รายงานการวิจัย

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดเจลกุ้งขาวด้วยความร้อน

Study of Optimized Conditions of Heat Setting Gel from Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

ธิติมา พานิชย์

ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์

รายงานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากกองทุนวิจัย

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

พ.ศ. 2557

ชื่องานวิจัย การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดเจลกุ้งขาวด้วยความร้อน

ผู้วิจัย ดร.ธิติมา พานิชย์

ผศ.ดร.ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์

ปี 2560

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของการเตรียมตัวอย่างกุ้งต่อความสามารถในการเกิดเจลกุ้งขาวด้วยความร้อน ทำการศึกษาโดยการเตรียมกุ้งขาวด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน คือ แบบผ่าหลัง และไม่ผ่าหลัง นำกุ้งมาสับผสมกับเกลือเข้มข้นร้อยละ 2.5 ทำการอัดลงในไส้เทียมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร แล้วนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที พบว่า เจลที่ได้จะมีสีส้มอมชมพู ทั้งนี้เจลที่เตรียมจากกุ้งที่ไม่ได้ผ่าหลังมีค่า L* ต่ำกว่า เจลกุ้งที่เตรียมจากกุ้งที่ผ่าหลัง ($p<0.05$) ในขณะที่ค่า a* และ b* มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p\geq0.05$) เมื่อทำการตรวจสอบค่าการสูญเสียน้ำหนัก และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ พบว่าเจลกุ้งขาวที่ไม่ได้ผ่าหลังมีค่าการสูญเสียน้ำหนักสูงกว่า และมีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำกว่าเจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ไม่ได้ผ่าหลัง ($p<0.05$) ส่วนค่าแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ไม่ได้ผ่าหลังมีค่าต่ำกว่าเจลกุ้งที่เตรียมจากกุ้งที่ผ่าหลัง ($p<0.05$) อันเป็นผลมาจากกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่มีปริมาณสูงกว่าเจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังเอาเส้นดำออก ($p<0.05$) จากการตรวจสอบโครงสร้างทางจุลภาค พบว่าเจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังมีโครงข่ายที่ไม่แน่นทึบ และมีเส้นใยโปรตีนที่ไม่ต่อเนื่อง ดังนั้นการผ่าหลังเพื่อดึงเส้นดำออกจึงเป็นวิธีการเตรียมตัวอย่างกุ้งที่เหมาะสมในการเตรียมเจลกุ้ง เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่อความสามารถในการเกิดเจลของกุ้งขาว โดยศึกษาการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80, 85 และ 90 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการให้ความร้อนนาน 5, 10 และ 15 นาที พบว่าเจลกุ้งในทุกชุดการทดลองมีค่าสี (L*, a* และ b*) และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำใกล้เคียงกัน จากการศึกษารูปแบบโปรตีนโดยใช้ SDS-PAGE พบว่า การให้ความร้อนที่ระดับ 85 องศาเซลเซียส ขึ้นไปทำให้ไมโอซินเส้นหนัก (MHC) เกิดการรวมตัวของพันธะไดซัลไฟด์ได้มากกว่า 80 องศาเซลเซียส โดยเจลที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มีค่าความแข็งแรงของเจลสูงสุด และมีค่าการสูญเสียน้ำหนักต่ำ อันเป็นผลมาจากเจลมีโครงข่ายที่มีลักษณะแน่นทึบ

Research Title	Study of Optimized Conditions of Heat Setting Gel from Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)
Researcher	Dr. Thitima Panich Asst. Prof. Dr. Kongkarn Kijroongrojana
Faculty	Agricultural Technology
Year	2017

Abstract

The effect of shrimp preparation on gel forming ability of heat setting gel from Whiteleg shrimp was studied. Preparation methods of shrimp were compared between deveining and without deveining. Shrimp gels were prepared by mixing mince shrimp with 2.5 % NaCl, stuffing in casing (diameter 1.5 cm.) and heating at 85 $^{\circ}$C for 5 min. All shrimp gels were orange-pink. L* value of shrimp gels without deveining were higher than deveined gel ($p<0.05$). However, there were not significantly different in a* and b* values. ($p\geq0.05$). Shrimp gels without deveining had higher weight loss and lower water holding capacity than deveined gel ($p<0.05$). Breaking force and deformation of shrimp gels without deveining were lower than the deveined one ($p<0.05$) due to higher activities in autolysis. SEM images showed shrimp gels without deveining had loose network with discontinuous protein strand. Therefore, the deveining procedure was appropriate method for shrimp gel preparation. The effect of setting temperature and time on gel forming ability was also investigated. Heated shrimp gels at 80, 85 and 90 $^{\circ}$C for 5, 10 and 15 min were performed. There were similar in L*, a*, b* values and water holding capacity. SDS-PAGE revealed that heated sample more than 85 $^{\circ}$C induced the formation of disulfide bond more than heated gel at 80 $^{\circ}$C. The highest gel strength was found in heated gel at 90 $^{\circ}$C for 10 min which had low in weight loss and contained the ordered and dense network with continuous protein strand.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณกองทุนสนับสนุนการวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาที่สนับสนุนเงินทุนสนับสนุนในการทำการวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบพระคุณโปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาที่อนุเคราะห์สถานที่ ครุภัณฑ์ เครื่องมือ และอุปกรณ์ สำหรับใช้ในการดำเนินการทดลอง และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีอาหารที่อำนวยความสะดวกในการทำการทดลอง ขอขอบพระคุณฟาร์มกุ้งบ้านทรายเงิน คุณอำนวย รอยกุลนันท์ และคุณชยุตพันธุ์ จันทร์เพชร ที่ให้ความช่วยเหลือในการติดต่อประสานงานและอำนวยความสะดวกในการจัดซื้อกุ้งขาวตลอดระยะการดำเนินการวิจัย

ดร.ธิติมา พานิชย์

ผศ.ดร.ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์

3 ตุลาคม 2560

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญภาพ	ช
สารบัญภาพประกอบภาคผนวก	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
ขอบเขตการวิจัย	2
บทที่ 2 ทฤษฎี	3
กุ้งขาว	3
โปรตีนกล้ามเนื้อ	4
เจลของโปรตีนกล้ามเนื้อ	7
กลไกการเกิดเจล	7
พันธะที่มีผลต่อการเกิดเจล	8
ชนิดของเจล	10
ผลของความร้อนต่อโปรตีน	11
การย่อยสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อระหว่างการเซทเจล	15
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	15
บทที่ 3 การทดลอง	17
วัสดุ เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	17
วิธีการทดลอง	18

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล	21
คุณภาพของกุ้งขาว	21
ผลการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างกุ้งต่อความสามารถในการเกิดเจลของกุ้งขาว	22
ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่อความสามารถในการเกิดเจลของกุ้งขาว	32
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	39
สรุป	39
ข้อเสนอแนะ	40
เอกสารอ้างอิง	41
ภาคผนวก	44
ประวัติผู้วิจัย	51

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. กุ้งขาว (A) และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกุ้งขาว (B) และกายวิภาคของกุ้งขาว (C)	3
2. รูปร่างโมเลกุลของไมโอซิน	5
3. องค์ประกอบของฟิลาเมนท์เส้นบาง	5
4. การเกิดพันธะไฮโดรโฟบิกของกรดอะมิโน	9
5. แบบจำลองการเปลี่ยนแปลงของโซลซูริมิในระยะต่างๆ ขณะให้ความร้อน	11
6. การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนระหว่างการให้ความร้อน	12
7. กลไกการเกิดเจลของไมโอซินด้วยความร้อน	14
8. ขั้นตอนการผลิตโซลจากกุ้งขาว	19
9. ลักษณะปรากฏของกุ้งขาวที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการทดลอง	21
10. ลักษณะปรากฏของกุ้งขาวที่ไม่ได้ผ่าหลังและผ่าหลังเอาเส้นดำออก	22
11. ลักษณะของโซลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ไม่ได้ผ่าหลัง (A) และผ่าหลังเอาเส้นดำออก (B)	23
12. ลักษณะปรากฏของเจลกุ้งขาว	23
13. ค่าสีของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออกและผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที	24
14. กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสของโซลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออกเปรียบเทียบกับเจลกุ้งขาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที	25
15. ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (A) และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (B) ของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออก และผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที	27
16. ค่าแรงเจาะทะลุ (A) และค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุ (B) ของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออก และผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที	29
17. รูปแบบของโปรตีนโดย SDS-PAGE ของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวไม่ได้ผ่าหลัง (แถบ 1) และผ่าหลังเอาเส้นดำออก (แถบ 2) ทำให้เกิดเจลโดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที โดยภาพ A เป็นโปรตีนที่ไม่มีเบต้า-เมอแคปโตเอทานอล, ภาพ B เป็นโปรตีนที่มีเบต้า-เมอแคปโตเอทานอล และ MHC: ไมโอซินเส้นหนัก	30

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
18. โครงสร้างทางจุลภาคของของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลัง (A) และไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออก (B) และผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที (กำลังขยาย 10,000 เท่า)	32
19. ค่าสีของเจลกุ้งขาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาแตกต่างกัน	33
20. ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (A) และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (B) ของเจลกุ้งขาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่สภาวะแตกต่างกัน	35
21. ค่าแรงเจาะทะลุ (A) และค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุ (B) ของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออก	36
22. รูปแบบของโปรตีนโดย SDS-PAGE ของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 5, 10 และ 15 นาที (แถบ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ) อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5, 10 และ 15 นาที (แถบ 4, 5 และ 6 ตามลำดับ) และอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5, 10 และ 15 นาที (แถบ 7, 8 และ 9 ตามลำดับ) โดยภาพ A เป็นโปรตีนที่ไม่มีเบต้า-เมอแคปโตเอทานอล, ภาพ B เป็นโปรตีนที่มีเบต้า-เมอแคปโตเอทานอล และ MHC: ไมโอซินเส้นหนัก	37
23. โครงสร้างทางจุลภาคของของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที (กำลังขยาย 10,000 เท่า)	38

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญภาพประกอบภาคผนวก

ภาพประกอบภาคผนวกที่	หน้า
1. กราฟมาตรฐานสำหรับการหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lowry method โดยใช้สารละลายไทโรซีนเป็นสารละลายโปรตีนมาตรฐาน	47

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) เป็นกุ้งชนิดหนึ่งที่นิยมเลี้ยงกันในปัจจุบัน แต่เดิมเป็นกุ้งที่มีถิ่นกำเนิดในต่างประเทศ แต่มีการนำเข้ามาเพาะเลี้ยงในประเทศไทยทดแทนปริมาณกุ้งกุลาดำที่ไม่สามารถรองรับอุตสาหกรรมการผลิตกุ้งได้ เนื่องจากประสบปัญหาความไม่พอเพียงของปริมาณพ่อและแม่พันธุ์ที่ดี กุ้งขาวที่มีการเลี้ยงในประเทศไทยเป็นกุ้งที่มีการปรับปรุงพันธุ์ให้มีความเหมาะสมสำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ ผลจากการปรับปรุงพันธุ์และการนำกุ้งขาวเข้ามาเลี้ยงทำให้ประเทศไทยสามารถยกระดับกำลังการผลิตได้มากถึง 600,000 ตัน/ปี (กรมประมง, 2556) ผลิตภัณฑ์จากกุ้งที่นิยมแปรรูปและมีความสำคัญต่อมูลค่าทางเศรษฐกิจของไทย ได้แก่ กุ้งแช่เยือกแข็ง ซึ่งมีปริมาณการส่งออก จำนวน 277,752 ตัน/ปี คิดเป็นมูลค่า 75,666 ล้านบาท โดยมีการส่งออกไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศในหลากหลายรูปแบบ เช่น แบบกุ้งสดทั้งตัวแช่เยือกแข็ง แบบกุ้งปอกเปลือกไว้หางแช่เยือกแข็ง และกุ้งต้มปอกเปลือกแช่เยือกแข็ง นอกจากผลิตภัณฑ์กุ้งแช่เยือกแข็งแล้ว ยังมีผลิตภัณฑ์กุ้งแปรรูปชนิดอื่นๆ เช่น กุ้งต้มบรรจุกระป๋อง และกุ้งแห้ง วางจำหน่ายในท้องตลาดอีกด้วย แต่เนื่องจากในปัจจุบันอุตสาหกรรมกุ้งของไทยกำลังประสบปัญหาในด้านคู่แข่งในการผลิตกุ้ง และมีจำนวนผลิตภัณฑ์เข้ามาแข่งขันในตลาดโลกเพิ่มมากขึ้น ได้แก่ ประเทศเอกวาดอร์ อินเดีย และอินโดนีเซีย ประกอบกับตลาดหลักในการส่งออกกุ้งของไทยในสหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และญี่ปุ่น ยังประสบปัญหาเศรษฐกิจภายในประเทศ โดยเฉพาะปัญหาหนี้สินในสหภาพยุโรปที่ยังคงยืดเยื้อ และปัญหาทางการคลังของสหรัฐอเมริกา รวมทั้งยังมีปัญหาการกีดกันทางการค้าจากประเทศผู้นำเข้า ทำให้ทุกภาคส่วนที่เกี่ยวข้องในอุตสาหกรรมกุ้งไทยต้องร่วมมือกันและเร่งปรับตัว โดยผู้ส่งออกควรเน้นการแปรรูปผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าให้มีความหลากหลายมากขึ้น (ถนอมจิตร สิริภคพร, 2555)

จากปัญหาดังกล่าว ผู้วิจัยมีแนวความคิดในการนำกุ้งขาวขนาดเล็กมาใช้ประโยชน์ในการผลิตผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าจากกุ้งขาว เช่น ไส้กรอกกุ้ง ลูกชิ้นกุ้ง เป็นต้น เนื่องจากกุ้งที่มีขนาดเล็กมักไม่เป็นที่ต้องการของโรงงานอุตสาหกรรมกุ้งแช่เยือกแข็ง ประกอบกับในพื้นที่ภาคใต้ซึ่งเป็นพื้นที่หลักในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวประสบปัญหาน้ำท่วมเป็นประจำ ทำให้เกษตรกรประสบปัญหาขาดทุนอย่างต่อเนื่อง หากเพิ่มทางเลือกในการใช้ประโยชน์จากกุ้งขนาดเล็กให้กับโรงงานอุตสาหกรรมมากขึ้นจะเป็นวิธีการหนึ่งในการแก้ปัญหาให้กับเกษตรกร และเป็นการเพิ่มความหลากหลายของผลิตภัณฑ์จากกุ้งในท้องตลาดให้มีมากยิ่งขึ้นอีกด้วย โดยผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าชนิดหนึ่งที่มีความน่าสนใจและมีความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์จากกุ้งขนาดเล็ก ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เจลกุ้ง ซึ่งเตรียมโดยการนำเนื้อกุ้งมาบดให้ละเอียด เติมเกลือและส่วนผสมอื่นๆ นำมาขึ้นรูปและนำมาเซ็ทเจลโดยการให้ความ

ร้อน ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเกิดเจล คือ อุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อน และกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่มีผลต่อการทำลายโครงสร้างของเจล

ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยจะทำการศึกษาสภาวะอุณภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการเกิดเจลของกุ้งและบทบาทของเอนไซม์โปรติเอสต่อความแข็งแรงของเจลกุ้ง โดยวัตถุดิบที่ใช้เป็นต้นแบบในการผลิตเจลกุ้ง คือ กุ้งขาวขนาดเล็ก เนื่องจากสามารถควบคุมความสม่ำเสมอ และความต่อเนื่องของวัตถุดิบกุ้งที่ใช้ในการทดลองได้ง่ายกว่ากุ้งชนิดอื่นเนื่องจากพื้นที่จังหวัดสงขลาเป็นแหล่งเพาะเลี้ยงกุ้งดังกล่าว ทั้งนี้ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับกุ้งชนิดอื่นๆ เช่น กุ้งทะเลซึ่งพบมากในท้องถิ่นบางฤดูกาล นอกจากนี้ผลการทดลองที่ได้สามารถใช้เป็นพื้นฐานในการผลิตผลิตภัณฑ์เจลชนิดต่างๆ จากกุ้ง เช่น ไส้กรอกกุ้ง ลูกชิ้นกุ้ง เป็นต้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างระหว่างกุ้งที่ทำการผ่าหลังและกุ้งที่ไม่ได้ผ่าหลังดึงเส้นดำออกต่อความสามารถในการเกิดเจลของกุ้งขาว
2. ศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่อความสามารถในการเกิดเจลของกุ้งขาว

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบวิธีการเตรียมตัวอย่างกุ้งที่เหมาะสมในการผลิตเจลจากกุ้งขาว
2. ทราบสภาวะในการเซ็ทเจลกุ้งขาวที่เหมาะสม
3. ข้อมูลพื้นฐานในศึกษาสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตเจลชนิดอื่นๆ จากกุ้งต่อไป
4. ข้อมูลที่ได้สามารถไปประยุกต์ใช้กับกุ้งชนิดอื่นๆ ที่มีขนาดเล็ก เช่น กุ้งทะเล ซึ่งพบมากในบางฤดูกาล
5. สามารถนำผลงานที่ได้ถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนหรือภาคอุตสาหกรรม
6. ได้ผลงานเพื่อตีพิมพ์เผยแพร่ในระดับประเทศหรือนานาชาติ

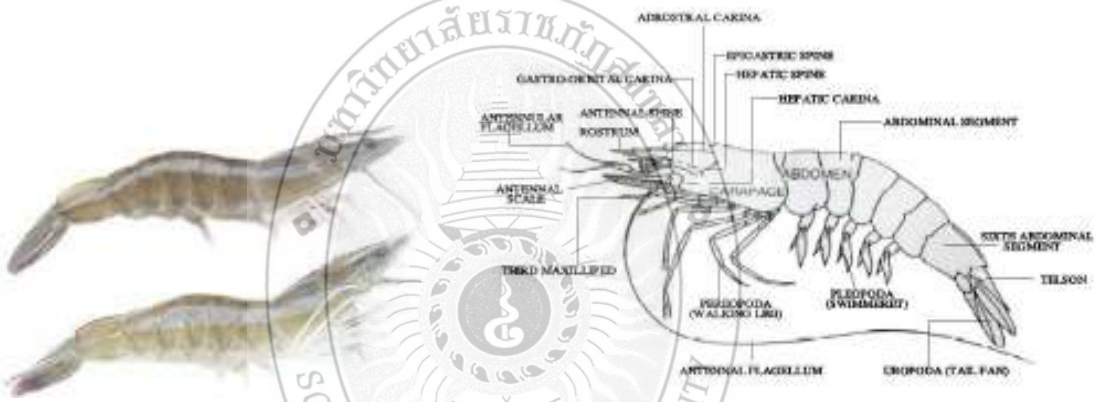
ขอบเขตของโครงการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ได้เลือกใช้ตัวอย่างกุ้งขาวที่มีขนาดเล็กเป็นตัวอย่างต้นแบบในการทดลอง เนื่องจากเป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น และยังสามารถควบคุมความต่อเนื่องของวัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างกุ้งที่ใช้ในการเตรียมเจลเพื่อลดกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่มีบทบาทสำคัญในการทำลายโครงสร้างของเจลในระหว่างการให้ความร้อน นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดเจลของกุ้งโดยการให้ความร้อนแบบขั้นตอนเดียว (Direct heat) ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ และเวลาในการให้ความร้อน

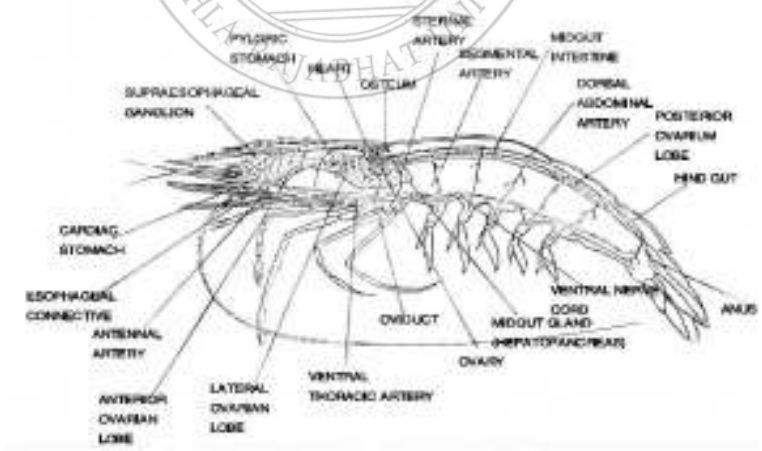
บทที่ 2
ทฤษฎี

1. กุ้งขาว (Whiteleg shrimp)

กุ้งขาว มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Litopenaeus vannamei* มีถิ่นกำเนิดในแถบชายฝั่งตะวันออกของมหาสมุทรแปซิฟิก ทางตอนเหนือของประเทศเม็กซิโก ทวีปอเมริกากลาง แถบทะเลคาริปเบียน และทวีปอเมริกาใต้ (Boone, 1931) กุ้งขาว มีลำตัวขาวใส ขามีสีขาว หางสีแดง ที่สังเกตเห็นเด่นชัดที่สุด คือ ลำไส้ ซึ่งมีขนาดใหญ่และสามารถสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน ตัวเมียจะมีขนาดใหญ่กว่าตัวผู้ กุ้งขาวที่มีขนาดตัวโตเต็มที่จะยังมีขนาดเล็กกว่ากุ้งกุลาดำ โดยความยาวจากกรีหัวถึงปลายกรีหาง 230 มิลลิเมตร (9 นิ้ว) (สารานุกรมเสรีวิกิพีเดีย, 2559) กุ้งขาวและลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคของกุ้งขาวแสดงดังภาพที่ 1



