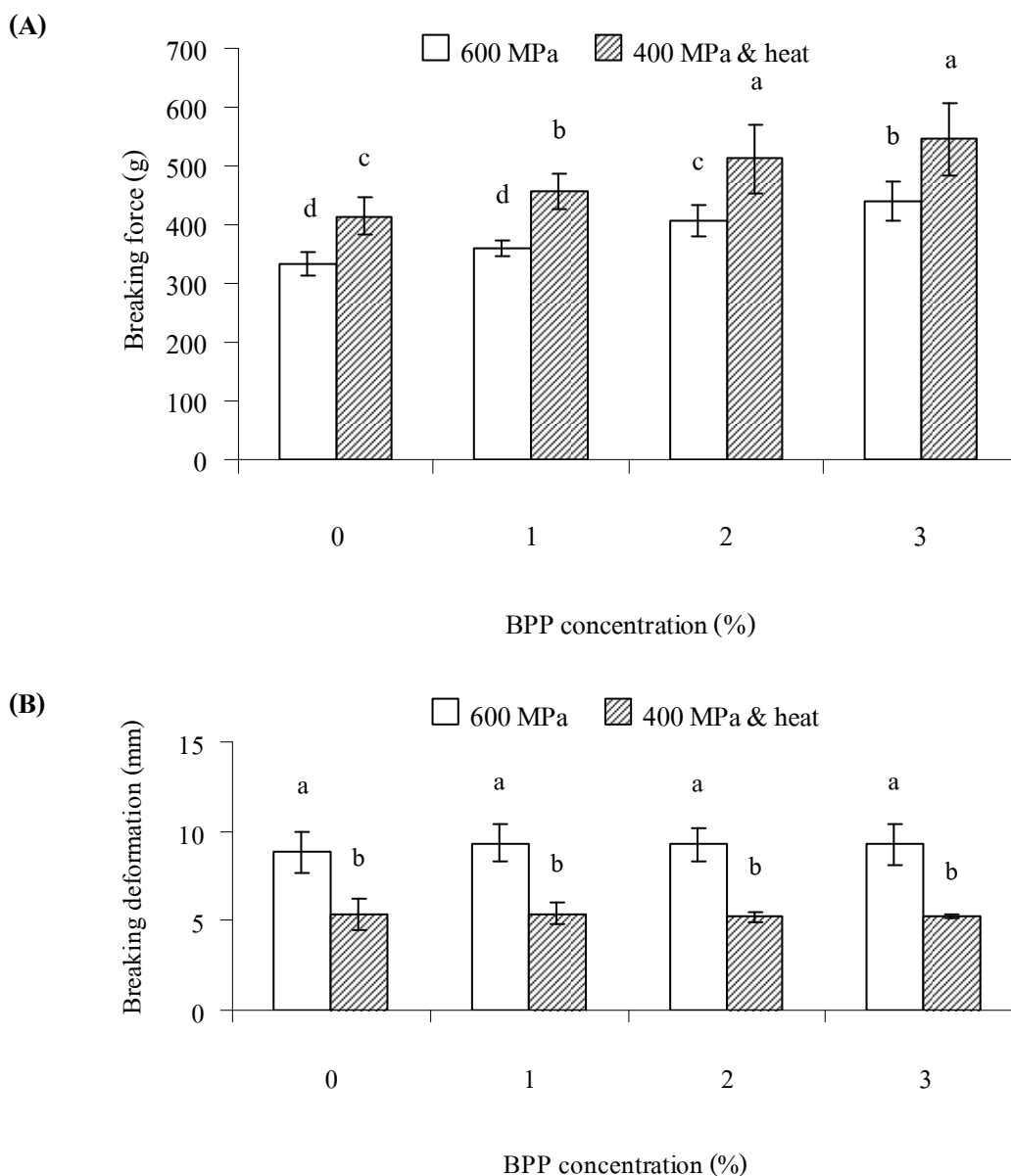
เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสที่สามารถเร่งการเชื่อมประสานระหว่างหมู่อะมิโน (Seymour *et al.*, 1997) และในโปรตีนพลาสมาซึ่งประกอบด้วยไฟบริโนเจน (fibrinogen) และซีรัมอัลบูมิน (serum albumin) ที่เป็นตัวช่วยส่งเสริมการเกิดเจลไมโอซินระหว่างการให้ความร้อน (Kang and Lanier, 1999) โดยทำให้เกิดการเชื่อมต่อของโปรตีนไมโอไฟบริลและไฟบริโนเจนที่เพิ่มมากขึ้นซึ่งทำให้เจลมีความต่อเนื่องและความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สามารถใช้เป็นสารเติมเต็มได้ (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2549)



ภาพที่ 3.11 ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกของเจลเนื้อกุ้งกุลาดำ บดที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 0-3 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการให้ความดัน (600 เมกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) หรือการให้ความดัน ร่วมกับความร้อน (400 เมกะปาสกาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) TCA-soluble peptides of black tiger shrimp gel added with 0-3% (w/w) bovine plasma protein and induced by pressure (600 MPa, at 28 °C, 20 min) or pressure-heat (400 MPa, at 28 °C, 20 min/ at 90 °C, 20 min)

Bars represent the standard deviation of six determinations.

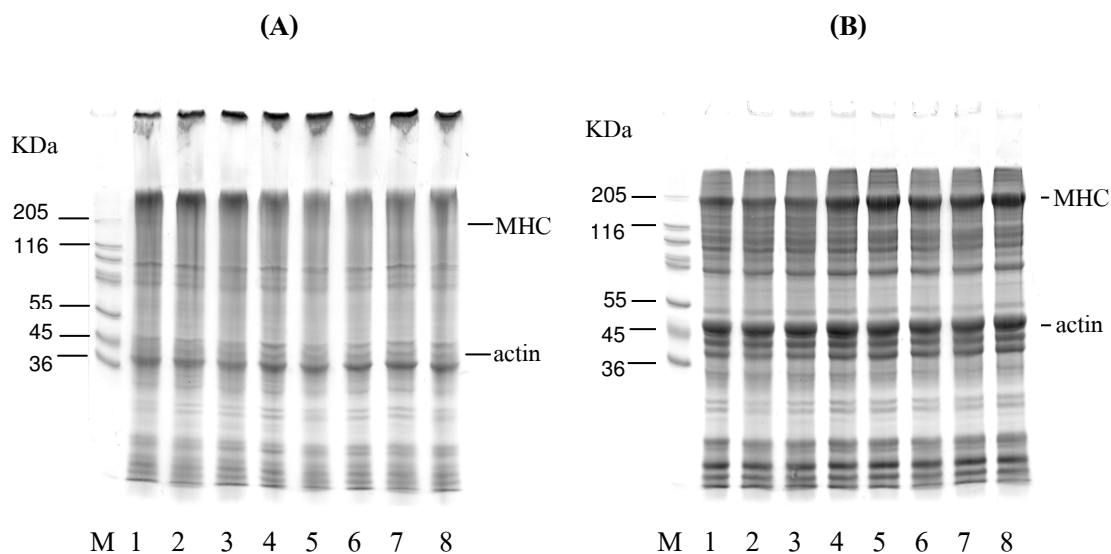
Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).



