# บทที่ 3

# ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

## 1. สภาวะที่เหมาะสมในการใช้สารประกอบฟอสเฟตในกุ้งกุลาดำ

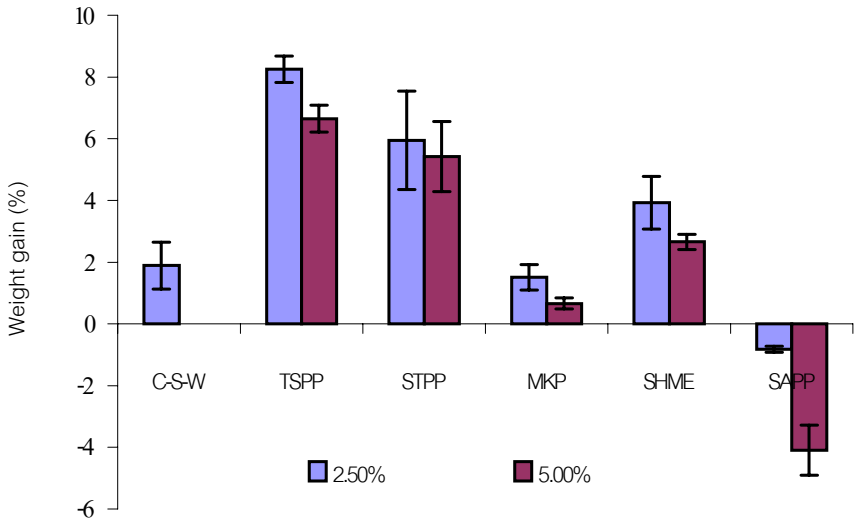
1.1 ชนิดและความเข้มข้นของสารประกอบฟอสเฟต

จากการศึกษาถึงผลของการแช่กุ้งกุลาดำในสารละลายฟอสเฟตชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5 หรือ ร้อยละ 5.0 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสโดยมีการกวนตลอดเวลาเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ต่อการเปลี่ยนแปลงของกุ้งกุลาดำ พบว่าน้ำหนักของกุ้งกุลาดำภายหลังการแช่เพิ่มขึ้น ($p<0.05$) (ภาพที่ 3) และผลผลิตภายหลังการให้ความร้อนของกุ้งกุลาดำเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) (ภาพที่ 4) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมยกเว้นกุ้งกุลาดำที่แช่ในสารละลายโซเดียมแอซิดไพโรฟอสเฟต (SAPP) ซึ่งมีน้ำหนักลดลงซึ่งสอดคล้องกับค่าน้ำหนักที่สูญเสียภายหลังการให้ความร้อนที่สูงกว่าชุดควบคุม ดังนั้นฟอสเฟตแต่ละชนิดมีผลต่อกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำแตกต่างกัน จากการทดลองพบว่าน้ำหนักของกุ้งกุลาดำภายหลังการแช่เพิ่มขึ้นร้อยละ 8.25 และ 6.65 เมื่อแช่ในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 และร้อยละ 5 ตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองที่แช่ในสารละลายโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 และร้อยละ 5 มีน้ำหนักภายหลังการแช่เพิ่มขึ้นร้อยละ 5.95 และ 5.42 ตามลำดับ ขณะที่ชุดควบคุม (แช่น้ำ) น้ำหนักภายหลังการแช่เพิ่มขึ้นร้อยละ 1.89 ดังนั้นการใช้ฟอสเฟตที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 มีผลต่อการลดประสิทธิภาพในการเพิ่มน้ำหนักของกุ้งกุลาดำ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 เพราะความเข้มข้นสูงเกินไป ส่งผลต่อการทำลายโครงสร้างของโปรตีน นอกจากนี้การใช้โซเดียมแอซิดไพโรฟอสเฟตที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 มีผลให้การสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) (ภาพที่ 3) อย่างไรก็ตามระดับความเข้มข้นของฟอสเฟตไม่มีผลต่อผลผลิตของกุ้งกุลาดำภายหลังการให้ความร้อน ยกเว้นการใช้โซเดียมแอซิดไพโรฟอสเฟต ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 ให้ผลผลิตภายหลังการให้ความร้อนน้อยกว่าที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5 (ภาพที่ 4) โดยกุ้งกุลาดำที่แช่ในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตมีค่าผลผลิตภายหลังการให้ความร้อนเท่ากับร้อยละ

102.64 และ 102.51 เมื่อแช่กุ้งกุลาดำในสารละลายเข้มข้นร้อยละ 2.5 และร้อยละ 5 ตามลำดับ ขณะที่ผลผลิตภายหลังการให้ความร้อนของกุ้งกุลาดำ (ไม่แช่น้ำ) และแช่น้ำมีค่า 86.25 และ 78.08 ตามลำดับ ค่าน้ำหนักที่สูญเสียภายหลังการให้ความร้อนของกุ้งกุลาดำที่แช่ในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตลดลงจากชุดควบคุมไม่แช่น้ำ (13.75) และแช่น้ำ (23.35) เป็น 5.19 เมื่อใช้ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และ เป็น 3.89 เมื่อใช้ความเข้มข้นร้อยละ 5.0 ตามลำดับ Chang และ Regenstein (1997) กล่าวว่าผลของฟอสเฟตต่อคุณสมบัติการอุ้มน้ำขึ้นกับชนิดและปริมาณของฟอสเฟต โดยสามารถเรียงลำดับประสิทธิภาพในการเพิ่มการอุ้มน้ำได้ดังนี้ TSPP>STPP>SHMP>MKP~Control>SAPP อันมีสาเหตุจากพีเอช ค่าความแรงอิออนที่แตกต่างกัน ทำให้เกิดแรงผลักระหว่างโมเลกุลที่แตกต่างกัน ส่งผลให้โครงสร้างของโปรตีนไมโอไฟบริลหลวมขึ้น และเกิดเป็นช่องว่าง ดังนั้นน้ำจึงสามารถเข้าไปแทนที่ และกักเก็บไว้ภายในโมเลกุลได้มากขึ้น Whiting (1984) กล่าวว่าพีเอชมีผลต่อประสิทธิภาพการอุ้มน้ำของโปรตีนกล้ามเนื้อ จากการเปรียบเทียบระหว่างโซเดียมแอซิดไพโรฟอสเฟต ออร์โธฟอสเฟตและโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต พบว่าโซเดียมแอซิดไพโรฟอสเฟตมีพีเอชต่ำกว่าออร์โธฟอสเฟต และโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต ส่งผลให้ประสิทธิภาพการอุ้มน้ำน้อยกว่า ทั้งนี้เพราะพีเอชในช่วงเป็นด่างทำให้โปรตีนกล้ามเนื้อเกิดการขยายตัว สามารถกักเก็บน้ำไว้ภายในโมเลกุลได้เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการอุ้มน้ำของกล้ามเนื้อนอกจากขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของฟอสเฟตแล้ว พีเอชยังเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเพิ่มการอุ้มน้ำของกล้ามเนื้อ (Trout and Schmidt, 1984) จากการทดลองเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตมีคุณสมบัติในการอุ้มน้ำและลดการสูญเสียภายหลังการให้ความร้อนได้ดีที่สุด ซึ่งอาจเป็นผลจากที่เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต สามารถทำหน้าที่คล้าย ATP ในการทำให้แอกโตไมโอซินเกิดการแตกตัวเป็นไมโอซินและแอกติน (Konno, 1992) นอกจากนี้อาจเป็นผลจากขนาดโมเลกุลที่แตกต่างกันของสารประกอบฟอสเฟตแต่ละชนิด เมื่อขนาดโมเลกุลเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพในการอุ้มน้ำจะลดลง ทำให้โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า มีประสิทธิภาพในการแทรกซึมลึกลงในเนื้อเยื่อได้น้อยกว่า ขณะที่เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตสามารถแทรกซึมเข้าในชิ้นเนื้อได้ดีกว่าโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต และโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต นอกจากนี้ไพโรฟอสเฟตและไตรพอลิฟอสเฟต สามารถรวมกับ

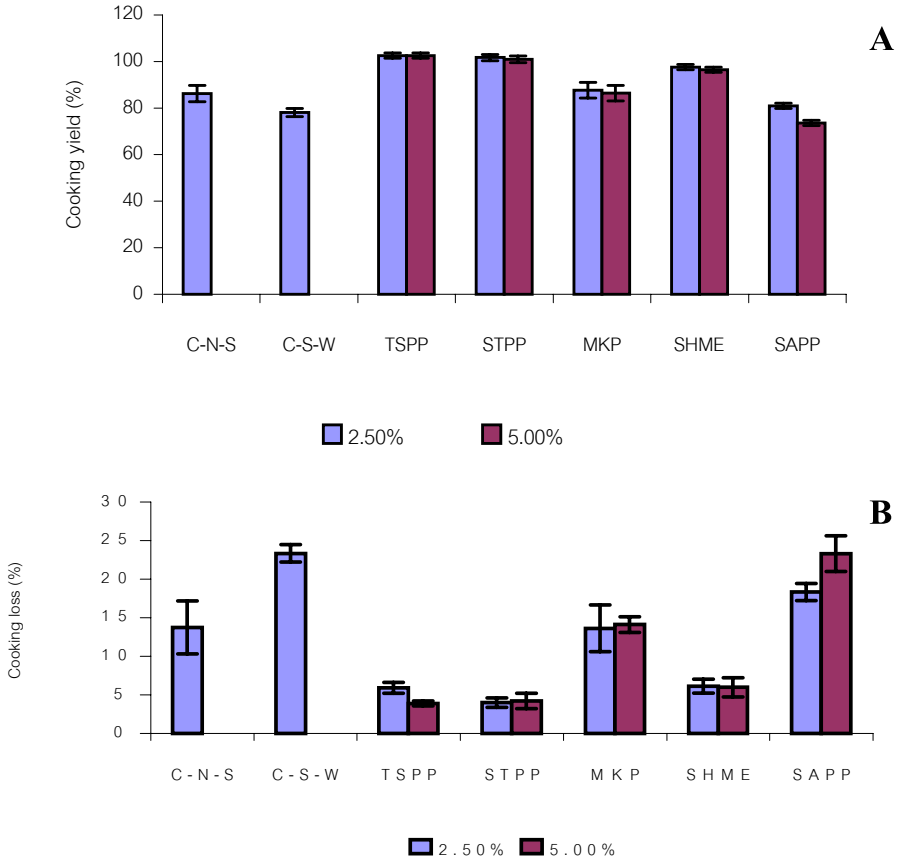
เมอโรไมโอซินเส้นหนัก ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ I-band และ A-band (Xiong and Kupski, 1999a) นอกจากนี้ Xiong และคณะ (2000a) กล่าวว่าผลของฟอสเฟตต่อการอุ้มน้ำของโปรตีนกล้ามเนื้อขึ้นกับชนิดฟอสเฟต โดยสามารถเรียงลำดับผลของฟอสเฟตต่อการเพิ่มการอุ้มน้ำได้ดังนี้ PP~TPP>HMP>P~non-phosphate control ซึ่ง PP สามารถสกัดโปรตีนจากส่วนปลายของ A-band ทำให้ส่วนกลางของไมโอไฟบริลบางลง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการสกัดโปรตีนเพิ่มขึ้น และยังสามารถทำหน้าที่คล้าย ATP ช่วยในการแตกตัวของแอกโตไมโอซินทำให้เกิดช่องว่างของไมโอไฟบริลเพิ่มขึ้น เพิ่มการอุ้มน้ำได้มากขึ้น ขณะที่ HMP P และ Control สกัดโปรตีนจากบริเวณตรงกลาง หรือบริเวณ A-band ทั้งหมด

ดังนั้นเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตจึงมีประสิทธิภาพสูงสุดในการเพิ่มผลผลิตกุ้งกุลาดำ โดยมีน้ำหนักของกุ้งที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าฟอสเฟตชนิดอื่นๆ และสูงกว่าชุดควบคุม นอกจากนี้ผลผลิตภายหลังการให้ความร้อนมีค่าสูงกว่า และค่าการสูญเสียน้ำหนักภายหลังการให้ความร้อนน้อยกว่าชุดการทดลองอื่น (ภาพที่ 3 และ 4) โดยสามารถเรียงลำดับประสิทธิภาพการอุ้มน้ำของฟอสเฟตชนิดต่างๆได้ดังนี้ เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต > โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต > โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต > โมโนโพแทสเซี่ยมฟอสเฟต > โซเดียมแอซิดไพโรฟอสเฟต ~ ชุดควบคุม




ภาพที่ 3 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำหลังการแช่ในสารละลายฟอสเฟตชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และร้อยละ 5 โดย C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ) TSPP = เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต STPP = โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต MKP = โมโนโพแทสเซี่ยมฟอสเฟต SHMP = โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต SAPP = โซเดียมเอซิดไพโรฟอสเฟต

Figure 3 Weight gain of black tiger prawn soaked in various phosphate solutions with the concentration of 2.5 and 5.0 % ; C-S-W : Control (water soaking), TSPP: Tetrasodium pyrophosphate, STPP: Sodium tripolyphosphate, MKP: Monopotassium phosphate, SHMP: Sodium hexametaphosphate, SAPP: Sodium acid pyrophosphate

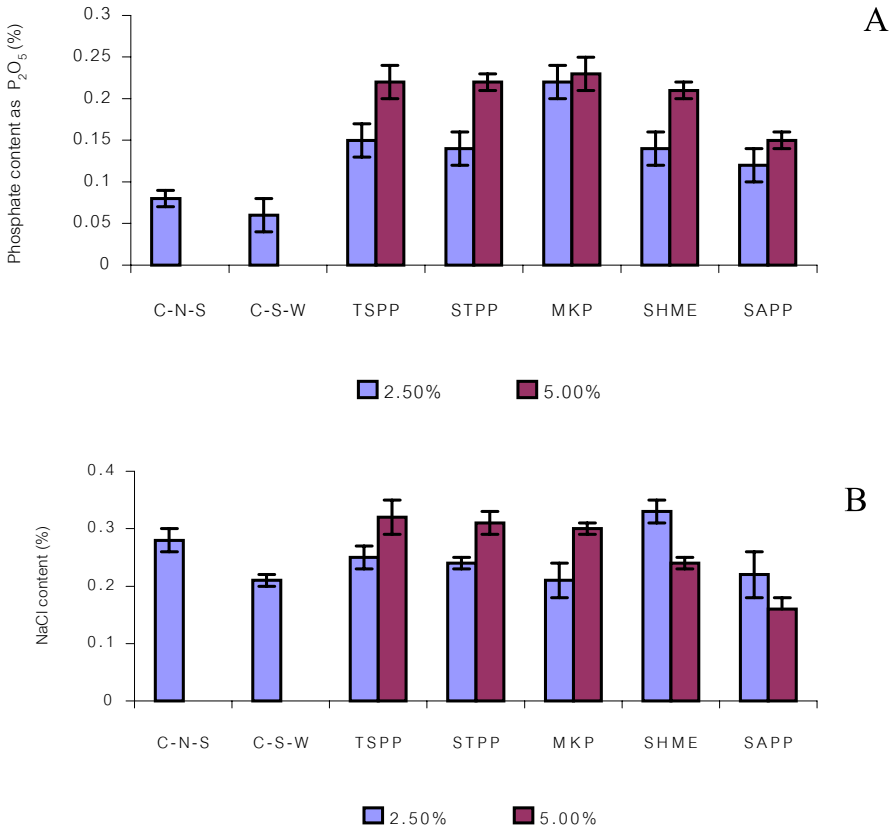



ภาพที่ 4 ผลผลิตภายหลังการให้ความร้อน (A) และน้ำหนักที่สูญเสียภายหลังการให้ความร้อน (B) ของกุ้งกุลาดำที่แช่ในสารละลายฟอสเฟตชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และร้อยละ 5 โดย C-N-S = ชุดควบคุม(ไม่แช่น้ำ) C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ) TSPP = เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต STPP = โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต MKP = โมโนโพแทสเซี่ยมฟอสเฟต SHMP = โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต SAPP = โซเดียมเอซิดไพโรฟอสเฟต

Figure 4 Cooking yield (A) and cooking loss (B) of black tiger prawn soaked in various phosphate solutions with the concentration of 2.5 and 5.0 % ; C-N-S: Control (No water soaking) C-S-W: Control (water soaking), TSPP: Tetrasodium pyrophosphate, STPP: Sodium tripolyphosphate, MKP: Monopotassium phosphate, SHMP: Sodium hexametaphosphate, SAPP: Sodium acid pyrophosphate

จากการศึกษาปริมาณฟอสเฟตในกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำที่แช่ในสารละลายฟอสเฟตต่างๆ พบว่ากล้ามเนื้อกุ้งมีปริมาณฟอสเฟตแตกต่างกันขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของฟอสเฟตที่ใช้ อย่างไรก็ตามฟอสเฟตตกค้างอยู่ในระดับที่ไม่เกินมาตรฐานของประเทศสหรัฐอเมริกา และสหภาพยุโรป (ไม่เกินร้อยละ 0.5 โดยคำนวณในรูป $P_2O_5$) (O.J.E.C., 1995) เมื่อระดับความเข้มข้นของฟอสเฟตสูงขึ้น ปริมาณฟอสเฟตในกล้ามเนื้อเพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 5) โดยปริมาณฟอสเฟตมีค่าสูงสุด (ร้อยละ 0.23) ในเนื้อกุ้งกุลาดำที่แช่ในสารละลายโมโนโพแทสเซียมฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 5 ซึ่งเป็นสารประกอบฟอสเฟตที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก ดังนั้นประสิทธิภาพในการแทรกซึมของฟอสเฟตเข้าสู่เนื้อกุ้งขึ้นกับขนาดโมเลกุลโดยฟอสเฟตที่มีโมเลกุลขนาดเล็กสามารถแทรกซึมเข้าในเนื้อเยื่อได้ดีกว่าโมเลกุลขนาดใหญ่ Trout และ Schmidt (1986) กล่าวว่าขนาดโมเลกุลมีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของสารประกอบฟอสเฟต เมื่อขนาดโมเลกุลเพิ่มขึ้น ร้อยละผลผลิตภายหลังการให้ความร้อนของเนื้อไก่มีค่าลดลง เนื่องจากมีการแทรกซึมของสารประกอบฟอสเฟตได้น้อยลง อย่างไรก็ตาม Xiong และ Kupski (1999a) กล่าวว่าเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น (ร้อยละ 3.2) โมเลกุลขนาดใหญ่ เช่นโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตสามารถซึมผ่านบริเวณพื้นผิวได้ดีกว่าฟอสเฟตโมเลกุลขนาดเล็ก

จากการวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในเนื้อกุ้งกุลาดำ (ภาพที่ 5) พบว่าเนื้อกุ้งกุลาดำประกอบด้วยโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.28 และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในเนื้อมีปริมาณลดลงเมื่อแช่ในน้ำ (ร้อยละ 0.21) และมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นฟอสเฟตเพิ่มขึ้นโดยกุ้งกุลาดำที่แช่ในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 และ 5 มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 0.25 และ 0.32 ตามลำดับ ซึ่งอาจเกิดจากฟอสเฟตสามารถจับคลอไรด์บางส่วนไว้ในกล้ามเนื้อทำให้การสูญเสียคลอไรด์จากเนื้อเยื่อลดลง อย่างไรก็ตามฟอสเฟตที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่นโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต สามารถแทรกซึมที่บริเวณผิวของกล้ามเนื้อได้สูงส่งผลให้มีการจับกับโซเดียมคลอไรด์ได้สูง (ร้อยละ 0.33) ส่วนฟอสเฟตที่มีสภาพเป็นกรด เช่นโซเดียมเอซิดไพโรฟอสเฟตอาจมีผลให้โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติและจับรวมตัวกันรวมทั้งสูญเสียน้ำ โดยเฉพาะเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สูญเสียโซเดียมคลอไรด์จากตัวกุ้งเพิ่มขึ้น

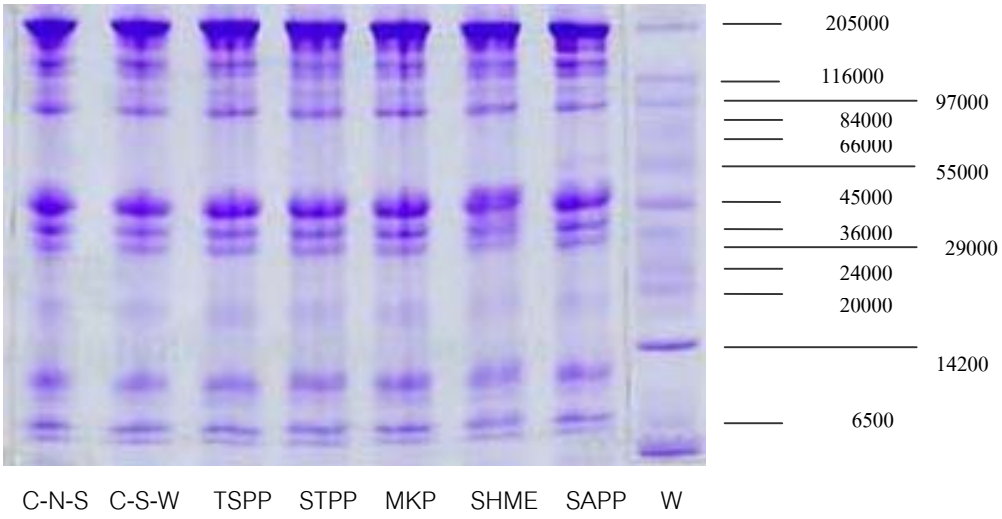



ภาพที่ 5 ปริมาณฟอสเฟต (A) และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (B) ในเนื้อกุ้งกุลาดำหลังผ่านการแช่ในสารละลายฟอสเฟตชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และร้อยละ 5 โดย C-N-S = ชุดควบคุม (ไม่แช่น้ำ) C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ) TSPP = เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต STPP = โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต MKP = โมโนโพแทสเซี่ยมฟอสเฟต SHMP = โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต SAPP = โซเดียมเอซิดไพโรฟอสเฟต

Figure 5 Phosphate content (A) and NaCl content (B) in black tiger prawn soaked in various phosphate solutions with the concentration of 2.5 and 5.0 %; C-N-S: Control (No water soaking) C-S-W : Control (water soaking), TSPP: Tetrasodium pyrophosphate, STPP: Sodium tripolyphosphate, MKP: Monopotassium phosphate, SHMP: Sodium hexametaphosphate, SAPP: Sodium acid pyrophosphate