(A) (B)



(C)

ภาพที่ 1 กุ้งขาว (A) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกุ้งขาว (B) และกายวิภาคของกุ้งขาว (C)

ที่มา : Shrimp culture (2016)

โดยทั่วไปกุ้งขาวสามารถอาศัยในน้ำที่มีอุณหภูมิมากกว่า 20 องศาเซลเซียส (Boone, 1931) หากินทุกระดับความลึกของน้ำ ลอกคราบเร็วทุกๆ สัปดาห์ ชอบน้ำกระด้างที่มีความกระด้างรวม 120 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าอัลคาไลน์ในช่วง 80-150 มิลลิกรัมต่อลิตร มีนิสัยที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะของน้ำในบ่อเพาะเลี้ยง ตื่นตกใจง่าย เป็นกุ้งที่เลี้ยงได้ทั้งในระบบธรรมชาติและระบบกึ่งหนาแน่นโดยมีระดับน้ำประมาณ 1.0-1.5 เมตร (สารานุกรมเสรีวิกิพีเดีย, 2559)

2. โปรตีนกล้ามเนื้อ (muscle protein)

กล้ามเนื้อสัตว์น้ำประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิด แต่ละชนิดมีหน้าที่แตกต่างกัน โดยสามารถจำแนกโปรตีนของกล้ามเนื้อเป็นกลุ่มต่างๆ ดังนี้

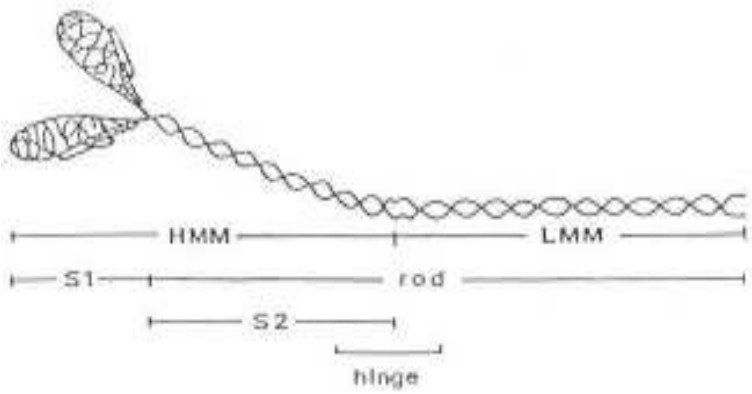
2.1 โปรตีนไมโอไฟบริล (myofibrilar proteins)

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

2.1.1 ไมโอซิน (myosin)

ไมโอซินเป็นโปรตีนที่สำคัญที่เป็นองค์ประกอบของฟิลาเมนท์เส้นหนา (thick filament) พบประมาณร้อยละ 45 ของปริมาณโปรตีนไมโอไฟบริล (Foegeding *et al.*, 1996) ไมโอซินประกอบด้วยโซ่พอลิเปปไทด์ที่เหมือนกัน 2 โซ่ โครงสร้างมีลักษณะเป็นแอลฟา-เฮลิกซ์ (α- helical structure) โมเลกุลของไมโอซินมีเอนไซม์ ATPase อยู่บริเวณหัวทั้งสอง (globular head) ซึ่งสามารถมีอันตรกิริยากับแอกติน (actin) (Kijowski, 2001) ไมโอซินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 480,000 ดาลตัน (Foegeding *et al.*, 1996) เปลี่ยนแปลงง่ายเมื่อถูกความร้อนตกตะกอนได้ง่าย และถูกย่อยด้วยเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีน ได้แก่ ทริปซิน (trypsin) และไคโมทริปซิน (chymotrypsin) เมื่อผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ดังกล่าวจะได้เป็น 2 ส่วน คือ เมอโรไมโอซินเบา (light meromyosin: LMM) และเมอโรไมโอซินหนัก (heavy meromyosin: HMM) เมื่อไมโอซินส่วน HMM ถูกย่อยโดยเอนไซม์ทริปซิน ไคโมทริปซิน หรือปาเปน (papain) จะได้เป็นส่วนหัวและส่วนคอ โดยส่วนหัวเรียกว่า S-1 และส่วนคอเรียกว่า S-2 ส่วน HMM มีกิจกรรมของเอนไซม์ ATPase และเป็นส่วนที่จับกับโมเลกุลของแอกติน ซึ่งจะไม่พบคุณสมบัติเช่นนี้ในส่วน LMM (Kijowski, 2001) โครงสร้างของไมโอซินแสดงดังภาพที่ 2 สัตว์น้ำแต่ละชนิดจะมีปริมาณไมโอซินแตกต่างกัน โดยมีปริมาณสูงสุดขณะจับได้ใหม่ๆ แต่จะมีปริมาณลดลงเป็นลำดับตามระยะเวลาการเก็บรักษา นอกจากนี้ความยืดหยุ่นของเนื้อสัตว์น้ำขึ้นอยู่กับ

ปริมาณไมโอซิน ปลาที่มีปริมาณไมโอซินสูงจะมีความยืดหยุ่นสูงกว่าปลาที่มีปริมาณไมโอซินต่ำ (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2543)

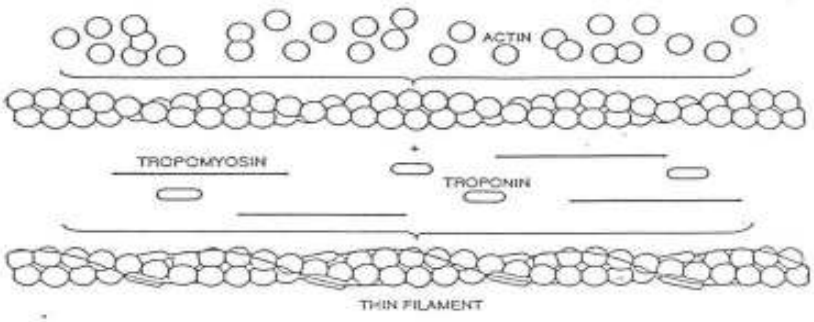


ภาพที่ 2 รูปร่างโมเลกุลของไมโอซิน

ที่มา : Foegeding และคณะ (1996)

2.1.2 แอกติน (actin)

แอกตินเป็นโปรตีนที่สำคัญที่เป็นองค์ประกอบของฟิลาเมนท์เส้นบาง (thin filament) พบประมาณร้อยละ 20 ของโปรตีนไมโอไฟบริล หน่วยย่อยของแอคติน เรียกว่า globular actin หรือ จี-แอกติน (G-actin) ซึ่งมีรูปร่างกลม เมื่อ จี-แอกตินเรียงต่อกันตามยาวเป็นโครงสร้างแบบเกลียวคู่ (double-helical structure) เรียกว่า fibrous actin หรือ เอฟ-แอกติน (F-actin) ดังภาพที่ 3 และเอฟ-แอกตินสองเส้นขดเป็นเกลียวพันกันเรียกว่า super helix (Foegeding *et al*., 1996) แอกตินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 42,000-48,000 ดาลตัน (Xiong, 1997 อ้างโดย ธิติมา จันทโกศล, 2547) ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 376 ตัว จับอยู่กับโทรโปนินและโทรโปไมโอซิน (Kijowski, 2001) ซึ่งสามารถมีอันตรกิริยากับส่วนหัวของไมโอซิน และสามารถสกัดได้โดยใช้สารละลายเกลือ (Foegeding *et al*., 1996)



ภาพที่ 3 องค์ประกอบของฟิลาเมนท์เส้นบาง

ที่มา : Foegeding และคณะ (1996)

2.1.3 โทรโปไมโอซิน (tropomyosin)

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

2.1.4 โทรโปนิน (troponin)

เป็นโปรตีนชนิด โกลบูลาร์มีประมาณร้อยละ 8-10 ของโปรตีนไมโอไฟบริล ส่วนใหญ่มักอยู่รวมกับโทรโปไมโอซิน โทรโปนินสามารถจับกับแคลเซียมและมีบทบาทสำคัญต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อ โทรโปนินประกอบด้วย 3 หน่อยย่อย (Foegeding *et al*., 1996)

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

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

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

2.2 โปรตีนซาร์โคพลาสมิก (sarcoplasmic protein)

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

2.2.1 เอนไซม์

กล้ามเนื้อสัตว์น้ำมีเอนไซม์หลายชนิด โปรติเอส (protease) เป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยโปรตีนประกอบด้วย เอนโดเปปทิเดส (endopeptidase) หรือโปรติเนส (proteinase) และเอกโซเปปทิเดส (exopeptidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญต่อคุณภาพสัตว์น้ำ (Kirschke and Barrett, 1987 อ้างโดย สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2543) Chander และ Thomas (1999) พบเอนไซม์ Alkaline protease จากวัสดุเศษเหลือของกุ้ง โดยสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 50-55 องศาเซลเซียส ที่สภาวะความเป็นกรดด่าง 8.5 นอกจากนี้ Sherekar และคณะ (1997) พบเอนไซม์โปรติเอสจากตับอ่อนของกุ้ง (*Acetes indicus*) โดยสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 50-55 องศาเซลเซียส ที่สภาวะความเป็นกรดด่าง 8.5 และ Lu และคณะ (1990) พบเอนไซม์ทริปซินจากเครื่องในของกุ้งกุลาดำ

2.2.2 โปรตีนเม็ดสี

โปรตีนฮีมเป็นแหล่งของเม็ดสีที่สำคัญโดยมีผลต่อลักษณะสีแดงของเนื้อ เม็ดสีที่สำคัญ ได้แก่ ออกซีไมโอโกลบิล (oxymyoglobin) และออกซีฮีโมโกลบิล (oxyhemoglobin) แต่ในสัตว์จำพวกกุ้งและปู ประกอบด้วยโปรตีนที่มีทองแดง เรียกว่า ฮีโมไซยานิน (hemocyanin) ปกติไม่มีสี แต่เมื่อทิ้งเลือดให้ถูกอากาศภายนอกจะกลายเป็นสีฟ้า (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544)

2.2.3 โปรตีนไม่แข็งตัว

เป็นโปรตีนเลือดที่เป็นไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ซึ่งประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต และไกลโคเจน พบมากในเมือกและตับ (สุทธวัฒน์ เบญกุล, 2549)

2.3 สโตรมาร์ (stroma protein)

เป็นส่วนที่เหลือจากการสกัดโปรตีนซาร์โคพลาสมิก และโปรตีนไมโอไฟบริล ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue protein) เช่น คอลลาเจน และอิลาสติน ซึ่งในกุ้งพบประมาณร้อยละ 2.4-2.6 ของโปรตีนทั้งหมด (Sikorski and Borderias, 1994 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549) และคอลลาเจนจากกุ้ง ประกอบด้วยทริปโตเฟนในระดับสูง และมีคอลลาเจนกลุ่มหลัก คือ Type AR-I (Sikorski and Pan, 1994 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549)

3. เจลของโปรตีนกล้ามเนื้อ

การเกิดเจลของโปรตีนจัดเป็นสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน ซึ่งเกิดจากโมเลกุลของโปรตีนจับกันด้วยพันธะต่างๆ เกิดเป็นโครงร่างตาข่ายสามมิติที่สามารถจับน้ำหรือสารอื่นๆ ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำไว้ภายในได้ ซึ่งในอาหารประเภทเนื้อสัตว์และสัตว์น้ำโปรตีนที่สามารถเกิดเป็นโครงข่ายได้นั้นเป็นกลุ่มโปรตีนไมโอไฟบริล (Sikorski, 2001 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549) และเจลที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ซึ่งสามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ปัจจัยจากคุณสมบัติภายในของโปรตีนเอง โดยเฉพาะโครงสร้างโมเลกุลทั้งที่เป็นโครงสร้างตามธรรมชาติ หรือโครงสร้างภายหลังการสูญเสียสภาพธรรมชาติ ปัจจัยสิ่งแวดล้อมรวมทั้งสภาวะของกระบวนการแปรรูป (Kinsella, 1976 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549)

4. กลไกลการเกิดเจล

การเกิดเจลของโปรตีนสามารถแบงเปน 2 ขั้นตอน คือ

4.1 การสูญเสียสภาพของโปรตีน (denaturation)

เปนขั้นตอนที่โปรตีนเกิดการคลายตัว เชน การใชเกลือผสมในเนื้อปลาบดที่ผานการลางน้ำทำใหโปรตีนไมโอไฟบริลซึ่งเปนโปรตีนที่ละลายในเกลือและเป็นโปรตีนสวนใหญในเนื้อปลาที่ผานการลางน้ำเกิดการคลายตัว นอกจากนี้การใหความรอนกับโปรตีนมีผลใหโปรตีนเกิดการสูญเสียสภาพเชนกัน (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2543)

4.2 การจัดเรียงตัวของโปรตีน (aggregation)

การจัดเรียงตัวมีความสำคัญตอการเกิดโครงสราง 3 มิติ โดยอาศัยการจัดเรียงตัวของโมเลกุลที่เหมาะสม การเกิดเจลแตกตางจากขั้นตอนการจับตัวตกตะกอน (coagulation) ซึ่งเปนกระบวนการที่มีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลแบบสุมและไมเปนระเบียบ ปจจัยที่มีผลตอระดับการจัดเรียงตัว ไดแก่ อัตราการใหความรอน (Mulvihill and Kinsella, 1987 อ้างโดย สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2549) ชนิดของโปรตีน ความเขมขน และ pH (Stone and Stanby *et al.*, 1992 อ้างโดย สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2549)

5. พันธะที่มีผลต่อการเกิดเจล

5.1 พันธะไฮโดรเจน

พันธะชนิดนี้มีความแข็งแรงน้อยจะไม่ตอบสนองต่อการเกิดเจลของไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนแต่มีความคงตัวเมื่อรวมตัวกับน้ำ โดยน้ำส่วนใหญ่จะจับกับกรดอะมิโนที่มีขั้วด้วยพันธะไฮโดรเจนทำให้เกิดความคงตัวของโครงสร้างของโปรตีนในน้ำและเกิด จำนวนมากเมื่อนำเจลที่เตรียมได้เก็บในห้องเย็น (เปรมวดี เทพวงศ์, 2548)

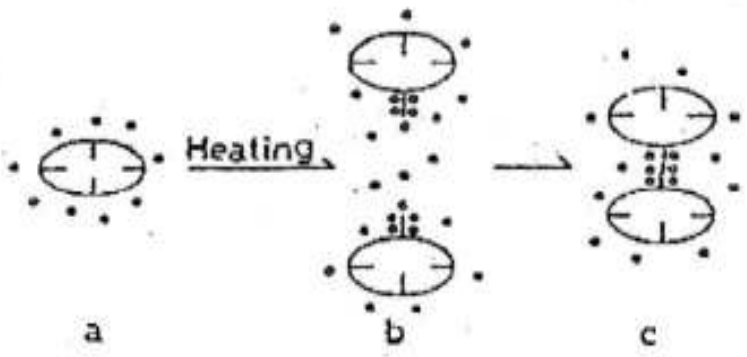
5.2 พันธะไอออนิก

ประจุบวกของพันธะไอออนิกจะจับกับประจุลบของหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl groups, COO^-) ของกรดกลูตามิกและกรดแอสพาร์ติก ส่วนประจุลบจะจับกับหมู่อะมิโน (amino groups, NH^{2+}) ของ ไลซีนและอาร์จินีน พันธะไอออนิกจะรวมตัวกันระหว่างโปรตีนที่มีประจุแตกต่างกันเหล่านี้ และทำให้ไมโอไฟบริลตกตะกอนไม่ละลายน้ำ การเกิดเจลจากความร้อนและผลของการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ทำให้ไอออนิกลิงเกจ (ionic linkage) ของโปรตีนแตกตัว ไอออนของเกลือ (Na^+, Cl^-) เชื่อมกับประจุที่ผิวของโปรตีนไมโอไฟบริลและโปรตีนที่ละลายในน้ำ การเติมเกลือและการบดทำให้โปรตีนมีความสามารถในการละลายมากขึ้น (เปรมวดี เทพวงศ์, 2548)

5.3 พันธะไฮโดรโฟบิค

กรดอะมิโนร้อยละ 25 ซึ่งเป็นองค์ประกอบของไมโอซินเป็นกรดอะมิโนชนิดไม่ชอบน้ำ (hydrophobic amino acid) เช่น อะลานีน วาลีน ลิวซีน ไอโซลิวซีน โพรลีน ทริปโตเฟน และฟีนิลอะลานีน เมื่อกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำเหล่านี้สัมผัสกับโมเลกุลของน้ำจะเกิด clathrate หรือ ice-berg ซึ่งเกิดจากโมเลกุลน้ำจำนวนมากจับกันโดย พันธะไฮโดรเจนรอบๆ กรดอะมิโน (hydrophobic hydration) แต่การจัดเรียงตัวของโมเลกุลน้ำดังกล่าวไม่ถาวร ดังนั้นกรดอะมิโนจึงหันด้านที่ไม่ชอบน้ำเข้าไปในโปรตีนซึ่งจะมีผลต่อความคงทนของโครงสร้างโมเลกุลของโปรตีน โมเลกุลโปรตีนจึงจัดเรียงตัวกันคล้ายกับหยดน้ำมันที่ล้อมรอบด้วยน้ำ โดยปกติพันธะไฮโดรโฟบิคจะเกิดขึ้นเมื่อผานการให้ความร้อนกับโปรตีนเนื่องจากการคลายตัวของกลุ่มอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งเกิดได้มากที่อุณหภูมิสูง (Howe *et al.*, 1994 อ้างโดย เปรมวดี เทพวงศ์, 2548) พันธะชนิดนี้เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างหมู่ที่ไม่ชอบน้ำซึ่งไม่ได้เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติแต่เกิดจากอิทธิของน้ำเป็นสำคัญ พันธะไฮโดรโฟบิคมีความสำคัญต่อความแข็งแรงของเจลซึ่งจะทำให้เกิดโครงสร้างตาข่าย (เปรมวดี เทพวงศ์, 2548)

เมื่อหมู่ที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีน 2 โมเลกุล สัมผัสกับน้ำก่อนการให้ความร้อน (a) โมเลกุลของโปรตีนที่แยกจากกันเป็น 2 โมเลกุลที่ล้อมรอบด้วยน้ำ (b) โมเลกุลของ โปรตีน 2 โมเลกุลที่เชื่อมต่อกัน (c) (เปรมวดี เทพวงศ์, 2548) ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 การเกิดพันธะไฮโดรโฟบิกของกรดอะมิโน
ที่มา : เปรมวดี เทพวงศ์ (2548)

5.4 พันธะโควาเลนท

เปนพันธะที่มีความแข็งแรง ซึ่งจะเชื่อมต่อระหวางพอลิเมอร พันธะโควาเลนทที่มีบทบาทตอการเกิดเจล คือ พันธะไดซัลไฟด (disulfide bonds) ซึ่งเกิดจากการออกซิเดชันของซีสเตอีน 2 โมเลกุล ดังสมการ (เปรมวดี เทพวงศ์, 2548)

$$\text{Protein-SH} + \text{HS-Protein} \longrightarrow \text{Prptein-S-S-Protein} + 2H^{+} + 2e^{-}$$

การเติมสารออกซิแดนท (oxidant) เชน โพแทสเซียมโบรเมท สามารถเพิ่มความแข็งแรงของเจล นอกจากนี้ในระหวางกระบวนการให้ความรอน พันธะไดซัลไฟดภายใน โมเลกุล (intramolecular) สามารถเปลี่ยนเปนพันธะไดซัลไฟดระหวางโมเลกุล (intermolecular) ดังนั้น เจลซูริมิจึงมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นเมื่อเติมสารออกซิแดนทกอนกระบวนการให้ความรอน (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2536 อ้างโดย เปรมวดี เทพวงศ์, 2548)

นอกจากนี้พันธะโควาเลนทที่ไมใชพันธะไดซัลไฟด (non disulfide covalent bond) ที่เกี่ยวของกับโปรตีนเจลที่เกิดจากการเชื่อมประสาน (cross- linked protein gels) และการเกิดพันธะโควาเลนทระหวางการเซทตัว (covalent-linking during setting) พันธะที่สำคัญไดแก **ε**-(**γ**-glutamyl) lysine ซึ่งเปนพันธะโควาเลนทที่เกิดจากการเชื่อมระหวางกลุม แกมมา-คารบอกซีเอไมด (**γ**-carboxyamide) ของกลูตามีน และกลุมเอพซิลอน-อะมิโน (**ε**-amino) ของไลซีน ซึ่งมีบทบาทสำคัญตอเนื้อสัมผัสของเจลซูริมิ (Kamath *et al.*, 1992 อ้างโดย เปรมวดี เทพวงศ์, 2548)

6. ชนิดของเจล

6.1 ซูวาริ (suwari)

ซูวาริ คือ เจลที่เกิดจากการเซทตัวที่อุณหภูมิต่ำกวาอุณหภูมิที่ทำให้โปรตีนตกตะกอน (coagulation temperature) ซึ่งมีคาประมาณ 40-50 องศาเซลเซียส แอคโตไมโอซิน ในเนื้อปลาจะจับกับน้ำและเกิดพันธะไฮโดรเจนระหวางโมเลกุลของโปรตีนเกิดโครงรางตาขาย อยางหลวมๆ มีการกักน้ำอยูภายในรางแห ซึ่งจะทำให้เกิดโครงสรางใหมของแอคโตไมโอซินเปนผลให้เนื้อปลาบดมีลักษณะแข็งตัวขึ้น เรียกปรากฏการณดังกลาวนี้วา setting หรือ suwari ซึ่งแบงได้เปน 2 ขั้นตอน ตามระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการเซทตัวดังนี้ (เปรมวดี เทพวงศ์, 2548)