ภาพที่ 3.12 ค่าแรงก่อนเจาะทะลุ (A) และค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุ (B) ของเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 0-3 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการให้ความดัน (600 เมกกะปาสกาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) หรือการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) Breaking force (A) and breaking deformation (B) of black tiger shrimp gel added with 0-3% (w/w) bovine plasma protein or induced by pressure (600 MPa, at 28 °C, 20 min) And pressure-heat (400 MPa, at 28 °C, 20 min/ at 90 °C, 20 min) Bars represent the standard deviation of six determinations. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

2.5 รูปแบบของโปรตีนโดย SDS-PAGE

รูปแบบของโปรตีนโดย SDS-PAGE ของตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกลูตาบัคที่เติมโปรตีนพลาสติกมาเลื่อควัวร้อยละ 0-3 แสดงดังภาพที่ 3.13 พบว่า ในทุกตัวอย่างเจลมีความเข้มของแถบโปรตีนในส่วน stacking gel และแถบโปรตีนที่มีขนาดใหญ่กว่า 205 กิโลดาลตันในรูปแบบนอนรีดิวิซิ่ง (ภาพ A) มากกว่าในรูปแบบรีดิวิซิ่ง (ภาพ B) ซึ่งแสดงว่า ในตัวอย่างประกอบด้วยพันธะไดซัลไฟด์ และในตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับความร้อนมีความเข้มของแถบไมโอซินเส้นหนักในรูปแบบรีดิวิซิ่ง (ภาพ B) มากกว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เนื่องจากกระบวนการให้ความดันสูงทำให้โปรตีนเกิดการคลายตัวและเมื่อให้ความร้อนร่วมกับการใช้โปรตีนพลาสติกมาเลื่อควัวจึงทำให้ตัวอย่างที่ผ่านการให้ดันร่วมกับความร้อนเกิดพันธะไดซัลไฟด์ได้มากขึ้น เพราะโปรตีนพลาสติกมาเลื่อควัวมีผลยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส (Morrissey *et al.*, 1993) ทำให้ไมโอซินเส้นหนักไม่ถูกย่อยและเกิดเจลที่มีความแข็งขึ้น โดยเฉพาะตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับความร้อน ซึ่งแสดงดังค่าปริมาณเปปไทด์ที่สามารถละลายได้ในสารละลายไตรคลอโรอะซิติก (ภาพที่ 3.11) และส่งผลต่อค่าแรงก่อนเจาะทะลุของเจลเนื้อกึ่งกลูตาบัค (ภาพที่ 3.12A)



ภาพที่ 3.13 รูปแบบโปรตีนด้วย SDS-PAGE ของเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว ร้อยละ 0-3 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) โดย A: รูปแบบนอนรีดิวซิ่ง B: รูปแบบรีดิวซิ่ง MHC: ไมโอซินเส้นหนัก M: โปรตีนมาตรฐาน 1-4: ตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดัน (600 เมกะปาสคาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 0 1 2 และ 3 ตามลำดับ 5-8: ตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (400 เมกะปาสคาล นาน 20 นาที / 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) และเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 0 1 2 และ 3 ตามลำดับ

SDS-PAGE of black tiger shrimp gel added with 0-3% (w/w) bovine plasma protein
 A: Non- reducing; B: Reducing; MHC: Myosin heavy chain; M: Marker; lane 1-4: gel induced by pressure (600 MPa, 28 °C, 20 min) and added 0, 1, 2 and 3 % bovine plasma protein, respectively; lane 5-8: Gel induced by pressure-heat (400 MPa, 20 min/90 °C, 20 min) and added 0, 1, 2 and 3 % bovine plasma protein, respectively.

3. ผลของการเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ (MTGase) ต่อการเกิดเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบด

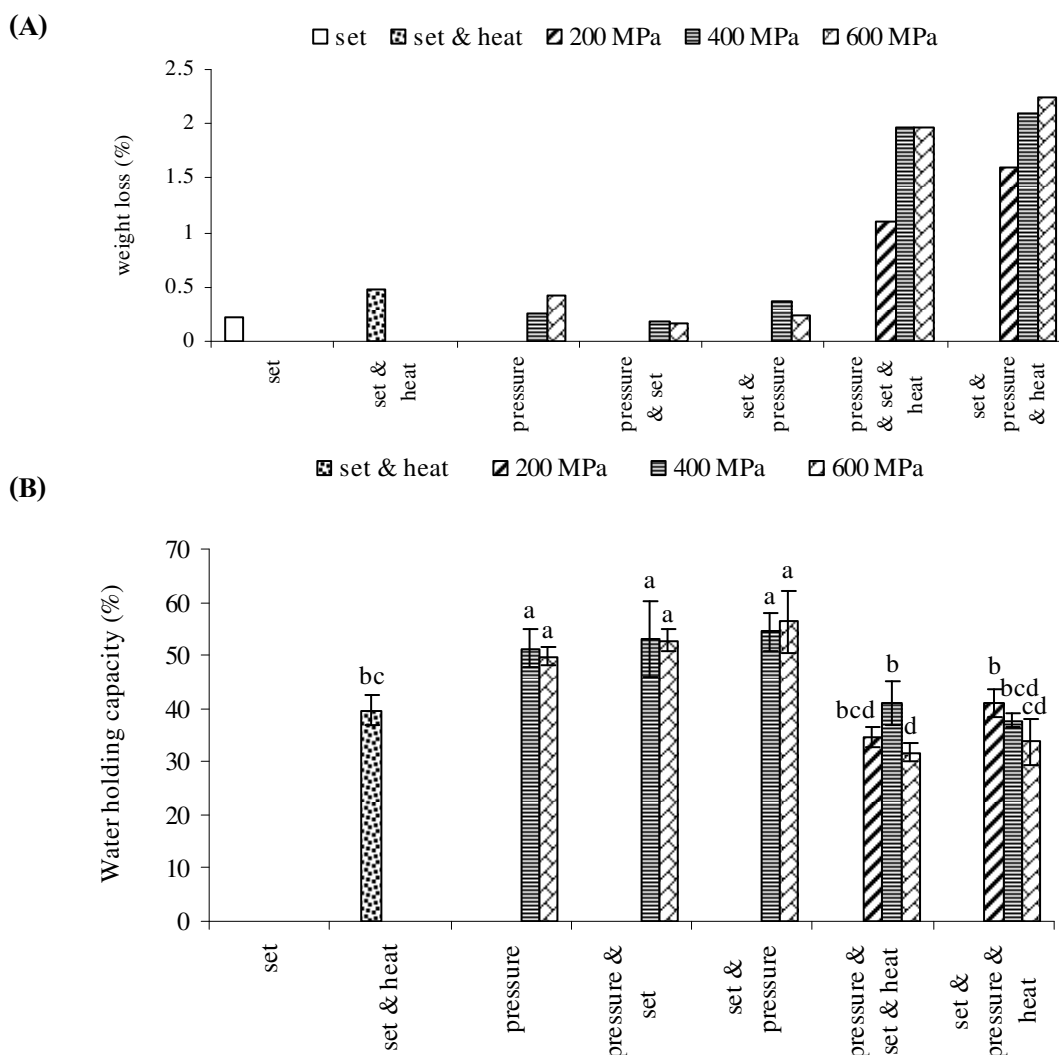
ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสในเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบด โดยเติมเอนไซม์ร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก)

3.1 ค่าการสูญเสียน้ำหนักและความสามารถในการอุ้มน้ำ

ในตัวอย่างเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เพียงอย่างเดียวไม่สามารถเกิดเจลได้ ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส โปรตีนอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงเพียงบางส่วน แต่ยังไม่เกิดการสร้างพันธะใหม่ที่จะเกิดเจลได้ เมื่อตรวจสอบค่าการสูญเสียน้ำหนักและค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของตัวอย่างเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่สภาวะต่างๆ แสดงดังภาพที่ 3.14A และ B ตามลำดับ โดยตัวอย่างเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการบ่ม การให้ความร้อน และการให้ความดันมีค่าการสูญเสียน้ำหนักมากที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากกระบวนการให้ความดันและความร้อนมีผลทำให้สูญเสียพันธะไฮโดรเจน ถึงแม้ว่ากระบวนการให้ความดัน ทำให้เกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจนได้ในช่วงปล่อยความดัน แต่เมื่อให้ความร้อนหลังจากให้ความดันก็อาจทำให้พันธะไฮโดรเจนถูกทำลายได้จึงทำให้เกิดการสูญเสียน้ำหนักมากกว่าตัวอย่างที่สภาวะอื่น ซึ่งสอดคล้องกับค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของตัวอย่าง โดยตัวอย่างเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ผ่านการบ่ม การให้ความร้อน และการให้ความดัน มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำกว่าตัวอย่างอื่น