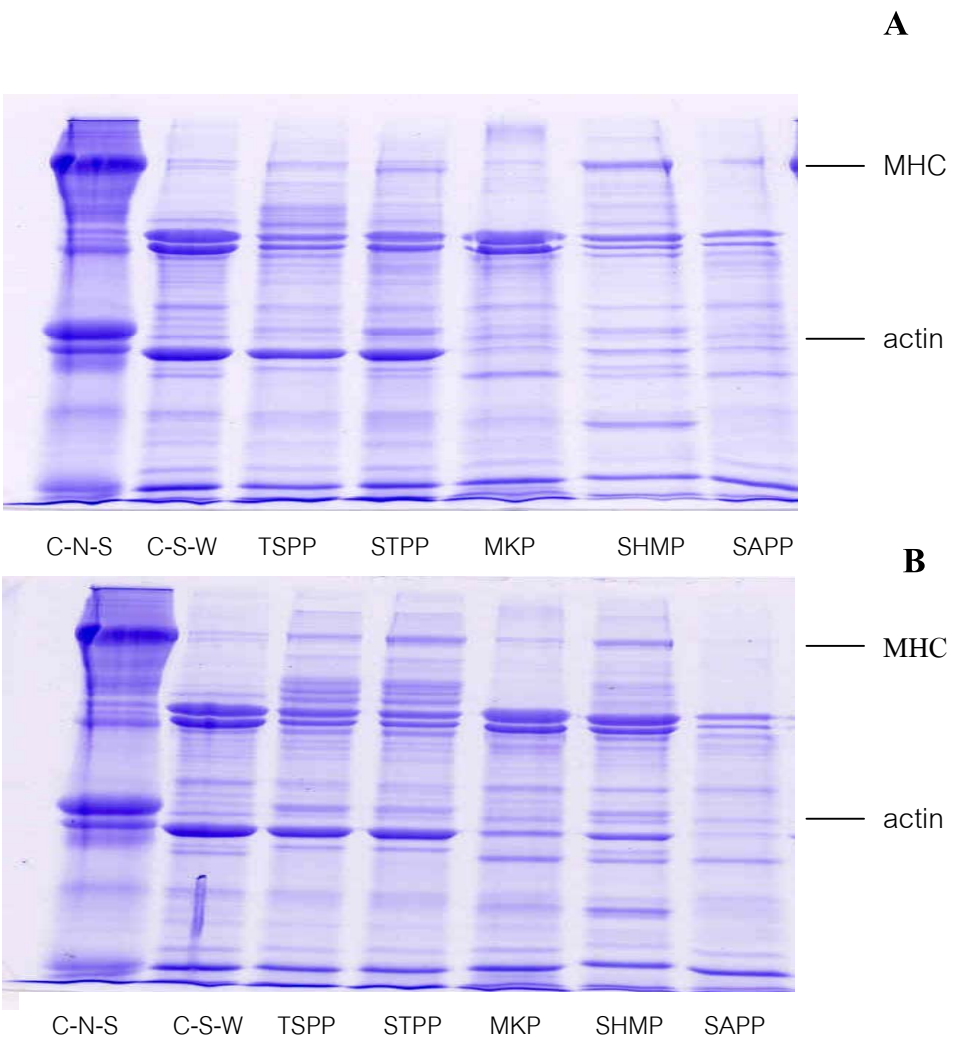
จากการตรวจสอบรูปแบบโปรตีนในกุ้งกุลาดำ (ภาพที่ 6) และน้ำแช่กุ้งกุลาดำ (ภาพที่ 7) โดยใช้ SDS-PAGE พบว่าเนื้อกุ้งกุลาดำประกอบด้วยไมโอซินเส้นหนัก และแอกตินเป็นองค์ประกอบหลัก สำหรับรูปแบบของโปรตีนในน้ำแช่กุ้งกุลาดำพบว่าไมโอซินบางส่วนถูกสกัดออกมาในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต และโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่ใช้แช่กุ้งมีผลให้ไมโอไฟบริลหลวมขึ้น ช่วยเพิ่มคุณสมบัติในการอุ้มน้ำของโปรตีนได้ แต่ปริมาณไมโอซินที่พบแตกต่างกันตามชนิดของฟอสเฟต สำหรับสารละลายโซเดียมเอซิดไพโรฟอสเฟตที่ใช้แช่กุ้งไม่พบไมโอซินซึ่งอาจเกิดจากการตกตะกอนรวมตัวของโปรตีนบริเวณพื้นผิวของเนื้อเยื่อทำให้โปรตีนภายในตัวกุ้งกุลาดำไม่สามารถละลายออกมาได้ จากการทดลองพบว่าที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5 รูปแบบโปรตีนในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต และ โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟตที่แช่กุ้งมีลักษณะใกล้เคียงกัน โดยมีแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 30000 ดัลตัน อย่างไรก็ตามสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตมีแถบโปรตีนดังกล่าวน้อยมาก แต่จะมีแถบโปรตีนดังกล่าวเพิ่มขึ้นเมื่อแช่ในสารละลายเข้มข้นเพิ่มขึ้น นอกจากนี้พบว่าแอกตินบางส่วนถูกชะออกมาในสารละลายที่แช่กุ้ง โดยมีปริมาณแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของฟอสเฟต

ดังนั้นฟอสเฟตแต่ละชนิดมีคุณสมบัติและประสิทธิภาพในการละลายโปรตีนแตกต่างกัน โดยสามารถทำให้เกิดแรงผลักของประจุที่แตกต่างกัน ส่งผลให้ไมโอไฟบริลเกิดแรงผลัก และเกิดช่องว่างที่สามารถจับน้ำได้แตกต่างกัน เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตมีโมเลกุลขนาดเล็กสามารถแทรกซึมในเนื้อเยื่อได้ง่าย รวมทั้งมีพีเอชเป็นด่างสามารถทำให้เกิดการขยายตัวของกล้ามเนื้อทำให้เกิดการละลายของโปรตีนเพิ่มขึ้น และประการสำคัญคือ สามารถทำให้เกิดการแตกตัวของแอกโตไมโอซิน ส่งผลให้ไมโอซินและแอกตินละลายออกมาในสารละลายฟอสเฟต (ภาพที่ 7)




ภาพที่ 6 รูปแบบโปรตีนของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่สารละลายฟอสเฟตชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5 โดย C-N-S = ชุดควบคุม (ไม่แช่น้ำ) C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ) TSPP = เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต STPP = โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต MKP = โมโนโพแทสเซี่ยมฟอสเฟต SHMP = โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต SAPP = โซเดียมเอซิดไพโรฟอสเฟต W = Wide-molecular-weight marker โปรตีนเข้มข้น 20 ไมโครกรัม

Figure 6 Protein pattern of black tiger prawn soaked in various phosphate solution with the concentration of 2.5 % ; C-N-S: (No water soaking), C-S-W : Control (water soaking), TSPP: Tetrasodium pyrophosphate, STPP: Sodium tripolyphosphate, MKP: Monopotassium phosphate, SHMP: Sodium hexametaphosphate, SAPP: Sodium acid pyrophosphate W = Wide-molecular-weight marker : Contain 20 μg protein



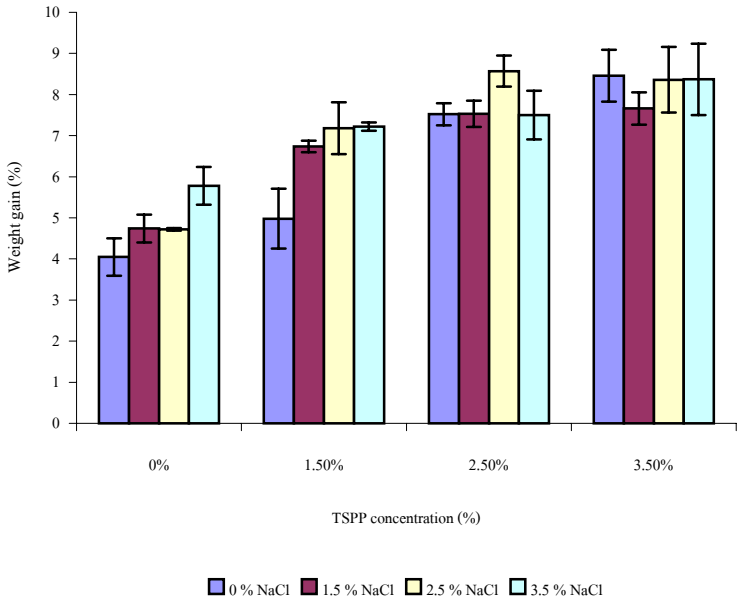

ภาพที่ 7 รูปแบบโปรตีนของสารละลายฟอสเฟตชนิดต่างๆ ที่แช่กุ้งกุลาดำ ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5 (A) และร้อยละ 5 (B) โดย C-N-S = ชุดควบคุม (ไม่แช่น้ำ) C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ) TSPP = เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต STPP = โซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต MKP = โมโนโพแทสเซี่ยมฟอสเฟต SHMP = โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต SAPP = โซเดียมเอซิดไพโรฟอสเฟต ใช้โปรตีนเข้มข้น 20 ไมโครกรัม

Figure 7 Protein pattern of phosphate soaking solutions with the concentration of 2.5 % (A) and 5 % (B) ; C-N-S: Control (No water soaking), C-S-W : Control (water soaking), TSPP: Tetrasodium pyrophosphate, STPP: Sodium tripolyphosphate, MKP: Monopotassium phosphate, SHMP: Sodiumhexameta phosphate, SAPP: Sodium acid pyrophosphate: Contained 20 μg protein

1.2 ผลร่วมของความเข้มข้นของสารประกอบฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์

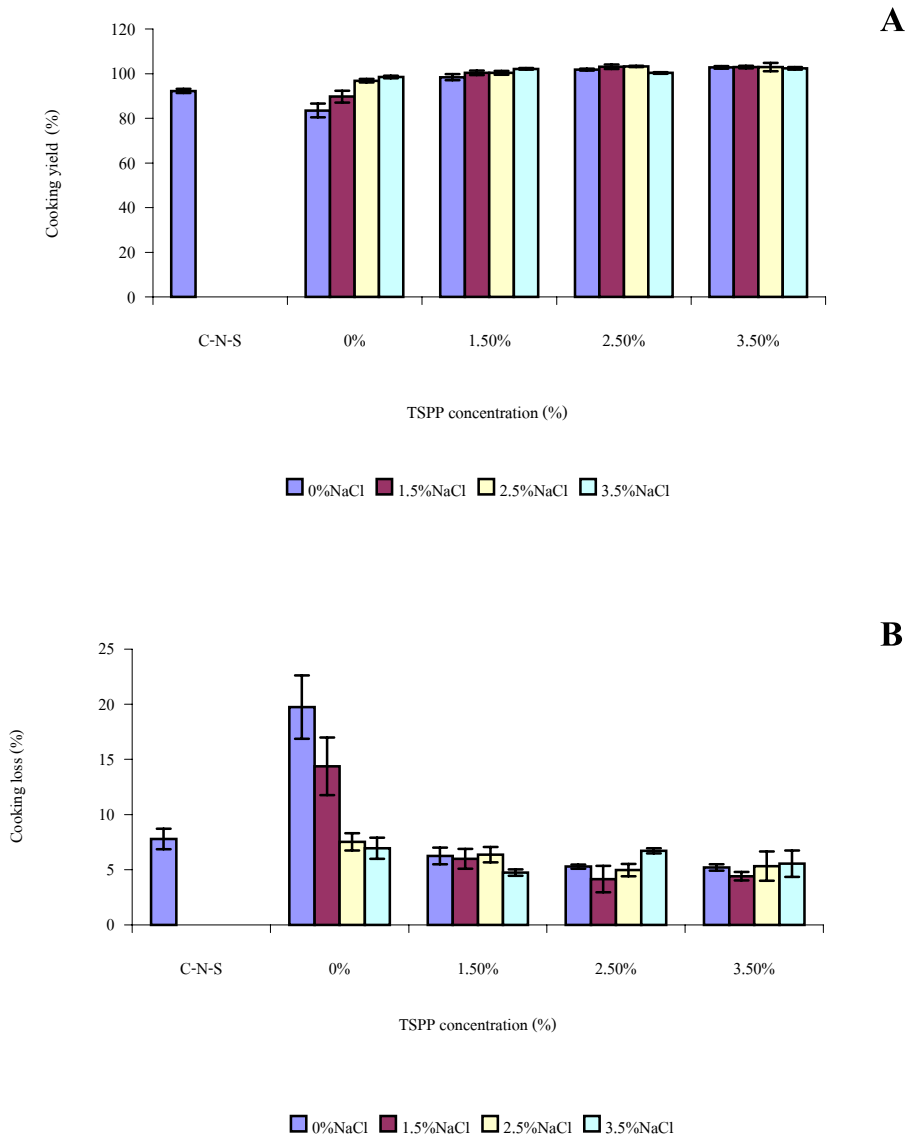
จากการศึกษาการใช้สารประกอบเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ร้อยละ 0-3.5) ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ร้อยละ 0-3.5) พบว่าในสภาวะที่ใช้ฟอสเฟตเพียงอย่างเดียวเมื่อความเข้มข้นฟอสเฟตเพิ่มขึ้นประสิทธิภาพในการอุ้มน้ำของโปรตีนกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำเพิ่มขึ้น โดยน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นภายหลังการแช่ และผลผลิตภายหลังการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 8) ขณะที่น้ำหนักที่สูญเสียภายหลังการให้ความร้อนลดลง (ภาพที่ 9) โดยการใช้ฟอสเฟตร้อยละ 3.5 ให้ประสิทธิภาพในการเพิ่มน้ำหนักภายหลังการแช่ (ร้อยละ 8.46) เพิ่มผลผลิตภายหลังการให้ความร้อน (ร้อยละ 102.81) และลดการสูญเสียน้ำหนักภายหลังการให้ความร้อน (ร้อยละ 5.21) อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด เมื่อใช้ฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ พบว่ามีการเสริมฤทธิ์ระหว่างฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ โดยสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการอุ้มน้ำได้ดีกว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์ หรือฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว เมื่อแช่กุ้งกุลาดำในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้นร้อยละ 2.5 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นภายหลังการแช่ และผลผลิตภายหลังการให้ความร้อนสูงสุด คือ ร้อยละ 8.57 และ 103.19 ตามลำดับ เนื่องจากคลอไรด์ ที่ผ่านเข้าไปในไมโอฟิลาเมนส์ทำให้เกิดการพองตัวของเส้นใย เพิ่มความฉ่ำน้ำ รสชาติ กลิ่นรส และลดการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ได้ (Hamm, 1992) Froning และ Sackett (1985) พบว่าโซเดียมคลอไรด์และฟอสเฟตสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานได้โดยสามารถลดการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากความร้อน พัฒนาลักษณะสัมผัส และเพิ่มการอุ้มน้ำได้มากขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Badji และคณะ (1982) ซึ่งพบว่าโซเดียมคลอไรด์ช่วยเพิ่มคุณสมบัติการจับตัวของเนื้อไก่ เพิ่มการละลายโปรตีนไมโอไฟบริล แต่อย่างไรก็ตามเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น (ร้อยละ 3.5) ประสิทธิภาพการอุ้มน้ำจะลดลง ส่วน Parterson และคณะ (1988) พบว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์ (0.1-1.0 โมลาร์) ร่วมกับสารประกอบไพโรฟอสเฟต (10 มิลลิโมลาร์) ทำให้ค่าการพองตัวของเส้นใยไมโอไฟบริลจากเนื้อวัวเพิ่มสูงขึ้นโดยมีการพองตัวสูงสุดเมื่อใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.7 โมลาร์ ร่วมกับไพโรฟอสเฟตเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ การใช้สารประกอบฟอสเฟต หรือโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นสูงเกินไปทำให้ประสิทธิภาพในการเพิ่มการอุ้มน้ำลดลง (Trout and Schmidt, 1984) โดยประสิทธิภาพ

การทำงานของสารประกอบฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สูงสุดที่ระดับความเข้มข้นของฟอสเฟตร้อยละ 2.5 และโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการเพิ่มการอุ้มน้ำลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงมากขึ้น อาจเกิดจากปริมาณเกลือที่สูงเกินไปทำให้เกิดปรากฏการณ์ “salting out” ซึ่งมีผลต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของกล้ามเนื้อโปรตีน โดยลดคุณสมบัติการจับน้ำของโปรตีน ทำให้น้ำหนักภายหลังการแช่ลดลง Chang และ Regenstein (1997) ได้ศึกษาผลของความเข้มข้นของโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต (ร้อยละ 0-1.0) ต่อการอุ้มน้ำของเนื้อปลาคอด พบว่าเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตมากกว่าร้อยละ 0.6 การอุ้มน้ำของเนื้อปลาคอดลดลง ถึงแม้ว่าโปรตีนที่ละลายได้เพิ่มขึ้น แสดงว่าเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น สามารถสกัดโปรตีนที่ละลายได้เพิ่มขึ้น แต่การสกัดโปรตีนที่มากเกินไปเป็นสาเหตุทำให้เกิดการทำลายโครงสร้างของโปรตีน ชนิดไม่ละลายน้ำ ซึ่งทำหน้าที่ให้โครงสร้างกับกล้ามเนื้อ ทำให้การกักเก็บน้ำในโครงสร้างดังกล่าวลดลง




ภาพที่ 8 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่ในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่ไม่มีและมีโซเดียมคลอไรด์ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดย TSPP = เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต

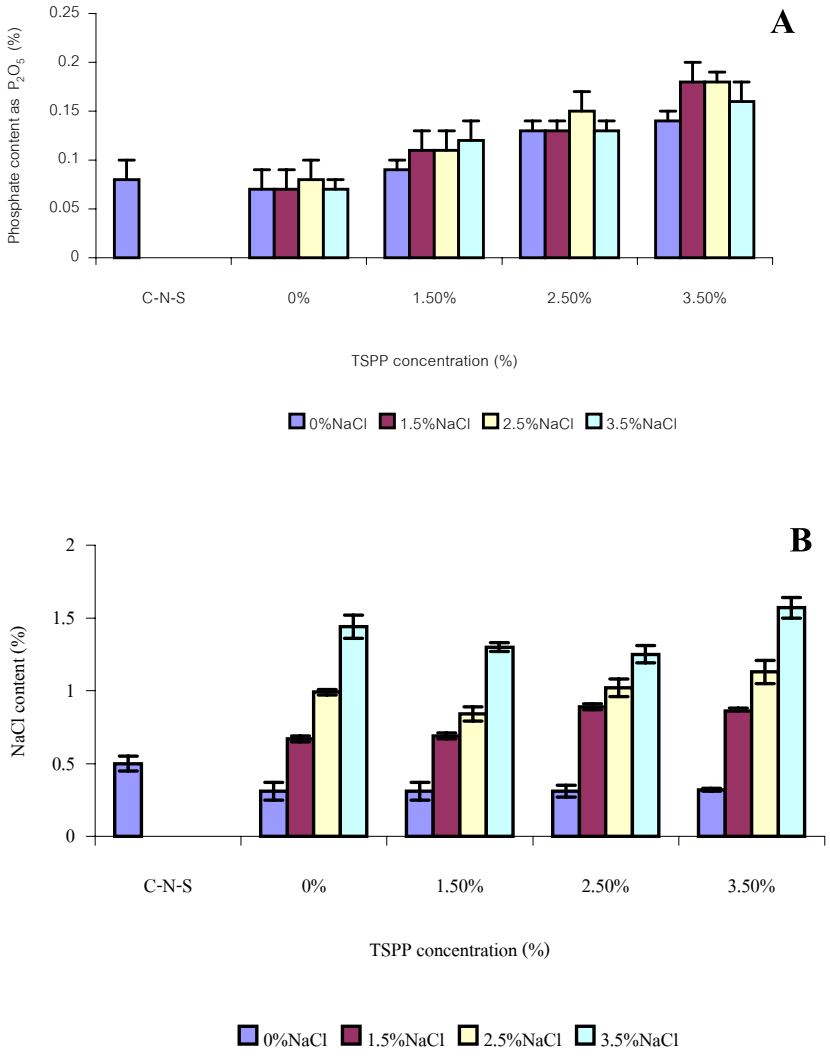
Figure 8 Weight gain of black tiger prawn soaked in TSPP solution with different concentrations in absence or presence of NaCl at different levels ; TSPP: Tetrasodium pyrophosphate




ภาพที่ 9 ผลผลิตภายหลังการให้ความร้อน (A) และน้ำหนักที่สูญเสียภายหลังการให้ความร้อน (B) ของกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่ในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่ไม่มีและมีโซเดียมคลอไรด์ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดย TSPP = เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต

Figure 9 Cooking yield (A) and cooking loss (B) of black tiger prawn soaked in TSPP solution with different concentrations in absence or presence of NaCl at different levels ; TSPP: Tetrasodium pyrophosphate

ปริมาณฟอสเฟตในเนื้อกุ้งกุลาดำ (ไม่แช่น้ำ) ภายหลังการแช่น้ำ และภายหลังการแช่ในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน มีค่าแตกต่างกัน โดยเมื่อความเข้มข้นของเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเพิ่มสูงขึ้น ปริมาณฟอสเฟตในเนื้อกุ้งเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณฟอสเฟตในเนื้อกุ้งลดลงเมื่อแช่ในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตร้อยละ 2.5 และ 3.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 3.5 ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่สูงอาจมีผลในการแย่งการซึมผ่านของฟอสเฟตเข้าไปในเนื้อกุ้ง ส่งผลให้ปริมาณฟอสเฟตในเนื้อกุ้งลดลง โดยปริมาณฟอสเฟตสูงสุด ร้อยละ 0.18 ในเนื้อกุ้งกุลาดำที่แช่ในสารละลายฟอสเฟตร้อยละ 3.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.5 นอกจากนี้พบว่าปริมาณโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในน้ำแช่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 10) โดยปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในชุดควบคุม (ไม่แช่น้ำ) ชุดควบคุม (แช่น้ำ) มีค่าร้อยละ 0.5 และ 0.31 ตามลำดับ เมื่อมีการแช่น้ำปริมาณโซเดียมคลอไรด์ลดลง ขณะที่ปริมาณโซเดียมคลอไรด์สูงสุด ร้อยละ 1.57 ในชุดการทดลองที่แช่ฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 3.5 และ 3.5 ตามลำดับ โดยทั่วไปปริมาณฟอสเฟตในสารละลายไม่มีผลต่อการซึมผ่านของโซเดียมคลอไรด์เข้าไปในเนื้อกุ้ง

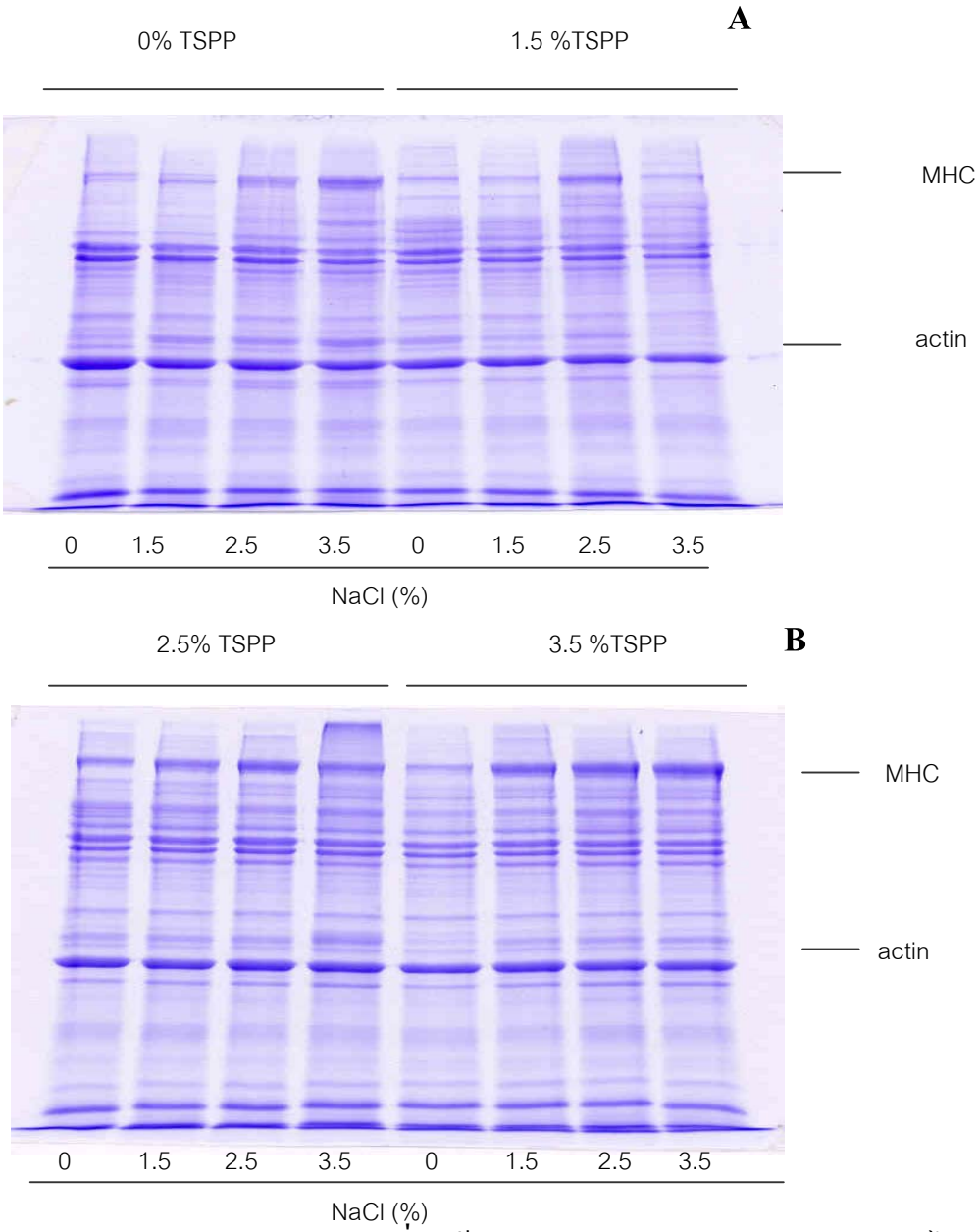



ภาพที่ 10 ปริมาณฟอสเฟต (A) และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (B) ในเนื้อกุ้งกุลาดำหลังผ่านการแช่ในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่ไม่มี และมีโซเดียมคลอไรด์ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดย TSPP = เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต

Figure 10 Phosphate content (A) and NaCl content (B) in black tiger prawn soaked in TSPP solution with different concentrations in absence or presence of NaCl at different levels ; TSPP: Tetrasodium pyrophosphate

เมื่อความเข้มข้นของเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเพิ่มขึ้น พบว่าไมโอซินเส้นหนักในสารละลายที่แช่กุ้งเพิ่มมากขึ้น แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างแถบโปรตีนของแอกติน (ภาพที่ 11) เมื่อใช้เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ โดยเฉพาะในสภาวะที่โซเดียมคลอไรด์มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น พบว่าไมโอซินเส้นหนักถูกสกัดออกมาในสารละลายได้เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Paterson และคณะ (1988) ซึ่งพบว่าการใช้ไพโรฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถสกัดไมโอซินเส้นหนักออกมาในสารละลายได้เพิ่มขึ้น ซึ่งการที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 3.5 สามารถพบไมโอซินได้เพิ่มขึ้น แต่คุณสมบัติการอุ้มน้ำลดลง อาจเกิดจากการทำลายโครงสร้างของโปรตีน ทำให้เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน ส่งผลให้ประสิทธิภาพการอุ้มน้ำลดลง Xiong และ Kupski (1997a) ศึกษาการใช้สารประกอบฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 1.6 หรือ 3.2 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในการแช่เนื้อไก่ พบว่าการใช้สารประกอบฟอสเฟตความเข้มข้นสูงร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นสูง (ร้อยละ 8) ทำให้คุณสมบัติการอุ้มน้ำลดลงแต่เมื่อลดความเข้มข้นของเกลือลดลงเป็นร้อยละ 5 ประสิทธิภาพการทำงานของโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับฟอสเฟตเพิ่มขึ้น

ดังนั้นการใช้เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตร่วมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการอุ้มน้ำได้มากขึ้น แต่ควรใช้ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการอุ้มน้ำได้สูงสุด และสามารถลดการสูญเสียน้ำหนักได้อย่างมีประสิทธิภาพ

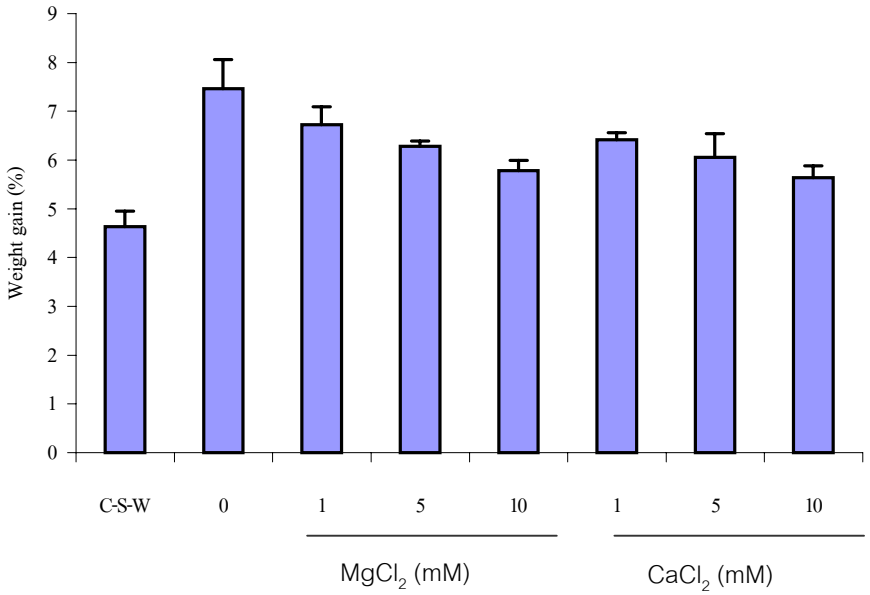



ภาพที่ 11 รูปแบบโปรตีนของสารละลายที่แช่กุ้งกุลาดำ ในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่ไม่มีและมีโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดย TSPP = เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต ใช้โปรตีนเข้มข้น 20 ไมโครกรัม

Figure 11 Protein pattern of TSPP soaking solutions at different concentrations in absence or presence of NaCl at different levels ; TSPP: Tetrasodium pyrophosphate : Contain 20 μg protein

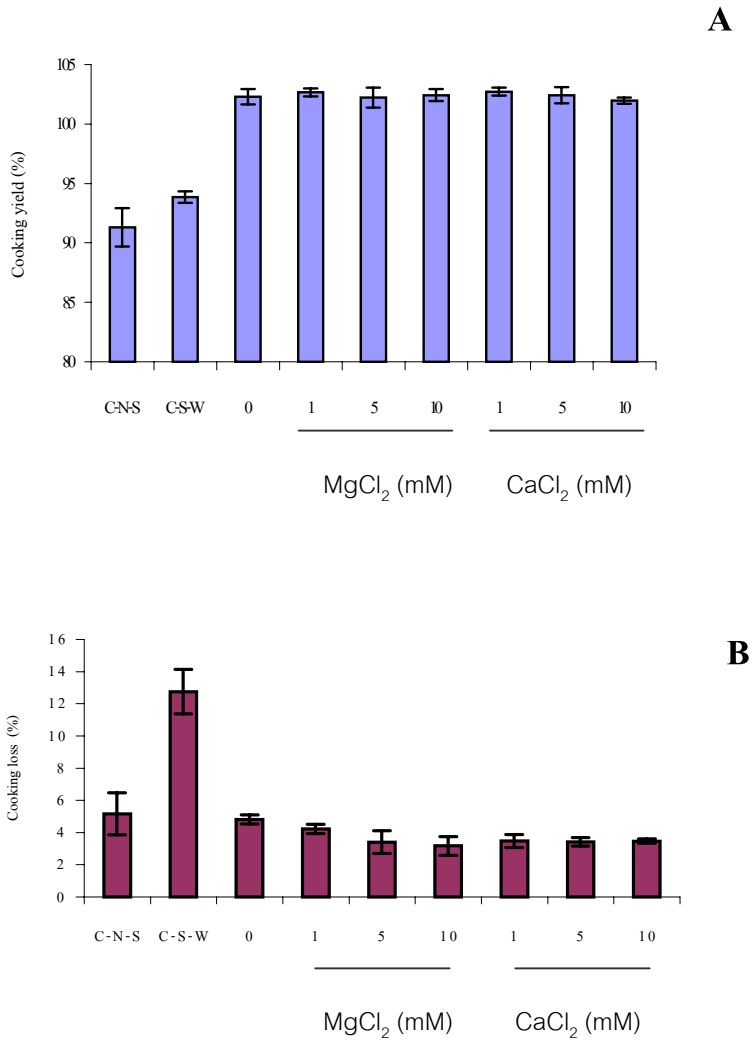
1.3 ผลร่วมของเกลือแคลเซียมคลอไรด์หรือแมกนีเซียมคลอไรด์กับการใช้สารประกอบฟอสเฟต และโซเดียมคลอไรด์

จากการศึกษาผลของแคลเซียมคลอไรด์หรือแมกนีเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0 5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 พบว่าการใช้สารทั้งสองชนิดไม่มีผลต่อการเพิ่มการอุ้มน้ำของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ นอกจากนี้การใช้แคลเซียมคลอไรด์หรือแมกนีเซียมคลอไรด์ที่เพิ่มขึ้นมีแนวโน้มลดการอุ้มน้ำของเนื้อกุ้ง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่แช่ในฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ (ภาพที่ 12) โดยชุดการทดลองที่แช่แคลเซียมคลอไรด์หรือแมกนีเซียมคลอไรด์ร่วมกับฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นร้อยละ 5.64-6.72 ขณะที่ชุดการทดลองที่แช่ในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นร้อยละ 7.5 นอกจากนี้การใช้เกลือทั้งสองชนิดไม่มีผลต่อการสูญเสียน้ำหนักและผลผลิตภายหลังการให้ความร้อน โดยที่ผลผลิตภายหลังการให้ความร้อนมีค่าใกล้เคียงกันคือ ร้อยละ 101-102 (ภาพที่ 13) ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากโดยธรรมชาติของกุ้งกุลาดำมีปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียม (ตารางที่ 4) การแช่กุ้งในสารละลายที่เติมแมกนีเซียมคลอไรด์หรือแคลเซียมคลอไรด์ มีผลเพิ่มปริมาณแมกนีเซียมหรือแคลเซียมในเนื้อกุ้ง อย่างไรก็ตามปริมาณเกลือทั้งสองที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในการเพิ่มการอุ้มน้ำหรือลดการสูญเสียน้ำหนักภายหลังการให้ความร้อน สอดคล้องกับการทดลองของ Young และ Lyon (1986) กล่าวว่าการเสริมฤทธิ์ระหว่างโซเดียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์ และไตรพอลิฟอสเฟต 8.2 มิลลิโมลาร์ สามารถเพิ่มการอุ้มน้ำของโปรตีนจากเนื้อวัวได้ แต่การใช้แคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 4.0 มิลลิโมลาร์ ไม่มีผลต่อการเพิ่มการอุ้มน้ำ




ภาพที่ 12 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่สารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 และโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับแมกนีเซียมคลอไรด์หรือแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดย C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ)

Figure 12 Weight gain of black tiger prawn soaked in 2.5 % TSPP and 2.5 % NaCl in presence of $MgCl_2$ or $CaCl_2$ at different concentrations ; C-S-W: Control (water soaking)




ภาพที่ 13 ผลผลิตภายหลังการให้ความร้อน (A) และน้ำหนักที่สูญเสียภายหลังการให้ความร้อน (B) ของกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่สารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 และโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับแมกนีเซียมคลอไรด์หรือแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดย C-N-S = ชุดควบคุม (ไม่แช่น้ำ) C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ)

Figure 13 Cooking yield (A) and cooking loss (B) of black tiger prawn soaked in 2.5 % TSPP and 2.5 % NaCl in presence of $MgCl_2$ or $CaCl_2$ at different concentrations; C-N-S: Control (No water soaking), C-S-W: Control (Water soaking)

ตารางที่ 4 ปริมาณแคลเซียมหรือแมกนีเซียมในกุ้งกุลาดำก่อนการแช่น้ำ หลังผ่านการแช่น้ำ หลังผ่านการแช่สารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ และหลังผ่านการแช่สารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ และแคลเซียมคลอไรด์หรือแมกนีเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

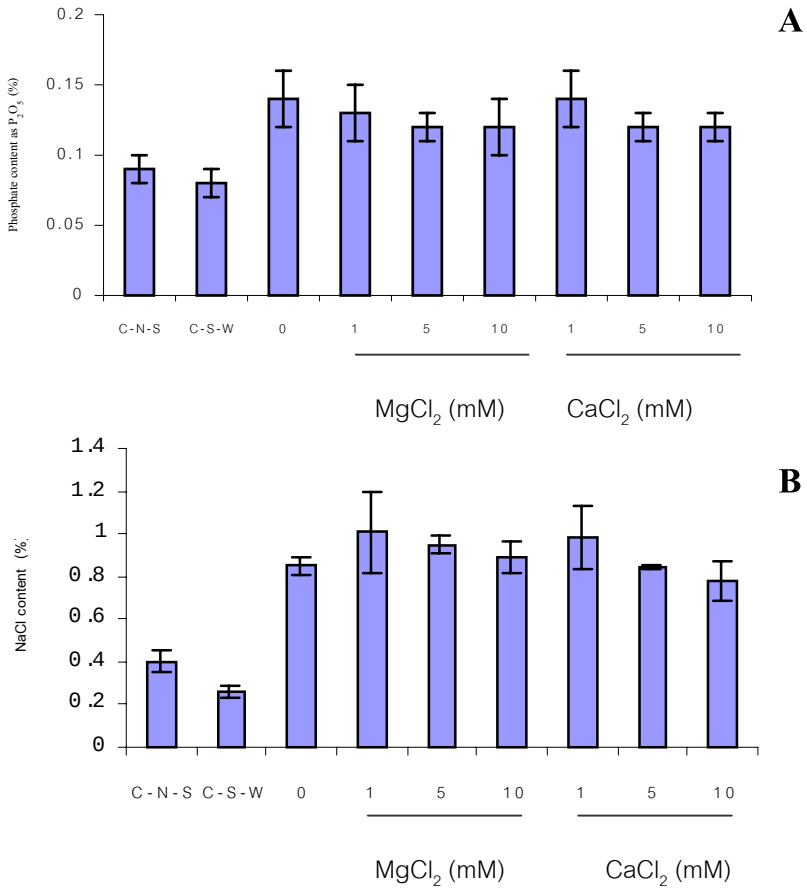
Table 4 Calcium and Magnesium contents in black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water, TSPP/NaCl solution or TSPP/NaCl solution containing $CaCl_2$ or $MgCl_2$ at different concentrations

| Samples | Content (mg /g) | |
|---|---|---|
| | Calcium | Magnesium |
| Control (No water soaking) | 375.50±3.29* | 427.29±4.24 |
| Control (Water soaking) | 282.50±2.49 | 283.75±0.74 |
| TSPP + NaCl | 268.59±0.58 | 243.59±1.01 |
| TSPP + NaCl + 1 mM $CaCl_2$ | 396.07±1.66 | - |
| TSPP + NaCl + 5 mM $CaCl_2$ | 406.25±1.32 | - |
| TSPP + NaCl + 10 mM $CaCl_2$ | 471.43±0.55 | - |
| TSPP + NaCl + 1 mM $MgCl_2$ | - | 267.00±3.78 |
| TSPP + NaCl + 5 mM $MgCl_2$ | - | 333.71±6.34 |
| TSPP + NaCl + 10 mM $MgCl_2$ | - | 337.50±2.31 |

*Mean ± SD from triplicate determinations

ปริมาณฟอสเฟตในเนื้อกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่สารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ มีค่าสูงสุดคือร้อยละ 0.14 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณฟอสเฟตในเนื้อกุ้งกุลาดำที่แช่ในสารละลายฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับแคลเซียมคลอไรด์หรือแมกนีเซียมคลอไรด์เข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ โดยปริมาณฟอสเฟตในกุ้งกุลาดำมีแนวโน้มลดลงเมื่อเติมแมกนีเซียมคลอไรด์หรือแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นผลจากเกลือทั้งสองชนิดสามารถจับกับฟอสเฟต ส่งผลให้การซึมผ่านของสารประกอบฟอสเฟตลดลง การเปลี่ยนแปลงของโซเดียมคลอไรด์ในเนื้อกุ้งให้ผล

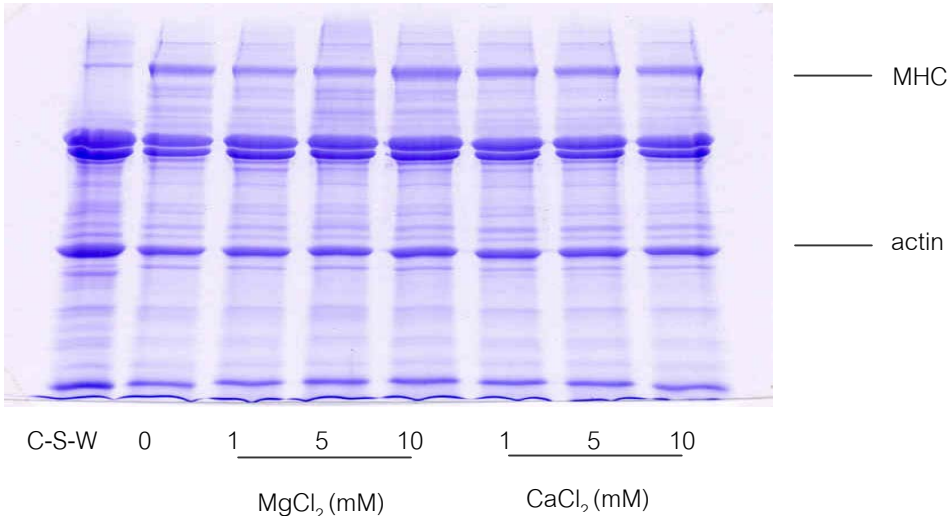
เช่นเดียวปริมาณฟอสเฟต (ภาพที่ 14) เนื้อกุ้งกุลาดำที่แช่ในสารละลายแมกนีเซียมคลอไรด์เข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับสารละลายฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์สูงสุด (ร้อยละ 1.08)




ภาพที่ 14 ปริมาณฟอสเฟต (A) และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (B) ของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่สารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 และโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับแมกนีเซียมคลอไรด์หรือแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดย C-N-S = ชุดควบคุม (ไม่แช่น้ำ) C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ)

Figure 14 Phosphate content (A) and NaCl content (B) in black tiger prawn soaked in 2.5 % TSPP and 2.5 % NaCl in presence of $MgCl_2$ or $CaCl_2$ at different concentrations; C-N-S: Control (No water soaking), C-S-W: Control (Water soaking)

จากการตรวจสอบรูปแบบโปรตีนของสารละลายที่แช่กุ้งกุลาดำ (ฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์) ร่วมกับแมกนีเซียมคลอไรด์ หรือแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่ารูปแบบโปรตีนของสารละลายที่แช่กุ้งชุดการทดลองต่างๆ มีลักษณะไม่แตกต่างกัน ดังนั้นผลของการสกัดโปรตีนโดยเฉพาะไมโอซินจึงไม่แตกต่างกัน ส่งผลให้การใช้แมกนีเซียมคลอไรด์หรือแคลเซียมคลอไรด์ร่วมกับฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อการเพิ่มการอุ้มน้ำรวมทั้งลดการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากความร้อนของเนื้อกุ้งกุลาดำ อย่างไรก็ตาม Nayak และคณะ (1996) พบว่าการใช้แมกนีเซียมคลอไรด์และแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.05 บดผสมในตัวอย่าง Beef Batters สามารถเพิ่มการละลายของโปรตีน และแคลเซียมอิออนที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ที่ความแรงอิออนเท่ากับ 0.6 พีเอช 6.0 สามารถเพิ่มการละลายของไมโอไฟบริลจากน่องและขาไก่ได้ ทั้งนี้ประสิทธิภาพการทำงานที่แตกต่างกันของแคลเซียมคลอไรด์หรือแมกนีเซียมคลอไรด์ขึ้นกับชนิดของกล้ามเนื้อ วิธีการใช้ รวมทั้งปริมาณเกลือเริ่มต้นที่แตกต่างกันในเนื้อสัตว์แต่ละชนิด ดังนั้นการใช้สารประกอบเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 จึงเพียงพอในการเพิ่มการอุ้มน้ำ และลดการสูญเสียเนื่องจากความร้อนของกุ้งกุลาดำโดยไม่จำเป็นต้องเติมแมกนีเซียมคลอไรด์หรือแคลเซียมคลอไรด์




ภาพที่ 15 รูปแบบโปรตีนของสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 และโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 ที่แช่กุ้งกุลาดำในสภาวะที่เติมแมกนีเซียมคลอไรด์ หรือแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดย C-N-S = ชุดควบคุม (ไม่แช่น้ำ) C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ) ใช้โปรตีนเข้มข้น 20 ไมโครกรัม

Figure 15 Protein pattern of soaking solution (2.5% TSPP+2.5% NaCl) in presence of $MgCl_2$ or $CaCl_2$ at different concentrations; C-N-S: Control (No water soaking), C-S-W: Control (Water soaking) : Contain 20 μg protein

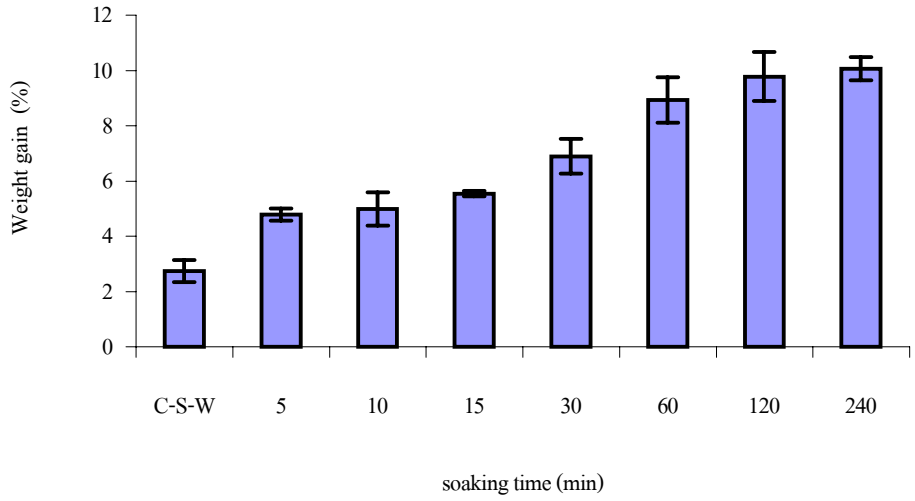
1.4 ผลของระยะเวลาการแช่สารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์

จากการศึกษาผลของระยะเวลาการแช่กุ้งกุลาดำในสารประกอบฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ พบว่าเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นการอุ้มน้ำของกุ้งกุลาดำเพิ่มขึ้น น้ำหนักภายหลังการแช่กุ้งกุลาดำเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 8.93 9.78 และ 10.07 เมื่อระยะเวลาในการแช่เพิ่มขึ้นจาก 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมงตามลำดับ (ภาพที่ 16) สำหรับผลผลิตภายหลังการให้ความร้อน และการลดลงของน้ำหนักที่สูญเสียภายหลังการให้ความร้อน (ภาพที่ 17) พบว่าระยะเวลามีผลเพิ่มผลิตภายหลังการให้ความร้อนของกุ้งกุลาดำ โดยกุ้งกุลาดำที่แช่ในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ นาน 2 ชั่วโมง มีผลผลิตภายหลังการให้ความร้อนร้อยละ 104.51 ขณะที่น้ำหนักที่สูญเสียภายหลังการให้ความร้อนสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการแช่นาน 4 ชั่วโมง ($p<0.05$) ดังนั้นระยะเวลาที่

เหมาะสมในการแช่กุ้งกุลาดำในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 และโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 โดยการมีกวนตลอดเวลาคือ 2 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณไมโอซินในสารละลายที่แช่กุ้งกุลาดำ (ภาพที่ 18) ซึ่งพบว่ามีปริมาณไมโอซินเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าระยะเวลา 4 ชั่วโมง มีปริมาณโปรตีนที่สกัดได้เพิ่มขึ้น แต่ประสิทธิภาพการเพิ่มการอุ้มน้ำไม่เพิ่มขึ้น โดยลดผลผลิตภายหลังการให้ความร้อนและเพิ่มน้ำหนักที่สูญเสียภายหลังการให้ความร้อน ทั้งนี้อาจเกิดจากการทำลายโครงสร้างของโปรตีนมากเกินไป Xiong และ Kupski (1999b) พบว่าในช่วง 5 นาทีแรกของการแช่เนื้อไก่ในสารละลายฟอสเฟต (ร้อยละ 1.6 และร้อยละ 3.2) มีอัตราการดูดซึมสารละลายได้สูงสุด ซึ่งเป็นลักษณะการดูดซึมที่บริเวณผิวเนื้อไก่ และมีการดูดซึมสารละลายได้สูงสุดในเวลา 15 นาที เมื่อไม่มีโซเดียมคลอไรด์ และมีการดูดซึมสารละลายได้สูงสุดที่ 30 นาทีเมื่อมีโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 8 โดยสามารถเรียงลำดับผลการดูดซึมน้ำและประสิทธิภาพในการอุ้มน้ำได้ดังนี้ PP>TPP>HMP> Control ดังนั้นประสิทธิภาพการทำงานของสารประกอบฟอสเฟตขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่ การดูดซึมสารละลายเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการแช่เนื้อไก่ในสารละลายฟอสเฟต โดยการดูดซึมสารละลายในช่วง 30 นาทีแรกเป็นกระบวนการทางกล (kinetic process) เกิดจากการแพร่เข้าไปในเส้นใยกล้ามเนื้อ โดยช่วง 5 นาทีแรก จะเป็นการดูดซึมที่พื้นผิวของกล้ามเนื้อ การดูดซึมในกล้ามเนื้อยังน้อยมาก Lemos และคณะ (1999) พบว่าความเข้มข้นของเกลือ ฟอสเฟตและระยะเวลาในการแช่ที่เหมาะสมเป็นปัจจัยสำคัญ ในการเพิ่มน้ำหนักของเนื้อไก่ ลดการสูญเสียระหว่างการเก็บรักษา และลดการสูญเสียภายหลังการให้ความร้อน โดยระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่เนื้อไก่ส่วนอกและขาคือ 8-12 ชั่วโมงและ 3-4 ชั่วโมงตามลำดับ ความเข้มข้นที่เหมาะสมของฟอสเฟตและเกลือคือร้อยละ 3-4 และ 2-3 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์ พบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการแช่ (ภาพที่ 18) โดยปริมาณฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์มีค่าสูงสุดเท่ากับร้อยละ 0.13 และ 1.04 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาในการแช่นาน 4 ชั่วโมง แสดงว่าระยะเวลาในการแช่มีผลต่อการดูดซึมสารละลายฟอสเฟตเช่นเดียวกับปริมาณโซเดียมคลอไรด์ เมื่อระยะเวลาการแช่เพิ่มขึ้นเป็น 2 ชั่วโมง