6.1.1 การเซทตัวที่อุณหภูมิต่ำ (low temperature setting) คือ การเก็บซูริมิไวที่อุณหภูมิ 5-10 องศาเซลเซียส เปนเวลา 18-24 ชั่วโมง การเกิดเจลที่อุณหภูมิต่ำๆ จะสามารถเกิดได้อยางชาๆ ให้ลักษณะเจลที่ใสและยืดหยุน (Acton *et al*., 1981 อ้างโดย เปรมวดี เทพวงศ์, 2548) เนื่องจากมีการสรางพันธะไฮโดรเจนของโมเลกุลน้ำภายในโครงรางตาขายเพิ่มขึ้นทำให้คาความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น

6.1.2 การเซทตัวที่อุณหภูมิสูง (high temperature setting) คือ การให้ความรอนที่อุณหภูมิ 30-50 องศาเซลเซียส เปนเวลา 30-90 นาที เกิดเปนเจลคอนขางขุน และมีความยืดหยุนเพิ่มขึ้น

การเซทตัวของโปรตีนแตกตางกันตามชนิดของปลา ทั้งนี้เกิดจากความแตกตางของโมเลกุลไมโอซิน (Niwa *et al*., 1980; Taguchi *et al*., 1986 อ้างโดย เปรมวดี เทพวงศ์) และความแตกตางในความสามารถการเกิดโครงขายของโปรตีน (Gill and Conway, 1989; Lee *et al*., 1990 อ้างโดย เปรมวดี เทพวงศ์, 2548)

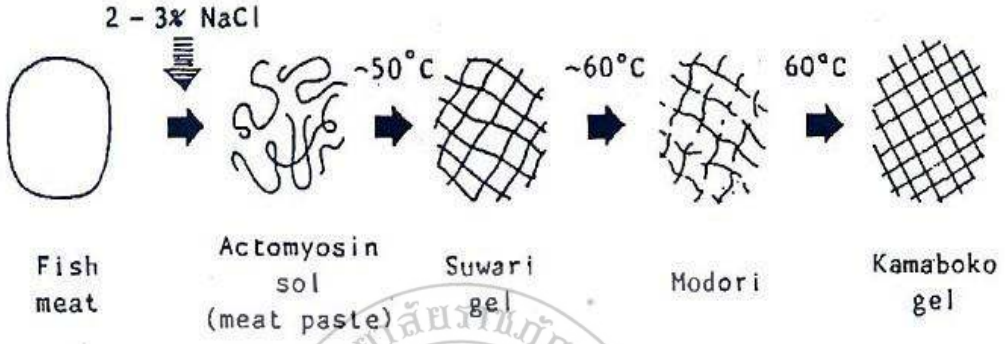
6.2 โมโดริ (modori)

โมโดริ หรือการออนตัวของเจล (gel-weakening) เมื่อให้ความรอนแกซูริมิจนอุณหภูมิสูงกวา 45-50 องศาเซลเซียส โครงสรางบางสวนของซูวาริถูกทำลายสงผลให้เจลมีความออนตัว ลักษณะเชนนี้เรียกวา “โมโดริ” ปรากฏการณดังกลาวขึ้นอยูกับชนิดของปลา (Shimizu *et al*., 1981 อ้างโดย เปรมวดี เทพวงศ์, 2548) กลไกการเกิดโมโดริมีสาเหตุจากเอนไซมโปรติเนสซึ่งมีอยูในกลามเนื้อของปลาหรือโปรติเนสที่พบใน สวนซารโคพลาสมิก ซึ่งสามารถชะลางออกไปบางสวนระหวางการลางเนื้อปลาบด (Suwansakornkul *et al*., 1993 อ้างโดย เปรมวดี เทพวงศ์, 2548) โปรติเนสสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูงสงผลให้เกิดการยอยสลายของโปรตีนกลามเนื้อ นอกจากนี้เอนไซมคาเธปซินซึ่งพบมากในปลาบางชนิด เชน Pacific whiting มีผลตอการเกิดโมโดริ (An *et al*., 1994 อ้างโดย เปรมวดี เทพวงศ์, 2548)

6.3 การเกิดเจล (kamaboko)

คามาโบโกะเป็นเจลซึ่งเกิดจากโครงสรางโปรตีนที่มีการจับเรียงตัวอยางมีระเบียบสามารถเกิดขึ้นเมื่อให้ความรอนตอโซล (sol) ณ อุณหภูมิสูงกวา 60-70 องศาเซลเซียส (Stone and

Stanley, 1992 อ้างโดย เปรมวดี เทพวงศ์, 2548) จะทำให้โครงสร้างโมเลกุลแอคโตไมโอซิน และโปรตีนชนิดอื่นๆ แข็งตัวซึ่งพันธะที่เกิดขึ้นในชวงนี้จะเปนพันธะไฮโดรโฟบิคและพันธะไดซัลไฟดเปนสวนใหญทำให้โครงสรางตาขายมีความแข็งแรงมากขึ้น เจลมีลักษณะทึบและเสถียรมากขึ้น และความเหนียวหลังจากชวงนี้เสร็จสิ้นแล้วจะไมเปลี่ยนแปลง (Suzuki *et al*., 1981 อ้างโดย เปรมวดี เทพวงศ์, 2548)



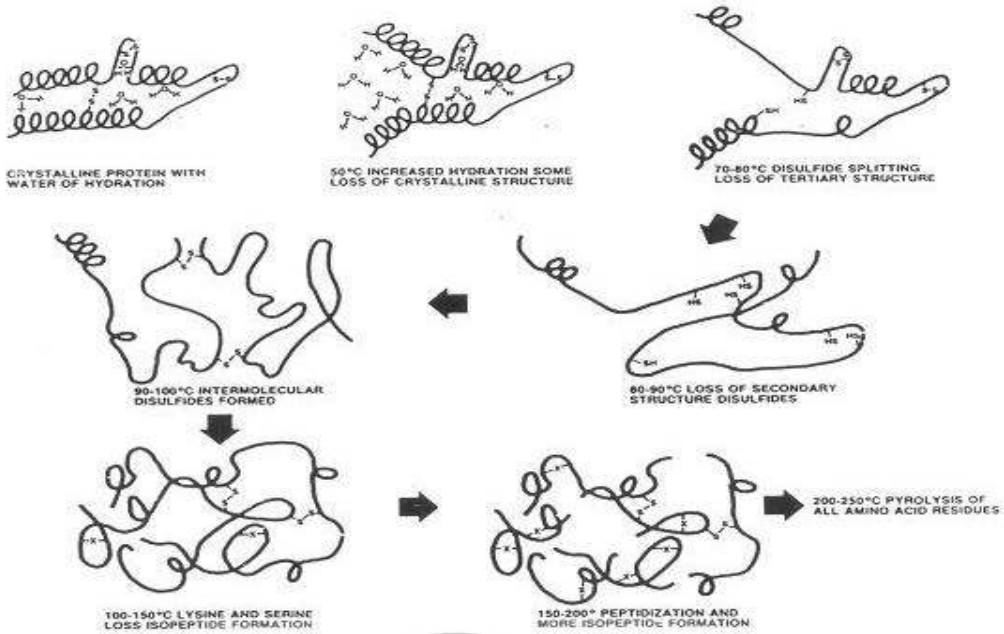
ภาพที่ 5 แบบจำลองการเปลี่ยนแปลงของโซลซูริมิในระยะต่างๆ ขณะให้ความร้อน
ที่มา : Suzuki (1981 อ้างโดย เปรมวดี เทพวงศ์, 2548)

7. ผลของความร้อนต่อโปรตีน

7.1 ผลของความร้อนต่อโครงสร้างและพันธะภายในของโปรตีน

กลไกการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนด้วยความร้อนมีความซับซ้อนมากโดยมีผลต่อความคงตัวของพันธะที่มิใช่พันธะโควาเลนต์ ได้แก่ พันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาแรงกระทำระหว่างประจุ และแรงแวนเดอร์วาล์ว ซึ่งมีอันตรกิริยาที่คายความร้อนในธรรมชาติ ดังนั้นจึงไม่คงตัวที่อุณหภูมิสูงและคงตัวที่อุณหภูมิต่ำ อย่างไรก็ตามพันธะเปบไทด์ไฮโดรเจนในโปรตีนเป็นพันธะที่แฝงอยู่ในส่วนกลางของโครงสร้างจึงสามารถคงตัวอยู่ได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้าง ในอีกทางหนึ่งอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิคเป็นอันตรกิริยาที่ดูดความร้อน ดังนั้นจึงสามารถคงตัวที่อุณหภูมิสูง และไม่คงตัวที่อุณหภูมิต่ำ แต่ความคงตัวของอันตรกิริยาของไฮโดรโฟบิคก็มีอย่างจำกัด โดยมีความแข็งแรงมากที่สุดที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส (Damodaran,1996)

เมื่อมีการให้ความร้อนกับโปรตีน โปรตีนมีการเปลี่ยนแปลงดังภาพที่ 6 สายโซ่ด้านข้างของโปรตีนที่อยู่ภายในโครงสร้างโปรตีนมีการคลายตัวมากขึ้นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับของโครงสร้างโปรตีน เช่น จากจตุรภูมิเป็นตติยภูมิ จากตติยภูมิเป็นทุติยภูมิ เมื่อมีการคลายตัวของโครงสร้างเฮลิกซ์แล้วพันธะโควาเลนต์จะถูกทำลาย และในที่สุดพันธะเปบไทด์ของกรดอะมิโนก็ถูกทำลายไปด้วยความร้อน (Finley, 1989 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549)



ภาพที่ 6 การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนระหว่างการให้ความร้อน
ที่มา : Finley (1989 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549)

7.2 ผลของความร้อนต่อการเกิดเจลโปรตีนกล้ามเนื้อ

โดยทั่วไปโครงข่ายเจลของโปรตีน ประกอบด้วยพันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิค อันตรกิริยาแรงกระทำระหว่างประจุ และพันธะไดซัลไฟด์ ทั้งนี้การกระจายตัวของแรงเหล่านี้ขึ้นอยู่กับชนิดของโปรตีน สภาวะในการให้ความร้อน การสูญเสียสภาพธรรมชาติอย่างต่อเนื่อง และสภาวะแวดล้อมของโปรตีน (Damodaran, 1996)

โครงข่ายเจลที่ไม่สามารถผันกลับได้ของโปรตีนกล้ามเนื้อ ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากอันตรกิริยา ไฮโดรบิคและมีความแข็งแรงที่อุณหภูมิสูง สามารถแบ่งขั้นตอนในการเกิดเจลได้ 2 ขั้นตอน (Ziegler and Aton, 1984 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549) คือ ขั้นตอนการแตกตัวของโปรตีนไมโอไฟบริล โดยเกิดการบวมของไมโอไฟบริลที่เกิดจากแรงผลักระหว่างประจุภายในเส้นใยโปรตีน การแยกออกจากกันของเส้นใยโปรตีน และการแยกออกของแอกตินจากไมโอซิน หรือการแยกของแอกโตไมโอซินจากโครงสร้างไมโอไฟบริล ซึ่งแสดงถึงการสูญเสียสภาพธรรมชาติ เนื่องจากความร้อนของโปรตีนแอกโตไมโอซินธรรมชาติ และขั้นตอนที่สอง คือ ขั้นตอนการเกิดเจล โปรตีนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติเริ่มกัดพันธะที่มิใช่พันธะโควาเลนต์ในการสร้างโครงข่ายโมเลกุลอย่างมีระเบียบในระหว่างการให้ความร้อน (จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549)

ในองค์ประกอบทั้งหมดของโปรตีนไมโอไบริล ไมโอซินเป็นองค์ประกอบหลักที่สำคัญที่มีผลต่อการเกิดเจล (Asghar *et al.*, 1985 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549) การแผ่ตัวออกจากโครงสร้างไมโอซินแตกต่างกันขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่อยู่อาศัยของสัตว์นั้นๆ โดยไมโอซินจากปลามีความคง

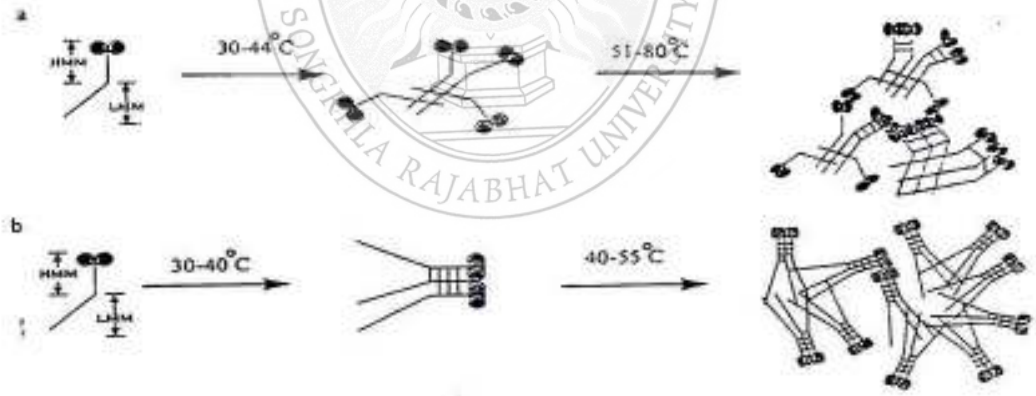
ตัวต่ออุณหภูมิ (thermal stability) น้อยกว่าจากสัตว์เลือดอุ่น ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอันเนื่องมาจากอุณหภูมิสูง (thermal denaturation) และอุณหภูมิต่ำ (freeze denaturation) จึงเกิดขึ้นได้ง่ายกว่าสัตว์เลือดอุ่น และได้มีรายงานว่าปลาที่อาศัยอยู่ในเขตน้ำเย็นมากขึ้น ไมโอซินจะมีความคงตัวต่อความร้อนน้อยลงโดยติดตามได้จากการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์ ATPase ซึ่งแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างส่วนหัวของไมโอซินและจากการสูญเสียโครงสร้างแอลฟา-เฮลิกซ์ในส่วนหาง (Ogawa *et al.*, 1993 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549)

องค์ประกอบที่มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดเจลของโมเลกุลไมโอซิน คือ ไมโอซินเส้นหนัก (myosin heavy chain: MHC) โดย Yongsawatdigul และคณะ (1997 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549) ศึกษาความยืดหยุ่นของเจล พบว่าความยืดหยุ่นของซูริมิเจลจาก Pacific whiting มีค่าแปรผันตามปริมาณไมโอซินเส้นหนัก ซูริมิที่ผลิตจากปลาที่มีเอนไซม์โปรตีเนสอยู่ในกล้ามเนื้อเป็นจำนวนมากมักจะเกิดปัญหาทำให้เจลมีลักษณะยุ่ย และเนื่องจากเอนไซม์เหล่านี้สามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายของไมโอซินโดยใช้ไมโอซินเส้นหนักเป็นสารตั้งต้นได้เป็นอย่างดี

แอกตินนั้นไม่มีคุณสมบัติการจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างสามมิติ แต่อย่างไรก็ตาม Yasui และคณะ (1980 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549) พบว่าตัวอย่างเจลที่มีส่วนผสมระหว่างไมโอซินและแอกตินมีค่าความแข็งแรงมากกว่าตัวอย่างที่มีไมโอซินเพียงอย่างเดียว จึงถือว่าแอกตินมีส่วนส่งเสริม (synergistic effect) ความแข็งของเจล ซึ่งเกิดจากการรวมตัวระหว่างเอฟ-แอกติน และไมโอซินบางส่วนเกิดเป็นแอกโตไมโอซิน ซึ่งเป็นตัวเชื่อมกับไมโอซินที่เหลืออยู่ในรูปอิสระ และทำให้เกิดโครงสร้างเจลที่แข็งแรง (Yasui *et al.*, 1982 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549) สำหรับโทรโปนิน และโทรโปไมโอซินนั้นไม่มีผลต่อการเกิดเจลของแอกโตไมโอซิน ทั้งนี้เนื่องจากโทรโปไมโอซินเป็นโปรตีนที่ทนต่อความร้อนได้สูง จึงไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งโครงสร้าง และไม่เกิดการจัดเรียงตัวเป็นโครงข่ายร่างแห (Samejima *et al.*, 1982 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549)

ส่วนหางของไมโอซินที่เป็นเกลียวแอลฟา-เฮลิกซ์ มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดโครงข่ายร่างแห ค่าความแข็งแรงของเจลที่เตรียมจากส่วนของเกลียวแอลฟา-เฮลิกซ์ มีค่าสูงกว่าเจลที่ได้จากส่วน S-1 โครงสร้างตัวอย่างที่เตรียมจาก S-1 มีลักษณะการต่อเรียงกันเป็นแถว (bead-like structure) และไม่เกิดเป็นร่างแห ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นตะกอนของโปรตีน (curd) มากกว่าเป็นเจล ซึ่งแสดงว่า ส่วน S-1 ไม่มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดเจล ส่วนเจลที่เกิดจากส่วนที่เป็นแอลฟา-เฮลิกซ์ มีลักษณะเนื้อสัมผัสและโครงสร้างใกล้เคียงกับเจลที่เตรียมจากไมโอซิน ดังนั้นส่วนหางของโมเลกุลไมโอซินจึงเป็นบริเวณที่เกิดการเชื่อมต่อระหว่างโมเลกุลเกิดเป็นโครงสร้างสามมิติของเจล Ishioroshi และคณะ (1981 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549) ศึกษาการเกิดเจลในส่วน HMM เปรียบเทียบกับส่วน LMM พบว่า HMM เกิดเจลที่แข็งแรงน้อยกว่า LMM มีความแข็งแรงใกล้เคียงกับตัวอย่างที่เตรียมจากส่วนแอลฟา-เฮลิกซ์ ซึ่งแสดงว่าส่วนหางที่มีโครงสร้างแอลฟา-เฮลิกซ์ มีความสำคัญต่อการเกิดโครงสร้างและลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลซูริมิ

Sano และคณะ (1990a, b อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549) รายงานว่าไมโอซินจากปลาคาร์ฟเริ่มจัดเรียงตัวเป็นร่างแหที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส โดยเกิดจากส่วนของ LMM เมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นถึง 50 องศาเซลเซียส บริเวณ HMM โดยเฉพาะส่วนหัว (globular head) นั้นจะเกาะตัวรวมกันด้วยอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก เนื่องจากบริเวณดังกล่าวมีกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำอยู่เป็นจำนวนมาก และถูกปล่อยระหว่างการให้ความร้อน นอกจากนี้ยังพบว่า HMM ไม่สามารถเกิดเจลได้ในขณะที่ LMM สามารถเกิดการเรียงตัวเป็นร่างแห ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Samejima และคณะ (1981 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549) ที่กล่าวมาข้างต้น อย่างไรก็ตาม Tagushi และคณะ (1987 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549) ได้เสนอกลไกการเกิดเจลที่แตกต่างออกไป คือ การจัดเรียงตัวของ HMM โดยเฉพาะในส่วนของ S-1 เกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นถึง 50 องศาเซลเซียส ส่วนของ LMM เริ่มคลายตัวออกจากกันและจัดเรียงตัวเป็นร่างแห ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gill และ Conway (1989 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549) ที่พบว่าส่วนหางของไมโอซินซึ่งสกัดจากปลาคอดคลายตัวออกทำให้กรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำ (hydrophobic amino acids) หันออกสู่ภายนอกและเกิดอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกระหว่างสายไมโอซินที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Chain และคณะ (1993 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549) พบว่าการจับตัวของไมโอซินจากปลาคอด และปลาแฮริ่ง เริ่มต้นที่บริเวณ HMM S-2 ที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส ส่วนของ LMM เริ่มจับตัวเป็นร่างแหที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส ซึ่งความแตกต่างระหว่างสองกลไกนี้สามารถเปรียบเทียบ ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 กลไกการเกิดเจลของไมโอซินด้วยความร้อน
ที่มา: Sano และคณะ (1990 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549)

การให้ความร้อนกับโซลที่อุณหภูมิสูงกว่า 60-70 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดโครงสร้างโปรตีนที่มีการจัดเรียงตัวอย่างมีระเบียบ โดย Itoh และคณะ (1980a อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549) รายงานว่าการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ระหว่างโมเลกุลโปรตีนโดยผ่านกระบวนการ S-S

interchange หรือ SH-SS-interchange มีผลต่อการเกิดโครงข่ายของเจลโมเลกุลไมโอซินประกอบด้วยหมู่ซัลไฟด์ไฮดริลมากกว่า 40 หมู่ โดยส่วนใหญ่จะพบบริเวณส่วนหัวของไมโอซิน HMM และ S-1 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chain และคณะ (1995 อ้างโดย จิราวรรณ ชี้เจริญ, 2549) ที่พบว่าพันธะโควาเลนต์ชนิดที่ไม่ใช่พันธะไดซัลไฟด์มีส่วนร่วมในการเกิดพอลิเมอไรเซชัน (polymerization) ของไมโอซินเส้นหนัก

8. การย่อยสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อระหว่างการเซทเจล

การย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้อเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ที่พบในเนื้อเยื่อรวมทั้งเอนไซม์จากจุลินทรีย์ ก่อให้เกิดการอ่อนตัวของกล้ามเนื้อ ทั้งนี้เอนไซม์โปรติเนสมีผลในการย่อยสลายโมเลกุลของโปรตีนทำให้โครงสร้างมีลักษณะหลวมและอ่อนตัว ผลผลิตสำหรับการย่อยสลายโมเลกุลโปรตีนด้วยเอนไซม์ คือ เปปไทด์โมเลกุลต่ำ และกรดอะมิโนอิสระซึ่งพบทั่วไปในธรรมชาติมากกว่า 20 ชนิด กระบวนการนี้เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้คุณภาพของเนื้อสัตว์ลดลง นอกจากนี้สารประกอบเหล่านี้สามารถเป็นแหล่งสารอาหารในการเจริญของจุลินทรีย์ (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544)