3.2 ค่าแรงและระยะทางก่อนเจาะทะลุ

ค่าแรง และระยะทางก่อนเจาะทะลุของตัวอย่างเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0.1 ที่ผ่านการทำให้เกิดเจลด้วยกระบวนการต่างๆ แสดงดังภาพที่ 3.15A และ B ตามลำดับ ตัวอย่างเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ทำให้เกิดเจลด้วยความดัน 600 เมกกะปาสกาล ทุกตัวอย่างมีค่าแรงก่อนเจาะทะลุสูงกว่าที่ระดับความดันอื่น ($p < 0.05$) โดยตัวอย่างเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่ทำให้เกิดเจลด้วยความดัน 600 เมกกะปาสกาลที่มีหรือไม่มีการบ่มก่อนให้ความดันมีค่าแรงก่อนเจาะทะลุสูงสุด ($p < 0.05$) จากรายงานของ Gómez-Guillén และคณะ (2005) พบว่าตัวอย่างกล้ามเนื้อปลาฮอร์สแมคเคอเรล (horse mackerel) ที่ผ่านการบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง แล้วให้ความดันที่ 300 เมกกะปาสกาล นาน 15 นาที ให้ค่าแรงก่อนเจาะทะลุสูงสุด และ Pérez-Mateos และคณะ (2002) พบว่าการบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมงแล้วให้ความดันที่ 300 เมกกะปาสกาล นาน 15 นาที ทำให้เจลปลาแอตแลนติกแมคเคอเรล (Atlantic mackerel) มี



ภาพที่ 3.14 ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (A) และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (B) ของเจลเนื้อกุ้งกุลาดำ บดที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการให้ความดัน (200-600 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) การบ่ม (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) และการให้ความร้อน (ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) หมายเหตุ: ตัวอย่างที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ/หรือผ่านการให้ความดันที่ 200 เมกกะปาสคาล ไม่สามารถเกิดเจลได้

Weight loss (A) and water holding capacity (B) of black tiger shrimp gel added with 0.1% (w/w) microbial transglutaminase and induced by pressure (200-600 MPa, at 28 °C, 20 min), set (at 25 °C, 2 h) and heat (at 90 °C, 20 min)

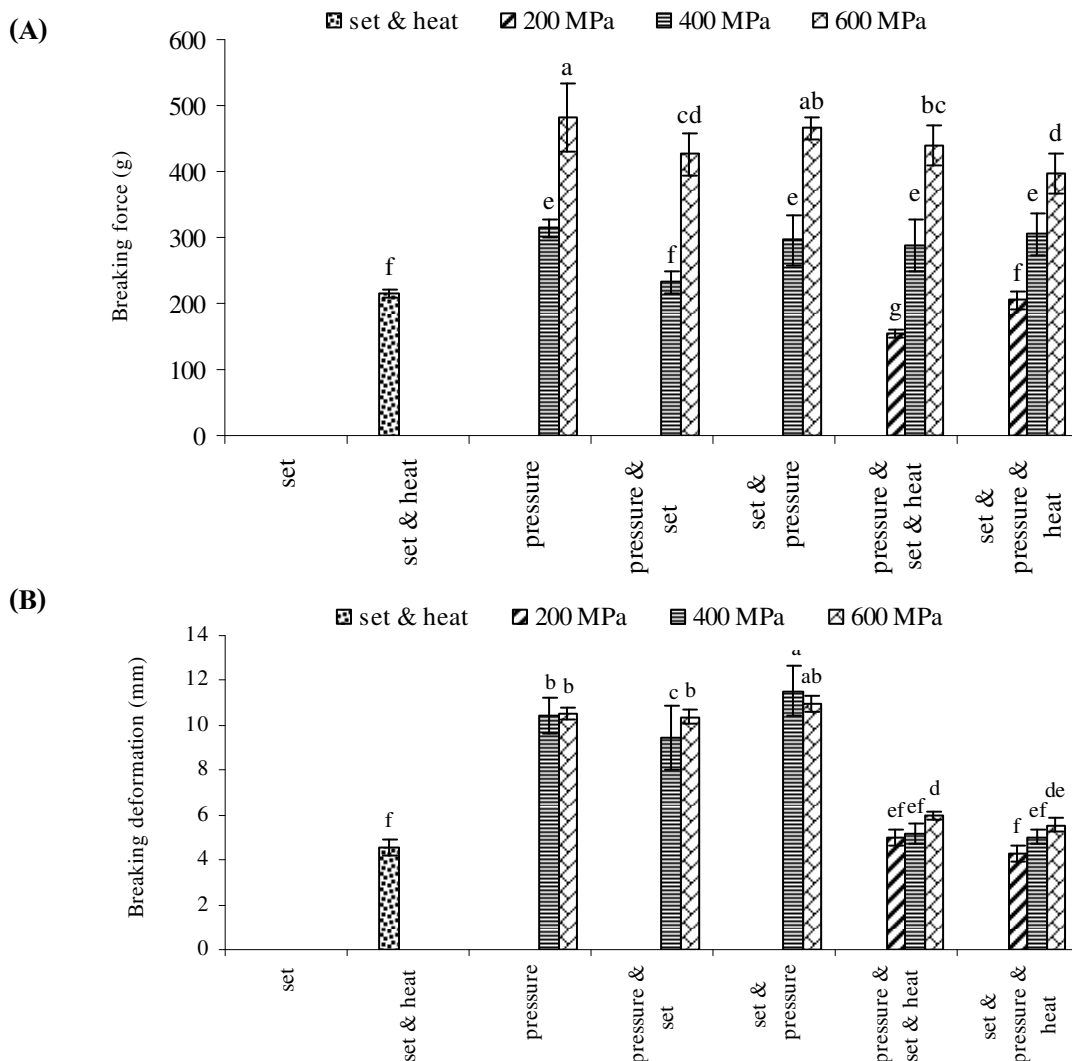
Note: Samples treated by setting at 25 °C and/or pressurization at 200 MPa were not formed gel.

Bars represent the standard deviation of six determinations.

Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

ค่าแรงก่อนเจาะทะลุสูงสุด ส่วนค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุ ตัวอย่างเจลที่ผ่านการบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง แล้วให้ความดันที่ 400 หรือ 600 เมกกะปาสคาลมีค่าสูงสุด ($p < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ และค่าการสูญเสียน้ำหนัก

ดังนั้นการใช้การบ่มแล้วให้ความดันร่วมกับการเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส จากจุลินทรีย์จึงมีความเหมาะสมในการทำให้โปรตีนกลั่นเนื้อเกิดเจลได้ เนื่องจากสภาวะการบ่ม อาจเป็นช่วงที่เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสเกิดกิจกรรมการเร่งการเชื่อมประสานของโปรตีนด้วยพันธะโควาเลนต์ และเกิดเจลชัวร์ก่อนที่จะให้ความดัน (Gómez-Guillén *et al.*, 2005) และเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสสามารถเกิดกิจกรรมได้ภายใต้สภาวะความดันสูงด้วย (Mozhaev *et al.*, 1994) แต่ Montero และคณะ (2005) พบว่า เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์มีกิจกรรมลดลงเมื่อผ่านการให้ความดัน โดยเฉพาะเมื่อให้ความดันมากกว่า 400 เมกกะปาสคาล (Lauber *et al.*, 2001)



ภาพที่ 3.15 ค่าแรงก่อนเจาะทะลุ (A) และค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุ (B) ของเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการให้ความดัน (200-600 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) การบ่ม (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) และการให้ความร้อน (ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) หมายเหตุ: ตัวอย่างที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ/หรือผ่านการให้ความดันที่ 200 เมกกะปาสคาล ไม่สามารถเกิดเจลได้

Breaking force (A) and breaking deformation (B) of black tiger shrimp gel added with 0.1% (w/w) microbial transglutaminase and induced by pressure (200-600 MPa, at 28 °C, 20 min), set (at 25 °C, 2 h) and heat (at 90 °C, 20 min)

Note: Samples treated by setting at 25 °C and/or pressurization at 200 MPa were not formed gel.