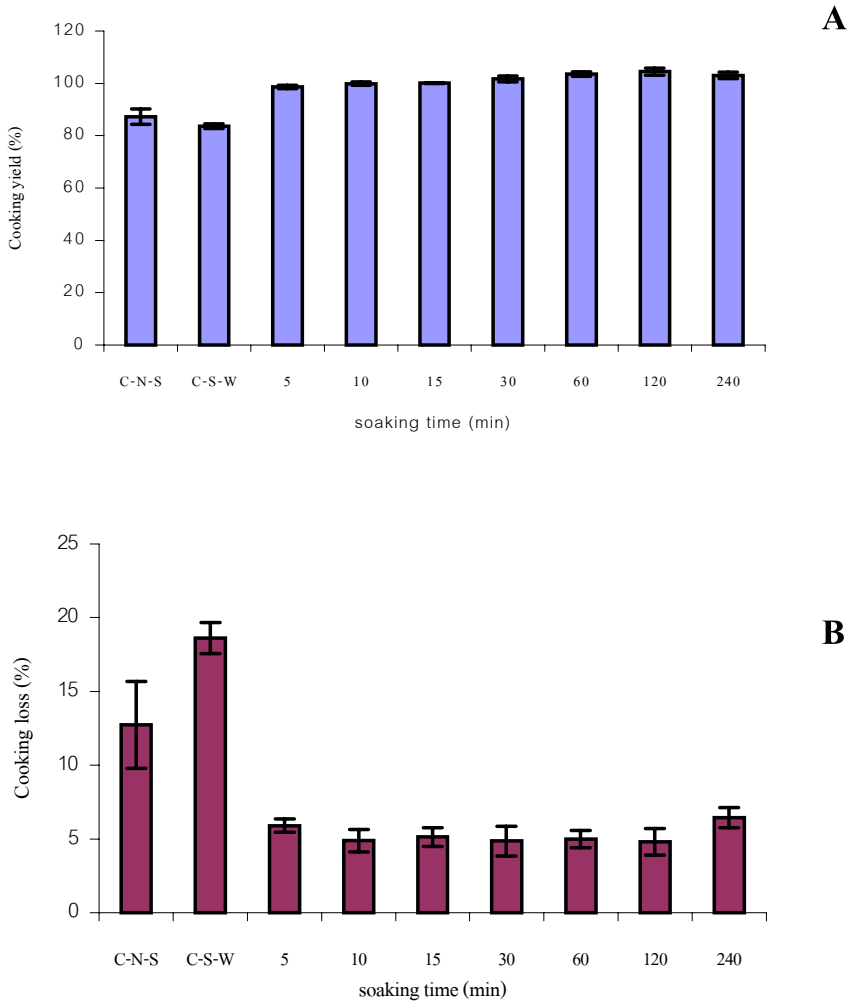
ประสิทธิภาพการอุ้มน้ำสูงสุด หลังจากนั้นประสิทธิภาพการอุ้มน้ำลดลง ซึ่งอาจเกิดจากการทำลายโครงสร้างโปรตีน

ดังนั้นระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่กุ้งกุลาดำในสารประกอบฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 คือ 2 ชั่วโมง เพราะให้น้ำหนักภายหลังการแช่ และผลผลิตภายหลังการให้ความร้อนสูงสุด สอดคล้องกับปริมาณฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์ที่แทรกซึมเข้าในเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำ และปริมาณโปรตีนไมโอซินที่ถูกสกัดได้เพิ่มขึ้น ปริมาณฟอสเฟตในเนื้อกุ้งที่ผ่านการแช่นาน 120 นาที เท่ากับ 130 ppm ซึ่งอยู่ในช่วงที่กฎหมายกำหนด (น้อยกว่า 500 ppm)



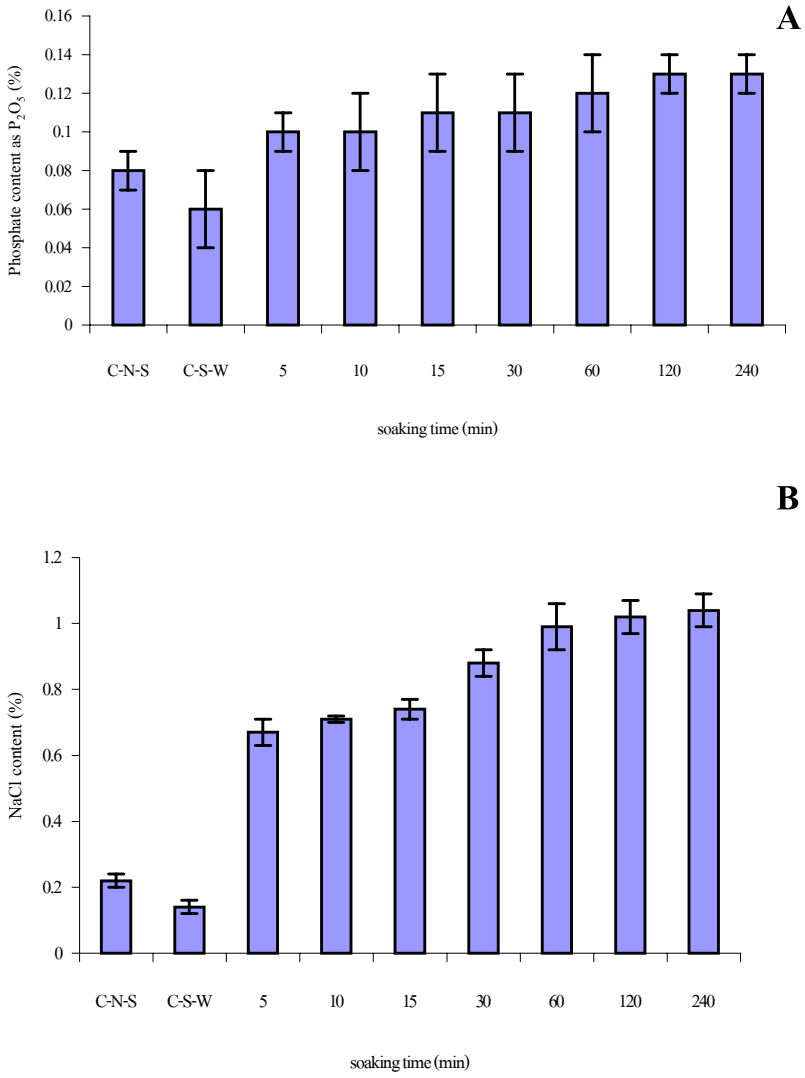

ภาพที่ 16 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำที่แช่ในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 เป็นระยะเวลาต่างๆ โดย C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ)

Figure 16 Weight gain of black tiger prawn soaked in 2.5 % TSPP and 2.5 % NaCl for different times; C-S-W: Control (Water soaking)



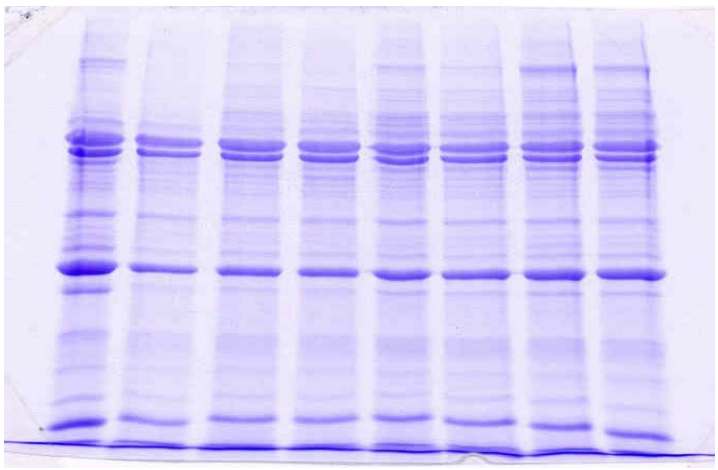

ภาพที่ 17 ผลผลิตภายหลังการให้ความร้อน (A) และน้ำหนักที่สูญเสียภายหลังการให้ความร้อน (B) ของกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่ในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 เป็นระยะเวลาต่างๆ โดย C-N-S = ชุดควบคุม (ไม่แช่น้ำ) C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ)

Figure 17 Cooking yield (A) and cooking loss (B) of black tiger prawn soaked in 2.5 % TSPP and 2.5 % NaCl for different times; C-N-S: Control (No water soaking), C-S-W: Control (Water soaking)




ภาพที่ 18 ปริมาณฟอสเฟต (A) และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (B) ของเนื้อกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่ในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 เป็นระยะเวลาต่างๆ โดย C-N-S = ชุดควบคุม (ไม่แช่น้ำ) C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ)

Figure 18 Phosphate content (A) and NaCl content (B) in black tiger prawn soaked in 2.5 % TSPP and 2.5 % NaCl for different times; C-N-S: Control (No water soaking), C-S-W: Control (Water soaking)




ภาพที่ 19 รูปแบบโปรตีนสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 ที่แช่กุ้งกุลาดำเป็นระยะเวลาต่างๆ โดย C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ) ใช้โปรตีนเข้มข้น 20 ไมโครกรัม

Figure 19 Protein pattern of soaking solution (2.5 % TSPP+2.5 % NaCl) used for soaking black tiger prawn for different times; C-S-W: Control (Water soaking) : Contain 20 μg protein

**2. การใช้สารเติมแต่งบางชนิดร่วมกับสารประกอบฟอสเฟต และโซเดียมคลอไรด์**

จากการศึกษาการใช้สารเติมแต่ง 3 ชนิดดังนี้ คือ ไบรซอล แคปปา-คาราจีแนน และแป้งมันสำปะหลังดัดแปร ร่วมกับฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์ในการแช่กุ้งกุลาดำ พบว่าการใช้สารทั้งสามชนิดไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการเพิ่มการอุ้มน้ำของกุ้งกุลาดำ ($p>0.05$) นอกจากนี้ พบว่าการใช้ฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์ให้น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นภายหลังการแช่สูงกว่าชุดการทดลองที่เติมสารเติมแต่ง ($p<0.05$) ดังภาพที่ 20 ขณะที่ไม่มีความแตกต่างระหว่างผลผลิตภายหลังการให้ความร้อนและน้ำหนักที่สูญเสียภายหลังการให้ความร้อน ($p>0.05$) (ภาพที่ 21) ทั้งนี้อาจเกิดจากปริมาณการใช้เกลือทั้งสองชนิดมีปริมาณเพียงพอที่ทำให้ค่าประสิทธิภาพการอุ้มน้ำสูงสุด การเติมสารเติมแต่งใดๆ จึงไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีนกล้ามเนื้อหรือเพิ่มการจับน้ำของโปรตีน

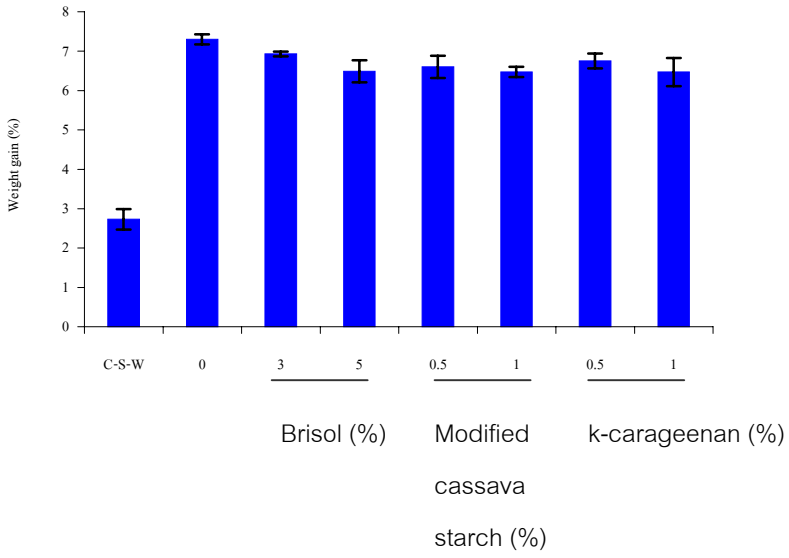
กล้ามเนื้อ การใช้สารเติมแต่งเหล่านี้ส่วนใหญ่ใช้บดผสมกับเนื้อบดจำพวกไส้กรอก แฮม ช่วยปรับปรุงลักษณะสัมผัส (Skrede, 1989) และสามารถเพิ่มค่าการอุ้มน้ำและความคงตัวต่อความร้อนของไส้กรอก (Pietrasik and Duda, 2000) แป้งมีส่วนช่วยในการรักษาความฉ่ำและความนุ่มในผลิตภัณฑ์เนื้อไขมันต่ำ (Giese, 1992) นอกจากนี้ Weiline และ Keeton (1998) กล่าวว่าคาราจีแนนและโซเดียมอัลจีเนทสามารถเพิ่มผลผลิตและความชื้นในแพททีจากเนื้อวัวบดได้ จากการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตและปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ (ภาพที่ 22) พบว่าปริมาณฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์สูงสุดในชุดการทดลองที่แช่ไบรซอล ร้อยละ 5 ร่วมกับฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์ การเติมแป้งมันสำปะหลังดัดแปร และแคปปา-คาราจีแนนอาจมีผลลดปริมาณการซึมผ่านของฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์เข้าไปในเนื้อกุ้ง โดยเฉพาะเมื่อใช้ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 แต่ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0 การซึมผ่านของฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น ประจุลบของหมู่ซัลเฟตของแคปปา-คาราจีแนนอาจมีผลแย่งกับฟอสเฟตหรือโซเดียมคลอไรด์ในการซึมผ่านเข้าสู่เนื้อกุ้ง ส่งผลให้ความเข้มข้นของฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์ลดลง

เมื่อศึกษารูปแบบของโปรตีนโดย SDS-PAGE พบว่ารูปแบบโปรตีนในสารละลายชุดการทดลองต่างๆ มีลักษณะใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามการใช้แป้งมันสำปะหลังดัดแปร และแคปปา-คาราจีแนน มีผลให้แถบไมโอซินเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากแคปปา-คาราจีแนน ประกอบด้วยหมู่ซัลเฟตซึ่งมีประจุลบ (Wong, 1988) ซึ่งมีผลให้ประสิทธิภาพการสกัดไมโอซินเพิ่มขึ้น สำหรับแป้งมันสำปะหลังดัดแปรหมู่หน้าที่ในโมเลกุลของแป้งอาจมีผลส่งเสริมการสกัดไมโอซินได้เพิ่มขึ้น

จากการทดสอบความชอบโดยใช้ Hedonic Scale เปรียบเทียบชุดการทดลองที่แช่ในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์และชุดที่แช่ในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์และสารเติมแต่งต่างๆ (ตารางที่ 5) พบว่าสีและความใสของทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่ชุดการทดลองที่แช่ในสารประกอบฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์ให้ความชอบรวมและความชอบด้านเนื้อสัมผัสสูงกว่าชุดควบคุม อย่างไรก็ตามการเติมสารเติมแต่งต่างๆ ในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อความชอบด้านเนื้อสัมผัสและความชอบรวมเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลอง

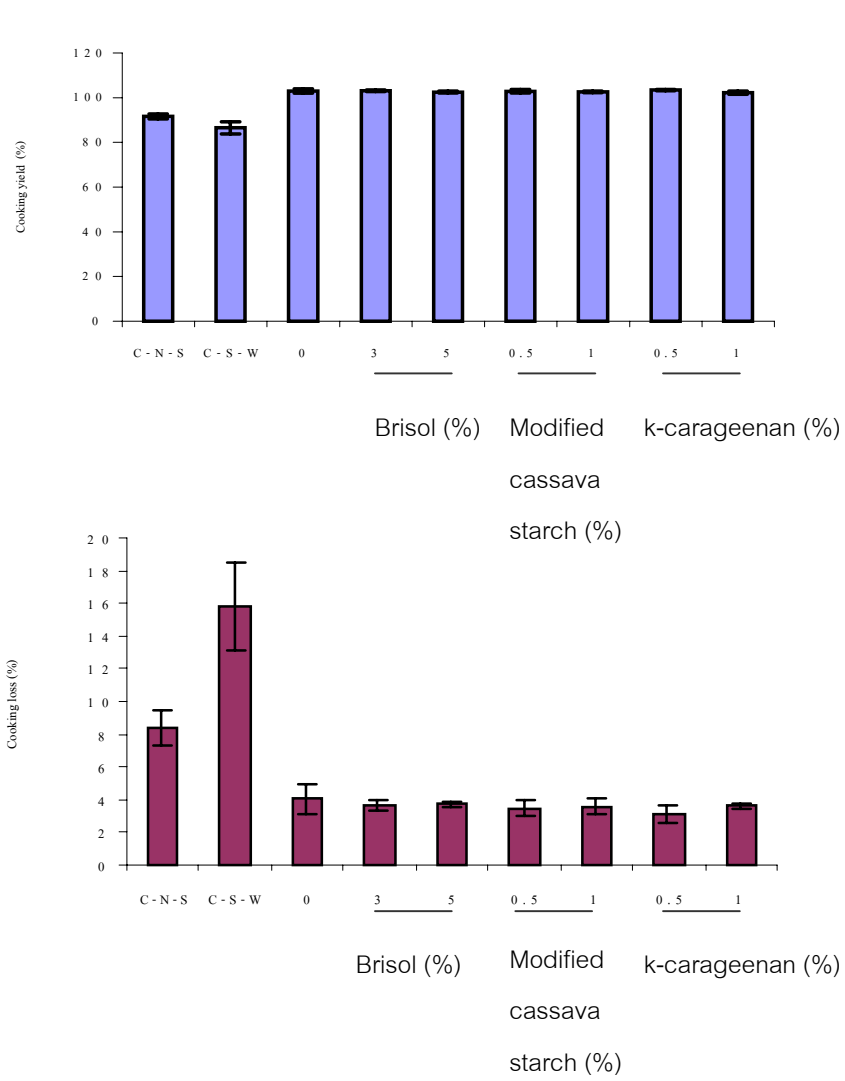
ที่แช่ในสารละลายฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์ Lamkey และคณะ (1986) กล่าวว่า โซเดียมคลอไรด์และฟอสเฟตมีผลต่อความคงตัวของลักษณะสัมผัส สี ของเนื้อวัวบด โดยฟอสเฟตสามารถเพิ่มสี และความฉ่ำของเนื้อได้ ซึ่งปริมาณไมโอโกลบินสูงสุดเมื่อใช้ฟอสเฟตร้อยละ 0.5

ดังนั้นการใช้เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 ในการแช่กุ้งกุลาดำเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง เพียงพอที่จะให้ประสิทธิภาพการอุ้มน้ำของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำสูงสุด โดยไม่จำเป็นต้องใช้สารเติมแต่งใดๆ ร่วมด้วย เพราะไม่มีความแตกต่างของประสิทธิภาพดังกล่าว การใช้สารเติมแต่งเพิ่มเติมจึงเป็นการสิ้นเปลืองโดยไม่จำเป็น




ภาพที่ 20 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่สารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 และโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับสารประกอบที่ไม่ใช่ฟอสเฟตชนิดแตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดย C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ)

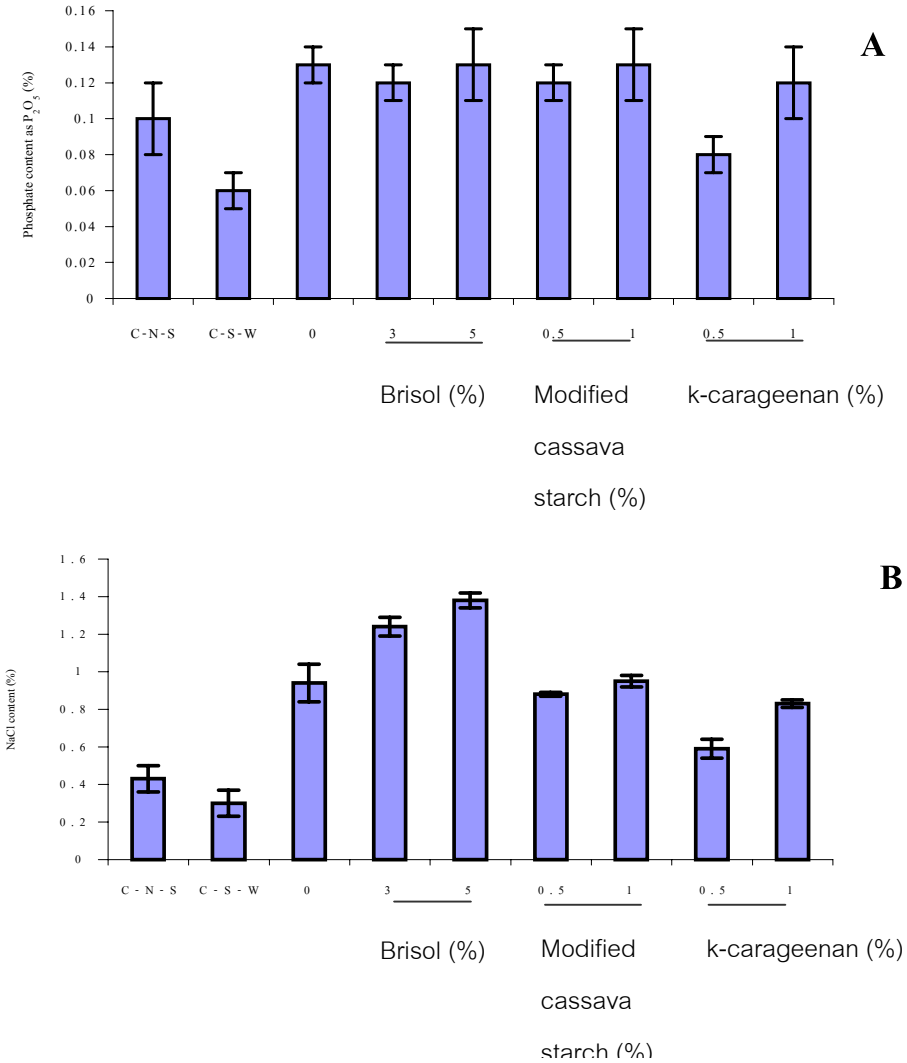
Figure 20 Weight gain of black tiger prawn soaked in 2.5 % TSPP and 2.5 % NaCl in presence of various non-phosphate compounds at different concentrations; C-S-W: Control (Water soaking)




ภาพที่ 21 ผลผลิตภายหลังการให้ความร้อน (A) และน้ำหนักที่สูญเสียภายหลังการให้ความร้อน (B) ของกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่สารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 และโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับสารประกอบที่ไม่ใช่ฟอสเฟตชนิดแตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดย C-N-S = ชุดควบคุม (ไม่แช่น้ำ) C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ)

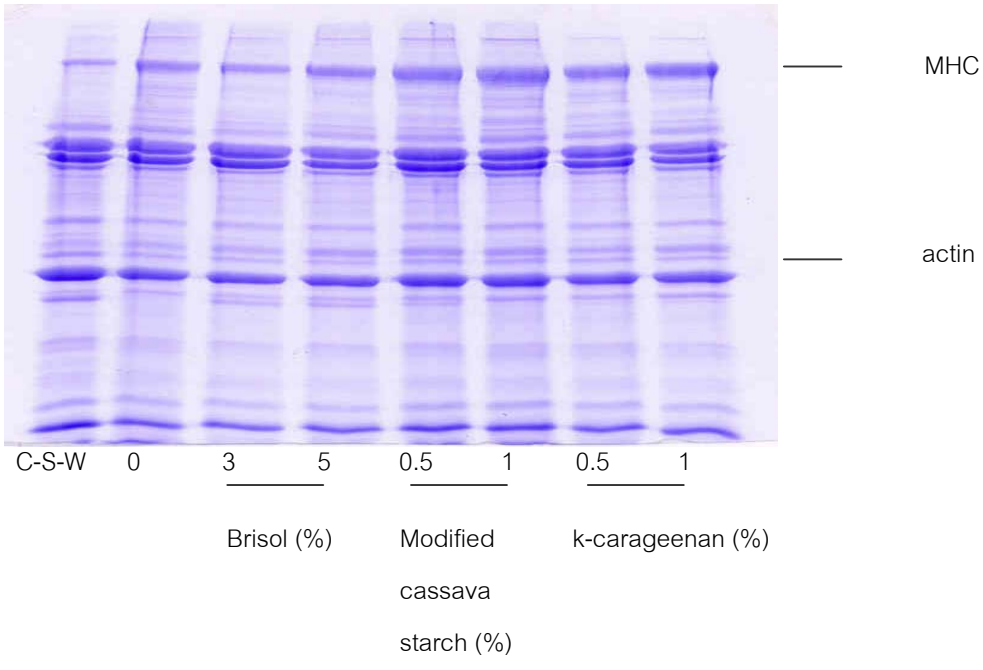
B

Figure 21 Cooking yield (A) and cooking loss (B) of black tiger prawn soaked in 2.5 % TSPP and 2.5 % NaCl in presence of various non-phosphate compounds at different concentrations ; C-N-S: Control (No water soaking), C-S-W: Control (Water soaking)




ภาพที่ 22 ปริมาณฟอสเฟต (A) และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (B) ในเนื้อกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่สารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 และโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับสารประกอบที่ไม่ใช่ฟอสเฟตชนิดแตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดย C-N-S = ชุดควบคุม (ไม่แช่น้ำ) C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ)

Figure 22 Phosphate content (A) and NaCl content (B) in black tiger prawn soaked in 2.5 % TSPP and 2.5 % NaCl in presence of various non-phosphate compounds at different concentrations ; C-N-S: Control (No water soaking), C-S-W: Control (Water soaking)




ภาพที่ 23 รูปแบบโปรตีนของสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 และโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 ที่ใช้แช่กุ้งกุลาดำ ร่วมกับสารประกอบที่ไม่ใช่ฟอสเฟตชนิดแตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดย C-S-W = ชุดควบคุม (แช่น้ำ) ใช้โปรตีนเข้มข้น 20 ไมโครกรัม