ในระหว่างการเซทตัว เอนไซม์โปรตีเอสสามารถย่อยสลายโปรตีนได้บางส่วนมีผลให้เกิดเพปไทด์ขนาดเล็ก Numakura และคณะ (1985, 1990 อ้างโดย สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2549) พบโปรตีนขนาด 150 kDa เกิดขึ้นระหว่างการเซทตัวที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และโปรตีนโทรโปนิน T มีปริมาณลดลง ซึ่งโปรตีนขนาด 150 kDa เป็นเพปไทด์ที่เกิดจากการย่อยสลายเนื่องจากเอนไซม์โปรตีเอส (Muramoto and Seki, 1989 อ้างโดย สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2549) ทั้งนี้การใช้ระยะเวลาเซทตัวนานเกินไปอาจมีผลในการลดคุณภาพของเจลอันเป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอสต่อการย่อยสลายโปรตีนที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Ando และคณะ (1998 อ้างโดย สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2549) พบว่า มีเพปไทด์ขนาด 170 kDa เกิดขึ้นระหว่างการบ่มโซลจากปลาวอลอายพอลแลค ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง อันเป็นผลจากการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์โปรตีเอสที่พบในกล้ามเนื้อปลา

9. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ธิติมา จันทโกศล (2547) ได้ทำการศึกษาผลของการให้ความร้อนแบบขั้นตอนเดียว (อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ต่อคุณสมบัติการเกิดเจลของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius) โดยใช้กุ้งกุลาดำที่ไม่ได้ผ่านการผ่าหลังเพื่อดึงเอาเส้นดำออกมาเซ็ทเจลให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร พบว่าเจลที่ได้มีค่าความแข็งแรงของเจลค่อนข้างต่ำ และมีลักษณะนิ่มเละ สูญเสียความสามารถในการอุ้มน้ำ ทั้งนี้สาเหตุสำคัญประการหนึ่งที่ทำให้เจลเกิดการนิ่มเละ คือ การเกิดการย่อยสลายของโปรตีนไมโอซินเส้นหนัก และเมื่อทำการตรวจสอบโครงสร้างทางจุลภาคของเจลพบว่าเจลที่ได้มีโครงร่างแหที่ไม่เป็นระเบียบ มีความต่อเนื่องของเส้นใยโปรตีนน้อยและปรากฏ

ช่องว่างขนาดใหญ่ โดยเอนไซม์โปรติเอสในกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำมีกิจกรรมรวมสูงสุดที่สภาวะอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และความเป็นกรดด่าง 8.0

อย่างไรก็ตามความแข็งแรงของเจลที่ผ่านการให้ความร้อนแบบขั้นตอนเดียว (อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) มีค่าใกล้เคียงกับเจลที่ผ่านการให้ความร้อนแบบสองขั้นตอน (บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ตามด้วยอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) ทั้งนี้เนื่องจากกุ้งกุลาดำที่ไม่ได้ผ่าหลังที่ใช้ในการทดลองมีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสสูงทำให้เกิดการเร่งการสลายโปรตีนไมโอซิน จึงทำให้เอนไซม์ endogenous transglutaminase ไม่ได้มีบทบาทในการเพิ่มความสามารถในการเกิดเจลของกุ้งกุลาดำ (ธิติมา จันทโกศล, 2547)

จิรวรรณ ชี้เจริญ (2549) ได้ทำการศึกษาบทบาทของการเติมสารยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ซึ่งได้แก่ โปรตีนพลาสมาเลือดวัวร้อยละ 0-3 ต่อความสามารถในการเกิดเจลของกุ้งกุลาดำ (ที่ไม่ได้ทำการผ่าหลัง) ด้วยความร้อน (90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) พบว่า เมื่อเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัวสามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส ซึ่งสอดคล้องกับความเข้มของแถบไมโอซินเส้นหนักในการตรวจสอบรูปแบบโปรตีนโดย SDS-PAGE

Manheem และคณะ (2012) รายงานว่า เอนไซม์โปรติเอสจากตับอ่อนของกุ้งขาวมีกิจกรรมลดลงอย่างมากที่สภาวะอุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นผลมาจากการเสียสภาพของเอนไซม์อันเนื่องมาจากความร้อน

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 3
การทดลอง

วัสดุ เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. วัสดุที่ใช้ในการทดลอง

- กุ้งขาวมีขนาดประมาณ 120-140 ตัว/กิโลกรัม ซื้อมากุ้งขาวจากฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้ง ในเขตจังหวัดสงขลาและจังหวัดใกล้เคียง และจะต้องมีระยะเวลาตั้งแต่การจับจนเริ่มทำการทดลองไม่เกิน 5 ชั่วโมง ภายหลังการจับกุ้งจะถูกเก็บรักษาในกล่องโฟม โดยมีอัตราส่วนกุ้งต่อน้ำแข็งเท่ากับ 1:3 ในระหว่างการขนส่งมายังห้องปฏิบัติการโปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาภายใน 1 ชั่วโมง
- ถุงพลาสติกชนิดพอลีเอทิลีน ขนาด 7x10 นิ้ว
- ไส้เทียมเซลโลเฟนสำหรับบรรจุไส้กรอก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร
- กระดาษกรอง Whatman No.1 และ No.50
- วัสดุที่ใช้ในการทดสอบทางประสาทสัมผัส ได้แก่ ปากกา กระดาษทิชชู เป็นต้น
- เชือกสำหรับมัดไส้กรอก
- ถุงซิปล๊อก (Zip lock)
- น้ำแข็ง
- สารเคมีเกรดสำหรับวิเคราะห์ทางเคมี

2. เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- เครื่องสับผสม ยี่ห้อ MOULINEX รุ่น MASTERCHEF
- เครื่องอัดไส้กรอก ยี่ห้อ Biscuits
- เครื่องปิดผนึก ยี่ห้อ WINNER PACKING
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ OHAUS รุ่น Scout
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ METTLER TOLEDO รุ่น AG 245
- เครื่องวัดค่าสี ตรา Hunter Lab รุ่น color flex
- เครื่องหมุนเหวี่ยง ยี่ห้อ Hettich รุ่น Universal 32R
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ยี่ห้อ GENESYS™รุ่น Spectronic®20
- เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ ยี่ห้อ Wise Tisรุ่น HG-15D
- เครื่องพีเอชมิเตอร์ ยี่ห้อ ORIENT รุ่น 410A

- กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope) ยี่ห้อ FEI รุ่น SEM-Quanta 400
- ชุดอิเล็กโตรโฟริซีส (SDS-PAGE) ยี่ห้อ ATTO รุ่น AE-6500
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ AS ONE รุ่น TR-3A
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven) รุ่น Venticell ยี่ห้อ MM Group
- ตู้ดูดความชื้น (dessicator)
- อุปกรณ์เครื่องครัว ได้แก่ ชามผสม มีด พายยาง ถาด เขียง ช้อน เป็นต้น
- เทอร์โมมิเตอร์
- อุปกรณ์ และเครื่องแก้วสำหรับตรวจสอบคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ภาชนะหาความชื้น (moisture can) บีกเกอร์ เป็นต้น
- อุปกรณ์สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัส ได้แก่ ถาดชิม แก้วน้ำ เป็นต้น

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมวัตถุดิบ

เมื่อขนส่งกุ้งขาวมาถึงห้องปฏิบัติการ นำกุ้งที่ได้มาทำการทดลอง ดังนี้

- สุ่มตัวอย่างกุ้งมาทำการทดสอบความสด โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน 5 คน ทำการประเมินในด้านสี ลักษณะ เนื้อสัมผัส และการดมกลิ่น โดยการให้คะแนน (0-4 คะแนน) ดัดแปลงจากวิธีของ กฤษณา โสภณพงษ์ (2538) โดยกุ้งที่นำมาใช้ในการทดลองจะต้องมีคะแนนความสดอยู่ที่ระดับคะแนน 4
- นำกุ้งมาล้างน้ำให้สะอาด ตัดหัว ปอกเปลือก นำมาบรรจุในถุงพลาสติกชนิดพอลีเอทิลีน แล้วเก็บลงในกล่องโฟม โดยมีอัตราส่วนกุ้งต่อน้ำแข็งเท่ากับ 1:3 เพื่อควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 0-4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งทำการทดลอง

2. ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างกุ้งต่อความสามารถในการเกิดเจลของกุ้งขาว

นำกุ้งที่ได้จากข้อ 1 มาทำการทดลองเปรียบเทียบ ดังนี้

- ชุดการทดลองที่ 1 กุ้งที่ไม่ได้ทำการผ่าหลังเอาเส้นดำออก
- ชุดการทดลองที่ 2 กุ้งที่ทำการผ่าหลังเอาเส้นดำออก

นำกุ้งทั้งสองชุดการทดลองมาหั่นแบบตัดขวาง เพื่อให้ง่ายต่อการสับผสม ทำการเตรียมโซลจากเนื้อกุ้งกุลาดำบด โดยมีกรรมวิธีการผลิตดังภาพที่ 8

เนื้อกุ้งขาว

↓

หั่นแบบตัดขวางให้มีขนาดเล็ก

↓

สับผสมให้เนื้อละเอียดนาน 1 นาที

↓

เติมเกลือร้อยละ 2.5 ของปริมาณเนื้อกุ้งหั่น

↓

สับผสมต่อไปจนเป็นเนื้อเดียวกัน (ใช้เวลาทั้งหมดไม่เกิน 4 นาที)

↓

อัดลงไปในไส้เทียมสำหรับบรรจุไส้กรอก

↓

มัดเป็นท่อนให้มีความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร

↓

โซลจากกุ้งขาว

ภาพที่ 8 ขั้นตอนการผลิตโซลจากกุ้งขาว
ที่มา : ดัดแปลงจาก ธิติมา จันทโกศล (2547)

ทำการเซ็ทเจลโดยการให้ความร้อนแบบขั้นตอนเดียว (Direct heat) โดยกำหนดอุณหภูมิในการให้ความร้อนที่ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จากนั้นทำให้เย็นทันที แล้วนำตัวอย่างมาเก็บรักษาในน้ำแข็งและเก็บไว้ในห้องเย็น จนกระทั่งนำไปตรวจสอบคุณสมบัติ ดังนี้

- ค่าสี ในระบบ CIE Lab (L*, a* และ b*) โดยใช้เครื่องวัดค่าสี
- กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสของตัวอย่างก่อนและหลังการให้ความร้อน ดัดแปลงจากวิธีของ An และคณะ (1994)
- ค่าสูญเสียน้ำหนัก โดยการชั่งน้ำหนักภายหลังการแปรรูปเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้น
- ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ โดยใช้วิธีของ Jatupong และคณะ (2000)
- คุณลักษณะเนื้อสัมผัส โดยการวัดค่าแรงเจาะทะลุ (Breaking force) และระยะทางก่อนเจาะทะลุ (Breaking deformation) ดัดแปลงจาก Lanier (1992)
- ตรวจสอบรูปแบบโปรตีนไมโอไฟบริล โดยใช้ SDS-PAGE ดัดแปลงจากวิธีของ Leammli (1970)
- ตรวจสอบโครงสร้างทางจุลภาค โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) ตามวิธีของ Nip และ Moy (1988)

ทำการคัดเลือกวิธีการเตรียมตัวอย่างกุ้งที่เหมาะสมโดยการพิจารณาร่วมกันระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ความแข็งแรงของเจล และความยากง่ายในการเตรียมตัวอย่าง เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3. ศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่อความสามารถในการเกิดเจลของกุ้งขาว

ทำการเตรียมกุ้งขาวตามวิธีการที่ได้คัดเลือกจากข้อ 3 แล้วมาทำการเตรียมโซลจากกุ้งโดยใช้วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 2 แต่ทำการเซ็ทเจลแบบขั้นตอนเดียว (Direct heat) โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 80, 85 และ 90 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 5, 10 และ 15 นาที จากนั้นทำให้เย็นทันที นำตัวอย่างมาเก็บรักษาในน้ำแข็งและเก็บไว้ในห้องเย็น จนกระทั่งนำไปตรวจสอบคุณสมบัติ ดังนี้

- ค่าสี ในระบบ CIE Lab (L*, a* และ b*) โดยใช้เครื่องวัดค่าสี
- ค่าสูญเสียน้ำหนัก โดยการชั่งน้ำหนักภายหลังการแปรรูปเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้น
- ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ โดยใช้วิธีของ Jatupong และคณะ (2000)
- คุณลักษณะเนื้อสัมผัส โดยการวัดค่าแรงเจาะทะลุ (Breaking force) และระยะทางก่อนเจาะทะลุ (Breaking deformation) ดัดแปลงจาก Lanier (1992)
- ตรวจสอบรูปแบบโปรตีนไมโอไฟบริล โดยใช้ SDS-PAGE ดัดแปลงจากวิธีของ Leammli (1970)

ทำการคัดเลือกสภาวะที่ทำให้ได้ค่าความแข็งแรงของเจลสูงที่สุด ในแต่ละสภาวะอุณหภูมิมาทำการตรวจสอบโครงสร้างทางจุลภาค โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) ตามวิธีของ Nip และ Moy (1988)

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองในข้อที่ 2 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) และการทดลองในข้อที่ 3 วางแผนทดลองแบบเฟคเทอเรียล (3x3) ในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Factorial (3x3) in CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำในแต่ละชุดการทดลอง ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ T-test และ ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้วิธี Duncan’s multiple rang test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

1. คุณภาพกุ้งขาว

จากการตรวจสอบความสดของกุ้งขาวที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเจลกุ้ง โดยทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสในด้านกลิ่น ลักษณะเนื้อสัมผัส และสีของกุ้งขาว โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 5 คน โดยกุ้งขาวที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเจลกุ้งมีลักษณะปรากฏแสดงดังภาพที่ 9

เมื่อทำการทดสอบความสด โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่ามีคะแนนเฉลี่ยในทุกปัจจัยเท่ากับ 4 คะแนน โดยกุ้งขาวที่ใช้เป็นวัตถุดิบมีกลิ่นคล้ายสาหร่ายหรือหญ้า (grassy-seaweed odor) มีเนื้อสัมผัสแน่นเนื้อ และมีสีสดใสสม่ำเสมอตามพันธุ์ของกุ้งขาว (uniform color) แสดงให้เห็นว่ากุ้งขาวที่ใช้เป็นวัตถุดิบมีลักษณะสด และมีคุณภาพดี ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของประเสริฐ สายสิทธิ์ (2527 อ้างโดย ธิติมา จันทโกศล, 2547) ซึ่งพบว่า กุ้งสดต้องมีรูปร่างที่คงรูปปกติ สีสดใสตามพันธุ์ของกุ้ง มีเปลือกแข็งและเรียบเป็นมันติดแน่นกับเนื้อ มีกลิ่นสาหร่ายทะเล หรือกลิ่นทะเล นอกจากนี้ไม่ควรมีกลิ่นแปลกปลอม เช่น กลิ่นโคลน หรือกลิ่นหญ้าหมัก เหงือกสีขาวใส ตากลมนูนสีดำเห็นประกาย ปราศจากตำหนิ เช่น รอยถลอก และเมื่อทำให้สุกกุ้งสดควรมีลักษณะสีออกส้มสดใส มีรสชาติดี กลิ่นหอม รสหวาน เนื้อสัมผัสนุ่มแน่น และยืดหยุ่น ไม่ยุ่ยและ (มยุรี จัยวัฒน์, 2558)

ภาพที่ 9 ลักษณะปรากฏของกุ้งขาวที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการทดลอง

2. ผลการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างกุ้งต่อความสามารถในการเกิดเจลของกุ้งขาว

จากการศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างกุ้งขาวที่เหมาะสมในการผลิตเจลกุ้งขาว ทำโดยเปรียบเทียบระหว่างเจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่มีการปอกเปลือก ผ่าหลังและเอาเส้นดำออกกับกุ้งขาวที่ปอกเปลือกแต่ไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออก โดยลักษณะปรากฏของกุ้งขาวทั้งสองชุดการทดลอง แสดงดังภาพที่ 10 ซึ่งเนื้อกุ้งขาวจะมีลักษณะเงา สีใส มีเนื้อสัมผัสยืดหยุ่น (มยุรี จัยวัฒน์, 2558) มีเนื้อสัมผัสนิ่มเล็กน้อย คล้ายคลึงกับลักษณะของเนื้อกุ้งกุลาดำ (ธิติมา จันทโกศล, 2547) แต่จะมีสีที่ลายที่ผิวหนังอ่อนกว่าเล็กน้อย

กุ้งที่ไม่ได้ผ่าหลัง กุ้งที่ผ่าหลังเอาเส้นดำออก

ภาพที่ 10 ลักษณะปรากฏของกุ้งขาวที่ไม่ได้ผ่าหลังและผ่าหลังเอาเส้นดำออก

จากนั้นทำการเตรียมโซลจากเนื้อกุ้งกุลาดำบด โดยการสับผสมเนื้อกุ้งนานประมาณ 1 นาที แล้วเติมเกลือที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 สับผสมต่อไปจนเนื้อเนียนแล้วอัดลงในไส้เทียมสำหรับบรรจุไส้กรอก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร มัดเป็นท่อนให้มีความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร ซึ่งสีของโซลกุ้งขาวที่ได้ของทั้งสองชุดการทดลองมีลักษณะสีที่แตกต่างกัน โดยตัวอย่างที่ไม่มีการผ่าหลังจะมีสีคล้ำกว่าตัวอย่างที่มีการผ่าหลังเอาเส้นดำออก ซึ่งส่วนของเส้นดำถูกสับผสมรวมกับเนื้อกุ้งจึงทำให้สีของโซลที่ได้มีสีคล้ำ (ภาพที่ 11)

จากนั้นทำการเซทเจลโดยการให้ความร้อนแบบขั้นตอนเดียว (Direct heat) ที่ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที นำเจลที่ได้ไปตรวจสอบคุณสมบัติในด้านต่างๆ ให้ผลการทดลอง ดังนี้

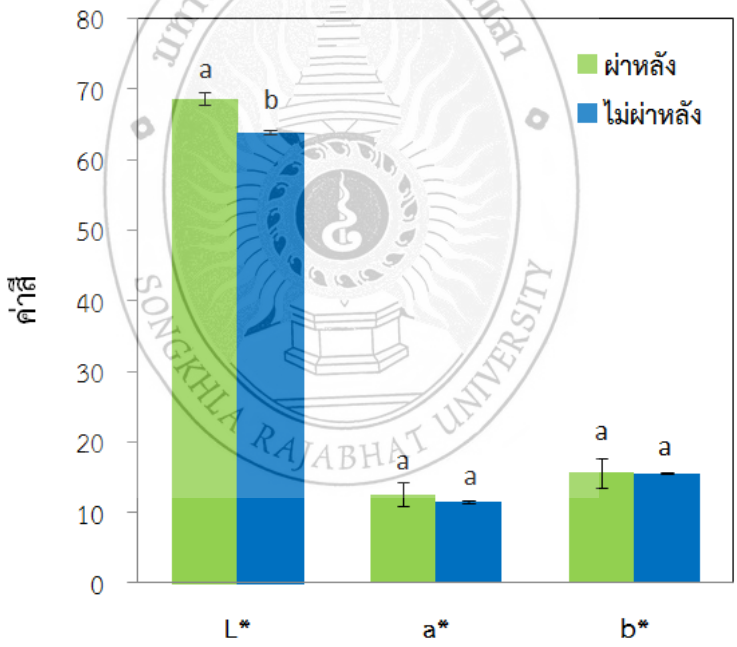
ภาพที่ 11 ลักษณะของโซลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ไม่ได้ผ่าหลัง (A) และผ่าหลังเอาเส้นดำออก (B)

2.1 ค่าสี

จากการสังเกตลักษณะปรากฏของเจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ไม่ได้ผ่าหลังและผ่าหลังเอาเส้นดำออก พบว่า โดยทั่วไปเนื้อกุ้งขาวบดจะมีสีเทาดำ แต่ภายหลังจากการให้ความร้อนเจลกุ้งขาวทั้งสองชุดการทดลองจะมีสีส้มอมชมพูแสดงดังภาพที่ 12 ซึ่งมีสีสันที่สวยงามแตกต่างจากเจลซูริมิที่ได้จากปลาซึ่งมีสีขาว ธิติมา จันทโกศล (2547) รายงานว่าลักษณะของเนื้อกุ้งกุลาดำบดจะมีลักษณะสีเทาดำ และจะเปลี่ยนเป็นสีส้มแดงเมื่อผ่านการให้ความร้อนซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมีสาเหตุมาจากสีของรงควัตถุที่พบในกุ้ง โดยพบว่ากุ้งมีเม็ดสีที่มีบทบาทสำคัญ คือ กลุ่มแคโรทินอยด์ ซึ่งได้แก่ แอสตาแซนธีน ที่บริเวณผิวใต้เปลือกของกุ้ง (Okada *et al.*, 1994) นอกจากนี้ยังพบแคโรทิโน-โปรตีนทั้งสีน้ำเงินและสีแดงในเนื้อกุ้ง ดังนั้นสีที่ปรากฏขึ้นของกุ้งขาวตามธรรมชาติจึงอาจเกิดจากผลรวมระหว่างสีของแอสตาแซนธีนเอสเทอร์และสีของแคโรทิโนโปรตีน (Okada *et al.*, 1995) การเสียสภาพของโครงสร้างเชิงซ้อนของแอสตาแซนธีนกับโปรตีนอันเนื่องมาจากความร้อน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง spectroscopic และคุณสมบัติการมองเห็นสีของวัตถุ จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีน้ำเงินมาเป็นสีแดงภายหลังการให้ความร้อน (Von Elbe and Schwartz, 1996) จึงทำให้เจลกุ้งที่ผ่านการให้ความร้อนมีสีส้มอมชมพู