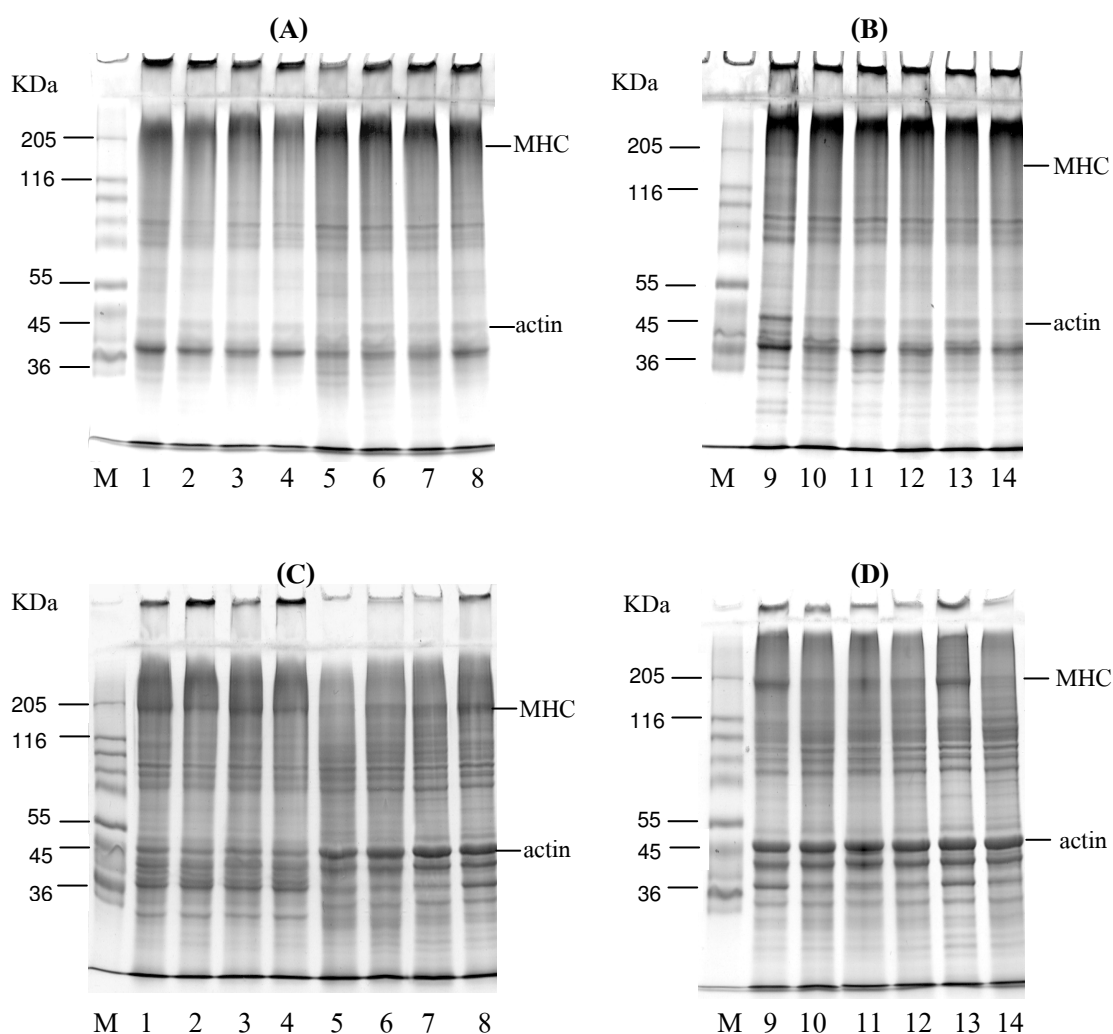
Bars represent the standard deviation of six determinations.

Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

3.3 รูปแบบของโปรตีนโดย SDS-PAGE

จากการตรวจสอบรูปแบบโปรตีนของตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกลาดำบดที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ ร้อยละ 0.1 ด้วย SDS-PAGE แสดงดังภาพที่ 3.16 แถบโปรตีนที่เกิดจากการเชื่อมต่อของโปรตีนที่มีขนาดใหญ่กว่า 205 กิโลดาลตัน ในส่วนของ stacking gel มีความเข้มของแถบในทุกตัวอย่างทั้งในรูปแบบนอนรีดิวิซิ่ง (ภาพ A) และในรูปแบบรีดิวิซิ่ง (ภาพ B) เนื่องจากเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ที่เติมในเจลเนื้อกึ่งกลาดำบดทำหน้าที่ในการเร่งการเชื่อมประสานโปรตีนด้วยพันธะโควาเลนต์ ϵ -(γ -กลูตามิล-ไลซีน) ระหว่างกรดอะมิโนกลูตามีนและไลซีน (Greenberg *et al.*, 1991) ซึ่งเกิดได้ทั้งใน และนอกโมเลกุล (Folk and Chung, 1973)

การบ่ม ความดัน หรือความร้อนส่งผลให้เกิดการเร่งการเชื่อมประสานโปรตีนของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ในอัตราที่ใกล้เคียงกัน แต่การเกิดเจลโดยความดันร่วมกับการบ่มทั้งในตัวอย่างที่ให้ความดันก่อนหรือหลัง ทำให้โปรตีนโดยเฉพาะไมโอซินเกิดการคลายตัว และทำให้เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ที่เติมสามารถเข้าไปเร่งกิจกรรมการเชื่อมประสานได้มากขึ้น และในแอกติน เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ที่เติมอาจมีผลในการเร่งการเชื่อมประสานเช่นกันแต่มีการเร่งการเชื่อมในปริมาณที่น้อยกว่าไมโอซินเส้นหนัก ดังนั้นจึงมีความเข้มของแถบโปรตีนที่ 45 กิโลดาลตันเพิ่มขึ้น ซึ่ง Nonaka และคณะ (1989) พบว่า เกิดการรวมกันของไมโอซินจากกระต่ายด้วยเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์แต่ไม่ผลต่อแอกติน นอกจากนี้ Nakahara และคณะ (1999, อ้างโดย สุทรวัดน์ เบญจกุล, 2549) พบว่า เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ *Streptoverticillium mobaraense* สามารถเร่งให้เกิดการรวมกลุ่มกับคอนเนกติน (connectin) ได้รวดเร็วกว่าไมโอซินเส้นหนัก แต่ไม่สามารถเชื่อมประสานแอกตินได้เช่นกัน



ภาพที่ 3.16 รูปแบบโปรตีนโดย SDS-PAGE ของเจลเนื้อกึ่งกลาดำบคที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามินส จากจุลินทรีย์ร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการให้ความดัน (200-600 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) การบ่ม (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) และการให้ความร้อน (ที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) A,B: รูปแบบนอนรีคิวซิ่ง C,D: รูปแบบรีคิวซิ่ง 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 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที ตามลำดับ 5-6: ตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันที่ 400 และ 600 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที แล้วบ่มตามลำดับ 7-9: ตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันที่ 200 400 และ 600 เมกกะปาสคาล นาน 20

นาที่ แล้วบ่มและให้ความร้อนตามลำดับ 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