Figure 23 Protein pattern of soaking solution (2.5 % TSPP and 2.5 % NaCl) in presence of various non-phosphate compounds at different concentrations; C-S-W: Control (Water soaking) : Contain 20 μg protein

ตารางที่ 5 คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของเนื้อกุ้งกุลาดำซึ่งแช่ในสารละลายชนิดต่างๆ กันหลังผ่านการให้ความร้อน

Table 5 Sensory characteristics of cooked black tiger prawn soaked in different solutions

| Samples | Apperance | | Texture | Overall liking |
|---|---|---|---|---|
| | Color | Transparancy | | |
| Control (No water soaking) | 4.5 ± 0.97*a | 4.9 ± 1.29a | 5.4 ± 1.17ab** | 5.1 ± 0.74ab |
| Control (Water soaking) | 4.5 ± 1.58a | 4.8 ± 2.10a | 5.1 ± 1.79a | 4.8 ± 1.62a |
| TSPP+NaCl | 6.2 ± 1.69ab | 5.9 ± 1.85ab | 6.3 ± 1.06bc | 6.6 ± 0.97c |
| TSPP+NaCl + Brisol 3% | 5.2 ± 1.40ab | 5.7 ± 1.49ab | 6.1 ± 0.88abc | 6.3 ± 0.67bc |
| TSPP+NaCl + Brisol 5% | 6.1 ± 2.02ab | 6.8 ± 1.03b | 6.5 ± 0.97c | 6.6 ± 1.50c |
| TSPP+NaCl + M 0.5% | 6.3 ± 1.57ab | 6.4 ± 1.58b | 6.6 ± 1.35c | 7.0 ± 1.05c |
| TSPP+NaCl + M 1.0% | 6.8 ± 1.69b | 6.8 ± 1.32b | 6.6 ± 1.17c | 7.1 ± 1.45c |
| TSPP+NaCl + k 0.5% | 6.3 ± 1.83ab | 5.6 ± 1.35ab | 5.9 ± 1.52abc | 6.2 ± 1.32bc |
| TSPP+NaCl + k 1.0% | 5.5 ± 2.80ab | 5.7 ± 2.36ab | 6.2 ± 1.81bc | 6.0 ± 2.16bc |

* Mean ± SD from triplicate determinations

** The same letter in the same column indicates no significant differences ($p>0.05$)

M = modified cassava starch; k = k-carageenan

**3. การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบและโครงสร้างของโปรตีนจากกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ**

3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ พบว่าประกอบด้วยโปรตีน ความชื้น ไขมัน เถ้า โซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 19.53, 79.52, 0.25, 1.12 และ 0.29 ตามลำดับ (ตารางที่ 6) สำหรับกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่น้ำพบว่า โปรตีน ไขมัน เถ้า และโซเดียมคลอไรด์มีปริมาณลดลง ขณะที่ความชื้นเพิ่มขึ้นและชุดการทดลองที่แช่ฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ พบว่าปริมาณโปรตีน ไขมันลดลง แต่ปริมาณความชื้น เถ้า และโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น การแช่กุ้งกุลาดำในน้ำหรือในสารละลายใดๆ ทำให้โปรตีนบางส่วนละลายออกมาในสารละลาย และน้ำเข้าไปแทนที่ในโครงสร้างกล้ามเนื้อ ทำให้น้ำหนักเพิ่มขึ้น การอุ้มน้ำสูงขึ้น ปริมาณเถ้าและโซเดียมคลอไรด์ของชุดการทดลองที่แช่ในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีปริมาณสูงสุด ($p<0.05$) ซึ่งอาจเป็นเหตุผลหนึ่งของการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักและประสิทธิภาพในการอุ้มน้ำ Lamkey และคณะ(1986) กล่าวว่าการใช้ฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ทำให้ความชื้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ไขมันและโปรตีนลดลงเล็กน้อยแต่ปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่ในสารละลายฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5

Table 6 Chemical composition of black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water and black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl

| Composition (%, wet weight basis) | Control (No water soaking) | Control (water soaking) | 2.5% TSPP+2.5% NaCl |
|---|---|---|---|
| Protein | 19.53 ± 0.09* [b**] | 17.38 ± 0.31[a] | 17.67 ± 0.44[a] |
| Moisture | 79.52 ± 0.83[a] | 82.69 ± 0.14[c] | 80.60 ± 0.23[b] |
| Fat | 0.25 ± 0.01[ab] | 0.26 ± 0.01[b] | 0.24 ± 0.01[a] |
| Ash | 1.12 ± 0.02[b] | 0.79 ± 0.02[a] | 1.94 ± 0.06[c] |
| NaCl | 0.29 ± 0.04[a] | 0.27 ± 0.02[a] | 1.00 ± 0.05[b] |

* Mean ± SD from triplicate determinations

** The same letter in the same row indicates no significant differences ($p > 0.05$)

3.2 ชนิดของโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน

จากการศึกษาสัดส่วนของโปรตีนชนิดต่างๆ ในกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่น้ำหรือกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่สารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ พบว่ากุ้งที่ผ่านการแช่น้ำหรือสารละลายฟอสเฟตมีปริมาณโปรตีนไมโอไฟบริลลดลงเนื่องจากปริมาณน้ำที่เพิ่มขึ้นในกล้ามเนื้อ ชุดควบคุม (แช่น้ำ) มีปริมาณโปรตีนไมโอไฟบริลลดลงจากร้อยละ 73.61 เป็น 62.12 ส่วนโปรตีนที่ละลายได้ในด่างและสโตรมาเพิ่มขึ้น ขณะที่โปรตีนไมโอไฟบริลจากชุดการทดลองซึ่งแช่ในสารละลายเตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 มีปริมาณโปรตีนไมโอไฟบริลใกล้เคียงกับชุดควบคุม (ไม่แช่น้ำ) การแช่กุ้งกุลาดำในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีผลในการละลายโปรตีนซาร์โคพลาสมิก โปรตีนไมโอไฟบริล รวมทั้งโปรตีนชนิดที่ละลายได้ในด่าง ส่งผลให้สัดส่วนของโปรตีนชนิดต่างๆ ที่เหลือในกล้ามเนื้อใกล้เคียงกับสัดส่วนที่พบในกล้ามเนื้อกุ้งเริ่มต้น การแช่น้ำอาจมีผลให้โปรตีน

ทั้งชนิดซาร์โคพลาสมิกและไมโอไฟบริลละลายและสูญเสียไปกับน้ำแช่แต่ไม่มีผลต่อโปรตีนชนิดละลายได้ในด่างและสโตรมา ส่งผลให้สัดส่วนของโปรตีนทั้งสองชนิดเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด (ตารางที่ 7) อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างของโปรตีนเมื่อวิเคราะห์โดย SDS-PAGE (ภาพที่ 24) โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบหลักของกล้ามเนื้อสัตว์ คือ โปรตีนไมโอไฟบริล โปรตีนซาร์โคพลาสมิกและโปรตีนสโตรมา โดยไมโอไฟบริลเป็นเป็นโปรตีนที่สำคัญของเนื้อสัตว์มีบทบาทสำคัญต่อการยึดหดของกล้ามเนื้อ มีความสำคัญต่อการเคลื่อนที่ การอุ้มน้ำของเนื้อและความสามารถในการเกิดเจล ซึ่งองค์ประกอบหลักของกล้ามเนื้อปลานั้นแตกต่างกัน ขึ้นกับชนิดกล้ามเนื้อ ช่วงการหาอาหารและการวางไข่ (Mackie, 1994) นอกจากปัจจัยดังกล่าวกระบวนการแปรรูป และการเก็บรักษายังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโปรตีนไมโอไฟบริล

ตารางที่ 7 โปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนของกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่ในน้ำ และผ่านการแช่ในสารละลายฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5

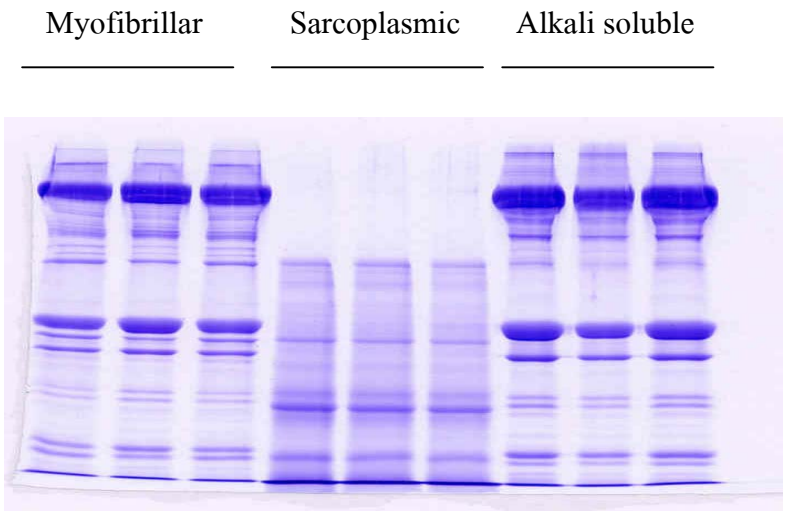
Table 7 Protein and non-protein nitrogenous compounds in black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water and black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl

| Composition (mg N/g wet muscle) | Control (No water soaking) | Control (water soaking) | 2.5% TSPP+2.5% NaCl |
|---|---|---|---|
| Non-protein nitrogenous compounds | 3.69±0.20* [b**] | 2.47±0.11[a] | 2.34±0.11[a] |
| Sarcoplasmic protein | 6.87±0.60[a] | 6.04±0.28[a] | 5.96±0.48[a] |
| | (20.55)*** | (23.76) | (19.63) |
| Myofibrillar protein | 24.60±0.14[c] | 15.79±0.64[a] | 22.18±0.16[b] |
| | (73.61) | (62.12) | (73.05) |
| Alkali-soluble protein | 1.44±0.12[a] | 2.66±0.35[b] | 1.64±0.12[a] |
| | (4.31) | (10.46) | (5.46) |
| Stromal protein | 0.51±0.02[a] | 0.93±0.12[b] | 0.58±0.09[a] |
| | (1.52) | (3.65) | (1.90) |

* Mean ± SD from triplicate determinations

** The same letter in the same row indicates no significant differences ($p > 0.05$)

*** Number in the parenthesis represents percentage of each fraction

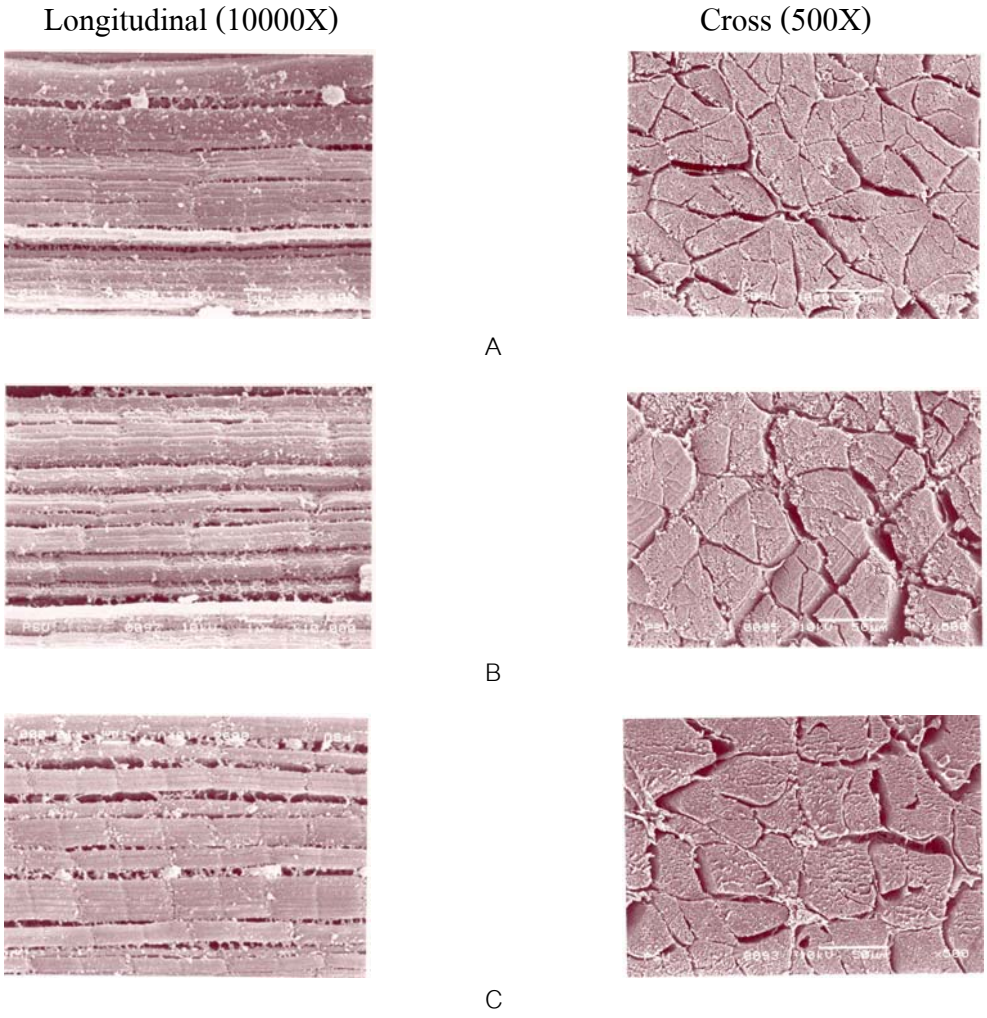



ภาพที่24 รูปแบบโปรตีนของแฟรกชันต่างๆ ของกุ้งกุลาดำ (1) กุ้งกุลาดำผ่านการแช่น้ำ (2) กุ้งกุลาดำผ่านการแช่สารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ (3) ใช้โปรตีนเข้มข้น 20 ไมโครกรัม

Figure 24 Protein pattern of different fractions from black tiger prawn (1), black tiger prawn soaked in water (2) and black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl (3) : Contained 20 μg protein

3.3 โครงสร้างจุลภาคของกุ้งกุลาดำ

การใช้ SEM ศึกษาชิ้นเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่น้ำ และผ่านการแช่สารละลายฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5 ที่กำลังขยาย 10000 เท่า (ภาพที่ 25) พบว่าฟอสเฟตทำให้เกิดการพองตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ เกิดช่องว่างภายในกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับชุดการทดลองที่แช่น้ำและไม่แช่น้ำ อย่างไรก็ตามการแช่กุ้งกุลาดำในน้ำมีผลให้เกิดการพองตัวของเส้นใยเล็กน้อย ฟอสเฟตมีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดการขยายตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ เกิดการพองตัวของกล้ามเนื้อ ซึ่งอาจเกิดจากการผลักกันของประจุที่เหมือนกัน นอกจากนี้ฟอสเฟตมีบทบาทสำคัญในการละลายโปรตีนบางส่วน ส่งผลให้โครงสร้างหลวมและมีช่องว่างเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 25 ) ส่งผลให้น้ำสามารถกักเก็บในช่องว่างดังกล่าวเพิ่มขึ้น




ภาพที่25 โครงสร้างจุลภาคของเนื้อกุ้งกุลาดำ โดย A = ชุดควบคุม (ไม่แช่น้ำ), B = ชุดควบคุม (แช่น้ำ) และ C = ชุดแช่สารละลายฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5

Figure 25 Microstructure of black tiger prawn muscle; A: Control (No water soaking), B: Control (Water soaking), C: Soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl

3.4 ชนิดและปริมาณแร่ธาตุของกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่สารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์

กุ้งกุลาดำที่แช่ในน้ำมีปริมาณแร่ธาตุชนิดต่างๆ ลดลง (ตารางที่ 8) เนื่องจากการละลายของเนื้อเยื่อทำให้มีปริมาณแร่ธาตุละลายออกมาในน้ำแช่ ส่วนการแช่กุ้งกุลาดำในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ส่งผลให้ปริมาณแร่ธาตุชนิดต่างๆ เพิ่มขึ้น ยกเว้นแมกนีเซียม และแคลเซียมซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกับชุดการทดลองที่แช่น้ำ ขณะที่แร่ธาตุชนิดอื่นๆ เช่น ฟอสฟอรัส โซเดียม และคลอไรด์พบในปริมาณสูง ซึ่งเกิดจากการดูดซึมเข้าในกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น แร่ธาตุเหล่านี้อาจมีส่วนช่วยในการเพิ่มน้ำหนักของกุ้งกุลาดำ

ตารางที่8 ปริมาณแร่ธาตุชนิดต่างๆ ในเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำหลังผ่านการแช่น้ำและกุ้งกุลาดำหลังผ่านการแช่สารละลายฟอสเฟตเข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2.5

Table 8 Mineral contents in black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water and black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl

| Samples | Mineral content (mg/Kg) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Phosphorus | Calcium | Magnesium | Sodium | Chloride |
| Control (No water soaking) | 257.00±4.09* | 273.81±1.13 | 329.37±1.50 | 1686.5±1.13 | 292.51±2.42 |
| Control (water soaking) | 189.00±2.14 | 259.77±1.37 | 255.86±0.53 | 625.98±1.89 | 271.73±4.13 |
| 2.5 % TSPP+2.5% NaCl | 327.00±3.90 | 268.59±0.58 | 243.59±1.01 | 8643.0±4.78 | 989.73±5.37 |

* Mean ± SD from triplicate determinations

3.5 Thermal inactivation rate constant ($K_D$) ของแอกโตไมโอซิน

จากการเปรียบเทียบค่า Thermal inactivation rate constant ($K_D$) ของกิจกรรม $Ca^{2+}$-ATPase ของแอกโตไมโอซิน เพื่อศึกษาความคงตัวทางความร้อนของโปรตีนกล้ามเนื้อปลา (Suzuki, 1981; Seki, 1977; Tsai *et al*, 1989) พบว่าความคงตัวทางความร้อนของแอกโตไมโอซินธรรมชาติจากกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำผ่านการแช่น้ำและกุ้งกุลาดำผ่านการแช่สารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์แตกต่างกัน โดยทั่วไปเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติได้มากขึ้น (ตารางที่ 9) ดังนั้นอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการสูญเสียสภาพของโปรตีนกล้ามเนื้อ อย่างไรก็ตามนอกจากอุณหภูมิแล้วกระบวนการแช่และชนิดของสารที่ใช้แช่กุ้งกุลาดำมีผลต่อการสูญเสียสภาพของโปรตีนด้วยเช่นกัน โดยเฉพาะสารประกอบฟอสเฟต โดยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 30 และ 40 องศาเซลเซียส ฟอสเฟตสามารถกระตุ้นให้เกิดการสูญเสียสภาพของโปรตีนกล้ามเนื้อได้ง่ายขึ้น ซึ่งค่า $K_D$ ที่ 40 องศาเซลเซียส เท่ากับ 463.46 ขณะที่ชุดควบคุมมีค่า $K_D$ ในช่วง 301.05 ถึง 355.89 ทั้งนี้เนื่องจากฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์อาจเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน เนื่องจากประจุของสารดังกล่าว รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงพีเอช โดย Tsai และคณะ (1989) รายงานว่าแอกโตไมโอซินของปลา milkfish, tilapia hybrid, tilapia และ carp มีความคงตัวที่พีเอช 6.5-7.9 ดังนั้นเมื่อฟอสเฟตมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอช จึงอาจส่งผลถึงการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำที่เปลี่ยนแปลงไป

ตารางที่ 9 ค่า Thermal inactivation rate constant ($K_D$) ของแอกโตไมโอซินธรรมชาติจากกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำผ่านการแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5

Table 9 Thermal inactivation rate constant ($K_D$) of natural actomyosin from black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water and black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl

| Samples | $K_D x10^{-5} S^{-1}$ | |
|---|---|---|
| | 30 (°C) | 40 (°C) |
| Control (No water soaking) | 6.08±0.42*[a**] | 301.05±1.42[a] |
| Control (Water soaking) | 6.35±1.89[a] | 355.89±0.55[b] |
| 2.5% TSPP+2.5% NaCl | 6.50±0.23[a] | 463.46±2.92[c] |

* Mean ± SD from triplicate determinations

** The same letter in the same column indicates no significant differences ($p > 0.05$)

3.6 คุณสมบัติทางความร้อนของกล้ามเนื้อ โดยใช้ Differential Scanning Colorimetry (DSC)

จากการตรวจสอบการสูญเสียสภาพโดยความร้อนของโปรตีนกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำโดยใช้ DSC พบว่า ค่า $T_{max}$ ของพีคที่ 1 อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 47.97- 51.72 องศาเซลเซียส แสดงถึงการสูญเสียสภาพของโปรตีนไมโอซิน ค่า $T_{max}$ ของพีคที่ 2 อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 71.17-71.39 องศาเซลเซียส แสดงถึงการสูญเสียสภาพของแอกติน โปรตีนจากกล้ามเนื้อปลามีค่า $T_{max}$ ของพีคที่ 1 อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 41.70-52.70 องศาเซลเซียส ส่วนค่า $T_{max}$ ของพีคที่ 2 อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 72.6-73.8 องศาเซลเซียส (Poulter *et al*, 1985) จากการทดลอง พบว่าการแช่กุ้งกุลาดำในสารละลายฟอสเฟตไม่มีผลต่อการสูญเสียสภาพของแอกติน แต่การใช้ฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในการแช่กุ้งกุลาดำนั้น ทำให้ค่า $T_{max}$ ของพีคที่ 1 ลดลงจาก 50.99 เป็น 47.97 ดังนั้นฟอสเฟต และ/หรือโซเดียมคลอไรด์เหนี่ยวนำให้เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนไมโอซิน ส่งผลให้การ

สูญเสียสภาพธรรมชาติโดยความร้อนของกล้ามเนื้อโปรตีนจากกุ้งกุลาดำเกิดขึ้นได้ที่อุณหภูมิต่ำ (ตารางที่ 10) ฟอสเฟตสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสูญเสียสภาพโดยความร้อนของกล้ามเนื้อโปรตีนกุ้งกุลาดำ อันมีสาเหตุจากค่าพีเอช และความแรงอิออนที่เปลี่ยนไป พีเอช และค่าความแรงอิออนมีผลต่อรูปแบบ DSC ของทั้งโปรตีนจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Stabursvik and Martens, 1980; Wright and Wilding, 1984) และโปรตีนจากปลา (Davies *et al*, 1988; Beas *et al*, 1990)

ตารางที่ 10 $T_{max}$ และเอนธาลปีของโปรตีนกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำผ่านการแช่น้ำและผ่านการแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5

Table 10 $T_{max}$ and enthalpy of muscle protein of black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water and black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl

| Samples | $T_{max}$ I (°C) | Δ H (j/g) | $T_{max}$ II (°C) | Δ H (j/g) |
|---|---|---|---|---|
| Control (No water soaking) | 50.99 ± 0.17*[b**] | 1.28± 0.03[a] | 71.39± 0.38[a] | 1.28± 0.03[a] |
| Control (Water soaking) | 51.72± 0.35[c] | 1.34± 0.07[a] | 71.22± 0.25[a] | 1.34± 0.07[a] |
| 2.5% TSPP+2.5% NaCl | 47.97± 0.22[a] | 1.32± 0.16[a] | 71.17± 0.35[a] | 1.32± 0.16[a] |

* Mean ± SD from triplicate determinations

** The same letter in the same column indicates no significant differences ($p > 0.05$)

**4. ผลของการใช้สารประกอบฟอสเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ**

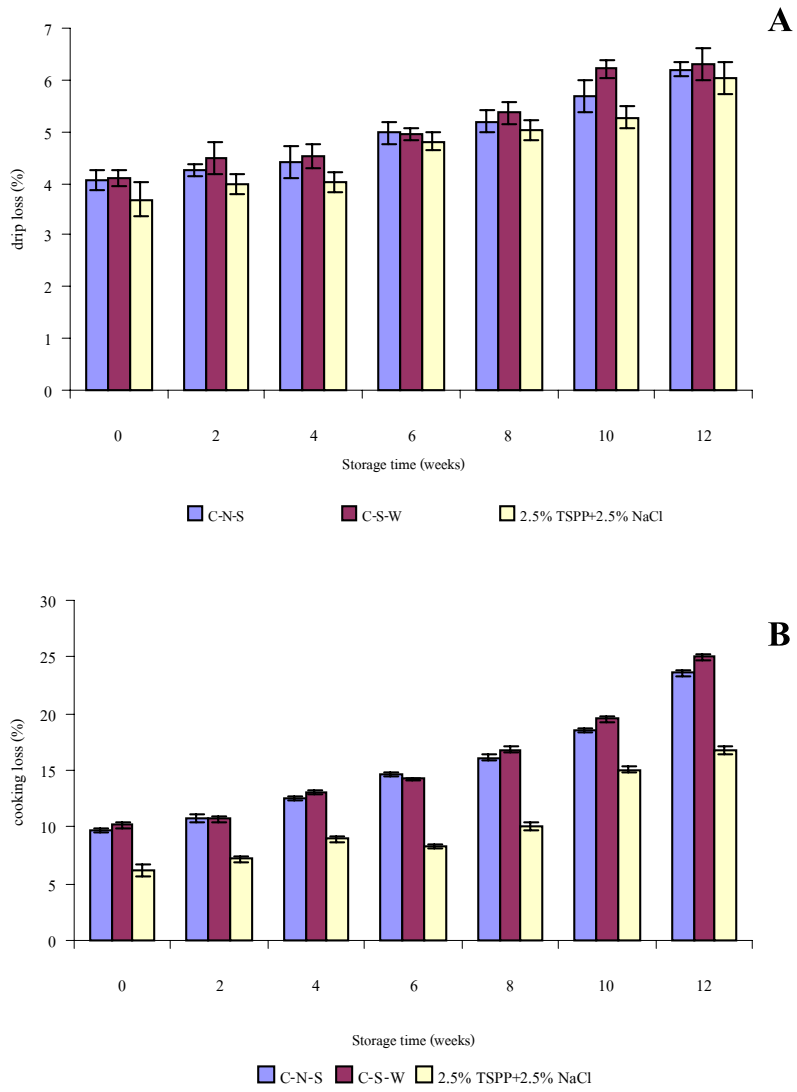
4.1 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็ง