ภาพที่ 12 ลักษณะปรากฏของเจลกุ้งขาว

เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าสีในระบบ CIE Lab พบว่า เจลที่เตรียมจากกุ้งที่มีการผ่าหลังดึงเส้นดำออกจะมีค่า L* (ค่าความสว่าง) สูงกว่าเจลที่เตรียมจากกุ้งที่ไม่ได้มีการผ่าหลังและดึงเส้นดำออก ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่าเจลที่ไม่ได้ดึงเส้นดำออกจะมีสีคล้ำกว่า ทั้งนี้เนื่องจากบริเวณส่วนหลังของกุ้งเป็นส่วนของทางเดินอาหารส่วนปลายหรือส่วนที่เรียกว่าลำไส้ของกุ้งซึ่งมีลักษณะเป็นท่อเล็กพาดไปทางด้านหลังของลำตัวทำหน้าที่ลำเลียงของเสียและอุจจาระไปเปิดออกที่ส่วนท้ายของส่วนท้องเรียกว่าทวารหนักซึ่งอยู่บริเวณส่วนหางของกุ้ง (Shrimp culture, 2016) ซึ่งให้ผลในลักษณะเดียวกับซูริมิจากปลา โดยมีรายงานว่าเครื่องในปลามีผลทำให้ซูริมิจากปลามีสีคล้ำ ดังนั้นจึงจำเป็นจะต้องตัดหัวและควักไส้ออกก่อนที่เข้าสู่กระบวนการแยกเนื้อปลา (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2559) ซึ่งในตัวอย่างเจลกุ้งที่ทำการผ่าหลังจะมีการดึงส่วนของลำไส้ออกไป จะมีค่า L* สูงกว่าเจลกุ้งที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ไม่ผ่านการผ่าหลังที่ไม่ผ่านการผ่าหลัง ส่วนค่า a* ซึ่งบ่งบอกความเป็นสีแดง (+) และสีเขียว (-) และค่า b* ซึ่งบ่งบอกความเป็นสีเหลือง (+) และสีน้ำเงิน (-) ของเจลกุ้งขาวทั้งสองชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\geq0.05$) ดังภาพที่ 13

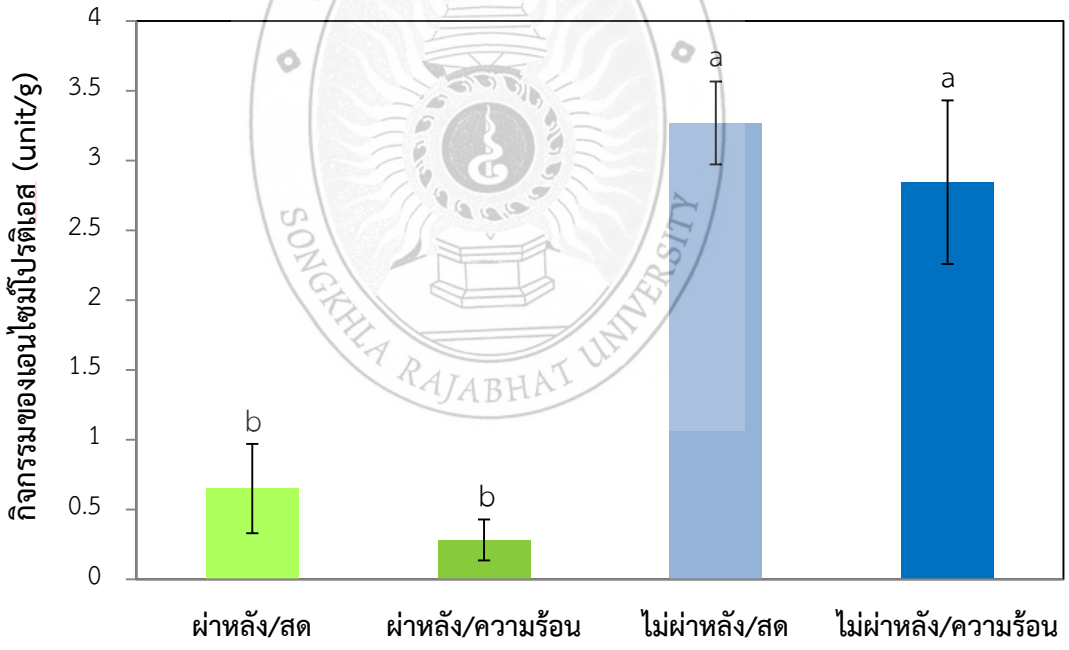


ภาพที่ 13 ค่าสีของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออก และผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่เหมือนกันของการวัดค่าสีเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p\geq0.05$)

2.2 กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส

จากการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่มีอยู่ในโซลของกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและไม่ได้ผ่าหลังก่อนการให้ความร้อน (สด) เปรียบเทียบกับกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสจากเจลกุ้งขาวภายหลังการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ทำการทดลองโดยการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่สภาวะอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่สภาวะความเป็นกรดด่าง 7.0 ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 13 พบว่าโซลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังมีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสต่ำกว่าโซลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ไม่ผ่าหลังอย่างชัดเจน ($p<0.05$) จะเห็นได้ว่าการผ่าหลังเอาเส้นดำซึ่งก็คือส่วนของทางเดินอาหารของกุ้งออกจะสามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่พบในโซลและเจลกุ้งได้อย่างชัดเจน ได้มีรายงานการพบเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนหลายชนิดในระบบทางเดินอาหารของกุ้ง เช่น ตับอ่อนของกุ้ง *Acetes indicus* พบเอนไซม์โปรติเอสที่สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส ที่สภาวะความเป็นกรดด่าง 8.5 (Sherekar *et al.*, 1997) นอกจากนี้มีรายงานการพบเอนไซม์ทริปซิน (Lu *et al.*, 1990) ในเครื่องในของกุ้งกุลาดำและพบเอนไซม์ไคโมทริปซินจากระบบทางเดินอาหารกั้งและปู (Tsai *et al.*, 1989)



ภาพที่ 14 กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสของโซลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออกเปรียบเทียบกับเจลกุ้งขาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p\geq0.05$)

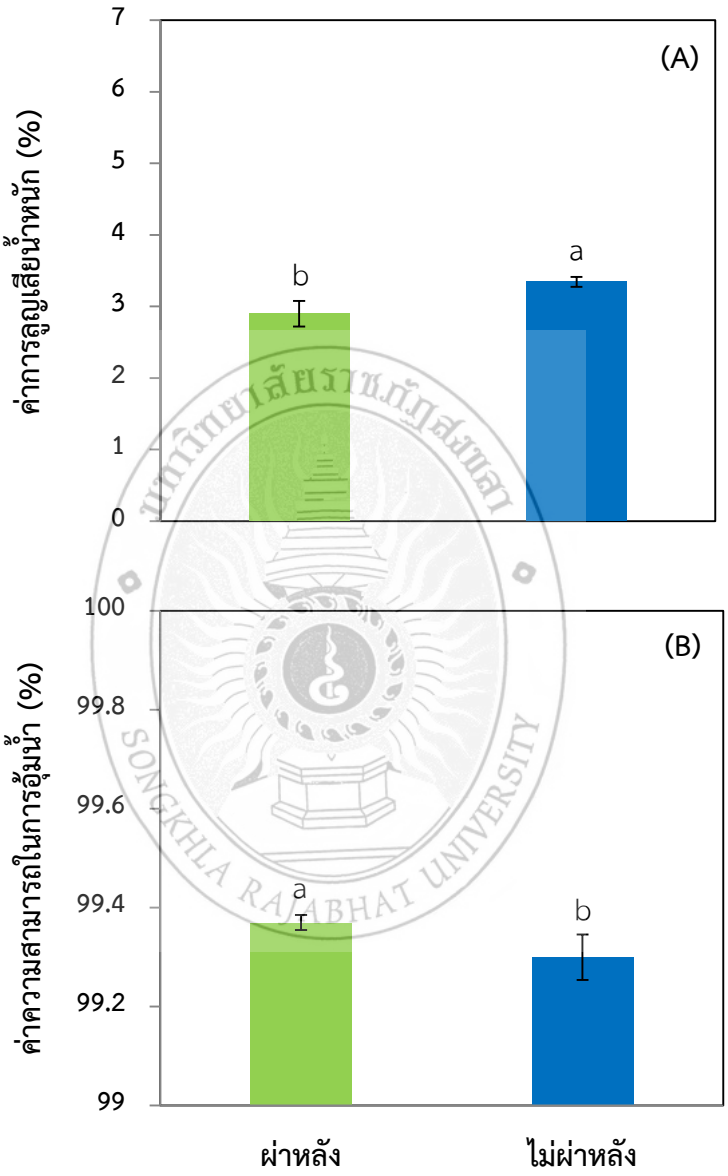
เมื่อทำการเปรียบเทียบกับกิจกรรมของเจลกุ้งที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสของเจลกุ้งที่เตรียมจากกุ้งที่ผ่าหลังและไม่ผ่าหลังแล้วนำมาให้ความร้อนจะมีค่าต่ำกว่าโซลกุ้งขาวที่ยังไม่ผ่านการให้ความร้อน ($p \geq 0.05$) เพียงเล็กน้อย (ภาพที่ 14) แสดงให้เห็นว่าการให้ความร้อนที่ระดับ 85 องศาเซสเซียส นาน 5 นาที ยังไม่เพียงพอในการทำลายหรือยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่มีอยู่ในเนื้อกุ้งได้อย่างสมบูรณ์ แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ดังกล่าวจะยังคงบทบาทสำคัญในการย่อยสลายหรือทำลายโครงสร้างของเจลและส่งผลต่อความแข็งแรงของเจลได้

ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าการผ่าหลังเพื่อเอาเส้นดำออกเป็นขั้นตอนสำคัญที่ไม่สามารถที่จะละเลยการปฏิบัติได้แม้ว่าตัวอย่างกุ้งที่ใช้จะเป็นกุ้งที่มีขนาดเล็กประมาณ 120-140 ตัว/กิโลกรัม และต้องเสียเวลาในดึงเส้นดำออก ทั้งนี้เอนไซม์โปรติเอสที่มีในกุ้งขาวมีกิจกรรมที่ค่อนข้างรุนแรง จากผลการทดลองการผ่าหลังเพื่อดึงเอาเส้นดำออกจะสามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสได้ประมาณ 5 เท่า แต่ถ้ามีการผ่าหลังเพื่อดึงเอาเส้นดำออกร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 เซลเซียส นาน 5 นาที จะสามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสได้ประมาณ 11 เท่า เมื่อเทียบกับกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสของเจลกุ้งที่ไม่ผ่านการผ่าหลังและให้ความร้อน (ภาพที่ 14) ทั้งนี้การผ่าหลังเพื่อดึงเส้นดำออกแล้วนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จะทำให้เอนไซม์โปรติเอสมีกิจกรรมค่อนข้างต่ำแต่ยังคงมีกิจกรรมหลงเหลืออยู่เล็กน้อย

2.3 ค่าการสูญเสียน้ำหนักและค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ

จากการตรวจสอบค่าการสูญเสียน้ำหนักและค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลกุ้งที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออก พบว่า เจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่มีการผ่าหลังเอาเส้นดำออกมีค่าการสูญเสียน้ำหนักต่ำกว่าเจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออก ($p<0.05$) ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 15A ส่วนค่าความสามารถในการอุ้มน้ำพบว่า เจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่มีการผ่าหลังเอาเส้นดำออกมีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าเจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออกอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ภาพที่ 15B) สอดคล้องกับผลการทดลองกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (ภาพที่ 14) กล่าวคือ เจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ไม่ได้ผ่าหลังเพื่อดึงไส้ออกจะมีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสสูง ส่งผลให้มีค่าการสูญเสียน้ำหนักสูง และมีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำ เนื่องจากโครงข่ายของเจลโปรตีนถูกทำลายอันเนื่องมาจากเอนไซม์โปรติเอสได้มากกว่าเจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ทำการผ่าหลังเพื่อแส้นดำออก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ธิติมา จันทโกศล (2547) ที่ได้ทำการตรวจสอบค่าการสูญเสียน้ำหนักและค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลจากกุ้งกุลาดำที่ไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออกพบว่าเจลที่ได้มีค่าความแข็งแรงของเจลค่อนข้างต่ำและมีลักษณะนิ่ม เละ และสูญเสียความสามารถในการอุ้มน้ำ ทั้งนี้การสูญเสียน้ำหนักและ

ความสามารถในการอุ้มของกุ้งเป็นผลมาจากการย่อยสลายโปรตีนกล้ามเนื้ออันเป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์ที่พบในเนื้อเยื่อและระบบทางเดินอาหาร รวมทั้งเอนไซม์จากจุลินทรีย์ ก่อให้เกิดการอ่อนตัวของกล้ามเนื้อ ทั้งนี้เอนไซม์โปรติเนสมีผลในการย่อยสลายโมเลกุลของโปรตีนทำให้โครงสร้างมีลักษณะหลวมและอ่อนตัว (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2544)



ภาพที่ 15 ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (A) และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (B) ของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออก และผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

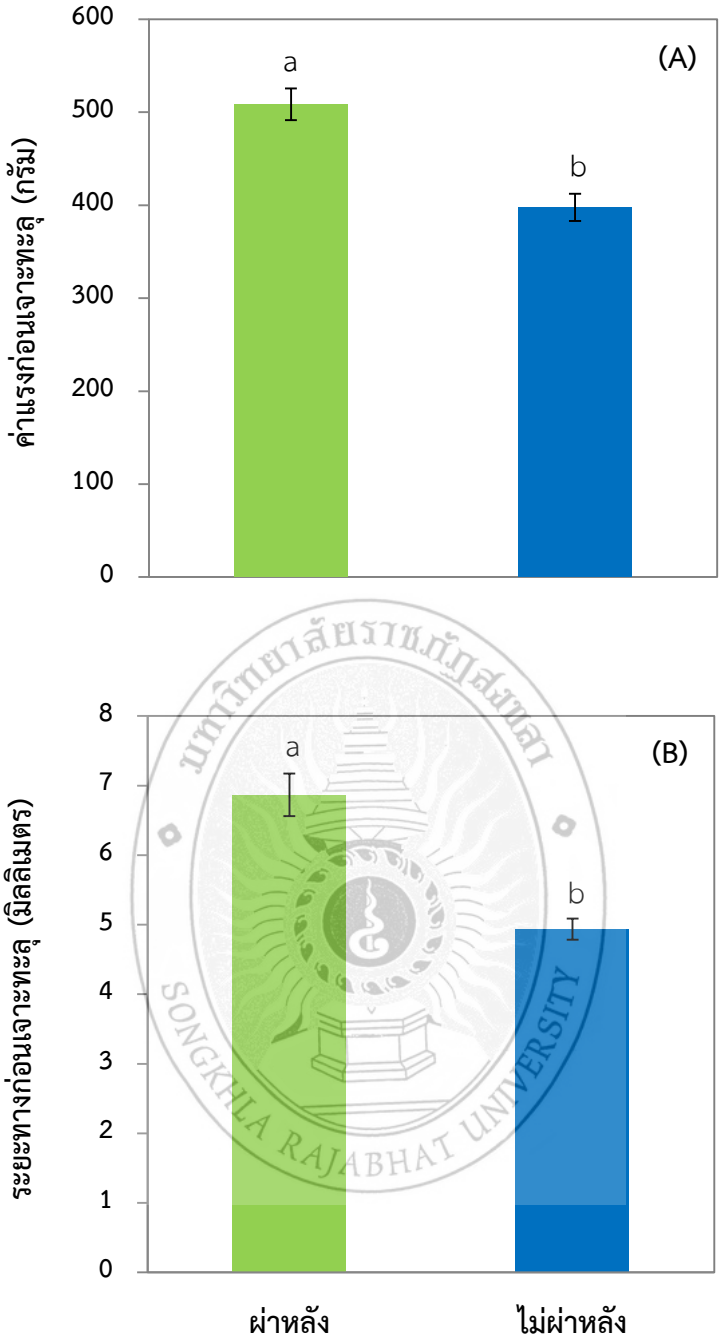
หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในกราฟเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \geq 0.05$)

จะเห็นได้ว่าวิธีการเตรียมตัวอย่างที่แตกต่างกันก็มีผลต่อปริมาณเอนไซม์โปรติเอสที่หลงเหลืออยู่ในกุ้งที่เป็นวัตถุดิบในการผลิตเจลกุ้ง การผ่าหลังเอาเส้นดำออกเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยลดปริมาณเอนไซม์โปรติเอสซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการอ่อนตัวของเจลได้ ดังนั้นการเตรียมตัวอย่างโดยการผ่าหลังเอาเส้นดำออกเป็นวิธีการที่ช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำและลดค่าการสูญเสียน้ำหนักของเจลได้

2.4 คุณลักษณะเนื้อสัมผัส

จากการตรวจสอบคุณลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลกุ้งที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออกโดยการวัดค่าแรงเจาะทะลุ (Breaking force) และระยะทางก่อนเจาะทะลุ (Deformation) แสดงดังภาพที่ 16A และ 16B ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังเอาเส้นดำออกมีค่าแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุสูงกว่าเจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออก ($p>0.05$) แสดงให้เห็นว่าเจลที่ได้มีค่าความแข็งแรงของเจลและมีค่าความยืดหยุ่นสูงกว่าเจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออก ซึ่งผลการทดลองที่ได้ก็เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ค่าการสูญเสียน้ำหนัก ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ กล่าวคือ เจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่านการผ่าหลังเอาเส้นดำออก ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสค่อนข้างต่ำ (ภาพที่ 14) โครงข่ายของเจลโปรตีนถูกทำลายน้อย จึงทำให้เจลยังคงมีโครงข่ายที่ค่อนข้างต่อเนื่อง ส่งผลให้ค่าแรงในการเจาะทำลุค่อนข้างสูง เจลจึงมีความแข็งแรง และมีค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุสุง เจลจึงมีความยืดหยุ่นอันเป็นผลจากโครงข่ายของเจลที่มีลักษณะแน่นทึบ ส่งผลให้สามารถกักเก็บน้ำไว้ในโครงข่ายของเจลได้มาก ส่งผลให้ค่าการสูญสียน้ำหนักค่อนข้างต่ำและค่าความสามารถในการอุ้มน้ำค่อนข้างสูง (ภาพที่ 15) เจลจึงมีลักษณะยืดหยุ่น

ทั้งนี้ ธิติมา จันทโกศล (2547) ได้รายงานอิทธิพลของเอนไซม์โปรติเอสต่อค่าความแข็งแรงของเจลกุ้ง ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร โดยการเติมโปรตีนพลาสมาเลือดวัว (Beef plasma protein, BPP) ร้อยละ 3 เพื่อเป็นสารยับยั้งการย่อยสลายของเอนไซม์โปรติเอสในเจลกุ้งกุลาดำแล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งไม่เติม BPP พบว่าค่าแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลกุ้งที่มีการเติม BPP ร้อยละ 3 มีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการเติม ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์โปรติเอสในกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายโปรตีนไมโอไฟบริลซึ่งส่งผลให้การจัดเรียงตัวของโปรตีนในการเกิดเจลลดลง นอกจากนี้การให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส จะต้องผ่านอุณหภูมิที่เอนไซม์โปรติเอสในกุ้งมีกิจกรรมสูงสุด คือที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งการให้ความร้อนทำให้ตัวอย่างมีอุณหภูมิประมาณ 55-70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานานประมาณ 10 นาที ซึ่งเป็นระยะเวลานานเพียงพอที่จะทำให้เอนไซม์โปรติเอสมีกิจกรรมแล้วทำให้เกิดการอ่อนตัวของเจลได้



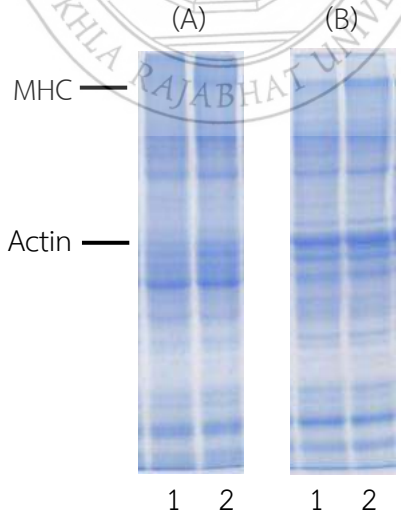
ภาพที่ 16 ค่าแรงเจาะทะลุ (A) และค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุ (B) ของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออก และผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในกราฟเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \geq 0.05$)

จะเห็นได้ว่าวิธีการดึงเส้นดำออกเป็นขั้นตอนหนึ่งที่ช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจล ซึ่งวิธีการดังกล่าวเป็นการกำจัดเอนไซม์โปรติเอสออกจากวัตถุดิบเบื้องต้น ทำให้ลดการย่อยสลายโปรตีนไมโอซินซึ่งเป็นโปรตีนหลักในกล้ามเนื้อ ทั้งนี้การย่อยสลายของโปรตีนไมโอซินเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำทำให้เกิดการสูญเสียโครงสร้างของโปรตีนที่มีความเกี่ยวข้องกับการสร้างแรงกระทำและการจับกันของโมเลกุล ดังนั้นการย่อยสลายหรือการทำลายโปรตีนไมโอไฟบริลด้วยเอนไซม์โปรติเนสมีผลยับยั้งการเกิดโครงข่ายสามมิติของเจลในระหว่างการให้ความร้อนซึ่งส่งผลต่อค่าความแข็งแรงของเจลที่ได้ (Visessanguan *et al.,* 2000)