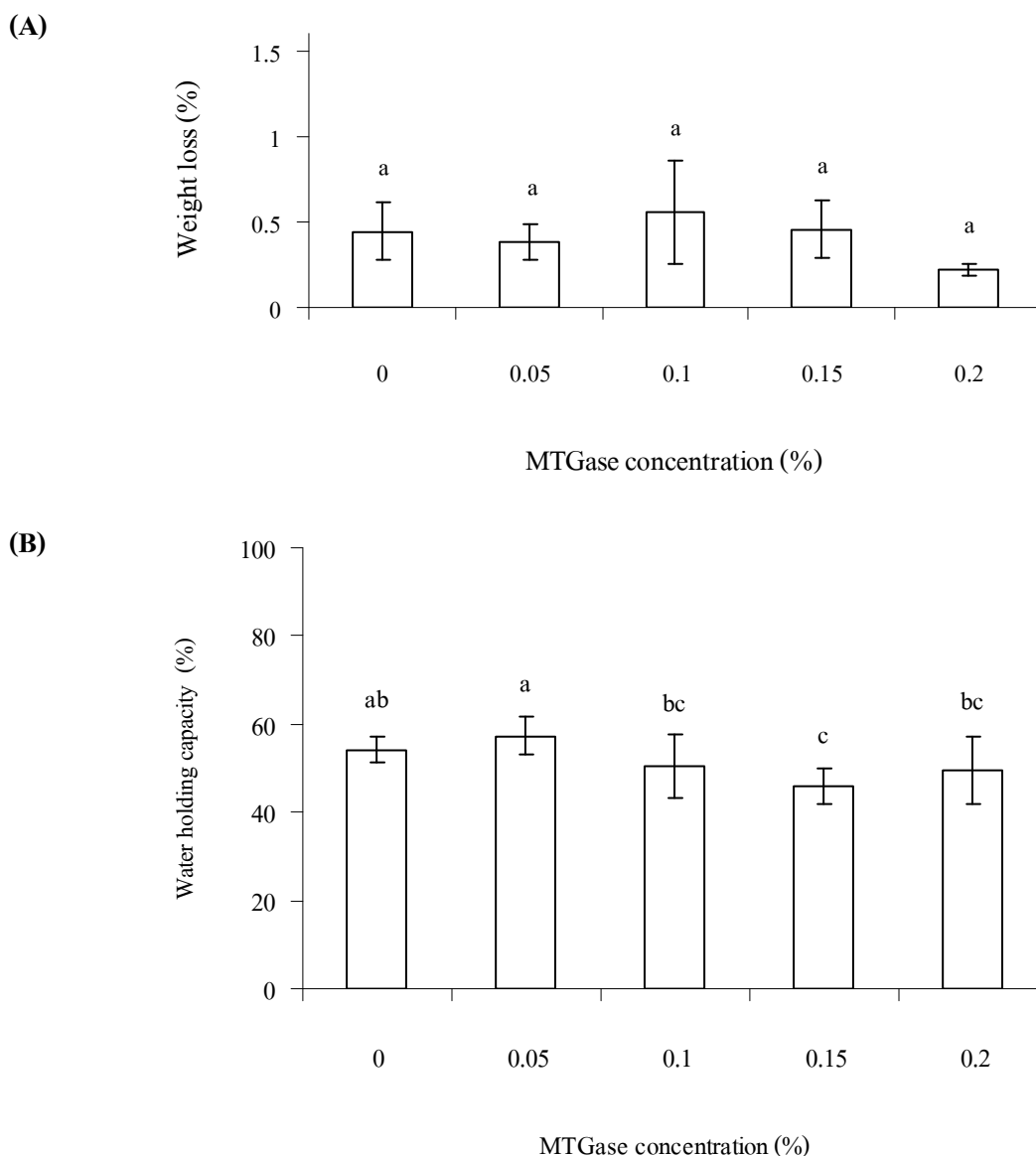
SDS-PAGE of minced black tiger shrimp gels added with 0.1% (w/w) MTGase and induced by pressure, set or heat treatments. A, B: non-reducing; C, D: reducing; MHC: myosin heavy chain; M: marker; lane 1: set at 25 °C, 2 h (Set); lane 2: set at 25 °C, 2 h and heated at 90 °C for 20 min (Heat); lane 3-4: pressurized at 400 and 600 MPa for 20 min, respectively; lane 5-6: pressurized at 400 and 600 MPa for 20 min prior to set, respectively; lane 7-9: pressurized at 200, 400 and 600 MPa for 20 min prior to set and followed by heating, respectively; lane 10-11: set prior to pressure at 400 and 600 MPa for 20 min, respectively and lane 12-14: set prior to pressure at 200, 400 and 600 MPa for 20 min and followed by heating, respectively.

4. ผลของระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ต่อการเกิดเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีบด

จากการศึกษาในหัวข้อที่ผ่านมา สภาวะที่เหมาะสมในการเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ในเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีบด คือการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง แล้วให้ความดันที่ 600 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที ที่ อุณหภูมิห้อง จึงใช้สภาวะนี้ในการศึกษาหาระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการเกิดเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีบด

4.1 ค่าการสูญเสียน้ำหนัก และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ

ค่าการสูญเสียน้ำหนักของเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีบดที่ผ่านการบ่ม การให้ความดัน และเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ในระดับความเข้มข้นร้อยละ 0-0.2 มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 0.2-0.55 ($p \geq 0.05$) แสดงดังภาพที่ 3.17A ซึ่งมีค่าการสูญเสียน้ำหนักต่ำกว่าตัวอย่างที่มีการเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ที่ใช้มีองค์ประกอบของฟอสเฟตซึ่งมีผลต่อการอุ้มน้ำ (Van Wazer, 1971) จึงทำให้ลดการสูญเสียน้ำหนักของตัวอย่างที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ได้ ส่วนค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ ตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกลูตาดีบดที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0.5 มีค่าสูงสุด และตัวอย่างที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0.15 มีค่าต่ำสุด ($p < 0.05$) แสดงดังภาพที่ 3.17B แสดงว่า เมื่อเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นในระดับหนึ่ง ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำจะลดลง เนื่องจากเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะการให้ความดันพันธะโควาเลนต์ที่เกิดจากการเร่งด้วยเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วมาก จึงทำให้เกิดการขัดขวางการเกิดพันธะอื่นๆ ดังเช่น พันธะไอออนิก และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก ซึ่งเป็นพันธะที่เกิดขึ้นได้มากในสภาวะการให้ความดัน (Pérez-Mateos *et al.*, 1997) แต่ในรายงานของ Trespalacios และ Pla (2007) พบว่า เมื่อเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 3 ในเจลเนื้อไก่บดรวมกับการให้ความดันและให้ความร้อนที่ 20 หรือ 40 องศาเซลเซียส ทำให้ค่า Expressible moisture ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เติมเอนไซม์ในสภาวะการแปรรูปเดียวกัน แต่ทั้งนี้กิจกรรมของเอนไซม์อาจมีความแตกต่างกัน โดยเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ที่ศึกษามีส่วนประกอบของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสร้อยละ 0.6 โปรตีนถั่วเหลืองร้อยละ 33.3 โซเดียมฟอสเฟตร้อยละ 60 และอื่นๆ ร้อยละ 6.1 และมีกิจกรรมของเอนไซม์ 29.58 หน่วยต่อกรัม



ภาพที่ 3.17 ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (A) และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (B) ของเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0-0.2 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการบ่ม (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) และการให้ความดัน (600 เมกะปาสคาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)

Weight loss (A) and water holding capacity (B) of black tiger shrimp gel added with 0-0.2% (w/w) microbial transglutaminase and induced by set at 25 °C for 2 h prior to pressure 600 MPa at 28 °C for 20 min

Bars represent the standard deviation of six determinations.

Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

4.2 ค่าแรงและระยะทางก่อนเจาะทะเล

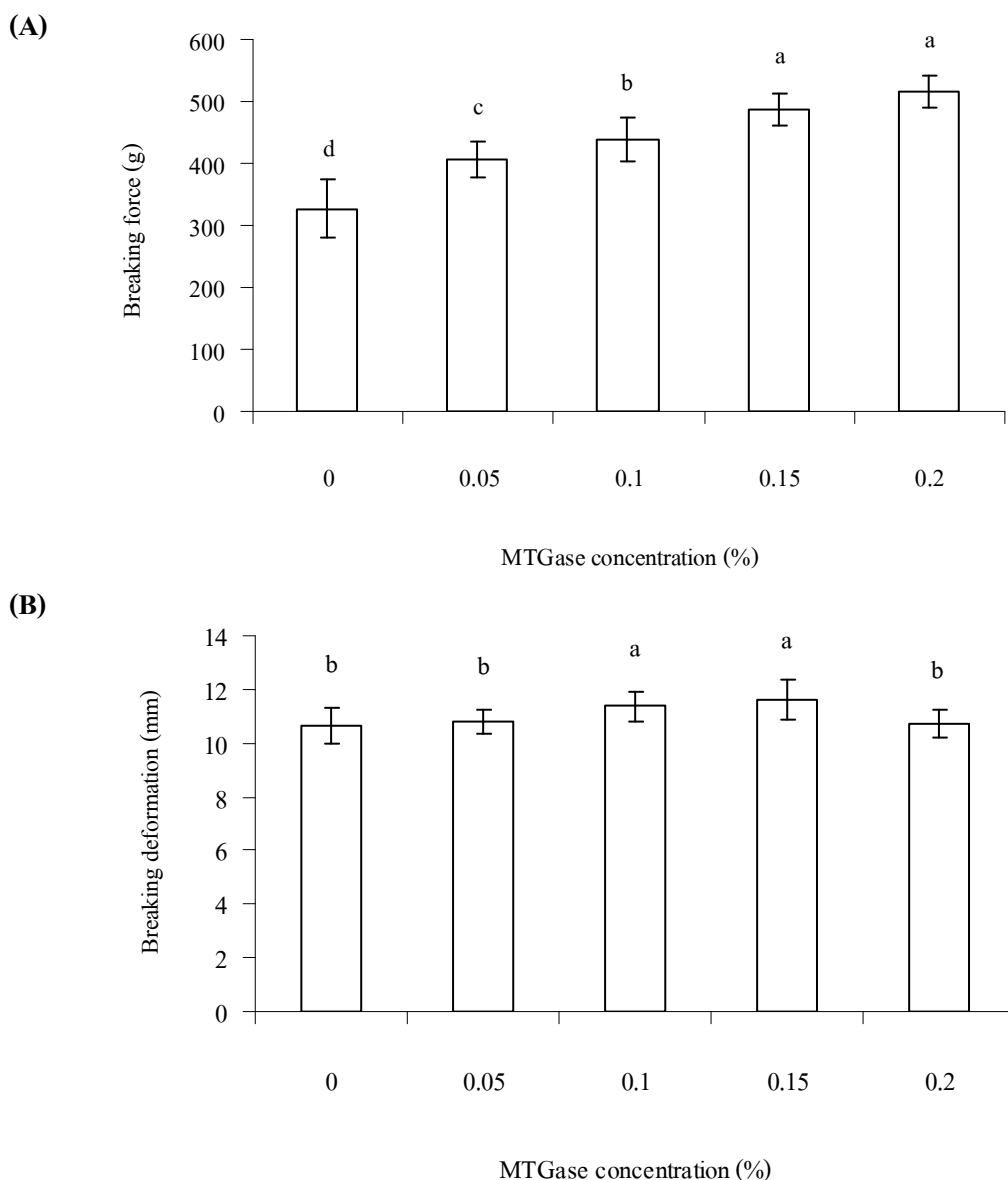
เมื่อเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ ร้อยละ 0-0.2 ในเนื้อกุ้งกุลาดำบด ที่ผ่านการบ่มร่วมกับการให้ความดันมีผลต่อค่าแรงและระยะทางก่อนเจาะทะเลดังภาพที่ 3.18A และ B ตามลำดับ โดยค่าแรงก่อนเจาะทะเลมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น ซึ่งตัวอย่างที่เติมเอนไซม์ร้อยละ 0.15 และ 0.2 มีค่าแรงก่อนเจาะทะเลสูงสุด ($p < 0.05$) (ภาพที่ 3.18A) การเพิ่มขึ้นของแรงก่อนเจาะทะเลเกิดจากสภาวะการแปรรูป โดยการบ่มและการให้ความดันมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในโปรตีนให้เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ โดยทำให้กรดอะมิโนกลูตามีนและไลซีนออกมาอยู่ในส่วนที่สามารถทำปฏิกิริยากัน (Trespalacios and Pla, 2007) เกิดเป็นพันธะ ϵ (γ -กลูตามิล-ไลซีน) ซึ่งพันธะโควาเลนต์ที่เกิดขึ้นเป็นพันธะเปปไทด์ที่ไม่สามารถผันกลับได้ และมีความแข็งแรงของพันธะที่เกิดจากอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนและโปรตีน (Chanyongvorakul *et al.*, 1995) จึงทำให้ค่าแรงก่อนเจาะทะเลมีค่าเพิ่มขึ้น ส่วนค่าระยะทางก่อนเจาะทะเล ตัวอย่างเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0.1 และ 0.15 มีค่าสูงสุด ($p < 0.05$) (3.18B) ส่วนชูริมิจากปลาโกลเด้นทรีดฟินบรีม (golden threadfin bream) ที่ทำให้เกิดเจลโดยการบ่มและให้ความร้อน มีค่าแรงและระยะทางก่อนการเจาะทะเลสูงสุดเมื่อเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ 0.3 ยูนิต์ต่อกรัมของชูริมิ (Asagami *et al.*, 1995) ขณะที่ชูริมิที่ได้จากปลาพอลแลค (Pollack) ที่ทำให้เกิดเจลด้วยการให้ความร้อนหลังจากมีและไม่มีกรบ่ม มีค่าความแข็งแรงของเจลสูงสุดเมื่อเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ 1-2 ยูนิต์ต่อกรัมตัวอย่าง (Sakamoto *et al.*, 1995) นอกจากนี้ในลูกชิ้นไก่ที่ทำให้เกิดเจลด้วยความร้อนมีค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น เมื่อเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0-1 (Tsai *et al.*, 1996) ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสที่เหมาะสมในการเติมในตัวอย่างแต่ละชนิด ขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ ความสด ความเข้มข้นของโปรตีน และฤดูกาลของการเก็บเกี่ยว (Asagami *et al.*, 1995) นอกจากนี้ยังขึ้นกับสภาวะการแปรรูปเช่นกัน

ในตัวอย่างเจลชูริมิที่ได้จากปลาอลาสก้าพอลล๊อค (Alaska Pollock) และเจลเนื้อไก่วงบดที่ผ่านการให้ความดัน การบ่ม และ/หรือการให้ความร้อน พบว่า ตัวอย่างเจลที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ 5 และ 1.5 ยูนิต์ต่อกรัม โปรตีนในเนื้อไก่วงบดและชูริมิ ตามลำดับ มีค่าความแข็งแรงของเจลสูงกว่าตัวอย่างเจลที่ไม่เติมเอนไซม์ (Ashie and Lanier, 1999) เช่นเดียวกันในเจลเนื้อปลาฮอร์สแมคเคอเรล (horse mackerel) พบว่า เมื่อมีการบ่มก่อนและหลังการให้ความดันร่วมกับการเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 2 มีค่าความแข็งแรงของเจลสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมเอนไซม์ (Gómez-Guillén *et al.*, 2005) และในเจลเนื้อปลาแอร์โรทูธ