การแช่แข็งเป็นกระบวนการสำคัญในการเก็บรักษากุ้งกุลาดำ แต่อาจทำให้คุณภาพของกุ้งกุลาดำลดลง การสูญเสียคุณภาพขึ้นกับปัจจัยหลายอย่างรวมถึงอุณหภูมิในการเก็บ อัตราการแช่แข็ง-ทำละลาย วิธีการแช่แข็ง-ทำละลาย ซึ่งส่วนใหญ่การสูญเสียสภาพธรรมชาติหลังการแช่แข็งของเนื้อกุ้งและอาหารทะเลอื่นๆ เกิดจากการสูญเสียสภาพของไมโอซิน โดยเฉพาะการจับตัวกันของโปรตีนไมโอไฟบริล การเก็บรักษาคุณภาพอาหารทะเลโดยเฉพาะกุ้งกุลาดำโดยใช้อุณหภูมิต่ำเพียงอย่างเดียวยังไม่สามารถรักษาคุณภาพกุ้งได้เป็นอย่างดี ดังนั้นการเก็บรักษาเพื่อยืดอายุและรักษาคุณภาพจึงจำเป็นต้องคำนึงถึงปัจจัยอื่นๆ ประกอบด้วย ซึ่งการใช้สารเคมีเช่นสารประกอบฟอสเฟตเป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อการเก็บรักษา โดยสารประกอบฟอสเฟตมีผลต่อโปรตีนกล้ามเนื้อซึ่งประกอบด้วยแอกตินและไมโอซินซึ่งจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างที่ซับซ้อน ฟอสเฟตสามารถแยกโครงสร้างของโปรตีนและสกัดไมโอซินออกมา ไมโอซินที่ถูกสกัดสามารถจับกับน้ำได้ดี ช่วยรักษาโปรตีนชนิดละลายน้ำ เกลือแร่และวิตามินไว้ในผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ฟอสเฟตสามารถจับกับอิออนโลหะหนักชนิดต่าง ๆ ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ และฟอสเฟตยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการอุ้มน้ำของโปรตีนกล้ามเนื้อ

4.1.1 drip loss และ cooking loss

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า drip loss และ cooking loss ของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ พบว่าเมื่อระยะการเก็บรักษานานขึ้น drip loss และ cooking loss เพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 26 ) Mishara และ Srikar (1989) กล่าวว่าการเกิดผลึกน้ำแข็งทำให้เกิดการทำลายเส้นใยกล้ามเนื้อ และเกิดการรั่วของออร์แกแนล ซึ่งทำให้น้ำถูกปล่อยออกจากกล้ามเนื้อได้ง่ายขึ้นเมื่อระยะการเก็บรักษานานขึ้น จากการทดลองพบว่าการแช่กุ้งกุลาดำในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอได์สามารถลด drip loss ของกุ้งกุลาดำได้เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ($p<0.05$) ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ค่า drip loss เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ($p>0.05$) แต่หลังจากนั้นค่า drip loss เพิ่มขึ้นอย่างรวด

เร็ว ($p<0.05$) (ภาพที่ 26) สำหรับค่า cooking loss พบว่าเมื่อระยะการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งเพิ่มขึ้นค่า cooking loss เพิ่มขึ้น ($p<0.05$) และกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่สารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีค่า cooking loss ต่ำสุด เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ($p<0.05$) (ภาพที่ 26) ส่วนชุดควบคุมมีปริมาณ cooking loss สูงสุดโดยเฉพาะเมื่อเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งเป็นระยะเวลานานขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากฟอสเฟตสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโปรตีน ส่งผลให้จับกับน้ำได้มากขึ้น เพิ่มประสิทธิภาพในการอุ้มน้ำให้สูงขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chang และคณะ (1979) กล่าวว่าการสูญเสียคุณสมบัติการอุ้มน้ำของกล้ามเนื้อในระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็งสัมพันธ์กับการลดลงของการละลายของโปรตีนไมโอไฟบริลและคุณสมบัติการอุ้มน้ำ นำมาสู่การเพิ่มขึ้นของค่า drip loss ฟอสเฟตสามารถช่วยลด thaw drip และ cooked drip ในชิ้นเนื้อปลาคอดได้ และสามารถเพิ่มผลผลิตของผลิตภัณฑ์ให้สูงขึ้นทั้งในสภาพดิบและสุก ทั้งในสภาวะการเก็บที่อุณหภูมิ –12 และ –30 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจเกิดจากคุณสมบัติการป้องกันการสูญเสียสภาพธรรมชาติในสภาวะแช่แข็ง (Cryoprotective effect) ของฟอสเฟต (Woyewoda and Bligh, 1985) นอกจากนี้ฟอสเฟตสามารถลด thaw drip ในเนื้อปลาคอด (Boyd and Southcott, 1965; Chalker *et al*., 1965)



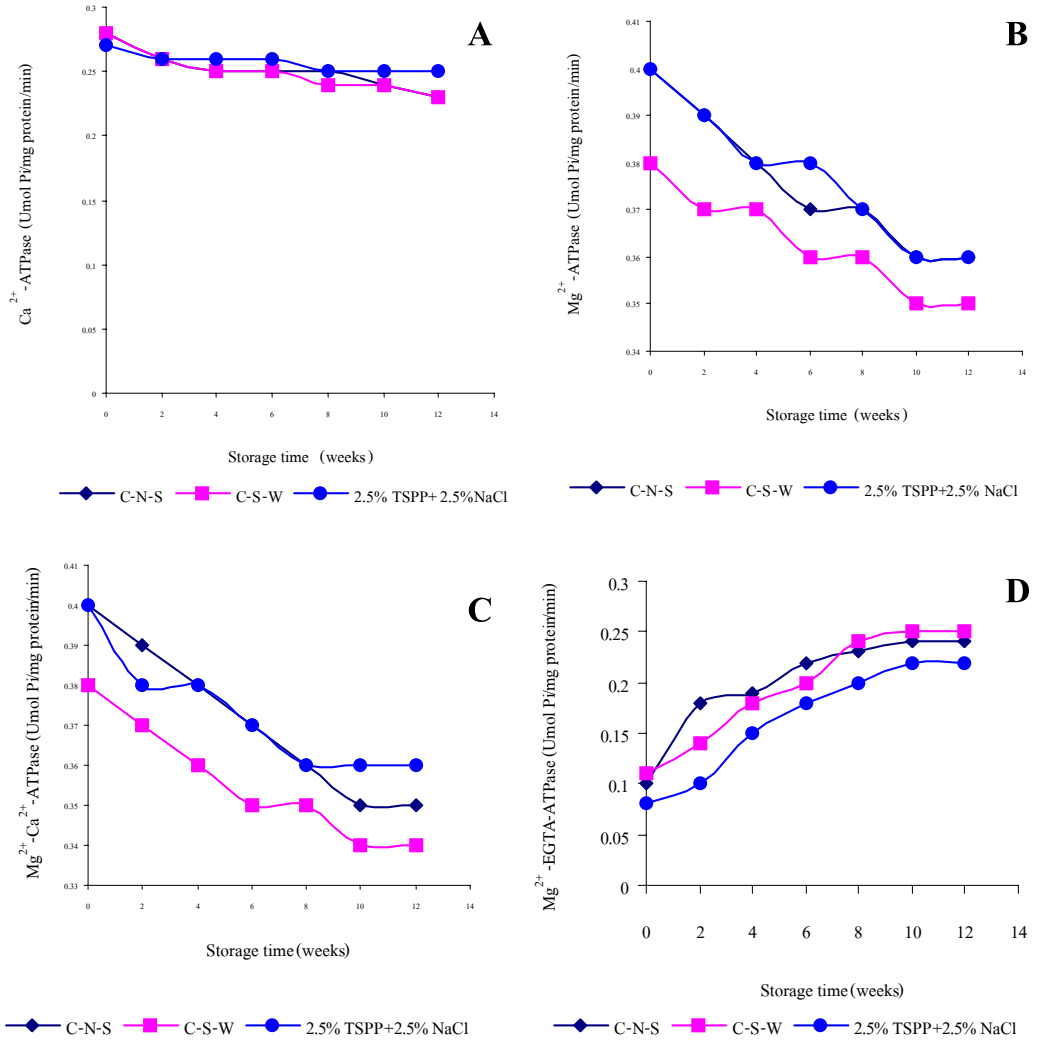

ภาพที่ 26 การเปลี่ยนแปลง drip loss (A) และ cooking loss (B) ของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส

Figure 26 Changes in drip loss (A) and cooking loss (B) of black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water, black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl during frozen storage at –18 °C

4.1.2 กิจกรรมของ ATPase

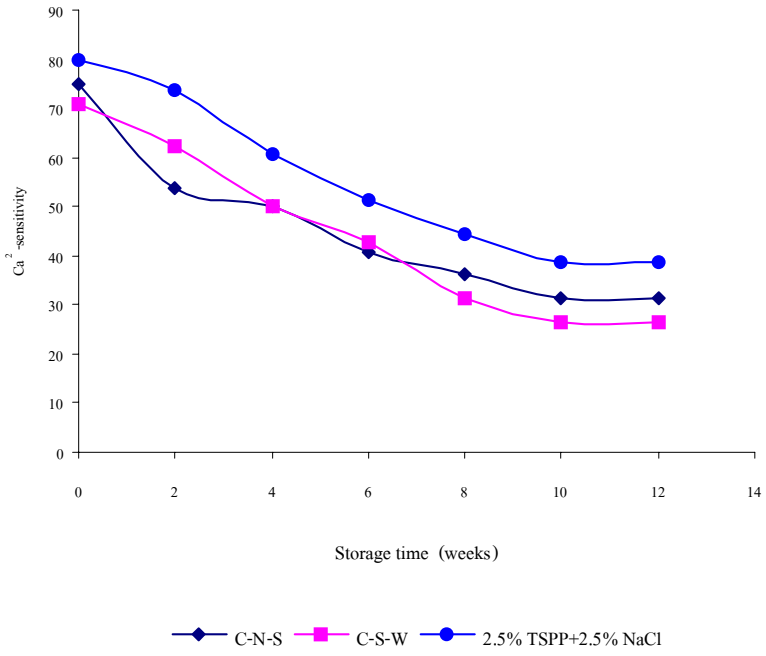
การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของ ATPase ของแอกโตไมโอซินที่สกัดได้จากกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่ไม่มีการแช่น้ำ มีการแช่น้ำ และมีการแช่ในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ แสดงดังภาพที่ 27 พบว่ากิจกรรมของ $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$ และ $Mg^{2+}$-$Ca^{2+}$-ATPase มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะการเก็บรักษานานขึ้น ($p<0.05$) กุ้งกุลาดำที่แช่สารละลายฟอสเฟตและโซเดียมคลอไรด์มีแนวโน้มลดลงน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับชุดควบคุม แต่ช่วยชะลอการลดลงของค่า $Mg^{2+}$-$Ca^{2+}$-ATPase หลังจากผ่านการเก็บรักษาตั้งแต่ 10 สัปดาห์ขึ้นไป ($p<0.05$) ชุดควบคุมซึ่งแช่น้ำมีแนวโน้มการลดลง $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$ และ $Mg^{2+}$-$Ca^{2+}$-ATPase สูงสุด โดย $Ca^{2+}$-ATPase ลดลงสูงสุดหลังจากผ่านการเก็บรักษานาน 12 สัปดาห์ แต่ $Mg^{2+}$ และ $Mg^{2+}$-$Ca^{2+}$-ATPase ของชุดควบคุม (แช่น้ำ) ลดลงสูงสุดตลอดช่วงการเก็บรักษา ($p<0.05$) ขณะที่กิจกรรมของ $Mg^{2+}$-EGTA-ATPase เพิ่มสูงขึ้น เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น แสดงว่าฟอสเฟตช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นของกิจกรรม $Mg^{2+}$-EGTA–ATPase สอดคล้องกับการชะลอการลดลงของ $Ca^{2+}$-sensitvity ($p<0.05$) Suzuki (1976) และ Hatano (1968) กล่าวว่าการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์จากแอกโตไมโอซินของกล้ามเนื้อในระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็ง เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนเนื่องจากผลึกน้ำแข็ง นอกจากนี้การจับเรียงตัวใหม่ของโปรตีน การเกิดพันธะระหว่างโปรตีนและการเพิ่มขึ้นของความแรงอิออนในกล้ามเนื้อมักเป็นสาเหตุให้เกิดการสูญเสียกิจกรรมของ ATPase (Benjakul and Bauer, 2000) กิจกรรม ATPase ของปลาน้ำจืดและปลา brackish ลดลงในระหว่างการเก็บรักษาในสภาพการแช่เยือกแข็ง (Nambudiri and Gopakumar, 1992) กิจกรรมของ $Mg^{2+}$-EGTA–ATPase จากโปรตีนปลา tilapia ค่อยๆเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาที่ –20 และ –40 องศาเซลเซียส (Jiang *et al*., 1989) กิจกรรมของ ATPase สามารถบ่งบอกถึงความสมบูรณ์ของโปรตีนกล้ามเนื้อปลา (Roura and Crupkin, 1995) Jiang และคณะ (1991) ใช้ ATPase เป็นตัวชี้วัดความคงตัวของโปรตีนไมโอไฟบริลจากโปรตีนกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำหลังผ่านขั้นตอนการแช่แข็งและการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็ง โดยปกติส่วนหัวของไมโอซินประกอบด้วยกิจกรรมของเอนไซม์ ATPase (E.C.3.6.1.8., ATP pyrophosphohydrolase) ซึ่งมีบทบาทต่อการ

ยืดหดตัวของกล้ามเนื้อ โดยเฉพาะในระยะ postmortem เอนไซม์ ATPase ทำหน้าที่ย่อย ATP (adenosine triphosphate) ส่งผลต่อการเกร็งตัว (Nambudiri and Gopakumar, 1992) กิจกรรมของ $Ca^{2+}$-ATPase เป็นตัวบ่งชี้ถึงความสมบูรณ์ของไมโอซิน โดยการสูญเสียกิจกรรมของ $Ca^{2+}$-ATPase สัมพันธ์กับการเกิดออกซิเดชั่นของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลในไมโอซินบริเวณส่วนหัว (Hamada *et al*., 1977; Jiang *et al*., 1988; Jiang *et al*., 1989) $Mg^{2+}$-$Ca^{2+}$-ATPase และ $Mg^{2+}$-ATPase เป็นตัวบ่งชี้ถึงความสมบูรณ์ของแอกติน-ไมโอซิน ในสภาวะที่มีและไม่มีแคลเซียมอิออนในกล้ามเนื้อตามลำดับ (Ouali and Valin,1981; Watabe *et al*., 1989) การเพิ่มขึ้นของกิจกรรม $Mg^{2+}$-EGTA–ATPase ของแอกโตไมโอซินระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งบ่งชี้ถึงการสูญเสียความสมบูรณ์ของโทรโปไมโอซิน-โทรโปนิน (Benjakul *et al* ., 1997) $Ca^{2+}$-sensitivity เป็นดัชนีบ่งชี้ความสามารถในการควบคุมปริมาณแคลเซียมอิออนของโปรตีนไมโอไฟบริล (Roura and Crupkin, 1995) และขึ้นอยู่กับความสามารถในการจับแคลเซียมอิออนของโทรโปนิน (Ebashi *et al*., 1968) กุ้งที่แช่ฟอสเฟตมีการลดลงของ $Ca^{2+}$-sensitivity ต่ำสุด แสดงว่าฟอสเฟตช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงของโทรโปนินซึ่งทำหน้าที่ควบคุมแคลเซียมอิออน




ภาพที่ 27 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของ $Ca^{2+}$-ATPase (A) $Mg^{2+}$-ATPase (B) $Mg^{2+}$-$Ca^{2+}$-ATPase (C) และ $Mg^{2+}$-EGTA–ATPase (D) ของแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่สกัดจากกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส

Figure 27 Changes in $Ca^{2+}$-ATPase (A), $Mg^{2+}$-ATPase (B), $Mg^{2+}$-$Ca^{2+}$-ATPase (C), and $Mg^{2+}$-EGTA–ATPase (D) of natural actomyosin extracted from black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water, black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl during frozen storage at –18 °C

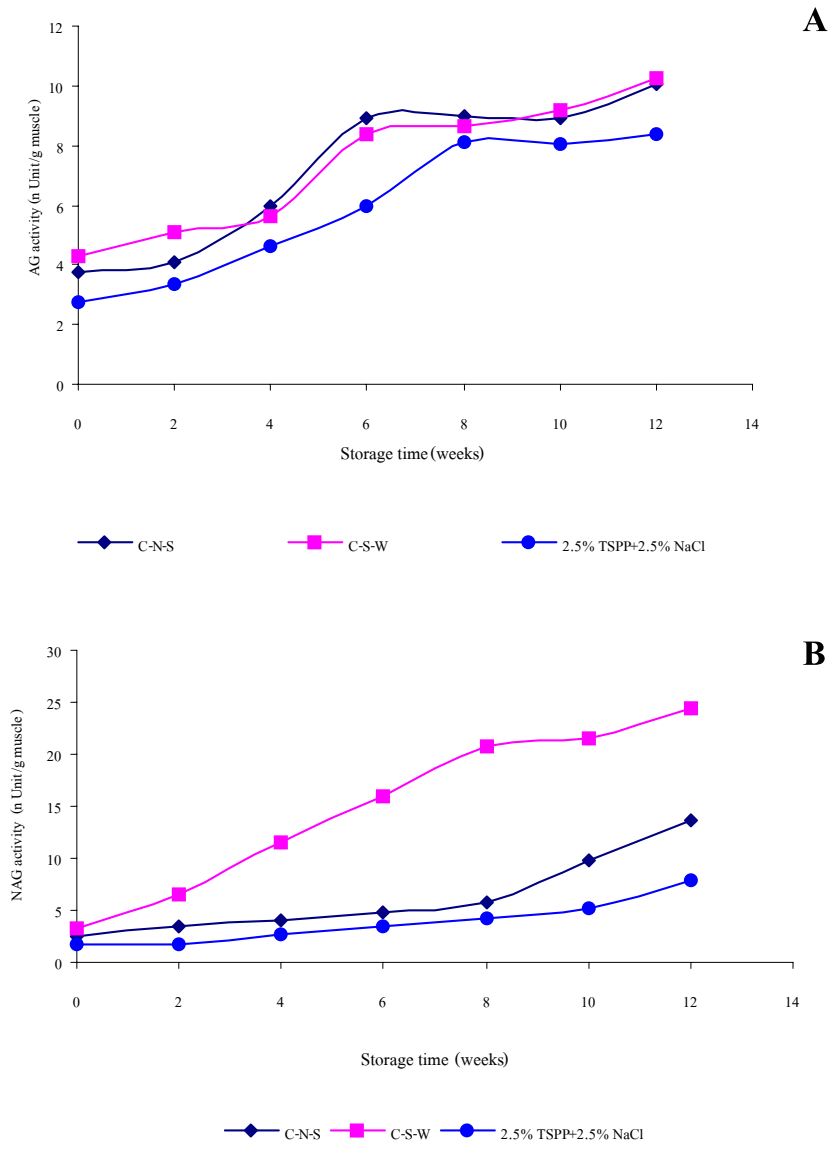



ภาพที่ 28 การเปลี่ยนแปลง $Ca^{2+}$-sensitivity ของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส

Figure 28 Changes in $Ca^{2+}$-sensitivity of natural actomyosin extracted from black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water, black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl during frozen storage at –18 °C

4.1.3 กิจกรรมของ α-glucosidase (AG) และ β-N-acetyl–glucosaminidase (NAG)

เอนไซม์ AG และ NAG ของกุ้งกุลาดำทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้น เมื่อระยะการเก็บรักษานานขึ้น โดย AG เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 6 สัปดาห์แรกของการเก็บรักษา ($p<0.05$) หลังจากนั้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ($p>0.05$) แสดงว่ากล้ามเนื้อถูกทำลายมากขึ้น การใช้ฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ทำให้กิจกรรม AG และ NAG ลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่าการใช้ฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถช่วยป้องกันการทำลายเมมเบรนในระหว่างการเก็บรักษาได้ (ภาพที่ 29) แต่ไม่มีความแตกต่างของ AG ระหว่างชุดควบคุมทั้งสองชุดตลอดช่วงการเก็บรักษา ($p>0.05$) อย่างไรก็ตาม NAG ของชุดควบคุม (แช่น้ำ) เพิ่มขึ้นสูงสุด ($p<0.05$) ขณะที่ชุดควบคุม (ไม่แช่น้ำ) มีค่า NAG แตกต่างจากชุดการทดลองที่แช่ฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์หลังผ่านการเก็บรักษานาน 10 สัปดาห์เป็นต้นไป ($p<0.05$) การรวมตัวและการเกิดผลึกน้ำแข็ง การดึงน้ำออกและการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเส้นใยกล้ามเนื้อ (Shenouda, 1980) เนื่องจากฟอสเฟตอาจมีบทบาทสำคัญในการตรึงโมเลกุลน้ำ ทำให้การเกิดผลึกน้ำแข็งเกิดขึ้นได้ในอัตราที่ช้าลง ส่งผลให้การทำลายเมมเบรนเนื่องจากผลึกน้ำแข็งลดลง การเก็บรักษาในสภาพการแช่เยือกแข็งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเนื้อเยื่อของเซลล์กล้ามเนื้อทำให้เกิดการทำลายออร์แกแนล เช่น ไมโตคอนเดรีย และไลโซโซมส่งผลให้เกิดการปล่อยของเหลวออกจากเซลล์ (Foegeding *et al*., 1996) โดยทั่วไปสามารถใช้เอนไซม์ AG และ NAG เป็นตัวชี้วัดการถูกทำลายของเมมเบรน (Benjakul and Bauer, 2000; Rehbein, 1979)



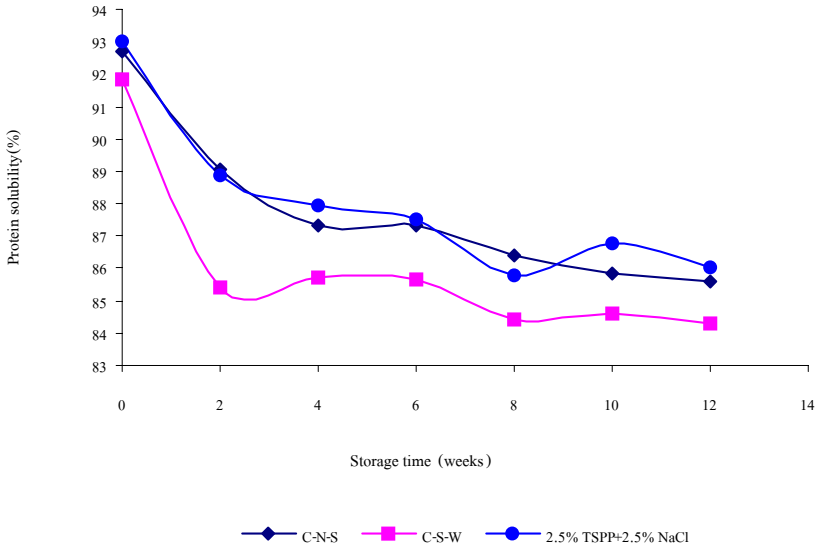

ภาพที่ 29 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ AG (A) และ NAG (B) ในกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส

Figure 29 Changes in AG (A) and NAG (B) activity of black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water, black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl during frozen storage at –18 °C