2.4 รูปแบบของโปรตีนไมโอไฟบริล

ทำการตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนไมโอไฟบริลของเจลขาวโดยใช้วิธี SDS-PAGE พบว่ารูปแบบโปรตีนแบบนอนรีดิวซิง (non-reducing) ของเจลกุ้งที่มีการเตรียมเจลโดยไม่ได้ผ่าหลังเพื่อดึงเส้นดำออกจะมีความเข้มของแถบโปรตีนไมโอซินเส้นหนัก (Myosin heavy chain: MHC) น้อยกว่า (แถบ 1A) ตัวอย่างที่มีการผ่าหลังเพื่อดึงเส้นดำออก (แถบ 2A) ส่วนรูปแบบโปรตีนแบบรีดิวซิง ซึ่งมีการเติม β-mercaptoethanol ซึ่งสามารถทำลายพันธะไดซัลไฟด์ได้ พบว่า แถบโปรตีน MHC ในชุดการทดลองไม่ได้ผ่านการผ่าหลังพบว่ามีความเข้มของแถบโปรตีนค่อนข้างจาง (แถบ 1B) ส่วนตัวอย่างที่ผ่าหลังจะมีแถบโปรตีนค่อนข้างเข้มกว่ามาก (แถบ 2B) แสดงให้เห็นว่าเจลที่ไม่ได้ผ่าหลังเพื่อดึงเส้นดำออก จะมีการสร้างพันธะไดซัลไฟด์ไม่มากนัก ส่วนเจลที่ผ่านการผ่าหลังจะมีการสร้างพันธะไดซัลไฟด์มากกว่า สอดคล้องกับผลการทดลองทางด้านเนื้อสัมผัสที่พบว่าเจลที่ได้ความแข็งแรงมากกว่า

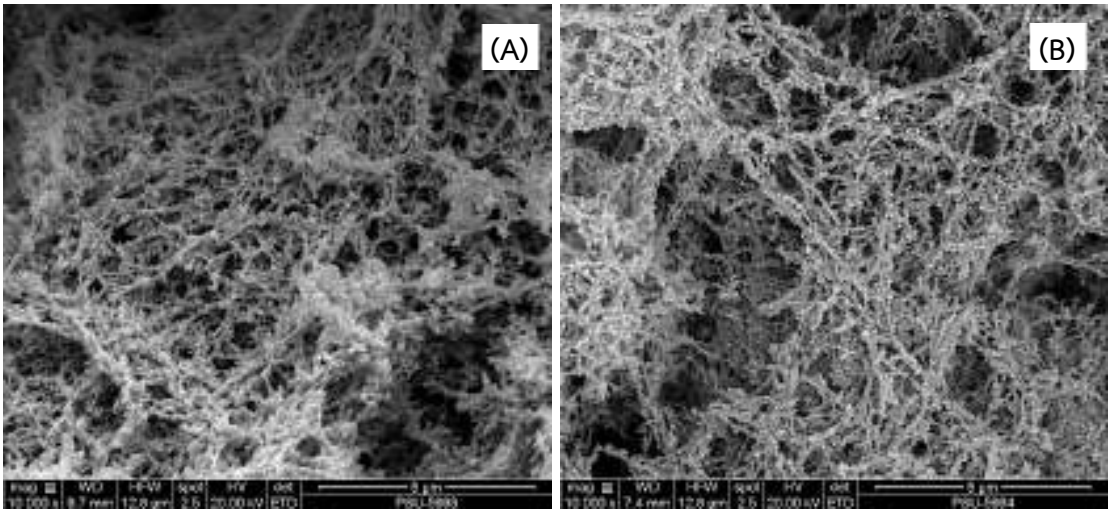


ภาพที่ 17 รูปแบบของโปรตีนโดย SDS-PAGE ของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวไม่ได้ผ่าหลัง (แถบ 1) และผ่าหลังเอาเส้นดำออก (แถบ 2) ทำให้เกิดเจลโดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที โดยภาพ (A) เป็นโปรตีนที่ไม่มีเบต้า-เมอแคปโตเอทานอล, ภาพ (B) เป็นโปรตีนที่มีเบต้า-เมอแคปโตเอทานอล และ MHC: ไมโอซินเส้นหนัก

2.5 โครงสร้างทางจุลภาค

จากการนำเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออกมาตรวจสอบโครงสร้างทางจุลภาคโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope) ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 18 จะเห็นได้ว่าเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังมีขนาดของเส้นใยโปรตีนที่หนา มีขนาดใหญ่ มีโครงข่ายของเจลที่ซับซ้อนและแน่น (ภาพที่ 18A) ในขณะที่เจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออกจะมีเส้นใยโปรตีนที่ไม่ต่อเนื่อง มีช่องว่างภายในโครงข่ายโปรตีนขนาดใหญ่ (ภาพที่ 18B) ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (ภาพที่ 14) ซึ่งพบว่าการผ่าหลังเพื่อดึงเอาเส้นดำแล้วให้ความร้อนจะสามารถจะสามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสได้ประมาณ 11 เท่า ทั้งนี้ช่องว่างภายในโครงข่ายโปรตีนที่พบในเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งที่ไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำอาจเป็นผลมาจากกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสในการย่อยสลายโปรตีน ทำให้โครงข่ายของเจลจึงไม่ต่อเนื่อง จึงไม่สามารถกักเก็บโมเลกุลของน้ำไว้ในโครงข่ายของเจลได้ จึงทำให้เกิดการสูญเสียน้ำหนักสูงอันเป็นผลมาจากการสูญเสียน้ำออกจากโครงข่ายของเจลในระหว่างการให้ความร้อน ส่งผลให้เจลมีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำ (ภาพที่ 15) ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจสอบคุณลักษณะเนื้อสัมผัสของที่เจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งที่ไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออก จะมีค่าความแข็งแรงของเจลและมีค่าความยืดหยุ่นต่ำกว่าเจลที่เตรียมจากกุ้งที่มีการผ่าหลังเพื่อดึงเส้นดำออก อันเป็นผลจากการที่เส้นใยโปรตีนไม่ต่อเนื่องจึงทำให้เจลเกิดการอ่อนตัว ของเจลได้ (ภาพที่ 16) สอดคล้องกับงานวิจัยของธิติมา จันทโกศล (2547) รายงานว่าในระหว่างการให้ความร้อนสามารถส่งเสริมให้เกิดการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสจึงทำให้เกิดการสลายโครงสร้างของโปรตีน โดยไมโอซินเส้นหนักเกิดการย่อย จึงทำให้โปรตีนไม่สามารถเชื่อมต่อกันเป็นโครงข่ายโปรตีนที่มีความแข็งแรงได้ ทำให้ไม่สามารถกักเก็บน้ำไว้ภายในโครงข่ายของเจลได้ ส่งผลให้มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ และค่าความแข็งแรงของเจลต่ำ

ดังนั้นจึงคัดเลือกวิธีการผ่าหลังกุ้งเพื่อดึงไส้ออกเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างกุ้งสำหรับทำเจลกุ้งมาใช้ในการเตรียมตัวอย่างสำหรับทำการทดลองในข้อต่อไป



ภาพที่ 18 โครงสร้างทางจุลภาคของของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลัง (A) และไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออก (B) และผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที (กำลังขยาย 10,000 เท่า)

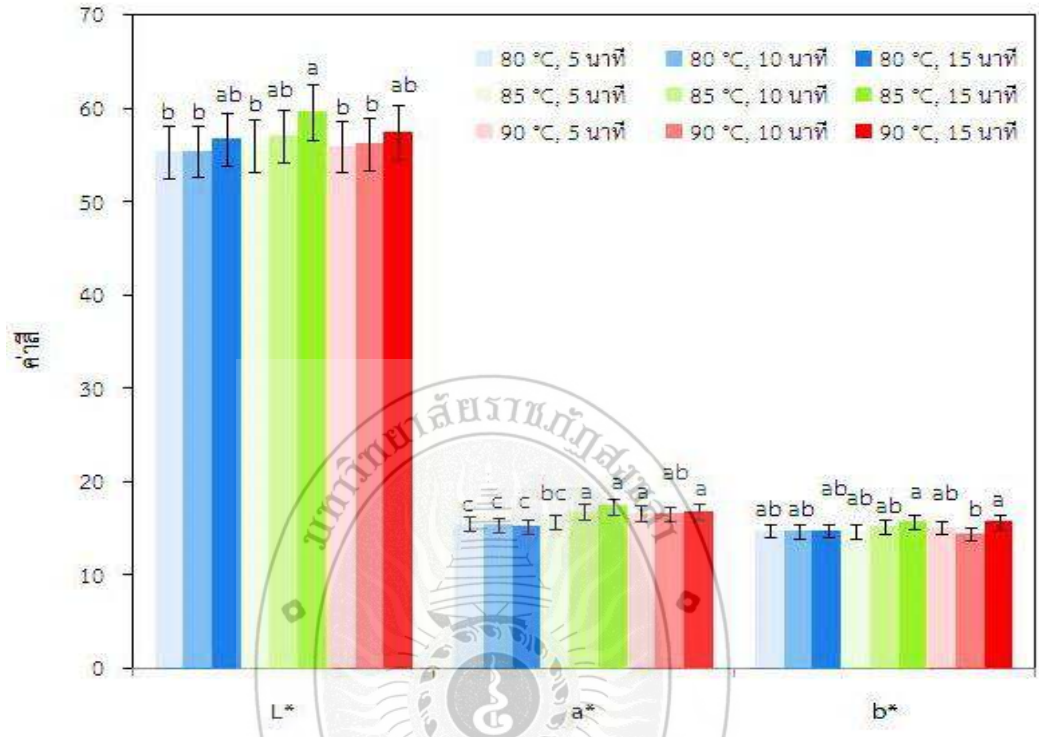
3. ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่อความสามารถในการเกิดเจลของกุ้งขาว

ทำการเตรียมกุ้งขาวโดยนำกุ้งมาปอกเปลือก ผ่าหลัง และดึงเส้นดำออกก่อนจะนำมาหั่นเพื่อเตรียมโซลกุ้งขาว ซึ่งเป็นวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ได้คัดเลือกมาจากการทดลองข้อที่ 2 ทำการเตรียมโซลกุ้งโดยการสับผสมกับเกลือความเข้มข้นร้อยละ 2.5 อัดลงในไส้เทียมเช่นเดียวกับการทดลองในข้อที่ 2 จากนั้นทำการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่อความสามารถในการเกิดเจลของกุ้งขาว โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 80, 85 และ 90 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 5, 10 และ 15 นาที เจลที่ได้นำไปตรวจสอบคุณสมบัติในด้านต่างๆ ให้ผลการทดลองดังนี้

3.1 ค่าสี

จากการตรวจสอบค่าสีของเจลกุ้งโดยการวัดค่าสี ในระบบ CIE Lab พบว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบ เจลกุ้งขาวที่ผ่านการให้ความร้อนและระยะเวลาในการให้ความร้อนที่ระดับต่างๆ พบว่าเจลกุ้งขาวที่ผ่านการให้ความร้อนทุกชุดการทดลองมีค่า L* (ค่าความสว่าง) ค่า a* (ค่าความเป็นสีแดง (+) และสีเขียว (-)) และ b* (ค่าความเป็นสีเหลือง (+) และสีน้ำเงิน (-)) ใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 19) โดยเจลกุ้งขาวมีลักษณะสีที่ไม่มีความแตกต่างกันในทุกชุดการทดลอง (ภาพที่ 19) อย่างไรก็ตามที่สภาวะอุณหภูมิในการให้ความร้อนเดียวกัน ค่า L* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น ส่วนค่า a* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อน ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงสีของเจลกุ้งดังกล่าวเกิดจากการเสียสภาพของโปรตีน ความร้อนทำให้เกิดทำลายโครงสร้างเชิงซ้อนของ

แอสตาแซนธีนกับโปรตีน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการมองเห็นสีของวัตถุ จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของโครงสร้างเชิงซ้อนเป็นสีแดง (Von Elbe and Schwartz, 1996) และสีจะเข้มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อนจนถึงจุดที่เกิดการเสียสภาพของโปรตีนอย่างสมบูรณ์ ดังนั้นจึงทำให้ค่า a* ของเจลกุ้งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อน



ภาพที่ 19 ค่าสีของเจลกุ้งขาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาแตกต่างกัน

หมายเหตุ ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่เหมือนกันของการวัดค่าสีเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \geq 0.05$)

3.2 ค่าการสูญเสียน้ำหนักและค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ

จากการตรวจสอบค่าการสูญเสียน้ำหนักและค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลกุ้งขาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 3 ระดับ และระยะเวลาในการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน 3 ระดับ ได้ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 20 ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่าการสูญเสียน้ำหนักของเจลกุ้งที่ผ่านการให้ความร้อนที่สภาวะอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที มีค่าต่ำที่สุด รองลงมาได้แก่ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที และที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ($p \geq 0.05$) ดังภาพที่ 21A ในขณะที่ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลกุ้งในทุกชุดการทดลองมีค่าใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยค่าความสามารถในการอุ้มน้ำที่มีค่ามากที่สุดสามลำดับแรก ได้แก่ ที่สภาวะอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5, 10 และ 15 นาที ตามลำดับ จากผลการทดลอง จะเห็นได้ว่า การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มีแนวโน้มที่จะ

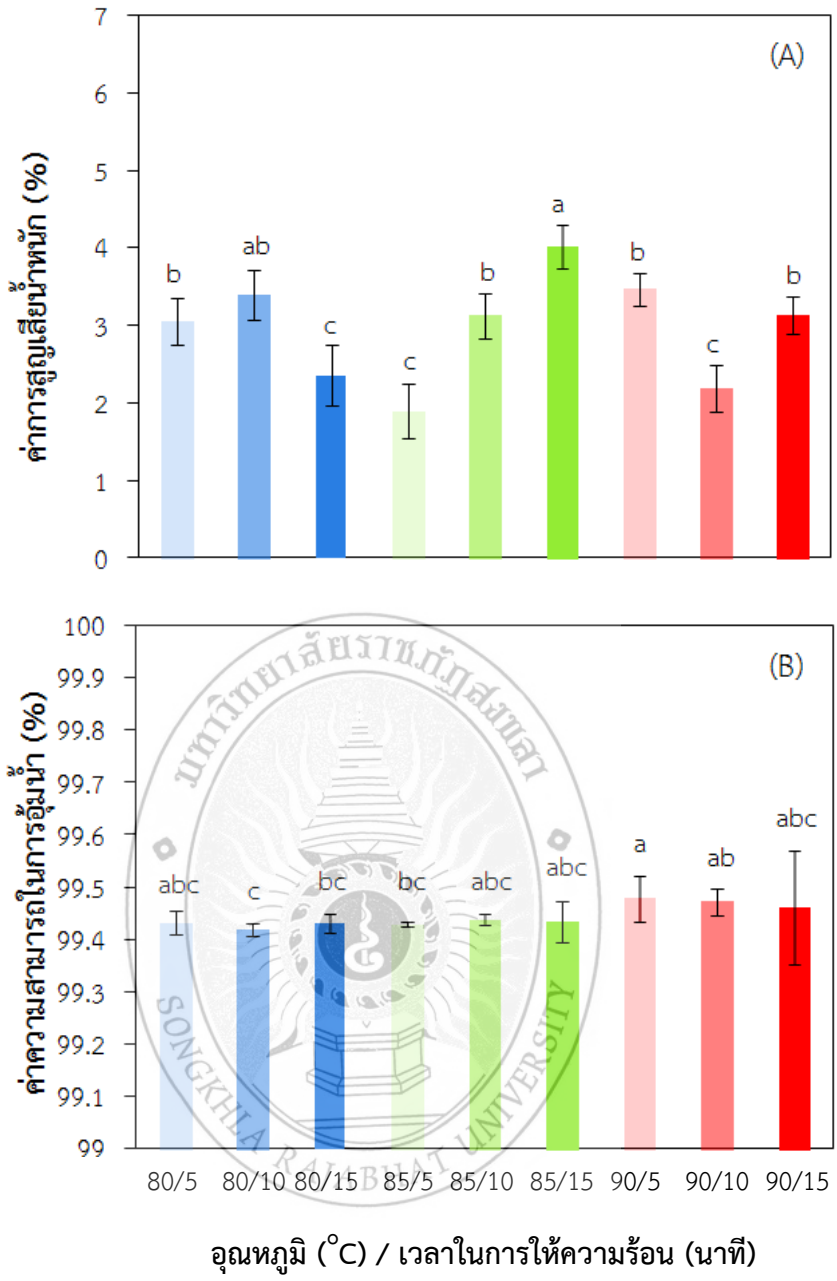
ให้เจลที่มีคุณลักษณะที่ดีทีสุด คือมีค่าการสูญเสียน้ำหนักที่ต่ำ และความสามารถในการอุ้มน้ำค่อนข้างสูง

3.3 คุณลักษณะเนื้อสัมผัส

จากการตรวจสอบคุณลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลกุ้งขาวโดยการวัดค่าแรงเจาะทะลุ และระยะทางก่อนเจาะทะลุของเจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังแล้วผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกัน ได้ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 21A และ 21B ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเจลกุ้งที่เตรียมจากตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสแนวโน้มจะมีค่าแรงเจาะทะลุต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 85 และ 90 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (ภาพที่ 21A) ทั้งนี้การให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้นส่งผลให้เกิดการสร้างพันธะบางชนิดที่มีบทบาทสำคัญในการสร้างความแข็งแรงของเจล ได้แก่ อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิค ซึ่งจะเกิดได้มากขึ้นที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2549) ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเจลที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มีค่าแรงเจาะทะลุสูงกว่าการให้ความร้อนที่สภาวะอื่นอย่างชัดเจน ($p<0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ค่าแรงเจาะทะลุมีค่าลดลง ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการให้ความร้อนที่นานเกินไปจะทำให้เกิดการสะสมพลังงานความร้อนที่มากเกินพอที่จะทำลายพันธะระหว่างโมเลกุลของโปรตีนได้ ส่งผลให้เจลมีความแข็งแรงลดลง (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2549) ส่วนค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุ พบว่าเมื่อให้ความร้อนในการเซ็ทเจลที่ระยะเวลาสั้นๆ จะมีค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุจะมีค่าสูงกว่าการให้ความร้อนเป็นระยะเวลานาน (ภาพที่ 21B)

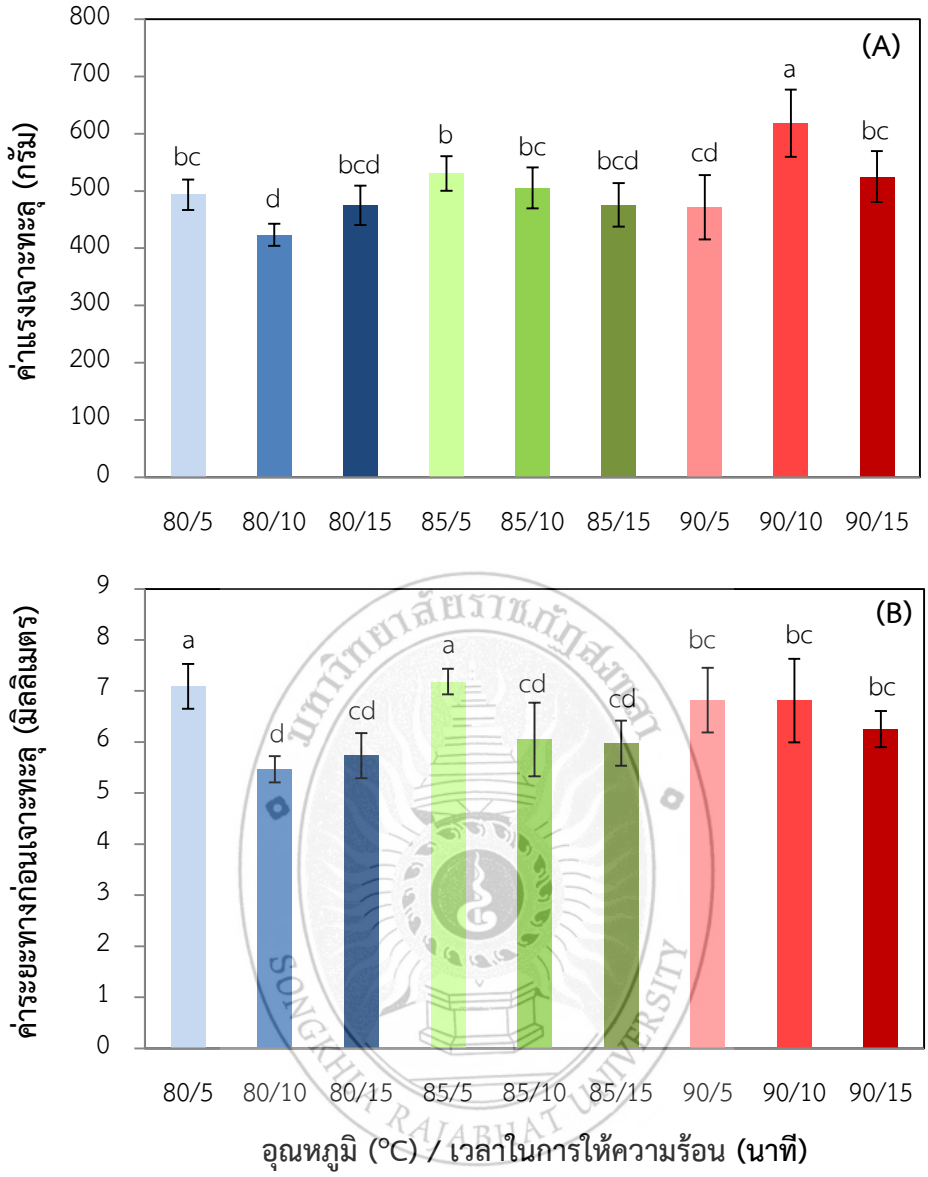
3.4 รูปแบบของโปรตีนไมโอไฟบริล

จากการตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนไมโอไฟบริลของเจลกุ้งขาวที่เซ็ทเจลโดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกัน ทำการตรวจสอบโดยใช้วิธี SDS-PAGE แบบนอนรีดิวซิงและรีดิวซิง ให้ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 22A และ 22B ตามลำดับ เมื่อสังเกตแถบของโปรตีนไมโอซินเส้นหนัก (MHC) ของตัวอย่างที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสมีความหนาของแถบโปรตีน MHC น้อยกว่าเจลที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 85 และ 90 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นว่าการให้ความร้อนที่ระดับ 85 และ 90 ทำให้พันธะไดซัลไฟด์เกิดขึ้นในเจลกุ้งขาวได้มากกว่าที่ระดับ 80 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เนื่องจากการให้ความร้อนที่สภาวะอุณหภูมิสูงจะเร่งการสร้างพันธะไดซัลไฟด์ได้มากกว่า อย่างไรก็ตามระยะเวลาในการให้ความร้อนที่แตกต่างกันไม่ได้ทำให้ความหนาของแถบโปรตีน MHC มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน



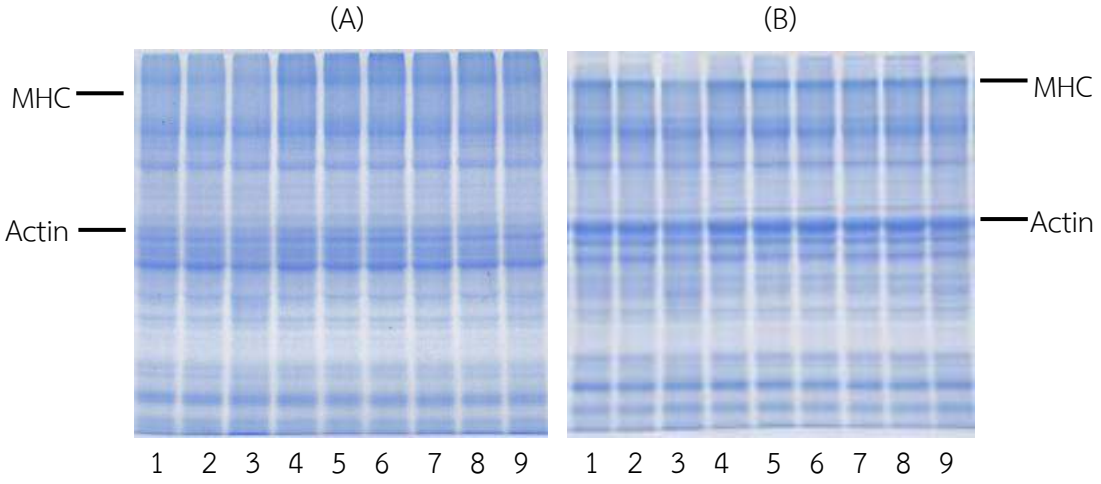
ภาพที่ 20 ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (A) และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (B) ของเจลกุ้งขาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่สภาวะอุณหภูมิและเวลาแตกต่างกัน

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในกราฟเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \geq 0.05$)



ภาพที่ 21 ค่าแรงเจาะทะลุ (A) และค่าระยะทางก่อนเจาะทะลุ (B) ของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและไม่ได้ผ่าหลังเอาเส้นดำออก

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในกราฟเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \geq 0.05$)

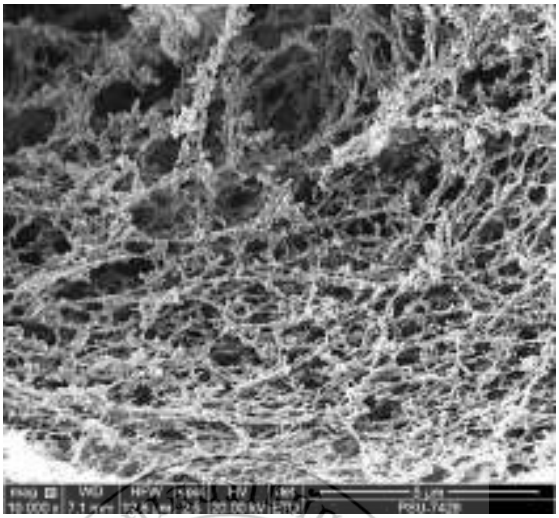


ภาพที่ 22 รูปแบบของโปรตีนโดย SDS-PAGE ของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 5, 10 และ 15 นาที (แถบ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ) อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5, 10 และ 15 นาที (แถบ 4, 5 และ 6 ตามลำดับ) และอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5, 10 และ 15 นาที (แถบ 7, 8 และ 9 ตามลำดับ) โดยภาพ A เป็นโปรตีนที่ไม่มีเบต้า-เมอแคปโตเอทานอล, ภาพ B เป็นโปรตีนที่มีเบต้า-เมอแคปโตเอทานอล และ MHC: ไมโอซินเส้นหนัก

3.5 โครงสร้างทางจุลภาค

จากการนำเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังแล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มาตรวจสอบโครงสร้างทางจุลภาคโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope) ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 23 จะเห็นได้ว่าเจลกุ้งขาวที่มีขนาดของเส้นใยโปรตีนที่หนาแน่น มีโครงข่ายของเจลที่ซับซ้อนและซ้อนกันแน่นทึบ เส้นใยโปรตีนจะมีลักษณะต่อเนื่อง มีช่องว่างภายในโครงข่ายโปรตีนน้อย เมื่อทำการเปรียบเทียบกับโครงข่ายเจลโปรตีนจากเจลกุ้งที่ผ่าหลังและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที (ภาพที่ 18A) พบว่า โครงข่ายของเจลที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มีลักษณะแน่นทึบเป็นร่างแห ซับซ้อนและมีลักษณะต่อเนื่องมากกว่าสอดคล้องกับผลการตรวจสอบคุณลักษณะเนื้อสัมผัส (ภาพที่ 21A) ซึ่งพบว่าค่าแรงเจาะทะลุของเจลที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มีค่าสูงกว่าเจลที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับผลการทดลองค่าการสูญเสียน้ำหนักโดยพบว่าเจลที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มีค่าการสูญเสียน้ำหนักต่ำ (ภาพที่ 20A) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่

โครงข่ายของเจลที่หนาแน่นทึบ ทำให้สามารถกักเก็บน้ำไว้ในโครงข่ายของเจลได้ และส่งผลให้เจลมีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำสูงด้วย (ภาพที่ 20B)



ภาพที่ 23 โครงสร้างทางจุลภาคของของเจลกุ้งขาวที่เตรียมจากกุ้งขาวที่ผ่าหลังและผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที (กำลังขยาย 10,000 เท่า)

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ในการเตรียมตัวอย่างกุ้งขาวที่มีขนาดเล็กประมาณ 120-140 ตัว/กิโลกรัม สำหรับใช้ในการผลิตเจลกุ้งจำเป็นจะต้องทำการผ่าหลังเอาเส้นดำออกก่อนทำการสับผสม ซึ่งเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญในการกำจัดเอนไซม์โปรติเอสที่มีบทบาทสำคัญที่ทำให้เกิดการอ่อนตัวของเจล จากนั้นทำการเซ็ทเจลโดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที โดยเจลที่ได้จะมีค่าการสูญเสียน้ำหนักต่ำ เจลมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูง มีค่าแรงเจาะทะลุและระยะทางก่อนเจาะทะลุสูง เจลมีความแข็งแรงและยืดหยุ่น อันเป็นผลมาจากเจลมีโครงข่ายที่แน่นทึบ ซับซ้อน และต่อเนื่อง

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาอิทธิพลของการบ่มที่สภาวะอุณหภูมิและเวลาต่างๆ ต่อความสามารถในการเกิดเจลของกุ้งขาว เพื่อศึกษาอิทธิพลของเอนไซม์ endogenous transglutaminase ที่มีต่อความสามารถในการเกิดเจลของกุ้ง เนื่องจากเจลที่ได้จากการให้ความร้อนแบบขั้นตอนเดียวยังมีค่าความแข็งแรงของเจลน้อยเมื่อเทียบกับซูริมิจากปลา

2. ในการนำตัวอย่างโซลกุ้งขาวที่บรรจุในไส้เทียมมาเซ็ทเจลโดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ ทำโดยการนำไส้เทียมที่บรรจุโซลกุ้งขาวแล้ว มาใส่ในถุงร้อนแทนการนำมาต้มโดยตรง เพื่อป้องกันการรั่วไหลของน้ำออกจากมาจากเจลลงไปในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งจะช่วยลดข้อผิดพลาดในการทำการทดลองวัดค่าการสูญเสียน้ำหนักของเจลกุ้ง ทั้งนี้จะต้องทำการปิดผนึกถุงร้อนโดยวิธีสุญญากาศเพื่อป้องกันไม่ให้อากาศเป็นตัวขัดขวางการส่งผ่านความร้อน จากนั้นจึงนำตัวอย่างไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิตามที่กำหนด

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2556. **มาตรฐานและเกณฑ์การตรวจประเมินคุณภาพลูกกุ้งขาว**[ออนไลน์]. สืบค้นจาก : www.shrimpaqua.com/download/.../StandardsWhiteShrimp_01-04-56.p [27/11/2556].

กฤษณา โสภณพงษ์. 2538. **การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของกุ้งแช่เยือกแข็ง**. ว.การประมง. 48(6): 495-509.

จิราวรรณ ชี้เจริญ. 2549. **การเกิดเจลและการปรับปรุงเจลเนื้อกุ้งกุลาดำบด** (*Penaeus monodon* Fabricius). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ถนอมจิตร สิริภคพร. 2555. **อุตสาหกรรมกุ้งไทยปี 2555 และแนวโน้มปี 2556**[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: www.bot.or.th/Thai/EconomicConditions/Thai/.../ShrimpIndustry.pdf [27/11/2556].

ธิติมา จันทโกศล. 2547. **ผลของความดันสูงและความร้อนต่อคุณลักษณะโปรตีนกล้ามเนื้อและคุณสมบัติการเกิดเจลของกุ้งกุลาดำ**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เปรมวดี เทพวงศ์. 2548. **ผลของเอนไซม์ทรานกลูทามิเนสจากจุลินทรีย์ต่อคุณสมบัติของเจลซูริมิที่ผลิตจากปลาแป้น (*Leiognathus* spp.)**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาผลิตภัณฑ์ประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิกิพีเดีย, สารานุกรมเสรี. 2559. **กุ้งขาว**[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://th.wikipedia.org/ wiki/[27/11/2559].

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2543. **ซูริมิและผลิตภัณฑ์จากซูริมิ**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2544. **เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ**. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2549. **ซูริมิวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเนื้อปลาบด**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

An, H., Seymour, T.A., Wu, J., and Morrissey, M.T. 1994. **Assay system and characterization of Pacific whiting (*Merluccius productus*) protease**. J. Food Sci. 59: 277-281.

Boone, 1931. **Cultured Aquatic Species Information Programme: *Penaeus vannamei*** [Online]. Available: http//www.fao.org/fishery/culturedspecies /Litopenaeus_vannamei/en. [30/11/2013].

Chander, R., and Thomas, P. 1999. **Heat-stable alkaline proteinase from shrimp waste**. Fish Technol. Soc. Fish Technol. India. 36: 82-86.

Damodaran, S. 1996. **Amino acids, peptides, and proteins**. *In* Food Chemistry. (Fennema, O.R., ed.). P.943-1012. Marcel Dekker, Inc. New York.

Foegeding, E., Lanier, T.C. and Hultin, H.O. 1996. **Characteristics of edible plant tissues**. *In* Food Chemistry. (Fennema, O.R., ed). P.943-1012. Marcel Dekker, Inc. New York.

Jatupong, V., Barbosa-canovas, G., and Swanson, B.G. 2000. **The influence of temperatue on functional properties of high hydrostatic pressure surimi gels**. *In* Innovations infood processing. (Barbosa-Canoas, G.V., and Gould, G.W., eds). P. 111-112. Technomic Publishing Co. Inc. New York.

Kijowski, J. 2001. **Muscle proteins**. *In* Chemical & Functional Properties of Food Proteins. (Sikorski, Z.E., ed.). P. 233-269. Technomic Publishing Co. Inc. New York.

Laemmli, U.K. 1970. **Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4**. Nature. 227: 680-685.

Lanier, T.C. 1992. **Measurement of surimi composition and functional properties.** *In* Surimi Technology. (Lanier, T.C. and Lee, C.M., eds.). P.123-163. Marcel Dekker, Inc. New York.

Lu, P.J., Liu, H.C., Tsai, I.H. 1990. **The midgut trypsins of shrimp (*Penaeus monodon*) high efficiency toward native protein substrates including collagen**. Biol Chem Hoppe-Seyler. 371: 851-859.

Manheem, M., Benjakul, S., Kijroongrojana, K., Faithong, N. and Visessanguan, W. 2013. **Effect of pre-cooking times on enzymes, properties, and melanosis of Pacific white shrimp during refrigerated storage**. Inter. Aquatic. Res. 5: 1.

Min, T.S., Chung, N.M., Fujiwara, T., Kuang, and Hasegawa, H. 1987. **Handbook on The Processing of Frozen Surimi and Fish Jelly Products in Southeast Asia**. Koon wah Printing Pte Ltd, Singapore.

Nip, W.K. and Moy, J.H. 1988. **Microstructural changes of ice-chilled and cooked freshwater prawn, *Machrobrachium rosenbergii***. J. Food Sci. 53: 319-322.

Okada, S., Nur-E-Borhan, S.A. and Yamaguchi, K. 1994. **Carotenoid composition in the exoskeleton of commercial black tiger prawns**. Fish. Sci. 60: 213-215.

Okada, S., Nur-E-Borhan, S.A. and Yamaguchi, K. 1995. **Changes in body color appearance of black tiger prawn (*Penaeus monodon*) by the varied composition of carotenoids soluble as carotenoprotein and remaining insoluble after collagenase treatment for the muscular epithelium**. Fish. Sci. 61: 964-967.

Sherekar, S.V. Chandar, R., Karani, M.N., Warrier, S.B., Gore, M.S., and Thomas, P. 1997. **Proteinase activity in Jawala (*Acetes indicus*) at alkaline pH**. Fish Technol. Soc. Fish Technol. India. 34: 47-51.

Shrimp culture. 2010. **Morphology, Anatomy, and Physiology of White Shrimp**[online]. Available: http://shrimp-culture.blogspot.com/2010/09/morphology-anatomy-and-physiology-of.html. [29/11/2016].

Tsai, I., Lui, H., and Chuang, K. 1986. **Properties of two chymotrypsins from the digestive gland of prawn *Penaeus monodon***. FEBS 3874. 204: 257-261.

Visessanguan, W., Ogawa, M., Nakai, S., and An, H. 2000. **Physicochemical changes and mechanism of heat-induced gelation of Arrowtooth Flounder myosin**. J. Agric. Food Chem. 48: 1016-1023.

Von Elbe, J.H., and Schwatz, S.J. 1996. **Colorants**. In Food Chemistry. (Fennema, O.R., ed). p. 943-1012. Marcel Dekker, Inc. New York.

Xiong, Y.L. 1997. **Structure-function relationships of muscle proteins. In Food proteins and their applications**. (Damodaran, S. and Paraf, A., eds.). p. 341-392. Marcel Dekker, Inc. New York.

ภาคผนวก

1) การสกัดเอนไซม์โปรติเอสจากโซลกุ้งกุลาดำ (ดัดแปลงจาก An *et al.,* 1994)

1. อุปกรณ์

1.1 โฮโมจีไนเซอร์

1.2 เครื่องหมุนเหวี่ยง

2. สารเคมี

2.1 ฟอสเฟตบัพเฟอร์ (phosphate buffer) เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 7.0

3. วิธีการ

3.1 ชั่งตัวอย่าง 100 กรัม เติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ที่มีความเป็นกรดด่าง เท่ากับ 7.0 จำนวน 300 มิลลิตร

3.2 โฮโมจีไนส์ให้ละเอียด นำมาหมุนเหวี่ยงแยกส่วนใสที่ความเร็วรอบ 17,500 × g นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.3 นำส่วนใสที่ได้ (เอนไซม์ที่สกัดได้) มาใช้ในการวัดกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสต่อไป

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

2) การวิเคราะห์หาปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์ปาเปนด้วยวิธี Casein-TCA lowry method (ดัดแปลงจาก An *et al.,* 1994)

1. อุปกรณ์

1.1 หลอดทดลอง

1.2 ไมโครปิเปต

1.3 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

1.4 Vorter mixer

1.5 เครื่องหมุนเหวี่ยง

1.6 อ่างควบคุมอุณหภูมิ

1.7 นาฬิกาจับเวลา

2. สารเคมี

2.1 สารละลายเคซีนเข้มข้นร้อยละ 2

2.2 สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 50 (4 องศาเซลเซียสก่อนใช้)

2.3 สารละลายเม็กเวนบัฟเฟอร์ (Mcllvaine Buffer) 0.2 โมลาร์ ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 8.0 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตโดเดคาไฮเดรต (di-soduim hydrogen photsphate dodecahydrate) เข้มข้น 0.2 โมลาร์ ผสมกับโซเดียมซิเตรท (Sodium citrate) เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้ได้ 7.0

3. วิธีการ

3.1 นำสารละลาย cocktail (0.2 M Mclvaine Buffer 625 ไมโครลิตร สารละลายเคซีนเข้มข้นร้อยละ 2 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 200 ไมโครลิตร)

3.2 เติมเอนไซม์ที่สกัดได้ 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันบ่มต่อเป็นเวลา 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาโดยการเติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 50 จำนวน 200 ไมโครลิตร นำไปเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 6500 × g นาน 5 นาที นำสารละลายส่วนใสมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน โดยวิธี Lowry เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานไทโรซีน

3.3 การทำ Blank โดยการเติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 50 ก่อนการเติมเอนไซม์

3) การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lowry method (Lowry *et al*., 1951)

1. อุปกรณ์

1.1 หลอดทดลอง

1.2 นาฬิกาจับเวลา

1.3 vortex mixer

1.4 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2. สารเคมี

2.1 สารละลาย A : โซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 2 ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล

2.2 สารละลาย B : $CuSo_4 \bullet 5H_20$ ร้อยละ 0.5 ในสารละลายโซเดียมซิเตรทที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1

2.3 สารละลาย C : นำสารละลายโฟลีนฟีนอล2 นอร์มอล มาทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่น 1 ต่อ 1 ก่อนใช้

2.4 สารละลาย D : นำสารละลาย B จำนวน 1 มิลลิลิตร + สารละลาย A จำนวน 50 มิลลิลิตร

3. วิธีการ

3.1 นำสารละลายโปรตีนตัวอย่าง 200 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย D จำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex mixer ตั้งทิ้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที

3.2 เติมสารละลาย C 200 ไมโครลิตร ลงไปในของผสมข้อที่ 1 ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex mixer ตั้งทิ้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

3.3 นำสารละลายไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานไทโรซิน

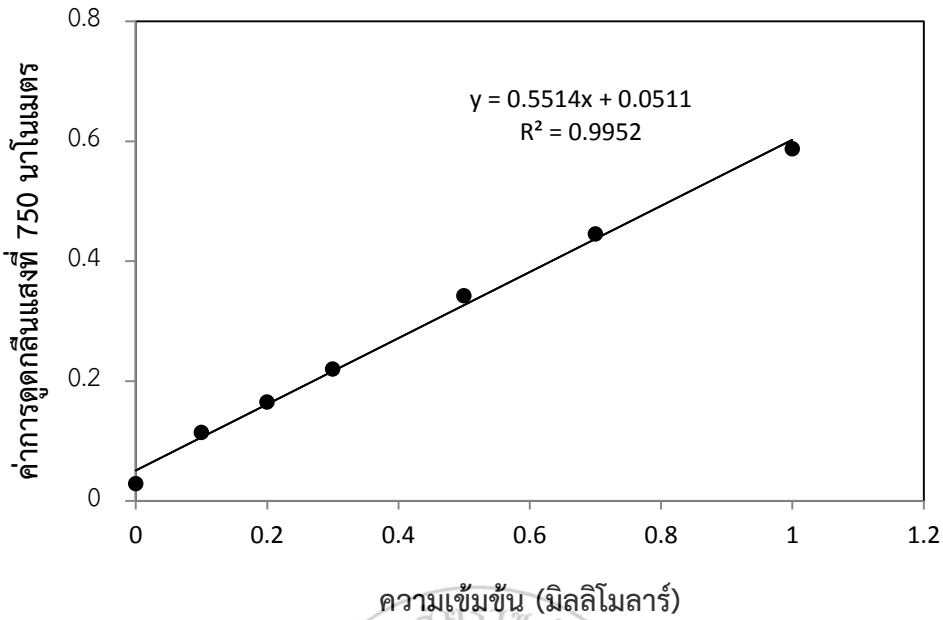
4. การเตรียมกราฟมาตรฐาน

4.1 เตรียมสารละลายไทโรซีน 1 มิลลิโมลาร์

4.2 ดูดละลายไทโรซีน 0, 20, 40, 60, 100, 140 และ 200 ไมโครลิตรปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 200 ไมโครลิตร

4.3 นำสารละลายไทโรซีนจากข้อที่ 2 ที่ความเข้มข้นต่างๆ มาหาปริมาณโปรตีนเช่นเดียวกับตัวอย่าง

4.4 เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไทโรซีนกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร แทนค่าในสมการของกราฟมาตรฐานไทโรซีน



ภาพประกอบภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานสำหรับการหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lowry method โดยใช้สารละลายไทโรซีนเป็นสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

4) การตรวจสอบค่าการสูญเสียน้ำหนัก

1. อุปกรณ์

1.1 เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2. วิธีการ

2.1 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างก่อนและหลังการแปรรูป (ให้ความร้อน)

3. การคำนวณ

$$\text{ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (ร้อยละ)} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักก่อนและหลังการแปรรูป} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนการแปรรูปแปรรูป}}$$

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

5) การตรวจสอบความสามารถในการอุ้มน้ำ (Jatupong *et al*., 2000)

1. อุปกรณ์

1.1 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 50 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11 เซนติเมตร

1.2 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11 เซนติเมตร

1.3 เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.4 อุปกรณ์สำหรับหาปริมาณความชื้น ได้แก่ ตู้อบไฟฟ้า ภาชนะหาความชื้น (จานอลูมิเนียมพร้อมฝา) และโถดูดความชื้น

2. วิธีการ

2.1 นำตัวอย่างมาตัดเป็นชิ้นบางๆ

2.2 ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม นำมาวางบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 50 จำนวน 1 แผ่น

2.3 ปิดทับด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จำนวน 2 แผ่น พับกระดาษกรองแล้วนำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,600 × g นาน 15 นาที

2.4 นำชิ้นตัวอย่างออกจากกระดาษกรอง แล้วนำกระดาษกรองมาชั่งน้ำหนัก

2.5 หาปริมาณความชื้นของตัวอย่าง

3. การคำนวณ

$$\text{ความสามารถในการอุ้มน้ำ (ร้อยละ)} = \frac{(IWC - WL)}{IWC} \times 100$$

โดยที่

IWC = ปริมาณความชื้นที่มีในตัวอย่าง × น้ำหนักตัวอย่าง

WL = น้ำหนักของน้ำที่ออกมาจากตัวอย่างภายหลังการหมุนเหวี่ยง

6) แบบประเมินคุณภาพประสาทสัมผัส สำหรับประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านความสดของกุ้งขาว ดัดแปลงจากวิธีของ กฤษณา โสภณพงษ์ (1996)

ชื่อ.....วันที่.....เวลา.....