ฟลาวเดอร์ (arrowtooth flounder) ที่ผ่านการให้ความดัน การบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส และการให้ความร้อนร่วมกับการเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0.003 มีค่าความแข็งและความยืดหยุ่นสูงกว่าเจลที่ไม่ได้เติมเอนไซม์และผ่านการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว (Uresti *et al.*, 2006) และ Trespacios และ Pla (2005) พบว่า ลักษณะของเจลโครงข่ายของเนื้อไก่บดที่เกิดขึ้นจากการให้ความดันร่วมกับการเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0.3 มีค่าความแข็งแรงและความยืดหยุ่นของเจลเพิ่มขึ้นเช่นกัน ซึ่ง Dickinson (1997) อ้างโดย Trespacios and Pla, (2005) ได้อธิบายไว้ว่า เจลโครงข่ายเชื่อมต่อโปรตีนชนิดนี้ไม่สามารถทำให้แยกจากกันได้จึงทำให้ทนต่อแรงมากและมีระยะทางก่อนที่แยกจากกันมากด้วย ดังนั้นจึงทำให้ค่าแรงและระยะทางก่อนเจาะทะลุมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ไม่มีความสอดคล้องกับค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (ภาพที่ 3.17B) ซึ่งมีค่าต่ำสุดเมื่อเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0.15

4.3 รูปแบบของโปรตีน โดย SDS-PAGE

จากการตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนของตัวอย่างเนื้อไก่บดที่ผ่านการบ่มการให้ความดัน และเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ในระดับความเข้มข้นร้อยละ 0-0.2 โดย SDS-PAGE แสดงดังภาพที่ 3.19 โดยในรูปแบบอนรีดิวซิ่ง (ภาพที่ 3.19A) มีความเข้มของแถบโปรตีนที่มีขนาดใหญ่กว่า 205 กิโลดาลตันในทุกตัวอย่าง แต่ในรูปแบบรีดิวซิ่ง (ภาพที่ 3.19B) ความเข้มของแถบโปรตีนที่มีขนาดใหญ่กว่า 205 กิโลดาลตันมีความเข้มของแถบเพิ่มขึ้น เมื่อเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่เพิ่มขึ้น แต่ในแถบโปรตีนไมโอซินเส้นหนักรับมีความเข้มของแถบโปรตีนลดลง เช่นเดียวกันในตัวอย่างเจลซูริมิที่ได้จากปลาอลาสก้าพอลล็อก (Alaska Pollock) ที่ผ่านการให้ความดัน การบ่ม และ/หรือการให้ความร้อน พบว่า ตัวอย่างเจลที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ 1.5 ยูนิตต่อกรัมโปรตีน มีค่าความเข้มของแถบโปรตีนที่มีขนาดใหญ่กว่า 205 กิโลดาลตันมากกว่าและมีค่าความเข้มของแถบโปรตีนไมโอซินเส้นหนักรับลดลงจากตัวอย่างเจลที่ไม่เติมเอนไซม์ (Ashie and Lanier, 1999) ทั้งนี้เนื่องจากไมโอซินเส้นหนักเกิดการเชื่อมประสานโดยพันธะ ϵ (γ -กลูตามิล-ไลซีน) ที่เกิดจากการเร่งของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์เกิดเป็นโปรตีนที่มีขนาดใหญ่ขึ้น (De Jong and Koppelman, 2002) แต่ในโปรตีนแอกตินไม่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มของแถบโปรตีน เช่นเดียวกัน Nonaka และคณะ (1989) พบว่าเกิดการรวมกันของไมโอซินจากกระต่ายด้วยเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ แต่ไม่มีผลต่อแอกติน นอกจากนี้ความเข้มที่เพิ่มขึ้นของแถบโปรตีนที่มีขนาดมากกว่า 205 กิโลดาลตันเมื่อมีการเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสในปริมาณที่เพิ่มขึ้นยังมีความสอดคล้องกับค่าแรงก่อนเจาะทะลุของเจล (ภาพที่ 3.18A)

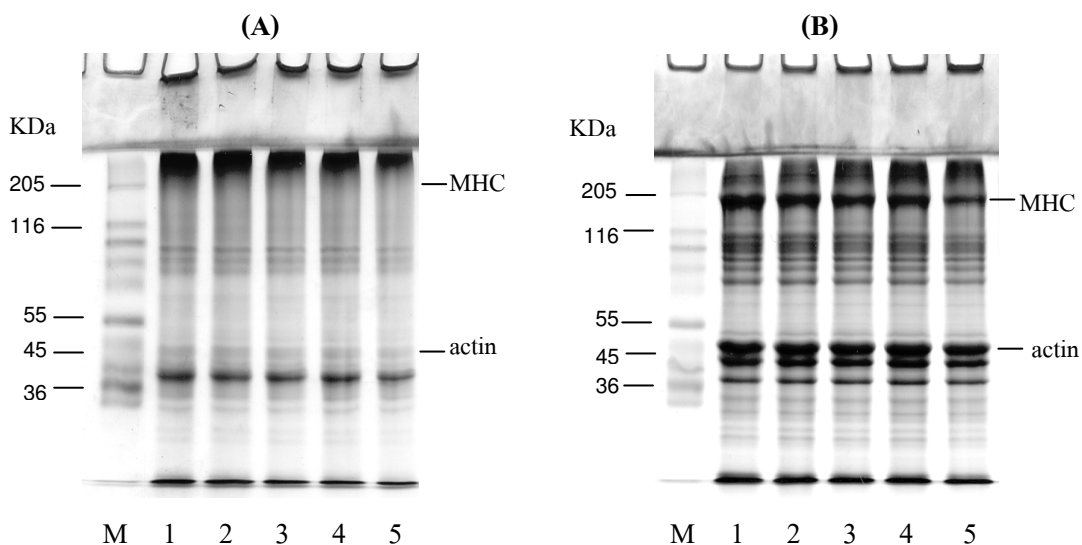


ภาพที่ 3.18 ค่าแรงก่อนเจาะทะลุ (A) และค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุ (B) ของเจลเนื้อกุ้งกุลาดำคั่วที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0-0.2 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการบ่ม (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) และการให้ความดัน (600 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที)

Breaking force (A) and breaking deformation (B) of black tiger shrimp gel added with 0-0.2% (w/w) microbial transglutaminase and induced by set at 25 °C for 2 h prior to pressure 600 MPa at 28 °C for 20 min

Bars represent the standard deviation of ten determinations.

Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).



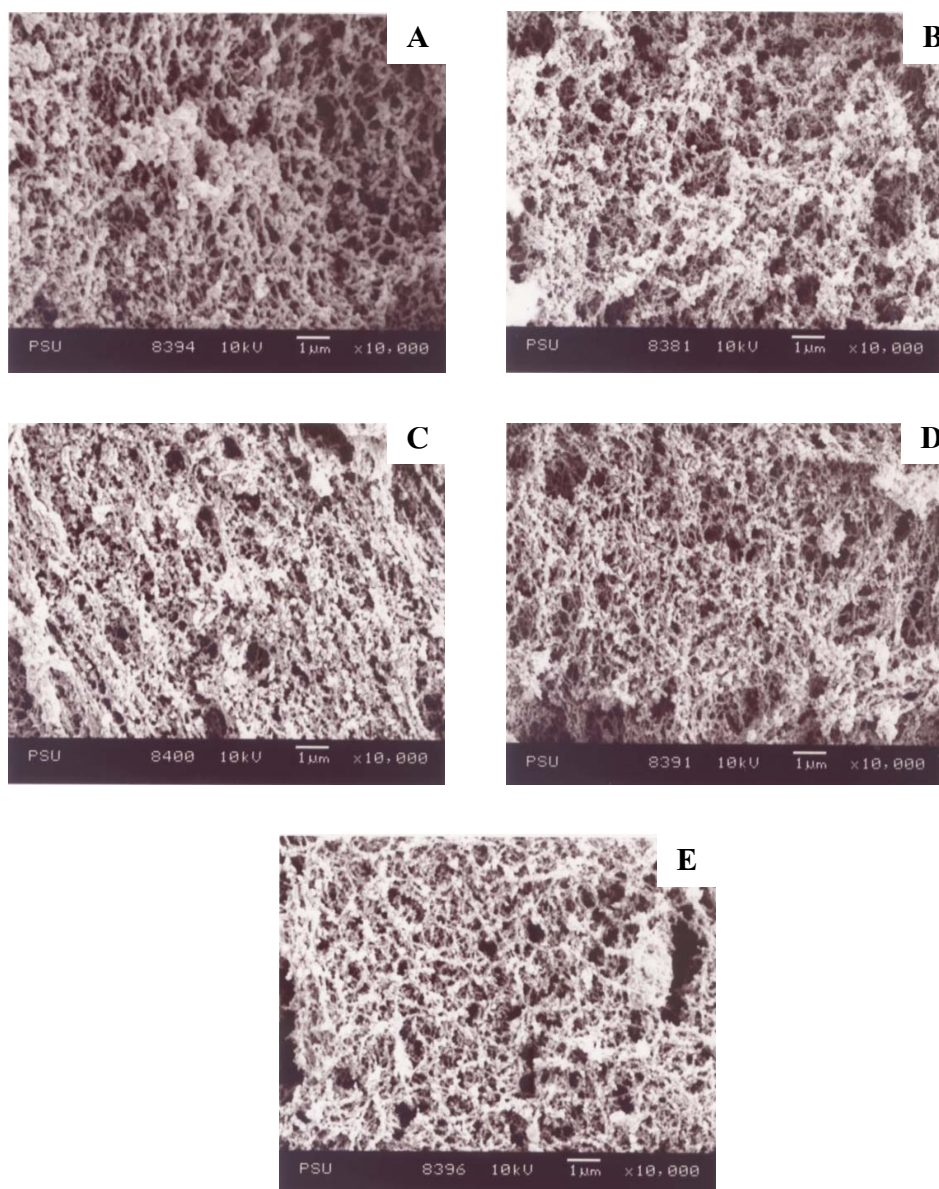
ภาพที่ 3.19 รูปแบบโปรตีนด้วย SDS-PAGE ของเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบดที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0-0.2 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) และผ่านการบ่ม (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) และการให้ความดัน (600 เมกกะปาสคาล ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) โดย A: รูปแบบนอนรีดิวซิ่ง B: รูปแบบรีดิวซิ่ง MHC: ไมโอซินเส้นหนัก M: โปรตีนมาตรฐาน 1-5: ตัวอย่างที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0 0.05 0.10 0.15 และ 0.20 ตามลำดับ

SDS-PAGE of minced black tiger shrimp gels added with (0-0.2 %w/w) microbial transglutaminase then induced by set at 25 °C for 2 h prior to pressure at 600 MPa for 20 min. A: non-reducing; B: reducing; MHC: myosin heavy chain; M: Marker; lane 1-5: added 0, 0.05, 0.10, 0.15 and 0.20 % microbial transglutaminase, respectively.

5. โครงสร้างทางจุลภาคของเจลเนื้อกึ่งกุกาต์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM)

จากภาพที่ 3.20 แสดงโครงสร้างทางจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดของเจลเนื้อกึ่งกุกาต์ที่เติมและไม่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว และเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์แล้วให้ความดัน และให้ความดันร่วมกับความร้อน พบว่า เจลเนื้อกึ่งกุกาต์ที่ผ่านให้ความดัน 600 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 3.20A) มีลักษณะโครงข่ายร่างแหที่มีระเบียบ มีความต่อเนื่องของเส้นใยโปรตีน และโครงข่ายร่างแหเชื่อมต่อกันแน่น ทำให้มีช่องว่างภายในโครงข่ายของโปรตีนน้อย และเมื่อมีการให้ความดันที่ 400 เมกกะปาสกาล นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส แล้วให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที (ภาพที่ 3.20B) พบว่าโครงข่ายมีความต่อเนื่องของเส้นใยน้อยกว่าและมีหนาแน่นของโครงข่ายมากขึ้นและปรากฏขนาดช่องว่างภายในโครงข่ายไม่สม่ำเสมอ ซึ่งสอดคล้องกับค่าแรงก่อนเจาะทะลุ (ภาพที่ 3.3A) มีค่าสูงสุดในตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับความร้อนทั้งนี้เนื่องจากการให้ความดันร่วมกับความร้อนมีผลทำให้เกิดการรวมกลุ่มของโปรตีน และทำให้เกิดเจลได้ด้วยพันธะต่างๆ ดังเช่น พันธะไดซัลไฟด์ อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก อันตรกิริยาแรงกระทำระหว่างประจุ (Messens *et al.*, 1997)

ในตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกุกาต์ที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว ทั้งที่ผ่านการให้ความดันเพียงอย่างเดียวและผ่านการให้ความดันร่วมกับการให้ความร้อน (ภาพที่ 3.20C และ D ตามลำดับ) พบว่า มีโครงข่ายมีความต่อเนื่องของเส้นใยและหนาแน่นมากกว่า และมีขนาดช่องว่างภายในโครงข่ายเล็กกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว และมีความสอดคล้องกับค่าแรงก่อนเจาะทะลุ (ภาพที่ 3.12A) ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนพลาสมาเลือดวัวยังสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสให้โปรตีนไม่ถูกย่อยให้มีขนาดเล็กลง (Morrissey *et al.*, 1993) จึงทำให้มีลักษณะของโครงข่ายที่มีความต่อเนื่องมากขึ้น ส่วนในตัวอย่างที่เติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ที่ผ่านการบ่มและให้ความดัน ลักษณะโครงข่ายเจลที่มีระเบียบ มีความต่อเนื่องของเส้นใย และมีโครงข่ายร่างแหเชื่อมต่อกัน ไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว แต่มีความหนาแน่นและต่อเนื่องของโครงข่ายมากกว่าตัวอย่างที่ผ่านการให้ความดันและความร้อน หรือผ่านการให้ดันเพียงอย่างเดียว และมีความสอดคล้องกับค่าแรงก่อนเจาะทะลุ (ภาพที่ 3.17A) เพราะในสถานะที่ผ่านการบ่ม และการให้ความดันเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ช่วยเร่งให้เกิดพันธะ ϵ (γ -กลูตามิล-ไลซีน) ได้ภายใต้โครงสร้างที่ถูกเปลี่ยนแปลงให้เหมาะสมด้วยความดัน (De Jong and Koppelman, 2002)



ภาพที่ 3.20 โครงสร้างทางจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (กำลังขยาย 10,000 เท่า) ของตัวอย่างเจลเนื้อกึ่งกึ่งดัดโดย A: ตัวอย่างเจลที่ผ่านการให้ความดัน (600 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส) B: ตัวอย่างเจลที่ผ่านการให้ความดันร่วมกับความร้อน (400 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส/ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) C และ D: ตัวอย่างเจลที่เติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 2 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ที่ผ่านการให้ความดัน (600 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส) และการให้ความดันร่วมกับความร้อน (400 เมกกะปาสคาล 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 เมกกะปาสคาล นาน 20 นาที)

Microstructure by scanning electron microscope (magnification: 10,000x) of minced black tiger shrimp induced by pressure, heat and combination treatment; A: black tiger shrimp gel induced by pressure (600 MPa, 28^oC, 20 min); B: black tiger shrimp gel induced by pressure-heat (400 MPa at 28^oC for 20 min/at 90^oC for 20 min) C, D: black tiger shrimp gel added with 2%(w/w) bovine plasma protein induced by pressure-heat (400 MPa at 28^oC for 20 min/at 90^oC for 20 min) and pressure (600 MPa, at 28^oC for 20 min), respectively; and E: black tiger shrimp gel added with 0.15% (w/w) microbial transglutaminase induced by set-pressure (at 25^oC for 2 h/600 MPa at 28^oC for 20 min)