4.1.4 การละลายของโปรตีนกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ

การละลายของโปรตีนกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำลดลงเมื่อระยะการเก็บรักษานานขึ้น ($p<0.05$) การละลายลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 2 สัปดาห์แรก (ภาพที่ 30) แสดงว่าการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งส่งผลให้การจับตัวของโปรตีนกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น การแช่กุ้งกุลาดำในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ช่วยชะลอการลดลงของการละลายของโปรตีนเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และกุ้งกุลาดำแช่น้ำมีการลดลงของการละลายสูงที่สุดเมื่อเทียบกับกุ้งกุลาดำแช่สารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์และกุ้งกุลาดำไม่ได้แช่น้ำ ($p<0.05$) แสดงว่าฟอสเฟตสามารถชะลอการสูญเสียสภาพของโปรตีน ฟอสเฟตสามารถจับกับโปรตีนทำให้มีผลต่อการเพิ่มจำนวนหมู่ที่มีขั้วบนโปรตีน ลดการจับตัวของโปรตีน นอกจากนี้ฟอสเฟตสามารถทำหน้าที่คล้าย ATP ทำให้แอกโตไมโอซินเกิดการแตกตัวเป็นแอกตินและไมโอซิน ทำให้โปรตีนไมโอไฟบริลสามารถจับน้ำได้มากขึ้น และสามารถขัดขวางการจับตัวของโปรตีน Yoshikawa และคณะ (1995) กล่าวว่าความสามารถในการละลายของโปรตีนในเนื้อปลาที่ผ่านการแช่เยือกแข็งลดลงเป็นผลจากการรวมตัวของโปรตีน ซึ่งมีสาเหตุมาจากการเกิดผลึกน้ำแข็งและความเข้มข้นของเกลือในสารละลายที่ไม่สามารถแข็งตัวได้ การแช่แข็งสามารถลดการละลายของโปรตีนจากปลา carp อย่างช้าๆ แตกต่างจากการใช้ความร้อนซึ่งลดการละลายของโปรตีนอย่างรวดเร็ว (Azuma and Konno, 1998) Jiang และคณะ (1988) กล่าวว่าการละลายของโปรตีนแอกโตไมโอซินจากปลา milkfish ใน 0.6 M KCl ลดลงในระหว่างการเก็บรักษา การละลายของโปรตีนจากปลา tilapia ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 5 วันของการแช่แข็งที่ –20 องศาเซลเซียส และลดลงร้อยละ 73 ในช่วง 15 วัน โดยในระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็ง การสูญเสียสภาพและการจับตัวของโปรตีนจะเริ่มจากการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ รวมทั้งอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก และพันธะไฮโดรเจนทั้งภายในและระหว่างโมเลกุล (Butthus, 1974) Koning และ Mol (1991) กล่าวว่าในระหว่างการเก็บรักษาปลาเฮกแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส ทั้งที่อยู่ในรูปของปลาแล่และปลาบด ปริมาณของโปรตีนที่สกัดได้ลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น โดยที่การเก็บรักษาในรูปปลาแล่นั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่า (Kotakowska, 1992) การใช้สารเคมีเช่นสารประกอบฟอสเฟตช่วยลดการสูญเสียสภาพ

ของโปรตีนในระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็ง เพราะฟอสเฟตสามารถเพิ่มการละลายของโปรตีนบางส่วนทำให้สามารถเพิ่มการอุ้มน้ำ ช่วยรักษาการสูญเสียน้ำได้ (Ellinge, 1972)



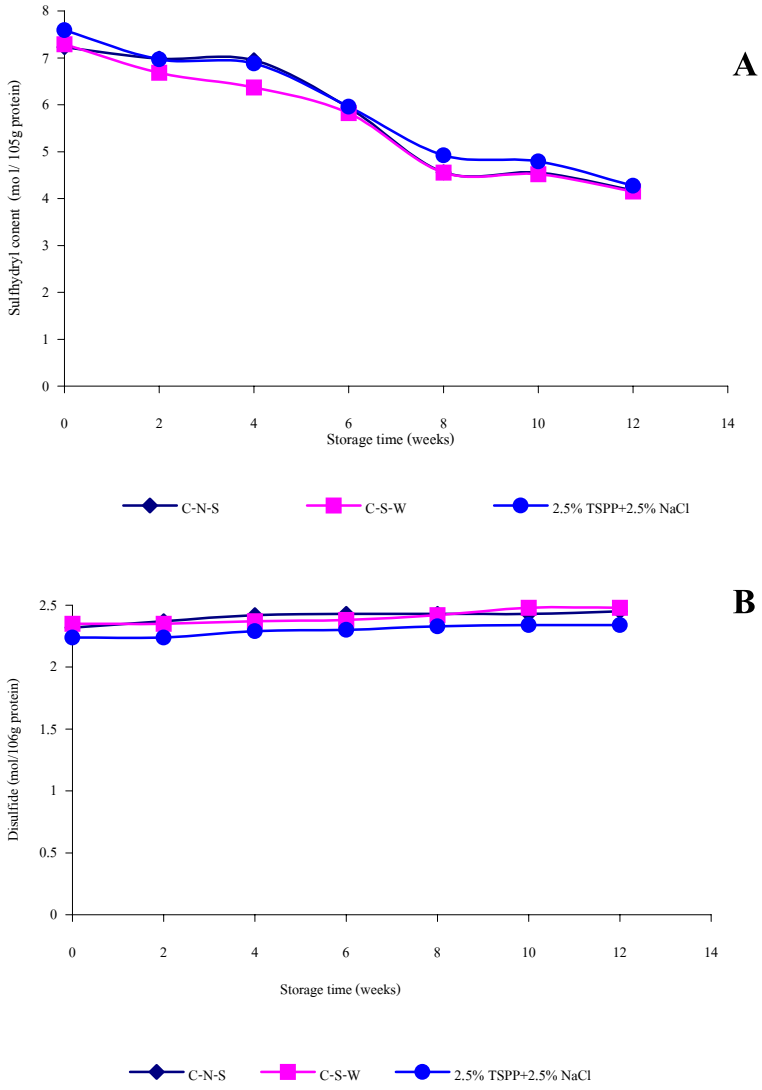

ภาพที่ 30 การเปลี่ยนแปลงการละลายโปรตีนของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 ในระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส

Figure 30 Changes in protein solubility of black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water, black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl during frozen storage at –18 °C

4.1.5 ปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริล และไดซัลไฟด์

ปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่สกัดจากกุ้งกุลาดำลดลงเมื่อระยะการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) (ภาพที่ 31) อย่างไรก็ตามหมู่ซัลฟ์ไฮดริลในตัวอย่างที่แช่ฟอสเฟตสูงกว่าปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริลในชุดควบคุมเล็กน้อย แสดงว่าฟอสเฟตสามารถชะลอการลดลงของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลได้ โดยการลดลงของ

หมู่ซัลฟ์ไฮดริล อาจเกิดจากการเกิดออกซิเดชั่นของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลเกิดเป็นพันธะไดซัลไฟด์ (Hayakawa and Nakai, 1985) โดยทั่วไปการเกิดออกซิเดชั่นของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลเป็นพันธะไดซัลไฟด์สามารถเกิดได้อย่างรวดเร็วในระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็ง หมู่ซัลฟ์ไฮดริลของโปรตีนแอกโตไมโอซินจากปลา milk fish เก็บรักษาที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส มีปริมาณลดลงมากกว่าเก็บรักษาที่ –35 องศาเซลเซียส (Jiang *et al*., 1988) Ramirez และคณะ (2000) พบว่าหมู่ซัลฟ์ไฮดริลจากปลา tilapia ลดลงในระหว่างการเก็บรักษาที่ –20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน โดยลดลงร้อยละ 33 การลดลงของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลสัมพันธ์กับการสูญเสียคุณภาพของโปรตีนระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็ง นอกจากนี้ฟอสเฟตสามารถลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น จากความสามารถในการจับตัวกับอิออนโลหะบางชนิด เช่นเหล็กและทองแดง (Kumazawa *et al*., 1990) ส่งผลให้ปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลที่เหนี่ยวนำจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นต่างๆ ลดลง จากการทดลองพบว่าปริมาณไดซัลไฟด์ของแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่สกัดจากกุ้งกุลาดำเพิ่มขึ้น เมื่อระยะการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 31) ปริมาณไดซัลไฟด์ต่ำสุดในกุ้งกุลาดำที่แช่สารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ ($p<0.05$) แสดงว่าฟอสเฟตช่วยชะลอการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำได้ ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลที่ต่ำสุดของชุดการทดลองนี้ ปริมาณไดซัลไฟด์ที่เพิ่มขึ้นเกิดจากการเกิดออกซิเดชั่นของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลที่บริเวณหัวของไมโอซิน รวมทั้งที่บริเวณเมอโรไมโอซินเบาของแอกโตไมโอซินในระหว่างการแช่เย็นและการแช่แข็ง (Sompongse *et al*., 1996) โดยทั่วไปปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิสูงมากกว่าอุณหภูมิต่ำ (Jiang *et al*., 1988; Jiang *et al*., 1989) พันธะไดซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นมีผลให้การจับตัวของโปรตีนเพิ่มขึ้น และโปรตีนเกิดการสูญเสียคุณสมบัติการละลายเพิ่มขึ้น

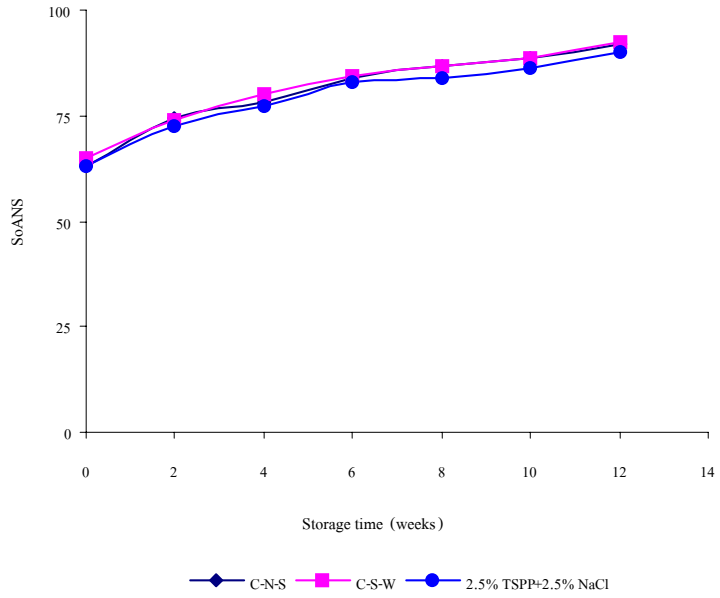



ภาพที่ 31 การเปลี่ยนแปลงหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (A) และปริมาณไดซัลไฟด์ (B) ของแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่สกัดจากกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส

Figure 31 Changes in sulfhydryl group (A) and disulfide content (B) in natural actomyosin extracted from black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water, black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl during frozen storage at –18 °C

4.1.6 ไฮโดรโฟบิซิตี้บริเวณพื้นผิว

ไฮโดรโฟบิซิตี้บริเวณพื้นผิวของแอกโตไมโอซินธรรมชาติของกุ้งกุลาดำทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างกุ้งกุลาดำที่ไม่แช่น้ำ แช่น้ำ และแช่ในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ ($p>0.05$) การเพิ่มขึ้นของไฮโดรโฟบิซิตี้บริเวณพื้นผิวอาจเกิดจากการคลายตัวของโปรตีน ทำให้หมู่ไฮโดรโฟบิกเปิดตัวมาอยู่ที่พื้นผิวของโมเลกุลของโปรตีนที่คลายตัวมากขึ้น การสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งมีผลให้ไฮโดรโฟบิซิตี้บริเวณพื้นผิวเพิ่มมากขึ้น เป็นสาเหตุให้เกิดการจับตัวกันรวมทั้งสูญเสียน้ำ และมีผลให้กล้ามเนื้อเหนียวเพิ่มขึ้น (Lablanc, 1992) หมู่ไม่ชอบน้ำบนผิวหน้าของโปรตีนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการละลายของโปรตีนลดต่ำลง (Kussi *et al*., 1975) Del Mazo และคณะ (1994) พบว่าไฮโดรโฟบิซิตี้ของแอกโตไมโอซินจากปลา hake เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็ง โดยการเปลี่ยนแปลงขึ้นกับความสมดุลย์ระหว่างการสูญเสียสภาพและการจับตัวกันของโปรตีน (Careche and Li–chan, 1997) การเกิดออกซิเดชั่นของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลเป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อไฮโดรโฟบิซิตี้ (Hill *et al*., 1982) ดังนั้นการเก็บรักษาในสภาพแช่เยือกแข็งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน ซึ่งบ่งชี้จากการเพิ่มของไฮโดรโปบิซิตี้ นำมาสู่การสูญเสียคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน (Benjakul and Bauer, 2000) ลดคุณสมบัติการอุ้มน้ำ ลดความสามารถในการเกิดเจล และลดผลผลิตภายหลังผ่านกระบวนการแปรรูปและเก็บรักษา



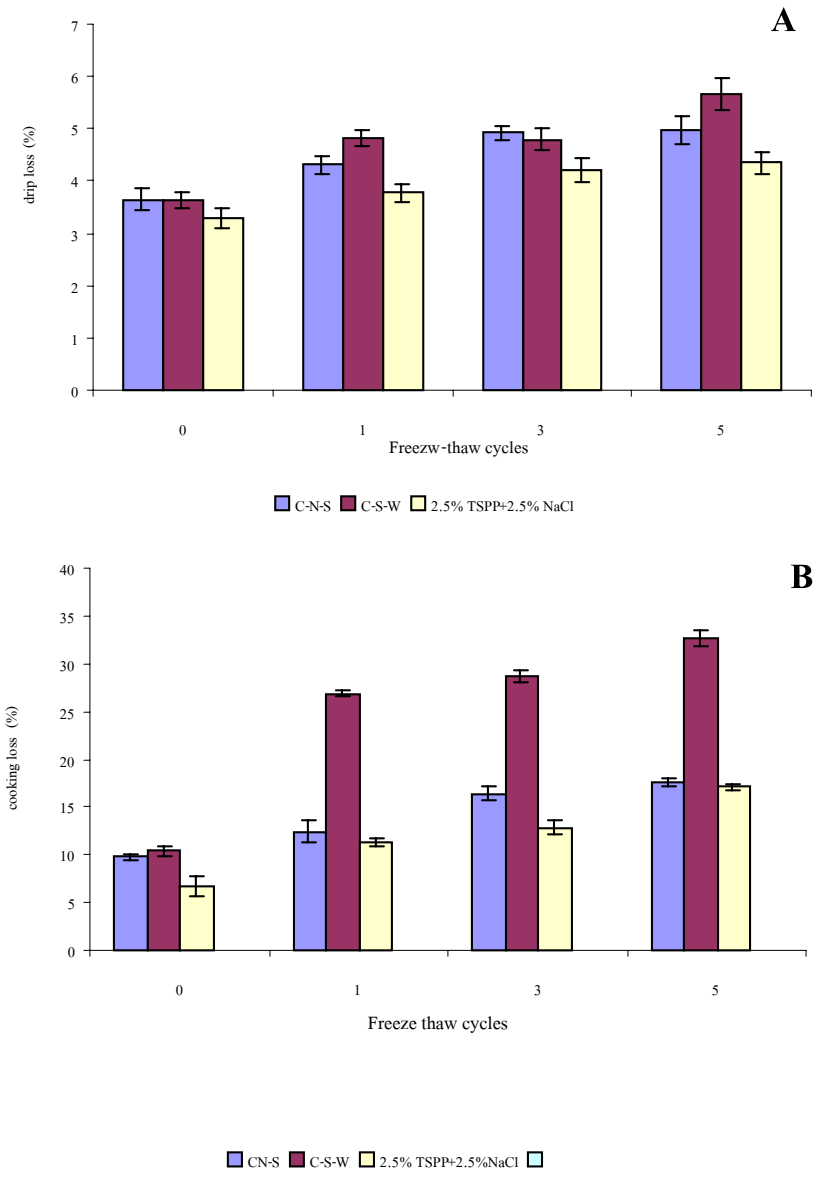

ภาพที่ 32 การเปลี่ยนแปลงไฮโดรโฟบิซิตี้ของแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่สกัดจากกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส

Figure 32 Changes in surface hydrophobicity in natural actomyosin extracted from black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water, black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl during frozen storage at –18 °C

4.2 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการแช่แข็ง-ทำละลาย

4.2.1 drip loss และ cooking loss

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า drip loss และ cooking loss ของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำชุดการทดลองต่างๆ ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลาย พบว่าจำนวนรอบการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่า drip loss และ cooking loss เพิ่มสูงขึ้น (ภาพที่ 33 ) เช่นเดียวกับการทดลองของ Srinivasan และคณะ (1997a) ซึ่งศึกษาผลของการแช่แข็ง-ทำละลายต่อค่าน้ำหนักที่สูญเสียภายหลังการให้ความร้อนของกล้ามเนื้อกุ้ง juvenile (*Machrobrachium rosenberjii*) พบว่าน้ำหนักที่สูญเสียภายหลังการให้ความร้อนของกล้ามเนื้อกุ้ง เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 11.7 เป็นร้อยละ 15.2-17.8 หลังผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายด้วยจำนวนรอบ 1-5 รอบ จากการทดลองกุ้งกุลาดำที่แช่ในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถลดการสูญเสียผลผลิตในระหว่างการแช่แข็ง–ทำละลายได้ (ภาพที่ 33) โดยมีค่า drip loss และ cooking loss ต่ำสุดเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างกุ้งกุลาดำชุดการทดลองต่างๆ ก่อนการแช่แข็ง-ทำละลาย ($p>0.05$) แสดงว่าฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถช่วยชะลอการสูญเสียน้ำหนักหลังจากผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายได้ เนื่องจากฟอสเฟตสามารถละลายโปรตีนบางส่วน เพิ่มความแรงของประจุ และสามารถจับตัวกับโปรตีน รวมทั้งสามารถทำให้โปรตีนจับน้ำได้มากขึ้น เกิดการแตกตัวของแอกโตไมโอซินของกล้ามเนื้อ ส่งผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการอุ้มน้ำ (Woyewoda and Bligh, 1986) จากการทดลองพบว่าชุดการทดลองที่แช่น้ำมีปริมาณ cooking loss สูงสุด ในแต่ละชุดการทดลองมีค่า cooking loss แตกต่างกัน ($p<0.05$) และค่า cooking loss จะเพิ่มอย่างรวดเร็วหลังผ่านการแช่แข็ง-ทำละลาย จำนวน 1-5 รอบ ($p<0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากน้ำที่แทรกเข้าไปในกล้ามเนื้อสามารถเกิดเป็นผลึกน้ำแข็งจำนวนมาก และมีผลให้เซลล์กล้ามเนื้อแตก ทำลายเนื้อเยื่อต่างๆ ได้เพิ่มขึ้น เมื่อนำกล้ามเนื้อมาให้ความร้อนจึงมีผลต่อการสูญเสียน้ำจากกล้ามเนื้อเป็นปริมาณสูง ดังนั้นจำนวนรอบการแช่แข็ง-ทำละลายมีผลต่อน้ำหนักของกุ้งดิบและสุก ส่งผลต่อการลดลงของผลผลิตทั้งในสภาพดิบและสุก อย่างไรก็ตามการแช่กุ้งกุลาดำในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถเพิ่มผลผลิตของกุ้งกุลาดำทั้งในสภาพกุ้งดิบและกุ้งสุกได้อย่างมีประสิทธิภาพ



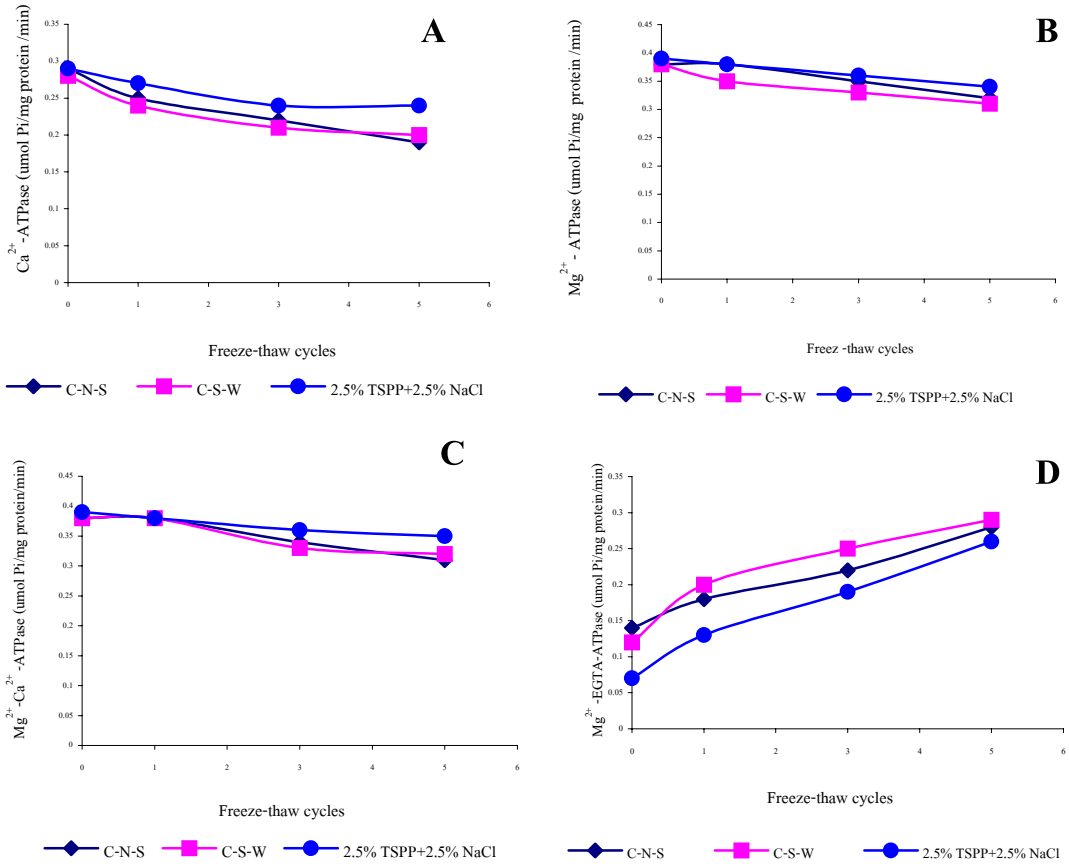

ภาพที่ 33 การเปลี่ยนแปลง drip loss (A) และ cooking loss (B) ของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 หลังจากผ่านการแช่แข็ง-ทำละลาย จำนวนรอบต่างๆ

Figure 33 Changes in drip loss (A) and cooking loss (B) of black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water, black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl subjected to different freeze-thaw cycles

4.2.2 กิจกรรมของ ATPase

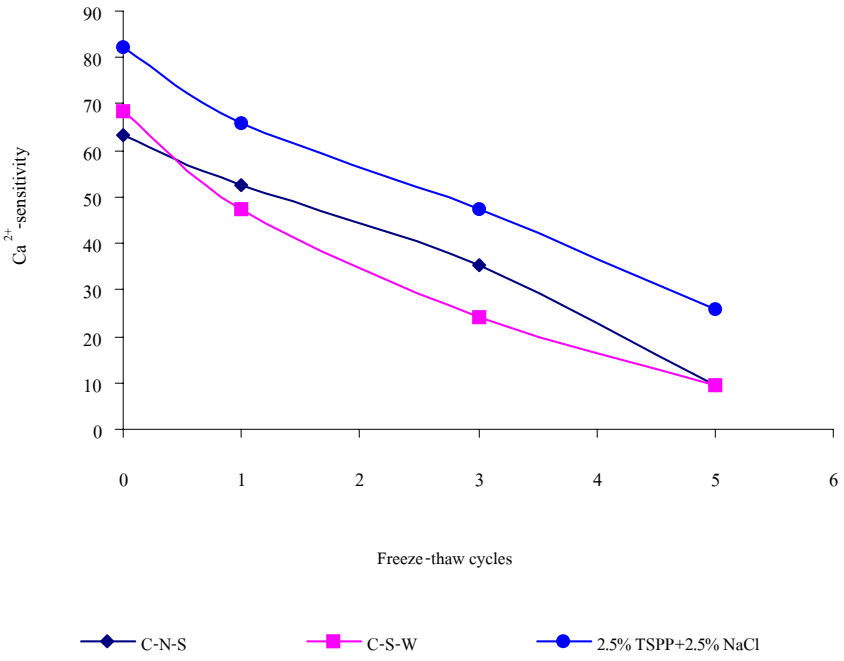
กิจกรรมของ $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$ และ $Mg^{2+}$-$Ca^{2+}$-ATPase มีแนวโน้มลดลงเมื่อจำนวนรอบการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น ซึ่งบ่งชี้ว่าไมโอซินและแอกโตไมโอซินมีการสูญเสียสภาพธรรมชาติเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนรอบของการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น $Ca^{2+}$ และ $Mg^{2+}$-$Ca^{2+}$-ATPase ลดลงเมื่อผ่านการแช่แข็ง-ทำละลาย จำนวน 3 รอบ ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างของ $Mg^{2+}$-ATPase ($p>0.05$) และการแช่กุ้งกุลาดำในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีแนวโน้มชะลอการลดลงของกิจกรรมทั้งหมด อย่างไรก็ตามกิจกรรมของ $Mg^{2+}$-EGTA-ATPase เพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนรอบการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) สอดคล้องกับค่า $Ca^{2+}$-sensitivity ซึ่งลดลงเมื่อจำนวนรอบการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) จากการทดลองพบว่าการแช่กุ้งในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของ $Mg^{2+}$-EGTA-ATPase เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ($p<0.05$) โดยกุ้งแช่สารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มี กิจกรรม $Mg^{2+}$-EGTA-ATPase ที่เพิ่มขึ้นน้อยกว่าชุดควบคุม (ภาพที่ 34) รวมทั้งมี $Ca^{2+}$-sensitivity ที่สูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ (ภาพที่ 34) Benjakul และ Bauer (2000) กล่าวว่าจำนวนรอบของการแช่แข็ง-ทำละลายมีผลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมี-กายภาพ และเอนไซม์ของโปรตีนกล้ามเนื้อปลาคอด โดยเมื่อจำนวนรอบการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น มีผลต่อการสูญเสียกิจกรรมของ $Ca^{2+}$-ATPase และ $Mg^{2+}$-$Ca^{2+}$-ATPase เพิ่มขึ้น ขณะที่กิจกรรม $Mg^{2+}$-EGTA-ATPase เพิ่มขึ้น

ดังนั้นการแช่กุ้งกุลาดำในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ จึงมีผลต่อการลดหรือชะลอการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนกล้ามเนื้อที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลาย โดยฟอสเฟตอาจมีผลช่วยในการจับน้ำของโมเลกุลของโปรตีนให้เพิ่มขึ้น ทำให้การเคลื่อนตัวของโมเลกุลของน้ำออกจากโปรตีนเพื่อเกิดผลึกน้ำแข็งเกิดได้ช้าหรือลดน้อยลง ส่งผลให้โมเลกุลโปรตีนยังคงมีน้ำอยู่ในโมเลกุล ทำให้การจับตัวของโปรตีนลดลง




ภาพที่ 34 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของ $Ca^{2+}$-ATPase (A) $Mg^{2+}$-ATPase (B) $Mg^{2+}$-$Ca^{2+}$-ATPase (C) และ $Mg^{2+}$-EGTA–ATPase (D) ของแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่สกัดจากกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 หลังจากผ่านการแช่แข็ง-ทำละลาย จำนวนรอบต่างๆ

Figure 34 Changes in $Ca^{2+}$-ATPase (A), $Mg^{2+}$-ATPase (B), $Mg^{2+}$-$Ca^{2+}$-ATPase (C), and $Mg^{2+}$-EGTA–ATPase (D) of natural actomyosin extracted from black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water, black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl subjected to different freeze-thaw cycles



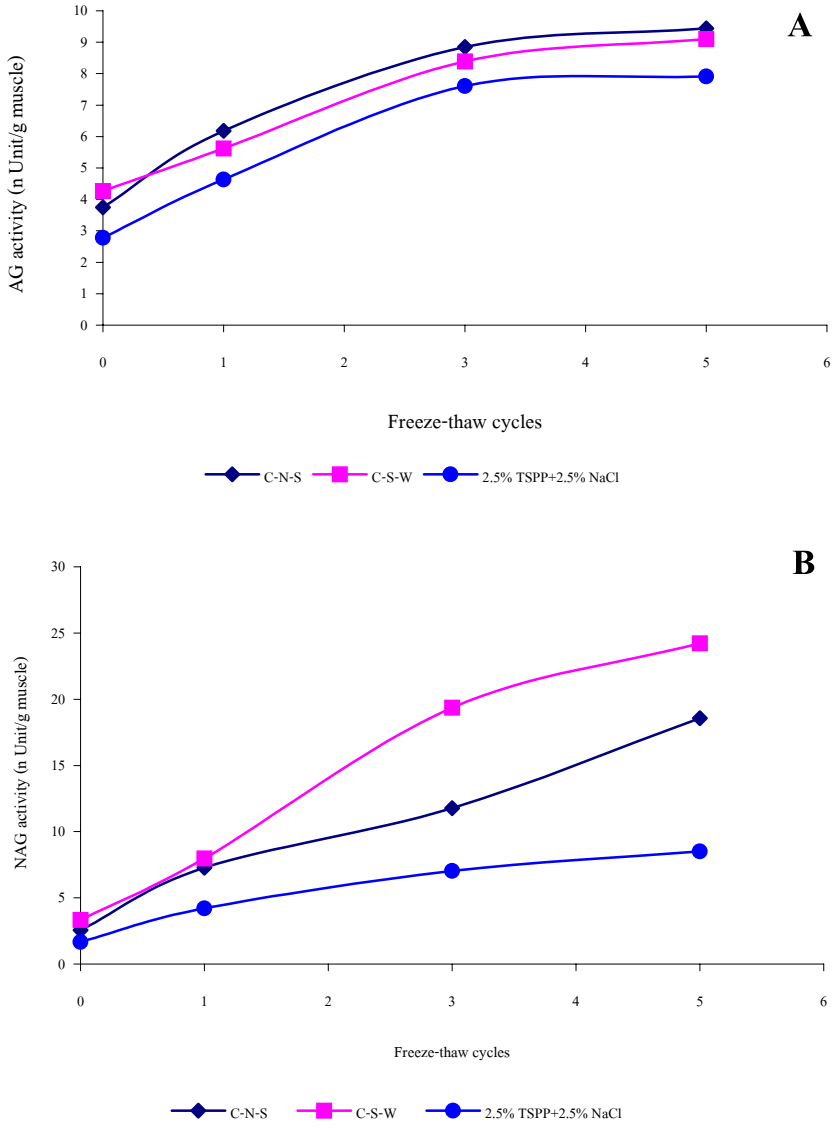

ภาพที่ 35 การเปลี่ยนแปลง $Ca^{2+}$-sensitivity ของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 หลังจากผ่านการแช่แข็ง-ทำละลาย จำนวนรอบต่างๆ

Figure 35 Changes in $Ca^{2+}$-sensitivity of natural actomyosin extracted from black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water, black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl subjected to different freeze-thaw cycles

4.2.3 กิจกรรมของ α-glucosidase (AG) และ β-N-acetyl-glucosaminidase (NAG)

จากการทดลองพบว่ากิจกรรมของ AG และ NAG เพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนรอบการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) (ภาพที่ 36) และการแช่กุ้งในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นน้อยกว่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ($p<0.05$) แสดงว่าฟอสเฟตสามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของ AG และ NAG ได้เมื่อจำนวนรอบการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้นบ่งชี้ถึงการลดและชะลอการทำลายของเมมเบรนในกล้ามเนื้อเนื่องจากการแช่แข็ง-ทำละลาย สารประกอบฟอสเฟตและโซเดียม

คลอไรด์อาจมีผลเพิ่มการจับโมเลกุลของน้ำไว้ในโครงสร้างกล้ามเนื้อ โดยเฉพาะการจับน้ำของโปรตีนกล้ามเนื้อทำให้การเกิดเป็นผลึกของน้ำแข็งลดลง ส่งผลให้การทำลายโครงสร้างเมมเบรนลดลง การปลดปล่อยเอนไซม์ AG และ NAG จึงลดลง Benjakul และBauer (2000) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ AG และ NAG ของปลาคอดเพิ่มขึ้น เมื่อจำนวนรอบของการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น แสดงถึงการทำลายโครงสร้างเมมเบรนที่เพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนรอบของการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น (Shimomura *et al*., 1987) กิจกรรมของเอนไซม์ AG และ NAG ในเนื้อปลาคอดเพิ่มขึ้นหลังผ่านกระบวนการแช่แข็ง-ทำละลาย (Rehbein *et al*., 1978) AG และ NAG ในของเหลวจากเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle tissue fluids) ซึ่งในสภาพปกติเอนไซม์จะอยู่ภายในออร์กาแนล เมื่อมีการรั่วไหลแสดงถึงการถูกทำลายของเมมเบรน Nilsson และ Ekstrand (1993) พบว่า กิจกรรมของ AG และ NAG เพิ่มขึ้น เมื่อทำการแช่แข็ง-ทำละลายปลา rainbow trout เป็นจำนวนครั้งที่เพิ่มขึ้น และกิจกรรมของเอนไซม์ขึ้นกับวิธีการทำละลาย โดยการทำละลายอย่างช้าๆ (บรรยากาศ / 5องศาเซลเซียส) ทำให้กิจกรรมของ NAG สูงขึ้น และสูงกว่าการทำละลายอย่างรวดเร็ว (น้ำ / 25 องศาเซลเซียส) ภายหลังการเก็บรักษานาน 3 เดือน กิจกรรมของ NAG ของปลา rainbow trout ที่เก็บที่ – 18 องศาเซลเซียสสูงกว่าปลาที่เก็บที่ –40 องศาเซลเซียส ดังนั้นการทำละลายอย่างรวดเร็วและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำสามารถลดการทำลายเนื้อเยื่อเมื่อเทียบกับการทำละลายอย่างช้าและเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง (Nilsson and Ekstrand, 1995)

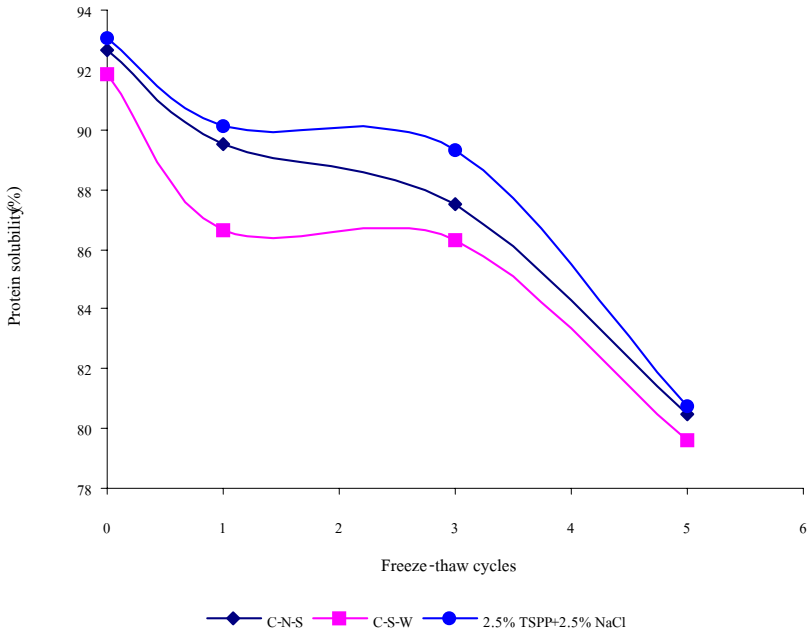



ภาพที่ 36 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ AG (A) และ NAG (B) ในกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 หลังจากผ่านการแช่แข็ง-ทำละลาย จำนวนรอบต่างๆ

Figure 36 Changes in AG (A) and NAG (B) activity of black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water, black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl subjected to different freeze-thaw cycles

4.2.4 การละลายของโปรตีนกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ

จากการศึกษาผลการแช่แข็ง-ทำละลายต่อการละลายของโปรตีนในกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำที่แช่ในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ พบว่าการละลายลดลงเมื่อจำนวนรอบการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 37) โดยการละลายลดลงเล็กน้อยหลังผ่านการแช่แข็ง-ทำลาย จำนวน 3 รอบ แต่ลดลงอย่างรวดเร็วในรอบที่ 5 ($p<0.05$) กุ้งที่ผ่านการแช่ในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถลดการสูญเสียการละลายของโปรตีนได้เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ($p<0.05$) การแช่แข็ง-ทำละลายเหนี่ยวนำให้เกิดการสูญเสียสภาพของโปรตีนโดยทำให้การละลายของโปรตีนลดลง อันเกิดจากการจับรวมตัวของโปรตีนโดยพันธะไดซัลไฟด์ พันธะไฮโดรเจน และพันธะไฮโดรโฟบิก โดยพันธะเหล่านี้เป็นปัจจัยหลักในการทำให้เกิดการสูญเสียการละลายของโปรตีน (Benjakul and Bauer, 2000) พันธะไดซัลไฟด์ส่งผลต่อการลดการละลายโปรตีนในเนื้อปลา halibut บด ระหว่างการเก็บรักษาในสภาวะแช่แข็ง (Lim and Haad, 1984) การละลายของโปรตีนลดลงร้อยละ 20 และ 90 หลังการเก็บรักษาในสภาวะแช่แข็งนาน 2 และ 7 วัน ตามลำดับ (Careche and Li-chan, 1997) จากการทดลอง พบว่ากุ้งกุลาดำที่แช่น้ำมีการสูญเสียการละลายของโปรตีนสูงสุดเมื่อผ่านการแช่แข็ง-ทำละลาย ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณน้ำในกล้ามเนื้อที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีผลึกน้ำแข็งปริมาณมาก ซึ่งส่งผลต่อการทำลายเซลล์กล้ามเนื้อ รวมทั้งส่งผลให้การจับตัวของโปรตีนในเฟสที่ไม่แข็งตัวเพิ่มขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับการละลายที่ลดลงอย่างเด่นชัดในชุดการทดลองนี้ สารประกอบฟอสเฟตช่วยเพิ่มการละลายของโปรตีนจากกล้ามเนื้อปลาคอดในระหว่างการเก็บรักษาได้ ส่งผลต่อคุณสมบัติการอุ้มน้ำเพิ่มขึ้น (Chang and Regenstein, 1997) นอกจากนี้สารประกอบฟอสเฟตสามารถชะลอการลดลงของคุณสมบัติการละลายของโปรตีนหลังผ่านการแช่แข็ง-ทำละลาย อันเป็นผลจากการเพิ่มค่าพีเอช ทำให้การละลายเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการทดลองของ Xiong (1992) ซึ่งพบว่าพีเอชของเนื้อไก่เพิ่มขึ้นส่งผลให้การละลายของโปรตีนเพิ่มขึ้น ดังนั้นการแช่กุ้งกุลาดำในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ จึงลดการสูญเสียการละลายของโปรตีน ซึ่งบ่งชี้การชะลอการจับตัวของโปรตีนที่เหนี่ยวนำด้วยกระบวนการแช่แข็ง-ทำละลาย



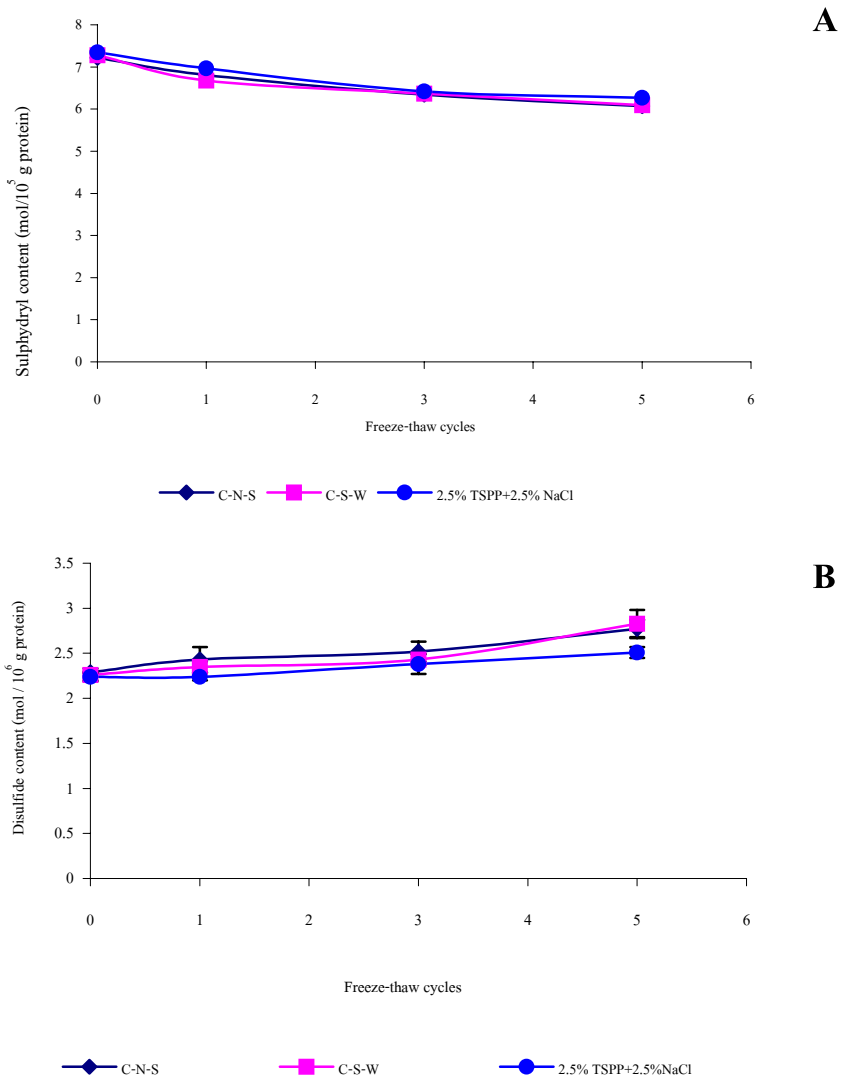

ภาพที่ 37 การเปลี่ยนแปลงการละลายโปรตีนของกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 หลังจากผ่านการแช่แข็ง-ทำละลาย จำนวนรอบต่างๆ

Figure 37 Changes in protein solubility of black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water, black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl subjected to different freeze-thaw cycles

4.2.5 ปริมาณหมู่ซัลฟ์ไฮดริล และไดซัลไฟด์

เมื่อจำนวนรอบการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น ปริมาณซัลฟ์ไฮดริลลดลงในอัตราที่เพิ่มขึ้น ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลระหว่างตัวอย่างที่ผ่านการแช่ฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ และชุดควบคุม ($p>0.05$) การลดลงของหมู่ซัลฟ์ไฮดริลอาจเกิดจากการเกิดพันธะไดซัลไฟด์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของหมู่ซัลฟ์ไฮดริล ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของพันธะไดซัลไฟด์ (ภาพที่ 38) ดังนั้นกระบวนการแช่แข็ง-ทำละลายมีผลเร่งให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์ ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของการละลาย (ภาพที่ 37) Benjakul และ Bauer (2000) รายงานว่า หมู่ซัลฟ์ไฮดริลของแอกโตไมโอซิน

ธรรมชาติสกัดจากกล้ามเนื้อปลาคอดลดลง เมื่อจำนวนรอบการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น จากการทดลองเมื่อจำนวนรอบของการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์เพิ่มขึ้น ชุดการทดลองที่แช่สารประกอบฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีแนวโน้มมีพันธะไดซัลไฟด์ต่ำกว่าชุดการทดลองอื่นเมื่อผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายจำนวน 5 รอบ ($p<0.05$) และเมื่อจำนวนรอบการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้นพันธะไดซัลไฟด์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) Srinivasan และคณะ (1997b) กล่าวว่า วิธีการแช่แข็ง และวิธีการทำละลายที่แตกต่างกันมีผลทำให้โปรตีนในเนื้อกุ้งสูญเสียสภาพธรรมชาติแตกต่างกัน โดยการแช่แข็ง-ทำละลายอย่างรวดเร็วโดยใช้ไมโครเวฟทำให้โปรตีนสูญเสียสภาพได้มากกว่าการทำละลายด้วยวิธีปานกลางคือการใช้น้ำไหลผ่าน อย่างไรก็ตามฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถชะลอการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ซึ่งสัมพันธ์กับการชะลอการลดลงของกิจกรรมของ $Ca^{2+}$-ATPase รวมทั้ง $Mg^{2+}$-ATPase และ $Mg^{2+}$-$Ca^{2+}$-ATPase (ภาพที่ 34)

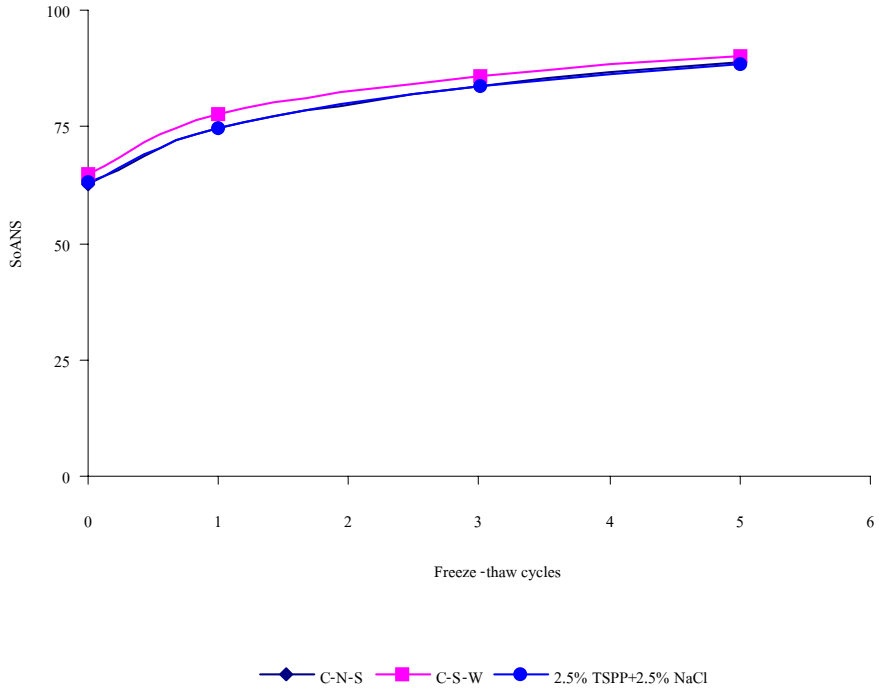



ภาพที่ 38 การเปลี่ยนแปลงหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (A) และปริมาณไดซัลไฟด์ (B) ของแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่สกัดจากกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 หลังจากผ่านการแช่แข็ง-ทำละลาย จำนวนรอบต่างๆ

Figure 38 Changes in sulphydryl group (A) and disulfide content (B) in natural actomyosin extracted from black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water, black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl subjected to different freeze-thaw cycles

4.2.6 ไฮโดรโฟบิซิตี้บริเวณพื้นผิว

จากการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างของไฮโดรโฟบิซิตี้บริเวณพื้นผิวระหว่างกุ้งกุลาดำที่ผ่านการแช่ และไม่แช่สารประกอบฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ ($p.>0.05$) (ภาพที่ 39) แต่ไฮโดรโฟบิซิตี้เพิ่มขึ้นหลังผ่านการแช่แข็ง-ทำละลาย ($p<0.05$) แสดงว่าการแช่แข็ง-ทำละลายทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีน ส่งผลให้การเปิดหมู่ไฮโดรโฟบิกออกมาบริเวณพื้นผิวเพิ่มขึ้น ส่งผลให้การจับตัวของโปรตีนโดยอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกเพิ่มขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับการละลายที่ลดลงเมื่อจำนวนรอบของการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น โดยทั่วไปการสูญเสียสภาพธรรมชาติและการจับตัวของโปรตีนเริ่มเกิดจากการรวมตัวของโปรตีนโดยพันธะไดซัลไฟด์และทำให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก และพันธะไฮโดรเจนทั้งภายในและระหว่างโมเลกุล ดังนั้นเมื่อจำนวนรอบการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอกโตไมโอซิน ส่งผลต่อการปลดปล่อยโมเลกุลด้านในออกมา ทำให้ไฮโดรโฟบิซิตี้เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อจำนวนรอบการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้นค่าไฮโดรโฟบิซิตี้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งบ่งชี้การจับตัวของโปรตีนโดยอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก Benjakul และ Bauer (2000) พบว่าไฮโดรโฟบิซิตี้ในปลาคอดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อจำนวนรอบการแช่แข็ง-ทำละลายเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ไฮโดรโฟบิซิตี้ของแอกโตไมโอซินจากปลา hake ค่อยๆ เพิ่มขึ้นหลังผ่านการแช่แข็งและเก็บรักษาในสภาพแช่แข็ง (Del Mazo *et al*., 1994) ดังนั้นการแช่แข็ง-ทำละลายทำให้โครงสร้างโปรตีนเปลี่ยนแปลงโดยไฮโดรโฟบิซิตี้สูงขึ้น ส่งผลต่อการเกิดพันธะโควาเลนท์และการลดลงของการละลาย (Careche and Li-chan, 1997) อย่างไรก็ตามการแช่กุ้งกุลาดำในสารละลายฟอสเฟตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อการลดการเปลี่ยนแปลงไฮโดรโฟบิซิตี้ของโปรตีนอันเป็นผลจากกระบวนการแช่แข็ง-ทำละลาย




ภาพที่ 39 การเปลี่ยนแปลงไฮโดรโฟบิซิตี้ของแอกโตไมโอซินธรรมชาติที่สกัดจากกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำแช่น้ำ และกุ้งกุลาดำแช่สารละลายฟอสเฟตร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 2.5 หลังจากผ่านการแช่แข็ง-ทำละลาย จำนวนรอบต่างๆ

Figure 39 Changes in surface hydrophobicity in natural actomyosin extracted from black tiger prawn, black tiger prawn soaked in water, black tiger prawn soaked in 2.5% TSPP and 2.5% NaCl subjected to different freeze-thaw cycles