คำแนะนำ กรุณาให้ระดับคะแนนความสดของตัวอย่างกุ้งขาวในปัจจัยต่างๆ ตามความรู้สึกของท่านมากที่สุด

ระดับคะแนน	กลิ่น	เนื้อสัมผัส	สี
4	กลิ่นสด กลิ่นหวาน กลิ่นหญ้าหรือสาหร่าย	เนื้อแน่น	สีสม่ำเสมอ สีปกติของกุ้ง
3	กลิ่นเก่า อับ หรือไม่สดเล็กน้อย กลิ่นยีสต์เล็กน้อย กลิ่นคาวเล็กน้อย	เนื้อนิ่มเล็กน้อย	สีเปลี่ยนเล็กน้อย
2	กลิ่นอับ กลิ่นเปรี้ยวเล็กน้อย กลิ่นคาว กลิ่นอับเหมือนถุงเท้าเก่า	เนื้อกระด้าง นิ่มแห้ง	สีซีดจาง
1	กลิ่นเน่า กลิ่นแอมโมนีย กลิ่นอุจจาระ กลิ่นสารเคมี น้ำมันปนเปื้อน	เนื้อนิ่ม – ยุ่ย	สีผิดปกติ

ปัจจัย	**ระดับคะแนนความสด**
1. สี	.....
2. การดมกลิ่น	.....
3. ลักษณะเนื้อสัมผัส	.....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

ขอบคุณทุกท่านที่ให้ความร่วมมือ

ประวัติผู้วิจัย

1. **ชื่อ-นามสกุล** (ภาษาไทย): นาง ธิติมา พานิชย์ (หัวหน้าโครงการวิจัย)
   (ภาษาอังกฤษ): Mrs. Thitima Panich

2. **ตำแหน่งปัจจุบัน:** อาจารย์ (พนักงานมหาวิทยาลัย)

3. **หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก**

ที่อยู่: โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
160 ถ.กาญจนวนิช ต.เขารูปช้าง อ.เมือง จ.สงขลา 90000
เบอร์โทรศัพท์ : 092-012-1375
โทรสาร : 074-336964
อีเมลล์ : uangjan@hotmail.com

4. **ประวัติการศึกษา**

ปีที่สำเร็จการศึกษา	ระดับการศึกษา	คุณวุฒิ	มหาวิทยาลัย
2544	ปริญญาตรี	วท.บ (อุตสาหกรรมเกษตร)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
2547	ปริญญาโท	วท.ม (เทคโนโลยีอาหาร)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
2556	ปริญญาเอก	Ph.D (Marine Life Science)	Hokkaido University, Japan

5. **สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ**

   เคมีอาหาร, ชีวเคมีอาหารทะเล, การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร

6. **ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย**

   6.1 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

   - การพัฒนาและการยืดอายุการเก็บรักษาขนมโมจิไส้ไข่เค็ม
   - การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำพริกตาแดงโดยการเติมกระดูกปลาเพื่อเป็นแหล่งแคลเซียม
   - การพัฒนาผลิตภัณฑ์ขนมอบกรอบที่มีใยอาหารสูงจากธัญพืช
   - การพัฒนาผลิตภัณฑ์คามาโบโกะเพื่อสุขภาพ
   - การพัฒนาผลิตภัณฑ์เส้นก๋วยเตี๋ยวเพื่อสุขภาพ

- การประยุกต์ใช้ชาเขียวในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ขนมบุหงาบูดะ
- การผลิตผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากกล้วยนางพญา ในชุดโครงการเรื่อง การพัฒนาการปลูก การแปรรูป และการบริหารผลิตภัณฑ์จากกล้วยนางพญาเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ชุมชน
- การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดเจลกุ้งขาวด้วยความร้อน

6.2 ผลงานตีพิมพ์

Dublin, D.R., Pilumwong, J., Chaiwong, S., Jantakoson, T., Chompupoung, A., and Tanaka, N. 2015. **Satoyama agricultural development tool (SADT) for collaborative assessment of hilltribe communities in Chiangmai: Case studies of Mueang Ang, Nhong Lom and Pa Kea Noi**. App. Envi. Res. 37(1): 19-33.

Jantakoson, T. 2013. **Characteristic Denaturation of Myosin and Actin in Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Abdominal Muscle upon Heating and Freezing**. Ph.D Thesis. Hokkaido University, Japan.

Jantakoson, T., Thavaroj, W. and Konno, K. 2012. **Myosin and actin denaturation in frozen stored kuruma prawn *Marsupenaeus japonicas* myofibrils**. Fish. Sci. 79(2): 341-347.

Jantakoson, T., Kijroongrojana, K. and Benjakul, S. 2012. **Effect of high pressure and heat treatments on black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) muscle protein**. Int. Aqua. Res. 4: 19.

ธิติมา จันทโกศล. 2547. **ผลของความดันสูงและความร้อนต่อคุณลักษณะโปรตีนกล้ามเนื้อและคุณสมบัติการเกิดเจลของกุ้งกุลาดำ**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

6.3 ผลงานวิชาการอื่นๆ

ธิติมา พานิชย์, ยมนา ล่าดั้ม และ ลดาวัลย์ เป้าทอง. 2560. **ผงหมักเนื้อนุ่มรสกระเทียมพริกไทยจากเปลือกมะละกอ.** อนุสิทธิบัตรไทย เลขที่ 12639. กรุงเทพฯ: กรมทรัพย์สินทางปัญญา กระทรวงพาณิชย์.

ศราวุฒิ เย็นทั่ว สุธีลักษณ์ ใสสุข และธิติมา พานิชย์. 2559. **การพัฒนาไอศกรีมโยเกิร์ตจากข้าวเหนียวดำผสมข้าวหอมนิล.** การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต ครั้งที่ 8. 15 ธันวาคม 2559. ภูเก็ต.

Jantakoson, T., and Konno, K. 2013. **ATPase activity of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamai*) muscle myosin** (Oral). World Academy of Engineering and Technology. 22th-23th August, 2013, Kualalumpur, Malaysia.

Jantakoson, T., and Konno, K. 2013. **Internal structure of kuruma prawn (*Marsupenaeus japonicus*) myosin revealed by chymotryptic digestion** (Oral). The Japanese Society of Fisheries Science and Technology Spring Meeting 2013. 26th-30th March, 2013, Tokyo, Japan.

Jantakoson, T. and Konno, K. 2012. **Myofibrils are not a suitable model material to study muscle protein denaturation in frozen shrimp** (Poster). Trans-Atlantic Fisheries Technology Conference (TAFT). 30th October-2nd November 2012. Florida, USA.

Jantakoson, T. and Konno, K. 2012. **Unique denaturation profiles of shrimp myosin and actin in frozen stored myofibrils** (Oral). 2012 International Conference on Food Science. 30th August 2012. Dalian, China.

Jantakoson, T., and Konno, K. 2012. **Myosin and actin denaturation of Kuruma prawn (*Masupenaeus japonicus*) during the frozen storage of myofibrils** (Oral). The Japanese Society of Fisheries Science and Technology Spring Meeting 2012. 27th-31st March, 2012. Tokyo, Japan.

Jantakoson, T., and Konno, K. 2012**. High sensitivity of white leg shrimp (*Lipopenaeus vannamai*) actin in myofibrils against NaCl treatment** (Oral). The Japanese Society of Fisheries Science and Technology Spring Meeting 2012. 27th-31st March, 2012. Tokyo, Japan.

Jantakoson, T., Benjakul, S. and Kijroongrojana, K. 2012. **Effect of high pressure on gel forming properties of black tiger shrimp (*Penaeus***

***monodon* Fabricius)** (Poster). 6th World Fisheries Congress. 17th-11th May 2012. Edinburgh, Scotland.

Jantakoson, T., Ohnishi, E., Matsukawa, M., and Konno, K. 2011. **Biochemical and thermal denaturation properties of white leg shrimp (*Lipopenaeus vannamai*) muscle myosin** (Oral). The Japanese Society of Fisheries Science and Technology Spring Meeting 2011. 27th-31st March, 2011. Tokyo, Japan.

Kijroongrojana, K. Junthakoson, T., Benjakul, S. 2006. **Gelation of minced black tiger (*Penaeus monodon* Fibricius) induced by high pressure and heat treatment.** TRF annual meeting. October 12-14, 2006. Petchaburi, Thailand

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

1. **ชื่อ-นามสกุล** (ภาษาไทย): นาง ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์ (ผู้ร่วมวิจัย)
   (ภาษาอังกฤษ): Mrs. Kongkarn Kigroongrojana

2. **ตำแหน่งปัจจุบัน:** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8

3. **หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก**

ที่อยู่: ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ถ.กาญจนวนิช ต.คอหงส์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112
เบอร์โทรศัพท์ : 074-286336
โทรสาร : 074-558866
อีเมลล์ : kongkarn.k@psu.ac.th

4. **ประวัติการศึกษา**

ปีที่สำเร็จการศึกษา	ระดับการศึกษา	คุณวุฒิ	มหาวิทยาลัย
2532	ปริญญาตรี	วท.บ (อุตสาหกรรมเกษตร) (เกียรตินิยมอันดับ 2)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
2535	ปริญญาโท	วท.ม (พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร)	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
2541	ปริญญาเอก	Ph.D (Food Technology)	University of Reading, UK

5. **สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ**

   การพัฒนาผลิตภัณฑ์ การทดสอบทางประสาทสัมผัส

6. **ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย**

   6.1 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

   - การพัฒนาผลิตภัณฑ์ซุปปลาทูน่าโปรตีนสูงจากน้ำนึ่งปลาทูน่า
   - ผลของความดันสูงต่อโปรตีนกล้ามเนื้อและการเกิดเจลของกุ้งกุลาดำ
   - การพัฒนาผลิตภัณฑ์กุ้งเบอร์เกอร์ชุบแป้งทอดที่ลดการดูดซับน้ำมันแช่เยือกแข็งเพื่อการส่งออก
   - การศึกษาดัชนีคุณภาพของหมึกกล้วยและหมึกกระดองระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่น้ำแข็งและการแช่เยือกแข็ง

- การลดกลิ่นคาวและการใช้ประโยชน์ของเจลาตินไฮโดรไลเสทจากหนังปลาเพื่อเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ

6.2 ผลงานตีพิมพ์

Manheem, M., Benjakul, S., Kijroongrojana, K., Faithong, N. and Visessanguan, W. 2013. **Effect of pre-cooking times on enzymes, properties, and melanosis of Pacific white shrimp during refrigerated storage**. Inter. Aquatic. Res. 5: 1.

Jantakoson, T., Kijroongrojana, K., Benjakul, S. 2012. **Effect of high pressure and heat treatments on black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) muscle protein**. Inter. Aquatic. Res. 4: 19.

Kaewudom, P., Benjakul, S., Kijroongrojana, K. 2012. **Effect of bovine and fish gelatin in combination with microbial transglutaminase on gel properties of threadfin bream surimi**. Inter. Aquatic Res. 4: 12.

Manheem, K., S., Benjakul, Kijroongrojana, K., Visessanguan, W. 2012. **The effect of heating conditions on polyphenol oxidase, proteases and melanosis in pre-cooked Pacific white shrimp during refrigerated storage**. Food Chem. 131(4): 1370-1375.

Tantasuttikul, A., Kijroongrojana, K., Benjakul, S. 2011. **Quality indices of squid (*Photololigo duvaucelii)* and cuttlefish (*Sepia aculeata*) stored in ice**. J. Aquatic Food Product Technol. 20 (2): 129-147.

Sukkwai, S., Kijroongrojana, K. and Benjakul, S. 2011. **Extraction of Gelatin from Bigeye Snapper (*Priacanthus tayenus*) Skin for Gelatin Hydrolysate Production.** Inter. Food Res. J. 18 (3): 1078-1083.

Cheejareon, J., Kijroongrojana, K., Benjakul, S. 2011. **Improvement of physical properties of black tiger shrimp (*Penaeus* monodon) meat gel induced by high pressure and heat treatment.** J. Food Biochem. 35 (3): 976-996.

Sungsri-In, R., Benjakul, S., and Kijroongrojana, K. 2011. **Pink discoloration and quality changes of squid (*Loligo Formosana*) during iced storage**. LWT- Food Sci. Technol. 44 (1): 206-213.

Benjakul, S., Sungsri-In, R., and Kijroongrojana, K. 2012. **Effect of treating squid with sodium chloride in combination with oxidizing agent on bleaching, physical and chemical changes during frozen storage.** Food Bioprocess Technol. 5 (6): 2077-2084.

Juermanee, P., Kijroongrojana, K., Usawakesmanee, W., Posri, W. 2009. **Juiciness Improvement of Frozen Battered Shrimp Burger Using Modified Tapioca Starch, Sodium Alginate, and Iota-Carrageenan.** Songklanakarin J. Sci. Technol. 31: 491-500.

Sugkhaphan, P. and Kijroongrojana, K. 2009. **Optimization of prebiotics in soybean milk using mixture experiments.** Songklanakarin J. Sci. Technol. 31: 481-490

Yarnpakdee, S., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kijroongrojana, K. 2009. **Thermal properties and heat-induced aggregation of natural actomyosin extracted from goatfish (Mulloidichthys martinicus) muscle as influenced by iced storage.** Food Hydrocolloids. 23: 1779-1784.

Benjakul, S., Visessanguan, W., Kijroongrojana, K., Sriket, P. 2008. **Effect of heating on physical properties and microstructure of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) meats.** Int. J. Food Sci. Technol. 43: 1066-1072.

Eakpetch, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kijroongrojana, K. 2008. **Autolysis of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) meat: characterization and the effects of protein additives.** J. Food Sci. 73: 95-103.

Rattanasatheirn, N., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kijroongrojana, K. 2007. **Properties, translucence, and microstructure of pacific white**

shrimp treated with mixed phosphates as affected by freshness and deveining. J. Food Sci. 73: S31-S40.

Sriket, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kijroongrojana, K. 2007. **Comparative studies on chemical composition and thermal properties of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) meats.** Food Chem. 103: 1199-1127.

Sriket, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kijroongrojana, K. 2007. **Comparative studies on the effect of the freeze–thawing process on the physicochemical properties and microstructures of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) muscle.** Food Chem. 104: 113-121.

Jidbunjerdkul, S., Kijroongrojana, K. and Pasakawee, K. 2007. **Optimum composite flour, water and mixing time of dough for crispy snack containing fish-head protein hydrolysate.** Songklanakarin J. Sci. Technol. 29(6): 1633-1643 (in Thai)

Jidbunjerdkul, S., Kijroongrojana, K. and Chothong, T. 2007. **Replacement of cocoa butter with cocoa butter-like fat from modified palm oil in coating chocolate.** Songklanakarin J. Sci. Technol. 29(4): (in Thai)

Jidbunjerdkul, S. and Kijroongrojana, K. 2007. **Formulation of Thai herbal Namprik.** Songklanakarin J. Sci. Technol. 29(3): (in Thai)

Chantarat , P., Kijroongrojana, K., Vittayanont, M. 2005. **Effect of ice storage on muscle protein properties and qualities of emulsion fish sausage from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) and lizard fish (*Saurida undosquamis*).** Songklanakarin J. Sci. Technol. 27(1): 123-138 (in Thai)

Phomajun, P. Kijroongrojana, K. 2005. **Water activity reduction of intermediate moisture yellowstrip trevally (*Selaroides leptolepis*).** Songklanakarin J. Sci. Technol. 27(3): 617-631 (in Thai)

Riebroy, S., Benjakul,B., Visessaguan,W., Kijroongrojana, K., Tanaka, M. 2004. **Some characteristics of commercial Som-Fug produced in Thailand.** Food Chem. 88: 527-535.

Angsupanich K, Edde M., Ledward D.A. 1999. **Effect of high pressure on the myofibrilla proteins of cod and turkey muscle.** J. Agric. Food Chem. 47: 92-99.

Angsupanich K, Ledward, D. A. 1998. **High pressure effects on cod (*Gadus morhua*) muscle.** Food Chem. 63: 39-50.

6.3 ผลงานวิชาการอื่นๆ

Sutantirad, T., Kijroongrojana, K., Jongjareonrak, A. 2011. **Optimization of germinated brown rice (Sangyod Phattalung) extraction for high yield of bioactive compounds and antioxidant activities.** Proceeding of The 3rd International Conference on Biochemistry and Molecular Biology, April 6-8, p.189-193, Chaingmai, Thailand.

Tantasuttikul, A., Kijroongrojana, K., Benjakul, S. 2009. **Study on Quality Indices of Squid (*Photololigo duvaucelii*) and Cuttlefish (*Sepia aculeata*) During Iced Storage**. The 10th Annual Conference of Thai Society of Agricultural Engineering "International Conference on Innovations in Agricultural, Food and Renewable Energy Productions for Mankind", April 1-3, School of Agricultural Engineering, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima, Thailand

Sugkhaphan, P and Kijroongrojana, K.. 2008. **Optimization of prebiotics in soybean milk using mixture experiment.** 34th Congress on Science and Technology of Thailand**,** November 2-4, Bangkok, Thailand

Kijroongrojana, K. Junthakoson, T., Benjakul, S. 2006. **Gelation of minced black tiger (*Penaeus monodon* Fibricius) induced by high pressure and heat treatment.** TRF annual meeting. October 12-14, 2006. Petchaburi, Thailand

Juermanee,P., Kijroongrojana, K, Usawakesmanee, W., Posri, W. 2006. Effect of some hydrocolloids on juiciness of frozen battered shrimp burger. The 32nd Congress of Science and Technology of Thailand. October 10-12, 2006. Bangkok. Thailand.

Kijroongrojana, K., Junthakoson, T., Benjakul, S. 2005. Effect of high pressure and heat treatments on black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fibritius) Muscle proteins. TRF annual meeting. October 13-15, 2005. Petchaburi, Thailand

Cheechareon, J. Kijroongrojana, K. Benjakul, S. 2005. Gelation of minced black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricus) induced by high pressure and heat treatment. The 7thAgro-Industrial conference. BITECH, Bangkok, Thailand.

Kijroongrojana K., Maneerat, S., Bourtoom,T. 2001 Development of ready-to-eat tuna soup from tuna condensate. 11th World Congress of Food Science and Technology, April 22-27. Seoul, Korea.

Angsupanich K, Ledward, D.A. 1998. Effects of high pressure on fish lipid oxidation. *In* High pressure food science, bioscience and chemistry (Isaacs N.S., ed). 284p.

Angsupanich K, Ledward, D.A. 1999. Effects of high pressure on textural characteristics of cod (*Gadus morhua*). *In* Advances in high pressure bioscience and biotechnology (Ludwig H., ed.). 405p.

ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์ ศุภศิลป์ มณีรัตน์ เถวียน บัวตุ่ม. 2544. การพัฒนาการผลิตซุปปลาทูน่าโปรตีนสูงจากน้ำนึ่งปลาทูน่า. รายงานการวิจัย พัฒนา และวิศวกรรมฉบับสมบูรณ์. ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ.